

تأثیر هاپلوتیپ‌های CTLA-4 در استعداد ابتلا به سندرم شوگرن اولیه و تعدادی از تظاهرات اکستراگاندولار آن

نوشین بیات^{۱*}، سارا داوین دال^{۲*}، مورین ریش مولر^{۳**}، M.D.
سوزان لیستر^{۴*}، غلامحسین علیشیری^{۵***} M.D.

چکیده

هدف: آنتی ژن لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک تیپ ۴ (CTLA-4) نقش کلیدی در تنظیم منفی پاسخ ایمنی سلولهای T دارد و ژن مربوط به آن پلی‌مورفیسم بالایی دارد. بین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs) در ژن CTLA-4 و بیماریهای مختلف اتوایمیون ارتباطات مثبت فراوانی یافت شده است. دو مورد از این SNPها در ژن CTLA-4 که با افزایش استعداد ژنتیکی انسان به بیماریهای اتوایمیون همراه است عبارتند از: پلی‌مورفیسم +49GA در آکسون ۱ و پلی‌مورفیسم CT60A / G در (3' untranslated region) 3UTR. در این مقاله این دو پلی‌مورفیسم به عنوان مارکر جهت بررسی ارتباط بین CTLA-4 و سندرم شوگرن اولیه (PSS) به عنوان یک سندرم التهابی اتوایمیون شایع در بیماران استرالیایی استفاده شد.

روش بررسی: ژنوتیپینگ CTLA-4 بر روی ۱۱۱ بیمار PSS (بر اساس کرایتریای آمریکایی - اروپایی ۲۰۰۲) استرالیایی و ۱۵۶ نفر گروه کنترل از جمعیت عادی به وسیله روش PCR - RFLP جهت تعیین پلی‌مورفیسم‌های آنزیمی BseXI (+49 GA), Hpych4IV (CT60) انجام شد.

یافته‌ها: پلی‌مورفیسم CT60, +49GA در عدم توازن اتصالی قوی (Strong linkage disequilibrium) بودند و تنها ۳ هاپلوتیپ مشاهده شد. فراوانی هاپلوتیپ‌ها بین گروه بیماران PSS و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P=0/032$) به طوری که وجود هاپلوتیپهای +49A - CT60A, +49A - CT60G, +49A - CT60G فرد را مستعد بیماری PSS می‌کرد. در حالی که هاپلوتیپ +49G - CT60G برای این بیماری محافظت‌کننده (protective) بود. هاپلوتیپ +49A - CT60G به طور غالب با وجود اتوانتی بادی Ro/ La همراه بود و دوز این هاپلوتیپ شدت خواب‌آلودگی روزانه را تحت تأثیر قرار می‌داد ($P=0/036$). به نظر می‌رسد هاپلوتیپ +49A - CT60A جلوی پیشرفت فنومن رینود در بیماری PSS را می‌گرفت ($OR = 0.49$, 95% CI 0.27 - 0.91).

نتیجه‌گیری: هاپلوتیپ‌های CT60 و +49G/A در ژن CTLA4 با استعداد به PSS و برخی تظاهرات اکستراگاندولار همراهی دارند.

واژه‌های کلیدی: هاپلوتیپ CTLA4، سندرم شوگرن، تظاهرات اکستراگاندولار.

دریافت مقاله: ۸۵/۱۲/۵، پذیرش مقاله: ۸۶/۲/۲۵

? استادیار گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)، تهران-ایران

* بیمارستان رویال آدلاید، انستیتو هانسن، استرالیای جنوبی

** گروه روماتولوژی، بیمارستان کوئین الیزابت، استرالیای جنوبی

*** گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)

آدرس پست الکترونیکی: nobayat@yahoo.com

مقدمه

پروتئین نفوسیت T سیتوتوکسیک 4 CTLA - نقش کلیدی در تنظیم منفی پاسخ ایمنی سلولی T بر عهده دارد و به طور غالب بر روی سلول‌های فعال کننده و تنظیم کننده سلول‌های T بروز می‌کند. عملکردهای مشخص CTLA - 4 عبارت است از تنظیم حد آستانه برای فعالیت سلول‌های T و به تبع آن مشارکت در حفظ تولرانس محیطی (۱)، مهار تکثیر سلول‌های T و تولید سیتوکین‌های التهابی و القای آپوپتوزیس در سلول‌های T فعال شده. بنابراین تغییر در بروز یا عملکرد CTLA - 4 احتمالاً استعداد ابتلا به بیماری‌های اتوایمیون را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در ناحیه ژن CTLA - 4 بالای ۱۰۰ پلی مورفیسم نوکلئوتیدی مجزا (SNPs) شناسایی شده است (۳) که این SNPها در روی کروموزوم 2(2q33) نشانه‌گذاری شده است (شکل 1A). با این وجود تنها یک ناحیه کدگذاری SNP (پلی مورفیسم $G \rightarrow +49A$ در آکسون ۱ که منجر به تبدیل تری‌نوئین به آلانین در کدون ۱۷ می‌شود)، به طور کامل مشخص شده است. بسیاری دیگر از مطالعات در زمینه ارتباط SNP های CTLA - 4 با بیماری‌های اتوایمیون به نتایج گیج کننده و مبهمی انجامیده است (۷-۴). اگرچه شواهد پایداری از همراهی بیماری گریوز، هیپوتیروئیدی اتوایمیون و تیپ I دیابت دیده شده است. در یکی از مطالعات اخیر (۳)، همه SNPهای مشهور ناحیه CTLA - 4 غربالگری شده است. این مطالعه نشان داد که بین بیماری گریوز، هیپوتیروئیدی اتوایمیون و تیپ I دیابت با آلل G پلی مورفیسم غیر کدینگ CT60 A/G (که خودش با سطح پایین mRNA محلول و فرم اتصال متغیر CTLA - 4 همراهی دارد)، ارتباط قوی وجود دارد. سندرم شوگرن اولیه (PSS) یک بیماری التهابی اتوایمیون سیستمیک می‌باشد که اغلب جنس مونث را درگیر می‌کند و با کاهش عملکرد غدد اگزوکرین بزاقی و اشکی مشخص می‌شود. مشخصه بارز PSS خشکی شدید چشمها و دهان (Sicca) و طیفی از تظاهرات اکستراگلندولار و سیستمیک می‌باشد. اتوانتی بادی‌های Anti - RO (SSA) \pm Anti - La (SSB) در ۸۰٪ بیماران وجود دارد

و مارکر بیماری و شدت آن می‌باشد. علت بیماری PSS مولتی فاکتوریال می‌باشد و عوامل خطر (RF) ژنتیکی و محیطی از مدتها پیش مطرح شده‌اند (۸). مطالعاتی که تاکنون انجام شده است به جز در مورد ژن HLA کلاس II در جهت اثبات قطعی زمینه ژنتیکی عاجز مانده‌اند. پیش تر نشان داده شده است که تنوع درجه اتوانتی بادی به آنتی ژنهای La و Ro با هاپلو تیپ‌های مشخص HLA تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۹). مطالعه حاضر جهت بررسی همراهی ژنتیکی، SNPs +49G/A، CT60 CTLA - 4 در بیماران PSS استرالیایی و نیز جهت مشخص کردن هاپلو تیپ‌های CTLA - 4 و همراهی آنها با استعداد به PSS و یا مشخصات اکستراگلندولار و سرولوژیک آنها طراحی شده است.

روش بررسی

بیماران. ۱۱۱ بیمار PSS استرالیایی قفقازی (باکرایتریای آمریکایی - اروپایی ۲۰۰۲) و ۱۵۶ بیمار سالم استرالیایی قفقازی وارد مطالعه شدند. عمده بیماران PSS مونث بودند (۸۹٪=۹۹/۱۱۱) و میانگین سن شروع بیماری ۵۰ سال (با محدوده سنی بین صدک ۵۹-۳۸) بود. از بیماران رضایت نامه کتبی از طرف کلینیک روماتولوژی بیمارستان Queen Elizabeth و مرکز پزشکی Adelaide در جنوب استرالیا گرفته شد. وضعیت اتوانتی بادی‌های Ro/La وجود فنومن رینود، درجه کیفیت خواب Epworth (ESS)، درجه خستگی Facit - F و درجه علائم اورولوژیک AUA-7 بیماران از مرکز اطلاعات (database) تحقیقات شوگرن گرفته شد.

ژنوتیپینگ CTLA4. از نمونه خون کامل بیماران و گروه کنترل DNAها به روش Salt precipitation استخراج شد. جهت ژنوتیپینگ نمونه‌ها از روش Polymerase chain reaction fragment length polymorphism (PCR - RFLP استفاده شد. SNP +49GA در پایه ۸۴۵۵۳ (CTLA 4 Sequence Genbank accession AF411058) - لوکالیزه

انجام شد.

یافته‌ها

SNP های CT60 و CTLA-4 + 49 در ارتباط غیرمتوازن قوی (Strong Linkage Disequilibrium) بودند و تنها سه هاپلوتیپ در هر دو گروه بیماران PSS و گروه کنترل مشخص شد: +49A - CT60G , +49A - CT60G , +49G - CT60G. این نتایج مشابه نتایج مشاهده شده در اسپانیایی‌های قفقازی (۱۲)، اسکانندیناویها و اروپایی‌های قفقازی است (۱۳،۱۴) و مؤید هاپلوتیپ‌های مشاهده شده در SNP های CT60 , +49 و هاپلوتیپ‌های آنها در هر دو گروه بیماران PSS و گروه کنترل توازن Hardy Weinberg بود. فراوانی آلل و هاپلوتیپ، هر دو برای هر دو SNP آنالیز شدند ولی آنالیز هاپلوتیپ، موجب تفسیر بهتر و محکم‌تری از اطلاعات شد. فراوانی هاپلوتیپ CTLA-4 در بین دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معنی‌داری نشان می‌داد (P=۰/۰۳۲، جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی هاپلوتیپ و آلل +49A/G و CTLA4 و CT60 در بیماران مبتلا به سندرم شوگرن اولیه (PSS) و گروه کنترل

	Controls (n = 156)	Patients (n = 111)	OR (95% CI)
+49A	0.587	0.694	1.60 (1.11-2.30)†
+49G	0.413	0.306	1
CT60G	0.571	0.514	0.79 (0.58-1.12)
CT60A	0.429	0.486	1
+49A;CT60A	0.429	0.486	1.53 (1.04-2.25)†
+49A;CT60G	0.157	0.207	1.78 (1.08-2.93)†
+49G;CT60G	0.413	0.306	1

* For the frequency of the +49 single-nucleotide polymorphism (SNP) in patients versus controls, χ^2 (1 degree of freedom [df]) = 6.86, $P = 0.01$; for the frequency of the CT60 SNP in patients versus controls, χ^2 (1df) = 1.79, $P = 0.18$; for the frequency of the CTLA4 haplotype in patients versus controls, χ^2 (2df) = 6.86, $P = 0.032$. OR = odds ratio; 95% CI = 95% confidence interval. † $P < 0.05$.

نسبت به هاپلوتیپ +49G - CT60G ، هر دو هاپلوتیپ +49A - CT60A (OR = 1.53 , 95% CI 1.04 - 2.25) و هاپلوتیپ +49A - CT60G (OR= 1.78 , 95% CI 1.08 - 7.93) در گروه PSS در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود.

شد. یک قطعه 360 bp پایه پلی ۸۴۶۹۹ - ۸۴۳۴۰ با استفاده از پرایمر 3' TTC AAG TGC CTT CTG TGT GTG 5' و 5' AAT CAC TGC CCT TGA CTG CT 3' و با حرارت annealing 85°C بسط داده شد. ۲۰ μL از محصول PCR با واحد Bse XI (farmentas) در یک بافر 1×digestion (که توسط کارخانه تأمین شده بود) در دمای 65°C به مدت ۴ ساعت هضم شد. محصول هضم شده در ژل ۲٪ آگاروز (agarose) رنگ آمیزی شده با برومید اتیدیوم (ethidium bromide) قابل مشاهده شد. نمونه‌های هموزیگوت AA به صورت باند مجزا (undigested) در 360 pb ، نمونه‌های هموزیگوت GG به صورت باند دوگانه در 162 , 198 pb و نمونه‌های هتروزیگوت AG به صورت باندهای سه گانه در 162 , 198 , 360 pb مشخص شدند. پلی مورفیسم CT60 در پایه CTLA-4 sequence Genbank accellion AF411058)907 34 - 90481 - 90862 ، در پایه پلی 382bp ، با استفاده از 5' ATC TGT GGT GGT TTT CC 3' و 5' CCA TGA CAA CTG TAA TGC CTG T 3' حرارت annealing 58°C بسط داده شد. به طور مشابه پروسه هضم (digestion) به مدت ۴ ساعت در دمای 38°C با استفاده از آنزیم Hpych4 iv (NE Biolabs) تکمیل شد. نمونه‌های هموزیگوت AA به صورت باند مجزا (undigested) در 382pb ، نمونه‌های هموزیگوت GG به صورت باند دوگانه در 130 , 252bp و نمونه‌های هتروزیگوت AG به صورت باندهای سه گانه در 130 , 252 , 382 bp مشخص شدند. کنترل‌های مناسب (both no template and known genotype) در هر typing run مدنظر قرار گرفت.

آنالیز آماری. توزیع فراوانی هاپلوتیپ‌ها و SNP های CTLA-4 در PSS و گروه کنترل و زیرگروه‌های بیماران PSS با استفاده از تست Logistic regression , Logd Likelihood (ratio chi square) با هم‌دیگر مقایسه و تفسیر شد. آنالیز ارتباط دوز هاپلوتیپ‌ها با ESS ، 7- AUA و علائم -F facit با gamma correlation و pulametric correlation - anon coefficient most appropriate for multiple tied ranks

جدول ۲. مقایسه CTLA4 +49G و فراوانی آلل و هاپلوتیپ CT60 در بیماران مبتلا به سندرم شوگرن اولیه (PSS) اتوانتی بادی Ro/ La مثبت و منفی .

	Ro/La status		OR (95% CI)*	
	Negative (n = 17)	Positive (n = 94)	Ro/La negative vs. controls	Ro/La positive vs. controls
+49A	0.706	0.691	1.66 (0.78-3.55)	1.52 (1.05-2.22)†
+49G	0.294	0.309	1	1
CT60G	0.382	0.537	0.49 (0.24-1.00)†	0.90 (0.63-1.27)
CT60A	0.618	0.463	1	1
+49A;CT60A	0.618	0.463	1.89 (0.88-4.05)	1.40 (0.94-2.08)
+49A;CT60G	0.088	0.229	0.76 (0.20-2.97)	2.00 (1.17-3.41)†
+49G;CT60G	0.294	0.309	1	1

* OR = odds ratio; 95% CI = 95% confidence interval.

† $P < 0.05$.

بیماران PSS با یا بدون فنومن رینود وجود داشت ($P=0/046$).
جدول ۳).

جدول ۳. هاپلوتیپ CTLA4 +49A - CT60A برای پدیده رینود در سندرم شوگرن اولیه نقش محافظت کننده دارد

	RP negative (n = 64)	RP positive (n = 42)	OR (95% CI)
+49A	0.746	0.616	0.58 (0.33-1.03)
+49G	0.254	0.384	1
CT60G	0.444	0.628	1.92 (1.12-3.29)†
CT60A	0.555	0.372	1
+49A;CT60A	0.556	0.372	0.41 (0.27-0.61)†
+49A;CT60G	0.190	0.244	0.57 (0.41-1.84)
+49G;CT60G	0.254	0.384	1

* For the frequency of the +49 single-nucleotide polymorphism (SNP) in Raynaud's phenomenon (RP)-negative versus RP-positive patients, χ^2 (1 degree of freedom [df]) = 3.56, $P = 0.063$; for the frequency of the CT60 SNP in RP-negative versus RP-positive patients, χ^2 (1df) = 6.01, $P = 0.02$; for the frequency of the CTLA4 haplotype in RP-negative versus RP-positive patients, χ^2 (2df) = 5.13, $P = 0.046$. OR = odds ratio; 95% CI = 95% confidence interval.
† $P < 0.05$.

هاپلوتیپ CT60A - 49+ برای پدیده رینود نقش محافظت کننده داشت (OR = 0.49, 95% CI 0.27 - 0.91).
جدول ۳). با این وجود رابطه‌ای بین پدیده رینود و وضعیت اتوانتی بادی Ro/ La وجود نداشت. ما پیش تر نشان داده‌ایم که خواب آلودگی روزانه و علائم اورولوژیک در بیماران PSS خیلی شدید است (۱۱) و این اطلاعات بر روی ۶۳ بیمار از ۱۱۱ بیمار

فراوانی هاپلوتیپ 4 - CTLA در اتوانتی بادی Ro/La مثبت‌ها نسبت به Ro/La منفی‌ها در بیماران PSS اگرچه متفاوت بود ولی به حد معنی‌داری نمی‌رسید ($P=0/11$) و نیز قدرت ارتباط نیز به خاطر این که تعداد Ro/La منفی‌ها فقط ۱۷ نفر بود، پایین بود (جدول ۲). هاپلوتیپ CT60G - 49+ در گروه بیماران Ro/La مثبت در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت.

95% OR = 2, 95% CI 1.17 - 3.41 (جدول ۲) ولی این رابطه در بیماران Ro/La منفی دیده نشد - 0.2 OR = 0.76, 95% CI 2.97 (جدول ۲). برعکس، هاپلوتیپ CT60A - 49+ در هر دو گروه زیر اتوانتی نسبتاً بالا بود، ولی این افزایش در زیر گروه اتوانتی بادی منفی بیشتر بود (جدول ۲). بنابراین در حالی که هر دو هاپلوتیپ 4 - CTLA در SS بالا بود ولی بین همراهی آنها در پاسخ اتوانتی بادی Ro/La تفاوت وجود داشت. مدرکی برهم کنش (Interaction) بین ژنوتیپ‌های 4 - CTLA, DR3, DR2, (که هر دو با وجود اتوانتی بادی‌های Ro/La در PSS همراهی دارند (۹)) وجود نداشت و نیز هیچ شاهدهی بر همراهی ژنوتیپ‌های 4 - CTLA, افزایش تنوع پاسخی Ro/ La, سطح IgG, تیترا فاکتور روماتوئید، جنس یا سن شروع بیماری به دست نیامد. تفاوت معنی‌داری در فراوانی هاپلوتیپ 4 - CTLA بین

سلولهای T و القای آپوپتوز در سلولهای فعال شده T می باشد (۲). این اثرات حتی ممکن است شامل شرکت مستقیم در تنظیم پاسخهای سلول B باشد، زیرا سلولهای B بعد از تماس سلول به سلول با سلولهای فعال شده T، CTLA-4 را بروز می‌دهند (۲۱). یک مطالعه اخیر بر روی بیماران SLE مشخص کرد که ژنوتیپ CTLA-4 پاسخ دهی ایمنی به EBV را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۲). از مدتها پیش نقش EBV در PSS و SLE مطرح شده است و شواهدی وجود دارد که پاسخ اتوآنتی بادی anti-Ro که در این بیماران شایع است، احتمالاً حاصل تشابه و تقلید مولکولار بین EBV EBNA-1 و آنتی ژن نوکلئار (EBV) و آنتی ژن Ro، ۶۰ کیلودالتونی باشد (۲۳). بدین ترتیب، جالب توجه است که هاپلوتیپ‌های مجزای CTLA-4 بروز اتوآنتی‌بادیهای Ro/ La در PSS را در این مطالعه تحت تاثیر قرار داده است. این موارد مشخص اثرات افتراقی پلی مورفیسم CTLA4 بر روی خطر بیماریهای اتوایمیون organ – specific در مقابل بیماریهای اتوایمیون سیستمیک، تأکید می‌کند که راههای متفاوت پاتوژن بیماریهای اتوایمیون از طریق بروز و یا تنظیم تغییر یافته CTLA-4 اتفاق می‌افتد. بنابراین، فهم تاثیرات عملکردی هاپلوتیپ‌های CTLA-4 احتمالاً دید کلیدی در پاتوژن بیماریهای اتوایمیون ارائه می‌کند. متأسفانه، مطالعات عملکردی فعلی را به سختی می‌توان تفسیر کرد. زیرا آنها بر روی SNPهای مجزا (individual) متمرکز شده‌اند و اثرات عملکردی ترکیبی هاپلوتیپ‌ها را امتحان نکرده‌اند. SNP +49G احتمالاً با گلیکوزیلاسیون ناکامل CTLA-4، بروز پایین سطح سلولی و تکثیر سلولی کاهش یافته در محیط آزمایشگاهی همراهی دارد (۲۴). SNP CT60G در سطوح پایین mRNA فرم محلول به هم تاییده CTLA-4 (Soduble adternatively Spliced form) دخالت دارد، اگرچه این یافته در مطالعات اخیر اثبات نشده است (۲۶). اتصال CTLA-4 محلول با لیگاند B7 بر روی آنتی ژن سلولهای بروز دهنده، احتمالاً یک مکانیسم مهم برای مهار تحریک همزمان (CO – stimulation) فعالیت T-Cell می‌باشد و این می‌تواند یک پشتوانه برای استفاده درمانی از CTLA-4Ig در بیماریهای

باشد. به عنوان مثال، ما یک کاهش در هاپلوتیپ – 49G+ در بیماران PSS در مقایسه با گروه کنترل و یک افزایش نسبی در هر دو هاپلوتیپ CT60A – 49A+ – 60G CT (به طور اولیه در بیماران Ro/ La مثبت) مشاهده کردیم. بنابراین یک هاپلوتیپ که آلل CT60G را حمل می‌کند (که قبلاً با بیماریهای اتوایمیون همراهی داشت (۳))، به وضوح در PSS دخالت دارد، در حالی که آنالیز SNP مجزای CT60 همراهی را نشان نداد (جدول ۱ و ۲). بین PSS و SLE همپوشانی بالینی و سرولوژیک بارزی وجود دارد (۱۷) و هاپلوتیپ CT60G – 49A+ (که در مطالعه ما با بیماران Ro/ La ; PSS مثبت همراهی دارد)، در بیماران لوپوسی اسپانیایی بالا می‌باشد (۱۲). همین هاپلوتیپ، همچنین با بیماری سلیاک ارتباط دارد، همان بیماری که بیماران PSS نیز در معرض خطر آن می‌باشند (۱۸). افزایش شیوع لنفوما در PSS به خوبی مشخص شده است (۱۹) و به طور جالب توجهی، هر دو هاپلوتیپ مستعدکننده CTLA-4 برای PSS آلل +49A را حمل می‌کند که با لنفوم هوچکین همراهی دارد (۲۰). مطالعات بیشتر در زمینه تاثیر هاپلوتیپ‌های CTLA-4 بر روی خطر لنفوم در بیماران PSS به طور قطع توصیه می‌شود. هاپلوتیپ‌های CTLA-4 که با بیماریهای روماتیسمی سیستمیک PSS و SLE ارتباط دارد، با هاپلوتیپ‌هایی که با بیماریهای اتوایمیون مخصوص هر ارگان می‌باشد (organ – specific) متفاوت است. در بیماریهای گریوز، هیپوتیروئیدی اتوایمیون و تیپ I دیابت، همراهی بین هر دو پلی مورفیسم مجزای CT60G و +49G دیده می‌شود، البته این همراهی CT60G از نظر آماری قویترین است (۳). این امر تأکید کننده یک همراهی با هاپلوتیپ CT60G – 49+ که در مطالعه ما محافظت کننده از PSS بود، می‌باشد. به جز این بیماریهای اتوایمیون organ – specific، هر دو بیماری SLE و PSS با فعالیت سلولهای B سیستمیک، پلی کلونال هیپرگاماگلوبولینمی، آنتی نوکلئار آنتی بادی و درگیری چند ارگانی همراهی دارند. CTLA-4 اثرات مشخص مستقل در طول فازهای متفاوت پاسخ سلولهای T از خود بروز می‌دهند. این اثرات شامل تنظیم حد آستانه فعالیت سلولهای T، مهار تکثیر

خواب آلودگی شدید روزانه مشاهده شده است. ما در حال ارزیابی طبیعت اختلاف خواب در بیماران PSS و نیز نقش هاپلوتیپ‌های CTLA-4 در بیماران با آپنه خواب در غیاب بیماری اتوایمیون هستیم. به طور خلاصه، این مطالعه نشان داد که هاپلوتیپ‌های CTLA-4 با استعداد به PSS و نیز تولید اتوانتی‌بادی و تعدادی از تظاهرات اکستراگاندولار این بیماران همراهی دارد. هاپلوتیپ CT60G - 49A+ با استعداد به PSS، اتوانتی‌بادی‌های Ro/La و افزایش خواب آلودگی روزانه همراهی دارد. این مطالعه با سایر مطالعات که نقش CTLA-4 را در استعداد به بیماری‌های اتوایمیون مهم دانسته‌اند، همخوانی دارد. با وجود این، همراهی مشاهده شده برای بیماری‌های اتوایمیون روماتولوژیک سیستمیک مثل PSS و SLE با همراهی‌های گزارش شده برای سایر بیماری‌های اتوایمیون و organ - specific مثل گریوز، هیپوتیروئیدی اتوایمیون، تیپ I دیابت که احتمالاً مکانیسم‌های پاتوژنز اتوایمیون‌یته مجزایی دارند، متفاوت است.

References

1. Ariyan C, Salvalaggio P, Fecteau S, Deng S, Rogozinski L, Mandelbrot D, et al. Cutting edge: transplantation tolerance through enhanced CTLA-4 expression. *J Immunol* 2003; 171: 5673-5677.
2. Brunner-Weinzierl MC, Hoff H, Burmester GR. Multiple functions for CD28 and cytotoxic T lymphocyte antigen-4 during different phases of T cell responses: implications for arthritis and autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: 45-54.
3. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003; 423: 506-511.
4. Aguilar F, Torres B, Sanchez-Roman J, Nunez-

اتوایمیون انسان مثل RA باشد. CTLA-4Ig در بیماری‌های اتوایمیون مدل‌های حیوانی مختلف اثرات مشخص دارد (۲۷). اگرچه این می‌تواند یک اختصار (oversimplification) از مهار CTLA-4Ig موقتی باشد که نشان داده شده است که پاسخهای سلولهای T اختصاصی علیه تومورهای موشی را افزایش می‌دهد (۲۸). شدت ارتشاح سلولهای ایمنی در نمونه‌های بیویسی غدد بزاقی PSS هم با افزایش تیترا اتوانتی‌بادی Ro/La و هم با افزایش فراوانی تظاهرات اکستراگاندولار همراهی دارد (۱۱). در حالی که در مقایسه بین زیر گروه‌های بیماران بیشتر یک تئوری است تا حقیقت؛ ما تعدادی همراهی‌های جالب در مطالعه خودمان مشاهده کردیم، هاپلوتیپ CT60A - 49A+ در CTLA-4 جلوگیری کننده از پیشرفت فنومن رینود در بیماران PSS بود. پدیده رینود با بیماری‌های روماتولوژیک اتوایمیون مختلفی همراهی دارد ولی RF ها و پاتوژنز آن کاملاً مشخص نیست. یک مطالعه ژنتیکی قبلی ارتباط هاپلوتیپ‌های اینترکولین ۱- (IL - 1) را با استعداد به رینود در PSS مطرح کرده است (۲۹). همراهی ژنتیک، IL1 و CTLA4 مطرح کننده مکانیسم ایمنی پیشرفت پدیده رینود می‌باشد، اگرچه در مطالعه هم گروهی ما رینود با سایر اندیکاتورهای شدت اتوایمیون‌یته مثل Ro/LA اتوانتی‌بادی‌ها همراهی نداشت. ما قبلاً نشان داده ایم که شدت خواب آلودگی روزانه (با معیار ESS) به طور معنی‌داری در بیماران PSS افزایش می‌یابد (۱۱). در مطالعه حاضر ما مشاهده کردیم که هاپلوتیپ CT60G - 49A+ به طور غالب با PSS‌های Ro/La مثبت و با شدت خواب آلودگی روزانه بطور وابسته به دوز ارتباط دارد. تئوری ما در توضیح افزایش خواب آلودگی روزانه در PSS شامل کلاپس راه‌های هوایی فوقانی به علت تغییر در کشش سطحی مخاط (به علت خشکی راه‌های هوایی) که در کل منجر به آپنه انسدادی خواب می‌شود و یا اختلال در عملکرد تنظیمی Circadian سیستم عصبی مرکزی در اثر اتوانتی‌بادی‌های تولید شده علیه رسپتورهای آنتی موسکارینی است (۳۰). مدرکی نیز هم‌اکنون در حال جمع‌آوری است که دال بر ارتباط مستقیم بین خواب و سیستم ایمنی می‌باشد (۳۱) و در این مطالعه همراهی هاپلوتیپ CTLA-4 با

- Roldan A, Gonzalez-Escribano MF. CTLA4 polymorphism in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* 2003; 64: 936–40.
5. Barreto M, Santos E, Ferreira R, Fesel C, Fontes MF, Pereira C, et al. Evidence for CTLA4 as a susceptibility gene for systemic lupus erythematosus. *Eur J Hum Genet* 2004; 12: 620–626.
6. Milicic A, Brown MA, Wordsworth BP. Polymorphism in codon 17 of the CTLA-4 gene (_49 A/G) is not associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in British Caucasians. *Tissue Antigens* 2001; 58: 50–54.
7. Lei C, Dongqing Z, Yeqing S, Oaks MK, Lishan C, Jianzhong J, et al. Association of the CTLA-4 gene with rheumatoid arthritis in Chinese Han population. *Eur J Hum Genet* 2005; 13: 823–8.
8. Bolstad AI, Jonsson R. Genetic aspects of Sjogren's syndrome. *Arthritis Res* 2002; 4: 353–359.
9. Rischmueller M, Lester S, Chen Z, Champion G, Van Den Berg R, Beer R, et al. HLA class II phenotype controls diversification of the autoantibody response in primary Sjogren's syndrome (pSS). *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 365–371.
10. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 554–558.
11. Walker J, Gordon T, Lester S, Downie-Doyle S, McEvoy D, Pile K, et al. Increased severity of lower urinary tract symptoms and daytime somnolence in primary Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2003; 30: 2406–2412.
12. Torres B, Aguilar F, Franco E, Sanchez E, Sanchez-Roman J, Jimenez Alonso J, et al. Association of the CT60 marker of the CTLA4 gene with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2211–2215.
13. Amundsen SS, Naluai AT, Ascher H, Ek J, Gudjonsdottir AH, Wahlstrom J, et al. Genetic analysis of the CD28/CTLA4/ICOS (CELIAC3) region in coeliac disease. *Tissue Antigens* 2004; 64: 593–599.
14. Munthe-Kaas MC, Carlsen KH, Helms PJ, Gerritsen J, Whyte M, Feijen M, et al. CTLA-4 polymorphisms in allergy and asthma and the TH1/TH2 paradigm. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 280–287.
15. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991; 14: 540–5.
16. King AL, Moodie SJ, Fraser JS, Curtis D, Reid E, Dearlove AM, et al. Coeliac disease: investigation of proposed causal variants in the CTLA4 gene region. *Eur J Immunogenet* 2003; 30:

427–432.

17. Manoussakis MN, Georgopoulou C, Zintzaras E, Spyropoulou M, Stavropoulou A, Skopouli FN, et al. Sjogren's syndrome associated with systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory profiles and comparison with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 882–891.

18. Roblin X, Helluwaert F, Bonaz B. Celiac disease must be evaluated in patients with Sjogren syndrome (letter). *Arch Intern Med* 2004; 164: 2387.

19. Ioannidis JP, Vassiliou VA, Moutsopoulos HM. Long-term risk of mortality and lymphoproliferative disease and predictive classification of primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 741–7.

20. Monne M, Piras G, Palmas A, Arru L, Murineddu M, Latte G, et al. Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphism and susceptibility to non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol* 2004; 76: 14–8.

21. Kuiper HM, Brouwer M, Linsley PS, van Lier RA. Activated T cells can induce high levels of CTLA-4 expression on B cells. *J Immunol* 1995; 155: 1776–1783.

22. Parks CG, Cooper GS, Hudson LL, Dooley MA, Treadwell EL, St Clair EW, et al. Association of Epstein-Barr virus with systemic lupus erythematosus: effect modification by race, age, and cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 genotype. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1148–1159.

23. McClain MT, Heinlen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Harley JB, ASSOCIATION OF CTLA4 HAPLOTYPES WITH PRIMARY SS 2439 James JA. Early events in lupus humoral autoimmunity suggest initiation through molecular mimicry. *Nat Med* 2005; 11: 85–89.

24. Anjos S, Nguyen A, Ounissi-Benkalha H, Tessier MC, Polychronakos C. A common autoimmunity predisposing signal peptide variant of the cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 results in inefficient glycosylation of the susceptibility allele. *J Biol Chem* 2002; 277: 46478–46486.

25. Kouki T, Sawai Y, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, DeGroot LJ. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. *J Immunol* 2000; 165: 6606–6611.

26. Purohit S, Podolsky R, Collins C, Zheng W, Schatz D, Muir A, et al. Lack of correlation between the levels of soluble cytotoxic T-lymphocyte associated antigen-4 (CTLA-4) and the CT-60 genotypes. *J Autoimmune Dis* 2005; 2: 8.

27. Emery P. The therapeutic potential of costimulatory blockade with CTLA4Ig in rheumatoid arthritis. *Expert Opin Investig Drugs* 2003; 12: 673–681.

28. Chambers CA, Kuhns MS, Egen JG, Allison JP. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:

565-94.

29. Hulkkonen J, Pertovaara M, Antonen J, Pasternack A, Hurme M. IL-1 gene family haplotypes and Raynaud's phenomenon in primary Sjogren's syndrome (letter). *Rheumatology (Oxford)* 2002; 1: 206-208.

30. Waterman SA, Gordon TP, Rischmueller M.

Inhibitory effects of muscarinic receptor autoantibodies on parasympathetic neurotransmission in Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 647-654.

31. Lashley FR. A review of sleep in selected immune and autoimmune disorders. *Holist Nurs Pract* 2003; 17: 65-80.