خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۴ شماره ۳ پاییز ۸۶ (۲۰۳-۱۹۹)

تنوع ژنتیکی HLA-DRB1 در جمعیت نرمال ایرانی

دکتر فاطمه یاری[۱]، نادیا باقری[۲]، ، مریم زمان وزیری[۳]، مریم سبحانی[۴]، فاطمه صباغی[۵]، دکتر علی طالبیان[۶]

چکیده

سابقه و هدف

ژن‌های مجموعه اصلی سازگاری نسجی(MHC) دارای بیشترین تنوع ژنتیکی در ژنوم هر گونه می‌باشند. ژن‌های MHC انسانی بر روی کروموزوم ۶ واقع شده و HLA نامیده می‌شوند. آنتی‌ژن‌های کلاس I و HLA II ، کنترل ژنتیکی پاسخ‌های ایمنی را به عهده دارند. شناسایی آلل‌های HLA به طور وسیعی در امر پیوند، بیماری‌های مرتبط با HLA و مطالعات جمعیت شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در میان ژن‌های مختلف HLA ، ژن‌های DRB1 جزو متغیرترین آن‌ها محسوب می‌شوند. در این پژوهش به دلیل اهمیت آنتی‌ژن‌های DRB1 در پیوند مغز استخوان، این آنتی‌ژن‌ها در جمعیت نرمال مورد مطالعه قرار گرفتند. این مطالعه جزو مطالعاتی است که در این راستا و در ارتباط با تعیین آنتی‌ژن‌های HLA-DR در نژادهای مختلف ایرانی و نه یک گروه خاص انجام شده است.

مواد وروش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود. در این مطالعه به روش نمونه‌گیری تصادفی از خون کامل ۴۶۶ فرد نرمال اهداکننده مغز استخوان، DNA استخراج شده و قطعاتی از جایگاه ژنی HLA-DRB با استفاده از ۲۳ جفت آغازگر اختصاصی و به کارگیری روش PCR-SSP تکثیر گردید. در نهایت ارزیابی باندهای ایجاد شده با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز انجام گرفت. تحلیل آماری با استفاده از برنامه آمای SPSS ۱۱/۵ و با تعیین فراوانی صورت گرفت.

یافته‌ها

شایع‌ترین فراوانی آلل‌های DRB1 در جمعیت نرمال ایرانی، متعلق به۱۱* DRB1(۲۰/۰٪) بوده و به دنبال آن ۱۳* DRB1 (۱۱/۴٪)، ۱۵* DRB1(۱۱/۴٪) و ۰۴* DRB1(۱۰/۰٪) بیشترین فراوانی را دارا می‌باشند. در حالی که آلل ۰۹* DRB1 از کمترین فراوانی(۰/۹٪) برخوردار است.

نتیجه گیری

این تحقیق تنوع ژنتیکی در جمعیت مختلط ایرانی را از نظر آلل‌های HLA-DRB1 نشان می‌دهد. در این مطالعه نزدیکی جمعیت ایرانی با جمعیت‌های اروپای شرقی و جنوبی دیده شد.

کلمات کلیدی: HLA-DRB1 ، PCR ، ایران

تاریخ دریافت : ۸۵/۱۲/ ۱
تاریخ پذیرش : ۸۶/ ۶/۲۷

۱ – مؤلف مسؤول: PhD ایمونولوژی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ صندوق پستی ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۲- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- کارشناس ارشد ایمونولوژی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۴ – کارشناس ارشد ژنتیک پزشکی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۶- متخصص آسیب شناسی ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-03]

مقدمه

سیستم آنتی‌ژن لکوسیتی انسان یا HLA ، اولین بار در سال ۱۹۵۴ توسط داست شناسایی شد. در انسان ناحیه MHC (Major Histocompatibility Complex) در بازوی کوتاه کروموزوم ۶ (6p21) واقع شده است و در حدود ۴ مگا باز از DNA را اشغال می‌کند. جایگاه ژنی MHC حاوی بیشترین اطلاعات برای عرضه مناسب آنتی‌ژن‌ها می‌باشد(۲، ۱). ژن‌های این مجموعه به سه ناحیه مشخص کلاس I ، کلاس II و کلاس III گروه‌بندی شده‌اند. ژن‌های کلاس I در انتهای تلومریک لوکوس HLA قرار دارند، ژن‌های کلاس II نزدیک به سانترومر هستند و ژن‌های کلاس III بین دو ناحیه ژن‌های کلاس I و II قرار دارند(۲، ۱). ناحیه کلاس II بیش از ۸۰۰ کیلو باز از DNA را در بر می‌گیرد و حداقل از ۹ ژن عملکردی تشکیل شده است که شامل DRA1 / DRB1 / DRB3 / DRB4 / DRB5 / DQA1 / DQB1 / DPA1/DPB1 می‌باشند(۳).

سازگاری HLA افراد تحت پیوند در پیوند مغز استخوان، امری ضروری و اساسی است. آنتی‌ژن‌های HLA که امروزه برای پیوند مغز استخوان مورد بررسی قرار می‌گیرند حداقل شامل ۶ آلل، ۲ آلل مربوط به HLA-A ، ۲ آلل مربوط به HLA-B و ۲ آلل HLA-DRB1 می‌باشند(۲).

DRB1 جایگاه ژنی است که بالاترین تنوع را در خانواده HLA کلاس II داراست. از ۵۵۹ آلل مربوط به این لکوس، ۴۶۲ پروتئین کد می‌شوند. از این تعداد آلل، تعداد محدودی آلل انتخاب شده و جفت آلل‌های مربوط به آن‌ها در کیت‌ها گنجانیده شده‌اند. آلل‌های انتخاب شده به علت تنوع ژنتیکی بالای خود در گروه‌های جمعیتی مختلف، از ارزش تشخیصی بالایی برخوردارند.

با توجه به نبود اطلاعات کافی و جامع در مورد ژنوتیپ ژن‌های HLA کلاس II در جمعیت نرمال ایرانی، در این پژوهش، تعیین فراوانی آلل‌های HLA کلاس II(DRB) در جمعیت هتروژن صورت گرفته و امکان مقایسه با جمعیت‌های دیگر جهان فراهم آمده است(۴).

مواد و روش ها

این بررسی از نوع توصیفی بود و تعداد ۴۶۶ نفر از جمعیت هتروژن و نرمال ایرانی به روش نمونه‌گیری تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های مطالعه شده در مناطق مختلف ایران ساکن بوده و در فاصله بین سال‌های ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۵ به عنوان اهداکننده مغز استخوان به سازمان انتقال خون ایران ارجاع شده بودند.

ابتدا از افراد مورد نظر به میزان ۱۰ سی‌سی خون حاوی EDTA گرفته شد. اساس روش استخراج DNA با خلوص بالا، اتصال DNA به فیلترهای سیلیکا بود(کیت رُوش). DNAهای حاصل با استفاده از روش SSP(Sequence Specific Priming) با به کارگیری کیت هیدلبرگ تکثیر شدند(۵). در این روش ۲۳ جفت آغازگر در ۲۳ تیوب جهت تعیین آلل‌های DRB1 با درجه تفکیک آللی پایین ـ متوسط(low-intermediate) مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که در این روش در تمامی تیوب‌های ذکر شده آغازگرهای یک ژن غیر مرتبط با HLA(ژن هورمون رشد) نیز وجود داشت که به عنوان کنترل داخلی جهت اثبات انجام واکنش PCR در هر تیوب عمل می‌نمود. به علاوه در این کیت، علاوه بر آغازگرهای اختصاصی آلل‌های DRB1 ،آغازگرهای مربوط به DRB3 ، DRB4 و DRB5 نیز گنجانیده شده‌اند تا با استفاده از اطلاعات مربوط به حرکت ترجیهی آلل‌های DRB1 با ژن‌های یاد شده، نتایج به دست آمده تایید گردند.

DNA تکثیر شده از طریق الکتروفورز روی ژل ۲٪ مشخص گردید. باندهای به دست آمده با توجه به راهنمای کیت تفسیر شده و نوع آلل‌های DRB مشخص شد.

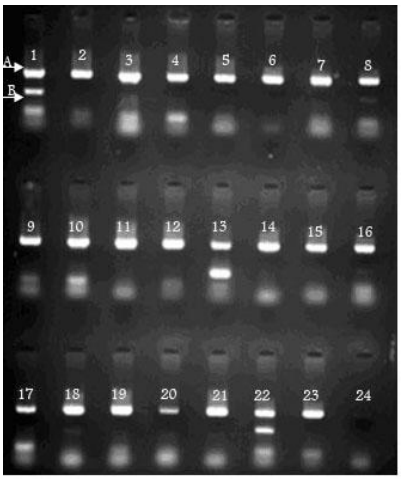
تحلیل آماری با استفاده از برنامه آماری SPSS۱۱/۵ با تعیین فراوانی صورت گرفت.

یافته ها

نتیجه کار PCR-SSP بر روی نمونه‌های نرمال مورد مطالعه نشان‌دهنده باندهای مربوط به کنترل داخلی DRB1 ، DRB3 ، DRB5 ، DRB4 بود. در شکل ۱ نتیجه بر روی یک نمونه نرمال قابل مشاهده است.

فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 در افراد نرمال در جدول ۱ نشان داده شده است. مطابق جدول، شایع‌ترین فراوانی آلل‌های DRB1 در جمعیت نرمال ایرانی متعلق به DRB1*11 (۲۰/۰٪) است و به دنبال آن DRB1*13 (۱۱/۴٪) ، DRB1*15(۱۱/۴٪) و DRB1*04

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-03]



شکل ۱: نتیجهPCR-SSP بر روی ژل آگارز ۲ درصد مربوط به یک نمونه مورد مطالعه با استفاده از ۲۰ جفت آغازگر مربوط به آلل‌های DRB1 در چاهک‌های ۲۰-۱ و ۳ جفت آغازگر مربوط به DRB3، DRB4 و DRB5 به ترتیب در چاهک‌های ۲۱، ۲۲ و ۲۳. چاهک انتهایی۲۴ مربوط به کنترل منفی است. باند A مربوط به کنترل داخلی (ژن هورمون رشد) و باند B مربوط به آلل DRB می‌باشد. در این شکل تایپ HLA-DR به صورت زیر است: *DRB3، *DRB1*01، DRB1*11

جدول ۱: فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 در ۴۶۶ فرد نرمال ایرانی

آلل‌های DRB1	درصد فراوانی
۰۱	۵/۵
۰۳	۱۰/۸
۰۴	۱۰
۰۷	۸/۳
۰۸	۲
۰۹	۰/۸۵
۱۰	۲
۱۱	۲۰
۱۲	۲
۱۳	۱۱/۴
۱۴	۴/۶
۱۵	۱۱/۴
۱۶	۴/۶

(۱۰/۰٪) بیشترین فراوانی را دارا می‌باشند. در حالی که آلل DRB1*09 از کمترین فراوانی(۰/۹٪) برخوردار است.

بحث

نقشه‌برداری ژن‌های HLA در سراسر جهان ابزار ارزشمندی در مطالعات جمعیت شناسی می‌باشد. با توجه به این موضوع، تعیین گروه‌های HLA در گذشته توسط روش‌های سرولوژیک و امروزه با روش‌های مولکولی در جمعیت‌های مختلف انجام شده است.

به نظر می‌رسد زمینه ژنتیکی HLA ایرانیان امروزی نماینده یک الگوی هتروژن باشد. این مسأله به دلیل موقعیت سیاسی جغرافیایی ایران در گذشته است. البته مطالعه حاضر این فرضیه را رد می‌کند و نشان‌دهنده این است که جمعیت ایرانی حاضر تمامیت ژنتیکی خود را تا حدی حفظ نموده‌اند.

مطالعه درباره فراوانی آلل‌های HLA-DRB1 نشان می‌دهد که شایع‌ترین آلل لکوس HLA-DRB1، DRB1*11 می‌باشد که با مطالعات قبلی که دکتر امیر زرگر و همکاران در سال ۲۰۰۱ بر روی جمعیت استان فارس انجام دادند مطابقت دارد(۴). فراوانی این آلل در جمعیت اسکاندیناوی در حدود ۲٪ گزارش شده است(۷، ۶). در جمعیت‌های اروپای شرقی شامل بلژیک، کرواسی و چک اسلواکی فراوانی این آلل به ترتیب ۱۶/۴٪، ۱۸/۲٪، ۱۴/۶٪ بوده است(۱۰-۸). در جمعیت ترکیه ۱۵/۹٪ و در جمعیت نرمال هند شمالی ۱۹٪ حامل این آلل بوده‌اند در حالی که در جمعیت‌های ایتالیایی و اسپانیایی فراوانی این آلل ۲۵٪ و ۱۸٪ گزارش شده است(۱۳-۱۱).

در خاور دور شامل ژاپن، چین و کره جنوبی، فراوانی آلل DRB1*11 به ترتیب ۲/۹٪، ۴/۴٪ و ۵٪ می‌باشد(۱۵، ۱۴). در مطالعه‌ای که توسط دکتر امیر زرگر و همکاران انجام شد، کمترین فراوانی در مورد آلل‌های DRB1*12 (۱/۵٪) و DRB1*08(۱/۵٪) گزارش شد(۴). در حالی که در این بررسی، نادرترین آلل در جمعیت ایرانی، DRB1*09 با فراوانی ۰/۹٪ شناخته شد. به علاوه، فراوانی آلل‌های DRB1*12(۲٪) و DRB1*08(۲٪) تعیین گردید. در مجموع داده‌هایی که در این مطالعه ارایه شده است، در تعریف و شناسایی تنوع ژنتیکی HLA-DR در جمعیت ایرانی مفید می‌باشد و اطلاعاتی را جهت استفاده در مطالعات جمعیت شناسی و پیوند فراهم می‌آورد.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-03]

نتیجه‌گیری

ایـن اطلاعـات فـراوانی آلـل‌هـای HLA-DRB1 را در جمعیت نرمال ایرانی مشخص نموده و نشان مـی‌دهـد کـه جمعیت ایرانی از نظر پلی‌مورفیسم لکوس ژنتیکـی DRB1 دارای تشابه با کشورهای اروپای شرقی و جنوبی می‌باشـد. یافتن ارتباط بین آلل‌های HLA کلاس II با انـواع حـالات بالینی در بیماران تحت پیوند مغز استخوان می‌توانـد زمینـه مطالعات بعدی باشد.

References :

1- Abbas A, Lichtman A, Pober J. The major histocompatibility complex, cellular and molecular immunology. In: Abbas A, Lichtman A, Pober J, editors. United State:Saunders;2000:63-75.
2- Dyer P, Middleton D. Histocompatibility testing, a practical approach. New York:Oxford University Press Inc;1993:1-10.
3- Marsh SGE, Bodmer JG, Albert ED. Nomenclature for factors of the HLA system. Human Immunol 2001;62: 419-468.
4- Amirzargar A, Mytilineos J, Farjadian Sh, Doroudchi M, Scherer S, Opelz G, *et al*. Human leukocyte antigen class II allele frequencies and haplotype association in iranian normal population. Human Immunol 2001;62:1234–8.
5- www.ctstransplant.org
6- Madsen M, Graugaard B, Lamm LU, Jorgensen F, Kissmeyer- Nielsen F. HLA-DR genes and antigens in the Danish population: a study of 500 unrelated Danes. Tissue Antigens 1981;18:258.
7- Ronningen KS, Spukland A, Makussen G, Iwe T, Vartdal F, Thorsby E. Distribution of HLA-class II alleles among Norwegian Caucasians. Human Immunol 1990;29:275.
8- Ivanova R, Naoumova E, Lepage V, Djoulah S, Yordanov Y, Loste MN, *et al*. HLA-DRB1, DQA1, DQB1 DNA polymorphism in the Bulgarian population. Tissue Antigens 1996;47:122.
9- Grubic Z, Zunec R, Naipal A, Kastelan A, Giphart MJ. Molecular analysis of HLA-class II polymorphism in Croatians. Tissue Antigens 1995;46:293.
10- Cechova E, Fazekasova H, Ferencik S, Shawkatova I, Buc M. HLA-DRB1 and DPB1 polymorphism in the Slovak population. Tissue Antigens 1998;51:574.
11- Martinez-Laso J, De Juan D, Martinez-Quiles N, Gomez-Casado E, Cuadrado E, Arnaiz-Villena A. The contribution of the HLA-A, -B, -C, and -DR, -DQ DNA typing to the study of the origins of Spaniards and Basques. Tissue Antigens 1995;45:237.
12- Arnaiz-Vllena A, Martinez-Laso J, Gomez-Casado E, Diaz-Campos N, Santos P, Martinho A, *et al*. Relatedness among Basques, Portuguese, Spaniard and Algerians studies by HLA allelic frequencies and haplotypes. Immunogenetics 1997;47:37.
13- Rani R, Fernandez-Vina MA, Stastny P. Association between HLA class II alleles in a north Indian population. Tissue Antigens 1998;52:37.
14- Wang FQ, Semana G, Fauchet R, Genetet B. HLA-DR and DQ genotyping by PCR-SSO in Shanghai Chinese. Tissue Antigens 1993;41:223.
15- Hashimoto M, Kinoshita T, Yamasaki M, Tanak H, Imanishi T, Ihara H, *et al*. Gene frequencies and haplotypic association within the HLA region in 916 unrelated Japanese individuals. Tissue Antigens 1994;44:166.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-03]

HLA DRB1 polymorphism in the Iranian population

Yari F.[1](PhD), Bagheri N.[1](MS), Zaman Vaziri M.[1](MS),Sobhani M.[1](MS), Sabaghi F.[1](BS), Talebian A.[1](MD)

[1]Iranian Blood Transfusion Organization – Research Center

Abstract

Background and Objectives

Major Histocompatibility Complex (MHC) is the most polymorphic system in the genome of different species. In human beings, these genes named HLA are located on the chromosome 6. HLA class I and II undertake genetic control of the immune system. Identification of HLA alleles is useful in transplantation, disease, and anthropological studies. Among different antigens of HLA, DR (DRB1) antigens are the most variable. In this research, due to the importance of DRB1 antigens in bone marrow transplantation, these antigens were studied in normal population. This study was performed on different Iranian races and did not suffice to a specific group.

Materials and Methods

DNA was extracted from the whole blood sample of 466 normal individuals after randomized sampling. Some HLA-DRB locus segments were amplified using 23 primer pairs by using PCR-SSP method. Finaly, PCR products were evaluated by electrophoresis in 2% agarose gel.

Results

The most prevalent alleles in DRB1 locus in normal poulation of Iran were DRB1*11, DRB1*13, DRB1*15, and DRB1*04 (20%, 11.4%, 11.4%, 10%, respectively). Whereas DRB1* 09 was the least frequent allele.

Conclusions

This research showed genetic diversity of HLA DRB1 in the mixed Iranian population. The data suggest that the Iranian population share certain HLA class II genetic components with the populations residing in Russia and Eastern and Southern European countries.

Key words: HLA-DRB1, PCR, Iran
SJIBTO 2007; 4(3): 199-203

Received: 20 Feb 2007
Accepted:18 Sep 2007

Correspondence: Yari F., PhD of Immunology. IBTO –Research Center.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601599; Fax : (+9821)88601599
E-mail: *yari@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-03]