مقاله اصیل پژوهشی

مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان
۱۳۹۵؛ ۱۲(۳): ۲۶۰ تا ۲۶۷

بررسی مقایسه‌ای حضور پروتئین *CD105* در ضایعات دهانی سرطانی و دارای دیسپلازی به روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی

نکیسا ترابی‌نیا [۱]
ندا کارگهی [۲]
مسعود نظری [۳]

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

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت آنژیوژنز و تشکیل عروق خونی جدید و ارتباط آن با پیشرفت ضایعات و نیز با توجه به حساسیت بروز پروتئین *CD105* در مشخص کردن عروق خونی تازه، این مطالعه با هدف تعیین حضور نشانگر *CD105* در ضایعات دیسپلاستیک و بدخیم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- تحلیلی و مقطعی، تعداد ۲۰ بلوک پارافینی دارای تشخیص دیسپلازی و ۲۰ بلوک پارافینی دارای تشخیص کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان که طی ۱۰ سال اخیر به بخش آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی مراجعه کرده بودند و تشخیص دقیق دیسپلازی و یا کارسینوم بر اساس معیارهای هیستولوژی داده شده، با روش نمونه‌گیری آسان انتخاب گردیدند. نمونه‌ها جهت تأیید تشخیص وجود نشانگر *CD105* در بافت‌های مورد نظر به صورت ایمونوهیستوشیمیایی رنگ‌آمیزی و توسط دو پاتولوژیست هم‌زمان با میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی X۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. میانگین تعداد نواحی رنگ گرفته به عنوان میانگین دانسیته عروق دارای نشانگر *CD105* در هر نمونه تعیین گردید. پس از آن داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ شده و اطلاعات به دست آمده با بکارگیری آزمون Mann-Whitney با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین بروز نشانگر *CD105* در گروه ضایعات دیسپلاستیک ۶/۱۹ ± ۷/۵۸ و در گروه ضایعات سرطانی ۸/۶۳ ± ۱۹/۳۵ بود. آزمون Mann-Whitney اختلاف معنی‌داری میان بروز نشانگر *CD105* در دو گروه نشان داد (p value < ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت بروز نشانگر *CD105* در عروق خونی جدید و افزایش معنی‌دار این نشانگر در ضایعات بدخیم، می‌توان نتیجه گرفت که پیشرفت ضایعه دیسپلاستیک به سمت بدخیمی همراه با تشکیل عروق خونی جدید می‌باشد و می‌توان از این نشانگر در بررسی سیر ضایعات دیسپلاستیک و یا به عنوان هدف درمانی در ضایعات بدخیم کمک گرفت.

کلید واژه‌ها: رنگ‌آمیزی، دیسپلاستیک، کارسینوم سلول سنگ‌فرشی

تاریخ ارسال: ۹۵/۱/۲۱ تاریخ اصلاح: ۹۵/۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۶

استناد به مقاله: ترابی‌نیا ن، کارگهی ن، نظری م: بررسی مقایسه‌ای حضور پروتئین *CD105* در ضایعات دهانی سرطانی و دارای دیسپلازی به روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان، ۱۳۹۵، ۱۲(۳)، ۲۶۰-۲۶۷.

مقدمه

کارسینومای سلول سنگ‌فرشی دهانی SCC (Squamous cell carcinoma) یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌های انسان و یکی از ۱۰ تومور بدخیم شایع است. همچنین، این تومور حدود ۹۴ درصد از کل بدخیمی‌های دهانی را شامل می‌شود. این تومور چند عاملی بوده و هیچ عامل یا فاکتور مسبب منفردی در اتیولوژی آن مورد قبول قرار نگرفته است. SCC دهانی OSCC (Oral squamous cell carcinoma) رفتارهای بیولوژیک متفاوتی نشان داده و با درجات متفاوتی از تهاجم همراه است (۱).

کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان به همراهی یا پس از یک ضایعه‌ی پیش سرطانی ایجاد می‌شود، که در صورت عدم تشخیص و درمان به موقع می‌تواند به سرطان تبدیل گردد (۲). بر اساس تعریف سازمان بهداشت جهانی WHO (World Health Organization)، ضایعه‌ی پیش سرطانی یا پیش بدخیم بافتی است که از لحاظ مورفولوژیکی تغییر خوش‌خیم پیدا کرده و احتمال تغییر بدخیم آن بیشتر از حد طبیعی است. این تغییرات شامل انواعی از تغییرات سیتولوژیک و ساختاری هستند. افزایش شیوع ایجاد تغییرات، رابطه‌ی نزدیکی با درجه‌ی دیسپلازی دارد (۲، ۳). دیسپلازی از نظر لغوی به معنای رشد بیمارگونه می‌باشد (۴) و تغییرات سیتوپاتولوژیک سلول‌های اپی‌تلیال دیسپلاستیک شبیه به تغییرات سلول‌های اپی‌تلیال کارسینومای سلول سنگ‌فرشی می‌باشند (۴، ۵).

در واقع دیسپلازی اپی‌تلیوم زمانی که به ورای غشای پایه، گسترش یابد یا به عبارتی تهاجم به بافت همبند صورت گیرد، کارسینوم سلول سنگ‌فرشی به وجود خواهد آمد. در SCC سلول‌ها اغلب نشانه‌های دیسپلازی و آتیپیسم سلولی شامل پلئومورفیسم سلول و هسته، هایپر کروماتیسم، افزایش نسبت هسته به سیتوپلاسم، هستک بزرگ و واضح، دیسکراتوز، افزایش میتوز و میتوزهای غیر طبیعی را نشان می‌دهند. علاوه بر این موارد، تشکیلات مروارید کراتینی (Keratin pearl) نیز در SCC دیده می‌شود (۵).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که با تغییر مخاط دهان از نرمال به دیسپلاستیک و سرطانی افزایش معنی‌داری در وسکولاریته آن‌ها رخ می‌دهد (۸-۶). همچنین به خوبی مشخص شده است که رشد تومورها و پتانسیل متاستاز آن‌ها به دانسیته‌ی عروقی آن‌ها و آنژیوژنز بستگی دارد (۱۱-۹).

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 (۱۲).

این فرایند بیولوژیک به وسیله‌ی عوامل آنژیوژنیک مانند فاکتور رشد فیبروبلاست FGF (Fibroblast growth factor)، فاکتور رشد عروقی VEGF (Vascular endothelial growth factor)، فاکتور نکروز تومور TNFα (Tumor necrosis factor α) و عوامل مهار کننده آنژیوژنز مانند آنژیوتانسین، فاکتور پلاکتی ۴، PF4 (Platelet factor 4) و ترومبوسپوندین یک TSP-1 (Thrombospondin 1) کنترل می‌شود(۱۳)، که توسط سلول‌های بافت‌های سالم و تومورال تولید می‌گردند (۱۴).

مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های اندوتلیال تومورها تکثیر بسیار سریع‌تری از سلول‌های اندوتلیال بافت‌های نرمال دارند. این سرعت از ۲۰ تا ۲۰۰۰ برابر سلول‌های نرمال تخمین زده شده است (۱۵، ۱۶).

میزان تراکم عروق MVD (Mean vessel density)، ناحیه‌ای است که به عنوان یک عامل پیش‌گویی کننده در برخی بدخیمی‌ها معرفی شده است و با افزایش آن شدت بدخیمی نیز افزایش می‌یابد. برای سنجش میزان عروق تشکیل شده از روش ایمونوهیستوشیمی استفاده می‌گردد.

از نشانگرهای مورد استفاده در این زمینه می‌توان *CD31*، *CD34* و Von Willebrand 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 (۱۷).

CD105 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، ۱۹)، بنابراین نشانگری حساس و قابل اعتماد در تشخیص وسکولاریزیشن جدید در بدخیمی‌ها است که دقت بیشتر آن نسبت به دیگر نشانگرها مانند *CD31* و *CD34* اثبات شده است (۱۷، ۲۰).

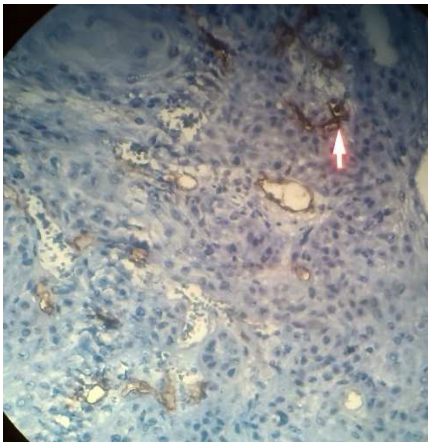
پژوهش‌های جدید ارتباط حضور *CD105* (Endoglin) در عروق خونی با پتانسیل متاستاز در تومورهای بدخیم را نشان داده‌اند، اگرچه هنوز در این زمینه اختلاف نظر وجود دارد (۲۱، ۲۲). نتایج مطالعه‌ی Marioni و همکاران (۲۳) نشان داد که بیان *CD105* در سرطان سلول سنگ‌فرشی ناحیه‌ی سر و گردن می‌تواند به عنوان یک معیار برای تعیین ریسک بدخیمی و تعیین پیش آگهی عمل کند. Randall و همکاران (۲۴) در مطالعه‌ای نشان دادند که افزایش عروق دارای نشانگر *CD105* با کاهش شانس بقا همراه است. Saad و همکاران (۲۰) در پژوهشی نشان دادند که *CD105* نشانگری با حساسیت و ویژگی بالا در تشخیص آنژیوژنز تومورال است و می‌تواند در پیش‌بینی بدخیمی و متاستاز نقش داشته باشد.

با توجه به اهمیت آنژیوژنز و تشکیل عروق خونی جدید و ارتباط آن با پیشرفت ضایعات و نیز با توجه به حساسیت بروز پروتئین *CD105* در مشخص کردن عروق خونی تازه، این مطالعه با هدف تعیین حضور نشانگر *CD105* در ضایعات دیسپلاستیک و بدخیم انجام شد. فرضیه‌ی صفر در مطالعه‌ی حاضر عدم تفاوت میان میزان عروق دارای آنتی‌ژن *CD105* در دو گروه مخاط دیسپلاستیک و سرطانی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی از نوع مقطعی، تعداد ۲۰ بلوک پارافینی از ضایعات دهانی بیماران دارای دیسپلازی و ۲۰ بلوک پارافینی از کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان بیماران که در ۱۰ سال اخیر به بخش آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت دانشکده‌ی دندانپزشکی مراجعه کرده بودند و تشخیص دقیق دیسپلازی و یا SCC بر اساس معیارهای هیستولوژی داده شده، با روش نمونه‌گیری آسان انتخاب گردیدند (d = ۰/۲۸).

سپس نمونه‌ها توسط دو همکار پاتولوژیست مورد بررسی هیستوپاتولوژی گرفت و آن‌هایی که مخدوش بود، التهاب شدیدی داشت و یا به هر دلیلی قابلیت انجام آزمایش ایمونوهیستوشیمی (IHC) را نداشتند، از مطالعه حذف شدند. شکل ۱ نمای هیستوپاتولوژی مخاط دیسپلاستیک و شکل ۲ نمای هیستوپاتولوژی کارسینوم سلول سنگ‌فرشی را نشان می‌دهد.

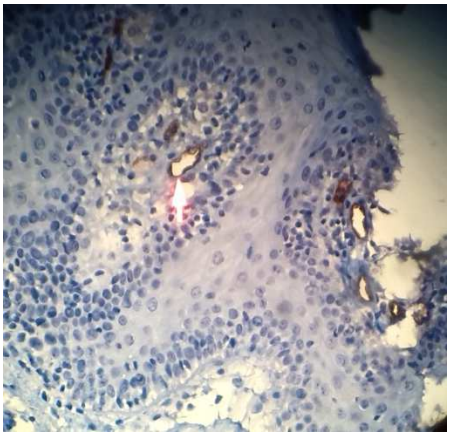


شکل ۱: مناطق رنگ گرفته با نشانگر *CD105* در ضایعات SCC (Squamous cell carcinoma)

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. به منظور تشخیص وجود *CD105* در بافت‌های مورد نظر از تکنیک Envision استفاده گردید.

سپس جهت ارزیابی ایمونوهیستوشیمی *CD105* تمام نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی IHC با استفاده از آنتی‌بادی *CD105* (DAKO, Cambridge, USA, Anti-CD105 antibody [3A9] (ab114052)) توسط دو پاتولوژیست به صورت هم‌زمان و با مشورت یکدیگر با میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) 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 به عنوان MVD دارای نشانگر *CD105* در هر نمونه تعیین گردید (۱۲). لازم به ذکر است که دو پاتولوژیست به صورت هم‌زمان و با توافق با یکدیگر به بررسی نمونه‌ها پرداختند. پس از آن داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (SPSS Inc., version 20, Chicago, IL) شد و اطلاعات به دست آمده با بکارگیری آزمون آماری Mann-Whitney با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.



شکل ۲: سلول‌های اندوتلیال رنگ گرفته با نشانگر *CD105* در مخاط دیسپلاستیک

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۲۰ نمونه‌ی دارای دیسپلازی و ۲۰ نمونه‌ی دارای کارسینوم سلول سنگ‌فرشی صورت گرفت. میانگین بروز *CD105* در مخاط دیسپلاستیک ۶/۱۹ ± ۷/۵۸ و در مخاط سلول سنگ‌فرشی ۸/۶۳ ± ۱۹/۳۵ بود (جدول ۱، شکل ۱ و ۲).

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

گروه	میانگین ± انحراف معیار
نمونه‌های دارای دیسپلازی	۶/۱۹ ± ۷/۵۸
نمونه‌های *SCC	۸/۶۳ ± ۱۹/۳۵
p value (Mann -Whitney)	< ۰/۰۰۱

* SCC: Squamous cell carcinoma

همان‌طور که مشاهده می‌گردد دانسیته عروق که به وسیله‌ی نشانگر *CD105* مشخص شده بود، در گروه نمونه‌های SCC به طرز معنی‌داری از نمونه‌های دارای دیسپلازی بیشتر بود.

بحث

آنژیوژنز تومور و نقش آن در پیشرفت تومور و متاستاز، در مطالعات متعددی، از جمله در SCC ناحیه‌ی سر و گردن مورد بررسی قرار گرفته است (۲۷-۲۵). اختلاف نظر در خصوص ارتباط پروگنوز تومور و MVD همچنان وجود دارد. در یک مطالعه، ارتباط معکوسی میان MVD و پروگنوز نشان داده شد، به نحوی که با افزایش MVD پروگنوز بهبود می‌یابد (۲۸) و برخی مطالعات نیز قادر به کشف ارتباط میان پروگنوز تومور و MVD نبودند (۲۹، ۳۰)، اما اغلب مطالعات 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 فرایند 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 Von Willebrand و *CD105* اشاره کرد. *CD31* به دلیل رنگ‌آمیزی کلیه‌ی 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 Von Willebrand برای عروق اختصاصی نیست و عروق لنفی را نیز رنگ‌آمیزی می‌کند، علاوه بر این نشان داده شده است که این فاکتور برخی از عروق ضایعات توموراال را رنگ‌آمیزی نمی‌کند (۲۲)، بنابراین دقت بالایی ندارد. *CD105* یک نشانگر اختصاصی برای سلول‌های اندوتلیال است که در آنژیوژنز تومور شرکت می‌کند و برای

رگ‌سازی جدید حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به دیگر نشانگرها دارد (۳۸-۳۶).

از این رو با توجه به تفاوت نظر در خصوص ارتباط پروگنوز تومور و MVD و از آنجا که *CD105* یک نشانگر اختصاصی برای رگ‌سازی جدید است، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین MVD در ضایعات دیسپلاستیک و SCC دهانی به وسیله نشانگر *CD105* انجام گرفت.

نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن بود که در ضایعات دارای دیسپلازی میزان عروق دارای آنتی‌ژن *CD105* کمتر از ضایعات بدخیم می‌باشد و در نمونه‌های SCC دهانی عروق خونی دارای آنتی‌ژن *CD105* به طرز معنی‌داری افزایش می‌یابند، بنابراین استفاده از نشانگر *CD105* می‌تواند به عنوان روشی مؤثر جهت تشخیص ضایعات پیش بدخیم از بدخیم و به دنبال آن تعیین پیش آگهی ضایعه استفاده گردد. از این رو فرضیه‌ی صفر در مطالعه‌ی حاضر رد شد و میزان عروق و میانگین دانسیته عروق دارای آنتی‌ژن *CD105* در دو گروه مخاط دیسپلاستیک و سرطانی متفاوت بود.

Stepan و همکاران (۳۹) در مطالعه‌ای به ارزیابی نشانگرهای VEGF و *CD105* در تشخیص SCC سرویکال پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که *CD105* نشانگری اختصاصی جهت تعیین پیش آگهی ضایعات است و بیشترین میزان MVD در SCC، مربوط به بدترین پیش آگهی بود.

Kyzas و همکاران (۴۰) در پژوهشی به بررسی MVD + *CD105* در بیماران دارای SCC ناحیه‌ی سر و گردن پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش میزان MVD + *CD105* با پیشرفت علایم کلینیکی و خطر متاستاز به لنف نود همراه است.

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

Saad و همکاران (۲۰) در مطالعه‌ای نشان دادند که با افزایش شدت دیسپلازی در مخاط مری میزان نشانگر *CD105* نیز افزایش می‌یابد و افزایش میزان عروق دارای نشانگر *CD105* رابطه‌ی معنی‌داری با Stage بیماری و تهاجم لنفی دارد.

Bellone وهمکاران (۴۱) در مطالعه‌ای نشان دادند که نشانگر *CD105* تنها در ضایعات دیسپلاستیک و سرطانی بیان می‌شود و با افزایش شدت دیسپلازی ضایعه میزان MVD +*CD105* نیز افزایش و شانس بقا کاهش می‌یابد.

بنابراین نتایج مطالعه‌ی حاضر با مطالعات Stepan و همکاران (۳۹)، Kyzas و همکاران (۴۰)، Randall و همکاران (۲۴)، Saad و همکاران (۲۰) و Bellone و همکاران (۴۱) همخوانی داشت و در تمامی موارد افزایش عروق دارای *CD105* حاکی از حرکت ضایعه به سمت بدخیمی و پیش آگهی ضعیف‌تر بود. بنابراین می‌توان گفت *CD105* می‌تواند به عنوان نشانگری مؤثر در تعیین پیش آگهی و خطر متاستاز ضایعات عمل کند، به نحوی که افزایش آن می‌تواند نشانگر بدخیم شدن ضایعه و ضعیف شدن پیش آگهی باشد؛ از سوی دیگر میزان عروق دارای نشانگر *CD105* در بدخیمی‌ها از ضایعات دیسپلاستیک بیشتر بود، که به دلیل نئوآنژیوژنز بیشتر در ضایعات سرطانی نسبت به دیسپلازی است و شاید بتوان از تعیین تراکم عروق خونی جدید (MVD) که با کمک بروز نشانگر *CD105* مشخص می‌شود به عنوان پارامتر و معیاری دیگر در افتراق ضایعات دیسپلاستیک از SCC استفاده کرد. از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر می‌توان به حجم نمونه‌ی اندک و عدم تعیین درجه‌ی دیسپلازی اشاره کرد. پیشنهاد می‌گردد مشابه این مطالعه با حجم نمونه‌ی بیشتر برای بدست آوردن یک Cut off point بین ضایعات دیسپلاستیک و SCC انجام گردد؛ همچنین انجام تحقیقات مشابه با درنظرگیری درجه‌ی دیسپلازی پیشنهاد می‌شود. علاوه بر

این، مطالعات بیشتر جهت درک مکانیسم *CD105* و بررسی پتانسیل آن برای درمان آنتی‌آنژیوژنیک پیشنهاد می‌گردد. همچنین، پیشنهاد می‌شود پژوهشی برای بررسی و مقایسه‌ی میزان *CD105* در شدت‌های مختلف دیسپلازی و درجات متفاوت SCC دهانی انجام گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت بروز نشانگر *CD105* در عروق خونی جدید و افزایش معنی‌دار این نشانگر در ضایعات بدخیم، می‌توان نتیجه گرفت که پیشرفت ضایعه‌ی دیسپلاستیک به سمت بدخیمی همراه با تشکیل عروق خونی جدید می‌باشد و می‌توان از این نشانگر در بررسی سیر ضایعات دیسپلاستیک و یا به عنوان هدف درمانی در ضایعات بدخیم کمک گرفت.

* این مقاله حاصل پایان‌نامه شماره ۳۹۳۱۲۳ 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. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. 1st ed. Lyon: IARC Press; 2005. pp. 130-1.
3. Bouquot JE, Speight PM, Farthing PM. Epithelial dysplasia of the oral mucosa– diagnostic problems and prognostic features. Curr Diag Pathol 2006; 12(1): 11-21.
4. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology. 9th ed. Philadelphia: Saunders; 2012. p. 94.
5. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquo JE. Oral and maxillofacial pathology. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2008. pp. 449-57, 544-7.
6. Macluskey M, Chandrachud LM, Pazouki S, Green M, Chisholm DM, Ogden GR, et al. Apoptosis, proliferation, and angiogenesis in oral tissues: possible relevance to tumour progression. J Pathol 2000; 191(4): 368-75.
7. 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.
8. Pazouki S, Chisholm DM, Adi MM, Carmichael G, Farquharson M, Ogden GR, et al. The association between tumour progression and vascularity in the oral mucosa. J Pathol 1997; 183(1): 39-43.
9. Folkman J. Angiogenesis inhibitors generated by tumors. Mol Med 1995, 1(2): 120-2.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Kumar V, Cotran R, Robbins A. Robbins basic pathology. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2000. p. 238.
15. 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.
16. Hobson B, Denekamp J. Endothelial proliferation in tumors and normal tissues: continuous labelling studies. Br J Cancer 1984;49(4): 405-13.
17. 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.
18. Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. FASEB J 2003; 17(9): 984-92.

19. 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.
20. Saad RS, Jasnosz KM, Tung MY, Silverman JF. Endoglin (CD105) expression in endometrial carcinoma. Int J Gynecol Pathol 2003; 22(3): 248-53.
21. Schimming R, Marme D. Endoglin (CD105) expression in squamous cell carcinoma of the oral cavity. Head Neck 2002; 24(2): 151-6.
22. Chien CY, Su CY, Hwang CF, Chuang HC, Hsiao YC, Wu SL, et al. Clinicopathologic significance of CD105 expression in squamous cell carcinoma of the hypopharynx. Head Neck 2006; 28(5): 441-6.
23. Marioni G, D'Alessandro E, Giacomelli L, Staffieri A. CD105 is a marker of tumour vasculature and a potential target for the treatment of head and neck squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2010; 39(5): 361-7.
24. Randall LM, Monk BJ, Darcy KM, Tian C, Burger RA, Liao SY, 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): 1879-82.
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 1999; 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; 32A(14): 2474-84.
28. Lindmark G, Gerdin B, Sundberg C, Pahlman 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? Human 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, Bicknell R, Harris AL, Jones M, Gatter KC, Mason D. 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. 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 tummor 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 1998; 18(5A): 3621-8.
39. 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.
40. Kyzas PA, Agnantis NJ, Stefanou D. Endoglin (CD105) as a prognostic factor in head and neck squamous cell carcinoma. Virchows Arch 2006; 448(6): 768-75.
41. 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.

Comparative evaluation of CD105 protein expression in dysplastic and cancerous oral lesions by immunohistochemical staining

Nakisa Torabinia[1]
Neda Kargahi[2]
Masoud Nazari[3]

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

Abstract

Introduction: Given the importance of angiogenesis and formation of new vessels and their relationship with the progression of malignant lesions and also CD105 sensitivity in determining newly formed vessels, the present study was undertaken to evaluate CD105 protein expression in dysplastic and malignant oral lesions.

Materials & Methods: In this cross-sectional descriptive- analytical study 20 paraffin blocks from dysplastic oral lesions and 20 paraffin blocks from squamous cell carcinoma lesions based on histopathological criteria, from patients referring to the Department of Oral and Maxillofacial Pathology of the School of Dentistry in the last 10 years were selected using simple sampling technique. The samples were stained immunohistochemically for CD105 marker and evaluated by two pathologists simultaneously under a light microscope at ×400 magnification. The mean of stained areas was considered as the mean vessel density with CD105 expression in each sample. Data were analyzed with SPSS 20, using Mann-Whitney test (α=0.05).

Results: The means of CD105 marker expression in dysplastic and squamous cell carcinoma lesions were 7.58±6.19 and 19.35±8.63, respectively. Mann-Whitney test showed significant differences between the two groups in CD105 expression (p value < 0.001).

Conclusion: Given the importance of CD105 marker expression in new vessels and its significant increase in malignant lesions, it can be concluded that the progression of dysplastic lesions toward malignancy is accompanied by neoangiogenesis and this marker can be useful for evaluation of the course of dysplastic lesions or as a therapeutic aim for malignant lesions.

Key words: Dysplastic, Squamous cell carcinoma. Staining.

Received: 9.4.2016 **Revised**: 5.9.2016 **Accepted:** 6.9.2016

How to cite: Torabinia N, Kargahi N, Nazari M. Comparative evaluation of CD105 protein expression in dysplastic and cancerous oral lesions by immunohistochemical staining. J Isfahan Dent Sch 2016; 12(3): 260-267.