

بررسی ناحیه HMG-box و Coiled Coil Dimerization Sox5 ژن در بیماران مبتلا به سایکوز

زیبا نریمان صالح فام^۱، آرش میرابزاده^۲، *مینا اوحدی^۳

Analysis of the HMG-box and Coiled Coil Dimerization Domain Sequences of the Sox5 Gene in 100 Psychotic Patients

Nariman saleh fam Z.(M.Sc)¹, Mirabzadeh A.(M.D)², *Ohadi M.(Ph.D)³

Abstract

Objective: Psychosis has an overall frequency of about 3.84% and is related to neural damages. The Sox5 gene, which has an important role in nerve system development, is involved in controlling neurogenesis and gliogenesis. So, this study analysis the sequences of HMG-box and CCDD of Sox5 gene in 100 patients afflicted with DSM-IV-TR-Diagnosed psychosis from Tehran.

Materials & Methods: in this case-control study, samples were provided by non-randomized sampling method. 100 patients whose psychosis had been proved by psychiatric based on DSM-IV-TR diagnostic criteria were provided from two private clinics in Tehran. We performed blood sampling and then DNA extraction by salting-out method. Based on bioinformatics data obtained from NCBI and Ensemble databases, we split these two domains into five fragments and overall 500 fragments (5 for every sample) were amplified and analyzed with SSCP technique. ABI PRISM sequencing would have carried out if a band shift had been seen. The results of sequencing would have compared with reference human sequence in Ensemble database and if mutation had been proved, controls sequencing would have performed.

Results: No change in HMG-box and CCDD was observed in research samples with SSCP technique.

Conclusion: Findings indicate that mutations in HMG-box and CCDD are not a common cause of psychosis.

Keywords: HMG-box, Coiled Coil, Sox5 Gene, Psychotic patient

چکیده

هدف: اختلالات سایکوتیک دارای شیوع ۳/۸۴٪ و مرتبط با آسیب عصبی هستند. Sox5 در تکامل سیستم عصبی با کنترل نوروزن و گلیوزنز ایفای نقش می‌کند. این مطالعه به منظور بررسی نقش ژن Sox5 در اختلالات سایکوتیک، دُمین‌های HMG-box و CCDD این ژن را از نظر وجود جهش در ۱۰۰ بیمار مبتلا به سایکوز از شهر تهران مورد بررسی قرار می‌دهد.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی نمونه‌گیری به صورت غیر احتمالی آسان از افراد مبتلا به سایکوز مراجعه‌کننده به دو کلینیک خصوصی در شهر تهران صورت گرفت که بیماری سایکوز آن‌ها طبق معیارهای تشخیص DSM-IV-TR و توسط روانپزشک مورد تایید قرار گرفته بود. استخراج DNA از نمونه خون محیطی با روش Salting out انجام شد. پس از مطالعات بیوانفورماتیکی با استفاده از پایگاه اطلاعاتی NCBI و Ensemble برای ژن Sox5، توالی‌های مورد نظر به پنج قطعه مجزا تقسیم شدند و در نتیجه برای هر نمونه پنج قطعه و در کل ۵۰۰ قطعه تکثیر شده و سپس با تکنیک SSCP مورد بررسی قرار گرفت. در صورت مشاهده تغییر، توالی یابی به روش ABI PRISM انجام شده و توالی قطعه با توالی مرجع ژنوم انسان در پایگاه Ensemble مقایسه می‌گردید و در صورت تایید، تغییر مشاهده شده در ۱۰۰ نمونه کنترل بررسی می‌شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون مجذور خی استفاده شد.

یافته‌ها: با تکنیک SSCP هیچ تغییری در HMG-box و CCDD در نمونه‌های تحقیق مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق نشان دهنده این است که جهش‌های HMG-box و CCDD از دلایل رایج اختلالات سایکوز نیستند.

کلیدواژه‌ها: HMG-box، Coiled Coil، ژن Sox5، بیماران سایکوتیک

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی؛ ۲. روانپزشک، دانشیار دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی؛ ۳. دکترای ژنتیک پزشکی، دانشیار دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی؛ آدرس نویسنده مسئول: تهران، بلوار دانشجو، خیابان کودکان، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، مرکز تحقیقات ژنتیک؛ تلفن: ۶۶۵۷۶۰۵۱۰۹۱۴۲۰۳۳۲۲؛ رایانامه: rahaannn@yahoo.com (نویسنده مسئول)

1. M.Sc. student of Human Genetics, University of Welfare and Rehabilitation Sciences, Tehran, Iran; 2- Psychiatrist, Associate Professor of University of Welfare and Rehabilitation Sciences, Tehran, Iran; 3-Ph.D. of Medical Genetics, Associate Professor of University of Welfare and Rehabilitation Sciences, Tehran, Iran

Correspondent Author: Genetics Research Center, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences, Koodakyar Alley, Daneshjoo Blv., Tehran, Iran.; Tel: +98 21 66576051; E-mail: rahaannn@yahoo.com

مقدمه

سایکوز^۱ به آن دسته از اختلالات روانی که شامل هذیان‌ها یا توهم‌های بارز همراه با رخداد توهم بدون بینش نسبت به ماهیت بیمارگون آن‌ها می‌باشند، اطلاق می‌شود از جمله اسکیزوفرنیا، اختلال دوقطبی همراه با علائم سایکوتیک و اختلال اسکیزوافکتیو (۱).

شیوع اختلالات سایکوز نسبتاً بالا و ۳/۴۸٪ می‌باشد. (اسکیزوفرنیا ۰/۸۷٪، اختلال دوقطبی ۱/۳٪ و اختلال اسکیزوافکتیو ۰/۳۲٪) (۲). سن شروع بیماری برای اسکیزوفرن، اختلال دوقطبی و اسکیزوافکتیو به ترتیب دهه دوم زندگی، بیست سالگی و اواخر نوجوانی و اوایل بزرگسالی است.

میل به خودکشی در این بیماران حداقل ۱۰ درصد است. این اختلال می‌تواند منجر به ناتوانی‌های مادام‌العمر شود. سایکوز را می‌توان مرتبط با اختلال در سیستم عصبی شرح داد. میکروسکوپ الکترونی آتروفی نورون‌های پیرامیدال و اولیگودندروسیت‌ها را در بیماران دوقطبی و اسکیزوفرنی به اثبات رسانده است (۳، ۴).

Sox5 نقش خود را در تکامل سیستم عصبی با کنترل نوروزن^۲ و گلیوزن^۳ ایفا می‌کند. این ژن طی نوروزن با تنظیم تکامل نورون‌های کورتیکوفوگال^۴ و طی گلیوزن یا با اثر آنتاگوسیم خود بر SoxE بلوغ اولیگودندروسیت و تولید میلین را کنترل می‌کند (۵، ۶).

اختلال نوروزن و گلیوزن در موش Sox5^{-/-} به اثبات رسیده است. پروتئین‌های خانواده Sox تنظیم‌کننده‌های مهم رونویسی‌اند که همگی دارای موتیف‌های HMG-box^۵ بوده و در مراحل مختلف تکامل جنینی و تمایز سلول‌ها ایفای نقش می‌کنند و بر اساس توالی پروتئینی به هشت گروه از A تا H تقسیم می‌شوند (۷، ۸).

SoxD در بیشتر مهره‌داران متشکل از ۳ ژن Sox13، Sox5، Sox6 است و دارای ۲ دُمین به شدت محافظت شده عملکردی HMG-box در نیمه C-Terminal و CCDD در نیمه N-Terminal می‌باشد (۹).

Sox5 در انسان بر روی کروموزوم 12p12.1 قرار دارد (۹). این ژن دارای چندین ایزوفرم می‌باشد. ایزوفرم ۱ با ۱۵ اگزون و ۷۶۳ آمینواسید دارای بیشترین بیان بوده و در تکامل جنینی^۶ ایفای نقش می‌کند (۱۰).

HMG-box نوعی دُمین ارتباط دهنده پروتئین به پروتئین^۷ و متصل شونده به DNA^۸ با ۷۹ اسیدآمین و یک فرم L پیچ خورده حاوی ۳ هلیکس α و یک β است (۵) و این توانایی را به خانواده Sox می‌دهد تا با اتصال به یک توالی ۷bp با ساختار 5C[A/T]TTG[A/T][A/T]3 و القاء یک خمیدگی تیز ۷۵ درجه و با مشارکت پروتئین‌های دیگر پدیده رونویسی را کنترل کند (۱۱).

CCDD مختص گروه SoxD با ۷۶٪ تشابه بین انسان و موش است. این دُمین همو-هترو دایمیریزیشن اعضای SoxD را به یکدیگر وساطت می‌کند (۹).

کلرتیکولین نوعی چاپرون پروتئینی است و اختلال در بیان این ژن در ارتباط با پاتوفیزیولوژی اسکیزوفرنیا گزارش شده است (۱۲).

چندین جهش در پروموتور ژن کلرتیکولین گزارش شده است. یک جهش مربوط به ناحیه پروکسیمال پروموتورکلرتیکولین در ناحیه حفاظت شده ۴۸ - (G>C) از جایگاه شروع رونویسی در یک مورد خانوادگی مبتلا به اسکیزوفرنیای پارانوئید همراه با اختلال دوقطبی می‌باشد (۱۳). مطالعه این جهش در سلول‌های نورون کورتکس مغز نشان داده است که این جهش منجر به افزایش بیش از حد بیان این ژن و در نتیجه سمیت نورونی^۹ می‌گردد (۱۲). جهش جدیدی نیز در جایگاه ۲۲۰ - (C>A) در پروموتور این ژن شناسایی شده است (۱۴). هم چنین جهش دیگری در موقعیت ۲۰۵ - (C>T) ژن کلرتیکولین در یک بیمار اسکیزوافکتیو گزارش شده است. این موتاسیون ایجاد جایگاه ATTGGTT برای اتصال Sox5 می‌کند (شکل ۱) (۱۵). با توجه به اینکه شکل‌گیری جایگاه اتصال Sox5 می‌تواند منتهی به تغییر بیان ژن کلرتیکولین گردد و از طرفی Sox5 با قدرت اتصال خود به DNA از طریق HMG-box و امکان ارتباط با دیگر اعضای گروه از

6. Embryonic development 7. Pr-Pr interaction
8. DNA binding 9. neural toxicity

1. Psychosis 2. Neurogenesis
3. Gliogenesis 3. Corticofugal
5. High mobility group box

طریق CCDD، به عنوان یک فاکتور رونویسی مهم در تکامل سیستم عصبی عمل می‌کند (۱۶، ۱۷)، این احتمال مطرح می‌شود که اختلال در توالی این دو ناحیه در پاتوفیزیولوژی سایکوز دخیل باشد. در این تحقیق برآئیم تا دُمین HMG-box و هم چنین CCDD را در سطح DNA بیماران مبتلا به سایکوز بررسی کنیم.

شکل ۱- نتایج آنالیز Consite در مورد تغییرات فاکتورهای رونویسی در نتیجه جهش ۲۰۵- در پروموتور ژن کلرتیکولین



روش بررسی

این پژوهش یک مطالعه مورد شاهده^۱ است. نمونه گیری به روش غیر احتمالی آسان از صد بیمار مراجعه کننده به دو کلینیک خصوصی شهر تهران که بیماری سایکوز آنها طبق معیارهای تشخیص^۲ DSM-IV-TR توسط روانپزشک تأیید شده بود، صورت گرفت. باتوجه به اینکه، این مطالعه یک مطالعه pilot می‌باشد، محاسبه حجم نمونه اندیکاسیون ندارد و در صورت یافتن هر گونه جهش، ناحیه مورد نظر با تعداد مساوی نمونه کنترل مقایسه می‌شود. لازم به ذکر است که با انجام این مطالعه می‌توان به تهیه مقدمه و پایه‌ای برای

انجام مراحل بعدی مطالعه در سطوح جامعه دست یافت. اطلاعات بیماران، از طریق مراجعه حضوری به دو کلینیک خصوصی مورد نظر بدست آمد. بدین صورت که بخشی از داده‌ها از طریق مصاحبه با پرسنل شاغل و بخشی نیز از پرونده‌های آنها بدست آمده و داده‌های حاصل از آزمایشات مولکولی را جمع‌آوری و تجزیه و تحلیل کرده شده و در فرم‌های جمع‌آوری اطلاعات ثبت می‌کنیم.

اطلاعات مربوط به توالی HMG-box و CCDD ژن Sox5 از پایگاه اطلاعاتی NCBI، Ensembl دریافت شد، جهت طراحی پرایمر از پایگاه PRIMER3 استفاده شده و در نهایت پرایمرها با نرم افزار GEN RUNNER چک شد.

به علت حضور اینترون در توالی HMG-box، این ناحیه در دو قسمت که شامل توالی ۲۵۷bp (۳bp از اینترون ۱۲-۱۳، ۱۷۴bp از گزون ۱۳ و ۸۰bp از اینترون ۱۴-۱۳) و توالی ۲۴۶bp (۳۸bp از اینترون ۱۳-۱۴ و ۲۰۸bp از گزون ۱۴) است، بررسی شد. هم چنین در Coiled coil dimerization domain، این ناحیه در ۳ قسمت که شامل توالی ۳۱۴bp (۱۰۴bp از اینترون ۵-۴، ۱۷۳bp از گزون ۵، ۳۷bp از اینترون ۶-۵)، توالی ۲۶۵bp (۵۶bp از اینترون ۵-۶، ۶۹bp از گزون ۶، ۱۴۰bp از اینترون ۶-۷) و توالی ۲۱۳bp (۱۱۲bp از اینترون ۱۲-۱۱، ۱۰۱bp از گزون ۱۲) می‌باشد، مورد مطالعه قرار گرفت. بنابراین در همه افراد ۵ ناحیه مورد نظر بررسی گردید.

تکثیر قطعات ژن مورد نظر به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز^۳ (PCR) بعد از تهیه DNA از خون محیطی بیماران مبتلا به سایکوز (با استفاده از روش Salting out) صورت گرفت. سپس از تکنیک SSCP^۴ جهت بررسی ۵۰۰ قطعه تکثیر شده (با احتساب پنج ناحیه برای هر نمونه) استفاده شد. در این روش شناسایی جهش‌های نقطه‌ای به علت تغییر شکل فضایی DNA تک رشته است که DNAهای جهش یافته تک رشته، توسط حرکت غیر طبیعی روی ژل پلی اکریل آمید شناسایی می‌شوند.

3. Polymerase Chain Reaction
4. Single strand conformation polymorphism

1. Case control
2. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Forth Edition (Text revision)

در صورت مشاهده Band Shift در نمونه‌ای، توالی‌یابی^۱ با پرایمرهای مربوطه توسط روش پایان یافتن زنجیره ABIPRISM^۲ برای نمونه مزبور صورت می‌گیرد و تغییر مشاهده شده با توالی مرجع ژنوم انسان در پایگاه ensemble مقایسه شده و در صورت تأیید تغییر توالی‌یابی نمونه‌های کنترل صورت می‌گیرد. داده‌های حاصل از مطالعه به کمک آزمون کای دو و توسط نرم افزار Open Epi مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

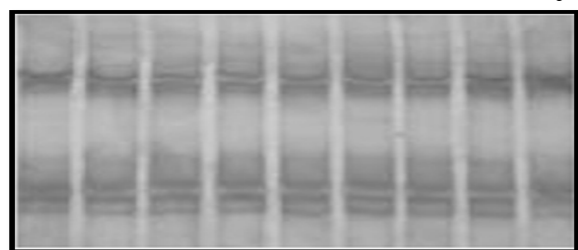
یافته‌ها

در این تحقیق با تکثیر ۵ ناحیه مرتبط با HMG-box و CCDD در ۱۰۰ بیمار، ۵۰۰ فراورده تکثیر شده با تکنیک SSCP مطالعه شد و هیچ گونه band shift و یا تغییری مشاهده نشد. (شکل ۲).

جدول ۱- اطلاعات مربوط به صد بیمار مورد بررسی

تشخیص	تعداد	جنسیت	
		مرد	زن
Schizoaffective	۳۴	۱۸	۱۶
Schizophrenia	۳۳	۱۶	۱۷
Bipolar	۳۳	۱۷	۱۶

شکل ۲: نمونه‌ای از نتایج SSCP- عدم مشاهده band shift در نمونه‌ها



بحث

بسیاری از علائم بالینی بیماری‌هایی که جزء اختلالات سایکوز محسوب می‌شوند مشترک است و تحقیقات اخیر شواهدی قوی دال بر عوامل سبب شناسی همپوشان مشترک در آن‌ها مطرح کرده است (۱۸). مطالعات پسامرگی مغز بیماران مؤید ناهنجاری

آناتومیکی و کاهش بیان ژن‌های مرتبط همانند ژن Sox10 و Plp در قشر جلو پیشانی (PFC) و گیجگاهی^۳ می‌باشد (۳، ۴).

با توجه به گزارش جهش در موقعیت ۲۰۵-ژن کلرتیکولین در یک بیمار اسکیزوافکتیو و شکل‌گیری جایگاه ATTGGTT برای اتصال Sox5 و در نتیجه امکان تغییر بیان ژن کلرتیکولین، توالی HMG-box به دلیل توانایی اتصال به DNA و توالی CCDD به علت برقراری اتصال اعضای Sox5 به یکدیگر، انتخاب شدند و به منظور پیدا کردن جهش به عنوان مکانیسمی در پاتوفیزیولوژی سایکوز مورد بررسی قرار گرفتند.

پروموتور Sox5 یک پروتوتایپ از پروموتورهای غنی از توالی تکراری GA می‌باشد (۱۹). همگام با این پروژه با مطالعه‌ای بره‌اپلوتایپ‌های پروموتور مرکزی ژن Sox5، تنوع در الگوی بیان ژنی بین فردی به علت تنوع دره‌اپلوتایپ‌های پلیمورف GA-STR را به عنوان اولین گزارش از حضور STR های عملکردی در پروموتور مرکزی انسان ارائه شد (۲۰).

یافتن چندین جهش در پروموتور ژن کلرتیکولین در بیماران مبتلا به سایکوز (۱۵-۱۳)، عدم رؤیت جهش در نواحی رمزکننده حفاظت شده ژن Sox5، گزارش درگیری تکرارهای GA پروموتور در بیماری‌های پیچیده توسط چندین گروه (۲۴-۲۱) و در نهایت اثبات تفاوت در بیان ژنی به علت تنوع دره‌اپلوتایپ‌های پلیمورف GA-STR پروموتور Sox5 (۲۰) پیشنهاد کننده یک منشأ جدید و متفاوت از شکل‌گیری صفات کمی و بیماری‌های پیچیده (همانند بیماری‌های سایکوز) می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از این است که بین پاتوفیزیولوژی اختلالات سایکوز و حضور جهش در نواحی HMG-box و CCDD ارتباطی وجود ندارد و بررسی مکانیسم عملکردی هاپلوتایپ‌های موجود در پروموتور ژن‌ها با بروز بیماری‌های سایکوتیک پیشنهاد می‌شود.

1. Association AP, Author C. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR Fourth Edition Text Revision. 2000;pp:4.
2. Perala J, Suvisaari J, Saarni S, Kuoppasalmi K, Isometsa E, Pirkola S, et al. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Archives of General Psychiatry*. 2007;64(1) :19.
3. Chambers J, Perrone-Bizzozero N. Altered myelination of the hippocampal formation in subjects with schizophrenia and bipolar disorder. *Neurochemical research*. 2004;29(12):2293-302.
4. Uranova N, Vostrikov V, Vikhreva O, Zimina I, Kolomeets N, Orlovskaya D. The role of oligodendrocyte pathology in schizophrenia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2007;10(04) :537-45.
5. Lefebvre V, Dumitriu B, Penzo-Méndez A, Han Y, Pallavi B. Control of cell fate and differentiation by Sry-related high-mobility-group box (Sox) transcription factors. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(12) :2195-214.
6. Stolt C, Schlierf A, Lommes P, Hillgärtner S, Werner T, Kosian T, et al. SoxD proteins influence multiple stages of oligodendrocyte development and modulate SoxE protein function. *Developmental cell*. 2006;11(5) :697-709.
7. Kordes U, Cheng Y, Scotting P. Sox group E gene expression distinguishes different types and maturational stages of glial cells in developing chick and mouse. *Developmental Brain Research*. 2005;157(2) :209-13.
8. Wißmüller S, Kosian T, Wolf M, Finzsch M, Wegner M. The high-mobility-group domain of Sox proteins interacts with DNA-binding domains of many transcription factors. *Nucleic acids research*. 2006;34(6) :1735-44.
9. Lefebvre V. The SoxD transcription factors-Sox5, Sox6, and Sox13-are key cell fate modulators. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2010;42(3) :429-32.
10. Ensembl Genome Browser [Internet]. [cited 2011 Aug 24]. Available from: <http://www.ensembl.org/index.html>
11. Lefebvre V. Toward understanding the functions of the two highly related Sox5 and Sox6 genes. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2002;20(3) :121-30.
12. Nunes A, Ohadi M, Rahimi A, Aghajani A, Najmabadi H, Currais A, et al. A mutation in the calreticulin gene promoter in a family case of schizoaffective disorder leads to its aberrant transcriptional activation. *Brain research*. 2008;1239:36-41.
13. Aghajani A, Rahimi A, Fadaei F, Ebrahimi A, Najmabadi H, Ohadi M. A point mutation at the calreticulin gene core promoter conserved sequence in a case of schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2006;141(3) :294-5.
14. Ashtiani F, Mirabzadeh A, Nabi O, Magham G, KhorramKhorshid HR, Najmabadi, et al. 1. Farokhashtiani T, Mirabzadeh A, Olad Nabi M, Ghaem Magham Z, Khorram Khorshid HR, Najmabadi H, et al. Reversion of the human calreticulin gene promoter to the ancestral type as a result of a novel psychosis-associated mutation. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2011;35(2):541-4.
15. OladNabi M, Mirabzadeh A, Feizzadeh G, KhorramKhorshid HR, Karimlou M, Yeganeh M, et al. Novel mutations in the calreticulin gene core promoter and coding sequence in schizoaffective disorder. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2009;153(2) :706-9.
16. Fishell G, Hanashima C. Pyramidal neurons grow up and change their mind. *Neuron*. 2008;57(3) :333-8.
17. Lai T, Jabaudon D, Molyneaux B, Azim E, Arlotta P, Menezes J, et al. SOX5 controls the sequential generation of distinct corticofugal neuron subtypes. *Neuron*. 2008;57(2) :232-47.
18. Carroll L, Owen M. Genetic overlap between autism, schizophrenia and bipolar disorder. *Genome Medicine*. 2009;1(10) :102.
19. Darvish H, Nabi MO, Firouzabadi SG, Karimlou M, Heidari A, Najmabadi H, et al. Exceptional human core promoter nucleotide compositions. *Fuel and Energy Abstracts*. 2011;475(2):79-86.

20. Heidari A, Nariman Saleh Fam Z, Esmaeilzadeh-Gharehdaghi E, Banan M, Hosseinkhani S, Mohammadparast S, et al. Core promoter STRs: Novel mechanism for inter-individual variation in gene expression in humans. *Gene*. 2012;492(1):195–8.
21. Eijgelsheim EA. Genome-wide association analysis identifies multiple loci related to resting heart rate. *Hum Mol Genet*. 2010;19 (19) :3885–94
22. Morris EE, Amria MY, Kistner-Griffin E, Svenson JL, Kamen DL, Gilkeson GS, et al. A GA microsatellite in the Fli1 promoter modulates gene expression and is associated with systemic lupus erythematosus patients without nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2010 Nov 18;12(6).
23. Notturmo F, Pace M, De Angelis MV, Caporale CM, Giovannini A, Uncini A. susceptibility to chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy is associated to polymorphic GA repeat in the SH2D2A gene. *J Neuroimmunol*. 2008;197 (2):124–7
24. Smerdel A, Dai K-Z, Lorentzen AR, Flatø B, Maslinski S, Thorsby E, et al. Genetic association between juvenile rheumatoid arthritis 259 and polymorphism in the SH2D2A gene. *Genes Immun*. 2004;5:310–2.