

# خون

فصلنامه علمی تحقیقاتی

دوره ۴ شماره ۳ پاییز (۱۷۵-۱۸۰)

## ارتباط بین چند شکلی ژن IL-1Ra در دهنده و گیرنده پیوند مغز استخوان با بیماری پیوند

### علیه میزان به عنوان یک عامل پیش‌آگهی دهنده

مریم سبجانی<sup>۱</sup>، پانته آ ایزدی<sup>۲</sup>، دکتر اردشیر قوام زاده<sup>۳</sup>، دکتر کامران علی مقدم<sup>۴</sup>، دکتر مسعود ایرانی<sup>۵</sup>، دکتر محمد جهانی<sup>۶</sup>، دکتر اسدالله موسوی<sup>۷</sup>، دکتر نیما هادی عشر<sup>۸</sup>، دکتر محمد رضا نوری دلوئی<sup>۹</sup>

#### چکیده

#### سابقه و هدف

GVHD بیماری است که در ۲۰-۴۰ درصد از گیرنده‌گان پیوند هماهنگ از نظر HLA دیده می‌شود. شماری از پژوهش‌ها نشان داده‌اند که چند شکلی در ژن‌های سایتوکاین، بر مشکلات پس از پیوند تاثیر می‌گذارد. یکی از اعضای این خانواده (IL-1RN) آنتاگونیست گیرنده-1 (IL-1Ra) را کد می‌کند که یک مولکول با خاصیت ضد التهابی است و با IL-1 $\alpha$  و IL-1 $\beta$  در اتصال به گیرنده رقابت می‌کند. میزان شرکت IL-1 در پاسخ‌های پیش‌التهابی، بستگی به توازن بین این سه مولکول دارد. هدف پژوهش حاضر، با توجه به عدم وجود گزارش مشابه در ایران، بررسی چند شکلی ژن IL-1Ra و اثر احتمالی آن روی نتیجه پیوند بوده است.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه که از نوع هم گروهی (Cohort) بود، نمونه‌های ۱۷۵ گیرنده و ۱۷۵ دهنده پیوند مغز استخوان که از نظر HLA سازگار بودند جمع‌آوری گردید و آن‌ها با استفاده از روش PCR-VNTR و الکتروفورزروی ژل آکارز از نظر چند شکلی ژن IL-1Ra بررسی گردید. ارتباط ژنوتیپ بیمار از نظر آلل مورد نظر و اطلاعات بالینی با بروز aGVHD مطالعه شد. ارتباط بین ژنوتیپ دهنده و گیرنده و رتبه GVHD آن‌ها پس از پیوند مورد ارزیابی قرار گرفت. در مورد آلل‌ها، ارتباط هر کدام با aGVHD به تنها بیان توسط نرم افزار SPSS ۱۱/۵ تحلیل آماری گردید. خطر نسبی و نسبت شناسی در آلل‌های مختلف ژن IL-1Ra محاسبه شد و دقت آن از طریق محاسبه فاصله اطمینان ۹۵٪ تعیین گردید.

#### یافته‌ها

فراآنی رتبه‌های aGVHD در این مطالعه شامل رتبه صفر (n=۶۷)، رتبه ۱ (n=۳۱)، رتبه ۲ (n=۴۸)، رتبه ۳ (n=۲۴) و رتبه ۴ (n=۵) بودند. فراآنی آلل ۱ (410 bp) با فراآنی ۴۱۰ bp ژن IL-1Ra با فراآنی ۴۱۰ bp (240 bp) با فراآنی ۶/۳ دومین آلل شایع بود. فراآنی آلل‌ها با آن چه پیش‌تر گزارش شده بود تا حدودی متفاوت بود و ارتباطی بین هیچ یک از چند شکلی‌ها با بروز aGVHD مشاهده نگردید. هم چنین سن دهنده و گیرنده، نوع بیماری به ویژه بیماری تالاسمی عامل‌های خطر مهمی برای بروز aGVHD محسوب می‌شدند.

#### نتیجه گیری

به طور کلی فراآنی آلل‌های ژن IL-1Ra در ایران در جمعیت مورد مطالعه تعیین گردید. در مورد ارتباط آلل‌های مختلف ژن IL-1Ra به خصوص آلل شماره ۲ با aGVHD نیاز به بررسی‌های بیشتر می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** پیوند مغز استخوان، ژنوتیپ، بیماری پیوند علیه میزان

تاریخ دریافت: ۱۲/۱/۸۵

تاریخ پذیرش: ۱۳/۷/۸۶

۱- کارشناس ارشد ژنتیک پژوهشی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۲- کارشناس ارشد بیوشیمی - مریم دانشکده پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- فوق تخصص خون و انکولوژی - استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- فوق تخصص خون و انکولوژی - استادیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵- پژوهش عمومی - مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

۶- مؤلف مسئول: PhD Ph.D ژنتیک - استاد دانشکده پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران

## ۴۵۶

این ناحیه شناسایی شده است) (۸، ۹).

آل ۱ این چند شکلی به عنوان مثال دارای ۴ تکرار از توالی مورد اشاره در بالا و آل ۲ دارای ۲ تکرار می‌باشد. گزارش شده است که آل ۲ با افزایش تولید پروتئین IL-1Ra ۱۰۰ همراه است. بنابراین با مهار آبشار سایتوکاین مرتبط می‌باشد (۱۰-۱۲).

هدف از این مطالعه، یافتن ارتباط بین چند شکلی ژن IL-1Ra در دهنده و گیرنده پیوند با بروز GVHD در بیماران گیرنده پیوند مغز استخوان می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش هم گروهی (Cohort) انجام گرفت. جمعیت مورد مطالعه شامل افراد دهنده و گیرنده پیوند مغز استخوان بودند که در سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۳ به مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی مراجعه نموده بودند. بر اساس اطلاعات اولیه به دست آمده از سایر مطالعات، حجم نمونه ۱۷۵ محاسبه گردید (۱، ۴). معیارهای ورودی شامل خواهر و برادرهایی بودند که از نظر HLA، کاملاً با دهنده پیوند سازگار باشند. از هر دو فرد دهنده و گیرنده پیوند، خون گرفته شد. DNA نمونه‌ها استخراج شد و با استفاده از روش PCR-VNTR تکثیر گردید. توالی بازی آغازگرهای استفاده شده به صورت زیر بود:

آغازگر رفت' ۳'-CTCAGCAACACTCCTAT-۳'

آغازگر برگشت' ۳'-TCCTGGTCTGCAGGTAA-۳'

سپس توسط الکتروفورز روی ژل آگاروز ۲٪ وجود چند شکلی در ژن IL-1Ra مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین بیماران به منظور امکان بروز GVHD از نظر بالینی پی‌گیری شده و در نهایت ارتباط ژنتیک بیمار از نظر آلل مورد نظر و اطلاعات بالینی با بروز GVHD مورد مطالعه قرار گرفت.

خطر نسبی (Relative Risk) و نسبت شانس (Odds Ratio) در آللهای مختلف ژن IL-1Ra با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۱/۵ محاسبه شد و دقت آن از طریق محاسبه فاصله اطمینان ۹۵٪ تعیین شد. ثبت کلیه اطلاعات عمومی و بالینی در مرکز تحقیقات

پیوند مغز استخوان روش اصلی و نهایی در درمان شمار وسیعی از بیماری‌های سیستم خونساز مانند انسواع لوسیمی‌ها، آنمی آپلاستیک و تالاسمی مژاور محسوب می‌شود. در مرکز رفرازنس (BMT) مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی) به طور متوسط سالیانه حدود ۲۰۰ مورد پیوند مغز استخوان صورت می‌گیرد. یکی از مشکلات اساسی به دنبال این روش درمانی (BMT)، واکنش پیوند علیه میزان (Graft Versus Host Disease: GVHD) است که تهدید کننده میزان موفقیت این روش می‌باشد.

از نظر زمان بروز به دو نوع حاد و مزمن تقسیم می‌شود. نوع حاد (acute GVHD) در ۴۰٪ تا ۷۰٪ بیماران تا دو ماه پس از پیوند ظاهر شده و موجب آسیب‌های پوستی، کبدی و گوارشی می‌شود (۱، ۲). شکل مزمن (chronic GVHD) حدود ۱۰۰ روز پس از پیوند ظاهر شده و در ۳۰٪ تا ۵۰٪ افراد دارای نسبت خواهر و برادری (sibling) که از نظر HLA سازگار باشند دیده می‌شود (۴).

به رغم پیچیدگی پاتوفیزیولوژی پدیده GVHD، نقش سایتوکاین‌هایی مانند IL-1 در رابطه با آن مشخص شده است (۵-۷). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که سه ژن واقع در بازوی بلند کروموزوم ۲، خانواده ایترلوکین ۱ را به وجود می‌آورند. این ژن‌ها عبارتند از IL-1 $\beta$ ، IL-1 $\alpha$  و IL-1R $\alpha$  (آنتاگونیست (آگونیست‌های گیرنده IL-1) و IL-1Ra (آگونیست گیرنده IL-1). هم چنین تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش تولید پروتئین IL-1Ra، موجب سد شدن هر چه بیشتر گیرنده IL-1 گردیده و آبشار سایتوکاین را مهار می‌نماید. به علاوه به نظر می‌رسد که در خلال ورود بافت پیوندی، ایترلوکین ۱ توسط بافت دهنده پیوند نیز تولید می‌شود که تولید آن در بروز GVHD مؤثر است.

میزان تولید IL-1Ra در فرد دهنده یا گیرنده با چند شکلی این ژن مرتبط است. این ژن دارای ۴ اگزون و ۳ ایتررون است. در ایتررون ۲ از این ژن، یک ردیف ۸۶ جفت بازی موجود است که دفعات تکرار آن متغیر است (بر اساس دفعات تکرار آللهای شماره ۱ تا ۵ برای

جدول ۱: گیرنده، دهنده، بیماری و مشخصات پیوند

۱۷۵	تعداد پیوند
۲۱(۳-۵۳)	میانگین سنی گیرندهان پیوند
۲۲(۳-۵۸)	میانگین سنی دهندهان پیوند
۸۲(٪۴۶/۹)	عدم تطابق جنسیت
جمعیت ناهمگن ایرانی	قومیت
Bu + Cy = ۱۶	رژیم آماده‌سازی
Bu + Cy + VP = ۱۲	نوع پیوند
Cy = ۳	سلول‌های بنیادی خون
۱۶۵(٪۹۴/۳)	محیطی مغز استخوان
۱۰(٪۵/۷)	داروهای پیشگیرانه GVHD
MTX + CsA = ۱۰۰	نوع بیماری
CsA = ۶۴	لوسمی میلوبلاستی حاد
CsA + cort = ۱۱	لوسمی لنفوبلاستی حاد
۵۵(٪۳۱/۴)	لوسمی میلوزنی مزمن
۳۸(٪۲۱/۷)	تالاسمی
۲۷(٪۱۵/۴)	دیگر بیماری‌ها
۳۰(٪۱۷/۱)	
۲۵(٪۱۴/۳)	

Bu = busulfan; CY = cyclophosphamide; VP = etoposide; MTX, methotrexate; CSA = cyclosporin A.

فراوانی سایر آلل‌ها در محدوده ۰/۶ تا ۵/۷ درصد بوده است. وضعیت فراوانی آلل‌ها در دهندهان پیوند، بسیار به گیرندهان نزدیک بوده است. در این مطالعه فراوانی رتبه‌های aGVHD بر اساس استاندارد گلاکس برگ به قرار رتبه صفر (تعداد ۶۷ نفر)، رتبه یک (۳۱ نفر)، رتبه دو (۴۸ نفر)، رتبه سه (۲۴ نفر) و رتبه چهار (۵ نفر) aGVHD می‌باشد. در این مطالعه ۱۳ نفر در اثر ابتلا به aGVHD فوت شدند. ۷۷ بیمار به شکل متوسط تا پیشرفتنه aGVHD مبتلا شدند و ۹۸ بیمار یا اثری از aGVHD نشان ندادند و یا مبتلا به نوع خفیف آن شدند. سن، جنس، نوع بیماری، وضعیت CMV، بروز GVHD و نوع چند شکلی ژن IL-1Ra اصلی‌ترین مواردی بودند که مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بین سن در هر دو

خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی توسط متخصصان بالینی و پزشک معالج بیمار انجام شد و در نهایت با حفظ رازداری و امانت این اطلاعات از کامپیوتر این مرکز جهت تفسیر نهایی داده‌ها استخراج شد.

از آن‌جا که مطالعه حاضر یک مطالعه مشاهده‌ای (از نوع cohort) بود و هیچ مداخله اضافی جهت این پژوهش در روند درمان بیمار اعمال نمی‌شد، نیازی به تهیه فرم رضایت‌نامه از بیماران وجود نداشت. به علاوه برای تمام افرادی که نمونه آن‌ها وارد این پژوهش شده است پیش از اخذ نمونه، توضیح کافی داده شده و پس از کسب رضایت فرد از جهت شرکت در پژوهش نمونه‌گیری انجام گرفته است.

#### یافته‌ها

در این پژوهش ۳۵۰ فرد شامل ۱۷۵ گیرنده و ۱۷۵ دهنده پیوند مغز استخوان مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). متغیرهای پژوهش حاضر شامل سن، جنس، نوع بیماری، وضعیت CMV، بروز GVHD، شدت aGVHD، نوع چند شکلی ژن IL-1Ra بودند. محدوده سنی گیرندهان از ۲/۵ سال تا ۵۳ سال با میانگین سنی داشتند و میانگین سنی در این گروه ۲۲/۰ (SD ± ۱۱/۵۸) بود. دهندهان بین ۳ تا ۵۸ سال سن داشتند و میانگین سنی در این گروه ۲۳/۰ (SD ± ۱۰/۸۳) بود. فراوانی بیماری‌های مختلف که بیماران به دلیل ابتلا به آن‌ها، کاندید پیوند مغز استخوان شده بودند بدین ترتیب بود: از ۱۷۵ بیمار، ۳۰ نفر مبتلا به بتا تالاسمی (ماژور و ایتر مدیا)، ۳۸ نفر مبتلا به ALL، ۲۷ نفر مبتلا به CML و ۵۵ نفر مبتلا به AML و سایرین دچار بیماری‌هایی Myelo Dysplastic MDS ( Syndrom CLL و PBSCT ) از نوع ۱۶۵ پیوند (٪۹۳/۴) در این ۱۷۵ مورد پیوند، BMT (Cell Transplantation) ۱۰ مورد از نوع BMT است. فراوانی آلل‌های مختلف مربوط به چند شکلی-IL-1Ra در گیرندهان پیوند بدین صورت بوده است: آلل ۴۱۰ bp (٪۸۰/۶) با فراوانی شایع ترین آلل در جمعیت بیماران مورد بررسی و آلل ۲ (٪۲۴۰ bp) با فراوانی ٪۶/۳ جایگاه دوم را داشته است.

تفاوت در فراوانی آلل‌ها می‌تواند در اثر تفاوت نژادی بین گروه‌های مورد مطالعه ایجاد شده باشد.

### بحث

با وجود تجویز داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی که بیماران پس از پیوند دریافت می‌کنند، GVHD هنوز جزو یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌ها در کاربرد وسیع پیوند آلوژنیک مغز استخوان محسوب می‌شود. این مساله حتی در بیمارانی که از خواهر یا برادر هماهنگ از نظر HLA پیوند دریافت می‌کنند نیز دیده می‌شود. در حدود ۳۰٪ گیرنده‌گان پیوند مغز استخوان و سلول‌های بنیادی (Stem cell)، از اهدائکننده‌گان یکسان از نظر HLA بودند و بیشتر بیمارانی که سلول‌ها را از سایر منابع دریافت می‌کنند (دهنده‌گان غیر خویشاوند و یا خواهر و برادرهای غیر هماهنگ از نظر HLA خون بند ناف) با وجود دریافت داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی رتبه‌های بیشتر از ۲، GVHD را بروز می‌دهند.<sup>(۵)</sup> شایان ذکر است که در این پژوهش افراد خواهر و برادر که از نظر HLA هماهنگ بودند مورد مطالعه قرار گرفتند و علل احتمالی این رخداد به ویژه چند شکلی ژن IL-1Ra در جمعیت ایرانی مورد جستجو قرار گرفت. در این مطالعه هر چه سن پایین‌تر بود، احتمال بروز aGVHD بیشتر شد. این یافته با دیگر مطالعاتی که در این زمینه صورت گرفته است سازگار است.<sup>(۱۳)</sup>

بیماری‌ها از دیگر عواملی هستند که مورد بررسی قرار گرفتند. در این پژوهش ارتباط کاملاً معنی‌داری بین نوع بیماری و aGVHD به دست آمد ( $p = 0.02$ ). تالاسمی از جمله بیماری‌های شایع در ایران است که در بین بیماران این پژوهش نیز از شیوع بالایی برخوردار می‌باشد. در این مطالعه مشاهده شد که ارتباط بسیار قوی بین این بیماری و بروز aGVHD وجود دارد، به طوری که در ۸۶٪ گیرنده‌هایی که تالاسمی دارند، این رخداد دیده می‌شود. هم چنین فراوانی آلل‌های مختلف ژن IL-1Ra توسط واکنش PCR و ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. ارتباط آلل‌ها و aGVHD با یافته‌های دیگر مطالعات هماهنگ بود و تنها در مورد آلل شماره ۲ تفاوت وجود داشت.<sup>(۱۴)</sup>

گروه دهنده و گیرنده با GVHD ارتباط معنی‌داری وجود دارد، به طوری که هر چه سن پایین‌تر باشد، احتمال بروز aGVHD بیشتر است. ۶۳٪ افراد گیرنده و ۷۱٪ افراد دهنده زیر ۲۰ سال مبتلا به GVHD گردیدند.

جدول ۲: آنالیز آماری عوامل مؤثر در بروز (GVHD)

عوامل مؤثر	Odds Ratio	p value
سن گیرنده‌گان پیوند	۱/۰۳۳	۰/۰۱۸
جنسیت گیرنده‌گان پیوند	۱/۰۱۴	۰/۹۹۶
وضعیت ابتلا به CMV	۰/۹۷۹	۰/۹۶۰
ژنوتیپ گیرنده‌گان پیوند (آلل ۲)	۰/۹۳۲	۰/۲۴۹
تالاسمی	۵/۱۳۶	۰/۰۰۲
لوسمی میلوبلاستی حاد	۰/۰۳۸	۰/۰۶
لوسمی لغوبلاستی حاد	۰/۹۶۷	۰/۹۳
لوسمی میلوبلاستی مزمن	۰/۶۳۷	۰/۲۸۱
دیگر بیماری‌ها	۱/۱۵۳	۰/۷۵۲
سن دهنده‌گان پیوند	۱/۰۴۰	۰/۰۰۸
جنسیت دهنده‌گان پیوند	۰/۶۱۸	۰/۱۲۳
عدم تطابق جنسیت	۱/۶۰۶	۰/۱۳۱
ژنوتیپ دهنده‌گان پیوند (آلل ۲)	۱/۶۲۹	۰/۴۱۲
پیوند سلول‌های بنیادی خون محیطی	۱/۶۱۹	۰/۴۵۷
پیوند مغز استخوان	۰/۴۱۸	۰/۴۶۰

در جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش (دهنده و گیرنده) فراوانی آلل‌ها به صورت زیر بود (جدول ۳):

جدول ۳: فراوانی آلل‌ها در جمعیت مورد مطالعه در پژوهش حاضر

دهنده‌گان پیوند	گیرنده‌گان پیوند	فراءانی در	نوع آلل
۰/۸۹/۷	۰/۹۰/۳	A1	
۰/۶/۹	۰/۷/۴	A2	
۰/۲/۳	۰/۱/۷	A3	
۰/۹/۷	۰/۶/۹	A4	
۰/۱/۷	۰/۱/۷	A5	

نیاز به بررسی‌های بیشتر می‌باشد. در این مطالعه شاید به دلایل احتمالی مانند کافی نبودن حجم نمونه و یا وجود عوامل مداخله‌گر رابطه معنی‌دار نگردیده است. البته فراوانی آلل‌ها در ایران در جمعیت مورد مطالعه تعیین گردید که می‌تواند به پژوهش‌های بعدی در مورد این ژن کمک شایانی نماید.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات خون - انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفته است. بدین وسیله از همکاران محترم این مرکز، خانم‌ها موسوی، شهریاری، بصیر پناه، خلیلوندی که در این طرح مشارکت داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

بین وجود آلل ۲ و aGVHD رابطه قوی وجود داشت به طوری که اگر گیرنده آلل ۲ را داشته باشد به احتمال ۴۶٪ aGVHD بروز می‌کند، در حالی که اگر این آلل را نداشته باشد، احتمال بروز GVHD ۶۲٪ می‌باشد. به عبارت دیگر اگر آلل ۲ را نداشته باشد شанс GVHD وی حدود ۲ برابر می‌شود ( $Odds\ Ratio = 2$ ). با این وجود این رابطه قوی از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد که این امر می‌تواند در اثر اختلاف نژادی و مواردی مانند آن باشد.

در جمعیت انگلیسی و در افراد غیر خویشاوند، فراوانی آلل‌ها با مطالعه حاضر متفاوت بود (۱۴).

### نتیجه‌گیری

نتیجه‌گیری نهایی این که جهت ارزیابی آلل‌های مختلف ژن IL-1Ra با aGVHD به خصوص در مورد آلل شماره ۲

### References :

- Storb R, Prentice RL, Hanson JA, Thomas ED. Association between HLA-B antigens and acute graft versus host disease. Lancet 1998;351(8169):816-9.
- Cullup H, Stark G. Interleukin-1 polymorphisms and graft vs host disease. Leuk Lymphoma 2005; 46(4):517-23.
- Mehta PA, Eapen M, Klein JP, Gandham S, Elliott J, Combs M. Interleukin-1 alpha genotype and outcome of unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation for chronic myeloid leukaemia. Br J Haematol 2007;137(2):152-7.
- Martin PJ, Gody T, Anasetti C, Petersdorf EW, Hanson JA. HLAs and risk of graft versus host disease after marrow transplantation from HLA identical sibling. Biology of Blood and Marrow Transplantation 1998; 4: 128-33.
- Deeg HJ, Cottler-Fox M. Clinical spectrum and pathophysiology of acute graft versus host disease. In: Burakoff SJ, Deeg HJ, Ferrara J, Atkinson K, editors. Graft versus Host Disease: Immunology, Pathophysiology and Treatment. New York: Marcel Dekker Inc; 1990;539-5.
- Korngold R, Sprent J. T cell subsets in graft versus host disease. In: Burakoff SJ, Deeg HJ, Ferrara J, Atkinson K, editors. Graft versus Host Disease: Immunology, Pathophysiology and Treatment. New York: Marcel Dekker Inc; 1990;31-50.
- Holler E, Kolb H J, Mittermuller J, Kaul M, Ledderose G, Duell T, et al. Modulation of acute graft versus host disease after allogeneic bone marrow transplantation by tumor necrosis factor alpha release in the course of pretransplant conditioning: role of conditioning regimens and prophylactic application of a monoclonal antibody neutralizing human TNF alpha (MAK 195F). Blood 1995; 86: 890-9.
- Arend WP. Interlukine-1 receptor antagonist: a new member of interlukine-1 family. J Clin Invest 1991; 88: 1445-51.
- Blakemore AIF, Cox A, Gonzalez AM, Maskill JK, Hughes ME, Wilson RM, et al. Interleukin-1 receptor antagonist allele (IL1RN\*2) associated with nephropathy in diabetes mellitus. Hum Genet 1996;97: 369-74.
- Lennard A, Gorman P, Carrier M, Griffiths S, Scotney H, Sheer D, et al. Cloning and chromosome mapping of the human Interlukine-1 receptor antagonist gene. Cytokine 1992; 4: 83-9.
- El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. Nature 2000; 404: 398-402.
- Couriel D, Caldera H, Champlin R, Komanduri K. Acute graft versus host disease: Pathophysiology, Clinical Manifestation, and Management. Cancer 2004; 101: 1936-46.
- Cullup H, Dickinson AM, Jackson GH, Taylor PR, Cavet J, Middleton PG. Donor interleukin 1 receptor antagonist genotype associated with acute graft-versus-host disease in human leucocyte antigen-matched sibling allogeneic transplants. British Journal of Haematology 2001; 113:807-13.
- Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R. Polymorphism in human Interlukine-1 receptor antagonist genes Intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. Hum Genet 1993; 91: 403-4.

## Relationship between IL-1Ra gene polymorphism and GVHD as a prognostic factor

**Sobhani M.<sup>1</sup>(MS), Izadi P.<sup>2</sup>(MS), Ghavamzadeh A.<sup>2,3</sup>(MD), Ali Moghadam K.<sup>2,3</sup>(MD), Iravani M.<sup>2,3</sup>(MD), Jahani M.<sup>2,3</sup>(MD), Moosavi A.<sup>2,3</sup>(MD), Hadiashar N.<sup>2,3</sup>(MD), Nooridaloii M.R.<sup>2</sup>(PhD)**

<sup>1</sup>Iranian Blood Transfusion Organization - Research Center

<sup>2</sup>Tehran University of Medical Sciences & Health Service

<sup>3</sup>Hematology, Oncology, and BMT Research Center, Shariati Hospital

### **Abstract**

#### **Background and Objectives**

GVHD occurs in 20–40% of recipients of HLA-matched sibling donor grafts. A number of studies suggest that polymorphism in cytokine genes influence susceptibility to post-BMT complications. One of the cytokine gene family (IL-1RN) encodes IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra), an anti-inflammatory molecule that competes for receptor binding with IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . The overall contribution of IL-1 to the proinflammatory response depends on the balance between these three molecules. In this study, we decided to evaluate the polymorphisms of IL-1Ra gene that might influence the outcome of BMT.

#### **Materials and Methods**

In this cohort study, patients' (n = 175) and donors' (n = 175) DNA from a total of 350 human leucocyte antigen (HLA)-identical sibling allogeneic BMTs were analysed. IL-1Ra gene polymorphism was studied by PCR-VNTR method. PCR products were then visualized by electrophoresis in 2% agarose gel. Then, the correlation between donor and recipient genotype and GVHD grade for their respective transplant was assessed.

#### **Results**

The frequency of the aGVHD grades was divided to grade 0 (38.3%), grade I (17.7%), grade II (27.4%), grade III (13.7%), grade IV (2.9%). Correlation between donor and recipient genotype and GVHD grade for their respective transplant was assessed. We observed no significant correlation between the IL-1Ra polymorphism and incidence of aGVHD, although possession of the allele 2 in the individual genotype was associated with less severe acute GVHD.

#### **Conclusions**

The observed allele frequencies were different from those previously reported. None of the polymorphisms showed association with the presence of acute GVHD. However, presence of allele 2 showed association with aGVHD. If the recipient possessed allele 2, the probability of aGVHD was 46% and in the absence of allele 2, it was 62%. Recipient age, donor age, recipient disease particularly thalassemia were the most remarkable risk factors for acute GVHD.

**Key words:** Bone marrow transplantation, Genotype, Graft Versus Host Disease

*SJIBTO 2007; 4(3): 175-180*

*Received: 20 Feb 2007*

*Accepted: 4 Nov 2007*

---

**Correspondence:** Nooridaloii M.R., PhD of Genetics. Tehran University of Medical Sciences. P.O.Box: 14155-6447, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88953005; Fax : (+9821) 66404377  
E-mail: nooridaloii@sina.Tums.ac.ir