

## بررسی فراوانی پلی‌مورفیسم ژن گیرنده‌ی آلفا اینترلوکین ۷ با روش High Resolution Melt (HRM) در بیماران آتوپیک و افراد سالم

سمانه‌سادات مصطفوی<sup>۱</sup>، ناهید اسکندری<sup>۲</sup>، فرشته آل‌صاحب‌فصول<sup>۳</sup>، منصور صالحی<sup>۴</sup>، رامین قاسمی<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** اصطلاح آتوپیی و آتوپیک، مترادف با آلرژی هستند و به افرادی اطلاق می‌شوند که سابقه‌ی آلرژی در خود یا افراد خانواده‌ی آنان وجود دارد. به علاوه، افزایش IgE Immunoglobulin E (IgE) و آنتی‌بادهای آن و نیز آزمایش‌های جلدی ایشان در برابر مواد آلرژن اغلب مثبت است که به شکل آلرژی بینی، آگزما، آسم و کهیر بارز می‌شود. عوامل ژنتیک گسترده‌ای با شروع بیماری ارتباط دارند که یکی از آن‌ها پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین ۷ گیرنده‌ی آلفا (IL-7Ra) می‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر، بررسی فراوانی این پلی‌مورفیسم در دو گروه مورد و شاهد بررسی شد.

**روش‌ها:** ۱۰۱ بیمار مبتلا به یکی از بیماری‌های آلرژی در استان اصفهان به عنوان گروه مورد و ۲۰۱ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. پس از استخراج DNA، پلی‌مورفیسم C/T با استفاده از تکنیک (HRM) High resolution melt مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن IL-7Ra و بروز بیماری وجود داشت ( $P = 0/001$ ). همچنین، افراد دارای ژنوتایپ TT به میزان حدود ۴ برابر بیشتر از افراد دیگر مستعد ابتلا به بیماری آلرژی بودند ( $OR = 3/128$ ).

**نتیجه‌گیری:** فراوانی این ژنوتایپ در بیماری‌های آلرژی در کشورها و جمعیت‌های مختلف مانند آلمان و هندوستان مطالعه و بررسی شده و رابطه‌ی معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و بیماری آلرژی گزارش شده است. مطالعات نشان می‌دهند که IL-7 Interleukin-7 نقش مهمی در تنظیم عملکرد و بقای آنتی‌جین‌ها در بیماری آسم و نیز هومئوستازی سیستم ایمنی ایفا می‌کند.

**واژگان کلیدی:** پلی‌مورفیسم، ژن اینترلوکین ۷ گیرنده‌ی آلفا (IL-7Ra)، آتوپیی

**ارجاع:** مصطفوی سمانه‌سادات، اسکندری ناهید، آل‌صاحب‌فصول فرشته، صالحی منصور، قاسمی رامین. بررسی فراوانی پلی‌مورفیسم ژن گیرنده‌ی آلفا اینترلوکین ۷ با روش High Resolution Melt (HRM) در بیماران آتوپیک و افراد سالم. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۹۷): ۱۰۱۹-۱۰۲۴

ژنتیک و محیط در آن دخالت دارند و همکاری این دو عامل برای شروع و پیشرفت بیماری آلرژی به خصوص در دو سال اول زندگی در کودکان بسیار پراهمیت است (۲).

بر اساس آخرین آمار تا سال ۲۰۱۴ میلادی، تعداد افراد آتوپیک در سراسر جهان در حال افزایش است. آلرژی، به طور متوسط ۱۵ درصد از جمعیت جهان (در حدود ۵۰۰ میلیون نفر) را تحت تأثیر قرار داده است و در این بین، در ایران ۲۰ درصد افراد یعنی حدود ۱۴ میلیون نفر مبتلا به آلرژی وجود دارد (۳-۴). در بروز بیماری آلرژی، گروه وسیعی

### مقدمه

آتوپیی (به معنای نابه‌جا) به گروهی از بیماری‌های آلرژی اطلاق می‌گردد که وابسته به آنتی‌بادی به نام IgE Immunoglobulin E هستند. بیماران آتوپیک، افرادی هستند که به یک یا چند بیماری آلرژی (شامل: آسم، تب یونجه، آلرژی بینی یا رینیت آلرژیک، آگزما یا درماتیت) به طور هم‌زمان مبتلا می‌باشند. همچنین، بر خلاف افراد عادی، این افراد قادر هستند مقادیر زیاد آنتی‌بادی IgE را علیه آلرژن‌های معمول محیط اطراف تولید کنند (۱). آلرژی یک بیماری پیچیده است و هر دو عامل

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- فوق تخصص آسم، آلرژی و ایمنی بالینی، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: nesandari@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: ناهید اسکندری

۷ گیرنده‌ی آلفا (IL-7Ra) (CD127) و زنجیره‌ی گامای مشترک (γc) است که این زنجیره، با گروهی دیگر از سایتوکاین‌ها (IL-2، IL-4، IL-9، IL-15 و IL-21) مشترک می‌باشد (۱۵). نقص ژنتیک و عملکردی در این گیرنده، می‌تواند منجر به عدم عملکرد صحیح دو لنفوسیت کلیدی سیستم ایمنی یعنی T و B شود (۱۶-۱۷). ژن IL-7Ra یا CD127، بر روی کروموزوم ۵ (5q13.2) قرار دارد که ارتباط نزدیک پلی مورفیسم این ژن با بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های خود ایمنی و بیماری‌های آلرژی و آسم آلرژیک به اثبات رسیده است (۱۸-۱۹).

اختلاف در بیان این ژن، ممکن است به دلیل تنوع‌هایی در بخش‌های مختلف آن باشد که به نوبه‌ی خود، ناشی از پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی یا همان Single nucleotide polymorphism (SNP) است و این پدیده، با پیشرفت بیماری، فعالیت آن و یا هر دو در ارتباط است (۲۰). یکی از مهم‌ترین پلی مورفیسم‌های ژن IL-7Ra، rs6۸۹۷۹۳۲ است که با بیماری‌های گوناگون به خصوص آلرژی و بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS یا Multiple sclerosis) ارتباط تنگاتنگی دارد (۲۱).

مطالعات بر روی عملکرد این پلی مورفیسم، نشان می‌دهد که بروز آلل T بر روی پدیده‌ی Alternative splicing در Messenger RNA (mRNA) اثر می‌گذارد و منجر به کاهش بیان اگزون ۶ می‌شود و در نتیجه، IL-7R از حالت غشایی به حالت محلول تبدیل می‌شود و سیگنال ناشی از تعامل این گیرنده و لیگاند آن، یعنی IL-7، کاهش چشمگیری می‌یابد (۲۲).

اهمیت بالینی این پلی مورفیسم در بیماری آلرژی، زمانی مشخص شد که در بین چندین SNP مورد مطالعه در بین بیماران درماتیت، rs6۸۹۷۹۳۲ به عنوان پراهمیت‌ترین پلی مورفیسم گزارش گردید (۲۳). هدف از انجام این مطالعه، بررسی پلی مورفیسم rs6۸۹۷۹۳۲ در موقعیت اگزون ۶ از ژن IL-7R بود.

### روش‌ها

**افراد مورد مطالعه:** در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی، تعداد ۱۰۱ نفر بیمار آتوپیک که به درمانگاه آسم و آلرژی بیمارستان عیسی ابن مریم (ع) اصفهان مراجعه کرده بودند و بیماری آن‌ها به تأیید پزشک متخصص رسیده بود، انتخاب شدند. این بیماران، حداقل تا یک ماه پیش از نمونه‌گیری، هیچ گونه داروی مهارکننده‌ی سیستم ایمنی (مانند کورتن) دریافت نکرده بودند.

این بیماران، در مرحله‌ی عود بیماری مبتلا به یک یا دو بیماری آلرژی به شکل هم‌زمان و همچنین، دارای سابقه‌ی خانوادگی ابتلا به آلرژی بودند که به عنوان گروه مورد در نظر گرفته شدند. همچنین،

از سلول‌ها و سایتوکاین‌ها دخالت دارند. از مهم‌ترین آن‌ها سلول‌های T کمکی (Helper T cells) هستند که در خون محیطی افراد آتوپیک به آلرژن‌های معمول محیطی حساس می‌باشند و طی پاسخ‌های ایمنولوژیک، سایتوکاین‌های Interlukin-4 (IL-4)، IL-5 و IL-13 تولید می‌کنند. تولید آنتی‌بادی Ige کلیدی‌ترین عامل برای عملکرد مجموعه سلول‌های ائوزینوفیل، بازوفیل و ماست سل‌ها می‌باشد که در این بین، سایتوکاین IL-5 نقش مهمی در بقا و عملکرد ائوزینوفیل‌ها دارد. این سلول‌ها که از پیش‌سازهای مغز استخوان منشأ می‌گیرند و در واکنش‌های آلرژیک به خصوص آلرژی‌های تنفسی نقش مهمی دارند. IL-5، منجر به آزادسازی گرانول‌های سیتوپلاسمی ائوزینوفیل‌ها می‌گردد و از طرف دیگر، اتصال Ige به گیرنده‌ی خود، منجر به آزاد شدن گرانول‌های ماست سل‌ها می‌شود که هیستامین از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشد.

از طرفی، بازوفیل‌ها که مهم‌ترین سایتوکاین‌های آن‌ها IL-4 و IL-13 می‌باشند، در تمایز سلول‌های T بکر به Th2 نقش دارند (۷-۵). IL-7 از رده‌ی سایتوکاین‌های خون‌ساز می‌باشند و رشد سلول‌های T طبیعی در موش و انسان وابسته به سیگنال ناشی از گیرنده‌ی آن (IL-7R) است. تحقیقات، حاکی از آن است که این سایتوکاین پیش‌التهابی علاوه بر مغز استخوان و تیموس، در شرایط التهاب حاد از سلول‌های کراتینوسیت پوست نیز ترشح می‌شود و بنابراین، در بیماری درماتیت آتوپیک (Atopic dermatitis) اهمیت دارد؛ چرا که به عنوان یک عامل رشد برای سلول‌های دندریتیک (Dendritic cells) و سلول‌های T مجاور موضع التهاب عمل می‌کند (۸). IL-7، همچنین در افزایش تکثیر پیش‌سازهای ائوزینوفیل‌ها و ماست سل‌ها در مغز استخوان و نیز افزایش بیان دو سایتوکاین IL-6 و IL-8 به وسیله‌ی مونوسیت‌ها نقش دارد که در این بین، IL-6 به نوبه‌ی خود باعث افزایش ساخت آنتی‌بادی Ige می‌شود و IL-8، به تولید و ترشح هیستامین از ماست سل‌ها کمک می‌کند (۹).

همچنین، تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش بیان ژن IL-7، منجر به افزایش نفوذ ائوزینوفیل‌ها و نوتروفیل‌ها به موضع التهاب در بیماران درماتیت پوستی می‌شود (۱۱-۱۰). این سایتوکاین، که یک گلیکوپروتئین ۲۵ کیلودالتونی است، در تنظیم لنفوپوئز و هومئوستازی سلول‌های T نقش دارد. به عبارت دیگر، نقص در عملکرد این سایتوکاین و گیرنده‌ی آن، می‌تواند منجر به عدم کنترل و عدم تنظیم پاسخ‌های ایمنی ناشی از سلول‌های T شود و به دنبال آن، باعث بروز بیماری‌های خود ایمنی و آلرژی گردد؛ چرا که علاوه بر سلول‌های T عملکردی، سلول‌های تنظیمی نیز برای بقای خود به این سایتوکاین نیازمند هستند (۱۴-۱۲).

گیرنده‌ی این سایتوکاین، مشتق از دو زیر واحد ایتترلوکین

۲۰۱ فرد از افراد سالم غیر حامله، بدون سابقه‌ی بیماری‌های خود ایمن و التهابی و بدون سابقه‌ی پیوند اعضا که برای اهدای خون به سازمان انتقال خون مراجعه نموده بودند نیز به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأیید شد و از همه‌ی افراد شرکت کننده رضایت‌نامه‌ی کتبی اخذ گردید.

نمونه‌گیری و جدا کردن DNA از افراد شرکت کننده، ۲ سی‌سی خون محیطی گرفته و در لوله‌های Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) جمع‌آوری شد. سپس، مطابق دستورالعمل کیت مربوط (Genomic DNA extraction Genet Bio)، DNA استخراج گردید. تأیید DNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و Optical density (OD) آن در ۲۶۰ نانومتر انجام شد. کیفیت DNA استخراجی نیز با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ بررسی گردید.

### یافته‌ها

در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی تعداد ۱۰۱ نفر از بیماران آتوپیک شهر اصفهان به عنوان گروه مورد و همچنین، ۲۰۱ فرد از افراد سالم به عنوان گروه شاهد جهت بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژن IL-7Ra (rs۶۸۹۷۹۳۲) مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۲). آزمون Independent t تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین میانگین سن افراد در دو گروه نشان نداد ( $P = ۰/۶۳۰$ ). همچنین، ضریب همبستگی Pearson نشان داد که در گروه مورد و شاهد بین سن و فراوانی ژنوتیپ تفاوت چندانی نبود. SNP مورد مطالعه با هر دو گروه مورد و شاهد در تعادل Hardy-Weinberg بود ( $P < ۰/۰۵۰$ ) (جدول ۲).

تعیین ژنوتایپ: بررسی توزیع فراوانی پلی مورفیسم rs۶۸۹۷۹۳۲ در دو گروه مورد و شاهد با استفاده از تکنیک High-resolution melting real time-Polymerase chain reaction (High-resolution melting real time-PCR) انجام شد. همچنین، با کمک نرم‌افزار Primer3 پرایمرهای این ژن طراحی و توسط شرکت پیشگام ساخته شد (جدول ۱). پرایمرهای طراحی شده دارای محتوای GC ۵۰ درصد و دمای ۵۸/۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و همچنین با رعایت عدم مکمل بودن انتهای دو پرایمر و طول استاندارد بین ۱۸-۳۰ جفت باز، طبق اصول علمی انتخاب پرایمر مناسب و با کمک نرم‌افزار Primer3 بررسی و طراحی شدند.

آزمون  $\chi^2$  نشان داد که توزیع فراوانی پلی مورفیسم rs۶۸۹۷۹۳۲ در دو گروه متفاوت بود ( $P < ۰/۰۰۱$ )؛ به گونه‌ای که توزیع فراوانی ژنوتایپ TT در افراد بیمار به شکل معنی‌داری بیشتر از افراد سالم بود و بین آلل T و بروز بیماری آلرژی، ارتباط معنی‌داری وجود داشت. به عبارت دیگر، افرادی که آلل T را داشتند، به طور تقریبی ۴ برابر بیشتر از افرادی که این آلل را نداشتند، در معرض ابتلا به بیماری آلرژی هستند ( $OR = ۳/۱۲۸$ ) (جدول ۲).

مراحل PCR و HRM با استفاده از دستگاه و نرم‌افزار Corbett (Rotor-Gene6000) و کیت Solis Bio Dynecompany- Estonia انجام شد. واکنش در حجم ۱۰ میکرولیتر حاوی ۲ میکرولیتر از MasterMix5x DNA پلیمراس، Deoxynucleotide triphosphate یا dNTP،  $MgCl_2$ ، رنگ فلورسنت اواگرین، ۰/۱ میکرولیتر پرایمر Forward (۱۰ پیکومول)، ۰/۱ میکرولیتر پرایمر Reverse (۱۰ پیکومول)، ۵/۸ میکرولیتر  $H_2O$  و ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده به انجام رسید.

آزمون Mantel-Haenszel نشان داد که اگر توزیع جنس در هر دو گروه یکسان بود، باز هم فراوانی ژنوتایپ در بین دو گروه معنی دار می‌شد. بنابراین، در این مطالعه، ناهمگن بودن جنس نمی‌تواند به عنوان متغیر مخدوشگر عمل کند.

تجزیه و تحلیل آماری: برای تعیین فراوانی ژنوتایپ در دو گروه مورد و شاهد و نیز واکاوی داده‌ها، از آزمون‌های Independent t،  $\chi^2$  و Mantel-Haenszel در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶

### بحث

اگر چه نقش مهم سایتوکاین‌های کلیدی نظیر IL-4 و IL-13 در بیماری‌های آلرژی به اثبات رسیده است، مطالعات اخیر نشان می‌دهند که IL-7 و گیرنده‌ی آن (IL-7Ra) نیز می‌توانند نقش مهمی در این گروه از بیماری‌ها به خصوص درماتیت آتوپیک ایفا کنند (۸). از آن جایی که گیرنده‌ی این سایتوکاین نیز به نوبه‌ی خود در انتقال سیگنال

جدول ۱. توالی پرایمرهای مربوط به پلی مورفیسم rs۶۸۹۷۹۳۲

ژن	SNP	موقعیت	اندازه‌ی محصول (bp)	آلل	پرایمر
IL-7Ra	rs۶۸۹۷۹۳۲	آگرون ۶	۱۰۰	C T	F:5'TGCATGGCTACTGAATGCTC'3 R:5'CCCACACAATCACCCCTCTTT'3

SNP: Single nucleotide polymorphism

جدول ۲. اطلاعات توصیفی گروه‌های مورد مطالعه و توزیع فراوانی پلی مورفیسم ۶۸۹۷۹۳۲ در دو گروه مورد و شاهد

متغیر	گروه مورد (n = ۱۰۱)	گروه شاهد (n = ۲۰۱)	مقدار P
سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)	۳۲/۰ ± ۱۲/۱	۳۲/۰ ± ۱۲/۵	۰/۶۳۰
جنس	۳۷ (۳۶/۶)	۷۵ (۳۷/۵)	۰/۸۳۰
[تعداد (درصد)]	۶۴ (۶۳/۴)	۱۲۶ (۶۲/۵)	
ژنوتایپ-آل	۴۷ (۴۶/۵)	۱۴۷ (۷۳/۱)	< ۰/۰۰۱
[تعداد (درصد)]	۳۱ (۳۰/۷)	۵۴ (۲۶/۹)	
TT	۲۳ (۲۲/۸)	۰ (۰)	
آل T	۵۴ (۵۳/۵)	۵۴ (۲۶/۹)	< ۰/۰۰۱*
آل C	۴۷ (۴۶/۵)	۱۴۷ (۷۳/۱)	

\* Odds Ratio (95% CI): 3.128

افزایش بیان (CD۶۹) و بقای ائوزینوفیل‌ها در بیماری آسم شود (۲۹). مطالعات اخیر در بیماری MS نیز نشان داده است که پلی مورفیسم ژن IL-7Ra، می‌تواند منجر به افزایش سطح سرمی این گیرنده و کاهش میزان IL-7 در سرم این بیماران شود (۳۰).

مطالعات بر روی حدود ۲۰۰ بیمار مبتلا به آلرژی تنفسی نشان می‌دهد که پلی مورفیسم در موقعیت خاصی از ژن این گیرنده که مربوط به ناحیه‌ی خارج سلولی آن است، موقعیت اتصال به لیگاند و نیز اثر متقابل زنجیره‌ی آلفا و گاما را تغییر می‌دهد و در نهایت، بر عملکرد بیولوژیک آن تأثیر می‌گذارد (۱۳).

از آن جایی که مطالعه‌ی مشابهی در اصفهان در خصوص بیماران آلرژی انجام نشده بود، به نظر می‌رسد مطالعه‌ی حاضر به عنوان اولین مطالعه، بیانگر ارتباط تنگاتنگ بین پلی مورفیسم ژن ۶۸۹۷۹۳۲ و بروز بیماری‌های آلرژی در جمعیت مورد مطالعه باشد. همچنین، پیشنهاد می‌شود که مطالعات در این خصوص بر روی تعداد بیشتری نمونه و در فصول متفاوت از سال انجام شود.

### تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۳۰۴۶ می‌باشد که توسط گروه ایمنی‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مورد حمایت مالی قرار گرفته است. لازم است از تمامی کسانی که ما را در به انجام رساندن این پژوهش یاری کرده‌اند، سپاسگزاری گردد.

ناشی از IL-7 مشارکت می‌کند، هر گونه جهش ژنتیک در این گیرنده، می‌تواند با گروه بیماری‌های اتوپیکی نظیر درماتیت اتوپیکی و آسم در ارتباط باشد (۲۵-۲۶). در این مطالعه، فراوانی ژنوتایپ ۶۸۹۷۹۳۲ ژن IL-7Ra در گروه بیماران اتوپیکی استان اصفهان در مقایسه با افراد سالم و احتمال ابتلا به این بیماری مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به دست آمده، نشان داد که فراوانی ژنوتایپ TT در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم بود و رابطه‌ی معنی‌داری بین بروز بیماری آلرژی و آل T وجود داشت.

فراوانی این ژنوتایپ در بیماری‌های آلرژی در کشورها و جمعیت‌های مختلف مانند آلمان و هندوستان مطالعه و بررسی و نتایج مشابهی حاصل شده است (۲۶، ۲۳). بنابراین، ۶۸۹۷۹۳۲ می‌تواند نقش مهمی در بیماری‌های اتوپیکی داشته باشد (۲۶). البته لازم به ذکر است که اهمیت این پلی مورفیسم در سایر بیماری‌ها به خصوص بیماری اتوایمن (MS) نیز به اثبات رسیده است (۲۱). همچنین، شواهد حاکی از آن است که یکی از بیماری‌های مهم نقص ایمنی به نام Severe combined immunodeficiency (SCID) اغلب ناشی از بروز پلی مورفیسم در زیر واحد  $\gamma_c$  از گیرنده‌ی IL-7R و یا نبود زیر واحد  $\alpha$  این گیرنده است (۲۷).

همچنین، ارتباط پلی مورفیسم ژن IL-7R و بیماری SCID در مناطق خاصی از این ژن مطالعه شده است و نتایج این بررسی نشان می‌دهد که ارتباط نزدیکی بین پلی مورفیسم IL-7R و بروز بیماری SCID برقرار است (۲۸). مطالعات نشان می‌دهند که IL-7 منجر به

### References

- Kay AB. Allergy and allergic diseases. Second of two parts. N Engl J Med 2001; 344(2): 109-13.
- Kay AB. Overview of 'allergy and allergic diseases: with a view to the future'. Br Med Bull 2000; 56(4): 843-64.
- Uphoff EP, Cabieses B, Wright J, Pickett KE. International prevalence rates of asthma and allergy are associated with income inequality. J Allergy Clin Immunol 2015; 136(1): 189-90.
- Villa-Nova H, Spinola-Castro AM, Garcia FE, Sole D. Prevalence of allergic diseases and/or allergic sensitisation in children and adolescents with type 1

- diabetes mellitus. *Allergol Immunopathol* 2015; 43(2): 157-61.
5. Arshad SH, Stevens M, Hide DW. The effect of genetic and environmental factors on the prevalence of allergic disorders at the age of two years. *Clin Exp Allergy* 1993; 23(6): 504-11.
  6. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125(2 Suppl 2): S73-S80.
  7. Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105(3): 399-408.
  8. Heufler C, Topar G, Grasseger A, Stanzl U, Koch F, Romani N, et al. Interleukin 7 is produced by murine and human keratinocytes. *J Exp Med* 1993; 178(3): 1109-14.
  9. Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase is a mitogen for epithelial cells. Stimulation of IL-8 production and intercellular adhesion molecule-1 expression. *J Immunol* 1996; 156(1): 275-83.
  10. Yamada N, Wakugawa M, Kuwata S, Nakagawa H, Tamaki K. Changes in eosinophil and leukocyte infiltration and expression of IL-6 and IL-7 messenger RNA in mite allergen patch test reactions in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98(6 Pt 2): S201-S206.
  11. Barnes PJ. Pathophysiology of allergic inflammation. *Immunol Rev* 2011; 242(1): 31-50.
  12. Shamim Z, Ryder LP, Heilmann C, Madsen H, Lauersen H, Andersen PK, et al. Genetic polymorphisms in the genes encoding human interleukin-7 receptor-alpha: prognostic significance in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37(5): 485-91.
  13. Shamim Z, Müller K, Svejgaard A, Poulsen LK, Bodtger U, Ryder LP. Association between genetic polymorphisms in the human interleukin-7 receptor a-chain and inhalation allergy. *Int J Immunogenet* 2007; 34(3): 149-53.
  14. Mazzucchelli R, Hixon JA, Spolski R, Chen X, Li WQ, Hall VL, et al. Development of regulatory T cells requires IL-7Ralpha stimulation by IL-7 or TSLP. *Blood* 2008; 112(8): 3283-92.
  15. Jiang Q, Li WQ, Aiello FB, Mazzucchelli R, Asefa B, Khaled AR, et al. Cell biology of IL-7, a key lymphotrophin. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16(4-5): 513-33.
  16. Goodwin RG, Lupton S, Schmierer A, Hjerrild KJ, Jerzy R, Clevenger W, et al. Human interleukin 7: molecular cloning and growth factor activity on human and murine B-lineage cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(1): 302-6.
  17. Seddon B, Tomlinson P, Zamoyska R. Interleukin 7 and T cell receptor signals regulate homeostasis of CD4 memory cells. *Nat Immunol* 2003; 4(7): 680-6.
  18. Gregory SG, Schmidt S, Seth P, Oksenberg JR, Hart J, Prokop A, et al. Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nat Genet* 2007; 39(9): 1083-91.
  19. Tremblay K, Daley D, Chamberland A, Lemire M, Montpetit A, Laviolette M, et al. Genetic variation in immune signaling genes differentially expressed in asthmatic lung tissues. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122(3): 529-36.
  20. Nachman MW. Single nucleotide polymorphisms and recombination rate in humans. *Trends Genet* 2001; 17(9): 481-5.
  21. Cierny D, Hanysova S, Michalik J, Kantorova E, Kurca E, Skerenova M, et al. Genetic variants in interleukin 7 receptor alpha chain (IL-7Ra) are associated with multiple sclerosis risk and disability progression in Central European Slovak population. *J Neuroimmunol* 2015; 282: 80-4.
  22. Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E, Kockum I, Wallstrom E, Khademi M, et al. Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nat Genet* 2007; 39(9): 1108-13.
  23. Hoffjan S, Beygo J, Akkad DA, Parwez Q, Petrasch-Parwez E, Epplen JT. Analysis of variation in the IL7RA and IL2RA genes in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2009; 55(2): 138-40.
  24. Hoffjan S, Epplen JT. The genetics of atopic dermatitis: recent findings and future options. *J Mol Med (Berl)* 2005; 83(9): 682-92.
  25. Kurz T, Hoffjan S, Hayes MG, Schneider D, Nicolae R, Heinzmann A, et al. Fine mapping and positional candidate studies on chromosome 5p13 identify multiple asthma susceptibility loci. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118(2): 396-402.
  26. Sinha S, Singh J, Jindal SK. Association of interleukin 7 receptor (rs1494555 and rs6897932) gene polymorphisms with asthma in a north Indian population. *Allergy Rhinol (Providence)* 2015; 6(3): 168-76.
  27. Fischer A, Hacein-Bey S, Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of severe combined immunodeficiencies. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(8): 615-21.
  28. Safaei S, Pourpak Z, Moin M, Houshmand M. IL7R and RAG1/2 Genes Mutations/Polymorphisms in Patients SCID. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2011; 10(2): 129-32.
  29. Kelly EA, Koziol-White CJ, Clay KJ, Liu LY, Bates ME, Bertics PJ, et al. Potential contribution of IL-7 to allergen-induced eosinophilic airway inflammation in asthma. *J Immunol* 2009; 182(3): 1404-10.
  30. Kreft KL, Verbraak E, Wierenga-Wolf AF, van Meurs M, Oostra BA, Laman JD, et al. Decreased systemic IL-7 and soluble IL-7Ralpha in multiple sclerosis patients. *Genes Immun* 2012; 13(7): 587-92.

## Evaluation of the Frequency of Gene Polymorphism of Interleukin-7 Receptor Subunit Alpha (IL7R- $\alpha$ ) in Atopic Patients and Healthy Controls

Samaneh Mostafavi<sup>1</sup>, Nahid Eskandari<sup>2</sup>, Fereshteh Ale-Sahebhosoul<sup>2</sup>, Mansour Salehi<sup>3</sup>, Ramin Ghasemi<sup>4</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Atopy and/or allergy are in the same meaning. Patients with allergy are individuals who have positive family history and the number of eosinophil in their blood test and immunoglobulin E (IgE) level in their skin test are high against allergen, which is demonstrated by allergic rhinitis, eczema, asthma and urticaria. Many genetic factors are involved in disease onset one of which is interleukin-7 receptor subunit alpha (IL7R- $\alpha$ ). In this study we aimed to evaluate the frequency of this polymorphism in two groups of case and control.

**Methods:** 101 patients with allergy and 201 controls were selected. After DNA extraction, different genotypes of C/T polymorphisms were studied using high-resolution melt real-time polymerase chain reaction (HRM real-time PCR) technique.

**Findings:** There was a significant association between the frequency of this gene polymorphism and atopy. In fact, individuals with TT genotype were approximately 4 times more at a risk of this disease.

**Conclusion:** The frequency of this polymorphism with same results was also studied in both Germany and India, which shows that this polymorphism is significantly associated with allergy. Studies have also shown that IL-7 plays a pivotal role not only in eosinophil survival and operation but also in immune system homeostasis.

**Keywords:** Polymorphism, Interleukin-7 receptor subunit alpha (IL7R- $\alpha$ ), Atopy

**Citation:** Mostafavi S, Eskandari N, Ale-Sahebhosoul F, Salehi M, Ghasemi R. **Evaluation of the Frequency of Gene Polymorphism of Interleukin-7 Receptor Subunit Alpha (IL7R- $\alpha$ ) in Atopic Patients and Healthy Controls.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(397): 1019-24.

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine, 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, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

4- Subspecialist in Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Nahid Eskandari, Email: nesandari@med.mui.ac.ir