

Ljubljana ve DSÖ sınıflamasına göre değerlendirilen larenksin prekanseröz lezyonlarında E-cadherin ekspresyonu

E-cadherin expression patterns of precancerous lesions of the larynx classified according to Ljubljana and WHO classification

Dr. Evrim Kuş,¹ Dr. Yeşim Gürbüz,¹ Dr. Ömer Aydın²

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Patoloji Anabilim Dalı, ²Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

Amaç: Prekanseröz larenks lezyonunda E-cadherin adhezyon molekülünün ekspresyonu incelenerek karsinogenezdeki yeri araştırıldı, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Ljubljana sınıflamalarına göre değerlendirildi.

Hastalar ve Yöntemler: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden 1998-2005 yılları arasında incelenen 41 (3 kadın, 38 erkek; ort. yaş 54 yıl; dağılım 8-80 yıl) larengeal hiperplastik-displastik lezyon olgusu araştırıldı. Kırk bir larengeal hiperplastik-displastik lezyon olgusu histopatolojik olarak DSÖ ve Ljubljana sınıflamalarına göre değerlendirildi. Olgular düşük ve yüksek risk grubu olmak üzere sınıflandırıldı. Kesitler E-cadherin immünohistokimyasal yöntemle boyandı. İki farklı sınıflandırma sistemine göre risk grupları arasındaki ilişki ve E-cadherin ekspresyonları arasındaki fark Ki-kare testiyle değerlendirildi.

Bulgular: Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasında ekspresyon kaybı yüksek riskli epitelde %32.1 (9/28), düşük riskli epitelde %15.4 (2/13) olarak saptandı (p=0.26). Ljubljana sınıflamasında ekspresyon kaybı yüksek riskli epitelde %38.1 (8/21) olarak bulunurken düşük riskli epitelde bu oran %15 (3/20) bulundu (p=0.09).

Sonuç: Larenksin prekanseröz lezyonlarındaki histolojik bulgular ilerledikçe E-cadherin ekspresyonu azalmaktadır. Ancak bazı karsinoma insitu olgularında bile normal ekspresyon izlenmesi, bulgunun tanısal değerini sınırlamaktadır. Larenksin yassı epitel hücreli karsinomunda normal E-cadherin ekspresyonunun bulunması da bu görüşü desteklemektedir. Ljubljana sınıflamasının E-cadherin ekspresyonundaki azalmayı yani malignleşme potansiyelini göstermede daha başarılı olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: E-cadherin; larenks; Ljubljana sınıflaması; prekanseröz; DSÖ sınıflaması.

Objectives: To determine if there are differences in the expressions of the E-cadherin adhesion molecule of precancerous laryngeal lesions classified according to Ljubljana and World Health Organization (WHO) classification.

Patients and Methods: We examined 41 cases (3 females, 38 males; mean age 54 years; range 8 to 80 years) of laryngeal hyperplastic-dysplastic lesions from the Kocaeli University Pathology Department archives between 1998-2005. Forty-one laryngeal hyperplastic-dysplastic lesions were classified according to Ljubljana and WHO classification. The cases were classified as pertaining to either low or high risk groups. Sections were stained according to the E-cadherin immunohistochemical method. The relations between risk groups in two different classification systems and E-cadherin expression frequency were detected by Chi-square test.

Results: According to the WHO classification, the loss of expression detected 32.1% (9/28) in high-risk epithelium and 15.4% (2/13) in low-risk epithelium (p=0.26). According to the Ljubljana classification, the loss of expression detected 38.1% (8/21) in high-risk epithelium and 15% (3/20) in low-risk epithelium (p=0.09).

Conclusion: E-cadherin expression is down regulated with histologic progression in the precancerous lesions of the larynx. However, the presence of normal expression in some carcinoma insitu cases limited their diagnostic value. The presence of normal E-cadherin expression in laryngeal squamous cell carcinoma support this opinion. The Ljubljana system is more accurate for predicting the E-cadherin expression's decrease, or in other words, for demonstrating its malignant potential.

Key Words: E-cadherin; Larynx; Ljubljana classification; precancerous; WHO classification.

Larengeal mukozanın prekanseröz lezyonlarının sınıflandırılması tartışmalı bir konudur. İntraepitelyal larengeal lezyonların maligniteye dönüşüm olasılığının önceden gösterilebilmesi bu sınıflamaların en önemli üstünlüğüdür. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Ljubljana sınıflamaları prekanseröz larengeal lezyonları sınıflandırmada rutinde en sık kullanılanlarıdır.^[1,2] E-cadherin kalsiyum bağımlı protein olup hücreler arası bağların oluşumunda gereklidir.^[3] Diferansiyasyon için belirleyici olmakla birlikte, skuamöz hücreli karsinomda bilhassa az diferansiye ve lenf nodu yayılımı yapan tümörlerde E-cadherin kaybı izlenir.^[4,5] Çalışmanın amacı; prekanseröz larenks lezyonunda E-cadherin'in immünohistokimyasal ekspresyonunu inceleyerek karsinogenezdeki yerini araştırmak ve sınıflamaların birbirine üstünlüğünü değerlendirmektir.

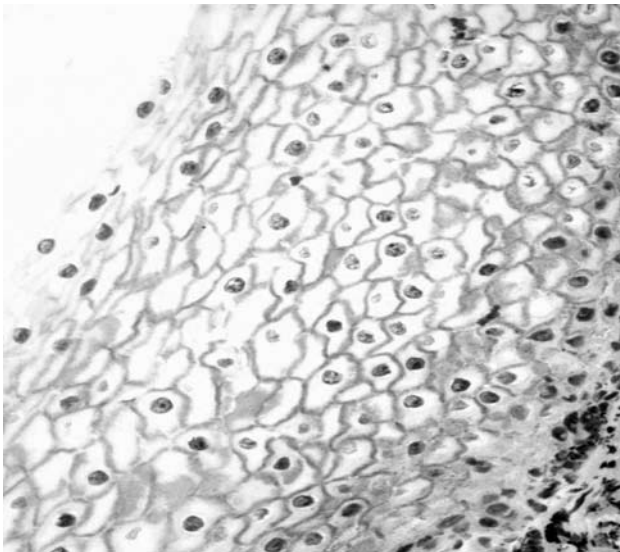
HASTALAR VE YÖNTEMLER

Çalışma 2009 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında yapıldı. Çalışmaya 1998-2005 yılları arasında anabilim dalımızda incelenen 41 prekanseröz larengeal lezyon olgusu (3 kadın, 38 erkek; ort. yaş 54 yıl; dağılım 8-80 yıl) dahil edildi. Kırk bir larengeal hiperplastik-displastik lezyon olgusu bölümümüzde çalışan iki değerlendirmeci tarafından (EK, YG) histopatolojik olarak DSÖ ve Ljubljana sınıflamasına göre değerlendirildi.^[6,7] Ljubljana sınıflamasına göre düşük risk grubunda 20 olgu (2 olgu basit hiperplazi, 18 olgu anormal hiperplazi), yüksek risk grubunda 21 olgu (15 olgu atipik hiperplazi, 6 olgu karsinoma

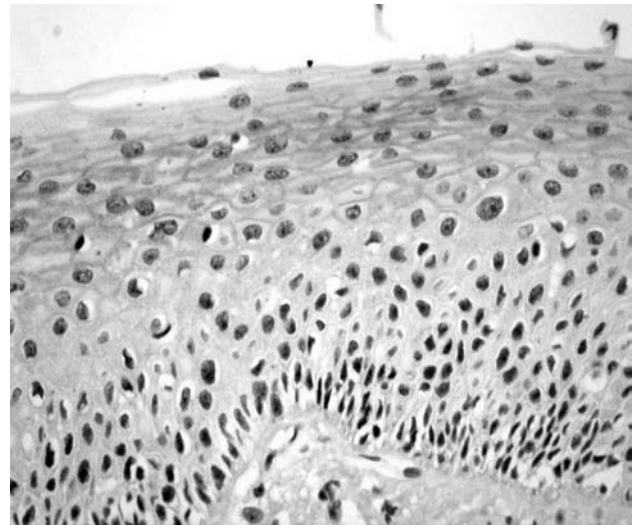
insitu); DSÖ sınıflamasına göre düşük risk grubunda 13 olgu (1 olgu skuamöz hücre hiperplazisi, 12 olgu hafif displazi), yüksek risk grubunda 28 olgu (9 olgu orta displazi, 12 olgu şiddetli displazi, 7 olgu karsinoma insitu) bulunmakta idi. Parafin bloklardan 4 µm'luk kesitler alındı. Kesitlere immünohistokimyasal yöntemle E-cadherin (HECD-1 Zymed Laboratories Inc. San Francisco, CA, USA) uygulandı. Ekspresyon; 0: yok, 1: bozuk intrastoplazmik, 2: mikst, 3: tam membranöz olarak değerlendirildi. Yüzde 10'dan fazla alanda normal membranöz ekspresyon kaybı gösteren olgular mikst olarak kabul edildi. E-cadherin ekspresyonu 0 ve 1 olan olgular ekspresyon yokluğu, 2 ve 3 olan olgular ekspresyon varlığı olarak değerlendirildi. Her iki sınıflamaya göre E-cadherin ekspresyonları arasındaki fark Windows için 13.0 versiyon (SPSS Inc., Chicago, Illionis, USA) paket programı kullanılarak Ki-kare testiyle değerlendirildi.

BULGULAR

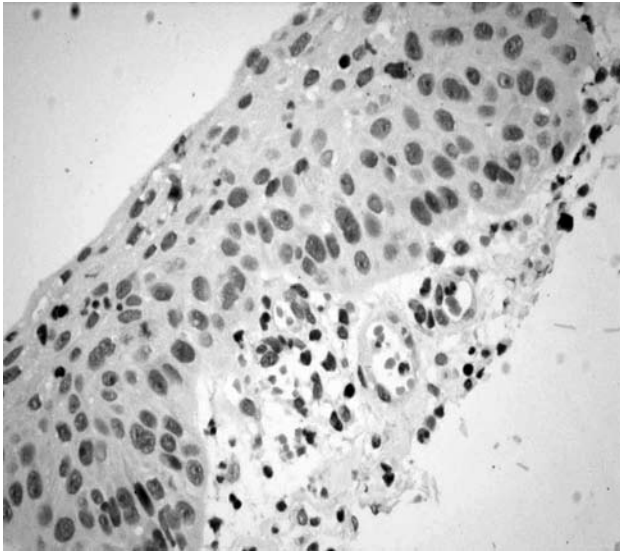
Mikroskopik değerlendirmede; Ljubljana sınıflaması temel alındığında, epitelyal lezyonların histolojik tanısı olguların ikisinde basit hiperplazi, 18'inde anormal hiperplazi, 15'inde atipik hiperplazi ve altısında karsinoma insitu olarak değerlendirildi. Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre ise; olguların biri skuamöz hiperplazi, 12'si hafif derecede displazi, dokuzu orta derecede displazi, 12'si şiddetli displazi ve yedisi karsinoma insitu olarak değerlendirildi. E-cadherin 15 olguda normal membranöz (+++), 15 olguda mikst (++) ve beş olguda stoplazmik (+) boyandı.



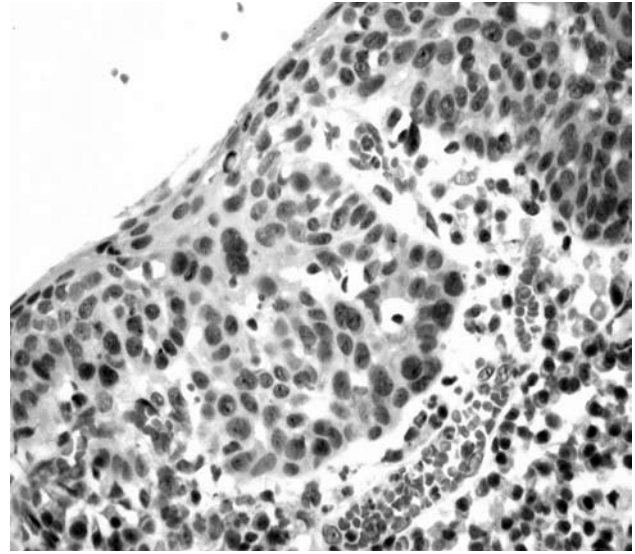
Şekil 1. Normal epitel hücre membranında diffüz membranöz E-cadherin pozitifliği (İHK; E-cadherin x 100).



Şekil 2. Lubljana: Anormal hiperplazi, WHO: Hafif displazi olgusunda epitelin üst kısımlarında membranöz E-cadherin ekspresyonu (İHK; E-cadherin x 200).



Şekil 3. Ljubljana: Atipik hiperplazi, WHO: Şiddetli displazi olgusunda E-cadherin ekspresyon yokluğu (IHK; E-cadherin x 200).



Şekil 4. Karsinoma insitu (Ljubljana ve WHO) olgusunda dif-füz intrastoplazmik zayıf E-cadherin ekspresyonu (IHK; E-cadherin x 200).

Altı olguda E-cadherin membranöz boyanmasında tam kayıp izlendi. Normal epitelde; E-cadherin'in kuvvetli membranöz pozitifliği izlendi (Şekil 1). Displazik lezyonlarda; lezyonun şiddeti arttıkça E-cadherin yapımında azalma izlendi (Şekil 2-4). Ljubljana sınıflamasında; karsinoma insitu tanısı konan olguların %50'sinde (3/6) E-cadherin ekspresyonu bozuk iken, basit hiperplazi ve anormal hiperplazide %85 (17/20) olguda normal yapım izlendi. Ljubljana sınıflamasında ekspresyon kaybı yüksek riskli epitelde %38.1 (8/21) izlenirken düşük riskli epitelde %15 (3/20) bulundu ($p=0.09$). Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre; karsinoma insitu tanısı konan olguların %42.8'inde (3/7) E-cadherin ekspresyonu bozukken, skuamöz hiperplazi olgusunda ve hafif displazilerin %76.9'unda (10/13) normal sentez izlendi. Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasında ekspresyon kaybı yüksek riskli epitelde

%32.1 (9/28), düşük riskli epitelde %15.4 (2/13) olarak saptandı ($p=0.26$). Ljubljana sınıflamasında ekspresyon kaybı yüksek riskli epitelde %38.1 (8/21) olarak bulunurken düşük riskli epitelde bu oran %15 (3/20) bulundu ($p=0.09$; Tablo 1, 2).

TARTIŞMA

Günümüzde larenksin hiperplastik-displastik lezyonları üzerinde, halen tam olarak fikir birliğine varılamamış olsa da 20'den fazla sınıflama önerilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü ve Ljubljana sınıflamaları rutinde en çok başvurulanlarıdır.^[2,8] Cadherin'ler hücre adezyon reseptörü ailesi olarak hücrelerin karşılıklı ilişkilerinde önemli rol oynarlar.^[9] E-cadherin; çeşitli epitelde Ca^{++} bağımlı hücre-hücre adhezyonuna aracılık eden bir transmembran proteindir.^[10]

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre E-cadherin ekspresyon paternleri ($p=0.26$)

	E-cadherin ekspresyonu									
	Yok		Bozuk		Karışık		Normal		Toplam	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Dünya Sağlık Örgütü										
Skuamöz hiperplazisi	–	–	–	–	–	–	1	100	1	100
Hafif hiperplazisi	1	8	1	8	4	33	6	50	12	100
Orta hiperplazisi	1	11	2	22	2	22	4	44	9	100
Ağır hiperplazisi	2	16	1	8	6	50	3	25	12	100
Karsinoma insitu	2	28	1	14	3	42	1	14	7	100
Toplam	6	14	5	12	15	36	15	36	41	100

Tablo 2. Ljubljana sınıflamasına göre E-cadherin ekspresyon paternleri (p=0.09)

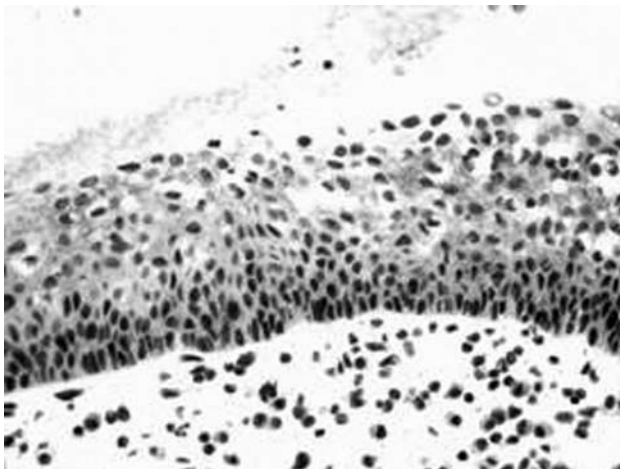
	E-cadherin ekspresyonu									
	Yok		Bozuk		Karışık		Normal		Toplam	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Ljubljana sınıflaması										
Basit hiperplazisi	-	-	-	-	-	-	2	100	2	100
Anormal hiperplazisi	1	5	2	11	9	50	6	33	18	100
Atipik hiperplazisi	3	20	2	13	4	26	6	40	15	100
Karsinoma insitu	2	33	1	16	2	33	1	16	6	100
<i>Toplam</i>	6	14	5	12	15	36	15	36	41	100

E-cadherin ekspresyonunun değişik tümörlerde malignite ve prognozla bağlantısı çok araştırılmış bir konudur. Anormal E-cadherin salınımı birçok tümörde tümörün evresi, diferansiyasyon derecesi, invazivitesi, lenf nodu tutulumu ve uzak yayılım gibi patolojik karakteristikleri ile ilişkili bulunmuştur.^[11-16] Pankreasın malign transformasyonunda E-cadherin salınımındaki değişimler bildirilmiştir.^[17] Perl ve ark.^[17] E-cadherin kaybının malign gelişim sürecinde ve hiperplastik premalign dokudan invaziv karsinoma geçiş sürecinde önemli bir basamak olduğunu ileri sürmüşlerdir. Preinvaziv lezyonlarda E-cadherin salınımındaki değişiklik ve azalma kolon, serviks ve Barrett özofagus displazisinde tanımlanmıştır.^[18-20]

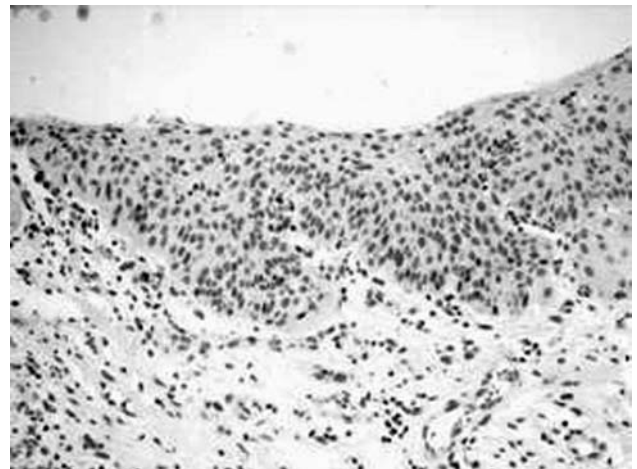
Baş-boyun bölgesinin skuamöz hücreli karsinomlarında E-cadherin ekspresyonu ve prognostik kriterler arasındaki ilişkiler de incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Rodrigo

ve ark.^[11] E-cadherin ekspresyonundaki azalmayla baş-boyun bölgesinin skuamöz hücreli karsinomlarının prognozu arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu iddia etmişlerdir. E-cadherin ekspresyonunun azalması ile sağkalım ve tümör nüksü arasında doğrudan bir ilişki olmadığını belirten yayınlar da vardır.^[21,22] Takes ve ark.^[23] ise larenks skuamöz hücreli karsinomlarında yaptıkları bir çalışmada lenf nodu yayılımı ile E-cadherin ekspresyonu arasında bağlantı bulamamışlardır.

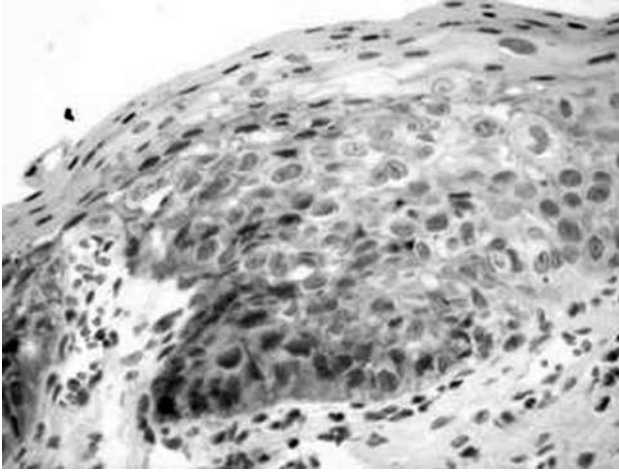
Özofagusta ve farenkste izlenen gastroözofageal reflü sonucu gelişen larengofarengal reflü epitelde belirgin hasarlanma yapan ve premalign olduğu kabul edilen bir antitedir.^[24-26] Johnston ve ark.^[27] larengofarengal reflüsü olan hastaların larengal mukozalarında E-cadherin salınımının azaldığını saptamışlardır. Ancak E-cadherindeki değişimin reflüyle gelişen enflamatuvar sürece cevaben mi geliştiği yoksa E-cadherinin larengal anomalilere yol açan mediatörlerden mi



Şekil 5. Ljubljana: Atipik hiperplazi, WHO: Orta derecede displazi olgusunda bozuk E-cadherin ekspresyonu (IHK; E-cadherin x 100).



Şekil 6. Ljubljana: Atipik hiperplazi, WHO: Orta derecede displazi olgusunda E-cadherin ekspresyon kaybı (IHK; E-cadherin x 100).

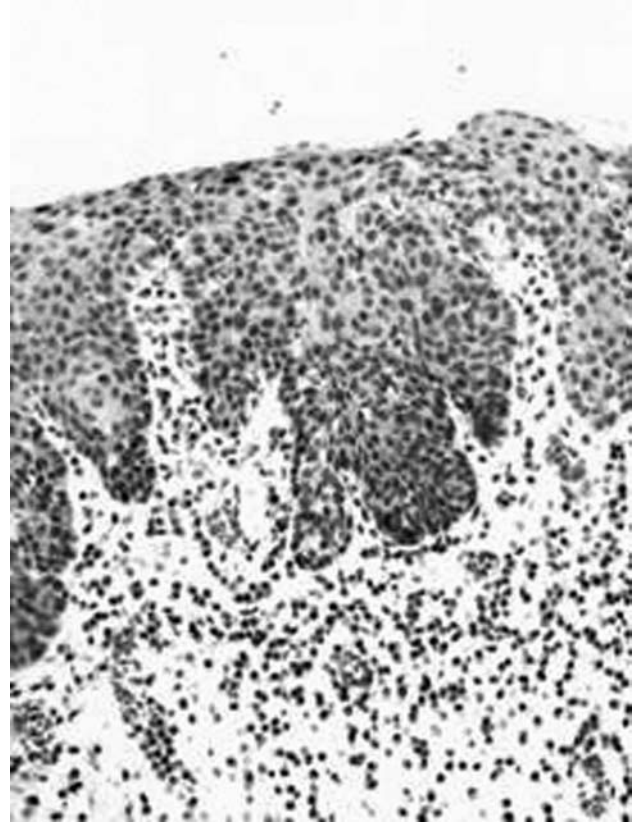


Şekil 7. Ljubljana: Atipik hiperplazi, WHO: Orta derecede displazi olgusunda mikst E-cadherin ekspresyonu (İHK; E-cadherin x 200).

kaynaklandığı konularının çok net olmadığını belirtmişlerdir.

Baş-boyun bölgesi skuamöz hücreli karsinomu dahil çeşitli kanser tiplerinde E-cadherin protein yapımının azaldığı birçok çalışma ile ortaya konmuştur.^[28] Liu ve ark.^[29] vokal kordda karsinoma insitu ve mikroinvaziv karsinom olgularında E-cadherin'in korunduğunu, invaziv karsinomda ise azaldığı ya da kaybolduğunu saptamışlardır. Biz de çalışmamızda; karsinoma insitu olgularının yaklaşık yarısında ekspresyonun korunduğunu izledik.

Massarelli ve ark.^[30] larenks (n=15) ve oral kavite (n=31) prekanseröz lezyonlarında yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada; E-cadherin ekspresyon kaybının larenks karsinogenezinde erken evrelerde başladığını bildirmişlerdir. Beş skuamöz hiperplazi olgusundan birinde (%20), 13 hafif displazi olgusunun altısında (%46), 12 şiddetli displazi olgusunun yedisinde (%58) E-cadherin salınım yokluğu saptamışlardır. Biz de Massarelli ve ark.^[30] gibi düşük risk grubundaki olgularımızda bile E-cadherin ekspresyon kaybı ve bozukluğu izledik. Williams ve ark.^[31] ise ağız boşluğunun prekanseröz ve invaziv lezyonlarında yaptıkları çalışmada; invaziv tümörlere komşu iki şiddetli displazi ve dört karsinoma insitu olgusundan sadece bir şiddetli displazi (1/6) olgusunda E-cadherin pozitifliği saptamışlardır. Sonuçta; invaziv tümörlere komşu karsinoma insitu alanlarında E-cadherin ekspresyonunun azaldığı ya da yok olduğunu saptamışlar ve E-cadherin/catenin kompleksinin



Şekil 8. Karsinoma insitu (Ljubljana ve WHO) olgusunda bozuk E-cadherin ekspresyonu (İHK; E-cadherin x 200).

hasarlanmasının invazyon ile bağlantılı geç bir bulgu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Biz de çalışmamızda; karsinoma insitularında belli bir oranda E-cadherin ekspresyonunda kayıp izledik.

Sonuç olarak, larenksin hiperplastik ya da displastik prekanseröz lezyonlarında lezyonun şiddeti arttıkça E-cadherin ekspresyonu azalmaktadır. Ancak bazı karsinoma insitu olgularında bile normal ekspresyon izlenmesi bulgunun tanısal değerini sınırlamaktadır. Larenksin invaziv yassı epitel hücreli karsinomunda da normal E-cadherin ekspresyonunun bulunabilmesi de bu fikri desteklemektedir. E-cadherin ekspresyon kayıpları açısından, DSÖ ve Ljubljana sınıflama verileri karşılaştırıldığında Ljubljana sınıflamasında yüksek riskli ve düşük riskli epitelyum arasındaki fark daha belirgin bulundu. Ljubljana sınıflamasının malignleşme potansiyelini göstermede daha başarılı olduğunu, E-cadherin ekspresyon bozukluğunun tümöral gelişim sürecinde önemli rol oynadığını ancak tek başına lezyonun prognozunu belirleyecek nitelikte bir bulgu olmadığını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Gallo A, de Vincentiis M, Della Rocca C, Moi R, Simonelli M, Minni A, et al. Evolution of precancerous laryngeal lesions: a clinicopathologic study with long-term follow-up on 259 patients. *Head Neck* 2001;23:42-7.
2. Sengiz S, Pabuçcuoğlu U, Sarioğlu S. Immunohistological comparison of the World Health Organization (WHO) and Ljubljana classifications on the grading of preneoplastic lesions of the larynx. *Pathol Res Pract* 2004;200:181-8.
3. Guilford P. E-cadherin downregulation in cancer: fuel on the fire? *Mol Med Today* 1999;5:172-7.
4. Andrews NA, Jones AS, Helliwell TR, Kinsella AR. Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases. *Br J Cancer* 1997;75:1474-80.
5. Herbst RS, Langer CJ. Epidermal growth factor receptors as a target for cancer treatment: the emerging role of IMC-C225 in the treatment of lung and head and neck cancers. *Semin Oncol* 2002;29(1 Suppl 4):27-36.
6. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2005.
7. Hellquist H, Cardesa A, Gale N, Kambic V, Michaels L. Criteria for grading in the Ljubljana classification of epithelial hyperplastic laryngeal lesions. A study by members of the Working Group on Epithelial Hyperplastic Laryngeal Lesions of the European Society of Pathology. *Histopathology* 1999;34:226-33.
8. Gale N, Pilch BZ, Sidransky D, Naggar AEL, Westra W, Califano J, et al. Epithelial precursor lesions. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of head and neck tumors. Lyon: IARC Press; 2005.
9. Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 1991;251:1451-5.
10. Schipper JH, Frixen UH, Behrens J, Unger A, Jahnke K, Birchmeier W. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res* 1991;51:6328-37.
11. Rodrigo JP, Domínguez F, Alvarez C, Manrique C, Herrero A, Suárez C. Expression of E-cadherin in squamous cell carcinomas of the supraglottic larynx with correlations to clinicopathological features. *Eur J Cancer* 2002;38:1059-64.
12. Bukholm IK, Nesland JM, Kåresen R, Jacobsen U, Børresen-Dale AL. E-cadherin and alpha-, beta-, and gamma-catenin protein expression in relation to metastasis in human breast carcinoma. *J Pathol* 1998;185:262-6.
13. Pignatelli M, Ansari TW, Gunter P, Liu D, Hirano S, Takeichi M, et al. Loss of membranous E-cadherin expression in pancreatic cancer: correlation with lymph node metastasis, high grade, and advanced stage. *J Pathol* 1994;174:243-8.
14. Shun CT, Wu MS, Lin JT, Wang HP, Houng RL, Lee WJ, et al. An immunohistochemical study of E-cadherin expression with correlations to clinicopathological features in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 1998;45:944-9.
15. De Marzo AM, Knudsen B, Chan-Tack K, Epstein JI. E-cadherin expression as a marker of tumor aggressiveness in routinely processed radical prostatectomy specimens. *Urology* 1999;53:707-13.
16. 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;24:384-9.
17. Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, Semb H, Christofori G. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. *Nature* 1998;392:190-3.
18. Krishnadath KK, Tilanus HW, van Blankenstein M, Hop WC, Kremers ED, Dinjens WN, et al. Reduced expression of the cadherin-catenin complex in oesophageal adenocarcinoma correlates with poor prognosis. *J Pathol* 1997;182:331-8.
19. Gagliardi G, Kandemir O, Liu D, Guida M, Benvestito S, Ruers TG, et al. Changes in E-cadherin immunoreactivity in the adenoma-carcinoma sequence of the large bowel. *Virchows Arch* 1995;426:149-54.
20. Vessey CJ, Wilding J, Folarin N, Hirano S, Takeichi M, Soutter P, et al. Altered expression and function of E-cadherin in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J Pathol* 1995;176:151-9.
21. Bowie GL, Caslin AW, Roland NJ, Field JK, Jones AS, Kinsella AR. Expression of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1993;18:196-201.
22. Mattijssen V, Peters HM, Schalkwijk L, Manni JJ, van 't Hof-Grootenboer B, de Mulder PH, Ruiters DJ. E-cadherin expression in head and neck squamous-cell carcinoma is associated with clinical outcome. *Int J Cancer* 1993;55:580-5.
23. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Schuurings E, Hermans J, Vis AA, Litvinov SV, et al. Markers for assessment of nodal metastasis in laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123:412-9.
24. Gill GA, Johnston N, Buda A, Pignatelli M, Pearson J, Dettmar PW, et al. Laryngeal epithelial defenses against laryngopharyngeal reflux: investigations of E-cadherin, carbonic anhydrase isoenzyme III, and pepsin. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114:913-21.
25. Spechler SJ, Goyal RK. The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia, and Norman Barrett. *Gastroenterology* 1996;110:614-21.
26. Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999;340:825-31.
27. Johnston N, Bulmer D, Gill GA, Panetti M, Ross PE, Pearson JP, et al. Cell biology of laryngeal epithelial defenses in health and disease: further studies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:481-91.
28. Wijnhoven BP, Dinjens WN, Pignatelli M. E-cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. *Br J Surg* 2000;87:992-1005.
29. Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Remacle M. Expression of E-cadherin adhesion molecule in vocal cord carcinomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;254:417-21.

30. Massarelli E, Brown E, Tran NK, Liu DD, Izzo JG, Lee JJ, et al. Loss of E-cadherin and p27 expression is associated with head and neck squamous tumorigenesis. *Cancer* 2005;103:952-9.
31. Williams HK, Sanders DS, Jankowski JA, Landini G, Brown AM. Expression of cadherins and catenins in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1998;27:308-17.