

EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜNÜN (EGFR) AĞIZ BOŞLUĞUNDA GÖRÜLEN EPİDERMOİD KARSİNOM VE ODONTOJEN KİST EPİTELİNDE İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

Banu Gürkan¹ Tülin Özbayrak¹ Canan Alatlı² Ayla Özveren²

Yayın kuruluşuna teslim tarihi : 28.11.1996

Yayına kabul tarihi : 9.1.1997

Özet

Bu çalışmada, İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Ağız Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran ve yapılan klinik, radyolojik ve patolojik incelemeleri sonucu epidermoid karsinomi, keratokist, foliküler kist, ve radiküler kist tanısı konulan toplam 40 olgu immunohistokimyasal yöntem ile çalışılarak Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) varlığı açısından incelendi.

Epidermoid karsinom ve keratokist olgularının % 90'ında, foliküler kist olgularının % 60'mda ve radiküler kist olgularının ise % 50'sinde EGFR varlığı gözlemlendi.

Bu sonuçlara dayanarak EGFR'nün epitel malignitesini belirleyici özelliğe sahip olabileceği görüşüne varıldı.

Anahtar sözcükler: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü, Odontojen Kist, Epidermoid Karsinom.

AN IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) EXPRESSION IN ODONTOGENIC CYST EPITHELIUM AND EPIDERMAL CARCINOMA OF ORAL CAVITY.

Abstract

In this research, the patients who were applied to dental Faculty of İstanbul University, Department of Oral Surgery were evaluated and 40 cases who were diagnosed as epidermoid carcinoma, keratocyst, follicular and radicular cysts following the clinical, radiological and pathological examination were histochemically investigated according to the presence of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR).

The EGFR presence was observed in epidermoid carcinoma and keratocyst (% 90), follicular (% 60), radicular (% 50) cysts respectively.

Based on the above results, we would like to emphasize that EGFR has a characteristic of epithelial malignancy.

Key words: Epidermal Growth Factor Receptor, Odontogen Cyst, Epidermoid Carcinoma.

GİRİŞ

Normal ve habis dokularda gelişen bir çok önemli olayın, peptid büyüme faktörleri aracılığıyla meydana geldiği ve bunlar üzerinde yapılan çalışmaların son yıllarda kanser biyolojisinde önemli yere sahip olduğu bildirilmiştir (16,27).

İlk olarak 1962 yılında Cohen (5) tarafından sinir büyüme faktörü (NGF) izole etmek ve etkilerini araştırmak üzere başlatılan bir çalışmada, sıçan submaksiller bezlerinden elde ettikleri bir maddenin yeni doğmuş sıçanlarda sinir hücreleri üzerindeki etkisine ilaveten dişlerin sürmesini hızlandırdığı ve göz kapaklarının erken açılmasını sağladığı görülmüştür. Daha sonraki çahşma-

larında bu etken maddeyi izole ederek, bunun epidermis gelişimini ve keratinizasyonunu hızlandırdığını belirtmişler ve bu maddeye Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) adını vermişlerdir (5,6,7,8).

Büyüme faktörlerinden biri olan EGF'nün küçük bir polipeptid olup, insanları da kapsayan pek çok memeli türünde bulunduğu gösterilmiştir (4).

EGF'nün kendine özgü hücre yüzey reseptörü olan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR) ile etkileşerek in vitro ve in vivo çeşitli normal ve malign hücrelerin büyümesini arttırdığı belirtilmiştir (20).

1 İ.Ü. Dişhek. Fak. Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

2 İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkoloji Sitoloji Bilim Dalı

EGFR; 170.000 daltonluk bir transmembran glikoproteindir (17).

EGFR bütün insan epitel dokularında, deri ağız mukozası, meme, kolon, timus, karaciğer, nöron ve ürogenital dokularda bulunduğu gösterilmiştir (9,14).

EGF ve EGFR'nün malignite ile olan ilişkisi; EGFR'nün gen amplifikasyonunda (gen kopyalanması) artış ya da EGFR genlerinin yeniden düzenlenmesi esnasında oluşan bir hata ile anormal veya bir bölümü eksik EGFR üretimi sonucu hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolden çıkması olarak açıklanmaktadır (28).

Ağız mukozasında EGFR'nün bulunduğu bölgeler; palatinal, bukkal dişeti, yumuşak damak, dilin lateral ve dorsal bölümü ile ağız tabanı olarak belirtilmiştir (30). EGFR'ne karşı hazırlanan antikorlar ile yapılan immunohistokimyasal çalışmalar sonucunda submandibular, parotis, minör tükürük bezleri, ağız mukozası, dil ve özofagus epitelinin kuvvetli pozitif boyanma gösterdiği belirtilmiştir (13,24).

Ağız kanserlerinin % 90'ından fazlasını epidermoid karsinomun oluşturduğu ve erken teşhis açısından dişhekimlerinin önem taşıdıkları kabul edilmektedir (19).

Primitif odontojen epitel hücrelerinin bulunduğu odontojen kistlerin herhangi bir dönemde karsinoma dönüşebilme potansiyalinin olduğu belirtilmektedir (1,2,10,22,29). Odontojen kistlerin epitelindeki karsinomatöz değişikliğin sebebi kesin olarak bilinmemekle beraber odontojen kistlerde uzun süreli kronik inflamasyonun ve diskeratozun karsinomanın gelişiminde hazırlayıcı faktör olduğu belirtilmiştir (1,29).

Tablo 1. Olguların dekadlara göre yaş dağılımı görülmektedir.

	Epidermoid Karsinom	Keratokist	Foliküler Kist	Radiküler Kist
1-10	-	-	-	1
11-20	-	2	5	4
21-30	-	1	-	4
31-40	-	1	2	-
41-50	4	3	2	-
51-60	2	1	-	-
61-70	2	2	1	1
71-80	2	-	-	-

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran ve yapılan klinik, radyolojik ve histopatolojik inceleme sonucunda odontojen kist ve epidermoid karsinom tanısı konulan toplam 40 olgu, EGFR araştırılmak üzere çalışmaya alındı. Elde edilen örneklerin histopatolojik tanısı ve immunohistokimyasal yöntem ile EGFR uygulaması ve değerlendirilmesi İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı'nda yapıldı.

Bu çalışmada "BioGenex StrAvigen Super Sensitive Multilink Immunodetection System kiti" ve "Monoclonal Antibody Epidermal Growth Factor Receptor (Clone E30)" ile çalışıldı. Bu metod, indirekt immunohistokimyasal metodlardan Biotin-Streptavidin Amplified (B-SA) sistemi idi. Daha önce birçok araştırmacı tarafından çalışılarak hassas ve güvenilir bir metod olduğu belirtilmiştir (11,15,18,23,26,31).

Radiküler kist tanısı konulan 10 olgunun yaşları 8-63 arasında değişmekteydi. Bu olguların altısı erkek, dördü kadındı. Foliküler kist tanısı alan 10 olgu yaşları 14-68 arasında değişen, beş erkek beş kadın hastaya aitti. Keratokist tanısı konulan 10 olgunun yaşları 15-67 arasındaydı, altısı erkek dördü kadın hastaydı. Epidermoid karsinom tanısı konulan 10 olgunun yaşları ise 42-72 arasında değişmekteydi. Bu olguların cinsiyetleri yedi erkek üç kadın şeklinde dağılım göstermekteydi (Tablo 1,2).

Toplam 40 olgu immunohistokimyasal yöntem ile çalışılarak EGFR varlığı açısından değerlendirildi.

Sitoplazmada kırmızı granüler biçimde gözlemlenen boyanma pozitif olarak değerlendirildi.

Tablo 2. Olguların cinsiyet dağılımı görülmektedir

	Epidermoid Karsinom	Keratokist	Foliküler Kist	Radiküler Kist	Toplam
Erkek	7	6	5	6	24
Kadın	3	4	5	4	16
Toplam	10	10	10	10	10

Tablo 3. Değişik olgu gruplarında saptanan EGFR pozitiflik dereceleri görülmektedir

	(+++)	(++)	(+)	(-)	Toplam
Epidermoid Karsinom	3	3	3	1	10
Keratokist	1	4	4	1	10
Foliküler Kist	-	1	5	4	10
Radiküler Kist	-	2	3	5	10
Toplam	4 (%10)	10 (%25)	15 (%37.5)	11 (%27.5)	40

di. Pozitif dereceleri (+++) kuvvetli pozitif, (++) orta derecede pozitif, (+) zayıf pozitif ve (-) olarak gruplandırıldı.

BULGULAR

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı'nda epidermoid karsinom, keratokist, foliküler kist, radiküler kist tanısı konulan 40 olgu EGFR varlığı açısından değerlendirildi.

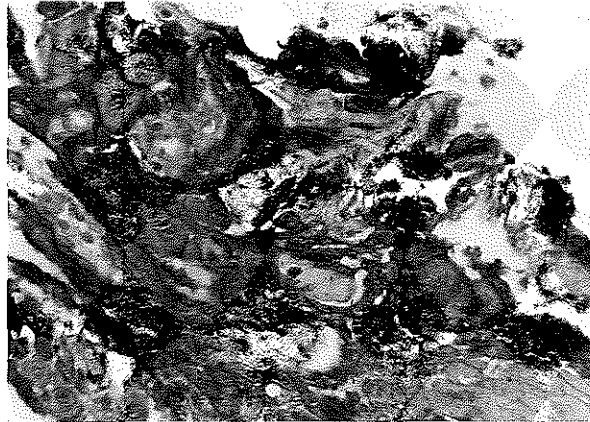
Epidermoid karsinom tanısı konulan 10 olgudan bir tanesi Grade I, altı tanesi Grade II, üç tanesi Grade III olarak değerlendirildi. Grade I olan olguda EGFR'ü (+++), Grade II olan altı olgunun bir tanesinde (+++), bir tanesi (++) , üç tanesi (+), bir tanesi ise (-) olarak değerlendirildi. Grade III olan üç olgunun bir tanesi (+++), iki tanesi (++) olarak değerlendirildi (Resim 1,2,3).

Epidermoid karsinom olgularında pozitif boyanma daha çok bazal tabakada izlendi. Yüzey epitelinde ve keratinize alanlarda daha hafif boyanma gözlemlendi. Ayrıca daha az diferansiye ve pleomorfik hücrelerin bulunduğu alanlarda daha kuvvetli boyanma görüldü.

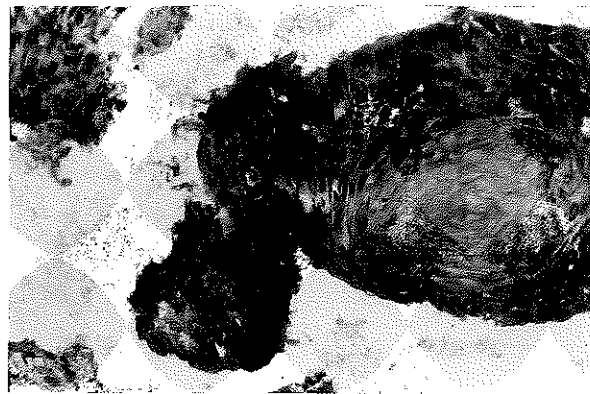
Epidermoid karsinomlar da EGFR'ne karşı EGFR monoklonal antikoruna ile yapılan boyanmada % 90 oranında pozitiflik saptandı.

Keratokist tanısı konulan 10 olgudan bir olgu (+++), dört olgu (++) , dört olgu (+), bir olgu ise (-) olarak bulundu. Keratokist olgularında boyanma genellikle odontojen epitel adacıklarında po-

Resim 1. Grade I Epidermoid Karsinom EGFR antihorları ile immunohistokimyasal (+++) boyanma (X400)

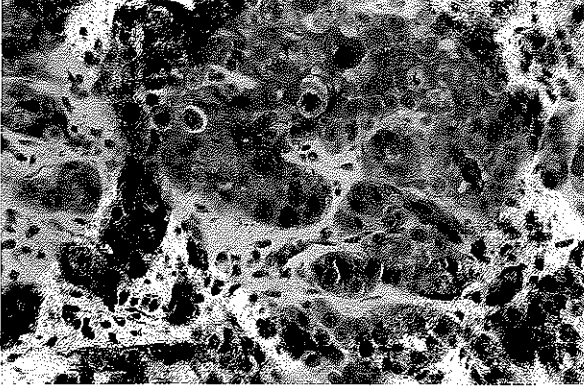


Resim 2. Grade II Epidermoid karsinom EGFR antihorları ile immunohistokimyasal (+++) boyanma (x250)

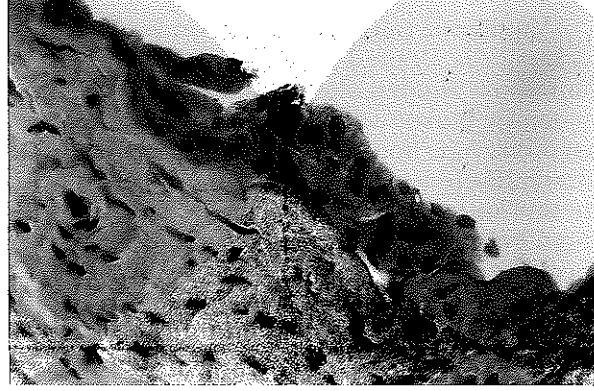


zitif olarak saptandı. Üç olguda bazal tabakada orta derecede pozitiflik görüldü (Resim 4).

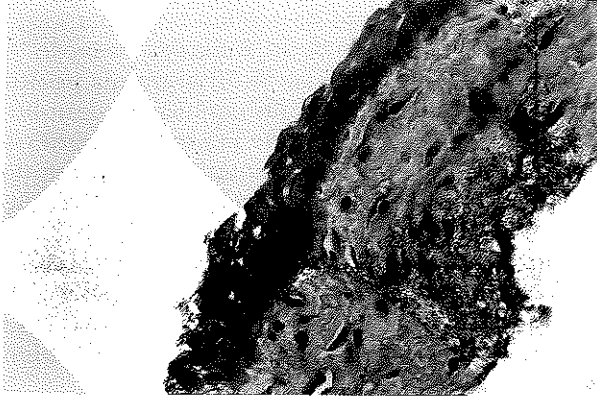
Resim 3. Grade III Epidermoid karsinom EGFR antikorları ile immünohistokimyasal (+++) boyanma (x250)



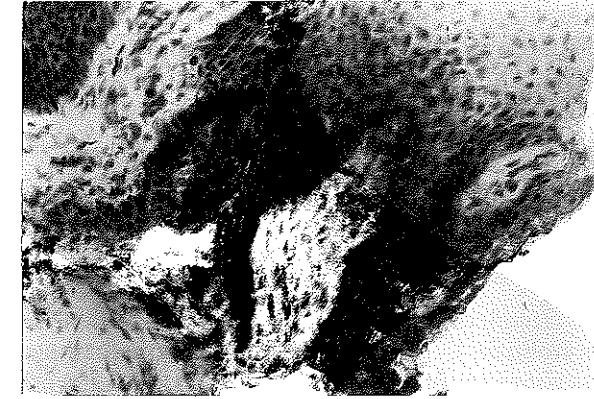
Resim 5. Foliküler kist EGFR antikorları ile immünohistokimyasal (+) boyanma (x400)



Resim 4. Keratohist EGFR antikorları ile immünohistokimyasal (+++) boyanma (x400)



Resim 6. Radiküler kist EGFR antikorları ile immünohistokimyasal (++) boyanma (x250)



Foliküler kist tanısı konulan 10 olgudan biri (++) , beş olgu (+), dört olgu ise (-) olarak bulundu. Foliküler kist olgularında boyanma genellikle odontojen epitel adacıklarında ve bazal tabakada pozitif olarak saptandı. Spinal tabakada da yer yer pozitiflik gözlemlendi. Foliküler kist grubunda EGFR monoklonal antikoruna ile yapılan boyanma % 60 oranında pozitiflik gösterdi (Resim 5).

Radiküler kist tanısı konulan 10 olgudan iki olguda (++) , üç olguda (+) boyanma görüldü. Beş olguda ise boyanma izlenmedi. Radiküler kist olgularında pozitif boyanma genellikle bazal tabakada idi. Daha zayıf olarak odontojen epitel adacıklarında boyanma saptandı. Radiküler kist olgularında EGFR monoklonal antikoruna ile yapılan boyanma % 50 oranında pozitiflik gösterdi (Resim 6).

EGFR'nün en yoğun boyanma gösterdiği grup epidermoid karsinom idi, daha sonra sıra-

ıyla keratokist, foliküler kist ve radiküler kist gelmekteydi (Tablo 3).

TARTIŞMA

EGFR sayısındaki artış ile epidermoid malignite arasında bir ilişkinin olduğu düşünülmektedir. Baş-boyun bölgesindeki epidermoid karsinom olgularında EGFR ile yapılan çalışmalar sonucunda EGFR seviyelerinin önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir (12,23,25).

Yamada ve ark. (31), ağız boşluğunda görülen epidermoid karsinom olgularında EGFR ekspresyonunu araştırmak için yaptıkları çalışmalarında % 51 oranında pozitiflik saptamışlardır. EGFR'nün hücrel ekspresyonunun Grade I olgularda % 31, Grade II olgularda % 23, Grade III olgularda ise % 2 olduğunu bulmuşlardır. Buna göre ağız kanserlerinde reseptör ekspresyonu ile tümör diferansiyasyonun ters orantılı olduğunu, kötü diferansiyasyonlu tümörlerde

EGFR ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmanın sonucunda epidermoid karsinom Grade I olan olgumuzda (+++) bulunmasına rağmen olgu sayısının yetersiz olması nedeniyle bu konuda kesin bir yorum yapmaktan kaçındık. Ağız boşluğunda genellikle Grade II ve Grade III epidermoid karsinom lezyonlar görülmesine karşın, Grade I lezyonların daha az görüldüğü belirtilmiştir. Grade II olan altı olgumuzun birinde (+++), bir tanesinde ise (++), üç tanesinde (+) ve bir tanesinde ise negatif boyanma saptadık. Grade III olan üç olgumuzun birinde (+++), ikisinde ise (++) olarak boyanma görüldü.

Epidermoid karsinom olgularından elde ettiğimiz sonuçlar Yamada ve ark.'nın, (31) elde ettikleri sonuçlar ile farklılık göstermektedir. EGFR, hücrelerin diferansiyasyonu ve proliferasyonunu gösteren bir faktör olduğu için epidermoid karsinomda, hem iyi hem de kötü diferansiye hücrelerin bulunduğu alanlarda EGFR ekspresyonunun kuvvetli olmasını doğal karşılamaktayız.

Kötü diferansiye olan epidermoid karsinom olgularında pozitiflik derecesinin artmasının kontrolsüz hücre çoğalmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

İncelediğimiz literatürlerde, odontojen kist epitelinde EGFR ekspresyonunun araştırılmasına yönelik yalnızca Shresta ve ark. (13) ile Li ve ark. (18) tarafından iki çalışma yapıldığını gördük.

Shresta ve ark. (13), EGFR monoklonal antikorunu kullanarak 67 odontojen kist ve 35 odontojen tümör olgularında EGFR ekspresyonunu araştırmışlardır. Odontojen kist lezyonlarında, kist epitel hücrelerinde % 75 primordial kist, % 60 keratokist, % 47 foliküler kist ve % 35 radiküler kistte EGFR'nün pozitif boyanma gösterdiğini bulmuşlardır. Odontojen tümörlerde ise EGFR ekspresyonuna rastlamamışlardır.

Li ve ark. (18), yaptıkları çalışmanın sonucun-

da pozitif boyanma yoğunluğunun en fazla odontojen keratokist olmak üzere sırasıyla dentigeröz kist, radiküler kist ve proliferatif epitel kalıntılarında olduğunu belirtmişlerdir.

Odontojen keratokist duvarında iltihabın görülmesi ile birlikte EGFR azalması arasında bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Kuvvetli boyanan düzenli odontojen keratokist sınırına karşın, iltihap ile birlikte düzensiz epitelin olduğu bazı fokal alanlarda EGFR boyanmasının zayıf olduğunu bulmuşlardır.

Odontojen keratokist epitelindeki kuvvetli boyanmanın diğer kistlerde olmayan intrinsik büyüme potansiyeline bağlı olabileceğini belirtmiştir (3,21).

Yaptığımız çalışmada EGFR'ne karşı EGFR monoklonal antikorunu ile yapılan boyanma sonucunda keraokistlerde % 90, foliküler kistlerde % 60, radiküler kistlerde ise % 50 oranında pozitif boyanma bulduk. Yoğun iltihap hücrelerinin bulunduğu yerlerde genellikle (+) boyanmanın olduğu ve kuvvetli pozitif boyanan alanların altında seyrek iltihap hücrelerinin görüldüğünü saptadık. Odontojen kistlerde boyanma yoğunluğunun odontojen keratokist ve foliküler kistlerde daha çok odontojen epitel adacıkları ve bazal tabakada, radiküler kistlerde ise yalnızca bazal tabakada olması da Li ve ark. (18) ile Shresta ve ark.'nın (26) bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Odontojen kistlerden en agresif olduğu kabul edilen keratokist epitelinde EGFR'nün en fazla bulunması, bu reseptörlerin epitel malignitesini belirleyici olma özelliğini düşündürmektedir.

Bunlara göre çalışmamızda EGFR'nün ağız içi epidermoid karsinom ve odontojen kistlerde hastanın diağnozunu ve prognozunu değerlendirmede ve epitel malignitesinin belirlenmesinde önemli bir özelliğe sahip olabileceği sonucuna vardık.

KAYNAKLAR

1. Anoth M, Hasegawa H, Kawakami T, Kage T, Chino T, Eda S. Hyperkeratosis and atypical proliferation appearing in the lining epithelium of a radicular cyst. Report of case. *J Craniomaxillofac Surg* 1993;21:210-3.

2. Bradley NH, Thomas DM, Antoniadis K, Anavı Y. Squamous cell carcinoma arising in an odontogenic cyst. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1988; 17: 260-3.

3. Browne RM. Histological features and their correlation with clinical behaviour. *Br Dent J* 1971; 131: 249-259.

4. Carpenter G. The biochemistry and physiology of the receptor-kinase for epidermal growth factor. *Ann Rev biochem* 1979; 48: 193-216.

5. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland

protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962; **237**: 1555-62.

6. Cohen S, Elliott GA. The stimulation of epidermal keratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. *J Invest Dermatol* 1963; **40**: 1-5.

7. Cohen S, Carpenter G. Human epidermal growth factor: isolation and chemical and biological properties. *Proc Nat Acad Sci USA* 1975; **72**: 1317-21.

8. Cohen S. The epidermal growth factor. *Cancer* 1983; **51**: 1787-91.

9. Damjanow I, Mildner B, Knowles BB. Immunohistochemical localization of the epidermal growth factor receptor in normal human tissues. *Lab Invest* 1986; **55**: 588-92.

10. Foley WL, Terry BC, Jacoway JR. Malignant transforming of an odontogenic keratocyst: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; **49**: 768-71.

11. Gerdin E, Juhlin C, Malmgren M, Gerdin B. Immunohistochemical identification of receptors for epidermal growth factor in tumor endothelium may be affected by crossreactivity to blood group A antigen. *Am J Clin Pathol* 1993; **99**: 28-31.

12. Grandis JR, Tweardy DJ. Elevated levels of transforming growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Res* 1993; **53**: 3579-84.

13. Green Mr, Phill D, Couchman JR. Differences in human skin between the epidermal growth factor receptor distribution detected by EGF binding and monoclonal antibody recognition. *J Invest Dermatol* 1985; **85**: 239-45.

14. Gusterson BA, Cowley G, Smith JA, Ozanne B. Cellular localization of human epidermal growth factor receptor. *Cell Biol Int Rep* 1984; **8**: 649-53.

15. Hale RJ, Buckley CH, Gullick WJ, Fox H, Williams J, Wilcox FL. Prognostic value of epidermal growth factor receptor expression in cervical carcinoma. *J Clin Pathol* 1993; **46**: 149-53.

16. Heldin Ch, Westermark B. Growth factors: mechanism of action and relation to oncogenes. *Cell* 1984; **37**: 9-20.

17. Kumar V, Cotran RS, Robbin SL: Basic Pathology 5th. edn. Philadelphia: *W.B. Saunders*. 1992: 47-52, 186-189.

18. Li TJ, Browne RM; Matthews JB. Expression of epidermal growth factor receptor by odontogenic jaw cysts. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1993; **423**: 137-44.

19. Lundeen RC, Barnet DA. Radiolucencies with indistinct or ragged borders. *Den Clin North Am* 1994; **38**: 83-135.

20. Mauro T, Yamasaki M, Ladines CA, Mochizuki M. Immunohistochemical demonstration of elevated expression of epidermal growth factor receptor in the neoplastic changes of cervical squamous epithelium. *Cancer* 1992; **69**: 1182-87.

21. Matthews JB, Mason GI, Browne RM. Epithelial cell markers and proliferating cells in odontogenic jaw cysts. *J Pathol* 1988; 156-283-90.

22. Maxymiw WC, Wood RE. Carcinoma arising in a dentigerous cyst: a case report and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; **49**: 639-43.

23. Miyaguchi M, Sakai S, Olofsson J, Kuwabara H, Sakamoto H. Prognosis significance of epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the maxillary sinus. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1993; **249**: 478-81.

24. Nanney LB, Magid M, Stoschek CM, King LE. Comparison of epidermal growth factor binding and receptor distribution in normal human epidermis and epidermal appendages. *J Invest Dermatol* 1984; 385-393.

25. Santini J, Formento JL, Francual M, Milano G, Schneider M, Dassonville O, Demard F. Characterization, quantification and potential clinical value of the epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinomas. *Head & Neck* 1991; **13**: 132-9.

26. Shrcsta P, Yamada K, Higashiyama H, Takagi H, Mori M. Epidermal growth factor receptor in odontogenic cyst tumors. *J Oral Pathol Med* 1992; **21**: 314-7.

27. Sporn MB, Roberts AB. Reptide growth factors and inflammation, tissue repair and cancer. *J Clin Invest* 1986; **78**: 329-32.

28. Talacko AA, Shirlaw PJ, Johnson NW. Risk markers for Oral Diseases Vol. 2. 1st edn. *Cambridge University Press*, 1991: 294-316.

29. Van Der Wall I, Rauhamaa R, Van Der Kwast WAW, Snow GB. Squamous cell carcinoma arising in the lining of odontogenic cyst. *Int J Oral Surg* 1985; **14**: 146-152.

30. Whitcomb SS, Eversole LR, Lindeman RA. Immunohistochemical mapping of epidermal growth factor receptors in normal human oral soft tissue. *Arch Oral Biol* 1993; **38**: 823-6.

31. Yamada T, Takagi M, Shioda S. Evaluation of epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; **73**: 67-70.