

Immunohistochemical Evaluation of Fascin in Oral Squamous Cell Carcinoma

Najmeh Jafari¹,
Seyed Hossein Tabatabaei²,
Narges Esmailpoor³

¹ Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

² Associate Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

³ Dental Surgeon, Yazd, Iran

(Received December 17, 2019 ; Accepted June 8, 2020)

Abstract

Background and purpose: Squamous cell carcinoma (SCC) is the eighth most common cancer in men and the fifteenth in women. Localized recurrence and metastasis to regional lymph nodes are major problems in these patients. Fascin is a 55- kDa protein from the family of actin-binding proteins that is expressed in cells with membranous bronchial tubes. The aim of this study was to evaluate the expression of fascin in oral SCC.

Materials and methods: A descriptive cross-sectional study was performed in 60 patients with OSCC attending Yazd Shahid Sadoughi Hospital, 2017. After preparing four-micrometer sections from paraffin blocks, the immunohistochemistry was performed using Fascin (as a tumor marker). Data were analyzed in SPSS V23 applying Chi-square test, Mann-Whitney test, and Kruskal-Wallis test.

Results: Most of the samples showed poor to moderate expression of fascin, and there were significant relationships between expression level of fascin and age, sex, and degree of microscopic grading ($P=0.002$, $P=0.009$, $P=0.011$). High expression of fascin was seen in samples with recurrence and metastasis, but no significant relationship was detected ($P=0.525$, $P=0.769$).

Conclusion: The expression level of fascin in SCC probably indicates its role in increasing the movement and migration of cancer cells and the likelihood of recurrence and metastasis.

Keywords: fascin, immunohistochemistry, squamous cell carcinoma

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (187): 143-148 (Persian).

* **Corresponding Author: Najmeh Jafari** - School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
(E-mail: jafarynajmeh@yahoo.com)

بررسی ایمونوهیستوشیمیایی مارکر فاسین در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان

نجمه جعفری¹

سید حسین طباطبایی²

نرگس اسماعیل پور³

چکیده

سابقه و هدف: سرطان سلول سنگفرشی هشتمین سرطان شایع در آقایان و پانزدهمین در خانم‌ها می‌باشد. عود موضعی و متاستاز به لنف نودهای ناحیه‌ای، دو مورد از مهم‌ترین مشکلات این بیماران است. فاسین یک پروتئین 55 کیلو دالتونی از خانواده پروتئین‌های باند شونده به اکترین می‌باشد که در سلول‌هایی با برآمدگی غشایی بروز می‌یابد. هدف این مطالعه ارزیابی بروز مارکر فاسین در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (OSCC) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی - مقطعی در سال 96 با مشارکت 60 بیمار مبتلا به OSCC که به بیمارستان شهید صدوقی یزد مراجعه کرده بودند، انجام شد. پس از تهیه مقاطع 4 میکرومتری از بلوک‌های پارافینی، پروسه ایمونوهیستوشیمی با استفاده از مارکر فاسین انجام گرفت و یافته‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 23 و تست‌های کای - اسکووار، من ویتنی و کروسکال والیس آنالیز شد.

یافته‌ها: بر طبق نتایج مطالعه حاضر، اکثریت نمونه‌ها بروز ضعیف تا متوسط مارکر فاسین را نشان دادند و ارتباط معنی‌داری بین سن، جنس و درجه میکروسکوپی با بروز مارکر فاسین وجود داشت ($P=0/022$, $P=0/009$, $P=0/011$). علی‌رغم بروز بالای مارکر فاسین در نمونه‌های دارای عود و متاستاز، ارتباط معنی‌داری در این زمینه یافت نشد ($P=0/525$, $P=0/769$).

استنتاج: بروز مارکر فاسین در کارسینوم سلول سنگفرشی احتمالاً نشان‌دهنده نقش این مارکر در افزایش حرکت و مهاجرت سلول‌های سرطانی و عود و متاستاز می‌باشد.

واژه های کلیدی: فاسین، ایمونوهیستوشیمی، کارسینوم سلول سنگفرشی

مقدمه

مؤثر می‌باشند (2). علی‌رغم درمان‌های ترکیبی شامل جراحی، شیمی درمانی و پرتو درمانی بقای 5 ساله بیماران 60 درصد می‌باشد (3-5). متاستاز و تهاجم سلول‌های تومور ناشی از تغییر مورفولوژی سلول، قطع اتصالات سلولی، تنزل ماتریکس بین سلولی و افزایش مهاجرت سلولی

کارسینوم سلول سنگفرشی یا SCC (squamous cell carcinoma) یازدهمین سرطان شایع در سراسر جهان است و تقریباً 94 درصد بدخیمی‌های حفره دهان را شامل می‌شود (1). علت آن مولتی فاکتوریال بوده و مجموع عوامل داخلی و خارجی در رخداد آن

E-mail: jafarynajmeh@yahoo.com

مؤلف مسئول: نجمه جعفری - یزد: بلوار 17 شهریور، کوچه ابوльфصلی، کوچه نوبت، پلاک 32

1. استادیار، بخش آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

2. دانشیار، بخش آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران

3. دندانپزشک، یزد، ایران

تاریخ تصویب: 1399/3/12

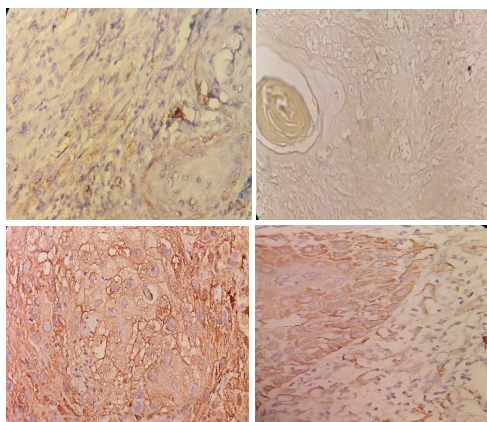
تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/11/2

تاریخ دریافت: 1398/9/26

بر اساس درصد مشخص شده، اسکور بیان فاسین به صورت زیر مشخص گردید. کم تر از 5 درصد: اسکور 0، 5 تا 25 درصد: 1، 26 تا 50 درصد: 2 و بیش تر از 51 درصد: 3 (2). سپس یافته‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 23 و تست‌های آماری کای - اسکوار، من ویتنی و کروسکال والیس آنالیزو نتایج با توجه به سطح معنی دار $P=0/05$ تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها و بحث

با مشاهده اسلایدها زیر میکروسکوپ نوری مشخص گردید که اکثر نمونه‌ها اسکور 1 یا 2 را نشان می‌دهند (تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: مشاهده سلول‌های بیان کننده مارکر فاسین به رنگ قهوه ای زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $\times 400$. اسکورهای الف: 0، ب: 1، ج: 2، د: 3.

یافته‌های مطالعه نشان داد که فاسین در آقایان و سنین بالای 50 سال بیان بالاتری داشته و با متغیرهای سن ($P=0/009$) و جنس ($P=0/002$) ارتباط معنی‌داری دارد. اگرچه در نمونه‌های دارای عود و متاستاز اکثراً اسکور 2 یا 3 را نشان دادند اما از نظر آماری ارتباط معنی‌داری دیده نشد ($P=0/525$)، ($P=0/769$) بررسی بیان مارکر فاسین بر اساس درجه میکروسکوپی تومور، نشان‌دهنده بیان بالاتر در درجات میکروسکوپی بالا (IV, III) و ارتباط

می‌باشد که همه این وقایع در اثر ازهم گسیختی میکروفیلان‌های سیتو اسکلتال رخ می‌دهد (6). فاسین سهم بزرگی در اتصالات سلولی و افزایش حرکت آن‌ها دارد (8,7). این پروتئین در سلول‌های گلیال، نورون، دندریتیک، اندوتلیال و ماکروفاژها بیان می‌شود (2) اما در بافت‌های اپیتلیالی طبیعی بیان نمی‌شود یا بیان پایینی دارد در حالی که معمولاً در سرطان‌های اپیتلیالی بیان بالایی دارد (9). مطالعات کمی به بررسی بیان فاسین در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (OSCC) پرداخته است و نتایج متناقضی دیده شده است (2,6,9-11). با توجه به مطالعات کم و نتایج متغیر هدف این مطالعه بررسی بیان مارکر فاسین در OSCC (oral squamous cell carcinoma) و ارتباط آن با پارامترهای بالینی و هیستوپاتولوژی می‌باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی - مقطعی در سال 96 در بخش آسیب شناسی بیمارستان شهید صدوقی یزد انجام شد. از بین کلیه بدخیمی‌های سر و گردن، تعداد 60 بلوک OSCC با بافت کافی درخواست و پس از ثبت اطلاعات بالینی، مراحل ایمنوهیستوشیمیایی انجام شد. پس از تهیه مقاطع 4 میکرومتری با استفاده از دستگاه میکروتوم مراحل پارافین‌زدایی و آبگیری و غوطه‌ور سازی داخل بافر TBS (TRIS Buffered Saline) با pH: 7.4 به مدت 10 دقیقه انجام شد. پس از شست و شو در آب و استفاده از بافر بازیافت (DAKO-DENMARK) با pH: 9 مقاطع داخل مایکروویو گذاشته شد. پس از اضافه کردن آنتی‌بادی فاسین (DAKO-DENMARK) مقاطع داخل بافر TBS غوطه‌ور گردید. پس از دو مرحله شستشو با بافر TBS و آب، با همتوکیسلین رنگ و پس از شستشو با آب داخل گریل و الکل غوطه‌ور شد. اسلایدهای آماده‌سازی شده زیر میکروسکوپ نوری مشاهده و بر طبق فرمول زیر (Labeling index) درصد تعداد سلول‌های رنگ گرفته محاسبه شد (2).

$$LI = \frac{\text{تعداد سلولهای رنگ گرفته}}{\text{تعداد سلولهای موجود در ناحیه تحت بررسی}} \times 100$$

معنی دار بود ($P=0/011$). بر طبق یافته های حاصل از مطالعه ارتباط معنی داری بین محل تومور و بیان مارکر به دست نیامد ($P=0/303$). به طور مشابه Chen و همکارانش یک ارتباط معنی داری بین بیان مارکر فاسین با متغیرهای سن و جنس یافتند اما بر خلاف مطالعه حاضر ارتباط معنی داری با عود و متاستاز تومور یافت شد (9).

در مطالعه Lee بیش از 91 درصد نمونه ها بیان بالای مارکر فاسین را نشان دادند که ارتباط معنی داری با متغیرهای سن و جنس یافت نشد اما با عود و متاستاز تومور ارتباط معنی داری داشت. این مطالعه و مطالعه حاضر هر دو ارتباط معنی داری بین بیان مارکر فاسین و محل تومور نیافتند (10).

در مطالعه عطارباشی اکثریت نمونه ها تمایز بالای سلولی را نشان داده و همه جزایر سلولی با یا بدون مروارید کراتینی، بیان بالای فاسین را نشان دادند (2). در حالی که در مطالعه ما همچون مطالعه ی Alam، درجات بالای میکروسکوپی (IV, III) بیان بالاتری از مارکر فاسین را نشان دادند. محققان معتقدند که این مارکر می تواند به عنوان یک ابزار مفید جهت تشخیص دیسپلازی و کارسینوم مورد استفاده قرار گیرد (6, 12). در مطالعه Papasyprou مارکر فاسین در OSCC و لنف نودهای متاستاتیک نسبت به بافت های طبیعی اطراف بیان بالاتری را نشان داد و بیماران با بیان بالای فاسین، بقای کمتری داشتند (11). از علل احتمالی نتایج متناقض می توان خطاهای تکنیکی، تفاوت ها در شمارش سلول ها، تعداد نمونه ها، روش های مختلف آزمایشگاهی و... نام برد (9, 12). در اکثر مطالعات همچون مطالعه ما از روش ایمونوهیستوشیمیایی استفاده شد در حالی که برخی دیگر از روش های دیگری همچون PCR و وسترن بلات استفاده کردند (10). در مراحل اولیه فاسین به صورت سیتوپلاسمیک رنگ می گیرد اما در بیان بالا، رنگ پذیری غشای سلولی هم رخ می دهد. همین اختلاف در شدت رنگ پذیری می تواند در تعیین میزان بیان فاسین تاثیر گذار باشد (2, 6). رنگ پذیری بافت نرمال می تواند ناشی از تاثیر عوامل

محیطی و پاتولوژیکی بر سلول های اپیتلیالی باشد که منجر به بیان بالای فاسین می شود. اپیتلیوم ممکن است از نظر میکروسکوپی طبیعی باشد اما دچار تغییرات ساختاری در سطح مولکولی شده باشد که زیر میکروسکوپ قابل مشاهده نیست و این هم یکی از علل تناقض نتایج می باشد (2, 11). از علل دیگر تناقض به کارگیری سیستم های مختلف درجه بندی بیان مارکر (scoring) می باشد.

در مطالعه Alam رنگ پذیری کم تر از 20 درصد سلول ها و در مطالعه ما کم تر از 5 درصد منفی در نظر گرفته شد (6).

در مطالعه Papasyprou تعداد سلول های رنگ گرفته بین 0 تا 24 درصد را به عنوان عدم رنگ پذیری و بالای 81 درصد را به عنوان رنگ پذیری بالا در نظر گرفتند (11). در اکثر مطالعات صورت گرفته همچون مطالعه ما نمونه های دارای عود و متاستاز بیان بالاتری از فاسین را نشان داده اند. این مسئله نشان دهنده نقش بالای این مارکر در تغییرات مورفولوژیکی سلولی، برآمدگی غشای سلولی و افزایش تحرک سلولی مسبب تهاجم تومور می باشد (13, 14). بررسی بیان فاسین در لنف نودهای متاستاتیک در بیماران مبتلا به OSCC نشان دهنده نقش فاسین در حرکت سلول های تومورال به سمت لنف نودها می باشد و لنف نود متاستاتیک به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک منجر به کاهش بقای کلی و افزایش میزان عود می شود (6). افزایش تکثیر سلولی در پاسخ به بیان بالای مارکر فاسین ناشی از عامل (Proliferative cell nuclear antigen: PCNA) می باشد. تظاهر بالای مسیر PI3K و MAP کیناز در سلول های با بیان بالای فاسین مشاهده شده است. این دو مسیر ارتباطی با تکثیر سلول های اپیتلیالی نرمال ندارند، اما فعالیت بالای این دو در کارسینوم ها به خصوص OSCC دیده شده است. در راستای پلیمیریزاسیون اکتین و تحرک سلولی، فاسین باعث فعال کردن MAP کیناز و PI3K شده و این واقعیت منجر به پیشرفت تومور می گردد (6). Chen و همکارانش معتقد بودند که مارکر

بدخیم و پروگنوز ضعیف OSCC مرتبط باشد و شاید بتوان از داروهای مهارکننده آن در جهت کنترل بدخیمی استفاده کرد (8,6).

سپاسگزاری

این مطالعه با کد اخلاق IR.SSU.REC.1396.31 در دانشگاه علوم پزشکی یزد به تصویب رسیده است.

فاسین از طریق تقابل اپتلیوم- مزانشیم و تغییرات در E-cadherin و B-catenin یک نقش مهمی در روند تشکیل و تکامل OSCC دارد (9). داروهای مهارکننده فعالیت فاسین منجر به مهار مهاجرت، تهاجم و متاستاز سلولهای تومورال می شوند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر و مطالعات گذشته، فاسین می تواند به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک احتمالی با تهاجم سلولهای

References

1. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Chi AC. Oral and maxillofacial pathology: Elsevier Health Sciences; 13th. 2015.
2. Atarbashi Moghadam S, Mohsenifar Z, Lotfi A, Abasi L, Bagheri SS. Fascin Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma using an Immunohistochemical Technique. Journal of Dentomaxillofacial Radiology, Pathology and Surger 2015; 4(2): 30-33.
3. De Aguiar A Jr, Kowalski LP, De Almeida OP. Clinicopathological and immunohistochemical evaluation of oral squamous cell carcinoma in patients with early local recurrence. Oral oncology 2007; 43(6): 593-601.
4. Mücke T, Wagenpfeil S, Kesting MR, Hölzle F, Wolff K-D. Recurrence interval affects survival after local relapse of oral cancer. Oral oncology 2009; 45(8): 687-691.
5. Woolgar JA. Histopathological prognosticators in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Oral oncology 2006; 42(3): 229-239.
6. Alam H, Bhate AV, Gangadaran P, Sawant SS, Salot S, Sehgal L, et al. Fascin overexpression promotes neoplastic progression in oral squamous cell carcinoma. BMC cancer 2012; 12(1): 32.
7. Alaeddini M, Fouladdel S, Etemad-Moghadam S, Azizi E. Expression of fascin protein and mRNA in the KB carcinoma cell line following treatment with doxorubicin. J Cancer Res Ther 2011; 7(4): 427-432.
8. Tong G-X, Yee H, Chiriboga L, Hernandez O, Waisman J. Fascin-1 expression in papillary and invasive urothelial carcinomas of the urinary bladder. Human pathology 2005; 36(7): 741-746.
9. Chen SF, Yang SF, Li JW, Nieh PC, Lin SY, Fu E, et al. Expression of fascin in oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas has prognostic significance—a tissue microarray study of 129 cases. Histopathology 2007; 51(2): 173-183.
10. Lee TK, Poon RT, Man K, Guan X-Y, Ma S, Liu XB, et al. Fascin over-expression is associated with aggressiveness of oral squamous cell carcinoma. Cancer Letters 2007; 254(2): 308-315.
11. Papaspyrou K, Brochhausen C, Schmidtman I, Fruth K, Gouveris H, Kirckpatrick J, et al. Fascin upregulation in primary head and neck squamous cell carcinoma is associated with lymphatic metastasis. Oncology Letters 2014; 7(6): 2041-2046.
12. Hoda SA, Cheng E. Robbins Basic Pathology. In. St.Louis: 9th ed. Part 2 of 4. Elsevier; 2010.
13. Hashimoto Y, Shimada Y, Kawamura J, Yamasaki S, Imamura M. The prognostic relevance of

- fascin expression in human gastric carcinoma. *Oncology* 2004; 67(3-4): 262-270.
14. Hashimoto Y, Ito T, Inoue H, Okumura T, Tanaka E, Tsunoda S, et al. Prognostic significance of fascin overexpression in human esophageal squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research* 2005; 11(7): 2597-2605.