

□ 원 저 □

## 천식 환자에서 증상의 정도에 따른 IL-4 유전자 다형에 관한 연구†

고려대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실\*

강세용, 심재정, 조재연, 권영환, 이승룡, 김제형, 이상엽,  
이소라, 한선애\*, 김한겸\*, 강경호, 유세화, 인광호

= Abstract =

### Investigation of the Relationship between Interleukin-4 Promoter Polymorphism and Severity of Patients with Bronchial Asthma

Sea Yong Kang, MD., Jae Jeong Shim, MD., Jae Yun Cho, MD., Young Hwan Kwon, MD.,  
Seung Yong Lee, MD., Je Hyeong Kim, MD., Sang Youb Lee, MD., So Ra Lee, MD.,  
Seon Ae Han, PhD., Han Gyum Kim, MD., Kyung Ho Kang, MD.,  
Se Hwa Yoo, MD., kwang Ho In, MD.

*Department of Internal Medicine, and Pathology\*, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea*

**Background :** Interleukin-4 plays an important role in pathogenesis of asthma, especially in developing atopy by means of switching B lymphocytes to produce IgE. It has been shown that there is polymorphism in the Interleukin-4 promoter region, transversion of cytosine to thymine at-598 from translation initiation site of IL-4 gene. There has also been quite a few works to reveal the role of the polymorphism of IL-4 gene in patients with asthma. We performed this investigation to determine the role of the polymorphism in the severity of symptoms of patients with asthma. We also examined the frequency and the type of the polymorphism in asthmatics compared with non-asthmatics as well.

**Method :** The subjects enrolled in this study were 49 asthmatics and 33 non-asthmatics. All the asthmatics were classified as mild and moderate to severe by the NHLBI/WHO Workshop. DNA from both asthmatics and non-asthmatics was extracted, then performed ARMS(Amplification Refractory Mutation System) as well as RFLP using BsmFI restriction enzyme in order to confirm the polymorphism of IL-4 gene.

**Results :** There was no significant difference in the occurrence of polymorphism of the IL-4 promoter sequence between asthm and non-asthma groups( $P=0.7$ ). Among those with polymorphisms, the number of C/C type was slightly more than C/T type in both asthmatics and non-asthmatics, 26 vs 21 in asthmatics and 18 vs 15 in non-asthmatics, which was, however, insignificant statistically. No significant relationship between the severity of asthma and the polymorphism was found( $P=0.7$ ).

† 본 논문은 고려의대 의과학 연구소 연구비 지원으로 이루어졌음.

**Conclusion :** There was no significant difference between the severity of asthma and the IL-4 promoter polymorphism ( $P=0.709$ ). Interestingly, the frequency of the polymorphism in both asthmatics as well as non-asthmatics was found to be even higher than that occurred in Caucasians. However, no significant difference in the frequency of the polymorphism was found in both groups. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1998, 46 : 529-535)

**Key words :** Interleukin-4, Promoter, Polymorphism, Asthma

## 서 론

천식은 기도의 만성 염증에 의한 기관지의 가역적인 수축과 과민반응을 특징으로 한다. 천식의 기도 염증은 활성화된 비만세포, 호산구, T세포와 같은 염증세포들이 기관지 점막에 침착하고 이들 세포에서 여러 종류의 화학 매개물질들과 각종 cytokines 등이 분비되어 발생한다<sup>1)</sup>. 그중 특히 Interleukin-4(IL-4)는 천식의 발병에 관여하는 중요한 cytokine으로서 휴지기 상태의 B세포에서 Ia항원을 발현시키고 IgE생산을 증가시킴으로써 천식의 유발 및 아토피의 발생에 중요한 역할을 한다. 최근 천식의 병인에 있어 유전학적인 측면이 강조되면서, 그 병인에 관계되는 아토피 및 기관지 과민반응에 대한 유전학적 연구가 많이 이루어졌다<sup>2-7)</sup>. 특히 최근 발표에 의하면 아토피 및 기관지 과민반응에 관여하는 유전자들의 위치가 인간의 염색체 5q31-q33 사이에 존재하며 IL-4 유전자는 이 위치에 존재하는 대표적인 유전자라는 것이 밝혀졌다<sup>8-10)</sup>. Lee등<sup>11)</sup>은 IL-4 유전자의 염기 서열을 밝혔으며, Borish 등<sup>12)</sup>은 IL-4 유전자의 translation 시작 부위에서 -589위치(-589로 명명)에 cytosine 이 thymine으로 치환되는 점돌연변이(Point mutation)가 있음을 보고 하였다. 또한 Rye등<sup>13)</sup>은 이러한 IL-4 유전자의 변이가 천식의 표현형중 아토피와 관련이 있다고 보고하였고, Rosenwasser<sup>14)</sup>는 IL-4 유전자 변이가 유전자의 활성을 조절한다는 것을 생체의 실험을 통해 증명하였다. 이상과 같이 IL-4 유전자 변이와 아토피 등 천식의 표현형과의 연관성을 밝히려는 연구가 많이 진행되고 있다. 그러나 IL-4 유전자의

변이가 천식 증상에 어떠한 영향을 미치는 지에 대해서는 연구가 많이 되어 있지 않다. 본 연구에서는 국내의 천식 환자에서 IL-4 유전자의 promoter부위 변이의 양상과 빈도를 조사하며, IL-4 유전자의 변이와 천식 환자의 증상 정도와의 관계에 대해 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

ATS 기준에 의해 천식으로 진단 받은 49명의 천식 환자와 건강한 성인 33명을 대상으로 하였다. 대상은 모두 한국사람이었다. 천식 환자는 남자 19명, 여자 30명이었으며 정상 대조군은 남자 30명, 여자 3명이었다. 모든 천식 환자는 NHLBI/WHO workshop에서 정한 기준에 따라 경증 27명, 중등증 및 중증 22명으로 분류하였다.

### 2. 방 법

#### 1) DNA의 분리

Quiagen사의 QIAamp Blood Kit를 이용하여 DNA를 분리하였다. DNA 추출 방법에 대해 약술하면 다음과 같다. 먼저 대상 환자와 정상인의 혈액 10ml을 EDTA가 포함된 시험관에 채취한 후 22℃에서 20분간 5000rpm으로 원심분리를 하였다. 원심분리 후 200  $\mu$ l의 buffy coat층만을 채취하여 25  $\mu$ l의 protease와 혼합한 후 15초간 vortex하고 70℃에서 20

분간 incubation한다. 그 후 100% 에탄올 210  $\mu$ l를 넣고 혼합한 후 QIAmp spin column에 옮기고 13,000rpm으로 원심분리하였다. 원심분리 후 500  $\mu$ l의 AW buffer를 넣고 8000rpm으로 원심분리하여 DNA를 얻었다. 추출한 DNA의 양을 260nm의 파장에서 Spectrophotometer를 이용하여 측정하였다.

## 2) ARMS(Amplification Refractory Mutation System) 분석

천식 환자와 정상인에서 추출한 모든 DNA를 ARMS법<sup>15)</sup>을 이용하여 IL-4 유전자 변이를 검색하였다. 이 때 사용된 primer로는 -589가 cytosine으로 되어있는 IL-4 유전자 primer(Primer C로 명명)와 thymine으로 되어있는 primer(Primer T로 명명)를 사용하였다. Primer C 및 T는 IL-4 유전자의 -589에서 -610까지의 염기 서열과 같다. Primer C의 염기 서열은 5'-CTAAACTTGGGAGAACATTGAC-3', Primer T는 5'-CTAAACTTGGGAGAACATTGAT-3' 이었다. 각각의 primer의 3'방향의 마지막 염기가 유전자 변이 부위인 -589 위치와 같도록 하였다. Reverse primer(Primer R)는 -282에서 -304부위를 포함하는 상보적인 염기 서열인 5'-GTTTCAGCATAGGAAATTACACC-3' 이었다. -589가 cytosine(C type allele)인 유전자를 검색하기 위해서는 Primer C와 R을 사용하여 PCR을 시행하였으며, -589위치에 thymine(T type allele)이 위치한 유전자의 검색을 위해서는 Primer T와 R을 사용하였다. PCR시행시 반응액은 genomic DNA 5  $\mu$ l (50ng/ $\mu$ l), Primer C 또는 Primer T 1  $\mu$ l (50pmol/ $\mu$ l), Primer R 1  $\mu$ l (50pmol/ $\mu$ l), 10 $\times$ PCR buffer(200mM Tris-HCl, 500mM KCl, PH 8.4), 25mM MgCl<sub>2</sub> solution(Promega Cooperation), 10mM dNTP mixture(Gibco BRL), 5  $\mu$ l Taq DNA polymerase(Perkin Elmer), Sterile distilled water를 혼합하여 사용하였고, 반응조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 denaturation 후 94 $^{\circ}$ C에서 1분, 58 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 1

분간 총 33cycle 반응시킨 후 최종적으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 extension 후 PCR 반응을 끝내었다. PCR 산물(329dp)을 2% agarose gel에 전기 영동시킨 후 Ethidium Bromide(Gibco BRL)로 염색하여 유전자형을 판독하였다. 이상으로 -589가 homozygote형 C allele인 IL-4 유전자(C/C형 유전자로 명명), C allele와 T allele이 함께 존재하는 heterozygote형 (C/T형 유전자), homozygote형 T allele 유전자(T/T형 유전자)의 세가지 유전자형을 검색할 수 있었다.

## 3) 제한 효소 처리에 의한 IL-4 유전자 변이 분석

ARMS 방법으로 검색한 유전자형을 확인하기 위하여 제한 효소 처리에 의한 유전자형 검색을 시행하여 두 방법의 결과가 일치하면 최종 통계처리 하였다.

IL-4 유전자 변이 발생 부위(-589)를 restriction 인식부위로 하는 제한효소인 BsmF1을 이용하여 RFLP를 시행하였다<sup>16)</sup>. BsmF1이 작용하는 부위(-589)가 포함된 DNA를 증폭하기 위해 forward primer로는 5'-ACTAGGCCTCACCTGATACG-3', reverse Primer로는 5'-GTTGTAATGCAGTCCTCCTG-3'를 사용하였다. PCR산물의 크기는 253bp로서 IL-4의 promoter 부위의 -397에서 -649번까지를 포함한다. PCR 반응액의 구성은 10  $\mu$ l genomic DNA(50ng/ $\mu$ l), 3  $\mu$ l 10 $\times$ PCR buffer (200mM Tris-HCl, 500mM KCl, PH 8.4) 1  $\mu$ l dNTP mixture(Gibco BRL, 5 mmol/l dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 2  $\mu$ l 50mmol MgCl<sub>2</sub> (Promega), 1  $\mu$ l forward primer(50pmol/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l dml reverse primer(50pmol/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l Taq DNA polymerase(Perkin Elmer, 2.5u/ $\mu$ l), 11  $\mu$ l sterile distilled water였고 총 반응액의 양은 30  $\mu$ l 이었다. 반응 조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 denaturation 한 후 94 $^{\circ}$ C 30초, 63 $^{\circ}$ C 30초, 72 $^{\circ}$ C 30초로 모두 32cycle 시행하였고, 마지막 cycle 후 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 extension한 후 PCR과정을 마쳤다. PCR 후 얻은 DNA 10  $\mu$ l 에 NE Buffer 2  $\mu$ l, BsmF1(New

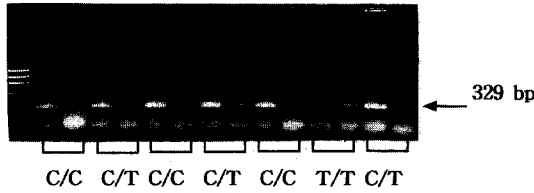


Fig. 1. Genotyping of IL-4 gene by ARMS method.

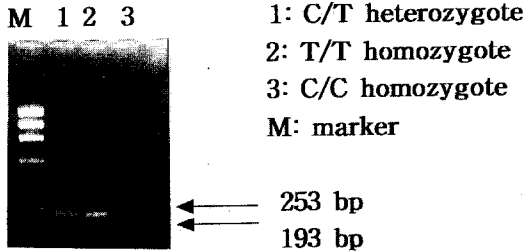


Fig. 2. BsmFI restriction endonuclease digestion of PCR products amplified from -397 to -649\* of the IL-4 gene.

\* number from translation initiation site

England Biolabs, 2unit/ $\mu$ l) 1 $\mu$ l, sterile water 7 $\mu$ l 를 혼합하여 최종 반응액의 양을 20 $\mu$ l 로 하여 37 $^{\circ}$ C에서 overnight incubation하였다. Incubation후 5 $\mu$ l loading buffer로 반응을 정지시킨 후 PCR산물 전체를 2% agarose gel에서 전기영동 하였고 Ethidium Bromide로 염색하여 관찰하였다.

#### 4) 실험 결과의 분석

SigmaStat(version 2.0) program을 이용하여  $X^2$  법을 사용하여 결과간의 통계적인 유의성을 검증하였다.

## 결 과

Fig. 1은 ARMS법에 의한 결과이다. 각 쌍의 lane 중 왼쪽 lane은 Primer C로 PCR을 한 것이고 오른쪽 lane은 Primer T로 반응시킨 것이다. IL-4 유전자 C/C형인 경우는 Primer C로 반응시킨 경우에만 PCR 산물을 확인할 수 있었고 T/T형인 경우에는 Primer T로 PCR을 하였을 경우에만 그 산물을 관찰할 수 있었다. C/T형인 경우는 두 primer에 모두 PCR 산물을 얻을 수 있었다.

Fig. 2는 BsmFI를 이용한 RFLP 결과이다. C/C형 IL-4 유전자인 경우는 PCR 산물이 BsmFI에 의해 절단되어 193bp와 60bp의 두 개의 절편을 얻을 수 있다. 이것을 전기영동하면 60bp의 절편은 크기가 작아 관찰되지 않고 193bp의 band가 관찰된다(3 lane). T/T형인 경우는 BsmFI의 restriction 인식 부위가 소실 되어 제한 효소에 의해 절단되지 않아 253bp의 band가 관찰된다(2 lane). C/T형인 경우는 193bp와 252bp의 위치에 두 개의 bands를 관찰할 수 있다(1 lane).

#### 1) 천식군과 건강인군에서 유전자 다형

전체 천식 환자 49명중 T/T 형은 26명(53.1%), C/T 형은 21명(42.8%), C/C 형은 2명(4.1%) 이었다. 33명의 정상인에서는 T/T 형은 18명(54.5%), C/T형은 15명(45.5%)이었으며 C/C 유전자형을 발견할 수 없었다. 결과적으로 천식 환자와 정상인에서 -589 C/T 변이의 유형과 빈도는 차이가 없었다( $P=0.7$ ) (Table 1).

Table 1. Frequency of -589C→T polymorphism of IL-4 gene in asthmatics and non-asthmatics

	C/C type	T/T type	C/T type	Total
Asthmatics	2(4.1%)	26(53.1%)	21(42.8%)	49
Non-Asthmatics	0.(0%)	18(54.5%)	15(45.5%)	33

( $p=0.7$ )

Table 2. Comparison of the severity and -589 C→T polymorphism in asthmatics

	C/C type	T/T type	C/T type	Total
mild	1(3.8%)	13(48.1%)	13(48.1%)	27
moderate to severe	1(4.5%)	13(59.1%)	8(36.4%)	22

(p=0.7)

## 2) 천식 중증도에 따른 유전자 다형

경증 천식 환자 27명 중 T/T 형은 13명(48.1%), C/T 형은 13명(48.1%), C/C 형은 1명(3.8%)이었다. 중등증에서 중증 환자 22명 중 T/T 형은 13명(59.1%), C/T 형은 8명(36.4%), C/C 형은 1명(4.5%)이었다. IL-4 유전자 변이 유형과 증상의 경증과는 관계가 없었다(P=0.7) (Table 2).

## 고 찰

IL-4는 153개의 아미노산으로 구성된 18-20kd의 당단백으로 Th2-like T cell에서 생성되며 기관지 천식의 유발 및 아토피의 발생에 중요한 역할을 담당한다<sup>17,18</sup>. Cookson등<sup>2)</sup>은 1989년 아토피와 천식의 발생이 염색체의 특정 부위와 연관성이 있다는 연구 결과를 발표하였는데 그 이후 기관지천식의 병인에 있어 유전적인 소인에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 그 결과 인간의 염색체의 5q31-q33에 기관지 과민반응과 아토피에 관여하는 유전자들이 존재하며 특히 Th2 세포에서 생성되어 알러지 반응에 관여하는 cytokine들인 IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF 등의 유전자들이 “cytokine gene cluster”라 하여 이 부위에 존재한다는 것이 밝혀졌다<sup>8-10</sup>. 그리하여 이러한 cytokine 유전자들의 polymorphism과 아토피 및 기관지 과민반응 등 기관지천식의 표현형과의 관계를 규명하려는 연구가 진행되고 있다.

IL-4 유전자 polymorphism의 빈도 및 의미는 종족에 따라 차이를 보일 수 있다. Borish등<sup>12)</sup>은 -589 C→T polymorphism의 빈도는 37%이며, 이런 polymorphism을 갖는 군에서 IgE가 유의하게 높다고 보고하였다. Drazen등<sup>19)</sup>은 -589 C→T poly-

morphism의 빈도는 종족에 따라 다른 차이를 보여, 흑인 및 hispanic에서는 약 60%로 매우 높지만 백인에서는 낮으며, 흑인 및 hispanic에서만 polymorphism이 천식 환자의 증상의 정도와 관련이 있다고 보고하였다. Cookson등은<sup>16)</sup> 호주의 Busselton family와 영국의 Oxfordshire family 두 가계의 천식환자에서 IL-4 유전자의 polymorphism의 빈도를 조사해 보았다. 그 결과 각 가계의 천식환자중 Busselton family는 30%에서 Oxfordshire family는 33%에서 polymorphism이 관찰됨을 보고하였다. 정상 대조군에서는 각각의 가계에서 26%와 27%의 polymorphism을 보여 정상인과 천식환자에서 -589C→T polymorphism은 빈도에 있어 차이가 없다고 하였다.

본 연구에서는 49명의 천식환자중 95.9%에서 IL-4 유전자의 polymorphism이 발견되어 서양에 비해서 한국의 천식환자에서 polymorphism의 빈도가 매우 높았다. 또한 33명의 정상 대조군 모두(100%)에서도 polymorphism이 발견되었다. Cookson의 보고와 마찬가지로 정상인과 천식환자에서 polymorphism의 빈도에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 특기할 만한 사항은 한국의 천식환자와 정상인에서 공히 IL-4 유전자의 polymorphism의 빈도가 서양인에 비해 월등히 높았다는 것이며, 이것은 IL-4 유전자의 polymorphism의 빈도가 종족간에 차이를 보일 수 있다는 증거가 될 수 있겠다. 한편 정상 서양인의 약 25-30%에서 발견되는 소위 wild type 유전자인 C/C 형이 본 연구에 포함된 33명의 정상인에서는 발견되지 않았다. 이것은 앞으로 더 많은 정상인을 대상으로 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다. Cookson등<sup>16)</sup>은 위에 언급한 Busselton family와 Oxford-

shire family의 조사에서 Busselton family에서만 천식환자의 증상과 polymorphism이 연관성이 있다고 보고하였다. Cookson등<sup>16)</sup>의 이 연구에서는 증상의 정도를 천명의 유무로 나타내어 유전자형과 비교하였으나, 본 연구에서는 증상의 정도를 경증, 중등증 및 중증의 두 그룹으로 나누어서 polymorphism과 비교하여 보았으며, 천식환자의 증상의 경증과 IL-4 유전자 -589 C→T polymorphism의 유형과 빈도와는 유의한 차이가 없음을 알 수 있었다.

## 요 약

### 연구배경 :

IL-4는 기관지천식의 병인에 중요한 역할을 하는 cytokine으로서 B세포에서 IgE를 생성하게 하여 아토피의 발생에 중요한 역할을 한다. IL-4의 유전자 다형에 관한 연구로 promoter부위(-589)에 cytosine이 thymine으로 치환되는 polymorphism(-589 C→T polymorphism)이 존재한다는 것이 밝혀졌다. 그 후 IL-4 유전자 polymorphism이 천식 환자에 어떤 영향을 미치는 지에 대한 연구가 진행되어 왔다. 본 연구에서는 polymorphism이 IL-4 유전자의 발현을 조절하는 promoter에 위치하므로 혈액내 IgE level에 영향을 주어 증상의 정도에 관여할 것이라는 가정하에 천식 환자의 증상의 정도와 IL-4 유전자 다형과의 연관성을 조사하였다. 또한 한국의 천식환자에서의 이러한 유전자 다형의 유형과 빈도를 조사하였다.

### 방 법 :

고려대학교 부속병원에 내원한 49명의 천식환자와 33명의 정상 대조군을 대상으로 하였다. 모든 천식 환자는 증상의 정도에 따라 경증, 중등증 및 중증의 두 대조군으로 나누었다. 모든 천식 환자와 정상인의 혈액에서 DNA를 분리하였고 ARMS(Amplification Refractory Mutation System) 및 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)를 시행하여 polymorphism의 존재 및 유형을 검색하였다.

### 결 과 :

천식 환자의 증상의 정도와 IL-4 유전자 다형의 유형과는 유의한 관계를 발견할 수 없었다( $P=0.709$ ). 정상인이나 천식환자에서 polymorphism(C/T 및 T/T형)의 빈도가 각각 100%와 95.9%로 서양보다 월등히 높았다. 그러나 두 군에서 polymorphism의 유형 및 그 빈도에 있어서 차이는 없었다. 33명의 정상 대조군에서는 C/C형을 발견할 수 없었고, 정상인과 천식환자에서 공히 T/T형이 C/T형보다 약간 많은 빈도를 보였다.

### 결 론 :

IL-4 유전자의 -589 C/T polymorphism과 천식 환자의 증상의 경증과는 유의한 연관성을 발견하지 못했다. 그러나 우리나라 천식 환자와 정상인에서 서양보다 월등히 많은 수에서 polymorphism을 관찰할 수 있었으며, 정상인에서는 C/C형이 발견되지 않았다. 따라서 IL-4 유전자 다형성이 종족간에 현저한 차이를 보일 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다.

## 참 고 문 헌

1. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley RW, Twentyman OP, Howarth PH, and Holgate ST : Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 142 : 434, 1990
2. Cookson WOCM, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM. Linkage between IgE responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* June 10 : 1291, 1989
3. Lympay P, Welsh K, MacCochrone G, Kemeny DM, Lee TH. Genetic analysis using DNA polymorphism of the linkage between chromosome 11q 13 and atopy and bronchial hyperresponsiveness to metacholine. *J Allergy Clin Immunol* 89 : 619, 1991
4. Amelung J, Panhuysen CIM, Postma DS, Levitt RC, Koeter H, Froncomano CA, Bleecker ER, Meyers A. Atopy and bronchial hyperres-

- ponsiveness : exclusion of linkage to markers on chromosomes 11q and 6p. *Clinical and Experimental Allergy* 22 : 1077, 1992
5. Cookson WOCM, Young RP, Sandford AJ, Moffatt MF, Shirakawa T, Sharp PA, Foux JA, Julier C, Lesouef PN, Nakumura Y, Lathrop GM, Hopkin JM. Maternal inheritance of atopic IgE responsiveness on chromosome 11q. *Lancet* 340 : 381, 1992
  6. Lympany P, Welsh KI, Cochrane GM, Kemeny DM, Lee TH. Genetic analysis of the linkage between chromosome 11q and atopy. *Clinical and Experimental Allergy* 22 : 1085, 1992
  7. Sandford AJ, Shirakawa T, Moffatt M, Daniels SE, Cookson WOCM, Hopkin JM. Localisation of atopy and  $\beta$  subunit of high-affinity IgE receptor on chromosome 11q. *Lancet* 341 : 332, 1993
  8. Marsh DG, Neely JD, Breazea DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Kaut EE, Schou C, Krishnaswamy G, Bea TH. Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31. 1 markers and total serum IgE concentration. *Science* 264 : 1152, 1994
  9. Myers DA, Dostma DS, Panhuysen CIMO, Xu J, Amelung PJ, Levitt RC, Bleeker ER. Evidence for a locus regulating total serum IgE levels mapping to chromosome 5. *Genomics* 23 : 464, 1994
  10. Postma DS, Bleeker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuysen CIM, Meyers DA, Levitt R. Genetic susceptibility to asthma-bronchial hyper-responsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N Engl J Med* 333 : 894, 1995
  11. Lee F, Yokota T, Otsuka T, Meyerson P, Vilaret D, Coffman R, Mosmann T, Rennick D, Roehm N, Smith C, Zlotnik A, and Arai K. Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that express B-cell stimulatory factor 1 activities and T-cell and mast-cell-stimulating activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 : 2061, 1986
  12. Borish L, Mascali JJ, Klennert M, Leppert M, Rossenwasser LJ. SSCP polymorphism in interleukin genes. *Hum Mol Genet* 3(9) : 170, 1994
  13. Rye PJ, Pereira E, Eber E, Palmer LJ, Gibson NA, Laing IA, Gurrin LC, Goldblatt J, LeSouef PN. Interleukin-4 promoter Polymorphism and atopy in an unselected population. *Am J Respir Cell Mol Biol* 153(4) : A413, 1996
  14. Rosenwasser LJ. Human IL-4 gene promoter polymorphism and risk of atopy in a general population sample. *Genetics of Asthma Conference, Broadway, UK, Abstract volume, 1995 : 44*
  15. Amplification Refractory Mutation System (ARMS) Analysis of Point Mutations : Current Protocols in Human Genetics, Supplement 3. Johe Wiley & Sons, Inc 1994
  16. Cookson W O C M, Walley A J : Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy : *J Med Genet* 33 : 689, 1996
  17. Barnes PJ. Cytokines as mediators of chronic asthma. *Am J Respir Crit care Med* 150 : S42-49, 1994
  18. Yokota T, Arai N, de Vries J, Spite H, Banachereau J, Zlotnik A, Rennick D, Howard M, Takebe Y, Miyatake S, Lee F, and Arai K. Molecular biology of interleukin 4 and interleukin 5 genes and biology of their products that stimulate B cells, T cells and hematopoietic cells. *Immunol. Rev.* 102 : 137, 1988
  19. Drazen JM, Grobholz J, Borish LC, Sharma A, Cooper DA, Fanta CH, Israel E, Sheffer A, Rossenwawwer LJ, Weiss ST. Asthma patients with the -589 C→T polymorphism in the IL-4 promoter are more likely to have severe disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol* 153(4) : A413, 1997