

بیان ایمنو هیستوشیمیایی مارکر CD44 در لیکن پلان، دیسپلازی اپیتلیالی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان

فاطمه عصاره^{۱*}، شیوا شیروانی^۲

^۱استادیار گروه آموزشی پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

^۲دانشجوی دندانپزشکی عمومی، دانشگاه جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۶/۴/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۴

Immunohistochemical Expression of CD44 in Erosive Lichen Planus, Epithelial Dysplasia, and Oral Squamous Cell Carcinoma

Fatemeh Asareh^{1*}, Shiva Shirvani²

¹Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

²Dentists, Faculty of Dentistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received: 11 July 2017; Accepted: 25 December 2017

Introduction: CD44 is a cell surface adhesion glycoprotein found in various cells. The present study aimed to evaluate the immunohistochemical expression of CD44 in the erosive lichen planus (ELP), epithelial dysplasia (ED), and oral squamous cell carcinoma (OSCC) to compare the expression in a possible premalignant lesion, a definite premalignant lesion, and a malignancy.

Materials and Methods: In this descriptive-analytical study, immunohistochemical staining was performed on 10 ELP cases (without dysplasia), five ED cases, and 20 OSCC cases using the standard Envision technique. In addition, the extent and intensity of CD44 staining and thickness of the stained epithelium were assessed. Data analysis was performed in SPSS using Kruskal-Wallis test.

Results: 60% of OSCC samples had moderate membranous and cytoplasmic staining, in which more than two-thirds of the epithelium was stained. Moreover, moderate to severe, and mostly membranous immunostaining were observed in all ELP cases, while two-thirds of the epithelium showed immunostaining in all the samples. In the ED samples, staining intensity was reduced in more severe cases, and the staining pattern changed from membranous to cytoplasmic and membranous. Furthermore, in 80% of the ED cases, two-thirds of the epithelium was stained. Comparison of the immunostaining in ELP, ED, and OSCC samples indicated no significant differences between these lesions.

Conclusion: According to the results, CD44 expression in ELP, ED, and OSCC had no statistically significant difference. Therefore, this protein might not be an appropriate marker to confirm the premalignancy of ELP or predict the invasion in OSCC and premalignant lesions.

Keywords: Erosive Lichen Planus, Epithelial Dysplasia, Oral Squamous Cell Carcinoma, Immunohistochemistry.

* Corresponding Author: asareh-f@ajums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2018; 42(1): 59-66.

چکیده

مقدمه: CD44 یک گلیکوپروتئین غشایی در اتصالات سلولی است که در سطح سلولهای مختلفی یافت می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، بررسی و مقایسه میان CD44 در لیکن پلان اروزو، دیسپلازی اپیتلیالی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (OSCC) به منظور مقایسه بیان این مارکر در یک ضایعه با احتمال پیش‌بدخیمی، یک ضایعه پیش‌بدخیم و یک بدخیمی بود.

مواد و روشها: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، رنگ‌آمیزی ایمنو هیستوشیمیایی در ۱۰ نمونه لیکن پلان اروزو (بدون دیسپلازی)، ۵ مورد دیسپلازی و ۲۰ نمونه OSCC به روش استاندارد Envision انجام شد. سپس شدت و وسعت رنگ‌پذیری CD44 و ضخامت اپیتلیوم رنگ گرفته، مورد مطالعه قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون کروسکال-والیس تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: ۶۰٪ نمونه‌های OSCC رنگ‌پذیری متوسط به صورت غشایی و سیتوپلاسمی داشتند و بیش از ۲/۳ اپیتلیوم، رنگ گرفته بود. در همه نمونه‌های لیکن پلان، رنگ‌پذیری متوسط و شدید و بیشتر غشایی مشاهده شد. ۲/۳ ضخامت اپیتلیوم در همه این نمونه‌ها رنگ گرفت.

رنگ پذیری در موارد دیسپلازی اپیتلیالی با افزایش شدت دیسپلازی، کاهش پیدا کرد و از الگوی رنگ پذیری غشایی، به سیتوپلاسمی و غشایی تغییر پیدا کرد. در ۸۰٪ موارد دیسپلازی اپیتلیالی، ۲/۳ اپیتلیوم رنگ گرفته بود. با مقایسه میزان رنگ پذیری و در نظر گرفتن وسعت و شدت رنگ پذیری و همچنین ضخامت اپیتلیوم رنگ گرفته در لیکن پلان، دیسپلازی و SCC مشاهده شد که اختلاف معنی داری بین هیچ یک از گروهها وجود نداشت. (P-value > 0.05)

نتیجه گیری: بیان CD44 در لیکن پلان اروزیو، دیسپلازی و OSCC تفاوت آماری معنی داری نداشت و این پروتئین احتمالا نمی تواند مارکر مناسبی جهت تأیید پیش بدخیم بودن لیکن پلان اروزیو و یا پیش بینی تهاجم در ضایعات پیش بدخیم و OSCC باشد.

کلمات کلیدی: لیکن پلان اروزیو، دیسپلازی اپیتلیالی، کارسینوم سلول سنگفرشی دهان، ایمنو هیستوشیمی.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۷ دوره ۴۲ / شماره ۱: ۶۶-۵۹.

مقدمه

احتمال تغییرات بدخیمی در لیکن پلان از موضوعاتی است که پاتولوژیستها و محققین در مورد آن توافق نظر ندارند. هر چند برخی، این ضایعه به ویژه نوع اروزیو آن را پیش بدخیم می دانند، عده ای دیگر پروفایل مولکولی آن را به اپیتلیوم نرمال شبیهتر از اپیتلیوم دیسپلاستیک می دانند.^(۴)

CD44 یک گلیکوپروتئین غشایی و دارای ایزوفرمهای متنوع V1 تا V10 است که در نتیجه بیان mRNA متفاوت ایجاد می شود.^(۵) این پروتئین به عنوان یک فاکتور مهم در تداخلات سلولی و چسبندگی سلول شناخته شده است و در سطح سلولهای مختلفی از جمله: سلولهای خونی، اپیتلیال، فیروبلست، سلولهای عضله صاف و سلولهای گلیال یافت می شود.^(۶) در حالت نرمال CD44 به هیالورونیک اسید متصل می شود تا ارتباط با ماتریکس خارج سلولی پایدار شود. سلولهای تومورال از طریق CD44 نیز به هیالورونیک اسید در ماتریکس خارج سلولی متصل می شوند. کاهش CD44 به علت شکستگی جزء خارج سلولی (ectodomain) است که در تعداد زیادی از تومورهای بدخیم اتفاق می افتد. گفته می شود که شکستگی CD44 سلولهای تومورال را از ماتریکس خارج سلولی جدا کرده و منجر به مهاجرت سلولهای تومورال و گسترش تومور و متاستاز می گردد.^(۵،۷) در تعدادی از مطالعات پیشین کاهش بیان

کارسینوم سلول سنگفرشی دهان OSCC (Oral Squamous Cell Carcinoma) شایعترین بدخیمی حفره دهان است که از اپیتلیوم سطحی دیسپلاستیک منشاء می گیرد. سلولها یا توده های سلولی مهاجم ممکن است به نواحی مختلف گسترش یابند و در حین پیشرفت بافت اصلی را تخریب کنند.^(۱)

دیسپلازی تغییراتی است که در قسمت بازال و پارابازال اپیتلیوم آغاز می شود. این تغییرات غیرمعمول می تواند کل ضخامت اپیتلیوم را درگیر کند و بر اساس میزان درگیری اپیتلیوم به سه نوع خفیف، متوسط و شدید رتبه بندی می شود. تغییرات هیستوپاتولوژیک اپیتلیوم مانند تغییرات اپیتلیوم در SCC است و شامل افزایش حجم هسته و سلول، پلنومورفیسم هسته و سلول، افزایش نسبت هسته به سیتوپلاسم و میتوزهای متعدد و غیرطبیعی است. حضور دیسپلازی شدید اپیتلیوم نشانگر ریسک قابل توجه گسترش بدخیمی می باشد.^(۲)

لیکن پلان دهانی (OLP) یک ضایعه مزمن پوستی- مخاطی نسبتاً شایع در میان افراد میانسال و سالمندان می باشد. این بیماری از نظر تظاهرات بالینی دارای طیف گسترده و متفاوتی از ضایعات خفیف بدون درد کراتوتیک سفیدرنگ تا زخم و اروژن های دردناک می باشد.^(۳)

درجات مختلف الکل اتانول رهیدراته شدند. به دنبال آن به منظور متوقف کردن فعالیت پراکسیداز داخلی، نمونه‌ها در متانول محتوی پراکسید (H_2O_2) ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شده و سپس توسط محلول Phosphate buffered saline (PBS) با PH=7.2 شستشو داده شدند. رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی برای CD44 (Biocare, England) بر اساس توصیه کارخانه سازنده صورت گرفت. پس از اتمام انکوباسیون با آنتی‌بادی اولیه، نمونه‌ها به همراه Polymer solution (anti-mouse) به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه و با PBS شستشو داده شدند. در مرحله بعد، از ماده رنگزای 3,3 Diaminobenzidine Hydrochloride (DAB) که به کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌بادی رنگ قهوه‌ای می‌دهد، استفاده شد. سپس نمونه‌ها با رنگ زمینه‌ای هماتوکسیلین به صورت متضاد رنگ شده و پس از آبگیری، لامل بر روی آنها قرار داده شد. در نهایت وضعیت رنگ‌پذیری ایمونوهیستوشیمیایی بوسیله میکروسکوپ نوری توسط پاتولوژیست بررسی شد. در این مطالعه از بافت اپیتلیوم نرمال به عنوان کنترل مثبت و عدم استفاده از آنتی‌بادی اولیه به عنوان کنترل منفی استفاده شد. شدت رنگ‌آمیزی با مقایسه چشمی سلولهای رنگ گرفته به رنگ نگرفته = صفر، خفیف = ۱، متوسط = ۲ و شدید = ۳ رتبه‌بندی شد. درصد سلولهای رنگ گرفته نیز به ۵ گروه ۰٪، ۱-۲۵٪، ۲-۲۵-۵۰٪، ۳-۲۵-۷۵٪ و بیشتر از ۷۵٪ = ۴ رتبه‌بندی شد. ضخامت اپیتلیوم رنگ گرفته به صورت عدم رنگ‌پذیری = صفر، رنگ‌پذیری تا یک سوم اپیتلیوم = ۱، رنگ‌پذیری تا دو سوم اپیتلیوم = ۲ و رنگ‌پذیری تمام ضخامت اپیتلیوم = ۳ رتبه‌بندی و بررسی شد.^(۸،۹) با توجه به رتبه‌بندی بودن وسعت و شدت رنگ‌پذیری و همچنین ضخامت اپیتلیوم رنگ گرفته از آزمون Kruskal-

این مارکر با افزایش دیسپلازی و یا کاهش تمایز در SCC^(۸-۱۰) و در تعدادی دیگر افزایش بیان آن گزارش شده است.^(۱۱-۱۳)

با توجه به این نتایج متفاوت، هدف از انجام این مطالعه، بررسی و مقایسه بیان ایمونوهیستوشیمیایی CD44 در لیکن پلان اروزیو، دیسپلازی اپیتلیال و کارسینوم سلولهای سنگفرشی دهان می‌باشد.

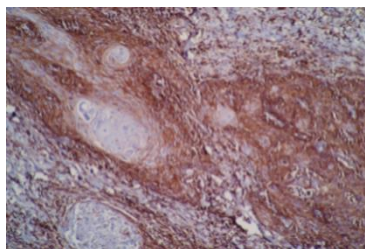
علت انتخاب این سه ضایعه در کنار هم، از یک سو بررسی بیان CD44 در لیکن پلان اروزیو و دیسپلازی بود تا در صورت بیان با الگوی مشابه شاید تأییدی بر پیش‌بدخیم بودن این ضایعه باشد. از سوی دیگر با مقایسه دیسپلازی و OSCC تا حدی نقش احتمالی این مارکر در توانایی تهاجم ضایعات پیش‌بدخیم مشخص گردد.

مواد و روشها

در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، از ۳۵ نمونه جمع‌آوری شده بین سال ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۴ در بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی اهواز که شامل ۱۰ نمونه لیکن پلان اروزیو، ۵ نمونه دیسپلازی (۴ مورد دیسپلازی خفیف و ۱ مورد دیسپلازی شدید) و ۲۰ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (۸ مورد با تمایز خوب و ۱۲ مورد با تمایز متوسط) بود، استفاده شد. نمونه‌ها به منظور تأیید تشخیص و بررسی حضور بافت کافی، مورد بازبینی قرار گرفتند. در مورد لیکن پلان فقط از انواع اروزیو و بدون دیسپلازی استفاده شد؛ سپس مقاطع بافتی جهت آزمایش ایمونوهیستوشیمی (IHC) تهیه شد. رنگ‌آمیزی IHC بوسیله روش استاندارد Envision صورت گرفت. به طور خلاصه پس از تهیه برشها، نمونه‌ها بر روی لامهای آغشته به Poly-L-Lysin مستقر شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفته تا خشک شدند. سپس نمونه‌ها در Xylene پارافین‌زدایی گشته و در

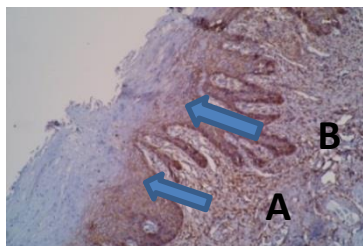
رنگ‌پذیری متوسط یا شدید و اغلب غشایی بود. ۲/۳ ضخامت اپیتلیوم در همه نمونه‌ها رنگ گرفت. علاوه بر کراتینوسیت‌ها، اغلب لنفوسیتها هم رنگ‌پذیری داشتند (شکل ۳).

با توجه به آزمون Kruskal-Wallis، بین سه گروه از نظر شدت رنگ‌پذیری ($p=0/314$) (جدول ۱)، وسعت رنگ‌پذیری ($p=0/45$) (جدول ۲) و ضخامت اپیتلیوم ($p=0/05$) (جدول ۳) تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده نشد.



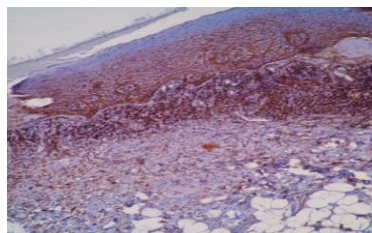
تصویر ۱. SCC با شدت رنگ‌پذیری متوسط تا شدید

سمت چپ: SCC با تمایز خوب: رنگ‌پذیری شدید و اغلب غشایی و عدم رنگ‌پذیری مرکز جزایر اپیتلیالی
سمت راست: SCC با تمایز متوسط: رنگ‌پذیری متوسط تا شدید و اغلب سیتوپلاسمی و غشایی که تقریباً همه سلول‌ها رنگ گرفته‌اند (بزرگنمایی $\times 100$)



تصویر ۲. A: دیسپلازی خفیف با رنگ‌پذیری غشایی

B: دیسپلازی شدید با رنگ‌پذیری غشایی و سیتوپلاسمی (بزرگنمایی $\times 100$)



تصویر ۳. لیکن پلان با رنگ‌پذیری نسبتاً شدید و غشایی در بیشتر ضخامت اپیتلیوم و رنگ‌پذیری لنفوسیتها (بزرگنمایی $\times 100$)

Wallis، ارتباط مقیاسهای رنگ‌پذیری در بین گروههای مطالعه (لیکن پلان، دیسپلازی اپیتلیالی و SCC) استفاده شده شد و $P\text{-value} < 0.05$ به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

رنگ‌پذیری در ضایعات مورد مطالعه به دو صورت غشایی و یا غشایی و سیتوپلاسمی مشاهده شد. شدت و وسعت رنگ‌پذیری نمونه‌ها توسط CD44 به ترتیب در جداول ۱ و ۲ به تفکیک گروهها نشان داده شده است. در مورد نمونه‌های OSCC، شدت رنگ‌پذیری در ۶۰٪ موارد متوسط و به صورت غشایی و سیتوپلاسمی بود. نمونه‌های با تمایز خوب معمولاً رنگ‌پذیری شدیدتری نسبت به نمونه‌های با تمایز متوسط داشتند. هر چند در مراکز جزایر سلولهای اپیتلیالی در نمونه‌های با تمایز خوب که سلولها کراتینه‌ها هستند (مروریدهای کراتینی) مانند سطح اپیتلیوم نرمال رنگ‌پذیری مشاهده نشد (شکل ۱). در نیمی از نمونه‌های OSCC بیش از ۷۵٪ سلولها رنگ‌پذیری داشتند.

رنگ‌پذیری در موارد دیسپلازی، با افزایش شدت دیسپلازی، از رنگ‌پذیری فقط در غشا، به رنگ‌پذیری غشایی و سیتوپلاسمی تغییر کرد. از نمونه‌های دیسپلازی مورد مطالعه، ۴ نمونه دیسپلازی خفیف و یک نمونه دیسپلازی شدید نشان دادند و بیان CD44 در مورد دیسپلازی شدید، کمتر از موارد خفیف بود و حتی در قسمتهای رأس ترتیجها که علائم دیسپلازی شدیدتر بود، کمترین رنگ‌پذیری مشاهده شد (شکل ۲). الگوی رنگ‌پذیری نیز در بافت دیسپلاستیک قابل توجه بود. در بافت نرمال (نمونه کنترل مثبت) رنگ‌پذیری در لایه بازال و پارابازال بیشتر از لایه خاردار بود، ولی در تمام موارد دیسپلازی، رنگ‌پذیری از بافت نرمال کمتر و در همه لایه‌ها تقریباً یکسان بود. در همه نمونه‌های لیکن پلان،

جدول ۱. توزیع فراوانی شدت رنگ‌پذیری در گروه‌های مورد مطالعه

رتبه	۰ (بدون رنگ)	۱ (خفیف)	۲ (متوسط)	۳ (شدید)	نتیجه آزمون کروسکال والیس
SCC	۰ (۰/۰)	۱ (۵/۰)	۱۲ (۶۰/۰)	۷ (۳۵/۰)	$\chi^2=۲/۳۱$
دیسپلازی	۰ (۰/۰)	۱ (۴۰/۰)	۲ (۴۰/۰)	۱ (۲۰/۰)	$p=۳۱۴/۰$
لیکن پلان	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۷ (۷۰/۰)	۳ (۳۰/۰)	

جدول ۲. توزیع فراوانی درصد سلولهای رنگ گرفته (وسعت رنگ‌پذیری) در گروه‌های مورد مطالعه

رتبه	(۰/۰)	کمتر از ۲۵/۰	۲۵/۰ - ۵۰/۰	۵۰/۰ - ۷۵/۰	بیشتر از ۷۵/۰	نتیجه آزمون کروسکال والیس
SCC	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۲۵/۰)	۵ (۲۵/۰)	۱۰ (۵۰/۰)	$\chi^2=۱/۵۹$
دیسپلازی	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۴ (۸۰/۰)	۱ (۲۰/۰)	$p=۴۵/۰$
لیکن پلان	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱۰ (۱۰۰/۰)		

داده‌ها به وسیله (درصد) تعداد توصیف شده‌اند

جدول ۳. ضخامت اپیتلیوم رنگ گرفته

ضخامت	۰	۱	۲	۳	نتیجه آزمون کروسکال والیس
SCC	۰	۰	۸ (۴۰/۰)	۱۲ (۶۰/۰)	$\chi^2=۵/۹۸$
دیسپلازی	۰	۰	۴ (۸۰/۰)	۱ (۲۰/۰)	$p=۵/۰$
لیکن پلان	۰	۰	۱۰ (۱۰۰/۰)		

داده‌ها به وسیله (درصد) تعداد توصیف شده‌اند

بحث

برای پیش‌بینی رفتار کلینیکی دیسپلازی دهانی استفاده کرد.

در مطالعه Bahar و همکاران^(۱۰) در ۸۰ درصد ضایعات دیسپلاستیک و ۱۰۰ درصد ضایعات SCC کاهش یا عدم بیان CD44 دیده شد. Simionescu و همکاران^(۸)، نیز مشاهده کردند که ضایعات SCC با تمایز خوب، بیشترین میزان رنگ‌پذیری را داشتند. موارد با تمایز متوسط، بیان کمتر CD44 و موارد با تمایز ضعیف، کمترین میزان بیان و یا حتی عدم بیان مارکر را نشان

در مطالعات پیشین، اغلب فقط شدت رنگ‌پذیری CD44 گزارش شده است.^(۸، ۱۰) البته در مواردی هم وسعت رنگ‌پذیری (درصد سلولهای رنگ گرفته) بررسی شده است.^(۸)

مطالعه Ratuava و همکاران^(۶)، تنها مقاله‌ای بود که همچون مقاله حاضر اختلاف آماری معنی‌داری در میزان بیان CD44 بین دیسپلازی و SCC گزارش نکرد و محققین اعلام کردند که از روی میزان بیان CD44v₆ نمی‌توان

وجود دارد که در هنگام دیسپلازی، به علت کاهش اتصالات سلولی، سلول به صورت جبرانی سعی در تولید مقادیر بیشتری CD44 کند و از آنجایی که این پروتئین به دلیل جهشهای احتمالی اتفاق افتاده نسبت به حالت نرمال تغییراتی دارد، کارایی لازم را نداشته و با وجود افزایش این پروتئین در سلول، اتصالات مؤثر برقرار نمی‌شود. Misra و همکاران^(۱۴)، عنوان می‌کنند که در واقع بسیاری از سلولهای CD44⁺ به اسیدهیالورونیک و ماتریکس متصل نمی‌شوند و اتصال CD44 به اسیدهیالورونیک بسیار اختصاصی است و به وضعیت فعال شدن CD44 بستگی دارد.^(۱۴) در نتیجه ممکن است CD44 وجود داشته باشد ولی اتصال برقرار نشود. همچنین از آنجایی که CD44 ایزوفرمهای متفاوت دارد و برخی مطالعات همچون مطالعه Ratuava و همکاران^(۱۵) روی برخی ایزوفرمهای خاص صورت گرفته است، این موضوع نیز می‌تواند منشأ برخی تفاوتها در نتایج باشد. در مطالعه حاضر بیان CD44 در لیکن پلان اروزو مورد بررسی قرار گرفت. در اغلب نمونه‌ها رنگ‌پذیری متوسط و شدید مشاهده شد. این یافته احتمالاً به نقش CD44 در التهاب مربوط می‌شود. همچنین رنگ‌پذیری نسبتاً شدید در اغلب لنفوسیت‌های موجود در باند لنفوسیتی زیر اپیتلیوم مشاهده شد (شکل ۳).

در یک مطالعه که به بررسی ۳۰ نمونه لیکن پلان (۱۵ مورد آتروفیک و ۱۵ مورد هیپرپلاستیک) و ۱۵ نمونه بافت نرمال پرداخته بود، مشاهده شد که بیان CD44 در افراد مبتلا نسبت به گروه نرمال افزایش داشت.^(۱) همچنین در مطالعه Gurkan - Kaya و همکاران^(۱۵) دیده شد که بیان CD44s به میزان زیادی در کراتینوسیتها و لنفوسیتها افزایش یافته است. CD44 پروتئین مؤثر هم در روند التهاب و هم در تومورزایی است و به نظر می‌رسد که

دادند. یافته‌های مطالعه حاضر نیز رنگ‌پذیری بیشتر در موارد SCC با تمایز خوب را نشان داد، هر چند که اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد.

در تعدادی دیگر از مقالات، نتایج متفاوتی گزارش شده است. در مطالعه Sawant و همکاران^(۱۱)، مشاهده شد که با افزایش مرحله پیشرفت بیماری، رنگ‌پذیری ایمونوهیستوشیمیایی CD44 افزایش می‌یابد. نویسندگان نتیجه گرفتند که از این مارکر می‌توان برای پیش‌بینی عود موضعی و پیش‌آگهی ضعیف بیماران سرطان دهان استفاده کرد.^(۱۱)

Abdulmajeed و همکاران^(۱۲)، نیز افزایش بیان CD44 در SCC دهان در مقایسه با بافت نرمال را گزارش کردند. آنها عنوان کردند که افزایش پیش‌رونده بیان این مارکر از بافت نرمال به سمت دیسپلازی و بدخیمی در دهان با یافته‌هایی در مورد بافت‌های مری و معده همخوانی دارد. Mannelli و همکاران^(۱۳) نیز افزایش بیان CD44 را در حدود ۹۳ درصد از نمونه‌های SCC مشاهده کردند. CD44 یک گلیکوپروتئین غشایی است و در اتصالات سلولی و همچنین اتصال سلول به ماتریکس نقش دارد.^(۱۴) از آنجایی که در دیسپلازی اتصالات سلولی کاهش می‌یابند و در بدخیمی‌ها نیز، از بین رفتن اتصالات سلول به ماتریکس برای مهاجرت و تهاجم سلول و به دنبال آن متاستاز ضروری به نظر می‌رسد، منطقی به نظر می‌آید که با افزایش درجه دیسپلازی و همچنین با کاهش تمایز سلولها در SCC، بیان این مارکر کاهش یابد که مشابه با مشاهدات ما در این تحقیق و همچنین یافته‌های Bahar و همکاران^(۱۰) و Simionescu و همکاران^(۸) می‌باشد. در توجیه نتایج متفاوت گزارش شده در تعدادی از مقالات همچون مطالعه Sawant و همکاران^(۱۱) و Abdulmajeed و همکاران^(۱۲) این احتمال

البته به نظر می‌رسد همانطور که بیشتر اشاره شد این یافته مربوط به نقش CD44 در التهاب باشد.^(۱۴)

در تحقیق پیش رو محل بیان مارکر در سلول نیز مورد بررسی قرار گرفت. موارد دیسپلازی اغلب رنگ‌پذیری غشایی (مشابه با اپیتلیوم نرمال) داشتند که بنا بر انتظار بود زیرا محل این پروتئین در غشا سلول است. ولی در اغلب نمونه‌های SCC رنگ‌پذیری هم در غشا و هم در سیتوپلاسم بود و باز هم سلولهای با تمایز بهتر فقط رنگ‌پذیری غشایی داشتند. این یافته در مطالعه Sawant و همکاران هم مشاهده شد.^(۱۱) این موضوع نیز می‌تواند مربوط به تغییرات مولکولی CD44 در موارد بدخیمی نسبت به CD44 نرمال باشد و اینکه با وجود افزایش ساخته شدن CD44 در سلول، به دلیل تغییرات ساختاری، امکان فرارگیری آن در محل مناسب در غشا وجود ندارد و در سیتوپلاسم تجمع می‌یابد. صد البته اثبات این فرضیه نیازمند تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

نتیجه‌گیری

بیان CD44 در لیکن‌پلان آروزویو، دیسپلازی و SCC دهانی تفاوت آماری معناداری نداشت و این پروتئین احتمالا نمی‌تواند مارکر مناسبی جهت تأیید پیش‌بینی توانایی تهاجم در ضایعات پیش‌بدخیم و SCC باشد. بیان افزایش یافته CD44 در لیکن‌پلان آروزویو می‌تواند مربوط به نقش این مارکر در التهاب باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله برگرفته از پایان نامه به شماره د/پ م/۳۶۱/۳۶ از دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز می باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی آن دانشگاه جهت تصویب و پرداخت هزینه‌های این مطالعه تقدیر و تشکر می‌گردد.

نقش دوگانه‌ای داشته باشد. به عنوان مثال هم در شروع التهاب حضور دارد و هم با حذف آن (مثلا در مدل‌های آزمایشگاهی)، که انتظار می‌رود منجر به کاهش التهاب شود، شدت التهاب افزایش می‌یابد.^(۱۴)

همانطور که پیش‌تر عنوان شد عده‌ای لیکن‌پلان به ویژه نوع آروزویو را ضایعه‌ای پیش‌بدخیم برمی‌شمارند.^(۴) در این مطالعه هر چند اختلاف آماری معنی‌داری بین بیان CD44 در نمونه‌های دیسپلازی، SCC و لیکن‌پلان یافت نشد، ولی در اغلب موارد، در دیسپلازی و SCC نسبت به بافت نرمال کاهش بیان دیده شد، در حالی‌که در لیکن‌پلان افزایش بیان مشاهده شد. این یافته شاید شاهدی باشد بر اینکه پروفایل مولکولی لیکن‌پلان با دیسپلازی و ضایعات پیش‌بدخیم متفاوت است. ضخامتی از اپیتلیوم که رنگ‌پذیری CD44 را نشان می‌دهد نیز در این مطالعه مورد توجه قرار گرفت. مشاهده شد که در اغلب موارد دیسپلازی و همه موارد لیکن‌پلان تا ۲/۳ اپیتلیوم رنگ‌پذیری دارد و در اغلب موارد SCC بیش از ۲/۳ اپیتلیوم رنگ‌پذیری دارد. در بافت نرمال مجاور نمونه‌های لیکن‌پلان و همچنین در بافت نرمال کنترل مثبت فقط لایه‌های بازال و پارابازال رنگ‌پذیری داشتند.

این یافته در مطالعات دیگر همچون مطالعه Abdulmajeed و همکاران^(۱۲) و Fitzpatrick و همکاران^(۱۶) مشاهده شد و نشان‌دهنده این است که فارغ از اینکه شدت رنگ‌پذیری در نمونه‌های دیسپلازی و SCC و حتی لیکن‌پلان نسبت به بافت نرمال افزایش یا کاهش پیدا کند، الگوی رنگ‌پذیری CD44 در بافت نرمال (محدود به لایه بازال و پارابازال) نسبت به این ضایعات (گسترش رنگ‌پذیری به لایه‌های خاردار اپیتلیوم) متفاوت است.

منابع

1. Lo Muzio L, Santarelli A, Panzarella V, Campisi G, Carella M, Ciavarella D, et al. Oral squamous cell carcinoma and biological markers: An update on the molecules mainly involved in oral carcinogenesis. *Minerva Stomatol* 2007; 56(6): 341–7.
2. Carinci F, Lo Muzio L, Piattelli A, Rubini C, Palmieri A, Stabellini G, et al. Genetic portrait of mild and severe lingual dysplasia. *Oral Oncol* 2005; 41(4): 365–74.
3. Ana Myriam C, Dantas da Silveira M, Janine Dantas da Silveira E. Oral lichen planus: two case reports in male patients Liquen plano oral: relato de dois casos em pacientes masculinos. *Rev Odonto Cienc* 2010; 25(2): 208–12.
4. Neville BW, Damm DD, Chi AC, Allen CM. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 3rd ed. Philadelphia: WB.Saunders/Co; 2009. P. 449-57, 544-7.
5. Martin TA, Harrison G, Mansel RE, Jiang WG. The role of the CD44/ezrin complex in cancer metastasis. *Critic Rev Oncol/Hematol* 2003; 46: 165-86.
6. Rautava J, Soukka T, Inki P, Leimola-Virtanen R, Saloniemi I, Happonen RP, et al. CD44v6 in developing, dysplastic and malignant oral epithelia. *Oral Oncol* 2003; 39(4): 373–9.
7. Yokoyama Y, Hiyama E, Murakami Y, Matsuura Y, Yokoyama T. Lack of CD44 variant 6 expression in advanced extrahepatic bile duct/ampullary carcinoma. *Cancer* 1999; 86(9): 1691–9.
8. Simionescu C, Mărgăritescu CL, Surpățeanu M, Mogoantă L, Zăvoi R, Ciurea R, et al. The study of E-cadherine and CD44 immunoexpression in oral squamous cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2008; 49(2):189–93.
9. Dalley AJ, Abdul Majeed AA, Pitty LP, Major AG, Farah CS. LGR5 expression in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2015; 119(4): 436–40.
10. Bahar R, Kunishi M, Kayada Y, Yoshiga K. CD44 variant 6 (CD44v6) expression as a progression marker in benign, premalignant and malignant oral epithelial tissues. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997; 26(6): 443–6.
11. Sawant S, Gokulan R, Dongre H, Vaidya M, Chaukar D, Prabhash K, et al. Prognostic role of Oct4, CD44 and c-Myc in radio-chemo-resistant oral cancer patients and their tumorigenic potential in immunodeficient mice. *Clin Oral Investig* 2016; 20(1): 43–56.
12. Abdulmajeed A, Dalley AJ, Farah CS. Putative cancer stem cell marker expression in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2013; 42(10): 755–60.
13. Mannelli G, Magnelli L, Deganello A, Busoni M, Meccariello G, Parrinello G, et al. Detection of putative stem cell markers, CD44/CD133, in primary and lymph node metastases in head and neck squamous cell carcinomas. A preliminary immunohistochemical and in vitro study. *Clin Otolaryngol* 2015; 40(4): 312–20.
14. Misra S, Hascall VC, Markwald RR, Ghatak S. Interactions between hyaluronan and its receptors (CD44, RHAMM) regulate the activities of inflammation and cancer. *Frontiers Immunol* 2015; 67(2): 136-40.
15. Kaya G, Kaya H, Augsburg E, Samson J, Saurat JH, Lombardi T. Expression of CD44 and its isoforms in oral lichen planus. *J Cutan Pathol* 2005; 32(1): 97-9.
16. Fitzpatrick SG, Montague LJ, Cohen DM, Bhattacharyya I. CD44 Expression in intraoral salivary ductal papillomas and oral papillary squamous cell carcinoma. *Head Neck Pathol* 2013; 7(2): 122–8.