

가와사키병에서의 TNF- α 유전자의 다형성 및 관상동맥 합병증과의 연관성

건양대학교 의과대학 소아과학교실

김세화 · 윤장원 · 이영혁 · 천은정

= Abstract =

Polymorphisms of tumor necrosis factor- α promoter gene in Kawasaki disease and relation to the risk of coronary artery lesion

Se-hwa Kim, M.D., Jang-won Yun, M.D., Young-hyuk Lee, M.D. and Eun-jung Cheon, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Konyang University, Daejeon, Korea

Purpose : The purpose of this study was to investigate the polymorphisms of the TNF- α promoter gene, its susceptibility to Kawasaki disease (KD) and to assess whether the TNF- α promoter gene polymorphism was related to the risk of coronary artery lesions (CALs).

Methods : From January 2003 to January 2007, 51 children (30 boys and 21 girls) with KD and 48 children from an age-matched control group were studied. DNA from the peripheral blood of all the children was sampled, and the polymorphisms of the 5' flanking regions of the TNF- α promoter gene at position -308 [guanine (G) to adenine (A)] were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Then, the relationship between KD and the TNF- α promoter gene polymorphisms was evaluated.

Results : The A allele frequency of the -308 site of the TNF- α promoter gene was 17.6% (9/51) for children with KD and 6.8% (3/48) for the control group children, but this result was not statistically significant. Twenty-four patients with CALs within 60 days after the onset of symptoms. KD children with TNF- α -308 A allele had lower frequencies (12.5% versus 22.2% $P > 0.05$).

Conclusion : The DNA polymorphism of the -308 site TNF- α gene was not associated with susceptibility to KD or the risk of CALs. Multicenter, large-scale randomized controlled trials are needed for further study. (Korean J Pediatr 2009; 52: 476-480)

Key Words : Mucocutaneous lymph node syndrome, Coronary arteries, TNF- α polymorphism

서 론

가와사키병은 영아와 소아에게 발열과 점막피부 염증 징후를 보이는 전신성 혈관염으로 소아 연령에서 가장 흔한 후천성 심질환의 원인이다¹⁾.

최근 가와사키 발병율이 인종에 따라 현저한 차이가 있다는 여

러 보고들을 근거로 가와사키병의 유전적 성향에 대하여 다양한 역학적인 연구들이 제시되고 있으며, 가와사키병의 발병에 대한 분자유전학적인 연구도 이루어지고 있다²⁾. 가와사키병은 유전적으로 감수성이 높은 숙주에서 발생하며, 특히 가와사키병 환자 중 관상동맥 병변의 동반여부는 개개인의 염증 반응의 정도와 연관성이 높다는 주장이 제기되었다³⁾.

현재까지 가와사키병의 발병과 관련하여 가장 유력한 가설은 면역반응을 조절하는 유전학적 인자들의 다형성이 가와사키병의 발생에 중요한 역할을 할 것이라는 것이다. 특히 TNF- α 는 전구염증 사이토카인 중 하나로 class III major histocompatibility complex (MHC)에 위치하고 있으며, 몇가지 대립유전자의 다형성에 관한 연구가 시도되었다^{4,5)}. 이중 -308A 대립유전자는 전사적 활성도가 높아 TNF- α 의 생산을 증가시키고 여러 감염질환, 자가면역질환 및 면역 매개성 질환과도 의미있는 연관이 있다고 보

Received : 25 August 2008, Revised : 30 January 2009

Accepted : 6 February 2009

Address for correspondence: Cheon Eun-jung, MD
Department of Pediatrics, College of Medicine, Konyang University,
685, Gasooon-Dong, Seo-gu, Daejeon, 302-718, Korea
Tel : +82-42-600-9230, Fax: +82-42-600-9090

E-mail : koojook@edmail.co.kr

This study was supported by the research fund of Seoul University Pediatric in 2005

This study was presented at the 58th annual fall meeting of the Korean pediatric society, 2007

고되고 있으며^{6,7)} 가와사키병에서도 연관성을 찾을 수 있다⁸⁾. 이는 가와사키병 환자들의 혈청에서 TNF- α 혈중 농도가 현저히 증가되었다는 연구들과²⁾ 정맥 내 면역글로불린(IVIG)에 반응하지 않는 가와사키병 환자들에 대한 치료로 최근에 TNF- α antagonist인 infliximab이 사용되고 있는데 그 치료 반응이 좋다는 사실들이 뒷받침하고 있다⁹⁾. 또한 동물실험에서 이 물질이 가와사키병과 아주 유사한 관상동맥의 염증 반응을 유발하였다는 연구가 이루어졌다¹⁰⁾.

이에 저자들은 가와사키병 환아에서 TNF- α 유전자의 다형성을 조사함으로써 가와사키병과 유전자 다형성의 관련 여부를 알아보고 유전자 다형성이 관상동맥 병변에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2003년 1월부터 2007년 1월까지 가와사키병으로 진단받고 건양대학교 병원 소아청소년과에 내원하여 치료받은 환아 중 보호자에게 본 연구의 취지를 설명한 후 유전자 검사에 동의한 51명의 환아(가와사키병 환아군, 남아 30명, 여아 21명)를 대상으로 하였고 가와사키병 기왕력이 없이 가와사키병 및 다른 염증성 및 면역 질환 이외의 질병으로 내원하였던 환아 48명(남아 31명, 여아 17명)을 대조군으로 하였다. 가와사키병의 진단은 일본의 Kawasaki Disease Research Committee와 미국의 Centers for Disease Control의 진단기준에 의하여 5일 이상 지속되는 고열과 다음 열거한 5가지 항목 1) 화농성이 없는 양측성 결막 충혈 2) 입술, 입안의 변화 3) 부정형 발진 4) 급성기의 비화농성 경부 림프절 비대(1.5 cm 이상) 5) 손발의 변화(급성기 손발의 경성 부종과 홍조, 아급성기의 손발톱 주위의 막양 낙설) 중 4가지 이상이 충족될 때로 정의하였다. 또한 5일 이상의 고열이 있으면서 위에 열거한 5가지 항목 중 3가지만 충족시키나 나중에 관상동맥류가 입증되면 가와사키병으로 진단하였다.

가와사키병 환아에서 관상동맥의 병변은 심초음파를 통해 증상 발현 후 60일 이내에 확인하였으며 관상동맥의 직경이 5세 미만에서는 3 mm 이상, 5세 이상에서는 4 mm 이상인 경우로 정의하였다.

2. 분자 유전학적 검사 방법

1) 혈액 채취 및 DNA 추출

대조군과 가와사키병 환아군의 혈액 0.5cc를 채혈하여 EDTA 튜브에 넣어 응고를 방지한 다음 DNA를 추출하기 전까지 -26 °C에 보관하였고 DNA추출은 GenomiPhi DNA Amplification Kit (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)를 이용하였다.

2) DNA 증합효소반응(polymerase chain reaction, PCR)

TNF- α 유전자의 촉진자 부위를 증폭하여 308위치의 A/G

다형성을 확인하기 위해 primer 5'-CTCAGGACTCAACACAG C-3'와 5'-GGGAAAGAATCATTC AACCAG-3'를 이용하였으며 PCR 반응은 다음과 같은 조건으로 수행하였다. 94°C에서 10분간 전변성, 94°C에서 45초간 변성, 60°C에서 30초간 풀림, 72°C에서 45초간 연장하고 이것을 30회 반복한 다음 72°C에서 10분간 마지막 연장을 시행하였다. 이것을 전기영동 하여 745 bp임을 확인한 후 Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen, Germantown, USA)를 사용하여 PCR 산물을 정제하였다.

3) 염기서열 분석

PCR로 증폭한 DNA 절편을 Big Dye Sequencing chemistry Kit (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA) 내의 방법에 따라 혼합액을 만든 후 다음의 방법에 따라 반응을 시켰다. 변성은 96°C에서 10초, 풀림은 50°C에서 5초, 연장은 60°C에서 4분으로 25회 반복하였다. 이것을 microcentrifuge tube에 10 μ L을 담고 95% 에탄올 40 μ L을 첨가하여 실온에서 원심분리 하였다(13,000 rpm, 10분). 피펫으로 상층액을 버리고 침전물을 70% 에탄올 75 μ L로 세척한 후 원심분리(13,000 rpm, 5분) 하였다. 다시 피펫으로 상층액을 버리고 침전물을 1-2분간 90-95 °C에서 건조 시켰다. Blue dextran과 formamide를 1:5로 혼합하여 만든 loading buffer를 1.5 μ L씩 넣고 이것을 90-95°C에서 2분간 열을 가한 후 ABI Prism 377 DNA sequencer (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)를 이용하여 염기서열 분석으로 확인하였다.

4) 자료 분석

가와사키병 환아군과 대조군으로 나누어 TNF- α 촉진자 유전자의 -308 (A/G)의 빈도를 분석하였으며 가와사키병 환아군 중 관상동맥 병변이 있는 군과 없는 군에서 역시 TNF- α 유전자의 다형성의 빈도를 비교하였다. 통계 분석은 SPSS version 12.0을 사용하여 chi-square test를 실시하였고 $P < 0.05$ 인 경우 통계학적인 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

가와사키병 환아군(n=51)과 대조군(n=48) 각각의 성별과 나이, 그리고 환아군 중에서 관상동맥 합병증을 동반한 경우를 비교하였다. 전체 가와사키병 환아군은 남자는 30명, 여자는 21명, 평균연령은 33.7 \pm 17.1개월이었고 대조군은 남아 31명, 여아 17명, 평균연령은 36 \pm 18.7개월로 두 군 사이에 통계학적 차이는 없었다. 가와사키병 환아군의 총 51명 중 24명에서 관상동맥 합병증이 발생하였다(Table 1).

가와사키병 환아군과 대조군의 TNF- α 촉진자 유전자의 다형성의 빈도를 비교하였다. TNF- α 유전자 -308 G/A의 다형성은 대조군(n=48)이 각각 G/G 45(93.8%), G/A 3(6.8%), A/A 0(0%)이었고 가와사키병 환아군(n=51)은 G/G 42(82.4%), G/A 9(17.6%), A/A 0(0%)이었다. 대조군과 가와사키병 환아군의 다형성 빈도를 비교했을 때 가와사키 환아군에서 유전자 다형성의

Table 1. Clinical Data for Patients with Kawasaki Disease

	KD (n=51)	Control (n=48)
Sex (M/F)	30/21	31/17
Age (month)	33.7±17.1	36±18.7
CAL	24	

Abbreviations : KD, Kawasaki disease; CAL, coronary artery lesion; M, male; F, female

Table 2. Genotype Frequency of TNF-alpha Promoter Polymorphisms in Patients with Kawasaki Disease and the Control Group

Genotype	KD (%)	Control (%)	Total (%)
-308 G/A			
GG	42 (82.4)	45 (93.8)	87 (87.9)
GA	9 (17.6)	3 (6.3)	12 (12.1)
AA	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	51 (100)	48 (100)	99 (100)

Abbreviations are same as in Table 1.
 $\chi^2=3.015, P=0.082$

Table 3. Genotype Frequency of TNF-alpha Promoter Polymorphisms of Coronary Artery Lesions and Normal Coronary Arteries in Patients with Kawasaki Disease

Genotype	CAL (%)	Normal (%)	Total (%)
-308 G/A			
GG	21 (87.5)	21 (77.8)	42 (82.4)
GA	3 (12.5)	6 (22.2)	9 (17.6)
AA	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	24 (100)	27 (100)	51 (100)

Abbreviations are same as in Table 1.
 $\chi^2=0.0826, P=0.363$

빈도수가 높았지만 이는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.082$, Table 2).

가와사키병 환자군 중에 관상동맥 병변이 있는 경우는 24명으로 -308 G/G가 21명(87.5%), G/A 3명(12.5%)이었고, 관상동맥이 정상인 경우는 27명으로 G/G가 21명(77.8%), G/A 6명(22.2%)으로 관상동맥 병변이 있는 경우의 유전자 다형성의 빈도수가 낮았다($P=0.363$, Table 3).

따라서, 본 실험에서 가와사키병의 발생과 TNF-alpha 유전자 다형성의 직접적인 관련성을 찾을 수는 없었고 관상동맥 합병증 여부와의 연관성도 발견할 수 없었다.

고 찰

가와사키병은 1967년 Tomisaku Kawasaki에 의해 일본에서 처음 보고된 질환이며 영아와 소아에게 발열과 점막피부 염증 징후를 보이는 전신성 혈관염으로 최근 류마티스열이 점차 감소함

에 따라 가와사키병은 소아연령에서 가장 흔한 후천성 심질환의 원인이다¹⁾.

가와사키병에 대하여 아직까지 확실한 병인이 밝혀지지 않았으나 감염이 강하게 대두되고 있으며 이는 지역적, 계절적 차이, 감염성 질환과 비슷한 임상증상 등에 근거하여 설명할 수 있으며¹²⁾ 가와사키병 환자들에서 공통적으로 전신에 혈관염이 관찰되고 혈액 내에 다양한 면역학적 이상 소견들이 나타나기에 면역 기전에 의한 질환으로 발병 원인을 설명하고 있다¹³⁾. 또한 본 연구에서 다루고자 하였던 부분이기도 한 유전학적인 측면에 대한 여러 연구가 있어 왔는데 가와사키병의 유전적 성향에 대한 첫 번째 증거는 역학적으로 인종에 따라 발병률의 차이가 있다는 것이다. 발생 빈도가 높은 나라로는 일본, 한국, 중국 순위이며 통계적으로 일본의 발생 빈도는 미국의 5배 이상으로 높다¹⁴⁾. 1995- 1999년 미국 California 의 역학 조사에 의하면 5세 미만의 소아 10만 명당 발병은 15.3명이었으며 인종에 따른 발병율은 아시안계 35.3명, 흑인 24.6명, 백인 14.7명의 순이었다¹⁵⁾. 두 번째는 가족적으로 일본에서 가와사키병을 앓은 환자의 형제에서 1년 내에 발병율이 2.1% 이었는데 이는 가장 높은 발병율을 보였던 해외 일반 소아의 발병율인 0.19% 보다 10배 이상 높은 수치이다^{16, 17)}. 이는 유전적으로 결정된 높은 감수성이 가와사키병의 발병과 높은 관련이 있다는 근거가 될수 있다.

따라서 이러한 가와사키병의 유전적인 성향을 근거로 최근에는 개개인의 유전자 염기서열을 분석하여 가와사키병의 발병에 특정 유전자 부위가 병인으로서 작용을 하는지에 대한 연구가 많이 보고되고 있다^{18, 19)}. Single nucleotide polymorphism (SNP)은 유전학적 연구의 중요한 도구로 이용되고 있는데 이는 인간유전자의 변이 중 가장 다양하고 흔한 변이로서 DNA의 특정부위의 염기서열이 사람마다 다양하게 존재하는 것이다. 이에 가와사키병 환자 개개인에게서 특정 물질에 대한 DNA의 SNP를 분석함으로써 이 병의 유전적인 성향 그리고 질병과 관련되어 있는 유전자에 대한 근거를 제시할 수 있다²⁰⁾.

가와사키병의 면역학적인 측면을 살펴보면 INF- γ , IL-6, IL-4, IL-10과 같은 염증성 반응 물질이 급성기 가와사키병 환자의 혈청에 증가되어 있는 것이 관상동맥류 발생과 연관이 있음을 여러 연구에서 보고하고 있다^{4, 8)}. 염증성 매개 물질 중에서 TNF-alpha는 전구 염증 싸이토카인 중 하나로 많은 감염성 혹은 자가면역성 질환에서 강력한 면역 매개 물질로 여겨지고 있는데, 이는 대식세포, 활성화 T 세포, 비만세포에서 생산되며 중성구, 림프구, 단핵세포를 활성화시키는 작용을 하여 발열, 백혈구 응집, 혈전을 형성하는 역할을 하고 있다. TNF-alpha 유전자는 class III major histocompatibility complex (MHC)에 위치하여 있는데²¹⁾ Wilson 등^{4, 5)}이 TNF-alpha 유전자의 촉진자 부위에 해당하는 nucleotide position -308의 다형성을 발견하였고, 이 부위의 guanidine(G)이 adenine(A)으로 치환되는 -308A 대립유전자는 전사적 활성도가 높아 TNF-alpha의 생산도 증가시키고, 여러 감염질환, 자가면역 질환 및 면역 매개성 질환과도 의미있는 관련이 있다고 보고되었다

6, 7). 또한 한 연구에서는 TNF- α 가 실제적으로 급성기 가와사키병 환자의 혈청에서 현저하게 증가되어 있다가 회복기로 접어들면서 감소하는 양상을 보였고 이 물질이 혈중에 증가되어 있는 경우 관상동맥류와 관계가 깊다고 보고하고 있다²⁾. 또한 최근 IVIG의 치료에 반응하지 않는 가와사키병 환자에서 TNF- α antagonist인 infliximab 이 사용되고 있는데 약물 사용 이후 반응이 좋아 질병의 경과를 완화시켜 준다는 것과 TNF- α 와 IL-10 등의 유전자의 다형성이 관상동맥의 합병증에 영향을 미칠수 있다는 연구가 또한 보고 되고 있다^{9, 10)}.

따라서 저자들의 연구는 가와사키병 환자의 발병률과 급성기에 증가하는 TNF- α 촉진자 유전자의 다형성이 관련이 있는지의 여부, 그리고 유전자 다형성이 관상동맥 합병증의 발생률과 어떠한 상관 관계가 있는지를 조사하고자 한 것이다. 가와사키병 환자 및 대조군에 있어 TNF- α -308번의 촉진자 유전자를 GG, GA, AA 세 그룹으로 나누었으며 G이 A으로 치환되는 그룹을 다형성이 있다고 보았고 GA, AA 에 해당하는 유전자 다형성의 빈도가 대조군에 비해 가와사키병 환자군에서 높았으나 이는 통계학적 유의성은 없었다. 이는 Ahn 등²⁾에 의한 국내 연구에서 두 군간 유전자 다형성의 빈도가 동일하였던 결과와는 차이가 있었다. 또한 가와사키병 환자를 관상동맥 합병증의 동반 여부에 따라 두 개의 군으로 나누었고 TNF- α 유전자의 다형성은 관상동맥 병변의 위험성과 연관성이 없는 결과를 얻었다.

본 연구에서는 대조군 설정에 있어서 전신 상태가 완전히 정상인 소아 및 영아 대상이 아니고 염증성 질환이나 면역 질환에 이환된 환아는 아니더라도 다른 계통의 질병을 지닌 환아를 대상으로 하였다는 점과 연구 대상군이 작다는 한계를 지니고 있다. 또한 가와사키병 환자군에서 관상동맥 합병증이 없었던 환아들이 다수 누락되었다.

본 연구의 결과에서 가와사키병 환자의 TNF- α 유전자의 다형성과 가와사키병의 발병과는 통계학적으로 유의한 관련성이 없었으나 가와사키병 환자에서 G/A 빈도수가 17.6%으로 대조군에서의 6.8% 보다 높게 나타났기에 향후 더 많은 수의 환아와 편견이 없는 대조군을 대상으로 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

목적 : 저자들은 가와사키병 환자에서 TNF- α 유전자의 다형성을 조사함으로써 가와사키병과 유전자 다형성의 관련 여부를 알아보고, 또한 관상동맥 병변의 발생과 연관이 있는지를 살펴 보려 하였다.

방법 : 2003년 1월부터 2007년 1월까지 가와사키병 환자 51명과 대조군 48명을 대상으로 TNF- α 촉진자의 단일 유전자 다형성을 살펴보았으며, 가와사키병 환자 중 관상동맥 병변이 있는 24명(관상동맥병변군)과 관상동맥 이상이 없었던 27명(정상관상동맥군)에서의 유전자 다형성을 또한 비교하였다. 말초 혈액에서

DNA를 추출하여 TNF- α 유전자 -308 부위의 촉진자에 위치한 2개의 단일 염기 서열 G/A에 대한 대립 유전자의 다형성을 Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 방법으로 분석하였다.

결과 : 가와사키병 환자군에서의 -308번 TNF- α 유전자의 다형성은 51명 중 9명으로 17.6%였고, 정상 대조군에서는 48명 중 3명으로 6.8%로 가와사키병 환자군에서 높았으나 통계학적으로 유의성은 없었다. 가와사키병 환자 중 관상동맥병변군 24명 중 3명인 12.5%에서 유전자 다형성이 있었고 정상관상동맥군은 27명 중 6명인 22.2%로 정상관상동맥군에서 더 높은 빈도이었으나 통계학적으로 유의하지 않았다.

결론 : 본 연구에서는 가와사키병 환자의 TNF- α 의 다형성과 가와사키병의 발병과의 관련성이 통계학적으로 유의한 수준은 아니지만 가와사키병 환자에서 G/A 빈도수가 17.6%으로 대조군에서 6.8% 보다 다소 높게 나타난 결과를 얻었고 앞으로 많은 수의 환아를 대상으로 한다면 유의한 차이가 있을 것으로 생각되므로 향후 대규모의 지속적인 연구가 필요할 것이다.

References

- 1) Taubert KA, Rowley AH, Shulman ST. Seven-year national survey of Kawasaki disease and acute rheumatic fever. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:704-8.
- 2) Ahn SY, Jang GC, Shin JS, Shin KM, Kim DS. Tumor necrosis factor- α levels and promoter polymorphism in patients with Kawasaki disease in Korea. *Yonsei Med J* 2003;44:1021-6.
- 3) Rowley AH, Shulman ST. Kawasaki syndrome. *Pediatr Clin North Am* 1999;46:313-29.
- 4) Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNF α) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet* 1992;1:353.
- 5) Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3195-9.
- 6) Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, et al. Association of TNF2, a TNF- α promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA* 1999;282:561-8.
- 7) Rood MJ, van Krugten MV, Zanelli E, van der Linden MW, Keijsers V, Schreuder GM, et al. TNF-308A and HLA-DR3 alleles contribute independently to susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:129-34.
- 8) Yang J, Li CR, Li YB, Li RX, Sun LB, Huang HJ, et al. The correlation between Kawasaki disease and polymorphisms of tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 gene promoter. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2003;41:598-602.
- 9) Oishi T, Fujieda M, Shiraiishi T, Ono M, Inoue K, Takahashi A, et al. Infliximab treatment for refractory Kawasaki disease with coronary artery aneurysm. *Circ J* 2008;72:850-2.
- 10) Hui-Yuen JS, Duong TT, Yeung RS. TNF- α is neces-

- sary for induction of coronary artery inflammation and aneurysm formation in an animal model of Kawasaki disease. *J Immunol* 2006 May 15;176:6294-301.
- 11) Dajani AS, Taubert KA, Gerber MA, Shulman ST, Ferrieri P, Freed M, et al. Diagnosis and therapy of Kawasaki disease in children. *Circulation* 1993;87:1776-80.
 - 12) Komatsu H, Fujisawa T. Kawasaki disease and infection. *Nippon Rinsho* 2008;66:278-82.
 - 13) Abe J. Immunological aspects of Kawasaki disease. *Nippon Rinsho* 2008;66:267-71.
 - 14) Belay ED, Holman RC, Clarke MJ, Destefano F, Shahriari A, Davis RL, et al. The incidence of Kawasaki syndrome in West Coast health maintenance organizations. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:828-32.
 - 15) Chang RK. Epidemiologic characteristics of children hospitalized for Kawasaki disease in California. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:1150-5.
 - 16) Fujita Y, Nakamura Y, Sakata K, Hara N, Kobayashi M, Nagai M, et al. Kawasaki disease in families. *Pediatrics* 1989; 84:666-9.
 - 17) Curtis N, Levin M. Kawasaki disease thirty years on. *Curr Opin Pediatr* 1998;10:24-33.
 - 18) Quasney MW, Bronstein DE, Cantor RM, Zhang Q, Storoupe C, Shike H, et al. Increased frequency of alleles associated with elevated tumor necrosis factor- α levels in children with Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2001;49:686-90.
 - 19) 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.
 - 20) Taylor JG, Choi EH, Foster CB, Chanock SJ. Using genetic variation to study human disease. *Trends Mol Med* 2001; 7:507-12.
 - 21) Kim HR, Lee MK, Park AJ. The -308 and -238 Polymorphisms of the TNF- α promoter gene in type 2 diabetes mellitus. *Korean J Lab Med* 2006;26:58-63.