NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.11/43 , 2021

Scan online to view this article

Overexpression of *B7-H4* gene in gastric cancer as a potential diagnostic biomarker

Khadijeh Fanaei[1], Iman Salahshourifar[* 1], Shiva Irani[1], Mohsen Esfandbod[2], Fereshteh Ameli[3]

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Hematology and Oncology, Imam Khomeini Hospital complex, Tehran University of Medical Scien TUMS.
3. Pathology Department, Cancer Institute, Imam Khomeini Hospital complex, Tehran University of Medical Sciences.

Abstract

Aims and Background: Gastric cancer is one of the most common cancers with high mortality. *B7-* has been identified as potential novel diagnostic biomarker in gastric cancer. But, its clinical significar in this area is still unclear. The purpose of the present study was to examine the expression level of *B7-* mRNA in tumor tissue of gastric cancer patient with and without history in comparison with th marginal tissue. Also we evaluate its role in tumor progression and prognosis.

Materials and Methods: In this study, paraffin blocks were studied from 60 patients with gast adenocarcinoma (30 with metastasis at the time of diagnosis and 30 without evidence of metastasis) w underwent gastrectomy during 1387-97 in Imam Khomeini Hospital in Tehran. Samples were taken fr paraffin blocks by punching method (including tumor and tumor margin for each sample) after the a was identified by the pathologist. RNA extraction was performed from tumor sections and tumor margi *B7-H4* mRNA expression was assessed by quantitative Real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR

Results: Increased expression of *B7-H4* mRNA was observed in 81.5% of tumor tissues. There wa significant difference in *B7-H4* mRNA expression in tumor tissues of cases with metastasis ($p < 0.0$ and without metastasis ($p < 0.003$) compared to tumor margin. However, comparison of *B7-H4* mR expression between tumor tissues of metastatic and non-metastatic individuals did not show a signific difference ($p = 0.732$). Analyzes did not show a significant relationship between B7-H4 mR expression and clinical and histopathological variables.

Conclusion: Our findings indicate the possible role of B7-H4 as a potential diagnostic biomarker patients with gastric cancer. Although more research is needed in this area.

Keywords: Gastric cancer, *B7H4*, qRT-PCR, Iau Science.

Corresponding author:
Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: isalahshouri@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۱ - شماره۴۳ - تابستان ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

افزایش بیان ژن *B7-H4* درسرطان معده و نقش آن به‌عنوان یک بیومارکر بالقوه تشخیصی

خدیجه فنائی[۱]، ایمان سلحشوری فر[۱*]، شیوا ایرانی[۱]، محسن اسفند بد[۲]، فرشته عاملی[۳]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
۲. گروه هماتولوژی و انکولوژی، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران.
۳. گروه پاتولوژی، انستیتو کانسر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تهران.

چکیده

سابقه و هدف: سرطان معده یکی از متداول‌ترین سرطان‌های شایع با مرگ و میر بالاست. *B7-H4* به‌عنوان یک بیومارکر جدید تشخیصی بالقوه در سرطان معده ذکر شده است. اما اهمیت بالینی آن در این زمینه هنوز نامشخص است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی سطح بیان mRNA ژن *B7-H4* در نمونه‌های توموری متاستازی و غیرمتاستازی در مقایسه با حاشیه تومور بافت-های مربوطه و ارزیابی نقش آن در پیشرفت و پیش‌آگهی تومور بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، بلوک‌های پارافینه از ۶۰ بیمار با گاستریک آدنوکارسینوما (۳۰ مورد همراه با متاستاز در زمان تشخیص و۳۰ مورد بدون شواهد متاستاز) که طی سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۹۷ در بیمارستان امام خمینی تهران تحت گاستروکتومی قرار گرفته بودند، مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها به روش پانچ (شامل تومور و حاشیه تومور برای هر نمونه) از بلوک‌های پارافینه بعد از مشخص شدن ناحیه مدنظر توسط پاتولوژیست گرفته شد. استخراج RNA از بخش‌های توموری و حاشیه تومور انجام شد. بیان mRNA *B7-H4* از طریق quantitative Real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: افزایش بیان mRNA *B7-H4* در ۸۱/۵٪ از بافت‌های توموری مشاهده شد. اختلاف معنی‌دار در بیان *B7-H4* mRNA در بافت‌های توموری موارد همراه با متاستاز ($p<۰/۰۰۱$) و بدون متاستاز ($p<۰/۰۰۳$) در مقایسه با حاشیه تومور دیده شد. اما مقایسه **بیان** *B7H4* mRNA بین بافت‌های توموری افراد با متاستاز یا بدون متاستاز، تفاوت معنی‌داری ($p=۰/۷۳۲$) را نشان نداد. هم‌چنین آنالیزها ارتباط معنی‌دار بین بیان *B7-H4* mRNA و متغیرهای کلینیکال وهسیتوپاتولوژی را نشان نداد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما حاکی از نقش احتمالی *B7-H4* به‌عنوان یک بیومارکر، در بیماران با سرطان معده است. اگر چه تحقیقات بیش‌تر در این زمینه مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: سرطان معده، qRT-PCR ، *B7-H4*.

مقدمه

سرطان معده پنجمین بدخیمی شایع در جهان و سومین عامل مرگ و میرهای ناشی از سرطان در جهان است (۱). اثرات درمانی نئوادجوانتی در سرطان معده ناامید کننده بوده است و درمان قطعی هم‌چنان برداشت کامل تومورهای اولیه با لنفادنکتومی مناسب است. حتی برخی از این بیماران با همان مرحله TNM، دارای پیش‌آگهی و نتیجه درمان متفاوت هستند. نشان داده شده است مهم‌ترین فاکتور در کاهش مرگ و میر در بیماران مذکور، تشخیص بیماری در مراحل اولیه است. لذا محققان به‌دنبال شناسایی نشانگرهای زیستی مولکولی و اهداف درمانی جدید هستند (۲،۳). به-تازگی *B7-H4* به‌عنوان یک عضو جدید از خانواده B7 مورد

نویسنده مسئول:
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
پست الکترونیکی: isalahshouri@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

توجه قرار گرفته است. این خانواده نقش محوری در فرآیندهای تنظیمی در پاسخ ایمنی دارند و با شروع، تکامل و عود کانسر مرتبط هستند (۴،۵). ژن نوع انسانی *B7-H4* روی کروموزوم ۱ قرار گرفته است و دارای شش اگزون و پنج اینترون است (۶). مشخص شده است بیان *B7-H4* در سرطان‌های مختلف به‌طور قوی با پیشرفت تومور، کاهش انفیلتراسیون لنفوسیت‌ها، کاهش آپوپتوز و افزایش عبور از فاز G1/S و سپس تکثیر سلول توموری همراه است (۴،۷). هم‌چنین بیان *B7-H4* با پارامترهای کلینیکوپاتولوژی زیادی نظیر: سایز تومور، طبقه‌بندی تومور پرایمری، درجه TNM بدخیمی، پیش‌آگهی ضعیف‌تر، متاستاز تسهیل شده، بقاء کلی و سلول‌های T نفوذ کننده تومور همراه می‌شود (۴،۸،۹). اما مطالعه‌های کمی ارتباط بین بیان *B7-H4* را در تومورهای اولیه و ویژگی‌های توموری در بیماران با سرطان معده نشان داده است. هدف از این مطالعه، ارزیابی سطح بیان mRNA *B7-H4* در نمونه‌های بیماران با تومور معده با یا بدون متاستاز در مقایسه با حاشیه تومور بافت‌های مربوطه و ارتباط آن با ویژگی‌های کلینیکوهیستوپاتولوژیکال است.

مواد و روش‌ها

انجام این مطالعه به تصویب کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات تهران رسید (IR.IAU.SRB.REC.1397.109). بررسی نمونه‌ها توسط دو پاتولوژیست باتجربه مستقل، براساس پروتکل کالج پاتولوژیست‌های آمریکا انجام شد (۱۰). این مطالعه از زمان جمع آوری نمونه (فروردین۱۳۹۷) طی مدت۳ سال و نیم و به‌صورت یک مطالعه گذشته نگر انجام شد. نمونه‌های بیولوژیکی بیماران با سرطان معده، از تومور بانک بین‌المللی ایران، انستیتو کانسر دانشکده پزشکی دانشگاه تهران، تهیه گردید. از بین بیمارانی‌که طی سال‌های ۸۷ تا ۹۷ در بیمارستان امام خمینی تهران تحت گاستروکتومی قرار گرفته بودند، شامل ۶۰ بیمار (۳۰ مورد همراه با متاستاز در زمان تشخیص و۳۰ مورد بدون شواهد متاستاز) با تشخیص آدنوکارسینومای معده انتخاب شدند. کامل بودن سوابق پزشکی این بیماران در انستیتو کانسر و کافی بودن بلوک جراحی آن‌ها، از دیگر معیارهای ضروری ورود بیماران به این مطالعه بود. براساس مدارک پزشکی بیماران، اطلاعاتی شامل جنس، سن، اندازه و موقعیت تومور، تعداد کانون تومور، مرحله پیشرفت و درجه تومور، طبقه‌بندی لورن، تهاجم به عروق لنفاوی و عصبی، تعداد گره‌های لنفاوی درگیر و وضعیت متاستاز نمونه‌ها بررسی و مورد تأیید پاتولوژیست قرار گرفتند (جدول ۱). زیر نظر پاتولوژیست، لام‌های H&E (هماتوکسیلین و ائوزین) نمونه گاستروکتومی بیماران با میکروسکوپ نوری دیده شد. براساس کیفیت و کمیت بافت‌های مورد مشاهده در زیر میکروسکوپ، بلوک‌های FFPE[1] انتخاب شدند. نمونه‌ها بروش پانچ (شامل بافت توموری و حاشیه تومور) از بلوک‌های پارافینی تهیه گردیدند. محل انجام آزمایش‌ها، مجتمع آزمایشگاهی رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران و آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک نور تهران بود.

استخراج RNA و سنتز cDNA

پارافین‌زدائی از ۶۰ نمونه بافتی (تومور و حاشیه تومور)، با استفاده از زایلن (Xylene) Navid tejarat, cat no: 247642 , Iran) انجام شد. کل RNA با استفاده از محلول RiboExTM و براساس دستورالعمل کیت Gene all (South Korea cat no: 305-101) استخراج شد. خلوص و غلظت RNA های استخراج شده با نانودراپ (Termofisher, USA) بررسی شدند. سنتز cDNA با استفاده از ۱۰۰ نانوگرم از RNA کل خالص شده، پرایمرهای رندوم هگزامر و طبق دستورالعمل کیت (taghiz, cat no: YT4500, Iran Yekta) صورت گرفت.

واکنش qRT-PCR

تکثیر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد (۱۱). به‌منظور جلوگیری از هر نوع آلودگی نمونه با DNA ژنومیک، پرایمرها به‌صورت exon – exon junction انتخاب شدند. برای اطمینان از اختصاصیت پرایمرها با موقعیت‌های واکنش مورد استفاده، همه پرایمرها blast شدند. کیفیت RNA های استخراج شده با استفاده از ژن house keeping، بتا ۲ میکروگلوبولین (*β2m*) (۱۲) مورد ارزیابی قرار گرفتند. کارائی واکنش qRT-PCR از طریق کاهش طول امپلیکون به ۱۵۰ bp، نمونه‌گیری به روش پانچ، ارزیابی کارائی پرایمرها، استفاده از میزان مساوی نمونه برای تمام واکنش‌ها، تکرار دوتائی واکنش‌ها و استفاده از آب به‌عنوان نمونه کنترل منفی، تثبیت شد. تکثیر در یک حجم

[1] Formalin-fixed paraffin embedded

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

کلی ۲۰ µl، شامل ۲۰۰ ng از cDNA، Hot start Master Mix Green-No ROX (۱۰ µl Ampliqon, Danmark, no. A323402-25,) و ۱۵ pmol از هر پرایمر اختصاصی انجام شد. تکثیر نمونه‌ها با دناتوراسیون در دمای ۹۵°C طی ۱۵ min آغاز شد. سپس واکنش‌ها در ۴۰ سیکل به‌صورت زیر پیگیری شد: دناتوراسیون در ۹۵°C طی ۳۰s، ذوب پرایمرها در ۵۸°C طی ۳۰ s و گسترش در ۷۲°C طی ۳۰ s. تکثیر نمونه‌ها با ترموسایکلر (Bio-Rad, CFX-96, Canada) انجام گرفت.

آنالیز داده‌ها

دمای ذوب در°C ۷۹-۸۰ ثبت شد. آنالیزهای منحنی ذوب، صحت منحنی تکثیر qRT-PCR را تأیید نمودند (شکل ۱). سایز محصولات اختصاصی PCR و آنالیز منحنی تجزیه، با ران کردن نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱/۵٪ تأیید شدند. بیان نسبی mRNA ژن B7-H4 با استفاده از مقایسه threshold cycle (CT) نمونه‌ها و براساس روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (۱۳) محاسبه گردید. میانگین CT در طی فاز نمائی تکثیر، برای هر تکرار دوتائی نمونه توموری یا حاشیه تومور، از میانگین CT ژن رفرنس کسر گردید. سپس طبق فرمول زیر فولد چنج محاسبه شد:

$$\Delta Ct\ (tumor) - \Delta Ct\ (margin) = -\Delta\Delta Ct = \log 2 \text{fold change} \Rightarrow \text{fold change} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (version 26.0 Chicago, IL, USA) انجام شد. آنالیز متغیرهای پیوسته، براساس میانگین (±standard deviation, range) و Student's *t*-test و متغیرهای کیفی با استفاده از Fisher's exact test, Chi-square test, and Monte Carlo صورت گرفت. یک P-value < ۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۶۰ بیمار با سرطان معده مورد بررسی، ۷۳/۳٪ مرد و ۲۶/۷٪ زن بودند. میانگین سن بیماران ۱۳/۱۴± ۶۰/۷۲ (در محدوده ۲۴ تا ۸۷ سال) بود. میانگین سایز تومور۲/۹۲ ± ۴/۴۵ (در محدوده ۱ تا ۱۹ سانتی‌متر) بود. یک رابطه معنی‌دار بین هیچ‌یک از ویژگی‌های کلینیکوهیستوپاتولوژیکی و افزایش بیان mRNA *B7-H4* دیده نشد. افزایش بیان mRNA B7-H4 در ۸۱/۵٪ از بافت‌های توموری در مقایسه با حاشیه تومور دیده شد (جدول ۲). براساس آزمون t مستقل، اختلاف معنی‌داری در بیان mRNA *B7-H4* در مقایسه حاشیه تومور با بافت‌های توموری مربوطه متاستاتیک ($p<۰/۰۰۱$) و غیرمتاستاتیک ($p<۰/۰۰۳$) دیده شد. اما مقایسه بیان mRNA *B7H4* بین بافت‌های تومورهای متاستاتیک با غیرمتاستاتیک تفاوت معنی‌داری ($p=۰/۷۳۲$) را نشان نداد (شکل۲ و ۳). هم‌چنین براساس تحلیل ROC[2]، بیان *B7-H4* در نقطه برش (cut-off) ۲۵/۹ می‌تواند با حساسیت ۷۴/۶٪ و ویژگی ۷۰/۱٪ و سطح زیر منحنی ۰/۷۶۳ (95% CI: 0.681-0.845) مارژین را از تومور افتراق دهد. تحلیل ROC به‌منظور بررسی توانایی fold difference برای ژن *B7-H4* جهت تشخیص تومورهای متاستاتیک از غیرمتاستاتیک، نقطه برش (cut-off) با حساسیت و ویژگی بیش‌تر از ۷۰٪ ارائه نکرد. سطح زیر منحنی ۵۵۶/ بود (95% CI: 0.417-0.695) (شکل۳).

بحث

B7-H4 به‌عنوان یک مارکر خونی قابل دسترس بالینی، مارکر قطعی[3] CTC در GC و بیومارکر جدید تشخیصی امیدوارکننده معرفی شده است (۱۴). چنانچه Jiang و همکاران نشان دادند که *B7-H4* یک مارکر بسیار خوب برای ارائه پیش‌آگهی، جهت شناسائی بیماران با سرطان معده پیشرفته است و باید در کلینیک‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۱۵). اما نقش *B7-H4* در سرطان معده هنوز مورد بحث است و مطالعه‌های کمی در این زمینه انجام شده است (۵). در مطالعه حاضر، سطح بیان mRNA *B7-H4* در نمونه‌های توموری متاستازی و غیرمتاستازی در مقایسه با حاشیه تومور بافت‌های مربوطه و ارتباط آن با ویژگی‌های کلینیکوهیستوپاتولوژی، با استفاده از روش qRT-PCR ارزیابی شد. به‌طور کلی مسیرهای سیگنالینگ شرکت کننده در بیان *B7-H4* تا حد زیادی ناشناخته است و مطالعه‌ها در این زمینه، بیش‌تر بر روی فاکتورهای درگیر در افزایش بیان *B7-H4* تمرکز کرده‌اند. پیچیدگی microenvironment تومور ممکن است به‌طور چشم‌گیری بر روی بیان *B7-H4* مؤثر باشد و مکانیسم‌های مشخص مولکولی مربوطه برای

[2] Receiver operating characteristic
[3] circulating tumor cell

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

روشن شدن آن نیاز است (۱۶). در شرایط in vitro، افزایش بیان *B7-H4* پس از کشت با $TGF\beta_1$ از طریق یک افزایش در miR_{155} منجر به کاهش miR_{143}، بازدارنده *B7-H4* می‌شود. در کارسینومای سلولی کلیه، بیان بالاتر *B7-H4* در عروق تومور در مقایسه با رگ‌های بافت مجاور تومور گزارش شده است. پروتئین *B7-H4* به‌عنوان یک شاتل پروتئین عمل می‌کند. کاهش *B7-H4* در غشاء APCs موش دیابتی و بیماران، به‌طور هم‌زمان با یک افزایش در سطوح سرمی *B7-H4* محلول همراه می‌شود. هم‌چنین در سرم بیماران با سرطان پیشرفته تخمدان، پیشنهاد آزادسازی *B7-H4* از غشاء، به‌عنوان یک مکانیزم ناشی از افزایش سطوح *B7-H4* محلول ذکر شده است (۱۷).

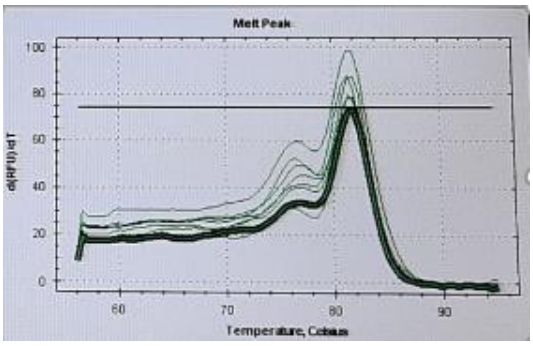
جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده

Gen	Sequence	Tm
B7H4 (Target)	F: 5′-CTTCTGCCTCTCAGCCCTTA-3′ R: 5′-GAAATAGTTCTGTAGATCCCTGTTG-3′	60 63
*β2m(*Reference*)*	F: 5′-TGTCTTTCAGCAAGGACTGG -3′ R: 5′-GATGCTGCTTACATGTCTCG -3′	60 61

جدول۲. خصوصیات عمومی و بالینی افراد مبتلا به سرطان معده

Variable			B7 expression		P
		Total (60)	Reduced	Increased	
Age	≥60	24 (40.0%)	5 (45.4%)	19 (39.5%)	0.999‡
	>60	36 (60.0%)	6 (64.6%)	30 (60.5%)	
Gender	Male	44 (73.3%)	9 (81.8%)	35 (71.4%)	0.710‡
	Female	16 (26.7%)	2 (18.2%)	14 (28.6%)	
Tumor size	6cm≤	50 (83.3%)	8 (72.7%)	42 (85.7%)	0.646
	>6 cm	10 (16.7%)	3 (27.3%)	7 (14.3%)	
Tumor location	Upper	14 (23.3%)	1 (0.09%)	13 (26.5%)	0.551
	Middle	14 (23.3%)	4 (36.3%)	10 (20.5%)	
	Lower	32 (53.3%)	6 (54.5%)	26 (53.0%)	
Focal	Unifocal	57 (95.0%)	10 (90.9%)	47 (95.9%)	0.439‡
	Mutifocal	3 (5.0%)	1 (9.1%)	2 (4.1%)	
Histological grade	Well to moderately	36 (60.0%)	6 (64.6%)	30 (60.5%)	0.999‡
	Poor	24 (40.0%)	5 (45.4%)	19 (39.5%)	
Stage	I/II	24 (40.0%)	3 (27.3%)	21 (42.9%)	0.725‡
	III/IV	36 (60.0%)	8 (72.7%)	28 (57.1%)	
Lauren's classification	Intestinal	34 (56.7%)	5 (45.4.0%)	29 (60.4%)	0.586†
	Diffuse	23 (38.3%)	6 (64.6.0%)	17 (34.6%)	
	Mixed	3 (5.0%)	0 (0.0%)	3 (6%)	
Lymphovascular invasion	Absent	17 (28.3%)	5 (45.4%)	12 (25.0%)	0.114†
	Present	43 (71.7%)	6 (64.6%)	37 (75.0%)	
Perineural invasion	Absent	21 (35.0%)	2 (18.2%)	19 (39.5%)	0.301†
	Present	39 (65.0%)	9 (81.8%)	30 (60.5%)	
Lymph node involved	Absent	20 (33.3%)	6 (54.5%)	14 (28.6%)	0.078†
	Present	40 (66.7%)	5 (45.4%)	35 (71.4%)	
Metastasis status	Non-Metastatic	30 (50%)	5 (45.4%)	25 (51.0%)	0.999
	metastatic	30 (50%)	6 (64.6%)	24 (49.0%)	

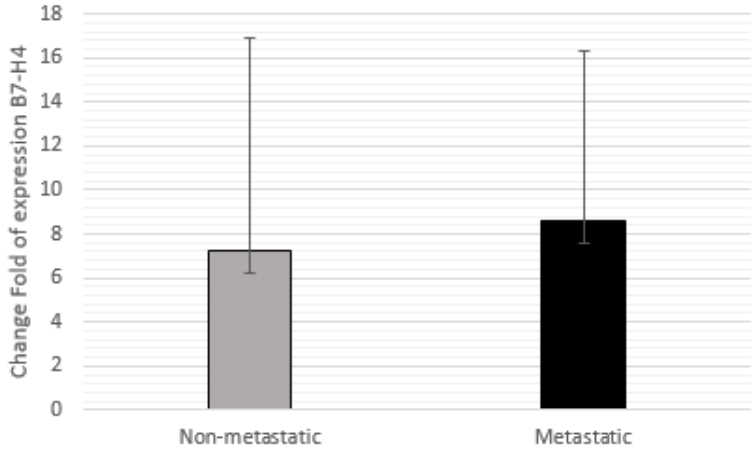
† از آزمون مونت کارلو و ‡ فیشر استفاده شد. * ارتباط معنادار



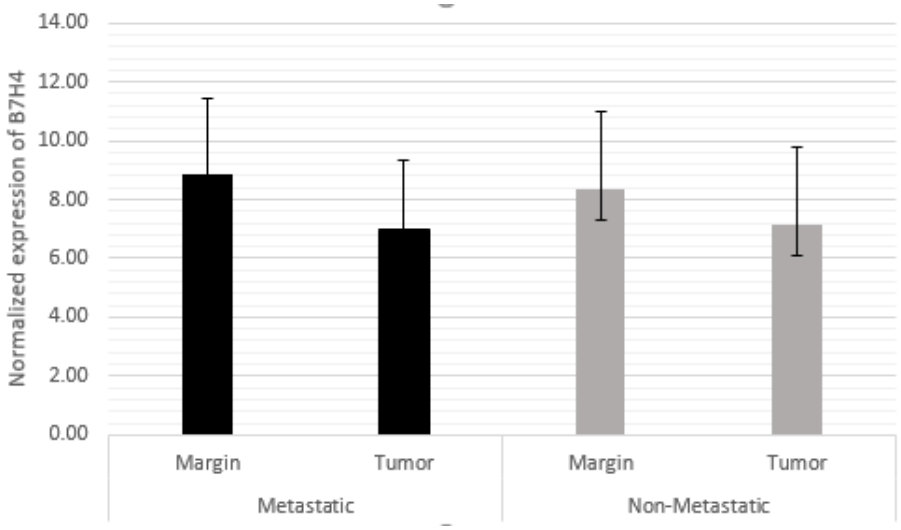
شکل ۱. منحنی ذوب ژن B7H4

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]



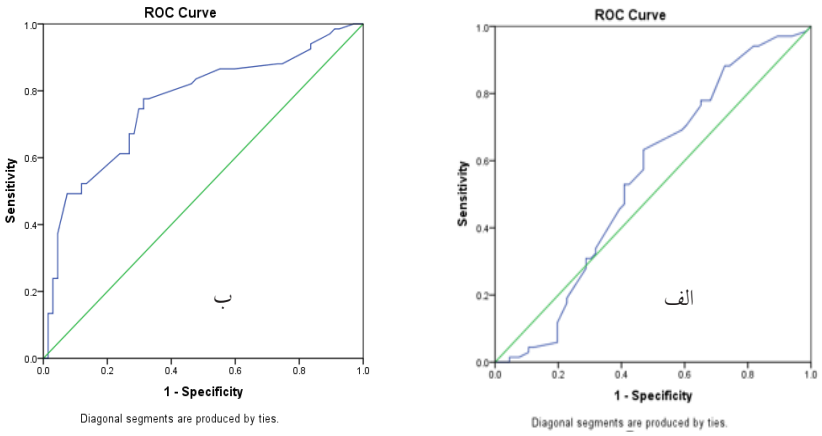
شکل۲. سطح بیان نسبی mRNA *B7-H4*، که به‌طور چشم‌گیر در نمونه‌های توموری در مقایسه با حاشیه تومور افزایش پیدا کرده‌اند. هر تست qRT-PCR حداقل دو بار تکرار شد. مقادیر بیان ژن mRNA *B7-H4* نسبت‌به سطح بیان *β2m* در بافت‌های مربوطه نرمال شد. تغییر نسبی بیان mRNA با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta Ct.}$ محاسبه شد.



شکل ۳. مقایسه بیان ژن mRNA *B7-H4* درتومور بیماران سرطان معده با و بدون متاستاز در مقایسه با حاشیه تومورهای مربوطه. داده‌ها به‌صورت بیان ژن نرمال شده با یک ژن رفرنس اندوژنوس *β2m* نشان داده شده است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]



شکل ۴. منحنی ROC جهت بررسی ارزیابی پتانسیل بیانی ژن *B7-H4* الف: در تشخیص حاشیه از تومور در مجموع تومورهای متاستاتیک و غیرمتاستاتیک. سطح زیر منحنی ۷۶۳/. و حساسیت و ویژگی *B7-H4* در نقطه برش ۲۵/۹ به‌ترتیب ۷۴/۶٪ و ۷۰/۱٪ بود (سمت راست). ب: در تشخیص تومورهای متاستاتیک از غیرمتاستاتیک. سطح زیر منحنی ۰/۵۵۶ و نقطه برش (cut-off) با حساسیت و ویژگی بیش‌تر از ۷۰٪ ارائه نکرد (سمت چپ).

هم‌چنین در سلول‌های توموری اولیه با سرطان معده *B7-H4* بیان می‌شود و عملکرد آن به‌عنوان یک تعدیل کننده پاسخ‌های ایمنی است. در طی پیشرفت تومور، *B7-H4* ممکن است به تحمل در مقابل سیستم ایمنی کمک کند. در شرایط آزمایشگاهی آنتی CD3، واسطه فعال شدن سلول T طی باند شدن به ایمونوگلوبولین *B7-H4*، نشان می‌دهد *B7-H4* تکثیر سلول +CD8 و +CD4، تولید سیتوکین و ایجاد CTLs واکنشی را از طریق توقف سیکل سلولی مهار می‌کند. افزایش بیان *B7-H4* ممکن است موجب درامان ماندن سلول‌های سرطان معده از سیستم ایمنی و منجر به پیشرفت سریع سرطان شود (۱۴،۱۵). به‌طور عمومی بیان *B7-H4* در بافت‌های نرمال انسان وجود ندارد. اما به‌تازگی مطالعه‌های متعددی افزایش بیان *B7-H4* را در سرطان‌های ریه، تخمدان، پستان، پروستات، کلیه، مری و.... گزارش کرده‌اند (۱۸،۱۹). بیان *B7-H4* در سیتوپلاسم، هسته، غشاء سلولی و در خون بیماران با سرطان معده نیز دیده شده است (۱۵).

ما افزایش بیان mRNA *B7-H4* را در ۸۱/۵٪ از بافت‌های پارافینه توموری در مقایسه با حاشیه تومور مربوطه مشاهده کردیم. در مطالعه Arigami و همکاران (۲۰۱۰، ۲۰۱۱) که بر روی بیماران با سرطان معده انجام شد، افزایش بیان mRNA *B7-H4* به‌ترتیب ۷۵٪/۵ و ۲۵/۸٪ گزارش شده است (۱۱, ۲۰). در مطالعه‌های دیگری، میزان بیان پروتئین *B7-H4* در بافت‌های سرطان معده، ۴۴/۹۸ ٪ و ۷۱ ٪ ذکر شده است. اما در اپی‌تلیال گاستریتس نرمال یا بافت‌های پولیپ گاستریک، بیان ضعیف و یا عدم بیان *B7-H4* دیده می‌شود (۲۰، ۲۱). یافته‌های این مطالعه، اختلاف معنی‌داری را از نظر تعداد کپی mRNA ژن *B7-H4*، بین نمونه‌های توموری متاستاتیک با حاشیه تومور ($p<۰/۰۰۱$) و غیرمتاستاتیک با حاشیه تومور ($p<۰/۰۰۳$) نشان داد. برخلاف سایر اعضای خانواده B7 که الگوهای بیانی mRNA آنها به شدت تنظیم می شود، در افراد سالم رونوشت‌های *B7-H4*، در سطوح پایین به‌طور گسترده در بافت‌های لنفوئیدی و بیش‌تر غیرلنفوئیدی، در همه جا بیان می‌شود. اما پروتئین آن در سطح سلول طبیعی به‌طور محدود بیان می‌شود (۶،۱۶). مشابه نتایج ما، Arigami و همکاران در دو مطالعه تعداد کپی mRNA *B7-H4* را در خون و در cell line های سرطان معده در مقایسه با گروه کنترل، با افزایش معنی‌داری گزارش کردند. آن‌ها تعداد کپی mRNA *B7-H4* را با متاستاز غدد لنفی، مرحله TNM و عمق تهاجم تومور مرتبط دانستند (۲۰،۱۱). Salceda و همکاران نیز افزایش بیان mRNA *B7-H4* را با یک نسبت پایین و یا عدم بیان در بافت‌های نرمال در سرطان‌های پستان و تخمدان سروز انسانی همراه، اثبات کردند (۲۲). Li و همکاران[۷] (۲۰۲۰) در سرطان معده، افزایش بیان چشم-گیر B7-H4 در سطح پروتئین را، به‌طور مثبت با پیشرفت و عمق تهاجم تومور، متاستاز غدد لنفی، مرحله تومور و توپوگرافی تومور همراه دانستند و آنرا به‌عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی منفی در سرطان معده ذکر نمودند (۵). یافته-های ما هیچ ارتباط معنی‌داری را بین متغیرهای کلینیکوهیستوپاتولوژی و میزان بیان mRNA *B7-H4*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

نشان نداد. در مطالعه ما بیش‌ترین ارتباط (p=۰/۰۷۸) بین درگیری غدد لنفی و میزان بیان mRNA *B7-H4* دیده شد. علاوه براین، مقایسه بیان mRNA *B7H4* بین تومورهای متاستازی با غیرمتاستازی، تفاوت معنی‌داری (p=۰/۷۳۲) را نشان نداد. مشابه نتایج ما، Jiang و همکاران نشان دادند ارتباطی بین میزان بیان پروتئین *B7-H4* و سن، جنس، نوع بافت، مرحله و سایز تومور وجود ندارد و برخلاف نتایج ما، تنها رابطه مثبت با تهاجم، متاستاز غدد لنفی و بقاء پایین‌تر دارد (۱۵). *B7-H4* علاوه‌بر این‌که در سلول‌های سرطانی و در سطح ماکروفاژها در محیط تومور بیان می‌شود، به‌صورت محلول در خون بیماران سرطانی نیز قابل شناسائی است. به‌گونه‌ای که تأثیر پیش‌آگهی آن در خون محیطی بیماران با مرحله I–IV در سرطان معده اثبات شده است. هم‌چنین سطوح سرمی *B7-H4*، به‌میزان زیادی مارکر اختصاصی سرطان‌های تخمدان و کلیه است. بنابر این *B7-H4* یک مارکر بسیار اختصاصی سرطان است و ممکن است در بیولوژی سرطان مؤثر باشد (۱۴،۱۵).

از محدودیت‌های مطالعه حاضر گذشته نگر بودن مطالعه بود. لذا ما دسترسی به خون بیماران مذکور نداشتیم. هم‌چنین بیش‌تر پژوهش‌ها در سرطان معده جهت بررسی بیان *B7H4*، در سطح پروتئین و با استفاده از تکنیک IHC صورت گرفته است. بنابراین امکان مقایسه تمام یافته‌های مطالعه ما با مطالعه‌های پیشین فراهم نبود. شاید علت آن‌که در این مطالعه تفاوت بیانی معنی‌داری بین گروه متاستازی و غیرمتاستازی به‌دست نیامد، عدم دسترسی به نمونه‌های پارافینه متاستازی مربوط به سال‌های اخیر باشد. اما نمونه-های غیرمتاستازی از نمونه‌های گرفته شده طی دو سال اخیر انتخاب شده بود. زیرا هر چه از عمر بافت‌های پارافینه بگذرد، احتمال تخریب mRNA بیش‌تر می‌شود. علاوه‌بر این، به‌دلیل کامل نبودن سوابق پزشکی بیماران متاستازی، ما نتوانستیم تعداد نمونه بیش‌تری را در این مطالعه وارد نمائیم. لذا به مطالعاه‌های بیش‌تر در زمینه جهت تعیین نقش *B7-H4* در پیش‌آگهی بیماران با سرطان معده نیاز است.

نتیجه‌گیری

این اولین مطالعه در ایران است که به بررسی نقش *B7-H4* در سرطان اشاره کرده است. این مطالعه پیشنهاد می‌کند، B7-H4 ممکن است به‌عنوان یک مارکر بالقوه تشخیصی با ارزش در سرطان معده باشد.

این مقاله بخشی از پایان‌نامه مقطع دکترا با عنوان بررسی بیان Survivin، *B7-H4* و MSI در بیماران با سرطان معده است.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از آقای دکتر امیر نادر امامی رضوی و سایر همکاران ایشان جهت همکاری در جمع‌آوری نمونه‌ها، آقای دکتر علی جعفرزاده اصفهانی جهت آنالیز آماری داده‌ها، مجتمع آزمایشگاهی رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران، آقای شهاب حاج منصور و سایر همکاران ایشان، هم‌چنین آقای دکتر علیرضا ایرانبخش، ریاست محترم دانشکده علوم پایه دانشگاه علوم و تحقیقات داشته باشیم.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

منابع

1. Xue J, Yang H, Huang S, Zhou T, Zhang X, Zu G. Comparison of the overall survival of proximal and distal gastric cancer after gastrectomy: a systematic review and meta-analysis. World Journal of Surgical Oncology. 2021;19(1):1-9.

2. Yusufu A, Tuerdi R, Redati D, Rehemutula A, Zhao Z-L, Wang H-J. Expression and clinical correlation of Survivin and PTEN in gastric cancer patients. Oncology Letters. 2020;20(6):1-.

3. Warneke VS, Behrens H-M, Hartmann JT, Held H, Becker T, Schwarz NT, et al. Cohort study based on the seventh edition of the TNM classification for gastric cancer: proposal of a new staging system. Journal of clinical oncology. 2011;29(17):2364-71.

4. Meng Z, Wang F, Zhang Y, Li S, Wu H. B7-H4 as an independent prognostic indicator of cancer patients: a meta-analysis. Oncotarget. 2017;8(40):68825.

5. Li D, Xiang S, Shen J, Xiao M, Zhao Y, Wu X, et al. Comprehensive understanding of B7 family in gastric cancer: expression profile, association with clinicopathological parameters and downstream targets. International journal of biological sciences. 2020;16(4):568.

6. Schildberg FA, Klein SR, Freeman GJ, Sharpe AH. Coinhibitory pathways in the B7-CD28 ligand-receptor family. Immunity. 2016;44(5):955-72.

7. Refolo MG, Lotesoriere C, Messa C, Caruso MG, D'Alessandro R. Integrated immune gene expression signature and molecular classification in gastric cancer: New insights. Journal of leukocyte biology. 2020;108(2):633-46.

8. Smith JB, Stashwick C, Powell Jr DJ. B7-H4 as a potential target for immunotherapy for gynecologic cancers: a closer look. Gynecologic oncology. 2014;134(1):181-9.

9. Zhou D, Zhou Y, Li C, Yang L. Silencing of B7-H4 suppresses the tumorigenicity of the MGC-803 human gastric cancer cell line and promotes cell apoptosis via the mitochondrial signaling pathway. International journal of oncology. 2018;52(4):1267-76.

10. Kay Washington JB, Philip Branton, Lawrence J. Burgart, David K. Carter, Patrick Fitzgibbons, Wendy L. Frankel, John Jessup, Sanjay Kakar, Bruce Minsky, Raouf Nakhleh, Chanjuan Shi, Laura H. Tang, Carolyn C. Compton, . Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Esophagus. Pathologists CoA, editor2016.

11. Arigami T, Uenosono Y, Ishigami S, Hagihara T, Haraguchi N, Natsugoe S. Clinical significance of the B7-H4 coregulatory molecule as a novel prognostic marker in gastric cancer. World journal of surgery. 2011;35(9):2051-7.

12. Kekeeva T, Tanas A, Kanygina A, Alexeev D, Shikeeva A, Zavalishina L, et al. Novel fusion transcripts in bladder cancer identified by RNA-seq. Cancer letters. 2016;374(2):224-8.

13. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. methods. 2001;25(4):402-8.

14. Arigami T, Uenosono Y, Yanagita S, Okubo K, Kijima T, Matsushita D, et al. Clinical significance of circulating tumor cells in blood from patients with gastric cancer. Annals of gastroenterological surgery. 2017;1(1):60-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]

15. Jiang J, Zhu Y, Wu C, Shen Y, Wei W, Chen L, et al. Tumor expression of B7-H4 predicts poor survival of patients suffering from gastric cancer. Cancer immunology, immunotherapy. 2010;59(11):1707-14.

16. Podojil JR, Miller SD (2017) Potential targeting of B7-H4 for the treatment of cancer. Immunological reviews 276 (1):40-51.

17. MacGregor H L and Ohash P S. Molecular Pathways: Evaluating the Potential for B7-H4 as an Immunoregulatory Target. Clin Cancer Res. 2017; 23(12): 2934-41

18. Wang L, Yang C, Liu X-b, Wang L, Kang F-b (2018) B7-H4 overexpression contributes to poor prognosis and drug-resistance in triple-negative breast cancer. Cancer cell international 18 (1):1-12.

19. Xie N, Cai J-B, Zhang L, Zhang P-F, Shen Y-H, Yang X, Lu J-C, Gao D-M, Kang Q, Liu L-X (2017) Upregulation of B7-H4 promotes tumor progression of intrahepatic cholangiocarcinoma. Cell death & disease 8 (12):1-13.

20. Arigami T, Uenosono Y, Hirata M, Hagihara T, Yanagita S, Ishigami S, et al. Expression of B7-H4 in blood of patients with gastric cancer predicts tumor progression and prognosis. Journal of surgical oncology. 2010;102(7):748-52.

21. Geng Y, Wang H, Lu C, Li Q, Xu B, Jiang J, Wu C (2015) Expression of costimulatory molecules B7-H1, B7-H4 and Foxp3+ Tregs in gastric cancer and its clinical significance. International journal of clinical oncology 20 (2):273-281.

22. Salceda S, Tang T, Kmet M, Munteanu M, Ghosh M, Macina R, Liu W, Pilkington G, Papkoff J. The immunomodulatory protein B7-H4 is overexpressed in breast and ovarian cancers and promotes epithelial cell transformation. Experimental Cell Research. 2005: 306: 128– 141

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.43.2.4]