

Mannose Binding Lectin 유전자 다형성과 가와사끼병 발병의 연관성에 관한 Pilot 연구

서울대학교 의과대학 소아과학교실, 동국대학교 의과대학 소아과학교실*

최은화 · 김희섭* · 이환중 · 최정연

Association of Mannose Binding Lectin Gene Polymorphisms with the Development of Kawasaki Disease: A Pilot Study

Eun Hwa Choi, M.D., Hee Sup Kim, M.D.,* Hoan Jong Lee, M.D.
and Jung Yun Choi, M.D.

Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine
Department of Pediatrics*, Dongguk University College of Medicine

Purpose : We hypothesized that the mannose binding lectin gene (*MBL2*), a key molecule of innate immunity may contribute to the development of Kawasaki disease (KD) in early childhood. This study was performed to investigate the polymorphisms of *MBL2* and the risk of developing KD in Korean children.

Methods : The study subjects were 112 children with KD who were admitted to the Seoul National University Bundang Hospital between October 2003 and March 2005. The control subjects consisted of 224 anonymous, healthy Korean blood donors. Extracted genomic DNA was amplified for codon 54 of *MBL2* exon 1 and alleles (a and b) were assigned via sequencing analysis. The frequency of the alleles of the *MBL2* exon 1 was compared between the case and control groups.

Results : The median age of patients was 27 months (range, 3 months-7 years), 45.5% were <24 months of age and 54.5% were ≥2 years. The genotype distribution reached Hardy-Weinberg equilibrium in both cases and control subjects. In the cases with KD, the genotypic frequencies of codon 54 polymorphisms were 67.9% for aa, 29.5% for ab, and 2.6% for bb. There were no significant differences in the overall distribution of the polymorphisms between the cases and the control subjects. In addition, the genotype distribution was not different according to age.

Conclusions : Our findings indicate that the codon 54 polymorphism of the *MBL2* gene is not likely to contribute to the risk of developing KD in Korean children. Further studies on the development of coronary artery lesions with regard to *MBL2* genotypes are warranted. (*Korean J Pediatr Infect Dis* 2008;15:195-201)

Key Words : Kawasaki disease, Mannose binding lectin, Polymorphism, Innate immunity

서 론

이 논문은 분당서울대학교병원 일반연구비(02-2006-008)에 의해 이루어진 것임.

책임저자 : 최정연, 서울대학교 의과대학 소아과학교실

Tel : 031)787-7281, Fax : 031)787-4054

E-mail : choi3628@snu.ac.kr

가와사끼병은 소아기의 급성 전신성 혈관염으로, 소아 연령에서 가장 흔한 후천성 심질환의 원인이다¹⁾. 가와사끼병이 처음으로 보고된 1967년 이후 약 40년 동안 가와사끼병의 원인에 대한 연구가 지속적으로 이루어

어지고 있으나 아직까지 확실한 병인이 밝혀지지 않았다. 그러나 가와사키병이 유행성으로 나타나는 역학적인 소견²⁾, 지역에 따른 집단 발생³⁾, 계절적 유행⁴⁾ 및 임상 증상이 소아의 흔한 감염성 질환과 유사하다는 점 등으로 미루어 보아 감염이 가와사키병의 원인일 것이라고 주장되지만, 원인균은 아직 밝혀지지 않았다. 한편, 인종에 따른 발병 빈도의 차이, 가족내의 발병률 등에 관한 전통적인 역학적 연구는 가와사키병의 발병이 유전적인 성향을 갖는다는 것을 보고하였다. 또한, *HLA* antigen과 immunoglobulin allotypes와 같은 고전적인 유전학적 연구와 병인론에 기초하여 후보 유전자를 대상으로 한 genetic association 연구 등을 통하여 가와사키병의 발병 및 질환의 경과와 연관된 다양한 유전자에 대한 결과가 보고되었다.

선천성 면역(innate immunity)은 인체의 방어 기전에서 일차적인 방어에 근본적인 역할을 할 뿐 아니라, 적응성 면역(adaptive immunity)의 활성화 및 상호 작용에 대한 선천성 면역의 조절 기능은 임상적으로 매우 중요하다⁵⁾. Collectin (C-type lectin)은 선천성 면역에 관련된 중추적 기능을 하는데, 이 중 mannose binding lectin (MBL)을 코딩하는 유전자 Mannose Binding Lectin (*MBL2*)은 단백질 코딩 부위와 promoter 부위의 유전적 다형성(polymorphisms)이 감염성 질환, 자가면역 질환 등 다양한 질환의 유전적 소인으로 밝혀진 바 있다^{6, 7)}.

본 연구는 소아에서 선천성 면역의 중요한 인자인 *MBL2* 유전자의 다형성 분포를 환자 대조군 연구를 통하여 분석함으로써, *MBL2* 유전자의 다형성이 소아 가와사키병의 발생에 기여하는지를 밝히고자 하였다.

대상 및 방법

1. 환자군과 대조군

2003년 10월부터 2004년까지 3월까지 18개월 동안 분당서울대학교병원 소아청소년과에 가와사키병으로 진

단받고 입원 치료를 받은 112명을 대상으로 하였다. 가와사키병의 진단기준은 1) 5일 이상 지속되는 발열과 2) 다음 5가지 증상 및 징후; (1) 화농이 없는 양측성 결막 충혈, (2) 부정형 발진, (3)입술의 홍조 및 균열, 딸기 혀, 구강 발적, (4) 급성기의 손발의 경성 부종과 홍조, 아급성기의 손발톱 주위의 막양 낙설, (5) 급성기의 비화농성 경부 림프절 비대(15 mm 이상) 중 4가지 이상을 나타낸 경우로 정의하였다. 대조군은 서울대학교병원 건강검진센터에서 진찰받은 성인 중 만성 또는 특이 기저 질환이 없는 건강한 성인 224명으로 하였다.

2. *MBL2* 유전자의 유전형 결정

대상 환자 112명과 정상 대조군 224명으로부터 EDTA 전혈을 채취하여 modified salt precipitation 방법을 이용하여 genomic DNA (gDNA)를 추출하였다(Gentra, Inc. Mineapolis, USA)⁸⁾. 중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, 이하 PCR)에 사용한 시발체는 Table 1과 같다. PCR 반응은 gDNA를 10-50 ng를 사용하였으며, 10X reaction buffer 1 μ L, MgCl₂ 2.0 mM, dNTP mix 0.2 mM, 전시발체와 역시발체 각각 20 pmol, AmpliTaq Gold DNA polymerase 2.5 units (Applied Biosystems, Inc, Foster City, USA)를 혼합하여 PCR을 시행하였다. 증폭된 각 PCR 생산물은 1.5%의 agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다. 증폭한 PCR 생산물 중 8 μ L를 취하여 Exonuclease I과 Shrimp alkaline phosphatase를 이용하여 정제(37 $^{\circ}$ C 1시간, 72 $^{\circ}$ C 15분 반응)한 후 4 $^{\circ}$ C에 보관하였다가 염기서열 분석에 사용하였다. 염기서열 반응은 BigDyeTM Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Inc)를 사용하여 dideoxy chain termination법으로 DNA Engine (MJ research, Waltham, USA)에서 96 $^{\circ}$ C 2분 [94 $^{\circ}$ C 30초, 55 $^{\circ}$ C 30초, 60 $^{\circ}$ C 4분] cycle을 25회 시행하였다. 반응 후에 산물을 Sephadex column을 이용하여 정제한 후에 ABI 3100 automated sequencer (Applied Biosystems, Inc)에서 전기영동한 후 자료는 Sequencing analysis v3.3

Table 1. Primers Used for Genotyping of the Mannose Binding Lectin Gene

Locus	Sequence (5'→3')
Structural variant (codon 54)	F: cct gag tat ggt ggc agc gtc tta ct R: cag gca gtt tcc tct gga agg S: act gtg acc tgt gag gat gcc caa aag

Abbreviations : F, forward; R, reverse; S, sequencing primer

(Applied Biosystems, Inc)으로 분석하였다. 염기 서열의 변이 분석에는 Sequencher 4.1.1 (Gene Codes Co, Ann Arbor, USA)를 사용하였다. *MBL2* 유전자의 다형성 중 exon 1에서 codon 54에 대한 코딩 변이를 분석하였다. 변이가 없는 경우를 대립 유전자 'a'로 표시하였으며, 변이가 있는 경우를 대립유전자 'b'로 표시하였다(Fig. 1)⁷⁾.

3. 의무기록 고찰

가와사키병으로 진단받은 환자군의 의무 기록을 검토하여, 환자들의 연령, 임상 증상, 입원 시기 및 정맥내 고용량 면역글로불린(2 g/kg)과 아스피린의 사용 여부 등을 분석하였다. 이번 pilot 연구에서는 심에코 검사 결과의 분석은 포함하지 않았다. 환자군으로부터 얻은 모든 임상 기록은 유전적 연구가 시행되기 전에 미리 분석하여 완성하였다.

4. 통계적 분석

환자군과 대조군간의 각 유전형의 빈도는 3×2 표를 이용한 Chi square test로 비교하였으며, 대립유전자의 빈도는 3×2 표를 이용한 Chi square test로 비교하였다. *P* 값이 0.05 미만인 경우 두 군간의 빈도에 차이가 있는 것으로 해석하였다. 모든 통계적 분석에는 GraphPad InStat V 3.06 (GraphPad Software, Inc. San Diego, USA)을 이용하였다.

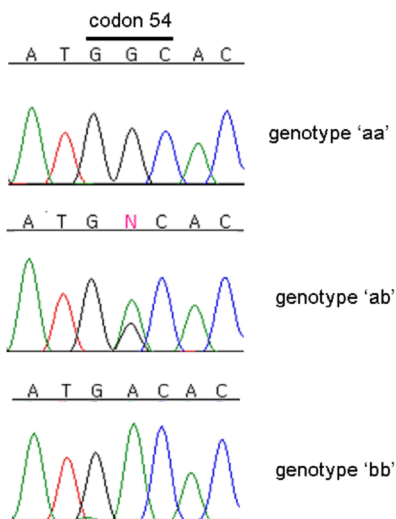


Fig. 1. Genotypes of codon 54 of the Mannose Binding Lectin gene demonstrated by sequencing analysis.

결 과

1. 환자 대조군의 특성

가와사키병 환자군은 총 112명으로 중앙 연령은 27개월로 연령의 범위는 3개월부터 7세까지 분포하였다. 이 중 24개월 미만인 51명(45.5%), 그리고 24개월 이상인 55명(54.5%)이었다. 남자는 66명(58.9%), 여자는 46명(41.1%)이었다(Table 2). 대조군 224명의 연령분포는 평균 46.9세(SD±9.2세)로 23세부터 62세 사이에 분포하였다. 대조군의 남녀비는 남자 125명(55.8%), 여자 99명(44.2%)이었다.

2. 환자 대조군에서 *MBL2* 다형성의 분포

가와사키병 환자군 112명과 대조군 224명에서 *MBL2* codon 54의 대립유전자 b의 빈도는 Table 3에 제시하였다. 대조군에서 유전형 aa 141 (62.9%), 이형접합 ab 69 (30.8%), 그리고 유전형 bb 14 (6.3%)로 나타났다. 환자군에서는 유전형 aa 76 (67.9%), 이형접합 ab 33 (29.5%), 그리고 유전형 bb 3 (2.6%)로 나타났다. 두 군간의 exon 1의 유전형의 빈도에는 유의한 차이가 없었다. 또한, 환자군과 대조군 모두에서 codon 54 다형성의 대립유전자 빈도는 Hardy-Weinberg 평형을 이루어 검사 대상의 선정에 따른 오차의 영향은 크지 않았을 것으로 보인다.

3. 가와사키병 환자군에서 연령에 따른 *MBL2* 유전형의 분포

가와사키병 환자군을 24개월 미만인 51명과 24개월 이상인 61명으로 나누어 연령별 *MBL2*의 codon 54 다형성의 분포를 비교한 결과를 Table 4에 정리하였다. 24개월 미만인 연령군에서의 유전형 분포는 aa 35명

Table 2. Demographic Characteristics of the 112 Patients with Kawasaki Disease

Demographic Findings	Values
Age	
Median (Range)	27 months (3 months-7 years)
Group, n (%)	
<24 months	51 (45.5)
≥24 months	61 (54.5)
Male:Female, n (%)	66:46 (58.9:41.1)

Table 3. Comparison of Genotypes of the *Mannose Binding Lectin* Gene Between the Cases and the Control Subjects

Genotype	Cases with Kawasaki disease (N=112)	Controls (N=224)	P value
Codon 54			
aa	60 (61%)	141 (63%)	0.78
ab	34 (34%)	69 (31%)	
bb	5 (5%)	14 (6%)	

Comparative analysis was performed at each of 2 loci using chi-square analysis (3×2 table with 2 degrees of freedom)

Table 4. Comparison of Genotypes of the *Mannose Binding Lectin* Gene According to Age Group among the Cases with Kawasaki Disease

Genotype	Cases with Kawasaki disease		P value
	<24 months of age (N=51)	≥24 months of age (N=61)	
Codon 54			
aa	35 (68.6%)	41 (67.2%)	0.35
ab	14 (27.5%)	19 (31.2%)	
bb	2 (3.9%)	1 (1.6%)	

Comparative analysis was performed using a chi-square analysis (3 x 2 table with 2 degrees of freedom)

(68.6%), ab 14명(27.5%) 및 bb 2명(3.9%)으로 나타났으며, 24개월 이상인 연령군에서의 유전형 분포는 aa 41명(67.2%), ab 19명(31.2%) 및 bb 1명(1.6%)로 나타나, 두 군간에 통계적인 차이가 없었다($P=0.23$) (Table 4).

고 찰

본 연구는 2003년 10월부터 2005년 3월까지 18개월 동안 일개 병원에서 가와사키병으로 입원 치료받은 한국인 소아 112명을 대상으로, 선천성 면역에 중요한 인자인 *MBL2* 유전자가 가와사키병의 발병에 기여하는지를 밝히기 위하여 환자 대조군 연구를 시행한 결과, 한국인 소아에서는 *MBL2* 유전자의 다양성과 가와사키병 발병간의 연관성이 없음을 확인하였다.

가와사키병은 소아기에 발병하는 주요 질환이며 소아 후천성 심질환의 가장 흔한 원인이다. 발병 이후 성인 연령에서의 심혈관계 질환에 기여할 가능성이 높다. 현재까지 가와사키병의 유전적 성향에 대한 연구가 산발적으로 진행되었지만 대부분, 환자수 부족, 통계학적 파워 문제점, 그리고 연구 유전자 선정 등에 제한점이 있었다^{9, 10)}.

선천성 면역은 인체의 방어 기전에서 일차적 방어에 근본적인 역할을 할 뿐 아니라, 적응성 면역의 활성화 및 상호 작용에 대한 선천성 면역의 조절 기능은 임상적

으로 매우 중요하다. 가와사키병은 주로 5세 이하의 소아에 발병하는 질환으로, 아직 적응성 면역(adaptive immunity)이 체계적으로 완성되지 않은 어린 연령의 소아는 선천성 면역과 관련된 인자가 이 질환의 발병에 중요한 기전으로 작용할 수 있다.

MBL2 유전자는 염색체 10q11-q23에 위치하면서 amino-terminal region, collagen-like domain, neck, carbohydrate recognition domain 등의 4가지 기본 구조를 이루는 collectin (C-type lectin) 계에 속한다^{7, 11-13)}. *MBL2* 유전자의 다형성 중 본 연구에서는 mannose binding protein의 구조적인 결함을 야기하는 부위로 알려진 exon 1의 구조 변이를 분석하였다¹⁴⁾. Exon 1의 구조 변이 부위는 collagen domain의 정상적인 소중합체(oligomer) 구조를 약화시킴으로써 혈청내 단백질의 농도 저하, 옅소년화의 저하, 고전 보체계 연쇄반응 등의 기능적인 장애를 초래한다. *MBL2* 유전형에 따른 기능적 변화에 따라 MBL-불충분(insufficient) 군과 MBL-충분(sufficient) 군으로 구별한다¹⁴⁾.

아직 가와사키병의 원인이 확실하게 밝혀지지는 않았지만 유전적으로 감수성이 있는 사람에서 병원체에 대한 비정상적인 면역 반응을 일으키는 감염이 원인이라는 이론이 강하게 제기되고 있다¹⁵⁾. 초기의 유전학적 원인에 대한 연구는 주로 HLA antigen과 immunoglobulin allotypes에 주로 관심을 갖고 고전적인 유전학적 연구

를 시도하였다. HLA B5, Bw51 및 Bw44과 immunoglobulin allotype Km1과 Gm 등이 가와사끼병의 발병에 어느 정도 기여할 것으로 알려졌으나, 보고에 따라 연관성이 상이할 뿐 아니라, 이들의 유전적인 기여도가 매우 미미한 것으로 밝혀졌다¹⁶⁻¹⁸.

최근에는 가와사끼병의 면역학적인 측면에서의 병인론적 연구가 증가하고 있는 추세이며, 면역 반응에 관여하는 유전자에 관한 연구가 많이 시행되고 있다. 특히 candidate gene approach를 위주로 한 genetic association 연구가 가장 많이 시도되고 있다. 그 예로는 lymphotoxin- α 유전자(+250 AA 유전형)와 결핵의 대표적 유전적인 원인으로 알려진 *SLC11A1* 유전자(allele 1 of (GT)n repeat)가 가와사끼병의 유전적인 소인으로 작용할 것이라고 보고되었다^{19, 20}.

관상동맥 병변은 가와사끼병에서 가장 중요한 합병증으로 치료하지 않은 경우에는 30%에서, 그리고 치료한 경우에는 약 10%에서 발생한다^{5, 21}. 관상동맥 병변은 환자의 염증 반응의 정도와 밀접한 관계가 있으며 염증 반응의 정도는 주로 유전적으로 결정된다고 알려지고 있다. 염증매개체(proinflammatory mediator; cytokine, nitric oxide, vascular growth factor 등)의 생산과 숙주의 염증 반응 정도의 차이가 관상동맥 병변의 발현 여부에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 그러므로 가와사끼병의 예후에 영향을 미치는 인자에 관해서는 주로 심혈관계 병변을 조절하는 염증매개체를 중심으로 연구가 이루어졌다. Angiotensin 1 converting enzyme (ACE)의 intron 16의 insertion 유전형²²과 tumor necrosis factor- α (TNF) 유전자의 -308A/G 유전형¹⁹이 가와사끼병의 관상동맥 병변을 동반한 환자군에서 동반하지 않은 환자군에 비하여 더 흔하게 보고되어, 심혈관계의 항상성(homeostasis)과 염증 반응을 조절하는 유전자가 관상동맥 병변의 발생에 기여할 것이라는 주장을 뒷받침하고 있다.

또한, *MBL2* 유전자의 다형성과 가와사끼병의 발병과 예후에 기여한다고 보고되었다²³. 가와사끼병 환자 90명의 49%인 44명에서 구조적 다형성(structural variant) 중 하나 이상을 소유한 반면, 83명의 건강한 정상대조군은 32%인 28명에서 구조적 다형성을 나타내, *MBL2* 유전자의 구조적 다형성이 가와사끼병 발병률의 차이와 연관되었음을 보고하였다. 이 연구에서 특히 흥미로운 점은 가와사끼병 환자 중 1세 미만의 소아는 *MBL2* 유전자의 구조적 다형성을 소유한 환자가 정상 *MBL2* 유전형을 가진 환아에 비하여 관상동맥 병변의

합병증을 나타내는 확률이 높다고 보고하였다. 즉, 선천성 면역과 관련된 *MBL2*의 유전형이 1세 미만의 관상동맥 병변의 동반과 연관되어 예후를 결정하는 인자가 되며(odds ratio, 15.7; 95% CI, 1.4-176.5; $P=0.026$), 이는 가와사끼병의 병인에 선천성 면역이 중요할 것임을 시사한다고 볼 수 있다. 이러한 결과와는 대조적으로, Netherlands의 연구에서는 1세 미만인 가와사끼병 환자에서는 구조적 다형성을 가진 소아가 관상동맥 병변을 합병할 위험이 더 높았던 반면에 1세 이상에서는 정상 *MBL2* 유전형을 가진 소아가 관상동맥 병변을 합병할 위험이 더 높게 나타나, 연령에 따라서 서로 다른 유전형이 위험 인자로 작용한다고 보고하였다²⁴.

그러나, 본 연구에서는 관상동맥의 합병증과의 연관성을 분석하지 않았으므로, 가와사끼병의 발병 이외에 예후와 관련된 인자에 대해서는 연구하지 않은 예비 결과로 발표하게 되었으며, 가와사끼병과 관련된 유전적 연구는 향후 지속되어야 할 것으로 보인다.

결론적으로, 본 연구의 결과는 *MBL2* 유전자의 다형성이 한국인 소아의 가와사끼병의 발병에 기여하는 예후 인자일 가능성이 적다는 것을 시사한다. 하지만, 본 연구에 포함된 환자의 수, 대조군의 적절성 등을 고려할 때, *MBL2*와 가와사끼병의 발병의 연관성이 전혀 없다고 결론내리기는 아직 미흡하다. 따라서, 향후 전향적으로 수집한 더 많은 수의 환자군과 적절한 대조군을 통한 연구의 뒷받침이 있어야 할 것으로 생각되며, 관상동맥 병변의 동반과 연관된 유전적 성향을 밝히는 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 본 연구는 어린 연령의 소아에서 선천성 면역력의 중요한 인자인 Mannose Binding Lectin (*MBL2*) 유전자 다형성의 분포를 가와사끼병 환자군과 정상대조군에서 분석함으로써, *MBL2* 유전자의 다양성이 소아의 가와사끼병의 발생에 기여하는지를 밝히고자 하였다.

방법 : 대상은 2003년 10월부터 2005년 3월까지 18개월 동안 분당서울대학교병원 소아청소년과에서 가와사끼병으로 진단받고 치료받은 112명의 환자군과 건강한 성인 224명의 대조군으로 선정하였다. 유전형 분석은 선천성 면역의 중추적 역할을 하는 *MBL2* 유전자의 codon 54의 분포를 환자대조군에서 비교하여 분석하였다.

결과 : 환자군 112명의 중앙 연령은 27개월로, 24개

월 미만이 45.5%, 24개월 이상이 54.5%를 차지하였다. *MBL2* codon 54 유전형은 환자군과 대조군에서 모두 Hardy-Weinberg 평형을 이루었다. 환자군에서 *MBL2* 유전형은 유전형 aa 67.9%, 이형접합 ab 29.5%, 그리고 유전형 bb 2.6%로 나타났다. Codon 54의 다형성은 환자군과 대조군간에 차이가 없었다. 또한 연령 24개월을 기준으로 하여 비교한 유전형의 분포에도 차이가 없는 것으로 나타났다.

결론: 본 연구 결과, 한국인 소아에서 *MBL2* 유전자의 다형성이 가와사키병의 발병에 기여하는 유전적 인자임을 밝히지 못하였다. 향후 전향적으로 수집한 더 많은 수의 환자군과 적절한 대조군을 통한 연구가 시행되어야 할 것으로 생각한다.

References

- Burns JC, Kushner HI, Bastian JF, Shike H, Shimizu C, Matsubara T, et al. Kawasaki disease: A brief history. *Pediatrics* 2000;106:E27.
- Bell DM, Brink EW, Nitzkin JL, Hall CB, Wulff H, Berkowitz ID, et al. Kawasaki syndrome: description of two outbreaks in the United States. *N Engl J Med* 1981;304:1568-75.
- Nakamura Y, Yanagawa I, Kawasaki T. Temporal and geographical clustering of Kawasaki disease in Japan. *Prog Clin Biol Res* 1987;250:19-32.
- Bronstein DE, Dille AN, Austin JP, Williams CM, Palinkas LA, Burns JC. Relationship of climate, ethnicity and socioeconomic status to Kawasaki disease in San Diego County, 1994 through 1998. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:1087-91.
- Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nat Immunol* 2006;7:131-7.
- Garred P, Madsen HO, Hofmann B, Sveigaard A. Increased frequency of homozygosity of abnormal mannan-binding-protein alleles in patients with suspected immunodeficiency. *Lancet* 1995;346:941-43.
- Garred P, Madsen HO, Sveigaard A. Genetics of human mannan-binding protein. In: Ezekowitz RAB, Sastry K, Reid KBM, eds. *Collectins and innate immunity*, Austin, USA: RG Landes, 1996: 139-64.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16: 1215.
- Fox CS, Cupples LA, Chazaro I, Polak P, Wolf R, D'Agostino R, et al. Genomewide linkage analysis for internal carotid artery intimal medial thickness: evidence for linkage to chromosome 12. *Am J Hum Genet* 2004;74:253.
- Kruglyak L, Daly MJ, Reeve-Daly MP, Lander ES. Parametric and nonparametric linkage analysis: a unified multipoint approach. *Am J Hum Genet* 1996;58:1347-63.
- DiAngelo S, Lin Z, Wang G, Philips S, Ramet M, Luo J, et al. Novel, non-radioactive, simple and multiplex PCR-cRFLP methods for genotyping human SP-A and SP-D marker alleles. *Dis Markers* 1999;15:269-81.
- Eggleton P, Reid K. Lung surfactant proteins involved in innate immunity. *Cur Opin Immunol* 1999;11:28-33.
- Floros J, Hoover GG. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D. *Biochimica et Biophysica Acta* 1998;1408:312-22.
- Madsen HO, Satz ML, Hogh B, Sveigaard A, Garred P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and south America. *J Immunol* 1998;161:3169-75.
- Rowley AH, Shulman ST. Kawasaki syndrome. *Pediatr Clin North Am* 1999;46:313-29.
- Krensky AM, Grady S, Shanley KM, Berenberg W, Yunis EJ. Epidemic and endemic HLA-B and DR associations in mucocutaneous lymph node syndrome. *Hum Immunol* 1983;6:75-7.
- Fildes N, Burns JC, Newburger JW, Klitz W, Begovich AB. The HLA class II region and susceptibility to Kawasaki disease. *Tissue Antigens* 1992; 39:99-101.
- Shulman ST, Melish M, Inoue O, Kato H, Tomita S. Immunoglobulin allotypic markers in Kawasaki disease. *J Pediatr* 1993;122:84-6
- Quasney MW, Bronstein DE, Cantor RM, Zhang Q, Stroupe C, Shike H, et al. Increased frequency of alleles associated with elevated tumor necrosis factor-alpha levels in children with Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2001;49:686-90.
- Ouchi K, Suzuki Y, Shirakawa T, Kishi F. Polymorphism of SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene confers susceptibility to Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2003;187:326-9.
- Barron KS. Kawasaki disease in children. *Curr Opin Rheumatol* 1998;10:29-37.
- Takeuchi K, Yamamoto K, Kataoka S, Tanaka TKA, Sato S, Uchiyama M. High incidence of angiotensin I converting enzyme genotype II in Kawasaki disease patients with coronary aneurysm. *Eur J Pediatr* 1997;156:266-8.
- Biezeveld MH, Kuipers IM, Geissier J, Lam J, Ottenkamp JJ, Hack EC, et al. Association of mannose-binding lectin genotype with cardiovascular abnormalities in Kawasaki disease. *Lancet* 2003;

361:1268-70.

24) Biezeveld MH, Geissler J, Weverling GJ, Kuipers IM, Lam J, Ottenkamp JJ, et al. Polymorphisms in

the mannose-binding lectin gene as determinants of age-defined risk of coronary artery lesions in Kawasaki disease. *Arthritis Rheum* 2006;54:369-76.