

growth factor 2 gene transfer by catheter delivery in patients with chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2002;105:2012-8.

18. Kay MA, Manno CS, Ragni MV et al. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* 2000;24:257-61.

19. Roth DA, Tawa NE Jr, O'Brien JM et al. Nonviral transfer of the gene encoding coagulation factor VIII in patients with severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2001;344:1735-42.

20. McCaffrey AP, Meuse L, Pham TT et al. RNA interference in adult mice. *Nature* 2002;418:38-9.

»Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator« (CFTR)-genet: mutationer og kliniske fænotyper

OVERSIGTSARTIKEL

Lic.scient. Marianne Schwartz

Resumé

Cystisk fibrose (CF) skyldes mutationer i genet CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*). CF er karakteriseret ved hyppige lungeinfektioner, nedsat lungefunktion, pancreasinsufficiens og hos mænd manglende sædledere. Mutationer i CFTR forekommer desuden sammen med en række isolerede, CF-relaterede symptomer, f.eks. kronisk lungesygdom, medfødt dobbeltsidig manglende sædledere (*congenital bilateral absence of the vas deferens* [CBAVD]), pancreatitis og asthma. Patienter med disse sygdomme har en højere hyppighed af CFTR-mutationer end normalbefolkningen. Det er ofte mutationer, der ikke ses hos patienter med CF, og som derfor hører til de milde CFTR-mutationer. En af disse mutationer (IVS8-5T) har vist sig at være hyppig hos patienter med CF-relaterede sygdomme, specielt patienter med CBAVD. Et fund af en CFTR-mutation hos en person bør give anledning til et tilbud om genetisk rådgivning og mutationsanalyse, til relevante familiemedlemmer.

Cystisk fibrose (CF) skyldes mutationer i *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR)-genet, der koder for en cAMP-reguleret kloridkanal. CF er karakteriseret ved hyppige lungeinfektioner, nedsat lungefunktion, pancreasinsufficiens og, hos mænd, manglende sædledere (1). Diagnosen af sygdommen, i dens klassiske form, stilles normalt tidligt, ved klinik, svedtest og mutationsanalyse, i henhold til en række konsensuskriterier (2). CF er en af de hyppigste, alvorlige arvelige sygdomme i vestlige befolkningsgrupper. Hyppigheden af CF blandt nyfødte i Danmark er 1:4.700, med en anlægshyppighed på 3%. På verdensplan varierer hyppigheden stærkt mellem befolkningsgrupper (Tabel 1); således er den blandt asiater, inkl. inuitter, nær nul, mens den på Færøerne er næsten dobbelt så høj som i Danmark (3-5).

CF er en multiorgansygdom, og kendskabet til de sygdomsfremkaldende mutationer har medført, at man har undersøgt patienter med isolerede, CF-relaterede symptomer

Tabel 1. Incidensen af CF i forskellige lande, hyppigheden af F508del og af den næsthyppigste mutation fundet i disse lande. Bemærk at de nordiske lande har forskellig incidens af CF, men samme »nordiske« mutation som næsthyppigste mutation.

Land	Incidens	Hyppighed af F508del %	Næsthyppigste mutation (hyppighed i %)
Danmark	1:4.700	87	394delTT (1,6)
Sverige	1:7.300	67	394delTT (7,3)
Norge	1:4.500	60	394delTT (4,2)
Færøerne	1:2.000	100	
Finland	1:25.000	46	394delTT (29)
Storbritannien	1:2.600	75	G551D (3,1)
Tyskland	1:3.300	72	R553X (2)
USA ^a	1:2.500	68	G542X (2,4)
Asien	<1:90.000		

a) Europæisk afstamning.

for CFTR-mutationer. Det drejer sig om fx kronisk lungesygdom, medfødt manglende sædledere (*congenital bilateral absence of the vas deferens* [CBAVD]), pancreatitis og asthma. Resultatet er ikke entydigt, men en lang række undersøgelser peger på, at mutationer i CFTR er medvirkende årsag til en række af disse sygdomme, uden at der er tale om en klar genotype-fænotype-sammenhæng.

I denne artikel vil der blive fokuseret på en karakterisering af CFTR-mutationer og deres betydning for såvel klassiske som ikkeklassiske CF-fænotyper.

Genet

CFTR blev klonet i 1989 (6). Genet sidder på kromosom nr. 7 (7q31) og er ca. 250.000 basepar (bp) stort. Den proteinkodende del er fordelt på 27 exoner, med i alt 6.500 bp.

Proteinet

CFTR koder for et membranprotein, som dels fungerer som en kloridkanal, dels som regulator af andre ionkanaler. Proteinet er et enkelt polypeptid på 1.480 aminosyrer med to transmembrane domæner (TMD), to nukleotidbindende domæner (NBD), der binder og hydrolyserer ATP, samt et regulatorisk domæne (R) (Fig. 1). Det modne CFTR-protein er glykosyleret og fungerer som en cAMP/proteinkinase A-reguleret kloridkanal i epitelcellers apikale membran (7).

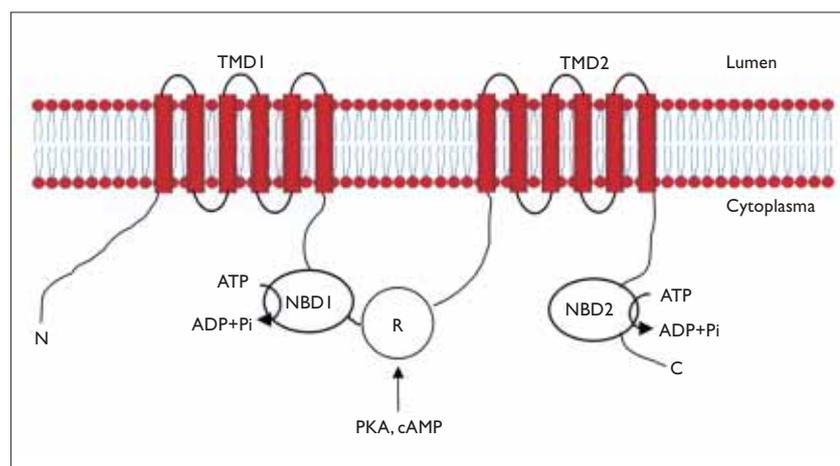


Fig. 1. CFTR-proteinet med angivelse af de forskellige domæner: TMD (transmembrant domæne), R (regulatorisk domæne), NBD1 og NBD2 (nukleotidbindende domæne 1 og 2).

Mutationer

Der er i dag registreret mere end 900 mutationer i CFTR (8), med F508del som langt den hyppigste. Hovedparten af de 900 mutationer er såkaldte private mutationer, der kun er fundet hos en enkelt patient. På verdensplan er hyppigheden af F508del 67%, mens de næsthypigste mutationer ikke udgør mere end et par procent hver (3). Hyppigheden af F508del varierer mellem befolkningsgrupper og er højest i Danmark og på Færøerne, hvor den udgør henholdsvis 88% og 100% af alle CFTR-mutationerne (4, 5). Afhængig af den etniske baggrund har det vist sig, at en del andre mutationer er overrepræsenteret eller kun er til stede i visse befolkningsgrupper (9). Således er mutationen 394delTT næsten udelukkende fundet hos personer i de nordiske lande (10) (Tabel 1).

Mutationerne klassificeres i fem grupper i henhold til konsekvensen for CFTR-proteinets ekspresion og funktion (Tabel 2), (Fig. 2) (11). Klasse I-mutationer er de mutationer, der forårsager et for tidligt stop af translationen af mRNA, hvorfor det dannede protein vil være afkortet, uden funktion og ustabil. De fleste af disse mutationer er *nonsense*-mutationer, dvs. punktmutationer, der ændrer en kodon for en aminosyre til en stopkodon.

Klasse II-mutationer ødelægger den endelige forarbejdning af det umodne protein ved at forhindre den korrekte foldning. Proteaser i det endoplasmatiske reticulum vil nedbryde proteinet, før det har mulighed for glykosylering i golgiapparatet og videretransport til membranen som et modent funktionelt protein (12). Klasse II-mutationer omfatter bl.a. F508del. Denne deletion af tre basepar fører til, at det

færdige protein mangler aminosyren fenylalanin på plads nr. 508. Klasse II-mutationer er i øvrigt ofte *missense*-mutationer, dvs. mutationer, der ændrer en aminosyrekodon til en kodon for en anden aminosyre.

Klasse III-mutationer er regulatoriske mutationer, der muliggør dannelse af et færdigt protein som forarbejdes korrekt og når membranen. Mutantproteinene responderer ikke på cAMP, der regulerer kloridkanalen, hvilket resulterer i en reduceret eller ophævet kloridgennemstrømning. Disse mutationer er *missense*-mutationer.

Klasse IV-mutationer er også *missense*-mutationer og muliggør dannelse af et korrekt forarbejdet protein der når membranen og responderer på cAMP, men medfører nedsat kloridgennemstrømning.

Klasse V-mutationer er splejningsmutationer eller mutationer i promotoregionen. Disse mutationer kan medføre, at mængden af dannet mRNA og dermed funktionelt protein er for lavt. En af disse mutationer (IVS8-5T) har vist sig at være særlig hyppig hos patienter med ikkeklassisk CF. Det drejer sig om en variation i det område af 3'-enden af intron 8 (IVS8), der er vigtigt for den korrekte udsplejsning af denne intron. Dette område er polymorft, idet der eksisterer tre forskellige variationer (alleler), IVS8-9T, IVS8-7T og IVS8-5T, med sekvenser på hhv. 9, 7 og 5 thyminer (Fig. 3). Varianten med kun fem thyminbaser medfører, at kun ca. 10% af mRNA'et indeholder exon 9, og mængden af dannet protein er tilsvarende nedsat (13, 14).

Fænotyper

Cystisk fibrose

Klassisk CF er karakteriseret ved hyppige lungeinfektioner, nedsat lungefunktion, pancreasinsufficiens, leversygdom og dårlig trivsel, hvis sygdommen er ubehandlet. Næsten alle drenge (mænd) med CF mangler sædlederne (CBAVD), hvilket medfører infertilitet. Sygdommen nedarves autosomt recessivt, og patienter med CF vil have en CFTR-mutation fra hver af deres forældre. I Danmark, hvor F508del udgør 88% af alle CFTR-mutationer, er 77% af alle patienter homozygote for F508del, 21% er såkaldte *compound* heterozygote for F508del og en anden CFTR-mutation. 2% har ikke F508del. Fund af to CFTR-mutationer hos en patient bekræfter diagnosen CF.

Tabel 2. Eksempler på mutationer i de forskellige klasser.

Klasse	Mutationer	Fænotype ^a
I	G542X ^b , R553X ^b , W1284X ^b , 394delTT ^c	PI
II	F508del ^d , N1303K ^e	PI
III	G551D ^e ,	PI
IV	R117H ^e , R347P ^e , R334W ^e	PS
V	3849 +10kbC→T ^f IVS8-5T ^f	PS

a) PI = pancreasinsufficient, PS = pancreasufficient. b) *nonsense*-mutation, c) læserammemutation (deletion), d) deletion der bevarer læserammen, e) *missense*-mutation, f) splejningsmutation.

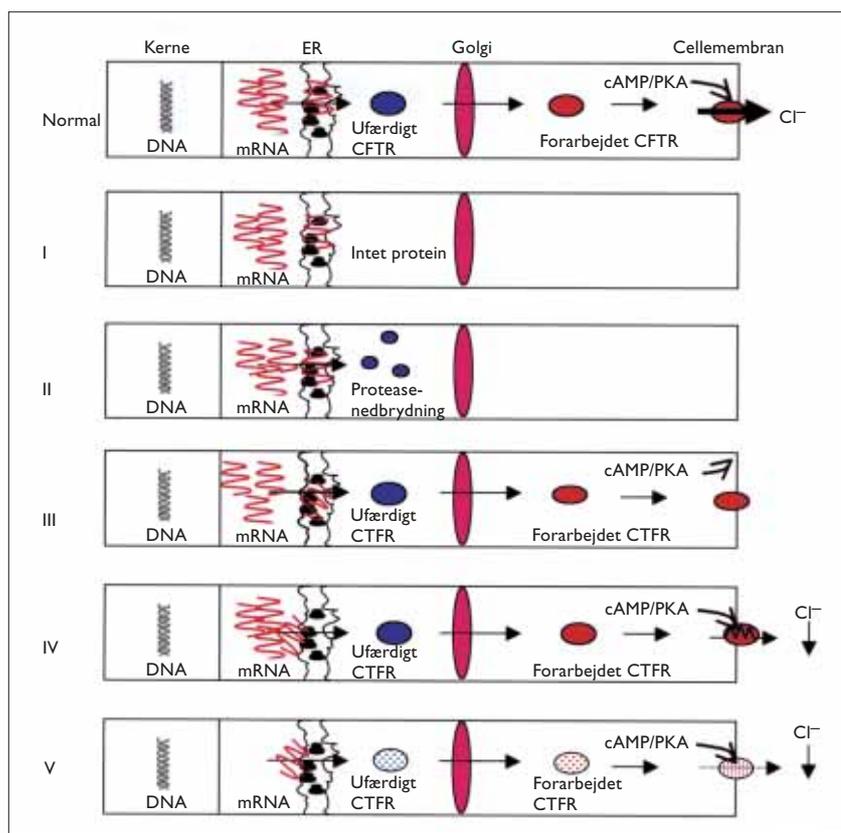


Fig. 2. Virkningen af de forskellige mutationsklasser på CFTR-kloridkanalens syntese og aktivitet. (Figuren er modificeret efter Fig. 5 i (15). Med tilladelse fra forfatterne).

Sværhedsgraden af det kliniske forløb afhænger af, hvilke mutationer der er tale om, uden at der er en fuldstændig sammenhæng mellem genotype og fænotype (11, 15). I en større europæisk undersøgelse grupperede man 11.749 patienter med kendte mutationer efter deres fænotype (i.e. meconiumileus, pancreasfunktion, lungefunktion, diabetes og leversygdom) og fandt en klar sammenhæng mellem patienternes genotype og deres pancreasfunktion. Der var derimod ingen større forskel mellem de forskellige mutations-

grupper og patienternes lungefunktion. Klasse I-, II-, og III-mutationer er de alvorlige mutationer, og forekommer sammen med pancreasinsufficiens, mens klasse IV- og V-mutationer har sammenhæng med et mildere forløb og normal pancreasfunktion. Hovedparten (92%) af alle CFTR-mutationer hører til klasse I, II og III, hvilket er i overensstemmelse med, at ca. 85% af alle CF-patienter er pancreasinsufficente (16).

CBAVD

Hovedparten (99%) af mændene med CF er infertile pga. manglende sædledere (CBAVD), og CBAVD har dermed sammenhæng med selv de mildeste mutationer. CBAVD findes endvidere hos ca. 6% af ellers raske mænd med azoospermi, og ca. 2% af alle infertile mænd har CBAVD. Dette sidste gav anledning til en undersøgelse, der viste en signifikant højere hyppighed af F508del hos disse mænd end forventet ud fra kendskabet til anlægshyppigheden i normalbefolkningen (17). En lang række undersøgelser har bekræftet dette fund (18-22). Der er typisk tale om en alvorlig CFTR-mutation og en mild mutation eller to milde mutationer. De sidste er ofte mutationer, der ikke ses hos patienter med CF. Hyppigheden af IVS8-5T er signifikant højere hos patienter med CBAVD end i normalbefolkningen, og mange er compound heterozygote for IVS8-5T og en anden CFTR-mutation.

Mænd med CBAVD har normalt ikke andre tegn på CF. Mænd med anden form for infertilitet, som obstruktiv azoospermi, der ikke skyldes CBAVD eller oligospermi, har ligeledes en højere hyppighed af CFTR-mutationer end nor-

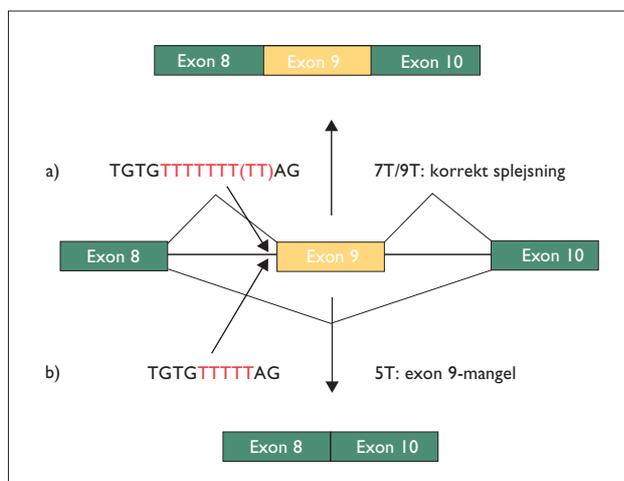


Fig. 3. Alternativ splejsning af mRNA. De farvede bokse angiver exoner. a) De to varianter IVS-7T og -9T fører til korrekt splejsning, således at det færdige mRNA indeholder exon 9. b) IVS8-5T medfører at exon 9 springes over. Resultatet bliver, at mRNA vil mangle exon 9. Det færdige protein vil mangle en del af NBD1, og dermed være inaktivt.

malbefolkningen (22). Disse mænd har imidlertid meget sjældent to CFTR-mutationer. Diagnoserne CBAVD, obstruktiv azoospermi og oligospermi stilles normalt først på fertilitetsklinikkerne. Muligheden for, at disse mænd kan blive biologiske fædre, er i dag til stede, idet man nu kan udhente sædceller ved et mindre, kirurgisk indgreb og derefter foretage befrugtning af partnerens ægceller ved intracytoplasmatisk spermieinjektion (ICSI). Det er vigtigt at udrede sådanne patienter for CFTR-mutationer samt at teste deres partner for de hyppigste CFTR-mutationer, således at man pga. risikoen for CF hos kommende børn kan tilbyde genetisk rådgivning og prænatal diagnostik.

Lungesygdomme

Hyppige alvorlige lungeinfektioner og dermed nedsat lungefunktion er en del af fænotypen hos patienter med CF. Undersøgelser for CFTR-mutationer hos patienter med kronisk lungesygdom, såsom kronisk obstruktiv lungesygdom, bronkiektasier og kronisk bronkitis, har vist, at patienter uden andre tegn på CF har en signifikant højere hyppighed af CFTR-mutationer end forventet. Nogle har let forhøjede svedtestsværdier. Det drejer sig her om den samme type mutationer som ved CBAVD. IVS8-5T-mutationen er også hyppig hos denne type patienter. Andelen af patienter med to CFTR-mutationer er ikke så høj i denne gruppe som i gruppen af patienter med CBAVD (23-25).

Pancreatitis

Selv om akut eller kronisk pancreatitis ikke er specielt hyppig hos patienter med CF, er dette observeret hos en del CF-patienter med et mildt forløb og dermed en sen diagnose. I de senere år har man i flere arbejder vist en overrepræsentation af CFTR-mutationer hos patienter med idiopatisk pancreatitis. De pågældende mutationer er ikke typiske CF-mutationer, og kun få patienter har to mutationer. De fundne mutationer er alle milde (klasse IV og V), og IVS8-5T-varianten er også hyppig hos denne gruppe patienter (26, 27).

Asthma

Asthma er en af de hyppigste lungesygdomme og normalt ikke et symptom ved CF. Undersøgelser af en mulig association mellem CFTR-mutationer og asthma har været modstridende. I et arbejde fra 1995 fandt man, at heterozygoti for F508del skulle have en beskyttende virkning mod asthma (28), mens man i et andet arbejde ikke fandt nogen associa-

tion (29), og i et større dansk arbejde blev det vist, at incidensen af F508del var 50% højere (4,2%) hos patienter med asthma end hos kontrolgruppen (2,7%) (30).

Konklusion

Mutationer i CFTR-genet kan føre til andre sygdomme end klassisk CF (Fig. 4). Det kliniske spektrum hos patienter med to CFTR-mutationer går fra nyfødte med meconiumileus til patienter med sent debuterende, milde lungesygdomme. To alvorlige mutationer giver et alvorligt forløb med pancreasinsufficiens, mens en alvorlig og en mild mutation eller to milde mutationer giver et mildere forløb uden pancreasinsufficiens. De milde mutationer er dominante over for de alvorlige, idet selv en meget lille mængde funktionsdygtig CFTR er tilstrækkeligt til normal aktivitet af kloridkanalen. Det er vanskeligt at forklare, hvordan et enkelt muteret gen sammen med et tilsyneladende normalt gen kan give anledning til CBAVD, pancreatitis eller lungesygdom, når 3% af befolkningen er symptomfri anlægsgædere (dvs. har en alvorlig CFTR-mutation sammen med et normalt gen). Anlægsgædere er netop ikke infertile, idet sygdommen CF så ikke ville eksistere.

Kun i få undersøgelser er hele CFTR-genet blevet analyseret hos hver enkelt patient, da dette er et meget krævende arbejde. Det er meget sandsynligt, at man med denne analyse ville kunne påvise flere CFTR-mutationer blandt patienter med CF-relaterede symptomer.

I de sidste par år har man endvidere vist, at mutationer, der ændrer en aminosyrekodon til en anden kodon for den samme aminosyre (*same sense*-mutationer) kan være patogene. Der er beskrevet flere eksempler på, at sådanne mutationer kan ødelægge den korrekte forarbejdning, splejsningen, af mRNA (31). *Same sense*-mutationer vil normalt ikke blive registreret som sygdomsfremkaldende, og deres betydning vil blive overset.

Sekundære genetiske faktorer, såkaldte *modifier*-gener, spiller også en rolle for udviklingen af CF. Således har det vist sig, at forskellige varianter i genet for mannosebindende lectin, der medfører nedsat mængde af dette protein, har en signifikant indflydelse på lungekapaciteten hos CF-patienter (32).

Det stigende antal CF-relaterede sygdomme har vist, at der ikke er en skarp grænse mellem klassisk CF og andre sygdomme, der har sammenhæng med et defekt CFTR-gen. Den rigtige kliniske og genetiske diagnose er vigtig for be-

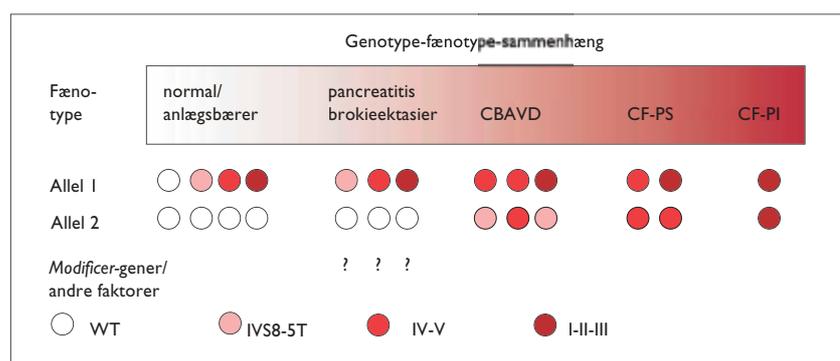


Fig. 4. Virkningen af forskellige mutationer på fænotypen.

handling af patienten og for den genetiske rådgivning af familien. Et fund af en CFTR-mutation hos en person bør give anledning til, at vedkommende tilbydes den fornødne genetiske rådgivning, og at relevante familiemedlemmer tilbydes mutationsdiagnostik.

Summary

Marianne Schwartz:

The CFTR gene: mutations and clinical phenotypes.

Ugeskr Læger 2003;165:912-6.

Cystic fibrosis (CF) is caused by mutation in the *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) gene. CF is characterised by chronic lung infections, pancreas insufficiency and, in males, congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD). Furthermore, mutations in the *CFTR* are associated with several isolated, CF-related symptoms such as chronic lung diseases, CBAVD idiopathic pancreatitis and asthma. These patients have a higher frequency of *CFTR* mutations than unaffected individuals. The mutations found are not typical for the CF patients and are classified as mild mutations. One of these mutations (IVS8-5T) is frequently found in patients with the CF-related diseases, and in particular in patients with CBAVD. When a *CFTR* mutation is identified, genetic counselling and a mutation analysis should be offered to the relevant family members.

Reprints: *Marianne Schwartz*, Klinisk Genetisk Afdeling, H:S Rigshospitalet, DK-2100 København Ø.

Antaget den 9. januar 2003.

H:S Rigshospitalet, Klinisk Genetisk Afdeling.

Litteratur

1. Welsh MJ, Tsui L-C, Boat TF et al. Cystic fibrosis. I: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al, eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. vol 3. New York: McGraw-Hill, 2001:5121-88.
2. Rosenstein BJ, Cutting GR, Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998;132:589-95.
3. Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP et al. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations – correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat* 2002;19:575-606.
4. Schwartz M, Johansen HK, Koch C et al. Frequency of the $\Delta F508$ mutation on cystic fibrosis chromosomes in Denmark. *Hum Genet* 1990;85:427-8.
5. Schwartz M, Sørensen N, Brandt NJ et al. High incidence of cystic fibrosis on the Faroe Islands: a molecular and genealogical study. *Hum Genet* 1995;95:703-6.
6. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-73.
7. Sheppard DN, Welsh MJ. Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiol Rev* 1999;79:23-45.
8. www.genet.sickkids.on.ca/cftr/ dec. 2002
9. Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. *Hum Mutat* 1997;10:135-54.
10. Schwartz M, Anvret M, Claustres M et al. 394delTT: a Nordic cystic fibrosis mutation. *Hum Genet* 1994;93:157-61.
11. Zielenski J, Tsui L-C. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Ann Rev Genet* 1995;29:777-807.
12. Kopito RR. Biosynthesis and degradation of CFTR. *Physiol Rev* 1999;79:167-73.
13. Chu CS, Trapnell BC, Murtagh JJ Jr et al. Variable deletion of exon 9 coding sequences in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mRNA transcripts in normal bronchial epithelium. *EMBO J* 1991;10:1355-63.
14. Chu CS, Trapnell BC, Curristin S et al. Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA. *Nat Genet* 1993;3:151-6.
15. Tsui L-C, Durie P. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Hosp Pract* 1997;32:115-42.
16. Koch C, Cuppens H, Rainisio M et al. European Epidemiological Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations. *Pediatr Pulmonol* 2001;31:1-12.
17. Dumur V, Gervais R, Rigot JM et al. Congenital bilateral absence of vas deferens in absence of cystic fibrosis. *Lancet* 1995;345:200-1.
18. Van der Ven K, Messer L, van der Ven H et al. Cystic fibrosis mutation screening in healthy men with reduced sperm quality. *Hum Reprod* 1996;11:513-7.
19. Chillom M, Casals T, Mercier B et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;332:1475-80.
20. Claustres M, Guittard C, Bozon D et al. Spectrum of CFTR mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum Mutat* 2000;16:143-56.
21. De Braekeleer M, Ferec C. Mutations in the cystic fibrosis gene in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Mol Hum Reprod* 1996 ;2:669-77.
22. Quinzii C, Castellani C. The cystic fibrosis transmembrane regulator gene and male infertility. *J Endocrinol Invest* 2000;23:684-9.
23. Pignatti PF, Bombieri C, Marigo C et al. Increased incidence of cystic fibrosis gene mutations in adults with disseminated bronchiectases. *Hum Mol Genet* 1995;4:635-9.
24. Bombieri C, Benetazzo M, Saccomani A et al. Complete mutational screening of the CFTR gene in 120 patients with pulmonary disease. *Hum Genet* 1998;103:718-22.
25. Noone PG, Pue CA, Zhou Z et al. Lung disease associated with the IVS8 5T allele of the CFTR gene. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1919-24.
26. Sharer N, Schwarz M, Malone G et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:645-52.
27. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG et al. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:653-8.
28. Schroeder SA, Gaughan DM, Swift M. Protection against bronchial asthma by CFTR $\Delta F508$ mutation: a heterozygote advantage in cystic fibrosis. *Nat Med* 1995;1:703-5.
29. Mennie M, Gilfillan A, Brick DJ et al. Heterozygotes for the $\Delta F508$ cystic fibrosis allele are not protected against bronchial asthma. *Nat Med* 1995;1:978-9.
30. Dahl M, Tybjærg-Hansen A, Lange P et al. $\Delta F508$ heterozygosity in cystic fibrosis and susceptibility to asthma. *Lancet* 1998;351:1911-3.
31. Cartegni L, Chew SL, Krainer AR. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. *Nat Rev Genet* 2002;3:285-98.
32. Garred P, Pressler T, Madsen HO et al. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival of cystic fibrosis. *J Clin Invest* 199;104:431-7.