مجلهٔ علوم پزشکی مدرس
دورهٔ ۹ ، شمارهٔ ۱: از ۲۵ تا ۳۶
بهار ۱۳۸۵

بررسی ارتباط بین الل‌های ژن HLA-DQB1 با بیماری روماتوئیدآرتریتیس در جمعیت استان خراسان

فرناز شجاع‌طاهری[۱]، مجید صادقی‌زاده[۲*]، جلیل توکل‌افشاری[۳]

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- دکترای ژنتیک مولکولی، دانشیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران ، ایران
۳- دکترای ایمونوژنتیک، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد، پژوهشکده بوعلی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، مشهد، ایران

چکیده

هدف: روماتوئیدآرتریتیس (RA) شایعترین بیماری التهابی مزمن و مخرب مفصلی است که انتشار جهانی دارد و شیوع آن در سطح جهان حدود ۰/۵ تا ۱ درصد می‌باشد. برای تشخیص قطعی بیماری RA در مراحل اولیه بیماری روش آزمایشگاهی مشخصی موجود نمی‌باشد و از آنجا که تشخیص سریع آن بسیار حایز اهمیت است، استفاده از روشهای مولکولی می‌تواند در تشخیص به موقع و دقیق بیماری بسیار مؤثر باشد. با وجود این که هنوز علت اصلی این بیماری خود ایمن شناخته نشده است، ولی فاکتورهای ایمنی‌شناختی و ژنتیکی نقش عمده‌ای در آسیب‌زایی بیماری بازی می‌کنند. با توجه به نقش کلیدی ژنهای مجموعه سازگاری بافتی در بروز بیماریهای خودایمن، در این تحقیق بر آن شدیم تا تنوع اللی ژن HLA-DQB۱ از این مجموعه را بین دو گروه بیمار و سالم مقایسه و بررسی کنیم که آیا الل خاصی از HLA-DQB۱ می‌تواند به عنوان شاخص ژنتیکی بیماری قرار گیرد یا خیر.
مواد و روشها: در این مطالعه از ۲۵ فرد بیمار مبتلا به روماتوئیدآرتریتیس و ۸٦ فرد سالم استفاده شد. DNA ژنومی از خون این افراد به روش غیرآنزیمی رسوب نمکی استخراج و سپس ژنوتیپ HLA با تکنیک PCR-SSP تعیین شد.
نتایج: با مقایسه نتایج به دست آمده بین دو گروه بیمار و کنترل، فراوانی الل‌های HLA-DQ۵ و HLA-DQ۸ در گروه بیمار به ترتیب ٥٦ درصد (۳۱/٤ درصد در گروه کنترل) و ٢٤ درصد (۵/۸ درصد در گروه کنترل) مشاهده شد که نسبت به گروه کنترل، دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. P<۰/۰۵ و به ترتیب ۰/۰۳۳ و ۰/۰۰۷). میزان مخاطره نسبی برای دو الل فوق نیز عددی بزرگتر از ۱ برآورد شد (به‌ترتیب ۲/٦ و ۵/۱).
بحث و نتیجه‌گیری: از آنجا که الل‌های DQ۵ و DQ۸ در بیماران نسبت به افراد سالم بیشتر دیده می‌شوند، می‌توانند در افزایش ریسک ابتلا به بیماری RA در جمعیت خراسانی نقش داشته باشند، از این رو می‌توانند به عنوان یک شاخص مولکولی در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری روماتوئیدآرتریتیس استفاده شوند.

کلید واژگان: HLA، تعیین نوع HLA، PCR-SSP، بیماری آرتریت روماتوئید.

۱- مقدمه

روماتوئیدآرتریتیس (RA)[۱] بیماری مزمن التهابی خود ایمنی است که بیشتر، غشاهای سینوویال مفاصل را درگیر می‌کند. در این بیماری، التهاب در غشای مفاصل با گذشت زمان، می‌تواند موجب تخریب مفاصل و در نتیجه دردهای مزمن، از دست دادن قدرت تحرک و ناتوانی شود. درگیری خارج مفصلی که اندامهای متعددی را درگیر می‌کند نیز، در تعداد بسیاری از بیماران دیده

* **نشانی مکاتبه:** تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، بخش زیست‌شناسی، گروه ژنتیک، تلفن: ۸۸۰۱۱۰۰۱ ، دورنگار: ۸۸۰۰۹۷۳۰
E-mail: Sadeghma@modares.ac.ir
1. Rheumatoid

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

می‌شود. این بیماری بیشتر در میزبانهای مستعد از نظر ژنتیکی، بروز می‌کند و عوامل خارجی مؤثر در پیشرفت بیماری، هنوز ناشناخته‌اند [۱]. این نظریه که بیماری RA می‌تواند پیش زمینه ژنتیکی داشته باشد از مطالعه خانواده‌هایی که بیماری به صورت گروهی در آنان دیده می‌شود و مطالعه دوقلوهای مونوزیگوت[1] و دی‌زیگوت[2] به دست آمده، تحقیقات ژنتیکی نیز مؤید این نظریه است [۲،۱].

روماتوئیدآرتریتیس در سراسر جهان گسترش دارد و در همه نژادها مشاهده شده و یکی از شایعترین بیماریهای مزمن التهابی است [۳]. حدود ۰/۵ تا ۱ درصد از افراد جهان به این بیماری مبتلا هستند. با افزایش سن نیز، میزان ابتلا به آن افزایش می‌یابد، طوری که اوج ابتلا به آن بین دهه‌های پنج و هفت زندگی است. همانند سایر بیماریهای خودایمن میزان شیوع آن در بین زنان، حدود ۲/۵ برابر مردان می‌باشد [٤،۱].

RA یک بیماری هتروژن است و تشخیص دقیق آن در مراحل اولیه بیماری ممکن نمی‌باشد و از آنجا که شاخصهای تشخیصی بیماری RA با بیماریهای دیگری نیز مشترک است، ژنتیک مولکولی و کاربرد آن، می‌تواند در تشخیص بموقع و دقیق بیماری، بسیار مؤثر باشد [٦،٥]. درمان بموقع و تشخیص در مراحل اولیه بیماری، می‌تواند باعث محدود شدن علایم و عوارض بیماری و هزینه‌های ناشی از آن شود [۱].

تلاشهای تحقیقاتی نشان داده‌اند که فاکتورهای ایمنی‌شناختی و ژنتیکی در کنار عوامل محیطی، نقش عمده‌ای را در آسیب‌زایی بیماری بازی می‌کنند [۱].

به نظر می‌رسد شروع بیماری در افرادی که از نظر ژنتیکی مستعد ابتلا به بیماری هستند با برخی آنتی‌ژنهای خاصی که منجر به تحریک لنفوسیت‌های T وابسته به ملکولهای کمپلکس سازگاری نسجی MHC[3] خاصی می‌شوند، مرتبط باشد [٤]. با مطالعات انجام شده روی دوقلوها، نقش این مجموعه ژنی حدود ٤٠ تا ٦٠ درصد تخمین زده شده است [۸،۷]، ریسک ژنتیکی باقیمانده مربوط به تعداد بسیاری لوکوس‌های دیگر است که هر لوکوس بتنهایی نسبت به ژنهای مجموعه MHC نقش بسیار کمتری را داراست [۸].

بر اساس تحقیقات انجام شده نیز، شواهدی مبنی بر ارتباط ژنهای متعددی از HLA با بیماری RA دیده می‌شود [۹]، نقش ناحیه HLA کلاس دو نیز در بروز بیماری RA مورد تحقیق و بررسی قرار دارد [۱۰،٤]. سه ملکول HLA-DP، HLA-DQ و HLA-DR که به‌ترتیب به‌وسیلهٔ الل‌های DPA۱ و DPB۱، DQA۱ و DQB۱ و DRB۱ و DRA در این ناحیه کد می‌شوند

1. Monozygote
2. Dizygote
3. Major Histocompatibility Complex (MHC)

چند شکلی[4] بسیار بالایی داشته و به دلیل فرکانس پایین نوترکیبی بین آنها، بخصوص بین لوکوس‌های HLA-DQB۱ و HLA-DRB۱، دارای پیوستگی ترجیحی[5] بالایی دارند [۱۱]. به دلیل میزان بالای پیوستگی ترجیحی بین این الل‌ها، تعیین میزان نقش هر کدام از آنها در بروز بیماری RA مشکل است. پیوستگی ترجیحی بالا بین این الل‌ها، موجب به‌وجود آمدن هاپلوتایپ‌های[6] استاندارد و معینی بین الل‌های مختلف ژنهای HLA می‌شود [۱۲،۱۱].

اولین بار ارتباط HLA کلاس دو با بیماری RA به‌وسیلهٔ استاستنی[7] در سال ۱۹۷٦ گزارش شد. استاستنی گزارش کرد که الل R٤DW٤ در بیماران مبتلا به RA ، به میزان بسیار زیادی افزایش یافته است [۱٤،۱۳]. از آن زمان مطالعاتی در جمعیت‌های مختلف انجام شده و ارتباط الل DRB1*٠٤٠١ و الل‌های مرتبط با آن با بیماری، بارها گزارش شده و به اثبات رسیده است [۱٥].

در سفیدپوستان شمال آمریکا و شمال اروپا، فراوانی الل‌های HLA-DRB۱*٠٤٠١,*٠٤٠٤ [۱۷،۱٦] و در ترکها و سفیدپوستان آلمان فراوانی الل‌های HLA-DRB۱*٠٤٠١,*٠٤٠٨ در مبتلایان به RA نسبت به افراد سالم بیشتر است [۱۹،۱۸]. تحقیقات انجام شده بر روی جمعیت‌های ژاپنی، چینی، کره‌ای، هندی و اسپانیایی، الل HLA-DRB۱*٠٤٠٥ در بیماران به میزان بیشتری مشاهده شده است [۲۳،۲۲،۲۱،۲۰،۱٥]. با وجود فراوانی پایین الل HLA-DRB۱*٠٩٠١ در جمعیت‌ها، ارتباط این الل با بیماری روماتوئیدآرتریتیس به‌وسیلهٔ واکیتان[8] و همکاران در سال ۱۹۹۸ در جمعیتی از ژاپنی‌ها گزارش شده است [۲٤].

در یهودیان ارتباط این بیماری با الل HLA-DRB۱*٠١٠٢ و در یونانیان[۲٥] و برخی دیگر از جمعیت‌های اسپانیایی و هندی نیز با الل HLA-DRB۱*١٠٠١ مشاهده شده است. در مکزیکی‌های ساکن آمریکا و بومیان آمریکایی نیز الل HLA-DRB۱*١٤٠٢ با بیماری ارتباط دارد [۲۳].

در تحقیقی که ستار[9] و همکاران در سال ۱۹۹۰ انجام دادند، گزارش شد که در اعراب الل DR۳ در بیماران نسبت به افراد سالم به میزان بیشتری دیده می‌شود[۲٦] ولی در مطالعه دیگری که سالها بعد در سال ۲۰۰٤ آل‌سعید[10] و همکاران روی کویتی‌ها انجام دادند ارتباط الل HLA-DRB۱*٠٤ با بیماری مشاهده شد (مقاله در دست چاپ).

در مطالعات انجام شده روی الل‌های مختلف ژن HLA-DRB۱ ارتباط زیرگروههای مختلف الل‌های

4. Polymorphism
5. Linkage Disequilibrium
6. Haplotype
7. Stastny
8. Wakitan
9. Sattar
10. Alsaeid

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

HLA-DR۱, HLA-DR٤ و HLA-DR۱۰ با بیماری RA به اثبات رسیده است و بین تمام این الل‌های مرتبط با بیماری، الل DRB۱*۰٤۰۱ بیشترین و شدیدترین ارتباط را با بیماری دارد [۲۷].

تمام الل‌های HLA-DRB۱ ای مرتبط با بیماری، دارای ساختار مولکولی مشابهی تحت عنوان اپی‌توپ مشترک[1] (SE) هستند که در سال ۱۹۸۷ به‌وسیلهٔ گریگرسن[2] پیشنهاد شد [۲۸].

در کنار الل‌های مذکور، الل‌های HLA-DRB۱*۰٤۰۲,*۱۳۰۱ و *۱۳۰۲ دارای نقش حفاظت‌کنندگی در مقابل بیماری می‌باشند [۲۷و۲۹].

در هر حال مطالعات مختلف در جمعیت‌های گوناگون در زمینه HLA-DRB۱ و استعداد ابتلا به بیماری RA انجام شده است. شواهدی نیز مبنی بر تأثیر الل‌های HLA-DQ بر بروز بیماری RA وجود دارد [۲۷]، از آنجا که در جمعیت ایرانی تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با HLA-DQB۱ انجام نشده، لذا در مطالعه حاضر میزان فراوانی الل‌های ژن HLA-DQB۱ در بیماران مبتلا به روماتوئیدآرتریتیس و مقایسه آن با جمعیت سالم در جمعیت ایرانی- خراسانی بررسی شد. با یافتن ارتباطی معنی‌دار بین زیرگروه خاصی از الل HLA-DQB۱ با بیماری روماتوئیدآرتریتیس می‌توان، داده به دست آمده را به عنوان فاکتوری تشخیصی، محسوب و از آن در تشخیص بیماری و یا پیش‌آگهی در مورد میزان و شدت بیماری استفاده کرد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- نمونه‌گیری

این مطالعه در سال ۸۳-۱۳۸۲ در پژوهشکده بوعلی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده و از نوع مورد- شاهد[3] بوده است. جامعه مورد بررسی، متشکل از ۱۱۱ نفر بود که از این تعداد ۲۵ نفر مبتلا به روماتوئیدآرتریتیس بودند که به بخش روماتولوژی بیمارستان قائم مشهد مراجعه کرده بودند. در مقابل ۸٦ نفر به عنوان کنترل انتخاب شدند این افراد به RA و سایر بیماریهای التهابی مبتلا نبوده و از نظر سن و جنس با گروه مورد مطالعه هماهنگ بودند. افراد مورد مطالعه زیر نظر و با تشخیص پزشک متخصص روماتولوژی و با توجه به شاخصهای جهانی استاندارد تشخیص RA انتخاب شدند. افراد مورد مطالعه از نژاد ایرانی - خراسانی بودند و روش نمونه‌گیری، نمونه‌گیری غیراحتمالی[4] و به طریق نمونه‌گیری آسان[5] بود.

۲-۲- تعیین نوع HLA-DQB۱

از هر فرد در هر دو گروه، به میزان ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته و در داخل لوله‌های حاوی ده درصد EDTA ریخته شد، سپس DNA به روش غیرآنزیمی‌سالتینگ اوت[6] و با استفاده از کیت بیوژن(مشهد- ایران) استخراج گردید [۳۰].

در این تحقیق برای تعیین توالی الل‌های مختلف ژن HLA-DQB۱ از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با پرایمرهای اختصاصی (PCR-SSP)[7] استفاده شد. روش PCR-SSP در تعیین HLA روشی آسان، سریع،حساس و دقیق است. این تکنیک برای تعداد نسبتاً کم نمونه نیز کاربرد دارد. این روش به دلیل ساده، سریع و کم هزینه بودن، در شرایط حیاتی و ضروری مثل پیوند اعضا و تشخیص بیماریها کاربرد بسیاری دارد. PCR با این روش به منظور تعیین تنوع ژنتیکی با دقت بالا انجام می‌شود. در این روش هر جفت پرایمر قادر به شناسایی توالی اختصاصی مربوط به خود می‌باشند. در این روش از چند سری پرایمر استفاده می‌گردد که هر سری برای الل خاصی اختصاصی است و در واکنش PCR ، باعث تکثیر آن الل خاص می‌شود. این پرایمرها را اولین‌بار آلدنر[8] و اولروپ[9] در سال ۱۹۹٤ طراحی کردند [۳۱]. زیرگروه HLA-DQB۱*۰۵۰۱ الل مرجع می‌باشد و توالیهای سایر الل‌ها بر اساس تغییرات در حد چند نوکلئوتید در این توالی مرجع می‌باشند (پلی‌مورفیسم ژنی). شماره دستیابی توالی ژن HLA-DQB۱*۰۵۰۱ در سایت NCBI NCBI به شرح زیر است: Human HLA-DQB۱*۰۵۰۱: L۳٤۱۰۱ با استفاده از نرم‌افزار Generunner (نگارش ۳/۰۲ کمپانی Hasting software) مجدداً پرایمرها با توالیهای مورد نظر کنترل شدند.

در این روش ۷ الل از الل‌های ژن HLA-DQB1 به‌وسیلهٔ پرایمرهای اختصاصی در ۸ واکنش متمایز PCR قابل شناسایی است. الل‌های قابل شناسایی در این روش الل‌های *۰۳۰۵- *۰۳۰۱- *۰۲۰۱- *۰٦۰۹-*۰٦۰۱-*۰۵۰٤- *۰۵۰۱ HLA-DQB۱ و *۰۲۰٤-*۰٤۰۱می‌باشند. الل‌های DQB۱ ای که بر اساس خصوصیات سرم‌شناسی DQ٤، DQ۵ و DQ٦ نامیده می‌شوند هر کدام با یک واکنش PCR و الل‌های DQ۲، DQ۷، DQ۸ و DQ۹ هر کدام با دو واکنش PCR مجزا از هم، قابل تکثیر می‌باشند. برای مثال افراد ثبت از نظر دارا بودن الل DQ۲ در دو واکنش PCR مربوط به الل‌های DQ۲ و DQ۲,۸ باید دارای باند باشند [۳۲] [جدول۱ و ۲].

1. Shared Epitope
2. Gregersen
3. Case-Control study
4. Non probability Sampling
5. Convenient Sampling
6. Salting out
7. PCR Sequence Specific Primer
8. Aldner
9. Olerup

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

جدول ۱ مشخصات پرایمرهای استفاده شده در واکنش PCR-SSP برای تعیین الل‌های ژن HLA-DQB

شماره	نام پرایمر	توالی ۵َ ⇐ ۳َ	Tm (۰c̊)	طول قطعه
۱	۵۰۱LL	GAC-GGA-GCG-CGT-CCG-GGG	٦٦	۱۸
۲	۳۱۵	TGC-AGG-ATC-CCG-CGG-TAC-G	٦٤	۱۹
۳	۵۰۹LL	GGG-ACG-GAG-CGC-GTG-CGT-TA	٦٨	۲۰
٤	۳۱۶	CTG-CAA-GAT-CCC-GCG-GAA-CG	٦٦	۲۰
۵	۵۰۸LL	GGG-ACG-GAG-CGC-GTG-CGT-CT	۷۰	۲۰
٦	۳۰۶L	TGC-AGG-ATC-CCG-CGG-TAC-C	٦٤	۱۹
۷	۵۰۷	GTG-CGT-CTT-GTG-AGC-AGA-AG	٦٢	۲۰
۸	۳۰۷L	TGC-AAG-GTC-GTG-CGG-AGC-T	٦٢	۱۹
۹	۵۱۵LL	GTG-CTA-CTT-CAC-CAA-CGG-GAC-C	۷۰	۲۲
۱۰	۳۰۸L	GCT-GTT-CCA-GTA-CTC-GGC-GG	٦٦	۲۰
۱۱	۳۰۹LL	CCA-GTA-CTC-GGC-GTC-AGG-CG	٦٨	۲۰
۱۲	۳۰۹LV	CAG-TAC-TCG-GCG-GCA-GGC-G	٦٦	۱۹
۱۳	۳۰۹L	CAG-TAC-TCG-GCG-TCA-GGC-G	٦٤	۱۹
۱٤	۵۱۶	GCC-GCT-GGG-GCC-GCC-TGA	٦٦	۱۸
۱۵	۳۱۱LL	CTG-GTA-GTT-GTG-TCT-GCA-TAC-G	٦٦	۲۲

جدول۲ مشخصات قطعات تکثیری با پرایمرهای مختلف برای الل‌های مختلف خانواده HLA-DQB۱

طول قطعه محصول (جفت‌باز)	ژنوتیپ HLA-DQB۱	الل HLA-DQB۱	نام پرایمرها	مخلوط پرایمری برای
۲۰٦	۰۲۰۱	DQ۲	۵۰۷,۳۰۷L	DQ۲ alleles
۲۱۱	۰٤۰۱,۰٤۰۲	DQ٤	۵۱۵LL,۳۱۱LL	DQ٤ alleles
۲۱٦	۰۵۰۱-۰۵۰٤	DQ۵	۵۰۱LL,۳۱۵	DQ۵ alleles
۲۱۸,۲۱۹	۰٦۰۱-۰٦۰۹	DQ٦	۵۰۹LL,۵۰۸LL,۳۱٦,۳۰٦L	DQ٦ alleles
۱۲٦	۰۳۰۱,۰۳۰٤	DQ۷	۵۰۹LL,۳۰۹LL,۳۰۹LV	DQ۷ alleles
۱۳۲,۱٤۷	۰۲۰۱,۰۳۰۲,۰۳۰۵	DQ۲,۸	۵۰۸LL,۵۱۵LL,۳۰۸L	DQ۲,۸ alleles
۱۲۵,۱٤۰	۰۳۰۲,۰۳۰۳,۰۳۰۵	DQ۸,۹	۵۰۸LL,۵۱۵LL,۳۰۹L	DQ۸,۹ alleles
۱۲۳	۰۳۰۱,۰۳۰۳	DQ۷,۹	۵۱٦,۳۰۷L	DQ۷,۹ alleles

در کل در این تحقیق از ۱۵ پرایمر برای شناسایی الل‌های ژن HLA-DQB۱ استفاده شد و در نهایت محصولات PCR برروی ژل آگارز ۱/۵ درصد بررسی شدند (IMAGO, B&L system).

در این مطالعه برای حذف جوابهای منفی کاذب به علت عدم انجام صحیح PCR، از کنترل داخلی β-actin در هر واکنش PCR استفاده شد. این ژن از ژن‌های‌هاوس‌کیپینگ[1] است که در همهٔ سلولها بیان می‌شود.

[شکل۱ نمونه‌ای از PCR مربوط به الل‌های DQ۲ و DQ۸ و ارزیابی آن بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ با کنترل داخلی β-actin می‌باشد].

۲-۳- آنالیزهای آماری

تحلیل آماری داده‌ها به‌وسیلهٔ تستهای آماری مجذور کای و فیشر[2] انجام گرفت. نتایجی که P-Value در آنها کمتر از ۰/۰۵ محاسبه گردید، از نظر آماری دارای ارزش می‌باشند. اندازه‌گیری میزان ارتباط الل‌های HLA-DQB۱ با بیماری روماتوئیدآرتریتیس از نظر آماری، با تعیین میزان مخاطره نسبی (RR)[3] که در سال ۱۹۹۵ ، ولف[4] مطرح کرد نیز انجام‌گرفت [۳۳].

1. Housekeeping

2. Chi square and Fisher's exact
3. Relative Risk
4. Woolf

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

۳- نتایج

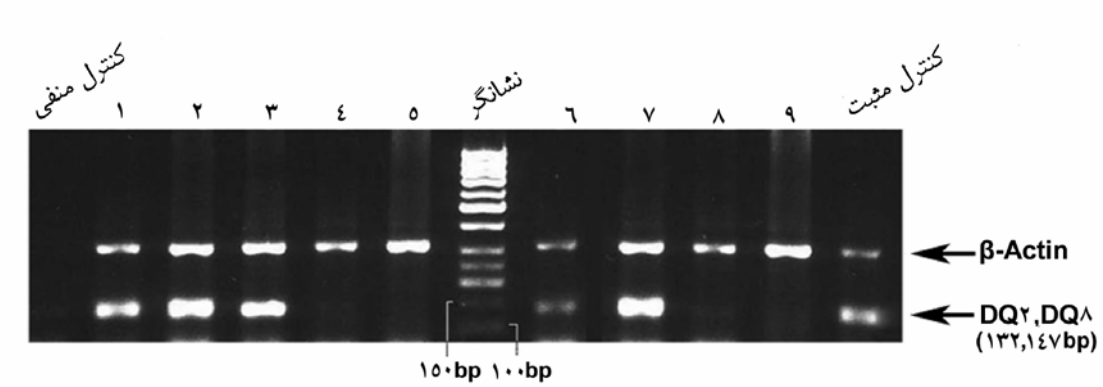
با استفاده از آزمون مجذور کای، اختلاف میانگین بین الل‌ها در دو گروه کنترل و بیمار، بررسی شد. با توجه به نتایج به دست آمده، الل‌های HLA-DQ۵(*۰۵۰۱-*۰۵۰٤) و HLA-DQ ۸(*۰۳۰۲-*۰۳۰۵) در بیماران مبتلا به RA نسبت به افراد سالم با اختلاف معنی‌داری، بیشتر دیده شدند و P-value در آنها به ترتیب (P=۰/۰۳۳) و (P=۰/۰۰۷) شد.

همچنین RR برای این الل‌ها به ترتیب ۲/٦٤ برای الل DQ۵ و ۵/۱۱٦ برای الل DQ۸ محاسبه شد. در این حالت RR>۱ است که این نیز نشان‌دهنده نقش مثبت این الل‌ها در بروز بیماری است [جدول ۳].

تفاوت چشمگیری در فراوانی سایر الل‌ها بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد [شکلهای ۲ تا ۸ نمونه‌ای از الکتروفورز مربوط به الل‌های DQ۲، DQ٤، DQ۵، DQ٦، DQ۷، DQ۸, ۹، DQ۷, ۹ می‌باشد].

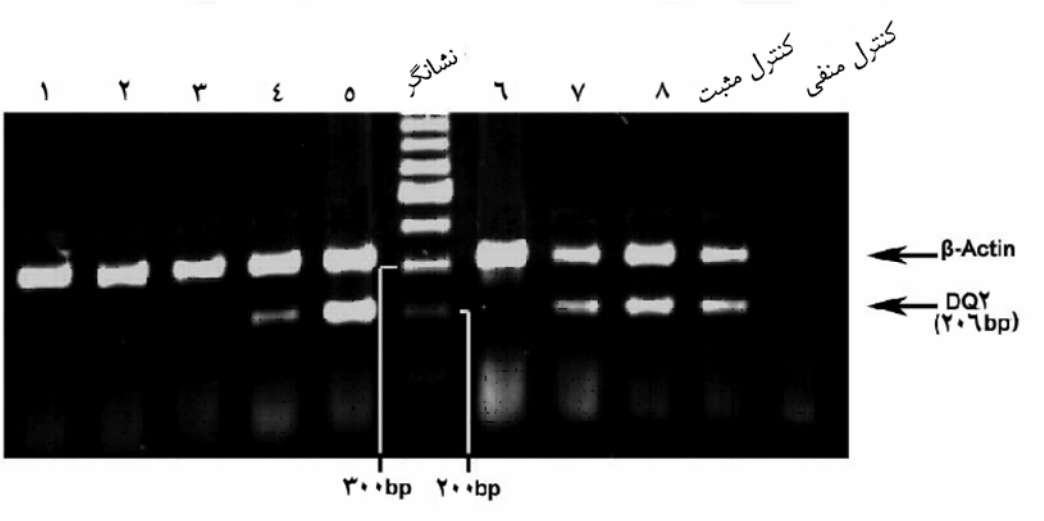
جدول ۳ مقایسه فراوانی الل‌های ژن HLA-DQB1 در دو گروه کنترل و بیمار و نتایج آنالیز آماری آنها

الل‌ها	افراد مبتلا به RA N= ۲۵	افراد سالم N= ۸٦	مقدار P
DQ۲ (*۰۲۰۱)	۷ (٪۲۸)	۳۳ (٪۳۸/٤)	۰/۳۹٦ (RR= ۰/٦۵٦)
DQ٤ (*۰٤۰۱, *۰٤۰۲)	۰ (٪۰)	۳ (٪۳/۵)	۰/۳٤٤ (RR=۰/۹٦۵)
DQ۵ (*۰۵۰۱- *۰۵۰٤)	۱٤ (٪۵٦)	۲۷ (٪۳۱/٤)	۰/۰۳۳ (RR=۲/٦۳٦)
DQ٦ (*۰٦۰۱- *۰٦۰۹)	۵ (٪۲۰)	۲۷ (٪۳۱/٤)	۰/۳۱۵ (RR=۰/۵۷۷)
DQ۷ (*۰۳۰۱, *۰۳۰٤)	۹ (٪۳٦)	۳۲ (٪۳۷/۲)	۰/۹۹۷ (RR=۰/۹۹۸)
DQ۸ (*۰۳۰۱, *۰۳۰۵)	٦ (٪۲٤)	۵ (٪۵/۸)	۰/۰۰۷ (RR=۵/۱۱٦)
DQ۹ (*۰۳۰۳)	۰ (٪۰)	۷ (٪۸/۱)	۰/۱٤۱ (RR=۰/۹۱۹)

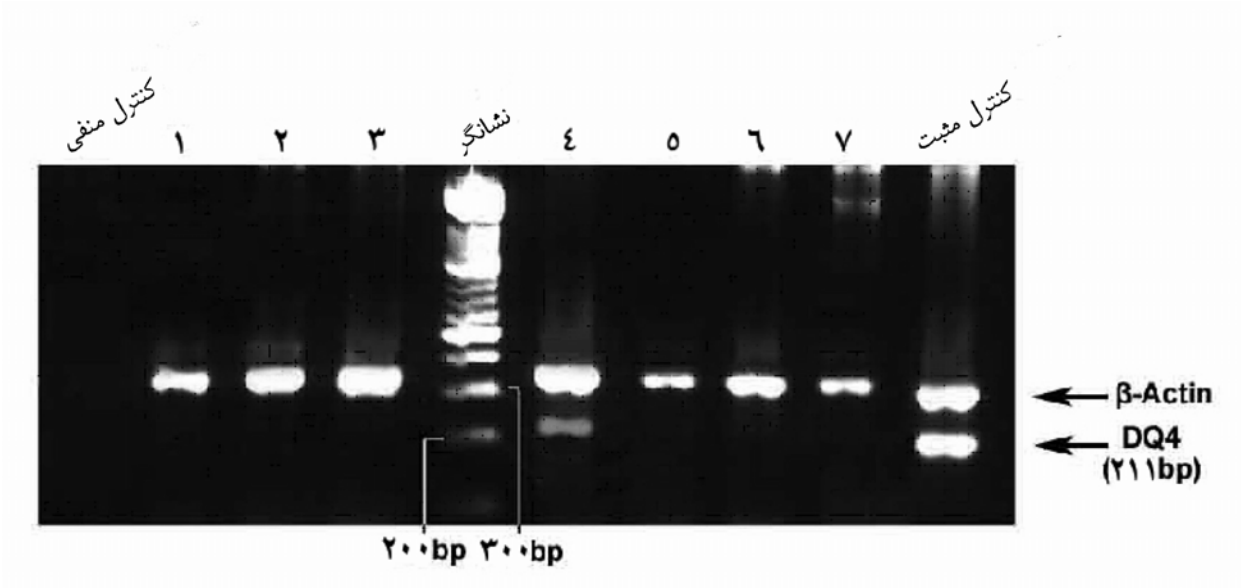


شکل ۱ ارزیابی محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با کنترل داخلی β-actin (نمونه‌ای از PCR مربوط به الل‌های DQ۲ و DQ۸).
از چپ به راست: کنترل منفی. ردیف۳-۱: نمونه‌های مثبت. ردیف۵-٤: نمونه‌های منفی. مارکر. ردیف۷-٦: نمونه‌های مثبت. ردیف۹-۸ : نمونه‌های منفی. کنترل مثبت

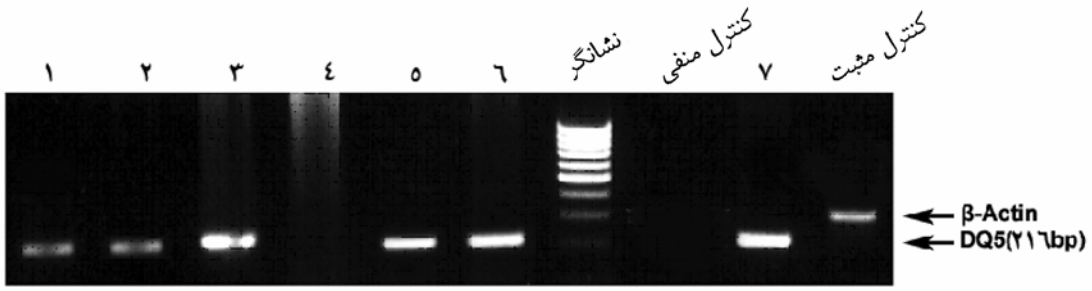
[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]



شکل ۲ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن‌های β-اکتین و DQ۲ در این شکل نمونه‌های ردیف‌های ٤، ٥، ۷ و۸ مثبت و ردیف‌های ۱، ۲، ۳و ٦ منفی می‌باشند.

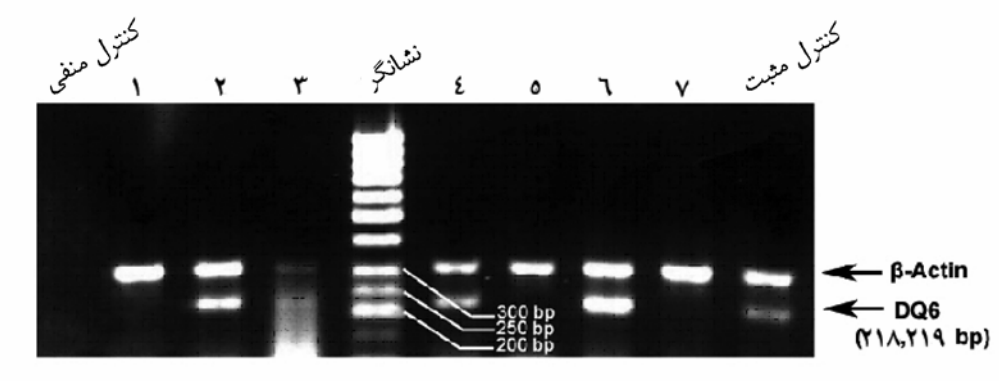


شکل ۳ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن‌های β-اکتین و DQ٤ در این شکل ردیف ٤ مثبت و ردیفهای ۱، ۲، ۳، ٥، ٦و ۷ منفی می‌باشند.

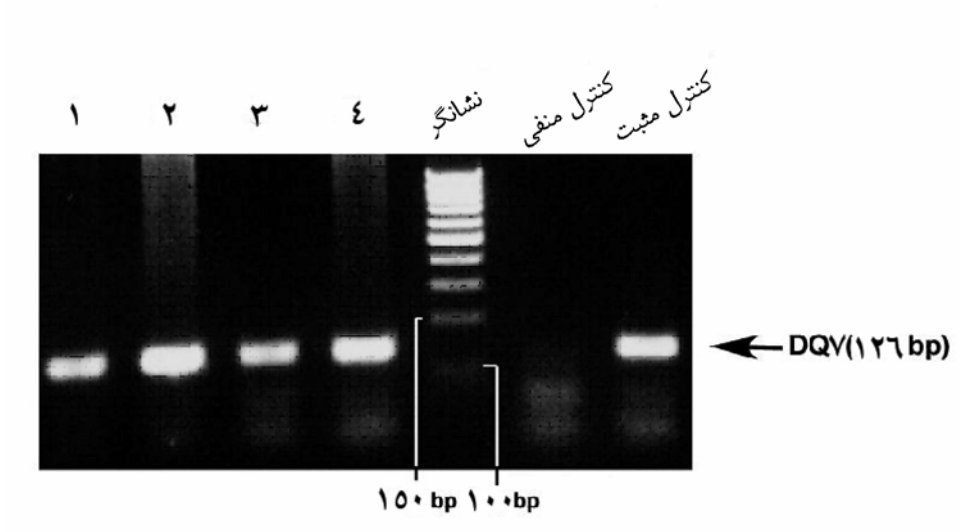


شکل ٤ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن DQ٥ در این شکل نمونه‌های ردیفهای۱، ۲، ۳، ٥، ٦و ۷ مثبت و نمونه ٤ منفی می‌باشد.

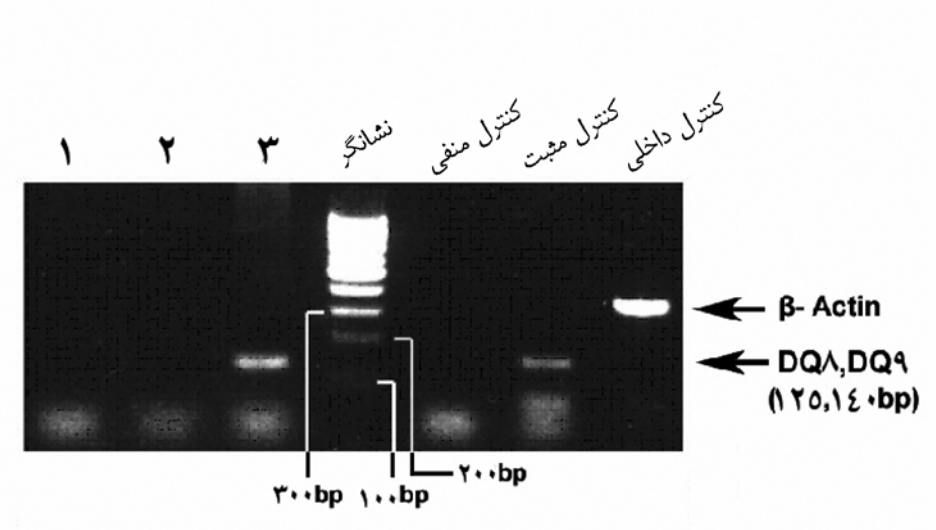
[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]



شکل ٥ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن‌های β-اکتین و DQ٦ در این شکل نمونه‌های ردیف‌های۲، ۳، ٤ و ٦ مثبت و نمونه‌های ۱، ٥ و ۷ منفی می‌باشند.

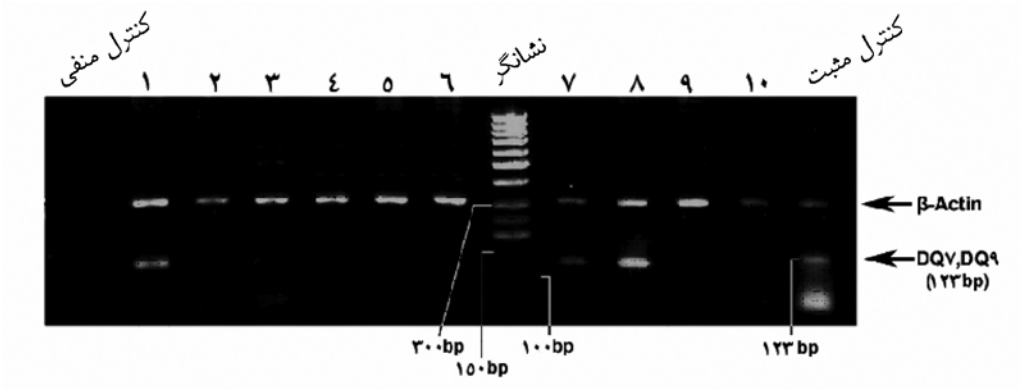


شکل ٦ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن DQ۷ در این شکل نمونه‌های ردیفهای۱، ۲، ۳ و٤ مثبت می‌باشند.



شکل ۷ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن‌های β-اکتین و DQ۹ و DQ۸ در این شکل نمونه ردیف۳ مثبت و نمونه‌های ۱و ۲ منفی می‌باشند.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]



شکل ۸ طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن‌های β-اکتین و DQv و DQ۹ در این شکل نمونه‌های ردیف‌های۱، ۷و۸ مثبت و نمونه‌های ۲ ،۳، ٤، ٥، ٦، ۹ و ۱۰منفی می‌باشند.

با استفاده از آزمون مجذور کای، اختلاف میان فرکانس ژنوتیپ‌های موجود در دو گروه کنترل و بیمار نیز بررسی شد، در این آزمون، P-value برای ژنوتیپ DQ٥/DQ۸، کمتر از ۰/۰۵ و P=۰/۰۰۰ شد، به این معنی که برای این ژنوتیپ بین دو گروه سالم و بیمار با احتمال ۹۹/۹۹ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد و ژنوتیپ DQ٥/DQ۸ در بیماران به میزان بسیار بیشتری دیده می‌شود و افراد حامل این ژنوتیپ به میزان بسیار بالایی در معرض ابتلا به بیماری قرار دارند [جدول ٤].

جدول ٤ مقایسه فراوانی ژنوتیپ DQ٥/DQ۸ در دو گروه کنترل و بیمار

گروه‌های مورد بررسی	افراد دارای ژنوتیپ DQ٥/DQ۸	درصد (P=۰،۰۰)
افراد مبتلا به RA N= ۲٥	٤	٪۱٦
افراد سالم N= ۸٦	۰	٪۰

٤- بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نقش کلیدی ملکول‌های HLA در عرضه آنتی‌ژن و در بروز بیماریهای خودایمن، ژن‌های این ناحیه در بروز بیماری و افزایش یا کاهش استعداد ابتلا به بیماری در افراد، نقش مهمی‌را بازی می‌کنند [۳٦،۳٥،۳٤]. تعدد الل‌های این ناحیه ژنی، موجب می‌گردد تا روی واکنشهای اتصال آنتی‌ژن[1] و تداخل با TCR اثر گذاشته شود.

بر اساس مطالعاتی که زانلی[2] و همکاران بر روی موشهای آزمایشگاهی انجام داده‌اند، مشخص شده است که برخی الل‌های HLA-DQ قادر به افزایش ریسک ابتلا به بیماری روماتوئیدآرتریتیس می‌باشند، در مقابل الل‌های HLA-DR نقش حفاظت‌کنندگی و یا مستعدکنندگی را در مقابل بیماری بازی می‌کنند [۲۹].

امروزه مدرکی دال بر وجود نقش کلیدی الل‌های HLA-DQ و HLA-DP به عنوان عوامل ژنتیکی مؤثر در بروز RA ، وجود ندارد و برای اثبات این نظریه و اثبات نقش این الل‌ها در بروز بیماری، به مطالعات و تحقیقات گسترده‌تری نیاز است [۳۷].

در این پژوهش، ارتباط الل‌های ژن HLA-DQB۱ با بیماری RA بررسی شد، بر مبنای داده‌های آماری به‌دست آمده بین الل‌های DQ۲، DQ٤، DQ٦، DQv و DQ۹ در دو گروه کنترل و بیمار، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

همان‌گونه که در نتایج آمده، فراوانی الل‌های DQ٥(*۰۵۰۱,*۰۵۰٤) و DQ۸(*۰۳۰۲,*۰۳۰۵) بین دو گروه سالم و بیمار دارای اختلاف معنی‌دار است و این بدان معناست که الل‌های DQ۸ و DQ٥ می‌توانند به عنوان یکی از عوامل خطر ژنتیکی مؤثر در بروز بیماری محسوب شوند. با مقایسه P-value و RR به‌دست آمده از این دو الل با یکدیگر، نقش مؤثرتر الل DQ۸ در بروز بیماری مشاهده می‌شود، چرا که میزان مخاطره نسبی نیز برای الل DQ۸ بیشتر از DQ٥ می‌باشد، یعنی افراد

1. Antigen binding

2. Zanelli

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

حامل DQ۸ در معرض خطر ابتلای بالاتری نسبت به افراد حامل DQ۵ قرار دارند.

با توجه به RR محاسبه شده برای الل DQ۷ ، که تقریباً عددی مساوی ۱ می‌باشد، احتمال خطر ابتلا به بیماری در افراد حامل این الل مشابه افراد غیر حامل می‌باشد به عبارتی دیگر رابطه‌ای بین این ژن و بیماری RA در این مطالعه دیده نمی‌شود (RR=۰/۹۹۸) .

نتیجه جالب توجه در این تحقیق، فراوانی بالای ژنوتیپ DQ۵-DQ۸ در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل بود (۱۶ درصد در برابر صفر درصد). افراد حامل این ژنوتیپ نسبت به سایر افراد در معرض ابتلای بسیار بیشتری قرار دارند. ژنوتیپ DQ۵-DQ۵ نیز در گروه بیمار با احتمال ۹۰ درصد اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان می دهد.

لازم به ذکر است با توجه به P-value به دست آمده از ژنوتیپ‌های هتروزیگوت DQ۸-DQ۲ و DQ٦-DQ۸ ، بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود یعنی همانند سایر ژنوتیپ‌ها، این ژنوتیپ‌ها نیز بر خلاف دارا بودن الل DQ۸ با بیماری RA ارتباطی را نشان نمی‌دهند، این امر می‌تواند دلیلی بر وجود نقش حفاظتی برای الل‌های DQ۲ و DQ٦ در مقابل بیماری و پوشانده شدن اثر الل DQ۸ به‌وسیلهٔ آنها باشد. با افزایش نمونه‌های مورد آزمایش، در موارد فوق می‌توان به نتایج قاطعتری دست یافت.

در مطالعاتی که تاکنون در سطح جهان انجام شده نیز نشان داده شده که الل DQ۵ به همراه الل‌های DR۱ و DR۱۰ در بروز بیماری RA مؤثر می‌باشد، ولی تأثیر آن بر بروز بیماری کمتر از HLA-DQB۱*۰۳(DQ۳) است [۳۸،۱۲].

نقش کلیدی ملکولهای HLA-DQ در بروز بیماری RA به‌وسیلهٔ زانلی و همکاران مطرح و نشان داده شد که ملکولهای HLA-DQ۸ و HLA-DQ۵ می‌توانند در بروز بیماری دخیل باشند [۲۷].

در تحقیقاتی که تاکنون انجام شده، در ژاپنی‌ها و بعضی جمعیت‌های مدیترانه‌ای دیده شده که‌هاپلوتایپ DRB۱*۰٤۰۵,DQ٤ در بیماران RA افزایش یافته است [۲۷].

در مطالعه‌ای که روی جمعیتی از بیماران در یونان انجام شد، علاوه بر الل HLA-DRB۱*۱۰۰۱ ، هاپلوتایپ DRB۱*۰٤۰٤, DQB۱*۰۳۰۲ را نیز در افراد مبتلا بیشتر یافتند [۳۹].

همچنین Seidl و همکاران در مطالعه‌ای روی آلمان‌ها گزارش کردند که افراد دارای‌هاپلوتایپ‌های DQB۱*۰۵۰۱/DQA۱*۰۱(DQ۵) و DQB۱*۰۳/DQA۱*۰۳(DQ۳) در معرض ابتلای بالاتری نسبت به سایر افراد قرار دارند [٤۰].

وارگا[1] و همکاران نیز در بیماران مجاری‌هاپلوتایپ DRB۱*۰٤۰۳, DQB۱*۰۳۰۲ را به میزان بیشتری مشاهده کردند [٤۱].

در تحقیق انجام شده بر روی استرالیایی‌ها نیز، علاوه بر الل HLA-B۲۷، الل‌های DQB۱*۰۳۰۲(DQ۸) و HLA-DR٤ را در ارتباط با بیماری مشاهده کردند [٤۲].

همانگونه که مشاهده می‌شود به دلیل خاصیت پیوستگی ترجیحی بالایی که بین الل‌های HLA-DRB۱ و HLA-DQB۱ وجود دارد، همواره الل‌های خاصی از هر کدام در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند.

در تعدادی از تحقیقاتی که تاکنون انجام شده، گزارش شده که در کنار الل DQB۱*۰۳۰۲(DQ۸) از HLA-DQB۱، الل DQB۱*۰۳۰۱(DQ۷) نیز با بیماری RA دارای ارتباط نزدیکی است [٤۳-٤۵]، ولی در برخی دیگر از مطالعات برای الل DQ۷ در بروز بیماری RA نقشی قائل نشده‌اند [٤٦]. همانگونه که ذکر شد در تحقیق اخیر نیز، ارتباطی بین این الل و بیماری مشاهده نشد.

به‌طورکلی آزمایشات بر روی موشهای آزمایشگاهی ترانس‌ژن شده نشان می‌دهد که موشهایی که ملکول DQ8 را بیان می‌کنند مستعد ابتلا به بیماری هستند و در مقابل موش‌های ترانس‌ژن شده با ژن DQ٦ نسبت به ابتلا به بیماری مقاوم هستند و این یعنی ملکول DQ٦ ، می‌تواند در برابر بیماری نقش محافظت‌کنندگی را بازی کند [٤۷-٤۹].

با آزمایشات بیشتر می‌توان نقش الل یا الل‌های خاصی از HLA-DQB۱ را همانند HLA-DRB۱ در بروز بیماری به اثبات رساند و از آن در تشخیص و یا پیش‌آگهی بیماری استفاده کرد.

توجه به مطالب ذکر شده و نتایج به‌دست آمده، می‌توان این طور نتیجه‌گیری کرد که افراد حامل آنتی‌ژن‌های DQ۸ و DQ۵ و ژنوتیپ‌های DQ۵/۸ و DQ۵/۵ نسبت به بیماری در معرض ابتلای بیشتری قرار دارند و آنتی‌ژن‌های DQ۸ و DQ۵ در بروز بیماری روماتوئیدآرتریتیس نقش مهمی را ایفا می‌کنند. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق فرضیه‌های موجود را تأیید می‌کند. می‌توان با افزایش نمونه‌های مورد آزمایش و همچنین طراحی پرایمرهای بیشتر به منظور افزایش حساسیت تکنیک HLA-Typing، یافته‌های فوق را تأیید کرد.

1. Varga

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

۵- منابع

[1] Klippel J.H., 2003, *Primer on the Rheumatoid Diseases*, 12th edition, Atlanta, Georgia: Arthritis Foundation; 2003.

[2] Oliver W., Winchester R., The germline and somatic genetic basis for rheumatoid arthritis, *Genes Genet Autoimmun*, 1999, Pp: 166-193.

[3] Symmons D.P., Epidemiology of rheumatoid arthritis: determinants of onset, persistence and outcome, *Best Pract Res Rheumatol*, 2002, 16(5): 707-22.

[4] Buch M., Emery P., The aetiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis, *Hosp Pharm*, 2002,Vol. 9.

[5] zanelli E., Breedveld F.C., de Vries R.R.P., HlA association with autoimmune disease: a failure to protect?, *Rheumatology*, 2000, 39: 1060-6.

[6] Weyand C.M., Goronzy J.J., Association of MHC and rheumatoid arthritis HLA polymorphisms in phenotypic variants of rheumatoid arthritis, *Arthritis Res*, 2000, 2: 212-6.

[7] Cornelis F., Faure S., Martinez M., Prudhomme J.F., Fritz P., Dib C., et al., New susceptibility locus for rheumatoid arthritis suggested by a genome-wide linkage study, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 10746-50.

[8] Yen J.H., Moore B.E., Nakajima T., Scholl D., Schaid D.J., Weyand C.M., et al., Major histocompatibility complex class I-recognizing receptors are disease riske genes in rheumatoid arthritis, *J Exp Med*, 2001, 193: 1159-67.

[9] Lie B.A., Thorsby E., Several genes in the extended human MHC contribute to predisposition to autoimmune disease, *Curt Opin Immunol*, 2005, 17: 526-31.

[10] Silman A.J., Pearson J.E., Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis, *Arthritis Res*, 2002, 4(3): 265-72.

[11] Van der Horst-Bruinsma.I.E., Visser H., Breedveld F.C., Verduyn W., de Vries R.R.P., Zanelli E., HLA-DQ-Associated predisposition to and dominant HLA-DR-Associated protection against rheumatoid arthritis, *Human Immunol*, 1999, 60: 152-8.

[12] Zanelli E., Huizinga T.W.J., Guerne P.A., Vischer T.L., Tiercy J.M., Verduyn W., Schreuder G.M.T., Breedveld F.C., de Vries R.R.P., An extended HLA-DQ-DR haplotype rather than DRB1 alone contributes to RA predisposition, *Immunogenetics*, 1998, 48: 394-401.

[13] Stastny P., Mixed lymphocyte cultures in rheumatoid arthritis, *J Clin Invest*, 1976, 57: 1148.

[14] Stastny P., Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis, *N Engl J Med*, 1978, 298:869-71.

[15] Yelamos J., Garcia-Lozano J.R., Moreno I., Aguilera I., Gonzales M.F., Garcia A., Nunez-Roldan A., Sanchez B., Association of HLA-DR4-DW15 (DRB1*0405) and DR10 with rheumatoid arthritis in a Spanish population, *Arthritis Rheum*, 1993, 36:811.

[16] Nepom G.T., Byers P., Seyfried C., Healey L.A., Wilski K.R., Stage D., Nepom B.S., HLA genes associated with rheumatoid arthritis: identification of susceptibility alleles using specific oligonucleotide probes, *Arthritis Rheum*, 1989, 32:15.

[17] Wordsworth B.P., Lanchbury J.S.S., Sakkas L.I., Welsh K.I., Panayi G.S., Bell J.I., HLA-DR4 subtype frequency in rheumatoid arthritis indicate that DRB1 is the major susceptibility locus within the human leukocyte antigen class II region, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 10049.

[18] Direskeneli S., HLA-DRB1 alleles associated with rheumatoid arthritis in Turkey, *Human Immunol*, 1996, P. 79.

[19] Boehm B., Loeliger C., Kuehnl P., Manfras B.,

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

Weiss U., Scherbaum W., Association of rheumatoid arthritis with HLA-DRB1*0401 and DRB1*0408 alleles but not with DQB1*0301 allele in German Caucasians, *Human Immunol*, 1996, P. 77.

[20] Takeuchi F., Nakano K., Matsuta K, Nabeta H., Bannai M., Tanimoto K., Ito K., Positive and negative association of HLA-DR genotypes with Japanese rheumatoid arthritis, *Clin Exp Rheumatol*, 1996, 14: 17.

[21] Hong G.H., Park M.H., Takeuchi F., Oh M.D., Song Y.W., Nabeta H., Nakano K., Ito K., Park K.S., Association of specific amino acid sequence of HLA-DR with rheumatoid arthritis in Koreans and its diagnostic value, *J Rheumatol*, 1996, 23: 1699.

[22] Taneja V., Giphart M.J., Verduijn W., Naipal A., Malaviya A.N., Mehra N.K., Polymorphism of HLA-DRB-DQA1and DQB1 in rheumatoid arthritis in Asian Indians: association with DRB1*0405 and DRB1*1001, *Human Immunol*, 1996, 46: 35.

[23] Ruiz-Morales J.A., Vargas-Alarcon G., Flores-Villanueva P.O., Villarreal-Garza C., Hernandez-Pacheco G., Yamamoto-Furusho J.K., et al., HLA-DRB1 alleles encoding the "Shared Epitope" are associated with susceptibility to developing rheumatoid arthritis whereas HLA-DRB1 alleles encoding an aspartic acid at position 70 of the β-chain are protective in Mexican Mestizos, *Human Immunol*, 2004, 65: 262-9.

[24] Wakitani S., Imoto K., Murata N., Toda Y., Ogawa R., Ochi T., The homozygote of HLA-DRB1*0901, not its heterozygote, is associated with rheumatoid arthritis in Japanese, *Scand J Rheumatol*, 1998, 27: 381.

[25] Carthy D., Ollier W., Papasteriades C., Pappas H., Thomson W., A shared HLA-DRB1 sequence confers RA susceptibility in Greeks, *Eur J Immunogenet*, 1993, 20: 391.

[26] Sattar M.A., Al-Saffar M., Guindi R.T., Suathan T.N., Behbehani K., Association between HLA-DR antigens and rheumatoid arthritis in Arabs, *Ann Rheum Dis*, 1990, 49: 147-9.

[27] Zanelli E., Breedvald F.C., de Vries R.R.P., HLA class II association with rheumatoid arthritis: Facts and interpretations, *Human Immunol*, 2000, 61: 1254-61.

[28] Gregersen P.K., Silver J., Winchester R.J., The shared epitope hypothesis- an approach to understanding the molecular genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, *Arthritis Rheum*, 1987, 30: 1205-13.

[29] Zanelli E., Gonzales M.A., David C.S., Could HLA-DRB1 be the protective locus in rheumatoid arthritis?, *Immunol Today*, 1995, 16: 274.

[30] Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F., A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acid Res*, 1988, 16(3): 1215.

[31] Olerup O., Aldner A., Fogdell A., HLA-DQB1 and –DQA1 typing by PCR amplification with sequence specific primers (PCR-SSP) in 2 hours, *Tissue antigens*, 1993, 41:119.

[32] Cannava A.A., Olerup O., HLA-DQB1 low resolution typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP), *Eur J Immunogenet*, 1994, 21: 447-55.

[33] Woolf B., On estimating the relation between blood group and disease, *Ann Hum Genet*, 1995, 19: 251-3.

[34] Reveille J.D., The genetic contribution to the pathogenesis of rheumatoid arthritis, *Curr Opin Rheumatol*, 1998, 10: 187-200.

[35] Nepom G.T., Major histocompatibility complex-directed susceptibility to rheumatoid arthritis, *Adv Immunol*, 1999, 68: 315-32.

[36] Weyand C.M., Goronzy J.J., Association of MHC and rheumatoid arthritis HLA polymorphisms in phenotypic variants of rheumatoid arthritis, *Arthritis Res*, 2000, 2: 212-6.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

[37] Perdriger A., Do the HLA-DQ and DP genes play a role in rheumatoid arthritis?, *Joint Bone Spine*, 2001, 68: 12-8.

[38] Harney S.M.J., Newton J.L., Wordsworth B.P., Molecular genetics of rheumatoid arthritis, *Curr Opi Pharmacol*, 2003, 3: 280-5.

[39] Stavropoulos-Giokas C., Spyropoulou-Vlachou M., Doxiadis I.I.N., Kaklamanis F., Kaklamani E., The shared epitope versus DR/DQ haplotype hypothesis in rheumatoid arthritis in Greeks, *Human Immunol*, 1999, 60: S48.

[40] Seidl C., Korbitzer J., Badenhoop K., Seifried E., Hoelzer D., Zanelli E., Kaltwasser J.P., Protection against severe disease is conferred by DERAA-bearing HLA-DRB1 allele among HLA-DQ3 and HLA-DQ5 positive rheumatoid arthritis patients, *Human Immunol*, 2001, 62: 523-9.

[41] Varga E., Palkonyai E., Temesvari P., Toth F., Petri I.B., The role of HLA-DRB1*04 alleles and their association with HLA-DQB genes in genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in Hungarian patients, *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2003, 50(1): 33-41.

[42] Sherrit M.A., Tait B., Varney M., Kannan C., Stockman A., Mackay I.R., Muirden K., Bernard C.C.A. Rowley M.J., Imunosusceptibility genes in rheumatoid arthritis, *Human Immunol*, 1996, 32-40.

[43] Singal D.P., Bensen W.G., Kassam Y.B., HLA-DQ polymorphism in rheumatoid arthritis, *Lancet 1*, 1988, p.529.

[44] Singal D.P., Reid B., Bensen W.G., Kassam Y.B., Adachi J.D., HLA-DQ beta-chain polymorphism in HLA-DR4 haplotypes associated with rheumatoid arthritis, *Lancet*, 1987, ii: 1118-20.

[45] Wallin J., Carlsson B., Strom H., Moller E., A DR4-associated DR-DQ haplotype is significantly associated with rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum*, 1988, 31: 72-9.

[46] Taneja V., Mehra N.K., Chandershekaran A.N., Ahuja R.K., Singh Y.N., Malaviya A.N., HLA-DR4-DQw8, but not DR4-DQw7 haplotypes occur in Indian patients with rheumatoid arthritis, *Rheumtol Int 11*, 1992, p. 251.

[47] Morgan M.E., Witteveen H.J., Sutmuller R.P.M., de Vries R.R.P., Toes R.E.M, CD25+ regulatory cells from HLA-DQ8 transgenic mice are capable of modulating collagen-induced arthritis, *Human Immunol*, 2004, 65: 1319-27.

[48] Taneja V., David C.S., Association of MHC and rheumatoid arthritis: Regulatory role of HLA class II molecules in animal models of RA-studies on transgenic/knockout mice, *Arthritis Res*, 2000, 2(3): 205-7.

[49] Holmdahl R., Association of MHC and rheumatoid arthritis: Why is rheumatoid arthritis associated with the MHC genetic region? An introduction, *Arthritis Res*, 2000, 2(3): 203-4.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]