

Langerhans Cell Density in the Development of Oral Squamous Cell Carcinoma

Ali Jamshidi¹ 

Laleh Maleki² 

Ali Reza Azizi³ 

Saeedeh Khalesi⁴ 

1. Dentist, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

2. Associate Professor, Dental Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

3. Dentist, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

4. **Corresponding Author:** Associate Professor, Dental Materials Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. **Email:** s_khalesi@dnt.mui.ac.ir

Abstract

Introduction: In this descriptive-analytical and cross-sectional study, 80 tissue samples were examined in four groups of 20, including: 1) benign keratosis, 2) epithelial dysplasia, 3) OSCC (without cervical lymph node involvement), and 4) OSCC (with cervical lymph node involvement). Immunohistochemical staining with the CD1a marker was used to identify LCs. Data were analyzed using ANOVA and Scheffe post hoc tests, and the significance level was considered $P < 0.05$.

Materials & Methods: Results: The density of LCs from benign keratosis (6.75 ± 2.51) was significantly increased in epithelial dysplasia (38.7 ± 7.14) and OSCC without lymph node involvement (43.35 ± 19.21). However, in OSCC with cervical lymph node involvement, the cell density was significantly reduced (8.41 ± 13.15), which was significantly lower than that in dysplasia and OSCC without lymph node involvement ($P < 0.001$).

Results: The density of LCs from benign keratosis (6.75 ± 2.51) was significantly increased in epithelial dysplasia (38.7 ± 7.14) and OSCC without lymph node involvement (43.35 ± 19.21). However, in OSCC with cervical lymph node involvement, the cell density was significantly reduced (8.41 ± 13.15), which was significantly lower than that in dysplasia and OSCC without lymph node involvement ($P < 0.001$).

Conclusion: The density of LCs during oral cancer development follows a biphasic pattern of "increase and then decrease." The sharp decrease of these cells in advanced stages is a hallmark of a successful immune evasion mechanism by the tumor, which appears to be a precursor to lymphatic invasion. Therefore, quantitative assessment of LC density could serve as a valuable prognostic tool for predicting risk in patients with OSCC.

Key words: Squamous Cell Carcinoma; Langerhans Cells; CD1 Antigen.

Received: 25.07.2025

Revised: 25.12.2025

Accepted: 27.01.2026

How to cite: Jamshidi A, Maleki L, Azizi AR, Khalesi S. Langerhans Cell Density in the Development of Oral Squamous Cell Carcinoma. J Isfahan Dent Sch 2026; 21(4): 335-46.

تراکم سلول‌های لانگرهانس در ایجاد کارسینوم سلول سنگفرشی دهان

۱. دندانپزشک، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲. دانشیار، مرکز تحقیقات دندانپزشکی، گروه پاتولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳. دندانپزشک، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۴. نویسنده مسؤول: دانشیار، مرکز تحقیقات مواد دندان، گروه پاتولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
Email: s_khalesi@dnt.mui.ac.ir

علی جمشیدی^۱ IDلاله ملکی^۲ IDعلی‌رضا عزیزی^۳ IDسعیده خالصی^۴ ID

چکیده

مقدمه: کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (Oral squamous cell carcinoma)، ششمین سرطان شایع در جهان است. سلول‌های لانگرهانس (Langerhans cells) LCs به عنوان سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن در اپیتلیوم، خط مقدم دفاع ایمنی را تشکیل می‌دهند. این مطالعه با هدف بررسی مقایسه‌ای فراوانی LCs در مراحل مختلف پیشرفت سرطان دهان انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی و مقطعی، کراتوزیس خوش‌خیم، دیسپلازی اپیتلیالی، OSCC (بدون درگیری غدد لنفاوی گردنی و OSCC (با درگیری غدد لنفاوی گردنی) در هر گروه ۲۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. برای شناسایی LCs از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با مارکر CD1a استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری ANOVA و آزمون تعقیبی شفه (Scheffe) تحلیل شدند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تراکم LCs از کراتوزیس خوش‌خیم ($2/51 \pm 6/75$) به طور قابل توجهی در دیسپلازی اپیتلیالی ($7/14 \pm 3/8$) و OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی ($19/21 \pm 43/35$) افزایش یافت. با این حال، در OSCC با درگیری غدد لنفاوی گردنی، تراکم سلول‌ها به شدت کاهش یافته بود ($8/41 \pm 13/15$) که این کاهش در مقایسه با گروه دیسپلازی و OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی معنی‌دار بود ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: تراکم LCs در طول ایجاد سرطان دهان، الگوی دو فازی «افزایش و سپس کاهش» را دنبال می‌کند. کاهش شدید این سلول‌ها در مراحل پیشرفته، مشخصه بارز مکانیسم فرار ایمنی موفق توسط تومور است. بنابراین، ارزیابی کمی تراکم LCs می‌تواند به عنوان یک ابزار پیش‌آگهی ارزشمند برای پیشگویی خطر در بیماران مبتلا به OSCC عمل کند.

کلید واژه‌ها: کارسینوم سلول سنگفرشی؛ سلول‌های لانگرهانس؛ CD1 Antigen

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۰۷

تاریخ اصلاح: ۱۴۰۴/۱۰/۰۴

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۷/۰۳

استناد به مقاله: جمشیدی علی، ملکی لاله، عزیزی علی‌رضا، خالصی سعیده. تراکم سلول‌های لانگرهانس در ایجاد کارسینوم سلول سنگفرشی دهان. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۴۰۴؛ ۲۱(۴): ۳۳۵-۳۴۶.

مقدمه

سرطان‌های سر و گردن، ششمین سرطان شایع در سراسر جهان هستند که ۱۰-۵ درصد سرطان‌ها را شامل می‌شوند. سرطان حفره دهان ۹۰ درصد به صورت اسکوآموس سل کارسینومای دهانی (Oral squamous cell carcinoma) OSCC است که ۱۵-۱۰ درصد کل سرطان‌های سر و گردن را شامل می‌شود و به خصوص در مناطقی که مصرف بالای تنباکو، الکل و بتل کوئید دارند شیوع بالایی دارد (۱، ۲).

سالانه در سراسر جهان حدوداً ۹۰۰۰۰۰ نفر به سرطان سر و گردن مبتلا می‌شوند و بیش از ۴۰۰۰۰۰ نفر بر اثر آن فوت می‌کنند. بیشترین مکانی که در حفره دهان درگیر این بیماری می‌شود زبان است. این تومور یکی از دلایل مهم مرگ و میر در کشورهای مختلف جهان محسوب می‌شود (۳). با وجود تحقیقات گسترده‌ای که برای مقابله با این ضایعه مهم توسط سازمان بهداشت جهانی انجام شده است، اما تنها یک بهبودی متوسط در میزان بقای بیماران وجود داشته است. از این رو نیاز به پژوهش مستمری در رابطه با جنبه‌های مختلف این تومور بدخیم برای درک بهتر پاتورنز و اساس ایمنولوژیک آن وجود دارد.

پروگنوز OSCC بسته به فاکتورهای مختلف شامل درجه بدخیمی هیستوپاتولوژیک (Grade)، اندازه‌ی تومور، میزان درگیری بافت‌های اطراف، حضور متاستاز در زمان تشخیص و مکان تومور می‌تواند متفاوت باشد (۴). تشخیص هیستوپاتولوژیک دقیق و به موقع نقش مهمی در کنترل سرطان دهان دارد و همچنین Grade هیستوپاتولوژیک از مهم‌ترین فاکتورهای پروگنوستیک این ضایعه می‌باشد (۵). این ضایعه تمایل زیادی برای متاستازهای ناحیه‌ای و دور دست دارد که باعث می‌شود کنترل این بدخیمی بسیار سخت باشد. وضعیت لنف نودهای گردنی مهم‌ترین فاکتور در تعیین پیش‌آگهی در بیماران مبتلا به OSCC می‌باشد و حضور متاستاز در این لنف نودها میزان بقای ۵ ساله را کاهش می‌دهد (۶). بنابراین از مهم‌ترین فاکتور در بقای این بیماران کنترل متاستازهای ناحیه‌ای است (۷).

تقریباً در یک سوم موارد OSCC از ضایعات پیش‌بدخیم دهان که از شایع‌ترین آنها لکوپلاکیای دهان (Oral leukoplakia) OL می‌باشد ایجاد می‌شود. طبق تعریف سازمان جهانی بهداشت، OL به عنوان یک پلاک سفید رنگ تعریف می‌شود که نمی‌توان آن را از نظر بالینی یا میکروسکوپی همانند هر ضایعه دیگری مشخص کرد (۸). استعمال دخانیات در ۷۰ تا ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به لکوپلاکیای دهانی مشاهده شده است و خطر تغییرات بدخیمی بسته به ویژگی‌های بالینی و پاتولوژیک بطور قابل توجهی متفاوت می‌باشد (۹).

دیسپلازی اپیتلیالی دهان (Oral epithelial dysplasia) نوعی ضایعه‌ی پیش‌بدخیم دهانی است که ممکن است به OSCC تبدیل شود. نرخ تبدیل بدخیمی از ۴ تا ۱۱ درصد برای ضایعات با دیسپلازی متوسط و ۳۵-۲۰ درصد برای ضایعات با دیسپلازی شدید متفاوت است. نرخ بالای میزان تغییرات بدخیمی در ضایعات دیسپلاستیک دهانی نشان می‌دهد که ما به یک بیومارکر جهت پیشگویی اینکه کدام ضایعه احتمال بیشتری برای بدخیمی دارد نیاز داریم (۱۰).

سلول‌های لانگرهانس برای اولین بار توسط پل لانگرهانس در سال ۱۸۶۸ به عنوان سلول‌های دندریتی شکل توصیف شد که در اپیتلیوم سنگفرشی اپیدرم قرار داشتند. بعدها، این سلول‌ها در تمام اپیتلیوم سنگفرشی طبقه‌بندی شده پستانداران شناسایی شدند. سلول‌های دندریتیک نقش مهمی در مکانیسم‌های دفاعی موضعی در اپیتلیوم دارند. سلول‌های لانگرهانس، سلول‌هایی با منشأ میلوئیدی هستند که در پاسخ‌های ایمنی نقش دارند. آنها بین کراتینوسیت‌ها قرار می‌گیرند، اما توسط اتصالات سلولی به آنها متصل نمی‌شوند و حاوی گرانول‌های بزرگی به نام گرانول بیربک هستند. این سلول‌ها معمولاً در لایه‌ی بازال و سوپرا بازال اپیتلیوم سنگفرشی مطبق مخاط دهان و اپیدرم پوست قرار دارند. تصور می‌شود که این سلول‌ها به عنوان سلول‌های ارائه دهنده‌ی آنتی‌ژن در طول شروع پاسخ‌های ایمنی عمل می‌کنند (۱۱، ۱۲).

چندین مطالعه افزایش مارکر مرتبط با سلول لانگرهانس (CD1a) را در حین پیشرفت از بافت طبیعی به دیسپلازی خفیف و شدید نشان دادند، در حالیکه سایرین کاهش این جمعیت سلولی را یافتند (۱۷-۱۹).

با توجه به مطالعات محدودی که در این زمینه انجام شده است، هدف اصلی ما در این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای فراوانی سلول‌های لانگرهانس در OSCC با و بدون درگیری لنف نودهای گردنی، کراتوزیس خوش‌خیم و دیسپلازی اپیتلیالی مخاط دهان از طریق مارکر CD1a بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی-تحلیلی و مقطعی که در سال تحصیلی ۱۴۰۳-۱۴۰۴ بر روی نمونه‌های موجود در آرشیو بخش آسیب‌شناسی دهان دانشکده‌ی دندانپزشکی اصفهان و بیمارستان آیت‌الله کاشانی و بر اساس طرح‌های تصویب شده‌ی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با کد اخلاق IR.MUI.DHMT.REC.1403.162 و IR.MUI.DHMT.REC.1403.071 انجام شد. نمونه‌ها شامل: کراتوزیس خوش‌خیم (با تشخیص بالینی لکوپلاکیا)، دیسپلازی اپیتلیالی (شامل درجات متوسط و شدید)، OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی گردنی، OSCC با درگیری غدد لنفاوی گردنی؛ که در هر گروه ۲۰ بلوک پارافینی انتخاب شد. معیار ورود به مطالعه، نمونه‌های تهیه شده به روش بیوپسی اکسیژنال بود. همچنین در موارد OSCC، تنها نمونه‌هایی که تحت عمل جراحی دایسکشن گردن قرار گرفته بودند، انتخاب شدند. نمونه‌های حاصل از بیوپسی اینسیژنال، نمونه‌های فاقد اطلاعات بالینی کافی و بلوک‌های پارافینی با کیفیت نامناسب از مطالعه خارج شدند. اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل سن، جنس و محل ضایعه از پرونده‌ها استخراج گردید. پیش از انجام رنگ‌آمیزی، لام‌های هماتوکسیلین-انوزین (H&E) توسط دو پاتولوژیست دهان به صورت همزمان با میکروسکوپ نوری (Olympus BX41TF, Tokyo, Japan) بازبینی شد. در

سلول‌های دندریتیک، نقش اصلی را در تنظیم پاسخ‌های ایمنونولوژیک ذاتی و تطبیقی، از جمله ایمنی ضد توموری، ایفا می‌کنند (۱۳). با توجه به محل اپیتلیالی آنها، تصور می‌شود سلول‌های لانگرهانس، اولین سلول‌های معرفی‌کننده‌ی آنتی‌ژن هستند که با رویدادهای سرطان‌زای اولیه مواجه شده و در برابر آن واکنش نشان می‌دهند. با این وجود، مطالعات قبلی شواهد متناقضی برای سلول‌های اپیدرمی و دهانی به ترتیب در مورد SCC پوست و دهان ارائه کرده‌اند. بطوریکه در آنها سلول‌های اپیدرمی دارای فعالیت ضد توموری در SCC پوستی گزارش شده است (۱۴). مطالعات دیگر تأثیر مضر این سلول‌ها را در این بیماری نشان دادند (۱۵). نقش لانگرهانس‌های دهانی در OSCC نیز مبهم باقی مانده است (۴).

بیش از نیمی از بیماران مبتلا به OSCC در زمان تشخیص بیماری پیشرفته‌ای دارند و علیرغم رژیم‌های درمانی تهاجمی، بقای طولانی مدت کلی کم است (۵۰ درصد). این امر لزوم تعیین شاخص‌های پیش‌آگهی را نشان می‌دهد که می‌تواند برای انتخاب رویکردهای درمانی بهتر و پیشگیری از عود، متاستاز و مرگ استفاده شوند (۱۶). یک مسأله هنوز حل نشده در مورد تشکیل تومور مربوط به نقشی است که سیستم ایمنی در جلوگیری از تشکیل و پیشرفت نئوپلازی، از جمله کارسینوم سلول سنگفرشی دهان ایفا می‌کند. ایمنی ضد تومور در طول تاریخ به عنوان یک مانع حیاتی برای رشد و گسترش سلول‌های سرطانی دیده می‌شود و این می‌تواند با استفاده از ایمنوتراپی برای دستیابی به پاسخ‌های بالینی ضد تومور تعدیل شود. با این حال، اخیراً مشخص شده است که ایمنی مرتبط با تومور، به ویژه ریزمحیط التهابی، اثر متناقضی در افزایش تومورزایی و پیشرفت دارد (۱۷). در زمینه‌ی ریزمحیط مخاطی، سلول‌های دندریتیک با ارائه آنتی‌ژن به سلول‌های T در مسیر پیچیده سازگاری بافتی اصلی دخیل هستند. فراوان‌ترین نوع سلول دندریتیک در حفره‌ی دهان، سلول‌های لانگرهانس دندریتیک است و شواهد فعلی نقش متضادی را در پیشرفت بدخیمی نشان می‌دهند. به طور خاص،

و سلول‌های رنگ گرفته با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ در ۱۰ فیلد میکروسکوپی به صورت تصادفی شمارش شدند. سلول‌ها به عنوان سلول‌های لانگرهانس با معیارهای زیر مشخص شدند: معیارها: (الف) سلول‌های رنگ گرفته سیتوپلاسمی و غشایی قهوه‌ای رنگ، (ب) حداقل یک زائده دندریتیک باید در سطح سلول وجود داشته باشد (۱۴). نمونه به دست آمده از تیموس به عنوان کنترل مثبت و با یک کنترل منفی که در آن افزودن آنتی‌بادی اولیه حذف شود، استفاده شد.

در نهایت اطلاعات بالینی، هیستوپاتولوژیک و نتایج رنگ‌آمیزی ایمنو‌هیستوشیمی وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۸ (version 28, IBM Corporation, Armonk, NY) شد و سپس توسط تهیه‌ی جداول توزیع فراوانی و آزمون‌های آماری ANOVA و تعقیبی Scheffe مورد تحلیل آماری قرار گرفت. میزان $P < 0/05$ معنادار تلقی شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، مجموعاً ۸۰ نمونه با چهار تشخیص پاتولوژیک شامل کراتوزیس خوش‌خیم، دیسپلازی اپیتلیالی، OSCC بدون درگیری لنف‌نود گردنی و OSCC با درگیری لنف‌نود گردنی مورد بررسی قرار گرفت. طبق جدول ۱، بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری از نظر میانگین سنی مشاهده شد ($P = 0/019$). از سویی دیگر بین گروه‌های مورد مطالعه از نظر جنسیت تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد ($P = 0/712$). زبان شایع‌ترین محل بروز ضایعه در کل نمونه‌ها با شیوع ۶۶/۳ درصد بود و از نظر محل ضایعه بین گروه‌ها بر اساس آزمون دقیق Fisher's exact test تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت ($P = 0/015$).

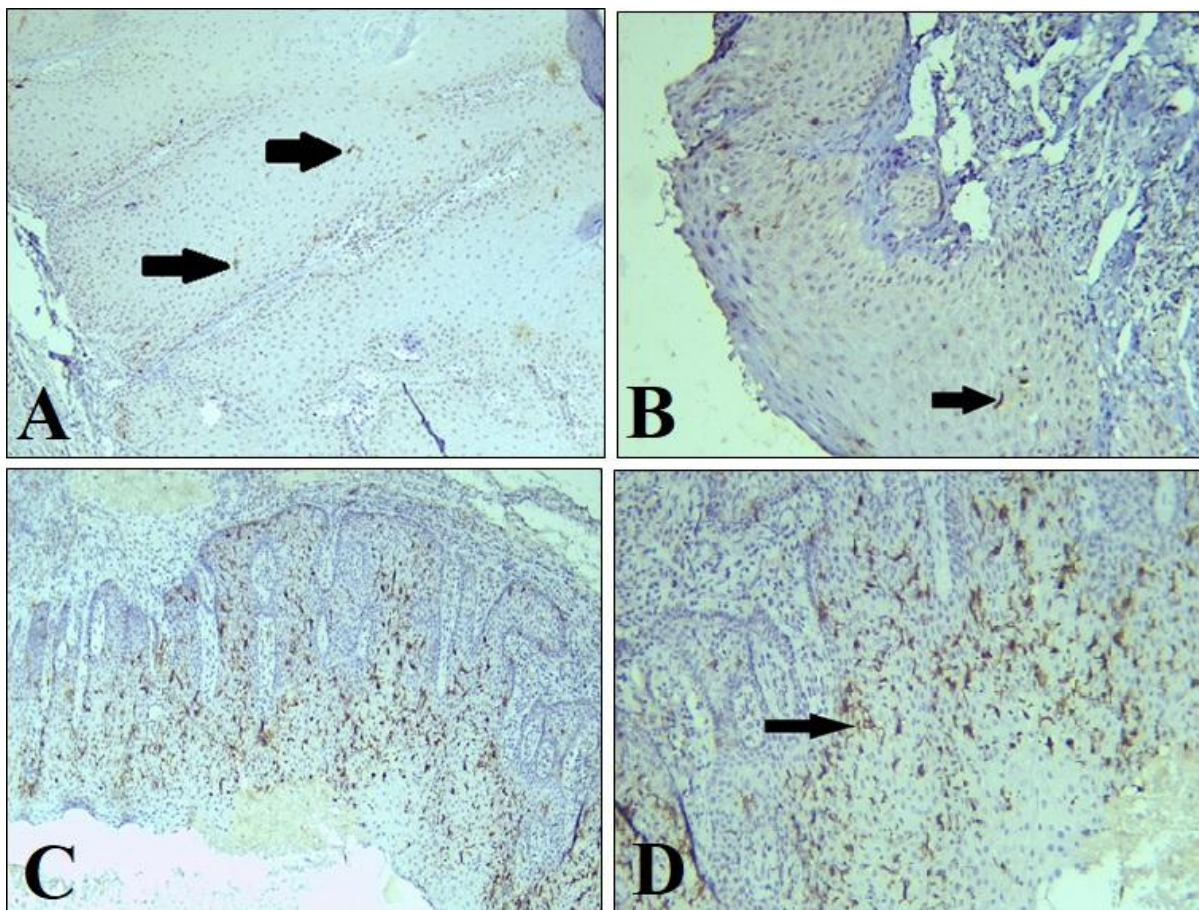
همچنین میانگین تعداد سلول‌های لانگرهانس در چهار گروه مورد بررسی تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($P < 0/001$). از آزمون تعقیبی (Scheffe) برای انجام مقایسه‌های دو به دو استفاده شد. میانگین تعداد LCS در کراتوزیس خوش‌خیم با دیسپلازی اپیتلیالی و با OSCC بدون درگیری لنف‌نود اختلاف آماری معنی‌دار را نشان داد ($P < 0/001$).

نمونه‌های OSCC، مواردی مانند درجه بدخیمی هیستوپاتولوژیک (بر اساس طبقه‌بندی Bryne) (۱۹)، عمق تهاجم، تهاجم لنفووسکولار و تهاجم عصبی تعیین گردید. جهت انجام رنگ‌آمیزی ایمنو‌هیستوشیمی، کیفیت بلوک‌های بافتی بررسی شده و پس از تأیید و انتخاب نمونه‌ها، جهت انجام رنگ‌آمیزی ایمنو‌هیستوشیمی برای نشانگر CD1a (Leica Biosystems Newcastle Ltd., United Kingdom) مراحل زیر را طی کردند. رنگ‌آمیزی ایمنو‌هیستوشیمی روی مقاطع بافتی پارافینه شده با ضخامت ۳-۴ میکرومتر انجام شد. مقاطع بافتی پارافینه و سپس توسط آب مقطر، رهیدرته شد. جهت بلاک فعالیت آنزیمی اندوژن مقاطع بافتی به مدت ۳ دقیقه در هیدروژن پراکسید ۳ درصد قرار گرفته و سپس شسته شد. جهت بازیافت آنتی‌ژن از بافر پیشنهاد شده (DAKO, USA, Carpinteria, = ۶) استفاده شد. نمونه‌ها در محلول قرار گرفته و حرارت داده شدند و پس از رسیدن به دمای جوش، ۱۰ دقیقه در آن دما گذاشته و بلافاصله نمونه‌ها در آب سرد قرار گرفتند. مقاطع بافتی به مدت ۱ الی ۵ دقیقه در (TBS, Tris Buffer Saline) شسته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه پروتئین بلاکینگ شدند. پس از آن نمونه‌ها در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و با مارکر CD1a انکوبه شده و سپس به مدت ۲ الی ۵ دقیقه در TBS شسته شدند. در مرحله‌ی بعدی، نمونه‌ها با آنتی‌بادی ثانویه مناسب (EnVision mouse, System HRP) و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و به مدت ۲ تا ۵ دقیقه در TBS شسته شدند. رنگ‌آمیزی نهایی با کروموزن (DAKO, Diaminobenzidine) انجام گرفته و سپس شست و شو با آب مقطر و در نهایت رنگ‌آمیزی زمینه با همتوکسیلین (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) انجام گرفت.

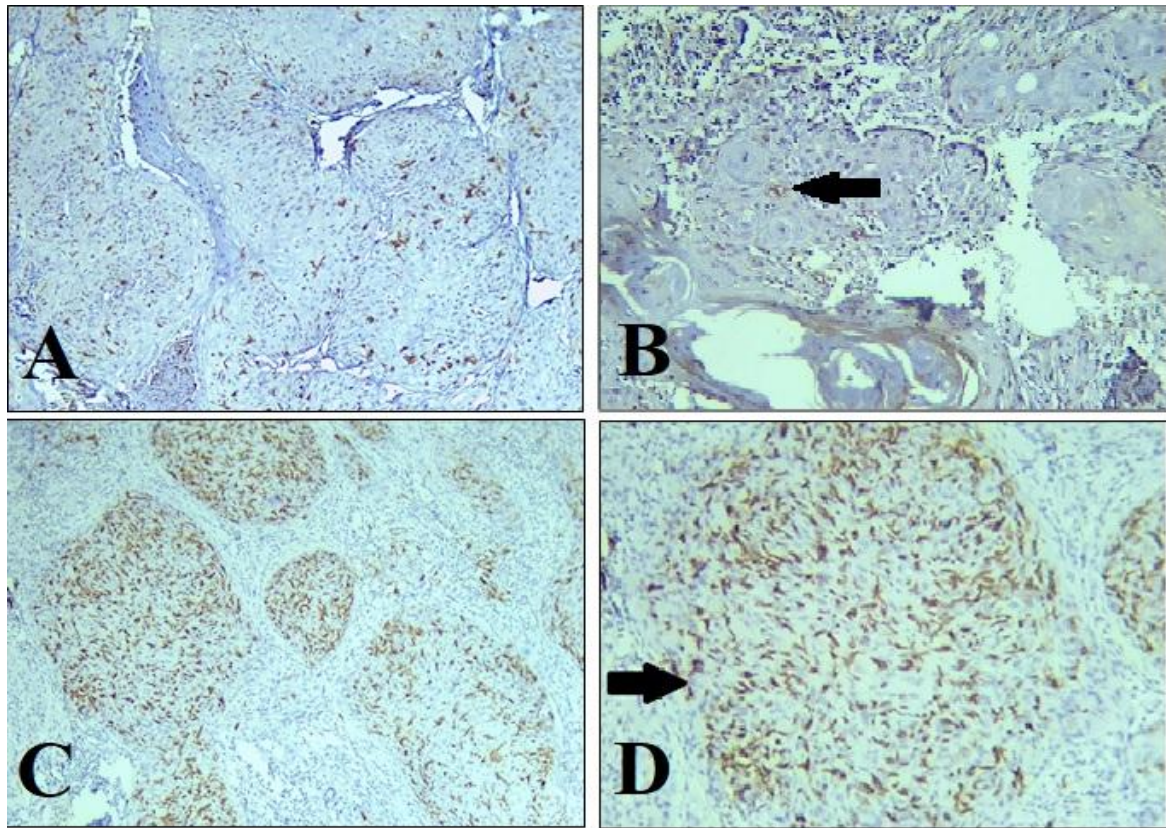
لام‌های تهیه شده با رنگ‌آمیزی ایمنو‌هیستوشیمی توسط دو نفر پاتولوژیست با میکروسکوپ نوری بطور همزمان در حضور دانشجو و Blind بررسی و تعداد سلول‌های رنگ گرفته در اپیتلیوم و استرومای همبندی برای مارکر CD1a تعیین گشته

جدول ۱. توزیع فراوانی نمونه‌های مورد پژوهش بر اساس متغیرهای پژوهش

| P | OSCC با درگیری لنف نود گردنی | OSCC بدون درگیری لنف نود گردنی | دیسپلازی اپیتلیالی | کراتوزیس خوش خیم | کل | |
|---------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|---------------------|---------------|----------------------------|
| ۰/۰۱۹ | ۵۷/۵۵ ± ۱۷/۵۷ | ۶۰/۲ ± ۱۵/۵۴ | ۵۰/۱۵ ± ۱۴/۸۲ | ۴۵/۱ ± ۱۳/۳۸ | ۵۳/۲۵ ± ۱۶/۲۶ | میانگین سنی ± انحراف معیار |
| ۰/۷۱۲ | ۹ (۴۵) | ۱۲ (۶۰) | ۱۲ (۶۰) | ۱۲ (۶۰) | ۴۵ (۵۶/۳) | زن (درصد) |
| | ۱۱ (۵۵) | ۸ (۴۰) | ۸ (۴۰) | ۸ (۴۰) | ۳۵ (۴۴/۷) | مرد (درصد) |
| ۰/۰۱۵ | ۶ (۳۷/۵) | ۵ (۳۱/۳) | ۴ (۲۵) | ۱ (۱۶/۳) | ۱۶ (۱۰۰) | مخاط آلوئولر (درصد) |
| | ۰ (۰) | ۰ (۰) | ۳ (۵۰) | ۳ (۵۰) | ۶ (۱۰۰) | مخاط باکال (درصد) |
| ۰/۰۰۱ | ۰ (۰) | ۰ (۰) | ۴ (۸۰) | ۱ (۲۰) | ۵ (۱۰۰) | سقف دهان (درصد) |
| | ۱۴ (۲۶/۴) | ۱۵ (۲۸/۳) | ۹ (۱۷) | ۱۵ (۲۸/۳) | ۵۳ (۱۰۰) | زبان (درصد) |
| < ۰/۰۰۱ | ۱۳/۱۵ ± ۸/۴۱ | ۴۳/۳۵ ± ۱۹/۲۱ | ۳۸/۷ ± ۱۴/۰۷ | ۶/۷۵ ± ۲/۵۱ | ۲۵/۴۸ ± ۱۱/۰۵ | تراکم LCs |



تصویر ۱. (A) تراکم اندک سلول‌های لانگرهانس در لکوپلاکیا با تشخیص کراتوزیس خوش خیم (رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 100$). (B) تراکم اندک سلول‌های لانگرهانس در لکوپلاکیا با تشخیص کراتوزیس خوش خیم (رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 200$). (C) تراکم شدید سلول‌های لانگرهانس در لکوپلاکیا با تشخیص دیسپلازی (رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 100$). (D) تراکم شدید سلول‌های لانگرهانس در لکوپلاکیا با تشخیص دیسپلازی (رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 200$).



تصویر ۲. (A) تراکم متوسط سلول‌های لانگرهانس در OSCC با درگیری لنف نودهای گردنی (رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 100$), (B) تراکم اندک سلول‌های لانگرهانس در OSCC با درگیری لنف نودهای گردنی (رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 400$), (C) تراکم شدید سلول‌های لانگرهانس در OSCC بدون درگیری لنف نودهای گردنی (رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 100$), (D) تراکم شدید سلول‌های لانگرهانس در OSCC بدون درگیری لنف نودهای گردنی (رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی $\times 400$).

تفاوت معنی دار داشته است و فرضیه‌ی صفر مطالعه رد شد. کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (OSCC)، یک نئوپلاسم بدخیم با پیش‌آگهی نامطلوب است که بخش قابل توجهی از آن به دلیل تشخیص دیر هنگام و پتانسیل بالای متاستاز منطقه‌ای است (۲۰). تعامل پیچیده بین سلول‌های تومور و سیستم ایمنی میزبان نقشی حیاتی در تعیین مسیر پیشرفت بیماری ایفا می‌کند (۲۱). سلول‌های لانگرهانس به عنوان سلول‌های ارائه دهنده‌ی آنتی‌ژن ساکن در اپیتلیوم خط مقدم سیستم ایمنی مخاطی عمل می‌کنند و اولین سلول‌هایی هستند که با رویدادهای کارسینوژنیک اولیه مواجه می‌شوند (۱۱، ۱۸). با این حال، نقش دقیق آنها در سرطان‌زایی دهان همچنان موضوع بحث بوده و مطالعات پیشین نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند (۴).

میانگین تعداد LCS بین کراتوزیس خوش خیم و OSCC با درگیری لنف نود از نظر آماری معنی دار نبود ($P = 0/472$). میانگین تعداد LCS بین دیسپلازی اپیتلیالی و OSCC بدون درگیری لنف نود نیز معنی دار نبود ($P = 0/72$). میانگین تعداد LCS بین دیسپلازی اپیتلیالی و کارسینوم با درگیری لنف نود اختلافی معنی دار را نشان داد ($P < 0/001$). مقایسه‌ی بین گروه کارسینوم با درگیری لنف نود و گروه کارسینوم بدون درگیری لنف نود اختلاف معنی دار را نشان داد ($P < 0/001$) (تصویر ۱ و ۲).

بحث

بر اساس یافته‌ها، تراکم سلول‌های لانگرهانس از کراتوزیس خوش خیم تا OSCC با درگیری لنف نودهای گردنی

بین گروه دیسپلازی اپیتلیالی و گروه OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی است. این «کفه یا پلاتوی» آماری نشان می‌دهد که فراخوانی LCها توسط سیستم ایمنی میزبان در مرحله پیش‌بدخیمی یا تهاجم اولیه به حداکثر خود می‌رسد. این واقعیت که پیشرفت از دیسپلازی شدید به کارسینوم تهاجمی علیرغم این حضور حداکثری سلول‌های ایمنی رخ می‌دهد، یک مفهوم عمیق را آشکار می‌سازد: تومور حتی قبل از کسب توانایی متاستاز، شروع به توسعه مکانیسم‌هایی برای مقاومت یا نادیده گرفتن پاسخ ایمنی کرده است. این مرحله را می‌توان «پلاتوی ناکارآمدی» نامید. در این نقطه، صرف حضور تعداد بالای LCها برای کنترل تومور کافی نیست. این امر نشان می‌دهد که یا عملکرد این سلول‌ها دچار اختلال شده است، یا سلول‌های تومورال مکانیسم‌هایی برای فرار از شناسایی و تخریب توسط سلول‌های T فعال شده توسط LCها پیدا کرده‌اند، یا اینکه ریزمحیط تومور در حال تغییر به سمت یک فوتوپ سرکوب کننده ایمنی است (۲۱). بنابراین، این پلاتو نه نشانه پیروزی سیستم ایمنی، بلکه پیش‌درآمدی برای شکست نهایی آن در مراحل پیشرفته‌تر بیماری است و نقطه‌ای را مشخص می‌کند که در آن تکامل تومور از توانایی دفاعی میزبان پیشی می‌گیرد.

یافته «پلاتوی آماری» تراکم سلول‌های لانگرهانس (LCs)، یعنی عدم تفاوت معنی‌دار در تراکم LCها بین دیسپلازی اپیتلیالی و OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی، مطالعه‌ی حاضر را از برخی از گزارش‌های پیشین متمایز می‌سازد. برخی از تحقیقات منتشر شده، برخلاف نتایج ما، افزایش قابل توجهی در تعداد LCها را در گذار از ضایعات پیش‌بدخیم به کارسینوم تهاجمی گزارش کرده‌اند. برای مثال، مطالعه‌ای توسط Rani و همکاران در سال ۲۰۱۵، افزایش قطعی در سلول‌های دندریتیک را در نمونه‌های OSCC در مقایسه با دیسپلازی اپیتلیالی مشاهده کرد (۲۴). مطالعه‌ی متناقض مذکور از مارکر S100 برای شناسایی LCها استفاده نموده است، در حالیکه پژوهش ما بر مارکر اختصاصی‌تر CD1a تکیه دارد. S100 اختصاصیت کمتری

نتایج مطالعه نشان داد، تراکم سلول‌های لانگرهانس یک الگوی پویا و دو فازی «افزایش و سپس کاهش» را در طول پیشرفت از ضایعات خوش‌خیم به ضایعات پیش‌بدخیم و در نهایت به OSCC متاستاتیک دنبال می‌کند. یافته اصلی این پژوهش آن است که تراکم LCها از کراتوزیس خوش‌خیم به طور قابل توجهی در دیسپلازی اپیتلیالی و OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی افزایش می‌یابد، اما پس از آن در OSCC همراه با متاستاز غدد لنفاوی گردنی به شدت کاهش پیدا می‌کند. این الگوی دینامیک نشان‌دهنده‌ی یک پاسخ ایمنی اولیه اما در نهایت ناکام است و کاهش جمعیت LCها به عنوان یک مکانیسم کلیدی فرار ایمنی عمل می‌کند که پیشرفت متاستاتیک را تسهیل می‌نماید. این رویکرد مرحله‌بندی شده به ما امکان می‌دهد تا تناقضات موجود در مقالات را توضیح دهیم؛ بدین ترتیب که مطالعه‌ی حاضر نشان داد، بسته به مرحله‌ی بیماری، هم افزایش و هم کاهش LCها می‌تواند مشاهده شود و این دو یافته متناقض نیستند، بلکه دو روی یک سکه در نبرد بین میزبان و تومور هستند.

پاسخ ایمنی اولیه: نفوذ سلول‌های لانگرهانس در دیسپلازی و مراحل اولیه OSCC

افزایش معنی‌دار تراکم سلول‌های لانگرهانس که در گذار از کراتوزیس خوش‌خیم به دیسپلازی اپیتلیالی (افزایش تقریباً ۷/۵ برابری) و OSCC بدون متاستاز (افزایش تقریباً ۴/۶ برابری) مشاهده شد، نشان‌دهنده‌ی یک پاسخ نظارت ایمنی فعال و قدرتمند از سوی میزبان در برابر نفوذ پلازی در حال توسعه است. این یافته با نقش تثبیت شده LCها به عنوان APCهای اولیه که آنتی‌ژن‌های مرتبط با تومور را شناسایی کرده و پاسخ ایمنی سلولی با واسطه سلول‌های T سیتوتوکسیک را آغاز می‌کنند، کاملاً مطابقت دارد (۲۲، ۲۳).

در این مرحله، سیستم ایمنی به درستی سلول‌های اپیتلیالی غیرطبیعی را شناسایی کرده و با فراخوانی LCها به محل، تلاش می‌کند تا پاسخ ایمنی تطبیقی را برای حذف این سلول‌ها فعال کند (۴، ۱۱، ۲۴). نکته‌ی بسیار مهم در نتایج این مطالعه، عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در تعداد LCها

دارد و علاوه بر LC‌های اپیدرمی، می‌تواند سلول‌های دندریتیک درم و سایر سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن در استرومای تومور را نیز رنگ‌آمیزی کند.

فرار ایمنی در بیماری پیشرفته: کاهش شدید سلول‌های لانگرهانس در OSCC با درگیری غدد لنفاوی

مهم‌ترین یافته‌ی بالینی این مطالعه، کاهش چشمگیر و عمیق تراکم LC‌ها در گروه OSCC با درگیری غدد لنفاوی است که یک شاخص قوی از یک استراتژی موفق فرار ایمنی توسط تومور است که به نظر می‌رسد پیش‌نیازی برای تهاجم لنفاوی و متاستاز باشد. این یافته، هم با بخشی از مطالعات پیشین همخوانی داشت و هم برخی تناقضات موجود در آنها را به خوبی تفسیر کرد. برای مثال، مشابه با مطالعه‌ی حاضر، Upadhyay و همکاران، تعداد سلول‌های لانگرهانس OSCC را با دیسپلازی دهان مقایسه کردند و تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه نیافتند (۲۵). این یافته مؤید مشاهدات مبنی بر عدم تفاوت قابل توجه پاسخ ایمنی اولیه در دیسپلازی و OSCC بدون درگیری غدد لنفاوی است.

علاوه بر این، Upadhyay و همکاران، کاهش قابل توجه سلول‌های لانگرهانس را در تومورهای با درجه بدخیمی بالاتر گزارش کرده‌اند که این موضوع فرضیه فرار ایمنی در مراحل پیشرفته بیماری را تقویت می‌کند (۲۵). به طور مشابه، مطالعه‌ی Lasisi و همکاران نیز کاهش جمعیت LC‌ها را در OSCC با درجه تمایز ضعیف (Poorly differentiated) در مقایسه با نوع با تمایز خوب (Well differentiated) نشان داده است که با کاهش شدید LC‌ها در گروه با درگیری غدد لنفاوی ما همسو است و در مجموع، OSCC با کاهش قابل توجه LC‌ها در مقایسه با اپیتلیوم نرمال همراه است (۲۳). این یافته در نگاه اول با نتایج ما که افزایش چشمگیر LC‌ها را در گروه OSCC غیرمتاستاتیک نسبت به کراتوزیس خوش خیم نشان می‌دهد، در تضاد است. به نظر می‌رسد علت این تفاوت به طراحی دقیق مطالعه‌ی حاضر و تفکیک گروه OSCC به دو زیرگروه «با درگیری غدد لنفاوی» و «بدون درگیری غدد

لنفاوی» بازمی‌گردد.

در مطالعه‌ی Lasisi و همکاران، تمام نمونه‌های OSCC را به صورت یک گروه کلی تحلیل کرده‌اند و یا صرفاً بر اساس درجه‌ی تمایز هیستولوژیک دسته‌بندی نموده‌اند، بدون توجه به وضعیت بالینی متاستاز (۲۳). مطالعه‌ی حاضر با جداسازی واضح بیماران بر اساس وضعیت درگیری غدد لنفاوی، که شاخص بالینی مهمی برای تهاجمی بودن تومور است، توانست الگوی دو فازی واقعی را آشکار سازد و نشان دهد که افزایش و کاهش LC‌ها، دو مرحله‌ی متوالی از یک فرایند ایمنی واحد هستند، نه یافته‌هایی متناقض.

نکته‌ای که این یافته را عمیق‌تر می‌کند، مقایسه‌ی بین گروه OSCC با درگیری غدد لنفاوی و کراتوزیس خوش خیم است. نتایج ما نشان داد که هیچ تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد LC‌ها بین این دو گروه وجود ندارد. یک ضایعه کراتوزیس خوش خیم از نظر ایمونولوژیک «ساکت» است و پاسخ ایمنی قابل توجهی را برنمی‌انگیزد. در مقابل، یک OSCC با درگیری غدد لنفاوی باید به دلیل بیان نوآنتی‌ژن‌های متعدد، بسیار ایمونوژنیک باشد و انتظار می‌رود که یک نفوذ ایمنی گسترده یا حداقل شواهدی از یک مبارزه ایمنی در آن دیده شود. این واقعیت که تعداد LC‌ها در تهاجمی‌ترین حالت سرطان با حالت خوش خیم و ساکت یکسان است، نشان می‌دهد که تومور پیشرفته صرفاً پاسخ ایمنی را سرکوب نمی‌کند؛ بلکه به طور فعال سیستم ایمنی را به حالت «جهل ایمونولوژیک» بازسازی می‌کند و جمعیت LC‌ها را به سطح پایه‌ای که از یک ضایعه بی‌خطر قابل تشخیص نیست، «بازنشانی» می‌کند. این «بازنشانی» شبه‌خوش خیم» نمایشی قدرتمند از فرایند ویرایش ایمنی (Immunoediting) و فرار تومور است. این یافته فراتر از بیان صرف «کاهش تعداد» است و نشان می‌دهد که تومور با موفقیت اولین گام شناسایی ایمنی را مختل کرده و خود را برای نگهدارنده اپیتلیال عملاً نامرئی ساخته است.

مکانیسم‌های بیولوژیکی بالقوه در کاهش سلول‌های لانگرهانس در OSCC

اگرچه مطالعه‌ی حاضر ماهیتی توصیفی دارد، یافته‌های

سمی باشد. سلول‌های تومور می‌توانند لیگاندهایی مانند PD-L1 یا FasL را بیان کنند که باعث القای آپوپتوز در سلول‌های T فعال و بالقوه در LCها می‌شوند. علاوه بر این، حتی LCهایی که در تومورهای پیشرفته باقی می‌مانند، ممکن است از نظر عملکردی دچار اختلال باشند (۲۶). این سلول‌ها ممکن است ظرفیت ارائه‌ی آنتی‌ژن کمتری داشته باشند یا به سمت یک فنوتیپ تولروژنیک (تحميل‌زا) به جای ایمونوژنیک (ایمنی‌زا) سوق داده شوند که به تحمل تومور کمک می‌کند. این موضوع با این ایده که کاهش عددی LCها احتمالاً کمتر از میزان واقعی از دست رفتن نظارت ایمنی مؤثر است، ارتباط دارد.

• نقش مواجهه با مواد سرطان‌زا

آسیب اولیه ناشی از مواد سرطان‌زا خود می‌تواند سیستم ایمنی را به خطر اندازد. مطالعات نشان داده‌اند که قرار گرفتن مداوم در معرض مواد سرطان‌زا می‌تواند به طور مستقیم تمایز موضعی و خودنوسازی LCها را مختل کند و یک محیط تخلیه‌شده از این سلول‌ها ایجاد نماید که از همان ابتدا برای توسعه‌ی تومور مساعدتر است (۳۰). این عامل می‌تواند یک فاکتور زمینه‌ساز باشد که با پیشرفت بیماری و ترشح سیگنال‌های مشتق از تومور، تشدید می‌شود.

در مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی و تعداد سلول‌های رنگ‌گرفته جهت شناسایی سلول‌های لانگرهانس از مارکر CD1a استفاده شد که با توجه به محدودیت‌های مالی، پیشنهاد می‌شود، مطالعه با حجم نمونه بیشتر در صورت دسترسی به منبع مالی قوی‌تر انجام شود.

نتیجه‌گیری

تراکم LCs در طول ایجاد سرطان دهان، الگوی دو فازی «افزایش و سپس کاهش» را دنبال می‌کند. افزایش اولیه در ضایعات پیش‌بدخیم و مراحل اولیه تهاجم، نشان‌دهنده‌ی یک پاسخ ایمنی فعال میزبان است. کاهش شدید این سلول‌ها در مراحل پیشرفته، مشخصه بارز یک مکانیسم فرار ایمنی موفق توسط تومور است که پیش‌زمینه تهاجم لنفاوی به نظر

آن در پرتو تحقیقات مولکولی موجود، امکان تدوین چندین فرضیه قابل قبول برای توضیح کاهش LCها در OSCC پیشرفته را فراهم می‌کند.

• ترشح سیتوکین‌های سرکوب‌کننده ایمنی توسط تومور

تومورهای پیشرفته و سلول‌های استرومایی مرتبط با آنها، به ویژه ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs)، ترکیبی از سیتوکین‌های سرکوب‌کننده ایمنی را ترشح می‌کنند. عواملی مانند فاکتور رشد تغییردهنده بتا ($TGF-\beta$)، اینترلوکین-۱۰ و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) می‌توانند به طور مستقیم تمایز، بلوغ، مهاجرت و عملکرد LCها را مهار کنند (۲۸-۲۵). به عنوان مثال، نشان داده شده است که سلول‌های ملانوما اینترلوکین-۱۰ و $TGF-\beta$ آزاد می‌کنند که باعث نقص عملکردی در LCها می‌شود (۲۸). TAMها که اغلب به فنوتیپ M2 طرفدار تومور پلاریزه می‌شوند، منابع اصلی این سیتوکین‌ها هستند و به ایجاد یک ریزمحیط سرکوبگر ایمنی که برای بقا و عملکرد LCها نامناسب است، کمک می‌کنند (۲۶، ۲۹).

• اختلال در سیگنالینگ کموکاین‌ها و شکست در فراخوانی

فراخوانی پیش‌سازهای LC از مغز استخوان به اپیتلیوم به گرادیان‌های کموکاینی خاصی وابسته است. تومورها ممکن است با کاهش تولید کموکاین‌های کلیدی، این فرایند را مختل کنند. به عنوان مثال، در سرطان‌های مرتبط با HPV، نشان داده شده است که انکوپروتئین‌های ویروسی می‌توانند رونویسی پروتئین‌های ماکروفاژ-۳ آلفا که یک کموکاین حیاتی برای جذب LCها است، را مهار کنند و منجر به کاهش مهاجرت و نظارت ایمنی شوند (۱۲). اگرچه مطالعه‌ی حاضر به طور خاص بر روی HPV متمرکز نیست، اما یک مکانیسم مشابه اختلال در تولید کموکاین توسط خود سلول‌های تومور، یک عامل محتمل در کاهش جمعیت LCها است.

• القای آپوپتوز یا آنرژي عملکردی در LCها

ریزمحیط تومور می‌تواند مستقیماً برای سلول‌های ایمنی

سپاسگزاران

از کلیه همکاران و پرسنل دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
قدردانی می‌کنیم.

می‌رسد. بنابراین، ارزیابی کمی تراکم LCs می‌تواند به عنوان
یک ابزار پیش‌آگهی ارزشمند برای پیشگویی خطر در
بیماران مبتلا به OSCC عمل کند.

References

1. Dundar Y, Mandle Q, Raza SN, Lin HS, Cramer J, Hotaling JM. Submandibular gland invasion by oral cavity cancers: a systematic review. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2019; 161(2): 227-34.
2. Fitzmaurice C. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 29 cancer groups, 2006 to 2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease study. *J Clin Oncol* 2018; 36(15-Suppl): 1568.
3. Saba Y, Aizenbud I, Matanes D, Koren N, Barel O, Zubeidat K, et al. Early antitumor activity of oral Langerhans cells is compromised by a carcinogen. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022; 119: 1-12.
4. Khalesi S, Maleki L, Eskandari S, Dehabadi FZ, Kohpae AY. Cyclin D1 and Ki-67 expression and its correlation with histopathological parameters and cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Dent Res J (Isfahan)* 2023; 20: 112.
5. Sahoo A, Panda S, Mohanty N, Jena D, Mishra N, Surabhi, et al. Perinerural, lymphovascular and depths of invasion in extrapolating nodal metastasis in oral cancer. *Clin Oral Invest* 2019; 24(2): 747-55.
6. Jalisi S. Management of the clinically negative neck in early squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Otolaryngol Clin North Am* 2005; 38(1): 37-46.
7. Matsubara R, Kawano S, Chikui T, Kiyosue T, Goto Y, Hirano M, et al. Clinical significance of combined assessment of the maximum standardized uptake value of F-18 FDG PET with nodal size in the diagnosis of cervical lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Acad Radiol* 2012; 19(6): 708-17.
8. Silva LC, Fonseca FP, Almeida OP, Mariz BA, Lopes MA, Radhakrishnan R, et al. CD1a+ and CD207+ cells are reduced in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2020; 25(1): e49-e55.
9. Feller L, Lemmer J. Oral leukoplakia as it relates to HPV infection: a review. *Int J Dent* 2012; 2012: 540561.
10. Wang Y-P, Chen IC, Wu Y-H, Wu Y-C, Chen H-M, Yu-Fong Chang J. Langerhans cell counts in oral epithelial dysplasia and their correlation to clinicopathological parameters. *J Formosan Med Assoc* 2017; 116(6): 457-63.
11. Chandavarkar V, Mishra MN, Sangeetha R, Premalatha BR. The current understanding on langerhans' cells and its role in oral lesions. *Contemp Clin Det* 2020; 11(3): 211-6.
12. Jaitley S, Saraswathi T. Pathophysiology of langerhans cells. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;16(2):239-44.
13. Jardim JF, Gondak R, Galvis MM, Pinto CAL, Kowalski LP. A decreased peritumoral $CD1a^{+}$ cell number predicts a worse prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Histopathology* 2018; 72(6): 905-913.
14. Ortner D, Tripp CH, Komenda K, Dubrac S, Zelger B, Hermann M, et al. Langerhans cells and NK cells cooperate in the inhibition of chemical skin carcinogenesis. *Oncoimmunology* 2017; 6(2): e1260215.
15. Modi BG, Neustadter J, Binda E, Lewis J, Filler RB, Roberts SJ, et al. Langerhans Cells Facilitate Epithelial DNA Damage and Squamous Cell Carcinoma. *Science* 2012; 335(6064): 104-8.
16. Usman SP, Ramakrishnan D, Divya S. Peritumoural and intratumoural distribution of langerhan cell in oral squamous cell carcinoma and its association with known prognostic Factors. *J Clin Diag Res* 2023; 17(5): EC12-EC15.
17. Caponio VCA, Zhurakivska K, Lo Muzio L, Troiano G, Cirillo N. The immune cells in the development of oral squamous cell carcinoma. *Cancers (Basel)* 2023; 15(15): 3779.
18. Upadhyay J, Upadhyay RB, Agrawal P, Jaitley S, Shekhar R. Langerhans cells and their role in oral mucosal diseases. *N Am J Med Sci* 2013; 5(9): 505-14.
19. Ghazi N, Saghraivanian N, Saeedi P, Maboudinezhad MM. Assessing the correlation between langerhans cells population and prognosis of tongue squamous cell carcinoma. *Clin Exp Dent Res* 2025; 11(1): e70080.

20. Lau F, Tamanini JB, Gazmenga FP, Mercuri G, Oliveira VCd, Araújo Teixeira DN, et al. Prognostic factors in oropharyngeal squamous cell carcinoma in the state of São Paulo, Brazil: 10-year follow-up. *Braz J Otorhinolaryngol* 2022; 88 Suppl 4(Suppl 4): S124-S132.
21. Peña-Romero AC, Orenes-Piñero E. Dual effect of immune cells within tumour microenvironment: pro- and anti-tumour effects and their triggers. *Cancers (Basel)* 2022; 14(7): 1681.
22. Pogorzelska-Dyrbuś J, Szepietowski JC. Density of langerhans cells in nonmelanoma skin cancers: a systematic review. *Mediators Inflamm* 2020; 2020: 8745863.
23. Lasisi TJ, Oluwasola AO, Lasisi OA, Akang EE. Association between langerhans cells population and histological grade of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Pathol* 2013; 17(3): 329-33.
24. Rani SV, Aravindhya B, Leena S, Balachander N, Malathi LK, Masthan MK. Role of abnormal Langerhans cells in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: A pilot study. *J Nat Sci Biol Med* 2015; 6(Suppl 1): S128-33.
25. Upadhyay J, Rao NN, Upadhyay RB. A comparative analysis of langerhans cell in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma using antibody CD-1a. *J Cancer Res Ther* 2012; 8(4): 591-7.
26. Gerlini G, Susini P, Sestini S, Brandani P, Giannotti V, Borgognoni L. Langerhans cells in sentinel lymph nodes from melanoma patients. *Cancers (Basel)* 2024; 16(10): 1890.
27. Li YL, Zhao H, Ren XB. Relationship of VEGF/VEGFR with immune and cancer cells: staggering or forward? *Cancer Biol Med* 2016; 13(2): 206-14.
28. Takabatake K, Tianyan P, Arashima T, Chang A, Kawai H, Eain HS, et al. Refining the Role of Tumor-Associated Macrophages in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancers* 2025; 17(17): 2770.
29. Petruzzi MN, Cherubini K, Salum FG, de Figueiredo MA. Role of tumour-associated macrophages in oral squamous cells carcinoma progression: an update on current knowledge. *Diagn Pathol* 2017; 12(1): 32.
30. Hovav AH, Wilensky A. The role of the epithelial sentinels. Langerhans cells and $\gamma\delta$ T cells, in oral squamous cell carcinoma. *Periodontol 2000* 2024; 96(1): 221-8.