مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۵، شماره ۴، زمستان ۸۴، صفحات ۱۷۳ تا ۱۷۷

Original Article

بررسی ارتباط بین پلی‌مرفیسم آلل G مولکول CTLA-4 در موقعیت ۴۹ در اگزون ۱ و استعداد ابتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱

دکتر سهیلا حاجی‌علی‌عسگر[۱]، دکتر محمدرضا آگاه[۱]، دکتر محمدرضا رضوانی[۲]، دکتر محمدرضا زالی[۳]

[۱] پزشک عمومی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۲] استادیار، گروه هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان
[۳] استاد، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *نقش استعداد ژنتیکی در ابتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱به وسیله تمایل بیشتر ابتلا در جنس مونث و همراهی انواع ویژه آنتی‌ژنهای لکوسیتی انسان (HLA) در بیماران نشان داده شده است. از طرف دیگر ارتباط بین پلی‌مرفیسم ژنی 49A/G در اگزون ۱ ژن CTLA-4 و چندین بیماری اتوایمیون دیگر نشان داده شده است که احتمالاً ناشی از تاثیر آن در بیان مولکولی CTLA-4 می‌باشد. در این مطالعه فراوانی پلی‌مرفیسم مذکور در بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱به صورت مورد- شاهدی بررسی گردید.*

روش بررسی: *DNAاز سلول‌های منونوکلئر خون محیطی از ۷۶ بیمار مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ و ۱۸۵ نفر از افراد سالم به عنوان گروه کنترل تهیه گردید. ژنوتیپ ملکول CTLA-4 بوسیله تکنیک PCR-RFLP (polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism) تعیین گردید.*

یافته‌ها: *فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در بیماران به ترتیب ۵۹/۲٪، ۳۰/۳٪ و ۱۰/۵٪ و در گروه کنترل ۵۶/۲٪، ۳۸/۹٪ و ۴/۹٪ بود. فراوانی آلل G در گروه بیماران ۲۵/۶ و در گروه کنترل ۲۴/۳ درصد به دست آمد. در این مطالعه، هیچ تفاوت آماری معنی‌داری در توزیع ژنتیکی ملکول CTLA-4 در موقعیت ۴۹ اگزون ۱ در مبتلایان به بیماری در مقایسه با گروه کنترل بدست نیامد.*

نتیجه‌گیری: *این مطالعه نشان می‌دهد که استعداد ابتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱در جمعیت ایرانی تحت تاثیر پلی مرفیسم‌های ژنی اگزون ۱ ملکول CTLA-4 در موقعیت ۴۹ نمی‌باشد. این پلی‌مرفیسم ممکن است تنها در نژاد قفقازی با بیماری هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ ارتباط داشته باشد یا آنکه مخزن ژنتیکی جدید در جمعیت ایرانی داشته باشد که در این مطالعه قابل مشاهده نیست.*

واژگان کلیدی: *پلی‌مورفیسم، CTLA-4، هپاتیت اتوایمیون.*

مقدمه

شناخت مکانیسم‌های پدیدآورنده بیماریهای اتوایمیون در سازمان‌دهی و تکامل درمانهای تعدیل‌کننده و پیشگیری کننده در آینده مفید می‌باشد. در راس این عوامل، استعداد ژنتیکی قرار دارد که نقش آن در بروز اتوایمیونیتی، در تمامی مطالعات پیشین نشان داده شده است (۱).

هپاتیت اتوایمیون یک بیماری مزمن التهابی کبد است که اگر بدون درمان رها شود منجر به سیروز و نارسایی کبدی می‌گردد (۴-۲). هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ که بوسیله وجود اتوآنتی بادی‌های ضد عضله صاف (SMA) و یا آنتی بادی‌های ضدهسته (ANA) در سرم مشخص می‌گردد شایعترین فرم بیماری می‌باشد و تمامی گروههای سنی، بویژه بالغین جوان را درگیر می‌نماید (۶،۵). وجود استعداد ژنتیکی در ابتلا به نوع ۱ بیماری، بوسیله درگیری بیشتر جنس مؤنث و ارتباط با آلل‌های HLA کدکننده پپتیدهای DR نشان داده شده است (۱۵-۷).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دکتر سهیلا حاجی‌علی‌عسگر (**email**: soh2002@med.cornell.edu)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸٤/٦/۱٤
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸٤/۱۰/۱۹

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-21]

ملکول‌های HLA کلاس II ، نقش برجسته‌ای در بروز پاسخ ایمنی، از طریق اتصال به پپتیدها و ارائه آنها جهت شناسایی توسط لنفوسیت‌های T ایفا می‌نمایند. این ملکول‌ها بسیار پلی‌مرفیک بوده و به نظر می‌رسد که تمایل بالقوه آنها در اتصال به پپتیدهای آنتی‌ژنی خودی، منجر به بروز پدیده خودایمنی می‌گردد. با این حال HLA به تنهایی، نمی‌تواند استعداد ژنتیکی در ابتلا به بیماری را به طور کامل توجیه نماید چرا که حداقل ۵۰ – ۳۰٪ بیماران، حامل شایع‌ترین آلل‌های مستعدکننده نمی‌باشند (۱۶).

CTLA-4 که بر روی کروموزم 2q33 قرار می‌گیرد، یک ملکول سطحی سلول‌های T می‌باشد و پس از فعال شدن سلول T کمکی، بر سطح آن پدیدار می‌شود. این ملکول اثر مهاری خود را از طریق رقابت با ملکول تحریک کننده CD28 در اتصال به ملکول‌های B7-1 , B7-2 بر روی سلول‌های ارائه کننده آنتی‌ژن اعمال می‌نماید (۱۷). شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که تعادل بین ملکول‌های CTLA-4 و CD28 در اتصال به لیگاندهای مشترک آنها (ملکول‌های B7) نقش ویژه‌ای در کنترل محیطی پاسخ ایمنی سلولی به عهده دارد. بدین ترتیب فاکتورهای تنظیم کننده بیان یا عمل ملکول CTLA-4 می‌توانند باعث تغییر این تعادل و منجر به از دست رفتن کنترل محیطی و ایجاد پاسخهای خود ایمنی گردند (۱).

اخیراً جابجایی بازی A به G در موقعیت ۴۹ اگزون ۱ ژن CTLA-4 در استعداد ابتلا به بیماری هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ در برخی گروههای نژادی موثر شناخته شده است (۱۶). این جایگزینی در ژن CTLA-4 در ردیف کدکننده پروتئین منجر به قرارگیری آلانین به جای ترئونین در پروتئین بیان شده می‌گردد و نشان داده شده است که بیان ملکول CTLA-4 را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در همین راستا فراوانی آلل G، در چندین بیماری اتوایمیون دیگر از قبیل دیابت و ابسته به انسولین، بیماری سلیاک و مولتیپل اسکلروزیس گزارش شده است (۱۸). هدف از این مطالعه تعیین فراوانی پلی‌مرفیسم‌های اگزون ۱ ملکول CTLA-4 در موقعیت ۴۹ و ارتباط آن با بیماری در افراد ایرانی مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ و مقایسه پارامترهای آزمایشگاهی در ژنوتیپ‌های مختلف CTLA-4 در بیماران مذکور بود.

مواد و روشها

این مطالعه با طراحی مورد – شاهدی در ۷۶ نفر از بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون (۵۲ زن و ۲۴ مرد) مراجعه‌کننده به درمانگاه سرپایی مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد بیمارستان شهید طالقانی انجام گرفت.

نمونه‌گیری به روش آسان صورت پذیرفت. متوسط سن بیماران (۵۲ زن و ۲۴ مرد) ۱۳/۴±۳۵/۴ سال (از ۱۷ تا ۷۳ سال) و تشخیص بیماری بر اساس سیستم نمره‌گذاری تشخیص بین‌المللی با در نظر گرفتن پارامترهای گوناگون شامل نسبت AP/AST، سطح IgG، مارکرهای اتوایمیون، مارکرهای ویروسی، شرح حال دارویی، مصرف الکل، یافته های بافت‌شناسی و پاسخ به درمان صورت گرفت. کلیه بیماران انتخاب شده فاقد هر بیماری اتوایمیون دیگری بودند.

جمعیت کنترل متشکل از ۱۸۵ نفر از پرسنل مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و خون‌دهندگان سالم (۹۸ زن و ۸۷ مرد) با متوسط سن ۷/۵±۳۲/۱ سال (۵۸-۱۶ سال) بودند. گروه شاهد از نظر سن با گروه بیماران مطابقت داشتند. آنزیم‌های کبدی آنها در حد طبیعی بود و تست‌های HBsAg و آنتی‌بادی ضد HCV در آنها منفی بود.

استخراج DNA و انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز: DNA ژنومیک به روش هضم نمکی استخراج گردید (۱۹) و تا زمان بررسی آزمایشگاهی در دمای ۷۰°C- نگهداری شد. قطعه ژنی (bp) ۳۲۸ جفت باز از اگزون ۱ ملکول CTIA-4، دربرگیرنده پلی‌مرفیسم A-G در موقعیت ۴۹، بوسیله پرایمرهای مخصوص استفاده شده به وسیله Bittencourt و همکاران (۲۰) در ۲۵ µl از محلول واکنش‌دهنده حاوی بافر PCR ، ۲ mmol/L کلریدمنیزیوم، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۲۰۰µmol از dNTP (gene phanavaran.co , Tehran) و ۰/۲µg از DNA ژنومیک و ۰/۲IU از Taq پلی‌مراز (Super Taq company, England) تکثیر گردید. واکنش PCR شامل ۳۵ سیکل بود که هر سیکل شامل دناتوراسیون در ۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۷°C به مدت ۴۵ ثانیه، زمان امتداد یافتن رشته در ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه بود. دمای امتداد نهایی ۷۲°C و مدت ۵ دقیقه بود.

پس از تکثیر، ۱µl از محصول PCR بوسیله ۱IU از اندونوکلئاز BbVI، به مدت ۱۶ ساعت در ۳۷°C تحت هضم آنزیمی قرار گرفت. این آنزیم قطعه ژنی تکثیر شده را در صورت وجود باز G در موقعیت ۴۹ قطع نموده و سبب به دست آمدن دو قطعه ژنی ۸۴bp ، ۲۴۴bp می‌گردید. در صورت وجود باز A، برش صورت نمی‌گرفت و محصول ۳۲۸bp دست نخورده باقی می‌ماند. سه ژنوتیپ مختلف ملکول CTLA-4 (GG: ۸۴bp و ۲۴۴bp، AG: ۸۴bp، ۲۴۴bp، ۳۲۸bp و AA:۳۲۸bp) بر روی

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-21]

ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪ به روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره مورد شناسایی قرار گرفتند.

مقایسه فراوانی آلل G و A در گروه شاهد و کنترل توسط آزمون آماری مجذور خی با استفاده از نرم افزار SPSS (version 11) انجام شد. جهت مقایسه پارامترهای آزمایشگاهی در دو گروه از تست t غیرزوجی استفاده گردید. مقادیر $p<0/05$ از نظر آماری سطح معنی‌دار بین بیماری و پلی‌مرفیسم ژنی ملکول CTLA-4 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعیین پلی‌مرفیسم ژنی ملکول CTLA-4 در اگزون ۱ در موقعیت ۴۹ در بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱و درجمعیت کنترل توزیع یکنواخت ژنتیکی را در هر دو گروه نشان داد. فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف CTLA-4 بر حسب گروههای مورد مطالعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپ‌های CTLA-4 در بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ و گروه کنترل

ژنوتیپ	هپاتیت اتوایمیون نوع ۱	گروه شاهد
A/A	*(۵۹/۲)۴۵	(۵۶/۲)۱۰۴
A/G	(۳۰/۳)۲۳	(۳۸/۹)۷۲
G/G	(۱۰/۵)۸	(۴/۹)۹

* اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند.

جدول ۲- فراوانی ژنوتیپ‌های CTLA-4 در بیماران دچار هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ بر اساس پارامترهای آزمایشگاهی

	AA (n=۴۵)	AG (n=۲۳)	GG (n=۸)	AA & AG (n=۶۸)
سن(سال)	۳۱(۱۰-۶۴)	۲۹/۸(۱۹-۶۱)	۳۰/۷(۱۸-۴۳)	۳۰/۴(۱۷-۶۴)
جنس مونث (٪)	۲۹(٪۶۴/۴)	۱۷(٪۷۳/۹)	۴(٪۵۰)	۴۶(٪۶۷/۶)
ALT(IU/l)	۳۶۹/۱ (۱۶-۲۸۰۰)	۳۳۲/۱ (۲۲-۱۵۵۰)	۱۱۹/۵ (۸۳-۱۵۶)	۳۵۰/۶ (۱۶-۲۸۰۰)
AST(IU/l)	۴۰۶/۱ (۱۰-۲۶۰۰)	۲۸۵/۷ (۲۲-۱۱۰۰)	۴۴۵/۵ (۸۶-۸۰۵)	۳۴۵/۹ (۱۰-۲۶۰۰)
بیلی روبین کونژوگه(mg/dl)	۳/۹۵ (۰/۲-۱۹/۴)	۲/۷۵ (۰/۲-۱۰/۱)	۱/۷۵ (۰/۱-۳/۴)	۳/۳۵ (۰/۲-۱۹/۴)
گاما گلوبین (g/dl)	۲۸/۰ (۰/۲-۶۴/۲)	۲۲/۵ (۰/۲-۵۵/۴)	۲۱/۹ (۰/۴-۴۳/۴)	۲۵/۳ (۰/۲-۶۴/۲)

فراوانی آلل G در گروه بیماران ۲۵/۶ و در گروه کنترل ۲۴/۳ درصد به دست آمد. بررسی و مقایسه پارامترهای آزمایشگاهی در ژنوتیپ‌های مختلف بیماران، نشان داد که بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱و دارای ژنوتیپ GG، سطوح پایینتری از ALT را در مقایسه با بیماران دارای سایر فرم‌های ژنتیکی نشان می‌دهند هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. هیچگونه یافته آزمایشگاهی دیگری مرتبط با ژنوتیپ‌های مختلف CTLA-4 در بیماران شناخته نشد. یافته‌ها در جدول شماره ۲ آورده شده است. قابل ذکر است که ارتباط معنی‌داری بین جنس و پلی مورفیسم‌های مختلف وجود نداشت.

بحث

نتیجه مطالعه حاضر هیچ ارتباط معنی‌داری را بین پلی‌مورفیسم‌های اگزون ۱ ملکول CTLA-4 در موقعیت ۴۹ و هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ نشان نمی‌دهد. یافته‌های این مطالعه هماهنگ با یافته‌های گزارش شده از مطالعه Bittencourt و همکاران (۲۰) می‌باشد. این محققین مطالعه خود را بر روی ۱۰۶ بیمار مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ و ۶۷ فرد سالم از برزیل انجام دادند. یافته‌های آنها توزیع یکسانی از پلی‌مورفیسم مذکور را در گروه بیماران و افراد سالم نشان می‌دهد (۲۰).

از سوی دیگر این یافته‌ها متفاوت از نتایجی است که توسط Agrawal و همکاران گزارش شده است (۱۶). این محققین افزایشی را در فراوانی آلل G در بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ در اروپای شمالی نشان دادند.

علت وجود این نتایج ضد و نقیض به روشنی معلوم نیست لیکن می‌توان یافته‌های متفاوت بدست آمده از ایران و برزیل از یک سو و اروپای شمالی و آمریکا از سوی دیگر را به صورت‌های مختلف توجیه نمود.

از مدت‌ها قبل ملکول‌های HLA بویژه B8 , DR4 و HLA-A1 به عنوان ریسک فاکتور در هپاتیت اتوایمیون شناخته شده‌اند (۲۴-۲۱). برای مثال افزایش فراوانی HLA-DRB1*03 در بیماران مبتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ دارای فرمول ژنتیکی GG در مطالعه Agrawal گزارش شده است. این امکان وجود دارد که بین ملکول‌های HLA و سایر پروتئین‌های سیستم ایمنی در ناحیه MHC و یا در قسمتهای ژنوم، سینرژی وجود داشته باشد همچنین وجود نوعی وابستگی و ارتباط بین ملکول CTLA-4 و بیماریهای اتوایمیون مرتبط با HLA قبلا نشان داده شده است (۱۵). بنابراین یک توجیه آن است که ژنوتیپ‌های خاصی از HLA که فرد را به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱مستعد می‌سازند در ارتباط با ژن CTLA-4 هستند و حضور آنها در پاتوژنز هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ ضروری است.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-21]

در حال حاضر تعیین فرمول ژنتیکی HLA در گروه بیماران، در مرکز تحقیقات گوارش و کبد در حال انجام است.

از سوی دیگر این فرض نیز مطرح می‌شود که ژن‌های متفاوتی در جمعیت‌های مختلف در استعداد ابتلا به بیماری دخیل هستند و ممکن است انواع خاص موتاسیون‌های بیماریزا در تمامی گروههای نژادی و جغرافیایی وجود نداشته باشد، همان چیزی که تنوع ژنتیکی خوانده می‌شود (۲۵). چون بیماری مورد بررسی یک بیماری اتوایمون می‌باشد این احتمال نیز وجود دارد که بسته به فاکتورهای محیطی، ساختار ژنتیکی به صورت‌های مختلف سبب استعداد به بیماری شود. به این ترتیب که اگر چه جمعیت‌های متفاوت همگی به بیماری یکسانی مستعد هستند لیکن فاکتورهای آنتی‌ژنی و محیطی متفاوت سبب فعال شدن موتاسیون‌های متفاوتی در ژنوم می‌گردند که فرد را مستعد می‌سازد.

از سوی دیگر این یافته‌ها ممکن است بیانگر توزیع ژنی متفاوت در مخزن ژنتیکی جمعیت در هر ناحیه جغرافیایی باشد. در واقع پلی‌مرفیسم‌های اگزون ۱ ملکول CTLA-4 در موقعیت ۴۹ تعیین‌کننده‌های اصلی استعداد ابتلا به هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ نمی‌باشند. در این راستا جالب است که بدانیم ۲ پلی‌مرفیسم دیگر در ژن CTLA-4 گزارش شده است. یک تکرار دی نوکلئوتیدی (به عبارت دیگر AT) در اگزون ۳، که می‌تواند سازمان‌دهنده ۲۳ نوع آلل متفاوت باشد و دیگری جابجایی C به T در موقعیت ۳۱۸ در ناحیه پروموتور می‌باشد (۱۸).

Ligers و همکاران(۲۶) افزایش میزان mRNA و سطح پروتئین CTLA-4 را در ناقلین T-318 که برای A49 هموزیگوت بودند، گزارش نمودند. Hung و همکاران (۲۷) میزان تکثیر و سطح فعالیت بالاتر T-cell ها را در بیمارانی که حامل آلل‌های بلند هستند نسبت به کسانی که آلل‌های کوتاه دارند، نشان دادند. Kouki و همکاران (۲۸) ارتباطی را بین وجود آلل G و کاهش عملکرد ملکول CTLA-4 و افزایش تکثیر T-cellها در آزمایشگاه نشان دادند. همگی این یافته‌ها نشان می‌دهند که هر یک از این پلی‌مرفیسم‌ها می‌توانند سبب تغییر بیان یا عملکرد ملکول شوند و نقشی را در بوجود آوردن شرایط اتوایمیون ایفا نمایند (۲۹). علاوه بر این در مطالعات دیگری پیوستگی نامتعادل بین پلی‌مرفیسم‌های مختلف CTLA-4 گزارش شده است(۳۰).

Holopainene و همکاران (۲۹) دریافتند که پیوستگی نامتعادل قدرتمندی بین تمامی جفت‌های نواحی پلی‌مرفیک وجود دارد. آنها نشان دادند که پلی‌مرفیسم‌هایی که قبلاً به عنوان ریسک فاکتورهای عملکردی در مطالعات مختلف گزارش شده‌اند، تقریباً همیشه به صورت همزمان و در هاپلوتیپ‌های تکرار شونده رخ می‌دهند. بنابراین بررسی تنها یک پلی‌مرفیسم، نمی‌تواند تشخیص دهد که کدامیک از اشکال مختلف ژنی سبب تفاوتهای عملکردی می‌شود و رویکردهای موتاژنزی یا مطالعاتی که با بررسی کلیه پلی‌مورفیسم‌های مرتبط صورت پذیرد، در این خصوص راهگشا خواهد بود.

توارث بیماریهای اتوایمیون به طور کلی بسیار پیچیده است و علت آن بیش از هر چیز وجود تعداد زیادی از ژن‌های مستعدکننده و فاکتورهای تاثیرگذار محیطی است (۱۸). یافته‌های متضاد مرتبط با فراوانی پلی‌مرفیسم‌های اگزون ۱ ملکول CTLA-4 در گروههای مختلف بیماران مبتلا به گریوز، بیماری سلیاک، مولتیپل اسکروزیس و دیابت نوع ۱ دیده می‌شود (۱۸). این یافته‌ها مطرح‌کننده آن هستند که هنوز ژن‌های پلی‌مرفیک ناشناخته دیگری در پیوستگی نامتعادل با آلل‌های CTLA-4 قرار دارند که می‌توانند تعیین‌کننده استعداد به بیماری و شدت آن در بیماریهای اتوایمیون باشند. یافته‌های ما در مورد ارتباط بین هپاتیت اتوایمیون نوع ۱ و اگزون ۱ ملکول CTLA-4 تاییدکننده فرضیه اخیر می‌باشد.

REFERENCES

1. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. Nature 2003;29:506-11.
2. Czaja AJ, Freese DK. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. Hepatology 2002;36:479-97.
3. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis: clinical challenges. Gastroenterology 2001;120:1502-17.
4. Takeuchi F, Kawasugi K, Mori M, Nakaue N, Kobayashi N, Kuwata S. The genetic contribution of CTLA-4 dimorphisms in promoter exon 1 regions in Japanese patients with rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol 2006;35:154-5.
5. Czaja AJ, Manns MP. The validity and importance of subtype of autoimmune hepatitis: a point of view. Am J Gastroenterol 1995;90:1206-11.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-21]

6. Czaja AJ. Diagnosis and therapy of autoimmune liver disease. Med Clin North Am 1996;80:973-94.

7. Ban Y, Tomer Y. Genetic susceptibility in thyroid autoimmunity. Pediatr Endocrinol Rev 2005;3(1):20-32.

8. Czaja AJ, Strettell MD, Thomson LJ, Santrach PJ, Moore SB, Donaldson PT, et al. Associations between alleles of the major histocompatibility complex and type 1 autoimmune hepatitis. Hepatology 1997;25:317-23.

9. Seki T, Ota M, Furuta S, Fukushima H, Kondo T, Hino K, et al. HLA class II molecules and autoimmune hepatitis susceptibility in Japanese patients. Gastroenterology 1992;103:1041-7.

10. Pando M, Larriba J, Fernandez GC, Fainboim H, Ciocca M, Ramonet M, et al. Pediatric and adult forms of type 1 autoimmune hepatitis in Argentina: Evidence for differential genetic predisposition. Hepatology 1999; 30:1374-80.

11. Vazquez-Garcia MN, Alaez C, Olivo A. MHC class II sequences of susceptibility and protection in Mexicans with autoimmune hepatitis. J Hepatol 1998;28:985-90.

12. Bittencourt PL, Goldberg AC, Cancado EL. Genetic heterogeneity in susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2. Am J Gastroenterol 1999;94:1906-13.

13. Bittencourt PL, Goldberg AC, Cancado EL. Different HLA profiles confer susceptibility to autoimmune hepatitis type 1 and 2. Am J Gastroenterol 1998;93:1394-5.

14. Goldberg AC, Bittencourt PL, Mougin B. Analysis of HLA haplotypes in autoimmune hepatitis type 1: identifying the major susceptibility locus. Hum Immunol 2001;62:165-9.

15. Czaia AJ, Donaldson PT. Genetic susceptibilities for immune expression and liver cell injury in autoimmune hepatitis. Immunol Rev 2000;174:250-59.

16. Agrawal K, Czaja AJ, David EJ. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 gene polymorphism and susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. Hepatology 2000;31:49-53.

17. Lenschow DJ, Walunas TL. CD28/B7 system of T cell stimulation. Annu Rev Immunol 1996;14:233-58.

18. Kristiansen OP, Larsen ZM, Pociot F. CTLA-4 in autoimmune diseases-a general susceptibility gene to autoimmunity? Genes Immun 2000;1:170-84.

19. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids Res 1988;16:1215-18.

20. Bittencourt PL, Palacios SA, Cancado EL. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene polymorphisms do not confer susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2 in Brazil. Am J Gastroenterol 2003;98:1616-20.

21. Mackay IR, Morris PJ. Association of autoimmune active chronic hepatitis with HLA-A1, 8. Lancet 1972; 2:793-95.

22. Page AR, Sharp HL, Greenberg LJ. Genetic analysis of patients with chronic active hepatitis. J Clin Invest 1975;56:530-35.

23. Williams RM. Increased frequency of HLA-DRW4 in chronic active hepatitis. Vox Sang 1978;35:366-69 (abstract).

24. Mackay IR, Tait BD. HLA association with autoimmune-type chronic active hepatitis:identification of B8-DRW3 haplotype by family studies. Gastroenterology 1980;79:95-8.

25. Marron MP, Raffel LJ, Garchon HJ. Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups. Hum Mol Genet 1997;6:1275-82.

26. Ligers A, Teleshova N, Masterman T, Huang WX, Hillert J. CTLA-4 gene expression is influenced by promoter and exon 1 polymorphisms. Genes Immun 2001;2:145-52.

27. Huang D, Giscombe R, Zhou Y, Pirskanen R, Lefvert AK. Dinucleotide repeat expansion in the CTLA-4 gene leads to T cell hyper-reactivity via the CD28 pathway in myasthenia gravis. J Neuroimmunol 2000;105:69.

28. Kouki T, Sawai Y, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, DeGroot LJ. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. J Immunol 2000;165:606.

29. Holopainen PM, Partanen JA. Technical note: linkage disequilibrium and disease- associated CTLA4 gene polymorphisms. J Immunol 2001;167:2457-8.

30. Donner HC, Seidl J, Braun Rau R, Finke M, Ventz P. CTLA4 gene haplotypes cannot protect from IDDM in the presence of high-risk HLA DQ8 or DQ2 alleles in German families. Diabetes 1998;47:1158.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-21]