مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۳۲/هفته‌ی چهارم تیر ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۱۷

بررسی میزان بیان BCL6 در لنفوسیت‌های B +CD38 خون محیطی بیماران مبتلا به نقص ایمنی شایع متغیر (CVID)

فائزه عباسی راد[۱]، مزدک گنجعلی‌خانی حاکمی[۲]، نفیسه اسمعیل[۲]، شکراله فرخی[۳]، رویا شرکت[۴]، رضا یزدانی[۵]، ساناز افشار قاسملو[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نقص ایمنی شایع متغیر (Common variable immunodeficiency یا CVID)، فراوان‌ترین نارسایی ایمنی اولیه از نظر علایم بالینی و مجموعه‌ای ناهمگون از ناهنجاری‌های ایمونولوژیک می‌باشد که اغلب با ویژگی‌هایی مانند کاهش سطح سرمی آنتی‌بادی و نارسایی در پاسخ آنتی‌بادی در برابر عفونت یا واکسن همراه است. این سندرم به صورت اختلال در بلوغ سلول‌های B، جهش سوماتیک، کاهش تعداد سلول‌های B خاطره‌ای گردش خون و کمبود یا فقدان پلاسماسل بروز می‌کند. مولکول B-cell Lymphoma 6 (BCL6)، فاکتور رونویسی مهمی برای تکامل و تکثیر سلول B می‌باشد. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی بیان BCL6 لنفوسیت‌های B +CD38 خون محیطی بیماران مبتلا به CVID بود.

روش‌ها: سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cell یا PBMC) از خون ۱۴ فرد سالم و ۱۴ بیمار مبتلا به CVID پیش از درمان با Intravenous immunoglobulin (IVIG)، با استفاده از شیب چگالی Ficoll جدا شد. سپس سلول‌های B +CD19 با روش ایمونومگنت خالص گردید و بیان BCL6 لنفوسیت‌های B +CD38 با کمک روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیان BCL6 لنفوسیت‌های B +CD38 در بیماران و افراد سالم به ترتیب ۱/۵۱ و ۰/۵۸ درصد بود که این تفاوت طبق تجزیه و تحلیل آماری، معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار در میانگین بیان BCL6 لنفوسیت‌های B +CD38 افراد بیمار نسبت به افراد سالم بود، هرچند میانگین بیان BCL6 این لنفوسیت‌ها در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: لنفوسیت B، پلاسماسل، PBMC، BCL6، لنفوسیت‌های B +CD38

ارجاع: عباسی راد فائزه، گنجعلی‌خانی حاکمی مزدک، اسمعیل نفیسه، فرخی شکراله، شرکت رویا، یزدانی رضا، افشار قاسملو ساناز. **بررسی میزان بیان BCL6 در لنفوسیت‌های B +CD38 خون محیطی بیماران مبتلا به نقص ایمنی شایع متغیر (CVID).** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۳۲): ۶۲۹-۶۳۴

مقدمه

بیماری نقص ایمنی شایع متغیر (CVID یا Common variable immunodeficiency)، از جمله بیماری‌های نارسایی ایمنی اولیه محسوب می‌شود که اغلب کودکان با سن ۵ سال و یا افرادی را که در دهه‌ی دوم و سوم زندگی هستند، درگیر می‌کند (۱) و از نظر فراوانی، دومین نقص ایمنی اولیه‌ی شایع می‌باشد (۲). شیوع بیماری CVID در مردان و زنان یکسان است و فراوانی افراد مبتلا به آن در جمعیت‌های مختلف در محدوده‌ی یک در ۱۰ هزار نفر تا یک در ۵۰ هزار نفر گزارش شده است (۱). تشخیص بیماری CVID بر اساس ناتوانی در تولید آنتی‌بادی اختصاصی بعد از برخورد با آنتی‌ژن،

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی و آلرژی و مرکز تحقیقات پزشکی منطقه‌ی خلیج فارس، مؤسسه تحقیقاتی بیومدیکال خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
۴- دانشیار، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- استادیار، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اولیه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مزدک گنجعلی‌خانی حاکمی
Email: mghakemi@med.mui.ac.ir

کاهش آشکار سطح سرمی Immunoglobulin G (IgG)، IgA و به طور شایع IgM و در سایر عوامل ایجاد کننده‌ی کمبود آنتی‌بادی صورت می‌گیرد (۳). همچنین، در بعضی از بیماران نارسایی‌های در لنفوسیت‌های B، T و سلول‌های دندریتیک گزارش می‌شود (۵-۴). مکانیسم‌های مولکولی درگیر در این بیماری به طور کامل مشخص نیست؛ به طوری که حدود ۹۰ درصد بیماران مبتلا به CVID نقص ژنتیکی ندارند و تنها ۱۰ درصد آنان دچار نقص ژنتیکی در یکی از ژن‌های TACI، ICOS، CD19، CD21 و CD81 هستند. البته علل ناشناخته‌ی دیگری نیز ممکن است در پاتوژنز بیماری دخیل باشد (۶).

نشانه‌های اصلی بیماری CVID شامل کاهش چشمگیر میزان آنتی‌بادی‌های ذکر شده در سرم بیمار، ابتلا به بیماری‌های عفونی مکرر در دستگاه تنفسی و گوارشی و همچنین، افزایش وقوع گرانولوم‌های التهابی، خودایمنی‌ها و تومورهای گوارشی است (۲). به طور کلی، از علل مهمی که در ایجاد بیماری CVID نقش دارد، می‌توان به نقص در فعال شدن، تکثیر و تبدیل شدن سلول B به پلاسماسل اشاره نمود (۶). به‌تازگی مشاهده شده است که در بیماران مبتلا به CVID، رده‌های مختلف بلوغ سلول B نیز دچار نقص می‌شود و بلوغ سلول B در هر رده می‌تواند دچار اشکال گردد. این نقص می‌تواند در رده‌های گذرا (حد واسط)، نابالغ، بالغ، خاطره‌ی تعویض کلاس شده و نشده‌ی سلول B باشد (۸-۷). تعدادکم پلاسماسل و یا عدم وجود پلاسماسل در بیماران مبتلا به CVID مشاهده می‌شود (۱۰-۹). پلاسماسل‌ها از پلاسما بلاست‌ها و به طور کل از سلول‌های B خاطره تمایز می‌یابند. پلاسماسل‌های با نیمه‌ی عمر طولانی، منبع آنتی‌بادی‌های حفاظتی می‌باشند (۱۱). پلاسما بلاست‌های خون محیطی شامل IgM، $CD38^{++}$، $CD27^{++}$ و $CD19^{+}$ هستند. لازم به ذکر است که مولکول CD38 به مقدار زیادی روی پلاسماسل‌ها و سلول‌های T و B فعال و به مقدار کمتر روی سلول‌های B گذرا بیان می‌شود و در فعالیت لنفوسیت‌ها و برقراری اتصال و متابولیسم آن‌ها نقش دارد (۱۲).

مطالعات گذشته وجود یک شبکه‌ی ژنی تنظیم کننده‌ی تمایز سلول B به پلاسماسل را نشان داده‌اند. از جمله گروه‌های تنظیم کننده، فاکتورهای رونویسی هستند که در دو دسته‌ی آنتاگونیستی قرار می‌گیرند؛ دسته‌ی اول آن‌هایی که موجب پیشرفت و حفظ سلول B هستند و شامل B-cell Lymphoma 6 (BCL6)، PAX5 و BACH2 می‌باشند و دسته‌ی دوم آن‌هایی که پیش برنده و تسهیل کننده‌ی تمایز سلول B به پلاسماسل هستند و شامل Interferon regulatory factor 4 (IRF4)، X-box binding protein 1 (XBP1) و B-lymphocyte maturation promoting-1 (BLIMP-1) می‌باشند (۱۴-۱۳). به طور کلی، نقص در هر کدام از این مولکول‌ها می‌تواند باعث نارسایی در تکثیر، فعال شدن یا تمایز به پلاسماسل شود. نقص در بیان برخی از اعضای اصلی تبدیل سلول B به پلاسماسل مانند BCL6 و BLIMP-1 می‌تواند عامل بعضی از تغییرات فنوتیپی در بیماران مبتلا به CVID باشد (۲).

BCL6 فاکتور رونویسی مهمی برای تکامل و تکثیر سلول B می‌باشد و در مطالعات اخیر به عنوان یک عامل انکوژن در لنفوم سلول B انسانی شناخته شده است (۱۳). این فاکتور یک Zinc finger protein و در واقع، یک فاکتور هسته‌ای سرکوبگر است که mRNA آن در بیشتر بافت‌ها یافت می‌شود، اما بیان آن در سطح پروتئینی به لنفوسیت‌ها محدود شده است و بیشترین بیان آن در سنتروبلاست و سنتروسیت مرکز زایا (Germinal center) مشاهده می‌گردد و در صورت وجود نقص در BCL6، مرکز زایایی وجود نخواهد داشت (۲). با کاهش پروتئین‌هایی مانند BCL6 و PAX5، سلول‌های خاطره می‌توانند به پلاسماسل تمایز یابند. مشاهده شده است که این مولکول‌ها در سلول‌های B خاطره وجود ندارد (۱۴) و برای این کاهش، فعال شدن مسیر Mitogen-activated protein kinase (MAPK) به دنبال پیام‌دهی قوی B cell receptor (BCR) ضروری می‌باشد که به دنبال آن BCL6 فسفریله و هدفی برای یوبی‌کوئیتینه شدن (Ubiquitination) می‌شود. در نتیجه‌ی این کاهش و تخریب BCL6، خروج سلول B از مرکز زایا آغاز می‌گردد و به دنبال آن مراحل تمایز به سمت پلاسماسل و ایجاد سلول‌های خاطره پیش می‌رود (۱۴، ۷). همچنین، استیله شدن BCL6 در مرکز زایا موجب غیر فعال کردن آن در این ناحیه می‌شود (۷).

تلاش‌های متعددی جهت شناسایی عوامل برانگیزاننده‌ی این بیماری صورت گرفته است، اما درمان کارامدی برای آن وجود ندارد. از طرف دیگر، پیشرفت‌های جالب توجه در زمینه‌ی روش‌های درمانی مولکولی (ژن درمانی) در سال‌های اخیر، افق‌های تازه‌ای را برای شناسایی ژن‌ها و پروتئین‌های مؤثر در ایجاد بیماری و استفاده از آن‌ها برای درمان بیماری‌هایی که تاکنون درمان قطعی نداشته‌اند، پیش رو قرار داده است. با توجه به این که در بیماران مبتلا به CVID نقص در تکامل و تمایز سلول B به پلاسماسل وجود دارد و این که یکی از گزینه‌های احتمالی علت بروز این بیماری، نقص در مولکول‌های درگیر در سلول‌های B جهت تکثیر، بقا و تمایز سلول B به پلاسماسل از جمله BCL6 است؛ از این‌رو، بررسی این مولکول در این بیماران می‌تواند در شناخت علت بیماری کمک کننده باشد. شایان ذکر است که بر اساس جستجوی منابع مختلف، به نظر می‌رسد که تاکنون میزان بیان این فاکتور نسخه‌برداری در خون محیطی بیماران مبتلا به CVID بررسی نشده است. بنابراین، برای نخستین بار تصمیم گرفته شد این فاکتور در تحقیق حاضر بررسی گردد. چنانچه نقص این مولکول در ایجاد علایم بیماری مورد تأیید قرار گیرد و نقش

آن‌ها در ایمونوپاتوژنز بیماری اثبات شود، در آینده می‌توان از نتایج به دست آمده به منظور تشخیص یا درمان بیماری استفاده نمود.

روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی بود و به منظور انجام آن، ۱۴ بیمار مبتلا به CVID به عنوان گروه مورد و ۱۴ فرد سالم به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. تشخیص بیماری CVID توسط پزشک متخصص با توجه به معیارهای انجمن نقص ایمنی اروپا (European Society for Immunodeficiencies یا ESID) انجام گرفت و شامل کاهش محسوس در سطح IgG و کاهش مشخص در حداقل یکی از ایزوتایپ‌های IgM یا IgA، شروع نقص ایمنی بعد از دو سالگی، فقدان ایزوهماگلوتینین، پاسخ ضعیف به واکسیناسیون و کنار گذاشتن افراد مبتلا به هایپوگاماگلوبولینمیا بود (۹). به دلیل این که تمام بیماران با Intravenous immunoglobulin (IVIG) تحت درمان بودند، نمونه‌گیری ۴-۳ هفته بعد از تزریق IVIG (قبل از تزریق نوبت بعدی) در بخش دی‌کلینیک بیمارستان الزهرای (س) اصفهان، پس از اخذ رضایت‌نامه‌ی کتبی، انجام شد. پس از همسان‌سازی گروه‌های مورد و شاهد از لحاظ سن و جنسیت، ۱۴ نمونه خون نیز از افراد سالم جمع‌آوری گردید که هیچ کدام از افراد گروه شاهد، عفونت مکرر و همچنین، نقص ایمنی اولیه و ثانویه نداشتند.

خون‌گیری و جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cell یا PBMC): در ابتدا ۱۰ سی‌سی خون از افراد گروه‌های مورد و شاهد گرفته شد و به سرعت به ویال‌های حاوی Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) منتقل گردید و در حداقل زمان ممکن پس از نمونه‌گیری، برای جداسازی PBMC مورد استفاده قرار گرفت. افراد گروه شاهد کسانی بودند که سابقه‌ی هیچ‌گونه عفونت‌های تنفسی یا گوارشی مکرر و بیماری‌های نقص ایمنی نداشتند. جهت جداسازی PBMC، از روش شیب چگالی Ficoll، ۱/۰۷۷ استفاده گردید و سپس PBMCها دو بار با محلول Phosphate buffered saline (PBS) شستشو داده شد و در پایان ۱ میلی‌لیتر از PBS به ته‌نشین لوله اضافه گردید و به صورت سوسپانسیون درآمد.

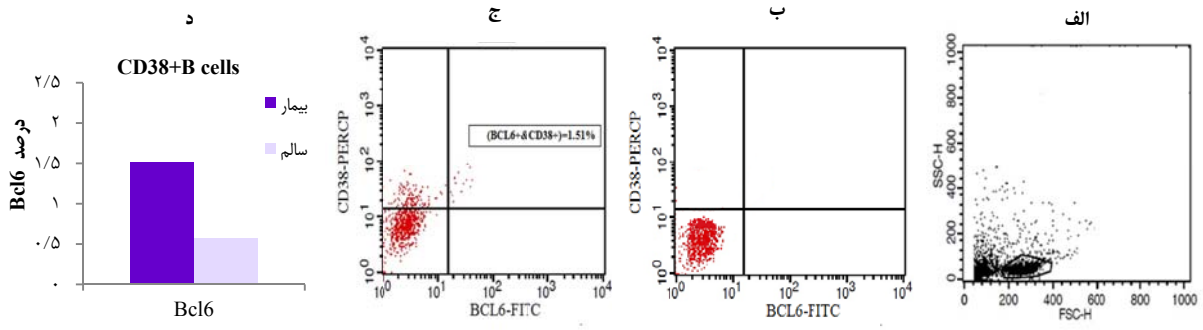
ایمونومگنتیک: از این روش برای جداسازی سلول‌های B از خون کامل استفاده شد. این روش جداسازی، بازده بسیار بالایی دارد و جمعیت سلول‌های جدا شده، دارای خلوص و دوام بالایی می‌باشند. ستون‌های ایمونومگنت آهنربایی (شرکت Miltenyi Biotec، آلمان) با استفاده از Anti-CD19 متصل به براده‌های آهن، به هنگام گذر PBMC لنفوسیت‌های B جداسازی شدند (مراحل کلی طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت).

تحریک و کشت سلول‌های B: سلول‌های B جدا شده در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI1640) با ۱۰ درصد Fetal bovine serum (FBS) و ۱ درصد پنی‌سیلین کشت داده شد و جهت تحریک و افزایش بیان پروتئین مورد نظر، ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر Anti-CD40 (شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر Anti-IgM (شرکت BioLegend، آمریکا) به آن افزوده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به همراه ۵ درصد دی‌اکسید کربن نگهداری گردید.

فلوسایتومتری: رنگ‌آمیزی لنفوسیت‌های B خون محیطی با استفاده از آنتی‌بادی‌های anti-CD38-PerCP (eBioscience) و anti-BCL6-FITC (Santa Cruz) انجام گرفت و جهت حذف اتصالات غیر اختصاصی، آنتی‌بادی‌های هم‌رده (ایزوتایپ) با آنتی‌بادی‌های فلورسنت مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، از سرم بز به منظور مسدود کردن گیرنده‌های غیر اختصاصی در سطح سلول‌های B استفاده گردید. روش فلوسایتومتری با دستگاه BD FACSCalibur صورت گرفت و داده‌ها در نرم‌افزار CellQuest تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

تشخیص انواع شایع بیماری‌های نقص ایمنی مانند کمبود انتخابی IgA، CVID و بروتون، بر اساس معیارهای بالینی و آزمایشگاهی صورت می‌گیرد. از این‌رو، شناسایی و بررسی مولکول‌های درگیر در پیشبرد این بیماری‌ها، به شناخت و درمان بهتر آن‌ها کمک می‌کند. بدین منظور، در مطالعه‌ی حاضر میزان بیان پروتئین BCL6 با استفاده از روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت. میانگین درصد BCL6 لنفوسیت‌های B +CD38 خون محیطی گروه‌های شاهد و مورد محاسبه شد. در پژوهش حاضر، ۶ زن و ۸ مرد مراجعه کننده به بخش دی‌کینیک مرکز آموزشی- درمانی بیمارستان الزهرای (س) اصفهان به عنوان گروه مورد و ۶ زن و ۸ مرد سالم به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سنی گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب ۵/۷۴ ± ۲۱/۸۰ و ۵/۳۴ ± ۲۲/۶۰ سال بود و دو گروه از نظر سن همخوانی داشتند. داده‌ها با استفاده از آزمون Mann-Whitney جهت مقایسه‌ی گروه‌های شاهد و مورد تجزیه و تحلیل گردید و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. یافته‌ها نشان داد که درصد متوسط سلول‌های B خون محیطی در گروه شاهد ۰/۵۸ درصد و در گروه مورد ۱/۵۱ درصد بود که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$) (شکل ۱).



شکل ۱. اندازه‌گیری میزان بروز BCL6 (B-cell Lymphoma 6) در لنفوسیت‌های CD38+ B با استفاده از روش فلوسایتومتری در سلول‌های جدا شده با ایمونومگنت

انتخاب لنفوسیت‌های B در نور پراکنده به جلو (Forward scatter یا FSC) و نور پراکنده به جانب (Side scatter یا SSC) (قسمت الف)، مشخص شدن جمعیت منفی با استفاده از ایزوتایپ کنترل (قسمت ب)، تعیین میانگین درصد لنفوسیت‌های CD38+ B بروز دهنده‌ی BCL6 با فراوانی ۱/۵۱ درصد (قسمت ج) و مقایسه‌ی میزان بروز BCL6 در جمعیت لنفوسیت‌های CD38+ B بیماران در مقایسه با افراد سالم که از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$) (قسمت د).

بحث

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی میزان بیان BCL6 لنفوسیت‌های CD38+ B خون محیطی بیماران مبتلا به CVID و افراد سالم بود. بیماری CVID از جمله بیماری‌های نقص ایمنی اولیه است که با کاهش سطح ایمونوگلبولین‌های سرمی و پاسخ ایمنی هومورال و افزایش عفونت‌های مکرر دستگاه تنفسی و گوارشی همراه است (۲). این بیماری شایع‌ترین نقص ایمنی اولیه از نظر بروز علایم بالینی می‌باشد که دلایل بنیادی آن هنوز ناشناخته باقی مانده و مجموعه‌ای از شرایط ناهمگن است که با کمبود آنتی‌بادی اولیه (هایپوگاماگلوبولینمیا) از حداقل دو ایزوتایپ ایمونوگلوبولین به همراه اختلال در مراحل مختلف بلوغ سلول B شناخته می‌شود (۳). از ویژگی‌های بیماری‌شناختی مهم بیماران CVID، کاهش تعداد لنفوسیت‌های B در مراحل مختلف بلوغ به خصوص کاهش در سلول‌های B خاطره‌ی تعویض کلاس شده و پلاسماسل‌های خون محیطی می‌باشد (۲).

با توجه به نتایج مطالعات گذشته، فقدان و یا کاهش پلاسماسل در ۹۴ درصد بیماران مبتلا به CVID مشاهده می‌شود؛ در حالی که تعداد لنفوسیت‌های CD38+ B خون محیطی در ۹۰ درصد بیماران مبتلا به CVID در محدوده‌ی طبیعی قرار دارد و این امر بیانگر نقص در تمایز نهایی سلول B به سمت پلاسماسل می‌باشد (۱۴، ۹). در جهت شناخت بهتر علل ایجاد این بیماری، بررسی فاکتورهایی مانند BCL6 ضروری به نظر می‌رسد؛ چرا که BCL6 نقش مهمی در مرکز زایا دارد و به ژن‌های زیادی در این ناحیه متصل می‌شود مانند مهار کننده‌های چرخه‌ی سلولی CDKN1A (رمزگذار P21) و Tp53 (رمزگذار p53) که موجب سرکوب آن‌ها و به دنبال آن، تکثیر سلول B می‌شود. یکی از اهداف دیگری که توسط این فاکتور سرکوب می‌شود، فاکتور رونویسی BLIMP-1 می‌باشد که با این کار سبب مهار تمایز سلول B به سمت پلاسماسل می‌شود (۱۳). BCL6 به عنوان اولین سرکوبگر BLIMP-1 شناسایی شده است (۷). IRF8 موجب تقویت بیان BCL6 در مرکز زایا می‌شود و این در حالی است که IRF4 موجب تقویت بیان BLIMP-1 می‌گردد و مهار BCL6 را به دنبال دارد (۱۳). یافته‌های به دست آمده مبنی بر افزایش بیان پروتئین BCL6 و نقش آن در ممانعت از تکامل سلول B به سمت پلاسماسل، نیز نقش BCL6 را در تکامل سلول‌های B بیماران مبتلا به CVID نشان می‌دهد؛ چرا که کاهش تعداد پلاسماسل و در نتیجه، کاهش آنتی‌بادی‌های سرمی در این بیماران مشاهده می‌شود.

نتایج حاصل از فلوسایتومتری مطالعه‌ی حاضر نشان داد که درصد پروتئین BCL6 در لنفوسیت‌های CD38+ B، در بیماران مبتلا به CVID در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، اگرچه میزان بیان این مولکول در بیماران بیشتر از افراد سالم بود. در مطالعه‌ی Taubenheim و همکاران، میزان بیان مولکول‌های BLIMP-1 و BCL6 در غده‌ی لنفاوی بیماران مبتلا به CVID بررسی شد و نه در خون محیطی. در تحقیق آن‌ها، ۳ بیمار مبتلا به CVID در مقایسه با افراد سالم مورد بررسی قرار گرفتند و افزایش بیان پروتئین BCL6 در مراحل ابتدایی تمایز سلول B به سنتروسیت در بیماران مشاهده گردید که با افزایش تکثیر سلول‌های B در این مرحله همراه بود (۲). نتایج مطالعه‌ی Taubenheim و همکاران در غده‌ی لنفاوی دال بر افزایش میزان پروتئین BCL6 (۲)، با نتایج پژوهش حاضر در بررسی این فاکتور در خون محیطی بیماران هم‌راستا بود.

پیشنهاد می‌شود جهت شناخت بهتر این پروتئین، جامعه‌ی آماری گسترده‌تری انتخاب گردد و همچنین، سایر مولکول‌های تأثیرگذار در این

فرایند سیگنالینگ سلول B مانند BLIMP-1 و IRF4 نیز بررسی شود. تلاش‌های متعددی جهت شناسایی عوامل برانگیزاننده‌ی این بیماری صورت گرفته است، اما درمان کارامدی برای آن وجود ندارد. از این‌رو، شناسایی روابط متقابل بین نارسایی‌های ژنتیکی، اختلالات ایمونولوژیک و فنوتیپ بالینی، درک از پاتوژنز این بیماری را بهبود می‌بخشد.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۴۶۶۹، مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد که با حمایت مالی این دانشگاه انجام گردید. بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Kralovicova J, Hammarstrom L, Plebani A, Webster AD, Vorechovsky I. Fine-scale mapping at IGAD1 and genome-wide genetic linkage analysis implicate HLA-DQ/DR as a major susceptibility locus in selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency. J Immunol 2003; 170(5): 2765-75.
2. Taubenheim N, von Hornung M, Durandy A, Warnatz K, Corcoran L, Peter HH, et al. Defined blocks in terminal plasma cell differentiation of common variable immunodeficiency patients. J Immunol 2005; 175(8): 5498-503.
3. Kokron CM, Errante PR, Barros MT, Baracho GV, Camargo MM, Kalil J, et al. Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency. An Acad Bras Cienc 2004; 76(4): 707-26.
4. Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Galicier L, Lepelletier Y, Webster D, et al. Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells. Blood 2004; 104(8): 2441-3.
5. Farrant J, Spickett G, Matamoros N, Copas D, Hernandez M, North M, et al. Study of B and T cell phenotypes in blood from patients with common variable immunodeficiency (CVID). Immunodeficiency 1994; 5(2): 159-69.
6. Schroeder HW, Jr., Schroeder HW 3rd, Sheikh SM. The complex genetics of common variable immunodeficiency. J Investig Med 2004; 52(2): 90-103.
7. Martins G, Calame K. Regulation and functions of Blimp-1 in T and B lymphocytes. Annu Rev Immunol 2008; 26: 133-69.
8. Ahn S, Cunningham-Rundles C. Role of B cells in common variable immune deficiency. Expert Rev Clin Immunol 2009; 5(5): 557-64.
9. Yong PF, Thaventhiran JE, Grimbacher B. "A rose is a rose is a rose," but CVID is Not CVID common variable immune deficiency (CVID), what do we know in 2011? Adv Immunol 2011; 111: 47-107.
10. Jacquot S, Macon-Lemaitre L, Paris E, Kobata T, Tanaka Y, Morimoto C, et al. B cell co-receptors regulating T cell-dependent antibody production in common variable immunodeficiency: CD27 pathway defects identify subsets of severely immuno-compromised patients. Int Immunol 2001; 13(7): 871-6.
11. Geffroy-Luseau A, Jego G, Bataille R, Campion L, Pellat-Deceunynck C. Osteoclasts support the survival of human plasma cells in vitro. Int Immunol 2008; 20(6): 775-82.
12. Mouillot G, Carmagnat M, Gerard L, Garnier JL, Fieschi C, Vince N, et al. B-cell and T-cell phenotypes in CVID patients correlate with the clinical phenotype of the disease. J Clin Immunol 2010; 30(5): 746-55.
13. Nutt SL, Taubenheim N, Hasbold J, Corcoran LM, Hodgkin PD. The genetic network controlling plasma cell differentiation. Semin Immunol 2011; 23(5): 341-9.
14. Kuo TC, Shaffer AL, Haddad J, Jr., Choi YS, Staudt LM, Calame K. Repression of BCL-6 is required for the formation of human memory B cells in vitro. J Exp Med 2007; 204(4): 819-30.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 22.02.2017
Vol. 35, No. 432, 4th Week, July 2017
Accepted: 07.05.2017

Assessment of the Expression Level of B-Cell Lymphoma 6 (BCL6) in Peripheral Blood CD38+ B Lymphocytes in Patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID)

Faezeh Abbasirad[1], Mazdak Ganjalikhani-Hakemi[2], Nafiseh Esmaeil[2], Shokrollah Farrokhi[3], Roya Sherkat[4], Reza Yazdani[5], Sanaz Afshar-Ghasemlou[1]

Original Article

Abstract

Background: Common variable immunodeficiency (CVID), the most common symptomatic primary immunodeficiency, is a heterogeneous set of immunological abnormalities including decreased serum levels of antibodies, and impaired antibody response to infections or vaccination. The syndrome includes impaired B-cell maturation, impaired somatic hypermutation, reduced numbers of circulating memory B cells, and absent or reduced plasma cells. B cell lymphoma 6 (BCL6) is a transcription factor which is important for the evolution and proliferation of B cells. This study aimed to investigate the expression of BCL6 in peripheral blood CD38+ B lymphocytes in patients with CVID.

Methods: Blood samples were collected from 14 patients with CVID under substitutive immunoglobulin (Ig) therapy before immunoglobulin infusion and 14 normal controls. Then, peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated using Ficoll-Hypaque density centrifugation. CD19+ B lymphocytes were purified from PBMCs by positive selection using B-cell isolation kit. Flow cytometery method was employed to determine the expression of the BCL6 in CD38+ B cells.

Findings: The expression of BCL6 in CD38 +B lymphocytes was 1.51% and 0.58% in patients and healthy subjects, respectively; the difference was not statistically significant ($P > 0.05$).

Conclusion: The results showed that there is no significant difference in the mean expression of BCL6 of the CD38+ B cells in patients with CVID, compared with control group. However, the average BCL6 expression of CD38+ B lymphocytes in patients was more than control group.

Keywords: B-lymphocytes, Plasma cells, B-Cell Lymphoma 6, CD38

Citation: Abbasirad F, Ganjalikhani-Hakemi M, Esmaeil N, Farrokhi S, Sherkat R, Yazdani R, et al. **Assessment of the Expression Level of B-Cell Lymphoma 6 (BCL6) in Peripheral Blood CD38+ B Lymphocytes in Patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID).** J Isfahan Med Sch 2017; 35(432): 629-34.

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Immunology and Allergy, The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran
4- Associate Professor, Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Assistant Professor, Primary Immunodeficiency Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Mazdak Ganjalikhani-Hakemi, Email: mghakemi@med.mui.ac.ir