

## فقدان ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن مرگ برنامه ریزی شده ۱ سلولی و استعداد آلودگی به ویروس لنفو تروپیک تیپ یک انسانی در جمعیت ایرانی

یلدا امیری هزاوه<sup>۱</sup>، زهره شریفی<sup>۲</sup>، فهیمه رنجبر کرمانی<sup>۳</sup>، مجید شهابی<sup>۴</sup>، مریم خیراندیش<sup>۵</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

ویروس لنفو تروپیک سلول T انسانی نوع یک (HTLV-1) به ارتباط سلول به سلول برای ایجاد آلودگی نیازمند است و افزایش تعداد سلول آلوده به ویروس، احتمال انتقال ویروس و پیشرفت به سمت بیماری را افزایش می دهد. پاسخ های سیستم ایمنی و ژنتیک میزبان می تواند در استعداد آلودگی افراد به ویروس اثرگذار باشد، لذا در این مطالعه برای نخستین بار پلی مورفیسم ناحیه پروموتور ژن PD-1 که در تنظیم منفی پاسخ های ایمنی مؤثر است، در افراد آلوده به ویروس HTLV-1 فاقد علائم و افراد سالم در سال ۱۳۹۹ در جمعیت ایرانی بررسی گردید.

#### مواد و روش ها

در این مطالعه که به صورت مورد - شاهدهی انجام شد، DNA ژنومی ۸۱ اهداکننده خون آلوده به ویروس HTLV-1 فاقد علائم و ۱۶۲ اهداکننده خون سالم در استان خراسان رضوی استخراج و ژنوتیپ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs36084323 با روش PCR-RFLP تعیین گردید. جهت تایید نتایج تعیین ژنوتیپ، محصولات PCR توالی یابی شدند. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۲۲ و براساس آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل گردید.

#### یافته ها

فراوانی آلل های G و A پلی مورفیسم rs36084323 به ترتیب ۷۵٪ و ۲۵٪ در گروه شاهد و ۷۹/۶٪ و ۲۰/۴٪ در گروه مورد بود و هیچ گونه اختلاف معناداری بین گروه مورد و شاهد با مرجع در نظر گرفتن آلل وحشی G مشاهده نشد.

#### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ارتباطی بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs36084323 G/A با استعداد آلودگی به ویروس HTLV-1 در جمعیت ایرانی وجود ندارد.

**کلمات کلیدی:** HTLV-1، چند شکلی ژنی، PCR

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۹

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۲- مؤلف مسئول: PhD ویروس شناسی - استاد مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷
- ۳- PhD خون شناسی آزمایشگاهی و علوم انتقال خون - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۴- PhD بیوتکنولوژی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۵- PhD ایمونولوژی - دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

### مقدمه

۱۰-۵ میلیون نفر از مردم جهان به ویروس لنفوتروپیک سلول T انسانی نوع یک (HTLV-1) آلوده هستند. این ویروس در برخی مناطق جهان از جمله ژاپن، تایوان، جنوب و مرکز آفریقا و شمال شرقی ایران آندمیک است به طوری که میزان آلودگی با ویروس HTLV-1 در اهداکنندگان خون در مشهد ۰/۲۸٪ است (۱). HTLV-1 توسط تغذیه با شیر مادر، ارتباط جنسی، تزریق فرآورده‌های خونی آلوده و استفاده از سوزن آلوده منتقل می‌شود (۲). تعداد کپی بالای ویروس، یک عامل مؤثر در انتقال ویروس توسط تغذیه با شیر مادر است (۳). در انتقال ویروس HTLV-1 به دنبال تزریق فرآورده‌های خونی، کاهش لکوسیت سبب کاهش خطر انتقال HTLV-1 می‌شود که طبق استاندارد، لکوسیت کمتر از  $5 \times 10^6$  در هر واحد RBC یا پلاکت، فرآورده خونی کم لکوسیت است که می‌تواند ایمن باشد اما اگر اهداکننده‌ای باشد که تعداد کپی بالایی از ویروس را داشته باشد، با وجود کاهش لکوسیت هنوز امکان انتقال وجود دارد (۴). ۵٪ از افراد آلوده به ویروس HTLV-1 به سمت بیماری لوسمی سلول T بالغین (ATL: Acute T Cell Leukemia) و ۴٪ از افراد آلوده به سمت بیماری فلج سفت گرمسیری (HAM/TSP) پیشرفت می‌کنند (۵). فاکتورهای ژنتیک میزبان، تعداد کپی ویروس و پاسخ سیستم ایمنی میزبان می‌توانند در پیشرفت افراد آلوده به سمت بیماری‌های ATL و HAM/TSP: HTLV-1 (Associatedc Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis) کمک‌کننده باشند (۶). هم‌چنین مطالعه‌ها نشان دادند که در گسترده شدن عفونت مزمن، مکانیسم‌های مختلف ایمنی مثل تولید سیتوکاین‌های ضد التهابی، القای سلول‌های T تنظیم‌کننده (Treg) و بیان مولکول‌های Immune checkpoint درگیر هستند (۷). در عفونت‌های مزمن مانند HIV، هیپاتیت B، هیپاتیت C و HTLV-1، بیان پروتئین مرگ برنامه‌ریزی شده یک (PD-1) که یک مولکول Immune checkpoint است، افزایش می‌یابد و به دنبال آن تکثیر سلول‌های  $CD8^+$  T و تولید سایتوکاین آن‌ها مختل می‌شود و حالت خستگی برای سلول‌های T ایجاد می‌شود که عفونت پایدار می‌گردد (۸، ۹). ژن *PD-1* بر روی کروموزوم

۲ در موقعیت q37.3 با ۵۵KDa و ۲۲۸ اسید آمینه است (۱۰). PD-1 (که CD279 نیز نامیده می‌شود) یک پروتئین تراغشایی از خانواده B7/CD28 و سوپر خانواده ایمنوگلوبولین است که بر روی سلول‌های  $CD4^+$  T،  $CD8^+$ ، سلول‌های  $NK^1$ ، لنفوسیت‌های B و مونوسیت‌های فعال شده بیان می‌شود (۱۱).

در عفونت HTLV-1، با افزایش بیان PD-1، تعداد کپی ویروس افزایش و عملکرد لنفوسیت‌های سیتوتوکسیک کاهش می‌یابد (۱۲). پلی مورفیسم rs36084323 در جایگاه ۶۰۶ در ناحیه پروموتور ژن *PD-1* قرار دارد که می‌تواند در فعالیت پروموتور اثرگذار باشد (۱۳). با توجه به نقش PD-1 در عفونت HTLV-1 و تاثیر آن در عملکرد سلول‌های T، این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs36084323 در اهداکنندگان خون آلوده به ویروس HTLV-1 بدون علامت در مقایسه با افراد سالم انجام شد، که می‌تواند اطلاعات مفیدی را در مورد تاثیر پلی مورفیسم rs36084323 در پایداری عفونت ویروسی و انتقال ویروس HTLV-1 به افراد سالم فراهم آورد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بود که بر روی نمونه خون ۸۱ اهداکننده خون آلوده به ویروس HTLV-1 که علامتی از بیماری را نداشتند (۶۵ مرد و ۱۶ زن با میانگین و انحراف معیار سنی  $40/36 \pm 10/55$  سال) و ۱۶۲ اهداکننده خون سالم (۱۵۴ مرد و ۸ زن با میانگین و انحراف معیار سنی  $41/37 \pm 0/09$  سال) انجام شد. نمونه‌های استفاده شده در این مطالعه از اهداکنندگان خون استان خراسان رضوی بود که پس از دریافت رضایت‌نامه آگاهانه جمع‌آوری گردید. افراد آلوده به ویروس HTLV-1 توسط آزمایش الایزا و کیت (سنگاپور، HTLV-I/II ELISA 4.0) تشخیص داده شده بودند و آزمایش وسترن‌بلات با کیت (سنگاپور، HTLV Blot 2.4) به منظور تایید آلودگی انجام شده بود. به علاوه تمامی نمونه‌ها از نظر آلودگی‌های ویروسی HIV، HBV و HCV منفی بودند. نمونه خون افراد به منظور جداسازی بافی‌کوت و پلاسما سانتریفیوژ گردید و از نمونه‌های بافی‌کوت، DNA ژنومی با استفاده از کیت یکتا

برش آنزیم MspI پلی مورفیسم، آلل G باشد، به دنبال برش قطعه ۲۷۷ bp و اگر آلل A باشد، قطعات ۲۲۲ و ۵۵ جفت بازی به دست می‌آید. جهت تایید نتایج ژنوتایپینگ، ۱۰٪ از محصولات PCR به روش سنگر یا خاتمه زنجیره جهت توالی‌یابی به شرکت پیشگام ارسال شد.

تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزای آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد و داده‌های ژنوتیپی براساس آزمون مربع کای مورد مقایسه قرار گرفت. مقدار p-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

با انجام PCR و الکتروفورز محصولی با طول ۳۰۶ جفت باز مشاهده شد (شکل ۱). پس از هضم آنزیمی محصول PCR در افراد هموزیگوت GG، سه قطعه ۲۹، ۵۵، ۲۲۲ جفت بازی در افراد هموزیگوت AA، دو قطعه ۲۹، ۲۷۷ جفت بازی و در افراد هتروزیگوت GA، چهار قطعه ۲۹، ۵۵، ۲۲۲ و ۲۷۷ جفت باز مشاهده گردید (شکل ۲). نتایج حاصل از تعیین توالی، تاییدکننده نتایج PCR-RFLP بود (شکل ۳). در کلیه محاسبات آماری انجام شده فاصله اطمینان ۹۵٪ بود. در دو گروه مورد مطالعه فراوانی ژنوتیپ‌ها به شرح: GG (۵۱/۹٪)، GA (۴۶/۳٪) و AA (۱/۹٪) برای گروه شاهد و GG (۵۹/۳٪)، GA (۴۴/۷٪) و AA (۰/۱۰٪) برای گروه مورد بود. محاسبات آماری نشان داد که با مرجع در نظر گرفتن ژنوتیپ GG، میزان p-value برای ژنوتیپ‌ها GA و AA به ترتیب ۰/۳۴۹ و ۰/۳۶۱ بود. با مرجع در نظر گرفتن آلل رفرنس G میزان p-value برای آلل A برابر ۰/۲۵۶ بود (جدول ۲). نتایج تعیین ژنوتیپ براساس دو مدل غالب و مغلوب با استفاده از آزمون آماری مربع کای نشان می‌دهد در مدل غالب، p معنادار نبود (جدول ۳).

تجهیز استخراج گردید و برای انجام مراحل بعد در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پلی مورفیسم rs36084323 با استفاده از روش PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ گردید. آغازگرهای به کار رفته در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) عبارت بودند از: آغازگر مس-تقیم (5'AAGAAGGTCAAGGCTGGAAGGGG3')، آغازگر معکوس (5'ATTCTGTCGGAGCCTCTGGGAG 3'). (جدول ۱).

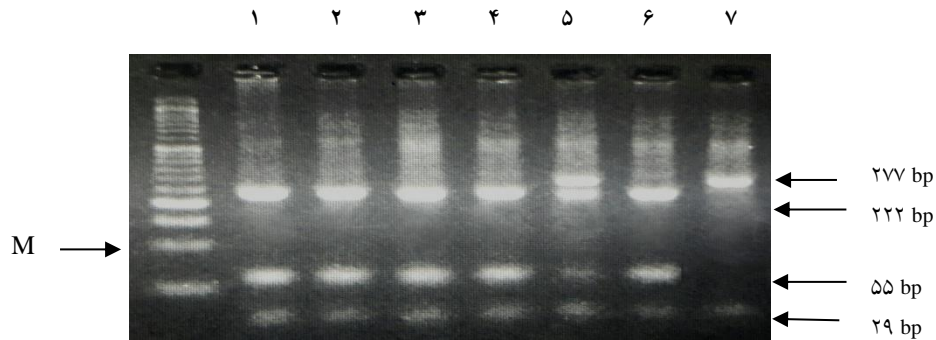
جدول ۱: برنامه دمایی و زمانی PCR

مرحله	دما درجه سانتی‌گراد	زمان	چرخه
دناوراسیون اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱
دناوراسیون	۹۵	۳۸ ثانیه	
آنیلینگ	۵۹/۸	۳۰ ثانیه	۳۵
گسترش	۷۲	۳۵ ثانیه	
گسترش نهایی	۷۲	۵ دقیقه	۱

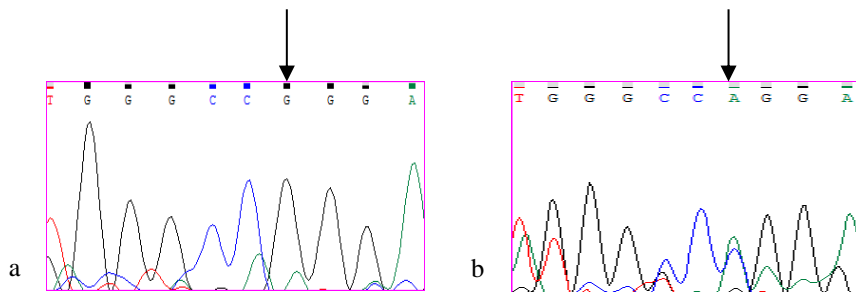
محصول حاصل از PCR که قطعه ۳۰۶ جفت باز بود، بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز و توسط رنگ‌آمیزی با رنگ Green viewer در مقابل نور فرابنفش آشکارسازی شد. پس از آن ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR جهت هضم آنزیمی توسط ۵U/μL آنزیم محدودالثر MspI و ۲ میکرولیتر بافر آنزیم ده برابر غلظت به مدت ۱۶-۱۲ ساعت (overnight) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. محصول هضم آنزیمی با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳٪ به همراه نشانگر وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی آشکار شد. قطعه تکثیر شده دارای دو جایگاه برش آنزیم MspI است که یک جایگاه سبب برش قطعه ۲۹ جفت بازی می‌شود که در زیر نشانگر وزن مولکولی ۵۰ جفت باز قرار می‌گیرد. اگر در جایگاه



شکل ۱: نتیجه الکتروفورز محصول PCR در ژل آگارز ۲٪ و ایجاد باند ۳۰۶ bp حاوی پلی مورفیسم rs36084323 و M نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰ bp



شکل ۲: نتیجه الکتروفورز محصولات حاصل از هضم آنزیمی قطعه حاوی پلی مورفیسم rs36084323 در ژل آگارز ۳٪: M: نشانگر وزن مولکولی ۵۰bp است و قطعه ۲۹ جایگاه برش برای آنزیم MspI می باشد که پلی مورفیسمی در این ناحیه نیست. چاهک ۷ باند در ۲۷۷ bp دیده می شود که بیانگر عدم برش محصول در ناحیه پلی مورفیسم rs36084323 و ژنوتیپ هموزیگوت AA است. چاهک های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۶ باند در ۲۲۲ bp، ۵۵bp است که بیانگر ژنوتیپ هموزیگوت GG است و چاهک ۵ باند در ۲۷۷bp، ۲۲۲ bp و ۵۵ bp که بیانگر ژنوتیپ هتروزیگوت GA است.



شکل ۳: کروماتوگرام پلی مورفیسم rs36084323 که جایگاه پلی مورفیسم با پیکان نشان داده شده است: a: کروماتوگرام ژنوتیپ هموزیگوت GG b: کروماتوگرام ژنوتیپ هتروزیگوت GA

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپها و آللها در دو گروه مورد و شاهد

ژنوتیپ/آلل	کنترل (درصد)	آلوده به ویروس (درصد)	p-value	فاصله اطمینان ۹۵٪ نسبت شانها
GG	۸۴ (۵۱/۹)	۴۸ (۵۹/۳)	Reference	-
GA	۷۵ (۴۶/۳)	۳۳ (۴۴/۷)	۰/۳۴۹	۰/۷۷۳ (۰/۴۵۱-۱/۳۲۴)
AA	۳ (۱/۹)	۰ (۰/۰)	۰/۳۶۱	۰/۲۴۸ (۰/۰۱۲-۴/۹۲۰)
G	۲۴۳ (۷۵)	۱۲۹ (۷۹/۶)	Reference	-
A	۸۱ (۲۵)	۳۳ (۲۰/۴)	۰/۲۵۶	۰/۷۶۷ (۰/۴۸۶-۱/۲۱۳)

جدول ۳: توزیع ژنوتیپها با دو مدل غالب و مغلوب

ژنوتیپ	کنترل (درصد)	آلوده به ویروس (درصد)	p-value	فاصله اطمینان ۹۵٪ نسبت شانها
GG (غالب)	۸۴ (۵۱/۴)	۴۸ (۵۹/۳)	Reference	-
GA + AA (غالب)	۷۸ (۴۸/۱)	۳۳ (۴۰/۷)	۰/۲۷۵	۰/۷۴۰ (۰/۴۳۲-۱/۲۷۰)
GG + GA (مغلوب)	۱۵۹ (۹۸/۱)	۸۱ (۱۰۰)	Reference	-
AA (مغلوب)	۳ (۱/۹)	۰ (۰/۰)	۰/۴۰۱	۳/۵۷۶ (۰/۱۸۲-۷۰/۰۷۹)

**بحث**

در این مطالعه ارتباط بین پلی مورفیسم rs36084323 با استعداد آلودگی به ویروس HTLV-1 در اهداکنندگان خون استان خراسان رضوی بررسی شد. مقایسه فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها بر اساس نتایج آماری حاصله در دو گروه مورد و شاهد نشان داد که اختلاف معناداری بین این دو گروه وجود ندارد که بیانگر عدم هم بستگی این پلی مورفیسم با شانس آلودگی ویروس HTLV-1 در جمعیت مورد مطالعه است. مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنوتیپ AA پلی مورفیسم rs36084323 در جمعیت ایرانی کم است. مطالعه دیگری که در جمعیت ایرانی بر روی پلی مورفیسم rs36084323 انجام شده بود، با نتایج ما همسو است و نشان داد که آلل G پلی مورفیسم rs36084323، آلل شایع در جمعیت ایرانی است که از لحاظ فراوانی تقریباً مشابه جمعیت اروپایی و آفریقایی می‌باشد. این در حالی است که در جمعیت چینی، مکزیکی و هندی آلل A این پلی مورفیسم غالب است (۱۴). تفاوت در شیوع آلل‌های پلی مورفیسم rs36084323 در جمعیت‌های مختلف می‌تواند درآندمیک بودن بیماری‌ها در برخی جمعیت‌ها اثرگذار باشد. با اتصال گیرنده PD-1 به لیگاند هایش، تولید سیتوکاین و فعال شدن سلول T سرکوب می‌شود که منجر به سرکوب تکثیر و القای آپوپتوز سلول‌های T و تمایز آن‌ها به سلول‌های T تنظیمی می‌شود. مطالعه‌ها نشان داده که بیان PD-1 در عفونت‌های مزمن افزایش می‌یابد و در پاسخ‌های ضد ویروسی اختلال ایجاد می‌کند (۱۵). پلی مورفیسم rs36084323 که در ناحیه پروموتور این ژن است، می‌تواند در اتصال فاکتور رونویسی و ایجاد موتیف خاص اثرگذار باشد و سبب اختلال در فعال شدن ژن و شروع رونویسی از ژن PD-1 شود. جالب است که فراوانی آلل A در پلی مورفیسم rs36084323 در مواردی که جهش در P53 وجود دارد، بالاتر است. پیشنهاد شده که در سرطان‌ها جهش P53 که به عنوان مارکری برای پیشرفت بیماری است، سبب پیش آگهی ضعیف و عدم پاسخ به درمان می‌شود (۱۶). ویروس HTLV-1 از جمله ویروس‌هایی است که در گسترش سرطان در جهان دارای نقش می‌باشد (۱۷). از طرف دیگر تنها ۵٪ از افراد آلوده به

ویروس به سمت بیماری ATL پیشرفت می‌کنند (۵). هم‌چنین درمان ایمونوتراپی در بیماران ATL تنها در تعدادی از بیماران موفقیت‌آمیز بوده است بنابراین منطقی است که تجویز ایمونوتراپی بدون دانستن زمینه ژنتیکی بیماران مورد تجدید نظر قرار گیرد و لازم است تاثیر آلل A پلی مورفیسم rs36084323 در پیشرفت افراد آلوده به ویروس HTLV-1 به سمت بیماری و پاسخ به درمان‌های ایمونوتراپی در بیماران ATL مورد بررسی بیشتر قرار گیرد (۱۸).

بنابراین با توجه به نقش PD-1، پلی مورفیسم‌های این ژن می‌توانند با تغییر در میزان بیان PD-1 در فرار ویروس از پاسخ‌های ایمنی و افزایش تعداد سلول آلوده اثرگذار باشند و با افزایش تعداد سلول آلوده، احتمال انتقال این ویروس به دنبال تزریق فرآورده‌های خونی و تغذیه با شیر مادر افزایش می‌یابد. مطالعه‌ای بر روی بیماران روماتوئید آرتریت نشان داد که آلل G و ژنوتیپ GG پلی مورفیسم rs36084323، با افزایش میزان بیان mRNA PD-1 همراه است و ژنوتیپ AA این پلی مورفیسم یک فاکتور محافظت‌کننده در برابر روماتوئید آرتریت است. در مطالعه‌ای دیگر بر روی بیماران روماتوئید آرتریت نشان داده شد که آلل A پلی مورفیسم rs36084323، دارای فراوانی بیشتری در بیماران روماتوئید آرتریت در جمعیت ایرانی است (۱۴).

به علاوه مطالعه‌ها بر روی سرطان پستان نشان داده شده است که ژنوتیپ GG این پلی مورفیسم، یک فاکتور محافظت‌کننده در برابر سرطان پستان است (۱۹). مطالعه بر روی بیماران مبتلا به هپاتیت B نشان داد که ترکیب ژنوتیپ GA یا GG پلی مورفیسم rs10204525 به همراه ژنوتیپ GG پلی مورفیسم rs36084323 در بیماران مبتلا به هپاتیت B فراوانی کمی دارد (۲۰). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که فراوانی ژنوتیپ GG در گروه سالم (۵۱/۹٪) و در گروه مورد (۵۹/۳٪) بالا است و با توجه به این که گروه مورد در این مطالعه افراد آلوده به ویروس HTLV-1 هست که علامتی از بیماری را نداشته‌اند، بنابراین مطالعه حاضر می‌تواند با نتایج مطالعه قبل همسو باشد و ژنوتیپ GG این پلی مورفیسم می‌تواند نقش محافظت‌کننده

جمعیت‌ها و نژادهای مختلف باشد، لازم است این پلی‌مورفیسم در کنار سایر عوامل اثرگذار بر روی تعداد بیشتری افراد آلوده به ویروس، بیماران HAM/TSP و بیماران ATL و پاسخ آن‌ها به درمان ایمونوتراپی مورد بررسی قرار گیرد.

#### تشکر و قدردانی

این تحقیق موضوع کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی پزشکی با کد اخلاق IR.TIM.REC.1398.025 است که هزینه آن توسط مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون تامین شده است.

در افراد آلوده به ویروس در پیشرفت به سمت بیماری داشته باشد.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد ارتباطی بین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs36084323 با استعداد آلودگی به ویروس HTLV-1 در جمعیت ایرانی وجود ندارد و ژنوتیپ GG این پلی‌مورفیسم می‌تواند نقش محافظت‌کننده علیه ویروس HTLV-1 داشته باشد. از آن جا که شیوع پلی‌مورفیسم rs36084323 در جوامع مختلف متفاوت است، این موضوع می‌تواند دلیلی برای آندمیک بودن برخی بیماری‌ها در

#### References:

- Karimi G, Zadsar M, Pourfathollah AA. Seroprevalence and geographical distribution of human T-lymphotropic virus type 1 among volunteer blood donors in endemic areas of Iran. *Virology* 2017; 14(1): 1-9.
- Pirayeshfard L, Sharifi Z, Amini-Kafiabad S, Haghazari Sadaghiani N. Phylogenetic analysis of HTLV-1 in Iranian blood donors, HIV-1 positive patients and patients with beta thalassemia. *J Med Virology* 2018; 90(8): 1398-405.
- Martinez MP, Al-Saleem J, Green PL. Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. *Retrovirology* 2019; 16(1): 1-12.
- Murphy E. Infection with human T-lymphotropic virus types-1 and-2 (HTLV-1 and-2): Implications for blood transfusion safety. *Transfus Clin Biol* 2016; 23(1): 13-9.
- Eusebio-Ponce E, Anguita E, Paulino-Ramirez R, Candel FJ. HTLV-1 infection: an emerging risk. Pathogenesis, epidemiology, diagnosis and associated diseases. *Rev Esp Quimioter* 2019; 32(6): 485-96.
- Braz M, Oliveira JM, Rêgo JL, Carvalho Emd, Santos SMB, Castellucci LC. Polymorphism in the interleukin-10 gene is associated with overactive bladder phenotype associated with HTLV-1 infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 2019; 52: e20180481.
- Dyck L, Mills KH. Immune checkpoints and their inhibition in cancer and infectious diseases. *Eur J Immunol* 2017; 47(5): 765-79.
- Zhang J, Zhao T, Xu C, Huang J, Yu H. The association between polymorphisms in the PDCD1 gene and the risk of cancer: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(40): e4423.
- Yasuma-Mitobe K, Matsuoka M. The roles of coinhibitory receptors in pathogenesis of human retroviral infections. *Front Immunol* 2018; 9: 2755.
- Yamamoto M, Kobayashi T, Mashima H, Miki D, Kuroda S, Hamaoka M, et al. PD1 gene polymorphism is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma following liver resection, cohort study. *Int J Surg* 2020; 80: 84-90.
- Ilcus C, Bagacean C, Tempescul A, Popescu C, Parvu A, Cenariu M, et al. Immune checkpoint blockade: the role of PD-1/PD-L axis in lymphoid malignancies. *Oncotargets Ther* 2017; 10: 2349-63.
- Masaki A, Ishida T, Suzuki S, Ito A, Narita T, Kinoshita S, et al. Human T-cell lymphotropic/leukemia virus type 1 (HTLV-1) Tax-specific T-cell exhaustion in HTLV-1-infected individuals. *Cancer Sci* 2018; 109(8): 2383-90.
- Zhou RM, Li Y, Wang N, Huang X, Cao SR, Shan BE. Association of programmed death-1 polymorphisms with the risk and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer genetics* 2016; 209(9): 365-75.
- Pourfathollah AA, Daneshmandi S, Akhlaghi M. The role of PD-1 gene promoter allele A in rheumatoid arthritis in Iranian patients. *Journal of Arak University of Medical Sciences* 2012; 14(6): 82-8. [Article in Farsi]
- Seliger B. Basis of PD1/PD-L1 therapies. *J Clin Med* 2019; 8(12): 2168.
- Salmaninejad A, Khoramshahi V, Azani A, Soltaninejad E, Aslani S, Zamani MR, et al. PD-1 and cancer: molecular mechanisms and polymorphisms. *Immunogenetics* 2018; 70(2): 73-86.
- Iwanaga M. Epidemiology of HTLV-1 Infection and ATL in Japan: An Update. *Front Microbiol* 2020; 11: 1124.
- Gao P, Lazare C, Cao C, Meng Y, Wu P, Zhi W, et al. Immune checkpoint inhibitors in the treatment of virus-associated cancers. *J Hematol Oncol* 2019; 12(1): 1-10.
- Hua Z, Li D, Xiang G, Xu F, Jie G, Fu Z, et al. PD-1 polymorphisms are associated with sporadic breast cancer in Chinese Han population of Northeast China. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 129(1): 195-201.
- Zhang G, Liu Z, Duan S, Han Q, Li Z, Lv Y, et al. Association of polymorphisms of programmed cell death-1 gene with chronic hepatitis B virus infection. *Hum Immunol* 2010; 71(12): 1209-13.

*Original Article*

## **Lack of the association between single nucleotide polymorphism in programmed cell death 1 gene (PD-1) and susceptibility to human lymphotropic virus infection type 1 (HTLV-1) in the Iranian population**

*Amiri Hezaveh Y.<sup>1</sup>, Sharifi Z.<sup>1</sup>, Ranjbar Kermani F.<sup>1</sup>, Shahabi M.<sup>1</sup>, Kheirandish M.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) requires cell-to-cell communication to cause infection. The increase in the number of cells infected with virus in turn increases the likelihood of virus transmission and progression of disease. Host immune system responses and genetics factors can affect the susceptibility to virus. Thus, in this study, for the first time the polymorphism in PD-1 gene promoter, which is involved in the negative regulation of immune responses, was evaluated in the HTLV-1 asymptomatic carriers and the healthy controls in the Iranian population in 2020.

#### **Materials and Methods**

In this case-control study, genomic DNAs of 81 HTLV-1 asymptomatic carrier blood donors and 162 healthy blood donors in Khorasan Razavi province were extracted and the rs36084323 polymorphisms were genotyped with PCR-RFLP method. To confirm the genotyping results, PCR products were sequenced. The results were analyzed using SPSS-22 statistical software based on chi-square test.

#### **Results**

The frequencies of G and A alleles of rs36084323 polymorphism were 75% and 25% in the control group and 79.6% and 20.4% in the case group, respectively. Considering the G allele as a reference there was no significant difference between the case and control groups ( $p = 0.256$ ).

#### **Conclusions**

The results of this study showed that there is no association between G/A in single nucleotide polymorphism of rs36084323 with susceptibility to HTLV-1 virus infection in the Iranian population.

**Key words:** HTLV-1, Genetic Polymorphism, PCR

*Received: 11 Nov 2020*

*Accepted: 27 Feb 2021*

*Correspondence:* Sharifi Z., PhD of Virology. Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.  
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052152; Fax: (+9821) 88601555  
E-mail: *sharifiz@yahoo.com*