مجله دیابت و لیپید ایران. تابستان ۱۳۸۴؛ دوره ۴ (شماره ۴): ۹-۱

# پیوستگی بین چند شکلی ژن CD4 با دیابت نوع یک در جمعیت ایرانی

مهدی زمانی*[۱]، محمد امین طباطبایی‌فر[۱]، آرزو صوابی اصفهانی[۱]، فریدون مصطفوی[۱]، آریاستوده[۱]، باقر لاریجانی[۲]

## چکیده

**مقدمه**: دیابت نوع یک (T1DM)، یک بیماری خودایمنی است که در آن با واسطه سلول‌های T، سلول‌های بتای لوزالمعده بصورت گزینشی تخریب می شوند. نیمی از خطر ایجاد T1DM بوسیله منطقه ژنی HLA بوجود می آید. همچنین، نیمی از خطر بیماری T1DM توسط دیگر ژن‌های غیر از HLA و احتمالاً آنهایی که در کمپلکس میان‌کنش با آنتی ژن دخیل می‌باشند، ایجاد شود. محصول ژن CD4 (یکی از مهمترین گیرنده های سطح سلول T که نقش کلیدی در ارائه آنتی ژن دارد) می‌تواند عاملی از این دست می‌باشد.

**روش‌ها**: ما در این مطالعه با بهره گیری از رویکرد ژن کاندید، ارتباط احتمالی چندشکلی ژن CD4 را با T1DM در جمعیت ایرانی بررسی نموده ایم. چندشکلی ناشی از تکرار پنج نوکلئوتیدی غنی از بازهای پیریمیدینی که در پروموتر ژن مربوطه واقع شده است، مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۹۲ بیمار T1DM و ۱۰۸ فرد شاهد سالم با استفاده از شیوهٔ PCR بررسی شدند.

**یافته‌ها**: تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده، ارتباط حمایتی آلل CD4*A3 در مقابل بیماری T1DM (RR=۰/۱۵۹ Pc=۰/۰۲۵؛ ۹۵٪ CI: ۰/۰۳۶-۰/۷۰۷) و مستعد کنندگی آلل CD4*A5 برای بیماری T1DM (RR=۷/۳۹۷ Pc=۰/۰۱۰؛ ۹۵٪ CI: ۱/۶۳۰-۳۳/۴۱۴) را نشان داد.

**نتیجه‌گیری**: این نتایج حاکی از آن است که چند شکلی های خاص ژن CD4 دارای پیوستگی مثبت ومنفی با بیماری T1DM در جمعیت ایران می باشد.

**واژگان کلیدی**: دیابت نوع یک، چند شکلی، ژن CD4، بیماری خود ایمن، ایران

۱- گروه ژنتیک پزشکی، مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* ***نشانی***: تهران, انتهای بلوار کشاورز، خیابان دکتر قریب، مرکز طبی کودکان، بخش ژنتیک پزشکی؛ تلفن : ۶۶۹۰۵۵۵۳ -۰۲۱؛ پست الکترونیک: mzamani@exicte.com

**تاریخ دریافت**: ۸۴/۴/۲۶

**تاریخ پذیرش**: ۸۴/۶/۵

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

## مقدمه

دیابت نوع ۱ (T1DM) یک بیماری با توارث چند عاملی بوده که از تخریب سلول‌های بتای لوزالمعده به‌واسطه سلول‌های T در افراد مستعد از لحاظ ژنتیکی ناشی می‌شود [ ۱، ۲ ]. منطقهٔ ژنی کمپلکس اصلی سازگاری نسجی انسان (MHC) مسؤول ایجاد حدود ۵۰٪ خطر ژنتیکی در این بیماری می باشد [۴،۳]. مطالعات ارتباط چند شکلی‌های HLA کلاس II و T1DM اثبات کرده اند که آلل‌های خاصی از آن مثل DRB1*0401 و DQB1*0302 و به ویژه DRB1* lys71$^{+}$ رابطه خیلی قوی با T1DM دارند [۷،۵]. مشارکت ژن‌های غیرHLA در ایجاد بیماری T1DM نیز گزارش شده است [۶]. این گونه‌های ژنی غیر HLA که در ایجاد T1DM نقش دارند را می‌توان از طریق مطالعه ژن‌های کاندید شناسایی کرد [۸].

سلول‌های T دارای گیرندهٔ CD4$^{+}$، نقش مهمی در بیماری زایی دیابت نوع یک ایفا می‌کنند [۹]؛ بنابراین چند شکلی‌های ژنی که در فرایند پاسخ ایمنی سلول T CD4$^{+}$ به آنتی ژن ارائه شده تغییر ایجاد می کنند، ممکن است بر استعداد ابتلا به T1DM تأثیر بگذارند. پروتیین CD4 (بنام p55) به مولکول‌های HLA کلاس II واقع بر روی سلول‌های ارائه دهندهٔ آنتی ژن و نیز با گیرندهٔ سلول T (TCR)متصل می شود و پاسخ گیرنده لنفوسیت T (TCR) را به آنتی ژن ارائه شده تشدید می کند. مولکول CD4 دامنه[1] دوم مولکول HLA کلاس II را شناسایی کرده و به آن متصل می شود. اگر به دلایلی این شناسایی صورت نگیرد، پاسخ لنفوسیت T به آنتی ژن صورت نمی گیرد [۱۱،۱۰]. پروتیین CD4 می تواند همچنین از طریق آنزیم تیروزین پروتئین کیناز P56$^{lck}$ پاسخ به آنتی ژن را تشدید نماید [۱۲]. در انسان ژن گیرنده CD4 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۲ (۱۲p۱۲) قرار گرفته و در موش بر روی کروموزوم ۶ واقع است [۱۳، ۱۴]. در موش آزمایشگاهی NOD در نزدیکی لوکوس Idd6 قرار گرفته است [۱۵]. این داده ها نه تنها اهمیت مولکول CD4 را در پاسخ ایمنی نشان می‌دهند، بلکه آن را کاندید مناسب در ایجاد بیماری T1DM می نماید.

مطالعات اولیه ژنومی بر روی انسان با DNA های نشانگر، ارتباط لوکوس‌های موجود بر روی ۱۲p را با T1DM مشخص نساخته بودند [۱۶، ۱۷] اما در مطالعهٔ مورد-شاهدی که ما در جمعیت اروپایی (بلژیکی) انجام دادیم ، نشان داد که چند شکلی ژن CD4 ناشی از تکرارهای پنتا نوکلئوتیدی با دیابت نوع یک ارتباط دارد و فراوانی ژنوتیپ CD4*A4/A4 در مقایسه با افراد شاهد بطور معنی داری افزایش یافته بود و چنین نتیجه گیری شد که احتمالا" ژن CD4 و یا ژن پیوسته به آن در ایجاد بیماری T1DM نقش دارد [۱۸]. این موضوع بعداً توسط مطالعه دیگری در جمعیت دانمارکی تأیید گردید [۱۹]. از طرف دیگر در سال‌های اخیر، مطالعه مدل‌های حیوانات جونده و هم‌چنین انسان برای بیماری های پیچیده خودایمنی حاکی از آن است که منطقه دربردارنده ژن CD4 با T1DM مرتبط است [۲۰].

بدین ترتیب شواهد متعددی، ژن CD4 را به‌عنوان ژن کاندید برای ایجاد T1DM مطرح می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط ژن CD4 با T1DM در جمعیت ایرانی است که بر این اساس چند شکلی پنتانوکلئوتیدی CD4 در جمعیت بیماران T1DM و جمعیت کنترل سالم تجزیه و تحلیل شد. نتایج در جمعیت کشورمان نیز پیوستگی چند شکلی CD4 را با T1DM نشان داد که این آلل‌های پیوسته به T1DM با جمعیت اروپایی متفاوت بود.

## روش‌ها

### الف) افراد مورد مطالعه

۹۲ بیمار T1DM وارد مطالعه شدند. همه بیماران غیرخویشاوند و ایرانی بودند که از نقاط مختلف کشور به بیمارستان مرکز طبی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران و بیمارستان حضرت علی اصغر دانشگاه علوم پزشکی ایران ارجاع داده شده بودند. پس از کسب رضایت آگاهانه، نمونه برداری صورت گرفت. گروه شاهد شامل ۱۰۸ فرد سالم بدون سابقه بیماری خود ایمنی و از افرادی با سن بالای ۳۵ سال بود تا احتمال ابتلا به T1DM را نداشته

[1] Domain

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

باشند. هر دو گروه از نظر پراکندگی جمعیتی در کشور قابل مقایسه و تطبیق بودند.

## ب) تعیین نوع آلل‌های چند شکلی پنتانوکلئوتیدی

DNA ژنومی از لنفوسیت‌های خون محیطی با روش لیز سلولی استخراج گردید [۲۱]. پرایمرهای زیر برای تکثیر قطعهٔ حاوی تکرارهای پنتانوکلئوتیدی CTTTT انتخاب گردید که در پروموتر ژن CD4 قرار دارد [۱۸، ۲۲]:

5´–TTGGAGTCGCAAGCTGAACTAGC-3´

5´– GCCTGAGTGACAGAGTGAGAACC-3´

برای انجام واکنش PCR، مقدار ng ۲۵ از DNA ژنومی و pmol ۱۰ از هر پرایمر در حجم نهایی µl ۲۵ که محتوی mM ۱/۲۵ $MgCl_2$، mM ۱۰ بتامرکاپتواتانول، mM ۱۶/۶ $(NH4)_2\ SO_4$، µM ۶/۷ (pH=۸/۸)Tris-Hcl ۶۷ mM، EDTA، µg/ml ۱۷۰ آلبومین سرم گاو (BSA)، $\mu$M ۲۰۰ از هر dNTP (Roche Applied Science)، ۱/۲۵U از Taq پلی مراز (Roche Applied Science) و دی اتیل سولفوکساید (DMSO) ۲٪ بود، به‌کار رفت.

فرایند PCR در دستگاه ترمال سایکلر (Applied Biosystem 2720) انجام شد. شرایط PCR به صورت زیر بود: در مرحله اول ۱ دقیقه در °C ۹۴؛ سپس برای ۳۲ چرخه در شرایط زیر قرار گرفت: ۱ دقیقه در °C۹۴، ۱ دقیقه در °C۵۶ و ۱ دقیقه در °C ۷۲ . آلل‌ها توسط الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل پلی آکریلامید (PAGE) ۸٪ پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید آنالیز شدند و ژنوتیپ آن‌ها بر حسب طول قطعه مشخص گردید [۱۸] (شکل ۱).

تکرارپذیری[1] شیوهٔ تعیین آلل‌های CD4 بدین صورت کنترل شدکه ژنوتیپ ۲۰ نمونه دو بار در دو آزمایش مستقل تعیین شد و نتایج یکسان بدست آمد. از نشانگر مولکولی شماره ۹ (Roche Applied Science) برای تعیین ژنوتیپ‌های مربوطه استفاده گردید.

[1] Reproducibility

## ج) تجزیه و تحلیل آماری

تست Fisher's exact برای محاسبه معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در فراوانی آللی یا ژنوتیپی در دو گروه مورد مطالعه به کار گرفته شد (گروه T1DM و گروه شاهد) [۲۳]. ارزش‌های P با استفاده از روش Bonferroni تصحیح گردید [۲۵،۲۴]. خطر نسبی (RR) با روش Woof و با فرمول زیر محاسبه گردید:

تعداد بیماران دارای آلل خاص/ تعداد بیماران بدون این آلل/تعداد افراد شاهد دارای آلل مربوطه/ تعداد افراد شاهد بدون آلل مربوطه [۲۶]. خطر نسبی تنها برای آل‌ها یا ژنوتیپ های دارای ارزش P کمتر از ۰/۰۵ محاسبه گردید.

# یافته‌ها

## الف) توزیع آلل‌های ژن CD4

آلل‌های $A_2, A_3, A_4, A_5, A_6, A_7, A_8, A_9$ [۲۱] در این دو گروه مشاهده شدند (جدول ۱). با آزمون Fisher's exact اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بررسی شد (جدول ۱). آزمون Fisher's exact اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه از نظر آلل CD4*A3 مشخص ساخت (P=۰/۰۰۵) و پس از تصحیح Bonferroni ارزش تصحیح شده P بدست آمد($P_c$=۰/۰۲۵) که نشانگر ارتباط منفی این آلل با بیماری دیابت است و حاکی از اثر «حمایت کنندگی» آن در برابر دیابت می باشد (۰/۰۳۶–۰/۷۰۷: CI ۹۵٪، RR=۰/۱۵۹). همچنین آلل CD4*A5 از لحاظ آماری بطور معنی داری در جمعیت بیماران نسبت به گروه شاهد افزایش یافته بود ($P_c$=/۰۱۰) )که به‌عنوان آلل مستعد کننده مطرح می شود و بدین معنی است که شانس ابتلا بهT1DM در افراد حامل آلل CD4*A5 نسبت به افرادی که این آلل را ندارند بیش از ۷ برابر می باشد (۱/۶۳۰–۳۳/۴۱۴: CI ۹۵٪، RR=۷/۳۷۹)

## ب)توزیع ژنوتیپ های ژن CD4

در مجموع ۱۷ ژنوتیپ در دو جمعیت بیمار و شاهد یافت شد که از آن میان ۱۳ ژنوتیپ به جمعیت بیمار و ۱۴ ژنوتیپ به جمعیت سالم تعلق داشت (جدول ۲). با وجود

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

**جدول ۱ - توزیع آلل‌های ژن CD4 در ۹۲ بیمار T1DM و ۱۰۸ فرد شاهد سالم.**

| آلل‌ها | بیماران n=۱۸۴ | | شاهد n=۲۱۶ | | P | Pc | RR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد | فراوانی | تعداد | فراوانی | | | |
| A2 | ۱ | ۰/۰۰۵ | ۲ | ۰/۰۰۹ | ۰/۵۶۰ | | |
| A3 | ۲ | ۰/۰۱۱ | ۱۴ | ۰/۰۶۵ | ۰/۰۰۵ | /۰۲۵ | ۰/۱۵۹ |
| A4 | ۶۲ | ۰/۳۳۷ | ۶۴ | ۰/۲۹۶ | ۰/۸۳۶ | | |
| A5 | ۱۲ | ۰/۰۶۵ | ۲ | ۰/۰۰۹ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۱۰ | ۷/۴۶۵ |
| A6 | ۰ | | ۱ | ۰/۰۰۵ | | | |
| A7 | ۳۵ | ۰/۱۹۰ | ۳۸ | ۰/۱۷۶ | ۰/۶۹۱ | | |
| A8 | ۷۲ | ۰/۳۹۱ | ۹۳ | ۰/۴۳۱ | ۰/۲۴۴ | | |
| A9 | ۰ | | ۲ | ۰/۰۰۹ | ۰/۲۹۱ | | |

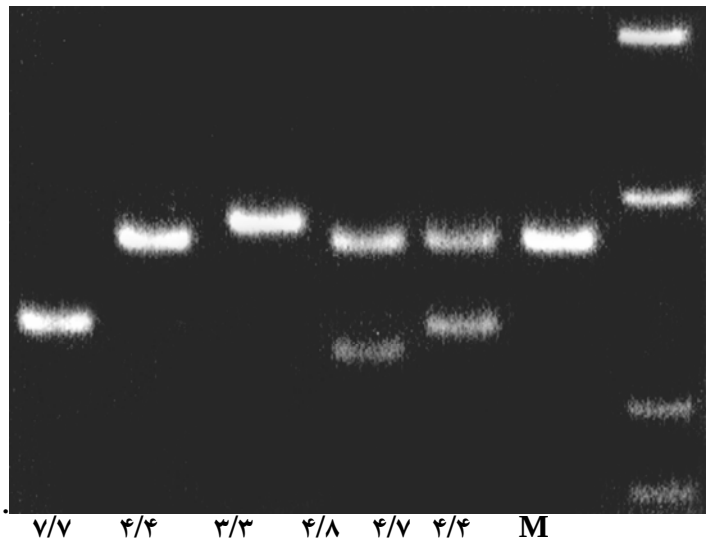
ارزش P تنها برای آن دسته از آلل‌هایی محاسبه شده اند که مجموع موارد مشاهده شده در گروه بیمار و شاهد بیش از ۱۰ مورد بوده است. n نشانگر تعداد کروموزم‌ها، P نشانگر ارزش‌های P محاسبه شده و $P_c$ ارزش‌های P تصحیح شده (ارزش P محاسبه شده × تعداد آلل‌ها) می‌باشند.

**جدول ۲- توزیع ژنوتیپ های ژن CD4 در ۹۲ بیمار T1DM و ۱۰۸ فرد شاهد سالم**

| ژنوتیپ ها | بیماران N=۹۲ | | شاهد N=۱۰۸ | | P | $P_c$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد | فراوانی | تعداد | فراوانی | | |
| A2/A7 | ۱ | ۰/۰۱۱ | ۱ | ۰/۰۰۹ | ۰/۷۹۰ | |
| A2/A8 | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۱ | ۰/۰۰۹ | ۰/۵۴۰ | |
| A3/A4 | ۱ | /۰۱۱ | ۶ | ۰/۰۵۶ | ۰/۰۸۹ | |
| A3/A7 | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۱ | ۰/۰۰۹ | ۰/۵۴۰ | |
| A3/A8 | ۱ | /۰۱۱ | ۷ | ۰/۰۶۵ | ۰/۰۵۳ | |
| A4/A4 | ۶ | ۰/۰۶۵ | ۱۰ | ۰/۰۹۳ | ۰/۳۲۹ | |
| A4/A5 | ۳ | ۰/۰۳۳ | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۹۶ | |
| A4/A6 | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۱ | ۰/۰۰۹ | ۰/۵۴۰ | |
| A4/A7 | ۱۰ | ۰/۱۰۹ | ۱۰ | ۰/۰۹۳ | ۰/۷۳۱ | |
| A4/A8 | ۳۶ | ۰/۳۹۱ | ۲۷ | ۰/۲۵۰ | ۰/۰۲۳ | ۰/۱۱۵ |
| A5/A5 | ۲ | ۰/۰۲۲ | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۲۱۰ | |
| A5/A8 | ۳ | /۰۳۳ | ۲ | ۰/۰۱۹ | ۰/۸۶۲ | |
| A5/A7 | ۲ | /۰۲۲ | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۲۱۰ | |
| A7/A7 | ۴ | ۰/۰۴۳ | ۴ | ۰/۰۳۷ | ۰/۷۲۴ | |
| A7/A8 | ۱۴ | ۰/۱۵۲ | ۱۸ | ۰/۱۶۷ | ۰/۴۶۷ | |
| A8/A8 | ۹ | ۰/۰۹۸ | ۱۸ | ۰/۱۶۷ | ۰/۱۱۲ | |
| A8/A9 | ۰ | ۰/۰۰۰ | ۲ | /۰۱۹ | ۰/۲۹۰ | |

ارزش p تنها برای آن دسته از آلل‌هایی محاسبه شده اند که مجموع موارد مشاهده شده در گروه بیمار و شاهد بیش از ۱۰ مورد بوده است. n نشانگر تعداد کل افراد در هر گروه، p نشانگرارزش‌های p محاسبه شده و $p_c$ ارزش‌های p تصحیح شده (ارزش p محاسبه شده × تعداد آلل‌ها) می باشند.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]




**شکل ۱- آنالیز مولکولی چندشکلی طولی شامل تکرارهای پنتانوکلئیدی (ctttt) ژن CD4 بر روی ژل پلی آکریلامید ۸٪ (PAGE).** ژنوتیپ افراد در زیر شکل آورده شده است. M نشان دهنده نشانگر مولکولی شماره ۹(Roche Applied Science) می باشد.

**جدول۳- بررسی مقایسه‌ای توزیع آلل‌ها در دو جمعیت ایرانی و اروپایی (بلژیکی)**

| آلل‌ها | جمعیت ایرانی | | جمعیت اروپایی (جمعیت بلژیک) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد n =۲۱۶ | فراوانی | تعداد n =۴۲۴ | فراوانی | P | $P_c$ |
| A2 | ۲ | ۰/۰۰۹ | ۰ | ۰/۰۰۰ | | |
| A3 | ۱۴ | ۰/۰۶۵ | ۱۵ | ۰/۰۳۵ | | |
| A4 | ۶۴ | ۰/۲۹۶ | ۹۸ | ۰/۲۳۷ | ۰/۰۴۶ | ۰/۱۸۴ |
| A5 | ۲ | ۰/۰۰۹ | ۰ | ۰/۰۰۰ | | |
| A6 | ۱ | ۰/۰۰۰ | ۰ | ۰/۰۰۰ | | |
| A7 | ۳۸ | ۰/۱۷۶ | ۱۵۸ | ۰/۳۷۳ | | |
| A8 | ۹۳ | ۰/۴۳۱ | ۱۵۳ | ۰/۳۶۰ | | |
| A9 | ۲ | ۰/۰۰۹ | ۰ | ۰/۰۰۰ | | |

N نشانگر تعداد کروموزوم‌ها، p نشانگر ارزش‌های p محاسبه شده و $p_c$ ارزش‌های p تصحیح شده (ارزش p محاسبه شده × تعداد آلل‌ها) می‌باشند. تنها ارزش p معنی دار نشان داده شده است که پس از محاسبه Pc برای تعداد آلل‌هایی که در دو جمعیت مجموعاً ۱۰ و بیشتر می باشند، تفاوت معنی داری بین دو جمعیت ملاحظه نشد.

آن که ژنوتیپ A4/A8، ارزش p معنی‌داری را دارا بود (P=./۰۲۳)، پس از تصحیح Bonferroni معنی دار نبود.

## ج) مقایسه توزیع آلل‌ها در جمعیت ایرانی و اروپایی

فراوانی آلل‌ها در جمعیت شاهد ایرانی با فراوانی مربوط به جمعیت اروپایی که قبلا" مطالعه کرده بودیم [۱۸]، مقایسه گردید (جدول۳). نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری از لحاظ توزیع آللی بین دو جمعیت وجود ندارد ولی تفاوت عمده مربوط به وجود تنوع آلل است که در جمعیت ایرانی نسبت به اروپایی مشاهده شد (جدول ۳).

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

## بحث

در حالی که ژنوتیپ های خاص در منطقهٔ ژنی HLA، استعداد پذیری قوی به T1DM فراهم می‌کنند، دیگر ژن ها (ژن های غیر منطقه HLA ) هم می‌توانند به سهم خود چنین نقشی را در استعداد افراد به T1DM و یا ممانعت از آن ایفا کنند. در این مطالعه فراوانی آلل CD4*A3 و CD4*A5 مربوط به پروموتر ژن $CD_4$ به طور معنی داری در بیماران T1DM در مقایسه با گروه شاهد به ترتیب کاهش و افزایش یافته است. این چند شکلی برخلاف چند شکلی های HLA، در توالی های غیر کد کننده (تنظیمی) واقع است و در بررسی توالی های اگزونی نیز در دو آلل CD4*A3وCD4*A5 با دیگر آلل‌های این چند شکلی تفاوتی یافت نشد (داده های منتشر نشده). از سوی دیگر وجود این چند شکلی در منطقه پروموتر [۱۹] این ایده را بر می‌انگیزد که ممکن است در تنظیم بیان پروتیین $CD_4$ (p55) نقش داشته باشد که در این صورت احتمالاً در برهمکنش با TCR و HLA کلاس II نقشی را ایفا خواهد کرد. در هر حال، تغییر بیان پروتیین $CD_4$ و یا وجود چند شکلی خاص در آن که در تماس با HLA کلاس II قرار می گیرد، ممکن است برهمکنش بین HLA کلاس II و سلول‌های T را تغییر دهد و ممکن است شانس سلول های T برای فرار از گزینش منفی ممکن است تغییر کند و یا می‌تواند در سطح گزینش مثبت عمل کند. نتایج تحقیقات سایرین پیشنهاد می کند که بروز کم ژن CD4 در سطح سلول به نقص پاسخ TCR به تحریکات اندک آنتی ژنی منجر می شود [۲۷]. با این شرایط، پروموتر ژن مربوطه نقش اساسی خواهد داشت و این در حالی است که تکرار پنتانوکلئوتیدی مورد مطالعه ما در همان جا قرار دارد. سلول های T نابالغ زمانی گزینش مثبت می‌شوند که گیرنده های آن‌ها با لیگاندهای HLA به‌علاوه پپتید در تیموس با تمایل اندکی برهمکنش کند در حالی که برهمکنش قوی‌تر ایجاد گزینش منفی خواهد کرد [۲۹،۲۸]. به‌ویژه در این رابطه دخالت احتمالی ژن CD4 حائز اهمیت است؛ زیرا سلول های T که با اتو آنتی ژن ها (آنتی ژن های خودی) واکنش می‌دهند، کاهش ( در موردآلل های حمایتی) یا افزایش ( در مورد آلل‌های مستعدساز) می یابند؛ این مفهوم با واکنش خود ایمنی این بیماری مطابق است و اصولا" تراکم و ترکیب مولکولی کمپلکس HLA کلاس II - پپتید که در دسترس TCR قرار می‌گیرد، در میان‌کنش با سلول های T وگزینش آنها مهم بوده و منطقی است که این دامنه‌ها و نیز مولکول های مرتبط مثل $CD_4$، مورد بررسی قرار گیرند.

نتایج ما، مطالعهٔ پیوستگی و ارتباط بین لوکوس CD4 و T1DM در جمعیت دانمارک و مطالعهٔ ارتباط آن در جمعیت بلژیک را تأیید می‌نماید [۱۰،۹]؛ اما فرقی که وجود دارد این است که برطبق مطالعات، در جمعیت اروپایی آلل CD4* A4 به عنوان عامل خطر برای T1DM درنظر گرفته شده است و این در حالی است که نتایج ما در جمعیت ایران اختلاف معنی داری را در سطح CD4* A4 نشان نمی‌دهد و بجای آن آلل CD4* A5 را به‌عنوان آلل مستعد کننده نشان می‌دهد. به‌علاوه، آلل CD4* A3 به عنوان آلل مقاومت شناسایی شد.

همان‌گونه که قبلاً ذکر شد این تغییر برهمکنش می تواند ناشی از خود چندشکلی پنتانوکلئوتیدی بررسی شده باشد ؛ تکرار مربوطه (CTTTT) جزو توالی های پلی پیریمیدینی است و پیشنهاد شده که تکرارهای پلی پیریمیدینی در برخی فرایندهای تنظیمی و جذب عوامل رونویسی خاص دخالت دارند. همچنین ساختارهای ویژه DNA سه‌رشته‌ای[1] در آنها ثابت شده است[۳۰]؛ که احتمالاً این نوع پلی مورفیسم‌ها (که در مطالعه حاضر نیز پلی مورفیسم CD4 از همین نوع می‌باشد)، می‌توانند مستقیماً در بیماری‌زایی سهم داشته باشند. اختلاف نتیجه ما با مطالعات قبلی [۱۹،۱۸] بر اساس این فرضیه، بدین صورت تفسیر می شود که نخست آلل CD4*A۳ در جمعیت اروپایی مورد مطالعه نسبت به جمعیت ما نادر بوده و بدین ترتیب ممکن است تعداد نمونه های آنها برای اطلاق این آلل به‌عنوان آلل حمایتی کافی نبوده و آلل CD4*A5 نیز در آن جمعیت یافته نشده است. از سوی دیگر تعداد نمونه های ما نیز ممکن است برای اطلاق آلل CD4*A4 به‌عنوان مستعد کننده کافی نباشد؛ در این ارتباط توسعه

[1] Triplex

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

نمونه های ما ممکن است به روشن سازی بهتر این مسأله کمک کند.

بررسی جمعیتی توزیع آللی ژن CD4 در جمعیت ما و مقایسه آن با نتایجی که ما قبلا" در جمعیت اروپایی یافتیم [۱۸] نشان داد که در ۲۱۲ نفر افراد گروه شاهد جمعیت اروپایی، تنها ۴ آلل و ۹ ژنوتیپ متفاوت مشاهده گردید در حالی که در مطالعه ما از ۱۰۸ فرد سالم مورد مطالعه، ۸ آلل و ۱۴ ژنوتیپ مختلف ردیابی شد. هم‌چنین مقایسه فراوانی آللی دو جمعیت با آزمون Fisher's exact نشان می دهد که توزیع آللی به‌جز در مورد آلل CD4*A4 که در جمعیت ما اندکی فراوانی نسبی بیشتری دارد (۰/۲۳۶ در برابر ۰/۲۳۱، P=۰/۰۴۶ و $P_c$=۰/۱۸۴) در سایر موارد تفاوت چندانی نمی کند و تفاوت عمده در تنوع آللی می‌باشد. این تنوع بیشتر آللی می تواند بر قدمت جمعیت ما دلالت کند که بدین ترتیب می تواند به عنوان یک منشاء برای دیگر جمعیت ها مطرح باشد [۳۲،۳۱].

اخیراً بر طبق مطالعه ای بر روی پروموتر ژنCD4، پیوستگی آلل‌های خاص چندشکلی مورد بررسی در مطالعه ما با چندشکلی های نوکلئوتیدی منفرد[1] (SNPs) اثبات شده است, به نحوی که تشکیل هاپلوتیپ های معین می دهند [۳۳]. در این راستا، این SNP ها می توانند عامل اصلی تغییر بیان احتمالی ژن CD4 محسوب شوند و اختلاف اثر آللهای مربوط به چندشکلی مورد مطالعه ما با یکدیگر در میزان استعداد پذیری افراد نسبت به T1DM (وجود آلل‌های مستعد کننده، آلل‌های بی اثر و آلل‌های مقاوم) به دلیل پیوستگی شدید آلل‌هایCD4 با SNP های معین، توجیه گردد. هم‌چنین، اختلاف نتیجه ما در جمعیت ایرانی نسبت به جمعیت اروپایی می‌تواند به تفاوت آللی در پیوستگی با SNP خاص در پروموتر ژن CD4 مربوط باشد.

در نهایت این‌که ژن‌های پیوسته به این چند شکلی ممکن است دلیل حقیقی تعبیر ملاحظه شده در استعداد پذیری T1DM باشد. منطقه ۱۳p۱۲ بین ژن‌های CD4 و ژن تریوز فسفات ایزومراز (TPI) یک منطقه غنی از ژن بوده که پنج ژن را در بر گرفته است و عمل سه ژن از پنج ژن هنوز ناشناخته باقی مانده است [۳۴]. ژن LAG3 (ژن فعال سازی لنفوسیتی)که kb ۱۰ فرادست CD4 قرار دارد [۳۵]، کاندید دیگری می تواند باشد. جالب این‌که وجود یک SNP ( G/A) در اینترون شماره پنج و نیز واریانت های پروموتری در ژن تریوز فسفات ایزومراز (TPI) که kb ۸۰ فرودست پروموتر CD4 قرار دارد [۳۴]، پیوستگی شدیدی[2] را با آلل‌های پنتانوکلئوتیدی مورد مطالعه ما نشان می‌دهد [۳۶].

در جمع بندی کلی، یافته‌های ما نشان می‌دهد که آللCD4*A5، مستعد کننده برای بیماریT1DM و آلل CD4*A3 مقاوم کننده در مقابل بروز این بیماری می‌باشد و با توجه به مطالب فوق ,پلی مورفیسم پنتانوکلئوتیدی ژن CD4 خود یا پیوسته به SNP های خاص در پروموتر ژن CD4، عامل بیماری T1DM و یا مقاومت در برابر آن است و یا این‌که آلل‌های مشاهده شده در پلی مورفیسم CD4 پیوسته به یک عده آلل‌های خاص ژن‌هایی است که در همسایگی ژن CD4 قرار دارند و باعث T1DM یا مقاومت در برابر آن می‌شوند. از آنجایی که ژن $CD_4$روی کروموزوم $_{12p}$ قرار دارد [۱۳] و ژن های HLA کلاس II نیز بر روی کروموزوم 6p واقع اند [۳۷]، بنابراین مستقل از یکدیگر به ارث می رسند و پلی مورفیسم CD4 به عامل خطر مستقل از HLA پیوسته است و بصورت مستقل عمل می‌کند. هم‌چنین نتایج حاضر، یافته های قبلی ما را در رابطه با پیوستگی CD4 به T1DM در جمعیت اروپایی [۱۹،۱۸] را تأیید می‌کند.

[1] Single Nucleotide Polymorphisms

[2] Linkage Disequilibrium

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

# مآخذ


1. Deschamps I, Lestradet H, Busson M, Hors J. Evaluation of recurrence risk in siblings of diabetic children: importance of age and birth order in relation to HLA genotypes.*Diabetes Res*, 1984;1:125-30.
2. Atkinson MA, Maclaren N. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mell*itus. N Engl J Med*, 1994; 331: 1428–36.
3. Noble JA, Valdes AM, Cook M et al. The role of HLA class II genes in insulin-de pendent diabetes mellitus: molecular analy sis of 180 Caucasian, multiplex families. *Am J Hum Genet*, 1996; 59: 1134–48.
4. Zamani M, Cassiman JJ. Reevaluation of the importance of polymorphic HLA class II alleles and aminoacids in the susceptibility of individuals of different populations to type I diabetes. *Am J Med Genet*, 1998; 76: 183–94.
5. Zamani M, Flemming P, Spaepen M, Raeymaekers P, Nerup J, Cassiman JJ. Linkage and association of the HLA gene complex with T1DM in 81 Danish families: Strong linkage between DRB1Lys71+ and T1DM. *J Med Genet*,1996; 33:899–905.
6. Zamani M, Flemming P, Raeymaekers P, Nerup J, Cassiman JJ. Linkage of type I diabetes to 15q26 (T1DM3) in the Danish population.*Hum Genet*, 1996; 98:491–496.
7. Zamani M, Spaepen M, Buyse I, Marynen P, Bex M, Bouillon R, Cassiman JJ. Improved risk assessment for T1DM by analysis of amino acids in HLA-DQ and DRb1 loci. *Eur J Hum Genet*, 1994; 2:177–184.
8. Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 1996;273:1516–7.
9. Haskins K, Wegmann D. Diabetogenic T-cell clones. *Diabetes*, 1996; 45:1299-1305.
10. Wang JH, Meijers R, Xiong Y et al. Crystal structure of the human CD4 N-terminal two-domain fragment complexed to a class II HLA molecule. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:10799–804.
11. Irvine DJ, Purbhoo MA, Krogsgaard M, Davis MM. Direct observation of ligand recognition by T cells. Nature 2002;419:845–9.
12. Sakihama T, Smolyar A, Reinherz EL. Molecular recognition of antigen involves lattice formation between CD4, HLA class II and TCR molecules. *Immunol Today*, 1995; 16:581-587.
13. Isobe M, Huebner K, Maddon PJ, Littman DR, Axel R, Croce CM. The gene encoding the T-cell surface protein T4 is located on human chromosome 12. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986; 83:4399-4402.
14. Seldin MF, D'Hoostelaere LA, Huppi K, Mock BA, Steinberg AD, Parnes JP, Morse HC III. Mapping of the Ly-4 (L3T4) T-cell differentiation antigen on mouse chromosome 6 by the use of RFLPs in an interspecific cross. *Immunogenetics*, 1988; 27:396-398.
15. Ghosh S, Palmer SM, Rodrigues NR, Cordell HJ, Hearne CM, Cornall RJ, Prins J-B, McShane P, Lathrop GM, Peterson LB, Wicker LS, Todd JA. Polygenic control of autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *Nat Genet*, 1993; 4:404-409.
16. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE, Reed PW, Gough SCL, Jenkins SC, Palmer SM, Balfour KM, Rowe BR, Farrall M, Barnett AH, Bain SC, Todd JA. A genome-wide search for human susceptibility genes. *Nature*, 1994; 371:130-136.
17. Hashimoto L, Habita C, Beressi J, Delepine M, Besse C, Cambon-Thomsen A, Deschapms I, Rotter J, Djoulah S, James M, Froguel P, Weissenbach J, Lathrop GM, Julier C: Genetic mapping of a susceptibility locus for insulin-dependent mellitus on chromosome 11q. *Nature*, 1994; 371:161-164.
18. Zamani M, Buyse I, Legius E, Decorte R, Marynen P, Bouillon R, Cassiman J-J. Possible association of CD3 and CD4 polymorphisms with insulin-dependent diabetes mellitus (T1DM). *Clin Exp Immunol*, 1994; 97:517-521.
19. Kristiansen OP, Zamani M, Johanesen J, Mandrup-Poulsen T. Linkage and association between a CD4 gene polymorphism and T1DM in Danish T1DM patients. *Diabetes*,1998;47:281-282.
20. Wanstrat A, Wakeland E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-HLA susceptibility genes. *Nat Immun* 2001;2: 802–9.
21. Higuchi R. PCR technology. In: Erlich HA, ed. Principles and applications for DNA amplification. New York:Stockton Press, 1989:30-38.
22. Edwards MC, Clemens PR, Tristan M, Pizzuti A, Gibbs RA. Pentanucleotide repeat length polymorphism at the human CD4 locus. *Nucleic Acids Res*, 1991;19:4791.
23. Fisher RA. The design of experiments. Edinburgh:Oliver & Boyd,1960:258.
24. Dunn OJ. Estimation of the means of dependent variables. *Ann Math Stat*, 1958;29:1095-111.
25. Dunn OJ. Multiple comparisons among means. *Am J stat Assoc*, 1961; 56:52-64.


[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]

26. Woof B. On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet*, 1955;19:251-3.
27. Feito MJ, Ballester S, Diez-Orejas R et al. CD4 dependence of activation threshold and TCR signalling in mouse T lymphocytes. *Scand J Immunol*, 1997;45:166–74.
28. Ashton-Rickardt PG, Bandeira A, Delaney JR, Kaer LV, Pircher HP, Zinkernagel RM, Tonegawa S. Evidence for differential avidity model of T cell selection in the thymus. *Cell*, 1994; 76:651–663.
29. Marrack P, Parker DC. A little of what you fancy. *Nature*, 1994; 368:397–398.
30. Norton PA. Polypyrimidine tract sequences direct selection of alternative branch sites and influene protein binding. *Nuc Acids Res*, 2003; 22:3854-60.
31. Tishkoff SA, Dietzsch E, Speed W, Pakstis AJ, Kidd JR, et al. Global patterns of linkage disequilibrium at the CD4 locus and modern human origins.*Science*, 1996;271:1380–7.
32. Wall JD, Pritchard JK. Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. *Nature Rev Genet*,2003;4:587-97.
33. Kristiansen OP, Karlsen AE, Larsen ZM, Johannesen J, Pociot F, Mandrup-Poulsen T. Identification of a Type 1 Diabetes-Associated CD4 Promoter Haplotype with High Constitutive Activity. *Scand J Immunol*, 2004; 59:582–591.
34. Ansari-Lari MA, Muzny DM, Lu J et al. A gene-rich cluster between the CD4 and triosephosphate isomerase genes at human chromosome 12p13. *Genome Res*, 1996;6:314–26.
35. Bruniquel D, Borie N, Triebel F. Genomic organization of the human LAG-3/CD4 locus. *Immunogenetics* 1997;47:96–8.
36. Humphries A, Ationu A, Lalloz MR, Layton DM. Ancestral origin of variation in the triosephosphate isomerase gene promoter. *Hum Genet*,1999;104:486–91.
37. Kappes D, Strominger JL. Human class II major histocompatiility complex genes and proteins.*Ann Rev Biochem*, 1988; 57:991-1028.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-11 ]