

## 아토피피부염 환자에서 CTLA-4 exon 1과 promoter 유전자 다형성

연세대학교 의과대학 소아과학교실 및 알레르기 연구소, 두뇌한국21 의과학사업단

송태원 · 양혜선 · 이경은 · 김경원 · 김은수 · 손명현 · 김규언

### Polymorphisms of the CTLA-4 promoter(-318) and exon 1(+49) genes with atopic dermatitis in Korean children

Tae Won Song, M.D., Hea Sun Yang, Kyung Eun Lee, Kyung Won Kim, M.D.  
Eun Soo Kim, M.D., Myung Hyun Sohn, M.D., Ph.D. and Kyu-Earn Kim, M.D., Ph.D.

Department of Pediatrics and Institute of Allergy, BK21 Project for Medical Science,  
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose :** The gene-encoding cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4(CTLA-4) is one of the candidate genes for conferring susceptibility to atopic dermatitis(AD). The aim of the study was to investigate the association between Korean children with AD and the polymorphisms of CTLA-4 gene promoter(-318) and exon 1(+49).

**Methods :** The CTLA-4 promoter(-318 T/C) and exon 1(+49 A/G) polymorphisms were genotyped via restriction fragment length polymorphism methods in 145 children with atopic eczema, 69 children with non-atopic eczema, and 96 healthy controls.

**Results :** There was no significant difference in genotype and allele frequencies of the CTLA-4 promoter -318 T/C and exon 1 +49 A/G polymorphisms when the atopic eczema, non-atopic eczema, and control groups were compared. Additionally the CTLA-4 promoter -318 T/C and exon 1 +49 A/G polymorphisms were not shown to be associated with severity, IgE level, or eosinophil counts.

**Conclusion :** Our data show that the polymorphisms within the CTLA-4 promoter(-318 T/C) and exon 1(+49 A/G) genes are not associated with susceptibility to AD in Korean children. (**Korean J Pediatr 2006;49:545-551**)

**Key Words :** Atopic dermatitis, CTLA-4, Polymorphism

### 서 론

아토피피부염은 소양감을 특징으로 하는 비특이적 염증성 만성 피부 질환으로 재발하는 경향을 보이는데 최근 전반적인 알레르기 질환의 증가 추세에 맞춰 그 빈도가 증가하고 있다<sup>1)</sup>. 국내에서도 소아알레르기 및 호흡기학회가 1995년 초등학생을 대상으로 한 역학조사에서 16.6%의 유병률을 보였으나 2000년에는 24.8%로 증가한 것으로 조사되었다<sup>2)</sup>.

그러나 많은 연구가 있었음에도 불구하고 그 원인이나 발병

기전에 관하여는 아직 확실하지 않은 상태로 혈청 총 IgE 치 증가 등으로 관찰되는 B 세포의 과활성 양상이나<sup>3)</sup> 면역 조절 사이토카인들의 변화에 따른 T 세포계의 이상에 의한 지연형 면역반응이 관여한다는 보고들이 증가하고 있다<sup>4)</sup>. 즉 B 세포로부터 IgE의 생성을 유도하는 IL-4, B 세포로부터 IgE 생성을 촉진하는 IL-5, IgE 생성을 증폭시키는 IL-6 등을 분비하는 T 세포는 CD4+ T 세포 중 Th2 세포인데 아토피피부염 환자의 말초혈액 및 피부병변으로부터 분리한 항원 특이 T 세포 클론이 Th2로 밝혀졌고 이 세포들에서 IL-4 등의 Th2 사이토카인이 분비되었다는 사실이 입증되었다<sup>5)</sup>.

유전적 연구들에서 염색체의 몇 부위들이 천식과 아토피의 발생에 기여한다고 밝혀졌다<sup>6)</sup>. 염색체 2q32-q33은 여러 인종에서 실시된 연구들에서 총 IgE 및 여러 알레르기 질환과의 연관성이 있는 것으로 밝혀졌으며 이 위치에 있는 유전자 중 Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4(CTLA-4)와 CD28를 표현하

본 연구는 2003년도 대한소아과학회 삼아 학술상 보조에 의한 연구임.

접수 : 2005년 11월 14일, 승인 : 2006년 1월 2일

책임저자 : 손명현, 연세대의 세브란스병원 소아과

Correspondence : Myung Hyun Sohn, M.D., Ph.D.

Tel : 02)2228-2062 Fax : 02)393-9118

E-mail : mhsohn@yumc.yonsei.ac.kr



ase, 250  $\mu$ M dNTP, 10 mM Tris-HCl(pH9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>)에 넣고 총 부피가 20  $\mu$ L가 되도록 삼차증류수를 넣은 후 Perkin-Elmer-Cetus 9600 thermal cyler에서 증합효소연쇄반응을 시행하였다. 94°C에서 4분간 변성시킨 이후에 94°C에서 30초간 변성시킨 후 58°C에서 30초간 아닐링시킨 다음 72°C에서 30초간 시발체 연장반응을 30회 반복한 후 72°C에서 4분간 최종 연장반응을 하였다. 증폭된 PCR 생성물을 10 U의 Tru9 I 제한효소(Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 37°C에서 90분간 처리하여 분해하였다. C 대립유전자는 21 bp 자리만 분해되고 T 대립유전자는 130 bp, 96 bp와 21 bp 단편으로 분해된다. Tru9 I 제한효소로 처리한 단편을 2% 아가로스 겔에 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 자외선 아래에서 CTLA-4 promoter의 유전자다형성을 검사하였다.

**3. 통계**

결과의 분석은 SPSS 10.0을 이용하여 genotype, allele 및 haplotype 분석을 위해 pearson  $\chi^2$  test, multiple regression analysis, Spearman's rank correlation test를 사용하였고, 각 군에서의 호산구와 총 IgE는 ANOVA를 이용하여 비교하였으며, 유의성 검정은  $P < 0.05$ 인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

**결 과**

**1. 대상 환아들의 특성**

대상 환아는 아토피성 습진 145명, 비아토피성 습진 69명과

대조군 96명으로 총 310명이었다(Table 1).

**2. CTLA-4 exon1 +49 A/G에서 genotype과 allele 빈도의 비교**

세 군에서 CTLA-4 +49의 genotype G/G, G/A, A/A의 빈도는 아토피성 습진군에서 각각 42%, 43%, 15%, 비아토피성 습진군에서 52%, 33%, 15%, 대조군에서 48%, 41%, 11%로 유의한 차이를 보이지 않았다. 세 군에서 CTLA-4 +49의 allele G와 A의 빈도도 아토피성 습진군에서 각각 63%, 37%, 비아토피성 습진군에서 각각 69%, 31%, 대조군에서 각각 68%, 32%로 유의한 차이가 없었다(Table 2).

**3. CTLA-4 promoter -318 T/C에서 genotype과 allele 빈도의 비교**

세 군에서 CTLA-4 -318의 genotype C/C, C/T, T/T의 빈도는 아토피성 습진군에서 각각 32%, 21%, 3%, 비아토피성 습진군에서 39%, 22%, 4%, 대조군에서 38%, 22%, 0%로 유의한 차이를 보이지 않았다. 세 군에서 CTLA-4 -318의 allele C와 T의 빈도도 아토피성 습진군에서 각각 86%, 14%, 비아토피성 습진군에서 각각 85%, 15%, 대조군에서 각각 89%, 11%로 유의한 차이가 없었다(Table 2).

**4. 세 군간의 Haplotype의 빈도 비교**

세 군에서 CTLA-4 exon +49와 promoter -318에서 G/C의 haplotype을 가지는 빈도는 아토피성 습진군에서 56.6%, 비아토피성 습진군에서 63.5%, 대조군에서 62.7%로 유의한 차이가 없었고, A/C의 haplotype을 가지는 경우는 각각 29.7%, 25.5%,

**Table 1.** Demographic Characteristics of Study Population

	Atopic eczema(n=145)	Non-atopic eczema(n=69)	Control(n=96)
Age, yr*	8.12±0.41	5.23±0.40	13.42±0.56
Gender, n(female/male)	52/93	33/36	31/65
IgE, IU/mL*	917.27±88.65	74.06±7.94	87.42±14.48
Eosinophil count( $\mu$ L <sup>-1</sup> )*	742.96±69.00	468.38±55.23	271.58±23.91

\*mean±SE

**Table 2.** Genotype and Allele Frequencies for the Polymorphism of the CTLA-4 Gene in 3 Groups of Korean Children

Group	n	Genotype counts(frequencies)			Allele counts(frequencies)		OR(95% CI)	P*
		G/G	G/A	A/A	G	A		
CTLA-4 +49								
Atopic eczema	145	61(0.42)	62(0.43)	22(0.15)	184(0.63)	106(0.37)	0.37(0.75-2.13)	0.371
Non-atopic eczema	69	36(0.52)	23(0.33)	10(0.15)	95(0.69)	43(0.31)	0.84(0.45-1.57)	0.590
Control	96	46(0.48)	39(0.41)	11(0.11)	131(0.68)	61(0.32)	1.00	-
CTLA-4 -318								
Atopic eczema	145	110(0.76)	30(0.21)	5(0.03)	250(0.86)	40(0.14)	0.88(0.48-1.63)	0.684
Non-atopic eczema	69	51(0.74)	15(0.22)	3(0.04)	117(0.85)	21(0.15)	0.79(0.39-1.64)	0.530
Control	96	75(0.78)	21(0.22)	0(0.00)	171(0.89)	21(0.11)	1.00	-

CTLA : cytotoxic T lymphocyte-associated antigen

OR, Odds ratio(reference group [controls] designated with an OR of 1.0)

\*G/G versus G/A combined with A/A for +49, C/C versus C/T combined with T/T for -318

송태원 외 6인 : 아토피피부염 환자에서 CTLA-4 exon 1과 promoter 유전자 다형성

22.1%, G/T의 haplotype을 가지는 경우는 각각 6.9%, 4.7%, 6.2%, A/T의 haplotype을 가지는 경우는 각각 6.8%, 6.3%, 9.0%로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

### 5. 아토피피부염의 중증도에 따른 CTLA-4 genotype의 빈도

아토피피부염 환자군 214명을 중증도에 따라 중증군 80명, 중

등도군 51명, 경증군 83명으로 나누어 각 군간의 CTLA-4 genotype의 빈도를 비교하였다. CTLA-4 exon1 +49의 경우, 중증군에서는 G/G, G/A, A/A의 genotype을 나타내는 빈도가 각각 36%, 45%, 19%이었고, 중등도군에서는 각각 51%, 41%, 8%, 경증군에서는 51%, 34%, 15%로 유의한 차이를 보이지 않았다. CTLA-4 promoter -318의 경우에도 중증군에서는 C/C, C/T, T/T의 genotype을 나타내는 빈도가 각각 76%, 23%, 1%이었고, 중등도군에서는 각각 77%, 18%, 5%, 경증군에서는 73%, 22%, 5%로 유의한 차이가 없었다(Table 4).

**Table 3.** Estimated Haplotype Frequencies for 3 Groups

CTLA-4		Haplotype frequency(%)			P value*
Exon 1 +49	Promoter -318	Atopic eczema	Non-atopic eczema	Control	
G	C	56.6	63.5	62.7	0.058
A	C	29.7	25.5	22.1	0.054
G	T	6.9	4.7	6.2	0.369
A	T	6.8	6.3	9.0	0.362

CTLA : cytotoxic T lymphocyte-associated antigen

\*The pearson  $\chi^2$  test was used to determine whether significant differences were observed among 3 groups

### 6. CTLA-4 exon1 +49와 promoter -318의 genotype에 따른 호산구와 총 IgE 치의 비교

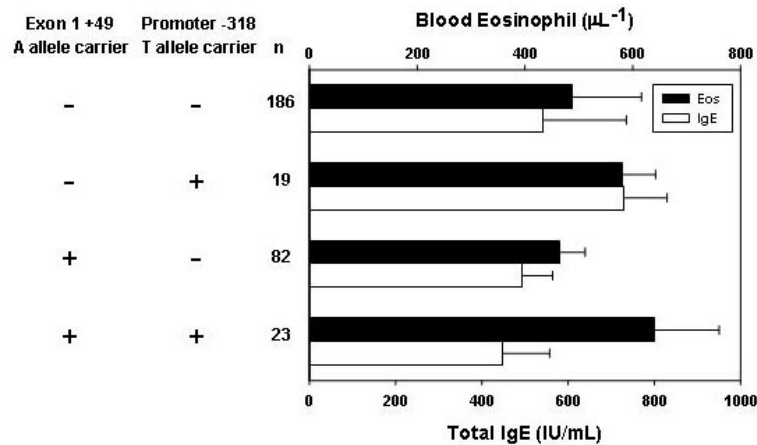
CTLA-4 exon1 +49와 promoter -318에서 G/C, G/T, A/C, A/T의 haplotype을 가지는 군에서 호산구수는 각각  $488 \pm 128/\mu\text{L}$ ,  $580 \pm 62/\mu\text{L}$ ,  $463 \pm 47/\mu\text{L}$ ,  $638 \pm 121/\mu\text{L}$ 였고, 총 IgE 치는 각각  $541 \pm 193$  IU/mL,  $729 \pm 99$  IU/mL,  $494 \pm 69$  IU/mL,  $449 \pm 107$  IU/mL로 유의한 차이가 없었다(Fig. 1).

**Table 4.** CTLA-4 Genotype Frequencies according to Severity of Atopic Dermatitis

AD Severity	n	Genotype counts(frequencies)			OR(95% CI)	P value*
CTLA-4 +49		G/G	G/A	A/A		
Severe	80	29(0.36)	36(0.45)	15(0.19)	1.80(0.96-3.37)	0.065
Moderate	51	26(0.51)	21(0.41)	4(0.08)	0.99(0.49-1.98)	0.966
Mild	83	42(0.51)	28(0.34)	13(0.15)	1.00	—
CTLA-4 -318		C/C	C/T	T/T		
Severe	80	61(0.76)	18(0.23)	1(0.01)	0.86(0.43-1.76)	0.685
Moderate	51	39(0.77)	9(0.18)	3(0.05)	0.85(0.38-1.92)	0.701
Mild	83	61(0.73)	18(0.22)	4(0.05)	1.00	—

CTLA : cytotoxic T lymphocyte-associated antigen, AD : atopic dermatitis

\*Reference group : mild atopic dermatitis



**Fig. 1.** IgE level, eosinophil counts and atopy for subjects with different genotypes at the CTLA-4 +49 and -318 loci. There were no significant differences in IgE level and eosinophil count among subjects with different genotypes.

## 고 찰

알레르기 질환은 다인성 유전양식에 의한 것으로 사이토카인 유전자의 활성뿐 아니라 여러 가지 유전자에 의한 생성물질들도 관여할 것으로 생각되고 있다. 즉 IgE 분자, 고친화 IgE 수용체 및 사이토카인 등의 세포활성물질들을 포함한 아토피의 후보유전자들이 IgE 합성과 알레르기 반응에 관여하고 있다. 혈청 IgE 치와 관련된 몇 개의 유전자군은 5q 염색체사의 확장부에 있는데 여기에는 IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF 유전자가 각인되어 있다는 보고가 있다<sup>22)</sup>. 특히 아토피피부염에서 이상 IL-4 유전자 발현은 핵단백과 IL-4 promoter 인자의 상호작용 이상이 문제일 것으로 보고되고 있다<sup>23)</sup>. 최근 아토피피부염 환자의 IL-4 유전자와 관련된 질환-대조군 조사에서 IL-4 유전자의 -590C/T 다형성이 의미있는 유전자 발현과의 연관성을 가진다는 보고가 있었다<sup>24)</sup>. 즉 이 부위의 T allele이 C allele과 비교했을 때 IL-4 gene promoter의 활성화가 증가되어 있으며 이러한 결과들이 IL-4 유전자 전사활동(transcriptional activity)의 유전적 차이가 아토피피부염의 발병에 영향을 줄 수 있다는 가설을 뒷받침한다고 하였다. 또한 아토피피부염 환자에서 IL-4 수용체의  $\alpha$ -subunit의 돌연변이가 수용체의 신호전달체계에 영향을 미쳐 알레르기 질환의 발현을 유도할 수 있다는 연구결과도 있었다<sup>25)</sup>.

CTLA-4는 면역글로불린 superfamily에 속하며<sup>26)</sup>, T 세포가 활성화되었을 때 CD4+와 CD8+ T 세포에 모두 일시적으로 표현된다. 이렇게 발현된 세포 표면의 CTLA-4 분자는 다시 세포내이입(endocytosis)에 의해 빠르게 세포내로 이동하여 세포의 표면에는 항상 낮은 농도만이 발현되어 있다<sup>27)</sup>. 하지만 세포내로 이동한 CTLA-4는 세포질 내에 모여 있기 때문에 CTLA-4의 세포내 발현은 일시적인 T 세포 활성화의 좋은 표식자로 알려져 있다. 또한 CTLA-4는 세포내 신호전달을 조절함으로써 T 세포의 활성화 및 세포자멸사(apoptosis)에도 영향을 주는데<sup>28)</sup>, B7분자와 반응하여 음성적 신호를 T 세포에 전달하여 T 세포의 분화, 사이토카인 생성 및 면역 반응에 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>28)</sup>.

CTLA-4는 자가면역질환의 후보유전자로 염색체 2q33에 위치하고<sup>29)</sup>, 3개의 유전적 다형성이 알려져 있다. 첫 번째로는 exon 1의 lead sequence +49 위치에 아데닌과 구아닌의 치환으로 인한 아미노산의 변환을 초래하는 다형성이고 두 번째로는 promoter의 -318 위치에 사이토신과 타이미딘과의 다형성이고 세 번째로는 exon 3의 untranslated 부위 642번 위치에 (AT)n microsatellite이다<sup>29)</sup>. 또한 최근에는 -1147CT, MH30, CT60, JO31, JO31, JO27\_1에서의 다형성도 밝혀졌다<sup>26)</sup>.

CTLA-4 유전자의 다형성에 관한 연구로는 CTLA-4 exon 1과 promoter 유전자의 다형성에 관한 연구가 주로 시행되고 있다. CTLA-4 exon 1 position 49의 A/G 다형성은 그라이브

씨 병<sup>20)</sup>, 제 1형 당뇨병<sup>17)</sup>, 자가면역성 용혈성 빈혈(autoimmune hemolytic anemia)<sup>30)</sup>, 전신성 경화증(systemic sclerosis)<sup>31)</sup>, Celiac disease<sup>32)</sup> 등의 질환과 연관이 있으며 promoter 유전자로는 -1722 position의 T/C 다형성이 전신성 홍반성 루푸스와 관련이 있음이 보고되고 있다<sup>18)</sup>. 최근에 천식환자에서 천식과 총 IgE와 CTLA-4 유전자 다형성에 대한 연구결과에 대해 논란이 있어 왔는데, 몇몇 보고에 의하면 일본과 독일에서는 CTLA-4의 +49, -318, 3'UTR의 유전적 다형성과 천식과의 관련성이 없었다고 한다<sup>33)</sup>. 반면에 Howard 등은 CTLA-4 +49 위치의 A/G 유전형이 Dutch 계에서 IgE의 증가와 상관관계가 있었고 -1147위치의 C/T 유전형이 천식과 기관지과민성과 상관관계가 있었다고 보고하였고<sup>33)</sup>, Lee 등<sup>19)</sup>은 promoter 유전자의 -318 C/T 다형성이 천식의 중증도와 exon 1의 +49 A/G 다형성이 기관지 과민성과 연관이 된다고 보고하였다. 그러나 -1147CT, MH30, CT60, JO31, JO31, JO27\_1에서의 CTLA-4 다형성 연구에서는 IgE 농도, 알레르기, 알레르기성 천식, 천식, 감소된 폐기능과의 연관성을 보였으나 기관지과민성과의 연관성이 발견되지 않은 것으로 보아 이 다형성에는 아토피가 주로 관여할 것이라고 하였다<sup>26)</sup>. 알레르기 비염에 관하여서는 CTLA-4 exon 1의 +49 위치의 유전자 다형성이 여성의 경우에만 총 IgE의 증가와 알레르기 비염과 유의한 관계가 있다고 보고하였다<sup>33)</sup>. 본 연구에서는 아토피피부염 환자를 대상으로 CTLA-4 exon1 +49와 promoter -318의 genotype에 따른 호산구와 총 IgE치를 비교해 보았으나 유의한 차이를 볼 수 없었다. 최근에는 promoter 유전자 -318 position의 C/T 다형성이 단백질의 발현에 영향을 미치며 -318T allele이 CTLA-4의 발현을 up-regulation 한다는 보고가 있었지만<sup>34)</sup> 이러한 CTLA-4 유전자의 다형성이 CTLA-4의 발현이나 기능에 영향을 미쳐 질병의 유발에 관여하는 지에 대해서는 아직도 알려져 있지 않다. Functional study상 CTLA-4 +49 위치의 G/G 유전형을 가진 환자에서 T 세포의 활성화시 CTLA-4의 세포표면의 표현이 감소되어 있는 것이 보고되었다<sup>33)</sup>.

아토피피부염의 임상양상과 CTLA-4 유전자 다형성과의 관계에 대해서는 아직까지 연구된 바 없으며, CTLA-4는 인종과 지리적 차이에 따른 유전적 다형성의 차이가 관찰됨으로<sup>29)</sup>, 본 연구에서는 한국 소아에서 CTLA-4 유전자 다형성과 아토피피부염의 임상양상 및 유전적 감수성과의 관계에 대하여 알아보고자 하였는데, CTLA-4 exon 1과 promoter의 유전자 다형성이 아토피성 습진 환자군이나 비아토피성 습진 환자군에서 대조군에 비해 유의있는 분포의 차이를 보이지 않아, CTLA-4 유전자 다형성이 한국 소아의 아토피피부염의 유전적 감수성 및 아토피피부염의 임상양상에 관여하지 않는 것으로 생각된다.

## 요 약

**목 적 :** Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4

(CTLA-4)를 표현하는 유전자는 IgE 조절과 T 세포의 활성화에 중요한 역할을 하는 후보유전자로 알려져 있다. 본 연구에서는 CTLA-4 exon 1(+49 position)과 promoter 유전자(-318 position)의 다형성과 한국 소아의 아토피피부염의 유전적 감수성 및 아토피피부염의 임상양상의 관계에 대해 알아보려고 하였다.

**방법** : 아토피성 습진 145명, 비아토피성 습진 69명과 대조군 96명을 대상으로 restriction fragment length polymorphism 방법으로 CTLA-4 promoter(-318 T/C)와 exon 1(+49 A/G)의 다형성을 조사하였다.

**결과** : CTLA-4 exon 1과 promoter의 유전자 다형성이 아토피성 습진 환자군이나 비아토피성 습진 환자군에서 대조군에 비해 유의있는 분포의 차이를 보이지 않았으며, 아토피피부염의 중증도, IgE 농도, 호산구의 수와도 유의한 관계가 없었다.

**결론** : 본 연구에서는 CTLA-4 유전자 다형성이 한국 소아의 아토피피부염의 유전적 감수성 및 아토피피부염의 임상양상에 관여하지 않는 것으로 생각된다.

## References

- 1) Leung DYM. Atopic dermatitis: New insights and opportunities for therapeutic intervention. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:860-76.
- 2) Hong SJ, Lee MS, Sohn MH, Shim JY, Han YS, Ahn YM, et al. Self-reported prevalence and risk factors of asthma among Korean adolescents: 5-year follow-up study, 1995-2000. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1556-62.
- 3) Sampson HA. Role of immediate hypersensitivity in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Allergy* 1989;44(Suppl 9): 52-8.
- 4) Kapp A, Gilitzer H, Schopf E. Production of interferon and lymphoproliferative responses in whole blood culture derived from patient with atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1987;279:55-8.
- 5) Wollenberg A, Kraft S, Opiel T, Bieber T. Atopic dermatitis: pathogenetic mechanism. *Clin Exp Dermatol* 2000;25: 530-4.
- 6) Howard TD, Postma DS, Hawkins GA, Koppelman GH, Zheng SL, Wysong AK, et al. Fine mapping of an IgE-controlling gene on chromosome 2q: Analysis of CTLA4 and CD28. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:743-51.
- 7) Walunas TL, Bluestone JA. CTLA-4 regulates tolerance induction and T cell differentiation in vivo. *J Immunol* 1998; 160:3855-60.
- 8) Lafage-Pochitaloff M, Costello R, Couez D, Simonetti J, Mannoni P, Mawas C, et al. Human CD28 and CTLA-4 Ig superfamily genes are located on chromosome 2 at bands q33-q34. *Immunogenetics* 1990;31:198-201.
- 9) Brunet JF, Denizot F, Luciani MF, Roux-Dosseto M, Suzan M, Mattei MG, et al. A new member of the immunoglobulin superfamily, CTLA-4. *Nature* 1987;328:267-70.
- 10) Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med* 1991;174:561-9.
- 11) Freeman GJ, Gribben JG, Boussiotis VA, Ng JW, Restivo VA Jr, Lombard LA, et al. Cloning of B7-2: a CTLA-4 counter-receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science* 1993;262:909-11.
- 12) Azuma M, Ito D, Yagita H, Okumura K, Phillips JH, Lanier LL, et al. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature* 1993;366:76-9.
- 13) Ling V, Wu PW, Finnerty HF, Agostino MJ, Graham JR, Chen S, et al. Assembly and annotation of human chromosome 2q33 sequence containing the CD28, CTLA4, and ICOS gene cluster: analysis by computational, comparative, and microarray approaches. *Genomics* 2001;78:155-68.
- 14) Liu X, Bai XF, Wen J, Gao JX, Liu J, Lu P, et al. B7H costimulates clonal expansion of, and cognate destruction of tumor cells by, CD8(+) T lymphocytes in vivo. *J Exp Med* 2001;194:1339-48.
- 15) Boussiotis VA, Freeman GJ, Gribben JG, Daley J, Gray G, Nadler LM. Activated human B lymphocytes express three CTLA-4 counterreceptors that costimulate T-cell activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11059-63.
- 16) Yanagawa T, Taniyama M, Enomoto S, Gomi K, Maruyama H, Ban Y, et al. CTLA4 gene polymorphism confers susceptibility to Graves' disease in Japanese. *Thyroid* 1997; 7:843-6.
- 17) Nistico L, Buzzetti R, Pritchard LE, Van der Auwera B, Giovannini C, Bosi E, et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. *Belgian Diabetes Registry. Hum Mol Genet* 1996; 5:1075-80.
- 18) Hudson LL, Rocca K, Song YW, Pandey JP. CTLA-4 gene polymorphisms in systemic lupus erythematosus: a highly significant association with a determinant in the promoter region. *Hum Genet* 2002;111:452-5.
- 19) Lee SY, Lee YH, Shin C, Shim JJ, Kang KH, Yoo SH, et al. Association of asthma severity and bronchial hyperresponsiveness with a polymorphism in the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene. *Chest* 2002;122:171-6.
- 20) Hanifin J, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derma Venereol* 1980;92:44-7.
- 21) European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: The SCORAD Index. *Dermatol* 1993;186:23-31.
- 22) Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, et al. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994;264:1152-6.
- 23) Chan SC, Brown MA, Willcox TM, Li SH, Stevens SR, Tara D, et al. Abnormal IL-4 gene expression by atopic dermatitis T lymphocytes is reflected in altered nuclear protein interactions with IL-4 transcriptional regulatory element. *J Invest Dermatol* 1996;106:1131-6.
- 24) Kawashima T, Noguchi E, Arinami T, Yamakawa-Kobayashi K, Nakagawa H, Otsuka F, et al. Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families. *J Med Genet* 1998;35:502-4.
- 25) Hershey GK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas ML, Chatila TA. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. *N Engl J Med* 1997;337:1720-5.

- 26) Munthe-Kaas MC, Carlsen KH, Helms PJ, Gerritsen J, Whyte M, Feijen M, et al. CTLA-4 polymorphism in allergy and asthma and the Th1/Th2 paradigm. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:280-7.
- 27) Wang XB, Zheng CY, Giscombe R, Lefvert AK. Regulation of surface and intracellular expression of CTLA-4 on human peripheral T cells. *Scand J Immunol* 2001;54:453-8.
- 28) Noel PJ, Boise LH, Thompson CB. Regulation of T cell activation by CD28 and CTLA4. *Adv Exp Med Biol* 1996;406:209-17.
- 29) Lee YH, Choi SJ, Kim YR, Ji JD, Song GG. Polymorphism of CTLA-4 exon 1 and promoter genes in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *J Korean Rheum Assoc* 2000;7:53-61.
- 30) Pavkovic M, Georgievski B, Cevreska L, Spiroski M, Efre-mov DG. CTLA-4 exon 1 polymorphism in patients with autoimmune blood disorders. *Am J Hematol* 2003;72:147-9.
- 31) Takeuchi F, Kawasugi K, Nabeta H, Mori M, Tanimoto K. Association of CTLA-4 with systemic sclerosis in Japanese patients. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20:823-8.
- 32) Mora B, Bonamico M, Indovina P, Megiorni F, Ferri M, Carbone MC, et al. CTLA-4 +49 A/G dimorphism in Italian patients with celiac disease. *Hum Immunol* 2003;64:297-301.
- 33) Yang KD, Liu CA, Chang JC, Chuang H, Ou CY, Hsu TY, et al. Polymorphism of the immune-braking gene CTLA-4 (+49) involved in gender discrepancy of serum total IgE levels and allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2004;34:32-7.
- 34) Wang XB, Zhao X, Giscombe R, Lefvert AK. A CTLA-4 gene polymorphism at position -318 in the promoter region affects the expression of protein. *Genes Immun* 2002;3:233-4.