



Article original

Polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires (TNF α et IL1) au cours de l'asthme allergique

Inflammatory cytokines (TNF α and IL1) polymorphisms in asthma

T. Dhaouadi ^{a,*}, I. Sfar ^a, H. Aouadi ^a, M. Amri ^a, S. Jendoubi-Ayed ^a, H. Bouacha ^b,
T.B. Abdallah ^a, K. Ayed ^a, Y. Gorgi ^a

^a Laboratoire de recherche en transplantation rénale et en immunopathologie, EPS Charles Nicolle (LR03SP01), université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie

^b Service de pneumologie, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Reçu le 3 mai 2011 ; accepté le 4 mai 2011

Résumé

Introduction. – Le TNF α et l'IL1 sont deux cytokines pro-inflammatoires impliquées dans la phase tardive inflammatoire au cours de l'asthme allergique.

But. – Le but de ce travail était d'étudier les polymorphismes génétiques de ces deux cytokines qui pourraient modifier leur taux de production et ainsi influencer la susceptibilité à cette maladie et/ou son expression clinique.

Patients et méthodes. – Les polymorphismes du TNF α (G/A-308), de l'IL1 β (C/T –511), de l'IL1 β (C/T +3954), de l'IL1 α (C/T –889) et le polymorphisme de l'IL1-Ra au niveau de l'intron 2 ont été analysés par biologie moléculaire chez 107 malades atteints d'asthme allergique et 168 sujets appariés en âge et en sexe.

Résultats. – La prévalence de l'allèle T du polymorphisme de l'IL1 β (C/T +3954) était significativement moins élevée chez les malades par rapport aux témoins ($p = 0,002$; OR : 0,423 ; IC : [0,239–0,746]) alors que la fréquence du génotype homozygote IL1Ra*2/2 était significativement plus élevée chez les malades par rapport aux témoins ($p = 0,0056$; OR : 11,57 ; IC : [1,4–25,44]). L'analyse des polymorphismes du TNF α (A/G-308), de l'IL1 α (C/T –889) et de l'IL1 β (C/T –511) n'a montré aucune différence statistiquement significative concernant les fréquences alléliques et génotypiques entre les malades et les témoins. L'allèle IL1Ra*2 était significativement plus fréquent chez les malades ayant un taux élevé des IgE [supérieur à 200 UI/mL (25 %)] par rapport aux malades ayant un taux normal des IgE (16,7 %), $p = 0,031$; OR : 3,5 ; IC : [1,064–11,5]. Toutefois, l'analyse multivariée n'a pas confirmé ces résultats.

Conclusion. – Dans la population tunisienne, le polymorphisme de l'IL1Ra (intron 2) semble prédisposer à l'asthme allergique alors que celui de l'IL1 β (C/T +3954) serait plutôt protecteur.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : TNF α ; Interleukine 1 ; Polymorphisme ; Génétique ; Asthme

Abstract

Introduction. – TNF α and IL1 are two inflammatory cytokines involved in the late inflammatory stage of asthma.

Aim. – We aimed to detect genetic polymorphisms of those two cytokines which can modify the rate of their expression and thus influence the disease predisposition and its clinical outcome.

Patients and methods. – Polymorphisms of TNF α (G/A-308), IL1 β (C/T –511), IL1 β (C/T +3954), IL1 α (C/T –889) and IL1Ra (intron 2) were analyzed by polymerase chain reaction in 107 patients with asthma and 168 controls.

Results. – The frequency of the allele T of IL1 β (C/T +3954) was significantly lower in patients than in controls ($P = 0.002$; OR: 0.423; CI: [0.239–0.746]) while the homozygous genotype IL1Ra*2/2 was significantly more frequent in patients comparatively to controls ($P = 0.0056$; OR: 11.57; CI: [1.4–25.44]). There were no significant differences in genotypic and allelic frequencies in polymorphisms of TNF α (G/A –308), IL1 α (C/T –889) and IL1 β (C/T –511) between patients and controls. IL1Ra*2 allele was significantly more frequent in patients with high levels of IgE (> 200 UI/mL) (25%) comparatively to patients with normal levels (16.7%) $P = 0.031$; OR: 3.5; CI: [1.064–11.5]. Nevertheless, adjustments for known covariates factors (age and gender) had not confirmed these univariate findings.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : dhaouaditarak@yahoo.fr (T. Dhaouadi).

Conclusion. – In Tunisia, IL1Ra polymorphism seems to predispose to asthma while the IL1 β (C/T +3954) is rather protecting.
© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: TNF α ; Interleukin 1; Polymorphism; Genetic; Asthma

1. Introduction

La composante héréditaire de l'asthme a été évoquée depuis l'antiquité et la première liaison entre la réponse IgE et un gène d'atopie a été décrit, il y a une quinzaine d'année. L'existence d'une agrégation familiale avait conforté cette théorie [1]. Cette agrégation reflète à la fois le risque génétique et le risque environnemental apportés par les facteurs partagés au sein d'une famille. L'hérédité de l'asthme est d'environ 60 %, mais les discordances des présentations cliniques, même entre jumeaux monozygotes, impliquent une pénétrance incomplète des gènes de susceptibilité [2].

L'identification des gènes de susceptibilité à l'asthme allergique a pu être réalisée selon deux procédés : les études de liaison et les études d'association.

Parmi les régions chromosomiques d'intérêt, celle de l'HLA 6p21 présente un risque relatif de l'ordre de 2, bien plus faible que pour d'autres maladies immunologiques multifactorielles. La région HLA inclut également le *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF α) [2]. Un polymorphisme biallélique au niveau du promoteur (TNF α -308*1/2 ou G/A) serait associé à l'asthme avec un risque relatif d'environ 2. L'allèle TNF-308*A est associé à une plus grande production de TNF α et pourrait contribuer à l'augmentation de la composante inflammatoire de l'asthme. Cependant, il reste difficile à apprécier le rôle exact de ce gène vu le fort déséquilibre de liaison avec les gènes HLA.

La famille des gènes de l'IL1 (IL1 α , IL1 β et IL1Ra) est située au niveau des bandes 13 et 14 du bras long du chromosome 2, qui est précisément une région liée significativement à l'asthme [3]. L'IL1 α présente un polymorphisme biallélique C/T au niveau du promoteur à la position –889 et l'allèle T serait associé à une plus grande production d'IL1 α . Le gène de l'IL1 β possède plusieurs polymorphismes et plus particulièrement ceux du promoteur C/T –511 qui serait associé à une plus grande activité du promoteur et celui de l'exon 5 C/T +3954. L'IL1Ra qui est un récepteur antagoniste de l'IL1 possède un polymorphisme penta-allélique dû à la répétition d'une séquence de 86 pb avec cinq allèles définis : IL1-Ra*1 (quatre répétitions), IL1-Ra*2 (deux répétitions), IL1-Ra*3 (cinq répétitions), IL1-Ra*4 (trois répétitions) et l'IL1-Ra*5 (six répétitions). L'allèle IL1Ra*2 s'associe à une moindre production d'IL1Ra et à une plus grande production de l'IL1 β et ainsi favorise une exacerbation de l'inflammation [4,5].

Notre objectif était d'étudier les polymorphismes du TNF α et de la famille de l'IL1 chez des malades tunisiens atteints d'asthme allergique et de rechercher une éventuelle association entre ces polymorphismes et un phénotype particulier de cette maladie.

2. Patients et méthodes

2.1. Patients et témoins

Cette étude a porté sur 107 malades atteints d'asthme allergique et 168 sujets normaux sains appariés en âge et en sexe. Les malades ont été colligés au sein du service de pneumologie à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. Le groupe étudié était composé de 36 hommes et de 71 femmes, d'âge moyen de début de $26,81 \pm 11,67$ ans, avec une médiane d'évolution de 78,64 mois. Les caractéristiques clinicobiologiques des patients sont consignées dans le [Tableau 1](#).

Cent soixante-huit sujets sains témoins tunisiens, donneurs de sang colligés au niveau du centre national de transfusion, ont servi de témoins pour l'étude des polymorphismes de l'IL1 et du TNF.

Le comité d'éthique local a approuvé cette étude et un consentement éclairé a été obtenu de la part de tous les sujets.

2.2. Méthodes

Les prélèvements ont été réalisés à partir du sang périphérique dans des tubes Falcon (PP) de 50 mL contenant 2 mL d'EDTA sodique à 5 %. L'extraction de l'ADN génomique fut réalisée selon la technique de *salting-out* qui repose sur le principe du relarguage des protéines à force ionique élevée [6].

L'étude des polymorphismes du TNF α (A/G -308), de l'IL1 α (C/T –889), de l'IL1 β (C/T –511) et (C/T +3954) et de l'IL1Ra (intron 2) fut réalisée par biologie moléculaire (PCR-RFLP, PCR-SSP et PCR-VNTR) [7,8].

2.3. Analyse statistique

L'étude statistique a été effectuée par le test de χ^2 et l'*odds ratio* (OR) en utilisant le logiciel Epi-info 6.04b. Le seuil de significativité a été fixé à 0,05 correspondant à un intervalle de confiance (IC) supérieur ou égale à 95 %.

3. Résultats

3.1. Résultats globaux

IL1 : nous n'avons pas trouvé de différences statistiquement significatives au niveau des fréquences alléliques et génotypiques entre les malades et les témoins concernant les polymorphismes de l'IL1 α (C/T –889) et de l'IL1 β (C/T –511) ([Tableau 2](#)). En revanche l'allèle T du polymorphisme de l'IL1 β (C/T +3954) était significativement moins prévalent chez les malades (0,147) par rapport aux témoins (0,185) ($p = 0,002$; OR : = 0,423 ; IC : [0,239–0,746]). Par ailleurs, le

Tableau 1
Caractéristiques clinico-biologiques de nos malades.

Caractéristiques clinico-biologiques	Total = 107
Atopie associée (rhinite et/ou conjonctivite allergiques)	<i>n</i> = 86
Antécédents familiaux d'atopie	<i>n</i> = 28
Antécédents familiaux d'asthme	<i>n</i> = 11
Asthme persistant avec symptomatologie nocturne ^a	<i>n</i> = 23
IgE > 200 UI/mL	<i>n</i> = 66

^a Les critères de la GINA ont été utilisés pour estimer la sévérité de l'asthme.

génotype homozygote IL1Ra*2/2 était significativement plus fréquent chez les malades (16,7 %) par rapport aux témoins (1 %), *p* = 0,0056 ; OR : = 11,57 ; IC : [1,4–25,44] (Tableau 3).

Par ailleurs, la fréquence de l'haplotype IL1Ra*2/IL1β(+3954)*C était plus élevée chez les patients (9,25 %) par rapport aux témoins (5 %) mais la différence n'était pas statistiquement significative, *p* = 0,24 ; OR : = 1,94 ; IC : [0,46–821].

TNFα (A/G -308) : nos résultats n'ont pas montré de différence statistiquement significative concernant les fréquences alléliques et génotypiques entre les malades et les témoins (Tableau 2).

3.2. Résultats analytiques

L'étude analytique de ces polymorphismes en fonction des différentes données clinico-biologiques n'a montré aucune

association statistiquement significative concernant les polymorphismes du TNFα, de l'IL1α et l'IL1β. En revanche un taux élevé des IgE (> 200 UI/mL) était significativement plus fréquent chez les malades ayant l'allèle IL1Ra*2 (0,250) par rapport aux malades n'ayant pas cet allèle (0,167), *p* = 0,031 ; OR : = 3,5 ; IC : [1,064–11,5] (Tableau 3). Toutefois, l'analyse multivariée par régression logistique en apparaissant en âge et en sexe n'a pas confirmé cette association.

4. Discussion

La réaction inflammatoire au cours de l'asthme inclut une étape d'initiation dépendante des cellules dendritiques, une étape effectrice avec la libération de multiples médiateurs par les cellules inflammatoires, mastocytes, polynucléaires neutrophiles (PNN), éosinophiles (PNE), macrophages, lymphocytes et une phase de remodelage des voies aériennes [9]. À côté des médiateurs classiques, histamine, leucotriènes, on insiste actuellement sur le rôle essentiel des cytokines pro-inflammatoires (IL1, TNFα et IL6) et des chimiokines, qui sont des acteurs essentiels du trafic cellulaire local [9].

L'IL1 et le TNFα sont des cytokines pro-inflammatoires qui jouent un rôle important dans la réponse immune innée, assurent une défense immédiate de l'organisme contre les micro-organismes envahissants avant l'activation de la réponse immune adaptative. Ces cytokines sont principalement produites par les macrophages en réponse à l'activation des récepteurs de l'immunité innée, *pattern recognition receptor*

Tableau 2
Résultats analytiques des SNPs étudiés [1].

Polymorphisme	Témoins	Malades	Forme sévère	Atopie associée	IgE > 200 UI/ml
IL1α (–889)					
Fréquences génotypiques					
C/C (%)	56	55,6	41,1	55,2	53,6
C/T (%)	37	44,4	58,9	44,8	46,4
T/T (%)	7	0	–	–	–
Fréquences alléliques					
C	0,745	0,778	0,706	0,776	0,768
T	0,255	0,222	0,294	0,224	0,232
IL1β (+3954)					
Fréquences génotypiques					
C/C (%)	49	63	70,6	72,4	67,9
C/T (%)	32	37	29,4	27,6	32,1
T/T (%)	19	0	–	–	–
Fréquences alléliques					
C	0,650	0,815 OR : 2,36 IC[1,34–4,17] <i>p</i> = 0,002	0,853	0,862	0,839
T	0,350	0,185	0,147	0,138	0,161
IL1β (–511)					
Fréquences génotypiques					
C/C (%)	40	59,3	47,1	58,6	64,3
C/T (%)	42	9,3	17,6	10,4	–
T/T (%)	18	31,4	35,3	31	35,7
Fréquences alléliques					
C	0,610	0,639	0,559	0,638	0,643
T	0,390	0,361	0,441	0,362	0,357

Tableau 3
Résultats analytiques des SNPs étudiés [2].

Polymorphisme	Témoins	Malades	Forme sévère	Atopie associée	IgE > 200 UI/ml
IL1Ra					
Fréquences génotypiques					
1/1 (%)	54	77,8	64,7	75,8	75
1/2 (%)	36	0	–	–	–
1/3 (%)	3	0	–	–	–
1/4 (%)	6	0	–	–	–
2/2 (%)	1	16,7 ; OR : 11,57 IC[1,4–25,44] ; $p = 0,0056$	23,5	20,7	25
3/3 (%)	0	3,7	11,8	3,5	–
4/4 (%)	0	1,8	–	–	–
Fréquences alléliques					
1	0,765	0,778	0,647	0,759	0,750
2	0,190	0,167	0,235	0,207	0,250 OR : 3,5 ; IC [1,064–11,5] ; $p = 0,031$
3	0,015	0,037	0,118	0,034	–
4	0,030	0,018	–	–	–
TNFα (-308)					
Fréquences génotypiques					
A/A (%)	2,38	5,6	4,34	6	6
A/G (%)	25	28,97	26	30,1	28,78
G/G (%)	72,6	64,4	69,56	63,85	65,15
Fréquences alléliques					
A	0,148	0,2	–	–	–
G	0,851	0,79	–	–	–

(PRRs), par des motifs, *pathogen associated molecular pattern* (PAMPs), exprimés à la surfaces des pathogènes. Ces mêmes cytokines sont susceptibles de générer et d'activer les principales cellules impliquées dans l'asthme, en effet dans des modèles murins, le TNF produit par les mastocytes induit une hyper-réactivité bronchique, une inflammation des voies aériennes ainsi qu'une production de cytokines de type Th2 (IL3, IL4, IL5, IL13) [10]. Une étude assez récente [11] réalisée chez 30 rates asthmatiques a démontré que l'injection de l'IL1Ra, qui est un récepteur antagoniste de l'IL1 à ces animaux, est résolument un traitement très efficace agissant par le biais de l'inhibition de la transcription en ARNm de STAT6 et NF- κ B. Ces mécanismes reflètent l'intérêt des différentes études des polymorphismes des gènes de ces cytokines au cours de l'asthme [12–21].

4.1. La famille de l'IL1

Aucune étude publiée à ce jour ne s'est intéressée à l'étude des *single nucleotide polymorphism* (SNPs) de IL1 α (C/T – 889) et de l'IL1 β (C/T +3954). Nous n'avons pas trouvé d'association concernant le SNP de l'IL1 α (–889). En revanche, l'allèle T muté du SNP de l'IL1 β (+3954) était significativement moins fréquent chez les malades ($p = 0,002$) donc ce polymorphisme semble jouer plutôt un rôle protecteur.

Dans une étude réalisée chez des enfants turcs [12], l'allèle C et le génotype homozygote C/C du SNP de l'IL1 β (C/T – 511) étaient associés à l'asthme allergique. À l'inverse de ces résultats, nous n'avons pas trouvé d'association de ce SNP avec l'asthme dans notre population.

Une association de l'allèle IL1Ra*2 (IL1Ra intron 2) avec l'asthme a été observée dans cette même étude réalisée chez les enfants turcs [10] avec des IgE élevées chez les malades ayant le génotype homozygote IL1Ra*2/2. Dans une étude familiale réalisée en Allemagne [13], l'allèle IL1Ra*2 était plus prévalent chez les malades sans toutefois atteindre le seuil de significativité ($p = 0,06$). Dans notre étude, nous avons retrouvé l'association du génotype homozygote avec l'asthme ainsi qu'une élévation significative des taux des IgE chez les malades ayant l'allèle IL1Ra*2. Cependant, nous n'avons retrouvé aucune association haplotypique avec la maladie asthmatique.

D'autres études se sont focalisées sur l'étude de huit à 11 SNPs situés au niveau du gène de l'IL1Ra et ont retrouvé des associations haplotypiques avec une moindre sécrétion d'IL1Ra, d'une plus grande production d'IL1 β , d'une hyperéosinophilie et de l'apparition d'asthme allergique chez les enfants [14,15].

4.2. TNF (A/G -308)

Dans notre étude, aucune association n'a été retrouvée entre le polymorphisme du TNF α (-308) et l'asthme allergique ni avec une atopie associée, ni avec des antécédents familiaux d'atopie, ni avec un asthme plus sévère persistant avec des symptômes nocturnes, ni avec une élévation des IgE totales. Nos résultats corroborent ceux de l'étude de Louis et al., réalisée chez une population caucasienne belge incluant 95 malades asthmatiques et 98 témoins [16]. Néanmoins, d'autres études faites dans d'autres populations ont trouvé des associations statistiquement significatives entre ce polymorphisme et l'asthme [17–21]. En effet, Gentile

et al. ont trouvé une association statistiquement significative entre l'allèle TNF α (-308)*A et la présence rhinite allergique, des antécédents familiaux d'asthme et/ou d'atopie et une augmentation de la production du TNF α en intrabronchique ($p < 0,01$) [17]. Par ailleurs, ce même polymorphisme était associé significativement à une histoire familiale d'asthme et à des crises récurrentes d'asthme aigu grave dans l'étude de Witte et al. [18]. Il en est de même dans l'étude de Hong et al., réalisée chez 788 enfants asthmatique coréens, révélant une association entre l'allèle TNF α (-308)*A et un asthme sévère avec un abaissement du seuil de réactivité bronchique lors du test de provocation à la méthacoline [19]. Fait intéressant, cette sévérité est plus prononcée en présence de deux copies de l'allèle A suggérant que l'influence de ce polymorphisme est dose-dépendante. Ces résultats corroborent ceux de l'étude de Li Kam Wa et al., qui ont également retrouvé une association de ce SNP avec l'hyper-réactivité bronchique [20].

L'absence d'association entre le polymorphisme du TNF α (A/G -308) et la maladie asthmatique dans notre série pourrait être expliquée par une fréquence relativement faible d'asthme sévère (21,49 %) chez nos malades.

5. Conclusion

D'après nos résultats, les SNPs du TNF α (A/G -308), de l'IL1 α (C/T -889) et celui de l'IL1 β (C/T -511) ne représenteraient pas des facteurs de susceptibilité génétique à l'asthme dans la population tunisienne. En revanche, le polymorphisme l'IL1Ra (intron 2) semble prédisposer à cette maladie alors que celui de l'IL1 β (C/T +3954) serait plutôt protecteur. Toutefois ces résultats méritent d'être confirmés par des études familiales ainsi qu'une réplique sur des cohortes indépendantes.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Dessaint JP. Génétique de l'asthme et des allergies. *Rev Fr Allergol* 2005;45:200–7.
- [2] Bouzigon E, Dizier MH, Krahenbuhl C, Lemaître A, Annesi-Maesano I, Betard C, et al. Clustering patterns of LOD scores for asthma related phenotypes revealed by a genome-wide screen in 295 French EGEA families. *Hum Mol Genet* 2004;13:3103–13.
- [3] Ober C. Perspective on the past decade of asthma genetics. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116(2):274–8.
- [4] Dale L, Nicklin MJ. Interleukin-1 receptor cluster: gene organization of IL1R2, IL1R1, IL1RL2 (IL-1R α), IL1RL1 (T1/ST2) and IL1R1 (IL-1R β) on human chromosome 2q. *Genomics* 1999;57:177–9.
- [5] Mao XQ, Kawai M, Yamashita T, Enomoto T, Dake Y, Sasaki S, et al. Imbalance production between interleukin-1 β (IL-1 β) and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) in bronchial asthma. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:607–12.
- [6] Miller SA, Dykes DD, Polesky HG. A sampling salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215–8.
- [7] Meenagh A, Williams F, Ross OA, Patterson C, Gorodezky C, Hammond M, et al. Frequency of cytokine polymorphisms in populations from western Europe, Africa, Asia, the middle east and South America. *Hum Immunol* 2002;63:1055–61.
- [8] Parks CG, Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St Clair EW, Gilkeson GS, et al. Systemic lupus erythematosus and genetic variation in the interleukin 1 gene cluster: a population based study in the southeastern United States. *Ann Rheum Dis* 2004;63:91–4.
- [9] Tillie-Leblond I, Iliescu C, Deschildre A. Physiopathologie de la réaction inflammatoire dans l'asthme. *Arch Pediatr* 2004;11:S58–64.
- [10] Nakae S, Ho LH, Yu M, Monteforte R, Likura M, Suto H, et al. Mast cell-derived TNF contributes to airway hyperactivity, inflammation, and Th2 cytokine production in an asthma model in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(1):48–55.
- [11] Liu ZC, Wang YY, Zou MJ, Wang JX, Xu DG. Effects of interleukin 1 receptor antagonist on allergy asthma in rat model and its mechanism. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2008;88(34):2432–6.
- [12] Zeyrek D, Demir E, Alpman A, Ozkinay F, Gulen F, Tanac R. Association of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in Turkish children with atopic asthma. *Allergy Asthma Proc* 2008;29(5):468–75.
- [13] Gohlke H, Illig T, Bahnweg M, Klopp N, André E, Altmüller J, et al. Association of the interleukin-1 receptor antagonist gene with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:1217–23.
- [14] Savenije OEM, Kerkhof M, Reijmerink NE, Brunekreef B, De Jongste JC, Smit HA, et al. Interleukin-1 receptor-like 1 polymorphisms are associated with serum IL1RL1-a, eosinophils, and asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(3):750–6 [e5].
- [15] Pattaro C, Heinrich J, Werner M, De Marco R, Wjst M. Association between interleukin-1 receptor antagonist gene and asthma related traits in a German adult population. *Allergy* 2006;61(2):239–44.
- [16] Louis R, Leyder E, Malaise M, Bartsch P, Louis E. Lack of association between adult asthma and the tumor necrosis factor α -308 polymorphism gene. *Eur Respir J* 2000;16:604–8.
- [17] Gentile DA, Doyle WJ, Zeevi A, Howe-Adams J, Trecki J, Skoner DP. Association between TNF- α and TGF- β genotypes in infants and parental history of allergic rhinitis and asthma. *Hum Immunol* 2004;65:347–51.
- [18] Witte JS, Palmer LJ, O'Connor RD, Hopkins PJ, Hall JM. Relation between tumour necrosis factor polymorphism TNF α -308 and risk of asthma. *Eur J Hum Genet* 2002;10:82–5.
- [19] Hong SJ, Kim HB, Kang MJ, Lee SY, Kim JH, Kim BS, et al. TNF- α (-308 G/A) and CD14 (-159 C/T) polymorphisms in bronchial responsiveness of Korean children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(2):398–404.
- [20] Li Kam Wa TC, Mansur AH, Britton J, Williams G, Pavord I, Richards K, et al. Association between -308 tumour necrosis factor promoter polymorphism and bronchial hyperactivity in asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29(9):1204–8.
- [21] Gupta V, Sarin BC, Changotra H, Sehajpal PK. Association of G-308A TNF-alpha polymorphism with bronchial asthma in a North Indian population. *J Asthma* 2005;42(10):839–41.