خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۹ شماره ۱ بهار ۱۴۰۱ (۲۹-۲۴)

مقاله پژوهشی

# نقش پلی‌مورفیسم rs371194629 ناحیه 3'-UTR ژن *HLA-G* بر استعداد ابتلا به ویروس HTLV-1 در اهداکنندگان خون خراسان رضوی

*زینب گنجیان مفرد[۱]، علی عرب خزائلی[۲]، فرزاد ملاحسینی[۳]، مجید شهابی[۴]*

## چکیده

### سابقه و هدف

**ویروس HTLV-1 از جمله ویروس‌های منتقله از راه خون می‌باشد که در برخی مناطق جهان و در مناطقی از شمال شرق ایران به صورت اندمیک مشاهده می‌شود. مولکول HLA-G که به عنوان یک آنتی‌ژن لکوسیتی غیرکلاسیک شناخته می‌شود، دارای پلی‌مورفیسم rs371194629 در ناحیه 3'-UTR خود می‌باشد که ناشی از یک توالی اضافه ۱۴ نوکلئوتیدی است و در مطالعه‌های مختلف تاثیر آن بر ابتلا به عفونت‌های مختلف نشان داده شده است. هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر این پلی‌مورفیسم بر استعداد ابتلا به ویروس HTLV-1 در اهداکنندگان خون خراسان رضوی بود.**

### مواد و روش‌ها

**در این مطالعه تحلیلی، ۱۳۱ اهداکننده خون مبتلا به ویروس HTLV-1 و ۱۳۱ اهداکننده سالم شرکت داشتند. پس از استخراج DNA از لنفوسیت‌های خون محیطی، ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs371194629 با روش PCR-SSP تعیین شد. یافته‌های آماری به کمک آزمون کای‌دو و نرم‌افزار SPSS ۲۳ تجزیه و تحلیل گردید.**

### یافته‌ها

**ژنوتیپ هتروزیگوت DI ، بیشترین فراوانی را در هر دو گروه بیمار و شاهد داشت. نتایج به دست آمده نشان‌دهنده اختلاف معناداری بین فراوانی ژنوتیپ DD و استعداد ابتلا به ویروس HTLV-1 بود(p= ۰/۰۳ ، ۳/۱۱-۱/۱۴ CI= ٪۹۵ ، ۱/۸۹ =OR). بین فراوانی آلل‌های D و I و بیماری ارتباطی یافت نشد.**

### نتیجه گیری

**با توجه به نتایج به دست آمده و نیز نتایج دیگران، پلی‌مورفیسم rs371194629 در ناحیه 3'-UTR مولکول HLA-G می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در ابتلا به ویروس HTLV-1 باشد.**

***کلمات کلیدی:*** **HTLV-1 ، عفونت، HLA-G**

*تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۱*
*تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۸*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد خون شناسی آزمایشگاهی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- PhD آمار و اپیدمیولوژی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳- کارشناس ارشد بیوشیمی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون و اداره کل انتقال خون مشهد ـ مشهد ـ ایران
۴- مؤلف مسئول: PhD فرآورده‌های بیولوژیک ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-16 ]

## مقدمه

HTLV-1 (Human T-cell lymphotropic virus type1) ویروسی با زنجیره RNA از خانواده دلتا ویروس می‌باشد (۲، ۱). نوع ۱ این ویروس(HTLV-1) در سال ۱۹۷۹در مبتلایان به بیماری لنفوپرولیفراتیو سلول T و نوع ۲ ویروس(HTLV-2) متعاقباً در یک فرد مبتلا به لوسمی مویی شکل به عنوان اولین رتروویروس انسانی شناسایی شد(۳). به علاوه موارد محدودی ازآلودگی انسان به نوع ۳ و ۴ این ویروس در سال‌های اخیر در آفریقای مرکزی گزارش شده است(۵، ۴). عفونت HTLV-1 می‌تواند منجر به لوسمی سلول T بزرگسالان(ATL : Adult T-cell leukaemia/lymphoma)، فلج شل گرمسیری همراه با میلوپاتی ناشی از HTLV-1 (HAM/TSP : HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis)، التهاب عنبیه و نیز التهاب عفونی پوست در کودکان شود(۴).

آنتی‌ژن‌های لکوسیتی(HLA : Human leukocyte antigens) کلاس یک به دو گروه کلاسیک شامل HLA A, B, C و غیر کلاسیک HLA E, G, F تقسیم می‌شود. مولکول HLA-G یک HLA کلاس یک غیر کلاسیک با پلی‌مورفیسم محدود است که غالباً در بارداری و در طی رابطه مادر و جنین شناخته می‌شود. این مولکول اثرمستقیم بر مهار پاسخ‌های ایمنی داشته و تولید سلول‌های مهاری و تنظیمی را القا می‌کند(۷-۳). مطالعه‌ها روی پلی‌مورفیسم‌های ناحیه 3'-UTR مولکول HLA-G در بیماران مبتلا به HTLV-1 نشان می‌دهد که بعضی پلی‌مورفیسم‌ها با کاهش تولید HLA-G همراه بوده که در نهایت کاهش احتمال گسترش آلودگی به ویروس HTLV-1 را در پی داشته در حالی که پلی‌مورفیسم‌های دیگر با افزایش تولید HLA-G و در نتیجه افزایش احتمال آلودگی به ویروس HTLV-1 در سلول‌های میزبان همراه بوده است(۸). به عنوان مثال ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم rs371194629 که ناشی از یک اضافه(insertion) ۱۴ جفت نوکلئوتیدی در ناحیه 3'-UTR ژن می‌باشد، در میزان ویروس در جریان خون تاثیر دارد به گونه‌ای که وجود ژنوتیپ ۱۴bp/+۱۴bp+ با کاهش بار ویروسی همراه است، در حالی که ژنوتیپ‌های ۱۴bp/+۱۴bp- و ۱۴bp-/-۱۴bp- با افزایش بار ویروس همراه هستند(۹). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر این پلی‌مورفیسم(rs371194629) در استعداد ابتلا به عفونت HTLV-1 در اهداکنندگان خون در استان خراسان رضوی بود.

## مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده به صورت تحلیلی و از نوع مورد - شاهدی بود. در این مطالعه از ۱۳۱ فرد HTLV-1 مثبت که آزمایش الایزا و وسترن بلات مثبت داشتند، به عنوان مورد و از ۱۳۱ فرد سالم مراجعه‌کننده به پایگاه انتقال خون استان خراسان رضوی به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. تمامی نمونه‌ها از نظر عفونت‌های ویروسی HBV ، HCV و HIV-1 منفی گزارش شده بودند. از تمام افراد مورد مطالعه رضایت‌نامه کتبی دریافت گردید. این مطالعه مصوب کمیته اخلاق در پژوهش مؤسسه عالی آموزشی پژوهشی طب انتقال خون ایران به شماره IR.TMI.REC.1398.030 است.

نمونه خون کامل به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر، در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری گردید. برای نمونه‌های HTLV-1 مثبت با استفاده از گرادیان فایکول لنفوسیت‌های خون جداسازی شده و پس از شستشو با بافر سالین- فسفات در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای نمونه‌های گروه شاهد از بافی‌کوت استفاده شد. DNA ژنومیک با استفاده از کیت( PrimerPrep Genomic DNA Isolation Kit from Blood ، سئول، کره) استخراج شد. در ابتدا ۱۰ نمونه با آغازگرهای HLA-G-f و HLA-G-r تکثیر شده و برای تعین توالی ارسال شد(شرکت ژن فناوران، تهران، ایران). از این نمونه‌ها جهت ارزیابی صحت نتایج واکنش‌های PCR-SSP ( Polymerase chain reaction-sequence specific primer) استفاده شد. برای تعیین ژنوتیپ از روش PCR-SSP استفاده گردید. اساس این روش بر طراحی آغازگرهایی است که در نوکلئوتید '3 با یکدیگر تفاوت دارند و بدین‌وسیله تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی را امکان‌پذیر می‌کند. البته در این پژوهش با توجه به تفاوت ۱۴ نوکلئوتیدی دو



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-16 ]

آلل، قسمتی از توالی آغازگر تشخیص‌دهنده آلل I در داخل این ۱۴ نوکلئوتید قرار داشته و در نتیجه با آلل D (که فاقد ۱۴ نوکلئوتید می‌باشد) واکنش نخواهد داد. برای تشخیص آلل 14 bp deletion از آغازگرهای HLA-G-f و 629-14d و برای تشخیص آلل 14 bp insertion از آغازگرهای HLA-G-r و 629-14i استفاده شد(جدول ۱). واکنش‌های PCR در حجم ۱۰ µL حاوی ۵ µL از Premix (پارس توس، تهران، ایران)، ۰/۲ µL از هر کدام از آغازگرها و ۵۰ ng از DNA ژنومیک انجام شد. مشخصات دمایی واکنش‌های PCR در جدول آورده شده است(جدول ۲). محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی رنگ Green viewer (پارس توس، تهران، ایران) الکتروفورز و عکسبرداری شدند. برای محاسبات آماری از آزمون کای‌دو و نرم‌افزار SPSS ۲۳ استفاده شد.

**جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنش‌های PCR**

| آغازگر | توالی |
|---|---|
| HLA-G-f | 5'-CCT CTT CCT CAT GCT GAA CT -3' |
| HLA-G-r | 5'-ACC CAT CAA TCT CTC TTG GA -3' |
| 629-14i | 5'-GGAAGG AAT GCA GTT CAG CAT GA-3' |
| 629-14d | 5'-AAG TCA CAA AGG GAC TTG CCA C-3' |

**جدول ۲: مشخصات دمایی و تعداد چرخه‌های واکنش‌های PCR**

| مرحله | دما (درجه سانتی‌گراد) | زمان | چرخه |
|---|---|---|---|
| initial soak | ۹۴ | ۵ دقیقه | ۱ |
| Denaturation | ۹۵ | ۳۰ ثانیه | ۳۵ |
| Annealing | ۶۶/۵ | ۳۰ ثانیه | |
| Elongation | ۷۲ | ۳۰ ثانیه | |
| Final extension | ۷۲ | ۵ دقیقه | ۱ |

## یافته‌ها

فراوانی ژنوتیپ‌ها با معادله هاردی وینبرگ بررسی شده و مشخص شد فراوانی‌ها در حالت تعادل قرار دارد (جدول ۳). بیشترین فراوانی در هر دو گروه مربوط به ژنوتیپ DI (۴۹/۶٪ برای گروه سالم و ۴۰/۳٪ برای گروه مورد) بود. نتایج آزمون‌های آماری نشان داد ژنوتیپ DD شانس ابتلا به عفونت HTLV-1 را افزایش می‌دهد(۰/۰۳ =p ، ۱/۱۴–۳/۱۱ ۹۵٪ CI= ، ۱/۸۹ =OR)(جدول ۴). ارتباطی بین آلل‌های D و I با بیماری مشاهده نشد.

**جدول ۳: فراوانی و درصد ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه شاهد و بیمار**

| ژنوتیپ / گروه‌های مطالعه | DD | DI | II |
|---|---|---|---|
| گروه شاهد تعداد (درصد) | ۴۴ (۳۳/۶) | ۶۵ (۴۹/۶) | ۲۲ (۱۶/۸) |
| گروه بیمار تعداد (درصد) | ۶۳ (۴۸/۸) | ۵۲ (۴۰/۳) | ۱۴ (۱۰/۹) |

DD : هموزیگوس برای آلل Deletion

DI : هتروزیگوس

II : هموزیگوس برای آلل Insertion

**جدول ۴: رابطه بین ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم 14 bp Indel و ابتلا به عفونت HTLV-1**

| ژنوتیپ | OR | 95% CI | p-value |
|---|---|---|---|
| DD/DI + II | ۱/۸۹ | ۱/۱۴–۳/۱۱ | ۰/۰۳ |
| II/DI + DD | ۰/۶۰ | ۰/۲۹–۱/۲۴ | ۰/۱۰ |
| DI/DD + II | ۰/۶۷ | ۰/۴۲–۱/۱۲ | ۰/۰۸ |
| I/D | ۰/۷۶ | ۰/۵۳–۱/۰۷ | ۰/۱۰ |

OR : odd ratio CI : confidence interval

## بحث

HLA-G یک آنتی‌ژن غیرکلاسیک کلاس ۱ می‌باشد که در تعدیل پاسخ‌های ایمنی نقش دارد. پلی‌مورفیسم rs371194629 که در 3'-UTR این ژن قرار دارد، بر میزان بیان این ژن تاثیر دارد به گونه‌ای که ژنوتیپ DD باعث بیشترین بیان ژن می‌شود. در این مطالعه نیز که روی افراد HTLV-1 مثبت انجام شد، مشخص گردید ژنوتیپ DD احتمال ابتلا به ویروس را افزایش می‌دهد.



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-16 ]

مطالعه‌های حداد و همکارانش در سال ۲۰۱۰ در ارتباط با تأثیر این پلی‌مورفیسم بر روی استعداد ابتلا به ویروس HTLV-1 نشان‌دهنده ارتباط بین ژنوتیپ هتروزیگوت(DI) با میزان ابتلا به بیماری بود(۰/۰۲۲ =p ، ۲/۲۰۲ =OR)(۸). هر چند نتایج مطالعه‌های سیلیائو و همکارانش بر خلاف نتایج ما می‌باشد زیرا در آن مطالعه ژنوتیپ DD ، نقش محافظت‌کننده در برابر ویروس HTLV-1 دارد(۹). دلیل این امر را می‌توان در تعدد پلی‌مورفیسم‌ها در ناحیه 3'-UTR ژن *HLA-G* ذکر کرد که می‌توانند به صورت یک هاپلوتیپ خاص اعمال اثر کنند. به علاوه تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه نیز باید در نظر گرفته شود.

مطالعه‌های الوی و همکارانش نشان‌دهنده نقش محافظتی آلل II در پیشگیری از ابتلا به عفونت HTLV-1 می‌باشد که با نتایج مطالعه ما هم‌خوانی دارد. به علاوه نتایج آن‌ها نشان داد که افراد مبتلای دارای این ژنوتیپ(II)، دارای بار ویروسی کمتری نسبت به مبتلایان با دیگر ژنوتیپ‌ها می‌باشند(۱۰).

پژوهش سگیت و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نیز مؤید نقش ژنوتیپ DD در کاهش خطر انتقال ویروس HIV-1 از مادر به جنین بود به طوری که مادرانی که دارای این ژنوتیپ بودند، دارای بیشترین تعداد سلول‌های $CD4^+$ نسبت به دارندگان سایر ژنوتیپ‌ها بودند و به میزان کمتری ویروس را به جنین خود منتقل کردند(۱۱).

اگر چه تاکنون در کشور ما مطالعه‌ای در رابطه با این پلی‌مورفیسم و عفونت HTLV-1 صورت نگرفته است اما سایر مطالعه‌ها مؤید ارتباط این پلی‌مورفیسم با آدنوکارسینومای معده، سقط‌های مکرر و هپاتیت B مزمن می‌باشد(۱۵-۱۲).

در مطالعه ما نیز ژنوتیپ DD خطر ابتلا به عفونت HTLV-1 را افزایش می‌دهد. این ژنوتیپ باعث افزایش بیان بیشتر آنتی‌ژن HLA-G می‌گردد هر چند چگونگی ارتباط بین افزایش بیان این آنتی‌ژن و افزایش خطر ابتلا به عفونت مشخص نشده است.

## نتیجه‌گیری

آنتی‌ژن‌های سیستم HLA نقش مهمی در استعداد ابتلا به عفونت‌های مختلف دارند. آنتی‌ژن HLA-G نیز از این قاعده مستثنی نمی‌باشد. یافته‌های این مطالعه نیز نشان دهنده تاثیر پلی‌مورفیسم rs371194629 در استعداد ابتلا به عفونت HTLV-1 می‌باشد. با توجه به نتایج مطالعه ما و نیز مطالعه‌های مشابه، مناسب است در رابطه با نقش سایر پلی‌مورفیسم‌های ناحیه 3'-UTR ژن *HLA-G* نیز بررسی به عمل آید. به علاوه نقش این پلی‌مورفیسم(14 bp indel) در استعداد ابتلا به سایر عفونت‌های منتقله از راه خون به خصوص HBV و HCV و نیز سیر بیماری ناشی از آن‌ها نیز بررسی شود.

## تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته خون‌شناسی آزمایشگاهی و بانک خون می‌باشد که هزینه آن توسط مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تأمین شده است.

## References:

1- Matsuoka M, Jeang KT. Human T-cell leukemia virus type I at age 25: a progress report. Cancer Res 2005; 65(11): 4467-70.
2- Verdonck K, González E, Van Dooren S, Vandamme AM, Vanham G, Gotuzzo E. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. Lancet Infect Dis 2007; 7(4): 266-81.
3- Carosella ED, LeMaoult J. HLA-G: a look back, a look forward. Cell Mol Life Sci 2011; 68(3): 337-40.
4- Yan WH. HLA-G expression in hematologic malignancies. Expert Rev Hematol 2010; 3(1): 67-80.
5- Shobeiri SS, MohammadniaAfrouzi M, Jafari N, Abediankenari S. Regulatory T Cells: Types, Generation and Function. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(117): 225-46. [Article in Farsi]
6- Carosella ED, Moreau P, Lemaoult J, Rouas-Freiss N. HLA-G: from biology to clinical benefits. Trends Immunol 2008; 29(3): 125-32.
7- Ellis SA, Sargent IL, Redman CW, McMichael AJ. Evidence for a novel HLA antigen found on human extravillous.trophoblast and a choriocarcinoma cell line. Immunology 1986; 59(4): 595.



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-16 ]

8- Haddad R, Cilião Alves DC, Rocha–Junior MC, Azevedo R, do Socorro Pombo–de–Oliveira M, *et al*. HLA-G 14-bp.24 insertion/deletion polymorphism is a risk factor for HTLV-1 infection. AIDS Res Hum Retroviruses 2011; 27(3): 283-8.
9- Cilião Alves DC, Haddad R, Rocha-Júnior MC, de Deus Wagatsuma VM, Martelli-Palomino G, Marques AA, *et al*. HLA-G 3'-untranslated region polymorphisms are associated with HTLV-1 infection, proviral load and HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis development. J Gen Virol 2016; 97(10): 2742-52.
10- Lv H, Lv H, Lin Z, Chen L, Zhu M, Hong D. Meta-analysis of corrlationship between HLA-G 3′ UTR 14-bp Ins/Del .25 polymorphism and virus susceptibility. Medicine 2018; 97(38): e12262.
11- Segat L, Zupin L, Kim HY, Catamo E, Thea DM, Kankasa C, *et al*. HLA-G 14 bp deletion/insertion polymorphism and mother-to-child transmission of HIV. Tissue Antigens 2014; 83(3): 161-7.
12- Khorrami S, Rahimi R, Mohammadpour H, Bahrami S, Yari F, Poustchi H, *et al*. Association of HLA-G*01:01:02:01/G*01:04:01 polymorphism with gastric adenocarcinoma. Hum Immunol 2016; 77(2): 153-7
13- Yazdani N, Shekari Khaniani M, Bastami M, Ghasemnejad T, Afkhami F, Mansoori Derakhshan S. HLA-G regulatory variants and haplotypes with susceptibility to recurrent pregnancy loss. Int J Immunogenet 2018; 45(4): 181-9.
14- Afkhami F, Shekari Khaniani M, Farzadi L, Paknejad Z, Mansoori Derakhshan S. The HLA-G 14bp insertion/deletion polymorphism in women with recurrent spontaneous abortion. Iran J Allergy Asthma Immunol 2014; 13(5): 364-9.
15- Eskandari E, Dahmardeh T, Safdari V, Khosravi S, Pahlevani E. HLA-G gene 14-bp deletion variant protects Iranian subjects against chronic hepatitis B infection. Int J Immunogenet 2017; 44(6): 322-7.

[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-16 ]

*Sci J Iran Blood Transfus Organ 2022;19 (1): 24-29*

***Original Article***

# Role of HLA-G 14 bp Indel polymorphism on susceptibility to HTLV-1 infection in blood donors of Khorasan Razavi Blood Center

***Ganjian Mofrad Z.[1], Arab Khazaeli A.[2], Mollahoseini F.[1,2], Shahabi M.[1]***

*[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*
*[2]Mashhad Blood Transfusion Center, Mashhad, Iran*

## Abstract

***Background and Objectives***

The HLA-G antigen is a non-classical HLA class-I with limited polymorphism. Several studies have indicated the role of a 14 bp Indel polymorphism rs371194629 in the 3'-UTR region of the HLA-G in acquisition of HTLV-1 infection. In this study, we investigated the correlation between the genotypes of this polymorphism and HTLV-1 infection in blood donors of Khorasan Razavi province.

***Materials and Methods***

In this analytical study, a total of 131 healthy individuals and 131 HTLV-1 positive patients were analyzed. After DNA extraction, the genotypes of the polymorphism were determined by PCR-SSP method. Statistical analysis was performed with chi-squared test using SPSS version 23 software.

***Results***

The DI was the most frequent genotype in both groups (49.6% of controls and 40.3% of patients). The DD genotype was associated with increased risk of HTLV-1 infection (OR=1.89, 95% CI=1.14-3.11, p=0.03). There was no significant difference between the frequency of D and I alleles in both groups.

***Conclusions***

Our findings confirm previous results about the significance of HLA-G polymorphisms in susceptibility to infectious diseases including HTLV-1. Further investigations could reveal the underlying mechanisms.

***Key words:*** HTLV-1, Infection, HLA-G

*Received: 9 Feb 2021*
*Accepted: 29 Dec 2021*

*Correspondence:* Shahabi M., PhD of Biological Science. Assistant professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601558; Fax: (+9821) 88601542
E-mail: *majshahabi@yahoo.com*



[ Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-09-16 ]