تحقیقی

اثر اینتر فرون بتا در بروز HLA-G در سطح سلولهای منوسیت در دیابت تیپ یک

سعید عابدیان
دکترای علوم آزمایشگاهی ایمونولوژیست (PhD)،
استادیار ، گروه میکروبیولوژیوژی و ایمونولوژی
،دانشگاه علوم پزشکی مازندران

عراز محمد میرابی
کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه میکروبیولوژی
وایمونولوژی مازندران

محمد رضا پارسایی
پزشک ، مرکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی مازندران

نویسنده مسئول: سعید عابدیان
تلفن: ۰۹۱۲۱۹۸۵۶۶۷
پست الکترونیک:
abedianlab@yahoo.co.uk
آدرس : ساری،جاده دریا، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی ،گروه میکروبیولوژی وایمونولوژی
وصول مقاله: ۸۷/۱۰/۲۱
اصلاح نهایی: ۸۷/۱۲/۲۰
پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: *سلولهای دندریتیک مهمترین سلولهای حرفه ای عرضه کننده انتی ژن هستند که نقش موثری در تولرانس ایمنی دارند . در این مطالعه نقش سایتوکاین اینتر فرون بتا در القای بروز مولکول HLA-G بر روی سلولهای دندریتیک مشتق از منوسیت در بیماران دیابتی تیپ یک با هدف ارزیابی پاسخ سلولهای T به مولکولهای انتی ژنیک اختصاصی سلول بتا مورد بررسی قرار گرفت .*

روش بررسی: *در این تحقیق سلولهای تک هسته ای خون محیطی افراد دیابتی با استفاده از فایکول جدا گردید وسپس سلولهای دندریتیک از منوسیتهای خون محیطی با اضافه کردن سایتوکاینهای GM-CSF ، IL– 4 همراه با اینتر فرون بتا و بدون آن (شاهد) در مدت هفت روز تولید گردید . mRNA از سلولهای دندریتیک استخراج وبا استفاده از روش ترانسکریپتاز معکوس cDNA تولید گردید وپس از ان واکنش زنجیره ای پلیمراز اختصاصی جهت مولکول HLA-G انجام شد.همچنین فعالیت تکثیری لنفوسیتهای T با واکنش مختلط لکوسیتی بین سلولهای دندریتیک و سلولهای T با استفاده ازماده MTT مورد سنجش قرار گرفت.*

یافته ها: *نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد که اینتر فرون بتا باعث تظاهر مولکول HLA-G در سطح سلول های دند ریتیک شده است و بعلاوه پاسخهای تکثیری سلولهای T در کشت مختلط لکوسیتی اختلاف معنی داری بین گروه تست و شاهد نشان میدهد ($P<0.05$) و لذا تکثیر سلول T در کشت توام انها با سلولهای دندریتیک متاثر از اینترفرون بتا مهار شده است .*

نتیجه گیری: *در این مطالعه ما نشان دادیم که سلولهای دندریتیک متأثر از اینتر فرون بتا با تظاهر مولکول HLA-G باعث کاهش فعالیت تکثیری سلولهای T در کشت مختلط لوکوسیتی می شود ; بر اساس نتایج بدست امده بنا بر نتایج ما ممکن است برخی از اثرات تنظیمی اینترفرون بتابا بروز HLA-G سبب جلوگیری از تخریب سلول های بتا شود .*

واژه های کلیدی : *سلول دندریتیک ، اینتر فرون بتا، انتی ژن لکوسیتی G انسان*

مقدمه

سلولهای دندریتیک ، سلولهای حرفه ای عرضه کننده انتی ژن هستند که جمعیت ناچیزی از سلولهای هسته دار خونی را در بافتهای لنفوئیدی وغیرلنفوئیدی تشکیل می دهند. این سلولها با عرضه پپتید آنتی ژنیک همراه با MHC باعث القای تولرانس در سلولهای T می گردند ، که بخشی ازتوانایی این سلولها در آغاز پاسخ ایمنی ناشی از قدرت آنها در ارسال پیامهای مهم تحریکی اختصاصی برای فعال شدن سلول T و تبدیل آنها از حالت نا آزموده به انواع مختلف سلول عمل کننده می باشد (۱).

عرضه آنتی ژنهای خودی با سلولهای دندریتیک نابالغ یکی از مکانیسمهای القای تولرانس محیطی است، که به دلیل عدم یا کاهش بروز مولکولهای کمک تحریکی(CD80 , CD86 , CD40) در سطح سلول دندریتیک نابالغ است (۲).

مولکولهای کلاس یک HLA به دو گروه مجزا HLA-Ia و HLA-Ibتقسیم می گردند که از نظر ساختاری خانواده ای از پروتئینهای بهم مرتبط هستند. مولکولهایHLA-Ia شامل HLA-A,B,C و HLA-Ib شامل مولکولهای HLA – G,E,F می باشند. تظاهر بالایی از HLA – G در ۳ ماهه ا و ل حاملگی در سطح بلاستوسیت و سیتوتروفوبلا ست جنینی ، سلولهای اپی تلیال محفظه قدامی چشم ، بیضه ها وکبد جنینی توصیف شده است(۳) بعلاوه تظاهر محدودی از HLA – G در سطح سلولهای اپی تلیال ساب کورتیکال تیموس دیده شده است(۴).این بافتها به طور ایمونولوژیکی جایگاههای محافظت شده ای هستند که نقش ویژه HLA – G را به عنوان ایمونورگولاتور اختصاصی بافت مطرح می کنند. بعلاوه این مولکولها با اثر بر سلولهای دندریتیک منجر به افزایش بلوغ سلولهای دندریتیک می شوند(۴و۳).

ارتباط مولکولها ی HLA – G وبیماریهای اتوایمیون در مراحل اولیه تحقیق بوده به طور ی که حداقل نیمی از موارد فامیلیال تیپ یک دیابت به دلیل حضور اللهای خاصی از HLA بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ است که مهمترین آنها ،مولکول DQ و DR کلاس II، هستند که جایگاههای اتصال ، برای آنتی ژنهای تظاهر یافته بر روی سطح ماکروفاژ و لنفوسیتهای B هستند.

محققینی که در باره دیابت صاحب نظر هستند ، معتقدند که ابتلا به دیابت تیپ یک نتیجه یک عامل محیطی سمی یا عفونی با استعداد ژنتیکی همراه با بی نظمی در سیستم ایمنی است (۵) و سیستم ایمنی با هدف قرار دادن آنتی ژنهای خودی مثل انسولین و اسید گلوتامیک دکربوکسیلاز سبب تخریب سلولهای بتا تولید کننده انسولین می شوند. مطالعات Mitdoerffer نشان داد ، بروز HLA – G در Vivo به دنبال معالجه با اینترفرون بتا در کاهش علائم پیشرونده بیماری اتوایمیون مولتیپل اسکلروزیس موثر بوده است(۶); از این روی در این مطالعه برای اولین بار نقش سایتوکاین اینتر فرون بتا در القای بروز مولکول HLA-G بر روی سلولهای دندریتیک مشتق از منوسیت در بیماران دیابتی تیپ یک با هدف ارزیابی پاسخ سلولهای T به مولکولهای آنتی ژنیک اختصاصی سلول بتا مورد بررسی قرار گرفت .

روش بررسی

انتخاب بیماران: تعداد ۳۰ بیمار دارای دیابت تیپ یک که توسط پزشک فوق تخصص غدد تشخیص داده شده بود با میانگین سنی ۲۸/۵ سال (۴۹-۱۳سال) تحت مطالعه قرار گرفتند. برای آنها اقدامات زیر انجام گردید:

جداسازی سلولهای تک هسته ای خون محیطی و تولید سلولهای دندریتیک:

۱-از هر فرد دیابتی میزان ۴۵-۵۰ میلی لیتر نمونه خون محیطی در لوله های استریل حاوی ماده ضد انعقاد هپارین گرفته شد و سپس سلولهای تک هسته ای خون محیطی آنها با استفاده از فایکول جداگردید

۲- سلولهای تک هسته ای خون محیطی افراد دیابتی به تعداد $۱/۵-۳\times۱۰^{۶}$سلول در هر میلی لیتر و به حجم۵mlدر هر فلاسک کشت۲۵Tدر محیط کشت1640–RPMIحاوی پنی سیلین(50u/ml)استرپتومایسین(50µg/ml)،2-ME (M $۲/۵\times۱۰^{-۵}$)، FBS (۱۰٪) به مدت ۲ ساعت در C ۳۷° حاوی ۵ درصد CO_2 انکوبه شد.

۳- بعد از پایان زمان انکوباسیون ، سلولهایی که به فلاسک نچسبیده بودند با دو بار شستشوی آرام جدا شده ، به

عنوان سلولهای Nonadherent برای جداسازی سلولهای T به روش Nylon wool مورد استفاده قرار گرفت .(میزان خلوص لنفوسیتهای T با استفاده از آنتی بادی منوکلونال CD3 به روش فلوسیتومتری تعیین گردید).

۴- به سلولهای چسبنده که اکثریت آنها را منوسیتها تشکیل می دادند GM-CSF (1000 u / ml)، IL-4 (500 u/ml) و IFN-β(1000/ml)اضافه و به مدت ۵ روز در محیط RPMI ودر ۳۷°Cکشت داده شد.

۵- پس از ۳ روز نصف محیط کشت تعویض و مقادیر مناسبی از GM-CSF و IL-4 به فلاسکهای حاوی سلول اضافه شد.

۶- در روز پنجم انسولین 10 µg /ml به عنوان آنتی ژن و TNF – α (10 ng / ml) به عنوان عامل بلوغ اضافه گردید.

۷- در روز هفتم سلولهای دندریتیک تولید شده با استفاده از بافر PBS حاوی EDTA (۰/۵ mM) برداشت و از نظر مورفولوژی ، فنوتیپ مورد مطالعه قرار گرفتند.

۸- مورفولوژی سلولها با میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت و تغییرات مورفولوژیک ثبت گردید.

تعیین فنوتیپ سلولهای دندریتیک به روش فلوسیتومتری:

۱-سلولهای دندریتیک پس از یک بار شستشوی با بافر فلوسیتومتری در مجاورت ۲٪ آنتی هیومین ایمونوگلوبولین به مدت ۳۰ دقیقه در یخ قرار داده شد.

۲- پس از اتمام زمان انکوباسیون ، تعداد ۲۰۰×۱۰^{۳} عدد سلول در حجم ۱۰۰ میکرولیتر آماده شد ، مقدار ۱۰ میکرولیتر آنتی بادی مربوط (10 mg/ml) به همراه ایزوتیپ کنترل اضافه و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در۴° c انکوبه گردید

۳- پس از پایان زمان انکوباسیون سلولها یکبار با بافرفلوسیتومتری شسته شده بلافاصله با دستگاه فلوسیتومتری Partec–Pas (آلمان) و یا دستگاه فلوسیتومتری FACS Calibor (شرکت Becton – Dikenson) از $CD8_3$ ،G,CD3CD14,HLA- و(maturation marker) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاصل با نرم افزار Flow max جهت Partec pas وCellQuest جهت FACS calibor مورد آنالیز قرار گرفت.

واکنش مختلط لکوسیتی اتولوگ :

برای سنجش توانایی سلولهای دندریتیک تولید شده (سلولهای محرک) برای تکثیر لنفوسیتهای T (سلولهای پاسخ دهنده) واکنش مختلط لوکوسیتی (MLR) اتولوگ به شرح زیر انجام شد.

۱- لنفوسیتهای T اتولوگ از PBMC افراد دیابتیک با استفاده از نایلون ول و با خلوص بیش از ۸۰ ٪ تهیه گردید.

۲- تعداد $۱۰^{۵}$ لنفوسیت T به صورت سه تایی جداگانه با ۱×۱۰^{۴} سلولهای دندریتیک متاثر از اینترفرون بتا و بدون تا ثیر از اینتر فرون بتا (شاهد) مخلوط و به مدت ۶ روز در پلیت ۹۶ خانه ای ته گرد در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰٪ FBS در حجم ۲۰۰ µl در دمای ۳۷°C و ۵٪ CO_2 کشت داده شد.

۳- خانه های حاوی سلولهای دندریتیک و لنفوسیتهای T به عنوان شاهد استفاده شد

۴- در روز ششم سوپرناتانت محیط کشت برداشته و سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر MTT به عنوان اندیکاتور به هر خانه اضافه شد.

۵- پلیت به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه و پس از آن ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به هر خانه میکروپلیت اضافه شد.

۶- تغییرات رنگ ایجاد شده در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد.

۷- تمامی آزمایشها به صورت سه تایی انجام یافت و نتایج به دست آمده به صورت (Mean± SD) محاسبه وگزارش گردید.

استخراج RNA از سلولهای دندریتیک و سنتز cDNA از روی RNA (RT – PCR) :

به دنبال کشت سلولهای تک هسته ای و تولید و بلوغ سلولهای دندریتیک ، حدود ۱/۵ – ۱ میلیون سلول در میکروتیوب استریل ریخته شد. پس از سانتریفیوژ و تخلیه مایع رویی به ازای هر یک میلیون سلول مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از محلول RNABEE اضافه گردید و با سمپلر به آرامی مخلوط کردیم تا غشاء تمام سلولها لیز شده و RNA آزاد شده حل شود.

استخراج RNA براساس گوانیدین – تیوسیانات – فنل کلروفرم بوده است که با توجه به محاسبهٔ مقدار RNA توتال

نمونه ها، یک میکرو گرم ، RNA برداشته و داخل میکروتیوب ۰/۵ ml استریل منتقل شد. حجم RNA با آب مقطر بدون یون و استریل به ۱۰ میکرولیتر رساندیم و میکروتیوب در ظرف حاوی یخ قرار داده شدوcDNA به روش Reverse Transcriptase PCR تولید کردیم

پس از تولید cDNA، PCR اختصاصی برای ژن HLA – Gو بتا اکتین به عنوان House keeping gene با استفاده از پرایمرهای زیر گذاشته شد. برای داشتن شاهد مثبت در آزمون PCR از یک رده سلولی تحت عنوان Jeg-3 با کد بانک سلولی ایران NCBI C544 و با مشخصات Human Choriocarcinoma استفاده شد. از این رده سلولی پس از کشت به تعداد $۱۰ \times ۳-۱^{۶}$ سلول برای آزمون PCR استفاده شد.

توالی پرایمرهای HLA-G با کمک نرم افزار BLAST در pubmed بررسی شدند که هومولوژی ۱۰۰٪ با قسمت مورد نظر روی ژن HLA-G داشت.

یافته های به دست آمده از نظر تفاوت در میانگین با استفاده از نرم افزار SPSS.11 مورد تجزیه وتحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها

تولید سلولهای دندریتیک از منوسیتهای خون: برای تعیین تعداد منوسیتها در سلولهای چسبنده به فلاسک ، سلولها را سطح فلاسک جدا کرده و به روش فلوستیومتری مورد بررسی قرار دادیم، بابررسی فلوسیتومتری نشان دادیم که بیش از ۸۰٪ سلولهای چسبنده CD14+بودند(شکل ۱)

بدنبال کشت منوسیتهای خون محیطی پس از ۳-۲ روز، سلولهای چسبنده در حضور سایتوکاینهای GM – CSF و IL-4 چسبندگی خود را از دست داده و به صورت تکی یا مجتمع های سلولی به هم چسبیده و شناور در می آیند. اندازه سلولها بزرگتر از منوسیتهای اولیه بوده ، دارای زوائد سیتوپلاسمی شدند، اضافه کردن TNF-αبعنوان عامل بلوغ ، باعث شناور شدن بیشتر سلولها شد و پس از دو روز افزایش قابل ملاحظه ای در اندازه سلول و میزان زوائد سیتوپلاسمی دیده شد. (شکل۲)

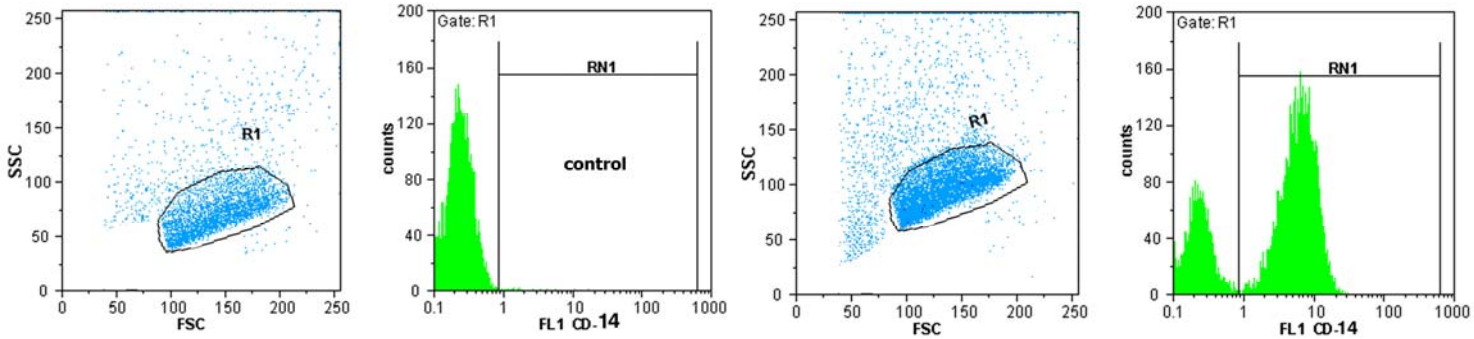
دراین حالت شاخص بلوغ(درصد سلولها ی دندریتیک دارای CD83) و HLA-G با استفاده از فلوسیتومتری تعیین شد(شکل ۳و جدول شماره ۱)

واکنش مختلط لنفوسیتی اتولوگ:سلولهای دندریتیک پس از کشت ۷ روزه در حضور GM-CSF و اینترلوکین ۴ و تاثیر اینتر فرون بتا به همراه آنتی ژن در مجاورت سلولهای T همان فرد به نسبت ۱ به ۱۰ به مدت ۶ روز کشت داده شد و پس از آن ماده MTT اضافه و میزان جذب نوری با دستگاه الیزا خوانده شد. از لنفوسیتها و سلولهای دندریتیک به طور جداگانه به عنوان شاهد استفاده شد (شکل ۴ و جدول شماره ۲)

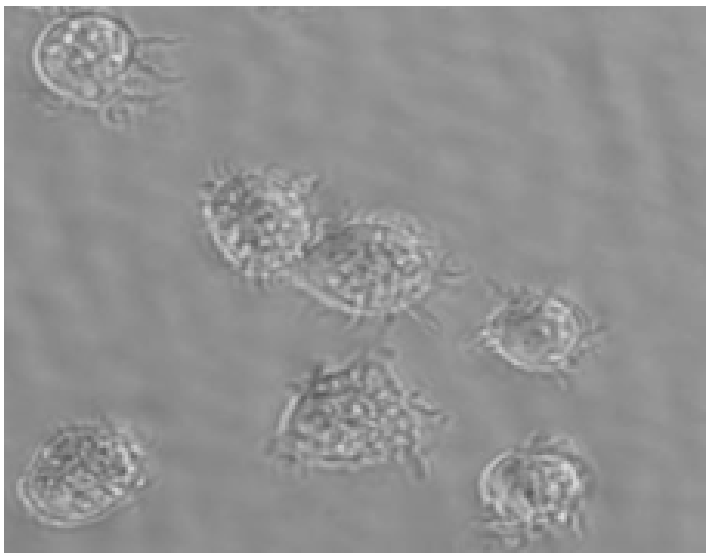
نتایج بیان ژن HLA-G در سلول دندریتیک :برای بررسی cDNA ، تولید شده به روش واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده ازآنزیم ترانسکریپتاز معکوس ، از پرایمرهای اختصاصی ژن HLA-G استفاده شد که باند ۱۱۸ bp مربوط به ژنهای فوق در کنار کنترل مثبت HLA-G و کنترل منفی کاملاً مشهود بوده است(شکل ۵و۶).

نام پرایمر	توالي پرايمر	طول قطعه تكثيري
B-actin-sense B-actinAnti sense	5`-ATGGCC ACGGCTGct CCAGC-3` 5`-CAGGAGGAGCAATGATCTTGAT-3`	321bp
HLA-G1/2-sense HLA-G1/2-Antisense	5- TcA TGCTGATGGA AGCAC 5- TCTCCA CAGCAC AGCCAGC	118bp

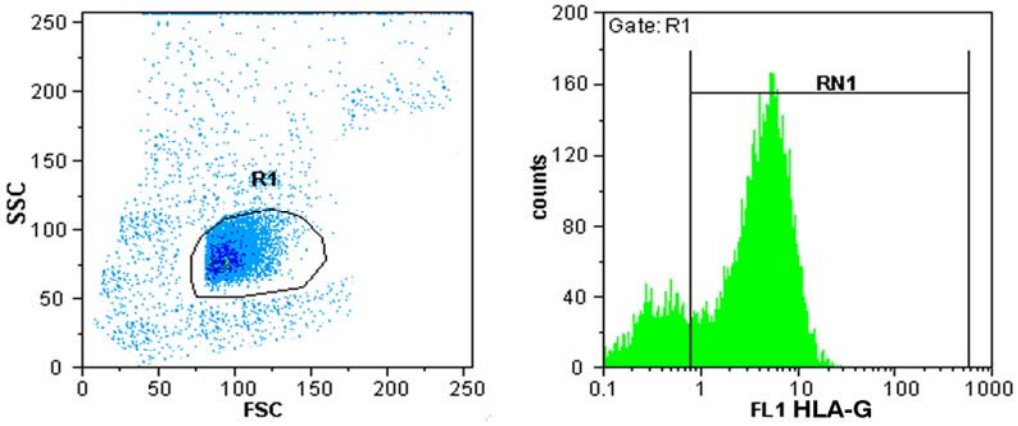
توالی پرایمرهای مورد استفاده



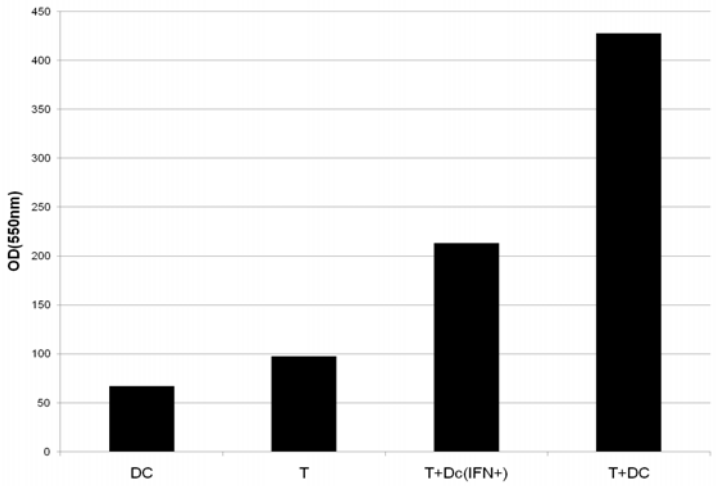
شکل ۱.سلولهای تک هسته ای خون محیطی که با استفاده از فایکول جداشده بود در فلاسک کشت سلول بمدت دوساعت کشت داده شد وسپس سلولهای چسبنده به فلاسک با استفاده از فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفتند که بیش از ۸۰ در صد سلولها شاخص منوسیتی CD14داشتند



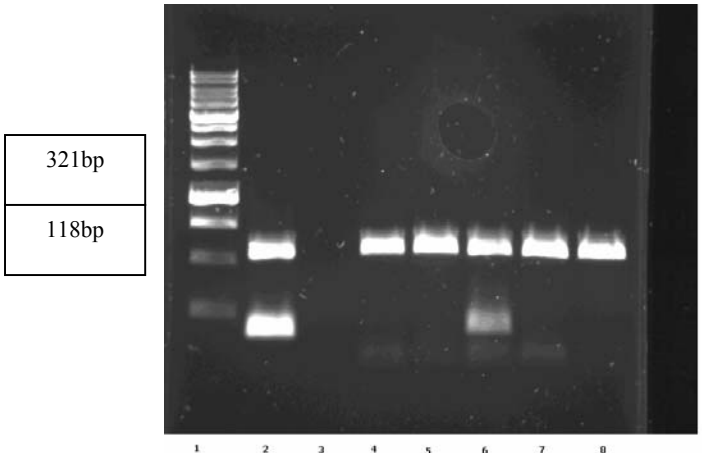
شکل شماره ۲. مورفولوژی سلولهای دندریتیک بس از کشت سلولهای منوسیت و مجاور نمودن این سلولها با سایتوکاین GM-CSF و IL-4بمدت ۵ روز و سپس انکوباسیون این سلولها بمدت دو روز با سایتوکاین TNF-αو انتی ژن انسولین در ۳۷ درجه سانتیگراد



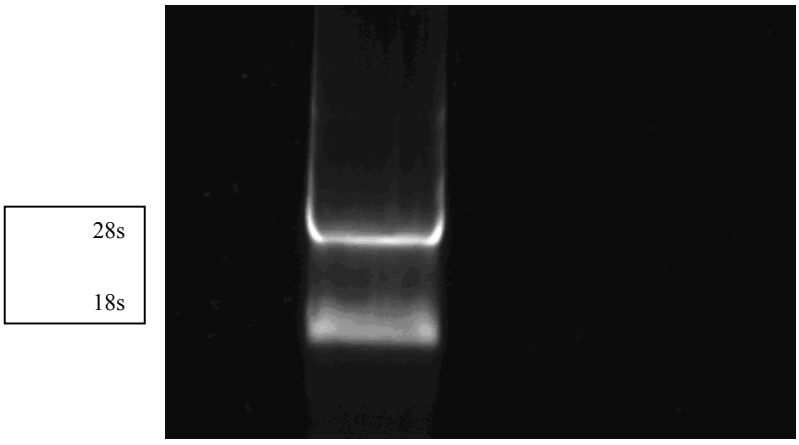
شکل۳.در صد بروزمولکول HLA-G(۳۹٪)پس ازاثر اینتر فرون بتا با استفاده از فلوسیتومتری



شکل ٤.واکنش مختلط لکوسیتی بین سلولهای دندریتیک متاثر از اینتر فرون بتا(T+DC)و بدون تاثیر از اینتـر فـرون بتـا(+T+DC,IFN)بـا سلولهایT افراد دیابتی همراهبا شاهد (Tو DCتنها) نشان داده میشودکه در این ازمایش ،سلولهای دندریتیک افـراد دیابتیـک بـه عنـوان محرک به نسبت ۱ به ۱۰ در واکنش با لنفوسیتهای Tغنی شده به روش پشم نایلون مورد استفاده قرار گرفتند . آزمایش به صورت سـه تـایی انجام ونتایج به صورت میا نگینی از داده گزارش گردید.



شکل ٥.نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR ژن HLA-G بشماره ٦ (118bp)و بتااکتین (321bp) بـشماره هـای ٤،٥ ،٧و٨همراه با سلولهای Jeq-3 بعنوان کنترل + (شماره2) و کنترل منفی (شماره های 3) وشماره ۱ سایز مارکر



شکل ٦. باند های ۲۸S و ۱۸S مربوط به mRNA بر روی ژل اگارز

جدول ۱: نتایج حاصل از فلوسیتومتری جهت تعیین درصدسلولهای منوسیت چسبنده به فلاسک کشت سلول با Anti- CD14 ، جدا شده از پشم نایلون بـا Anti-CD3 برای بررسی خلوص سلولهای Tوپس ازبلوغ سلولهای دندریتیک با Anti-CD83 به عنوان شاخص بلوغ

کد بیمار	شاخص سطحی بر اساس در صد سلولهای مثبت			کد بیمار	شاخص سطحی بر اساس درصد سلولهای مثبت		
	درصدسلولهای منوسیت +CD14چسبنده به فلاسک	درصدسلولهای دندریتیک +CD83پس از بلوغ	درصدسلولهای T CD3+ جداشده از پشم نایلون		درصدسلولهای منوسیت +CD14چسبنده به فلاسک	درصدسلولهای دندریتیک +CD83پس از بلوغ	درصدسلولهای T CD3+ جداشده از پشم نایلون
P1	۹۰	۸۹	۸۸	P16	۹۰	۹٦	۸۸
P2	۹۱	٥٤	۹۱	P17	۸۸	۸٦	۸۹
P3	۹۰	۹۷	۸۹	P18	۸۷	٥۰	۹۰
P4	۸٦	٦۸	۸٦	P19	۸۹	۸۳	۸۸
P5	۸۷	۹۸	۹۲	P20	۹۰	٥۰	۸۷
P6	۸۹	٥۰	۹۳	P21	۹۲	٦۰	۹۲
P7	۹۲	۸٥	۹۱	P22	۹۰	۹٤	۹٤
P8	۹۰	۹٥	۸۹	P23	۹۳	٦۰	۹۱
P9	۹۱	۸٤	۹۲	P24	۸٥	۸۷	۹۰
P10	۹۲	۹۲	۹٤	P25	۹٥	٥٤	۸۸
P11	۹٤	٦۰	۹۱	P26	۹۲	۹٦	۸٥
P12	۹٥	۹٤	۹۰	P27	۹۳	۸٦	۸٥
P13	۸٥	٦۰	۸۸	P28	۹۱	٥۰	۸۸
P14	۸٥	۸۷	۸٥	P29	۹۰	۸۳	۸۹
P15	۸۹	٥٤	۸٥	P30	۹٥	٥۰	۹۰

جدول ۲.اثر سلولهای دندریتیک حاوی HLA-G بر روی تکثیر سلولهای $^{+}$ TCD3 اتو لوگوس در MLR با استفاده از ماده MTT :

گروه	تعدادنمونه	Without IFN-β	1000 units IFN-β	P value
		Mean ± SD	Mean ± SD	
دیابتیک	30	427.26±56.58	213.06±62.17	< 0.05

بحث

در این مطالعه ما اقدام به طراحی یک سیستم ایمنی نمودیم که اجزای آن شامل سلولهای عرضه کننده آنتی ژن بعنوان سلولهای محرک(Stimulator)ولنفوسیتهای Tبه عنوان سلولهای پاسخ دهنده (Responder)بودند . برای این منظور ، از گردش خون محیطی افراد دیابتیک سلولهای منوسیت را جداکرده ، با استفاده از سایتوکینهای مناسب نسبت به تبدیل آنها به سلولهای دندریتیک اقدام نمودیم . در فاصله کشت سلولی ، انسولین را به عنوان آنتی ژن سلولهای بتا پانکراس انسانی در اختیار سلولهای DC قرار داده ، پس از حساس سازی (Priming) سلولهای دندریتیک ، این سلولها را در مجاورت سلولهای T اتولوگ به منظور مطالعه پاسخ ایمنی قراردادیم .

در این تحقیق از مولکول اینترفرون بتا بعنوان مداخله گر اصلی فرایند در روز پنجم کشت سلولی (تبدیل منوسیت به سلول دندریتیک)استفاده شد، که این مولکول سبب ایجاد سلول دندریتیک با نقش مهاری در کشت مختلط لوکوسیتی گردید(۷و۸و۹). به این منظور کاهش پاسخ تکثیری سلول T اتولوگ درکشت مختلط لوکوسیتی بروز مولکول HLA-G درسطح سلولهای دندریتیک به عنوان نمونه ای از مولکولهای تنظیم کننده ایمنی، مطالعه واندازه گیری شد. مشاهده بروز این مولکول در سطح سلولهای دندریتیک به روش فلوسیتومتری وتعیین بروز ژن آن به روش RT-PCR نشان دادکه اینترفرون بتا احتمالا از طریق مولکول HLA-G سبب کاهش (Down regulation) پاسخ ایمنی در کشت مختلط لوکوسیتی می گردد، زیرا مطالعات انجام یافته در واکنشهای بین سلولی ، نقش مولکول HLA-G را علاوه بر تولرانس مادری جنینی ، در تنظیم پاسخ ایمنی در پیوند ، ایمونولوژی تومور و عفونتهای ویروسی انسان به اثبات رسانده است(۱۱,۱۰).ارتباط این مولکول و بیماریهای اتوایمیون و نقش آن در فروکش نمودن التهاب در برخی بیماریها و حضور این مولکول بعنوان یک عامل تنظیمی در سطح سلولها از اهمیت بسزایی برخوردار است(۱۲).

آقای Le Maout و همکاران با استفاده ه از سلولهای عرضه کننده ترانسفکت شده با HLA-G گسترش فعالیت ایمونوساپرسیو و بی پاسخی سلول T الوراکتیو را در کشت مختلط لکوسیتی نشان دادند و ثابت کردند که HLA-G با القای فعالیت ایمونوساپرسیو می تواند نقش تنظیمی مهمی در پیوند الوژن داشته باشد(۱۳).

مطالعات انجام یافته محققان دیگرنشان داده است که IFN-β می تواند پاسخهای التهابی را در بیماری مولتیپل اسکلروزیس ازطریق بروز HLA-G کاهش دهد ولذا منجر به کاهش دفعات عود و نیز باعث اثرات مفید تایید شده با ام آر آی (MRI)گردد .به علاوه مطالعات نشان می دهند که عدم وجود HLA – G در برخی از بافتها ممکن است با شدت اتو ایمنی همراه باشد (۱۴و۱۵);

بنا به نتایج ما برخی از اثرات تنظیمی اینترفرون بتابا بروز HLA-G ممکن است سبب پیشگیری از بیماری اتوایمیون دیابت و جلوگیری از تخریب سلولهای بتا پانکراس شود.

Reference

1-Yamazaki S. *Dendritic cells are specialized accessory cells along wit TGF-β for the differentiation of Foxp3 + CD4+ regulatory T cells from peripheral Foxp3- precursors*.Blood. 2007; 110:4293-4302.

2-Cunningham A,Carbone F, Geijtenbeek T. *Langerhance cells and viral immunity*.Eur. J. Immunol. 2008; 38:2377-2385.

3-Carosella ED, Moreau p, Le maoult J, Le Discorde M, Dausset J,*Rouasferiss NHLA-G molecules: from maternal-fetal Tolerance to Tissue* . Advance Immunogy. . 2003; 81:199-252.

4- Crisa L, Mc master MT, Ishii JK, Fisher SJ, Salomon DR. *Identifcation of a thymic epithelial cell subset sharing expression of the class Ib HLA-G molecule with fetal trophoblasts*. J Exp med.1997;. 186:289-298.

5- Masharani U and Sgerman M. *pancreatic hormones and Diabetes mellitus. Basic and clinical Endocrinology*.18th edition, New York: Black well. 2007: 672-681.

6- Mitsdoerffer M, Scheriner B, Kieseir B, Neuhavs O. *Moncyte –derived HLA-G act as a strong inhibitor of autologous CD4T cell activation and is upregu;ated by interferon – β in vitro and in vivo* .Journal of Neuroimmunology. 2005; 159:155-164.

7-- Festi D, Ssandri L, Mazzella G, Roda E. *Safety of interferon β treatment for chronic HCV hepatitis*.Word Journal of GasteroentroPatholoy. 2004;10 (1):12-16.

8- Honda K, Takaoka A ,Taniguchi T. *Type I Inmterferon Gene induction by the interferon Regulatory factor family of transcrption factors*.Immunity.2006; 25,349-360.

9-Pestka S, krause C.D and Walter M.R. *Interferons, interferon like cytokines and their receptors* .Immunol Rev.2004; 202: 8-32.

10- Vaurert F.H and Christiansen O.B. *Linkage disquilibrium between Human leukocxte Antigen (HLA) Class II and HLA-G Possible implication for human Reproductron and Autimmune disease* . Hum Immunol. 2005; 66 : 688-695.

11- Favier B, Lemaoult J, Rouas- Freiss. *Research on HLA-G: an update tissue antigens*, jounal compliation.2007; 69: 207-211

12- Carosella ED, Moreau P, *Avactingi s and Rouas – Freiss N .HLA – G: A shield against inflammatory aggression*. Trends Immunol .2001; 22:523-555.

13- Lemaoult J, krawice- Redanne L, Dausset J, Carosella ED . *HLA-G1 expressing antigen presenting cells induce immunosuppressive $CD4^{+}$cells*. Pro. Nati. Acad. Sci. U.S.A.2004; 101: 7064- 706

14- Wiendl H, Mitdoerffer M. *A Functional role of HLA-G expression in human glioma an alternative strategy of immune escape*. J. Immunol 2002; 168: 4772- 80

15-Creput C, Durrbach A. Charpentier B, Carosella ED. *HLA G: Immunoregulatory molecule involved in allograft acceptance*. Nephrologie.2003; 24: 451-6.