

## بررسی وجود جهش در ژن B-Cell Maturation Antigen (BCMA) بیماران مبتلا به (CVID) Common Variable Immunodeficiency

محبوبه انصاری<sup>۱</sup>، مزدک گنجعلی‌خانی حاکمی<sup>۲</sup>، رویا شرکت<sup>۳</sup>، عباس رضایی<sup>۴</sup>، رضا یزدانی<sup>۵</sup>، شریفه خسروی<sup>۶</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** نقص ایمنی متغیر شایع (Common variable immunodeficiency یا CVID)، فراوان‌ترین نارسایی ایمنی اولیه از نظر بروز علائم بالینی و مجموعه شرایط ناهمگنی است که با کمبود ارثی آنتی‌بادی (هایپوگاماگلوبولینمی) از حداقل دو ایزوتیپ ایمونوگلوبولین به همراه اختلال در بلوغ سلول‌های B و جهش سوماتیک، کاهش تعداد سلول‌های خاطره‌ی تعویض کلاس شده و نشده در گردش خون و اغلب با نبود پلاسماسل شناخته می‌شود. B-cell maturation antigen (BCMA) یکی از اعضای گیرنده‌ی خانواده‌ی نکروز تومور (TNFRSF یا Tumor necrosis factor receptor superfamily) است و بیشتر به خاطر عملکردی که در بقای پلاسماسل‌ها برای حفظ ایمنی هومورال با دوام دارد و همچنین، اهمیتی که در زنده ماندن پلاسماسل‌های با عمر طولانی مغز استخوان دارد، شناخته شده است. با توجه به این که یکی از مشخصات بیماری CVID، کاهش شدید یا فقدان پلاسماسل است، هدف از انجام این مطالعه، بررسی وجود جهش در ژن BCMA بیماران مبتلا به CVID در مقایسه با افراد سالم بود.

**روش‌ها:** ابتدا ۲ میلی‌لیتر خون کامل حاوی ضد انعقاد (EDTA) Ethylenediaminetetraacetic acid از ۱۰ بیمار CVID و ۱۰ داوطلب سالم گرفته شد. سپس، DNA نمونه‌ها استخراج و پس از انجام Polymerase chain reaction (PCR)، تعیین توالی شدند.

**یافته‌ها:** پس از بررسی بیوانفورماتیک یافته‌ها و مقایسه با توالی مرجع، نتایج حاکی از عدم وجود جهش در اگزون‌های ژن BCMA بود.

**نتیجه‌گیری:** علاوه بر بررسی وجود جهش در ژن BCMA، باید میزان بیان ژن و پروتئین BCMA و همچنین، عوامل کاهش دهنده‌ی بیان این ژن به منظور شناخت بیشتر نقش این ژن در این بیماری بررسی شود.

**واژگان کلیدی:** پلاسماسل، Common variable immunodeficiency، B-cell maturation antigen.

**ارجاع:** انصاری محبوبه، مزدک حاکمی گنجعلی‌خانی، شرکت رویا، رضایی عباس، یزدانی رضا، خسروی شریفه. **بررسی وجود جهش در ژن B-Cell Maturation Antigen (BCMA) بیماران مبتلا به Common Variable Immunodeficiency (CVID).** مجله دانشکده

پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۸۳): ۵۵۵-۵۶۲

۱۹۵۳ در یک خانم ۳۵ ساله و یک سال بعد از گزارش آگاماگلوبولینمیای وابسته به x، بروتون، گزارش شد (۳). این بیماری، اغلب با داشتن نقص ایمنی در دهه‌های دوم، سوم یا چهارم زندگی بعد از این که بیماران چندین پنومونی داشته‌اند، مشخص می‌شود. با این حال، کودکان و افراد مسن نیز ممکن است تحت تأثیر این بیماری

### مقدمه

نقص ایمنی متغیر شایع (Common variable immunodeficiency یا CVID) از نظر بالینی شایع‌ترین نارسایی ایمنی محسوب می‌شود که به طور معمول با سطح سرمی پایین IgG (Immunoglobulin G)، IgA و یا IgM شناخته می‌شود (۱-۲) و برای اولین بار در سال

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- دانشیار، مرکز تحقیقات نقص ایمنی اکتسابی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۴- استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۵- دانشجوی دکتری، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۶- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mghakemi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: مزدک گنجعلی‌خانی حاکمی

## روش‌ها

## گروه‌های مورد و شاهد

مطالعه‌ی حاضر از نوع مورد-شاهدی بود و به منظور انجام این مطالعه، پس از کسب رضایت‌نامه، تعداد ۱۰ فرد سالم (گروه شاهد) و ۱۰ فرد بیمار (گروه مورد) مبتلا به CVID مراجعه کننده به بخش دی‌کلینیک مرکز آموزشی-درمانی بیمارستان الزهرا (س) دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد بررسی قرار گرفتند.

چون تمام بیماران با Intravenous immunoglobulin (IVIG) تحت درمان بودند، نمونه‌گیری ۳-۴ هفته بعد از تزریق IVIG (قبل از تزریق نوبت بعدی) انجام شد. پس از نمونه‌گیری، خون کامل افراد مورد مطالعه (همراه با ضد انعقاد Ethylenediaminetetraacetic acid یا EDTA) در شرایط استاندارد (دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) به آزمایشگاه گروه ایمنی‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی منتقل شد.

برای تمامی بیماران، معیارهای European Society for Immunodeficiencies/Pan American Society for Immune Deficiency (ESID/PAGID) شامل کاهش محسوس در سطح IgG (حداقل ۲ انحراف معیار زیر میانگین) و کاهش در حداقل یکی از کلاس‌های ایمونوگلوبولین IgA و IgM، همراه داشتن فراسنج‌هایی شامل شروع نقص ایمنی در بیشتر از دو سالگی، فقدان ایزوهماگلوبولین و یا پاسخ ضعیف به واکسیناسیون، مستثنی کردن موارد تعریف شده‌ی هایپوگاماگلوبولینمی بر اساس لیست تشخیص افتراقی هایپوگاماگلوبولینمی جهت تشخیص CVID در نظر گرفته شد (۲۰).

## PCR و تعیین توالی

DNA ژنومیک نمونه‌های خون افراد شاهد و مورد با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت GenetBio و طبق دستورالعمل ارائه شده در کیت استخراج شد. پس از بررسی کیفیت DNA استخراج شده با الکتروفورز روی ژل آگارز و تأیید کمیت آن توسط اسپکتروفتومتر، آگزون‌های ژن BCMA با استفاده از واکنش Polymerase chain reaction (PCR) و پرایمرهای اختصاصی طراحی شده به کمک نرم‌افزار Primer3 (جدول ۱) تکثیر یافتند. به این منظور، حجم نهایی PCR برای تکثیر هر نمونه، ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد که شامل ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت (غلظت نهایی ۱۰ پیکومولار)، ۰/۷۵ میکرولیتر  $MgCl_2$  (غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار)، ۰/۵ میکرولیتر Deoxynucleoside triphosphate (dNTP) (غلظت نهایی ۲۰۰ میکرومولار)، ۲/۵ میکرولیتر بافر  $10 \times$ ، ۰/۲۵ میکرولیتر Taq DNA polymerase، ۱۷ میکرولیتر آب و ۲ میکرولیتر از نمونه‌ی DNA با غلظت نهایی ۱۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بود.

قرار بگیرند (۴). بیشتر از ۲۰ درصد بیماران عوارض خود ایمنی را نشان می‌دهند و در حدود یک سوم از بیماران نیز لنفوپرولیفراسیون با اسپلنومگالی دیده می‌شود (۱). اغلب موارد بیماری تک‌گیر می‌باشد. با این حال، حدود ۲۰-۱۰ درصد موارد نیز خانوادگی هستند (۵-۶). هر چند، مکانیزم‌های ژنتیک که منجر به CVID می‌شوند، تا به امروز ناشناخته باقی مانده است، اما نقص در ژن‌های رمزگذار کمک محرک القایی (ICOS یا Inducible T-cell costimulator)، فعال کننده‌ی غشایی و واکنش دهنده‌ی Calcium modulator ligand (CAML) (Transmembrane activator and CAML interactor یا TACI)، CD19، پذیرنده‌ی عامل فعال کننده‌ی سلول B (BAFFR یا CD81)، CD20 و CD21 در برخی بیماران گزارش شده است. با این حال، نقص ژنی اغلب در ۱۰ درصد از بیماران شناسایی شده است (۷-۸).

در بیماران مبتلا به CVID، تعداد پلاسماسل‌ها کاهش می‌یابد و یا به صفر می‌رسد (۹، ۴). پلاسماسل‌ها، از پلاسما بلاست‌هایی که از سلول‌های B فعال شده (اغلب سلول‌های B خاطره) به وجود آمده‌اند، تمایز می‌یابند و پلاسماسل‌های با عمر طولانی، منبع آنتی‌بادی‌های حفاظتی هستند (۱۰). ژن BCMA، به طور اختصاصی توسط لنفوسیت‌های B بیان می‌شود و ارتباط آن با تعدادی از سرطان‌ها، ناهنجاری‌های خود ایمنی و بیماری‌های عفونی مشخص شده است (۱۱-۱۵).

Laabi و همکاران، اولین بار در سال ۱۹۹۲ از طریق آنالیز مولکولی، BCMA را شناسایی و مشخص کردند که این ژن بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 16 قرار دارد و شامل سه آگزون و دو اینترون می‌باشد و پلی‌پپتید ۱۸۴ اسید آمینه‌ای را رمزدهی می‌کند (۱۴). بیان این ژن در سلول‌های B آرمیده (Resting) ضعیف است، اما در پلاسماسل‌ها و سلول‌های B مرکز زایا افزایش نشان می‌دهد (۱). BCMA، گیرنده‌ی عمده روی پلاسماسل‌های با عمر طولانی است (۱۶-۱۷).

دیده شده است که در موش‌های دارای نقص در BCMA، بقای پلاسماسل‌های دارای عمر طولانی دچار نقص می‌شود و کاهش شدیدی در پلاسماسل‌های تولید کننده‌ی IgG با عمر طولانی در مغز استخوان این موش‌ها به چشم می‌خورد (۱۸-۱۹). از آن جایی که در اغلب بیماران مبتلا به CVID نیز کاهش شدید پلاسماسل‌ها دیده می‌شود، ممکن است علاوه بر علل شناخته شده، بیماری ناشی از وجود جهش‌های احتمالی در ژن BCMA و یا علل ناشناخته‌ی دیگر باشد. به همین منظور، در این مطالعه، سه آگزون این ژن به طور جداگانه توسط سه جفت پرایمر تکثیر گردید و با توالی‌های مرجع مقایسه شد تا هر گونه تغییر ژنتیک و وجود جهش‌های احتمالی در این آگزون‌ها بررسی شود.

جدول ۱. پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر آگزون‌های ژن (BCMA) B-cell maturation antigen

پرایمر برگشت	پرایمر رفت	آگزون
۳-AACTCACCATCATGCCCAT-۵	۳-CTTGATGCTGTGGGCTTGT-۵	۱
۳-AGAAAATCTGCCAAGGTGTCA-۵	۳-GGGCAACAGAGCAAGACTTT-۵	۲
۳-GCCTGGCCAAAAGTGGAG-۵	۳-ATTGCTTTGAGTCCCGATGT-۵	۳

## روش واکاوی آماری داده‌ها

بررسی نتایج تعیین توالی هر دو گروه شاهد و مورد با استفاده از سایت <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> و نرم‌افزار Chromas صورت گرفت. این نتایج با توالی‌های مرجع در سایت National center for biotechnology information (NCBI) توسط نرم‌افزار Alignment مقایسه گردید تا هر گونه تغییر ژنتیک در توالی ژنومی این بیماران مشخص گردد. تصاویری از گراف‌های حاصل از تعیین توالی و مقایسه‌ی آن‌ها با توالی‌های مرجع در این سایت در شکل‌های ۲-۴ مشخص شده است.

## یافته‌ها

پس از انجام برنامه‌ی PCR جهت تکثیر سه آگزون ژن BCMA (شکل ۱) و تعیین توالی محصولات به دست آمده، نتایج حاصل از تعیین توالی DNA استخراج شده از نمونه‌های بیماران COVID و افراد شاهد با هم مقایسه و توالی‌ها با کمک نرم‌افزارهای موجود در NCBI، هم‌ترازی شدند. پس از هم‌ترازی و مقایسه‌ی توالی‌ها برای آگزون اول افراد مورد و شاهد، طبق بررسی‌ها و نتایج به دست آمده، هیچ جهشی در این آگزون مشاهده نشد، اما پلی‌مورفیسم‌هایی با فراوانی مشابه در افراد مورد و شاهد یافت گردید که از جمله‌ی آن‌ها، وجود یک پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs 11570139 در موقعیت ۱۷۲ بود (شکل ۲). این Single nucleotide polymorphism (SNP) در همه‌ی افراد گروه‌های مورد و شاهد دیده شد و فراوانی آن در میان افراد شاهد و مورد تفاوت معنی‌داری نداشت.

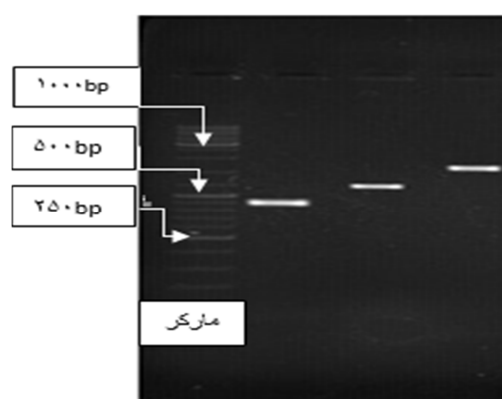
این بررسی‌ها برای آگزون‌های دوم و سوم نیز انجام شد که نتایج به دست آمده، حاکی از عدم وجود جهش در این دو آگزون بود. اگر چه هیچ جهش مرتبط با بیماری در توالی این سه آگزون مشاهده نشد، اما انواع پلی‌مورفیسم‌های موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی در توالی‌های هر سه آگزون در گروه‌های مورد و شاهد، دیده شد که با توجه به جمعیت محدود بررسی شده در این مطالعه، نتایج قابل ملاحظه‌ای از مقایسه‌ی آلل‌های SNP یافت شده بین گروه‌های مورد و شاهد به دست نیامد. به عنوان مثال، در بررسی برخی از SNPها مانند rs 3743591 (در آگزون ۱) rs 11570148 (در آگزون ۲) و rs 34545237 (در آگزون ۳)، به دلیل کم بودن تعداد افراد مورد بررسی، فقط یکی از سه ژنوتیپ مورد انتظار مشاهده گردید (شکل‌های ۳ و ۴).

برای انجام واکنش PCR نیز از دستگاه ترموسایکلر BIO-RAD, USA استفاده شد. برنامه‌ی دمایی استفاده شده جهت تکثیر قطعات مورد نظر برای ۳۵ چرخه در جدول ۲ آمده است. پس از انجام واکنش و تأیید کیفیت به کمک الکتروفورز، محصولات نهایی PCR به منظور تعیین توالی (Sequencing) و بررسی وجود جهش‌های احتمالی به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید. محصولات PCR حاصل از تکثیر آگزون‌های ژن هدف به ترتیب ۵۷۵ جفت باز، ۴۵۲ جفت باز و ۷۲۴ جفت باز بود که با الکتروفورز بر روی ژل آگارز و با استفاده از نشانگر ۵۰ جفت بازی تأیید شدند (شکل ۱).

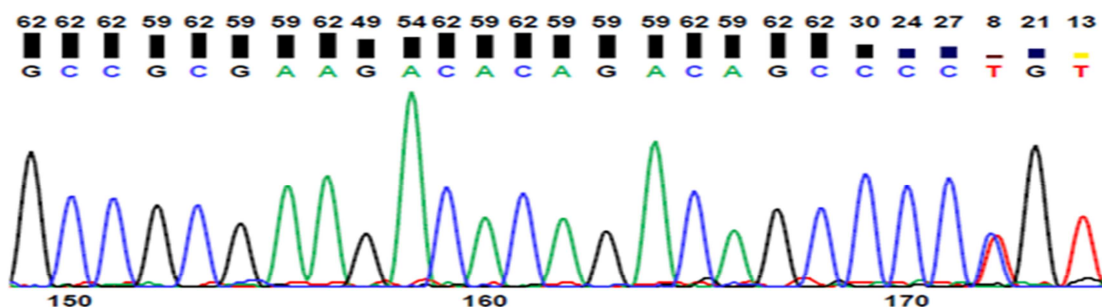
جدول ۲. برنامه‌ی استفاده شده جهت تکثیر آگزون‌های ژن

## (BCMA) B-cell maturation antigen در ترموسایکلر

زمان (S)	دما (°C)	مراحل آزمایش
۳۰۰	۹۵	First denaturation
۳۰	۹۴	Denaturation
۴۰	۵۵ برای آگزون اول ۶۴ برای آگزون دوم ۵۴ برای آگزون سوم	Annealing
۴۵	۷۲	Extension
۶۰۰	۷۲	Final extension
۸	۴	Final hold



شکل ۱. بررسی محصولات PCR Polymerase chain reaction (PCR) آگزون‌های ژن (BCMA) B-cell maturation antigen بر روی ژل آگارز. آگزون ۲ (۴۵۲ جفت باز)، آگزون ۱ (۵۷۵ جفت باز) و آگزون ۳ (۷۲۴ جفت باز) (به ترتیب از سمت چپ به راست).

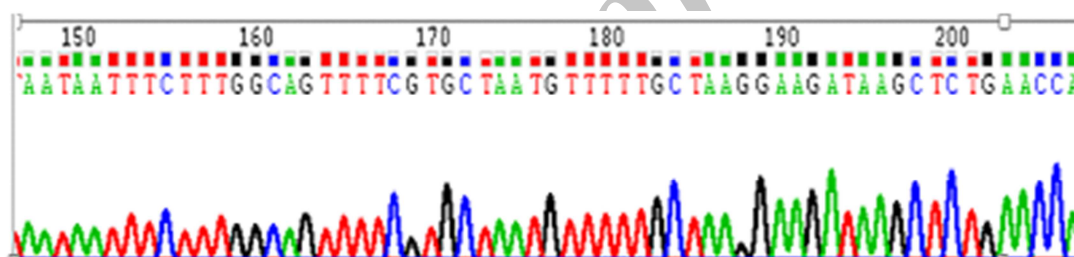


rs=11570139|pos=256|len=511|taxid=9606|mol="genomic"|class=1|alleles="C/T"|build=132  
Sequence ID: [gnl:dbSNP:rs11570139](#) Length: 511 Number of Matches: 1

Range 1: 94 to 511 [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
761 bits(412)	0.0	416/418(99%)	1/418(0%)	Plus/Plus
Query 11	CTGGCTGAG-AATTTCTTCTATAAATAAGCAGTTTCTGTTTCAGATGTGATATGCCCTGA	69		
Sbjct 94	CTGGCTGAGAAATTTCTTCTATAAATAAGCAGTTTCTGTTTCAGATGTGATATGCCCTGA	153		
Query 70	TATTTACACCOCTGCTCTTACCCCATCCAAAGACTCAAACCTTAGAAACTTGAATTAGATGT	129		
Sbjct 154	TATTTACACCOCTGCTCTTACCCCATCCAAAGACTCAAACCTTAGAAACTTGAATTAGATGT	213		
Query 130	GGTATTCAAATCCTTAGCTGCCGCGAAGACACAGACAGCCCTGTAAAGACCCACGGAAGC	189		
Sbjct 214	GGTATTCAAATCCTTAGCTGCCGCGAAGACACAGACAGCCCTGTAAAGACCCACGGAAGC	273		

شکل ۲. کروماتوگرام آنالیز توالی اگزون ۱ ژن B-cell maturation antigen (BCMA) و هم‌ترازی آن با توالی مرجع. در موقعیت ۱۷۲ یک Single nucleotide polymorphism (SNP) مشاهده شد که در بررسی این SNP در گروه‌های مورد و شاهد، هر سه ژنوتیپ مورد انتظار TT، CT و CC مشاهده گردید و توزیع فراوانی هر سه ژنوتیپ در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت.



rs=11570148|pos=256|len=511|taxid=9606|mol="genomic"|class=1|alleles="G/T"|build=120  
Sequence ID: [gnl:dbSNP:rs11570148](#) Length: 511 Number of Matches: 1

Range 1: 109 to 505 [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

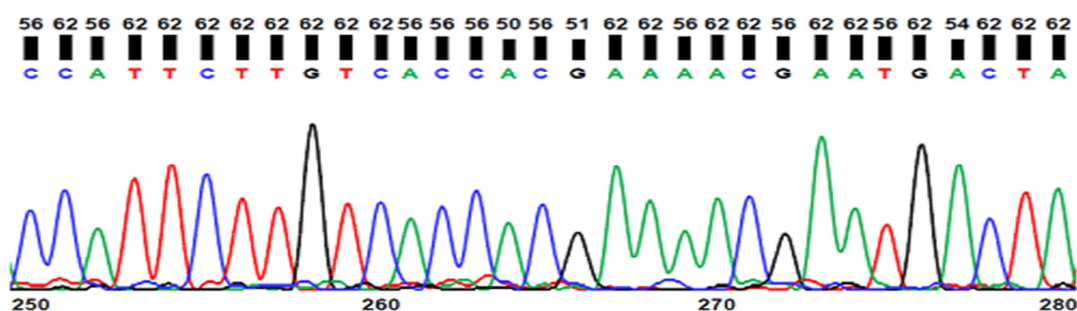
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
701 bits(379)	0.0	394/401(98%)	4/401(0%)	Plus/Plus
Query 28	GTATAGTGAATATTAATGTTATCAGCTCCATTATCTGCTGATGTTACTTTTCATAAAGGT	87		
Sbjct 109	GTAT-GTGAATATTAATGTTATCAGCT-CATTATCTGCTGATGTT-CTTTTCATAAAGGT	165		
Query 88	GTGACCAATTCAGTGAAGGAACGAATGCGATTCTCTGGACCTGTTTGGGACTGAGCTTA	147		
Sbjct 166	GTGACCAATTCAGTGAAGGAACGAATGCGATTCTCTGGACCTGTTTGGGACTGAGCTTA	225		
Query 148	ATAATTTCTTTGGCAGTTTTTCGIGCTAATGTTTTGCTAAGGAAGATAGCTCTGAACCA	207		
Sbjct 226	ATAATTTCTTTGGCAGTTTTTCGIGCTAATGTTTTGCTAAGGAAGATAGCTCTGAACCA	285		

شکل ۳. کروماتوگرام آنالیز توالی اگزون ۲ ژن B-cell maturation antigen (BCMA) و هم‌ترازی آن با توالی مرجع. در موقعیت ۱۷۶، یک Single nucleotide polymorphism (SNP) مشاهده شد که در بررسی این SNP در افراد گروه‌های مورد و شاهد، فقط یکی از سه ژنوتیپ مورد انتظار (TT) مشاهده گردید.

مطالعه بر روی موش‌های BCMA<sup>-/-</sup> و مشاهده‌ی اختلال در بقای پلاسماسل‌ها در این موش‌ها نسبت به موش‌های کنترل نوع وحشی و نیز کاهش شدید پلاسماسل‌های این موش‌ها، تأیید شده است (۲۱، ۱۹-۱۸).

### بحث

بر اساس مطالعات انجام شده، اغلب بیماران مبتلا به COVID، فاقد پلاسماسل و یا دارای تعداد کاهش یافته‌ی پلاسماسل می‌باشند (۱۵-۱۴). از طرفی، نقش BCMA در حفظ و بقای پلاسماسل‌ها با



rs=34546237|pos=301|len=601|taxid=9606|mol="genomic"|class=1|alleles="C/G"|build=132  
Sequence ID: [gnldbSNPs34546237](#) Length: 601 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1088 bits(589)	0.0	597/601(99%)	2/601(0%)	Plus/Minus
Query 18	CACATTCTCTGTGA-GTTTAGGGTTAATGTTTCCGTTTCTACATAAATTAGGATCAGGTCT			76
Sbjct 600	CACATTCTCTGTGAAGTTT-GGGTTAATGTTTCCGTTTCTACATAAATTAGGATCAGGTCT			542
Query 77	CCTGGGCATGGCTAACATTGACCTGGAAAAGAGCAGGACTGGTGAATGAAATTAATCTTCC			136
Sbjct 541	CCTGGGCATGGCTAACATTGACCTGGAAAAGAGCAGGACTGGTGAATGAAATTAATCTTCC			482
Query 137	GAGAGGCCTCGAGTACACGGTGGAAAGATGACCTGTGAAGACTGCATCAAGAGCAAACC			196
Sbjct 481	GAGAGGCCTCGAGTACACGGTGGAAAGATGACCTGTGAAGACTGCATCAAGAGCAAACC			422
Query 197	GAAGGTCGACTCTGACCAATTCCTTCCACTCCAGCTATGGAGGAAGGCGCAACCATTCT			256
Sbjct 421	GAAGGTCGACTCTGACCAATTCCTTCCACTCCAGCTATGGAGGAAGGCGCAACCATTCT			362
Query 257	TGTCACCACGAAAACGAATGACTATTGCAAGAGCCTGCCAGCTGCTTTGAGTGCTACGGGA			316
Sbjct 361	TGTCACCACGAAAACGAATGACTATTGCAAGAGCCTGCCAGCTGCTTTGAGTGCTACGGGA			302
Query 317	GATAGAAAATCAATTTCTGCTAGGTAATTAACCAATTCGACTCGAGTAGCCACITTA			376
Sbjct 301	SATAGAAAATCAATTTCTGCTAGGTAATTAACCAATTCGACTCGAGTAGCCACITTA			242

شکل ۴. کروماتوگرام آنالیز توالی اگزون ۳ ژن B-cell maturation antigen (BCMA) و هم ترازوی آن با توالی مرجع. در موقعیت ۳۱۷، SNP Single nucleotide polymorphism مشاهده شد که در بررسی این SNP در گروه‌های مورد و شاهد، فقط یکی از سه ژنوتیپ مورد انتظار (GG) مشاهده گردید.

از طرفی، در دو مطالعه نشان داده شد که تعداد افزایش یافته‌ی پلاسماسل‌ها و تولید بالای آنتی‌بادی‌های خودی در بیماران مبتلا به Systemic lupus erythematosus (SLE) با بیان بالای BCMA در ارتباط است (۲۳-۲۲). همچنین، BCMA به عنوان یک آنتی‌ژن بسیار گزینشی در درمان جدید Multiple myeloma مورد هدف قرار گرفته است (۲۴) و درمان بر مبنای آنتی‌بادی‌های مسدود کننده‌ی سیگنالینگ (Signaling) آن نیز یک گزینه‌ی امیدوار کننده برای درمان مؤثر بیماری‌های خود ایمن و Multiple myeloma می‌باشد (۲۵).

با توجه به این که نقش BCMA روی سلول‌های B در بیماری‌های انسانی کمتر شناخته شده است (۲۶)، بررسی وجود جهش در این ژن ضروری به نظر می‌رسید. نتایج حاصل از بررسی توالی اگزون‌های ژن BCMA در مطالعه‌ی حاضر، هیچ جهشی مرتبط با بیماری COVID را نشان نداد. هر چند، پلی‌مورفیسم‌های متعددی در اگزون‌های بررسی شده‌ی این ژن یافت شد، اما فراوانی آن‌ها در میان افراد گروه‌های شاهد و مورد تفاوتی نداشت و حتی در مورد برخی SNPها، همه‌ی ژنوتیپ‌های مورد انتظار مشاهده نشد. این خود به دلیل کوچک بودن جمعیت مورد بررسی در مطالعه‌ی حاضر می‌باشد؛

هر چند هدف از این مطالعه، مقایسه‌ی توالی ژن BCMA بین افراد گروه‌های مورد و شاهد و طبق این هدف، بررسی ۱۰ فرد بیمار کافی بود. نتیجه‌ی مطالعه‌ی حاضر، با نتایج مطالعاتی که در این زمینه بر روی بیماران مبتلا به COVID در ژاپن، اروپا و یونان انجام شده بود، همخوانی داشت (۲۹-۲۷). Jin و همکاران، در مطالعه‌ی وجود جهش در اگزون‌های BCMA در بیماران ژاپنی مبتلا به COVID را بررسی کردند؛ که در آن، هیچ جهشی مرتبط با این بیماری شناسایی نشد (۲۷). در مطالعه‌ی Salzer و همکاران در جمعیت اروپایی، اگر چه تعدادی SNP با فراوانی یکسان در بین بیماران و افراد سالم یافت شد، اما هیچ جهش مرتبط با بیماری COVID در اگزون‌های ژن BCMA شناسایی نشد (۲۸). نتایج تعیین توالی این ژن در گزارش موردی Sarantopoulos و همکاران در یک بیمار یونانی مبتلا به COVID نیز هیچ جهش مرتبط با این بیماری را نشان نداد (۲۹).

اگر چه هیچ جهشی در اگزون‌های این ژن در مطالعه‌ی حاضر و مطالعات مشابه، شناسایی نشد، اما با توجه به اهمیت این ژن در بقای پلاسماسل و با توجه به این که همانند مطالعه‌ی حاضر، سایر مطالعات نیز تنها وجود جهش در اگزون‌های این ژن را بررسی

## تشکر و قدردانی

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد محبوبه انصاری به شماره‌ی ۲۹۳۱۴۳ مصوب در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد که با همکاری مرکز تحقیقات ایمونولوژی سلولی و مولکولی به انجام رسید. بدین وسیله، از زحمات پرسنل گروه ایمنی‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی و همچنین، از تمامی افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

کردند، این احتمال وجود دارد که جهش یا جهش‌هایی در بخش‌های ایترونی و یا در بخش پروموتور و یا نواحی دیگر مرتبط با ژن وجود داشته باشد که با این بیماری در ارتباط باشند. البته، این موضوع نیاز به بررسی اختصاصی دارد. از طرفی، با توجه به این که تحقیق حاضر، اولین مطالعه در خصوص بررسی جهش در ژن BCMA در بیماران مبتلا به CVID در ایران بود، لازم است جهت بررسی ارتباط بین هر یک از SNPها و بیماری CVID، تعداد بیشتر و جمعیت بزرگ‌تری بررسی شود تا نتایج معتبرتری به دست آید.

## References

1. Castigli E, Geha RS. Molecular basis of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(4): 740-6.
2. Boileau J, Mouillot G, Gerard L, Carmagnat M, Rabian C, Oksenhendler E, et al. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study. *J Autoimmun* 2011; 36(1): 25-32.
3. Resnick ES, Cunningham-Rundles C. The many faces of the clinical picture of common variable immune deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12(6): 595-601.
4. Yong PF, Thaventhiran JE, Grimbacher B. "A rose is a rose is a rose," but CVID is Not CVID common variable immune deficiency (CVID), what do we know in 2011? *Adv Immunol* 2011; 111: 47-107.
5. Cunningham-Rundles C, Radigan L. Deficient IL-12 and dendritic cell function in common variable immune deficiency. *Clin Immunol* 2005; 115(2): 147-53.
6. Koopmans W, Woon ST, Brooks AE, Dunbar PR, Browett P, Ameratunga R. Clinical variability of family members with the C104R mutation in transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI). *J Clin Immunol* 2013; 33(1): 68-73.
7. Park MA, Li JT, Hagan JB, Maddox DE, Abraham RS. Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease. *Lancet* 2008; 372(9637): 489-502.
8. Bacchelli C, Buckridge S, Thrasher AJ, Gaspar HB. Translational mini-review series on immunodeficiency: molecular defects in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol* 2007; 149(3): 401-9.
9. Jacquot S, Macon-Lemaître L, Paris E, Kobata T, Tanaka Y, Morimoto C, et al. B cell co-receptors regulating T cell-dependent antibody production in common variable immunodeficiency: CD27 pathway defects identify subsets of severely immunocompromised patients. *Int Immunol* 2001; 13(7): 871-6.
10. Geffroy-Luseau A, Jego G, Bataille R, Campion L, Pellat-Deceunynck C. Osteoclasts support the survival of human plasma cells in vitro. *Int Immunol* 2008; 20(6): 775-82.
11. Coquery CM, Erickson LD. Regulatory roles of the tumor necrosis factor receptor BCMA. *Crit Rev Immunol* 2012; 32(4): 287-305.
12. Bellucci R, Alyea EP, Chiaretti S, Wu CJ, Zorn E, Weller E, et al. Graft-versus-tumor response in patients with multiple myeloma is associated with antibody response to BCMA, a plasma-cell membrane receptor. *Blood* 2005; 105(10): 3945-50.
13. Xu S, Lam KP. B-cell maturation protein, which binds the tumor necrosis factor family members BAFF and APRIL, is dispensable for humoral immune responses. *Mol Cell Biol* 2001; 21(12): 4067-74.
14. Laabi Y, Gras MP, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. The BCMA gene, preferentially expressed during B lymphoid maturation, is bidirectionally transcribed. *Nucleic Acids Res* 1994; 22(7): 1147-54.
15. Burmester GR, Feist E, Dorner T. Emerging cell and cytokine targets in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2014; 10(2): 77-88.
16. Moisini I, Davidson A. BAFF: a local and systemic target in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol* 2009; 158(2): 155-63.
17. Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, Good KL. BAFF, APRIL and human B cell disorders. *Semin Immunol* 2006; 18(5): 305-17.
18. Rickert RC, Jellusova J, Miletic AV. Signaling by the tumor necrosis factor receptor superfamily in B-cell biology and disease. *Immunol Rev* 2011; 244(1): 115-33.
19. Zhang X, Park CS, Yoon SO, Li L, Hsu YM, Ambrose C, et al. BAFF supports human B cell differentiation in the lymphoid follicles through distinct receptors. *Int Immunol* 2005; 17(6): 779-88.
20. Gathmann B, Mahlaoui N, Gerard L, Oksenhendler E, Warnatz K, Schulze I, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134(1): 116-26.
21. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, Cook WJ, Weaver LK, Ahonen C, et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med* 2004; 199(1): 91-8.
22. Luo J, Niu X, Zhang M, Zhang K, Chen M, Deng S. Inhibition of B lymphocyte-induced maturation protein-1 reduces the production of autoantibody and

- alleviates symptoms of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2015; 48(2): 80-6.
23. Jacob CO, Yu N, Guo S, Jacob N, Quinn WJ 3<sup>rd</sup>, Sindhava V, et al. Development of systemic lupus erythematosus in NZM 2328 mice in the absence of any single BAFF receptor. *Arthritis Rheum* 2013; 65(4): 1043-54.
  24. Tai YT, Anderson KC. Targeting B-cell maturation antigen in multiple myeloma. *Immunotherapy* 2015; 7(11): 1187-99.
  25. Oden F, Marino SF, Brand J, Scheu S, Kriegel C, Olal D, et al. Potent anti-tumor response by targeting B cell maturation antigen (BCMA) in a mouse model of multiple myeloma. *Mol Oncol* 2015; 9(7): 1348-58.
  26. Koarada S, Tada Y, Sohma Y, Haruta Y, Suematsu R, Mitamura M, et al. Autoantibody-producing RP105(-) B cells, from patients with systemic lupus erythematosus, showed more preferential expression of BCMA compared with BAFF-R than normal subjects. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49(4): 662-70.
  27. Jin R, Kaneko H, Suzuki H, Arai T, Teramoto T, Fukao T, et al. Age-related changes in BAFF and APRIL profiles and upregulation of BAFF and APRIL expression in patients with primary antibody deficiency. *Int J Mol Med* 2008; 21(2): 233-8.
  28. Salzer U, Neumann C, Thiel J, Woellner C, Pan-Hammarstrom Q, Lougaris V, et al. Screening of functional and positional candidate genes in families with common variable immunodeficiency. *BMC Immunol* 2008; 9: 3.
  29. Sarantopoulos A, Tselios K, Skendros P, Bougiouklis D, Theodorou I, Boura P. Genetic polymorphism study of regulatory B cell molecules and cellular immunity function in an adult patient with Common Variable Immunodeficiency. *Hippokratia* 2008; 12(3): 188-90.

Archive of SID

## Evaluation of Mutation in B cell Maturation Antigen (BCMA) Gene in Patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID)

Mahboobeh Ansari<sup>1</sup>, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi<sup>2</sup>, Roya Sherkat<sup>3</sup>, Abbas Rezaei<sup>4</sup>,  
Reza Yazdani<sup>5</sup>, Sharifeh Khosravi<sup>6</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Common variable immune deficiency (CVID) is the commonest symptomatic primary immunodeficiency and represents a heterogenous collection of disorders resulting mostly in antibody deficiency and recurrent infections. The syndrome includes impaired B-cell maturation, impaired somatic hypermutation, reduced numbers of circulating memory and isotype-switched memory B cells, and absent or reduced plasma cells. B cell maturation antigen (BCMA) is a tumor necrosis family receptor superfamily member 17 (TNFRSF17), expressed only on B cell lines, and is essential for survival of long-lived plasma cells. The aim of this study was to evaluate mutations in BCMA in patients with CVID in compare with normal individuals in Isfahan, Iran.

**Methods:** Blood samples were collected from 10 CVID patients with substitutive immunoglobulin therapy before immunoglobulins (Ig) infusion and 10 normal controls in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes then DNA samples were extracted and after the polymerase chain reaction (PCR) was done, samples were sequenced.

**Findings:** After reviewing the results of the sequence and alignment of the sequences, no mutations in the gene were seen.

**Conclusion:** In addition to the study of mutation in BCMA gene, BCMA gene and protein expression level should be considered to understand more aspects of this disease.

**Keywords:** Plasma cell, B cell maturation antigen (BCMA), Common variable immune deficiency (CVID)

**Citation:** Ansari M, Ganjalikhani-Hakemi M, Sherkat R, Rezaei A, Yazdani R, Khosravi S. **Evaluation of Mutation in B cell Maturation Antigen (BCMA) Gene in Patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID).** J Isfahan Med Sch 2016; 34(383): 555-62.

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Acquired Immunodeficiency Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- PhD Student, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

6- PhD Student, Department of Genetics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Mazdak Ganjalikhani-Hakemi, Email: mghakemi@med.mui.ac.ir