

DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ MESANE KANSERİ OLGULARINDA HLA TİPLEMESİ**TYPES OF HLA IN THE PATIENTS WITH TRANSITIONAL CELL CARCINOMA OF BLADDER**

Ali Uğur ÖZALP, Arman ÇEKMEN, Bülent ÖNAL, Zübeyr TALAT, Burak ÖZKAN, Vural SOLOK
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ABSTRACT

Introduction: Human Leucocyte Antigenes (HLA) may play a complementary role in the interaction between tumor and body immunology. In this study, HLA antigens of patients with transitional cell carcinoma (TCC) of the bladder were compared with HLA antigens of the control group and the association between the HLA system and TCC were investigated.

Materials and Methods: By using the standard microlymphocytotoxicity method of Terasaki in our study, the HLA A, B, DR and DQ antigen types of 30 patients with TCC of the bladder, were compared with the control group of 30 healthy people who was a donor for kidney transplantation. Histological stage and grade of bladder tumors were established according to the International Union Against Cancer classification. Odds ratio (OR), Fischer's exact test and Chi square tests were used for statistical analysis.

Results: the mean age was 64.3 ± 10.8 years in the patients with TCC. Histopathological stage was pTa, pT1 (superficial) in 13 patients (43.3%) and pT2, pT3 and pT4 (invasive) in 17 patients (56.7%). A total of 9 patients (30%) low grade and 21 high grade TCC (70%). Carcinoma in situ (CIS) of bladder was determined in 18 patients (60%).

HLA-A 10, HLA-B 4, HLA-DR 53 and HLA-DQ 1 antigens were detected significantly higher in the control group compared to the patient group and there was statistically significant ($p < 0.05$). HLA-A 25 (10) was positive in 4 patients with TCC but no observed in the control group. No statistically significant was found ($p = 0.112$), (OR 2.15, 95% confidence interval 1.62 to 2.85)

HLA-DQ 6 (1) was detected in 60% and 26.7% of the patients in TCC and the control group, respectively, ($p = 0.018$), (OR 4.12). Similarly, HLA-DQ 7 (3) was found in 63.3% and 33.3% of the patients in TCC and the control group, respectively, ($p = 0.038$), (OR 3.45).

In addition HLA-B 51 (5) in patients with low grade was found significantly higher ($p = 0.02$). when the patients with CIS were evaluated only HLA-B 4 was found differently.

Conclusion: The results revealed that the people, carrying the antigens that were detected in the patient group, were highly at the risk of TCC and the antigens that were highly detected in the control group, could be accepted as protective for TCC. In the future further researches to be performed in our population will be more illuminating to confirm these results. We have thought that sampling of HLA profiles may be useful for evaluating the people at risk of TCC besides for planning their prognosis and the treatment.

Key Words: Transitional Cell Carcinoma (TCC), Human leucocyte antigens (HLA), Immunity

ÖZET

Human Lökosit Antijenleri (HLA) tümör ve vücut savunması arasındaki etkileşimde bütünleyici rol oynayabilir. Biz çalışmamızda HLA sistemi ile mesane değişici epitel hücreli kanseri (DEHK) arasındaki ilişkinin varlığını göstermeye çalıştık.

Çalışmamızda Terasaki'nin standart mikrolenfositotoksisite metodunu kullanarak mesanenin DEHK mevcut olan 30 hastanın HLA-A, B, DR ve DQ antijenlerinin tiplerini 30 sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık.

DEHK hasta grubunda HLA-DQ6 (1) ve HLA-DQ7 (3) antijenleri kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p = 0.018$, $p = 0.038$). HLA-A10, B4, DR53 ve DQ1 antijenleri ise kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (hepsinde $p < 0.05$).

Bulgularımız DEHK hasta grubundaki antijenleri taşıyan kişilerin DEHK için yüksek risk altında olduğunu, kontrol grubunda yüksek olarak bulunan doku antijenlerinin ise DEHK'den koruyucu özellikte olabileceğini düşündürdü.

Gelecekte popülasyonumuzda yapılacak daha geniş çalışmalar bu bulguların gerçekliği konusunda daha aydınlatıcı olacaktır. HLA profillerinin gelecekte DEHK açısından risk altındaki kişilerin saptanmasında ve hastaların prognozu ile tedavileri açısından değerlendirebileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Değişici epitel hücreli karsinom (DEHK), Human lökosit antijen (HLA), İmmünite

GİRİŞ

Mesanein değişici epitel hücreli kanseri (DEHK) en sık rastlanılan malinitelerden biridir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl 54.000 yeni vaka ve 12.000 DEHK sebebiyle ölüm bildirilmektedir¹. Önde gelen risk faktörleri arasında yaşlılık, sigara, mesleki ve çevresel faktörler gelmektedir^{2,3}.

Mc Dewitt ve arkadaşları 1970'lerde farenin taşıdığı majör doku uyuşum kompleksi (Major histocompatibility complex = MHC) tipi ile değişik antijenlere karşı geliştirdiği immun cevabın şiddeti arasında doğrudan bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.

İnsanda MHC (MHC insanda Human Leucocyte antigen-HLA olarak isimlendirilir.) 6. kromozomun kısa kolunda kodlanmaktadır. MHC allelik farklılıklarının organ allograft rejeksiyonlarını başlatan immunolojik süreçte kilit rol oynadıkları anlaşılmıştır^{4,5}. Daha sonra rollerinin allotransplantasyondaki fonksiyonlar ile sınırlı kalmadığı gösterilmiştir.

HLA antijenlerinin hastalıklara yol açış mekanizmalarına ilişkin çeşitli teoriler öne sürülmektedir. Tümörlerin gelişiminden yayılmasına kadar her noktada HLA antijenlerinin önemi olduğu, bununla beraber tümörlerin de HLA oluşumu veya sunumunda etkili olduğu bilinmektedir. Beta2 mikroglobulin sentezi veya antijen sunumu ile ilgili "transporter"ların (antijenin olduğu yerden hücre yüzeyine getiren taşıma sistemi) yapılarında oluşan defektler örnek olarak verilebilir⁶.

Türk toplumunda değişici epitel hücreli mesane tümörlerinin taşıdıkları HLA antijenlerinin saptanmasına yönelik çalışmalar azdır^{7,8}. Bizde bu çalışmamızda kliniğimize başvuran değişici epitel hücreli mesane tümörü olguları ile HLA antijenleri arasındaki ilişkiyi inceledik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda kliniğimizde değişici epitel hücreli mesane tümörü tanısı ile incelenmekte olan 30 hasta (10 kadın (%33,3) ve 20 erkek (%66,7)) değerlendirilmiştir. Ortalama yaş (64,3±10,8)'dir. On üç olguda (%43,3) tümör yüzeysel, 17 olguda (%56,7) tümör invaziv idi. Düşük grade DEHK 9 (%30) ve yüksek grade DEHK 21 (%70) hastada saptandı. Karsinoma in situ (CİS)

saptanan hasta sayısı ise 18 (%60) idi (Tablo 1). Transplantasyon donörü olan sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda 10 kadın ve 20 erkek olmak üzere 30 kişi bulunmaktaydı.

	Hasta grubu	Kontrol grubu
Olgu Sayısı	30	30
Ortalama yaş (yıl)	64.3±10.8	57.5±12.8
Cinsiyet		
• Kadın	10	10
• Erkek	20	20
Evre		
▪ Yüzeysel (Ta-T1)	13	
▪ İnvaziv (T2-T3-T4)	17	
Grade		
▪ Düşük	9	
▪ Yüksek	21	

Tablo 1. Hasta ve kontrol grupları özellikleri

A1	B4	B51(5)	DR1	DQ1
A2	B5	B52(5)	DR4	DQ2
A3	B6	B55(22)	DR7	DQ3
A9	B7	B60(40)	DR8	DQ3(7)
A10	B8	B62(15)	DR9	DQ4
A11	B13	B66(10)	DR10	DQ6
A19	B14		DR11(5)	DQ6(1)
A23(9)	B17		DR12(5)	DQ7
A25(10)	B18		DR13(6)	DQ7(3)
A26(10)	B22		DR14(6)	
A28	B27		DR15(2)	
A29(19)	B35		DR18(3)	
A30(19)	B37		DR51	
A32(19)	B38(16)		DR52	
A33(19)	B44(12)		DR53	
	B49(21)			

Tablo 2. Test edilen HLA gruplarına ait alleller

Hasta ve kontrol gruplarının HLA doku tipi tayinlerinde standart mikrolenfositotoksitesite yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden alınan 20cc heparinli kan örneği ficoll üzerine yayılıp santrifüj edilerek lenfositler ayrılmış, lenfosit dışındaki hücreler uzaklaştırılmış, T ve B lenfositlerin bir grubu Clas I HLA doku tipi plağına ekilerek HLA-A ve B antijenleri tayin edilmiştir. Kalan lenfositlerden B lenfositler ayrılıp Clas II HLA doku tipi plağına ekilerek HLA-DR ve DQ antijenlerinin tayininde kullanılmıştır. Değerlendirme invert ışık mikroskopunda çukurlardaki ölü

hücre oranlarına bakılarak yapılmıştır. Her iki grupta da rastlanmayan antijenler değerlendirmeye alınmamıştır (Tablo 2). DEHK'li hastalardaki HLA allellerinin dökümü Tablo 3'de verilmiştir.

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesinde odds ratio (OR) ve uygun olgularda Fischer's exact test ve Chi square yöntemleri kullanılmıştır. Parametre sayısının çokluğu nedeniyle her test için bulunan p değeri HLA antijen sayısı ile çarpılarak düzeltilmiş p (p corrected) değeri elde edilmiştir.

BULGULAR

Her iki grupta 10 kadın ve 20 erkekten oluşmakta ve doğal olarak cinsiyet açısından herhangi bir fark bulunmamaktaydı. Sigara kullanımı yönünden hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığı zaman hasta grubunda 20 (%66,7) olgu sigara kullanırken kontrol grubunda sadece 10 (%35) olgu kullanıyordu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

Çalışma grubunun kendi içinde yapılan değerlendirmesi sonucunda yüzeysel (Ta, T1) tümörlerin sayısı 13 (%43,3) ve invaziv tümörlerin

sayısı 17 (%56,7) idi. Dokuz (%30) olguda düşük grade DEHK ve 21 (%70) olguda yüksek grade DEHK saptandı. Yine patolojik incelemeler sonucunda karsinoma in situ (CİS) saptanan hasta sayısı 18 (%60) idi.

Hasta kontrol çalışmasında HLA-A10, HLA-B4, HLA-DR53 ve HLA-DQ1 antijenleri kontrol grubunda DEHK grubuna kıyasla daha fazla bulundu ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$). HLA-A25 (10) hasta grubunda 4 olguda pozitif iken kontrol grubunda hiç görülmedi. OR 2,15 ve güven aralığı 1,62-2,85 olarak belirlendi ancak istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı ($p=0,112$).

HLA-DQ6(1) hasta grubunda 18 olguda (%60), kontrol grubunda 8 (%26,7) olguda saptandı ($p=0,018$) ve OR 4,12 idi. Aynı şekilde HLA-DQ7 (3)'de hasta grubunda 19 (%63,3), kontrol grubunda sadece 10 (%33,3) olguda saptandı ($p=0,038$). OR 3,45 olarak saptandı. HLA-DQ6 (1) ve HLA-DQ7 (3) antijenlerinin DEHK grubunda kontrol grubuna göre artışları istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4).

HLA	A1	A2	A3	A9	A10	A11	A19	A23 (9)	A25 (10)	A26 (10)	A28	A29 (19)	A30 (19)	A32 (19)	A33 (19)	B4
Hasta	7	14	10	-	-	7	-	3	4	-	-	-	5	2	1	18
Kontrol	4	14	10	2	8	2	3	1	-	1	3	1	3	1	1	28
HLA	B5	B6	B7	B8	B13	B14	B17	B18	B22	B27	B35	B37	B38 (16)	B44 (12)	B49 (21)	B51 (5)
Hasta	-	17	-	4	1	3	-	2	1	5	12	-	1	5	2	13
Kontrol	2	18	4	3	5	-	4	-	1	5	8	5	1	8	-	9
HLA	B52 (5)	B55 (22)	B60 (40)	B62 (15)	B66 (10)	DR1	DR4	DR7	DR8	DR9	DR10	DR11 (5)	DR12 (5)	DR13 (6)	DR14 (6)	DR15 (2)
Hasta	1	1	3	1	1	3	6	1	-	-	2	22	1	2	8	12
Kontrol	-	-	2	-	-	2	3	2	7	2	8	19	-	5	3	8
HLA	DR18 (3)	DR51	DR52	DR53	DQ1	DQ2	DQ3	DQ3 (7)	DQ4	DQ6	DQ6 (1)	DQ7	DQ7 (3)			
Hasta	2	16	23	10	-	8	-	-	13	-	18	-	19			
Kontrol	1	-	30	23	8	2	6	1	16	4	8	5	5			

Tablo 3. Değişici epitel hücreli mesane kanserli hastalara ait HLA dökümü

HLA	Çalışma		Kontrol		p	OR	CI (%95)
	n	%	n	%			
A10	-	-	8	26,7	0,005	-	-
B4	18	60,0	28	93,3	0,005	0,10	0,02-0,53
DR53	10	33,3	23	76,7	0,005	0,15	0,04-0,47
DQ1	-	-	8	26,7	0,005	-	-
DQ6 (1)	18	60,0	8	26,7	0,018	4,12	1,38-12,27
DQ7 (3)	19	63,3	10	33,3	0,038	3,45	1,19-9,99

Tablo 4. Değişici epitel hücreli mesane kanseri hastalarında kontrol grubuna göre farklılık gösteren HLA sonuçları (Tetkik edilen tüm HLA sonuçları yer almamaktadır.)

Hasta grubunun kendi içinde yapılan değerlendirmelerinde HLA-B51 (5) düşük grade tümörlerde anlamlı olarak daha fazla bulundu ($p=0,02$). CİS pozitifliği yönünden yapılan HLA incelemelerinde ise sadece HLA-B4'te anlamlı bir farklılık olduğu ve CİS pozitifliğine karşı koruyucu bir etkinliği bulunduğu saptandı.

TARTIŞMA

Mesane tümörü eksojen faktörlerin ön planda olduğu bir hastalıktır. Ancak aynı eksojen faktörlere maruz kalan farklı ırklarda aynı sıklıkta görülmemesinde toplumların genetik yapıları ile hastalık arasında bir ilişkiye işaret eder. Buna en iyi örnek Dalvis ve arkadaşlarının USA'da, Mc Laughlin ve arkadaşlarının İngiltere'de 1990'lı yıllarda aynı çevreyi paylaşan, dolayısıyla benzer eksojen faktörlere maruz kalan Asyalılarda tümör insidansını diğer etnik gruplara göre daha düşük bulmalarındır^{9,10}.

Öncelikle organ transplantasyonlarında ve babalık tayinlerinde kullanılmaya başlayan bu antijenlerin çeşitli hastalıklarla ilişkileri üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. Örneğin meme tümörlü kadınlarda HLA-A30, B14 ve CW6 kontrol gruplarına göre yüksek, kontrol gruplarında ise HLA-A11, AW19 ve B8 yüksek bulunmuştur¹¹. Hindistan'da yapılan çalışmada yukarıdaki sonuçlar alınırken aynı hastalık için Japonya'da HLA-A24 ve CW7, Hollanda da HLA-B22 ve B55 hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu farklılıkların da popülasyonlar arası genetik farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Değişici epitel hücreli karsinom ve HLA ilişkisi ile ilgili ilk çalışma 1979 yılında Braf ve arkadaşlarının 44 hastada HLA-A ile HLA-B alellerini tespit edip sonuçlarını 400 bireyden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Mikrolenfositotoksitesite metodunun kullanıldığı çalışmada hasta ve kontrol grupları arasında ve de hasta grubunun kendi içinde hastalığın evrelerine göre yapılan değerlendirmede belirgin bir farka rastlanmamıştır¹².

Ancak 1993'de Lytton ve arkadaşlarının çalışmalarında HLA-DR4 hasta grubunda %39 ile en sık rastlanan antijen olmuştur. Fakat HLA-DR4 pozitifliğinin tümörün grade ve evresine herhangi bir etkisi saptanmamıştır¹³. Bulmuş ol-

duğumuz sonuçlar Lytton'un çalışmaları ile kısmen uyumludur. Sonuçlar karşılaştırıldığında HLA-DQ6 (1) ve DQ7 (3) antijenlerinin Klas II grubuna ait olması açısından benzer, fakat alt tip olarak farklı olduğu görülmüştür.

Ülkemizde yapılan çalışmalara bakarsak Kırkalı ve arkadaşlarının 56 hasta ve 200 kontrol olgusundan oluşan çalışmalarında HLA-A23, A25, A28, BW4, BW21 ve CW4'ü çalışma grubunda, B27 ve BW6'yı kontrol grubunda sık bulmuşlardır. Tokuç ve Akdaş'ın 55 mesane kanserli olgu üzerindeki çalışmalarında ise HLA-B5 yüksek sıklıkta bulunmuştur^{7,8}. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda saptanan farklı sonuçlar hasta sayısının azlığından kaynaklanmış olabilir.

Sonuçlarımız değerlendirildiğinde HLA-DQ6 (1) ve HLA-DQ7 (3) pozitif ve beraberinde başka risk faktörleri olan kişiler mesane tümörü açısından risk grubundadır ve bu göz önüne alınarak takip ve tetkikleri planlanmalıdır. HLA sistemi ve immünite arasındaki ilişki sayesinde, HLA alt tipleri ve DEHK arasındaki ilişkiyi belirlemek tümör ve immün sistem arasındaki etkileşimi önceden belirlememize yardımcı olarak tedaviyi yönlendirebilir¹⁴.

Diğer popülasyonlarda yapılan çalışmalar ile sonuçlarımız arasındaki farklılık bir kez daha her popülasyon için aynı hastalık açısından HLA değerlendirilmesinin önemini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- **Pagannini Hill A, Ross RK, Henderson BE:** Epidemiology of renal cancer. In: Diagnosis and Management of Genitourinary Cancer, 150: 935-940, 1991.
- 2- **La Vecchia C, et al:** Smoking and renal cell carcinoma. Cancer Res, 50: 5231, 1990.
- 3- **Meloni AM, Bride J, Sandberg AA:** Reviews on chromosome studies in urologic tumors. I. Renal Tumors. J Urol., 148: 253, 1992.
- 4- **Latif F, Tory K, Gnarr J, et al:** Identification of the von Hippel Lindau disease tumor suppressor gene, Science, 260: 1317-1320, 1993.
- 5- **Van Den Berg E, Van Der Hout AH, Osterhuis JW:** Cytogenetic analysis of epithelial renal cell tumors relationship with a new histopathological classification. Int J. Cancer. 223-227, 1993.
- 6- **Brasanac D, Muller CA, Muller GA, Hadzi Dzokic J, Markovic Lipkovski J:** HLA class I antigens expression in renal cell carcinoma: His-

- topathological and clinical correlation: J Exp Clinical Cancer Res. Dec 18(4): 505-10, 1999.
- 7- **Brasanac D, Muller CA, Muller GA, Hadzi Dzokic J, Markovic Lipkovski J:** Immunohistochemical analysis of HLA class2 antigens and tumor infiltrating mononuclear cells in renal cell carcinoma correlation with clinical and histopathological data. Institute of Pathology, School of Medicine, University of Belgrade, Yugoslavia. (http://www.query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=10613593&dopt=Abstract)
 - 8- **Seashore RM, Wappner SR:** Endocrine system: Genetics in primary care and clinical medicine, Appleton-Lange USA, pp. 153-169, 1996.
 - 9- **Carpender CB, Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Kasper DL:** The Major histocompatibility gene complex. In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th Edition. Volume2. New York, Mc Graw-Hill, pp.1777-1783, 1998.
 - 10- **Faghiri Z, Tabei SZ, Taheri F:** Study of the association of immunodominance among epitopes with low affinity for MHC. Immunology Today 17(2): 80-85, 1995.
 - 11- **Wilson GA, Duff WG:** Genetic traits in common disease. British Medical Journal, 310: 1482-1483, 1992.
 - 12- **Feltkamp TEW, Khan MA, Lopez de Castro AJ:** The pathogenetic role of HLA-27. Immunology Today, 17(1): 5-6, 1989.
 - 13- **Terasaki PT, Mc Clelland JD:** Mikrodrolplet essay of human serum cytotoxins. Nature 204: 998-1000, 1964.
 - 14- **Bostwick DG, Eble JN:** Uropathology, Surgical Craft: Bladder Neck Reconstruction in Children. The Urologic Clinics of North America 26-3: 627-635, 1999.
 - 15- **Fuhrman SA, Lasky LC and Limas C:** Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. Amer. J: Surg. Path., 6: 655, 1982.
 - 16- **Abbas KA, Lichtman HA, Pober SJ:** Cellular and molecular immunology, 2nd edition USA, WB Saunders Co. 35, 1994.
 - 17- **Dr. Ecz. Yılmaz E:** Monoclonal HLA Klas-1 do-ku tipi plakalarının babalık tayanlerinde kullanılabirliğinin araştırılması ve diğer konvansiyonel sistemlerle karşılaştırılması, Doktora Tezi, 1996.
 - 18- **George JTA, Ritter AM, Leachler IR:** Disease susceptibility, transplantation and the MHC. Immunology Today., 16 (5): 209-211, 1995.
 - 19- **Kojima Y, Takahara S, Nonomura N, Sada M, Tsuji T, Hatori M, Fujioka H, Kuroda H:** HLA-DRB genotypes in Japanese patients with renal cell carcinoma. Oncology, 59(1): 57-62, 2000.
 - 20- **George JTA, Ritter AM, Leader IR:** Disease susceptibility transplantation and the MHC: Immunology Today, 16(5): 209-211, 2000.
 - 21- **Fairchild JP, Wraith CD:** Lowering the tone: Mechanism of immunodominance among epitopes with low affinity for MHC. Immunology Today, 17(2): 80-85, 2000.
 - 22- **Algarra I, Cabrera T, Garrido F:** The HLA crossroad in tumor immunology. Hum Immunol, 61: 1, 65-73, 2000.
 - 23- **Pohla H, Frankberger B, Stadlbauer B, Oberneden R, Hofstetter A, Willimsky G, Pezutto A:** Allogeneic vaccination for renal cell carcinoma: Development and monitoring. Bone Marrow Transplant, 26 Suppl 2: 83-7, 2000.
 - 24- **Kugler A, Stubler G, Walden P, Zoller G, Brossart P, Trelzer U:** Regression of metastatic renal cell carcinoma after vaccination with tumor cell-dendritic cell hybrids. Nat Med., 6: 3, 332-6, 2000.