

بررسی بیان ژن RORA در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) در مقایسه با گروه شاهد در جمعیت ایرانی

سکینه نیری^۱، آرزو صیاد^{۲*}، ویدا حجتی^۱، محمد طاهری^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: ar.sayad@sbm.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۵

چکیده

بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خودایمن است که سیستم اعصاب مرکزی را هدف قرار می‌دهد. این بیماری به عنوان دومین عامل ناتوانی حرکتی در دنیا شناخته شده و گسترش روزافزونی داشته است. گرچه علل اصلی بروز بیماری ام اس همچنان ناشناخته است اما احتمال می‌رود سلول‌های CD4(+) T اختصاصی میلین، نقش مرکزی را در آغاز و هماهنگی التهاب CNS ایفا می‌کنند. طبق این نظریه، سلول‌های CD4(+) T فعال شده در پریفرال به CNS نفوذ کرده در آنجا با القا ترشح سیتوکین‌ها و کموکین‌ها باعث آغاز آبخار التهابی می‌شوند. سلول‌های Th17 که یک رده از سلول‌های CD4(+) T به تازگی شناسایی شده‌اند در بروز مولتیپل اسکلروزیس نقش عمده‌ای را ایفا می‌کنند. با توجه به نقش ژن RORA در مسیره‌های تکاملی سلول‌های Th17 و همچنین انواع گیرنده‌های ROR به عنوان اهداف درمانی ام اس، بررسی این ژن در بیماران می‌تواند در تشخیص و یافتن علل مولکولی بیماری کمک کند. ۳۰ نفر بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و ۳۰ نفر فرد سالم که از نظر سن و جنس همسان‌سازی شدند، انتخاب گردیدند. بعد از پر کردن پرسشنامه از افراد خون‌گیری انجام شد و Total RNA استخراج و سپس cDNA سنتز شد. با روش TaqMan Real-Time PCR بیان ژن RORA مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های بدست آمده بوسیله نرم‌افزارهای Linreg و REST 2009 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد بیان ژن RORA در افراد مبتلا به ام اس در مقایسه با افراد نرمال کاهش معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($p=0/197$). همچنین مقایسه بیان این ژن در دو جنس زن و مرد هم کاهش معنی‌داری نشان نداد ($p=0/156$, $p=0/142$). نتایج بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بیان ژن RORA در بیماران MS نسبت به افراد سالم و کنترل می‌باشد. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که سطح بیان ژن RORA تاثیر مهمی در این بیماری نداشته باشد.

کلمات کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، بیان ژن، RORA.

مقدمه

عصبی نقش دارد آسیب می‌بیند. اگر آسیب میلین جزئی باشد پیام‌های عصبی با اختلالات کمتری منتقل می‌شوند. اگر آسیب میلین زیاد باشد بافت اسکار (زخم) جایگزین میلین می‌شود و از این‌رو انتقال پیام-

مولتیپل اسکلروزیس (MS) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خود ایمنی التهابی شایع سیستم اعصاب مرکزی است که جوانان را گرفتار می‌کند. در این بیماری میلین که در انتقال پیام‌های عصبی در طول فیبرهای

های عصبی ممکن است بطور کامل قطع شوند (۲).
علائم MS، شدت بروز آنها و همینطور سیر بیماری از فردی به فرد دیگر متفاوت است. بعضی از افراد فقط یک یا دو حمله داشته و مابقی عمرشان بدون علامت هستند. دیگران ممکن است بیماری سیر پیشرونده آرامی داشته و تسکین موقتی نداشته باشد. بیماری MS به عنوان دومین عامل ناتوانی حرکتی در دنیا شناخته شده و ظرف سنوات اخیر نیز گسترش روزافزونی داشته است. همچنین علیرغم انجام مطالعات گسترده، متأسفانه تاکنون روشی کارآمد که به درمان قطعی این بیماری بیانجامد یافت نشده است. لذا لزوم انجام مطالعات بنیادی و کاربردی در خصوص شناسایی علل و مکانیسم‌های درگیر و اهداف دارویی جدید در بیماری و متعاقب آن طراحی درمان‌های نوین MS کماکان جزو اولویت‌های تحقیقاتی مراکز پژوهشی در اغلب کشورها محسوب می‌گردد.

با توجه به اتیولوژی نامعلوم بیماری MS و نقش مشترک فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در این بیماری ما به دنبال بیومارکرهای جدید در این بیماران هستیم تا با توجه به آن تشخیص و درمان این بیماران را تسریع و بهبود بخشند. نفوذ لکوسیت‌ها به بافت‌های مغزی و التهاب، دمیینه شدن، آسیب‌های آکسونی و تشکیل پلاک‌های سخت از علائم اصلی مولتیپل اسکلروزیس محسوب می‌شود.

گرچه علل اصلی بروز بیماری MS همچنان ناشناخته است اما باور بر این است که سلول‌های T CD4(+) اختصاصی میلین نقش کلیدی مرکزی را در آغاز و هماهنگی التهاب CNS ایفا می‌کنند. طبق این نظریه T CD4(+) فعال شده در پریفرال به درون CNS نفوذ کرده در آنجا با القا ترشح سیتوکین‌ها و کموکین‌ها باعث آغاز آبشار التهابی می‌شوند. از این بین سلول‌های Th17 یک رده از سلول‌های T CD4(+)

که به تازگی شناسایی شده‌اند، در بسیاری اختلالات التهابی از جمله در مولتیپل اسکلروزیس نقش عمده‌ای را ایفا می‌کند (۲، ۱۵).

سلول‌های Th17 در ارتباط با بیماری‌های خودایمن و همچنین وضعیت‌های التهابی شامل لوپوس، آرتریت، مولتیپل اسکلروزیس، درماتیت آتوپیک، پسوریازیس، آسم و ... درگیر هستند (۸، ۱۵).

پیشنهاد شده است که افزایش بیان سیتوکاین‌های پیش‌التهابی نقش کلیدی در تنظیم مهاجرت لنفوسیت‌ها در بیماری MS دارد. مطالعات افزایش میزان سرمی سیتوکین‌های IL-17 و IL-23 را در بیماران MS نشان می‌دهد که پیشنهادکننده فعال‌سازی جمعیت سلول‌های موثر بر ایمنی Th17 است (۱۱).

تمایز سلول‌های Th17 نیازمند هماهنگی و عملکرد اختصاصی سیتوکین پیش‌التهابی IL-6 و سیتوکین سرکوب کننده التهابی TGF-beta است (۱۷، ۱).

متعهد شدن Th17 از طریق مشارکت متوالی مولکول‌های STAT یعنی STAT3 پایین دست گیرنده‌های سیتوکین و فاکتور رونویسی اختصاصی ROR-gamma است. در ارتباط با نقش خانواده گیرنده‌های ROR در بروز ایمنی، به نقش حیاتی ROR γ در تیموپوزیسیس و فرایند تولید تیموسیت‌ها که در ادامه به سلول‌های T تبدیل می‌شوند، اشاره شده است (۳). همچنین شواهدی همچون کوچکتر بودن بارز طحال و تیموس در موش‌های دارای نقص در ROR α بر نقش این ژن در تیموپوزیسیس و همچنین تکامل لنفوسیت‌ها اشاره دارد (۵).

بیان mRNA ژن ROR α (ROR α Related Orphan Receptor α) در لنفوسیت‌های T بالغ CD8+ کاهش نشان می‌دهد درحالی که در CD4+ افزایش نشان می‌دهد. در موش‌های ROR α -/- تعداد کلی سلول‌های تیموسیت و اسپلنوسیت به شدت کاهش می‌یابد. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که می‌توان ROR α

تکمیل فرم رضایت‌نامه توسط هر یک از آنها، یک روز تعیین گردید تا به مرکز مراجعه نمایند. سپس از آنها ۵ ml خون وریدی گرفته شد و در لوله حاوی EDTA در یخچال نگهداری شد. نمونه‌های بیماران از بیمارستان امام حسین تهران و انجمن MS گرفته شدند. بعد از جمع‌آوری نمونه‌ها در آزمایشگاه ژنتیک گروه ژنتیک پزشکی دانشگاه شهید بهشتی مرحله زیر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

اطلاعات کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران MS: سن شروع بیماری به طور میانگین ۲۵/۴ بود و مدت بیماری به طور میانگین ۵/۳ بوده است. EDSS به طور میانگین $1/6 \pm 3/4$ بود. هیچ سابقه خانوادگی از بیماری مولتیپل اسکلروزیس وجود نداشت.

توزیع جنسیتی دو گروه بیمار و کنترل: از ۳۰ بیمار مبتلا به MS ۲۱ نفر زن (۶۲ درصد) و ۹ نفر مرد (۳۸ درصد) بود و ۳۰ نفر گروه کنترل شامل ۲۰ نفر زن و ۱۰ نفر مرد بوده است. دو گروه از نظر توزیع جنسیتی مطابق آزمون نسبت در تطابق بودند (جدول ۱).

توزیع سنی در دو گروه بیمار و کنترل: میانگین سن بیماران ۲۰/۵ سال، در بازه سنی ۴۰-۱۸ سال و میانگین سنی گروه شاهد ۳۰/۷ سال در بازه سنی ۴۴-۲۲ سالگی می‌باشد. بر اساس آزمون t-test که برای تطابق میانگین سن در گروه بیمار و کنترل انجام گردیده است تفاوت معنی‌داری ما بین گروه بیمار و شاهد وجود نداشت (جدول ۲).

استخراج RNA: در این مرحله، جهت بررسی میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر، RNA کل از سلول‌های سفید خون استخراج شد و از کلروفرم و کیت استخراج RNA (GeneAll Hybrid-R™ Blood) استفاده شد.

سنتر cDNA: تبدیل RNA به cDNA برای انجام RT-PCR صورت می‌گیرد. الگوی اولیه در RT-PCR مولکول RNA تک زنجیره‌ای است. از آنجایی

را به عنوان تنظیم‌کننده منفی التهاب در نظر گرفت. همچنین مطالعات به نقش حیاتی این ژن در رده بندی اختصاصی سلول‌های T-helper اشاره دارد (۳، ۴).

فقدان عملکرد ROR α/γ به شدت باعث کاهش استعداد پیشرفت بیماری‌های خود ایمن می‌شود و پیشنهاد می‌کند که ROR α و ROR γ از طریق کنترل تمایز Th17 و بیان IL-17 نقش پررنگی در تنظیم پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کنند و بنابراین گیرنده‌های ROR می‌توانند به عنوان اهداف دارویی بلقوه برای مداخلات درمانی در بیماری‌های خودایمن شامل کولیت روده و مالتیپل اسکلروزیس باشد (۹، ۱۲، ۱۳).

با توجه به اتیولوژی نامعلوم بیماری MS و نقش مشترک فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در این بیماری ما به دنبال بیومارکرهای جدید در این بیماران هستیم تا با توجه به آن تشخیص و درمان این بیماران را تسریع و بهبود ببخشیم. بنابراین برآن شدیم تا با این مطالعه در قالب یک بررسی مورد-شاهد به ارزیابی ارتباط بین بیان ژن ROR α با بروز بیماری MS بین بیماران مبتلا به MS در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌پردازد. ضمن آنکه با مرور گسترده بر مطالعات پیشین، از جدید بودن محتوای این تحقیق، اطمینان حاصل شده است.

مواد و روش کار

در این تحقیق ۳۰ فرد بیمار مبتلا به فرم Relapsing-remitting بیماری MS که بر اساس معیارهای McDonald توسط متخصص مغز و اعصاب تشخیص داده می‌شوند و همچنین ۳۰ فرد سالم از نظر بیماری MS و بدون سابقه فردی یا خانوادگی بیماری خودایمن و همسان‌سازی شده از نظر جنسیت و سن با گروه بیمار، به طور تصادفی انتخاب شدند. پس از توضیح هدف تحقیق و جلب مشارکت آنها و

سنجش کمی بیان ژن RORA با استفاده از Real Time-PCR: اساس این روش خاصیت فعالیت اگزونوکلئاز 5' آنزیم Taq DNA Polymerase می-باشد. در این مطالعه از کیت Applied Biosystems (ABI) استفاده شد. این مطالعه با ۴۰ سیکل انجام شد و دستگاه مورد استفاده Corbett (۶۰۰۰- Rotorgene) بود. آنالیز داده‌های Real-Time PCR: برای آنالیز داده-های Real-Time PCR از دو نرم‌افزار LinReg و REST استفاده شد. از نرم‌افزار LinReg جهت تعیین Ct و کارایی واکنش و از نرم‌افزار REST جهت مقایسه تغییرات بیان ژن RORRA در گروه-های مورد مطالعه استفاده شد.

که DNA پلیمرز قادر به استفاده از RNA به عنوان الگو نمی‌باشد، مرحله دیگری به PCR افزوده می‌شود که طی این مرحله با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس با منشاء ویروسی، از الگوی RNA، DNA مکمل آن سنتز می‌شود که در نهایت بوسیله تکنیک PCR تکثیر می‌یابد. در این مرحله از RNA استخراج شده و کیت سنتز cDNA (Thermo Scientific Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit) (Lot 002 44639) استفاده شد و مواد تهیه شده در میکروپیپت، داخل دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) قرار داده شد تا Cdna سنتز شود.

جدول ۱- توزیع جنسیتی در دو گروه بیمار و کنترل

تعداد مرد (درصد)	تعداد زن (درصد)	گروه های مورد مطالعه
۹ (۳۸٪)	۲۱ (۶۲٪)	بیمار MS
۱۰ (۴۰٪)	۲۰ (۶۰٪)	کنترل سالم
۱۹	۴۱	جمع کل

جدول ۲- توزیع سن در دو گروه بیمار و کنترل

تعداد	انحراف معیار	میانگین	گروه های مورد مطالعه
۳۰	۲/۸	۳۰/۵	بیمار MS
۳۰	۳/۱	۳۰/۷	کنترل سالم

نتایج

(۳۸ درصد) بود و ۳۰ نفر گروه کنترل شامل ۲۰ نفر زن و ۱۰ نفر مرد بوده است. دو گروه از نظر توزیع جنسیتی مطابق آزمون نسبت در تطابق بودند. میانگین سن بیماران ۳۰/۵ سال، در بازه سنی ۱۸-۴۰ سال و میانگین سنی گروه شاهد ۳۰/۷ سال در بازه سنی ۱۸-۴۴

سن شروع بیماری به طور میانگین ۲۵/۴ بود و مدت بیماری به طور میانگین ۴/۳ بوده است. EDSS به طور میانگین $1/6 \pm 3/4$ بود. هیچ سابقه خانوادگی از بیماری مولتیپل اسکلروزیس وجود نداشت. از ۳۰ بیمار مبتلا به MS ۲۱ نفر زن (۶۲ درصد) و ۹ نفر مرد

کارایی انجام کار برای نمونه‌های فوق ۱/۹۱، ۹۶/۹۲ و ۱/۱ می‌باشد (شکل ۳).

تکثیر ژن ROR α : واکنش به صورت سه‌تایی بر روی نمونه‌های نرمال و بیمار انجام شد. CT نمونه‌های فوق ۲۴/۱، ۲۳/۹ و ۲۴/۳ می‌باشد و کارایی انجام کار برای نمونه‌های فوق ۱/۱، ۱/۹۶ و ۱/۹۷ می‌باشد (شکل ۴).
آنالیز داده‌های خام Real time RT-PCR: داده‌های خام واکنش پس از تعیین کارایی PCR و تعیین سطح پایه بوسیله نرم افزار LinReg و REST آنالیز شدند که نتایج در زیر آورده شده است.

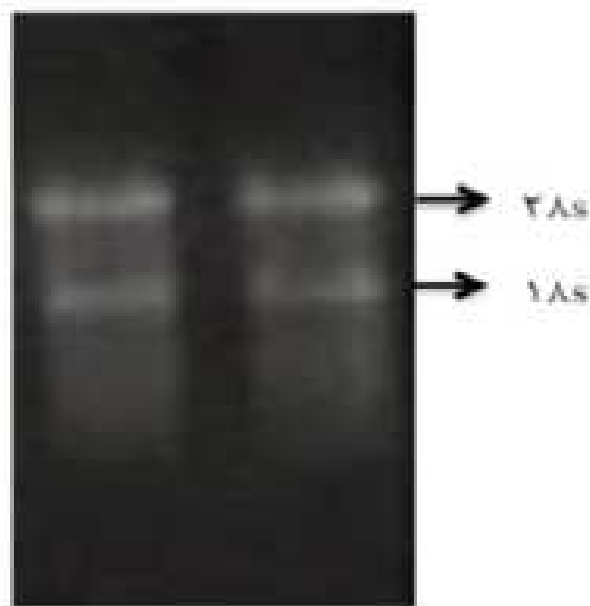
آنالیز داده‌ها بوسیله نرم افزار REST در مقایسه دو گروه بیماران MS و شاهد سالم: ژن RORA یا همان ژن Target (TRG) کاهش بیان به میزان ۰/۹ را نشان می‌دهد که این کاهش بیان بعد از تعیین ارزش P که به میزان ۰/۸ بدست آمد، معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۳).

آنالیز داده‌ها بوسیله REST بر اساس تفکیک جنسیت: ژن HPRT1 به عنوان ژن Reference (REF) انتخاب شده و ژن RORA یا همان ژن Target (TRG) می‌باشد که ژن RORA در گروه مردان به میزان ۰/۹۴ و در گروه زنان به میزان ۰/۹۷ کاهش بیان را نسبت به ژن RORA نشان می‌دهد. ارزش p در مردان ۰/۶ و در زنان ۰/۹ می‌باشد که کاهش معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (جدول ۳).

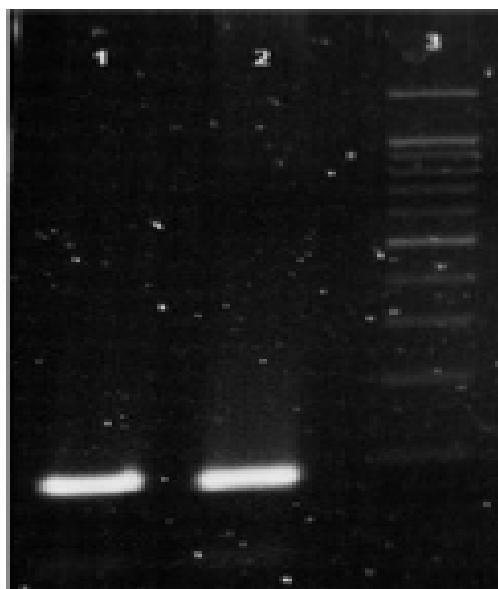
۲۰ سالگی می‌باشد. بر اساس آزمون t-test که برای تطابق میانگین سن در گروه بیمار و کنترل انجام گردیده است تفاوت معنی‌داری ما بین گروه بیمار و کنترل وجود نداشت.

نتایج استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه‌های بیمار و سالم انجام گردید که در نتیجه آن غلظت و خلوص آن به وسیله دستگاه بیوفوتومتر بدست آمد. ۱۰ میکرولیتر از هر کدام از نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱ درصد در بافر (TBE) ۰/۵X الکتروفورز شد. غلظت RNA در حدود ۲۵۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۲۶۰/۲۸۰ OD بین ۱/۸ تا ۲ بود که نشان دهنده‌ی کیفیت مطلوب RNA بود. جهت بررسی کیفیت RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید (شکل ۱).

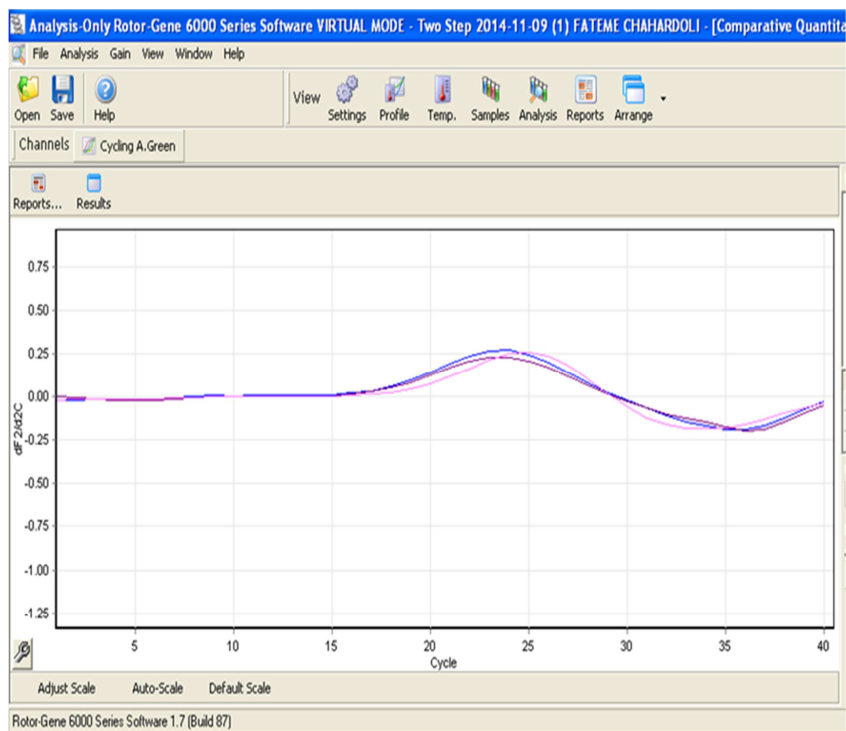
نتایج واکنش Real-time RT-PCR: واکنش Real-time RT-PCR با استفاده از cDNA سنتز شده از نمونه‌های نرمال و بیمار برای ژن ROR α انجام شد.
تعیین کیفیت cDNA: برای تعیین صحت و کیفیت cDNA ساخته شده، طول محصول ژن‌های HPRT1 را بر روی ژل آگارز ۲ درصد نشان می‌دهد (شکل ۲).
تکثیر ژن HPRT1: واکنش به صورت سه‌تایی (triplicates) بر روی نمونه‌های نرمال و بیمار انجام شد. CT نمونه‌های فوق ۱۶/۵، ۱۶/۷ و ۱۷ می‌باشد و



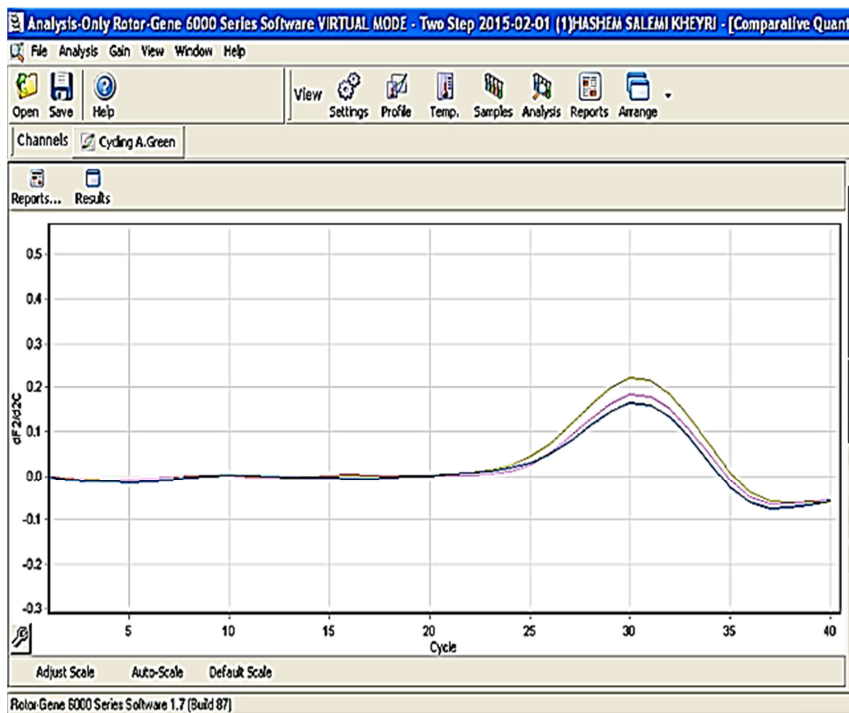
شکل ۱- RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد باندهای ۱۸S و ۲۸S نشان‌دهنده کیفیت RNA استخراج شده می‌باشد.



شکل ۲- نتایج RT-PCR برای ژن HPRT1 بر روی ژل آگارز ۲ درصد. چاهک ۱ و ۲ مربوط به ژن HPRT1 که طول محصول PCR با اندازه ۸۸ bp را نشان می‌دهد.



شکل ۳- تکثیر ژن HPRT1



شکل ۴- تکثیر ژن RORA



جدول ۳- داده‌های نرم افزار Rest در مقایسه دو گروه بیماران MS و شاهد سالم

بیان RORA	تعداد کنترل‌ها	تعداد بیماران	p value	میزان بیان	خطای معیار	95% CI
کل نمونه‌ها	۵۰	۵۰	۰/۸	۰/۹۶	۰/۸۳-۷/۵۰	- ۰/۱ - ۲۹/۷
مردان	۲۰	۱۹	۰/۶	۰/۹۴	۰/۵۸-۳/۷۱	- ۰/۹ - ۴۲/۸
زنان	۳۰	۳۱	۰/۹	۰/۹۷	۰/۲ - ۳/۵۱	- ۰/۱ - ۳۱/۴

بحث

اهمیت است که همه واریانت‌ها در صورتی که در پاتوژن بیماری نقش دارند، مورد بررسی قرار گیرند. در این مطالعه بیان ژن RORa در افراد مبتلا به MS در مقایسه با افراد نرمال تفاوت معناداری نشان نداد ($p = 0/8$). همچنین بیان این ژن در مردان و زنان نیز تفاوت معناداری نداشت ($p = 0/6$ و $p = 0/9$). طی تحقیقی، هیپرمتیلیشن پروموتور ژن RORA ارتباط معنی‌داری را در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ نشان داد و از تکنیک PCR برای تشخیص استفاده شده بود (۱۰).

در مطالعه دیگر که توسط Hening در سال ۲۰۱۵ بر روی بیان ژن RORA در بیماران دارای افسردگی انجام گرفت نشان داده شد که کاهش بیان این ژن در بیماران پاسخ مفیدتر و بهتری در مدت زمان کوتاه‌تری به درمان داده می‌شود (۷).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ توسط Haerian و همکارانش در کشور مالزی انجام شد به این نتیجه رسیدن که تعامل بین پلی‌مورفیسم‌های ژن RORA یکی از دلایل بیماری صرع در این کشور می‌باشد (۶).

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۹ توسط Jetten انجام شد مشخص گردید که ژن RORS نقش حیاتی در توسعه سیستم ایمنی، ریتم شبانه‌روزی و متابولیسم سلولی را دارد (۹).

در مدل‌های موشی نیز کارهای متنوعی انجام شده است. از آن جمله مطالعه‌ای که توسط Ying Shi و

مولتیپل اسکلروزیس را به عنوان یک بیماری خودایمن سیستم اعصاب مرکزی معرفی می‌کنند که در آن لنفوسیت‌های T (خودواکنشگر)، پروتئین‌های اختصاصی CNS را شناسایی کرده و منجر به التهاب و میلین‌زدایی می‌گردد. مکانیزم‌های مربوط به ایجاد بیماری در سطح سلولی و مولکولی به خوبی شناخته نشده‌اند. در این بیماری خود ایمن هم علل محیطی و هم علل ژنتیکی نقش دارد. اخیراً در مطالعات مختلف چند ژن جدید به عنوان ژن‌های کاندید که در ایجاد این بیماری نقش دارند از جمله RORA معرفی شده‌اند. مطالعه بیان این ژن در بیماران ایرانی می‌تواند حایز اهمیت باشد چرا که نشان داده شده است که ژنتیک نقش مهمی در ایجاد و پیشرفت بیماری MS بازی می‌کند و یافتن ژن‌های مهم تاثیرگذار در ایجاد بیماری یا پیشرفت آن می‌تواند در نهایت به بحث تشخیص یا درمان بیماری کمک کند.

در مطالعه حاضر، ما بیان ژن RORa را در سلول‌های لنفوسیت T خون، در ۳۰ بیمار MS و ۳۰ فرد سالم به عنوان کنترل با تکنیک Real-Time PCR بررسی نمودیم. در مطالعه حاضر افراد بر اساس سن و جنسیت همسان سازی شده بودند.

تکنیک Real-Time PCR به کار رفته در مطالعه حاضر، تکنیک بسیار حساسی بوده و دارای تکرارپذیری بالایی است. پروب‌های طراحی شده برای تکنیک Real-Time PCR می‌توانند همه‌ی واریانت‌های ژن را در برگیرند و این نکته نیز حائز

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه کنونی در این پایان‌نامه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بیان ژن RORA در بیماران MS نسبت به افراد سالم کنترل می‌باشد و می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که بیان این ژن تفاوت معنی‌داری در این مطالعه که با ۳۰ فرد سالم و ۳۰ بیمار بررسی کردیم نشان نداد.

منابع

1. Bettelli E., Carrier Y., Gao W., Korn T., Storm T.B., Oukka M., Weiner H.L., Kuchroo V.K., 2006. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, 441, 235-238.
2. Bi Y., Liu G., Yang R., 2007. Th17 cell induction and immune regulatory effects. *Journal of Cellular Physiology*, 211: 273-278.
3. Chen Z., Laurence A., O'shea J.J., 2007. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in the control of Th17 differentiation. *Seminars in Immunology*, 2007: 400-408.
4. Chen Z., O'shea J.J., 2008. Th17 cells: a new fate for differentiating helper T cells. *Immunologic research*, 41: 87-102.
5. Dzhagalov I., Giguere V., He Y.W., 2004. Lymphocyte development and function in the absence of retinoic acid-related orphan receptor α . *The Journal of Immunology*, 173: 2952-2959.
6. Haerian B.S., Shaari H.M., Tan H.J., Fong C.Y., Wong S.W., Ong L.C., Raymond A.A., Tan C.T., Mohamed Z., 2015. RORA gene rs12912233 and rs880626 polymorphisms and their interaction with SCN1A rs3812718 in the risk of epilepsy: A case-control study in Malaysia. *Genomics*, 105: 229-236.
7. Hennings J., Uhr M., Klengel T., Weber P., Putz B., Touma C., Czamara D., Ising M., Holsboer F., Lucae S., 2015. RNA

همکارانش در سال ۲۰۱۲ بر روی نقش ژن ROR α در ایجاد آمفیژم ریوی ناشی از DNA آسیب‌دیده بر اثر دود سیگار بر روی موش‌ها انجام گرفت مشاهده شد در موش‌هایی که تحت تاثیر دود سیگار هم قرار نگرفته‌اند بیان این ژن باعث تخریب DNA شده و تولید بیماری آمفیژم ریوی می‌کند (۱۹).

در مطالعه‌ای که توسط Sadeghi و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام گرفت با تحقیق انجام شده بر روی موش‌های RORAlpha(-/-) به نقش این ژن در بیماری EBV که همان تاول‌های پوستی می‌باشد مشاهده کردند که در بعضی از موش‌ها تاول‌های خفیف ایجاد شد و برخی دیگر به این بیماری مقاوم بودند بعد از انجام آزمایشات به این نتیجه رسیدند که برای بروز التهاب در بیماری EBV ژن RORA ضروری است (۱۶).

در مطالعه‌ای که توسط Logue و همکارانش در سال ۲۰۱۳ بر روی استرس انجام شد اثر یک SNP ژن RORA را در جانبازان و همسران غیراسپانیایی و نقش آن را در استرس بعد از سانحه بررسی نمودند و SNP دیگری را در این ژن در افراد آمریکایی آفریقایی‌تبار نیز بررسی کردند و مشخص شد ژن RORA در مطالعات GWAS قبل از اختلالات روانی نقش دارد و معلوم است که در محافظت عصبی و دیگر فرایندهای رفتاری نقش مهمی دارد (۱۴).

در مطالعه دیگری که توسط Yang و همکارانش در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت مشخص گردید که در بیماری‌های التهابی نظیر آنسفالومیلیت تمایز TH17 ترشح واسطه‌های التهابی نقش دارند که بیان ژن RORA و ROR γ در تمایز آن موثر است هرچه بیان این دو ژن کمتر باشد تمایز TH17 کم شده و بدن در برابر بیماری‌های خودایمن مانند آنسفالومیلیت محافظت می‌شود (۱۸).



- 17A and IL-17F. *Gastroenterology*, 136: 257-267.
14. Logue M.W., Baldwin C., Guffanti G., Melista E., Wolf E.J., Reardon A.F., Uddin M., Wildman D., Galea S., Koenen K.C., 2013. A genome-wide association study of post-traumatic stress disorder identifies the retinoid-related orphan receptor alpha (RORA) gene as a significant risk locus. *Molecular Psychiatry*, 18: 937-942.
15. Rostami A., Ciric B., 2013. Role of Th17 cells in the pathogenesis of CNS inflammatory demyelination. *Journal of the Neurological Sciences*, 333: 76-87.
16. Sadeghi H., Gupta Y., Möller S., Samavedam U.K., Behnen M., Kasprick A., Bieber K., Muller S., Kalies K., De Castro Marques A., 2015. The retinoid-related orphan receptor alpha is essential for the end-stage effector phase of experimental epidermolysis bullosa acquisita. *The Journal of Pathology*, 237: 111-122
17. Veldhoen M., Hocking R.J., Atkins C.J., Locksley R.M., Stockinger B., 2006. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*, 24: 179-189.
18. Yang X.O., Pappu B.P., Nurieva R., Akimzhanov A., Kang H.S., Chung Y., Ma L., Shab B., Panopoulos A.D., Schluns K.S., 2008. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR α and ROR γ . *Immunity*, 28: 29-39.
19. Yin S., 2012. Gait Analysis of Multiple Sclerosis Patients. MSc Thesis, Arizona State University.
8. Ivanov I.I., McKenzie B.S., Zhou L., Tadore C.E., Lepelley A., Lafaille J.J., Cua D.J., Littman D.R., 2006. The orphan nuclear receptor ROR γ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*, 126: 1121-1133.
9. Jetten A.M., 2009. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nuclear Receptor Signaling*, 7:e003.
10. Kano H., Takayama T., Midorikawa Y., Nagase H., 2016. Promoter hypomethylation of RAR-related orphan receptor α 1 is correlated with unfavorable clinicopathological features in patients with colorectal cancer. *BioScience Trends*, 10(3): 202-209.
11. Khaiboullina S.F., Gumerova A.R., Khafizova I.F., Martynova E.V., Lombardi V.C., Bellusci S., Rizanov A.A., 2015. CCL27: Novel Cytokine with Potential Role in Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *BioMed Research International*, 2015: 1-10,
12. Kojetin D.J., Burris T.P., 2014. REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets. *Nature Reviews of Drug Discovery*, 13: 197-216.
13. Leppkes M., Becker C., Ivanov I.I., Hirth S., Wirtz S., Neufert C., Pouly S., Murphy A.J., Valenzuela D.M., Yancopoulos G.D., 2009. ROR γ -expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-