خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۷ شماره ۳ پاییز ۸۹ (۱۵۵-۱۴۸)

مقاله پژوهشی

ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن NOD2 با وقوع بیماری پیوند بر علیه میزبان در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد

شهربانو رستمی[۱]، لیلا احمدی‌نیا[۲]، بایزید قادری[۳]، سید اسداله موسوی[۴]، سعید آبرون[۵]، رضا حاجی حسینی[۶]، بهرام چهاردولی[۱]، حبیبه قدیمی[۷]، احمدرضا شمشیری[۸]، اردشیر قوام‌زاده[۹]، کامران علی مقدم[۱۰]

چکیده

سابقه و هدف

بیماری پیوند بر علیه میزبان یکی از عوارض تهدیدکننده زندگی متعاقب پیوند است. در مطالعه‌های اخیر، ارتباط قابل توجهی بین پیامد پیوند و سه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن NOD2 نشان داده شده است. در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن NOD2 با وقوع GVHD در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد تحت پیوند آلوژن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه گذشته‌نگر، ژنوتایپ‌های NOD2 به روش PCR-SSP در ۱۲۴ بیماری که تحت پیوند آلوژن قرار گرفته بودند و اهداکنندگان آن‌ها مشخص شده بود بررسی و سپس ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن NOD2 با وقوع GVHD حاد و مزمن مورد ارزیابی قرار گرفت. بیماران به طور میانگین به مدت ۴۰ ماه(۷۷-۲۸ ماه) مورد پایش قرار گرفتند. آنالیزهای آماری با استفاده از آزمون کای‌دو و نرم‌افزار SPSS ۱۱/۵ انجام شد.

یافته‌ها

شیوع موتاسیون در اهداکنندگان و بیماران مشابه(۱۲/۱٪) به دست آمد. در سه جفت بیمار- اهداکننده(۲/۴٪)، پلی‌مورفیسم‌ها در هر دو نفر شناسایی شد که در نتیجه فراوانی کلی در جفت‌های پیوندی ۲۱/۸٪ به دست آمد. تفاوت معناداری از نظر وقوع GVHD حاد و مزمن در حالتی که زوج‌های گیرنده/ اهداکننده دارای SNP (به ترتیب ۵۲٪ و ۵۶٪) با زوج‌های فاقد SNP(به ترتیب ۵۰/۵٪ و ۵۵٪) مقایسه شدند، مشاهده نشد.

نتیجه گیری

پلی‌مورفیسم‌های مطالعه شده، تاثیری در وقوع GVHD حاد و مزمن نداشتند. مطالعه‌های بیشتری برای تعمیم نتایج به سایر بیماری‌ها لازم است. به علاوه سایر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی این ژن نیز برای شناسایی این ارتباط باید مورد مطالعه قرار گیرند.

کلمات کلیدی: پیوند سلول‌های بنیادی خونساز، بیماری پیوند علیه میزبان، PCR

تاریخ دریافت : ۸۸/۱۱/۱۸
تاریخ پذیرش : ۸۹/ ۵/۱۲

۱ـ دانشجوی PhD هماتولوژی ـ مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲ـ کارشناس ارشد بیوشیمی ـ دانشگاه پیام نور
۳ـ فوق تخصص خون و انکولوژی ـ مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- فوق تخصص خون و انکولوژی ـ استادیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵ـ PhD خون‌شناسی ـ استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۶ـ PhD بیوشیمی ـ استادیار دانشگاه پیام نور
۷ـ کارشناس میکروبیولوژی ـ مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۸ـ PhD آمار ـ مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۹ـ فوق تخصص خون و انکولوژی ـ استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۱۰ـ مؤلف مسؤول: فوق تخصص خون و انکولوژی ـ دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ صندوق پستی: ۱۴۱۱۴

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

مقدمه

پیوند آلوژن سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک، به عنوان درمان قطعی در بسیاری از بدخیمی‌های خونی به کار برده می‌شود. بیماری پیوند بر علیه میزبان (GVHD = Graft Versus Host Disease) از عوارض عمده و از عوامل اصلی مرگ و میر بعد از پیوند آلوژن می‌باشد که مشخصه آن آسیب به سطوح اپی‌تلیال روده، کبد و پوست است. عامل این ضایعات، سلول‌های T آلوراکتیو از منشا اهداکننده می‌باشند که به تفاوت‌های آنتی‌ژنی موجود بر روی سلول‌های میزبان پاسخ داده و برای ایمنی ضد تومور و ضد میکروبی ضروری هستند. بنابراین انتخاب صحیح اهداکننده در جلوگیری از GVHD شدید حایز اهمیت می‌باشد. با این که آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی HLA ماژور و مینور نقش اصلی را در ایجاد و تعیین شدت GVHD بر عهده دارند، ولی اخیراً به نقش پلی‌مورفیسم ژن‌های درگیر در ایمنی نیز توجه شده است. شناسایی این فاکتورهای خطر می‌تواند در انتخاب اهداکننده مناسب کمک کننده باشد(۱).

پروتئین NOD2 سیتوپلاسمی (Nucleotide-binding Oligomerisation Domain 2)، به وسیله ژن CARD15 (Caspase Recruitment Domain 15) واقع بر روی کروموزوم ۱۶ کد می‌شود. این پروتئین به صورت یک رسپتور شناسایی‌کننده الگو عمل کرده و مورامیل دی‌پپتید موجود در دیواره سلولی اکثر باکتری‌ها را شناسایی می‌کند(۲، ۱).

از انواع پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی SNP (Single Nucleotide Polymorphism) شناخته شده در ژن NOD2/CARD15، ارتباط سه پلی‌مورفیسم که با اسامی SNP 12 (p.G908R)، SNP8 (p.R702W) و SNP 13 (p.L1007fs) خوانده می‌شوند با بیماری‌های کرون (Crohn's disease) و سندروم Blau نشان داده شده است(۳). اخیراً این پلی‌مورفیسم‌ها به عنوان یک فاکتور خطر مؤثر بر شیوع و شدت بیماری پیوند بر علیه میزبان (GVHD) مطرح شده اند(۹-۴).

مطالعه حاضر جهت بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم در ژن NOD2 با افزایش خطر GVHD حاد و مزمن در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد که تحت پیوند آلوژن از دهنده کاملاً شبیه خواهر یا برادری قرار گرفته بودند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

بیماران:

این مطالعه به صورت گذشته‌نگر و بر روی ۱۲۴ بیمار مبتلا به انواع لوسمی‌های میلوئیدی حاد که در مرکز تحقیقات هماتولوژی، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی تحت پیوند آلوژنیک مغز استخوان از دهنده کاملاً شبیه خواهری یا برادری قرار گرفته بودند، و همین طور اهداکنندگان آن‌ها انجام شد.

بررسی پلی‌مورفیسم:

استخراج DNA ژنومی از نمونه خون محیطی به روش استاندارد اشباع نمک انجام شد. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی که در این مطالعه بررسی شدند عبارتند از: 2104C → T (SNP 8)، 2722G → C (SNP 12) و 3020insC (SNP 13)، برای شناسایی این پلی‌مورفیسم‌ها از روش SSP-PCR (Specific Primer – polymerase Chain Reaction) استفاده شد(۱۰).

واکنش‌های PCR-SSP جداگانه بر روی انواع Wild Type (WT) و SNP اگزون‌های ۴ و ۸ که به ترتیب SNPهای ۸ و ۱۲ بر روی آن‌ها قرار دارند، انجام شد. برای کنترل نمونه‌های منفی از تکثیر بخشی از ژن A وابسته به زنجیره MHC کلاس I (MICA) استفاده شد. علاوه بر این نمونه‌های کنترل مثبت(نمونه بیمارانی که تعیین توالی شده بودند) و منفی هم در هر مرحله کاری گذاشته شد(جدول ۱). برای بررسی پلی‌مورفیسم SNP13 در اگزون ۱۱، واکنش به صورت مولتی پلکس انجام شد. به منظور کنترل نمونه‌های منفی از آغازگرهایی که در اطراف محل اتصال آغازگرهای مربوط به درج نقطه‌ای در اگزون ۱۱ (3020insC) متصل شده و قطعه‌ای به طول ۵۴۱ جفت باز را تکثیر می‌کردند، استفاده شد.

آغازگر سنس برای آلل WT با آغازگر آنتی سنس برای باند کنترل، یک قطعه ۳۳۶ جفت بازی را تکثیر می‌کرد،

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

جدول ۱: اسامی پلی مورفیسم ها ، توالی مربوط به آغازگرهای استفاده شده و طول توالی تکثیر شده

Specificity	Primer	Sequence 5′–3′	Primer location[a]	Product size[b]
Exon 4 WT (2104C)	5′ NOD2 Ex4 WT	5′-CATCTgAgAAggCCCTgCTCC	2084–2104	215 bp
	3′ NOD2 Ex4	5′-gTgCCCAACATTCAggCCAC	2279–2298	
Exon 4 SNP 8 (2104C→T)	5′ NOD2 Ex4 SNP 8	5′-CATCTgAgAAggCCCTgCTCT	2084–2104	215 bp
	3′ NOD2 Ex4	5′-gTgCCCAACATTCAggCCAC	2279–2298	
Exon 8 WT (2722G)	5′ NOD2 Ex8	5′-gATggAggCAggTCCACTTTgC	121,381–121,400	200 bp
	3′ NOD2 Ex8 WT	5′-TCgTCACCCACTCTgTTgCC	121,561–121,580	
Exon 8 SNP 12 (2722G→C)	5′ NOD2 Ex8	5′-gATggAggCAggTCCACTTTgC	121,381–121,400	200 bp
	3′ NOD2 Ex8 SNP 12	5′-TCgTCACCCACTCTgTTgCg	121,561–121,580	
Exon 11 WT/SNP 13 (3020Cins)	5′ NOD2 Ex11 LF	5′-TggTACTgAgCCTTTgTTgATgAgCTC	128,574–128,600	CB, 541 bp;
	3′ NOD2 Ex11 LR	5′-CATTCTTCAACCACATCCCCATTCCT	129,089–129,114	
	5′ NOD2 Ex11 WT	5′-CAgAAgCCCTCCTgCAggCCCT	128,779–128,800	WT, 336 bp;
	3′ NOD2 Ex11 SNP 13	5′-CgCgTgTCATTCCTTTCATggggC	128,796–128,820	SNP 13, 247 bp
Exon 4 and 8 — Control Band	5′ MICA Ex4 F	5′-CAgACTTgCAggTCAggggTCCCg	8227–8250	533 bp
	3′ MICA Ex4 R	5′-CAATgACTCTgAAgCACCAgCACT	8736–8759	

[a] Numbering according to EMBL accession numbers AJ303140 (NOD2/CARD15) or X92841 (MICA).
[b] bp Base Pairs, CB, Control Band; WT, Wild Type, SNP, Single Nucleotide Polymorphism.

در حالی که یک آغازگر آنتی‌سنس اختصاصی برای موتاسیون 3020insC همراه با آغازگر سنس باند کنترل، باعث تکثیر یک قطعه ۲۴۷ بازی در افراد دارای SNP13 شد.

روش‌های آماری:

به منظور بررسی اثر پلی‌مورفیسم‌های ژن NOD2 بر GVHD بیماران، تاثیر وجود پلی‌مورفیسم در اهدا کننده و گیرنده، هم به صورت جداگانه و هم به صورت ترکیبی بررسی شد.

اطلاعات مربوط به بیماران در یک فرم پرسش نامه جمع‌آوری شد و کلیه داده‌ها با برنامه آماری SPSS ۱۱/۵ تجزیه و تحلیل گردید. در این مطالعه، برای اثبات معنی‌دار بودن تفاوت در میزان بروز aGVHD و cGVHD بین بیماران دارای پلی‌مورفیسم و فاقد آن، از آزمایش کای‌دو و پیرسون استفاده شد. کلیه آزمون‌های آماری به صورت two-sided انجام شد و p-value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان مقدار معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بیماران مورد مطالعه از آذر ۱۳۸۱ تا مهر ۱۳۸۵ در بیمارستان شریعتی تحت پیوند مغز استخوان از دهنده کاملاً شبیه خواهری یا برادری قرار گرفتند. پس از پیوند، حداقل زمان پایش بیماران ۲۸ ماه و حداکثر ۷۷ ماه (به طور متوسط برای مدت۴۰ ماه) بود. بیماران در محدوده سنی بین ۵ تا ۵۵ سال(میانگین۲۸/۸ سال) قرار داشتند. از ۱۲۴ بیمار دریافت کننده پیوند، ۷۳ نفر مرد(۵۹٪) و۵۱ نفر زن (۴۱٪) بودند. از ۱۲۴ اهداکننده پیوند، ۴۶ نفر زن(۳۷٪) و ۷۸ نفر(۶۳٪) مرد بودند. شایع‌ترین نوع AML در میان بیماران لوسمی M2 با شیوع ۴۶/۸٪ و سپس لوسمی میلومنوبلاستیک M4 با شیوع ۲۳/۴٪ بود.

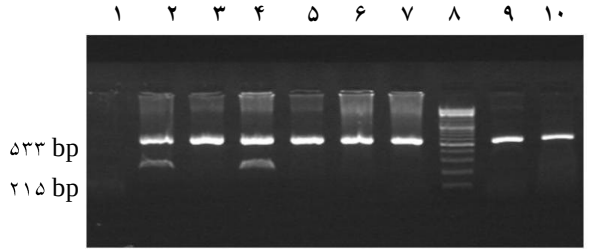
برای رژیم آماده‌سازی، ۹۶ نفر از بیماران(۷۷/۴٪) بوسولفان – سیکلوفسفامید و ۲۸ نفر از بیماران (۲۲/۶٪) بوسولفان – فلودارابین دریافت نمودند. ۱۲۲ بیمار (۹۸/۴٪) در زمان پیوند دارای کمتر از ۵٪ بلاست‌های لوسمیک در گزارش لام مغز استخوان خود بودند و در دو مورد شمارش بلاست‌ها بیش از ۵٪ بود. در کلیه موارد، بیماران استم سل‌های به حرکت درآمده توسط GCSF (Granulocyte Colony – Stimulating Factor) را از اهداکنندگان کاملاً شبیه خواهری یا برادری دریافت کردند. تشخیص GVHD حاد و مزمن بر اساس معیارهای استاندارد انجام شد(۱۱).

پس از تحلیل نتایج حاصل از PCR نمونه‌ها جهت بررسی وجود سه پلی‌مورفیسم ژن NOD2 ، نتایج زیر به دست آمد: از ۱۲۴ زوج پیوندی در ۱۲مورد پلی‌مورفیسم تنها در گیرنده پیوند(۹/۶۷٪) و نیز در ۱۲ مورد پلی‌مورفیسم تنها در گیرنده پیوند (۹/۶۷٪) یکی از سه

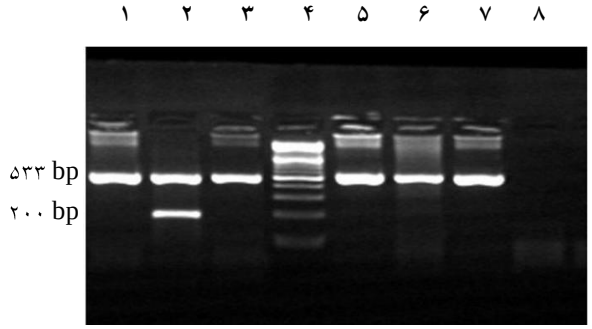
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

جدول ۲: فراوانی انواع SNP در گیرنده، اهداکننده و زوج‌های پیوندی

ژنوتیپ NOD2	فراوانی انواع SNP	درصد
نوع وحشی	۹۷ (زوج پیوندی)	۷۸/۲
پلی‌مورفیسم تنها در اهداکننده	۱۲ (اهدا کننده)	۹/۶۷
پلی‌مورفیسم تنها در گیرنده	۱۲ (گیرنده)	۹/۶۷
پلی‌مورفیسم در هر دو زوج پیوندی	۳ (زوج پیوندی)	۲/۴
پلی‌مورفیسم در جمعیت اهداکننده	۱۵ (اهدا کننده)	۱۲/۱
پلی‌مورفیسم در جمعیت گیرنده	۱۵(گیرنده)	۱۲/۱
پلی‌مورفیسم در هر دو یا یکی از زوج‌های پیوندی	۲۷ (زوج پیوندی)	۲۱/۸

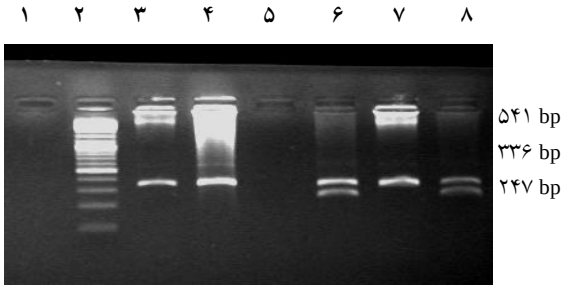


شکل ۱: ستون ۱ کنترل منفی، ستون ۲ و۴ بیماران دارای پلی‌مورفیسم در اگزون ۴ ، ستون‌های ۱۰، ۹، ۷، ۶، ۵، ۳ بیماران فاقد پلی‌مورفیسم در اگزون ۴، ستون ۸ سایز مارکر (۱۰۰ bp) .



شکل ۲: ستون‌های ۷، ۶، ۵، ۳ و ۱ بیماران فاقد پلی‌مورفیسم در اگزون ۸، ستون ۴ سایز مارکر(۱۰۰ bp) ، ستون ۲ بیمار دارای پلی‌مورفیسم در اگزون ۸، ستون ۸ کنترل منفی

پلی‌مورفیسم جهش یافته ژن NOD2 شناسایی شد. همین طور در سه جفت از ۱۲۴ زوج پیوندی(۲/۴٪)، هم دهنده پیوند و هم گیرنده پیوند دارای یکی از سه پلی‌مورفیسم جهش یافته ژن NOD2 بودند. بنابراین فراوانی پلی‌مورفیسم‌ها در جمعیت گیرنده و اهداکننده یکسان به دست آمد و در مجموع ۲۱/۸٪ از ۱۲۴ زوج پیوندی دارای یکی از پلی‌مورفیسم‌های جهش یافته بودند (جدول۲) (شکل‌های ۳-۱) .



شکل ۳: ستون ۱ کنترل منفی، ستون ۲ سایز مارکر(۱۰۰bp) ، ستون ۷، ۴ و ۳ بیماران فاقد پلی‌مورفیسم در اگزون ۱۱، ستون‌های ۸ و ۶ بیماران دارای پلی‌مورفیسم در اگزون ۱۱.

میزان بروز GVHD حاد و مزمن در بیماران:

GVHD در طی ۱۰۰ روز بعد از پیوند را تحت عنوان GVHD مزمن نامگذاری می‌کنند و یک بیمار ممکن است به هر دو نوع GVHD مبتلا شود. در این مطالعه نیز تعدادی از بیماران هم به GVHD حاد و هم به GVHD مزمن مبتلا شدند. از ۱۲۴ بیمار دریافت کننده پیوند، ۶۳ بیمار پس از پیوند دچارGVHD حاد شدند(۵۱٪) و ۶۸ بیمار دچارGVHD مزمن گردیدند(۵۵٪).

میزان بروز GVHD حاد و مزمن در بیماران دارای پلی‌مورفیسم جهش یافته:

از ۱۵ بیمار دارای پلی‌مورفیسم جهش یافته ژن، ۶ نفر دچار GVHD حاد شدند(۴۰٪) و از ۱۰۹ بیماری که فاقد پلی‌مورفیسم جهش یافته این ژن بودند، ۵۷ نفر دچارGVHD حاد شدند(۵۲٪). همین طور از ۱۵ بیماری که دارای پلی‌مورفیسم جهش یافته ژن بودند، ۸ نفر دچارGVHD مزمن شدند(۵۳٪). از ۱۰۹ بیماری که فاقد پلی‌مورفیسم جهش یافته این ژن بودند، ۶۰ نفر

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

دچارGVHD مزمن شدند(۵۵٪). بنابراین تفاوت معناداری درمیزان بروز GVHD حاد و مزمن دربیماران دارای SNPs در ژنNOD2 و بیماران فاقد این پلی‌مورفیسم وجود نداشت.

میزان بروزGVHD حاد در بیمارانی که اهداکننده پیوند دارای پلی مورفیسم جهش یافته بودند:

از ۱۵ بیماری که از اهداکننده دارای پلی‌مورفیسم جهش یافته ژن NOD2 پیوند دریافت نمودند،۱۰ بیمار(۶۷٪) دچار GVHD حاد شدند. از ۱۰۹ بیماری که از اهداکننده دارای پلی‌مورفیسم طبیعی پیوند دریافت نمودند نیز ۵۳ بیمار(۴۹٪) دچار GVHD حاد شدند. از نظر بروز GVHD، ۱۰ بیمار(۶۷٪) دچار GVHD مزمن شدند و از ۱۰۹ بیماری که از اهداکننده دارای پلی‌مورفیسم طبیعی پیوند دریافت نمودند نیز ۵۸ بیمار(۵۳٪) دچار GVHD مزمن شدند. به این ترتیب تفاوت معناداری بین دو گروهی که از اهداکنندگان دارای پلی‌مورفیسم یا فاقد پلی‌مورفیسم پیوند دریافت کرده بودند، مشاهده نشد(جدول ۳).

جدول۳: فراوانی بروز GVHD حاد ومزمن در دو گروه بیماران فاقد و دارای پلی‌مورفیسم‌های NOD2

		aGVHD	p-value	cGVHD	p-value
پلی‌مورفیسم در گیرنده	بله	(۴۰)۶	۰/۴	(۵۳)۸	۰/۹
	خیر	(۵۲)۵۷		(۵۵)۶۰	
پلی‌مورفیسم در اهداکننده	بله	(۶۷)۱۰	۰/۲	(۶۷)۱۰	۰/۳
	خیر	(۴۹)۵۳		(۵۳)۵۸	
پلی‌مورفیسم در گیرنده یا اهداکننده	بله	(۵۲)۱۴	۰/۹	(۶۰)۱۵	۰/۹
	خیر	(۵۰/۵)۴۹		(۵۵)۵۲	

میزان بروز GVHD حاد و مزمن در بیمارانی که یکی از زوج‌های پیوندی دارای پلی‌مورفیسم جهش یافته بود:

از میان ۱۲۴ زوج دهنده وگیرنده پیوند، در۲۷ زوج پیوندی، یک ویا هر دو زوج دارای یکی از پلی‌مورفیسم‌های جهش یافته ژن NOD2 بودند. پس از بررسی فراوانی بروز GVHD حاد بیماران، دراین زوج‌ها نتایج زیر حاصل شد: از ۲۷ زوج دارای SNPs ، ۱۴ بیمار(۵۲٪) دچارGVHD حاد شدند. هم چنین از۹۷ زوج پیوندی که هر دو فاقد SNPs بودند، ۴۹ بیمار(۵۰/۵٪) دچار GVHD حاد شدند. از ۲۷ زوج پیوندی دارای SNPs، ۱۵ بیمار(۵۶٪) دچار GVHD مزمن شدند. از این ۲۷ زوج پیوندی، تنها در ۳ زوج هم گیرنده و هم اهداکننده دارای پلی‌مورفیسم بودند که ۲ نفر از آن‌ها به GVHD حاد و هر سه به GVHD مزمن مبتلا شدند. در ۹۷ زوج پیوندی که هم خود و هم اهداکننده پیوند فاقد SNPs بودند، ۵۳ بیمار(۵۵٪) دچار GVHD مزمن شدند. به این ترتیب زمانی که تجزیه و تحلیل نتایج SNP را در زوج‌های پیوندی بررسی کردیم، وجود SNP تاثیری در بروز GVHD حاد و مزمن نداشت.

بحث

در سال‌های اخیر راه‌کارهای مختلفی برای محدود کردن GVHD ، یکی از عوارض جدی و از عوامل عمده مرگ و میر بعد از پیوند آلوژن، بدون حذف کامل آن به منظور بهره‌برداری از اثر پیوند بر علیه لوسمی ارایه شده است. بنابراین شناسایی هر چه دقیق‌تر اهداکننده مناسب سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک، می‌تواند مستقیماً در پی‌آمد پیوند تاثیرگذار باشد. علاوه بر آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی (HLA) ماژور و مینور، در مورد تاثیر پلی‌مورفیسم ژن‌های مربوط به سیستم ایمنی در GVHD بعد از پیوند مطالعاتی انجام شده است.

در مطالعه‌های مختلف، تاثیر پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ژن NOD2 در نتیجه پیوند سلول‌های هماتوپویتیک در جمعیت‌های مختلف بررسی شده است. در این مطالعه که در مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی بیمارستان دکتر شریعتی صورت گرفت، ارتباط ژن NOD2 در بیماران دچار لوکمی میلوئیدی حاد که پیوند آلوژن از دهنده کاملاً شبیه خواهری یا برادری دریافت نموده بودند، با افزایش خطر GVHD حاد و مزمن مورد بررسی قرار گرفت. مدت پی‌گیری در این مطالعه ۷۷-۲۸ ماه(میانگین ۴۰ ماه) بود. فراوانی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

پلی‌مورفیسم‌ها در جمعیت گیرنده و اهداکننده یکسان(۱۲/۱٪) به دست آمد و چون در ۳ جفت از زوج‌های پیوندی، هم اهداکننده و هم گیرنده دارای پلی‌مورفیسم بودند(۲/۴٪)، در مجموع ۲۱/۸٪ از ۱۲۴ زوج پیوندی دارای یکی از پلی‌مورفیسم‌های جهش یافته بودند. فراوانی ۱۲/۱٪ این پلی‌مورفیسم‌ها در جمعیت اهداکننده و گیرنده، با نتایج سایر مطالعاتی که بر روی جمعیت سفید پوست به دست آمده هم‌خوانی داشت(۵). در این مطالعه تاثیر وجود پلی‌مورفیسم‌های یاد شده هم به صورت مجزا در اهداکننده و گیرنده و هم در حالتی که یکی از زوج‌های پیوندی دارای پلی‌مورفیسم بودند بررسی شد و ارتباط معناداری بین وجود پلی‌مورفیسم‌ها و وقوع GVHD حاد و مزمن در هیچ موردی به دست نیامد.

در مطالعه‌های مختلف، نتایج متفاوتی در مورد این ارتباط گزارش شده است. نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر با آنچه توسط صیرفی و همکارانش گزارش شده هم‌خوانی دارد. مطالعه آن‌ها بر روی ۱۹۶ بیمار تحت پیوند آلوژن انجام شد و در مجموع یکی از سه پلی‌مورفیسم در ۱۹ درصد از زوج‌های پیوندی شناسایی شد. وجود پلی‌مورفیسم‌ها تاثیری در GVHD نداشت(۱۲). پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی NOD2 در۱۴ درصد از اهداکنندگان و ۱۷ درصد از ۳۹۰ بیماری که توسط ان گوین مطالعه شدند شناسایی شد. این بیماران تحت پیوند آلوژن از دهنده‌های غیر خویشاوند و با HLA سازگار قرار گرفته بودند و ارتباطی بین پلی‌مورفیسم‌ها و GVHD حاد و مزمن یافت نشد(۱۳). در مطالعه نیمه و همکاران که بر روی ۱۹۶ بیمار مبتلا به لوسمی حاد و اهداکنندگان کاملاً شبیه غیر خویشاوند آن‌ها انجام شد نیز، ارتباط واضحی بین وجود پلی‌مورفیسم‌ها با GVHD یافت نشد(۱۰). همین طور در مطالعه گرانل بر روی ۸۵ بیمار تحت پیوند آلوژن نیز بین GVHD حاد و مزمن با پلی‌مورفیسم ژن NOD2 ارتباط وجود نداشت(۸) .

برخی مطالعه‌ها، ارتباط معناداری بین وقوع GVHD حاد و مزمن و پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ژن NOD2 گزارش کرده‌اند. در مطالعه هولر بر روی ۱۶۹ بیماری که تحت پیوند از اهداکنندگان خویشاوند و غیر خویشاوند قرار گرفته بودند، پلی‌مورفیسم‌های یاد شده در ۲۱ درصد از بیماران و ۱۴ درصد از اهداکنندگان شناسایی شد. وجود SNPs در ژن NOD2 / CARD15 چه در بیمار دریافت‌کننده پیوند و چه در دهنده پیوند، با افزایش میزان GVHD حاد همراه بود(۵). از طرفی برخی دیگر از مطالعه‌ها نشان‌دهنده همراهی SNPs در ژن NOD2 با کاهش وقوع GVHD حاد هستند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ توسط الما گاکلی و همکارانش در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن NOD2 با GVHD حاد در بیمارانی که تحت پیوند آلوژن قرار گرفته بودند انجام شد، خطر GVHD حاد در بیمارانی که SNP داشتند به طور مشخصی کاهش نشان داد(۴).

دلیل این که وجود SNP با کاهش وقوع aGVHD همراه بوده مشخص نیست ولی احتمالاً گیرنده‌هایی که در ژن NOD2 دارای پلی‌مورفیسم هستند، قادر به ایجاد پاسخ GVHD مؤثر نیستند که در نتیجه آن میزان GVHD در آن‌ها کاهش می‌یابد. دلیل این تفاوت در نتایج کاملاً روشن نیست با این حال متفاوت بودن فراوانی این پلی‌مورفیسم‌ها در جمعیت‌های مختلف، متفاوت بودن رژیم‌های سرکوب‌گر سیستم ایمنی که در طی پیوند به کار برده می‌شود، در نظر گرفتن درجه‌های مختلف GVHD در مطالعه‌های مختلف همین طور متفاوت بودن احتمال وقوع GVHD در جمعیت‌های مختلف می‌تواند از دلایل این اختلاف باشد(۱۲).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، ارتباط معناداری بین وجود پلی‌مورفیسم‌های ۸، ۱۲ و ۱۳ در ژن NOD2 با وقوع GVHD حاد و مزمن یافت نشد. با توجه به تناقضاتی که در نتایج مطالعه‌های انجام‌شده توسط محققین مختلف مشهود است، مطالعه‌های بیشتر بر روی جمعیت‌های بزرگ‌تر و همین طور در سایر لوسمی‌ها جهت نتیجه‌گیری قطعی ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه پلی‌مورفیسم‌های ۸، ۱۲ و ۱۳ مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به این که انواع SNP دیگر در این ژن شناسایی شده است، می‌توان تاثیر این پلی‌مورفیسم‌ها را نیز مورد بررسی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

قرار داد.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی به خاطر تخصیص بودجه کمال تشکر را داریم. بدین‌وسیله تقدیر و تشکر خود را از همکاران آزمایشگاه و بخش‌های پیوند سلول‌های بنیادی بیمارستان دکتر شریعتی اعلام می‌داریم.

References :

1- Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, *et al.* Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. Nature 1996; 379(6568): 772-3.
2- Penack O, Holler E, van den Brink MR. Graft-versus-host disease: regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. Blood 2010; 115(10): 1865-72.
3- Lener MR, Oszutowska D, Castaneda J, Kurzawski G, Suchy J, Nej-Wołosiak K, *et al.* Prevalence of the NOD2 3020insC mutation in aggregations of breast and lung cancer. Breast Cancer Res Treat 2006; 95(2): 141-5.
4- Elmaagacli AH, Koldehoff M, Hindahl H, Steckel NK, Trenschel R, Peceny R, *et al.* Mutations in innate immune system NOD2/CARD 15 and TLR-4 (Thr399Ile) genes influence the risk for severe acute graft-versus-host disease in patients who underwent an allogeneic transplantation. Transplantation 2006; 81(2): 247-54.
5- Holler E, Rogler G, Brenmoehl J, Hahn J, Herfarth H, Greinix H, *et al.* Prognostic significance of NOD2/CARD15 variants in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation: effect on long-term outcome is confirmed in 2 independent cohorts and may be modulated by the type of gastrointestinal decontamination. Blood 2006; 107(10): 4189-93.
6- Holler E, Rogler G, Brenmoehl J, Hahn J, Greinix H, Dickinson AM, *et al.* The role of genetic variants of NOD2/CARD15, a receptor of the innate immune system, in GVHD and complications following related and unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation. Int J Immunogenet 2008; 35 (4-5): 381-4.
7- Hildebrandt GC, Granell M, Urbano-Ispizua A, Wolff D, Hertenstein B, Greinix HT, *et al.* Recipient NOD2/CARD15 variants: a novel independent risk factor for the development of bronchiolitis obliterans after allogeneic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 2008; 14(1): 67-74.
8- Granell M, Urbano-Ispizua A, Aróstegui JI, Fernández-Avilés F, Martínez C, Rovira M, *et al*. Effect of NOD2/CARD15 variants in T-cell depleted allogeneic stem cell transplantation. Haematologica 2006; 91(10): 1372-6.
9- Mayor NP, Shaw BE, Hughes DA, Maldonado-Torres H, Madrigal JA, Keshav S, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in the NOD2/CARD15 gene are associated with an increased risk of relapse and death for patients with acute leukemia after hematopoietic stem-cell transplantation with unrelated donors. J Clin Oncol 2007; 25(27): 4262-9.
10- Mayor NP, Shaw BE, Keshav S, Madrigal JA, Marsh SG. A novel technique for NOD2/CARD15 genotyping using PCR-SSP. J Immunol Methods 2007; 327(1-2): 82-7.
11- Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, *et al.* 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. Bone Marrow Transplant 1995; 15(6): 825-8.
12- Sairafi D, Uzunel M, Remberger M, Ringdén O, Mattsson J. No impact of NOD2/CARD15 on outcome after SCT. Bone Marrow Transplant 2008; 41(11): 961-4.
13- Nguyen Y, Al-Lehibi A, Gorbe E, Li E, Haagenson M, Wang T, *et al.* Insufficient evidence for association of NOD2/CARD15 or other inflammatory bowel disease-associated markers on GVHD incidence or other adverse outcomes in T-replete, unrelated donor transplantation. Blood 2010; 115(17): 3625-31.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]

Original Article

Evaluation of the association of NOD2 gene polymorphisms with the occurrence of GVHD in acute myelogenous leukemia patients

Rostami Sh.[1], Ahmadi Nia L.[2], Ghaderi B.[1], Mousavi S.A.[1], Abroun S.[3], Hajihoseini R.[2], Chahardouli B.[1], Ghadimi H.[1], Shamshiri A.R.[1], Ghavamzadeh A.[1], Alimoghaddam K.[1]

[1]Hematology, Oncology and Stem Cell Research Center of Tehran University of Medical Sciences,Tehran, Iran
[2]Payame Noor University, Tehran, Iran
[3]Tarbiat Modares University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Graft-versus-host disease (GVHD) is one of life-threatening post-transplantation complications. Several recent studies have described a significant correlation between transplantation outcome and three single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the NOD2 gene. This study was conducted to evaluate the association of NOD2 gene polymorphisms with the occurrence of GVHD in acute myelogenous leukemia patients who underwent HSCT from their HLA-matched sibling donors.

Materials and Methods

We examined retrospectively NOD2 genotypes by PCR-SSP both in 124 patients who underwent HSCT and in their donors; then, the association of the genetic polymorphisms on acute and chronic GVHD was evaluated. Median follow up of patients was 40 months (range of 28-77 months). Statistical analyses were performed using Chi-square test and SPSS software.

Results

Mutation incidence were the same between donors and recipients as 12.1% . In three of the patient–donor pairs (2.4%) SNPs occurred in both resulting in an overall frequency of 21.8% in patient–donor pairs. There weren't any significant differences between aGVHD and cGVHD incidence rates when donor/recipient pairs with SNPs were compared with the pairs without SNPs. aGVHD and cGVHD incidence rates in the former pairs were 52% and 56% and in the latter pairs 50.5% and 55%, respectively.

Conclusions

No impact of NOD2 SNPs on incidence of acute and chronic GVHD was observed. Further studies are required to ascertain whether the findings of this study can be extended to other disease groups. In addition, further studies are required to identify the relevance of other SNPs.

Key words: Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Graft vs Host Disease , PCR
Sci J Iran Blood Transfus Org 2010; 7(3): 148-155

Received: 8 Jan 2010
Accepted: 3 Aug 2010

Correspondence: Alimoghaddam K., Hemato-Oncologist. Hematology, Oncology and Stem Cell Research Center of Tehran University of Medical Sciences.
P.O.Box: 14114, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88029390; Fax: (+9821) 88004140
Email: *alimgh@ams.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-16]