

Postmenopozal Östrojen Reseptör Pozitif Meme Kanseri B7-H4 Geni Varyasyonları

B7-H4 Gene Variations in Postmenopausal Estrogen Receptor Positive Breast Cancer

Asuman ÖZGÖZ¹, Fadime Mutlu İÇDUYGU², Kuyaş Hekimler ÖZTÜRK³,
Hale ŞAMLI⁴, Ayşegül YÜKSELTÜRK⁵, Zuhal BAŞKAN⁶

¹Kastamonu Üniversitesi, Kastamonu Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD., Kastamonu

²Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD., Giresun

³Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD., Isparta

⁴Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, Bursa

⁵Kastamonu Üniversitesi, Fazıl Boyner Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Kastamonu

⁶Acıbadem Bursa Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bölümü, Bursa

ÖZET

Amaç: T hücre fonksiyonunu inhibe etmek suretiyle, T hücre immünesinde immünsupresif etki gösteren B7-H4 geninin, pek çok insan tümörü çeşidinde, tümör progresyonu ve zayıf prognozda etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Renal hücre karsinomu, over kanseri, gastrik kanser ve meme kanseri de dahil olmak üzere, çeşitli kanser türlerinde B7-H4 geni ekspresyonunun artması ve bu durumun karsinojenik etkiye sebep olması, son zamanlarda kanser tedavisinde B7-H4'ün hedef alınmasını düşündürmüştür. B7-H4'ün ekspresyon kontrolüne etki edebilecek polimorfizm çalışmaları oldukça sınırlıdır. Polimorfizmlerin popülasyon düzeyinde farklılıklar gösterdiği de göz önüne alındığında, B7-H4 geninin ekspresyonu üzerinde etkili olabileceği muhtemel olan rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 SNP'lerinin, farklı popülasyonlarda, özellikle yüksek ekspresyon gösterdiği kanser türlerinde çalışılması değerli bilgiler sağlayabilecektir. Biz de bu amaçla, daha önce Türk popülasyonunda meme kanserinde ilk defa yaptığımız araştırmayı, meme kanserinde B7-H4 geninin patogenezi daha net ortaya koymak amacıyla daha fazla olgu grubunda gerçekleştirdik. **Materyal-Metot:** Çalışmamızda toplam 201 olgunun DNA izolasyonunu takiben, multipleks PCR ve MALDI-TOF temelinde dayanan SNP analizi yapıldı. **Bulgular:** Artan olgu sayımıza rağmen bir önceki çalışmamızda olduğu gibi B7-H4 geni 10754339, rs10801935 ve rs3738414 polimorfizmleri meme kanseriyle istatistik olarak anlamlı bir birliktelik göstermedi. Ayrıca ilgili polimorfizmler, klinopatolojik verilerle de istatistik olarak anlamlı bir ilişki göstermedi. **Sonuç:** Çalışma sonuçlarımız bize, Türk popülasyonunda meme kanseri yatkinliğini değerlendirmede B7-H4 geni 10754339, rs10801935 ve rs3738414 polimorfizmlerinin etkili olmayacağını düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, B7-H4 Geni, Polimorfizm

Alınış / Received: 14.08.2020 Kabul / Accepted: 02.02.2021 Online Yayınlanma / Published Online: 25.04.2021

ABSTRACT

Objective: B7-H4 gene, which has an immunosuppressive effect on T cell immunity by inhibiting T cell function, has been shown to be effective in tumor progression and poor prognosis in many types of human tumors. Increasing B7-H4 gene expression in various types of cancer, including renal cell carcinoma, ovarian cancer, gastric cancer and breast cancer, recently has led to the consideration of B7-H4 targeting in cancer treatment. Polymorphism studies of B7-H4 that may affect its expression control are very limited. Considering that polymorphisms show differences at the population level, the study of rs10754339, rs10801935 and rs3738414, which are likely to have an effect on the expression of the B7-H4 gene in different populations, may provide valuable information, especially in cancer types in which it shows high expression. For this purpose, we repeated the research, we conducted for the first time in Turkish breast cancer patients previously, in order to more clearly reveal the pathogenesis of B7-H4 gene in breast cancer. **Material-Method:** In our study, following DNA isolation of 201 cases, SNP analysis based on multiplex PCR and MALDI-TOF was performed. **Results:** Despite the increasing number of cases, as in our previous study, B7-H4 gene polymorphisms did not show statistically significant association with breast cancer. In addition, the related polymorphisms did not show a statistically significant relationship with the clinopathological data. **Conclusion:** Our study results have made us think that B7-H4 gene 10754339, rs10801935 and rs3738414 SNPs will not be effective in evaluating breast cancer susceptibility in the Turkish population.

Keywords: Breast Cancer, B7-H4 Gene, Polymorphism



1.Giriş

2018 Global Kanser İstatistiklerine göre, kadın meme kanseri (MK) %11.6'lık tahmini frekansla ikinci en yaygın kanser türüdür ve aynı zamanda, kanser nedenli ölümlerin başlıca sebebidir (1). Çeşitli tedavi yöntemleri sayesinde meme kanserli kadınlar için genel sağ kalım süresi ve yaşam kalitesindeki gelişmelere rağmen, MK hala kanser ölümlerinin önde gelen nedenlerindedir ve bu sebeple de yeni terapötik yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır (2).

B7x, B7S1 veya VTCN1 olarak da bilinen B7-H4 geni, üç ayrı laboratuvar tarafından bioinformatik analiz yoluyla belirlenmiştir (3-6). B7-H4 varlığı daha sonra, hem B7-H4 mRNA'sının hem de proteininin insan seröz ovaryan kanserleri ve meme kanserlerinde eksprese olduğu, normal dokularda ise nispeten çok az veya hiç eksprese olmadığına gösterilmesiyle ortaya konmuştur (7). B7-H4 proteini, ekstraselüler amino terminal domaini, büyük bir hidrofobik transmembran domain ve çok kısa bir intraselüler domainden (sadece 2 amino asit rezidüsü) ibaret olan 282 amino asit rezidüsü içerir. Diğer B7-ailesi üyeleri gibi, ekstraselüler domaininde bir çift Ig-benzeri bölgeye sahiptir. B7-H4 proteini, tip-I transmembran proteini yapısındadır (8).

İmmunregülatör B7-ailesi proteinlerin bir üyesi olan B7-H4, genellikle antijen sunan hücrelerin (APC) yüzeyinde eksprese edilir ve aktif T hücrelerinin sunduğu bilinmeyen reseptörlere bağlanan ligandlarla etkileşir. B7-H4 proteinleri, tümör mikroçevresinde, T hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini inhibe edebilirler (9).

Normal dokulardan farklı olarak, ovaryan karsinom, meme kanseri, mesane kanseri, glioma, prostat kanseri, pankreas kanseri ve benzeri çeşitli insan tümörlerinde yüksek seviyelerde B7-H4 protein ekspresyonu bildirilmiştir (10). Ayrıca, bir çalışma B7-H4'ün shRNA aracılı bozulmasının, tümör hücresi proliferasyonunu, istilasını ve göçünü, hücre apoptozunu bariz şekilde engellediğini ve G0/G1'de hücre döngüsünü durdurduğunu göstermiştir (11). B7-H4'ün geninin kanser immünoterapisi için potansiyel bir hedef olabileceği düşünülmüştür. Pek çok klinik çalışma, yüksek B7-H4 gen ekspresyonunun solid tümörlerde daha kısa genel sağ kalım (OS) ile ilişkili olduğunu göstermiştir (9).

Son zamanlarda B7-H4'ün geninin kanser immünitesindeki rolü ve tedavide hedef alınabileceğiyle ilgili pek çok görüş ortaya konmuştur. Zhou, L ve ark., tümör hücrelerinde B7-H4'ün ekspresyonunun, meme invaziv duktal kanser dokularındaki tümör infiltrasyonu yapan CD8 T lenfositlerinin sayısı ile ilişkilendirildiğini, tümör yüzeyinde bulunan B7-H4'ün T hücresi bağışıklık cevabı üzerindeki inhibitör rolünü desteklediğini bildirmiştir. Bir fare tümör modelinde, tümör yüzeyinde aşırı B7-H4 ekspresyonu, CD8 tümöre özgü T hücrelerinin aktivasyonunu, artışını ve sitotoksitesini baskılayarak immünokompetan farelerde tümör büyümesini teşvik etmiştir. Bu bulgular, tümörle ilişkili B7-H4'ün T hücresi aracılı bağışıklığı bozmada ve tümör mikro çevresini şekillendirmedeki rolüne yeni bir bakış sağlamıştır (12). Kim, N. ve ark. kanser hücreleri tarafından yüksek düzeyde B7-H4 ekspresyonunun, tümörü infiltre eden özellikle sitotoksik CD8 + T lenfositlerinin baskılanması yoluyla, T hücresi aracılı immün kontrol mekanizmalarını etkileyeceğini bildirmişlerdir (13). B7-H4'ün bloke edilmesinin veya azaltılmasının, T hücresi aracılı anti-kanser yanıtları geri döndürebileceği ve kanser hastalarının hayatta kalmasını arttırabileceği düşünülmüştür. B7-H4'ün hedeflenmesinin, kanser için immünoterapinin etkinliğini arttırmak için umut verici bir potansiyele sahip olduğu, bu nedenle B7-H4'ü hedefleyen immünoterapinin, klinik çalışmalarda kanser hastalarında değerlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür (14).

Çeşitli kanser türlerinde B7-H4 ekspresyonunun artması ve bu durumun karsinojenik etkiye sebep olması, son zamanlarda kanser tedavisinde B7-H4'ün hedef alınmasını gündeme getirmiştir. B7-H4'ün ekspresyon kontrolüne etki edebilecek polimorfizm çalışmaları oldukça sınırlıdır. Literatürde bildiğimiz kadarıyla bugüne kadar yapılmış üçü meme kanseri, biri kolorektal kanser, biri mesane kanserinde olmak üzere toplam beş adet polimorfizm çalışması mevcut olup (15-19), bu çalışmalardan iki tanesi tarafımızca yapılmıştır. Bu çalışmamızda da daha önce gerçekleştirdiğimiz çalışmadan daha fazla meme kanserli olgu ve kontrol grubunda B7-H4 geni rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 polimorfizmlerini analiz ederek, meme kanseri üzerine etkisini değerlendirmeyi düşündük.

Tablo 1: MK hasta ve Kontrol grubu bireylerinde SNP genotip ve allel dağılımları

Genotipler	Kontrol Grubu n (%) N=100	Olgu Grubu n (%) N=101	χ^2 p değeri	OR (%95 CI)	p değeri
Rs1075433 (B7H4)			0,509		
AA	87 (87)	82 (81,2)		1 ^a	
GA	11 (11)	17 (16,8)		1,64 (0,73-3,71)	0,308
GG	2 (2)	2 (2)		1,06 (0,15-7,71)	1,000
AA/GA+GG	13 (13)	19 (18,8)		1,55 (0,72-3,34)	0,335
GG/GA+AA	98 (98)	99 (98)		0,99 (0,14-7,17)	1,000
Alleller			0,383		
A	185 (92,5)	181 (89,6)		1 ^a	
G	15 (7,5) HWD: 0,038	21 (10,4) HWD: 0,332		1,43 (0,72-2,86)	0,383
Rs10801935 (B7H4)			0,636		
AA	38 (38)	45 (44,6)		1 ^a	
CA	43 (43)	39 (38,6)		0,77 (0,42-1,41)	0,393
CC	19 (19)	17 (16,8)		0,76 (0,35-1,66)	0,551
AA/CA+CC	62 (62)	56 (55,4)		0,76 (0,43-1,34)	0,345
CC/CA+AA	81 (81)	84 (83,2)		0,86 (0,42-1,78)	0,716
Alleller			0,368		
A	119 (59,5)	129 (63,9)		1 ^a	
C	81 (40,5) HWD: 0,281	73 (36,1) HWD: 0,101		0,83 (0,56-1,25)	0,368
Rs3738414 (B7H4)			0,822		
GG	89 (89)	91 (90,1)		1 ^a	
AG	11 (11)	10 (9,9)		0,89 (0,36-2,20)	0,822
AA	0 (0)	0 (0)		-	-
GG/AG+AA	11 (11)	10 (9,9)		0,89 (0,36-2,20)	0,822
AA/AG+GG	100 (100)	101 (100)		-	-
Alleller			0,827		
G	189 (94,5)	192 (95)		1 ^a	
A	11 (5,5) HWD: -	10 (5) HWD: -		0,90 (0,37-2,16)	0,827

OR: Odds oranı, CI: Güven aralığı, HWD: Hardy-Weinberg dengesi, 1^a: Referans Genotip/Allel

2. Materyal ve Metod

Acıbadem Bursa Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bölümüne başvuran 101 postmenopozal östrojen reseptör pozitif (ER+) meme kanserli hasta (ortalama yaş: 62±7,8) ve 100 postmenopozal meme kanseri olmayan kontrol grubunun (ortalama yaş: 52,6 ± 3,7) yer aldığı çalışmaya başlanmadan önce, Acıbadem Üniversitesi, Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'dan onay alınmıştır (Karar No: 2013-495). Hem hasta hem de kontrol grubu tarafından bilgilendirilmiş onam formu imzalanmıştır. Tüm olguların, tıbbi öykü, demografik özellikler, menarş yaşı, ilk doğum yapma yaşı, çocuk sayısı, menapoz yaşı, hormon replasman tedavisi, sigara ve alkol tüketim bilgileri ve aile öyküsü detayları bilgi formlarına doldurulmuştur. Ek olarak, hasta grubu için, tıbbi kayıtlardan, tanı yaşı, tümör derecesi, tümör histolojisi, metastaz, tümör büyüklüğü, lenf nodu metastazı durumu, östrojen reseptör durumu, progesteron reseptör durumu, Her2Neu durumu bilgileri elde edilmiştir.

Olgu ve kontrol grubundan EDTA'lı tüplere alınan periferik kanlardan DNA izolasyonu High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) kullanılarak, üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonunu takiben genotipleme, multipleks PCR ve Matriks Yardımlı Lazer Dezorpsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi (MALDI TOF-MS) yöntemleriyle yapılmıştır. Daha sonra, SAP ve iPLEX reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Spektrochip örnek transferi, örnek iyonizasyonu Sequenom MassARRAY 4 analizöründe yapılmış, kütle spektrum analizi için MassARRAY TYPHER 4.0 (Agena Bioscience, San Diego, USA) yazılımı kullanılmıştır. İstatistiksel analiz, SPSS 18.0 software (SPSS Inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.) kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 2: SNP'ler ve MK tümörlerinin histopatolojik parametreleri

Genotip Frekansları (%)	BMI			Progesteron reseptör durumu		Her2/neu durumu		Tümör büyüklüğü		Lenf nodu tutulumu		Tümör derecesi		Metastaz		Aile öyküsü	
	<25	25-29,9	≥30	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	≤5 cm	>5 cm	Var	Yok	I, II	III	Var	Yok	Var	Yok
Rs1075433 (B7H4)																	
AA	13,1(92,9)	29 (78,4)	40 (80)	19 (100)	63 (76,8)	62 (81,6)	20 (80)	70 (79,5)	9 (100)	36 (80)	45 (83,3)	51 (82,3)	22 (78,6)	71 (80,7)	10 (83,3)	63 (80,8)	18 (81,8)
GA	1 (7,1)	8 (21,6)	8 (16)	0 (0)	17 (20,7)	13 (17,1)	4 (16)	16 (18,2)	0 (0)	7 (15,6)	9 (16,7)	10 (16,1)	6 (21,4)	15 (17)	2 (16,7)	13 (16,7)	4 (18,2)
GG	0 (0)	0 (0)	2 (4)	0 (0)	2 (2,4)	1 (1,3)	1 (4)	2 (2,3)	0 (0)	2 (4,4)	0 (0)	1 (1,6)	0 (0)	2 (2,3)	0 (0)	2 (2,6)	0 (0)
p değeri	0,514			0,070		1,000		0,356		0,379		0,840		1,000		1,000	
Rs10801935 (B7H4)																	
AA	10 (71,4)	13 (35,1)	22 (44)	8 (42,1)	37 (45,1)	31 (40,8)	14 (56)	41 (46,6)	4 (44,4)	19 (42,2)	26 (48,1)	30 (48,4)	12 (42,9)	39 (44,3)	6 (50)	33 (42,3)	11 (50)
CA	2 (14,3)	18 (48,6)	19 (38)	8 (42,1)	31 (37,8)	31 (40,8)	8 (32)	32 (36,4)	3 (33,3)	18 (40)	19 (35,2)	20 (32,3)	12 (42,9)	34 (38,6)	4 (33,3)	32 (41)	7 (31,8)
CC	2 (14,3)	6 (16,2)	9 (18)	3 (15,8)	14 (17,1)	14 (18,4)	3 (12)	15 (17)	2 (22,2)	8 (17,8)	9 (16,7)	12 (19,4)	4 (14,3)	15 (17)	2 (16,7)	13 (16,7)	4 (18,2)
p değeri	0,183			0,942		0,404		1,000		0,835		0,602		0,921		0,731	
Rs3738414 (B7H4)																	
GG	13 (92,9)	35 (94,6)	43 (86)	16 (84,2)	75 (91,5)	70 (92,1)	21 (84)	78 (88,6)	9 (100)	41 (91,1)	48 (88,9)	57 (91,9)	23 (82,1)	79 (89,8)	11 (91,7)	72 (92,3)	18 (81,8)
AG	1 (7,1)	2 (5,4)	7 (14)	3 (15,8)	7 (8,5)	6 (7,9)	4 (16)	10 (11,4)	0 (0)	4 (8,9)	6 (11,1)	5 (8,1)	5 (17,9)	9 (10,2)	1 (8,3)	6 (7,7)	4 (18,2)
AA	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
p değeri	0,440			0,393		0,258		0,591		0,752		0,275		1,000		0,220	

BMI: Vücut kütle indeksi, PR: Progesteron reseptörü, HER2/neu: İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü

3.Sonuçlar

MK olgu ve kontrol grubu arasında, meme kanserinin progresyonuyla ilgili olduğu bilinen faktörlerden yaş, ilk doğum yapma yaşı, aile öyküsü açısından istatistiki olarak anlamlı fark olduğu belirlenmiştir (sırasıyla, $p=0,000$ $p=0,000$ ve $p=0,006$).

B7-H4 geni rs10754339, rs10801935, ve rs3738414 polimorfizmlerinin gruplar arasındaki allel ve genotip dağılımları Tablo 1.'de gösterilmiştir. Polimorfizmlerin gruplar arasındaki allel ve genotip dağılımları istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (tüm $p>0,05$). Çalışılan rs10754339, rs10801935 polimorfizmleri her iki grupta da Hardy-Weinberg dengesinde bulunmuştur.

MK hasta grubunda, çalışılan SNP'ler ve BMI, PR durumu, Her2Neu durumu, tümör büyüklüğü, lenf nodu metastazı durumu, tümör derecesi, metastaz durumu, aile öyküsü arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte, PR pozitifliği ile rs1075433 AG genotipi, istatistiki olarak anlamlılığa en yakın korelasyonu göstermiştir ($p=0,070$) (Tablo 2).

4.Tartışma-Sonuç

Meme kanseri etiyolojisinin oldukça karmaşık olduğu bilinmektedir ve hastalığın altında yatan neden tam olarak aydınlatılamamıştır. Pek çok genetik, endokrin ve çevresel faktör hastalık nedenleri arasında yer almaktadır (20). 2018 yılında yayımlanan Türkiye'deki kanser verilerine göre, MK kadınlar arasındaki en yaygın kanser türü (2015 yılında 43,8/100000 kişi) olup, diğer popülasyonlarda olduğu gibi, kanser ölümlerinin başlıca nedenleri arasında yer almaktadır (21). 1993 yılında bildirilen 24,1/100000 olan insidans göz önüne alındığında, son 20 yılda Türkiye'deki MK frekansı oldukça yükselmiştir (22).

Translasyona uğramayan bölgeler (UTR'ler) ve en önemlisi ilk intron olmak üzere intronlar gen ekspresyonunu düzenleyebilirler ve bu düzenleme; stabil mRNA üretimi, translasyonel verim artışı ve mRNA'nın yıkılması ile sonuçlanabilir. Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında, B7-H4 geni, UTR'lerinde ve ilk intronunda yeni tespit edilen üç tek nükleotid polimorfizmi (SNP), Çin Han popülasyonunda meme kanseri riski ile, ilk defa bir ilişki göstermiştir (15).

B7-H4 geni, çeşitli kanser türlerinde yüksek derecede eksprese edildiği için, literatürde pek çok ekspresyon çalışması mevcut olmakla birlikte; B7-H4 geni polimorfizm çalışması oldukça sınırlıdır. Meme kanserinde Zhang ve ark. tarafından yapılan ilk polimorfizm çalışmasında rs10754339, rs10801935, ve rs3738414 SNP'leri analiz edilmiş olup, bu SNP'lerin meme kanseri riskiyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, rs10754339 AG genotipi ve G aleli, Çin Han popülasyonunda meme kanseri riski ile birliktelik göstermiştir ($p<0,05$). Bu SNP'nin transkript çeşidini ve gen ekspresyonunu değiştirdiği bildirilmiştir (15). Daha önce tarafımızca gerçekleştirilen çalışmada Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmayla uyumlu olarak rs10754339 AG genotipi ve G alleli, meme kanserli hasta grubunda kontrol grubundan daha yüksek frekansta bulursa da bu birliktelik istatistiki olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (16). Daha yüksek olgu ve kontrol grubuyla yaptığımız mevcut çalışmamızda ise, artan olgu sayılarına rağmen yine aynı sonuç bulunmuş olup (rs10754339 AG genotipi ve G alleli, meme kanserli hasta grubunda daha yüksek frekanstadır), sonuç yine istatistiki olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Tsai ve ark.'nın Taiwan popülasyonunda yaptıkları çalışmada ise rs10754339 AG genotipi meme kanseri riskiyle birliktelik göstermiştir ($p<0,05$) (18). Bunun yanında, tarafımızca yapılmış olan ve literatürdeki tek mesane kanseri B7-H4 geni polimorfizm çalışmasında, rs10754339 AA genotipi mesane kanseri olgu grubunda kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek frekansta tespit edilmiş olup, bu SNP'nin mesane kanserinde daha güçlü bir biomarker olabileceği düşünülmüştür (19).

B7-H4 geni rs10801935 CC genotipi, Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmada meme kanseri olgu grubunda kontrol grubundan daha düşük frekansta bulunmuş ($p<0,05$) olup, bu genotipin meme kanserinden koruyucu olabileceği sonucuna varılmıştır (15). Daha önce yaptığımız çalışmada ve daha fazla olgu sayısı ile gerçekleştirdiğimiz mevcut çalışmada, Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmayla uyumlu olarak rs10801935 CC genotipi mem kanseri grubunda, kontrol grubundan daha düşük frekansta tespit edilmiş olsa da her iki çalışmamızda da sonuçlar istatistiki olarak anlamlı değildir (16). Tsai ve ark.'nın Taiwan popülasyonunda yaptıkları çalışmada ise, farklı olarak rs10754339 AG genotipi meme kanseri riskiyle birliktelik göstermiştir ($p<0,05$) (18).

Zhang ve ark.'nın çalışmasında B7-H4 geni rs3738414 AA genotipi ve A allelinin, meme kanserinde koruyucu olduğu düşünülmüştür ($p<0,05$) (15). Tsai ve ark. Taiwan popülasyonunda yaptıkları çalışmada Zhang ve ark. ile uyumlu olarak rs3738414 AA genotipinin meme kanseri riskini anlamlı derecede azalttığını bildirmişlerdir ($p<0,05$) (18). Daha önce yaptığımız çalışmada, mesane kanserinde rs3738414 AG genotipinin koruyucu olduğu düşünülmüştür ($p<0,05$) (19). Mevcut çalışmamızda ise bu SNP ve meme kanseri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Zhang ve ark.'nın çalışmasında B7-H4 geni rs10754339 GG genotipi lenf nodu metastazı ve PR durumuyla anlamlı derecede korelasyon gösterirken, AG genotipi ve G alleli lenf nodu metastazı ve ER durumuyla birliktelik göstermiştir (p<0,05) (15). Mevcut çalışmamızda, rs10754339 AA ve AG genotipleri PR+ ile birliktelik göstermiş olup, istatistiki anlamlılığa yakındır (p=0,07). Tsai ve ark.'nın Taiwan popülasyonunda yaptıkları çalışmada, B7-H4 geni polimorfizmlerinin klinikopatolojik parametrelerle birlikteliğinden bahsedilmemiştir (18).

B7-H4 geni polimorfizmlerinden biri de Wu, D. ve ark. tarafından kolorektal kanserde analiz edilmiş olup, literatürde ilk defa rs13505 GG genotipi, kolorektal kanserli grupta kontrol grubuna göre daha yüksek frekansta bulunmuştur (p=0,03). Ayrıca çalışmada, miR-1207-5p'nin, B7-H4 genini rs13505 G alleleline bağlanmak suretiyle baskılayabildiği gösterilmiştir (17).

G. Saad El Din ve ark. çalışmasında, rs10754339 G allelinin MK progresyonu ve lenf nodu metastazıyla birliktelik göstermesinin yanında, MK riskini 1,45 kat artırdığı belirtilirken, bu SNP'nin miRNA tarafından düzenlenme mekanizması araştırılmıştır. Çalışmada, yeni bir tümör supressör olan miR-506-3p'nin MK progresyonu ve lenf nodu metastazını rs10754339 G allelini downregüle etmek suretiyle azalttığı gösterilmiştir (23).

Sonuç olarak, çalışmamızda B7-H4 geni rs10754339, rs10801935 ve rs3738414 polimorfizmlerinin hiç biri meme kanseri riski veya koruyuculuğu açısından istatistiki olarak anlamlı bir birliktelik göstermemiştir. Daha önce mesane kanserinde yaptığımız çalışmada ise, sonuçların istatistiki olarak anlamlı çıkması, B7-H4 geni polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda mesane kanseri yatkınlığının değerlendirilmesinde daha etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışma ve önceki çalışmalarımızın sonuçlarını göz önüne aldığımızda, B7-H4 geni rs10754339, rs10801935, ve rs3738414 polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda ve diğer popülasyonlarda farklı kanser türlerinde de değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Kaynakça

- [1] Khazaei Z, Mosavi Jarrahi A, Momenabadi V, Ghorat F, Adineh HA, Sohrabivafa M, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide stomach cancers and their relationship with the human developmentindex (HDI). *World Cancer Res J.* 2019;6:e1257.
- [2] Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res.* 2017;50(1):33.
- [3] Sica GL, Choi IH, Zhu G, Tamada K, Wang SD, Tamura H, et al. B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity. *Immunity.* 2003;18(6):849-61.
- [4] Choi IH, Zhu G, Sica GL, Strome SE, Cheville JC, Lau JS, et al. Genomic organization and expression analysis of B7-H4, an immune inhibitory molecule of the B7 family. *J Immunol.* 2003;171(9):4650-4.
- [5] Smith JB, Stashwick C, Powell DJ. B7-H4 as a potential target for immunotherapy for gynecologic cancers: a closer look. *Gynecol Oncol.* 2014;134(1):181-189.
- [6] Watanabe N, Gavrieli M, Sedy JR, Yang J, Fallarino F, Loftin SK, et al. BTLA is a lymphocyte inhibitory receptor with similarities to CTLA-4 and PD-1. *Nat Immunol.* 2003;4(7):670-9.
- [7] Salceda S, Tang T, Kmet M, Munteanu A, Ghosh M, Macina R, et al. The immunomodulatory protein B7-H4 is overexpressed in breast and ovarian cancers and promotes epithelial cell transformation. *Exp Cell Res.* 2005;306(1):128-41.
- [8] Podojil JR, Miller SD. Potential targeting of B7-H4 for the treatment of cancer. *Immunol Rev.* 2017;276(1):40-51.
- [9] 2018-Chen X, Tao L, Yuan C, Xiu D. The prognostic value of B7-H4 in pancreatic cancer: Systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(12):e0088.
- [10] MacGregor HL, Ohashi PS. Molecular pathways: evaluating the potential for B7-H4 as an immunoregulatory target. *Clin Cancer Res.* 2017;23:2934-41.
- [11] Zhang X, Cai L, Zhang G, Shen Y, Huang J. B7-H4 promotes tumor growth and metastatic progression in lung cancer by impacting cell proliferation and survival. *Oncotarget.* 2017;8(12):18861-18871.
- [12] Zhou L, Ruan M, Liu Y, Zhu Y, Fu D, Wu K, et al. B7H4 expression in tumor cells impairs CD8 T cell responses and tumor immunity. *Cancer Immunol Immunother.* 2020;69(2):163-174.
- [13] Kim NI, Park MH, Kweon SS, Lee JS. B7-H3 and B7-H4 Expression in Breast Cancer and Their Association with Clinicopathological Variables and T Cell Infiltration. *Pathobiology.* 2020;87(3):179-192.
- [14] Wang L, Heng X, Lu Y, Cai Z, Yi Q, Che F. Could B7-H4 serve as a target to activate anti-cancer immunity? *Int Immunopharmacol.* 2016;38:97-103.
- [15] Zhang J, Zhang M, Jiang W, Wang L, Fu Z, Li D, et al. B7-H4 gene polymorphisms are associated with sporadic breast cancer in a Chinese Han population. *BMC Cancer.* 2009;9:394.
- [16] Özgöz A, Şamlı H, Öztürk KH, Orhan B, Icduygu FM, Aktepe F, et al. An investigation of the effects of FGFR2 and B7-H4 polymorphisms in breast cancer. *J Cancer Res Ther.* 2013;9(3):370-5.

- [17] Wu D, Tang R, Qi Q, Zhou X, Zhou H, Mao Y, et al. Five functional polymorphisms of B7/CD28 co-signaling molecules alter susceptibility to colorectal cancer. *Cell Immunol.* 2015;293(1):41-8.
- [18] Tsai SM, Wu SH, Hou MF, Yang HH, Tsai LY. The Immune Regulator VTCN1 Gene Polymorphisms and Its Impact on Susceptibility to Breast Cancer. *J Clin Lab Anal.* 2015;29(5):412-8.
- [19] Özgöz A, Şamli M, Dinçel D, Şahin A, Ince Ü, Sağlıcan Y, et al. Association of B7-H4 gene polymorphisms in urothelial bladder cancer. *Turk J Med Sci.* 2017;47(2):443-446.
- [20] Özgöz A, İçduygu FM, Yükseltürk A, Şamli H, Öztürk KH, Başkan Z. Low-penetrance susceptibility variants and postmenopausal oestrogen receptor positive breast cancer. *J Genet.* 2020;99:15.
- [21] Türkyılmaz M, Hacıkamiloğlu E, Baran Deniz E, Boztaş G, DüNDAR S, Kavak Ergün A, ve ark. Türkiye kanser istatistikleri 2015, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ankara, 2018.
- [22] Özmen V. Breast Cancer in Turkey: Clinical and Histopathological Characteristics (Analysis of 13.240 Patients). *J Breast Health.* 2014;10(2):98-105.
- [23] Saad El Din G, Youness RA, Assal RA, Gad MZ. rs10754339 (A/G) in 3'UTR of B7-H4 regulated by miR-506-3p prevents breast cancer progression. 11th European Breast Cancer Conference; 21-23. March 2018; Barcelona, Spain. *European Journal of Cancer* 2018;92,Suppl.3:S136.