بررسی میزان بیان IL-17 و IL-23R در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید

فرهاد سیف: مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد و گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
مجید خوش میرصفا: مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد و گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
محمد موسوی: گروه داخلی، بیمارستان هاجر، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
مریم رودباری: گروه قارچ و انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
شعله خواجویی: گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
گلناز نیکفر: گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
اعظم صامعی: گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
محمد علی بهار: مرکز تحقیقات سوختگی، دانشگاه علوم پزشکی ایران،تهران، ایران.
مرتضی هاشم زاده چالشتری: مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
***هدایت اله شیرزاد**: مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران (*نویسنده مسئول). shirzad1951@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: بیماری آرتریت روماتوئید یک بیماری خود ایمن است که ناشی از تجمع سلول‌های التهابی در مفاصل و ترشح سایتوکاین‌های مختلف التهابی است. از میان این سایتوکاین‌ها می‌توان به IL-17 و IL-23 اشاره کرد که هنوز نقش قطعی آن‌ها در این بیماری مشخص نشده است. در این مطالعه میزان بیان IL-17 و IL-23R و ارتباط آن‌ها با بیماری آرتریت روماتوئید مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: مطالعه صورت گرفته از نوع مطالعات موردی- شاهدی می‌باشد. در این مطالعه ۳۷ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید و همین تعداد افراد سالم به عنوان گروه سالم شرکت کردند. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) با فایکول جدا شده و پس از استخراج RNA تام و ساخت cDNA، بیان mRNA سایتوکاین‌های IL-17 و IL-23R در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی با تکنیک Real-time PCR و با استفاده از پروب Taqman مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین سنی±انحراف معیار گروه بیماران ۱/۳۲۸±۴۶/۸۶ و گروه سالم ۱/۳۹۲±۴۴/۷۳ می‌باشد. بیان ژن IL-17 در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم افزایش معنی‌داری را نشان داد (Pv= ۰/۰۰۲) در حالی که بیان ژن IL-23R در گروه بیمار و سالم تفاوت معنی داری را نشان نداد (Pv= ۰/۲۲).

نتیجه‌گیری: در این مطالعه افزایش بیان IL-17 در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید نشان‌دهنده نقش مهم این سایتوکاین در پاتوژنز بیماری است. بنابراین با تحقیقات بیشتر می‌توان با مهار اختصاصی این سایتوکاین به کمک آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (داروهای بیولوژیک)، استراتژی‌های درمانی جدید و موثرتری را برای بیماری آرتریت روماتوئید پیشنهاد کرد.

کلیدواژه‌ها: آرتریت روماتوئید، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، IL-17 و IL-23R

مقدمه

بیماری آرتریت روماتوئید (Rheumatoid Arthritis) یک بیماری مزمن خود ایمن است که تقریباً ۱٪ جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. میزان ابتلا در زنان سه برابر مردان می‌باشد (۱و ۲). آرتریت روماتوئید یک بیماری سیستمیک التهابی است که با التهاب مفاصل، درگیری غضروف‌ها و ساییدگی استخوان‌ها مشخص می‌شود (۳و ۴). محیط سایتوکاینی در گسترش و تداوم شرایط التهابی نقش مهمی بازی می‌کند (۵) که سبب جهت‌دهی به لنفوسیت‌های درگیر در این ناحیه و تمایز آن‌ها به فنوتیپ‌های التهابی و تشدید سیر بیماری می‌شود (۶). خانواده اینترلوکین۱۷ از سایتوکاین‌های پیش التهابی است و شامل شش سایتوکاین (IL-17A، IL-17B، IL-17C، IL-17D، IL-17E (IL-25) و IL-17F)

Archive of SID

www.SID.ir

می‌باشد. این سایتوکاین با القای تولید TNF-α، IL-1β و IL-6 در سلول‌های مختلف باعث تقویت پاسخ‌های التهابی می‌گردد (۷و ۸). IL-17 از لنفوسیت‌های $CD4^+$ Th تحریک شده به‌ویژه فنوتیپ Th17 ساخته می‌شود (۹-۱۱). خانواده گیرنده‌های IL-17 دارای پنج عضو می‌باشد که با میل پیوندی بالا، بر روی طیف وسیعی از سلول‌های گوناگون بیان می‌شود (۱۲). این سایتوکاین همچنین با افزایش تولید کموکاین‌ها می‌تواند باعث جذب نوتروفیل‌ها و التهاب شود (۱۳). در سال‌های اخیر مهار IL-17 در درمان آرتریت القا شده توسط کلاژن (Collagen Induced Arthritis) در مدل‌های حیوانی و آرتریت روماتوئید انسانی به هدف درمانی مهمی تبدیل شده است (۱۴و ۱۵).

اینترلوکین ۲۳ سایتوکاینی هترودیمری شامل دو زیر واحد P19 و P40 می‌باشد؛ جزء P40 در ساختمان IL-12 هم وجود دارد و برخلاف جزء P19، فقط توسط سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن بیان می‌شود (۱۶و ۱۷). گیرنده‌ی IL-23 (IL-23R) شامل زیرواحد IL-12Rβ1 و یک زیرواحد منحصر به فرد IL-23R است (۱۷). گیرنده IL-23 (IL-23R) روی سلول‌های T فعال شده، همچنین سلول‌های NK ، مونوسیت/ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک (Dendritic cells) بروز می‌یابد (۱۸). این سایتوکاین توسط سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژهای مستقر در بافت‌های محیطی (پوست، مخاط روده و ریه) ترشح شده و سبب فراخوانی سلول‌های Th17 به ناحیه‌ی التهابی و تکثیر و فعال شدن آن‌ها می‌گردند، در نتیجه IL-17 و IL-23 در بیماری‌های خودایمن به‌ویژه آرتریت روماتوئید نقشی محوری را برعهده دارند (۱۷و ۱۹). هدف از این مطالعه ارزیابی میزان بیان IL-17 و IL-23R در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و مقایسه آن با افراد سالم با استفاده از Real-time PCR می‌باشد.

روش کار

انتخاب افراد مورد مطالعه: مطالعه صورت گرفته از نوع مطالعات مورد-شاهدی (Case-control) می‌باشد. گروه بیمار مورد مطالعه، شامل ۳۷ نفر از بیماران مراجعه‌کننده به بخش‌های روماتولوژی کلینیک امام علی (ع) و بیمارستان کاشانی شهرکرد بودند. انتخاب گروه بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید بر اساس تشخیص پزشک روماتولوژیست و بر اساس معیارهای ACR (American College of Rheumatology) افراد وارد مطالعه شدند (۲۰). تمام بیماران در مرحله مزمن و فاز فعال بیماری بودند. گروه کنترل سالم نیز شامل ۳۷ فرد منطبق با سن و جنس بیماران بود. از همه افراد شرکت‌کننده در مطالعه رضایت‌نامه کتبی اخذ شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد مورد تأیید قرار گرفت (۱۳۹۳-۱۰۸۳). اشخاصی که همپوشانی (Overlap) با سایر بیماری‌های خودایمنی داشتند از مطالعه خارج شدند. همچنین بیماران زیر ۱۸سال و بیمارانی که هرگونه دارویی غیر از داروهای نام برده مصرف می‌نمودند، از مطالعه کنار گذاشته شدند. در گروه شاهد نیز شرح‌حال گرفته شد و در صورت مصرف هرگونه داروی ضدالتهاب یا سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، فرد موردنظر از جمعیت این گروه حذف می‌گردید. بیماران تحت درمان با داروهای استروئیدی و سایتوتوکسیک بودند که شرح نوع و میزان مصرف آن‌ها در جدول۱ خلاصه شده است.

نمونه‌گیری: چهار میلی‌لیتر خون در لوله حاوی ضد انعقاد K_3EDTA از افراد شرکت‌کننده در این

جدول ۱- لیست داروهای مصرف شده توسط بیماران را نشان می دهد.

نام داروی مصرفی	دوز دارو
متوترکسات	۵-۷/۱۵ میلی گرم به صورت هفتگی
پردنیزولون	۵-۱۰ میلی گرم به صورت روزانه
هیدروکسی کلروکین	۲۰۰-۴۰۰ میلی گرم به صورت روزانه
سولفاسالازین	۱-۲ گرم به صورت روزانه

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- توالی پرایمر و پروب‌های به کار رفته در آزمایش Real-time PCR را نشان می‌دهد.

نام ژن	توالی پرایمر و پروب ها	
β-actin	Probe:	FAM-CCGCCGCCCGTCCACACCCGCC-TAMRA
	Forward:	5'-AGCCTCGCCTTTGCCGA-3'
	Reverse:	5'-CTGGTGCCTGGGGCG-3'
IL-17A	Probe:	FAM-CGGCACTTTGCCTCCCAGATCACA-TAMRA
	Forward:	5'-AATCTCCACCGCAATGAGGA-3'
	Reverse:	5'-ACGTTCCCATCAGCGTTGA-3'
IL-23R	Probe:	FAM-TTCCTGATCTCAACACTGGATATAAA -TAMRA
	Forward:	5'-CGCAAAACTCGCTATTCGACA -3'
	Reverse:	5'-ATGGCTTCCCTCAGGCAGA -3'

مطالعه گرفته شد. بلافاصله سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به کمک روش شیب چگالی با فایکول هایپک۱/۰۷۷ (سیگما، آلمان) جدا گردید و پس از ۲ بار شستشو با محلول نمکی بافر فسفات (Phosphate-Buffered Saline-PBS)، RNA تام توسط محلول RNX puls (سیناژن، ایران) استخراج و تا ساخت cDNA در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. به‌منظور خلوص بیشتر و حذف آلودگی با DNA ژنومی از آنزیم DNase (تاکارا، کره) برای تیمار نمونه‌های RNA تام استفاده شد. سپس با استفاده از کیت سنتز cDNA (Thermo Scientific، آلمان) RNA های تام استخراج شده در غلظت یکسان یک میکروگرم در میکرولیتر به cDNA تبدیل شدند.

آزمایش Real-time PCR: بیان ژن IL-17 و IL-23R با تکنیک Real-time PCR و با استفاده از پرایمرها و پروب اختصاصی (Taqman) مورد بررسی قرار گرفت. از ژن بتا اکتین (β-actin) به عنوان ژن خانه‌دار (Housekeeping) یا کنترل داخلی (Internal control) استفاده گردید. هر واکنش Real-time PCR شامل: ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس Taqman PCR، ۳ میکرولیتر از cDNA نمونه، ۰/۸ میکرولیتر از هر پرایمر (با غلظت ۱۰ پیکومولار: سنس و آنتی سنس) و ۰/۸ میکرولیتر پروب اختصاصی هر ژن (با غلظت ۱۰ پیکومولار) و ۶ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز در مجموع در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر می‌باشد. توالی پرایمر و پروب های استفاده شده در این آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. همه واکنش‌ها به‌صورت تکرار دوتایی (Duplicate) و با استفاده از دستگاه Rotor-gene 3000 (کوربت، استرالیا) انجام شد. پروفایل دمایی واکنش‌ها شامل مرحله واسرشتگی آغازین (hold time) ۹۵ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۲مرحله‌ی PCR در ۹۵ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه (Denaturation) و ۶۰ سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه (Annealing /Extension) برای ۴۰ سیکل انجام شد.

آنالیز آماری: برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها (Normal distribution) از آزمون آماری کولموگوروف اسمیرینوف استفاده شد. با توجه به نتیجه این آزمون از آزمون غیر پارامتریک من‌ویتنی (Mann–Whitney U test) برای مقایسه میان دو گروه به‌منظور تحلیل آماری استفاده گردید. برای محاسبه نتایج بیان ژن از روش مقایسه بیان نسبی (Relative expression) و با فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شد؛ بدین منظور از ژن مرجع بتا اکتین برای نرمال‌سازی بیان ژن‌های مورد مطالعه استفاده شد. همچنین با استفاده از شش رقت تهیه شده از محصول واکنش PCR (از رقت 10^{-4} تا 10^{-9}) و رسم منحنی استاندارد، میزان کارایی (Efficiency) واکنش PCR برای هر ژن سنجیده شد و با توجه به یکسان بودن مقدار کارایی واکنش (R2=0.997) در ژن‌های مورد مطالعه از فرمول لیواک (Livak) در فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ برای محاسبه نتایج استفاده گردید. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۰ تحلیل آماری و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Graph Pad Prism 6 استفاده شد. در نهایت P value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری به عنوان نتیجه معنی‌دار در نظر گرفته شد.

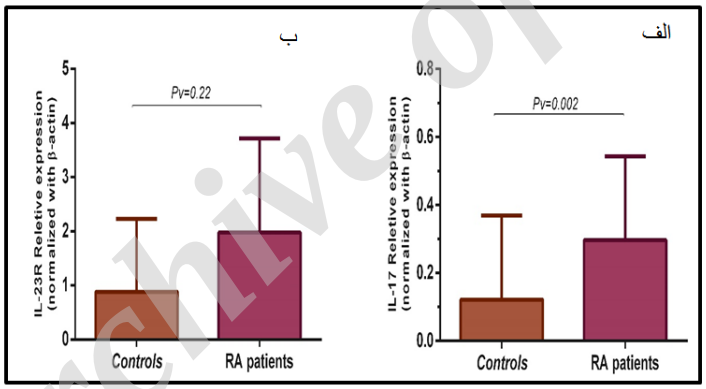
Archive of SID
www.SID.ir

یافته‌ها

تمام یافته‌های آزمایشگاهی (شمارش لکوسیت‌ها، ESR، CRP، RF و anti-CCP) در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و افراد سالم در جدول۳ نشان داده شده‌اند. همچنین میزان بیان IL-17 و IL-23R و بررسی نقش احتمالی آن‌ها در بیماری‌زایی آرتریت روماتوئید، بیان mRNA آن‌ها در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی با تکنیک Real-time PCR و با پروب Taqman مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین سنی± انحراف معیار بیماران ۱/۳۲۸±۴۶/۸۶ و گروه سالم ۴۴/۱±۷۳/۳۹۲ می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۱-الف مشاهده می‌شود، بیان ژن IL-17 در افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه سالم افزایش معناداری را نشان می‌دهد (Pv =۰/۰۰۲). هرچند میزان بیان IL-23R در بیماران آرتریت روماتوئید نسبت به افراد سالم اندکی افزایش نشان می‌دهد ولی این افزایش معنادار نمی‌باشد (Pv =۰/۲۲).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه بیان ژن IL-17 در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد. درحالی‌که بیان ژن IL-23R بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در مطالعه Kolls و همکارانش نشان داده شد که IL-17 در فراخوانی سلول‌های التهابی به نواحی التهابی نقش اساس دارد (۱۳). همسو با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه‌ای که Leipe انجام داد نشان داده شد که میزان IL-17 بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید نسبت به گروه سالم افزایش معنی‌داری داشت



شکل ۱- الف) مقایسه بیان IL-17 در دو گروه بیمار و سالم را نشان می دهد و عنوان می کند که بیانIL-17 در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم دارای افزایش معنا داری می باشد (Pv = ۰/۰۰۲). ب) مقایسه بیان IL-23R در دو گروه بیمار و سالم را نشان می دهد وعنوان می کند که بیان IL-23R در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم دارای تفاوت معنا داری نمی باشد (Pv =۰/۲۲).

جدول ۳- یافته‌های آزمایشگاهی در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و افراد سالم را نشان می‌دهد

یافته های دموگرافیک و آزمایشگاهی	بیماران آرتریت روماتوئید††	افراد سالم††	معنی داری †
سن	۴۶/۸۶±۱/۳۲۸	۴۴/۷۳±۱/۳۹۲	NS
جنس (مرد/زن)	۳۳/۴	۳۱/۶	NS
شمارش گلبول های سفید (10^3سلول بر میکرو لیتر)	۷۷۵۰±۲۳۹۰	۵۹۵۰±۸۳۰	**
شمارش لنفوسیت (10^6 سلول در لیتر)	۲۲۰۰±۶۳۰	۲۰۵۰±۳۷۰	*
ESR (میلی متر بر ساعت)	۴۵/۶±۲۳/۵۵	۹/۸±۵/۳۵	***
CRP (میلی گرم در لیتر)	۲۱/۳±۷/۸	۴>	***
RF (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	۸۳/۴±۶۰/۲	-	-
Anti-CCP (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	۶۰/۵±۴۳/۳	-	-

†نشانه های معنی داری Pv <0.001 = *** , Pv <0.01 = ** , Pv <0.05 = * ††نتایج بر اساس میانگین ± انحراف معیار

CRP: C-reactive protein; ESR: Erythrocyte sedimentation rate; NS: non-significant; RF: Rheumatoid Factor; Anti-CCP: Anti-citrullinated peptide

Archive of SID
www.SID.ir

(۲۱)، اما برخلاف این مطالعات، پژوهش دیگری که توسط Yue و همکارانش انجام گرفت نشان داد که IL-17 سرم افزایشی نیافته است. این مطالعه همچنین نشان داد که پس از درمان با متوترکسات، بیان IL-17 کاهش نشان داد (۲۲). در مطالعه Kohno و همکارانش بیان IL-17 در سلول‌های (Peripheral Blood - PBMC Mononuclear Cell) بیماران در مقایسه به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (۲۳). نتایج مطالعه حاضر میزان IL-17 موجود در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی قبل از شروع درمان اندازه‌گیری نشد تا بتوان این کاهش را بر اثر درمان نشان داد. همچنین این کاهش سیستمیک به منزله کاهش تولید IL-17 در سینوویوم مفاصل نیست چراکه بیشتر از ۷۰٪ از IL-17 را سلول‌هایی غیر از Th17 می‌سازند. به‌هرحال با توجه به نقش مهم IL-17 در آرتریت روماتوئید به نظر می‌رسد، هدف قرار دادن آن در جهت کنترل ساختن و بازگرداندن آن به حالت تعادل، بتواند به درمان این بیماری کمک نماید (۷و ۲۴). در سال ۲۰۱۰ یک آنتی‌بادی انسانی شده برای مهار IL-17A ساخته شد که آزمایش‌های فاز اولیه آن با موفقیت طی شد و پس از آن آنتی‌بادی دیگر به نام Secukinumab ساخته شد که به‌طور اختصاصی در درمان آرتریت روماتوئید و پسوریازس نقش دارد (۱۵، ۲۵، ۲۶). با این تفاسیر بخشی از بیماری آرتریت روماتوئید احتمالاً به علت افزایش تولید IL-17 می‌باشد، اما بهتر است که درمان‌های دیگر مانند داروی Infliximab که آنتی‌بادی مهارکننده TNF-α می‌باشد و یا همچنین ترکیب آن‌ها از نظر دور نماند.

IL-23 یک سایتوکاین است که هم نقش پیش التهابی و هم نقش ضدالتهابی دارد (۲۷). در تحقیقاتی که بر روی مدل حیوانی (موش) صورت گرفته، نقش این سایتوکاین در گسترش و بقای سلول‌های ترشح‌کننده IL-17 به اثبات رسیده است (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر که Sato و همکارانش انجام دادند نشان دادند که سطح IL-23 موجود در مایع سینوویال و سرم آنان با سطح IL-17 در ارتباط است (۲۹). در مطالعه Yago و همکارانش نشان داده شد که IL-23 به کمک IL-17 در تخریب استخوان‌ها نقش دارد (۳۰). با مطالعاتی که بر روی موش‌ها انجام شد و با در نظر گرفتن نقش پاتوژنیک IL-23 در آن‌ها راه‌های درمانی جدیدی طراحی شد (۳۱) که با استفاده از آنتی‌بادی‌های مهارکننده توانستند این سایتوکاین و گیرنده‌اش را مورد هدف قرار داده و به درمان بسیاری از بیماری‌های خودایمن، به‌ویژه آرتریت روماتوئید کمک نمایند (۲۷). اگرچه IL-17 در سال ۱۹۹۵ و IL-23 در سال ۲۰۰۰ کشف شد اما همچنان دانش ما نسبت به عملکردشان در فرآیند خودایمنی اندک است و مطالعات بیشتری برای شناخت عملکرد آن‌ها مورد نیاز است (۳۲). بنابراین مطالعات بیشتری در این زمینه به‌ویژه مسیرهای بیان ژن، اپی ژنتیک و درمان‌های نوین مولکولی مورد نیاز است (۳۳) و به نظر می‌رسد استفاده از حیوانات آزمایشگاهی امکان دست‌یابی به نتایج بهتر را فراهم سازد. همچنین پیشنهاد می‌شود که مایع سینوویال این بیماران و سلول‌های حاضر در آن ناحیه نیز از نظر بیان پروفایل سایتوکاین‌های التهابی و مهاری بررسی شوند. همچنین ضروری است، بیمارانی را که دارو دریافت نکرده‌اند و در مراحل اولیه بیماری هستند و یا بیماران با شدت مختلف بیماری نیز مورد بررسی قرار گیرند. همچنین باید جمعیت بزرگ‌تری با نژادهای متنوع را در مطالعات بعدی در نظر داشت.

بیان ژن IL-17 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران آرتریت روماتوئید نسبت به افراد سالم افزایش نشان داد درحالی‌که میزان بیان IL-23R در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی گروه بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان نداد. نتایج به دست آمده از این پژوهش و همچنین مطالعات اخیر، نقش برجسته IL-17 و IL-23 در پاتوژنز و درمان بیماری‌های خودایمن به‌ویژه آرتریت روماتوئید را محتمل می‌داند، اگرچه ضرورت تحقیقات گسترده‌تر جهت شناخت هر چه بهتر نقش IL-17 و IL-23 در این بیماری مورد نیاز است.

Archive of SID
www.SID.ir

تقدیر و تشکر

مطالعه صورت گرفته با پشتیبانی مالی معاونت محترم پژوهشی و در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام پذیرفت و بدین‌وسیله از همکاری و مساعدت همه این بزرگواران تشکر و قدردانی می‌نماییم. همچنین از مسئول محترم آزمایشگاه کلینیک امام علی و کارکنان محترمشان به‌ویژه خانم محبوبه کیانی سپاسگزاری ویژه می‌نماییم.

منابع

1.Niu X, He D, Zhang X, Yue T, Li N, Zhang JZ, et al. IL-21 regulates Th17 cells in rheumatoid arthritis. Hum Immunol; 2010.71(4):334-41.

2.Shekarabi M, Nikbin B, Davachi F, Khosravi F. Association of HLA in selected group of Iranian patients with rheumatoid arthritis. Razi J Med Sci; 1994. 1(1):20-4.

3.Christodoulou C, Choy EH. Joint inflammation and cytokine inhibition in rheumatoid arthritis. Clin Exp Med; 2006.6(1):13-9.

4.Seif F, Khoshmirsafa M, Mousavi M, Beshkar P, Rafeian-Kopaei M, Bagheri N, et al. Interleukin-21 receptor might be a novel therapeutic target for the treatment of rheumatoid arthritis. Int J Clin Exp Med. 2014;6(2):57-61.

5.McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. N Engl J Med; 2011. 365(23):2205-19.

6.Boissier MC, Assier E, Falgarone G, Bessis N. Shifting the imbalance from Th1/Th2 to Th17/treg: the changing rheumatoid arthritis paradigm. Joint Bone Spine; 2008. 75(4):373-5.

7.Waite JC, Skokos D. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases. Int J Inflam; 2012. 2012:819467.

8.Farahani A. The comparison of serum TNF-α level in Isfahan and Tehran healthy residents. Razi J Med Sci; 2015.22(132):73-8.

9.Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. J Biol Chem; 2003. 278(3):1910-4.

10.Baharlou R, Atashzar MR, Vasmehjani AA, Rahimi E, Khoshmirsafa M, Seif F, et al. Reduced levels of T-helper 17-associated cytokines in the serum of patients with breast cancer: indicators for following the course of disease. Cent Eur J Immunol; 2016.41(1):78.

11.Jafarzadeh A, Esmaeli Nadimi A, Nough H, Golshiri A, Nakhaei M, Dalir B, et al. Serum Levels of Interleukin (IL)-17 in Patients with Acute Myocardial Infarction and Unstable Angina. Razi J Med Sci; 2009.16(62):99-104.

12.Sonderegger I, Kisielow J, Meier R, King C, Kopf M. IL-21 and IL-21R are not required for development of Th17 cells and autoimmunity in vivo. Eur J Immunol; 2008.38(7):1833-8.

13.Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. Immunity; 2004. 21(4):467-76.

14.Hueber W, Patel DD, Dryja T, Wright AM, Koroleva I, Bruin G, et al. Effects of AIN457, a fully human antibody to interleukin-17A, on psoriasis, rheumatoid arthritis, and uveitis. Sci Transl Med; 2010.2(52):52ra72.

15.Genovese MC, Van den Bosch F, Roberson SA, Bojin S, Biagini IM, Ryan P, et al. LY2439821, a humanized anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis: A phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept study. Arthritis Rheum; 2010.62(4):929-39.

16.Kleinschek MA, Muller U, Brodie SJ, Stenzel W, Kohler G, Blumenschein WM, et al. IL-23 enhances the inflammatory cell response in Cryptococcus neoformans infection and induces a cytokine pattern distinct from IL-12. J Immunol; 2006.176(2):1098-106.

17.Tang C, Chen S, Qian H, Huang W. Interleukin-23: as a drug target for autoimmune inflammatory diseases. Immunology; 2012. 135(2):112-24.

18.Jana M, Pahan K. Induction of lymphotoxin-alpha by interleukin-12 p40 homodimer, the so-called biologically inactive molecule, but not IL-12 p70. Immunology; 2009. 127(3):312-25.

19.Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. Annu Rev Immunol; 2009. 27:485-517.

20.Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Ann Rheum Dis; 2010. 62(9):2569-81.

21.Leipe J, Grunke M, Dechant C, Reindl C, Kerzendorf U, Schulze-Koops H, et al. Role of Th17 cells in human autoimmune arthritis. Arthritis Rheum; 2010. 62(10):2876-85.

22.Yue C, You X, Zhao L, Wang H, Tang F, Zhang F, et al. The effects of adalimumab and methotrexate treatment on peripheral Th17 cells and IL-17/IL-6 secretion in rheumatoid arthritis patients. Rheumatol Int; 2010. 30(12):1553-7.

23.Kohno M, Tsutsumi A, Matsui H, Sugihara M, Suzuki T, Mamura M, et al. Interleukin-17 gene expression in patients with rheumatoid arthritis. Mod Rheumatol; 2008.18(1):15-22.

24.Seif F, Khoshmirsafa M, Aazami H, Mohsenzadegan M, Sedighi G, Bahar M. The role of

Archive of SID

www.SID.ir

JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells. Cell Commun Signal; 2017. 15(1):23.

25.Huber A, Gaboury I, Cabral D, Lang B, Ni A, Stephure D, et al. Prevalent vertebral fractures among children initiating glucocorticoid therapy for the treatment of rheumatic disorders. Arthrit Care Res; 2010. 62(4):516-26.

26.Wasilewska A, Winiarska M, Olszewska M, Rudnicka L. Interleukin-17 inhibitors. A new era in treatment of psoriasis and other skin diseases. Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatol J Alergol; 2016. 33(4):247.

27.Paradowska A, Masliniski W, Grzybowska-Kowalczyk A, Lacki J. The function of interleukin 17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Arch Immunol Ther Exp (Warsz); 2007. 55(5):329-34.

28.McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, et al. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. Nat Immunol; 2007. 8(12):1390-7.

29.Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. J Exp Med; 2006. 203(12):2673-82.

30.Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, Furuya T, Kobashigawa T, Kamatani N, et al. IL-23 induces human osteoclastogenesis via IL-17 in vitro, and anti-IL-23 antibody attenuates collagen-induced arthritis in rats. Arthritis Res Ther; 2007. 9(5):R96.

31.Steinman L. Mixed results with modulation of TH-17 cells in human autoimmune diseases. Nat Immunol; 2010. 11(1):41-4.

32.O'Shea JJ, Paul WE. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4+ T cells. Science; 2010. 327(5969):1098-102.

33.Khoshmirsafa M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K, Shekarabi M. Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids. Razi J Med Sci; 2017. 24(160):22-36.

Archive of SID

www.SID.ir

Evaluating the expression of IL-17 and IL-23R genes in peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid arthritis patients

Farhad Seif, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, and Department of Immunology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Majid Khoshmirsafa, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, and Department of Immunology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Mohammad Moosavi, Department of Internal Medicine, Hajar Hospital, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
Maryam Roudbary, Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran.
Sholeh Khajoei, Department of Rheumatology, Iran University of medical sciences, Tehran, Iran.
Golnaz Nikfar, Department of Immunology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Aazam Samei, Department of Immunology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Mohammadali Bahar, Burn research center, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran.
Morteza Hashemzadeh-Chaleshtori, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
***Hedayatollah Shirzad**, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran (*Corresponding author). shirzad1951@yahoo.com

Abstract

Background: Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease caused by accumulation of numerous inflammatory cells in the joints and secretion of various cytokines leading to cartilage and bone damage. IL-17 and IL-23 are inflammatory cytokines that their definite role has not been clearly distinguished in RA pathogenesis. Therefore, this study aimed to investigate the expression and association of IL-17 and IL-23R in Peripheral Blood Mononuclear cells (PBMCs) in RA patients.

Methods: This study was case-control. We gathered peripheral blood from 37 patients with RA and the same number of healthy individuals as a control group. In brief, PBMCs were isolated by Ficoll centrifugation. After RNA extraction and cDNA synthesis, IL-17 and IL-23R expression mRNA levels were determined in PBMCs by real-time PCR technique and Taqman probe method.

Results: The mean±standard deviation of the ages in patient group was 46.86±1.328 yr. and in controls was 44.73±1.392 yr. The expression of IL-17 was increased in RA patients in comparison to healthy controls (P= 0.002). Whereas, after comparison of IL-23R expression in patient and healthy groups, no significant difference was observed (P = 0.22).

Conclusion: In this study, upregulated expression of IL-17 implicated the important role of this cytokine in RA pathogenesis. Therefore, novel therapeutic and more effective strategies can be suggested by further investigations to specifically inhibit IL-17 using monoclonal antibodies (biologic drugs).

Keywords: Rheumatoid arthritis, Peripheral blood mononuclear cells, IL-17, IL-23R

Archive of SID

www.SID.ir