مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره نوزدهم، شماره ۴، فروردین ۱۳۹۶، صفحه ۳۵-۲۸

عدم همبستگی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs1400986) در ژن اینترلوکین ۲۰ و عفونت مزمن ویروس هپاتیت B

فرزانه سادات میرفخار (MSc)[۱]، سید رضا محبی (PhD)[۱*]، سید مسعود حسینی (PhD)[۲]، پدرام عظیم زاده (MSc)[۳]، شقایق درخشانی (MSc)[۴]، محمدرضا سربازی (MD)[۵]، افسانه شریفیان (MD)[۱]، محمدرضا زالی (MD)[۱]

۱-مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲-گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
۳-مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماریهای گوارش، پژوهشکده بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴-مرکز تحقیقات بیماری های منتقله از آب و غذا، پژوهشکده بیماریهای گوارش وکبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵-بخش کنترل و پیشگیری بیماریها، معاونت امور بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دریافت: ۹۵/۶/۲۳، اصلاح: ۹۵/۹/۶، پذیرش: ۹۵/۱۲/۶

خلاصه

سابقه و هدف: عفونت با ویروس هپاتیت B (HBV) عامل اصلی بیماریهای مزمن کبدی می‌باشد و تغییرات در ژن‌های سیتوکین‌ها می‌تواند بر پاسخ ایمنی میزبان بر علیه عفونت هپاتیت B اثر بگذارد. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1400986C/T ژن اینترلوکین ۲۰ بر پیشرفت عفونت مزمن هپاتیت B طراحی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۵۰ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن (با نتایج سرولوژی Anti-HBc Ab مثبت و HBsAg مثبت به‌مدت بیش از شش ماه) و ۱۴۶ فرد سالم (از نظر Anti-HBc Ab و HBsAg سرمی منفی) از میان افراد مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۴، برای تفاوت در فراوانی آللی و ژنوتیپی مورد بررسی قرار گرفتند. برای مطالعه جایگاه پلی مورفیسم از تکنیک واکنش زنجیره پلیمراز – چند شکلی طول قطعه محدود شونده (PCR-RFLP) استفاده شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ ها در گروه بیماران به ترتیب CT ۰۳۲٪ و TT ۴٪ در مقابل CT ۲۸/۱٪ و TT ۲/۷٪ در گروه کنترل بود و اختلاف معنی داری به لحاظ آماری برای فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در پلی مورفیسم rs1400986C/T ژن اینترلوکین ۲۰ میان گروه بیماران و گروه کنترل مشاهده نگردید (به ترتیب p=۰/۵۴۹ و p=۰/۵۹۹).

نتیجه گیری: ارتباطی بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1400986 ژن اینترلوکین ۲۰ و عفونت مزمن هپاتیت B مشاهده نشد، از این رو به نظر می‌رسد این پلی مورفیسم تأثیری بر حساسیت به هپاتیت B مزمن ندارد.

واژه‌های کلیدی: سیتوکین، ویروس هپاتیت ب، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، اینترلوکین ۲۰.

مقدمه

بیماری هپاتیت B یکی از شایع‌ترین عفونت‌های مزمن در جهان می‌باشد. تخمین زده می‌شود ۲ میلیارد نفر در سراسر جهان به ویروس هپاتیت B (HBV) آلوده باشند که ممکن است گروه کثیری از این افراد در اثر عوارض ناشی از عفونت مزمن با HBV، شامل سیروز و سرطان کبد، جان خود را از دست بدهند(۲و۱). ویروس هپاتیت B، عضوی از خانواده هپادناویریده و عامل هپاتیت B حاد یا مزمن می‌باشد. هنگام آلودگی با HBV، فرد ممکن است دچار عفونت حاد شده که می‌تواند به مزمن شدن در چندین مرحله بیانجامد. در اغلب افراد بالغ مبتلا به عفونت حاد هپاتیت B، ویروس به صورت خود به خود از بدن پاک می‌شود؛ در حالی که در بیشتر نوزادان و کودکان، احتمال بالای پیشرفت بیماری به سوی عفونت مزمن وجود دارد(۳و۱). مکانیزم‌هایی که باعث پاکسازی ویروسی یا بقای عفونت در فرد بیمار می‌شوند هنوز به درستی مشخص نیستند؛ با این حال به نظر می‌رسد تفاوت در نتیجه بالینی بیماری به صورت عمده با فاکتورهای مرتبط با میزبان (مثل سن، جنسیت و وضعیت توانمندی و پاسخ های سیستم ایمنی فرد) در ارتباط باشد. به نظر می رسد که تنوع ژنوم انسان بر وضعیت ایمونولوژیکی فرد اثر می‌گذارد(۳). در صورت عفونت با هپاتیت B پاسخ التهابی القا شده باعث باز تولید و ترمیم بافت در فاز حاد و در صورت طولانی شدن آسیب کبدی (به دلیل پاسخ‌های ضعیف سلولهای CD8+ T و CD4+) به فیبروز، سیروز و در نهایت به سرطان کبد ختم می‌شود (۵و۴). این فرآیندهای التهابی

*مسئول مقاله: دکتر سید رضا محبی
آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، بیمارستان آیت اله طالقانی، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد. تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۲۵
E-mail: sr.mohebbi@sbum.ac.ir

شدیداً تحت تأثیر تعادل بین سیتوکین‌های پیش التهابی و سیتوکینهای ضدالتهابی می‌باشند (۷و۶).

در بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن پاسخ Th2 نسبت به Th1 غالب بوده که این امر منجر به افزایش تولید سیتوکین‌های ضد التهابی می‌شود. اینترلوکین ۲۰ یک سیتوکین پیش التهابی اولیه متعلق به خانواده سیتوکین‌های اینترلوکین ۱۰ می‌باشد. خوشه کدکننده ژن این اینترلوکین ناحیه ای ۱۹۵ کیلوبازی بر روی کروموزم ۱q۳۲ را اشغال کرده و ۲۸٪ قرابت با ژن اینترلوکین ۱۰ انسانی دارد (۹و۸و۵). اینترلوکین ۲۰ باعث تعادل Th1/Th2 شده و از طریق گیرنده‌های مشترک با اینترلوکین ۱۰ عمل می‌کند (۱۰).

انتقال پیام این اینترلوکین از طریق ۲ نوع کمپلکس رسپتور IL-20R1/IL20-R2 و IL-22R1/IL-22R2 صورت می‌گیرد (۱۰) و از STAT3 به عنوان عامل کلیدی رونویسی فرو دست استفاده می‌کند (۱۱و۱۰و۸و۵).

اینترلوکین ۲۰ عمدتاً توسط تحریک سلولهای میلوئید و سلولهای اپیتلیال تولید می‌شود(۹و۶). همچنین بیان بیش از حد اینترلوکین ۲۰ در موشهای تراریختی ضایعات پوستی مشابه با بیماری پسوریازیس ایجاد می‌کند (۶). اینترلوکین ۲۰ در التهاب، آنژیوژنز، آرتروژنز و کموتاکسیس؛ یعنی در تمام عواملی که در پاتوژنز بعضی بیماری‌های التهابی و خودایمنی مثل آرتروواسکلورز، پسوریازیس، آرتریت روماتوئید، بیماری التهابی روده (IBD) و لوپوس نفریت درگیر هستند نقش دارد و عامل حفظ یکپارچگی بافت‌های اپیتلیال طی پاسخ‌های التهابی می‌باشد (۱۵-۱۲و۹).

اینترلوکین ۲۰ تولید اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروزکننده تومور در مونوسیت‌ها را القا کرده و همچنین پروتوآنکوژن تیروزین کیناز ROS در سلول‌های T CD8+ را تحریک می‌کند. این اینترلوکین، کراتینوسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های مزانشیمال و انواع مختلفی از سلول‌های توموری را مورد هدف قرار می‌دهد (۱۷و۱۶).

همچنین این اینترلوکین در هپاتوسیت‌های بافت‌های آسیب دیده کبدی در مبتلایان به فیبروز، سیروز کبدی و سرطان کبد شدیداً بیان می‌شود. پلی مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی در ژن‌های سیتوکین‌ها و ژن‌های گیرنده‌های سیتوکین‌ها می‌توانند عملکرد آنها را از طریق تغییر در بیان ژن، پایداری mRNA و ساختار پروتئینی تحت تأثیر قرار دهد (۱۷و۲). در مطالعات متعددی تا به امروز تلاش شده تا ارتباط تغییرات نوکلئوتیدی در ژن‌های مختلف را با بعضی بیماری‌ها و تأثیر آنها را بر پیشرفت و پاسخ به درمان آن بیماری‌ها مشخص کنند (۲۰-۱۸و۲).

اهمیت و همبستگی تغییرات ژنتیکی و به صورت ویژه پلی مورفیسم های تک نوکئوتیدی در ژنهای دخیل در پاسخ های سیستم ایمنی و ژنهای سیتوکینی با بیماریهای متنوعی از جمله سرطان‌ها(۲۲و۲۱) بیماریهای التهابی (۲۳) و بیماریهای ویروسی(۲۶-۲۴) مورد ارزیابی قرار گرفته اند و برخی مطالعات جدیدی نیز به منظور تعیین تأثیر فاکتورهای ژنتیکی میزبان بر پاتوژنز و تداوم عفونت هپاتیت B و با هدف توسعه داروها و روش‌های تشخیصی و درمانی جدید در حال انجام اند (۲۷).

نتایج بسیاری از پژوهش ها ثابت نمودند که پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در برخی ژنها می توانند بر استعداد ابتلا به عفونت مزمن(۲۹و۲۸) یا پاکسازی عفونت ویروس هپاتیت B از بدن به واسطه پاسخ های ایمنی (۳۱و۳۰) و یا در روند پیشرفت بیماری (۳۲) تاثیر گذارند. بنابراین بررسی بر روی پلی مورفیسم های مختلف در ژنهای متنوع و ارتباط آن با بیماری ها ارزش روز افزونی یافته است. هدف از تحقیق حاضر بررسی ارتباط و نقش پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1400986 C/T ژن اینترلوکین ۲۰ در استعداد ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B می باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع مطالعه مقطعی و موردی-شاهدی بود. پس از تصویب طرح توسط مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی؛ مجموعاً ۲۹۶ فرد سالم و مبتلا به هپاتیت B مزمن از میان افراد مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۴ برای این مطالعه انتخاب شدند، شامل ۱۵۰ بیمار مزمن هپاتیت B با نتیجه مثبت آزمایش الایزا HBsAg وAntiHBc-Ab (کیت الایزای شرکت bioprobes srl Diapro diagnostics، ایتالیا) برای بیش از ۶ ماه (۳۳)؛ و ۱۴۶ فرد سالم که از نظر Anti-HBc Ab و HBsAg سرمی منفی بودند نیز به عنوان گروه کنترل برای جمع‌آوری نمونه خون شرکت کردند.

این طرح توسط مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تصویب و دارای کد طرح مصوب (کد ۷۱۹) بوده و از تمامی شرکت کنندگان رضایت‌نامه کتبی دریافت شد. DNA ژنومی از ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در شیشه‌های حاوی EDTA جمع‌آوری و از طریق روش استاندارد اشباع نمکی بر اساس دستورالعمل میلر و همکارانش استخراج شد (۳۴).

پلی مورفیسم rs1400986 ژن اینترلوکین ۲۰ از اطلاعات موجود در GenBank انتخاب و تکنیک PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ های آن طراحی و راه اندازی گردید. به صورت خلاصه با استفاده نرم افزار Gene Runner version 4 پرایمرهای مناسب برای تکثیر ناحیه ای از ژن که این پلی مورفیسم را در بر می گرفت طراحی گشت. مخلوط واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، حاوی ۲/۵ میکرولیتر از ۱۰X بافر PCR همراه با Mg^{2+}، ۰/۵ میلی‌مولار dNTP، ۱۰ پیکومول از هر یک از پرایمرهای اختصاصی و ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز آماده گردید. توالی پرایمر جلویی به صورت 5’CTGGCAGTAGGCTTGTTATGAAATC 3’ و پرایمر معکوس 5’CCACGACCTGTGCCACCAA3’ بودند که ناحیه ای از ژنوم حاوی جایگاه پلی مورفیسم (C/T) ۱۸۰۷ را تکثیر می‌نمودند. واکنش PCR با اضافه کردن ۱۰۰ نانوگرم از DNA الگو به مخلوط واکنش انجام و چرخه‌های حرارتی به شرح زیر اعمال شدند:

دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، به همراه ۳۵ چرخه از ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۶۱ درجه سانتی‌گراد برای ۴۰ ثانیه و طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه و به دنبال آن طویل سازی نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه.

محصول PCR توسط آنزیم محدودالاثر Eco130 I (StyI) مورد هضم آنزیمی قرار گرفت که جایگاه شناسایی آنزیم به صورت 5’C▼CWWGG3’ می باشد و ژنوتیپ TT توسط آنزیم شناسایی نشده و برش نخورده و بنابراین قطعه ای ۴۳۷ نوکلئوتیدی می دهد اما ژنوتیپ CC برش خورده و دو قطعه ۲۷۸ و ۱۷۹ زوج بازی ایجاد می شود و در نهایت ژنوتیپ هتروزیگوت CT سه باند در

اندازه های ۴۳۷، ۲۷۸ و ۱۵۹ جفت بازی روی ژل آگارز ۳٪ تشکیل می دهد. معنی دار بودن تفاوت در فراوانی آللی و ژنوتیپی بین ۲ گروه با آزمون مربع کای (χ^2) به دست آمد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. Odds Ratio در محدوده اطمینان ۹۵٪ محاسبه گردید.

یافته ها

جایگزین شدن نوکلئوتید C با T در هر ۲ گروه بیمار و کنترل با فراوانی پایین مشاهده شد (در گروه بیماران (۳۲٪) ۴۸ نفرCT و (۴٪) ۶ نفر TT در مقابل (۲۸/۱٪) ۴۱ نفر CT و (۲/۷٪) ۴ نفر TT در گروه کنترل). با این حال تفاوت معنی‌داری از نظر توزیع آلل و ژنوتیپ بین ۲ گروه مشاهده نشد (به ترتیب $p=۰/۵۴۹$ و $p=۰/۵۹۹$).

ژنوتیپ هموزیگوت TT با فراوانی کمتر در گروه بیمار (۴٪ در مقابل۲/۷٪) و به این ترتیب فراوانی بالاتر ژنوتیپ هموزیگوت CC در گروه کنترل مشاهده شد (۶۹/۲٪ در مقابل ۶۴/۰٪). ۹۶٪ از بیماران حامل آلل C بودند در حالی که این میزان در گروه کنترل ۹۷/۳٪ محاسبه گردید که در جدول ۱ ارائه شده اند. ژنوتیپ هتروزیگوت CT در بیماران هپاتیت B مزمن ژنوتیپ غالب مشاهده شد (۳۲/۰٪ در مقابل ۲۸/۱٪، $p=۰/۴۱۶$).

جدول۱. فراوانی ژنوتیپ و آلل جایگاه پلی مورفیسم rs1400986 در ژن اینترلوکین ۲۰ در بیماران مبتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در مقایسه با افراد کنترل سالم

ژنوتیپ	بیماران هپاتیتB مزمن تعداد=۱۵۰(درصد)	کنترل سالم تعداد=۱۴۶(درصد)	P-value	OR(CI-٪۹۵)
CC	۹۶(۶۴/۰)	۱۰۱(۶۹/۲)	-	-
CT	۴۸(۳۲/۰)	۴۱(۲۸/۱)	۰/۴۱۶	۰/۸۱۲(۰/۴۹۲-۱/۳۴۱)
TT	۶(۴)	۴(۲/۷)	۰/۴۹۰	۰/۶۳۴(۰/۱۷۳-۲/۳۱۵)
آلل				
C	۱۴۴(۹۶)	۱۴۲(۹۷/۳)	-	-
T	۶(۴)	۴(۲/۷)	۰/۵۵۱	۰/۶۷۶(۰/۱۸۷-۲/۴۴۷)

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر فراوانی ژنوتیپ و آلل جایگاه پلی مورفیسم rs1400986 در ژن اینترلوکین ۲۰ در بیماران مبتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در مقایسه با افراد کنترل سالم تعیین شد و مورد ارزیابی قرار گرفت و اختلاف آماری معنی داری مشاهده نگردید. اینترلوکین ۲۰ به عنوان یک فاکتور تعدیل کننده پاسخ التهابی شناخته می‌شود.

در طول عفونت، این اینترلوکین بر روی سلولهای اپیتلیال عمل کرده و باعث افزایش انسجام بافت‌ها و التیام زخم‌ها می‌شود؛ از این رو می‌توان از آن به عنوان یک مارکر بالقوه بهره برد (۹). Chiu و همکاران (۲۰۱۴) برای اثبات نقش درمانی اینترلوکین ۲۰ در درمان فیبروز کبدی، تأثیر آن را بر آسیب کبدی القا شده با تتراکلرید کربن در مدل موشی بررسی کردند. بر اساس نتایج، میزان سرمی اینترلوکین ۲۰ در موش‌هایی که آسیب کبدی داشتند به میزان قابل توجهی بالاتر بود (۱۶). اگرچه مطالعات اندکی در رابطه با این پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن اینترلوکین ۲۰ تا به امروز منتشر شده با این وجود در مقالات متعددی ارتباط آماری معنی‌داری بین پلی مورفیسم‌های این ژن و بعضی بیماری‌های التهابی گزارش کرده اند(۳۹-۳۵). Fife و همکاران (۲۰۰۶) ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1400986 ژن اینترلوکین ۲۰ را با بیماری آرتریت ایدیوپاتیک جوانان نشان دادند، همچنین ارتباط معنی داری بین این بیماری و هاپلوتیپ IL10 rs1800896 A/IL20 rs1400986 T یافتند (۴۰).

در مطالعه دیگری پلی مورفیسم rs1400986 ژن اینترلوکین ۲۰ با پاکسازی عفونت هپاتیت B در جمعیت آمریکایی‌های اروپایی تبار مرتبط خوانده شد. بر اساس یافته های این مطالعه افرادی که بدون درمان ویروس را از بدن پاکسازی کرده و بهبود یافته اند با احتمال بالاتری از ژنوتیپ CC در جایگاه پلی مورفیسم برخوردارند(۱۷).

بر روی جمعیت ایرانی نیز اربابی و همکاران (۲۰۱۳) پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی دیگری بر روی ژن اینترلوکین ۲۰ (rs1518108) را مرتبط با عفونت هپاتیت C گزارش کردند(۳۵). مطالعه Traks و همکاران (۲۰۰۸) هاپلوتیپ های اینترلوکین ۲۰ و اینترلوکین ۲۴ را با اختلال افسردگی ماژور مرتبط دانسته و اعلام کردند در پاتوژنز بیماری نقش دارند(۴۱). مطالعه دیگری در این زمینه به ارتباط بین پلیمریسم‌های ژن اینترلوکین ۲۰ و بیماری پوستی پسوریازیس و تکثیر بیش از حد کراتینوسیتها پرداخته اند (۴۷-۴۲و۱۳).

به منظور بررسی اثر پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۲۰ بر عفونت مزمن هپاتیت B، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs1400986 ژن اینترلوکین ۲۰ را در این تحقیق موردی-شاهدی مورد مطالعه قرار دادیم. یافته ها نشان داد که این پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی به لحاظ آماری با بیماری مزمن هپاتیت B در جمعیت مورد مطالعه مرتبط نمی‌باشد.

علیرغم اینکه اختلاف معنی داری در فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های افراد گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد، می‌بایستی نتایج را با احتیاط تفسیر کرده چرا که این موضوع لزوماً بیانگر عدم تأثیر پلی مورفیسم اینترلوکین ۲۰ در بیماری مزمن هپاتیت B نمی‌باشد. توضیح احتمالی برای چنین نتیجه‌ای را می‌توان در تفاوت واریاسیون‌های ژن اینترلوکین ۲۰ و هتروژنیسیته ژنتیکی جمعیت‌ها جستوجو کرد. جمعیت آماری محدود، فاکتور شانس و تفاوت در پارامترهای آنالیزی می‌توانند دلایل دیگری برای توجیه چنین ناهمخوانی‌هایی در نظر گرفته شوند. اهمیت مطالعاتی از این دست، پیامدهای عملی آنها می‌باشد لذا پیشنهاد می‌شود این قبیل مطالعات، که واریاسیون‌های ژن‌های سیستم ایمنی برای یافتن ارتباط با بیماری‌های عفونی یا التهابی مورد بررسی قرار می‌گیرند یا به عنوان بیومارکرهای بالقوه برای پیش‌آگهی از ابتلاء به بیماری تلقی می‌شوند، با دیگر مطالعات مشابه بر روی بیان ژن یا پروتئومیکس تکمیل گردند. به منظور بررسی ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن اینترلوکین ۲۰ با بیماری‌های چند عاملی مثل عفونت مزمن هپاتیت B آنالیزهای هاپلوتیپی نیز توصیه می‌شوند.

پیش‌بینی پذیری استعداد ابتلاء به هپاتیت B مزمن می‌تواند به استراتژی‌های درمانی جدید یا "درمان شخصی" بیانجامد، که می‌تواند یک درمان

خاص برای هر فرد فراهم آورد. نتیجه مطالعه حاضر نشان داد که ارتباطی میان پلی مورفیسم rs1400986 ژن اینترلوکین ۲۰ با عفونت مزمن هپاتیت B وجود ندارد و این پلی مورفیسم را نمی توان به عنوان به عنوان فاکتور تعیین کننده در روند مزمن شدن بیماری در جمعیت مورد مطالعه در نظر گرفت.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کارکنان مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، به ویژه از خانم فرحناز جباریان و آقای مهدی طلوعی مقدم به خاطر همکاری در اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می گردد.

Lack of association between Single Nucleotide Polymorphism (rs1400986) in Interleukin-20 Gene and Chronic Hepatitis B Virus Infection

F.S. Mirfakhar (MSc)[1], S.R. Mohebbi (PhD) *[1], S.M. Hosseini (PhD)[2], P. Azimzadeh (MSc)[3], Sh. Derakhshani (MSc)[4], M.R. Sarbazi (MD)[5], A. Sharifian (MD)[1], M.R. Zali (MD)[1]

1.Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

2.Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

3.Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

4.Foodborne and Waterborne Diseases Research Center, Gastroenterology and Liver Diseases Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

5.Department of Disease Control and Prevention, Deputy of Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 19(4); Apr 2017; PP: 28-35

Received: Sep 13th 2016, Revised: Nov 26th 2016, Accepted: Feb 22th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Infection with hepatitis B virus is a major cause of chronic liver diseases and variations within cytokine genes may affect the host immune response to hepatitis B infection. This study was designed to investigate whether IL-20 rs1400986 C/T single nucleotide polymorphism is involved in the progression of chronic hepatitis B infection.

METHODS: In this case-control study a total of 150 chronic hepatitis B patients (Anti-HBc Ab positive and HBsAg positive for more than 6 months) and 146 healthy subjects (Anti-HBc Ab and HBsAg negative) among people who were referred to Tehran Taleghani hospital during 2003 to 2005, were examined for differences in genotype and allele frequencies in this case-control study. Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment length Polymorphism (PCR-RFLP) method was applied for analyzing the polymorphism site.

FINDINGS: Genotypes Frequency in patients group were CC 32.0% and TT 4.0% in comparison to CT 28.1% and TT 2.7% in control group; however no statistically significant difference was observed in the frequency of IL-20 gene polymorphism (rs1400986) between chronically infected patients and healthy controls for neither allele (*P*=0.549) nor genotype (p=0.599) frequencies.

CONCLUSION: No association was detected between rs1400986 single nucleotide polymorphism within IL-20 gene and chronic hepatitis B infection; thus, this polymorphism appears to have no influence on susceptibility to chronic hepatitis B.

KEY WORDS: *Cytokine, Hepatitis B virus, Polymorphism, Single nucleotide, Interleukin 20.*

Please cite this article as follows:

Mirfakhar FS, Mohebbi SR, Hosseini SM, Azimzadeh P, Derakhshani Sh, Sarbazi MR, Sharifian A, Zali MR. Lack of association between Single Nucleotide Polymorphism (rs1400986) in Interleukin-20 Gene and Chronic Hepatitis B Virus Infection. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(4):28-35.

* **Corresponding author: S.R. Mohebbi (PhD)**

Address: Gastroenterology and Liver Diseases Research Institute, Ayatollah Taleghani Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

Tel: +98 21 22432525

E-mail: sr.mohebbi@sbum.ac.ir

References

1.Liver eaftsot. Easl clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. J Hepatol. 2012;57(1):167-85.

2.Conde SR, Feitosa RN, Freitas FB, Hermes RB, Demachki S, Araújo MT, et al. Association of cytokine gene polymorphisms and serum concentrations with the outcome of chronic hepatitis B. Cytokine. 2013;61(3):940-4.

3.Dandri M, Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. Gut. 2012;61(1): 6-17.

4.Koziel MJ. Cytokines in viral hepatitis. Semin Liver Dis. 1999;19(2):157-69.

5.Sabat R. IL-10 family of cytokines. Cytokine Growth Factor Rev. 2010;21(5):315-24.

6.Blumberg H, Conklin D, Xu W, Grossmann A, Brender T, Carollo S, et al. Interleukin 20: discovery, receptor identification, and role in epidermal function. Cell. 2001;104(1):9-19.

7.Oral HB, Kotenko SV, Yılmaz M, Mani O, Zumkehr J, Blaser K, et al. Regulation of T cells and cytokines by the interleukin-10 (IL-10)-family cytokines IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 andIL-26. Eur J Immunol. 2006;36(2):380-8.

8.Commins S, Steinke JW, Borish L. The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. J Allerg Clin Immunol. 2008;121(5):1108-11.

9.Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. Annu Rev Immunol. 2011;29:71-109.

10.Wegenka UM. IL-20: biological functions mediated through two types of receptor complexes. Cytokine Growth Factor Rev. 2010;21(5):353-63.

11.Fickenscher H, Hör S, Küpers H, Knappe A, Wittmann S, Sticht H. The interleukin-10 family of cytokines. Trends Immunol. 2002;23(2):89-96.

12.Hsu YH, Li HH, Hsieh MY, Liu MF, Huang KY, Chin LS, et al. Function of interleukin-20 as a proinflammatory molecule in rheumatoid and experimental arthritis. Arthritis Rheum. 2006;54(9):2722-33.

13.Sa SM, Valdez PA, Wu J, Jung K, Zhong F, Hall L, et al. The effects of IL-20 subfamily cytokines on reconstituted human epidermis suggest potential roles in cutaneous innate defense and pathogenic adaptive immunity in psoriasis. J Immunol. 2007;178(4):2229-40.

14.Hsieh M-Y, Chen W-Y, Jiang M-J, Cheng B-C, Huang T-Y, Chang M-S. Interleukin-20 promotes angiogenesis in a direct and indirect manner. Gen Immun. 2006;7(3):234-42.

15.Wu J, Wang G, Hao J, Gong W, Wang J, Zhao J, et al. The correlation between IL-20 and the Th2 immune response in human asthma. Asia Pacific J Aller Immunol. 2014;32(4):DOI 10.12932/AP0447. 32.4. 2014.

16.Chiu YS, Wei CC, Lin YJ, Hsu YH, Chang MS. IL-20 and IL-20R1 antibodies protect against liver fibrosis. Hepatol. 2014;60(3):1003-14.

17.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(3):255-64.

18.Azimzadeh P, Romani S, Mirtalebi H, Reza Fatemi S, Kazemian S, Khanyaghma M, et al. Association of co-stimulatory human B-lymphocyte antigen B7-2 (CD86) gene polymorphism with colorectal cancer risk. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2013;6(2):86-91.

19.Wei C-C, Hsu Y-H, Li H-H, Wang Y-C, Hsieh M-Y, Chen W-Y, et al. IL-20: biological functions and clinical implications. J Biomed Sci. 2006;13(5):601-12.

20.Wang S, Huang D, Sun S, Ma W, Zhen Q. Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis B to interferon alfa. Virol J. 2011;8(28):1-6.

21.Najjar Sadeghi R, Sahba N, Vahedi M, Mohebbi SR, zali MR. Association of intron and exon polymorphisms of p53 gene in Iranian patients with gastritis. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2013;6(1):545-51.

22.Savabkar S, Azimzadeh P, Chaleshi V, Nazemalhosseini Mojarad E, Asadzadeh Aghdaei H. Programmed death-1 gene polymorphism (PD-1.5 C/T) is associated with gastric cancer. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2013;6(4):176-82.

23.Habibi M, Naderi N, Farnood A, Balaii H, Dadaei T, Almasi S, et al. Association between two single base polymorphisms of intercellular adhesion molecule 1 gene and inflammatory bowel disease. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2016;6(2):87-93.

24.Arkani M, Karimi K, Safaei A, Vahedi M, Mohebi S, Fatemi S, et al. Association of IGFBP3 Gene (rs2854744) Polymorphism and Colorectal Cancer. J Babol Univ Med Sci. 2012;14(3):46-51.[InPersian].

25.Azimzadeh P, Mohebbi S, Romani S, Kazemian S, irtalebi H, Vahedi M, et al. Role of TGF-β1 Codon 10 Polymorphism in Chronic Hepatitis C Patients. J Babol Univ Med Sci. 2011;13(4):26-33.[In Persian].

26.Haghighi, M, Mohebbi S, Pour Hoseingholi, MA, Taleghani, MY, Fatemi S, Zali M. Association of Allele 61888G>T Polymorphism VDR Gene and Colorectal Cancer. J Babol Univ Med Sci. 2010;12(1):24-8.[In Persian].

27.Thompson P, Blumberg H, Chandrasekher YA, Novak JE. Methods of treatment using anti-IL-20 antibodies. Google Patents; 2013.

28.Khanizadeh S, Ravanshad M, Mohebbi SR, Naghoosi H, Tahaei ME, Mousavi Nasab SD, et al. Polymorphisms within the Promoter Region of the Gamma Interferon (IFN-γ) Receptor1 Gene are Associated with the Susceptibility to Chronic HBV Infection in an Iranian Population. Hepat Mon. 2012;12(11):e7283.

29.Behelgardi A, Hosseini SM, Mohebbi SR, Azimzadeh P, Derakhshani S, Karimi K, et al. A Study on Genetic Association of Interleukin-16 Single Nucleotide Polymorphism (rs1131445) With Chronic Hepatitis B Virus Infection in Iranian Patients. Jundishapur J Microbiol. 2015;8(11):e23411.

30.Kazemi Arababadi M, Pourfathollah A, Jafarzadeh A, Hassanshahi GH, Rezvani M. Exon 9 of Vitamin D Receptor Association with Occult Hepatitis B Virus Infection. Journal of Babol University Of Medical Sciences. 2009;11(4):19-24.

31.Jiang X, Su K, Tao J, Fan R, Xu Y, Han H, et al. Association of STAT4 polymorphisms with hepatitis B virus infection and clearance in Chinese Han population. Amino Acids. 2016;48(11):2589-98.

32.Komatsu H, Murakami J, Inui A, Tsunoda T, Sogo T, Fujisawa T. Association between single-nucleotide polymorphisms and early spontaneous hepatitis B virus e antigen seroconversion in children. BMC Research Notes. 2014;7(1):789.

33.Song JE, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. Annals of Translational Medicine. 2016;4(18).

34.Miller SA ea. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.

35.Arbabi-Aval E, Mohebbi SR, Rostami F, Habibi M, Vahedi M, Almasi S, et al. Study of Association between Interleukin 20 Polymorphism (Rs1518108) and Chronic Hepatitis C Infection. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2013;15(7):35-8.

36.Chang M-s. Use of IL-20 Antagonists for Treating Liver Diseases. US Patent 20,140,120,094; 2014.

37.Chang M-S. Treatment of Osteoarthritis Using IL-20 Antagonists. Google Patents; 2013.

38.Fonseca-Camarillo G, Furuzawa-Carballeda J, Llorente L, Yamamoto-Furusho JK. IL-10—and IL-20—Expressing Epithelial and Inflammatory Cells are Increased in Patients with Ulcerative Colitis. Journal of clinical immunology. 2013;33(3):640-8.

39.Kragstrup TW, Otkjaer K, Holm C, Jørgensen A, Hokland M, Iversen L, et al. The expression of IL-20 and IL-24 and their shared receptors are increased in rheumatoid arthritis and spondyloarthropathy. Cytokine. 2008;41(1):16-23.

40.Fife MS, Gutierrez A, Ogilvie EM, Stock CJ, Samuel JM, Thomson W, et al. Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis. Arthritis research & therapy. 2006;8(5):R148.

41.Traks T, Koido K, Eller T, Maron E, Kingo K, Vasar V, et al. Polymorphisms in the interleukin-10 gene cluster are possibly involved in the increased risk for major depressive disorder. BMC medical genetics. 2008;9(1):111.
42.Kunz S, Wolk K, Witte E, Witte K, Doecke WD, Volk HD, et al. Interleukin (IL)-19, IL-20 and IL-24 are produced by and act on keratinocytes and are distinct from classical ILs. Experimental dermatology. 2006;15(12):991-1004.
43.Wolk K, Haugen HS, Xu W, Witte E, Waggie K, Anderson M, et al. IL-22 and IL-20 are key mediators of the epidermal alterations in psoriasis while IL-17 and IFN-γ are not. Journal of molecular medicine. 2009;87(5):523-36.
44.Kingo K, Koks S, Nikopensius T, Silm H, Vasar E. Polymorphisms in the interleukin-20 gene: relationships to plaque-type psoriasis. Genes and immunity. 2004;5(2):117-21.
45.Koks S, Kingo K, Vabrit K, Rätsep R, Karelson M, Silm H, et al. Possible relations between the polymorphisms of the cytokines IL-19, IL-20 and IL-24 and plaque-type psoriasis. Genes and immunity. 2005;6(5):407-15.
46.Otkjaer K, Kragballe K, Johansen C, Funding AT, Just H, Jensen UB, et al. IL-20 gene expression is induced by IL-1β through mitogen-activated protein kinase and NF-κB-dependent mechanisms. Journal of Investigative Dermatology. 2007;127(6):1326-36.
47.Rich BE, Kupper TS. Cytokines: IL-20—a new effector in skin inflammation. Current Biology. 2001;11(13):R531-R4.