

فقدان ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن مرگ برنامه ریزی شده سلولی ۱ و خطر ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در جمعیت ایرانی

حامد ناقوسی (M.Sc)، سید رضا محبی* (Ph.D)، سید محمدابراهیم طاهائی (M.Sc)، پدرام عظیم زاده (M.Sc)، سارا رومانی (M.Sc)، آرمین حسینی رضوی (M.Sc)، آذر صنعتی (M.D)، افسانه شریفیان (M.D)، محمدرضا زالی (M.D)
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد

چکیده

سابقه و هدف: ویروس هپاتیت B یکی از مهم ترین عوامل ایجاد بیماری های مزمن کبدی در جهان می باشد. در کنار شاخص های ویروسی و ایمونولوژیک، زمینه ژنتیکی میزبان از جمله پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی نیز نقش تعیین کننده ای در مزمن شدن یا پاک سازی عفونت ایفا می کند. پروتئین مرگ برنامه ریزی شده سلولی ۱، یک رسپتور بازدارنده است که در سطح سلول های T اختصاصی ویروس بیان شده و در عفونت های مزمن ویروسی باعث ممانعت از پاسخ سلول های T می گردد. در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی اگزون ۵ ژن مرگ برنامه ریزی شده سلولی ۱ (PD1) و استعداد ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گرفته است. مواد و روش ها: در این مطالعه که به صورت مورد-شاهدی انجام پذیرفت، DNA ژنومیک ۱۶۰ فرد مبتلا به هپاتیت B مزمن و ۱۵۰ فرد شاهد سالم استخراج گردید و ژنوتیپ افراد با روش PCR-RFLP تعیین گردید. یافته ها: فراوانی ژنوتیپ های TT، TC و CC در جای گاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ ژن PD1 به ترتیب ۱۲/۵٪، ۴۰٪ و ۴۷/۵٪ در گروه بیماران و ۱۰/۷٪، ۴۲/۷٪ و ۴۶/۶٪ در گروه شاهد تعیین گردید. هیچ گونه اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه بیمار و شاهد مشاهده نگردید. (شاخص p: ۰/۸۳۲).

نتیجه گیری: هر چند در برخی مطالعات پیشین ارتباط بین این پلی مورفیسم با برخی بیماری های ایمونولوژیک نظیر آرتریت روماتوئید مشاهده شده بود، نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده عدم هم بستگی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی T/C در اگزون ۵ ژن PD1 و استعداد ابتلا به هپاتیت B مزمن در جمعیت ایرانی می باشد.

واژه های کلیدی: هپاتیت B، چند شکلی تک نوکلئوتیدی، اگزون ها، آپوپتوزیس

مقدمه

عفونت حاد هستند ولی در ۵-۱۰ درصد افراد، بیماری به سمت مزمن شدن پیشرفت می کند که در نهایت می تواند به سیروز کبد و کارسینوما سلول های کبدی منتهی گردد. تاکنون دلیل بروز هپاتیت مزمن در افراد به خوبی مشخص نشده است ولی عمل کرد سیستم ایمنی و زمینه ژنتیکی میزبان شامل پلی مورفیسم های نواحی مختلف ژن های دخیل در سیستم ایمنی و سایتوکاین ها به ویژه پلی مورفیسم های تک

عفونت هپاتیت B یک مشکل جهانی است که حدود ۴۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان به صورت مزمن به آن مبتلا می باشند. ویروس هپاتیت B (HBV) ویروسی غیر سایتوپاتیک است که موجب التهاب و نکروز سلول های کبدی فرد مبتلا می گردد. اکثر افراد مبتلا شده به عفونت هپاتیت B پس از مدتی قادر به پاک سازی و حذف ویروس طی روند

آن با بیماری‌هایی نظیر آرتریت روماتوئید، لوپوس اریتماتوس و اسپوندیلیت آنکیلوزان دیده شده است [۱۳]. لذا با توجه به نقش اثرگذار رسپتور PD1 در تنظیم فعالیت سلول‌های T و تأثیر آن در بروز عفونت‌های مزمن ویروسی، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی جای‌گاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ ژن PD1 و احتمال ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در بیماران ایرانی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه با روش مورد-شاهدی و با نمونه‌گیری از ۱۶۰ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن مراجعه‌کننده به بیمارستان آیت‌الله... طالقانی تهران که با آزمایش الایزا برای آنتی‌ژن HBs و آنتی‌بادی ضد HBC ابتلایشان تایید گردیده بود و ۱۵۰ فرد سالم داوطلب انجام پذیرفت. کلیه افراد وارد شده به مطالعه در جریان اهداف طرح تحقیقاتی قرار گرفته و فرم رضایت‌نامه کمیته اخلاق مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی از آن‌ها اخذ گردید.

DNA ژنومیک افراد با روش فنل از ۴ میلی‌لیتر خون محیطی که در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شده بود استخراج شده [۱۴] و تکنیک PCR-RFLP جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد استفاده قرار گرفت. مرحله تکثیر PCR با استفاده از یک جفت پرایمر با توالی‌های درج شده در جدول ۱ که با کمک نرم‌افزار GeneRunner ver. 3.05 (Hasting software inc.) و بخش Primer BLAST سایت مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) طراحی شده بود، صورت گرفت. قطعه‌ای از ژن PD1 شامل جای‌گاه پلی‌مورفیسم اگزون ۵، طی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تحت شرایط زیر تکثیر گردید:

نوکلئوتیدی نقش مهمی در تعیین روند ایمنی‌زایی و سیر بالینی عفونت‌های ویروسی ایفا می‌کنند [۱-۳]. مطالعات نشان داده‌اند که حذف هپاتوسیت‌های آلوده به ویروس توسط لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک (CTL) نقش اصلی را در غلبه بر عفونت حاد هپاتیت B ایفا می‌کند [۴] با این حال در طی روند عفونت مزمن هپاتیت B یک تعادل دینامیک بین تکثیر ویروس و پاسخ ایمنی میزبان برقرار می‌گردد که نقش اصلی را در پاتوژنز بیماری ایفا می‌کند. در بیماران مزمن فعالیت اختصاصی سلول‌های T دچار نقصان می‌شود که پیامد آن پایین آمدن سطح سایتوکاین‌های ضد ویروسی، فعالیت ضعیف لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک و وایرمی پایدار می‌باشد [۵].

پروتئین مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی ۱ (PDCD1)، یک رسپتور ایمنولوژیک می‌باشد که با وزن ۵۵ کیلو دالتون و به صورت ترانس ممبران در سطح سلول‌های B، سلول‌های T فعال و سلول‌های میلوئیدی بیان می‌شود. این رسپتور عضوی از خانواده B7:CD28 بوده که نقش مهمی در تولرانس (تحمل ایمنولوژیک) ایفا نموده و به ویژه در سطح سلول‌های T دچار خستگی کلونال (Exhausted T cell) به میزان بالا وجود دارد و شواهد نشان داده‌اند که بلوکه کردن آن موجب بازیابی فعالیت سلول‌های T می‌گردد [۶-۸].

ژن PD1 بر روی کروموزوم شماره ۲ و در ناحیه q37.3 قرار دارد. تاکنون بیش از ۳۰ جای‌گاه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در نواحی مختلف این ژن شامل پروموتور، اگزون‌ها و اینترون‌ها و ناحیه غیر ترجمه شونده ۳ شناسایی شده [۹] و ارتباط آن‌ها با بروز بیماری‌های مختلف مرتبط با سیستم ایمنی نظیر آرتریت روماتوئید [۱۰]، لوپوس اریتماتوس [۱۱] و دیابت نوع ۱ [۱۲] مطالعه شده است.

یکی از این پلی‌مورفیسم‌ها، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی C/T جای‌گاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ این ژن می‌باشد که همبستگی

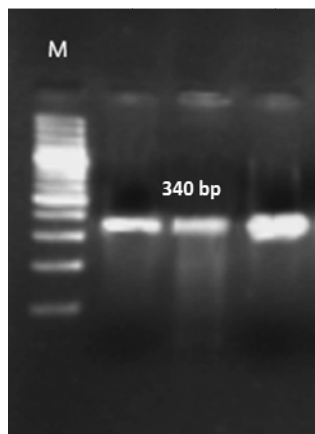
جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR

جهت پرایمر	توالی (5' to 3')	دمای اتصال	درصد G+C
Forward	GGACAGCTCAGGTAAGCAG	60.5	60
Reverse	AAGAGCAGTGTCCATCCTCAG	59.8	52

نتایج

با انجام PCR، محصولی به طول ۳۴۰ جفت باز به دست آمد (شکل ۱). از آنجا که قطعه تکثیر شده واجد دو جایگاه برش آنزیم Alu I می‌باشد که یکی از آن‌ها جایگاه پلی مورفیسم است بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR در افراد هموزیگوت CC دو قطعه ۱۸۱ و ۱۵۹ جفت بازی، در افراد هموزیگوت TT سه قطعه ۱۵۹، ۱۲۷ و ۵۴ جفت بازی و در افراد هتروزیگوت CT هر چهار قطعه ۱۸۱، ۱۵۹، ۱۲۷ و ۵۴ جفت بازی مشاهده گردید (شکل ۲). پس از انجام مراحل آزمایشگاهی، نتایج توزیع ژنوتیپی بین دو گروه مورد و شاهد مقایسه شده و ارتباط میان آن‌ها مورد سنجش قرار گرفت. نتایج تعیین توالی نیز تأییدکننده نتایج حاصل از RFLP می‌باشند (شکل ۳).

فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم جایگاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ ژن PD1 در دو گروه مورد مطالعه TT (۱۲/۵٪)، CT (۴۰/۰٪) و CC (۴۷/۵٪) برای بیماران و TT (۱۰/۷٪)، CT (۴۲/۷٪) و CC (۴۶/۶٪) برای گروه شاهد تعیین گردید. محاسبات آماری نشان داد که مقدار p برابر با ۰/۸۳۲ می‌باشد، از آنجا که بین دو گروه مورد و شاهد از نظر نسبت جنسیت اختلاف معنی‌دار وجود دارد، جهت رفع اثر تداخلی این اختلاف در نتایج از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده گردید که در این حالت شاخص P برابر با ۰/۷۸۱ به دست آمد. (جدول ۲).



شکل ۱. نتایج الکتروفورز محصول PCR سه نمونه. M - مارکر وزن مولکولی (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, Fermentas, Lithuania)

مقدار ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک به مخلوط واکنشی حاوی بافر Taq (۱۰ میلی مولار تریس-کلراید (PH:۹) ۵۰ میلی مولار کلرید پتاسیم، ۰/۱٪ تریتون X-100)، ۲ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (Super Taq، انگلستان)، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP و ۱۰ پیکومول از هر پرایمر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر اضافه گردید و واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (Eppendorf، آلمان) بدین ترتیب انجام پذیرفت: ابتدا واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه از دماهای ۹۴ درجه به مدت ۴۰ ثانیه، ۵۹ درجه به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۴۰ ثانیه انجام پذیرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه سلسیوس جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. محصول PCR نیز به روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز (Roche، آلمان) و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در مقابل نور فرابنفش آشکارسازی شد. پس از آن محصول PCR وارد واکنش هضم آنزیمی به وسیله آنزیم محدودالتر Alu I (Fermentas، لیتوانی) به شرح زیر گردید: ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR به صورت مستقیم به مخلوطی حاوی بافر واکنش (۵۰ میلی مولار تریس-کلراید (PH: ۷/۵)، ۱۰ میلی مولار کلرید منیزیم، ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و ۰/۱ mg/ml سرم آلبومین گاوی) و ۲ واحد آنزیم Alu I در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر اضافه شده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردید. محصول هضم آنزیمی نیز با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ آشکار شد. جهت تأیید نتایج ژنوتایپینگ، ۱۰٪ نمونه‌ها نیز به روش تعیین توالی مستقیم با استفاده از سیستم ABI genetic analyzer 3130xl توالی‌یابی شدند.

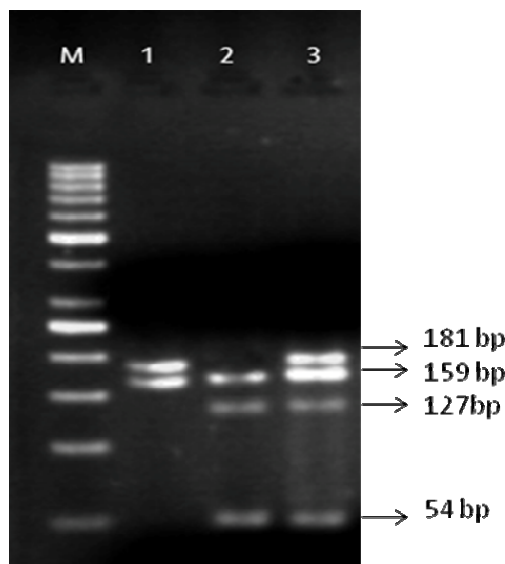
تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ انجام شد و متغیرها بر اساس آزمون مربع کای مورد مقایسه قرار گرفته و مقدار (p-value) p پایین‌تر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

بررسی آماری نتایج حاصله و مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی‌داری بین این دو گروه وجود نداشته و این امر مؤید عدم هم‌بستگی این پلی‌مورفیسم با خطر ابتلا به عفونت مزمن هیپاتیت B در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد.

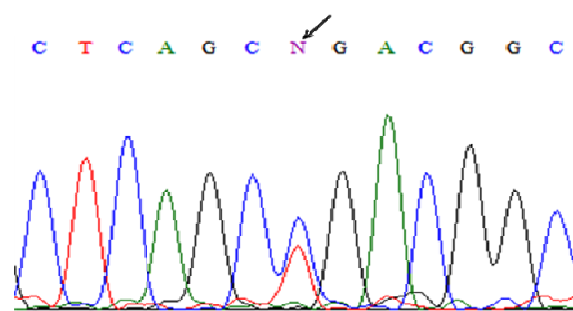
در افراد مبتلا به هیپاتیت B مزمن عمل‌کرد ایمنی سلولی و ایمنی هومورال هر دو دچار نقصان می‌باشد که این امر با استعداد ابتلا به عفونت مزمن در ارتباط است [۱۵] و همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد فاکتورها و عوامل متعددی در استعداد ابتلا به هیپاتیت B مزمن دخیل هستند که هنوز نیز به صورت کامل شناخته نشده‌اند.

رِسپتور PD1 که اولین بار از یک رده سلول‌های T بسیار مستعد به آپوپتوز جداسازی گردید، دارای نقش بازدارندگی تکثیر و فعالیت سلول‌های T و تولید سایتوکاین‌ها می‌باشد، هم‌چنین شواهد زیادی نشان داده‌اند که مسیر سیگنالی وابسته به PD1 در بازدارندگی فعالیت سلول‌های T_{CD8} اختصاصی ویروس در عفونت‌های مزمن ناشی از ویروس‌های مختلف نظیر ویروس نقص ایمنی (HIV)، ویروس هیپاتیت C و ویروس هیپاتیت B نقش مهمی ایفا می‌کند. در خلال عفونت‌های مزمن ویروسی، ژن PD1 به میزان بالایی در سلول‌های T بیان شده و به طور ویژه در هیپاتیت B میزان بیان این پروتئین در حین بروز پاسخ ایمنی ضد ویروسی بالا رفته و پس از پاک‌سازی ویروس پایین می‌آید. یکی از مشخصه‌های عفونت مزمن هیپاتیت B کاهش فعالیت سلول‌های T_{CD8} است که این امر با افزایش بیان PD1 در این سلول‌ها در ارتباط می‌باشد [۵].

همان‌طور که ذکر گردید، ژن PD1 واجد بیش از ۳۰ جای‌گاه پلی‌مورفیسم می‌باشد که تاکنون ارتباط آن‌ها با افزایش خطر ابتلا به برخی از بیماری‌های ناشی از اختلالات سیستم ایمنی در جمعیت‌های مختلف مشاهده شده است. اطلاعات موجود در رابطه با اهمیت مولکول‌های خانواده CD28 در کنترل ایمنی سلولی به صورت روزافزونی در حال افزایش می‌باشد که در این میان مسیر سیگنالی PD1/PD-L



شکل ۲. نتایج الکتروفورز محصول هضم آنزیمی. ۱ - نمونه هموزیگوت CC. ۲ - نمونه هموزیگوت TT. ۳ - نمونه هتروزیگوت CT. M - مارکر وزن مولکولی (GeneRuler 50 bp DNA Ladder, Fermentas, Lithuania)



شکل ۳. توالی جایگاه پلی‌مورفیسم یک فرد با ژنوتیپ هتروزیگوت CT

جدول ۲) فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه مورد مطالعه و شاخص مربوطه P

ژنوتیپ جایگاه	بیمار	شاهد	شاخص P	شاخص P تغییر یافته
TT	تعداد (درصد) ۲۰ (۱۲/۵)	تعداد (درصد) ۱۶ (۱۰/۷)		
CT	تعداد (درصد) ۶۴ (۴۰/۰)	تعداد (درصد) ۶۴ (۴۲/۷)	۰/۷۸۱	۰/۸۳۲
CC	تعداد (درصد) ۷۶ (۴۷/۵)	تعداد (درصد) ۷۰ (۴۶/۶)		

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه ژنوتیپ جمعیتی بالغ بر ۳۱۰ نفر شامل افراد مبتلا به هیپاتیت B مزمن و افراد سالم از نظر پلی‌مورفیسم جای‌گاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ ژن PD1 مورد بررسی قرار گرفت.

به نتایج قابل اطمینان تر و با دامنه وسیع تر، مطالعات گسترده تری بر روی جایگاه‌های مختلف پلی مورف این ژن با تعداد نمونه‌های بیش تر و از گروه‌های مختلف جمعیتی، انجام پذیرد.

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام پذیرفت. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از هم‌کاران محترم بانک DNA مرکز تحقیقات، خانم‌ها شهره الماسی، مهسا خوان‌یغما و هانیه میرطالبی و همچنین سرکار خانم مژده آزاددیسفانی به علت کمک صمیمانه در نگارش این مقاله، تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

- [1] Chisari FV, Ferrari C, Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 29-60.
- [2] Gao QJ, Liu DW, Zhang SY, Jia M, Wang LM, Wu LH, et al. Polymorphisms of some cytokines and chronic hepatitis B and C virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5610-5619.
- [3] Truelove AL, Oleksyk TK, Shrestha S, Thio CL, Goedert JJ, Donfield SM, et al. Evaluation of IL10, IL19 and IL20 gene polymorphisms and chronic hepatitis B infection outcome. *Int J Immunogenet* 2008; 35: 255-264.
- [4] Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV, Matzke B, Schreiber R, Chisari FV. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 1996; 4: 25-36.
- [5] Liang XS, Zhou Y, Li CZ, Wan MB. Natural course of chronic hepatitis B is characterized by changing patterns of programmed death type-1 of CD8-positive T cells. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 618-624.
- [6] Braun-Prado K, Petzl-Erler ML. Programmed cell death 1 gene (PDCD1) polymorphism and pemphigus foliaceus (fogo selvagem) disease susceptibility. *Genet Mol Biol* 2007; 30: 314-321.
- [7] Watanabe T, Bertoletti A, Tanoto TA. PD 1/PD L1 pathway and T cell exhaustion in chronic hepatitis virus infection. *J Viral Hepat* 2010; 17: 453-458.
- [8] Zhang G, Liu Z, Duan S, Han Q, Li Z, Lv Y, et al. Association of polymorphisms of programmed cell death-1 gene with chronic hepatitis B virus infection. *Hum Immunol* 2010; 71: 1209-1213.
- [9] Lv F, Gao YF, Zhang ZH, Zhang TC, Pan FM, Cui MF, et al. Polymorphisms in programmed death-1 gene are not associated with chronic HBV infection in Chinese patients. *World J Hepatol* 2011; 3: 72-78.
- [10] Iwamoto T, Ikari K, Inoue E, Toyama Y, Hara M, Yamanaka H, et al. Failure to confirm association between PDCD1 polymorphisms and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *J Hum Genet* 2007; 52: 557-560.
- [11] Liu JL, Zhang FY, Liang YH, Xiao FL, Zhang SQ, Cheng YL, et al. Association between the PD1.3A/G polymorphism of the PDCD1 gene and systemic lupus erythematosus in European populations: a meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 425-432.
- [12] Nielsen C, Hansen D, Husby S, Jacobsen BB, Lillvang ST. Association of a putative regulatory polymorphism in the PD-1

نقش تعیین‌کننده‌ای در مکانیسم‌های ایجاد تولرانس و بازدارندگی پاسخ ایمنی ایفا می‌کنند [۶] که در این رابطه اهمیت بررسی اثر پلی مورفیسم‌های مختلف این ژن در روند بروز بیماری‌های مختلف مشخص می‌شود. در راستای مطالعه اثر پلی مورفیسم‌های مختلف این خانواده ژنی، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ این ژن نیز در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. این پلی مورفیسم موجب تغییر آمینواسیدی در پروتئین PDCD1 نشده [۱۰] و مکانیسم مولکولی عمل کرد آن نیز تاکنون به خوبی شناخته نشده است. همبستگی این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به آرتریت روماتوئید، بیماری کاواساکی (Kawasaki disease) و دیابت ملیتوس به ترتیب در مطالعاتی که بر روی جمعیت‌های چینی مقیم تایوان، کره و ژاپن انجام شد، مشاهده گردید [۱۰] و [۱۳]. هر چند در بیماری‌هایی نظیر اسپوندیلیت انکیلوزان (Ankylosing spondylitis) در جمعیت کره [۱۶]، پمفیگوس فولیاسوس (Pemphigus foliaceus) در برزیل [۶] و لوپوس اریتماتوس در چین [۱۰] این همبستگی مشاهده نگردید.

در مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد تاکنون ارتباط پلی مورفیسم جایگاه‌های ۷۲۰۹ اینترون ۴ و ۸۷۳۷ ناحیه غیر ترجمه شونده ۳ [۱۷]، ۵۳۱- پروموتور و ۶۴۳۸ اینترون ۲ [۹] با خطر ابتلا به هیپاتیت B مزمن بررسی شده و گزارشی از مطالعه ارتباط پلی مورفیسم جایگاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ این ژن با خطر ابتلا به هیپاتیت B مزمن مشاهده نشده است. در جمعیت ایرانی نیز تاکنون پلی مورفیسم جایگاه‌های ۷۱۴۶ اینترون ۴ و ۷۶۲۵ اگزون ۵ این ژن در ارتباط با بیماری‌های اسپوندیلیت انکیلوزان [۱۸] و اسکروز متعدد (Multiple sclerosis) [۱۹] بررسی شده است.

یافته‌های این مطالعه که به نظر می‌رسد برای اولین بار در نوع خود انجام شده است، نشان‌دهنده عدم همبستگی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه ۷۷۸۵ اگزون ۵ ژن PD1 با افزایش خطر ابتلا به هیپاتیت B مزمن است. با توجه به این که فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این ژن در جمعیت‌ها و نژادهای مختلف، متفاوت می‌باشد، لازم است جهت دستیابی

polymorphism with ankylosing spondylitis in the Korean population. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R163.

[17] Zheng L, Li D, Wang F, Wu H, Li X, Fu J, et al. Association between hepatitis B viral burden in chronic infection and a functional single nucleotide polymorphism of the PDCD1 gene. *J Clin Immunol* 2010; 30: 855-860.

[18] Soleimanifar N, Amirzargar AA, Mahmoudi M, Pourfathollah AA, Azizi E, Jamshidi AR, et al. Study of programmed cell death 1 (PDCD1) gene polymorphisms in Iranian patients with ankylosing spondylitis. *Inflammation* 2011; 34: 707-712.

[19] Ahmadi Shadmehri A, Nicknam MH, Shokrgozar MA, Mahmoudi M, Sarial S, Ahmadi Shadmehri A, et al. Assessment of PD-1 gene variation in patients with multiple sclerosis. *Tehran Univ Med J* 2010; 68: 87-93. (Persian).

gene with susceptibility to type 1 diabetes. *Tissue Antigens* 2003; 62: 492-497.

[13] Chun JK, Kang DW, Yoo BW, Shin JS, Kim DS. Programmed death-1 (PD-1) gene polymorphisms lodged in the genetic predispositions of Kawasaki Disease. *Eur J Pediatr* 2010; 169: 181-185.

[14] Albariño CG, Romanowski V. Phenol extraction revisited: a rapid method for the isolation and preservation of human genomic DNA from whole blood. *Mol cell probes* 1994; 8: 423-427.

[15] Chong WP, To YF, Ip WK, Yuen MF, Poon TP, Wong WH, et al. Mannose binding lectin in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2005; 42: 1037-1045.

[16] Lee SH, Lee YA, Woo DH, Song R, Park EK, Ryu MH, et al. Association of the programmed cell death 1 (PDCD1) gene

Lack of the association between single nucleotide polymorphism in programmed cell death 1 gene and susceptibility to chronic hepatitis B infection in the Iranian population

Hamed Naghoosi (M.Sc), Seyed Reza Mohebbi (Ph.D)*, Seyed Mohammad Ebrahim Tahaei (M.Sc), Pedram Azimzadeh (M.Sc), Sara Romani (M.Sc), Armin Hosseini Razavi (M.Sc), Azar Sanati (M.D), Afsaneh Sharifian (M.D), Mohammad Reza Zali (M.D)

Gastroenterology and Liver Disease Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 1 Jun 2012 Accepted: 12 Jun 2012)

Introduction: Hepatitis B virus (HBV) is one of the most important causative agents of chronic hepatic diseases worldwide. Along with viral and immunological components, host genetic background including single nucleotide polymorphisms (SNPs) has a critical role on chronicity or clearance of infection. Programmed cell death 1 is an inhibitory receptor which is expressed on virus-specific T cells and impairs the T cell response in chronic viral infections. In this research the relationship between a single nucleotide polymorphism of exon 5 of the programmed cell death 1 gene (PD1) and susceptibility to chronic hepatitis B infection in an Iranian population has been studied.

Materials and Methods: In such case-control study, genomic DNA from 160 chronic HBV patients and 150 healthy controls was extracted and genotyping was performed by PCR-RFLP method.

Results: Frequencies of TT, CT and CC genotypes of single nucleotide polymorphism on position 7785 of the exon 5 of PD1 gene were %12.5, %40 and %47.5 in patient group and %10.7, %42.7 and %46.6 in control group, respectively. No statistically significant difference was seen between case and control groups (p value: 0.832).

Conclusion: Although in later studies the relationship between this SNP and susceptibility to some immunological disorders such as rheumatoid arthritis was observed, results of this study suggest that there is no association between PD1 exon 5 C/T single nucleotide polymorphism and susceptibility to chronic hepatitis B in the Iranian population.

Keywords: Exons, Apoptosis hepatitis B, Polymorphism, Single nucleotide

* Corresponding author: Tel: +98 21 22432514; Fax: +98 21 22432527
srmohbbi@gmail.com