

## بررسی آنتی ژنهای HLA کلاس دو در بیماران آسمی آتوپیک

ابراهیم علیجانی\*، دکتر مهدی شکرابی\*\*، ملیحه کم گویان\*\*\*، دکتر صبا عرشی\*\*\*\*

\* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی و هماتولوژی  
 \*\* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی  
 \*\*\* سازمان انتقال خون ایران، پایگاه تهران، بخش پیوند  
 \*\*\*\* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، بیمارستان امیرالمؤمنین(ع)، بخش ایمونولوژی و آلرژی

### چکیده

سیستم اصلی سازگاری نسجی (MHC) که نقش زیست شناختی مهمی را در پاسخهای ایمنی ایفاء می کند، با بسیاری از بیماریهای انسانی مرتبط می باشد. در سالهای اخیر وجود ارتباط مستحکم بین بیماریهای آلرژیک و آنتی ژنهای HLA نیز به اثبات رسیده است. هدف این مطالعه، بررسی رابطه آسم آلرژیک و آنتی ژنهای سیستم HLA بر روی بیماران مبتلا به آسم آتوپیک می باشد.

این مطالعه به صورت مورد - شاهدهی بر روی ۳۰ بیمار مبتلا به آسم آتوپیک و ۱۰۰ نفر از افراد سالم به عنوان گروه شاهد در سال ۱۳۷۶ در شهر تهران صورت گرفته است. آزمایش HLA-Typing به روش استاندارد N.I.H (میکروولنفوسایتوتوکسیسته) برای تعیین آنتی ژنهای کلاس دو افراد انجام و سپس به منظور تجزیه و تحلیل، فراوانی آنتی ژنی و فراوانی ژنی در دو گروه مورد مطالعه تعیین و اختلافات مشاهده شده با روشهای آماری آزمون کای دو و آزمون دقیق فیشر مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها نشان داد که بین بیماری آسم آلرژیک و برخی از آنتی ژنهای HLA کلاس دو، رابطه معنی داری وجود دارد، بطوریکه فراوانی آنتی ژنهای DR 2 و DR 53 در گروه بیماران نسبت به گروه شاهد افزایش و فراوانی آنتی ژنهای DR 5، DR 11، DR 52 و DR 1 در مبتلایان به آسم آلرژیک نسبت به گروه شاهد کاهش نشان دادند. با توجه به این یافته‌ها بین بروز یا عدم بروز بیماری آسم آلرژیک و آنتی ژنهای HLA رابطه معنی داری وجود دارد. (مجله طبیب شرق، سال پنجم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۲، ص ۱۳۵ تا ۱۴۱)

کلواژه ها: MHC - HLA، آسم، آتوپیک، آلرژیک، HLA-Typing

### مقدمه

آسم یکی از بیماریهای مزمن ریوی است که به علت حملات گاهگاهی برونکواسپاسم و تنگ شدن مجاری تنفسی، منجر به ایجاد اشکال در تنفس بیمار می گردد. این بیماری همچنین به عنوان شایع ترین بیماری مزمن دوران کودکی شناخته شده و در دهه های اخیر میزان مرگ و میر ناشی از آن افزایش یافته است.<sup>(۱)</sup>

نکته مهم و قابل توجه در رابطه با این بیماری نقش انکار ناپذیر مکانیسم های ایمنی شناختی در علت شناسی این بیماری می باشد. در بسیاری از بیماران مبتلا به آسم، زمینه های ازدیاد حساسیت نوع یک به صورت های مختلف مشاهده می شود و در

آسیب زائی بیماری نیز واکنشهای حساسیتی و آلرژی نقش عمده ای دارند.<sup>(۳،۲)</sup> آسم به ویژه در کودکان (بیش از ۹۰ درصد) و در بالغین (بیش از ۵۰ درصد) با آلرژی همراه است. در این حالت بیماران پس از تماس با آلرژنی که به آن حساسند، دچار حملات آسم می گردند.<sup>(۴)</sup>

مطالعات انجام شده نشان دهنده همراهی سیستم اصلی سازگاری بافتی (MHC) با پاره ای از بیماریها به ویژه بیماریهای خودایمنی<sup>(۶،۵)</sup> و همچنین بیماریهای آلرژیک نظیر آسم می باشد.<sup>(۷،۸)</sup> در پاره ای از مطالعات انجام شده رابطه ای بین آسم آلرژیک و آنتی ژنهای لوکوسیتی انسان

طیبیب شرق، سال پنجم، شماره ۲، تابستان ۸۲

عفونی، تنفسی، غددی، روماتیسمی، روانپریشی و غیره مبتلا نبودند. گروه شاهد نیز از ۱۰۰ فرد کاملاً سالم، متشکل از ۵۰ زن و ۵۰ مرد تشکیل شده بود.

از هر یک از افراد فوق ۱۰ میلی لیتر خون وریدی در شرایط استریل گرفته، پس از هپارینه کردن آن با ۰/۱۵ میلی لیتر هپارین ۵۰۰۰ واحد، سوسپانسیون لنفوسیتی با استفاده از فایکول هایپایک جدا شد. از آنجاییکه گروه بندی و تعیین نوع آنتی ژنهای HLA-D روی لنفوسیت‌های B قابل انجام است، (لنفوسیت‌های T در شرایط طبیعی و غیر فعال فاقد این آنتی ژنها هستند) این سلولها با استفاده از خاصیت جذب سطحی آنها به تارهای پشم نایلون از لنفوسیت‌های T جدا گردیدند. پس از آن سلولهای B چسبیده به پشم نایلون در طی شستشو جدا شده و با استفاده از روش میکرولفوسیتوتوکسیسیته به روش استاندارد N.I.H، آنتی ژنهای HLA کلاس دو در سطح آنها مشخص گردید. (۲۴-۲۵) آنتی سرمهای مورد استفاده در این پژوهش از بخش پالایشگاه سازمان انتقال خون ایران - تهران، تهیه شده بودند. پس از مشخص شدن نوع آنتی ژنهای HLA در سطح لنفوسیت‌های هر فرد، فراوانی آنتی ژنی و ژنی بیماران و افراد شاهد محاسبه شد.

با استفاده از آزمون آماری کای دو و آزمون دقیق فیشر، تفاوت فراوانی های مشاهده شده بررسی شد.

### یافته ها

در این مطالعه مشخص گردید که فراوانی آنتی ژنهای DR 2 با  $P=0/024$ ، DR 5 با  $P=0/003$ ، DR 11 با  $P=0/0026$ ، DR 52 با  $P=0/0028$  و DR 53 با  $P=0/0021$  از گروه آنتی ژنهای DR و آنتی ژن DQ 1 با  $P=0/0021$  از گروه آنتی ژنهای HLA - DQ در افراد بیمار در مقایسه با افراد شاهد دارای تفاوت معنی دار می باشند.

یافته ها نشان دادند که میزان بروز آنتی ژنهای DR 2 و DR 53 در بیماران افزایش فراوانی دارند، در حالی که آنتی

(HLA) گزارش نگردیده است، (۱۰۹) ولی در بررسی های دیگر رابطه این بیماری با آنتی ژنهای MHC نشان داده شده است، بطوریکه در برخی گزارش ها، رابطه آسم آتوپیک با آنتی ژنهای MHC کلاس یک (۱۱) و در پژوهشهای دیگر رابطه آن با مولکولهای کلاس دو بیان گردیده است. (۳ و ۴)

در پژوهشهایی که در انگلستان در سالهای ۱۹۸۰ (۱۲) و ۱۹۹۹ (۳) صورت گرفته است، ارتباط HLA و بیماری آسم آلرژیک مورد بررسی قرار گرفته است. در چین ارتباط آنتی ژنهای HLA با آسم مورد بررسی قرار گرفته است، (۱۳-۱۷) بطوریکه مطالعه صورت گرفته در سال ۱۹۹۵ عدم وجود ارتباط بین این بیماری و آنتی ژنهای HLA را نشان داده است، در حالیکه مطالعات دیگر ارتباط معنی داری را بین بروز بیماری آسم آلرژیک و پاره ای از آنتی ژنهای HLA گزارش کرده اند. مطالعاتی در کشورهای کلمبیا در سالهای ۱۹۹۰ (۱۰) و ۱۹۹۱ (۱۸)، برزیل در سال ۱۹۹۷ (۱۹)، ونزوئلا در سال ۱۹۹۹ (۲۰)، مکزیک (۲۱) و استرالیا (۲۲) در سال ۲۰۰۱، لهستان (۴) و تایوان (۲۳) در سال ۲۰۰۲ انجام گرفته است که برخی از آنها ارتباط بین بیماری آسم و آنتی ژنهای HLA را نشان داده اند در حالی که پاره ای نیز عدم وجود هر گونه ارتباطی را گزارش نموده اند. (۱۰، ۱۴ و ۲۲)

بنابراین با توجه به گزارشهای متعدد که در بعضی از موارد با یکدیگر متناقض نیز می باشند و نظر به این نکته که چنین مطالعاتی در ایران گزارش نشده است، نیاز به انجام پژوهش حاضر احساس و اقدام به بررسی آن مطرح گردید.

### روش کار

این مطالعه مورد - شاهدی در سال ۱۳۷۶ و در شهر تهران صورت گرفت و گروه مورد متشکل از ۳۰ فرد بیمار (۱۷ زن و ۱۳ مرد با متوسط سنی ۲۱ سال) مبتلا به بیماری آسم آلرژیک بوده که بنا به تأیید متخصصین بیمارستان امیرالمؤمنین (ع) تهران به بیماریهای مرتبط با سیستم HLA نظیر بیماریهای خود ایمنی،

نتایج ضد و نقیضی را در این زمینه منتشر ساخته اند.

پاره ای از بررسی های صورت گرفته در انگلستان نتایج متناقضی را انتشار داده اند، بطوریکه در بررسی انجام شده در سال ۱۹۸۰ عدم وجود هرگونه رابطه ای بین بیماری آسم و آنتی ژنهای HLA گزارش شد.<sup>(۱۲)</sup> در حالیکه در سال ۱۹۹۹ در پژوهشی مشابه افزایش فراوانی آنتی ژن DRB 1\*15 و کاهش فراوانی آنتی ژن DRB 1\*08 در گروه بیماران نسبت به گروه شاهد گزارش شد.<sup>(۳)</sup>

در طی پژوهشهای متعددی که در چین صورت گرفته است در سال ۱۹۹۱ افزایش آنتی ژن DQw 2 و کاهش آنتی ژن 4 DR<sup>(۱۳)</sup>، در سال ۱۹۹۵ عدم ارتباط آنتی ژنهای DR و DQ با بیماری آسم آلرژیک<sup>(۱۴)</sup>، در سال ۱۹۹۸ افزایش آنتی ژنهای DR 6 و DR 52 و کاهش آنتی ژنهای DR 2 و DR 51<sup>(۱۵)</sup>، در سال ۲۰۰۱ افزایش آنتی ژنهای DQA1\*0101, DQA1\*0601, DQA1\*303 و DQB1\*0601<sup>(۱۶)</sup> و در سال ۲۰۰۲ افزایش آنتی ژنهای DQA1\*0104 و DQB1\*0201 و کاهش آنتی ژنهای DQA1\*0301 و DQB1\*01301 در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک در مقایسه با افراد سالم گزارش شده است.<sup>(۱۷)</sup>

پژوهشهایی از این دست در کشورهای نظیر لهستان<sup>(۴)</sup>، کلمبیا<sup>(۱۸ و ۱۹)</sup>، برزیل<sup>(۱۹)</sup>، ونزوئلا<sup>(۲۰)</sup>، مکزیک<sup>(۲۱)</sup>، استرالیا<sup>(۲۲)</sup> و تایوان<sup>(۲۳)</sup> نیز انجام شده است که یافته های بدست آمده از این بررسی ها، همخوانی چندانی با یکدیگر نشان نداده اند. بطور مثال بررسی صورت گرفته در کلمبیا در سال ۱۹۹۰ عدم ارتباط بین بیماری آسم و آنتی ژنهای HLA را نشان داده است<sup>(۱۰)</sup>، در حالیکه پژوهش انجام شده در این کشور در سال ۱۹۹۱ افزایش فراوانی آنتی ژنهای DR 4 و DQw 2 را در این بیماران گزارش کرده است<sup>(۱۸)</sup> و با وجود گزارش رابطه بین بیماری آسم و آنتی ژنهای HLA در غالب پژوهشهای صورت گرفته، در بررسی هایی که در کلمبیا<sup>(۱۰)</sup>، انگلستان<sup>(۱۲)</sup>، چین<sup>(۱۴)</sup>

ژنهای DR 5، DR 11، DR 52 و DR 1 در گروه بیماران نسبت به افراد شاهد کاهش فراوانی دارند. (جدول)

جدول : فراوانی آنتی ژنهای HLA کلاس دو در بیماران

آسمی آلرژیک و افراد سالم

بیمار	سالم	آنتی ژن HLA
۱۵	۲۸	DR2
۴	۴۳	DR5
۶	۴۱	DR11
۱۵	۷۸	DR52
۲۲	۴۲	DR53
۱۲	۶۳	DQ1

## بحث

در این مطالعه مشخص گردید که بین بیماری آسم آلرژیک و آنتی ژنهای HLA کلاس دو DR 2، DR 5، DR 11، DR 52، DR 53 و DQ 1 رابطه معنی دار وجود دارد. یافته ها نشان دادند با توجه به اینکه آنتی ژنهای DR 2 و DR 53 در بیماران افزایش فراوانی دارند، با بروز بیماری آسم آلرژیک رابطه مستقیم داشته و احتمالاً در ابتلا به این بیماری می توانند موثر باشند. در صورتیکه آنتی ژنهای DR 5، DR 11، DR 52 و DQ 1 در گروه بیماران نسبت به افراد شاهد کاهش فراوانی نشان دادند و ممکن است نقش بازدارنده ای در ابتلا به بیماری آسم آلرژیک داشته باشند.

از میان این آنتی ژنها محتمل است که آنتی ژن DR 53 بیشترین نقش را در ابتلا به این بیماری ( $P=0/0026$ ) و آنتی ژن DR 5 بالاترین نقش را در جلوگیری ( $P=0/003$ ) از ابتلا به بیماری آسم آلرژیک ایفا کند.

مطالعه حاضر که برای نخستین بار در ایران انجام گرفته است، وجود رابطه بین پاره ای از آنتی ژنهای HLA کلاس دو و بیماری آسم با منشاء آلرژی را مشخص ساخته است. پژوهش هایی مشابه که در سایر کشورها انجام شده اند، اغلب

و استرالیا<sup>(۲۲)</sup> صورت گرفته است هیچ گونه رابطه ای نشان داده نشده است.

بهر حال آنچه از مطالعه پژوهش های فوق مشخص می شود وجود شواهدی از همراهی آنتی ژنهای HLA با بیماری آسم می باشد. هر چند در این مطالعات و مطالعه حاضر نتایج تا حدودی همخوانی ندارند، ولی نباید فراموش نمود که این مطالعات در کشورهای مختلف و مناطق جدا گانه ای صورت گرفته اند که هم از نظر ژنتیکی و شرایط محیطی و نیز از نظر آلرژنهایی که در این مناطق شایع هستند با یکدیگر اختلاف دارند.

با توجه به اینکه فاکتورهای ایمنوژنتیکی مداخله کننده در پاتوژنز بیماری آسم بسیار ناهمگن هستند ، در جستجوی نقش HLA در بیماری، همگنی افرادی که مورد بررسی قرار می گیرند باید تا حد ممکن حفظ شود. این همگنی عواملی چون جنس ، سن ، نژاد ، ژنتیک ، ارتباط فامیلی ، نوع جمعیت مورد مطالعه و عوامل دیگری به عنوان عوامل مداخله کننده در بر می گیرد.

از این رو لازم است که در انتخاب بیماران و نیز تعداد آنها نهایت دقت و توجه مبذول گردد. تعیین HLA با روش سرولوژی با استفاده از مجموعه ای از آنتی بادیهای که آللهای مختلف را مشخص می کنند، ممکن است باعث تعیین مولکولهای واقعی که با بیماری ارتباط دارند نشود. زیرا آلل تعیین شده به روش سرولوژیک ممکن است خانواده ای از آللهای مختلف HLA مشابه هم باشند که اختلاف جزئی با یکدیگر در بنیادهای پلی مورف داشته باشند. چنین اختلافاتی را می توان با روشهای مولکولی دقیق تر نظیر تعیین توالی نوکلئوتیدها PCR مشخص کرد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات بی شائبه و صمیمانه اساتید و کارکنان محترم گروه ایمنولوژی و میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران، کارکنان محترم سازمان انتقال خون تهران و بویژه از کلیه بیمارانی که در انجام این پژوهش ، صادقانه و بی تکلف ما را یاری نمودند، سپاسگزاری و تشکر می گردد.

### References

### منابع

1. Mc Fadden ER, Braunwald E , et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15<sup>th</sup> ed. New York: Mc Grow Hill; 2001. 1456 - 62.
2. Patterson R , Grammer LC , Greenberger PA. Allergic Diseases Diagnosis and Management. 5<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott – Raven. 1997 ;467 - 535.
3. Howell WM , Standring P , Warner JA , Warner JO. HLA class II genotype, HLA-DR B cell surface expression allergen specific IgE production in atopic and Non – atopic members of asthmatic family pedigrees. Clin Exp Allergy 1999; 29: 35-8.
4. Woszczek G , Kowalski ML , Borowiec M. Association of asthma and total IgE level with human leukocyte antigen –DR in patients with grass allergy. Eur Respir J 2002; 20:79-85.
5. Kolostova K , Cerna M , Andel M. Association of HLA molecules with autoimmune disease. Cas Lek Cesk 2002; 141:755-62.
6. Ebringer A , Wilson C. HLA molecules ,bacteria and autoimmunity. Med Microbial 2000; 49: 305-11.

7. Jeal H, Draper A, Jones M, et al. HLA association with occupational sensitization to rat lipocalin allergen: A model for other animal allergies? *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:795-9.
8. Gurgenidze GV , Gamkrelidze AG , Gotua MA. Study of the HLA and IgE system in healthy persons patients with allergies of the respiratory tract. *Ter Arkn* 1988; 60:54-6.
9. Brady RE , Glovsky MM , Opelz G, et al The association of an HLA asthma-associated haplotype immediate hypersensitivity in familial asthma. *J Immunogenet* 1981; 8:509-17.
10. Caraballo LR , Hernandez M. HLA haplotype segregation in families with allergic asthma. *Tissue Antigens* 1990; 35:182-6.
11. Apostolakis J , Toumbis M , Konstantopoulos K , et al. HLA antigen and asthma in Greeks. *Respir Med* 1996; 90:201-4.
12. Morris MJ , Faux JA , Ting A , et al. HLA-A , B and C and HLA- DR antigens in intrinsic and allergic asthma. *Clin Allergy* 1980; 10:173-9.
13. Hsieh KH. Association of HLA – DQw2 with Chinese childhood asthma. *Tissue Antigens* 1991; 38:181-2.
14. Li-PK , Lai CK , Poon AS , et al. Lack of association between HLA-DQ and –DR genotypes and asthma in southern Chinese patients. *Clin Exp Allergy* 1995; 25:323-31.
15. Gao J , Lin Y , Qiu C. HLA- DRB alleles polymorphism in susceptibility to asthma Beijing Chinese. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1998; 78:591-4.
16. Gao X , Ni P , Li L . Association between asthma and the polymorphism of HLA-DQ genes. *Zhonghua Jie He Hu Xi Za Zhi* 2001; 24:139- 41.
17. Gao J , Lin Y , Qiu C, et al. Relationship between HLA-DQA1, DQB1-genes polymorphism and susceptibility to bronchial asthma among Northern Hans. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002; 82:379-83.
18. Caraballo L, Marrugo J, Jimenez S, et al. Frequency of DPB1\*0401 is significantly decreased in patients with allergic asthma in a mulatto population. *Human Immunology* 1991; 32:157-61.
19. Gerbase DM , Gallo CA , Daher S , et al. HLA antigens in asthmatic children. *Pediatric Allergy Immunol* 1997; 8:150-2.
20. Lara Marquez ML, Yunis JJ, Layrisse Z, et al. Immunogenetics of atopic asthma: association of DRB1\*1101, DQA1\*0501, DQB1\*0301 haplotype with *Dermatophagoides* spp. Sensitive asthma in a sample of the Venezuelan population. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:60-71.
21. Aguilar AD , Delgado OD. HLA and bronchial asthma. *Neumol Cir Torax* 2001; 60:28-30.
22. Moffatt MF, Schou C, Faux JA, et al. Association between quantitative traits underlying asthma and the HLA – DRB1 locus in a family based population sample. *Euro J Hum Genet* 2001; 9:341-6.
23. Lin YC , Lu CC, SU HJ, et al. The association between tumor necrosis factor , HLA-DR alleles , and IgE-mediated asthma in Taiwanese adolescents. *Allergy* 2002; 57:831-4.

24. Terasaki P ,Park MS. Micro droplet testing for A-B-C and D-antigens. Am J Clin Pathol 1976; 62:103-20.

۲۵. کم گویان ملیحه. سیستم HLA و روش تشخیص آنتی ژنهای آن. چاپ اول ، تهران ، سازمان انتقال خون ایران ، ۱۳۷۲ ، ص

۵۷.

## *The evaluation of HLA class II association With allergic asthma*

Alijani E. MSc\*, Shekarabi M. PhD\*\*, Kamgooyan M.MSc\*\*\*, Arshi S. MD\*\*\*\*

*Major histocompatibility complex (MHC), which plays a major biological function in immune response is generally associated with so many human diseases. During recent years a strong relationship between allergic diseases and HLA antigens have been demonstrated.*

*This study was done to investigate the relationship between allergic asthma and HLA antigens in Iranian's atopic asthmatic patients. This case control study was done on 30 atopic asthmatic patients and healthy controls in 1376 in Tehran.*

*Human leukocyte antigen (HLA) typing was performed by standard N.I.H procedures and the results analyzed.*

*The results of this study showed that there is a significant relation between allergic asthma and some of class II HLA antigens i.e: frequency of DR2 and DR53 antigen in patient group in comparison with healthy group has been increased and frequency of DR5, DR11, DR52 and DQ1 has been decreased.*

**KEY WORDS:** MHC-HLA, Asthma, Atopy, Allergy, HLA-typing (N.I.H)

\* Immunoheamatology Dept, Faculty of Medicine , Zahedan University Of Medical Sciences and health services, Zahedan , Iran.

\*\* Immunobiology Dept, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences and health services, Tehran, Iran.

\*\*\* Transplantation Dept, Tehran center of blood transfusion, Tehran, Iran.

\*\*\*\* Immunology and Allergy Dept, Amiralmomenin Hospital , Iran University of Medical Sciences and health services, Tehran, Iran.