

## بررسی فراوانی و ارتباط پلی مورفیسم $T > C$ ۱۵۴۱-۳-TIM در افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس

فربا مزروعی سبدانی<sup>۱</sup>، دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی<sup>۲</sup>، دکتر رسول صالحی<sup>۳</sup>،  
دکتر فرشته آل صاحب فصول<sup>۴</sup>، دکتر مسعود اعتمادی فر<sup>۵</sup>، دکتر حمید زرکش اصفهانی<sup>۶</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** مولتیپل اسکلروزیس، یک بیماری خود ایمنی ویژه‌ی عضو می‌باشد که حدود ۲/۵ میلیون نفر در سرتاسر جهان به آن مبتلا هستند. عوامل مختلف محیطی و ژنتیک در بروز این بیماری نقش دارند. ژن TIM (T cell immunoglobulin and mucin) از جمله عوامل ژنتیکی می‌باشد که در سال‌های اخیر، نقش آن در بروز بیماری‌های خود ایمنی مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه، بر اساس نتایج مطالعات قبلی در زمینه‌ی ارتباط پلی مورفیسم  $T > C$  ۱۵۴۱-۳-TIM با بروز بیماری آرتریت روماتوئید و با توجه به مکانیسم بیماری‌زایی مشابه دو بیماری آرتریت روماتوئید و مولتیپل اسکلروزیس، با هدف بررسی فراوانی و ارتباط پلی مورفیسم  $T > C$  ۱۵۴۱-۳-TIM در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس در مقایسه با افراد سالم در جمعیت اصفهان انجام شد.

**روش‌ها:** از ۱۴۰ بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس در استان اصفهان به عنوان گروه مورد و ۱۳۸ فرد سالم به عنوان گروه شاهد نمونه‌گیری انجام شد. ژنوتیپ‌های متفاوت  $T > C$  ۱۵۴۱-۳-TIM از DNA استخراج شده با استفاده از تکنیک PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) مورد بررسی قرار گرفت. واکاوی نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

**یافته‌ها:** فراوانی ژنوتیپ CT در افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس، بیشتر از افراد سالم بود و ارتباط معنی‌داری بین  $T > C$  ۱۵۴۱-۳-TIM و بروز بیماری مولتیپل اسکلروزیس در جمعیت اصفهان وجود داشت ( $P = ۰/۰۰۹$ ,  $OR = ۴/۰۸$ ).

**نتیجه‌گیری:** ژن TIM بر روی کروموزوم ۵q۳۳/۲ انسان قرار گرفته است و نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی از جمله آلرژی، تحمل پیوند و بیماری‌های خود ایمنی دارد. این مطالعه، نشان داد که پلی مورفیسم  $T > C$  ۱۵۴۱-۳-TIM با بروز بیماری مولتیپل اسکلروزیس در جمعیت اصفهان در ارتباط می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** ژن T cell immunoglobulin, and mucin، مولتیپل اسکلروزیس، پلی مورفیسم

**ارجاع:** مزروعی سبدانی فربا، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، صالحی رسول، آل صاحب فصول فرشته، اعتمادی فر مسعود، زرکش اصفهانی حمید. **بررسی فراوانی و ارتباط پلی مورفیسم  $T > C$  ۱۵۴۱-۳-TIM در افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۵): ۷۴۶-۷۳۹

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- استادیار، مرکز تحقیقات ایمونولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۵- استاد، گروه بیماری‌های اعصاب، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۶- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mghakemi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مزدک گنجعلی خانی حاکمی

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS یا Multiple sclerosis) یک بیماری خود ایمنی ویژه‌ی عضو و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های التهابی در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد که در آن، سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی، به غلاف میلین سلول‌های عصبی حمله می‌کنند (۱). بر اساس آمار موجود، در حدود ۲/۵ میلیون نفر در سراسر جهان از این بیماری رنج می‌برند (۱). بیماری MS تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی، ژنتیک و تغییرات اپی ژنتیک ایجاد می‌شود (۲). از جمله عوامل محیطی، می‌توان به عفونت‌ها، موقعیت جغرافیایی، وضعیت تغذیه‌ای و تماس با نور خورشید اشاره نمود. عوامل ژنتیک نیز در بروز بیماری MS نقش مهمی دارند (۳).

با استفاده از (Genome-wide association studies) GWAS تا سال ۲۰۱۰ حدود ۶ GWAS برای بیماری MS انجام شده است که در آن‌ها، چندین ژن به عنوان عوامل ژنتیک افزایش دهنده‌ی خطر ابتلا به بیماری MS شناسایی شدند. از جمله می‌توان به پلی مورفیسم در ژن‌های IL-7R، IL-2R، IL-58 و STAT3 اشاره نمود (۳).

ژن T cell immunoglobulin and mucin (TIM) یکی از عوامل ژنتیکی است که در سال‌های اخیر، نقش آن در بروز بیماری‌های مختلف مانند بیماری‌های آلرژیک و بیماری‌های خود ایمنی مورد توجه قرار گرفته است (۴). TIM در انسان شامل سه عضو TIM-1، TIM-3 و TIM-4 روی کروموزوم ۵q۳۳/۲ است که این جایگاه، مرتبط با جایگاه ژن‌های دخیل در آلرژی، آسم و بیماری‌های خود ایمنی می‌باشد (۵). این ژن گلیکوپروتئین سطحی نوع یک را با ساختار

مشابه ایجاد می‌کند (۶) و با تنظیم سلول‌های Th۱ (T helper)، Th۲ و کارگزار، نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی دارند (۷).

الگوی بروز TIM-1، TIM-3 و TIM-4 بر روی سلول‌ها متفاوت است. بنابراین، اثرات متفاوتی را در تنظیم پاسخ‌های ایمنی دارند (۸). در انسان، TIM-1 بر روی لنفوسیت‌های TCD۴<sup>+</sup> (Thermal conductivity detector<sup>۴+</sup>) تمایز یافته به Th۲، بروز می‌یابد و به عنوان یک سیگنال کمک محرک برای فعال شدن این سلول‌ها و تولید سایتوکاین‌های مرتبط عمل می‌کند. همچنین، TIM-1 روی ماست سل‌ها، Invariant natural killer T (iNKT)، زیر گروهی از سلول‌های B و سلول‌های اپی تلیال توبولار کلیوی بارز می‌شود (۸).

مولکول TIM-3 بر روی لنفوسیت‌های Th۱، Tc۱ (T cell) و به میزان کم روی لنفوسیت‌های Th۱۷ بروز می‌یابد و به عنوان یک تنظیم کننده‌ی منفی برای پاسخ ایمنی ایجاد شده توسط این سلول‌ها عمل می‌نماید (۸). همچنین، TIM-3 بر روی سلول‌های ایمنی ذاتی از جمله DCها بروز می‌یابد که باعث فاگوسیتوز سلول‌های آپوپتوز و نیز عرضه‌ی جابه‌جای آنتی‌ژن‌ها می‌گردد (۵).

Galectin-9، یک لکتین نوع S است که بر روی لنفوسیت‌های B، لنفوسیت‌های T، ماست سل‌ها و برخی از سلول‌های غیر ایمنی بارز می‌شود و یکی از لیگاندهای مورد شناسایی توسط TIM-3 به شمار می‌آید (۸)، که با اتصال به TIM-3 می‌تواند باعث مرگ سلول‌ها گردد (۹-۱۰).

مسیر TIM-3-galectin-9 یک تنظیم کننده‌ی مهم پاسخ ایمنی با واسطه‌ی Th۱ و ایجاد تحمل

رسیده بود، در مرحله‌ی RRMS (Relapsing-remitting multiple sclerosis) با حداقل دو عود و بهبودی نسبی یا کامل، با درجه‌ی ناتوانی (Expanded disability status scale) یا EDSS از ۱۰-۰ به عنوان گروه مورد (جدول ۱) و ۱۳۸ فرد سالم غیر حامله، بدون سابقه‌ی بیماری خود ایمن والتهاپی و بدون سابقه‌ی پیوند اعضا که برای اهدای خون به سازمان انتقال خون مراجعه نموده بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. هر دو گروه از نظر سن و جنس همسان‌سازی شدند. این مطالعه، توسط پروتکل کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأیید شد و از همه‌ی افراد شرکت کننده رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ گردید.

از هر فرد به مقدار ۲ cc خون در لوله‌های حاوی EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) (Cinagen Co, Iran) گرفته شد و DNA آن با استفاده از کیت Genomic DNA extraction (Qiagen Inc, Germany) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید.

می‌باشد. عدم کنترل و تنظیم پاسخ‌های ایمنی ایجاد شده توسط لنفوسیت‌های  $Th1$ ، منجر به بروز عوارضی مانند واکنش‌های ازدیاد حساسیت تأخیری (نوع ۴) و همچنین، بیماری‌های خود ایمنی می‌شود (۸).

مطالعات مختلفی در رابطه با نقش تغییر در میزان و الگوی بیان و ردیف نوکلئوتیدی ژن TIM-3 در بروز بیماری‌های مختلف خود ایمنی انجام شده است که نتایج متناقضی را در بر داشته‌اند. از آن جایی که پلی مورفیسم‌های مختلف این ژن می‌تواند بر توانایی اتصال به لیگاند و همچنین مسیرهای پیام‌رسانی درون سلولی و عملکرد لکوسیت‌ها تأثیر بگذارد، بنابراین مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم  $T > 1541C$ -3-TIM با بیماری MS انجام شد.

## روش‌ها

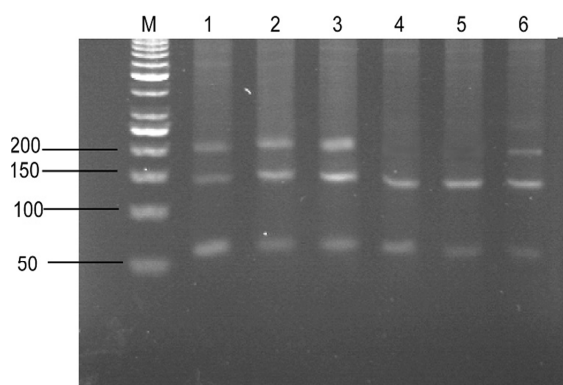
در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی ۱۴۰ بیمار غیر خویشاوند مراجعه کرده به بیمارستان الزهرا (س) اصفهان که بیماری آن‌ها به تأیید متخصص نورولوژی

جدول ۱. اطلاعات توصیفی گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	مقدار P
سن (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	۳۲/۱ $\pm$ ۸/۴	۳۱/۳ $\pm$ ۶/۶	۰/۳۶۰
جنس	مرد	۶۰ (۴۳/۶۶)	۰/۲۰۰
	زن	۷۸ (۵۶/۳۳)	
EDSS	۱	۹۲ (۶۵/۷۰)	-
	۱/۵	۲۴ (۱۷/۱۰)	
	۲	۱۵ (۱۰/۷۰)	
	۳-۵	۹ (۶/۴۰)	
جمع کل	۱۴۰ (۱۰۰)	۱۳۸ (۱۰۰)	

EDSS: expanded disability status score

الکتروفورز محصول RFLP بر روی ژل آگارز ۲ درصد، قطعات ۶۱ bp و ۱۳۸ bp نشانگر ژنوتیپ هموزیگوس CC، قطعه‌ی ۱۹۹ bp ژنوتیپ هموزیگوت TT و قطعات ۶۱ bp و ۱۳۸ bp و ۱۹۹ bp، نشانگر ژنوتیپ هتروزیگوت CT می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج مربوط به PCR-RFLP پلی مورفیسم TIM-3-1541C > T

خط M: DNA ladder ۵۰، ۱، ۲، ۳ و ۶: ژنوتیپ هتروزیگوت CT، ۴ و ۵: ژنوتیپ هموزیگوت CC  
**PCR-RFLP: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism**

به منظور اطمینان از صحت نتایج، چندین نمونه با ژنوتیپ‌های مختلف به صورت تصادفی انتخاب و جهت تعیین توالی به شرکت تکاپو زیست ایران (نماینده‌ی Bioneer; Korea) ارسال شد. نتایج تعیین توالی با نتایج به دست آمده در آزمایشگاه مطابقت داشت.

در این مطالعه نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) به منظور واکاوی نتایج مورد استفاده قرار گرفت. از آزمون  $\chi^2$  جهت مقایسه‌ی توزیع فراوانی سن و جنس و همچنین، مقایسه‌ی توزیع فراوانی آلل و ژنوتیپ‌های

ژنوتیپ  $T > C$  TIM-3-1541C به وسیله‌ی روش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا با استفاده واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و پرایمرهای طراحی شده شامل ۵′-TCCAGCCTGAGGCTCTTGTTT-۳′ و ۵′-ATGCTCATTGTTGTTGGAACAG-۳′، قطعه‌ی ۱۹۹ bp در برگیرنده‌ی پلی مورفیسم مورد نظر تکثیر شد.

واکنش در حجم ۳۰  $\mu$ l حاوی ۳  $\mu$ l از بافر ۱۰X، ۲۰۰  $\mu$ M (Deoxynucleotide triphosphate) از ۰/۵ mM، ۱۵ pmol از هر پرایمر ۰/۵  $\mu$ M dNTP، ۰/۳  $\mu$ l از TaqDNA- Polymerase و ۱۵۰ ng از DNA انجام شد (Cinnagen Co, Iran).

برنامه‌ی PCR توسط دستگاه (Techne Co, UK) به صورت یک مرحله پیش دناتوراسیون در دمای ۹۴ °C به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه شامل ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه و در انتها مرحله‌ی طولیل‌سازی انتهایی در ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه اجرا شد. به منظور اطمینان از صحت انجام PCR، ۵  $\mu$ l از تمامی محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. وجود باندهای ۱۹۹ bp در زیر نور UV (Ultraviolet) نشان از درستی انجام کار بود. رنگ فلورسنت Green viewer (Afratoos, Iran) جهت مشاهده‌ی باندها مورد استفاده قرار گرفت.

پس از اطمینان از صحت واکنش PCR، ۱۰  $\mu$ l از محصول PCR به منظور تعیین ژنوتیپ با ۱  $\mu$ l از آنزیم محدودالانتر BsaI (Fermentas Co., Germany) به مدت ۲ ساعت در ۵۶ °C انکوبه گردید. در

(جدول ۲). این نتایج نشان می‌دهد که پلی مورفیسم  $T > 1541C-3-TIM$  می‌تواند باعث افزایش استعداد ابتلا به بیماری MS گردد. همچنین، در جدول ۳ مقایسه‌ی فراوانی آلل‌ها در دو گروه انجام گرفته است که نشان می‌دهد فراوانی آلل T در گروه مورد بیشتر از گروه شاهد بود؛ همچنین، شانس ابتلا به بیماری در افراد حامل آلل T در مقایسه با افراد فاقد این آلل، ۴ برابر بیشتر بود.

### بحث

مولتیپل اسکلروزیس یک بیماری خود ایمنی ویژه‌ی عضو و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های التهابی در سیستم عصبی مرکزی محسوب می‌شود که در آن، سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی به غلاف میلین سلول‌های عصبی حمله می‌کند و با تخریب و کاهش لیگودندروسیت‌ها و اختلال در هدایت پیام‌های عصبی، مشخص می‌شود (۱۱).

مختلف در دو گروه استفاده شد. جهت بررسی ارتباط پلی مورفیسم  $T > 1541C-3-TIM$  با بیماری مولتیپل اسکلروزیس از آزمون Logistic regression استفاده گردید.  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در این پژوهش ۱۴۰ بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و ۱۳۸ فرد سالم به عنوان گروه‌های مورد و شاهد، مورد مطالعه قرار گرفتند. ویژگی‌های هر دو گروه در جدول ۱ آمده است. هر دو گروه، از نظر سن و جنس همسان‌سازی شدند. توزیع ژنوتیپی در دو گروه مورد و شاهد با معادله‌ی Hardy-Weinberg سازگاری داشت. فراوانی ژنوتیپی در دو گروه از طریق آزمون  $\chi^2$  مقایسه گردید.

فراوانی ژنوتیپ CT با بروز بیماری MS ارتباط معنی‌داری را نشان داد ( $OR = 4/08, P = 0/009$ )

جدول ۲. مقایسه‌ی فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف  $T > 1541C-3-TIM$  در افراد مورد و شاهد

ژنوتیپ	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	مقدار P	OR (CI %۹۵)
CC	۱۲۵ (۸۹/۱۰)	۱۳۴ (۹۷/۱۰)	۰/۰۰۹	۴/۰۸ (۱/۳۲-۱۲/۶۴)
CT	۱۵ (۱۰/۹۰)	۴ (۲/۹۰)		
TT	-	-		
جمع کل	۱۴۰ (۱۰۰)	۱۳۸ (۱۰۰)		

OR: odds ratio; CI: Confidence interval

جدول ۳. مقایسه‌ی فراوانی آلل‌های مختلف  $T > 1541C-3-TIM$  در افراد مورد و شاهد

آلل	گروه مورد تعداد (درصد)	گروه شاهد تعداد (درصد)	مقدار P	OR (CI %۹۵)
C	۲۶۱ (۹۴/۶۰)	۲۷۲ (۹۸/۶۰)	۰/۰۰۹	۴/۰۸ (۱/۳۲-۱۲/۶۴)
T	۱۵ (۱۰/۹۰)	۴ (۲/۹۰)		
جمع کل	۲۷۶ (۱۰۰)	۲۷۶ (۱۰۰)		

OR: odds ratio; CI: Confidence interval

بر روی جمعیت Hui در چین نشان داده است که ژنوتیپ CT با بروز بیماری آرتریت روماتوئید در ارتباط می‌باشد که این نتیجه با نتیجه‌ی به دست آمده در پژوهش حاضر همسو است. این در حالی است که مطالعه بر روی جمعیت Han چین، هیچ گونه ارتباط معنی‌داری را بین این ژنوتیپ با بروز بیماری آرتریت روماتوئید نشان نداد که بر خلاف نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (۱۷).

یافته‌های متناقض می‌تواند در نتیجه‌ی تفاوت‌های نژادی و همچنین عوامل محیطی متفاوت باشد. از آن جایی که مولکول TIM-3 روی سلول‌های  $Th1$ ،  $Th17$ ، ماکروفاژ و سلول‌های دندریتیک بیان می‌شوند و این سلول‌ها در پاتوژنیسیته بیماری‌های خود ایمنی از جمله MS نقش دارند، پس تأثیر جهش در این ژن بر روی بیماری MS دور از انتظار نیست (۱۸). با توجه به این که مکانیسم بیماری‌زایی در مولتیپل اسکلروزیس مشابه با آرتریت روماتوئید می‌باشد، بنابراین در این مطالعه بر آن شدیم تا به بررسی نقش این پلی مورفیسم در بیماری MS بپردازیم.

در مجموع، یافته‌های ما در این پژوهش بیانگر ارتباط بین  $T > C$  TIM-3-1541C با بیماری MS می‌باشد؛ اما مطالعات بیشتر با جمعیت‌های بزرگ‌تر به منظور بررسی دقیق‌تر نقش این ژن در بروز بیماری MS ضروری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد فریبا مزروعی سبدانی به شماره‌ی پایان‌نامه‌ی ۳۹۲۲۶۶ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منابع مالی اجرای آن را

تبادل بین سلول‌های  $Th1/Th2$  در پاسخ‌های ایمنی مهم می‌باشد. مطالعات انجام شده، نقش تعادل  $Th1/Th2$  را در تحریک و تنظیم پاسخ‌های ایمنی اثبات کرده‌اند (۱۲). عوامل مختلفی می‌توانند این تعادل را تحت تأثیر قرار دهند، از جمله ژن TIM که در مطالعات اخیر، نقش آن در تنظیم تعادل سلول‌های  $Th1/Th2$  و در نتیجه، تنظیم پاسخ‌های ایمنی و شکل‌گیری بیماری‌های خود ایمنی مانند مولتیپل اسکلروزیس به اثبات رسیده است و بنابراین می‌تواند به عنوانی هدفی در درمان این گروه از بیماری‌ها نیز مطرح گردد (۱۳-۱۴).

TIM-3 یکی از اعضای خانواده‌ی ژن TIM می‌باشد که در تنظیم پاسخ‌های ایمنی نقش دارد و وجود جهش در ژن آن، ممکن است شکل و عملکرد مولکول را تحت تأثیر قرار دهد و به بروز بیماری‌های خود ایمنی کمک نماید (۱۵-۱۶).

در این مطالعه، فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم  $T > C$  TIM-3-1541C در بیماران مبتلا به MS در مقایسه با افراد سالم و همچنین ارتباط آن با بروز بیماری در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که فراوانی ژنوتیپ CT در بیماران مبتلا به MS بیشتر از افراد سالم می‌باشد و ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ CT با بروز این بیماری وجود دارد ( $OR = 4/08, P = 0/009$ ).

بر اساس جستجوهای در پایگاه‌های علمی معتبر، هیچ گزارشی مبنی بر همبستگی میان پلی مورفیسم ژن TIM-3 با بیماری مولتیپل اسکلروزیس وجود نداشت؛ اما مطالعات اندکی در مورد ارتباط این پلی مورفیسم، با بیماری آرتریت روماتوئید موجود بود که نتایج آن‌ها متناقض می‌باشد. مطالعه‌ی انجام شده

افرادی که در این مطالعه حضور داشته‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

تأمین کرده است. بدین وسیله از جناب آقای شهرام نکوییان و سرکار خانم سهیلا پولادیان و تمامی

## References

- Alatab S, Hossein-nezhad A, Mirzaei K, Mokhtari F, Shariati G, Najmafshar A. Inflammatory profile, age of onset, and the MTHFR polymorphism in patients with multiple sclerosis. *J Mol Neurosci* 2011; 44(1): 6-11.
- Lorentzen AR, Melum E, Ellinghaus E, Smestad C, Mero IL, Aarseth JH, et al. Association to the Glypican-5 gene in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2010; 226(1-2): 194-7.
- Sadovnick AD. Genetic background of multiple sclerosis. *Autoimmun Rev* 2012; 11(3): 163-6.
- Freeman GJ, Casanovas 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.
- Rodriguez-Manzanet R, DeKruyff R, Kuchroo VK, Umetsu DT. The costimulatory role of TIM molecules. *Immunol Rev* 2009; 229(1): 259-70.
- Lee J, Phong B, Egloff AM, Kane LP. TIM polymorphisms--genetics and function. *Genes Immun* 2011; 12(8): 595-604.
- Zhao W, Li Y, Wang Z, Li K, Yang S. Molecular characterization of the porcine TIM-3 gene. *Scand J Immunol* 2011; 73(1): 29-35.
- Yeung MY, McGrath M, Najafian N. The emerging role of the TIM molecules in transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11(10): 2012-9.
- Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* 2005; 6(12): 1245-52.
- Hastings WD, Anderson DE, Kassam N, Koguchi K, Greenfield EA, Kent SC, et al. TIM-3 is expressed on activated human CD4+ T cells and regulates Th1 and Th17 cytokines. *Eur J Immunol* 2009; 39(9): 2492-501.
- Xu G, Cheng L, Lu L, Zhu Y, Xu R, Yao X, et al. Expression of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-1 (TIM-1) is increased in a mouse model of asthma and relationship to GATA-3. *Life Sci* 2008; 82(11-12): 663-9.
- Weinshenker BG. Epidemiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 1996; 14(2): 291-308.
- Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 2003; 8(3): 223-46.
- 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.
- Khademi M, Illes Z, Gielen AW, Marta M, Takazawa N, Baecher-Allan C, et al. T Cell Ig- and mucin-domain-containing molecule-3 (TIM-3) and TIM-1 molecules are differentially expressed on human Th1 and Th2 cells and in cerebrospinal fluid-derived mononuclear cells in multiple sclerosis. *J Immunol* 2004; 172(11): 7169-76.
- Nuchnoi P, Ohashi J, Kimura R, Hananantachai H, Naka I, Krudsood S, et al. Significant association between TIM1 promoter polymorphisms and protection against cerebral malaria in Thailand. *Ann Hum Genet* 2008; 72(Pt 3): 327-36.
- Xu J, Yang Y, Liu X, Wang Y. The -1541 C>T and +4259 G>T of TIM-3 polymorphisms are associated with rheumatoid arthritis susceptibility in a Chinese Hui population. *Int J Immunogenet* 2011; 38(6): 513-8.
- Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature* 2002; 415(6871): 536-41.

## The Frequency of TIM-3-1541C>T Polymorphisms and its Association with Multiple Sclerosis

Fariba Mazrouei<sup>1</sup>, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi PhD<sup>2</sup>, Rasoul Salehi PhD<sup>3</sup>, Fereshteh Ale-Sahebhosoul PhD<sup>4</sup>, Masoud Etemadifar MD<sup>5</sup>, Hamid Zarkesh-Esfahani PhD<sup>6</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Multiple sclerosis (MS) is an organ-specific autoimmune disease in central nervous system, which about 2.5 million people around the world are suffering from it. Various factors including environmental and genetic factors are involved in the incidence of the disease. T cell immunoglobulin and mucin (TIM) gene is one of the genetic factors which recently demonstrated that has critical role in autoimmune diseases. In this study, the frequency and the association of TIM-3-1541C>T polymorphisms with multiple sclerosis disease in Isfahan, Iran, population were investigated.

**Methods:** Blood samples were collected from 140 patients with multiple sclerosis and 138 healthy controls. After DNA extraction, the TIM-3-1541C>T polymorphism was detected via polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) techniques. The results were analyzed with the SPSS<sub>16.0</sub> software package.

**Findings:** The frequency of CT genotype in patients with multiple sclerosis was higher than the control group and there was a significant association between multiple sclerosis and TIM-3-1541C>T polymorphism in Isfahan population (P = 0.009, OR = 4.08).

**Conclusion:** T cell immunoglobulin and mucin gene family (TIM) is located on human chromosome 5q33.2 and play a critical role in regulating immune responses including allergy, transplant tolerance and autoimmunity. This study was done based on the results of previous studies about the association of TIM-3-1541C>T with rheumatoid arthritis, since the mechanisms of pathogenesis of this disease and multiple sclerosis are similar. Our results showed that TIM-3-1541C>T polymorphism is associated with multiple sclerosis in Isfahan population.

**Keywords:** Multiple sclerosis, T cell immunoglobulin and mucin (TIM) gen, Polymorphism

**Citation:** Mazrouei F, Ganjalikhani-Hakemi M, Salehi R, Ale-Sahebhosoul F, Etemadifar M, Zarkesh-Esfahani H. **The Frequency of TIM-3-1541C>T Polymorphisms and its Association with Multiple Sclerosis.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(335): 739-46

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Cellular and Molecular Immunology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Professor, Department of Neurosciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

6- Associate Professor, Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Mazdak Ganjalikhani-Hakemi PhD, Email: mghakemi@med.mui.ac.ir