DOI: 10.22122/jims.v36i503.10497 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و ششم/شماره‌ی ۵۰۳/هفته‌ی سوم دی ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۱۴ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۱۰/۱۵

بررسی توالی اگزون‌های ژن گیرنده‌ی ۱ اینترفرون گاما در بیماران Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Diseases (MSMD) در منطقه‌ی مرکزی ایران

رویا شرکت[۱]، مجید یاران[۲]، نیوشا نکویی[۳]، الهه طالبی[۴]، حمید رحیمی[۵]، بهرام باقرپور[۶]، مهدیه بهنام[۷]، سودابه رستمی[۸]، سمیه نجفی[۹]، آزیتا نوری مهدوی[۱۰]، مزدک گنجعلی خانی حاکمی[۱۱]، فریبا فرید[۱۲]، نرگس رحمانیان[۱۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری حساسیت مندلی به عفونت مایکوباتریایی (Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases یا MSMD)، یک بیماری نقص ایمنی اولیه است که در اثر نقص ژنتیکی در مسیر پیام‌رسانی اینترفرون گاما ایجاد می‌شود. بیماران مبتلا به MSMD مستعد ابتلا به عفونت با پاتوژن‌هایی با بیماری‌زایی ضعیف نظیر مایکوباکتریوم‌های غیر سلی می‌باشند. با توجه به این که تعداد زیادی از جهش‌های شناخته شده در MSMD بر روی ژن Interferon gamma receptor 1 (IFNGR1) قرار دارد، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی وجود موتاسیون در اگزون‌های ژن IFNGR1 دراین بیماران در منطقه‌ی مرکزی ایران بود.

روش‌ها: بر روی DNA جدا شده از خون محیطی ۳۱ بیمار مشکوک به حساسیت مندلی به عفونت‌های مایکوباکتریایی، Polymerase chain reaction (PCR) انجام شد و توالی اگزون‌های ژن IFNGR1، بررسی گردید.

یافته‌ها: در این تحقیق، توالی اگزون یک تا شش ژن IFNGR1 در بیماران مبتلا به MSMD مورد بررسی قرار گرفت که از بین ۳۱ بیمار مورد مطالعه، شش پلی‌مورفیسم مشاهده گردید. دو پلی‌مورفیسم تا به حال گزارش نشده بودند و برای اولین بار در این مطالعه مشاهده شدند و چهار پلی‌مورفیسم دیگر، در مطالعات قبلی نیز گزارش شده بودند.

نتیجه‌گیری: در این بررسی، دو پلی مورفیسم rs17181457 و rs2234711 که در اگزون شماره‌ی یک مشاهده شدند، باعث افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های مایکوباکتریایی می‌شوند. انتخاب نوع درمان برای مبتلایان به عفونت در بیماران MSMD بر اساس تشخیص نوع جهش ژنتیکی است. بنابراین، تشخیص انواع جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های مستعد کننده به بیماری MSMD، کمک شایانی به درمان و پیش‌گیری از عفونت منتشره در این بیماران می‌کند.

واژگان کلیدی: عفونت مایکوباتریایی، حساسیت به بیماری، گیرنده‌ی ۱ اینترفرون گاما، توبرکلوز، واکسن Bacillus Calmette–Guerin

ارجاع: شرکت رویا، یاران مجید، نکویی نیوشا، طالبی الهه، رحیمی حمید، باقرپور بهرام، بهنام مهدیه، رستمی سودابه، نجفی سمیه، نوری مهدوی آزیتا، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، فرید فریبا، رحمانیان نرگس. **بررسی توالی اگزون‌های ژن گیرنده‌ی ۱ اینترفرون گاما در بیماران Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Diseases (MSMD) در منطقه‌ی مرکزی ایران.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۵۰۳): ۱۳۵۴-۱۳۴۹

۱- استاد، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دکترای علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- استادیار، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- دکترای پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۷- آزمایشگاه ژنتیک پزشکی، بیمارستان الزهرا (س)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۸- دکترای میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۹- مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۱۰- پزشک عمومی، مرکز بهداشت ملاهادی سبزواری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۱۱- دانشیار،گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۱۲- پزشک عمومی،گروه مبارزه با بیماری‌ها، مرکز بهداشت استان اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۱۳- پزشک عمومی، دکترای پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: نرگس رحمانیان

Email: nrg_rahmanian@yahoo.com

مقدمه

بیماری حساسیت مندلی به عفونت مایکوباتریایی (Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases یا MSMD)، یک بیماری نقص ایمنی اولیه است که در اثر نقص ژنتیکی در مسیر Mononuclear phagocyte/T helper cell type 1 (Th1) ایجاد می‌شود. بیماران مبتلا به MSMD، مستعد ابتلا به عفونت‌های منتشر با پاتوژن‌هایی با بیماری‌زایی ضعیف نظیر مایکوباکتریوم‌های محیطی غیر توبرکلوزیز (Environmental nontuberculous mycobacteria یا NTM) و مایکوباکتریوم موجود در واکسن سل (Bacillus Calmette-Guérin) می‌باشند. همچنین، عفونت منتشر شونده‌ی شدید و مکرر با مایکوباکتریوم توبرکلوزیز (Tuberculosis یا TB) در این بیماران مشاهده می‌شود. در این بیماران، به طور معمول عفونت مایکوباکتریایی به اندام‌های مختلف انتشار می‌یابد و درمان آن مشکل است. در بیماران MSMD در مسیر پیام‌رسانی اینترفرون گاما (Interfron-gamma یا IFN-γ)/ اینترلوکین ۱۲ (Interleukin 12 یا IL 12) اختلال ایجاد شده است. ایمنی وابسته به اینترفرون گاما، برای کنترل عفونت‌های مایکوباکتریایی ضروری است. همچنین، از آن جایی که IFN-γ یکی از عوامل مهم در حذف پاتوژن‌های داخل سلولی است، این بیماران مستعد ابتلا به دیگر پاتوژن‌های داخل سلولی نظیر سالمونلا، لیستریا، لیشمانیا، قارچ‌ها و بعضی از انواع ویروس‌ها نیز هستند (۳-۱).

درمان تهاجمی با آنتی‌بیوتیک، تنها درمان پذیرفته شده در این بیماران است. استفاده از IFN-γ در بیشتر موارد مفید است، اما در موارد نقص کامل اتوزومال مغلوب در گیرنده‌ی IFN-γ به خاطر کمبود گیرنده، چندان مؤثر نیست. در این گونه موارد شدید، پیوند سلول‌های خونی ممکن است مفید باشد، اما میزان موفقیت به نسبت پایین است که احتمال می‌رود به خاطر سطح بالای IFN-γ باشد. انتخاب درمان مناسب برای مبتلایان به عفونت در این بیماران، بر اساس تشخیص نوع جهش ژنتیکی است (۵-۴).

از سال ۱۹۹۶ که اولین نقص ژنتیکی در بیماران MSMD شناخته شد، تا کنون درگیری نه ژن در این بیماری شناخته شده است که هفت مورد از آن‌ها (شامل IFNGR1، IFN-γR2، STAT1، IL-12Bβ1، IL-12B، IRF8 و ISG15) به صورت اتوزومال به ارث می‌رسند و دو مورد دیگر وابسته به X (شامل NEMO و CYBB) می‌باشند که سطح بالایی از ناهمگنی آللی دارند و منجر به ۱۸ اختلال مختلف می‌شود. محصولات این نه ژن از لحاظ فیزیولوژیکی مرتبط هستند و در ایمنی وابسته به اینترفرون گاما دخیل می‌باشند. این اختلالات، تولید Interleukin 12B (IL12B)، Interleukin 12 receptor subunit beta 1 (IL12RB1)، Interferon regulatory factor 8 (IRF8)، Interferon-stimulated gene 15 (ISG15) و NF-kappa-B essential modulator (NEMO) و یا پاسخ به IFNGR1 interferon gamma receptor 1 (IFNGR1)، IFNGR2، Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1)، IRF8 و Cytochrome b beta (CYBB) اینترفرون گاما را مختل می‌کنند (۶).

تعداد زیادی از جهش‌های شناخته شده در MSMD بر روی IFNGR1 قرار دارد. ژن IFNGR1 بر روی کروموزوم 6q23.3 قرار دارد و حدود ۲۲ کیلوباز طول و هفت اگزون دارد. جهش بیماری‌زا در IFNGR1، اولین بار در سال ۱۹۹۶ گزارش شد (۸-۷) و تا کنون ۱۳۵ فرد مبتلا به MSMD با ۴۰ نوع جهش متفاوت در ژن IFNGR1 شناسایی شده‌اند. جهش اتوزومال مغلوب در این ژن، باعث کمبود کامل یا نسبی در گیرنده می‌شود؛ در حالی که جهش اتوزومال غالب، تنها باعث کمبود نسبی در گیرنده می‌شود. سطح سرمی IFN-γ در افراد سالم غیر قابل تشخیص است، اما در این بیماران به دلیل عدم وجود گیرنده‌ی مناسب، میزان IFN-γ سرم افزایش چشم‌گیری نشان می‌دهد (۹). در جهش اتوزومال مغلوب کامل، گیرنده‌ی اینترفرون گاما به طور کامل وجود ندارد که باعث ایجاد عفونت شدید و گاهی کشنده و منتشر شونده در دوران نوزادی یا اوایل کودکی می‌شود. این بیماران، نیاز به درمان طولانی مدت با آنتی‌بیوتیک دارند و به دلیل عدم وجود گیرنده، درمان با IFN-γ تأثیری در بهبود عملکرد سیستم ایمنی ندارد. جهش اتوزومال مغلوب و غالب نسبی، باعث کاهش پاسخ به IFN-γ می‌شود، اما پاسخ به طور کامل قطع نمی‌شود. در این بیماران، نسبت به نوع کامل عفونت خفیف‌تر و دیرتر (در نوجوانی یا بزرگسالی) رخ می‌دهد و پاسخ بهتری به درمان با آنتی‌بیوتیک می‌دهند. همچنین، استفاده از IFN-γ با دز بالا، ممکن است مفید واقع شود (۱۱-۱۰).

با توجه به این که تعداد زیادی از جهش‌های شناخته شده در MSMD بر روی IFNGR1 قرار دارد، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی وجود موتاسیون در اگزون‌های ژن IFNGR1 در بیماران مشکوک به حساسیت مندلی به عفونت‌های مایکوباکتریایی در منطقه‌ی مرکزی ایران (استان‌های اصفهان، یزد، مرکزی، چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویراحمد) است. یکی از روش‌های غربالگری این بیماری، بررسی جهش‌های شایع است که نیازمند تعیین فراوانی این جهش‌ها در ایران است. همچنین، تشخیص و انتخاب نوع درمان در بیماران MSMD نیازمند تعیین نوع جهش می‌باشد. این بررسی، به شناخت جهش‌های شایع در IFNGR1 کمک می‌کند.

روش‌ها

بیماران: جامعه‌ی آماری این مطالعه، شامل ۳۱ بیمار (۸ زن، ۱۱ مرد، ۵ کودک دختر و ۶ کودک پسر) مشکوک به حساسیت مندلی به عفونت‌های مایکوباکتریایی بود که به مراکز بهداشتی، درمانی و آموزشی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان از جمله مرکز بهداشت نواب صفوی و مرکز بهداشت ملاهادی سبزواری که به مراکز تحقیقاتی نقص ایمنی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ارجاع داده شده بودند. معیارهای انتخاب افراد بر اساس معیارهای انجمن نقص ایمنی اروپا (European Society for Immunodeficiencies یا ESID) بود که عبارت از وجود یک یا چند عامل شامل بیماران دارای سابقه‌ی BCGosis (Bacillus Calmette–Guérin)، بیماران دارای عفونت مکرر مایکوباکتریایی، بیماران با تظاهر عفونت مایکوباکتریایی دارای سابقه‌ی فامیلی مثبت بدون ارتباط با خویشاوند مبتلا به عفونت مایکوباکتریایی، بیماران مبتلا به عفونت مایکوباکتریایی شدید غیر توبرکلوزیز، بیماران مبتلا به عفونت هم‌زمان مایکوباکتریایی در چند عضو مختلف در بدن و بیماران مبتلا به عفونت مایکوباکتریایی شدید و بیش از حد انتظار و مقاوم به درمان بودند. بیماران مبتلا به سرطان، داشتن سابقه‌ی شیمی‌درمانی، افراد مبتلا به نقص ایمنی اولیه نظیر Human immunodeficiency virus (HIV) و به طور کلی بیماران مبتلا به انواع بدخیمی‌ها که تحت درمان با داروهای سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی بودند، از مطالعه خارج شدند. در این مطالعه، از روش سرشماری برای نمونه‌گیری و برای تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی استفاده شد. سپس، رضایت‌نامه‌ی کتبی ورود به مطالعه از همه‌ی بیماران دریافت گردید و فرم پرسش‌نامه‌ی اطلاعات فردی توسط بیماران تکمیل شد.

استخراج DNA و انجام Polymerase chain reaction (PCR): از هر فرد شرکت کننده در این مطالعه برای استخراج DNA به میزان ۱۰ سی‌سی خون وریدی گرفته شد و در لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) جمع‌آوری گردید. DNA به روش پروتئیناز K استخراج شد. برای بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده، ازدستگاه نانودراپ شرکت اپندورف آلمان استفاده شد. پس از اطمینان از کیفیت DNA استخراج شده، اگزون‌های ژن IFNGR1 توسط پرایمرهای اختصاصی (توالی پرایمری در جدول ۱) که با نرم‌افزار DNASTAR طراحی شده بود، با روش PCR تکثیر گردید.

بررسی قطعه‌ی تکثیر شده توسط PCR: برای بررسی کیفی و کمی محصول PCR، از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد و قطعات تکثیر یافته برای بررسی حضور و نوع جهش در ژن IFNGR1 برای توالی‌یابی به شرکت Metabion آلمان ارسال گردید. در نهایت، این قطعات برای تأیید نهایی با استفاده از نرم‌افزار اختصاصی DNASTAR مورد مطالعه قرار گرفتند. برای تحلیل داده‌ها، از آمار توصیفی استفاده شد.

یافته‌ها

در مجموع، در این مطالعه ۳۱ بیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند. مشخصات عمومی جمعیت مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است. در این تحقیق، توالی اگزون یک تا شش ژن IFNGR1 در بیماران مبتلا به MSMD مورد بررسی قرار گرفت که از بین ۳۱ بیمار مورد مطالعه، شش پلی‌مورفیسم در پنج بیمار شناسایی شد. یک بیمار دارای دو پلی‌مورفیسم در اگزون ۱ در نوکلیوتید ۳۰۵ با تغییر نوکلئوتیدی C/T (rs17181457) و نوکلئوتید ۳۲۱ با تغییر نوکلئوتیدی A/G (rs2234711) بود. این بیمار، دختر ۷ ساله‌ای با عفونت منتشر مایکوباکتریای غیر توبرکلوزی بود. دو بیمار دارای یک پلی مورفیسم در اگزون ۵ در نوکلئوتید ۵۸۹ با تغییر نوکلئوتیدی G/A (rs55666220) بودند. یکی از این بیماران، پسر ۱ ساله‌ی مبتلا به BCG-osis و دیگری، مرد بالغ مبتلا به عفونت مکرر مایکوباکتریای غیر توبرکلوزی بود. همچنین، دو بیمار با دو پلی‌مورفیسم جدید شناسایی شدند.

جدول ۱. توالی پرایمری شش اگزون ژن گیرنده‌ی ۱ اینترفرون گاما

نام قطعه	طول قطعه (جفت باز)	توالی پرایمر Reverse	توالی پرایمر Forward
Exon 1	۲۵۶	5’GAACGACGGTACCTGAGGAC 3’	5’GCCTTCCCGGACTTGACC 3’
Exon 2	۳۴۲	5’GTGGCAAAACATTCTAAACTGCTTA3’	5’CTTTTCTTCAAATATACATATCTGGGC 3’
Exon 3	۴۲۷	5’GGAGGAATTTAGAGTCAGTACAGG3’	5’CTCTGCTCTTTCTACCGCTTTG 3’
Exon 4	۱۷۳	5’ACACATACCTCACTTCCGTTCAT 3’	5’TATACTTCCTCCTCCTCCTTCCC 3’
Exon 5	۴۱۴	5'ACAATATTCATTTGCATTAGTTCCAT3'	5'ATTTCTTCAGTTGTTTGACCAGGACT3'
Exon 6	۱۲۸	5’CCAAGGACTTGGGTAATATTATGCT 3’	5’GGTTCTCTTTGGATTCCAGTTGTT 3’

جدول ۲. مشخصات عمومی جمعیت مورد مطالعه

مشخصات	زیر گروه‌ها	تعداد
جنسیت	مرد	۱۱
	زن	۹
	کودک دختر	۵
	کودک پسر	۶
نسبت خویشاوندی والدین	ندارند	۲۰
	دارند	۱۱

یکی از این بیماران، پسر ۳ ساله‌ای با سابقه‌ی BCG-osis بود که یک پلی‌مورفیسم در اگزون ۲ در جایگاه ۱۲۵۳۷ bp با تغییر نوکلئوتیدی C/T داشت و بیمار دیگر، دختر ۴ ساله‌ی مبتلا به عفونت مکرر مایکوباکتریای غیر توبرکلوزی بود که یک پلی‌مورفیسم در اگزون ۵ در جایگاه 15854 bp با تغییر نوکلئوتیدی G/C داشت (جدول ۳).

جدول ۳. پلی‌مورفیسم‌های مشاهده شده در بیماران

شماره‌ی اگزون	نوع پلی‌مورفیسم
یک	rs17181457
یک	rs2234711
دو	۱۲۵۳۷bp C/T
پنج	rs55666220
پنج	۱۵۸۵۴bp G/C

بحث

بیماری حساسیت مندلی به عفونت مایکوباتریایی، یک بیماری ژنتیکی است که در اثر اختلال در تولید یا اختلال در پاسخ به اینترفرون گاما ایجاد می‌شود. افراد مبتلا به این اختلال، در پاسخ به عفونت‌های درون سلولی مشکل دارند و شایع‌ترین عفونتی که در این بیماران دیده می‌شود، عفونت‌های مایکوباکتریایی است. پاتوژن‌هایی با بیماری‌زایی ضعیف نظیر مایکوباکتریوم‌های محیطی غیر توبرکلوزیز و مایکوباکتریوم موجود در واکسن سل (Bacillus Calmette-Guérin) باعث ایجاد عفونت‌های سیستمیک و شدید در این بیماران می‌شود (۲-۱). تعداد زیادی از جهش‌های شناخته شده در MSMD بر روی IFNGR1 قرار دارد (۹).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی وجود جهش در اگزون‌های ژن IFNGR1 در بیماران مشکوک به حساسیت مندلی به عفونت‌های مایکوباکتریایی در منطقه‌ی مرکزی ایران (استان‌های اصفهان، یزد، مرکزی، چهار محال و بختیاری و کهگیلویه و بویراحمد) بود. از بین ۳۱ بیمار مورد مطالعه، شش پلی‌مورفیسم در پنج بیمار دیده شد که دو مورد از آن‌ها تا زمان انجام این مطالعه، مشاهده نشده بودند و برای اولین بار در این مقاله گزارش شدند. در یک بیمار، دو پلی‌مورفیسم rs17181457 و rs2234711 در اگزون شماره‌ی ۱ مشاهده شد. طبق مطالعات قبلی، هر دوی این پلی‌مورفیسم‌ها باعث افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های مایکوباکتریایی می‌شوند.

Rudko و همکاران، ارتباط این دو پلی‌مورفیسم را با عفونت گسترده‌ی مایکوباکتریایی (Generalized tuberculosis) و عوارض بعد از واکسن BCG در کودکان نشان دادند (۱۲). همچنین، He و همکاران نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs2234711 و خطر ابتلا به توبرکلوزیز وجود دارد. در واقع، این پلی‌مورفیسم در AP4 binding site قرار دارد و استعداد ابتلا به بعضی عفونت‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۳). AP4، یک عامل رونویسی است که بیان بعضی از ژن‌ها را فعال یا غیر فعال می‌کند (۱۴). پلی‌مورفیسم rs55666220 بر روی اگزون ۵ ژن IFNGR1 قرار داردکه در دو بیمار دیده شد؛ یکی از این بیماران، پسر ۱ ساله‌ی مبتلا به BCG-osis و دیگری، مرد بالغ مبتلا به عفونت مکرر مایکوباکتریای غیر توبرکلوزی بود. البته، طی مطالعات گذشته، این پلی‌مورفیسم غیر بیماری‌زا شناخته شده است (۹). همچنین، دو بیمار با دو پلی مورفیسم جدید شناسایی شدند. یکی از این بیماران، پسر ۳ ساله‌ای با سابقه‌ی BCG-osis بود که یک پلی‌مورفیسم در اگزون ۲ در جایگاه ۱۲۵۳۷ bp با تغییر نوکلئوتیدی C/T داشت و بیمار دیگر، دختر ۶ ساله ی مبتلا به عفونت مکرر مایکوباکتریای غیر توبرکلوزی بود که یک پلی‌مورفیسم در اگزون ۵ در جایگاه ۱۵۸۵۴ bp با تغییر نوکلئوتیدی G/C داشت. جهت تأیید این دو پلی‌مورفیسم به عنوان عامل مستعد کننده به توبرکلوز، نیاز به مطالعات بیشتر و وسیع‌تری می‌باشد.

درمان توبرکلوزیز در بیماران MSMD شامل استفاده‌ی طولانی مدت از آنتی‌بیوتیک، استفاده از اینترفرون گاما و پیوند سلول‌های خونی بنیادی می‌باشد. همچنین، ژن‌درمانی ممکن است کمک کننده باشد که البته هنوز در ابتدای راه است. انتخاب نوع درمان برای مبتلایان به عفونت در بیماران MSMD بر اساس تشخیص نوع جهش ژنتیکی است (۵-۴). به عنوان مثال، در جهش اتوزومال مغلوب کامل رسپتور اینترفرون گاما، نیاز به درمان طولانی مدت با آنتی‌بیوتیک می‌باشد و به دلیل عدم وجود گیرنده، درمان با IFN-γ تأثیری در بهبود عملکرد سیستم ایمنی ندارد. در این گونه موارد شدید، پیوند سلول های خونی ممکن است مفید باشد، اما میزان موفقیت به نسبت پایین است که احتمال می‌رود به خاطر سطح بالای IFN-γ در سرم باشد. در جهش اتوزومال مغلوب و غالب نسبی گیرنده‌ی اینترفرون گاما، کاهش پاسخ به IFN-γ دیده می‌شود، اما پاسخ به طور کامل قطع نمی‌شود. در این بیماران نسبت به نوع کامل،

عفونت خفیف‌تر و دیرتر (در نوجوانی یا بزرگسالی) رخ می‌دهد و پاسخ بهتری به درمان با آنتی‌بیوتیک می‌دهند. همچنین، استفاده از IFN-γ با دز بالا، ممکن است مفید واقع شود (۱۶-۱۵).

همچنین، با توجه به احتمال بروز BCG-osis (عفونت منتشر ناشی از تزریق واکسن BCG) در بعضی از انواع این بیماری مثل جهش اتوزومال مغلوب کامل گیرنده‌ی اینترفرون گاما، در صورت تشخیص زود هنگام این بیماری تزریق واکسن BCG انجام نمی‌گیرد و از عوارض مهلک آن، جلوگیری می‌شود (۱۷). بنابراین، تشخیص انواع جهش‌ها و پلی‌مورفیسم‌های مستعد کننده به بیماری MSMD کمک شایانی به درمان و پیش‌گیری از عفونت منتشره در این بیماران می‌کند.

همان‌طور که بیان شد تا کنون درگیری نه ژن در این بیماری شناخته شده است که سطح بالایی از ناهمگنی آللی دارند و منجر به ۱۸ اختلال مختلف می‌شود. با توجه به این که هنوز در نیمی از بیماران شناخته شده‌ی MSMD، هیچ یک از ۱۸ نقص ژنتیکی شناخته شده وجود ندارد که نشان دهنده‌ی درگیری تعداد دیگری از پروتئین‌های موجود در مسیر اینترفرون گاما/ اینترلوکین ۱۲ (IL-12) می‌باشد، بررسی ژنوم افراد مبتلا با استفاده از Whole exome sequencing (WES) و Whole genome sequencing (WGS) کمک شایانی به تشخیص بقیه‌ی موارد جهش‌های ژنتیکی منجر به MSMD می‌کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از طرح پژوهشی به شماره‌ی ۲۹۳۳۱۸ می‌باشد که هزینه‌ی انجام آن توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شده است. همچنین، شایسته است که از زحمات خانم دکتر فرج‌زادگان که در تمامی مراحل این پژوهش ما را مساعدت نمودند، قدردانی شود.

References

1. Al-Muhsen S, Casanova JL. The genetic heterogeneity of mendelian susceptibility to mycobacterial diseases. J Allergy Clin Immunol 2008; 122(6): 1043-51.
2. Stenger S, Modlin RL. T cell mediated immunity to Mycobacterium tuberculosis. Curr Opin Microbiol 1999; 2(1): 89-93.
3. Hadifar S, Moghim S, Gasemian-Safaei H, Fazeli H, Farid F, Moghoofei M, et al. Identification of non-tuberculosis mycobacteria isolates by polymerase chain reaction-restriction enzyme analysis of 360-bp fragment of rpoB gene. J Isfahan Med Sch 2014; 31(266): 2131-8. [In Persian].
4. Holland SM. Treatment of infections in the patient with Mendelian susceptibility to mycobacterial infection. Microbes Infect 2000; 2(13): 1579-90.
5. Holland SM. Immunotherapy of mycobacterial infections. Semin Respir Infect 2001; 16(1): 47-59.
6. Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: genetic, immunological, and clinical features of inborn errors of IFN-gamma immunity. Semin Immunol 2014; 26(6): 454-70.
7. Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S, Revy P, Emile JF, Newport M, et al. Interferon-gamma-receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guerin infection. N Engl J Med 1996; 335(26): 1956-61.
8. Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, et al. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. N Engl J Med 1996; 335(26): 1941-9.
9. van de Vosse E, van Dissel JT. IFN-gammaR1 defects: Mutation update and description of the IFNGR1 variation database. Hum Mutat 2017; 38(10): 1286-96.
10. Jouanguy E, Dupuis S, Pallier A, Doffinger R, Fondaneche MC, Fieschi C, et al. In a novel form of IFN-gamma receptor 1 deficiency, cell surface receptors fail to bind IFN-gamma. J Clin Invest 2000; 105(10): 1429-36.
11. Doffinger R, Jouanguy E, Dupuis S, Fondaneche MC, Stephan JL, Emile JF, et al. Partial interferon-gamma receptor signaling chain deficiency in a patient with bacille Calmette-Guerin and Mycobacterium abscessus infection. J Infect Dis 2000; 181(1): 379-84.
12. Rudko AA, Garaeva AF, Bragina EY, Babushkina NP, Kolokolova OV, Lipaenkova ON, et al. Mutations in genes underlying atypical familial mycobacteriosis are not found in tuberculosis patients from Siberian populations. Tuberculosis (Edinb) 2015; 95(2): 204-7.
13. He J, Wang J, Lei D, Ding S. Analysis of functional SNP in ifng/ifngr1 in Chinese Han population with tuberculosis. Scand J Immunol 2010; 71(6): 452-8.
14. Imai K, Okamoto T. Transcriptional repression of human immunodeficiency virus type 1 by AP-4. J Biol Chem 2006; 281(18): 12495-505.
15. Haverkamp MH, van de Vosse E, van Dissel JT. Nontuberculous mycobacterial infections in children with inborn errors of the immune system. J Infect 2014; 68(Suppl 1): S134-S150.
16. Sologuren I, Boisson-Dupuis S, Pestano J, Vincent QB, Fernandez-Perez L, Chapgier A, et al. Partial recessive IFN-gammaR1 deficiency: genetic, immunological and clinical features of 14 patients from 11 kindreds. Hum Mol Genet 2011; 20(8): 1509-23.
17. Shahmohammadi S, Saffar M J, Rezai M S. BCG-osis after BCG vaccination in immunocompromised children: Case series and review. J Pediatr Rev 2014; 2(1): 62-74.

DOI: *10.22122/jims.v36i503.10497* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 36, No. 503, 3rd Week, January 2019**

Received: 11.09.2018 Accepted: 05.11.2018 Published: 05.01.2019

Exons Analysis of Interferon-Gamma Receptor 1 Gene in Patients with Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Diseases (MSMD) in the Central Region of Iran

Roya Sherkat[1], Majid Yaran[2], Nioosha Nekooei[3], Elaheh Talebi[4], Hamid Rahimi[5], Bahram Bagherpoor[6], Mahdieh Behnam[7], Soodabeh Rostami[8], Somayeh Najafi[9], Azita Nourimahdavi[10], Mazdak Ganjalikhani-Hakemi[11], Fariba Farid[12], Narges Rahmanian[13]

Original Article

Abstract

Background: Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases (MSMD) is a rare immunodeficiency disease which is caused by interferon-gamma (IFN-γ) signaling impairment. Patients with MSMD are susceptible to infections with weakly virulent non-tuberculous mycobacteria (NTM) and the Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccine strain. Regarding that a great number of identified mutations in MSMD are located on IFN-γ receptor 1 (IFNGR1) gene, this study aimed to evaluate IFNGR1 mutation in patients with MSMD in the central region of Iran.

Methods: We examined 31 patients suspected to MSMD based on defined criteria. IFNGR1 gene mutation analysis was performed on the DNA samples using polymerase chain reaction (PCR) and gene sequencing methods.

Findings: The sequencing of exons 1-6 of IFNGR1 gene in patients with MSMD was evaluated, and among 31 patients, six polymorphisms were found, that two of them were not reported before.

Conclusion: In this research, two polymorphisms were found in exon 1, rs17181457 and rs2234711, both of them increase the susceptibility to mycobacterial infection. The approach to treatment of infection in patients with MSMD is based on the kind of mutation. Therefore, assessment of gene mutation in these patients is helpful to choose the appropriate treatment.

Keywords: Mycobacterium infections, Disease susceptibility, Interferon gamma receptor 1, Tuberculosis, BCG vaccine

Citation: Sherkat R, Yaran M, Nekooei N, Talebi E, Rahimi H, Bagherpoor B, et al. **Exons Analysis of Interferon-Gamma Receptor 1 Gene in Patients with Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Diseases (MSMD) in the Central Region of Iran.** J Isfahan Med Sch 2019; 36(503): 1349-54.

1- Professor, Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- PhD in Laboratory Sciences, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- PhD Candidate, Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Nosocomial Infection Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- PhD in Molecular Medicine, Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
7- Medical Genetics Laboratory, Alzahra Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8- PhD in Microbiology, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
9- Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
10- General Practitioner, Molahadi Sabzevari Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
11- Associate Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
12- General Practitioner, Department of Disease Control, Provincial Health Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
13- General Practitioner, PhD in Molecular Medicine, Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Narges Rahmanian, Email: nrg_rahmanian@yahoo.com