مجله دانشکده
دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۵؛ ۱۲(۱): ۱۹ تا ۲۶

بررسی مقایسه‌ای حضور پروتئین CD105 در ضایعه‌های دهانی دارای دیسپلازی و مخاط سالم به روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی

نکیسا ترابی‌نیا [۱]
ندا کارگهی [۲]
حسن کمانی [۳]

۱: استادیار، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد و مواد دندانی، گروه پاتولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲: **نویسنده مسؤول:** استادیار، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد و ایمپلنت‌های دندانی، گروه پاتولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
Email: kargahi@dnt.mui.ac.ir
۱: دانشجوی دندان‌پزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده

مقدمه: تحقیقات کمی در مورد تشکیل عروق خونی در ضایعه‌های دیسپلاستیک انجام شده و چون CD105 به‌عنوان یک نشان‌گر در عروق خونی تازه تشکیل‌شده بروز پیدا می‌کند، در این مطالعه حضور این پروتئین در ضایعه‌های دیسپلاستیک در مقایسه با مخاط سالم بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی و مقطعی، ۲۰ بلوک پارافینی ضایعه‌های دهانی از بیماران ۱۰ سال اخیر بخش آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندان‌پزشکی با تشخیص دیسپلازی بر اساس معیارهای هیستولوژی، با روش نمونه‌گیری آسان انتخاب گردیدند. ۲۰ نمونه مخاط نرمال نیز از بیماران جراحی ایمپلنت یا جراحی مولر سوم به دست آمد. نمونه‌ها جهت تأیید تشخیص وجود نشان‌گر CD105 به‌صورت ایمونوهیستوشیمیایی رنگ‌آمیزی و توسط دو پاتولوژیست هم‌زمان مورد ارزیابی قرار گرفتند. میانگین تعداد نواحی رنگ گرفته با نشان‌گر CD105 به‌عنوان میانگین دانسیته عروق در هر نمونه تعیین گردید. داده‌ها با آزمون Mann-whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: میانگین بروز نشان‌گر *CD105* در گروه مخاط سالم ۰ ± ۰ و در گروه ضایعه‌های دیسپلاستیک ۶/۱۹ ± ۷/۵۸ بود. اختلاف معنی‌داری میان میانگین دانسیته عروق دارای نشان‌گر CD105 در دو گروه نشان داده شد ($p\ value < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نبودن پروتئین *CD105* در مخاط سالم و بروز آن با اختلاف معنی‌دار در مخاط دیسپلاستیک، می‌توان گفت حضور دیسپلازی در مخاط همراه با شروع و تشکیل عروق خونی جدید می‌باشد و نشان‌گر *CD105* می‌تواند در شناسایی عروق خونی جدید همراه با تغییرات دیسپلازی کمک‌کننده باشد.

کلید واژه‌ها: ضایعه‌های دیسپلاستیک، مخاط دهان، بدخیمی.

تاریخ ارسال: ۹۴/۶/۴ **تاریخ اصلاح: ۹۴/۱۰/۲** **تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۳**

استناد به مقاله: ترابی‌نیا ن، کارگهی ن، کمانی ح: بررسی مقایسه‌ای حضور پروتئین CD105 در ضایعه‌های دهانی دارای دیسپلازی و مخاط سالم به روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان، ۱۳۹۵، ۱۲(۱)، ۱۹-۲۶.

مقدمه

ضایعه پیش‌بدخیم بر اساس تعریف WHO (World Health Organization) شامل اپی‌تلیوم تغییر یافته‌ای است که بیشتر از مخاط نرمال خطر تبدیل به بدخیمی را دارد. این تغییرات شامل انواعی از تغییرات سیتولوژیک و ساختاری هستند (۱-۳).

در واقع در بسیاری از موارد SCC (Squamous Cell Carcinoma) از سطح یک اپی‌تلیوم دیس‌پلاستیک برمی‌خیزد و با حضور جزایر وطناب‌های مهاجمی از سلول‌های اپی‌تلیال سنگ‌فرشی بدخیم در بافت هم‌بندی مشخص می‌شود. سلول‌ها اغلب نشانه‌های دیسپلازی شامل پلئومورفیسم سلولی، هایپر کروماتیسم، افزایش نسبت هسته به سیتوپلاسم، دیسکراتوز سلولی، افزایش فعالیت میتوزی و اشکال میتوز غیرعادی را نشان می‌دهند (۴).

مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که با تغییر مخاط دهان از نرمال به دیسپلاستیک و سرطانی افزایش معنی‌داری در وسکولاریته آن‌ها رخ می‌دهد (۵-۷). هم‌چنین به‌خوبی مشخص شده است که رشد تومورها و پتانسیل متاستاز آن‌ها به دانسیته عروقی آن‌ها و آنژیوژنز بستگی دارد (۸-۱۰).

آنژیوژنز، تشکیل عروق جدید از عروق قدیمی است که برای رشد و پیشرفت تومورهای بدخیم ضروری است. تشکیل عروق جدید با تأمین منابع غذایی و اکسیژن، انتشار متابولیت‌ها و آزادسازی عوامل رشد، تکثیر سلول‌های تومورال و رشد تومور را تحریک می‌کند (۱۱).

این فرآیند بیولوژیک به‌وسیله عوامل آنژیوژنیک مانند: فاکتور رشد فیبروبلاست (Fibroblast Growth Factor = FGF)، فاکتور رشد عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor = VEGF)، فاکتور نکروز تومور (Tumor Necrosis Factor α = TNFα) و عوامل مهارکننده آنژیوژنز مانند آنژیوتانسین، فاکتور پلاکتی ۴ (Platelet Factor 4 = PF4)، و ترومبوسپوندین یک (Thrombospondin 1 = TSP-1) کنترل می‌گردد (۱۲)، که توسط سلول‌های بافت‌های سالم و تومورال تولید می‌گردند (۱۳).

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که سلول‌های اندوتلیال تومورها تکثیر بسیار سریع‌تری از سلول‌های اندوتلیال بافت‌های نرمال دارند. این سرعت از ۲۰ تا ۲۰۰۰ برابر سلول‌های نرمال تخمین‌زده شده است (۱۴، ۱۵).

MVD (Mean Vessel Density) به‌معنی میزان تراکم عروق یک ناحیه است که به‌عنوان یک عامل پیش‌گویی‌کننده در برخی بدخیمی‌ها معرفی شده است و با افزایش آن شدت بدخیمی نیز افزایش می‌یابد. برای سنجش میزان عروق تشکیل‌شده از روش ایمونوهیستوشیمی ارایه شده توسط Taskiran و همکاران (۱۶) استفاده می‌گردد.

از نشان‌گرهای مورد استفاده در این زمینه می‌توان *CD31*، *CD34* و ون ویلبراند را نام برد. اما این نشان‌گرها دقت تشخیصی اندکی دارند و آنتی‌بادی‌های آن‌ها با عروق کوچک و بزرگ، رگ‌های لنفی و سلول‌های التهابی نیز واکنش می‌دهند (۱۶).

CD105 (Endoglin) یک گلیکوپروتئین غشایی و رسپتوری برای TGFβ (Transforming growth factor-B) است. این نشان‌گر تنها در طول آنژیوژنز بر سطح سلول‌های اندوتلیوم فعال ایجاد می‌گردد (۱۸-۱۷)، بنابراین نشان‌گری قابل اعتماد در تشخیص وسکولاریزیشن جدید در بدخیمی‌ها است که دقت بیشتر آن نسبت به دیگر نشان‌گرها مانند CD31 و CD34 اثبات شده است (۱۶، ۱۹).

مطالعه‌های جدید ارتباط حضور CD105 در عروق خونی با پتانسیل متاستاز در تومورهای بدخیم را نشان داده‌اند، اگرچه هنوز در این زمینه اختلاف‌نظر وجود دارد (۲۱، ۲۰). Stepan valuean و همکاران (۲۲) در مطالعه‌ای نشان دادند که نشان‌گرهای VEGF و CD105 در ضایعه‌های سرطانی افزایش می‌یابند و می‌توانند به‌عنوان نشان‌گری جهت تشخیص سرطان در مراحل اولیه مورد استفاده قرارگیرند. نتایج مطالعه Bellone و همکاران (۲۳)

نشان داد که افزایش سطح CD105 می‌تواند پیش‌گویی کننده آنژیوژنز در ضایعه‌های پیش بدخیم کولون باشد. Randall و همکاران (۲۴) در مطالعه‌ای نشان دادند که افزایش عروق دارای نشان‌گر CD105 با کاهش شانس بقا همراه است.

ضایعه‌های دیسپلاستیک به دلیل توان پیشرفت به‌سوی بدخیمی اهمیت دارند. از آن‌جا که تولید عروق خونی جدید در ضایعه‌های بدخیم بیشتر است و تحقیقات کمی در مورد تشکیل عروق خونی در ضایعه‌های دیسپلاستیک انجام شده است و با توجه به‌این‌که CD105 به‌عنوان یک نشان‌گر در عروق خونی تازه تشکیل شده بروز پیدا می‌کند، مطالعه‌ی حاضر حضور پروتئین CD105 را در ضایعه‌های دیسپلاستیک در مقایسه با مخاط سالم مورد بررسی قرار داده است. فرضیه صفر در مطالعه حاضر عدم تفاوت میان میزان عروق دارای آنتی‌ژن CD105 در دو گروه مخاط سالم و دیسپلاستیک بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی و مقطعی تعداد ۲۰ بلوک پارافینی از ضایعه‌های دهانی بیماران دارای دیسپلازی که در ۱۰ سال اخیر به بخش آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی مراجعه کرده بودند و تشخیص دقیق دیسپلازی بر اساس معیارهای هیستولوژی داده شده، با روش نمونه‌گیری آسان انتخاب گردیدند. ۲۰ نمونه مخاط نرمال نیز از بیمارانی که برای جراحی ایمپلنت یا جراحی دندان مولر سوم مراجعه کرده بودند، پس از کسب رضایت‌نامه به‌دست آمد(d = ۰/۲۸).

سپس نمونه‌ها توسط دو همکار پاتولوژیست مورد بررسی هیستوپاتولوژی گرفته و آن‌هایی که مخدوش بوده، التهاب شدیدی داشته و یا به هر دلیلی قابلیت انجام آزمایش ایمونوهیستوشیمی (IHC) را نداشتند، از مطالعه حذف شدند؛ شکل یک نمای هیستوپاتولوژی مخاط نرمال و شکل ۲ نمای هیستوپاتولوژی مخاط دیسپلاستیک را نشان می‌دهد.

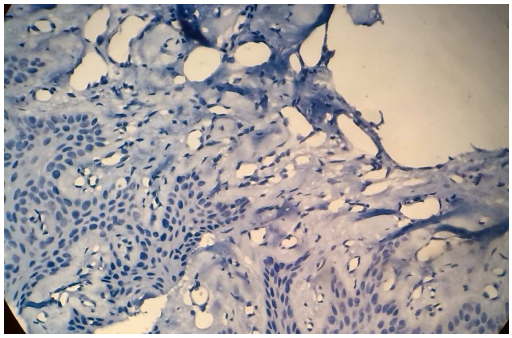
به منظور تأیید تشخیص‌های قبلی از نمونه‌ها برش‌های جدید تهیه شده و پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و بررسی با میکروسکوپ نوری، دو گروه مورد بررسی برای رنگ‌آمیزی IHC فرستاده شدند. به‌منظور تشخیص وجود CD105 در بافت‌های موردنظر از تکنیک Envision استفاده گردید. سپس جهت ارزیابی ایمونوهیستوشیمی CD105 تمام نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی IHC با استفاده از آنتی‌بادی CD105 (Anti-DAKO, CD105 antibody [3A9] (ab114052) (Cambridge, USA توسط دو پاتولوژیست به صورت هم‌زمان و با مشورت یکدیگر با میکروسکوپ نوری Olymp valueus با بزرگ‌نمایی X۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند، به این منظور سه فیلد غیر هم‌پوشان انتخاب شده و نواحی رنگ گرفته در آن‌ها شمرده شد و میانگین آن‌ها به‌عنوان MVD دارای نشان‌گر *CD105* در نمونه MVD تعیین گردید (۱۱). پس از آن داده‌ها وارد نرم‌افزار SP VALUESS20 شده و اطلاعات به دست آمده با بکارگیری آزمون آماری Mann-whitney با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

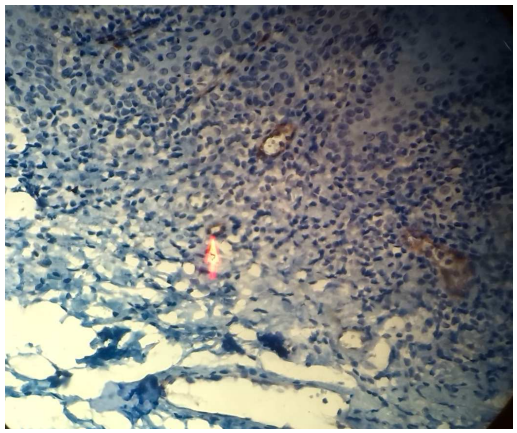
این مطالعه بر روی ۲۰ نمونه مخاط نرمال و ۲۰ نمونه دارای دیسپلازی صورت گرفت. میانگین بروز نشان‌گر *CD105* در مخاط نرمال ۰/۰ ± ۰/۰ و در مخاط دیسپلاستیک ۶/۱۹ ± ۷/۵۸ بود (جدول ۱، شکل ۱ و ۲).

جدول ۱: میانگین دانسیته عروق دارای نشان‌گر CD105 در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	میانگین	انحراف معیار
مخاط نرمال	۰/۰	۰/۰
نمونه‌های دارای دیسپلازی	۷/۵۸	۶/۱۹
p value (Mann-whitney)	< ۰/۰۰۱	



شکل ۱. عدم بروز نشان‌گر CD105 در مخاط نرمال



شکل ۲: مناطق رنگ گرفته با نشان‌گر CD105 در مخاط دیسپلاستیک

همان‌طور که مشاهده می‌گردد دانسیته عروق که به‌وسیله نشان‌گر CD105 مشخص شده بود، در گروه ضایعه‌های دارای دیسپلازی به‌طرز معنی‌داری از مخاط نرمال بیشتر بود.

بحث

ضایعه پیش‌بدخیم شامل اپی‌تلیومی است که از لحاظ سیتولوژیک و ساختاری تغییر یافته و بیشتر از مخاط نرمال خطر تبدیل به بدخیمی را دارد (۲، ۳). آنژیوژنز تومور و نقش آن در پیشرفت تومور و متاستاز، در مطالعه‌های متعددی، از جمله در SCC ناحیه سر و گردن مورد بررسی قرارگرفته است (۲۷-۲۵). اختلاف‌نظر در خصوص ارتباط پروگنوز تومور و MVD هم‌چنان وجود دارد. در یک مطالعه ارتباط معکوسی میان MVD و پروگنوز نشان داده شد، به‌نحوی که با افزایش MVD پروگنوز بهبود می‌یابد (۲۸) و برخی مطالعه‌ها نیز قادر به کشف ارتباط میان پروگنوز تومور و MVD نبودند (۳۰، ۲۹)، اما اغلب مطالعه‌ها بیان کرده‌اند که با افزایش MVD و آنژیوژنز تومور، پروگنوز تومور بدتر می‌گردد (۲۵-۲۷). دلایل متعددی برای این تفاوت‌ها وجود دارد، از محتمل‌ترین دلایل می‌توان به تنوع در واکنش آنتی‌بادی‌های سلول‌های اندوتلیال، تفاوت در پروسه قبل از درمان و روش ارزیابی MVD اشاره کرد (۳۱، ۳۲).

نشانگرهای متعددی جهت ارزیابی MVD وجود دارد، از آن جمله می‌توان به CD31، CD34، فاکتور ون ویلبراند و CD105 اشاره کرد. CD31 به‌دلیل رنگ‌آمیزی کلیه عروق و رنگ‌آمیزی سلول‌های سرطانی Reliability اندکی دارد (۳۳)، CD34 هم علاوه بر رنگ‌آمیزی عروق، سلول‌های مزانشیمال را رنگ‌آمیزی می‌کند، بنابراین دقت بالایی ندارد (۳۴، ۳۵). فاکتور ون ویلبراند برای عروق اختصاصی نیست و عروق لنفی را نیز رنگ‌آمیزی می‌کند، علاوه بر این نشان داده شده است که این فاکتور برخی از عروق ضایعه‌های تومورال را رنگ‌آمیزی نمی‌کند (۲۲)، بنابراین دقت بالایی ندارد. CD105 یک نشان‌گر اختصاصی برای سلول‌های اندوتلیال است که در آنژیوژنز تومور شرکت می‌کند و برای رگ‌زایی جدید در تومور حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به دیگر نشان‌گرها دارد (۳۶-۳۸).

از این‌رو با توجه به تفاوت‌نظر در خصوص ارتباط پروگنوز تومور و MVD و از آن‌جا که CD105 یک نشان‌گر اختصاصی برای نئوآنژیوژنز است، مطالعه حاضر با هدف تعیین MVD در ضایعه‌های دیسپلاستیک و مخاط سالم به‌وسیله نشان‌گر CD105 انجام گرفت.

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که بافت مخاط سالم هیچ‌گونه بروز نشان‌گر CD105 را نشان نداد درحالی‌که در ضایعه‌های دارای دیسپلازی بروز این نشان‌گر با اختلاف معنی‌داری نسبت به مخاط سالم مشاهده شد، بنابراین استفاده از این نشان‌گر می‌تواند به‌عنوان روشی مؤثر جهت غربال‌گری ضایعه‌های دارای تغییرات دیسپلازی مورد استفاده قرار گیرد. از این‌رو فرضیه صفر در مطالعه

حاضر رد شده و میزان عروق دارای آنتی‌ژن CD105 در دو گروه مخاط سالم و دارای دیسپلازی متفاوت بود. بنابراین فرضیه صفر در مطالعه حاضر رد شد و میانگین دانسیته عروق دارای آنتی‌ژن CD105 در مخاط سالم و دیسپلاستیک متفاوت بود.

Martone و همکاران (۳۹) به ارزیابی ایمونو-هیستوشیمیایی SCC های ناحیه سر و گردن در ۱۲۷ بیمار با استفاده از نشان‌گرهای CD105 و CD34 پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که اگر چه مخاط سالم به‌وسیله نشان‌گر CD34 رنگ‌آمیزی می‌گردد، اما به نشان‌گر CD105 پاسخ نمی‌دهد. هم‌چنین نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که CD105 تنها نشان‌گر مستقل در تشخیص پروگنوز ضایعه است.

Step valuean و همکاران (۲۲) به ارزیابی نشان‌گرهای VEGF و CD105 در تشخیص SCC سرویکال پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که CD105 نشان‌گری اختصاصی جهت تعیین پیش‌آگهی ضایعه‌های است و بیشترین میزان MVD در SCC ، مربوط به بدترین پیش‌آگهی بود.

Randall و همکاران (۲۴) به بررسی آنژیوژنز تومورال با استفاده از CD31 و CD105 در ۱۳۹ بیمار دارای SCC گردنی پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش CD31 + MVD با متاستاز کمتر و بقای بیشتر و افزایش CD105 + MVD با افزایش شدت بدخیمی و کاهش بقا همراه است.

Das و همکاران (۴۰) نشان دادند که با رخداد دیسپلازی در مخاط دهان تعداد سلول‌های +P VALUE63 و عروق +CD105 افزایش می‌یابد، اما E-Cadherin غشایی در لایه بازال کاهش می‌یابد.

Saad و همکاران (۱۹) نشان دادند که با افزایش شدت دیسپلازی در مخاط مری میزان نشان‌گر عروق دارای نشان‌گر CD105 افزایش می‌یابد.

Bellone و همکاران (۲۳) نشان دادند که نشان‌گر *CD105* تنها در ضایعه‌های دیسپلاستیک و سرطانی بیان می‌شود و با افزایش شدت دیسپلازی ضایعه میزان MVD + *CD105* نیز افزایش و شانس بقا کاهش می‌یابد.

بنابراین نتایج مطالعه حاضر با مطالعه‌های Martone و همکاران (۳۹)، Step valuean و همکاران (۲۲)، Randall و همکاران (۲۴)، Das و همکاران (۴۰)، Saad و همکاران (۱۹) و Bellone وهمکاران (۲۳) هم‌خوانی دارد و در تمامی موارد بروز *CD105* حاکی از حرکت ضایعه به سمت دیسپلازی و بدخیمی و پیش‌آگهی ضعیف‌تر است و در مخاط سالم، عروق دارای CD105 وجود ندارد. بنابراین می‌توان گفت CD105 می‌تواند به‌عنوان نشان‌گری مؤثر در تعیین تغییرات آتیپیک بافتی و در ادامه بروز بدخیمی در آینده، عمل کند و فقدان این نشان‌گر حاکی از سلامت بافت است. علت بیشتر بودن عروق دارای نشان‌گر CD105 در ضایعه‌های دیسپلاستیک، به‌دلیل نئوآنژیوژنز در ضایعه‌های دیسپلاستیک نسبت به مخاط نرمال است.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به حجم نمونه اندک اشاره کرد. پیشنهاد می‌گردد مشابه این مطالعه با حجم نمونه بیشتر انجام گردد. هم‌چنین یک مطالعه برای بررسی بروز CD105 در ضایعه‌های Reactive مخاطی در مقایسه با مخاط نرمال و دیسپلاستیک نیز انجام شود. مطالعه‌های بیشتر جهت درک مکانیسم CD105 و بررسی پتانسیل آن برای درمان آنتی‌آنژیوژنیک پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان گفت CD105 نشان‌گری مناسب در تشخیص مخاط سالم از دیسپلاستیک بوده و افزایش عروق دارای این نشان‌گر با دیسپلازی و حرکت ضایعه به سمت بدخیمی همراه است.

* این مقاله حاصل پایان‌نامه شماره ۳۹۳۵۲۸ بوده و کلیه حقوق این طرح برای دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان محفوظ است.

References

1. Ascani G, Balercia P, Messi M, Lupi L, Goteri G, Filosa A, et al. Angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. Acta Otorhinolaryngol Ital 2005; 25(1): 13-7.
2. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours (IARC WHO Classification of Tumours). Lyon: IARC Press; 2005. p. 130-1.
3. Bouquot JE, Speight PM, Farthing PM. Epithelial dysplasia of the oral mucosa—Diagnostic problems and prognostic features. Curr Diagn Pathol 2006; 12(1): 11-21.
4. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouguot JE. Oral and Maxillofacial Pathology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2009. p. 449-57, 544-7.
5. Macluskey M, Chandrachud LM, Pazouki S, Green M, Chisholm DM, Ogden GR, Schor SL, Schor AM. Apoptosis, proliferation, and angiogenesis in oral tissues. Possible relevance to tumour progression. J Pathol 2000; 191(4): 368-75.
6. Carlile J, Harada K, Baillie R, Macluskey M, Chisholm DM, Ogden GR, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in oral tissues: possible relevance to angiogenesis, tumour progression and field cancerization. J Oral Pathol Med 2001; 30(8): 449-57.
7. Pazouki S, Chisholm DM, Adi MM, Carmichael G, Farquharson GR, Ogden GR, et al. The association between tumour progression and vascularity in the oral mucosa. J Pathol 1997; 183(1): 39-43.
8. Folkman J. Angiogenesis inhibitors generated by tumors. Mol Med 1995; 1(2): 120.
9. Bremnes RM, Camps C, Sirera R. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. Lung cancer 2006; 51(2): 143-58.
10. Pilch H, Schlenger K, Steiner E, Brockerhoff P, Knapstein P, Vaupel P. Hypoxia-stimulated expression of angiogenic growth factors in cervical cancer cells and cervical cancer-derived fibroblasts. Int J Gynecol Cancer 2001; 11(2): 137-42.
11. Marioni G, Ottaviano G, Giacomelli L, Staffieri C, Casarotti-Todeschini S, Bonandini E, et al. CD105-assessed micro-vessel density is associated with malignancy recurrence in laryngeal squamous cell carcinoma. Eur J Surg Oncol 2006; 32(10): 1149-53.
12. Iamaroon A, Pongsiriwet S, Jittidecharaks S, Pattanaporn K, Prapayasatok S, Wanachantararak S. Increase of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2003; 32(4): 195-9.
13. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Robbins Basic Pathology. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2003. p. 238.
14. Marioni G, Gaio E, Giacomelli L, Marchese-Ragona R, Staffieri C, Staffieri A, et al. Endoglin (CD105) expression in head and neck basaloid squamous cell carcinoma. Acta Otolaryngol 2005; 125(3): 307-11.
15. Hobson B, Denekamp J. Endothelial proliferation in tumors and normal tissues: continuous labelling studies. Br J Cancer 1984; 49(4): 405–13.
16. Taskiran C, Erdem O, Onan A, Arisoy O, Acar A, Vural C, et al. The prognostic value of endoglin (CD105) expression in ovarian carcinoma. Int J Gynecol Cancer 2006; 16(5): 1789-93.
17. Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. FASEB J 2003; 17(9): 984-92.
18. Chuang HC, Su CY, Huang HY, Chien CY, Chen CM, Huang CC. High expression of CD105 as a prognostic predictor of early tongue cancer. Laryngoscope 2006; 116(7): 1175-9.
19. Saad RS, Jasnosz KM, Tung MY, Silverman JF. Endoglin (CD105) expression in endometrial carcinoma. Int J Gynecol Pathol 2003; 22(3): 248-53.
20. Schimming R, Marme D. Endoglin (CD105) expression in squamous cell carcinoma of the oral cavity. Head Neck 2002; 24(2): 151-6.
21. Chien CY, Su CY, Hwang CF, Chuang HC, Hsiao YC, Wu SL, et al. Clinicopathologic signicance of CD105 expression in squamous cell carcinoma of the hypopharynx. Head Neck 2006; 28(5): 441-6.
22. Stepan D, Simionescu C, Stepan A, Muntean M, Voinea B. VEGF and CD105 immunoexpression in squamous cervical carcinomas and associated precancerous lesions. Rom J Morphol Embryol 2012; 53(3): 585-9.
23. Bellone G, Gramigni C, Vizio B, Mauri FA, Prati A, Solerio D, et al. Abnormal expression of Endoglin and its receptor complex (TGF-beta1 and TGF-beta receptor II) as early angiogenic switch indicator in premalignant lesions of the colon mucosa. Int J Oncol 2010; 37(5): 1153-65.
24. Randall LM, Monk BJ, Darcy KM, Tian C, Burger RA, Liao S-Y, et al. Markers of angiogenesis in high-risk, early-stage cervical cancer: A Gynecologic Oncology Group study. Gynecol Oncol 2009; 112(3): 583-9.
25. Kirschner CV, Alanis-Amezcua JM, Martin VG, Luna N, Morgan E, Yang JJ, et al. Angiogenesis factor in endometrial carcinoma: a new prognostic indicator? Am J Obstet Gynecol 1996; 174(6): 1879-84.

26. Giatromanolaki A, Sivridis E, Koukourakis MI, Georgoulias V, Gatter KC, Harris AL. Intratumoral angiogenesis: a new prognostic indicator for stage I endometrial adenocarcinomas? Oncol Res 1998; 11(4): 205-12.
27. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Toi M, Martin L, McCulloch P, et al. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. Eur J Cancer 1996; 32(14): 2474-84.
28. Lindmark G, Gerdin B, Sundberg C, Påhlman L, Bergström R, Glimelius B. Prognostic significance of the microvascular count in colorectal cancer. J Clin Oncol 1996; 14(2): 461-6.
29. Fox SB, Gatter KC, Harris AL. Tumour angiogenesis. J Pathol 1996; 179(3): 232-7.
30. Page DL, Jensen RA. Angiogenesis in human breast carcinoma: What is the question? Hum Pathol 1995; 26(11): 1173-4.
31. Kaku T, Kamura T, Kinukawa N, Kobayashi H, Sakai K, Tsuruchi N, et al. Angiogenesis in endometrial carcinoma. Cancer 1997; 80(4): 741-7.
32. Fina L, Molgaard HV, Robertson D, Bradley NJ, Monaghan P, Delia D, et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. Blood 1990; 75(12): 2417-26.
33. Miettinen M, Lindenmayer AE, Chaubal A. Endothelial cell markers CD31, CD34, and BNH9 antibody to H-and Y-antigens--evaluation of their specificity and sensitivity in the diagnosis of vascular tumors and comparison with von Willebrand factor. Mod Pathol 1994; 7(1): 82-90.
34. Kuzu I, Bikncell R, Harris AL, Jones M, Gatter KC, Mason DY. Heterogeneity of vascular endothelial cells with relevance to diagnosis of vascular tumours. J Clin Pathol 1992; 45(2): 143-8.
35. Lindenmayer AE, Miettinen M. Immunophenotypic features of uterine stromal cells. CD34 expression in endocervical stroma. Virchows Arch 1995; 426(5): 457-60.
36. Brewer CA, Setterdahl JJ, Li MJ, Johnston JM, Mann JL, McAsey ME. Endoglin expression as a measure of microvessel density in cervical cancer. Obstet Gynecol 2000; 96(2): 224-8.
37. Wang JM, Kumar S, Pye D, Haboubi N, al-Nakib L. Breast carcinoma: comparative study of tumor vasculature using two endothelial cell markers. J Natl Cancer Inst 1994; 86(5): 386-8.
38. Bodey B, Bodey B Jr, Siegel SE, Kaiser HE. Over-expression of endoglin (CD105): a marker of breast carcinoma-induced neo-vascularization. Anticancer Res 1997; 18(5A): 3621-8.
39. Martone T, Rosso P, Albera R, Migliaretti G, Fraire F, Pignataro L, et al. Prognostic relevance of CD105+ microvessel density in HNSCC patient outcome. Oral Oncol 2005; 41(2): 147-55.
40. Das RK, Pal M, Barui A, Paul RR, Chakraborty C, Ray AK, et al. Assessment of malignant potential of oral submucous fibrosis through evaluation of p63, E-cadherin and CD105 expression. J Clin Pathol 2010; 63(10): 894-9.

Comparative evaluation of CD105 protein expression in normal and dysplastic oral mucosa by immunohistochemical staining

Nakisa Torabinia[1]
Neda Kargahi[2]
Hasan Kamani[3]

1. Dental Student, Dental Students Research Center, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
3. **Corresponding Author:** Assistant Professor, Dental Implants Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Radiology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. **Email:** kargahi@dnt.mui.ac.ir

Abstract

Introduction: There is limited research available on neo-angiogenesis in dysplastic lesions. Since CD105 is expressed as a marker for neo-angiogenesis, this study was undertaken to compare CD105 expression between normal and dysplastic oral mucosa.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, 20 paraffin blocks were selected from dysplastic oral lesions of patients, based on histopathological criteria, during past 10 years in the Department of Oral and Maxillofacial Pathology of School of Dentistry, using simple sampling techniques. In addition, 20 samples were taken from the normal mucosa of patients referring for implant surgery or wisdom tooth surgery after informed consent. The samples were stained immunohisto-chemically for CD105 marker and evaluated by two pathologists simultaneously under a light microscope at ×400. The mean of stained areas was calculated as mean vessel density in each sample. Data were analyzed with Mann-Whitney test (α=0.05).

Results: Means of CD105 marker expression in the dysplastic and normal groups were 7.58±6.19 and 0±0, respectively, with significant differences between the two groups (p value < 0.001).

Conclusion: Considering the absence of CD105 marker in normal mucosa and significant expression of it in the dysplastic group, it can be concluded that dysplasia is accompanied by neo-angiogenesis and CD105 marker can be a good marker for detecting dysplastic changes.

Key words: Dysplastic lesions, Malignancy, Oral mucosa.

Received: 26.8.2015 **Revised**: 23.12.2015 **Accepted:** 13.1.2016

How to cite: Torabinia N, Kargahi N, Kamani H. Comparative evaluation of CD105 protein expression in normal and dysplastic oral mucosa by immunohistochemical staining. J Isfahan Dent Sch 2016; 12(1): 19-26.