

Interleukin-4 유전자의 Promoter 일배체형에 따른 전사능의 차이

서울대학교 의과대학 소아과학교실,
Pediatric Oncology Branch, National Cancer Institute, National Institutes of Health*

최은화 · 김희섭* · Stephen J. Chanock* · 이환중

Difference in the Transcriptional Activity of the Interleukin-4 Promoter Haplotypes

Eun Hwa Choi, M.D., Hee Sup Kim, M.D.*
Stephen J. Chanock, M.D.* and Hoan Jong Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea
Pediatric Oncology Branch*, National Cancer Institute, National Institutes of Health, MD, USA

Purpose : Interleukin-4(IL-4) is a critical component of the Th2 cytokine pathway and contributes to severity of respiratory syncytial virus(RSV) bronchiolitis. Previous studies observed an association between severe RSV bronchiolitis in Korean children with a common haplotype of the *IL4* promoter. This study was performed to investigate functional differences of the variant *IL4* promoter haplotypes.

Methods : Genomic DNA was obtained from 20 children from 6 to 48 months of age in the Department of Pediatrics, Seoul National University Bundang Hospital. The *IL4* promoter spanning an 1.2 kb region was amplified and haplotype was determined by cloning and the PHASE reconstruction. Transcriptional activity of Jurkat T cells which were transfected with each *IL4* haplotype were analyzed by use of luciferase assay.

Results : Three haplotypes of the *IL4* promoter have been identified with the frequency of GCC(7 percent), TCC(17 percent), and TTT(76 percent). The TTT haplotype demonstrated the highest luciferase values in both unstimulated and PMA-stimulated Jurkat T cells. Increases in transcriptional activity compared to GCC have been shown in TTT(5.3 fold higher) followed by TCC(4.2 fold higher) in unstimulated Jurkat T cells.

Conclusion : We provided evidence that increased transcriptional activity of the TTT haplotype of the *IL4* promoter, which has previously been over-represented in Korean children with severe RSV bronchiolitis. Therefore, IL-4 could play a potential role in the pathogenesis of RSV infection, possibly via an altered transcriptional activity of the different *IL4* haplotypes. (Korean J Pediatr 2005;48:495-499)

Key Words : Respiratory syncytial virus, Transcriptional activation, Interleukin 4, Haplotype

서 론

Respiratory syncytial virus(RSV)는 소아에서 가장 흔한 바이러스성 하기도 감염의 원인이며, 영아 및 2세 미만의 소아에

서 RSV에 의한 심한 모세기관지염은 소아의 반복적인 천명, 천식 및 기도 과민반응 등을 흔히 합병할 수 있다^{1,2)}. 그러나, 이러한 합병증이 RSV 감염에 의하여 2차적으로 유발되는지, 아니면 천식의 유전적 소질을 가진 영아가 심한 RSV 모세기관지염을 발병하는 경향이 있는지에 관하여는 아직까지 논란이 있다.

Th2 사이토카인은 심한 RSV 모세기관지염과 기도의 과민반응을 증대하는 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다³⁾. Th2 사이토카인 반응에 중요한 유전자들은 interleukin-4(*IL4*), *IL13*, 및 *IL5* 등으로 염색체 5번의 사이토카인 유전자가 풍부한 부위

본 연구는 2003년 소아과학회 매일학술상 보조로 이루어졌음.

접수 : 2004년 12월 1일, 승인 : 2005년 1월 7일

책임저자 : 이환중, 서울대학교 의과대학 소아과학교실

Correspondence : Hoan Jong Lee, M.D.

Tel : 02)2072-3633 Fax : 02)745-4703

E-mail : hoanlee@snu.ac.kr

Table 1. Primers and Polymerase Chain Reactions for Amplification of the Interleukin-4(*IL4*) Promoter

Primers	Sequence(5' to 3')	PCR condition	
IL4-F	GGGATGGTACCAAAAAACAAGCAGGGCGGG (<i>KpnI</i> site)	94°C 2 min 94°C 30 sec 62°C 30 sec 68°C 2 min 68°C 5 min	
IL4-R	ATTTGCCCGGAAGCAGTTGGGAGGTGAGACC (<i>SmaR</i> site)		
			25 cycles

에 서로 근접하여 위치한다⁴⁾. 특히, IL-4는 사람 및 동물의 RSV 감염 모델을 대상으로 한 많은 연구에서 RSV 모세기관지염의 중증도와 연관될 뿐 아니라, 반복적인 천명의 발생에 기여한다고 알려져 있다^{5,6)}. 급성 RSV 모세기관지염을 앓고 있는 환아는 RSV에 감염되지 않은 소아에 비하여 말초혈액내 IL-4/interferon- γ 비율이 증가되어 있어서 IL-4가 RSV 감염증에 중요한 역할을 한다는 점을 시사한다⁷⁾. 또한, IL-4를 과다 생산하는 흰쥐를 RSV로 감염시키면 폐로부터 RSV의 소실이 현저하게 지연될 뿐 아니라, 폐의 병리소견이 악화되는 점을 관찰할 수 있었다⁸⁾.

1993년부터 2000년까지 약 8년 동안 기저 질환이 없는 건강한 한국인 소아에서 발생한 심한 RSV 모세기관지염 환자 105명을 대상으로 한 연구에서 *IL4* 유전자의 다형성이 RSV 모세기관지염의 중증도에 미치는 연관성에 대하여 보고된 바 있다. 이 연구에서는 *IL4* 유전자 promoter의 다형성에 따른 일배체형은 한국인에서 3가지의 유형이 있으며, 이 중 TTT 일배체형은 심한 RSV 모세기관지염을 가진 한국인 소아에서 유의하게 높게 분포하는 것으로 보고되었다⁹⁾. 그러나, *IL4* 유전자 일배체형의 유형이 과연 IL-4 단백질에 어떠한 기능적인 변화를 초래하는지에 대하여는 아직까지 구체적으로 연구된 바가 없다.

이에 본 연구는 한국인 소아에서 심한 RSV 모세기관지염과 연관성을 보였던 *IL4* 유전자의 다양한 일배체형 유형별로 그 기능의 차이를 연구하기 위하여 promoter 기능 연구에 가장 예민하고 정확한 luciferase 방법을 도입하여 전사능(transcriptional activity)에 대한 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

분당 서울대학교병원 소아과에 방문한 생후 6개월에서 48개월 사이 연령의 소아 중 특별한 기저 질환 없이 예방접종이나 정기 검진을 위하여 내원한 소아 20명을 대상으로 하였다.

2. 방법

1) *IL4* 유전자 promoter의 일배체형 결정

대상으로부터 EDTA 튜브에 전혈을 채취한 후 genomic DNA를 추출하였다(Puregene DNA isolation kit, Gentra Systems, Minneapolis, USA). 추출한 genomic DNA는 High Fi-

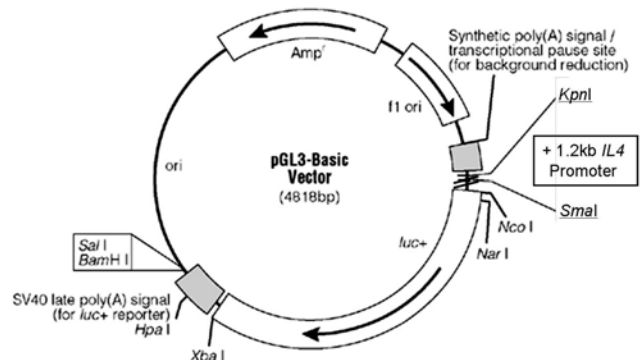


Fig. 1. Transformation of three interleukin-4(*IL4*) promoter haplotypes spanning 1.2 kb region into pGL3 basic vector.

delity Taq Polymerase(Invitrogen, Gaithersburg, USA)를 이용한 중합효소 연쇄 반응으로 1.2 kb 크기의 *IL4* 유전자 promoter를 생산하였다(Table 1). 증폭된 1.2 kb의 *IL4* 유전자 promoter는 dideoxyterminator sequencing(Applied Biosystems, Inc, Foster City, USA)을 통하여 염기서열 분석을 한 후 -1098T/G, -589T/C, 그리고 -33T/C의 다형성 부위에 따른 유전형을 결정하였다. 유전형의 결과를 PHASE¹⁰⁾ 분석을 통하여 각 일배체형별로 최소한 3개 이상의 genomic DNA를 선택하였다.

2) *IL4* 유전자 promoter와 pGL3 basic vector의 형질전환

각 일배체형별로 선정된 1.2 kb의 *IL4* promoter 증폭물과 pGL3 basic vector를 *KpnI*과 *SmaI* 제한효소로 절단한 후 ligation 시켰다(Fig. 1). Ligation 생산물을 DH5 α *E. coli* 세포에 형질전환시킨 후 ampicillin이 포함된 LB agar 평판에 37°C에서 12-16시간 동안 배양한 후 균의 집락군이 형성되면 각 평판마다 약 10개씩 무작위로 선택하여 *IL4* promoter 1.2 kb가 삽입되었는지 중합효소 연쇄 반응으로 재확인하였다. 각 clone마다 염기서열분석을 하여 다른 부위에 변이가 없는 clone을 선택하여 ampicillin이 포함된 LB agar broth에 37°C에서 225 rpm으로 흔들어서 12-16시간 동안 배양한 후 플라스미드 DNA를 추출하였다(plasmid DNA purification Midi kit, Qiagen Inc., Valencia, USA).

3) Transfection 및 Luciferase Assay

Jurkat T 세포는 Fetal Bovine Serum(10%), penicillin과 streptomycin(각각 100 U/mL)을 포함한 RPMI 1640 media로

Table 2. Luciferase Values of the Interleukin-4(*IL4*) Promoter Haplotypes in Both Unstimulated and Phorbol Myristate Acetate (PMA) Stimulated Jurkat T Cells

Haplotypes, <i>IL4</i> promoter	Luciferase values(Geomean ± SD)*		Fold ratio(mean ± SD)†	
	Unstimulated	PMA(50 ng/mL)	Unstimulated	PMA(50 ng/mL)
No reporter	36 ± 30	65 ± 70	1.0 ± 2.7	1.8 ± 2.1
GCC	4,986 ± 680	19,044 ± 1,764	138.5 ± 20.1	529.7 ± 41.7
TCC	20,988 ± 3,189	56,376 ± 4,375	583.0 ± 74.6	1,566.1 ± 48.9
TTT	25,956 ± 24,306	77,256 ± 6,249	721.2 ± 73.8	2,146.4 ± 197.3

* Luciferase values were normalized to protein concentration

† Fold ratio was shown compared to unstimulated Jurkat T cells which were transfected with pGL3 vectors only

37°C, 5% CO₂에서 2×10⁶개의 세포를 5 µg의 plasmid DNA와 혼합한 후 electroporator를 이용하여 transfection 시켰다(260 mV, 50 ms pulse). 이 때 자극하지 않은 정상 세포와 phorbol myristate acetate(PMA, 50 ng/mL)로 자극한 세포로 각각 시행하였으며, 각 실험은 3개의 중복 실험(triplicate)으로 하여 3회 시행하였다. Transfection한 Jurkat T 세포는 5시간 배양시킨 후 500×g, 상온에서 8분간 원침한 후 세포 침전물을 용해하여 -80°C에 최소한 15분 이상 얼린 후 실온에서 해동하여 8°C, 4,000 rpm에서 15분간 원침한 후 상층액 20 µL를 luciferase assay에 사용하였다(Promega, Madison, USA).

100 µL의 luciferase substrate를 각 well에 주입하여 fluorochromic 반응으로 Microplate Luminometer LB96V(EG+G Berthold)에서 luciferase assay를 시행하였다. 기초치는 1×Reporter Lysis Buffer의 값을 사용하였으며, Protein Dye Reagent(Bio-Rad, Hercules, USA)로 단백질 농도를 측정하여 luciferase 값을 정상화하였다.

결 과

1. *IL4* 유전자 promoter 일배체형의 분포

대상 환자 20명의 *IL4* 유전자 promoter의 변이는 세 부위에서 -1098T/G, -589T/C, 그리고 -33T/C의 다형성으로 나타났다. 40개의 염색체에서 발견된 다형성을 토대로 일배체형을 분석한 결과, TTT(N=30, 76%), TCC(N=7, 17%), 그리고 GCC(N=3, 7%)의 빈도로 나타났다.

2. *IL4* 유전자 promoter 일배체형에 따른 활성도

각 실험에서 3개의 중복 실험으로 시행한 3회의 luciferase assay 결과, 활성도의 절대치에는 차이가 있었으나, 각 일배체형에 따른 상대적인 활성도의 비교에는 3회의 실험에서 유사한 결과를 나타냈다. 세 가지 일배체형에 따른 Jurkat T 세포의 luciferase 활성도의 절대치와 reporter가 없는 vector를 transfection한 세포를 대조치로 한 활성도의 비율(fold ratio)은 Table 2에 제시된 바와 같다. Jurkat T 세포의 절대 luciferase 활성도는 GCC형이 가장 낮았고 TTT형이 가장 높았으며 TCC형은

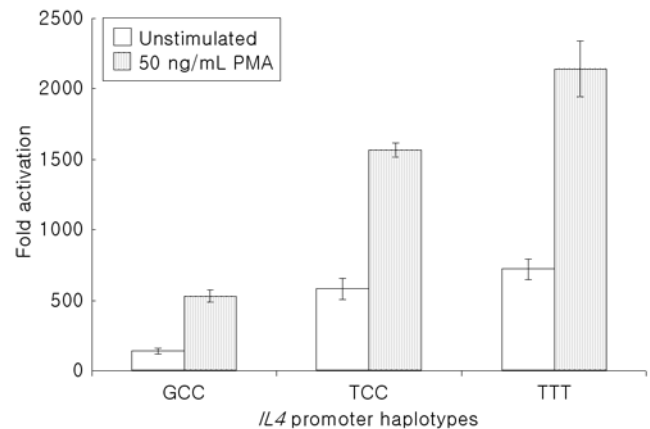


Fig. 2. Transcriptional activity of three interleukin-4(*IL4*) promoter haplotypes in both unstimulated and phorbol myristate acetate(PMA) stimulated Jurkat T cells.

중간이었다(Table 2). GCC 일배체형을 기준으로 하여 나타낸 Jurkat T 세포의 상대 luciferase 활성도는 TCC형이 4.2배, TTT형이 5.3배로 증가되었다. PMA로 자극한 후에 측정된 각 일배체형의 luciferase 활성도 역시 GCC형에 비하여 TCC형이 3.0배, TTT형이 4.1배로 증가되어 자극하지 않은 세포에서와 유사한 활성도의 차이를 보였다(Fig. 2).

고 찰

본 연구에서는 우리나라 소아에서 심한 RSV 모세기관지염과 *IL4* 유전자의 일배체형에 따른 기능적 차이를 밝히고자 *IL4* 유전자 promoter 일배체형에 따른 전사능의 차이에 대한 분석을 시행한 결과, 심한 RSV 모세기관지염의 환자에 흔히 발견되는 TTT 일배체형은 GCC형과 TCC형에 비하여 높은 전사능을 나타내는 것을 알 수 있었다.

RSV는 영아 및 소아에서 가장 흔한 바이러스성 하기도 감염의 원인이다^{11, 12)}. RSV 모세기관지염을 앓은 영아는 이후에 반복적인 천명이 재발할 수 있으며, 영아기에 RSV 모세기관지염으로 입원한 기왕력은 소아기의 반응성 기도질환의 주요한 위험 인자로 알려져 있다¹³⁾. 심한 RSV 모세기관지염은 폐의 기능적

및 면역학적 이상 소견의 원인으로 대부분 이해되지만, 반면에 이러한 기존의 폐의 이상을 시사하는 지표라고 생각하는 견해도 있다¹⁴⁾.

RSV 모세기관지염을 앓은 후 천명을 지속적으로 보이는 소아는 천명을 합병하지 않은 소아에 비하여 혈청 IgE 농도와 호산구수가 의미있게 증가되어 있다¹⁵⁾. 즉, 이 소견은 RSV 모세기관지염의 급성기에 Th2 사이토카인 반응이 RSV에 감염된 소아를 보다 용이하게 반복적인 천명을 발생하게 하는 중요한 기전일 수도 있다는 점을 시사하고 있다. 이는 다시 말하면, Th1과 Th2 사이토카인 반응의 균형이 어느 한쪽으로 치우쳐짐에 따라, RSV 감염증이 가벼운 감기 또는 심한 RSV 모세기관지염 중 어느 한쪽의 임상 양상을 보일 수 있다는 가설을 뒷받침한다고 볼 수 있다.

동물 모델에서도 불활성화 RSV 백신을 접종받고 나서 이차적으로 RSV에 노출된 후 심한 폐 병변을 합병하는 흰쥐는 Th1 반응에 비하여 Th2 사이토카인 반응을 우세하게 보인다^{16, 17)}. 이러한 소견을 종합하면 Th2 반응이 우세하는 쪽으로 숙주반응이 편향될 때 심한 RSV 모세기관지염이 생길 수 있다고 가정할 수 있다. IL-4는 Th2 면역 반응의 매개체 중 아주 중요한 역할을 하는 사이토카인 중의 하나로 이를 주축으로 한 Th2 면역 반응은 소아의 심한 RSV 모세기관지염 뿐 아니라 소아 천식과 아토피 등의 주요한 발병기전이다¹⁸⁾.

인간 유전체 연구(human genome project)가 거의 완성되는 시기에 인간에게 가장 흔한 유전자의 다양성은 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)이라고 알려져 있으며, 이들 SNP를 이용하여 다양한 질환들의 유전적인 원인을 찾고자 하는 연구들이 최근에 많이 시행되고 있다. 그러나 실상 그러한 구조의 다양성이 그 유전자의 기능을 어떻게 변화시키는데 대한 연구는 극히 제한되었다. 그 이유는 SNP의 범위가 그 구조와 숫자면에서 매우 광범위하기 때문이다. 그러므로, 막대한 숫자의 SNP의 기능적인 연구를 보다 효율적으로 이루기 위하여 단일한 SNP를 대상으로 하기보다는 주로 promoter와 아미노산의 서열을 변화시키는 exon의 일배체형을 우선 중점적으로 진행하려는 추세이다¹⁹⁾.

IL4 유전자의 다형성에 따른 IL-4 단백질의 기능적인 변화는 IL4 유전자의 promoter의 다형성 중의 하나인 -589T/C와 연관되어 연구가 되었다. 즉, IL4 유전자의 -589T 대립유전자는 -589C에 비하여 IL4 유전자 promoter 전사능이 높은 것으로 알려져 있다²⁰⁾. IL4 유전자 promoter의 다형성에 따른 일배체형은 한국인에서 3가지의 유형이 있는데 이 중에 가장 흔한 TTT 일배체형은 심한 RSV 모세기관지염을 가진 한국인 소아에서 대조군에 비하여 그 빈도가 높게 분포하는 것으로 이미 보고된 바 있다⁹⁾. 본 연구의 결과에 따르면, TTT 일배체형의 전사능은 GCC나 TCC 일배체형에 비하여 높은 것으로 나타났다. 즉, 이상의 두 가지 소견을 종합하면, 심한 RSV 모세기관지염 환자에서는 IL4 유전자 promoter의 높은 전사능을 나타내는 TTT 일

배체형의 빈도가 높게 분포한다고 할 수 있다. 그러므로, 이의 결과는 TTT 일배체형은 전사능의 증가를 통하여 RSV 모세기관지염의 병인에 중요하게 작용할 것으로 추측된다.

본 연구를 통한 IL4 유전자의 일배체형과 IL-4 단백질의 기능적인 연관성에 대한 결과는 RSV 모세기관지염의 예후 및 소아기 천식과 관련되는 연구에 기초적인 자료를 제공함으로써 이 두 질환에 대한 연구 방향의 결정에 참고자료를 마련하고 향후 바이러스성 하기도 감염과 그의 합병증으로 발생하는 반복적인 천명과 천식의 진료에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

목적 : IL-4는 Th2 면역 반응의 중요한 매개체로 IL4 유전자의 promoter 일배체형(haplotype)은 한국인 소아에서 RSV에 의한 심한 모세기관지염과 연관된다고 알려져 있다. 본 연구는 IL4 유전자의 promoter 다형성에 따른 IL-4 단백질의 기능적인 변화를 분석하여 심한 RSV 하기도 감염증에 기여하는 IL4 유전자의 발병 기전의 연관성을 연구하고자 시행하였다.

방법 : 면역 기능이 정상인 소아 20명을 대상으로 전혈을 채취한 후 genomic DNA를 추출하여 IL4 유전자 promoter 약 1.2 kb 부위를 증폭시켰다. 염기서열 분석을 통하여 IL4 유전자 promoter의 유전형을 결정하고, PHASE 분석으로 일배체형을 결정하였다. 각 일배체형별로 5 µg의 DNA를 Jurkat T 세포에 핵형질변환 시켜서 정상 Jurkat T 세포와 PMA(50 ng/mL)로 자극한 세포에서의 luciferase 활성도를 분석하여 IL4 유전자 promoter의 전사능을 결정하였다.

결과 : 한국인 소아의 일배체형은 3가지 유형 GCC(7%), TCC(17%), 및 TTT(76%)로 분포하였다. Jurkat T 세포의 절대 luciferase 활성도는 GCC형이 가장 낮았고 TTT형이 가장 높았다. GCC 일배체형을 기준으로 하여 나타낸 Jurkat T 세포의 상대 luciferase 활성도는 TCC형이 4.2배, TTT형이 5.3배로 증가되었다. PMA로 자극한 후에 측정된 각 일배체형의 luciferase 활성도 역시 GCC형에 비하여 TCC형이 3.0배, TTT형이 4.1배로 증가되어 자극하지 않은 세포에서와 유사한 활성도의 차이를 보였다.

결론 : 소아의 심한 RSV 하기도 감염증과 연관된 IL4 유전자의 promoter 일배체형 TTT는 IL4 유전자의 promoter의 전사능을 증가시킴으로써 영아 및 소아의 RSV 하기도 감염증의 병인에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

References

- 1) Collins PL, Chanock RM, Murphy BR. Respiratory syncytial virus. In : Knipe DM, Howley PM, Griffin D, editors. Fields virology. 4th ed. Vol. 1. Philadelphia : Lippincott-Raven, 2001:1443-86.
- 2) Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of pri-

- mary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child* 1986;140:543-6.
- 3) Chiba Y, Higashidate Y, Suga K, Honjo K, Tsutsumi H, Ogra PL. Development of cell-mediated cytotoxic immunity to respiratory syncytial virus in human infants following naturally acquired infection. *J Med Virol* 1989;28:133-9.
 - 4) Kelly BL, Locksley RM. Coordinate regulation of the IL-4, IL-13, and IL-5 cytokine cluster in Th2 clones revealed by allelic expression patterns. *J Immunol* 2000;165:2982-6.
 - 5) Graham BS, Henderson GS, Tang YW, Lu X, Neuzil KM, Colley DG. Priming immunization determines T helper cytokine mRNA expression patterns in lungs of mice challenged with respiratory syncytial virus. *J Immunol* 1993; 151:2032-40.
 - 6) Schwarze J, Cieslewicz G, Joetham A, Ikemura T, Makela MJ, Dakhama A, et al. Critical roles for interleukin-4 and interleukin-5 during respiratory syncytial virus infection in the development of airway hyperresponsiveness after airway sensitization. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162: 380-6.
 - 7) Roman M, Calhoun WJ, Hinton KL, Avendano LF, Simon V, Escobar AM, et al. Respiratory syncytial virus infection in infants is associated with predominant Th-2-like response. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:190-5.
 - 8) Fischer JE, Johnson JE, Kuli-Zade RK, Johnson TR, Aung S, Parker RA, et al. Overexpression of interleukin-4 delays virus clearance in mice infected with respiratory syncytial virus. *J Virol* 1997;71:8672-7.
 - 9) Choi EH, Lee HJ, Yoo T, Chanock SJ. A common haplotype of interleukin-4(IL4) gene is associated with severe respiratory syncytial virus disease in Korean children. *J Infect Dis* 2002;186:1207-11.
 - 10) Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001;68:978-89.
 - 11) Yun BY, Kim MR, Park JY, Choi EH, Lee HJ, Yun CK. Viral etiology and epidemiology of acute lower respiratory tract infections in Korean children. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:1054-9.
 - 12) Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Parrott RH. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol* 1973;98:216-25.
 - 13) Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999;354:541-5.
 - 14) Martinez FD, Stern DA, Wright AL, Taussig LM, Halonen M. Differential immune responses to acute lower respiratory illness in early life and subsequent development of persistent wheezing and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:915-20.
 - 15) Ehlenfield DR, Cameron K, Welliver RC. Eosinophilia at the time of respiratory syncytial virus bronchiolitis predicts childhood reactive airway disease. *Pediatrics* 2000;105:79-83.
 - 16) Connors M, Giese NA, Kulkarni AB, Firestone CY, Morse HC, 3rd, Murphy BR. Enhanced pulmonary histopathology induced by respiratory syncytial virus(RSV) challenge of formalin-inactivated RSV-immunized BALB/c mice is abrogated by depletion of interleukin-4(IL-4) and IL-10. *J Virol* 1994;68:5321-5.
 - 17) Tang YW, Graham BS. Anti-IL-4 treatment at immunization modulates cytokine expression, reduces illness, and increases cytotoxic T lymphocyte activity in mice challenged with respiratory syncytial virus. *J Clin Invest* 1994;94:1953-8.
 - 18) Shirakawa I, Deichmann KA, Izuhara I, Mao I, Adra CN, Hopkin JM. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. *Immunol Today* 2000;21:60-4.
 - 19) Taylor JG, Choi EH, Foster CB, Chanock SJ. Using genetic variation to study human disease. *Trends Mol Med* 2001;7: 507-12.
 - 20) Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback JK, Inamura H, Mascali JJ, Klinnert M, et al. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin Exp Allergy* 1995;25(suppl 2):74-8.