مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۳۰۰/هفته اول آبان ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱۱

بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۹۷-۵۳۸۳ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم

دکتر هدایت‌اله شیرزاد[۱]، رضوان مشکات[۲]، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی[۳]، دکتر رسول صالحی[۴]، دکتر رامین قاسمی[۵]، دکتر مرتضی هاشم‌زاده[۶]، علی مسیبیان[۷]، شهربانو پرچمی برجویی[۸]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: یکی از اعضای خانواده‌ی ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی سلول T، TIM-۱، در ناحیه‌ی ۳۳-۵q۳۱ واقع شده است. ناحیه‌ای که ارتباط آن با نمو سلول‌های TH۲ (T helpers۲) و بیماری‌های آلرژیک اثبات شده است. پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ می‌تواند موجب تغییر طول مولکول TIM-۱ شود. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین یک پلی‌مورفیسم در TIM-۱، با نام (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ و آمادگی ابتلا به آسم در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم بود.

روش‌ها: روش‌های PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) و PCR (Polymerase chain reaction) به منظور بررسی حضور پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در ۳۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۳۰۹ فرد سالم استفاده شد. اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین E تام (IgE یا Immunoglobulin E) نمونه‌ی سرم افراد نیز به کمک روش الایزا انجام گردید.

یافته‌ها: در این جمعیت، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ Insertion/insertion در پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ و بیماری آسم و همچنین سطح IgE تام سرم مشاهده گردید (P = ۰/۰۵۰). همچنین آلل Deletion در بیماران به طور معنی‌داری فراوانی پایین‌تری داشت.

نتیجه‌گیری: در جمعیت مورد مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ و بیماری آسم و همچنین این پلی‌مورفیسم با سطح IgE تام سرمی وجود دارد.

واژگان کلیدی: TIM-۱، آسم، پلی‌مورفیسم

ارجاع: شیرزاد هدایت‌اله، مشکات رضوان، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، صالحی رسول، قاسمی رامین، هاشم‌زاده مرتضی، مسیبیان علی، پرچمی برجویی شهربانو. **بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم Insertion/deletion ۵۳۹۷-۵۳۸۳ ژن رمزگذار دومن ایمونوگلوبولینی و موسینی نوع یک سلول T با آسم و سطح ایمونوگلوبولین E تام سرمی در بیماران مبتلا به آسم و افراد سالم.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۰۰): ۱۴۳۲-۱۴۲۳

۱- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات ایمونولوژی سلولی و مولکولی و گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- دانشیار، گروه ژنتیک و زیست شناسی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- فوق تخصص آسم، آلرژی و ایمنی بالینی، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- استاد، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۷- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۸- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی
Email: mghakemi@med.mui.ac.ir

مقدمه

آسم یک بیماری التهابی مزمن مجاری هوایی شامل ویژگی‌هایی چون علایم متغیر و عود کننده، انسداد برگشت پذیر جریان هوا و اسپاسم برونش است. این بیماری یک معضل جهانی است. بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی، ۳۰۰ میلیون نفر به بیماری آسم مبتلا هستند و شیوع جهانی بیماری ۱۸-۱ درصد گزارش شده است (۲-۱). میزان شیوع بیماری در سال ۲۰۰۳، در کل جمعیت ایران ۵/۵ درصد و در کودکان ۱۰ درصد بوده است؛ شیوع این بیماری در حال افزایش می‌باشد (۱). آسم یک اختلال ژنتیکی پیچیده است که نحوه‌ی وراثت آن مشخص نیست و بر اساس برخی مطالعات، ژن‌هایی چندگانه در بیماری‌زایی آن دخیل هستند (۳).

شیوع بالای آسم و ناتوانی روش‌های پزشکی در مهار کامل این بیماری، سیل گسترده‌ی مطالعات جدید را به سوی ژنتیک آسم سرازیر نموده است (۵-۴). با شناسایی ژن‌های درگیر و مرتبط با آسم، امکان شناسایی اشخاص در خطر، پیشگیری و حتی مداخلات درمانی وجود دارد (۳). تعیین ارتباط احتمالی مولکول‌های خاص با ایجاد یا پیشرفت آسم، بر پایه‌ی انواع پلی‌مورفیسم‌های DNA می‌تواند دریچه‌ای در ارتقای آزمایش‌های تشخیصی باشد؛ تا آن جا که نشانگرهای زیستی انتخابی به عنوان اثر انگشت بیماری تحت بررسی قرار گیرند (۶).

خانواده‌ی TIM در سال ۲۰۰۱ با استفاده از مدل موشی کانژن آسم، کلون و اهمیت آن شناسایی شد (۷). ژن‌های این خانواده در ناحیه‌ی کروموزومی ۵q۲۳-۳۵ واقع شده‌اند. چنان چه گفته شد، ارتباط این ناحیه با آسم به کرات پیشنهاد شده است (۱۰-۸).

از طریق مطالعات ارتباطی و کلونینگ موضعی، ارتباط چندین ژن از جمله TIM-۱، با بیماری آسم شناسایی گردیده است (۱۱). TIM-۱ بر روی لنفوسیت‌های $TCD4^+$ تمایز یافته به سلول‌های TH۲ (T helper۲)، بروز می‌یابد و به عنوان یک پیام کمک محرک برای فعال شدن این سلول‌ها و تولید سایتوکاین‌های مرتبط عمل می‌کند (۱۳-۱۲). این ملکول نقش مهمی در تنظیم، فعال شدن و عملکرد TH۲ دارد (۱۴).

چندین مطالعه با هدف یافتن ارتباط پلی‌مورفیسم‌های TIM-۱ و آمادگی دچار شدن به آسم صورت گرفته است که البته نتایج متناقضی پیشنهاد شده است (۱۹-۱۵، ۸).

از جمله، مطالعه‌ای در جمعیت آفریقایی آمریکایی نشان داد که فرم حذف هموزیگوت MTTTVP ins/del ۱۵۷ یا (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در اگزون ۴ ژن TIM-۱ با آمادگی ابتلا به آسم در ارتباط می‌باشد (۱۸). در حالی که در یک مطالعه در جمعیت ژاپنی پیشنهاد شده است که هیچ ژنوتیپ حذف و اضافه‌ای در ژن TIM-۱به طور ترجیحی در بیماران مبتلا به آسم وجود ندارد (۱۶). با این حال، پژوهشی در ارتباط با پلی‌مورفیسم‌های این ژن و بیماری آسم در جمعیت ایران انجام نشده است؛ از این رو در پژوهش حاضر، ارتباط پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در این ژن و بیماری آسم مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: این مطالعه‌ی مورد- شاهدی بر روی ۳۰۰ بیمار مبتلا به آسم و ۳۰۹ شاهد سالم از

بیمارستان هاجر چهار محال و بختیاری انجام شد. افراد گروه شاهد هیچ گونه سابقه و یا علایم آسم یا آلرژی نداشتند. دو گروه از لحاظ سن و جنس همسان‌سازی شدند و همه‌ی افراد، بومی همان استان بودند. همچنین انجام این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأیید شد و از تمامی شرکت کنندگان در این مطالعه رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ گردید.

استخراج DNA: ۴ ml خون تام از افراد مورد مطالعه گرفته شد و DNA از گلبول‌های سفید خون محیطی توسط کیت جداسازی DNA (Feldan, Canada) و طبق روش پیشنهادی کارخانه‌ی سازنده استخراج گردید.

تعیین ژنوتیپ: تعیین ژنوتیپ توسط روش PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) انجام گردید. ابتدا قطعه‌ی ۲۰۱ bp در بر گیرنده‌ی پلی‌مورفیسم مورد نظر، توسط روش PCR (Polymerase chain reaction) و با استفاده از زوج پرایمرهای ’۳-TGGGAAGTCAGGGGCTGTTTCTGTCG-۵’ و ’۳-GCAGACAGGCTGGTTGGTA-۵’ تکثیر گردید. واکنش در حجم کلی ۲۵ µl شامل ۲/۵ µl از X buffer، ۰/۵ µl از dNTP (Deoxyribonucleotide)، ۱ µl از هر پرایمر (با غلظت ۱۰ pmol)، ۰/۳ µl آنزیم TaqDNA-polymerase (سیناژن، ایران)، $MgCl_2$ (۵۰ mM) به میزان ۰/۷۵ µl و ۲ µl از DNA ژنومی (۵۰ ng) استفاده شد.

برنامه‌ی PCR توسط دستگاه ترموسایکلر قابل برنامه‌ریزی (Eppendorf, Germany)، شامل پیش دناتوراسیون ۹۴ °C و ۳۰ چرخه با ۹۴ °C در ۳۰ ثانیه، ۶۴ °C در ۳۰ ثانیه، ۷۲ °C در ۶۰ ثانیه و در نهایت ۷۲ °C در ۱۰ دقیقه اجرا شد. محصولات PCR به منظور تعیین ژنوتیپ بر روی ژل پلی‌اکریل آمید جداسازی و با رنگ‌آمیزی نقره قابل رؤیت گردیدند. باند ۲۰۴ نماینده‌ی آلل ins، باند ۲۰۱ نماینده‌ی آلل ref و باند ۱۸۶ نشان دهنده‌ی آلل del می‌باشد. جهت صحت تعیین ژنوتیپ چند محصول PCR به صورت تصادفی گزینش و برای تعیین توالی مستقیم به شرکت ژن فن‌آوران، ایران ارسال شد. نتایج تعیین توالی با تعیین ژنوتیپ به طور کامل یکسان بود.

تعیین سطح IgE تام و شمارش ائوزینوفیل‌ها: به منظور سنجش میزان سطح IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی از کیت الایزا (enzyme-linked immunosorbentassay)(Euroimmun, Germany) استفاده شد. ائوزینوفیل‌های خون محیطی توسط دستگاه Cell counter sysmex xt ۱۸۰۰ شمارش و سپس به منظور تأیید صحت شمارش از روش گسترش لام خون محیطی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: ارزیابی نتایج کمی به وسیله‌ی آزمون One-way ANOVA (One-way analysis of variance) و داده‌های کیفی توسط آزمون χ^2 و آزمون Fisher's exact انجام گردید و واکاوی سطح IgE تام سرمی در ژنوتیپ‌های مختلف پس از تغییرات لگاریتمی به علت تأمین توزیع طبیعی این متغیر انجام شد. سپس از آن جا که متغیرهای سن، جنس و سیگار می‌توانند بر سطح IgE سرمی مؤثر باشند، تأثیر این متغیرها به کمک آزمون ANCOVA (Analysis of covariance) حذف شد. به منظور بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم و بیماری از

آزمون Logestic regression استفاده گردید. $P < ۰/۰۵۰$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

یافته‌های آزمایشگاهی و مشخصه‌های دموگرافیک افراد مورد و شاهد و ارتباط این متغیرها با بیماری آسم در جدول ۱ آمده است. هیچ تفاوت معنی‌داری در سن ($P = ۰/۸۷۹$) و جنس ($P = ۰/۷۰۵$) بین افراد مورد و شاهد به دست نیامد و این مطلب، همسان‌سازی کافی این متغیرها در دو گروه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در مقابل سطح IgE تام سرمی و تعداد سلول‌های ائوزینوفیل بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد؛ به طوری که سطح هر دو متغیر در بیماران به طور بسیار معنی‌داری بالاتر بود ($P < ۰/۰۰۱$).

تعیین ژنوتیپ در هر دو گروه مورد مطالعه، به صورت موفقیت‌آمیزی انجام گردید (شکل ۱) و نتایج با بررسی تعیین توالی محصولات PCR تأیید شد. فراوانی ژنوتیپ و آلل‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است. بر اساس این جدول، فراوانی آلل del در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P = ۰/۰۱۲$).

جدول ۱. مشخصات جمعیت مورد مطالعه

متغیرها	شاهد (تعداد = ۳۰۹)	مورد (تعداد = ۳۰۰)	مقدار P
سن	۴۲/۷۶ ± ۱۴/۶۵	۴۲/۹۴ ± ۱۴/۶۸	۰/۱۸۹
جنس (زن/مرد)	۱۲۰/۱۸۹	۱۲۱/۱۷۹	۰/۷۰۵
ائوزینوفیل ($۱۰^۳/\mu l$)	۰/۰۸۵ ± ۰/۴۴۶	۰/۲۵۵ ± ۰/۲۹۴	<۰/۰۰۱*
IgE (Immunoglobulin E) سرمی (log۱۰)	۰/۷۷۳ ± ۰/۳۹۰	۱/۷۲۷ ± ۰/۶۵۲	<۰/۰۰۱*
وضعیت مصرف سیگار (خیر/بلی)	۳۳/۲۷۶	۳۰/۲۷۰	۰/۷۸۳

*:وجود اختلاف آماری معنی‌دار

شکل ۱. نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ توسط روش PCR-PAGE (Polymerase chain reaction- polyacrylamide gel electrophoresis)

۱: نشانگر: باند ۲۰۰ bp را نشان می‌دهد، ۲: ژنوتیپ del/del، ۳: ژنوتیپ ins/del، ۴: ژنوتیپ ins/ins، ۵: ژنوتیپ ins/del، ۶: ژنوتیپ ref/del، ۷: ژنوتیپ ref/ins

این نتیجه می‌تواند این آلل را به عنوان یک عامل احتمالی در حفاظت از بیماری آسم معرفی نماید. در مقابل، دو آلل ref (P = ۰/۶۷۹) و ins (P = ۰/۰۵۵) در دو گروه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نشان نداد.

توزیع ژنوتیپی در دو گروه مورد و شاهد با معادله‌ی Hardy-Weinberg سازگاری داشت و فراوانی ژنوتیپ ins/ins (با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱/۳۳۰-۱۰/۰۳۰، OR = ۳/۶۵۲ و P = ۰/۰۱۲) با خطر ابتلا به بیماری آسم ارتباط معنی‌داری نشان داد. این نتیجه حتی پس از تعدیل نسبت خطر (OR یا Odd ratio) با متغیرهای جنس، سن، وضعیت مصرف سیگار، تعداد ائوزینوفیل‌ها در 10^3 µl و IgE log۱۰ تکرار شد (جدول ۳). اما سایر اشکال ژنوتیپی این پلی‌مورفیسم، از خود هیچ اثر خطرساز یا حفاظتی در قبال این بیماری نشان ندادند (P > ۰/۰۵۰).

همچنین آزمون ANOVA و در پی آن آزمون تعقیبی Bonferroni با بررسی مقادیر IgE log۱۰ در فرم‌های مختلف ژنوتیپی پلی‌مورفیسم بیان نمود که مقادیر این متغیر در فرم ins/ins با سایر اشکال تفاوت بسیار معنی‌داری دارد (P < ۰/۰۰۱) (جدول ۴). پس از استفاده از آزمون ANCOVA و تعدیل متغیرهای جنس، سن و وضعیت سیگار، این اختلاف معنی‌دار باقی ماند (P < ۰/۰۰۱) (جدول ۵).

جدول ۲. فراوانی آللی و ژنوتیپی در پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳

فراوانی آللی	شاهد	مورد	نسبت خطر	مقدار P
ins	۱۹۱ (۳۰/۹)	۲۲۰ (۳۶/۷)	۱/۳۸۴ (۰/۹۹۳-۱/۹۲۹)	۰/۰۵۵
del	۴۱۷ (۶۷/۵)	۳۷۲ (۶۲/۰)	۰/۳۲۵ (۰/۱۳۵-۰/۷۷۹)	*۰/۰۱۲
ref	۱۰ (۱/۶)	۸ (۱/۳)	۰/۶۷۹ (۰/۳۱۹-۲/۱۰۵)	۰/۶۷۹
فراوانی ژنوتیپی				
ins/del	۱۷۹ (۵۷/۹)	۱۸۳ (۶۱/۰)	۱/۱۳۶ (۰/۸۸۲-۱/۵۷۰)	۰/۴۴۰
del/del	۱۱۵ (۳۷/۲)	۹۲ (۳۰/۷)	۰/۷۴۶ (۰/۵۳۳-۱/۰۴۵)	۰/۰۸۸
ref/del	۸ (۲/۶)	۵ (۱/۷)	۰/۶۳۸ (۰/۲۰۶-۱/۹۷۲)	۰/۴۳۵
ref/ref	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
ref/ins	۲ (۰/۶)	۳ (۱/۰)	۱/۵۵۱ (۰/۲۵۷-۹/۳۴۵)	۰/۶۳۲
ins/ins	۵ (۱/۶)	۱۷ (۵/۷)	۳/۶۵۲ (۱/۳۳۰-۱۰/۰۳۰)	*۰/۰۱۲

*:وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۳. سطح معنی‌داری تعدیل شده با متغیرهای سن، جنس، سیگار، میزان ائوزینوفیل و log IgE (Immunoglobulin E) در پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳

اشکال ژنوتیپی	نسبت خطر	مقدار P
ins/del	۱/۲۲۶ (۰/۷۲۶-۲/۰۷۲)	۰/۴۴۶
del/del	۱/۰۵۴ (۰/۶۱۸-۱/۷۹۷)	۰/۹۴۷
ref/del	۰/۴۱۶ (۰/۰۴۲-۴/۱۷۸)	۰/۴۵۷
ref/ref	-	-
ref/ins	۰/۹۸۰ (۱/۰۲۶-۴۸/۳۹۰)	۰/۹۶۵
ins/ins	۰/۱۴۶ (۰/۰۲۹-۰/۷۳۳)	*۰/۰۱۹

*:وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۴. ارتباط بین IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در افراد مبتلا به آسم

ژنوتیپ	گروه مورد	مقدار بحرانی (F)	مقدار P
ins/del	۱/۲۵۸ ± ۰/۶۱۰		> ۰/۰۵۰
del/del	۱/۱۱۴ ± ۰/۶۷۲		> ۰/۰۵۰
ref/del	۱/۱۱۰ ± ۰/۷۳۶		> ۰/۰۵۰
ref/ins	۱/۶۷۳ ± ۱/۰۸۳		> ۰/۰۵۰
ins/ins	۲/۱۸۶ ± ۰/۵۸۱	۱۲/۶۹	< ۰/۰۰۱*

*:وجود اختلاف آماری معنی‌دار

جدول ۵. بررسی Covariance تأثیر پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در میزان IgE (Immunoglobulin E) تام سرمی در مبتلایان به آسم

ژنوتیپ	گروه مورد	مقدار بحرانی (F)	مقدار P
ins/del	۱/۲۵۸ ± ۰/۶۱۰		> ۰/۰۵۰
del/del	۱/۱۱۴ ± ۰/۶۷۲		> ۰/۰۵۰
ref/del	۱/۱۱۰ ± ۰/۷۳۶		> ۰/۰۵۰
ref/ins	۱/۶۷۳ ± ۱/۰۸۳		> ۰/۰۵۰
ins/ins	۲/۱۸۶ ± ۰/۵۸۱	۷/۷۹	< ۰/۰۰۱*

*: وجود اختلاف آماری معنی‌دار

بحث

آسم یک اختلال ژنتیکی پیچیده و متأثر از دو عامل محیط و ژنتیک است که نحوه‌ی وراثت آن مشخص نیست و ژن‌های متعددی در ابتلا به آسم مشارکت دارند (۳). اما هنوز هیچ ژن یا پلی‌مورفیسمی به طور ویژه به عنوان مسؤول بیماری‌زایی آسم شناخته نشده است (۱۹). اهمیت مولکول TIM-۱تا جایی است که حتی در درمان آسم مد نظر استه و احتمال می‌رود ملکول ضد TIM-۱ بتواند در درمان‌های نوین ضد آسم به کار گرفته شود (۲۰). به طور کلی، ژن‌های TIM پلی‌مورفیک (چند شکلی) هستند و واکاوی بیشتر ژنوتیپ آن‌ها می‌تواند در فرایند تشخیص و درمان آسم به کار رود (۲۱).

پروتئین‌های TIM عاملی مؤثر در تعیین سرنوشت فعالیت و تمایز سلول‌های T هستند (۲۲) و نیز در تنظیم آسم و آلرژی نقشی مؤثر دارند (۸-۷). به طور خاص، TIM-۱ عامل مهمی در تنظیم، فعال شدن و عملکرد TH۲ است (۱۴). همچنین TIM-۱ به عنوان گیرنده‌ی ویروس هپاتیت A (Hepatitis A virus یا HAV) در میمون و انسان شناخته شده است (۲۴-۲۳).

برخی مطالعات پیشین با نتایج متناقض، به منظور کاوش در ارتباط بین مولکول TIM-۱ و آمادگی دچار شدن به آسم صورت گرفته است (۱۹-۱۸، ۱۶-۱۵، ۸).

در این پژوهش، ارتباط بین پلی‌مورفیسم (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ و آسم در یک جمعیت ایرانی بررسی شد. (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ واقع در دومین شبه موسین خارج سلولی مولکول TIM-۱، می‌تواند تغییراتی در ساختار آمینو-اسیدی این مولکول (۱۵۷ins/del MTTTVP) ایجاد کند و به این شیوه در تنظیم فعالیت مولکول دخیل باشد (۱۷).

مطالعه‌ی حاضر یک ارتباط معنی‌دار بین این پلی‌مورفیسم و بیماری آسم نشان داد؛ به طوری که ژنوتیپ ins/ins می‌تواند احتمال ایجاد بیماری آسم را افزایش دهد و پس از در نظر گرفتن اثرات مخل متغیرهای انتخابی نیز این نتایج برقرار ماند. همچنین بررسی آللی مشخص نمود که آلل del ممکن است یک عامل حفاظتی در قبال بیماری آسم باشد. علاوه بر این، با توجه به یافته‌های مربوط به سطح IgE تام در گروه مورد، پیشنهاد می‌گردد که ژنوتیپ ins/ins می‌تواند در افزایش سطح این آنتی‌بادی در مبتلایان به آسم تأثیرگذار باشد. برخی مطالعات نیز با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشته است. برای نمونه Gao و همکاران ارتباط معنی‌داری میان فرم ۱۵۷ ins/del MTTTVP با ابتلا به آسم مشاهده کردند (۱۸).

همچنین یافته‌های Wu و همکاران در چین با نتایج این مطالعه شباهت دارد و فراوانی ژنوتیپ ins/ins در افراد مبتلا به آسم آتوپیک، به طرز معنی‌داری بالاتر گزارش شده است. میزان IgE تام سرمی نیز شبیه نتایج تحقیق حاضر، در ژنوتیپ ins/ins اختلاف معنی‌داری را نشان داده است (۱۹).

این پلی‌مورفیسم در برخی بیماری‌های دیگر از جمله وجود ارتباط با درماتیت آتوپیک و آرتریت روماتوئید در جمعیت کره و همچنین ارتباط معنی‌دار با آتوپی در افراد HAV^+ نیز بررسی شده است (۲۵، ۱۷، ۱۵). از طرف دیگر، بعضی مطالعات پیشین یافته‌هایی خلاف مشاهدات مطالعه‌ی حاضر پیشنهاد نموده‌اند. برای مثال Chae و همکاران گزارش کردند فراوانی ژنوتیپ‌های (ins/del) ۵۳۹۷-۵۳۸۳ در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد (۱۵). یافته‌های Li و همکاران (۸) در جمعیت Chinese Han و یافته‌های Noguchi و همکاران (۱۶) در جمعیت ژاپن نیز با پژوهش حاضر همخوانی نداشتند.

در مجموع، این یافته‌ها بیانگر ارتباط این پلی‌مورفیسم در بعضی جوامع و عدم ارتباط آن در دیگر جوامع، با خطر ابتلا به آسم است. این تناقض می‌تواند به دلیل تفاوت در زمینه‌ی ژنتیکی جوامع مورد مطالعه، تعداد اندک حجم نمونه در بعضی مطالعات و تأثیر عوامل محیطی باشد. با توجه به اهمیت این پلی‌مورفیسم، بررسی آن در جوامع دیگر نیز پیشنهاد می‌گردد. همچنین مطالعاتی در راستای کشف مسیر دقیق پیام‌دهی این مولکول و عوامل واسطه‌ی مجهول، با هدف چگونگی تأثیر بر بیماری‌هایی چون آسم، ضروری می‌نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و همچنین تمامی کارکنان آزمایشگاه بیمارستان هاجر شهرکرد و نیز استادان گرانقدر گروه ژنتیک و ایمنی‌شناسی علوم پزشکی اصفهان که صمیمانه در اجرای این پژوهش یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. این پژوهش حاصل پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد و هزینه‌های اجرای آن توسط دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین گردید.

References

1. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. Allergy 2004; 59(5): 469-78.
2. Beasley R. The global burden of asthma report. Global Initiative for Asthma (GINA). 2004 [Online]. [cited 2010 Aug]; Available from: http://www.ginasthma.org/
3. Los H, Koppelman GH, Postma DS. The importance of genetic influences in asthma. Eur Respir J 1999; 14(5): 1210-27.
4. Sonar SS, Hsu YM, Conrad ML, Majeau GR, Kilic A, Garber E, et al. Antagonism of TIM-1 blocks the development of disease in a humanized mouse model of allergic asthma. J Clin Invest 2010; 120(8): 2767-81.
5. Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. Nat Rev Immunol 2008; 8(3): 169-82.
6. Holgate ST, Davies DE, Powell RM, Howarth PH, Haitchi HM, Holloway JW. Local genetic and environmental factors in asthma disease pathogenesis: chronicity and persistence mechanisms. Eur Respir J 2007; 29(4): 793-803.
7. McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, Potter M, Kuchroo VK, Barsh GS, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family. Nat Immunol 2001; 2(12): 1109-16.
8. Li JS, Liu QJ, Wang P, Li HC, Wei CH, Guo CH, et al. Absence of association between two insertion/deletion coding genetic polymorphisms of TIM-1 gene and asthma in Chinese Han population. Int J Immunogenet 2006; 33(6): 417-22.
9. Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, et al. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. Science 1994; 264(5162): 1152-6.
10. Postma DS, Bleecker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuysen CI, et al. Genetic susceptibility to asthma--bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. N Engl J Med 1995; 333(14): 894-900.
11. Mukherjee AB, Zhang Z. Allergic asthma: influence of genetic and environmental factors. J Biol Chem 2011; 286(38): 32883-9.
12. Freeman GJ, Casasnovas JM, Umetsu DT, DeKruyff RH. TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity. Immunol Rev 2010; 235(1): 172-89.
13. Umetsu SE, Lee WL, McIntire JJ, Downey L, Sanjanwala B, Akbari O, et al. TIM-1 induces T cell activation and inhibits the development of peripheral tolerance. Nat Immunol 2005; 6(5): 447-54.
14. Lee J, Phong B, Egloff AM, Kane LP. TIM polymorphisms--genetics and function. Genes Immun 2011; 12(8): 595-604.
15. Chae SC, Song JH, Lee YC, Kim JW, Chung HT. The association of the exon 4 variations of Tim-1 gene with allergic diseases in a Korean population. Biochem Biophys Res Commun 2003; 312(2): 346-50.
16. Noguchi E, Nakayama J, Kamioka M, Ichikawa K, Shibasaki M, Arinami T. Insertion/deletion coding polymorphisms in hHAVcr-1 are not associated with atopic asthma in the Japanese population. Genes Immun 2003; 4(2): 170-3.
17. McIntire JJ, Umetsu SE, Macaubas C, Hoyte EG, Cinnioglu C, Cavalli-Sforza LL, et al. Immunology: hepatitis A virus link to atopic disease. Nature 2003; 425(6958): 576.
18. Gao PS, Mathias RA, Plunkett B, Togias A, Barnes KC, Beaty TH, et al. Genetic variants of the T-cell immunoglobulin mucin 1 but not the T-cell immunoglobulin mucin 3 gene are associated with asthma in an African American population. J Allergy Clin Immunol 2005; 115(5): 982-8.
19. Wu Q, Hu L, Cai P, Li Y, Chen F, Kong L. Association analysis of TIM-1 -232G > A and 5383_5397 insertion/deletion polymorphisms with childhood asthma and total serum immunoglobulin E levels in middle China. J Investig Allergol Clin Immunol 2009; 19(2): 146-53.
20. Encinas JA, Janssen EM, Weiner DB, Calarota SA, Nieto D, Moll T, et al. Anti-T-cell Ig and mucin domain-containing protein 1 antibody decreases TH2 airway inflammation in a mouse model of asthma. J Allergy Clin Immunol 2005; 116(6): 1343-9.
21. Meyers JH, Sabatos CA, Chakravarti S, Kuchroo VK. The TIM gene family regulates autoimmune and allergic diseases. Trends Mol Med 2005; 11(8): 362-9.
22. Yeung MY, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantation. Am J Transplant 2011; 11(10): 2012-9.
23. Kaplan G, Totsuka A, Thompson P, Akatsuka T, Moritsugu Y, Feinstone SM. Identification of a surface glycoprotein on African green monkey kidney cells as a receptor for hepatitis A virus.

EMBO J 1996; 15(16): 4282-96.

24. Feigelstock D, Thompson P, Mattoo P, Zhang Y, Kaplan GG. The human homolog of HAVcr-1 codes for a hepatitis A virus cellular receptor. J Virol 1998; 72(8): 6621-8.

25. Chae SC, Song JH, Shim SC, Yoon KS, Chung HT. The exon 4 variations of Tim-1 gene are associated with rheumatoid arthritis in a Korean population. Biochem Biophys Res Commun 2004; 315(4): 971-5.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 08.06.2014
Vol. 32, No. 300, 1st Week, November 2014
Accepted: 02.09.2014

Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383-5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Controls

Hedayatollah Shirzad PhD[1], Rezvan Meshkat MSc[2], Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD[3], Rasuol Salehi PhD[4], Ramin Ghasemi MD[5], Mortaza Hashemzadeh PhD[6], Ali Mosayebian MSc[7], Shahrbanoo Parchami-Barjui MSc[8]

Original Article

Abstract

Background: A member of a T-cell immunoglobulin (Ig) domain and mucin domain (TIM) gene family, TIM-1, in 5q31-33 region is shown to be correlated with development of T helper-2 (TH2) cells and allergic diseases. Polymorphism insertion/deletion (ins/del) of 5383-5397 may affect the length of TIM-1 mucin domain. The aim of this study was to investigate the association of polymorphism insertion/deletion (ins/del) 5383-5397 and susceptibility to asthma in Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran.

Methods: Polymerase chain reaction (PCR) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) were used for investigating the presence of (ins/del) 5383-5397 polymorphism in 300 patients with asthma and healthy controls. Total IgE was measured via the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique in their serum samples as well.

Findings: Significant associations were found between the insertion/insertion genotype in 5383-5397 insertion/deletion polymorphism with both asthma and levels of total serum IgE in patients with asthma ($P < 0.05$). Furthermore, we found that the frequency of the deletion allele is significantly lower in patients with asthma.

Conclusion: Based on these findings, we identified a significant association between 5383-5397 ins/del polymorphism with asthma and with total serum IgE levels in Chaharmahal va Bakhtiari Province population.

Keywords: T-cell immunoglobulin and mucin-domain-containing molecule-1 (TIM-1), Asthma, Polymorphism

Citation: Shirzad H, Meshkat R, Gangalikhani-Hakemi M, Salehi R, Ghasemi R, Hashemzadeh M, et al. **Association Analysis of T-Cell Immunoglobulin and Mucin 1 Gene 5383-5397 Insertion/Deletion Polymorphism with Asthma and Total Serum Immunoglobulin E Levels in Patients with Asthma and Controls.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(300): 1423-32

1- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- Department of Immunology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
3- Assistant Professor, Cellular and Molecular Immunology Research Center AND Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Associate Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Subspecialist in Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran
6- Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
7- Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
8- Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
Corresponding Author: Mazdak Gangalikhani-Hakemi PhD, Email: mghakemi@med.mui.ac.ir