CTLA-4 генийн rs5742909 полиморфизмыг Грейвсийн офтальмопатитай холбон судалсан дүн

Ө.Элбэрэлт[1], Б.Оюунгэрэл[1,2], Г.Чимэдлхамсүрэн[1], Б.Минжин[1], Ж.Сарантуяа[1,3]

[1]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль, Молекул биологи-Удамзүйн тэнхим
[2] ШУГТЭ, Нүдний мэс заслын тасаг
[3]АШУҮИС, Био-Анагаахын Хүрээлэн
Цахим шуудан: Elberelt.u777@gmail.com, Утас: 80117290

Түлхүүр үг:

Аутоиммун
Орбитопати
Генетик маркер
Грейвсийн өвчин
Нэг нуклеотидын полиморфизм

Товч утга:

Үндэслэл: Грейвсийн өвчин нь бамбайн үйл ажиллагаа хэт идэвхжих эсвэл гипертириодизмээр нөхцөлддөг аутоиммун өвчин юм. Грейвсийн гипертириодизмын үед бамбай идэвхжүүлэгч дааврын рецепторт (TSHR) агонист үйлдэлтэй ауто-эсрэгбие нөлөөлснөөр бамбайн дааврын идэвхжил нэмэгддэг. Грейвсийн гипертириодизмтэй хүмүүст нүдний ухархайн фибробласт ба адипоцитийн TSHR рецепторт ауто-эсрэгбие ба TSHR-өвөрмөц Т эсүүд нөлөөлж Грейвсийн офтальмопати үүсдэг. Дархлаа тогтолцооны өөрийн эсийг үл довтлох чанарын хэмжигдэхүүн нь тэдгээрийн идэвхжүүлэгч болон саатуулагч уургуудын тэнцвэрт байдал дээр тогтдог. *CTLA-4* уураг нь идэвхжсэн Т лимфоцитийн гадаргуу дээр илэрдэг ба гемостаз болон дархлааны сөрөг зохицуулгын үүрэгтэй. *CTLA-4* нь антиген илчлэгч эсийн CD80/86 молекултай холбогдон саатуулах нөлөөг үзүүлдэг. Иймээс *CTLA-4*-ийн экспресс, идэвхжлийг зохицуулдаг хүчин зүйлсийн нэг болох rs5742909 полиморфизм дархлааны тэнцвэрт байдалд нөлөөлж, улмаар хариу урвалын хяналт алдагдаж аутоиммун өвчин үүсэхэд нөлөөлдөг байх магадлалтайг бусад судлаачид тэмдэглэсэн байна. **Зорилго:** *CTLA-4* генийн rs5247909 полиморфизмын аллель, генотипийн давтамжийг судалгааны бүлгүүдэд харьцуулан судлах. **Арга, аргачлал:** Грейвсийн офтальмопатитай 82, Грейвсийн өвчтэй 98, хяналтын бүлэгт 101 хүн судалгаанд оролцсон. Оролцогчдоос цус авч ДНХ ялган, бодит хугацааны ПГУ, аллель өвөрмөц ПГУ-аар аллель, генотипийг тодорхойлов. Үр дүнд статистик боловсруулалт хийхдээ STATA 13.0 программыг ашиглав. Харьцуулсан харьцаа (OR)-г бинар логистик регрессийн шинжилгээгээр тооцоолсон. **Үр дүн:** Судалгааны үр дүнгээр rs5742909 полиморфизмын Т аллель Грейвсийн офтальмопатигаар өвчлөх эрсдлийг 3.95 (95% ИИ, 2.09-7.48; p<0.001) дахин нэмэгдүүлж байна. C/T (OR=4.94; 95% ИИ, 2.26-10.76; p<0.001) генотип Грейвсийн офтальмопатитай бүлэгт харьцангуй өндөр давтамжтай байсан. Түүнчлэн Грейвсийн өвчтэй бүлэгтэй харьцуулахад C/T (OR=2.47; 95% ИИ, 1.25-4.89; p=0.0096) генотип Грейвсийн офтальмопатитай бүлэг давамгай илэрч байсан нь онцлог үр дүн байлаа. **Дүгнэлт:** *CTLA-4* генийн rs5742909 полиморфизмын Т аллель, C/T генотип Грейвсийн офтальмопатитай бүлэгт харьцангуй өндөр давтамжтай ба хүчтэй эрсдэлт нөлөөтэй байсан нь уг полиморфизм Грейвсийн офтальмопатиг ялган оношлоход ашиглах боломжтой генетик маркер байж болохыг харуулж байна.

Үндэслэл: Грейвсийн офтальмопати (ГО) (Graves' Ophthalmopathy) буюу бамбайн шалтгаант нүдний эмгэг (БШНЭ) нь бамбайн аутоиммун өвчнөөс шалтгаалж, нүдний ухархай ба нүдний эргэн тойрны эд дээр үрэвсэл явагдаж улмаар нүдний дээд зовхи татагдах, нүд хөөж хавагнаж, улайх, коньюктивит, нүд бүлтийх шинжээр илэрдэг эмгэг юм.[1] Нийт аутоиммун бамбай булчирхайн аутоиммун өвчтэй хүмүүсийн

25-50%-д БШНЭ тодорхойлогдох ба үүний 80% орчим нь Грейвсийн өвчин буюу гипертиреоз, үлдсэн нь гипотиреоз болон эутиреоз байна. Тэдгээрийн 3-5% нь уг өвчний явц хүндэрч мэс заслын эмчилгээ хийлгэдэг байна.[2] Бусад аутоиммун өвчний адилаар эмэгтэйчүүдийн дунд ГО-д өртөмхий байдал нь зонхилон тохиолддог бөгөөд 100000 хүн амд 16 эмэгтэйд 2.9 эрчүүд ноогддог болохыг судлаачид дурьджээ.[3] Хэдийгээр эмэгтэйчүүд эрчүүдээс илүү өртдөг ч түүний хүндрэл нь эрчүүдэд давамгай байдаг.[4,5] Мөн ГО нь удамшил ба гадаад хүчин зүйлсийн хоршлын үндсэн дээр бий болдог.[6,7]

ГО-ын хүндрэлийг ихэсгэдэг эрсдэлт хүчин зүйлс болох угсаатны ялгаатай байдал (Африк хүмүүс >Америкчууд > Европчууд > Азичууд), хүйс, иодын радиоактив эмчилгээ, гипер болон гипотириодизм зэргийг авч үздэг.[4] Мөн түүнчлэн нүдний ухархайн анатомийн бүтэц нь ГО-ийн хүндрэлд хамааралтай байдаг. Жишээ нь нүдний ухархайн хажуугийн хана өргөн өнцөгтэй байснаас нүдний эргэн тойронд зай багасаж нүд бүлтийх, мэдрэл дарагдах гэх мэт хүндрэл үүсэхэд нөлөөлдөг.[4] Өөрчилж болох эрсдэлт хүчин зүйл буюу тамхи таталт нь ГО-ийн хүндрэл болон эрсдэлийг хамтад нь 7.7-20.2 дахин нэмэгдүүлдэг байна.[8]

Өмнө хийгдэж байсан судалгааны үр дүнгээр ГО-ийн эмгэг жамын үед нүдний алимны арын эдэд Т эсийн нэвчдэс үүсэж, нүд хөдөлгөгч булчин ба нүдний орбитын өөхөн эд болон холбогч эдүүдэд аутоиммун үрэвслийн урвал үүсгэдэг гэж батлагдсан.[1] Дархлаа тогтолцооны өөрийн эсийг үл довтлох чанарын хэмжигдэхүүн нь тэдгээрийн идэвхжүүлэгч болон саатуулагч уургуудын тэнцвэрт байдал дээр тогтдог.[9] Хүний 2q33.2 локус дээр байрлах *CTLA-4* ген нь 4 экзоноос тогтдог. Түүний промотор дараалын -318C/T нэг нуклеотидийн полиморфизм (rs5742909) нь тухайн генийн экспрессийн зохицуулгын үүргийг гүйцэтгэж, 3 төрлийн изоформыг бүтээнэ.[10] Түүний үйлчлэлийн механизм нь идэвхэжсэн Т эсийн гадаргуу дээр илэрч Т эсийн рецептор ба (TCR) CD28-ийн дохиог хориглох ба антиген илчлэгч эсийн (APC)-ийн B7 (CD80/86) молекултай холбогдож, Т эсийн үйл ажиллагааг идэвхгүйжүүлэх замаар грейвсийн өвчин гэх мэт аутоиммун өвчнөөс хамгаалах үүрэгтэй.[11–13]

Судлаач Hironori U. (2003) нарын судалгаагаар *CTLA-4* генийн полиморфизмууд нь аутоиммун өвчинд хамааралтай гэж Nature сэтгүүлд хэвлүүлсэн.[13] Мөн түүнчлэн тус генийн промоторын дарааллын rs5742909 полиморфизмын -319/T аллель нь аутоиммун өвчнөөс хамгаалах нөлөөтэй гэж Wang нарын судалгааны үр дүн гарсан[14] ч, Mohamed нарын судалгаанд тус полиморфизмын -319T/T генотип нь аутоиммун өвчин болох рейматойд артритийн эрсдэлт хүчин зүйл (OR=1.97, 95% CI=1.21–3.18, P=0.005) болдог гэсэн үр дүн гарчээ.[15]

Зорилго: *CTLA-4* генийн rs5247909 полиморфизмын аллель, генотипийн давтамжийг судалгааны бүлгүүдэд харьцуулан судлах.

Арга, аргачлал: Бид энэхүү судалгааг аналитик судалгааны тохиолдол хяналтын загвар ашиглан хийж гүйцэтгэв. Судалгааг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын Сургуулийн Молекул биологи-Удамзүйн тэнхимийн судалгааны лабораторийг түшиглэн хийж гүйцэтгэв. АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2021 оны 2 сарын 19-ний өдрийн 2021/3-02 тоот шийдвэрээр судалгааны ажлыг эхлүүлэх зөвшөөрөл авсан. Судалгаанд нийт 281 хүн хамрагдсан бөгөөд ШУГТЭ-ээр үйлчлүүлсэн үйлчлүүлэгчдийг хамруулж, БШНЭ-тэй 82, Грейвсийн өвчтэй 98, хяналтын бүлэгт 101 хүнийг оролцууллаа.

Оролцогчдын захын вений судаснаас ЭДТА бүхий хуруу шилэнд 3 мл цус авсан. Түүнээс геномын ДНХ-ийг Bioneer (БНСУ) компаний AccuPrep Genomic DNA Extraction (K-3032G) цомгоор ялгасан. Narooie-Nejad M, (2016)[16] нарын судалгаанд ашигласан праймерын дарааллыг ашиглан С аллель 201 х.н, Т аллель 141 х.н урттай бүтээгдэхүүнийг аллель өвөрмөц ба бодит хугацааны ПГУ-ын аргаар олшруулж генотипийг тодорхойлов.[16] (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1. Праймерын дараалал

Праймерын дараалал		**Tm °C**	**GC%**	Урт **(нуклеоитд)**
Fi C	5`- CTC CAC TTA GTT ATC CAG ATC TTC -3`	54	42%	24
Ro	5`- TGC ACA CAC AGA AGG CTC TTG AAT A-3`	61	44%	25
Fo	5`- CAA TGA AAT GAA TTG GAC TGG ATG -3`	54	38%	24
Ri T	5`- ACT GAA GCT TCA TGT TCA CTC TA -3	56	39%	23

ПГУ-д Bioneer (БНСУ) компаний үйлдвэрлэсэн AccuPower® HotStart PCR PreMix (K-5050), AccuPower® 2X GreenStar™ qPCR Master Mix (K-6253) уусмал ашиглаж доорх дулааны нөхцлөөр бх-ПГУ, АӨ-ПГУ хийж гүйцэтгэв. (Хүснэгт 2).

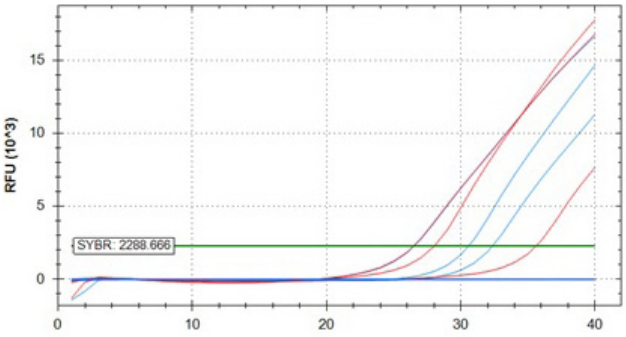
Хүснэгт 2. бхПГУ, АӨ-ПГУ-ын дулааны нөхцөл

ПГУ-ын шат	Температур	Хугацаа	Цикл
Денатураци	95 °C	5 мин	1 удаа
Денатураци	95 °C	20 сек	
С Аллелийн праймер холбогдох	50 °C	30 сек	35 удаа
Т Аллелийн праймер холбогдох	52 °C		
Уртсах	72 °C	20 сек*	
Уртсах	72 °C	5 мин	1 удаа

Тайлбар: **Sybr будаг унших*

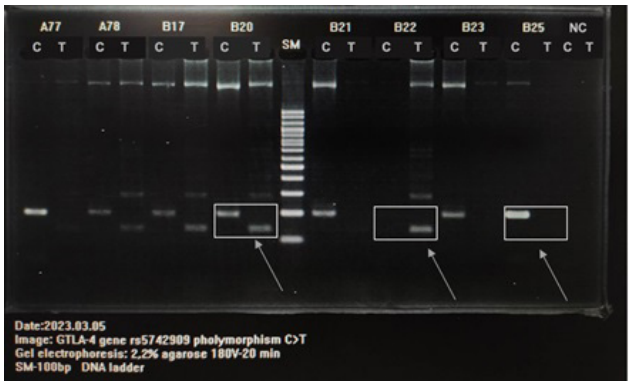
Бид аллель өвөрмөц ПГУ-аар олширсон бүтээгдэхүүнийг 2.2%-ийн агарозын гель бэлтгэн 25 минутын турш 180 вольт хүчдэлд гүйлгэж, 30 минутын турш бромт этидээр будаж үр дүнг тодорхойлов. Үр дүнд статистик боловсруулалт хийхдээ STATA 13.0 (StataCorp, АНУ) программыг ашигласан. Харьцуулсан харьцаа (OR)-г бинар логистик регрессийн шинжилгээгээр тооцоолж, Пирсоны Хи-квадрат тестээр p утгыг тодорхойлж, Харди-Вайн Бергийн хуулиар аллель, генотипийн таамаглагдсан утгыг тооцоолов.

Үр дүн: Судалгаанд ашигласан бодит хугацааны ПГУ ба аллель өвөрмөц ПГУ-ын үр дүн хоорондоо бүрэн тохирч байлаа. (Зураг 1), (Зурагт 2)



Зураг 1: Бодит хугацааны ПГУ-аар rs5247909 полиморфизмыг тодорхойлсон дүн

Тайлбар: Улаан өнгөөр С аллель, цэнхэр өнгөөр Т аллелийн өвөрмөц бүтээгдэхүүний олшролтын муруйг харуулав. Хэвтээ тэнхлэгт циклийн тоо, босоо тэнхлэг флуоресценцийн харьцангуй нэгжийг харуулав.



Зураг 2. *CTLA-4* генийн rs5742909 полиморфизмыг АӨ-ПГУ аргаар тодорхойлсон байдал

Тайлбар: А77-В25-сорьцны дугаар, В20 сорьц-гетерозигот -318С/Т, В22 – гомозигот -318Т, В25 сорьц-гомозигот -318С генотип тус тус илэрсэн. SM – Хэмжээ тогтоогуур; NC – Сөрөг хяналт;

Судалгааны үр дүнгээр rs5742909 (-318C/T) полиморфизмын Т аллелийн давтамжийг бүлгүүдэд харьцуулахад ГО-тэй болон грейвстэй бүлгүүдэд харьцангуй өндөр давтамжтай илэрсэн. Тодруулбал, хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад Т аллель Грейвсийн офтальмопатигаар өвчлөх эрсдлийг 3.95 (95% ИИ, 2.09-7.48; p<0.001) дахин нэмэгдүүлж байлаа. Генотипийн давтамжийг харьцуулахад rs5742909 полиморфизмын С/Т (OR=4.94; 95% ИИ, 2.26-10.76; p<0.001) генотип ГО-тай бүлэгт харьцангуй өндөр давтамжтай байсан буюу ГО-оор өвчлөх эрсдлийг хүчтэй нэмэгдүүлж байна. Хяналттай харьцуулахад С/Т эсвэл Т/Т генотипийг тээгч нь ГО-аар өвчлөх эрсдэл 4.89 (95% ИИ, 2.36-10.17; p<0.001) дахин өндөр байна. (Хүснэгт 3)

Хүснэгт 3. *CTLA-4* генийн rs5742909 (-318C/T) полиморфизмын аллель генотипийн давтамж

-318C/T	ГО-тэй бүлэг (n=82)		Хяналтын бүлэг (n=108)		OR (95% CI)	P утга
	n	f	n	f		
C	123	0.75	187	0.87	1.0	-
T	39	0.25	15	0.13	3.95 (2.09-7.48)	<0.001
C/C	47	0.57	88	0.81	1.0	-
C/T	29	0.35	11	0.10	4.94 (2.26-10.76)	0.0001
T/T	5	0.08	2	0.09	4.68 (0.87-25.06)	0.071
C/T+T/T	34	0.41	13	0.12	4.89 (2.36-10.17)	<0.0001

Тайлбар: *Хувьсагчууд бодит тоо (n) болон давтамжаар (f) илэрхийлэгдсэн. Статистик үнэн магадлалыг Пирсоны хи квадрат тест ашиглан тооцоолсон. p утга 0.05-аас бага байх үед статистик үнэн магадлалтай гэж үзсэн p<0.05*, p<0.01** OR – Харьцангуй харьцаа (odd`s ratio); 95% CI – 95% итгэх интервал;*

Грейвсийн өвчтэй бүлэг ба хяналтын бүлгийг харьцуулсан үр дүнгээр Т аллель, С/Т ба Т/Т генотип грейвсийн өвчтэй бүлэгт давамгай илэрсэн боловч статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсангүй. Харин ГО-тай бүлгийг грейвсийн өвчтэй бүлэгтэй харьцуулахад Т аллель (OR=2.16; 95% ИИ, 1.25-3.77; p=0.0061) ба С/Т (OR=2.47; 95% ИИ, 1.25-4.89; p=0.0096) генотипийн давтамж ач холбогдол бүхий ялгаатай байлаа. Энэ нь *CTLA-4* генийн rs5742909 полиморфизмын Т аллель, Т/Т генотип ГО-д харьцангуй өвөрмөц, өндөр эрсдэлтэй буюу уг полиморфизм ГО-д ач холбогдол өндөртэй генетик маркер болохыг харуулж байна. (Хүснэгт 4)

Хүснэгт 4. *CTLA-4* генийн rs5742909 (-318C/T) полиморфизмын аллель генотипийн давтамж

-318C/T	Грейвстэй бүлэг (n=98)		Хяналтын бүлэг (n=108)		OR (95% CI)	P утга
	n	f	n	f		
C	171	0.87	187	0.87	1.0	-
T	25	0.13	15	0.13	1.82 (0.93-3.57)	0.08
C/C	76	0.77	88	0.81	1.0	-
C/T	19	0.19	11	0.10	2.0 (0.89-4.47)	0.091
T/T	3	0.03	2	0.09	1.73 (0.28-10.67)	0.551
C/T+T/T	22	0.22	13	0.12	1.96 (0.92-4.15)	0.079

Тайлбар: *Хувьсагчууд бодит тоо (n) болон давтамжаар (f) илэрхийлэгдсэн. Статистик үнэн магадлалыг Пирсоны хи квадрат тест ашиглан тооцоолсон. p утга 0.05-с бага байх үед статистик үнэн магадлалтай гэж үзсэн p<0.05*, p<0.01** OR – Харьцангуй харьцаа (odd`s ratio); 95% CI – 95% итгэх интервал;*

Хэлцэмж: Бид энэхүү судалгаагаар Монгол хүнд *CTLA4* генийн rs5742909 (-318C/T) полиморфизмын аллель, генотипийн давтамжийг грейвсийн офтальмопати болон грейвсийн өвчинд өртөмхий байдалтай холбон судалж статистик ач холбогдол бүхий үр дүн гарган авлаа. Тодруулбал: уг полиморфизмын Т аллель, С/Т генотип грейвсийн офтальмопатитай хүмүүсийн харьцангуй өндөр давтамжтай илэрсэн. Өөрөөр хэлбэл уг Т аллель, С/Т генотип грейвсийн офтальмопатигаар өвчлөх эрсдлийг 3.95–4.94 дахин нэмэгдүүлж байлаа. Хэдийгээр дэлхий дахинд хийгдсэн ихэнх судалгаанд тус генийн 1-р экзоны +49A/G полиморфизмыг түлхүү судлагдсан боловч цөөн хэдэн судалгаагаар rs5742909 полиморфизм нь Грейвсийн өвчин ба Грейвсийн офтальмопатид нөлөөлдөг болох нь харагдаж байна.[17,18] Азид хийгдсэн зарим судалгааны үр дүн бидний судалгааны үр дүнтэй нийцэж байна. Харин Европ хүмүүсийн дунд хийгдсэн судалгаагаар *CTLA-4* генийн +49A/G полиморфизмын G аллель [p=5.9 x 10(-6), odds ratio (OR) 1.65], интроны +1822C/T полиморфизмын Т аллель p=7.7 x 10(-6), OR 1.64) нь ГО-д эрсдэлт нөлөөтэй боловч -318C/T нь статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илрээгүй байна.[19] Энэ нь ГО-ын хүндрэлийг ихэсгэдэг эрсдэлт хүчин зүйлс болох угсаатаны ялгаатай байдалтай холбоотой байж болох юм.

Дүгнэлт: *CTLA-4* генийн rs5742909 полиморфизмын Т аллель, С/Т генотип Грейвсийн офтальмопатитай бүлэгт харьцангуй өндөр давтамжтай ба хүчтэй эрсдэлт нөлөөтэй байсан нь уг полиморфизм Грейвсийн офтальмопатиг ялган оношлоход ашиглах боломжтой генетик маркер байж болохыг харуулж байна.

Ном зүй:

1. *Bahn RS. Graves' ophthalmopathy. N Engl J Med. 2010 Feb 25;362(8):726-38. doi: 10.1056/NEJMra0905750. PMID: 20181974; PMCID: PMC3902010.*
2. *Prabhakar BS, Bahn RS, Smith TJ. Current Perspective on the Pathogenesis of Graves' Disease and Ophthalmopathy. Endocr Rev. 2003;24(6). doi:10.1210/er.2002-0020*
3. *Bartley GB. The epidemiologic characteristics and clinical course of ophthalmopathy associated with autoimmune thyroid disease in Olmsted County, Minnesota. Trans Am Ophthalmol Soc. 1994;92:477-588. PMID: 7886878; PMCID: PMC1298522.*
4. *Stan MN, Bahn RS. Risk factors for development or deterioration of Graves' ophthalmopathy. Thyroid. 2010;20(7). doi:10.1089/thy.2010.1634*
5. *Manji N, Carr-Smith JD, Boelaert K, et al. Influences of age, gender, smoking, and family history on autoimmune thyroid disease phenotype. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2006;91(12). doi:10.1210/jc.2006-1402*
6. *Yin X, Latif R, Bahn R, Tomer Y, Davies TF. Influence of the TSH receptor gene on susceptibility to Graves' disease and Graves' ophthalmopathy. Thyroid. 2008 Nov;18(11):1201-6. doi: 10.1089/thy.2008.0098. PMID: 18925838; PMCID: PMC2857451.*
7. *Ban Y, Davies TF, Greenberg DA, et al. Arginine at position 74 of the HLA-DR β1 chain is associated with Graves' disease. Genes Immun. 2004;5(3):203-208. doi:10.1038/sj.gene.6364059*
8. *Tellez M, Cooper J, Edmonds C. Graves' ophthalmopathy in relation to cigarette smoking and ethnic origin. Clin Endocrinol (Oxf). 1992;36(3). doi:10.1111/j.1365-2265.1992.tb01445.x*
9. *С.Цогтсайхан. Дархлаа Судлал; 2014. Хуудас: 224-228*
10. *Valk E, Rudd CE, Schneider H. CTLA-4 trafficking and surface expression. Trends Immunol. 2008;29(6):272-279. doi:10.1016/j.it.2008.02.011*
11. *Hosseini A, Gharibi T, Marofi F, Babaloo Z, Baradaran B. CTLA-4: From mechanism to autoimmune therapy. Int Immunopharmacol. 2020;80. doi:10.1016/j.intimp.2020.106221*
12. *Gough SCL, Walker LSK, Sansom DM. CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. Immunol Rev. 2005;204. doi:10.1111/j.0105-2896.2005.00249.x*
13. *Ueda H, Howson JMM, Esposito L, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. Nature. 2003;423(6939). doi:10.1038/nature01621*
14. *Wang XB, Zhao X, Giscombe R, Lefvert AK. A CTLA-4 gene polymorphism at position −318 in the promoter region affects the expression of protein. Genes Immun. 2002;3(4):233-234. doi:10.1038/sj.gene.6363869*
15. *Mousavi M, Shayesteh MH, Jamalzehi S, et al. Association of the genetic polymorphisms in inhibiting and activating molecules of immune system with rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis. Journal of Research in Medical Sciences.*

2021;26(1):22. doi:10.4103/jrms.JRMS_567_20
16. Narooie-Nejad M, Taji O, Kordi Tamandani DM, Kaykhaei MA. Association of CTLA-4 gene polymorphisms −318C/T and +49A/G and Hashimoto's thyroidits in Zahedan, Iran. Biomed Rep. 2017;6(1):108-112. doi:10.3892/br.2016.813
17. Han SZ, Zhang SH, Li R, Zhang WY, Li Y. The common -318C/T polymorphism in the promoter region of CTLA4 gene is associated with reduced risk of ophthalmopathy in Chinese Graves' patients. Int J Immunogenet. 2006;33(4). doi:10.1111/j.1744-313X.2006.00614.x
18. Park YJ, Chung HK, Park DJ, et al. Polymorphism in the promoter and exon 1 of the cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene associated with autoimmune thyroid disease in Koreans. Thyroid. 2000;10(6). doi:10.1089/thy.2000.10.453
19. Vaidya B, Oakes EJC, Imrie H, et al. CTLA4 gene and Graves' disease: Association of Graves' disease with the CTLA4 exon 1 and intron 1 polymorphisms, but not with the promoter polymorphism. Clin Endocrinol (Oxf). 2003;58(6). doi:10.1046/j.1365-2265.2003.01778.x

The study of *CTLA-4* gene rs5742909 Polymorphism with Graves' Ophthalmopathy

Elberelt U[1], Oyungerel B[1,2], Chimedlkhamsuren G[1], Minjin B[1], Sarantuya J[1,3]

[1]Department of Molecular Biology and Genecis, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Department of Ophthalmology, The State Third Central Hospital
[3]Institutes of Biomedical Sciences, MNUMS
E-mail: Elberelt.u777@gmail.com, Tel: +976-80117290

Background: Graves' disease is an autoimmune disease characterized by hyperthyroidism. In Graves' hyperthyroidism, TSHR autoantibodies increase thyroid hormone activity. Individuals with Graves' hyperthyroidism develop Graves' ophthalmopathy through the action of autoantibodies and TSHR-specific T cells on TSHR receptors in orbital fibroblasts and adipocytesf. A measure of the immunity of the immune system to its own cells depends on the balance of their activating and inhibitory proteins. *CTLA-4* protein is expressed on the surface of activated T lymphocytes and plays a role in hemostasis and negative regulation of immunity. *CTLA-4* binds to the CD80/86 molecule on antigen-presenting cells and exerts an inhibitory effect. Therefore, the rs5742909 polymorphism, which is one of the factors that regulate the expression and activation of *CTLA-4*, may affect the immune balance, resulting in loss of response control and the development of autoimmune diseases.
Aim: To compare allele and genotype frequency of *CTLA-4* gene rs5247909 polymorphism in study groups.
Materials and Methods: A total of 180 unrelated GD and GO patients, and 101 people in the control group participated in the study. Genomic DNA was extracted from participants from peripheral blood and alleles and genotypes were determined by real time PCR and allele-specific PCR. STATA 13.0 software was used for statistical processing of the results. Odds ratios (OR) were calculated by Binary Logistic Regression analysis.
Results: The -319T allele of the rs5742909 SNP increasing the risk of Graves' ophthalmopathy by 3.95 (95% CI, 2.09-7.48; p<0.001 times compared with controls. C/T (OR=4.94; 95% CI, 2.26-10.76; p<0.001) genotype were significantly more frequent in the group with Graves' ophthalmopathy. Moreover, compared to the group with Graves' disease the frequency of C/T (OR=4.43; 95% CI, 2.15-9.13; p=0.001) genotype was significantly higher among Graves' ophthalmopathy patients.
Conclusion: *CTLA-4* gene rs5742909 polymorphism T allele and C/T genotype had a relatively high frequency and a strong risk effect in the group with Graves' ophthalmopathy, indicating that this polymorphism may be a useful genetic marker for the differential diagnosis of Graves' ophthalmopathy.

Keywords: Autoimmune, Ophthalmopathy, Genetic marker, Grave`s disease, Single nucleotide polymorphism