بررسی جهش CCR5-Δ32 در افراد سالم و بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن B مراجعه‌کننده به آزمایشگاه تشخیص بالینی سازمان انتقال خون ایران

سجاد جلالی[۲،۱](M.Sc)،زهره شریفی[*۲](Ph.D)، محمدحسین صنعتی[۳،۲](Ph.D)، سیدابوالحسن شاهزاده فاضلی[۴،۲](Ph.D)

۱- *دانشگاه علم و فرهنگ، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی*

۲- *موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، مرکز تحقیقات انتقال خون*

۳- *پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، گروه پژوهشی ژنتیک پزشکی*

۴- *پژوهشگاه رویان، پژوهشکده تولیدمثل، گروه پژوهشی ژنتیک ناباروری*

چکیده

سابقه و هدف: CCR5یکی از مهم‌ترین گیرنده کموکاینی است که در فراخواندن سلول‌های ایمنی اختصاصی ضدویروسی به کبد نقش دارد.CCR5-Δ32یک آلل با حذف ۳۲ جفت‌بازی است که فاقد عمل‌کرد می‌باشد. تاکنون چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که این موتاسیون ممکن است با بهبود بیماری و یا با تداوم عفونت ویروس هپاتیت (BHBV) مرتبط باشد. هدف اصلی این مطالعه مقایسه فراوانی جهش Δ32 در ژن CCR5 در دو گروه، بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن B و افراد سالم به عنوان شاهد در ایران بود.

مواد و روش‌ها: ۱۰۰ بیمارHBsAg مثبت و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان شاهد به‌طور تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌های خون افراد از نظر HBsAg به وسیله تکنیک الایزا و از نظر HBV-DNA توسط روشPCRارزیابی شدند. DNA ژنومی با روش نمک اشباع و از بافی‌کوت استخراج شد و سپس ژنوتایپ‌های ژن CCR5 به کمک روش PCR تعیین گردید.

یافته‌ها:نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ‌کدام از نمونه‌ها در گروه شاهد و بیمار دارای جهش CCR5-Δ32 نبودند؛ لذا CCR5-Δ32 جهش شایعی در افراد سالم و نیز مبتلایان به عفونت مزمن HBV در جمعیت مورد مطالعه نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری:از آن‌جا که هیچ اختلافی بین گروه شاهد و بیمار از نظر فراوانی آللی و ژنوتایپی وجود نداشت، به نظر می‌رسد که ارتباطی بین این جهش و عفونت مزمن HBV در بیماران ایرانی وجود نداشته باشد، بنابراینCCR5-Δ32 در جمعیت مورد مطالعه به عنوان یک فاکتور ژنتیکی میزبان در تداوم عفونت HBV تاثیرگذار نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: CCR5، جهش Δ32، هپاتیت مزمن B، افراد سالم

مقدمه

ویروس هپاتیت B (HBV) یک DNA ویروس هپاتوتروپیک است که بیماری کبدی حاد یا مزمن ایجادمی‌کند[۱]. علاوه برعوامل محیطی و ویروسی متعددی که در استمرار عفونتHBV، پیش‌رفت بیماری کبدی مرتبط با HBVو پاسخ به درمان تاثیرگذار می‌باشند، فاکتورهایژنتیکی میزبان هم در آن نقش دارند [۲]. برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند، ظرفیت تولید سایتوکاین‌ها در افراد می‌تواند میزان

* نویسنده مسئول، تلفن:۸۲۰۵۲۲۳۳-۰۲۱ نمابر: ۸۸۶۰۱۵۵۵-۰۲۱

Email: z.sharifi@ibto.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۲۶

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

پیش‌رفت عفونت HBV را مشخص کند[۳-۵].

کموکاین‌ها، خانواده بزرگی از سایتوکاین‌های کموتاکتیک هستند که اثر خود را از طریق اتصال به گیرنده‌های وابسته به-Gپروتئین‌ها (GPCRs) اعمال می‌کنند[۷,۶]. این احتمال وجود دارد که در هپاتیت ویروسی کموکاین‌ها باعث تجمع و فعال‌سازی لوکوسیت‌ها در بافت شوند، در نتیجه واکنش کموکاین‌ها با گیرنده‌شان، هدف‌های جدیدی برای درمان بیماری فراهم می‌شود [۸].

CCR5یک گیرنده کموکاینی دارای لیگاندهای مهمی نظیر(MIP-1α) CCL3، (MIP-1β) CCL4و CCL5 (RANTES)است که در ایجاد کموتاکسی و بسیج سلول‌های صلاحیت‌دار ایمنی به کبد جهت پاک‌سازی کامل ویروس نقش عمده‌ای دارد [۹]. به خصوص که این گیرنده در سطح بسیاری از سلول‌های ایمنییعنی گرانولوسیت‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک نابالغ، لنفوسیت‌های +CD8 و لنفوسیت‌های Th1 بیان می‌شود[۱۰]. بررسی‌ها نشان داده است که واکنش میان لیگاندهای این گیرنده کموکاینی(CCL3، CCL4و CCL5) با گیرنده کموکاینی نوع ۵ (CCR5) منجر به فعال‌سازی سلول‌های Th1 برای پاسخ به عفونت‌های درون سلولی از جمله ذرات ویروسی می‌گردد[۱۲,۱۱]؛ بنابراین تغییر در بیان این گیرنده ممکن است منجر به پاسخ‌های ایمنی نامناسب علیه هپاتیت ویروسی گردد که این موضوع خود منشا یک سری از مطالعه‌ها است.

به نظر می‌رسد بررسی ویژگی‌های این گیرنده در شرایط مختلف و در ارتباط با پاتوژن‌های مختلف از اهمیت زیادی برخوردار باشد، برای مثال HIV-1 پاتوژنی است که گیرنده کموکاینی نوع ۵ در ارتباط با آن مورد مطالعه زیادی قرار گرفته است چراکه گیرنده کموکاینی نوع ۵ به عنوان کمک‌گیرنده (Coreceptor) ویروس HIV-1 نیز مطرح می‌باشد[۱۴,۱۳].

ژن گیرنده کموکاینی نوع ۵ روی بازوی کوتاه کروموزوم ۳ قرار دارد [۱۶,۱۵]. برای این ژن دست کم تاکنون ۷۴ موتاسیون توضیح داده شده است [۱۸,۱۷]. مهم‌ترین موتاسیون شامل یک حذف ۳۲ نوکلئوتیدی (CCR5-Δ32) از تنها اگزون این ژن می‌باشد که منجر به ایجادیک مولکول CCR5کوتاه شده و غیرفعال می‌گردد. ژنوتیپ هموزیگوت این جهش، فرم بسیار مقاوم به آلودگی‌های HIV-1 است و فرم هتروزیگوت آن با به تاخیر انداختن ۴-۲ ساله‌ی بیماری ایدز در ارتباط است [۲۱,۱۵-۱۹]. این موتاسیون در جمعیت اروپایی-آمریکایی با فراوانی آللی ۱۵٪-۵ رایج می‌باشد[۲۳,۲۲]. هدف از انجام این مطالعه تعیین حضور CCR5-Δ32 در ارتباط با عفونت مزمن HBV و تعیین تفاوت فراوانی در بیماران و افراد سالم در ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی، ۲۰۰ نمونه خون از مهر تا دی ماه ۱۳۹۱ جمع‌آوری گردید، ۱۰۰ فرد سالم بدون هیچ سابقه ابتلا به عفونتHBV ، HCVو HIV (۶۱مرد، ۳۹ زن، میانگین سنی ۱۸/۳±۴۰/۱۲) به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند و نیز ۱۰۰ بیمار مبتلا به HBV (۵۹مرد، ۴۱ زن، میانگین سنی ۱۴/۳±۴۰/۹۹) گروه بیماران را تشکیل دادند. افراد بیمار هم هیچ‌گونه سابقه ابتلا به عفونتHBV، HCVو HIV نداشتند. این افراد از مراجعه‌کنندگان به آزمایش‌گاه تشخیص بالینی سازمان انتقال خون ایران، به صورت تصادفی انتخاب شدند. تمام شرکت‌کنندگان ایرانی و غیرخویشاوند بودند. این پژوهش مورد تایید کمیته اخلاق پزشکی قرار گرفت و شرکت‌کنندگان با پر کردن فرم پرسش‌نامه رضایت کتبی خود را مبنی بر شرکت در این پژوهش اعلام نمودند. تمام کسانی که به عنوان گروه شاهد بودند،نمونه خون آن‌ها از نظر حضورHBsAgبا استفاده از تست ELISA منفی تشخیص داده شده بود و افرادی که به عنوان گروه بیماران انتخاب شدند علاوه بر این‌کهHBsAgآن‌ها بیش از ۶ ماه مثبت تشخیص داده شده بود، از نظر وجود HBV-DNA هم (با تشخیص کیفی توسط PCRو یا سنجش کمی Viral load توسط Real time-PCR) مثبت بودند. نمونه‌های خون محیطی در لوله‌های حاوی پتاسیم EDTA (به عنوان ماده ضد انعقاد) از افراد تهیه و پس از

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

سانتریفوژ در دور ۲۷۰۰ rpmبه مدت ۱۰ دقیقه لایه بافی‌کوت جداسازی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند.

استخراج DNA ژنومی از لایه بافی‌کوت با روش نمک اشباع انجام شد [۲۴]. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Camspec)نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر (طول موجی که DNA حداکثر جذب را دارد) به ۲۸۰ نانومتر (طول موجی که در آن پروتئین حداکثر جذب را دارد) اندازه گرفته شد و نمونه‌هایی که بهترین خلوص را داشتند ($۱/۸< OD^{260/}_{280}<۲$) جهت استفاده در فرآیند PCR در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

جهت تعیین ژنوتیپ‌های CCR5-Δ32 از تکنیک PCR استفاده شد. از آن جا که CCR5-Δ32 یک جهش با حذف ۳۲ جفت‌بازی است، طراحی پرایمرهای مورد استفاده به گونه‌ای بود که ناحیه حذف شده را به طور کامل در برداشته باشند؛ بنابراین براساس اندازه قطعه مورد نظر به وجود جهش در این ناحیه پی برده می‌شود، به گونه‌ای که پرایمرهایک قطعه ۱۸۸ جفت‌بازی را در نوع وحشی (بدون جهش) تکثیر می‌دادند و وجود محصول PCR با اندازه ۱۵۶ جفت‌باز نشان‌دهنده وجود جهش Δ32 بود. توالی پرایمرهای مذکور این گونه بود:

پرایمر فوروارد:

5'-CAAAAAGAAGGTCTTCATTACACC-3'

و پرایمر ریورس:

5'-CCTGTGCCTCTTCTTCTCATTTCG-3'

واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد و شامل این مواد بود:µl ۱۲/۵از مخلوط واکنش با دو برابر غلظت (TaKaRa, Japan)، µl ۱۰/۵از هر کدام از پرایمرهای فوروارد و ریورس (شرکت سیناکلون، ایران) با غلظت ۱۰ پیکومول، µl ۲/۵ DNA ژنومی استخراج شده به عنوان الگو و در نهایت آب مقطر (به مقدار لازم تا به حجمµl۲۵برسد). PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (Corbett) در دمایواسرشت‌سازی (Denaturation temperature)اولیه°C ۹۴به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل به ترتیب با دمای واسرشت‌سازی°C ۹۴به مدت ۴۵ ثانیه و دمای بهینه اتصال پرایمر (Annealing temperature)°C ۵۶به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر °C (Extension temperature)۷۲به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد و تکثیر نهایی در دمای°C ۷۲به مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. واکنش PCR ابتدا با استفاده از نمونه‌های کنترل نوع وحشی و موتانت ژن CCR5 (که در مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران موجود بودند) تنظیم و راه‌اندازی شد. سپس محصول PCRبه همراه نشان‌گر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت‌بازی (Marker XIV, Roche)توسط تکنیک الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵٪ مشاهده شد.

در نهایت ارتباط متغیرهای مورد نظر با استفاده از آزمون مربع کای (Chi square) به کمک نرم‌افزار SPSS-18 مورد بررسی قرار گرفتند. مقدار P کم‌تر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

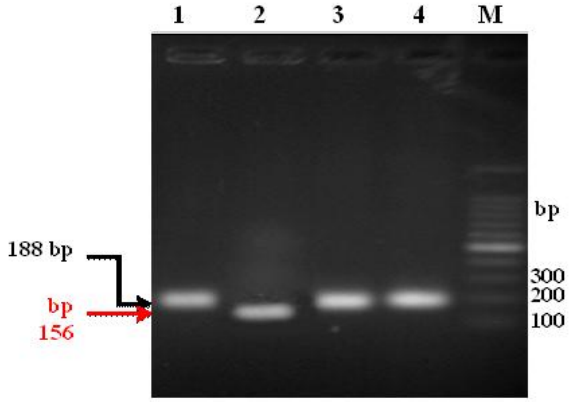
خصوصیات دو گروه بیمار و سالم در جدول ۱ با هم مقایسه شده است. میانگین سنی ۲۰۰ فرد مورد مطالعه در این پژوهش (شامل ۱۲۰ مرد و ۸۰ زن) ۱۶/۳±۴۰/۵۶ سال بود. از نظر میانگین سنی بین گروه شاهد و بیمار تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۴۰/۱۲ در مقابل ۴۰/۹۹، P=۰/۷). نتایجحاصل از تایید تکثیر قطعه مورد نظر که در نوع وحشی ۱۸۸ جفت‌باز و در نوع جهش‌یافته ۱۵۶ جفت‌باز طول داشت، پس از الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ در شکل ۱ نشان داده شده است.

بررسی‌ها در این مطالعه نشان داد که به طور جالبی فراوانی آللی جهش CCR5-Δ32 در هر دو گروه کنترل و بیماران مبتلا به عفونت مزمن هپاتیتB برابر با صفر بود، یعنی در جمعیت مورد مطالعه نه تنها ژنوتایپ هموزیگوت جهش (Δ32/Δ32) مشاهده نشد، بلکه فراوانی ژنوتایپ هتروزیگوت(Δ32/+) هم برابر صفر بود. لازم به ذکر است که توزیع آللی حاصل مطابق با تعادل هاردی‌وواینبرگ بود.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

جدول ۱. خصوصیات دموگرافیک گروه‌های شاهد وبیمار

گروه	تعداد	جنسیت (زن | مرد)	سن (انحراف معیار ± میانگین)
افراد شاهد	۱۰۰	۶۱| ۳۹	۴۰/۱۲ ± ۱۸/۳
افراد بیمار	۱۰۰	۵۹ | ۴۱	۴۰/۹۹ ± ۱۴/۳
کل جمعیت	۲۰۰	۱۲۰ | ۸۰	۴۰/۵۶ ± ۱۶/۳



شکل ۱.الکتروفورز محصول PCR ژن *CCR5* روی ژل آگارز

ستون ۱: نمونه کنترل منفی بدون جهش (قطعهbp ۱۸۸)، ستون ۲: نمونه کنترل مثبت حاوی جهشΔ32 (قطعه bp ۱۵۶)، ستون ۳: نمونه فرد سالم، ستون ۴: نمونه فرد مبتلا به هپاتیت مزمن B. تمامی افراد سالم و بیمار فاقد این موتاسیون بودند (قطعه‌هایbp ۱۸۸)، ستون M: سایز مارکر bp ۱۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

مولکول CCR5 به عنوان گیرنده‌ی کموکاین‌های مهمی نظیر CCL3، CCL4 و CCL5 در طی پاسخ‌های ایمنی اعمال مختلفی را انجام می‌دهد[۲۵]. عمده تحقیقات روی این گیرنده مربوط به بیماران ایدزی می‌شود، زیرا این مولکول به عنوان کمک‌گیرنده سویه‌ی ماکروفاژ دوست HIV-1محسوب می‌شود [۲۶–۲۸] توجه به گیرنده کموکاینی نوع ۵ زمانی زیاد شد که نشان داده شد این مولکول به عنوان یکی از کمک‌گیرنده‌ها جهت ورود HIV-1 به درون سلول در طول آلودگی اولیه عمل می‌کند[۲۹]. میزان بیان گیرنده کموکاینی نوع ۵ در سطح سلول هر فرد در تعیین میزان تاثیرگذاری HIV-1 بر وی دخیل است. برای مثال افرادی که به دلیل داشتن موتاسیونΔ32-CCR5، مقدار گیرنده کموکاینی نوع ۵ کم‌تری دارند، مقاومت بیش‌تری به آلودگی HIV-1 دارند [۳۰] و هم‌چنین گستردگی آلودگی در افراد مبتلا کم‌تر می‌شود[۲]؛ بنابراین گیرنده کموکاینی نوع ۵ یک هدف مهم برای طراحی داروها است که به نظر می‌رسد برای پیام‌رسانی در سلول‌هایT نرمال ضروری نیست[۳۱].

نتایج ما نشان داد که Δ32-CCR5 جهشی است با فراوانی بسیار اندک در جامعه ایران، به طوری که فراوانی آلل آن برابر با صفر بود. این نتایج با مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۸ که در آن محققان گزارش کرده بودند Δ32-CCR5 تقریباً در تمام کشورهای غیراوروپایی شامل آسیا، اقیانوسیه و کشورهای جنوب صحرای آفریقا وجود ندارد، سازگاری کامل دارد [۳۲]. هم‌چنین بررسی موتاسیون مذکور توسط پژوهشگران در برخی از دیگر نقاط ایران به ویژه جمعیت جنوب شرقی ایران در ارتباط با برخی بیماری‌ها، موییافته‌های ما مبنی بر فراوانی بسیار اندک این آلل در جامعه ایرانی است [۳۳–۳۶]. در یکی از مطالعات که توسط دکتر مجتهدی و همکاران در شیراز انجام گرفته است، ارتباط بینΔ32-CCR5 با سندرم بهجت (Behçet's Syndrome) در بیماران ایرانی وابسته به جنس مونث گزارش شده است. البته در این مطالعه نیز هیچ موردی از ژنوتایپ هموزیگوت جهش گزارش نگردیده است و به علاوه بین فراوانی ژنوتایپی جهش در گروه‌های شاهد و بیمار تفاوت معنی‌داریافت نشده است ولی برای زنان در گروه بیمار نسبت به زنان سالم در گروه شاهد تفاوت معنی‌داری در فراوانی آللی جهش گزارش شده است (۱۲/۳٪ در مقابل ۵٪، P=۰/۰۴۷) [۳۷].

در این مطالعه ارتباطی میان موتاسیونΔ32-CCR5 با بیماری هپاتیت مزمن B مشاهده نشد. مشابه با نتایج ما در این تحقیق، در مطالعه‌ای که در لهستان انجام شده بودهیچ مورد Δ32-CCR5، در افراد آلوده به هپاتیت مزمن B گزارش نشد [۳۸]. هم‌چنین مطالعه Ahn و همکاران در کره جنوبی روی بیماران مبتلا به شکل حامل مزمن هپاتیتB نشان داد که بیماران مذکور هیچ‌گونه فرمی از جهش Δ32-CCR5 را نداشتند [۲]. بر اساس مطالعه Thio و همکاران شیوع این جهش در جامعه آمریکا بسیار قابل توجه (برابر ۱۱٪) نشان داده شده است. در بررسی آن‌ها وجود Δ32-CCR5 در فرم

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

هتروزیگوت با بهبودی و حذف آلودگیHBV مرتبط اعلام شد. بر اساس مطالعه آن‌ها، CCR5 گیرنده‌ای است که به ویروس در جهت پایداری و ایجاد بیماری مزمن کمک می‌کند هرچند مکانیسم دقیق آن مشخص نمی‌باشد [۳۹]. متفاوت‌ترینیافته‌ها مربوط به مطالعه Suneetha و همکاران در هند روی افراد مبتلا به فرم مزمن هپاتیتB است که گزارش شده است وجود CCR5-Δ32 در فرم هتروزیگوت با مزمن شدن بیماری در ارتباط است [۴۰]. نتایج این محققان نشان داد که میزان جهش در فرم هتروزیگوت در گروه بیماران به طور معنی‌داری بالاتر می‌باشد.

به هر حال برای مطالعه بیش‌تر نقش جهشCCR5-Δ32 در عفونت HBV لازم است مطالعه جمعیتی بیش‌تری صورت گیرد. به ویژه با توجه به این حقیقت که ایران کشوری است با قومیت‌های متعدد و تنوع ژنتیکی وسیعی دارد، لذا ممکن است فراوانی این موتاسیون در اقوام مختلف متفاوت باشد، بنابراین لازم است اقوام و نژادهای گوناگون هم از نظر شیوع جهش مذکور مورد بررسی قرار گیرند. این امر می‌تواند به روشن شدن مکانیسم‌های پاتوژنز در بیماری هپاتیت مزمن B نیز کمک کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران به ویژه کلیه کارکنان آزمایش‌گاه ویروس‌شناسی که صمیمانه ما را در این مهم یاری کردند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

[1] Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathology. Springer SeminImmunopathol1995; 17:261-281.

[2] Ahn SH, Kim do Y, Chang HY, Hong SP, Shin JS, Kim YS, et al. Association of genetic variations in CCR5 and its ligand, RANTES with clearance of hepatitis B virus in Korea. J Med Virol 2006; 78:1564-1571.

[3] Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, Kfir B, Sulkes J, Tambur AR, et al. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. Am J Gastroenterol 2003; 98:144-150.

[4] Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, Kajiya Y, Kitajima K, Nakao K, et al. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus. Am J Gastroenterol 2002; 97:2086-2092.

[5] Mosmann TR. Properties and functions of interleukin-10. AdvImmunol 1994;56:1-26.

[6]Luster AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. N Engl J Med 1998; 338:436-445.

[7]Murai M, Yoneyama H, Harada A, Yi Z, Vestergaard C, Guo B, et al. Active participation of CCR5(+)CD8(+) T lymphocytes in the pathogenesis of liver injury in graft-versus-host disease. J Clin Invest 1999; 104:49-57.

[8] Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. Annu Rev Immunol 1999;17:657-700.

[9] Ajuebor MN, Carey JA, Swain MG. CCR5 in T cell-mediated liver diseases: what's going on? J Immunol 2006;177:2039-2045.

[10] Wong MM, Fish EN. Chemokines: attractive mediators of the immune response. SeminImmunol 2003; 15:5-14.

[11] Crane IJ, Xu H, Wallace C, Manivannan A, Mack M, Liversidge J, et al. Involvement of CCR5 in the passage of Th1-type cells across the blood-retina barrier in experimental autoimmune uveitis. J LeukocBiol 2006; 79:435-443.

[12]Khan IA, Thomas SY, Moretto MM, Lee FS, Islam SA, Combe C, et al. CCR5 is essential for NK cell trafficking and host survival following Toxoplasma gondii infection. PLoSPathog 2006; 2:e49.

[13] Guerini FR, Delbue S, Zanzottera M, Agliardi C, Saresella M, Mancuso R, et al. Analysis of CCR5, CCR2, SDF1 and RANTES gene polymorphisms in subjects with HIV-related PML and not determined leukoencephalopathy. Biomed Pharmacother 2008; 62:26-30.

[14]Maeda K, Das D, Yin PD, Tsuchiya K, Ogata-Aoki H, Nakata H, et al. Involvement of the second extracellular loop and transmembrane residues of CCR5 in inhibitor binding and HIV-1 fusion: insights into the mechanism of allosteric inhibition. J MolBiol 2008; 381:956-974.

[15] Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. Nature 1996; 382:722-725.

[16] Hütter G, Neumann M, Nowak D, Klüter H, Hofmann WK. The beneficial effect of the CCR5-d32 deletion in GvHD. Chemokine function or gene cluster coexpression aside HLA match? VoxSanguinis 2010;99(S1):P-1101.

[17]Bream JH, Young HA, Rice N, Martin MP, Smith MW, Carrington M, O'Brien SJ. CCR5 promoter alleles and specific DNA binding factors. Science 1999; 284:223.

[18] Carrington M, Dean M, Martin MP, O'Brien SJ. Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its consequences. Hum Mol Genet 1999; 8:1939-1945.

[19] Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS cohort study, multicenter hemophilia cohort study, san franciscocity cohort, ALIVE study. Science 1996; 273:1856-1862.

[20] Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. Cell 1996; 86:367-377.

[21] Zimmerman PA, Buckler-White A, Alkhatib G, Spalding T, Kubofcik J, Combadiere C, et al. Inherited resistance to HIV-1 conferred by an inactivating mutation in CC chemokine receptor 5: studies in populations with contrasting clinical phenotypes, defined racial background, and quantified risk. Mol Med 1997; 3:23-36.

[22] Libert F, Cochaux P, Beckman G, Samson M, Aksenova M, Cao A, et al. The deltaccr5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. Hum Mol Genet 1998; 7:399-406.

[23]Stephens JC, Reich DE, Goldstein DB, Shin HD, Smith MW, Carrington M, et al. Dating the origin of the CCR5-Delta32 AIDS-resistance allele by the coalescence of haplotypes. Am J Hum Genet 1998; 62:1507-1515.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

[24] Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16:1215.

[25] Aldinucci D, Lorenzon D, Cattaruzza L, Pinto A, Gloghini A, Carbone A, Colombatti A. Expression of CCR5 receptors on Reed-Sternberg cells and Hodgkin lymphoma cell lines: involvement of CCL5/Rantes in tumor cell growth and microenvironmental interactions. Int J Cancer 2008; 122:769-776.

[26] Singh H, Sachan R, Jain M, Mittal B. CCR5-Delta32 polymorphism and susceptibility to cervical cancer: association with early stage of cervical cancer. Oncol Res 2008; 17:87-91.

[27] Nahon P, Sutton A, Rufat P, Simon C, Trinchet JC, Gattegno L, et al. Chemokine system polymorphisms, survival and hepatocellular carcinoma occurrence in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. World J Gastroenterol 2008; 14:713-719.

[28] Jin Q, Agrawal L, Meyer L, Tubiana R, Theodorou I, Alkhatib G. CCR5Delta32 59537-G/A promoter polymorphism is associated with low translational efficiency and the loss of CCR5Delta32 protective effects. J Virol 2008; 82:2418-2426.

[29] Mueller A, Strange PG. The chemokine receptor, CCR5.Int J Biochem Cell Biol 2004; 36:35-38.

[30] Michael NL, Louie LG, Rohrbaugh AL, Schultz KA, Dayhoff DE, Wang CE, Sheppard HW. The role of CCR5 and CCR2 polymorphisms in HIV-1 transmission and disease progression.Nat Med 1997; 3:1160-1162.

[31]Thelen M. Dancing to the tune of chemokines. Nat Immunol 2001; 2:129-134.

[32] Magierowska M, Lepage V, Boubnova L, Carcassi C, de Juan D, Djoulah S, et al. Distribution of the CCR5 gene 32 base pair deletion and SDF1-3'A variant in healthy individuals from different populations. Immunogenetics 1998; 48:417-419.

[33] Gharagozloo M, Doroudchi M, Farjadian S, Pezeshki AM, Ghaderi A. The frequency of CCR5Delta32 and CCR2-64I in southern Iranian normal population.ImmunolLett 2005; 96:277-281.

[34] Arababadi MK, Naghavi N, Hassanshahi G, Mahmoodi M. Is CCR5-Delta32 mutation associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes? Ann Saudi Med 2009; 29:413.

[35] Abousaidi H, Vazirinejad R, Arababadi MK, Rafatpanah H, Pourfathollah AA, Derakhshan R, et al. Lack of association between chemokine receptor 5 (CCR5) delta32 mutation and pathogenesis of asthma in Iranian patients. South Med J 2011; 104:422-425.

[36] KhorramKhorshid HR, Manoochehri M, Nasehi L, Ohadi M, Rahgozar M, Kamali R. Ccr2-64i and Ccr5 Delta32 Polymorphisms in Patients with Late-Onset alzheimer's disease; A Study from Iran (Ccr2-64i And Ccr5 Delta32 Polymorphisms in Alzheimer's disease). Iran J Basic Med Sci 2012; 15:937-944.

[37]Mojtahedi Z, Ahmadi SB, Razmkhah M, Azad TK, Rajaee A, Ghaderi A. Association of chemokine receptor 5 (CCR5) delta32 mutation with Behcet's disease is dependent on gender in Iranian patients. ClinExpRheumatol 2006; 24:S91-94.

[38] Ganczak M, Bohatyrewicz A, Szych Z, Bialecki P. [Markers of hepatitis B, C and HIV among orthopedic patients and staff at a Polish university hospital]. ChirNarzadowRuchuOrtop Pol 2008; 73:83-88.

[39] Thio CL, Astemborski J, Bashirova A, Mosbruger T, Greer S, Witt MD, et al. Genetic protection against hepatitis B virus conferred by CCR5Delta32: Evidence that CCR5 contributes to viral persistence. J Virol 2007; 81:441-445.

[40] Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A, Kumar GT, Shukla DK, Hissar S. Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease. J Hepatol 2006; 44:856-863.

[41] Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H, Zarandi ER, Moradi M, Mahmoodi M. No detected hepatitis B virus-DNA in thalassemic patients infected by hepatitis C virus in Kerman province of Iran. Pak J BiolSci 2008; 11:1738-1741.

.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

Survey on CCR5-Δ32 mutation in healthy individuals and patients with chronic hepatitis B referred to the clinical laboratory of Iranian Blood Transfusion Organization

Sajjad Jalali(M.Sc)[1,2], Zohreh Sharifi(Ph.D)[*1], Mohammad Hossein Sanati(Ph.D)[2,3], Abolhassan Shahzadeh Fazeli (Ph.D)[2, 4]

1 - Department of cell and molecular Biology, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran

2 - Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

3 - Department of Medical Genetic, National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

4 - Department of Genetics, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

(Received: 10 Jul 2013; Accepted: 21 Jul 2013)

Introduction: CCR5 is one of the most important chemokine receptor involved in the recruitment of specific anti-viral immune cells to the liver. CCR5-Δ32 is a functionally null allele of CCR5 gene with a 32-bp deletion. Several studies have reported that this mutation may be associated with recovery from acute hepatitis B or persistence of HBV infection. The main purpose of this study was to compare the frequency of the Δ32 mutation within the CCR5 gene in a group of chronic HBV infected patients with healthy individuals in Iran.

Materials and Methods: A total of 200 blood samples including 100 healthy individuals and 100 HBsAg positive patients were randomly selected. The samples were tested for HBsAg by ELISA and HBV-DNA by PCR method. Genomic DNA was extracted by salting out method. CCR5-Δ32 mutation was genotyped by PCR with specific primers.

Results: The results of this study showed that none of the subjects in the control and patient groups had a 32-bp deletion in the CCR5 gene. CCR5-Δ32 was not a prevalent mutation in control group and HBV infected patients in Iran.

Conclusion: No significant difference was observed in genotypes frequency of CCR5-Δ32 between control group and HBV infected patients, therefore it seems that this mutation is not associated with persistence of HBV infection in Iranian patients.

Keywords: CCR5, Chronic hepatitis B, Mutation

* Corresponding author: Fax: +98 21 88601555; Tel +98 21 82052233
z.sharifi@ibto.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-21]

How to cite this article:
Jalali S, Sharifi Z, Sanati M, Shahzadeh Fazeli A. Survey on CCR5-Δ32 mutation in healthy individuals and patients with chronic hepatitis B referred to the clinical laboratory of Iranian Blood Transfusion Organization. koomesh. 2014; 15 (3) :359-364

URL http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a_code=A-10-2117-1&slc_lang=fa&sid=1