

한국인 베체트 환자의 분자유전학적 연구

박상범 · 남윤형 · 박수민 · 이상현 · 안영창 · 조민호 · 김종규 · 최재구[†] · 김성규[‡] · 장원철*

단국대학교 첨단과학부 화학과 및 기초과학연구소

[†]동남보건대학 보건계열 환경생명과학과

[‡]대구가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

(2006. 12. 14 접수)

Molecular Genetic Analysis of Behcet's Disease in Korean

Sang-Bum Park, Youn-Hyoung Nam, Su-Min Park, Sang-Hyun Lee, Young-Chang Ahn,
Min-Ho Cho, Jong-Gyu Kim, Jae-Gu Choi[†], Seong-Kyu Kim[‡], and Won-Cheoul Jang*

Department of Chemistry, School of Advanced Science and Basic Science Research Institute,
Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

[†]Department of Environmental Science, Dongnam Health College, Korea

[‡]Department of Internal Medicine, Catholic University of Daegu, School of Medicine, Daegu, Korea

(Received December 14, 2006)

요 약. 베체트 병은 여러 장기에서 발생하는 만성 염증성 질환이다. 베체트병에서 염증은 T-helper type 1 (Th1) 림프구에서 분비된 사이토카인에 의해 유도된다. 베체트병의 발병원인이나 기전에 대해 확실히 밝혀지지는 않았으나 유전적인 소인이 있는 사람에서 감염 등 환경적인 요인이 면역 반응에 이상을 일으켜 질병의 여러 증상이 발현된다. 주요조직복합체(major histocompatibility complex, MHC)와 non-MHC gene 등 다양한 유전자들이 베체트병의 병인으로 관여한다. 이 연구에서는 HLA-B51, IL-18, SLC11A1, TNF- α 의 유전적 다형성이 한국인 베체트병의 감수성에 관여하는지를 확인하였다. 실험 결과, HLA-B51이 베체트병과 가장 연관성이 큰 유전인자로 나타났지만, HLA 분자가 베체트병의 직접적인 병인인지는 확실하지 않다. IL-18은 베체트병 환자와 대조군 간에 연관성은 없었으나 안구병변을 가지고 있는 환자에서 -137 G/G 유전자 형이 높게 나타났다. SLC11A1 유전자에서 (GT)_n의 다형성의 allele 3과 genotype allele 3/ allele 3이 한국인 베체트병의 방어 효과를 갖는 것으로 추정된다. TNF- α gene의 유전자 다형성은 베체트병 감수성에 있어서의 연관성을 찾지 못하였다.

주제어: BD (behcet's disease), HLA-B51, IL-18, SLC11A1, TNF- α

ABSTRACT. Behcet's disease (BD) is a chronic inflammatory disorder, involving several organs. Inflammation in the disease is thought to be mediated by cytokines derived from T-helper type 1 (Th1) lymphocytes. Although the exact pathogenesis for BD is not completely understood, it has been suggested that the disease is triggered in genetically susceptible individuals by environmental factors, such as microbial agents. It is noted that multiple genes, including MHC (major histocompatibility complex) and non-MHC genes, are implicated in the pathogenesis of BD. This study tries to determine whether HLA-B51, IL-18, SLC11A1 and TNF- α polymorphisms are associated with susceptibility to Behcet's disease in Koreans. As a results, HLA-B51 was a genetic factor with the strongest association with BD. But it is still uncertain whether this HLA molecule is directly involved in the pathogenesis of BD. Although the IL-18 gene polymorphisms were not associated with a susceptibility to BD in the Korean population, the patients carrying the GG genotype at position 137 had a higher risk of developing the ocular lesions. This study suggests that the allele 3 and the

genotype allele 3 / allele 3 of 5'-promoter (GT)_n polymorphism in the SLC11A1 gene may have a protective effect for the development of BD in the Korean population. There were no evidences for genetic association conferred by the TNF- α gene with respect to susceptibility to BD.

Keywords: BD (behcet's disease), HLA-B51, IL-18, SLC11A1, TNF- α

서론

고대 히포크라테스 시대에 이미 오늘날의 베체트 병은 발열, 아프타성 구내염, 외음부 궤양, 만성 눈질환, 시력상실, 종창 같은 징후로 기술되어 왔다.¹⁻³ 수 세기가 지난 후 몇몇 증례에 대한 연구가 1859년 Neuman, 1908년 Bluthé, 1922년 Planner와 Remenowsky, 1925년 Gilbert, 1931년 Adamantiadis, 1934년 Whitwellp 의하여 보고되었다. 그러나 1937년 터키 출신의 피부과 의사인 Hulusi Behcet가 질환의 본질을 “반복적인 구강 아프타성 궤양, 외음부 궤양, 포도막염”의 복합적인 요소가 관련된 증후로 처음으로 압축하여 기술하였다.

베체트병은 전 세계적으로 병이 발생하며, 주목할 만한 지역적 차이가 있다. 지중해 연안지역, 중동지역 및 극동지역에서의 높은 발생은 전세계의 다른 곳에서의 발생과 대조적이다. 중동 지역에서 질병의 유병률이 가장 높아 만 명 당 1명이 발생하는 것으로 추정하고 있으며, 터키에서는 인구 만 명 당 8-42명의 환자가 보고되고 있고, 일본에서는 역학 조사를 통한 정확한 유병률은 알려지지 않았지만 병원에 등록된 환자를 기준으로 인구 만 명 당 1-2명 가량으로 보고되고 있다. 미국과 같은 서방국가들에서는 발생이 인구 만 명 당 0.012-0.033명, 영국에서는 인구 만 명 당 0.064명에서 발생된다고 추정된다. 우리나라에서는 제대로 된 유병률은 아직 보고가 없는데 류마티스 내과에 내원한 환자수를 보면 만 명 당 5-10명 정도의 환자가 있으리라고 추정할 수 있다. 우리나라 베체트병 환자는 중동 지역에서 발생하는 환자의 임상적 특징과 차이가 있다. 질병이 30대 초반에 발병하고, 여자가 남자보다 1.5-2 배 정도 많다. 또한 폐설지 반응은 30-40% 가량에서 양성이며, 위장관 궤양의 발생 빈도가 15-20% 정도로 비교적 흔하지만 안구나 중요한 혈관을 침범하는 환자는 적은 것으로 알려져 있다.⁴⁻⁷

정확한 발병 원인이나 기전은 밝혀지지 않았으나 오래 전부터 유전적인 소인이 있는 환자에서 환경적인 요인이 가세하여 면역 반응을 활성화시켰고 결과

적으로 여러 임상 증상이 유발된다고 추정되고 있다. 최근 베체트 병 발병에 6번 염색체의 단원에 위치하는 주조직적합복합체(major histocompatibility complex, MHC)뿐만 아니라, 다른 염색체에 위치하는 non-MHC 유전자도 기여한다고 보고되고 있다(Fig. 1). 많은 연구에서 HLA-B51과 베체트 병의 연관성이 여러 인종에서 보고 되었다. HLA-B51 대립유전자를 가지고 있다는 것이 반드시 베체트병을 발병한다는 의미는 아니지만 베체트병에 걸릴 가능성이 높다는 것을 의미한다.⁸⁻¹² HLA-B51은 현재까지 베체트병과 가장 연관성이 있다고 알려져 있는 유전인자이나, 베체트병의 감수성에 영향을 주는 유전자가 HLA-B51인지, 아니면 HLA-B51과 연관 불균형(linkage disequilibrium) 관계에 있는 인접한 다른 유전인자인지는 아직 불확실하다. 본 논문에서는 베체트병을 유발하는데 기여할 가능성이 큰 유전자를 선별한 다음, 유전자 다형성과 한국의 베체트병 간의 연관성을 알아보고, 지금까지 베체트병에 가장 관련이 많다고 알려진 HLA-B51 양성인 환자와 음성인 환자에서 IL-18, SLC11A1, TNF- α 의 유전자 다형성의 역할을 규명하여, 베체트병의 심한 증상의 발생에 각 유전자들이 기여하는지를 알아보고자 한다.

실험 및 방법

시료

본 연구에서는 international study group의 진단기준을 만족하는 100명의 베체트병 환자와 나이와 남

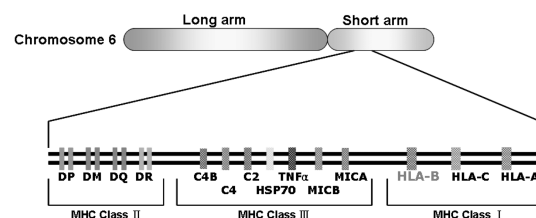


Fig. 1. The genes of the MHC (major histocompatibility complex) locus.

너비가 일치하는 100명의 건강 대조군을 대상으로 하였다. 또한 각 유전자의 다형성이 베체트병의 심한 임상 양상과 관련이 있는지를 조사하기 위해 베체트병 환자에서 질병이 발생한 후부터 검사 시점까지 병력을 조사하여, 후방 포도막염이나 망막 혈관염, 위장관 출혈이나 천공, 주요 장기의 침범이나 주요 혈관의 침범 중 하나 이상이 있을 경우 심한 증상으로 간주한다.

시약 및 기기

시약

혈액에서 genomic DNA 추출 시 사용한 AccuPrep™ Genomic Extraction Kit, *Taq*. polymerase, HLA-B51 증폭 시 ABSOLUTE™ HLA-B PCR kit, PCR 산물 정제 시 사용한 AccuPrep™ PCR Purification Kit, RFLP할 때 사용한 제한 효소인 *Sfa*NI는 Bioneer의 제품을 이용하였다. 전기영동 시 사용한 agarose는 QA-Agarose™ (Q-bio gene)을 이용하였고, DHPLC의 이동상으로 사용한 triethylammonium acetate(TEAA)는 Transgenomic사에서, acetonitrile(ACN)은 Merck사에서 구입해 사용하였다.

기기

DNA의 증폭은 GeneAmp® PCR System 2700(Perkin-Elmer, USA)를 사용하였고, PCR의 확인은 Agaro Power™(Bioneer) 전기영동장치로 확인하였다. DHPLC는 WAVE® SYSTEM(Transgenomic, USA)를 사용하였다.

실험 방법

베체트 환자와 정상인 혈액에서 genomic DNA를 추출하여, HLA-B51, IL-18, SLC11A1, TNF- α 유전자를 PCR 방법으로 증폭한 후, SS-PCR(sequence specific polymerase chain reaction), VNTR(variable number of tandem repeat), RFLP(restriction fragment length polymorphism), DHPLC(denaturing high performance liquid chromatography)법과 sequencing 방법을 이용하여 돌연변이를 확인하였다.

혈액에서 genomic DNA의 추출

AccuPrep™ Genomic Extrction kit(Bioneer, Korea)를 사용하여 추출한 DNA의 농도는 25 ng/ μ l로 일정하게 맞추어 PCR에 사용하고 장기간 보존하기 위해서 -20 °C에 저장해 두었다.

IL-18 유전자의 다형성 분석

IL-18는 11q22.2-q23.3에 위치하는 유전자로서 T세포나 NK(natural killer) 세포에서 IFN- γ (interferon)를 유도하는 싸이토카인이다. 또한 자가면역질환, 염증성질환, 감염성 질환에서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 이 연구에서는 IL-18 유전자의 프로모터 지역의 -137G/C와 -607C/A에서의 유전자 다형성과 한국인 베체트병의 감수성과의 연관성을 분석해보았다. 유전자 다형성의 확인은 DHPLC를 사용하였다.

PCR product의 sequence를 입력하면 WAVEMAKER™ 프로그램에 의해 컬럼의 온도에 따른 helical fraction과 base position에 따른 helical fraction이 계산되고 이 데이터를 근거로 하여 가장 적당한 컬럼의 온도와 buffer의 gradient를 결정하게 된다.

PCR 산물을 95 °C에서 10분 동안 변성시킨 후에 상온에서 45분 동안 천천히 식혀서 이형접합체를 형성시킨 후에, 컬럼 오븐의 온도를 56 °C로 맞추고 시료를 5 μ l 주입하여 260 nm에서 유전자형을 판별하였다.

SLC11A1 유전자의 다형성 분석

Solute carrier family 11 number a1(SLC11A1) 유전자는 과거에는 natural resistance associated macrophage prodein-1(NRAMP1) 유전자라고 불리었으며 2q35에 위치하고 있다. SLC11A1 유전자는 대식세포의 활성화 조절하여 TNF- α 와 IL-1등과 같은 proinflammatory cytokine의 분비, iNOS의 발현을 통한 nitric oxid의 분비, 그리고 MHC class II의 발현 등의 다면발현 기능을 가지고 있다고 알려져 있다. 그래서 이 유전자의 기능에 이상이 발생할 경우 대식세포내 세균에 대한 감수성이 증가되어 감염이 발생할 수 있고, 또한 자가면역질환과 만성 염증성 질환을 유발하는데 기여할 수 있다고 알려져 있다. SLC11A1에는 10 개 이상의 유전자 다형성이 보고되고 있으나 이중 몇몇 부위의 유전자 다형성이 유전자의 기능적인 이상을 초래하여 질병을 유발하는데 기여할 수 있다고 한다. 이 연구에서는 SLC11A1 유전자의 프로모터의(GT)n microsatellite 다형성 부위와 엑손 9의 A318V, 엑손 15의 D543N의 다형성과 한국인 베체트병과의 연관성을 살펴보았다.

자동서열분석기 ABI 3730XL(Applied Biosystems, Foster city, CA) 을 이용하여 염기서열의 돌연변이를 확인하였다.

TNF- α 유전자의 다형성 분석

종양괴사인자(tumor necrosis factor, TNF)는 다양한 염증과 면역 조절기능을 통해 숙주를 방어하는 역할을 하며, 과생성되는 경우 여러 염증성 질환의 병리와 밀접한 관계가 있다. TNF 유전자는 MICB 유전자 바로 옆 중심질 쪽으로 위치하며, 여러 부위에 다양한 유전자 다형성이 보고되고 있다. 활동기 베체트병에서도 혈중 TNF와 TNF 수용체의 증가 및 TNF를 생성하는 T 세포와 단핵구의 증가가 관찰되고 있으며, 최근 TNF 차단제의 투여로 기존치료에 반응하지 않는 심한 베체트병 증상들의 현저한 호전이 보고되어, TNF가 베체트병의 염증 반응에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다. 이 연구에서는 TNF- α 유전자에 위치한 여러 유전자 다형성 부위와 한국인 베체트병과의 연관성을 살펴보았다.

자동서열분석기 ABI 3730XL(Applied Biosystems, Foster city, CA)을 이용하여 염기서열의 돌연변이를 확인하였다.

HLA-B51의 PCR-sequence specific primer법 분석

사람의 MHC class 중의 하나인 HLA 항원(human leukocyte antigen)을 코딩하는 유전자군은 6번 염색체상에 클러스터로 존재하여 고도의 다형성과 연쇄 불균형의 존재에 따라 특징 지워진다.

HLA-B51은 여러 지역에서 현재까지 베체트병과 가장 많은 연관성이 있다고 알려져 있는 유전인자이나, 베체트병의 감수성(susceptibility)에 영향을 주는 유전자가 HLA-B51인지, 아니면 HLA-B51과 연관 불균형(linkage disequilibrium) 관계에 있는 인접한 다른 유전인자인지는 아직 불확실하다. HLA-B51 PCR 검사는 HLA-B51 kit를 사용하여 검체의 DNA를 HLA-B locus 특이 primer 2 쌍과 내부 control 용으로 사람 성장 호르몬(human growth hormone) 특이 primer를 이용하여 두 개의 유전자를 동시에 PCR로 증폭한 후 전기영동을 하여 HLA-B51 대립유전자의 유무를 판정하였다. 따라서 이 연구에서는 HLA-B51 유전자와 한국인 베체트병과의 연관성을 살펴보았다.

통계분석

검사 결과들을 SPSS version 10.0 for Windows(SPSS Inc., Chicago, IL)를 이용하여 chi-square법 또는 t-test로 검증하고, 각 allele이 베체트병의 발생에 얼마나 기여하는지 odds ratio와 95% confidence interval을 구하였다. 또한 p 값을 구하고 필요한 경우 p 값에

검사를 시행한 allele들의 수를 곱하여 corrected p (p_{corr})을 계산하여, 이 값들이 0.05 이하인 경우 통계적으로 의미 있는 것으로 간주했다. 이러한 분석은 베체트병 환자와 대조군 간에 각각의 유전자 다형성 부위의 allele와 genotype의 차이를 비교하고, 베체트병 환자에서 각 임상 증상과 심한 증상 유무 그리고 발병 연령 등과 유전자 다형성과의 관계를 분석하여, 베체트병 환자를 HLA-B51 양성군과 음성군으로 나누어 HLA-B51 결과에 따라 베체트병에 대한 역할을 규명하였다.

결과 및 고찰

베체트병과 IL-18 유전자의 연관성

IL-18 gene의 프로모터의 두 위치에서는 통계상으로 베체트병 환자 샘플과 정상 샘플의 유전적 차이는 없었으며 HLA-B51 양성군에서도 차이가 없었다. -137G/C 위치에서 G/G genotype과 G allele의 빈도가 환자 샘플에서 높게 나타났으며, -607C/A 위치에서는 C/C genotype과 C allele의 빈도가 정상 샘플보다 환자 샘플에서 높게 나타났지만, P값이 0.05 이상 값이므로 유의성이 없었다. 이 연구에서는 한국인에서는 -137 C/C genotype과 -607 A/A genotype은 발

Table 1. The genotype and allele frequencies of IL-18 promoter polymorphisms in the Behcet's group and control subjects

	Controls No(%)	Behcet's group No(%)
Position-137		
Genotype		
GG	64(64.8)	73(74.5)
GC	37(35.2)	25(25.5)*
Allele		
G	173(82.4)	171(87.2)
C	37(17.6)	25(12.8)**
Position-607		
Genotype		
CC	14(13.3)	22(22.4)
AC	91(86.7)	76(77.6)***
Allele		
C	119(56.7)	120(61.2)
A	91(43.3)	76(38.6)***

*p=0.133 and **p=0.173 for comparisons of polymorphism at position -137 between Behcet's group and controls; †p=0.089 and ‡p=0.351 for comparisons of polymorphism at position 607 between Behcet's group and controls.

견되지 않았다(Table 1). 하지만 부분적으로 안구병변을 가지고 있지 않은 환자보다 안구병변을 가지고 있는 환자에서 -137G/C 위치에서 G/G genotype의 빈도가 높게 나타났다(G/G:89.7% vs 68.1%; G/C:10.3% vs. 31.9%, respectively; $p=0.026$, $p_c=0.048$).

베체트병과 SLC11A1 유전자의 연관성

SLC11A1 유전자의 프로모터의 (GT)_n microsatellite, A318V와 D543N의 위치에서는 통계상으로 베체트병 환자 샘플과 정상 샘플의 유전적 차이가 없었다. 하지만 (GT)_n의 다형성에서 allele 3과 genotype allele 3/ allele 3의 빈도가 환자보다 정상인 샘플에서 높게 나타났다(Table 2).

베체트병과 TNF- α 유전자의 연관성

TNF- α 유전자의 hot spot 위치로 알려진 -1031T/C, -863C/A, -857C/T, -376G/A, -308G/A, -238G/A에서의 유전자 다형성과 한국인 베체트병과의 연관성을 확인하기 위하여 염기서열분석법을 사용하였다. Hot spot 외에 SNP 위치로 알려진 부위 16곳의 유전자 다형성도 확인하였다. 그 결과 TNF- α 유전자와 한국인 베체트병 환자와의 유전적 연관성이 없는 것으로 확인되었다(Table 3).

Table 2. The genotype distribution of SLC11A1 gene polymorphism in Behcet's disease(n=99) and control subjects (n=98)

Genotype	Control. No(%)	Behcet's disease No(%)	p	
5'-promotor (GT) _n polymorphism				
Allele3/Allele3*	63(64.3)	49(49.5)	0.296	
Allele3/Allele2	23(23.5)	29.29.3)		
Allele3/Allele1	10(10.2)	14(14.1)		
Allele2/Allele2	1(1.0)	3(3.0)		
Allele2/Allele1	1(1.0)	3(3.0)		
Allele1/Allele1	0(0.0)	1(1.0)	0.707	
D543N polymorphism				
Asn/Asn	74(75.5)	77(77.8)		
Asn/Asp	24(24.5)	22(22.2)		
Asp/Asp	0(0.0)	0(0.0)		

*For 5'-promotor (GT)_n polymorphism, BD patients with allele 3/allele 3 genotype have significantly lower risk to the development of BD than those without this genotype ($p=0.036$, OR=0.54, 95% CI 0.31-0.96)

베체트병과 HLA-B51의 연관성

HLA-B51은 현재까지 베체트병과 가장 연관성이 많은 것으로 알려져 있는 유전인자이다. HLA-B51 PCR 검사는 검체의 DNA를 HLA-B locus 특이 primer 2 쌍과 내부 control 용으로 사람 성장호르몬

Table 3. The genotype distribution of TNF- α gene polymorphism in Behcet's disease (n=129) and control subjects (n=113)

Locus	Allele frequency (%) (number)		
	Allele	Behcet's patients (n=129)	Behcet's control (n=113)
-1031	T/T	71/129(55.04%)	59/113(52.21%)
	T/C	51/129(39.53%)	47/113(41.59%)
	C/C	7/129(5.43%)	7/113(6.20%)
-863	C/C	87/129(67.44%)	68/113(60.18%)
	C/A	39/129(30.23%)	39/113(34.51%)
	A/A	3/129(2.33%)	6/113(5.31%)
-857	C/C	98/129(75.97%)	74/113(65.48%)
	C/T	31/129(24.03%)	37/113(32.74%)
	T/T	0/129(0%)	2/113(1.78%)
-376	G/G	129/129(100%)	113/113(100%)
	G/A	0/129(0%)	0/113(0%)
	A/A	0/129(0%)	0/113(0%)
-308	G/G	116/129(89.92%)	94/113(83.19%)
	G/A	13/129(10.08%)	19/113(16.81%)
	A/A	0/129(0%)	0/113(0%)
-238	G/G	115/129(89.15%)	106/113(93.80%)
	G/A	14/129(10.85%)	7/113(6.20%)
	A/A	0/129(0%)	0/113(0%)

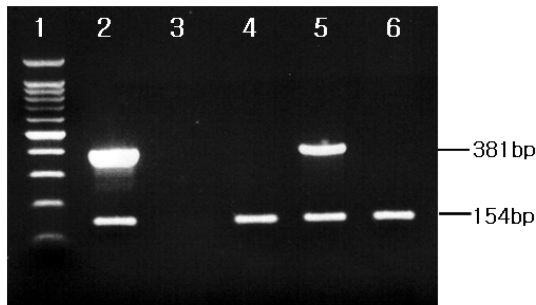


Fig. 2. PCR genotyping of HLA-B51 gene. Lane 1, size marker; lane 2, positive control; lane 3, negative control; lane 4, negative sample; lane 5, positive sample; lane 6, negative sample.

몬(human growth hormone) 특이 primer를 이용하여 두 개의 유전자를 동시에 PCR로 증폭한 후 전기영동을 하여 HLA-B51 대립유전자의 유무를 판정하였다(Fig. 2). 분석 결과 베체트 환자에서는 53.5%, 정상인 샘플에서는 15%가 HLA-B51 양성군으로 확인되었다.

결론

베체트병은 조직학적으로 정맥의 혈전 형성을 잘 하며 혈관염이 특징적인 질환으로, 구강궤양, 음부궤양, 피부 증상 및 관절 증상 등 비교적 경미한 증상을 갖는 환자부터, 포도막염, 장궤양 및 천공, 혈관계 증상 그리고 신경계 질환 등 주요장기를 침범하는 심한 환자까지 다양하다. 베체트병에서 염증은 T-helper type 1(Th1) 림프구에서 분비된 싸이토카인에 의해 유도된다. 베체트병의 발병원인이나 기전에 대해 확실히 밝혀지지는 않았으나 유전적인 소인이 있는 사람에서 감염 등 환경적인 요인이 면역 반응에 이상을 일으켜 질병의 여러 증상이 발현된다. 주요조직복합체(major histocompatibility complex, MHC)와 non-MHC gene 등 다양한 유전자들이 베체트병의 병인으로 관여한다. 이 연구에서는 HLA-B51, IL-18, SLC11A1, TNF- α 의 유전적 다형성이 한국인 베체트병의 감수성에 관여하는지를 확인하였다. 유전자다형성은 SS-PCR, VNTR, RFLP, DHPLC 법과 sequencing 방법을 이용하여 확인하였다.

실험 결과, HLA-B51이 베체트병과 가장 연관성이 큰 유전인자로 나타났지만, HLA 분자가 베체트병의

직접적인 병인인지는 확실하지 않다. IL-18은 베체트병 환자와 대조군 간에 연관성은 없었으나 안구증상의 발생과 관련이 있었다. 그리고 SLC11A1은 오히려 정상인에서 더 높은 연관성이 발견되었다. TNF- α gene의 유전자 다형성은 베체트병 감수성에 있어서의 연관성을 찾지 못하였다. 베체트병의 좀 더 정확한 병인을 밝히기 위해서는 베체트병의 발병에 기여할 수 있는 여러 유전자, 감염과의 관계, 염증 반응 및 면역학적인 이상에 대한 다양한 기초 연구가 필요할 것으로 생각된다.

인용문헌

- Kaklamani, V. G.; Vaiopoulos, G.; Kaklamanis, P. G. Behcet's Disease. *Semin Arthritis Rheum* **1998**, 27, 197-217.
- Chang, H. K.; Cheon, K. S. The clinical significance of a pathergy reaction in patients with Behcet's disease. *J Korean Med Sci* **2002**, 17, 371-4.
- Arayssi, T.; Hamdan, A. New insights into the pathogenesis and therapy of Behcet's disease. *Curr Opin Pharmacol* **2004**, 4, 183-8.
- Fresko, I.; Soy, M.; Hamuryudan, V.; Yurdakul, S.; Yavuz, S.; Tumer, Z. et al. Genetic anticipation in Behcet's syndrome. *Ann Rheum Dis* **1998**, 57, 45-8.
- Inaba, G. Clinical features of neuro-Behcet's syndrome. In: Lehner T, Barnes CG, eds. Recent advances in Behcet's disease. London, *Royal Society of Medicine Services* **1986**, 235-46.
- Wallace, G. R.; Verity, D. H.; Delamaine, L. J.; Ohno, S.; Inoko, H.; Ota, M. et al. MIC-A allele profiles and HLA class I associations in Behcet's disease. *Immunogenetics* **1999**, 49, 613-7.
- Turan, B.; Gallati, H.; Erdi, H.; Gurler, A.; Michel, B. A.; Villiger, P. M. Systemic levels of the T cell regulatory cytokines IL-10 and IL-12 in Behcet's disease; soluble TNFR-75 as a biological marker of disease activity. *J Rheumatol* **1997**, 24, 128-32.
- Lee, E. B.; Kim, J. Y.; Lee, Y. J.; Park, M. H.; Song, Y. W. TNF and TNF receptor polymorphisms in Korean Behcet's disease patients. *Hum Immunol* **2003**, 64, 614-20.
- Chang, H. K.; Kim, J. U.; Lee, S. S.; Yoo, D. H. Lack of association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and Korean Behcet's disease. *Ann Rheum Dis* **2004**, 63, 106-7.
- Eksioglu-Demiralp, E.; Direskeneli, H.; Kibaroglu, A.; Yavuz, S.; Ergun, T.; Akoglu, T. Neutrophil activation

- in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* **2001**, 19(Suppl 24), S19-24.
11. Frassanito, M. A.; Dammacco, R.; Cafforio, P.; Dammacco, F. Th1 polarization of the immune response in Behcet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum* **1999**, 42, 1967-74.
12. Yazici, H. The place of Behcet's syndrome among the autoimmune diseases. *Int Rev Immunol* **1997**, 14, 1-10.
-