

Relation between E-cadherin expressions in papillary thyroid carcinoma with some prognostic factors

Jalali Nadoushan MR.* MD, Davati A.¹ MD, Hassanpour M.² MD

*Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

¹Department of Social Medicine and Health, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

²School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Thyroid cancer is the most common endocrine malignancy; and papillary carcinoma is the most common thyroid cancer. There are different biologic markers which are used for prognosis determination one of which is a cell binding molecule, E-cadherin. . The purpose of this study was to determine the frequency of E-cadherin expression in papillary thyroid cancer and its relation with gender, tumor size, and lymph nodes involvement.

Methods: This study was performed on 73 tissue samples from patients with papillary thyroid cancer who referred to Mostafa Khomeini Hospital in Tehran, Iran (2005- 2008). The method of staining for determination of E-cadherin expression was immunohistochemistry. We evaluated the size of tumor, lymph nodes involvement, and their relation with E-cadherin expression.

Results: The mean age was 41.85 ± 16.65 years. 67% of samples were positive for E-cadherin and 21.9% had lymph nodes involvement. The mean size of patients' tumor was 3.86 ± 2.38 cm. There was not any significant relationship between E-cadherin expression and tumor size and gender but there was a significant and reverse relationship between E-cadherin expression and lymph nodes involvement ($P < 0.05$).

Conclusion: Concerning of the role of the E-cadherin in patient prognosis, it seems that as proportion of E-cadherin decreases in tumor cells, the probability of lymph nodes involvement increases. More studies in this area with patients' follow-up are recommended.

Keywords: Prognosis, Cadherinz, Papillary Carcinoma Thyroid

*Corresponding Author: All requests Should be sent to jalalinadooshan@yahoo.com

Received: 24 Feb 2013 Accepted: 26 Dec 2013

بررسی ارتباط بین بیان پروتئین ای- کادهرين در کارسینوم پاپیلری تیروئید با برخی عوامل مؤثر بر پیش آگهی آن

محمد رضا جلالی ندوشن*

گروه علوم تشریحی و پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
علی دواتی **MD**

گروه بهداشت و پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد،
تهران، ایران

مهری حسن پور MD

دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

چکیده

اهداف: سرطان تیروئید شایع ترین بد خیمی اندوکرین و کارسینوم پاپیلری
شایع ترین سرطان تیروئید است. مارکرهای بیولوژیک مختلفی از جمله
E-کادهرين که یک پروتئین اتصال سلولی است در تعیین پیش
آگهی بیماران مورد استفاده می باشد. هدف از انجام این مطالعه
تعیین فراوانی بیان ای-کادهرين در سرطان تیروئید و ارتباط آن با
برخی عوامل مؤثر بر پیش آگهی بود.

روش ها: این بررسی بر روی ۷۳ نمونه بیماران مبتلا به سرطان پاپیلری تیروئید (۱۳۸۴-۱۳۸۷) مراجعه کننده به بیمارستان شهید مصطفی خمینی تهران انجام گرفت. از روش رنگ پذیری ایمونوهیستوشیمی برای بررسی بیان ای-کادهرين استفاده شد. اندازه تومور، درگیری غدد لنفاوی و رنگ پذیری با ای-کادهرين تعیین شد.

یافته ها: میانگین سنی بیماران $41/85 \pm 16/65$ سال بود. ۶۷٪ نمونه ها از نظر ای-کادهرين مثبت بودند و ۲۱٪ از بیماران درگیری غدد لنفاوی داشتند. میانگین اندازه تومور، $3/86 \pm 2/38$ سانتی متر بود. بین بیان ای-کادهرين و جنس و اندازه تومور ارتباط معناداری به دست نیامده اما بین بیان ای-کادهرين و درگیری غدد لنفاوی، ارتباط معنادار معکوس وجود داشت ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: در مورد نقش ای-کادهرين در پیش آگهی بیماری، به نظر می رسد که هرچه میزان بیان ای-کادهرين در تومور کمتر شود، درگیری غدد لنفاوی افزایش می یابد و در این زمینه پی گیری بیماران توصیه می شود.

کلید واژه ها: پیش آگهی، کادهرين ها، کارسینوم پاپیلری تیروئید

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۵

*نویسنده مسئول: Jalalinadooshan@yahoo.com

مقدمه

سرطان تمایز یافته تیروئید ۱-۲٪ بد خیمی های انسان را شامل می شود و بروز سالانه آن برای زن ها $2-3/8$ و در مردها $1/2-2/6$ در هر 100000 تخمین زده می شود که شیوع آن در دهه های اخیر افزایش یافته است [۱]. شایع ترین فرم سرطان تیروئید کارسینوم پاپیلری است که در مقایسه با نوع دیگر تمایز یافته یعنی کارسینوم فولیکولر شیوع آن در سال های اخیر به طور معناداری

افزایش یافته است [۲]. پیش آگهی بیماران بستگی به اندازه تومور، جنس، سن بیمار در زمان تشخیص، وجود متاستاز در عقده لنفاوی، تهاجم به کپسول و گسترش به سایر نسوج دارد [۳]. خانواده های متعددی از مولکول های چسبندگی شامل کادهرين ها، ایتگرین ها، مولکول های چسبندگی مرتبط با خانواده ایمونو گلوبولین ها و سلکتین شناخته شده اند که در فرآیند متاستاز می توانند مؤثر باشند. براساس یک فرضیه فقدان یا کاهش بیان این مولکول ها موجب افزایش متاستاز می گردد. از این رو می توان از این مولکول ها به عنوان مارکر متاستاز و در نتیجه پیش آگهی بد استفاده کرد [۷،۶].

از جمله مولکول های چسبندگی سلولی، کادهرين ها هستند. ای-کادهرين از پروتئین های متعلق به خانواده مولکول های اتصال سلولی وابسته به کلسیم هست که در تمایز و ساختمان بافتی نقش دارد [۴،۵]. کمبود ای-کادهرين در پیشرفت تومور بسیار مؤثر است و کمبود آن شاید با تهاجم بسیاری از تومورهای انسانی مرتبط باشد. سلول های بدن در نقاط مختلف بدن رنگ پذیری و بروز یکنواخت ای-کادهرين را به شکل رنگ پذیری غشاء سلولی نشان می دهند. عملکرد ای-کادهرين وابسته به مولکول کاتینین است که $3/4$ جزء آلفا، بتا و لامیدا دارد [۴،۵].

زن ای-کادهرين روی کروموزوم ۱۶ قرار دارد و وزن آن 120 کیلو دالتون است [۶]. کمپلکس زیر غشایی کادهرين ها به همراه سایر پروتئین ها در شکل گیری اسکلت سلول نقش دارند. نه تنها ای-کادهرين حرکت سلولی را محدود می کند، بلکه رونویسی فاکتور بتا کاتینین که فاکتور مهمی در تکثیر است را نیز مهار می کند [۸].

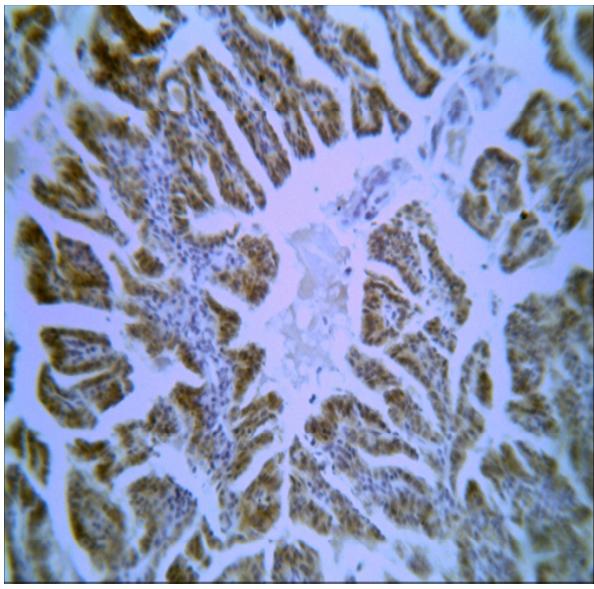
ای-کادهرين نقش محوری در ساخت اپی تیلیوم اولیه در طی نمو ایفا می کند و کاهش تنظیم آن با متاستاز کارسینوم ها مرتبط می باشد [۱۰،۹]. اکثر مطالعات انجام شده از جمله مطالعه ای که توسط لیا ولوکوجی انجام شده بیانگر ارتباط معکوسی بین بیان ای-کادهرين و متاستاز به غدد لنفاوی گردنی است [۱۲،۱۱]، ولی مطالعه دیگری که توسط اسلاموینسکا انجام شده است بیانگر عدم امکان پیش بینی متاستاز با بیان ای-کادهرين در سلول های تومورال می باشد [۱۳].

از این رو در این مطالعه ارتباط میان بیان ای-کادهرين و فاکتورهای اندازه تومور و متاستاز به غده لنفاوی عنوان فاکتورهای مهم در پیش آگهی، مورد ارزیابی قرار گرفت.

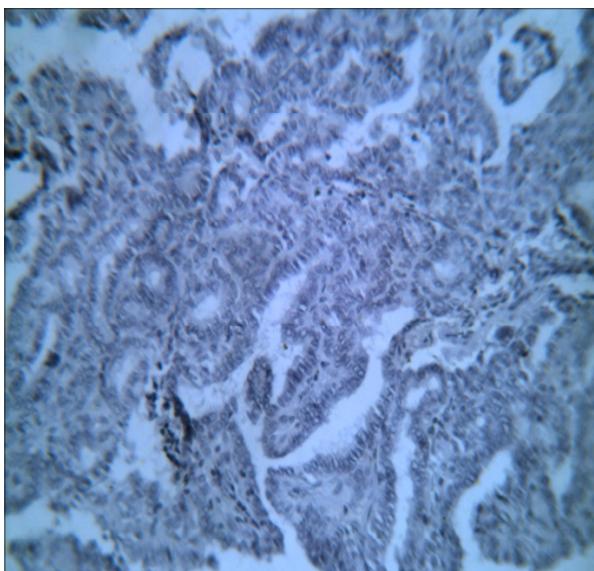
روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی و مقطعی بر روی ۷۳ نمونه بیمار که شامل کلیه بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید مصطفی خمینی تهران از سال ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۴ که با تشخیص نهایی سرطان پاپیلری تیروئید بستری

مثبت از نظر-کاده‌رین تعیین گردید (شکل ۱ الف). لازم به ذکر است شمارش سلولها بدون اطلاع از سایر فاکتوره شامل جنس، اندازه تumor و متاستاز به عقده لنفاوی انجام گردید.



شکل ۱ (الف) بیان مثبت ای-کاده‌رین در سلول‌های تومورال در تumor با نمای پاپیلاری



شکل ۱ (ب) عدم بیان مارکر مورد بررسی در سلول‌های تومورال

بعد از جمع آوری اطلاعات با نرم افزار آماری SPSS و آزمون‌های کای دو و من ویتنی و سایر آزمون‌های مربوطه، تجزیه و تحلیل صورت گرفت. در تمام بررسی‌ها، $p < 0.05$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

نتایج

این مطالعه بر روی ۷۳ نمونه سرطان پاپیلری تیروئید صورت گرفت. میانگین سنی افراد مورد مطالعه $41/85 \pm 16/65$ سال

گردیده بودند انجام گردید. اطلاعات دموگرافیک مربوط به سن و جنس از پرونده بیماران استخراج شد. سپس نمونه‌های حاصل از جراحی تیروئیدکتومی و برداشت عقده‌های لنفاوی گردند، برش داده شد و مشخصات ماکروسکوپی به ویژه اندازه تumor (قطر حداقل) تعیین گردید. سپس برش‌هایی با خاصیت ۲ میلی متر از مناطق مختلف tumor و تمام عقده‌های لنفاوی گردند تهیه شده و پردازش بافتی به روش اتوماتیک با دستگاه پردازش بافت صورت گرفته است (Leica, Germany). پس از پردازش بافت از نمونه‌ها بلوک پارافینی تهیه شد از بلوک‌های پارافینی برش‌های سه میکرونی تهیه شد و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اوزین تشخیص نوع tumor و میزان متاستاز به عقده لنفاوی داده شد.

علاوه بر این یک برش با خاصیت ۳ میکرون طی مرحله زیر جهت بررسی ای-کاده‌رین به وسیله روش ایمنوهیستوشیمی رنگ آمیزی گردید. ابتدا به مدت یک ساعت lysis در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از ذوب پارافین، lysis در سه ظرف گزیلول، هر کدام به مدت ده دقیقه و پس از آن در سه ظرف الكل به غلظت‌های ۱۰۰، ۹۶ و ۷۰٪ در هر ظرف به مدت پنج دقیقه گذاشته شدند. سپس روی lysis پراکسید هیدروژن سه درصد به مدت ده دقیقه ریخته و با آب شستشو داده شدند. در مرحله بعد روی lysis با فرسترات pH: ۶ ریخته و در اتوکلاو ۱۲۶ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ اتمسفر به مدت یک دقیقه قرار داده شد. پس از شستشو لysis با بافر TBS با pH: ۷/۲-۷/۶ یک قطره محلول بلوک پراکسیداز روی lysis ریخته و بعد از گذشت پنج دقیقه، دو بار lysis با بافر TBS و هر بار به مدت پنج دقیقه، شستشو داده شدند. بعد از این زمان، سطح lysis را با محلول بلوک کننده پروتئین به مدت پنج دقیقه پوشانده شد و بعد از این مدت مجدداً دو بار و هر بار سطح lysis را به مدت پنج دقیقه با بافر TBS شستشو داده شدند. سپس، lysis در رنگ هماتوکسیلین به مدت یک دقیقه قرار داده شدند و نهایتاً مرحله آب‌گیری بافت‌ها با الكل به غلظت ۹۶ و ۱۰۰٪ انجام گردید. سپس lysis را در دو ظرف گزیلول قرار داده و شفاف کردن lysis صورت گرفت. سپس نمونه‌ها از نظر مثبت بودن ای-کاده‌رین با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. به وسیله میکروسکوپ نوری، در پرسلولترين کانون بدون نکروز و خونریزی ۱۰۰ سلول تومورال شمارش گردیده و درصد سلول‌های تومورال

بیمار سرطان پاپیلری تیروئید و ۱۱ بیمار گواتر ارزیابی شدند. روش رنگ آمیزی ایمونوھیستوشیمیابی بود. این مطالعه نشان داد که میزان بروز ای-کادھرین در سرطان پاپیلری اولیه ۹۱٪ و در سرطان پاپیلری متاستاتیک ۰.۵٪ بوده که این مسئله نشان می دهد که متاستاز با کاهش بیان ای-کادھرین ارتباط دارد که یافته های حاصل از مطالعه ما نیز چنین بوده است [۱۴].

در مطالعه دیگری که توسط لاکو جی و همکارانش انجام شد ۸۴ بیمار مبتلا به سرطان پاپیلری تیروئید مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج این مطالعه نیز نشان می دهد که عدم بیان ای-کادھرین در تومورهای با درجه تمایز کمتر دیده شد و بین کاهش بیان یا عدم بیان ای-کادھرین و گسترش لنفاوی تومور و متاستاز دور دست ارتباط معناداری وجود داشت که این مسئله نتایج حاصل از مطالعه ما را تأیید می کند [۱۲].

مطالعه دیگری تحت عنوان ارزش پیش آگهی ای-کادھرین انجام شده است. در این مطالعه ۱۳ بیمار که به دلیل سرطان پاپیلری تیروئید جراحی شدند در گیری غدد لنفاوی و متاستاز با کاهش بیان یا عدم بیان ای-کادھرین ارتباط معنی داری داشت که این مسئله نتایج حاصل از مطالعه ما را تأیید می کند [۱۵].

مطالعه دیگری نیز توسط شوآمام جی انجام شد نتایج نشان داد که بیان ای-کادھرین در بافت نرم الی تیروئید بالا اما در سرطان های تمایز یافته کم و در سرطان های غیر تمایز یافته وجود نداشت [۱۶].

در مطالعه دیگری که توسط اسلاوینسکا انجام شده است تعداد ۲۲ نمونه از انواع تومورهای تیروئید مورد بررسی قرار گرفته اند. نتیجه مطالعه این بوده است که استفاده از ای-کادھرین برای پیش بینی احتمال متاستاز کمک کننده نیست که این نتیجه گیری با مطالعه ما همخوانی ندارد. از آن جا که تومورهای مختلف تیروئید مشی بیولوژیک متفاوت با هم دارند و در این مطالعه یک نتیجه گیری کلی شده است این نتیجه نمی تواند نتیجه مطالعه ما را نقض نماید [۱۳].

با توجه به اینکه در تمام مطالعات ذکر شده بین متاستاز به غده لنفاوی و بروز ای-کادھرین ارتباط معنی دار وجود دارد، ولی مزیت مطالعه ما در این است که ارتباط با اندازه تومور را نیز بررسی نموده که بیانگر عدم ارتباط است. به نظر می رسد بیان ای-کادھرین می تواند نقش کلیدی در متاستاز داشته باشد و در صورتی که بیان آن در تومور کاهش نیابد، علی رغم افزایش اندازه تومور احتمال متاستاز افزایش نمی یابد.

از آن جا که ای-کادھرین یک مولکول چسبندگی است، تغییر در بیان آن می تواند همراه با اختلال در چسبندگی سلول ها به یکدیگر و در نتیجه امکان جدا شدن سلول تومورال از توده اصلی و تهاجم آن به عروق لنفاوی و

بود، جوان ترین بیمار ۱۳ سال و مسن ترین آن ها ۸۰ سال داشت. از نظر فراوانی جنسی ۶۵ نفر زن (۸۹٪) و ۸۷ نفر (۱۱٪) مرد بودند.

در بررسی انجام شده در مورد اندازه تومور، میانگین حداکثر قطر تومور افراد مورد مطالعه $3/86 \pm 2/38$ سانتی متر بود کمترین اندازه قطر تومور ۱ سانتی متر و بیشترین قطر ۱۴ سانتی متر بود از نظر در گیری غدد لنفاوی $57 \pm 78/1$ نفر (۷۸٪) بدون متاستاز به غدد لنفاوی بودند و ۱۶ نفر (۲۱٪) متاستاز غدد لنفاوی داشتند.

نتیجه بررسی نشان داده که بیان ای-کادھرین در ۶۷٪ نمونه ها مثبت و در ۳۳٪ ماقبی منفی بود. اندازه تومور در گروه ای-کادھرین مثبت $3/66 \pm 2/3$ و در گروه ای-

کادھرین منفی $4/46 \pm 2/1$ بود.

آزمون من ویتنی نشان داد که ارتباط معنی داری بین بیان ای-کادھرین و اندازه تومور وجود ندارد. همچنین با کمک آزمون کای دو بین بیان ای-کادھرین و جنس بیماران ارتباط معنی داری یافت نشد ولی ارتباط معنی داری بین بیان ای-کادھرین و در گیری غدد لنفاوی وجود داشت ($p < 0.05$). فراوانی بیان ای-کادھرین بر اساس غدد لنفاوی در گیر و جنسیت در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱) فراوانی وجود ای-کادھرین بر اساس غدد لنفاوی در گیر و جنس

ای-کادھرین	منفی	مثبت	غدد لنفاوی
جنسيت	زن	مرد	بدون متاستاز
		۴	۱۲
		۴۵	۱۲
		۴	۴
		۴۵	۲۰

بحث

مطالعه حاضر بر روی ۷۳ نمونه از سرطان پاپیلری تیروئید انجام گردیده است. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که بین جنس و اندازه تومور با بروز ای-کادھرین ارتباط معنی داری وجود ندارد. اما بین بروز آن و در گیری غدد لنفاوی ارتباط معنی داری وجود داشت. بروز ای-کادھرین در ۶۷٪ نمونه ها مثبت و در ۳۳٪ نمونه ها بروز ای-کادھرین منفی بود.

در مطالعه ای که توسط لیا وای انجام گردید ۴۲ بیمار سرطان فولیکولر تیروئید و ۵۴ سرطان پاپیلری تیروئید از لحاظ بیان ای-کادھرین به سیله رنگ آمیزی ایمونوھیستوشیمی ارزیابی شدند. نتایج نشان داد میزان بیان ای-کادھرین در سرطان پاپیلری متاستاتیک نسبت به نوع بدون متاستاز کمتر است که در مطالعه ما نیز چنین ارتباط معنی داری بین بیان ای-کادھرین و متاستاز به غدد لنفاوی یافت شد [۱۱].

در مطالعه دیگری که توسط نیکیل بی انجام شد، ۴۷

- 7- Erdem H, Gundogdu C, Sipal S. Correlation of E-cadherin, VEGF, COX-2 expression to prognostic parameters in papillary thyroid carcinoma. *Exp Mol Pathol.* 2011;90(3):312-7.
- 8- Nathke IS, Hinck L, Swedlow JR, Papkoff J, and Nelson WJ. Defining interactions and distributions of cadherin and catenin complexes in polarized epithelial cells. *J Cell Biol.* 1994; 125(6):1341-52.
- 9- Chen CL, Liu SS, Ip SM, Wong LC, Ng TY, Ngan HY. E-cadherin expression is silenced by DNA methylation in cervical cancer cell lines and tumours. *Eur J Cancer.* 2003; 39(4):517-23.
- 10- Poser I, Dominguez D, de Herreros AG, Varnai A, Buettner R, Bosserhoff AK. Loss of E-cadherin expression in melanoma cells involves up-regulation of the transcriptional repressor Snail. *J Biol Chem.* 2001; 276(27):24661-6.
- 11- Liu Y, Jiang C, Tan Y. [Pathological study on the expression of cell adhesion molecules and metastasis suppressor gene in thyroid follicular carcinoma and papillary carcinoma]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2002; 31(4):322-6.
- 12- Laco J, Ryska A, Cap J, Celakovský P. Expression of galectin-3, cytokeratin 19, neural cell adhesion molecule and E-cadherin in certain variants of papillary thyroid carcinoma. *Cesk Patol.* 2008; 44(4):103-7.
- 13- Slowinska-Klencka D, Sporny S, Stasikowska-Kanicka O, Popowicz B, Klencki M. E-cadherin expression is more associated with histopathological type of thyroid cancer than with the metastatic potential of tumors. *Folia Histochem Cytobiol.* 2012;50(4):519-26.
- 14- Nikiel B, Chekan M, Jaworska M, Jarzab M, Maksymiuk B, Lange D. [Expression of the selected adhesive molecules (cadherin E, CD44, LGAL3 and CA50) in papillary thyroid carcinoma]. *Endokrynol Pol.* 2006;57(4):326-35.
- 15- Walgenbach S, Sternheim E, Bittinger F, Gorges R, Andreas J, Junginger T. [Prognostic value of e-cadherin in papillary thyroid carcinoma]. *Chirurg.* 1998; 69(2):186-90.
- 16- Scheumman GF, Hoang-Vu C, Cetin Y, et al. Clinical significance of E-cadherin as a prognostic marker in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(7):2168-72.

متاستاز به عقده لنفاوی فراهم گردد.

نتیجه گیری

ای-کاده‌رین می‌تواند مارکر مؤثری جهت تعیین پیش‌بینی احتمال متاستاز به عقده های لنفاوی و پیش‌آگهی سرطان پاپیلری تیروئید باشد. به طوری که کاهش بیان ای-کاده‌رین باعث افزایش احتمال متاستاز به عقده لنفاوی می‌گردد. از این رونجام مطالعات آینده نگر پیگیری بیماران از لحاظ عود و متاستاز می‌تواند نتایج بهتری را نشان دهد.

تشکر و قدردانی: این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه شاهد می‌باشد.

منابع:

- 1- Agate L, Lorusso L, Elisei R. New and old knowledge on differentiated thyroid cancer epidemiology and risk factors. *J Endocrinol Invest.* 2012;35(6 Suppl):3-9.
- 2- Ceresini G, Corcione L, Michiara M, Sgargi P, Teresi G, Gilli A, et al. Thyroid cancer incidence by histological type and related variants in a mildly iodine-deficient area of Northern Italy, 1998 to 2009. *Cancer.* 2012 ;118(22):5473-80.
- 3- Geraldo MV, Fuziwara CS, Friguglietti CU, Costa RB, Kulcsar MA, Yamashita AS, et al. MicroRNAs miR-146-5p and let-7f as prognostic tools for aggressive papillary thyroid carcinoma: a case report. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2012;56(8):552-7.
- 4- Christofori G, Semb H. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci.* 1999; 24(2):73-6.
- 5- Rodrigo JP, Dominguez F, Alvarez C, Herrero A, Suarez C. Expression of E-cadherin, CD44s, and CD44v6 in laryngeal and pharyngeal carcinomas. *Am J Otolaryngol.* 2003; 24(6):384-9.
- 6- Liu Z, Kakudo K, Bai Y, Li Y, Ozaki T, Miyauchi A, et al. Loss of cellular polarity/cohesiveness in the invasive front of papillary thyroid carcinoma, a novel predictor for lymph node metastasis; possible morphological indicator of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Pathol.* 2011;64(4):325-9.