

Lectina legante il mannosio e suscettibilità alle infezioni

FABIO CARDINALE¹, ANNA CALÒ¹, RAFFAELLA CAVALLONE¹, ELIO COSTANTINO², MARIA S. LOFFREDO¹, GAIA IACOVIELLO¹, LUCIO ARMENIO¹

¹Clinica Pediatrica III, Sezione di Immunoallergologia e Broncopneumologia Pediatrica, Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva, Università di Bari; ²Divisione di Pneumologia, AO Policlinico di Bari

La descrizione del ruolo e dei possibili difetti di una proteina della fase acuta ci aiuta a capire meglio le cause multifattoriali delle malattie e le interazioni tra genetica-immunità-ambiente. I risvolti pratici non sono dietro l'angolo ma la conoscenza dei meccanismi di base è la chiave di lettura per l'interpretazione (e la futura soluzione) dei problemi.

La lectina legante il mannosio (in lingua anglosassone *mannose-binding lectin*, comunemente abbreviata in MBL) è una proteina della fase acuta, appartenente alla famiglia delle collectine, proteine caratterizzate dalla struttura simil-collagene e dall'attività lectinica, facenti parte dei meccanismi effettori dell'immunità innata.

Recenti dati della letteratura indicano che questa molecola svolge un ruolo cruciale nei processi di opsonizzazione e attivazione del complemento (C), offrendo una protezione di tipo "immediato" nei confronti di molteplici agenti microbici, soprattutto nelle prime epoche di vita.

È noto che nell'uomo e negli animali superiori il sistema immunitario può essere schematicamente ripartito in due compartimenti: quello dell'immunità innata (in passato denominata immunità "aspecifica") e quello dell'immunità adattativa o acquisita (anticamente definita "specifica")¹. Quest'ultima è organizzata principalmente attorno a due elementi cellulari, i T e i B linfociti, ed è caratterizzata rispetto alla prima da una maggior "potenza" (capacità, cioè, di eliminare elevate cariche microbiche) e "selettività" (cioè specificità per l'agente infettivo che ha evocato la risposta immune) di azione.

MANNANOSE-BINDING LECTIN AND SUSCEPTIBILITY TO INFECTIONS

(*Medico e Bambino* 21, 155-160, 2002)

Key words

Mannose-binding lectin, Complement, Cystic fibrosis, Innate immunity, Opsonisation, Meningococcal disease

Summary

Mannose-binding lectin (MBL) is an acute phase protein, belonging to the collectins family, involved in host innate immunity. It binds to surface mannose-rich glycoproteins of several microorganisms, inducing phagocytosis by opsonic and complement activating properties. Both heterozygous and homozygous carriers of MBL-gene variant alleles seem more susceptible to some infections. However, low serum MBL levels are not likely the only cause of clinical illness. More probably an overt clinical pathology occurs when an MBL-deficient status associates with some other immune defect or disease. Recent studies have shown an association between MBL-gene variant alleles and meningococcal-disease susceptibility. In addition, a low-producing MBL gene phenotype seems to be associated with a poor prognosis in cystic fibrosis. Some evidence also exists about a role of MBL in some autoimmune diseases.

La risposta del sistema immune adattativo è però relativamente lenta, poiché i tempi richiesti per la sua attivazione sono dell'ordine di alcuni giorni (mediamente da tre a cinque)^{1,2} (*Tabella I*).

A sua volta, il sistema immune innato trova i suoi strumenti effettori nei fagociti, nella via alterna di attivazione del complemento (C) e in un complesso di peptidi con attività antimicrobica, tra cui la stessa MBL. A differenza dell'immunità adattativa, i "tempi di intervento" dell'immunità innata sono

molto brevi (dell'ordine di minuti), la risposta è quantitativamente meno efficace ma non è focalizzata su una sola specie batterica o virale, essendo indirizzata verso un numero limitato di strutture molecolari, comunemente rappresentate all'interno del mondo microbico (ad esempio LPS della parete batterica, residui di mannano, acidi nucleici ecc.). I tempi brevissimi, comunque, occorrenti per la sua attivazione, fanno sì che la funzione preminente del sistema immune innato sia quella di assicurare una prima linea

PRINCIPALI DIFFERENZE TRA IMMUNITÀ INNATA E ADATTATIVA

	Immunità innata	Immunità adattativa
Strumenti effettori	Proteine, C, fagociti	Linfociti B, T, immunoglobine
Tempo di attivazione	Minuti	Giorni
Potenza antimicrobica	Limitata	Molto elevata
Target	Ampio spettro	Specifico
Spettro antimicrobico	Fisso	Variabile
Attività	Costitutiva+inducibile	Inducibile

(da Travis SM et al., modificata da voce bibliografica 2)

Tabella 1

difensiva, di tipo “pronto”, nei confronti di un qualsivoglia agente infettivo, in attesa dell'intervento di meccanismi più raffinati e selettivi quali quelli T e B linfocito-mediati². La suddivisione tra questi due sottosistemi, utile sotto il profilo didattico, risulta peraltro affatto artificiosa, poiché esistono numerosi punti “di contatto” tra i due sistemi.

Una trattazione in dettaglio di questi meccanismi esula comunque dagli scopi del presente articolo. In questa breve rassegna verranno quindi riportate solo le più recenti acquisizioni riguardo al ruolo svolto dalla MBL nell'ambito del sistema immune innato e al significato che assume il deficit di questa proteina nella patologia infettiva (ma non solo infettiva, come vedremo) del bambino e dell'adulto.

MBL: UNA PROTEINA ANCESTRALE DELLA FASE ACUTA

Le origini filogenetiche della MBL, come di altri componenti dell'immunità innata, sono verosimilmente molto antiche (secondo alcune ipotesi almeno 300 milioni di anni). Una macromolecola molto simile è stata infatti riscontrata già nei pesci e nei protocordati³.

La MBL viene sintetizzata dal fegato e liberata nel compartimento ematico, da cui diffonde nelle sedi di infiammazione (sinovia, secrezioni rinofaringee ecc.) in condizioni di aumentata permeabilità vascolare^{4,5}. A seguito di stress o eventi infettivi i livelli nel sangue aumentano rapidamente, alla stregua di altre proteine della fase acuta. Sembra che la concentrazione basale

di MBL nel plasma raggiunga quella dell'adulto già poche settimane dopo la nascita; questo risponde all'esigenza di assicurare una maggiore protezione al neonato e al lattante in un periodo in cui i meccanismi effettori dell'immunità adattativa (soprattutto le risposte anticorpali ad alta affinità verso antigeni polisaccaridici) risultano insufficienti^{4,6}.

Sotto il profilo strutturale la MBL si presenta come una molecola oligomerica, composta da 2-6 subunità, ognuna a sua volta costituita da tre polipeptidi, avvolti tra di loro a formare un'elica^{4,5} (Figura 1). In ogni subunità è possibile distinguere una lunga catena a struttura simil-collagene, collegata attraverso un “collo” a una “testa” globulare, responsabile dell'attività lectinica, cioè dell'affinità di legame con specifiche sequenze oligosaccaridiche^{4,5}. Al microscopio elettronico essa

assume una configurazione a “mazzo di tulipani”, analogamente a una molecola a questa strettamente “imparentata”, il C1q. A sua volta la MBL forma un complesso macromolecolare con altre due proteine, denominate “Serin-Proteasi Associate alla MBL” (indicate generalmente come MASP1 e MASP2). Queste risultano essenziali per l'attività effettrice della proteina, in particolare per l'attivazione della cascata complementare^{7,8}. Recentemente è stata riconosciuta l'esistenza di una terza serin-proteasi (MASP3) e di una quarta proteina (denominata MAp19), priva di attività proteasica, dalla funzione ancora poco nota; entrambe farebbero parte del complesso molecolare della MBL⁹.

Il gene che codifica per la MBL è ubicato sul cromosoma 10, ed è preceduto da un promoter in posizione 5' in grado di controllarne la traduzione e influenzare i livelli ematici della proteina^{10,11}. Finora sono state descritte solo tre mutazioni strutturali a carico di questo gene (derivanti da sostituzioni isolate di basi a carico dei codoni 52, 54 e 57 e risultanti in cambiamenti di un singolo aminoacido)^{4,5}. Il loro effetto è quello di alterare la struttura terziaria della proteina, impedendo l'assemblaggio dei monomeri in polimeri stabili e funzionali, sì da comportare livelli molto ridotti di MBL nel plasma⁴. Appare di certo rilievo il dato che la prevalenza di queste mutazioni (e

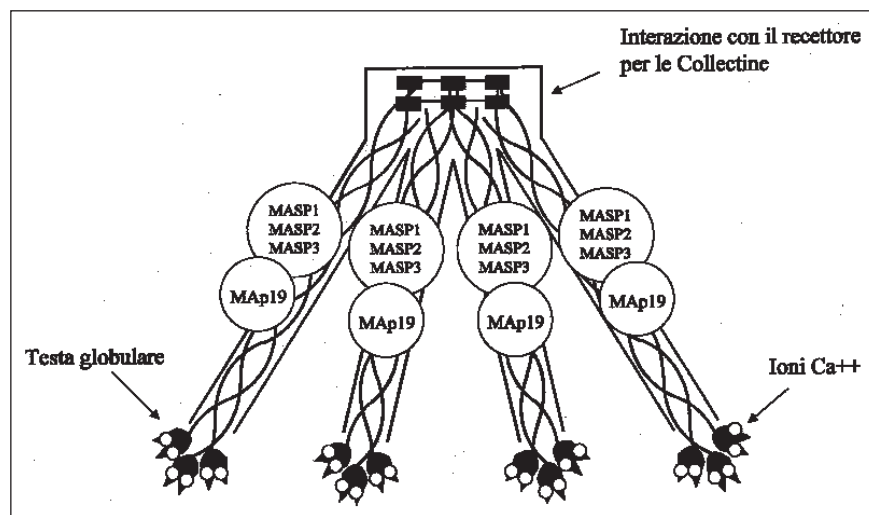


Figura 1. Struttura della lectina legante il mannosio (da Turner MW, modificata) (4).

quindi del deficit di MBL) è molto alta nella popolazione normale, con modeste differenze in rapporto all'etnia considerata^{5,12,13}. Da un recente screening compiuto negli Stati Uniti su donatori di sangue, ad esempio, è risultato che circa il 30% era eterozigote e il 5% omozigote o eterozigote composto (cioè portatore di una diversa sostituzione di basi nei due opposti alleli) per una delle tre suddette mutazioni⁵. Queste rappresenterebbero pertanto "varianti alleliche" (o polimorfismi) del gene, piuttosto che mutazioni in senso stretto. L'effetto biochimico, peraltro, sembra essere di tipo dominante. Infatti, già allo stato di eterozigosi esse comportano una drastica diminuzione dei livelli ematici della proteina (10-20%), mentre in omozigosi (o eterozigosi composta) questi valori possono ridursi a meno dell'1% della norma^{4,14,15}. È quindi ipotizzabile che gli effetti sfavorevoli del deficit di MBL possano essere almeno in parte bilanciati da un qualche vantaggio per l'individuo portatore (vedi oltre).

IL RUOLO DELLA MBL NELL'IMMUNITÀ INNATA

La MBL rappresenta una delle componenti più versatili del sistema immuno innato, potendo essere assimilata a una sorta di "preanticorpo" o di "anticorpo universale"⁴.

Il suo ruolo fondamentale nell'ambito dell'immunità innata è legato innanzitutto alla capacità di opsonizzare molti batteri e di promuoverne la fagocitosi. Questa attività viene svolta probabilmente attraverso un legame diretto della MBL con alcune glicoproteine della parete microbica (residui oligosaccaridici di N-acetilglucosamina, mannosio e fucosio), da un lato; con i recettori per le collectine e il C1q presenti sulla membrana del fagocito, dall'altro^{4,5} (Figura 2). La specificità di legame della MBL con le glicoproteine batteriche è assicurata dalla scarsa rappresentazione di analoghi residui oligosaccaridici sulle cellule umane (ove invece prevalgono molecole di acido sialico e galattosio)^{4,5,9}.

Lo "spettro" del legame con i diffe-

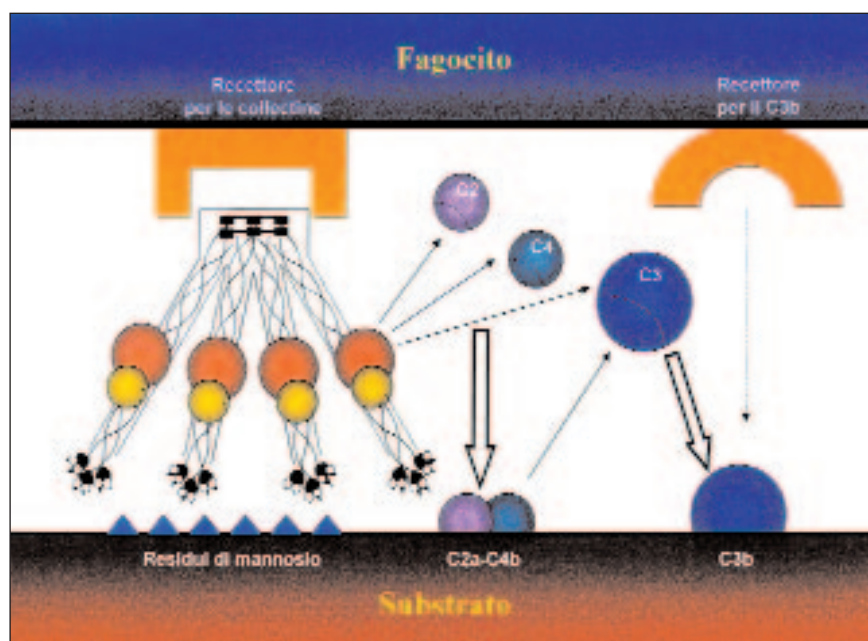


Figura 2. L'immagine esemplifica i probabili meccanismi attraverso i quali la MBL svolgerebbe la sua attività opsonizzante. È possibile che la lectina legante il mannosio (MBL) formi un legame "a ponte" tra i residui glucidici di mannosio e N-acetilglucosamina del substrato (ad es. un batterio) e il recettore per le collectine/C1q presente sulla membrana del fagocito. Più probabilmente, comunque, essa favorirebbe i meccanismi di opsono-fagocitosi grazie alla capacità di attivare la cascata complementare, direttamente o attraverso le MASP, favorendo pertanto la deposizione di C3b/C3bi sulla superficie del substrato.

renti patogeni microbici sembra essere comunque relativamente ampio. In vitro, infatti, la MBL presenta una forte capacità legante nei confronti oltre che di svariati batteri Gram+ e Gram- (soprattutto *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella*, *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Listeria*) anche di miceti (*Aspergillus*, *Candida*), virus (influenza A, HIV), *Chlamydia* e perfino protozoi come la *Leishmania*^{4,16,20}.

Il legame diretto della MBL con l'agente patogeno non rappresenta comunque l'unico e forse neppure il principale meccanismo con cui la MBL interviene nella opsonizzazione microbica. Questo in quanto dalla MBL sembra dipendere l'entità della formazione e del deposito del C3b/C3bi - principali componenti opsonizzanti nella cascata complementare - sulla superficie del substrato a seguito dell'attivazione non anticorpo-dipendente del C²¹ (Figura 2). La MBL rappresenta infatti il principale artefice dell'attivazione del C attraverso la cosiddetta "terza via" o "via lectinica"

(così denominata per distinguerla dalla via classica C1q-dipendente e da quella della properdina)^{4,5} (Figura 3). Questa via costituisce probabilmente una modalità ancestrale (secondo alcune ipotesi la più antica in assoluto!) di attivazione del C, in grado di amplificare meccanismi più raffinati e a questa successivi nell'evoluzione filogenetica (via classica C1q-dipendente), in quanto dipendenti dalle risposte anticorpali di tipo IgG o IgM^{4,9}. L'attivazione del C da parte della MBL avverrebbe secondo alcune ipotesi grazie alla sua omologia strutturale con il C1q, tale da renderla capace di attivare per la via classica il C, clivando il C1r2-C1s2^{4,5,9}. Con maggiori probabilità, comunque, essa attiverebbe il C grazie alla capacità della MASP1 e MASP2 di scindere il C2. Inoltre la MASP2 da sola sembra capace di attivare anche il C4, mentre la MASP1 cliverebbe direttamente il C3, via finale comune di tutti i percorsi di attivazione del C^{4,5,9} (Figura 3).

È evidente, dunque, il ruolo di primo piano svolto dalla MBL nell'ambito

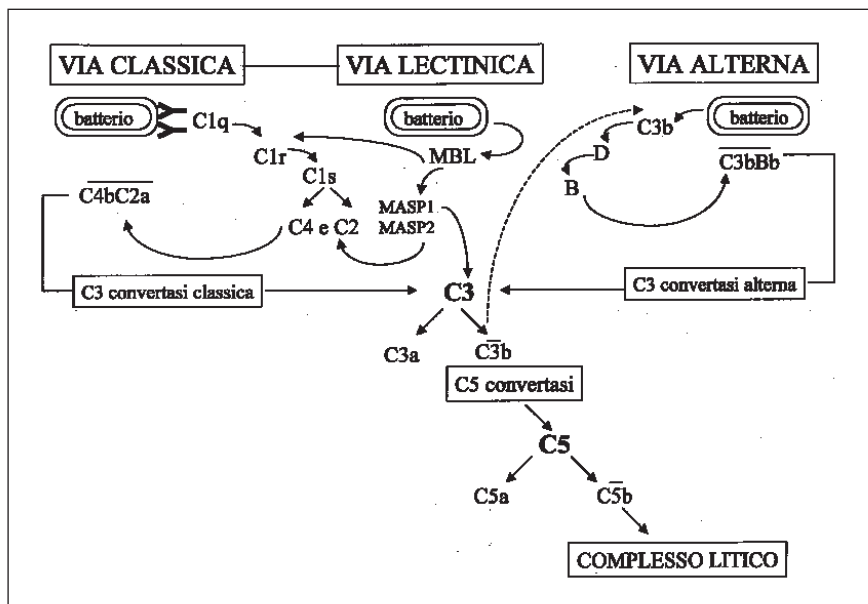


Figura 3. Rappresentazione schematica della "via lectinica" di attivazione del complemento.

dei processi di opsonazione-fagocitosi e di attivazione della cascata complementare nei confronti di agenti microbici. È verosimile che questo assuma particolare importanza nel periodo "finestra" - necessario affinché venga elaborata una risposta anticorpale specifica - immediatamente successivo al contatto con un nuovo patogeno. Questa funzione ha valso alla MBL la denominazione da parte di alcuni Autori di "pre-anticorpo"⁴.

MBL: UNA PROTEINA IN GRADO DI CONFERIRE UN MAGGIOR RISCHIO INFETTIVO IN NUMEROSE PATOLOGIE

È stato dimostrato che il deficit di MBL rappresenta la causa dei comuni deficit di opsonizzazione, riscontrabili nelle prime epoche di vita e con frequenza fino al 5-7% della popolazione generale²¹⁻²⁴.

Dopo le prime descrizioni di un deficit di opsonizzazione, risalenti al 1968 a opera di Miller²⁵, sono state accumulate in letteratura numerose altre segnalazioni di analoghi deficit funzionali in casistiche di soggetti con infezioni ricorrenti e inspiegabili, diarrea cronica, distrofia e otite, specialmente nel primo anno di vita^{22,26,27}. Lavori successivi hanno quindi dimostrato che

questo deficit era da ascrivere alla presenza di varianti alleliche del gene della MBL, tali da comportare livelli molto ridotti di questa proteina nel sangue e un deposito subottimale di frazioni opsonizzanti del C (C3b) sulla superficie batterica^{23,24}.

Di fatto è stato osservato che la prevalenza di mutazioni per la MBL risulta essere almeno raddoppiata in bambini ospedalizzati per patologie infettive acute rispetto a soggetti ricoverati a causa di altre malattie²⁸. Un recente studio ambulatoriale su una coorte di 252 bambini di età < 2 anni ha confermato una frequenza di infezioni respiratorie acute più di due volte superiore nei soggetti con deficit di MBL rispetto ai controlli, in particolare nella fascia di età tra 6 e 17 mesi²⁹. Inoltre, in una casistica di pazienti pediatrici e adulti osservati per sospetto immunodeficit primitivo, l'8% sono risultati omozigoti per varianti alleliche della MBL³⁰.

In generale in questi pazienti vengono riportate con elevata frequenza infezioni recidivanti, severe o atipiche (meningiti, sepsi, celluliti), otite ricorrente, diarrea cronica, sinusite e asma severo^{28,30-33}. Inoltre, per quanto detto sopra, anche gli eterozigoti sembrano presentare una suscettibilità aumentata nei confronti di agenti infettivi^{5,28,34}.

Sebbene di particolare importanza nei primi mesi di vita, è probabile comunque che la presenza di varianti alleliche della MBL comporti un aumento del "rischio infettivo" anche nell'adulto^{30,32}. Considerando il periodo di latenza necessario per l'attivazione degli strumenti effettori dell'immunità adattativa a seguito del contatto con un nuovo patogeno (leggi: espansione clonale), è verosimile infatti che la MBL svolga un certo ruolo a qualunque età nella difesa immediata verso agenti microbici dotati di particolare virulenza. Ad esempio, a seguito della colonizzazione rinofaringea da parte di un nuovo ceppo di meningococco, occorrono da 1 a 4 settimane perché compaia una risposta anticorpale specifica verso questo agente, mentre la disseminazione ematogena si manifesta solitamente dopo pochi giorni dall'evento.

Recenti studi hanno confermato che la presenza nell'ospite di varianti alleliche della MBL condiziona in modo rilevante la probabilità di sviluppare malattie invasive da meningococco^{34,35}. Hibberd e collaboratori hanno infatti osservato una frequenza di omozigosi per varianti genetiche della MBL più di 5 volte superiore in bambini ospedalizzati per meningite e/o sepsi rispetto a individui di controllo con altre patologie³⁴. Attraverso opportuni modelli matematici gli Autori sono pervenuti alla conclusione che circa 1/3 dei casi di malattia meningococcica nella popolazione anglosassone può essere ascritto a mutazioni dei codoni 52, 54 e 57 del gene della MBL. Inoltre, è stato osservato che gli omozigoti per queste varianti alleliche della MBL presentano un decorso clinico di malattia più lieve rispetto agli eterozigoti e ai soggetti portatori dell'allele "selvaggio", come conseguenza forse di una reazione infiammatoria attenuata nei confronti del patogeno (*vedi* oltre).

Qualificati Autori ritengono comunque che il deficit di MBL, da solo, non aumenti in modo significativo la suscettibilità alle infezioni, a meno che non coesistano altri difetti immunitari o patologie di base⁴. La probabilità di ricorrenza di un tale evento, d'altra parte, non è affatto remota, ove si pen-

si ai deficit minori dell'immunità anticorpale o del C e alla fibrosi cistica. Nella razza caucasica, ad esempio, circa l'8% degli individui presenta un deficit di C4, e la frequenza con cui questo si associa al deficit di MBL nella popolazione non selezionata è di circa 1/250⁴. Invero, un ruolo particolarmente importante sembra avere il deficit di MBL nel condizionare la prognosi *quoad vitam* e *quoad valetudinem* proprio nei pazienti con mucoviscidiosi.

È stato infatti osservato che in questa patologia gli individui portatori di varianti alleliche del gene della MBL presentano con elevata frequenza una colonizzazione polmonare da parte della *Burkholderia cepacia*, maggiori alterazioni degli indici di funzionalità respiratoria e, nel complesso, una prospettiva di sopravvivenza di molto inferiore rispetto a pazienti omozigoti normali^{36,37}. Dati recenti sembrano indicare che il deficit di MBL nel paziente fibrocistico influenza la progressione anche dell'epatopatia e aumenta la probabilità di sviluppare una cirrosi biliare³⁸.

Un ruolo particolarmente importante avrebbe il deficit di MBL nell'aumentare il rischio infettivo nel paziente oncologico: è stato infatti osservato che esso predispone ad avere episodi neutropenici febbrili di maggior durata e complicità infettive severe in individui sottoposti a chemioterapia antitumorale^{39,40}. Anche nel lupus eritematoso sistemico la frequenza di infezioni sembra essere aumentata di 4 volte nei pazienti portatori di mutanti alleliche della MBL⁴¹. È verosimile che la stessa associazione riportata in letteratura tra deficit di MBL e aborto ricorrente dipenda da una maggiore predisposizione a contrarre infezioni in utero^{42,43}.

È probabile d'altra parte che il ruolo svolto dalla MBL nella clearance microbica non si esaurisca ai soli patogeni batterici. Uno studio di Garred e collaboratori indicherebbe ad esempio che l'omozigosi per varianti alleliche della MBL comporta non solo un rischio aumentato di contrarre l'infezione da HIV, ma anche una più rapida evolutività dell'AIDS⁴⁴. Alcuni lavori in-

dicherebbero infine un possibile ruolo della MBL nella patogenesi e/o nell'outcome di malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide o la sindrome di Sjögren e perfino nella difesa contro i tumori⁴⁵⁻⁴⁷.

IL DEFICIT DI MBL: UN DIFFICILE EQUILIBRIO TRA SVANTAGGI E BENEFICI

Come già detto, la prevalenza di varianti genetiche associate a un deficit di MBL è molto alta nella popolazione (fino al 40% nella razza caucasica e al 50% in quella africana). Una frequenza così elevata di mutazioni suggerisce la possibilità di un vantaggio evolutivo per lo stato di portatore e di un bilanciamento tra effetti positivi ed effetti negativi del deficit di questa proteina. A questo proposito, è stato osservato che individui ammalati di lebbra o TBC presentano livelli ematici più alti di MBL rispetto alla popolazione generale⁴⁸.

Un'ipotesi accreditata è quindi che il difetto di fagocitosi batterica nei soggetti portatori di mutanti strutturali del gene della MBL, comportando un ostacolo alla diffusione sistemica di infezioni da parte dei micobatteri, possa conferire una certa resistenza nei confronti di questi patogeni^{5,48}.

Un'altra ipotesi - non esclusiva della prima - è che un'attenuazione della risposta infiammatoria locale, conseguenza della deficitaria attivazione complementare, si traduca in un minor danno per i tessuti interessati dalla flogosi (questo avviene nella malattia meningococcica per gli omozigoti, mentre il vantaggio dell'eterozigote in termini di mortalità non raggiunge la significatività).

CONCLUSIONI

Da quanto già riportato si comprende come il deficit di MBL, legato a varianti alleliche del gene, non rappresenti di per sé un fattore "causativo" di patologia ma solo un elemento in grado di conferire un maggior rischio infettivo nei confronti di alcuni agenti micro-

MESSAGGI CHIAVE

□ La lectina legante il mannosio (MBL) è una proteina della fase acuta che svolge un ruolo importante nei meccanismi effettori dell'immunità naturale nei confronti di agenti infettivi (batteri, miceti), soprattutto nelle prime epoche della vita.

□ Il deficit genetico omozigote di MBL (5% della popolazione) può rappresentare, soprattutto se associato ad altri difetti immunitari o patologie di base, una condizione di rischio infettivo di gravità (meningiti, sepsi, celluliti).

□ In particolare sarebbe aumentata la probabilità di avere gravi infezioni da meningococco e di peggiorare la prognosi dei pazienti con fibrosi cistica.

□ Non esiste una terapia specifica del difetto, ma la conoscenza del problema può consentire di interpretare meglio l'andamento di alcune malattie infettive e, in futuro, di personalizzare possibili approcci di diagnosi e terapia.

bici, soprattutto nei primi anni di vita e in presenza di altre affezioni di base. Particolare importanza avrebbe nell'aumentare la probabilità di contrarre infezioni invasive da meningococco e nella fibrosi cistica, accelerando in quest'ultima la progressione del danno polmonare e riducendo notevolmente la sopravvivenza dei pazienti affetti. Per ora queste conoscenze non aggiungono rilevanti modifiche al comportamento pratico del pediatra. La valutazione dei polimorfismi dell'MBL resta un esame specialistico condotto per lo più ai fini di ricerca o per la migliore definizione di particolari casi clinici di immunodeficienza.

Non esiste una terapia specifica del difetto, ma il potenziamento dell'immunità umorale contro i batteri capsulati per mezzo di vaccini sembra ragionevole nei casi con infezioni gravi e/o ricorrenti. Dato però che la valutazione dell'MBL, al pari di quella di altri fattori dell'immunità naturale, non fa parte della valutazione dei soggetti con infezioni ricorrenti, sarà opportuno basare il proprio comportamento ancora sui criteri clinici e sui più semplici esami di laboratorio (emocromo con formula, immunoglobuline).

Bibliografia

1. Medzhitov R, Janeway C jr. Innate immunity. *N Engl J Med* 2000;343:338-44.
2. Travis S, Singh PH, Welsh MJ. Antimicrobial peptides and proteins in the innate defense of the airway surface. *Curr Opin Immunol* 2001;13:89-95.
3. Ottinger CA, Johnson SC, Ewart KW, et al. Enhancement of anti-*Aeromonas salmonicida* activity in Atlantic salmon (*salmo salar*) macrophage by a mannose-binding lectin. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1999;123:53-9.
4. Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996;17:532-9.
5. Babovic-Vuksanovic D, Snow K, Ten RM. Mannose-binding lectin (MBL) deficiency. Variant alleles in a Midwestern population of the United States. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:134-41.
6. Thiel S, Bjerke BT, Poulsen LK, et al. Ontogeny of human mannan-binding protein, a lectin of the innate immune system. *Pediatr Allergy Immunol* 1995;6:20-3.
7. Matsushita M, Fujita T. Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* 1992;176:1497-502.
8. Thiel S, Vorup-Jensen T, Stover CM, et al. A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature* 1997;386:506-10.
9. Gadjeva M, Thiel S, Jensenius JC. The mannan-binding-lectin pathway of the innate immune response. *Curr Opin Immunol* 2001;13:74-8.
10. Taylor ME, Brickell PM, Craig RK, Summerfield JA. Structure and evolutionary origin of the gene encoding a human serum mannose-binding protein. *Biochem J* 1989;262:763-71.
11. Garred P, Madsen HO, Svejgaard A. Genetics of human-binding protein. In: Ezekowitz RAB, Sastry K, Reid KBM (eds). *Collectins and innate immunity*. RG Landes. Austin, TX, 1996:139-64.
12. Lipscombe RJ, Sumiya M, Hill AV, et al. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose-binding protein gene. *Hum Mol Genet* 1992;1:709-15.
13. Mead R, Jack D, Pembrey M, et al. Mannose-binding lectin alleles in a prospectively recruited UK population. *Lancet* 1997;349:1669-70.
14. Lipscombe RJ, Sumiya M, Summerfield JA, Turner MW. Distinct physico-chemical characteristics of human binding protein (MBP) expressed by individuals of different phenotype. *Immunology* 1995;85:660-7.
15. Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics* 1994;40:37-44.
16. Neth O, Jack DL, Dodds AW, et al. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immunology* 2000;68:688-93.
17. Kase T, Suzuki Y, Kaway T, et al. Human mannan-binding lectin inhibits the infection of influenza A virus without complement. *Immunology* 1999;97:385-92.
18. Saifuddin M, Hart ML, Gewurz H, et al. Interaction of mannose-binding lectin with primary isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol* 2000;81:949-55.
19. Swanson AF, Ezekowitz RA, Lee A, et al. Human mannose-binding protein inhibits infection of HeLA cells by *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immunology* 1998;66:1607-12.
20. Green PJ, Feizi T, Stoll MS, et al. Recognition of the major cell surface glycoconjugates of *Leishmania* parasites by the human serum mannan-binding protein. *Mol Biochem Parasitol* 1994;66:319-28.
21. Turner MW, Super M, Singh S, et al. Molecular basis of a common opsonic defect. *Clin Exp Allergy* 1991;21 (suppl. 1):182-8.
22. Soothill JF, Harvey BAM. Defective opsonization: a common immunity deficiency. *Arch Dis Child* 1976;51:91-9.
23. Super M, Thiel S, Lu J, et al. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* 1989;2:1236-9.
24. Sumiya M, Super M, Tabona P, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 1991;337:1569-70.
25. Miller ME, Seals J, Kaye R, Levinsky LC. A familial, plasma associated defect of phagocytosis: a new cause of recurrent bacterial infections. *Lancet* 1968;2:60-3.
26. Candy DCA, Larcher VF, Tripp JH, et al. Yeast opsonisation in children with chronic diarrhoeal states. *Arch Dis Child* 1980;55:189-93.
27. Richardson VF, Larcher VF, Price JF. A common congenital immunodeficiency predisposing to infection and atopy in infancy. *Arch Dis Child* 1983;58:799-802.
28. Summerfield JA, Sumiya M, Levin M, Turner MW. Association of mutations in mannose binding protein gene with childhood infections in consecutive hospital series. *Br Med J* 1997;314:1229-32.
29. Koch A, Melbye M, Soensen P, et al. Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA* 2001;285:1316-21.
30. Garred P, Madsen HO, Hofmann B, Svejgaard A. Increased frequency of homozygosity of abnormal mannan-binding protein alleles in patients with suspected immunodeficiency. *Lancet* 1995;346:941-3.
31. Ten RM, Carmona EM, Babovic-Vuksanovic D, Katzmann JA. Mannose-binding lectin deficiency associated with neutrophil chemotactic unresponsiveness to C5a. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:419-24.
32. Summerfield JA, Ryder S, Sumiya M, et al. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. *Lancet* 1995;345:886-9.
33. Aittoniemi J, Baer M, Soppi E, Vesikari T, Miettinen A. Mannan binding lectin deficiency and concomitant immunodefects. *Arch Dis Child* 1998;78:245-8.
34. Hibberd ML, Sumiya M, Summerfield JA, Booy R, Levin M and the Meningococcal Research Group. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. *Lancet* 1999;353:1049-53.
35. Bax WA, Cluysenaer OJJ, Bartelink AKM, et al. Association of familial deficiency of mannose-binding lectin and meningococcal disease. *Lancet* 1999;354:1094-5.
36. Garred P, Pressler T, Masdsen HO, et al. Association of mannose-binding lectin gene with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1999;104:431-7.
37. Gabolde M, Guilloud-Bataille M, Feingold J, Besmond C. Association of variant alleles of mannose binding lectin with severity of pulmonary disease in cystic fibrosis: cohort study. *Br Med J* 1999;319:1166-7.
38. Gabolde M, Hubert D, Guilloud-Bataille M, et al. The mannose binding lectin gene influences the severity of chronic liver disease in cystic fibrosis. *J Med Genet* 2001;38:310-1.
39. Neth O, Hann I, Turner MW, Klein NJ. Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study. *Lancet* 2001;358:614-8.
40. Peterslund NA, Koch C, Jensenius J, Thiel S. Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet* 2001;358:637-8.
41. Garred P, Madsen HO, Halberg P, et al. Mannose-binding lectin polymorphism and susceptibility to infection in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42:2145-52.
42. Kilpatrick DC, Bevan BH, Liston WA. Association between mannan binding protein deficiency and recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1995;10:2501-5.
43. Malhotra R, Willis AC, Lopez Bernal A, et al. Mannan-binding protein levels in amniotic fluid during gestation and its interaction with collectin receptor from amnion cells. *Immunology* 1994;82:439-44.
44. Garred P, Madsen HO, Balslev U, et al. Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. *Lancet* 1997;349:236-40.
45. Graudal NA, Madsen HO, Tarp U, et al. The association of variant mannose-binding lectin genotypes with radiographic outcome in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:515-21.
46. Wang ZY, Morinobu A, Kanagawa S, Kumagai S. Polymorphisms of the mannose binding lectin gene in patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2001;60:483-6.
47. Yong M, Uemura K, Oka S, et al. Antitumor activity of mannan-binding protein in vivo as revealed by a virus expression system: mannan-binding protein dependent cell-mediated cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:371-5.
48. Garred P, Harboe M, Ottinger T, et al. Dual role of human mannan-binding protein in infections: another case of eterosis? *Eur J Immunogen* 1994;21:125-31.

