

## مقاله تحقیقی

### بررسی همراهی چندشکلی rs3761548 در ژن *foxp3* با بیماری میگرن

لیلا سلگی، صدیقه فراهانی، شهره زارع کاریزی\*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران

\*مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: shohrehzare@yahoo.com

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین- پیشوا، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۳

تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۱۶

#### چکیده

FOXP3 برای تولید و عملکرد سلول‌های تنظیمی T (Treg) مورد نیاز است. این ژن در تنظیم پاسخ‌های التهابی و نمو سلول‌های عصبی دخیل است. میگرن یک بیماری التهابی، با توارث چند عاملی می‌باشد. به نظر می‌رسد که ژن‌های متعددی در بروز این بیماری دخیل هستند. هدف از مطالعه حاضر بررسی رابطه چندشکلی rs3761548 در ژن *foxp3* با استعداد ابتلا به بیماری میگرن است. در این مطالعه ۱۴۸ بیمار مبتلا به میگرن و ۱۴۹ فرد سالم به عنوان کنترل شرکت کردند. پس از استخراج DNA، تعیین ژنوتیپ با استفاده از روش PCR-RFLP انجام شد. آزمون مربع کای به منظور بررسی تفاوت بین فراوانی آللی و ژنوتیپی افراد بیمار و کنترل با استفاده از نرم افزار SPSS ver16 و میزان خطر نسبی افراد با میگرن با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک بررسی گردید. تفاوت معناداری بین توزیع آللی و ژنوتیپی چندشکلی rs3761548 *foxp3* در زنان و مردان مبتلا به میگرن نسبت به گروه کنترل وجود ندارد (p=0.08). این مطالعه، اولین گزارش مربوط به ارتباط چندشکلی ژن *foxp3* با استعداد ابتلا به میگرن است. مطالعه بیشتر مسیرهای مرتبط با FOXP3 و شبکه‌های ژنی ممکن است منجر به درک بهتر پاتوفیزیولوژی میگرن و علائم مرتبط با آن شود.

واژه‌های کلیدی: میگرن، چندشکلی، rs3761548، ژن *foxp3*، سلول‌های تنظیمی T

#### مقدمه

بر سابقه‌ی خانوادگی میگرن باید به شیوه‌ی زندگی فرد نیز توجه داشت و از وجود استرس، نحوه‌ی تغذیه، استفاده از دخانیات، تغییر الگوی خواب، کارکردن زیاد و خستگی بیش از حد و مصرف داروها در زندگی روزانه‌ی فرد آگاه شد. میگرن به عنوان یک اختلال مزمن، میلیون‌ها انسان را با سیر بالینی غیرقابل پیش‌بینی و متغیر با یک سری عوامل پلی‌ژنتیک و اپی‌ژنتیک مبتلا می‌سازد. به بیان دیگر، میگرن به عنوان یک بیماری چند عاملی پلی‌ژنتیک در نظر گرفته می‌شود و به نظر

امروزه با توجه به تغییر روش زندگی شهرنشینی و عوارض ناشی از آن، به ویژه شرایط پراسترس زندگی شهری، زمینه برای بروز بیماری‌های مختلف از جمله سردرد فراهم شده است. بیش از ۹۰ درصد از انسان‌ها در طول سال حداقل یک حمله سردرد را تجربه می‌کنند. سردرد میگرنی از جمله شایعترین علل مراجعه افراد به کلینیک‌های سرپایی بیماری‌های مغز و اعصاب است (۱). در بررسی میگرن، علاوه

migraine headache<sup>۱</sup>

بیماران، افرادی که از سردردهای شبه میگرنی، سردردهای خوشه‌ای یا سایر سردردهای حاصل از بیماری‌های روحی و عصبی رنج می‌بردند، حذف شدند. زنان دارای میگرن‌های حاملگی نیز که بیماری آنها ناشی از نوسانات هورمونی در طی دوران بارداری است، از این مطالعه حذف شدند. میانگین سنی بیماران بین ۱۹ تا ۵۶ (۳۳/۵±۹/۸) و میانگین سنی افراد سالم بین ۲۰ تا ۵۵ (۳۲/۹±۷/۹) انتخاب گردید. نمونه‌ها شامل ۳۵ مرد و ۱۱۳ زن، گروه کنترل شامل ۵۸ مرد و ۹۱ زن بودند. پس از توضیح هدف تحقیق و تکمیل فرم مشخصات بیمار و کسب رضایت نامه ۵ سی سی خون محیطی از ورید افراد مورد مطالعه به لوله‌های حاوی EDTA منتقل شد. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری M&D انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده در طول موج‌های ۲۶۰ nm و ۲۸۰ nm با استفاده از دستگاه نانودراپ ارزیابی شد.

#### تعیین ژنوتیپ چندشکلی rs3761548

تعیین ژنوتیپ چندشکلی rs3761548 ژن *foxp3* با روش PCR-RFLP انجام شد. بدین منظور، ابتدا قطعه حاوی جایگاه چند شکلی تکثیر شد. توالی پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر در جدول شماره (۱) آورده شده است. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر و ۱۰ میکرولیتر 2x MasterMix (Amplicon، دانمارک) صورت گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل، دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۶ درجه سانتیگراد ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد و طویل سازی نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد صورت گرفت. جهت شناسایی پلی مورفیسم rs3761548 محصول PCR مربوطه با استفاده از آنزیم محدودالایر *PstI* مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. محصولات حاصل از هضم آنزیمی روی ژل آکرلامید ۱۲٪ برده شده، سپس قطعات حاصل بررسی شدند. جهت تأیید نتایج از هر ژنوتیپ یک نمونه تعیین توالی شد.

می‌رسد که ژن‌های زیادی در این بیماری دخیل هستند (۲،۳). اکثر کسانی که مبتلا به میگرن هستند عضوی از خانواده آن‌ها نیز به این اختلال دچار می‌باشند، بنابراین ژنتیک نقش مهمی در این بیماری بازی می‌کند (۴). امروزه مشخص شده که ژن‌های مرتبط با متابولیسم دوپامین و سروتونین، عملکرد عروق و تنظیم هورمون، همچنین التهاب‌های عصبی می‌توانند با این بیماری در ارتباط باشند (۵،۶). ژن *foxp3* روی کروموزوم X واقع شده و نقش مهمی در نمو و عملکرد سلول‌های T تنظیمی دارد. FOXP3 یک فاکتور نسخه‌برداری است که نقش اصلی در کنترل هموستازی ایمنی به واسطه سلول‌های Treg دارد. عملکرد تنظیم‌گری FOXP3 ممکن است مانع القاء پاسخ ایمنی علیه سرطان و عوامل عفونی شود. همچنین FOXP3 برای اختصاصیت و حفظ سلول‌های Treg ضروری است، بنابراین یک تنظیم‌گر اصلی تلقی می‌شود. به تبع، سطح بیان و پلی مورفیسم ژن *foxp3* در بسیاری از بیماری‌های مرتبط با ایمنی مطالعه شده است (۷). مطالعات زیادی در مورد تأثیر ژن *foxp3* روی بیماری‌های خودایمنی و التهابی مختلف انجام گردیده است (۸-۱۲)، ولی تاکنون مطالعه‌ای در مورد ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن *foxp3* و استعداد ابتلا به بیماری میگرن گزارش نشده است، لذا پژوهش حاضر ارتباط پلی مورفیسم rs3761548 با بیماری میگرن را مورد بررسی قرار داده است.

#### مواد و روش‌ها

##### نمونه‌گیری و استخراج DNA

در این پژوهش موردی-شاهدی تعداد ۱۴۹ نمونه ی سالم و ۱۴۸ نمونه بیمار مبتلا به میگرن نفر مبتلا به میگرن (شامل ۴۳ نفر میگرن با اورا و ۱۰۵ نفر میگرن بدون اورا) از بیمارستان امام حسین واقع در شهر تهران مورد مطالعه قرار گرفته شد. استفاده از ابزار تحقیق شامل مصاحبه بالینی منطبق بر معیارهای تشخیصی استاندارد و نهایتاً توسط متخصص اعصاب معاینه و نوع میگرن آنها براساس دستورالعمل ICHD تایید شدند (۱). افراد گروه کنترل، از نظرسابقه بیماری فاقد سردردهای میگرنی بوده و از بین

جدول ۱ - توالی پرایمر جهت تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs3761548.

نام پرایمر	توالی پرایمر (3' → 5')	طول محصول PCR
rs3761548F	GCCCTTGCTACTCCACGCCTCT	487bp
rs3761548R	CAGCCTTCGCCAATACAGAGCC	

### آنالیز آماری

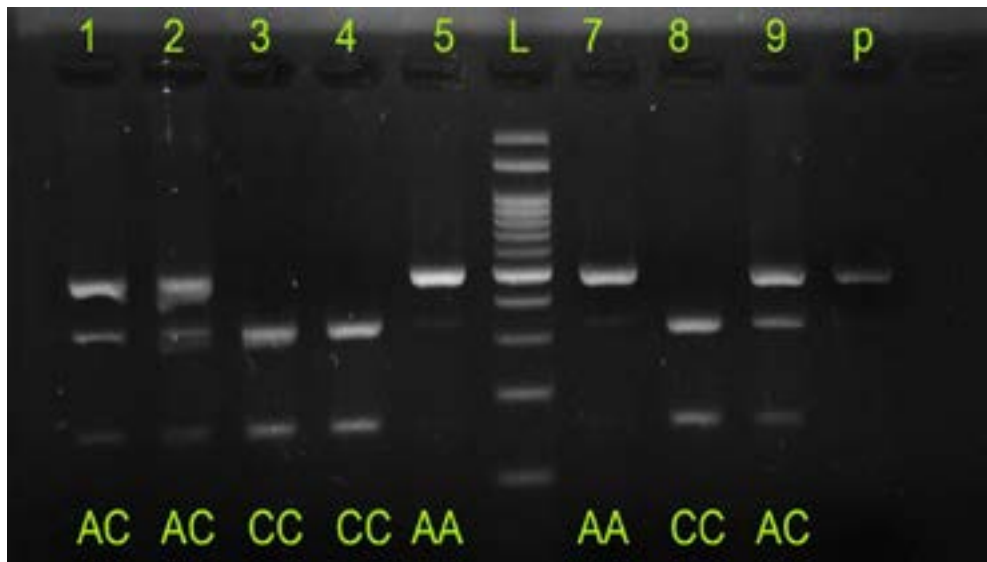
جهت تعیین وجود یا عدم تعادل در دو گروه مورد مطالعه از آزمون مربع کای (χ<sup>2</sup>) و نرم افزار SNPSTAT و میزان خطر نسبی افراد با میگرن با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک بررسی گردید.

### نتایج

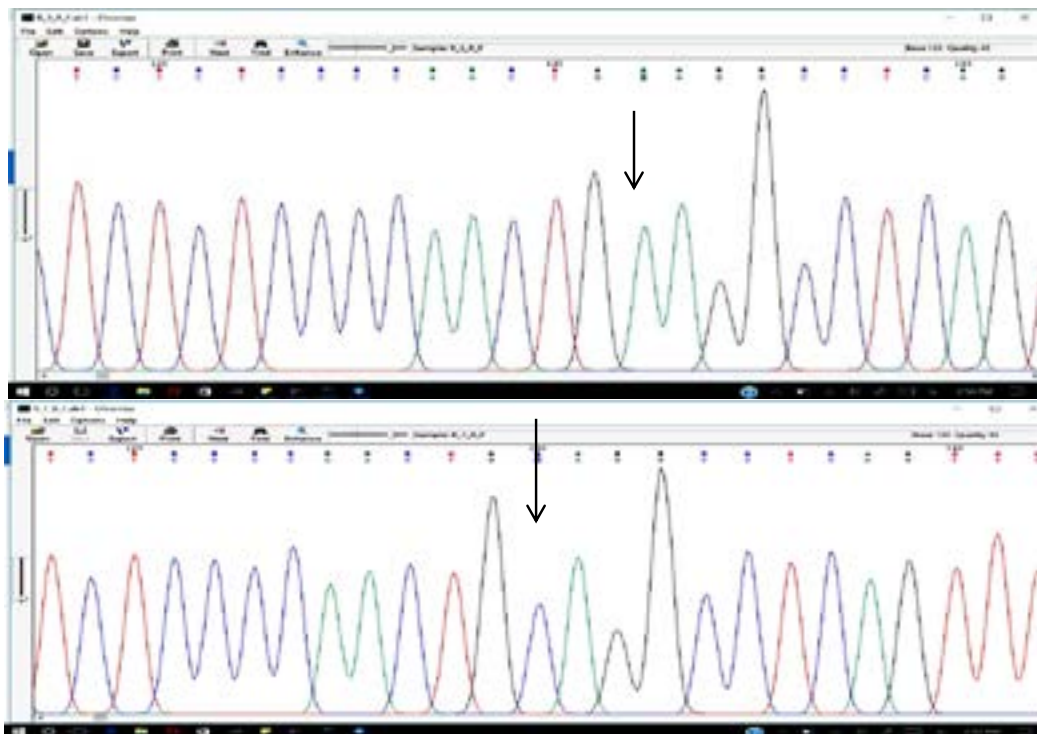
در این مطالعه ارتباط چندشکلی rs3761548 در ژن *foxp3* با استعداد ابتلا به میگرن در ۱۴۸ مبتلا به بیماری میگرن و ۱۴۹ سالم بررسی شد. هر دو گروه کنترل و بیمار از

نظر شرایط تعادل هاردی واینبرگ با درجه آزادی یک در حال تعادل بودند. محصول PCR جهت بررسی چند شکلی rs3761548 طولی معادل ۴۸۷ جفت باز خواهد داشت. برش آنزیمی در ژنوتیپ CC، دو قطعه ۳۲۷ و ۱۶۰ جفت بازی ایجاد می کند. در صورت تشکیل سه قطعه ۳۲۷، ۱۶۰ و ۴۸۷ جفت بازی فرد واجد ژنوتیپ CA است و در صورت تشکیل یک قطعه ۴۸۷ روی ژل فرد واجد ژنوتیپ AA است (شکل ۱).

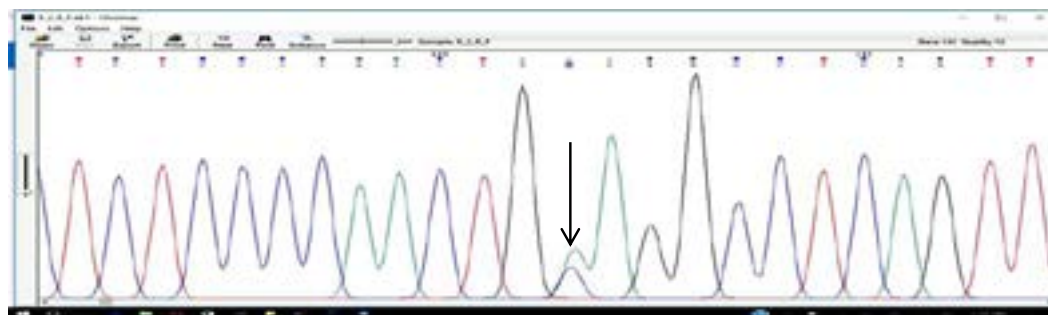
جهت حصول اطمینان از نتایج PCR-RFLP یک نمونه از هر ژنوتیپ تعیین توالی شد. شکل های ۲ تا ۴ معرف هر یک از ژنوتیپ ها می باشد.



شکل ۱ - الگوی الکتروفورزی مربوط به rs3761548. حرف L نشانه ی Ladder100bp ( شرکت فرمنتاز) و P نشانه محصول PCR قبل از هضم آنزیمی می باشد. زیر هر چاهک ژنوتیپ مربوطه نوشته شده است.



شکل ۳ - الکتروفورگرام مربوط به ژنوتیپ CC چندشکلی rs3761548 با پرایمر فرورارد.



شکل ۴: الکتروفورگرام مربوط به ژنوتیپ AC چندشکلی rs3761548 با پرایمر فرورارد.

ژنوتیپ‌های مشاهده شده در زنان دارای سابقه میگرن در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری معنادار نیست ( $p > 0.05$ ) (جدول ۲).

فراوانی آللی C و A و فراوانی ژنوتیپی در چندشکلی rs3761548 در بیماران مذکر مبتلا به میگرن به ترتیب ۵۵ درصد و ۴۵ درصد و در مردان کنترل ۶۰٪ و ۴۰٪ بود. همان طور که در جدول ۳ مشهود است ارتباط معنی داری بین چندشکلی rs3761548 با استعداد ابتلا به میگرن در مردان وجود ندارد ( $p = 0.68$ ).

با توجه به اینکه چندشکلی rs3761548 در ژن FOXP3 روی کروموزوم X واقع شده است، فراوانی آللی و ژنوتیپی در افراد مذکر و مونث جداگانه محاسبه شد. فراوانی آلل C و A در چندشکلی rs3761548 در بیماران مونث مبتلا به میگرن به ترتیب ۶۰ درصد و ۴۰ درصد بود.

فراوانی ژنوتیپ AA و CA و CC در چندشکلی rs3761548 در بیماران مونث مبتلا به میگرن به ترتیب ۱۵٪، ۵۱٪ و ۳۴٪ و در زنان کنترل به ترتیب ۲۹٪، ۳۲٪ و ۳۹٪ بود. نتایج آنالیز آماری آزمون مربع کای نشان داد که

جدول ۲ - نسبت خطر و ضریب اطمینان و درصد فراوانی ژنوتیپ rs3761548 در زنان مبتلا به میگرن.

ژنوتیپ	کنترل های مونث	بیماران مونث	OR(95% CI)	P-value
AA	٪۲۹	۱۵٪	1.65(3.69-0.74)	۰/۰۸
CA	٪۳۲	٪۵۱	0.54 (0.27-1.08)	
CC	٪۳۹	٪۳۴	1 (Reference)	

جدول ۳ - بررسی نسبت خطر و ضریب اطمینان آلی و ژنوتیپی جایگاه rs3761548 در بیماری میگرن در افراد مذکر.

ژنوتیپ آلی	بیمار مذکر	کنترل مذکر	CI OR(95%)	P value
C	۵۵٪	۶۰٪	0.82(0.32-2.11)	۰/۶۸
A	۴۵٪	۴۰٪	1.22(0.47-3.13)	

## بحث

میگرن یکی از شایعترین اختلالات نوروزنیک در سراسر جهان است که حدود ۱۲ درصد از جمعیت بزرگسال را درگیر می کند. شیوع این بیماری در خانمها سه برابر آقایان است. مکانیسمهای پاتوفیزیولوژیک که زمینه ساز میگرن می شوند پیچیده بوده و هنوز به طور کامل شناخته نشده اند. از جمله عواملی که در بروز میگرن نقش دارند می توان به عوامل ارثی، عوامل مسئول پاسخ ایمنی، استرس اکسیداتیو (سیتوکاین، متابولیسم تیروزین، هموسیستئین)، عوامل مرتبط با انتقال درد و احساس (سروتونین، گلوتامات، ژن وابسته به پپتید کلسی تونین و متابولیسم هورمون های جنسی) اشاره کرد (۱۳). از آنجا که FOXP3 به عنوان مارکر مهمی در سلول های Treg است و عملکرد این سلول ها در بیماری های التهابی و خود ایمنی است، در بسیاری از بیماری های خود ایمنی مانند مالتیپل اسکلروزیس، آرتریت روماتوئید، لوپوس اریتماتوزیس سیستمیک و ویتلیگو پلی مورفیسیم های ژن *foxp3* بررسی شده است و ارتباط معنی دار مشاهده شده است (۱۴-۱۷). بیشتر پلی مورفیسیم های *foxp3* در محل اتصال به فاکتورهای

رونویسی (به خصوص GATA3) قرار دارد. این پلی مورفیسیم ها می توانند منجر به نقص در رونویسی FOXP3 و در نتیجه نقص عملکرد سلول های Treg شود (۱۸). حسن نیا و همکاران در سال ۲۰۱۱، چندشکلی  $A > C$  ۳۲۷۹- در ژن *foxp3* را در بیماران ایرانی مبتلا به رینیت آلرژیک در مقایسه با کنترل ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که آلل A با حساسیت به رینیت آلرژیک در ارتباط است (۹). مهدوی و همکاران نیز در تحقیقی به ارزیابی ارتباط چندشکلی rs2232365 در ژن *foxp3* با استعداد ابتلا به مالتیپل اسکلروزیس پرداختند. مطالعه مورد-شاهدی مذکور روی ۹۰ بیمار مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس انجام شد. نتایج این مطالعه اختلاف معناداری بین فراوانی ژنوتایپها در دو گروه بیمار و سالم نشان داد به طوری که فراوانی ژنوتایپ AA و AG در بیماران بیش از گروه کنترل می باشد ( $P=0/0016$ ). نتایج مطالعه مذکور نشان داد که آلل A می تواند به عنوان یک ریسک فاکتور نهفته برای ابتلا به اکثر خود ایمنی ها چه در زنان و چه در مردان در نظر گرفته شود (۱۹). Schraml و همکاران (2009) نشان دادند که چندشکلی

*foxp3* قرار دارد. این واریانت با میزان رونویسی در ژن مذکور و استعداد ابتلا به بیماری‌های خودایمنی مرتبط می‌باشد. مطالعات پیشنهاد می‌کند که احتمالاً با تبدیل آلل C به A جایگاه اتصال برخی از فاکتورهای رونویسی از جمله E47 و c-Myb از بین می‌رود و همین امر باعث کاهش رونویسی ژن *foxp3* می‌شود (۲۳). برای اساس چندشکلی مذکور انتخاب گردید، اما نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پلی‌مورفیسم rs3761548، فاقد ارتباط معنی داری با استعداد ابتلا به بیماری میگرن می‌باشد ( $p > 0/05$ ). در صورتی می‌توان در مورد نتیجه حاصله با قطعیت تصمیم‌گیری شود که چندشکلی مذکور در تعداد بیشتری بیمار مورد بررسی قرار گیرد. همچنین عوامل ژئوگرافی و نژادی نیز باید توجه نمود چرا که فنوتیپ نهایی، حاصل برهمکنش این عوامل می‌باشد. از طرف دیگر پراکندگی (توزیع) SNPها در جوامع مختلف متفاوت است. در نهایت، اثرات فنوتیپی چندشکلی‌های ژنی به وسیله سایر عوامل ژنتیکی یا زمینه ژنتیکی فرد و عوامل محیطی متأثر می‌گردد که بهترین مثال از برهمکنش ژن-محیط در ایجاد یک فنوتیپ است. از اینرو این امر محتمل است که چندشکلی‌ها تنها در ارتباط با پیش زمینه ژنتیکی خاص و یا همراه با عوامل محیطی می‌توانند منجر به بروز اختلال شوند.

#### تقدیر و تشکر

با تشکر از تمام افرادی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند. مطالعه حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا می‌باشد.

Rs11639048 در موتیف‌های اتصال رونویسی از جمله Batf, HSF, GR, IRF, NKX2 و واقع شده است و نقش مهمی در تمایز سلول‌های TH17 تولید کننده IL-17 بازی می‌کند و موش‌های فاقد Batf مقاوم به آنفالومیلیت خودایمنی هستند (۲۰).

در مقابل، در برخی دیگر از مطالعات نیز همین پلی‌مورفیسم‌های ژن *foxp3* فاقد ارتباط معنی‌دار با بیماری‌های خودایمنی و التهابی بود. هاجر بهادیوند چگینی و همکاران (۱۳۹۵)، ارتباط چندشکلی‌های rs56066773 و rs56232250 از ژن *foxp3* واقع در جایگاه هدف mir-367 با بیماری آرتریت روماتوئید در بیماران مراجعه کننده به کلینیک امام (ع) شهرکرد را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های rs56066773 و rs56232250 و بیماری یافت نشد (۲۱).

نتایج مطالعه رهنما و همکاران نشان داد که بین چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs3761549 از ژن *foxp3* در افراد مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس با افراد سالم ارتباط وجود ندارد. در این مطالعه، نمونه‌های خون از ۱۱۵ نفر بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و ۱۱۵ فرد سالم به عنوان گروه کنترل که از نظر سن و جنس همسان شده بودند، جمع‌آوری گردید. سپس پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs3761549 با تکنیک RFLP بررسی شد. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم مذکور با استعداد ابتلا به مولتیپل اسکلروزیس فاقد ارتباط معنی‌دار است ( $p > 0/05$ ) (۲۲).

بر اساس مطالعات متعددی که در بالا اشاره شد و نقش چندشکلی‌های *foxp3* را در بیماری‌های التهابی مختلف مورد بررسی قرار داده بودند، در پژوهش حاضر برای اولین بار ارتباط چندشکلی rs3761548 در ژن *foxp3* با بیماری میگرن مورد بررسی قرار گرفت. چندشکلی rs3761548 در اینترون ۱ ژن

#### منابع مورد استفاده

- Charles, A., 2018. The pathophysiology of migraine: implications for clinical management. *Lancet Neurol* 17(2): 174-182.
- Yang, Y., Lighthart, L., Terwindt, G. M., Boomsma, D. I., Rodriguez-Acevedo, A. J., Nyholt, D. R., 2016. Genetic epidemiology of migraine and depression. *Cephalalgia* 36(7): 679-91.
- Sutherland, H. G., Griffiths, L. R., 2017. Genetics of Migraine: Insights into the Molecular Basis of Migraine Disorders. *Headache* 57(4):537-569.
- Fuh, J. L., Chung, M. Y., Yao, S. C., Chen, P. K., Liao, Y. C., Hsu, C. L., Wang, P. J., Wang, Y. F., Chen, S. P., Fann, C. S., Kao, L. S., Wang, S. J.,



2016. Susceptible genes of restless legs syndrome in migraine. *Cephalalgia* 36(11):1028-1037.
5. Yücel, Y., Coşkun, S., Cengiz, B., Özdemir, H., Uzar, E., Çim, A., Akif, M., 2016. Association of Polymorphisms within the Serotonin Receptor Genes 5-HTR1A, 5-HTR1B, 5-HTR2A and 5-HTR2C and Migraine Susceptibility in a Turkish Population. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience* 14(3): 250-255.
  6. Schürks, M., 2009. Genetics of migraine in the age of genome-wide association studies. *The journal of headache and pain* 1:(1)13;12.
  7. Gholami, M., Esfandiary, A., Vatanparast, M., Mirfakhraie, R., Hosseini, M. M., Ghafouri-Fard, S., 2016. Genetic variants and expression study of FOXP3 gene in acute coronary syndrome in Iranian patients. *Cell Biochem Funct* 34: 158-162.
  8. Lozano, T., Casares, N., Lasarte, J. J., 2013. Searching for the Achilles Heel of FOXP3. *Front Oncol* 3: 294.
  9. Hassannia, H., Abediankenari, S., Ghaffari, J., 2011. FOXP3 and TGF-beta gene polymorphisms in allergic rhinitis. *Iran J Immunol* 8(4): 218-225.
  10. Jahan, P., Cheruvu, R., Tippisetty, S., Komaravalli, P. L., Valluri, V., Ishaq, M., 2013. Association of FOXP3 (rs3761548) promoter polymorphism with nondermatomal vitiligo: a study from India. *J Am Acad Dermatol* 69(2): 262-266.
  11. Jafarzadeh, A., Jamali, M., Mahdavi, R., 2015. Circulating levels of interleukin-35 in patients with multiple sclerosis: evaluation of the influences of FOXP3 gene polymorphism and treatment program. *J Mol Neurosci* 55(4): 891-897.
  12. Lan, Y., Tang, X. S., Qin, J., 2015. Association of transcription factor FOXP3 gene polymorphism with genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in Guangxi Zhuang population. *gene* 27(4): 433-436.
  13. Piane, M.; Lulli, P.; Farinelli, I.; Simeoni, S.; De Filippis, S.; Patacchioli, F. R.; Martelletti, P., 2007. "Genetics of migraine and pharmacogenomics: some considerations." *The journal of headache and pain* 28(6): 334-9.
  14. Hashemi, V., Farrokhi, A. S., Tanomand, A., Babaloo, Z., Hojjat-Farsangi, M., Anvari, E., Tahoori, M. T., Ezzeddini, R., Hosseini, A., Gharibi, T., Ghalamfarsa, G., Jadidi-Niaragh, F., 2018. Polymorphism of Foxp3 gene affects the frequency of regulatory T cells and disease activity in patients with rheumatoid arthritis in Iranian population. *Immunol Lett* 204:16-22.
  15. Hosseini, A., Shanebandi, D., Estiar, M. A., Gholizadeh, S., Khabbazi, A., Khodadadi, H., Sakhinia, E., Babaloo, Z. A., 2015. Single Nucleotide Polymorphism in the FOXP3 Gene Associated with Behçet's Disease in an Iranian Population. *Clin Lab* 61(12):1897-903.
  16. Zhang, G., Zhang, D., Shi, W., Sun, P., Lin, P., 2017. The Impact of FOXP3 Polymorphism on the Risk of Allergic Rhinitis: A Meta-Analysis. *Ann Hum Genet* 81(6):284-291.
  17. Mahmoodi, N., Peymani, M., Javadirad, S. M., 2019. Association of rs2232365 polymorphism in promoter of FOXP3 gene with the incidence of rheumatoid arthritis in Iranian population. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* 21(3): 88-93
  18. Thude, H., Tiede, P., Sterneck, M., Nashan, B., Koch, M., 2019. Impact of TBX21, GATA3, and FOXP3 gene polymorphisms on acute cellular rejection after liver transplantation. *HLA* 93(2-3):97-101.
  19. Mahdavi, R., Jamali, M., Rostami Rad, M., Safa, A., Jafarzadeh, A., Naseri, M., 2016. FOXP3 polymorphism rs2232365 and its association with multiple sclerosis susceptibility. *Tehran University Medical Journal* 74(6): 425-432.
  20. Schraml, B. U., Hildner, K., Ise, W., Lee, W., Smith, A. E., Solomon, B., Hatton, R. D., 2009. The AP-1 transcription factor Batf controls T H 17 differentiation. *Nature* 460(7253): 405-406.
  21. Bahadevand Chegini, H., Pourgheysari, B., Pourahmadian, A., Kazemi, S., Shirzad, H., Mousavi, M., Deris, F., 2016. Association between rs56066773 and rs56232250 polymorphisms of FOXP3 gene in target site of microRNA with rheumatoid arthritis in patients referred to Emam Ali clinic of Shahrekord. (*J Shahrekord Univ Med Sci* 18(1): 9-17.
  22. Rahnama, R., Mansouri, R., Valizadeh, H., Rahimdel, A., Eslami, G., 2015. Investigating Prevalence of FOXP3 Gene Polymorphism in Multiple Sclerosis. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 22(6): 1604-11
  23. Shen, Z., Chen, L., Hao, F., Wang, G. P., Liu, Y., 2010. Intron-1 rs3761548 is related to the defective transcription of Foxp3 in psoriasis through abrogating E47/c-Myb binding. *J Cell Mol Med* 14(1-2). 226-241.