



جامعة دمشق

كلية طب الاسنان

قسم النسيج والتشريح المرضي

العلاقة ما بين بروتينات اللصق بين الخلوية ودرجة خباثة السرطان شائك الخلايا الفموي

The Correlation between Intercellular Adhesion Proteins and the Degree of Malignancy of Oral Squamous Cell Carcinoma

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في اختصاص النسيج والتشريح المرضي
الفموي

إعداد الباحثة : رنا إبراهيم

إشراف الأستاذ الدكتور: أحمد المنديلي

أستاذ في قسم النسيج والتشريح المرضي كلية طب الاسنان - جامعة دمشق

نقيب المعلمين في جامعة دمشق

1435هـ-2015م

تصريح

" لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم أخذه بالكامل من عمل آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في هذه الجامعة أو أي جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي "

كلمة شكر

في البداية أحمد الله عز وجل على توفيقني في إتمام هذا البحث، ومن ثم أتقدم بالشكر الجزيل لأستاذي الأستاذ الدكتور المشرف أحمد المنديلي نقيب المعلمين في جامعة دمشق على ما قدمه لي من خبرة ودعم ساعدني في إتمام هذا البحث.

كما أشكر لجنة التحكيم الأستاذة الدكتورة رائدة الخاني، والأستاذ الدكتور شريف بركات رئيس قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان لتكريمهما بقبول تحكيم هذا البحث.

وأتوجه بالشكر لإدارة كلية طب الأسنان ممثلة بالأستاذة الدكتورة رزان خطاب عميد كلية طب الأسنان والأستاذ الدكتور إياد الشعراني نائب العميد للشؤون العلمية والأستاذ الدكتور ياسر المدلل نائب العميد للشؤون الإدارية.

كما أتقدم بعميق شكري وامتناني للأستاذتي في قسم النسيج والتشريح المرضي الدكتور قصي عزيز والدكتور ممدوح المحارب والدكتور نبيل قوشجي، وللدكتور عمر حمادة لملاحظاته القيمة، والسيد ناصر كتابي لما قدمه لي من خبرة في المجال العملي.

أيضاً أوجه كل الشكر للدكتور أشرف شريطح، وكادر قسم التشريح المرضي في مشفى البيروني ممثلاً برئيسه الدكتور سهام سرحان، وأيضاً الدكتورة ازدهار اسمندر والدكتور حسين نبعة لتكريمهما بتدقيق هذا البحث لغوياً، والسيد محمد طه لمساعدته في إنجاز الدراسة الإحصائية.

كما لا أنسى بالشكر الأنسة إيمان خضور والسيد أسامة ابراهيم من قسم الديوان.

وأخيراً أوجه شكري لزملائي الدكتور أنس رباطة والدكتورة محسنة الدعبل والدكتورة أميرة النور والدكتور طارق الذهبي لما قدموه من جهود مبذولة وملاحظات مفيدة ساعدتني في إتمام البحث.

قائمة المحتويات: List of Contents

المحتويات	رقم الصفحة
المقدمة	10
الهدف من البحث	12
الباب الأول: المراجعة النظرية	13
1- السرطان شائك الخلايا الفموي	14
1-1- الأسباب المؤهبة للسرطان شائك الخلايا	14
1-2- المظاهر السريرية للسرطان شائك الخلايا	16
1-3- الآلية الإمراضية للسرطان شائك الخلايا	17
1-4- المظاهر النسيجية المرضية للسرطان شائك الخلايا	18
2- الموصل بين الخلوية	22
1-2- الموصل اللاصق	24
2-2- طائفة الكادهيرينات	25
2-3- عائلة الكادهيرينات الكلاسيكية	28
2-4- الكادهيرينات من النمط I	29
2-4-1- المجال خارج الخلوي	30
2-4-2- المجال داخل الخلوي	35
2-4-3- الكادهيرين E	38
2-4-4- الكادهيرين P	53
2-4-5- الكادهيرين N	63
الباب الثاني: مواد البحث وطرائقه	74
1-2- العينة	75
2-2- المواد والأدوات المستخدمة	76
2-3- الأجهزة المستخدمة	79
2-4- طريقة العمل	80

80	2-4-1- تحضير العينات النسيجية
82	2-4-2- التلوين بالهيماتوكسيلين والأيوزين
83	2-4-3- التلوين المناعي
90	2-4-4- طريقة عد الخلايا
90	2-5- الاختبارات الاحصائية المستخدمة
92	الباب الثالث: النتائج
95	3-1- نتائج دراسة تعبيرية البروتين E-cad
95	3-1-1- نتائج دراسة تعبيرية E-cad في العينة الشاهدة وفي الدرجة الأولى من السرطان
98	3-1-2- نتائج دراسة تعبيرية E-cad في الدرجات الثلاث لخباثة السرطان
102	3-1-3- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad والجنس
102	3-1-4- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad والعمر
102	3-2- نتائج دراسة تعبيرية البروتين P-cad
102	3-2-1- نتائج دراسة تعبيرية P-cad في العينة الشاهدة وفي الدرجة الأولى من السرطان
104	3-2-2- نتائج دراسة تعبيرية P-cad في درجات السرطان الثلاث
107	3-2-3- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad والجنس
108	3-2-4- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad والعمر
108	3-3- نتائج دراسة تعبيرية البروتين N-cad
108	3-3-1- نتائج دراسة تعبيرية N-cad في درجات السرطان الثلاث
112	3-3-2- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad والجنس
112	3-3-3- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad والعمر
113	3-4- نتائج دراسة علاقة الكادهيرينات مع بعضها في درجات الخباثة المختلفة للسرطان شائك الخلايا الفموي
113	3-4-1- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و P-cad
114	3-4-2- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و N-cad

116	3-4-3- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad و N-cad
118	الباب الرابع: مناقشة النتائج
119	1-4- الكادهيرين E
122	2-4- الكادهيرين P
124	3-4- الكادهيرين N
126	4-5- مناقشة نتائج علاقة البروتينات ببعضها
128	الباب الخامس: الاستنتاجات
130	الباب السادس: المقترحات والتوصيات
133	الباب السابع: المراجع
	الملخص (عربي-أجنبي)
	الملحق

قائمة الجداول: List of Tables

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
70	مجموعة تعبيرية الكادهيرين N	1
81	المعايير المتبعة في تعيين الدرجة النسيجية	2
93	الحالات السرطانية المدروسة، من حيث بيانات المرضى ونتائج عد الخلايا للبروتينات الثلاث	3
94	نتائج عد الخلايا للعينه الشاهده لكل من الكادهيرين E والكادهيرين P.	4
97	نتائج مقارنة تعبيرية الكادهيرين E بين الدرجة الأولى من السرطان و العينه الشاهده	5
101	نتائج دراسة علاقة تعبيرية الكادهيرين E مع الجنس والعمر ودرجة الخباثة	6
104	نتائج تعبيرية الكادهيرين E بين الدرجة الأولى من السرطان و البشرة الطبيعية	7
107	يبين نتائج علاقة تعبيرية الكادهيرين P والجنس والعمر و درجة خباثة السرطان	8
112	نتائج علاقة تعبيرية الكادهيرين N مع الجنس والعمر ودرجة خباثة السرطان	9
116	نتائج العلاقة مابين الكادهيرين E والكادهيرين N	10
117	نتائج العلاقة بين تعبيرية الكادهيرين P والكادهيرين N.	11

قائمة الأشكال: List of Figures

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	الأشكال السريرية للسرطان شائك الخلايا الفموي	17
2	غزو الخلايا الشائكة السرطانية للنسيج الضام والأوعية الدموية	19
3	درجات التمايز الثلاث للسرطان شائك الخلايا. أ. السرطان جيد التمايز. ب. متوسط التمايز. ج. سيء التمايز	21
4	معقد الاتصال في النسيج البشروية	23
5	الموصل اللاصق المكون من معقد نكتين - أفادين، ومعقد كادهيرين - كاتينين	26
6	الاختلافات في بنية كل من المجالات خارج وداخل الخلية لعائلات طائفة الكادهيرينات	27
7	وظائف الكادهيرينات المختلفة	30
8	بنية الكادهيرين المكونة من صفيحتي بيتا و النهائيين الأمينية والكربونية	31
9	بنية المجال الخارجي للكادهيرين عند الارتباط بشوارد الكالسيوم	32
10	اندخال Trp-2 من EC1 من الكادهيرين E الأول داخل جيب متوضع في EC1 من الكادهيرين المقابل	33
11	الأشكال المختلفة للكادهيرين على السطح الخلوي	35
12	بنية الكادهيرين الكلاسيكي بمجالاته الثلاث، وبنية الكاتينينات المرتبطة به	37
13	الكادهيرين E في المسافة بين الخلية، و البروتينات المرتبطة به، إضافة إلى آلية ربط الكاتينين α للكادهيرين والأكتين	39
14	عملية نقل الكادهيرين E و تنظيمه	42
15	الآليات المعطلة للكادهيرين E في سياق التنشؤ الورمي	48
16	شطر المجال الخارجي والسيئوبلاسمي للكادهيرين، ومصير كل	50

	منهما	
54	التشابه ما بين مورثة الكادهيرين E والكادهيرين P	17
55	بنية الكادهيرين P والكاتينينات المرافقة له	18
61	الكادهيرين P في سياق التشو الورمي	19
62	تنظيم تعبيرية الكادهيرين P.	20
76	توزع الحالات السرطانية تبعا لموقع الاصابة	21
76	توزع الحالات السرطانية تبعا لجنس المريض	22
77	المواد المستخدمة في البحث	23
78	أ. محلول سترات الصوديوم (PH=6)، ب. محلول EDTA (PH=8)، ج. المحلول الدارئ (PBS)، د. محلول كبح البيروكسيداز	24
79	مجموعة التلوين المناعي	25
80	الأجهزة المستخدمة في البحث	26
83	السرطان شائك الخلايا بدرجاته الثلاث	27
84	حمامات الكزيلول والكحول المترجة	28
85	مرحلة استرجاع المستضد	29
86	مرحلة كبح البيروكسيداز	30
86	غسل وغمر الشرائح بالمحلول الدارئ	31
87	تطبيق الضد الأولي E-cadherin	32
87	تطبيق الضد الأولي P-cadherin	33
88	تطبيق الضد الأولي N-cadherin	34
88	تطبيق الضد الثانوي	35
89	تطبيق المادة الملونة	36
96	الكادهيرين E في العينة الشاهدة	37
96	الكادهيرين E في الدرجة الأولى من السرطان	38
97	الكادهيرين E في الدرجة الأولى من السرطان (2)	39
98	نسب الخلايا الايجابية في الدرجات الثلاث للسرطان	40

99	الكادهيرين E في الدرجة الثانية من السرطان	41
99	الكادهيرين E في الدرجة الثانية من السرطان(2)	42
100	الكادهيرين E في الدرجة الثالثة من السرطان	43
100	الكادهيرين E في الدرجة الثالثة من السرطان(2)	44
101	الكادهيرين E في الدرجة الثالثة من السرطان (3)	45
103	تعبيرية الكادهيرين P في البشرة الطبيعية	46
104	تعبيرية الكادهيرين P في الدرجة الأولى من السرطان	47
105	نسب الخلايا الايجابية للكادهيرين P في درجات الثلاث للسرطان	48
106	الكادهيرين P في الدرجة الثانية من السرطان	49
106	تعبيرية الكادهيرين P في الدرجة الثالثة من السرطان	50
108	نسب الخلايا الايجابية للكادهيرين N في درجات السرطان الثلاث	51
109	تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الأولى من السرطان	52
109	تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الثانية من السرطان	53
110	تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الثالثة من السرطان	54
110	تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الثالثة من السرطان	55
114	العلاقة ما بين الكادهيرين E والكادهيرين P.	56
115	العلاقة ما بين الكادهيرين E والكادهيرين N	57
116	العلاقة ما بين الكادهيرين P والكادهيرين N.	58

جدول الاختصارات: List of Abbreviations

الاختصار	الاسم الكامل
p53	Protein 53
BCL2	B-cell lymphoma-2
BCLXL	B-cell lymphoma-extra large
HPV	Human Papilloma Virus
TIF	Tumor Invasive Front
Rb	Retinoblastoma
EC	Extra Cadherin repeat
CNR	cadherin-related neuronal receptor
Trp-2	Tryptophan-2
HAV	Histidin-Alanin-Valin
NM II	Nonmuscle myosin II
Ena/VASP	Enabled/Vasodilator-stimulator phosphoprotein
GTPases	Guanosine triphosphatase
β -ctn	Beta-catenin
CBD	Cadherin Binding Domain
JMD	Juxta Membrane Domain
CH2/CH3	Cadherin Homology region
VH3	vinculin homology domain 3
EPLIN	Epithelial Protein Lost In Neoplasm
ZO-1	Tight junction protein 1
EGF	Epidermal Growth Factor
Wnt	Wingless family int1
Rho	Ras homology
KLRG1	Killer cell Lectin-like receptor G1
NK	Natural Killer
CD4	Cluster of differentiation antigen 4
WT1	Wilm's Tumor
HNF3	hepatocyte nuclear factor-3
ZEB1,ZEB2	Zinc finger E-box binding homeobox1
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
MMPs	Matrix Metallo Proteinases
ADAM	A Disintegrin And Metalloproteinase domain-containing protein

Cystein- aspartic proteases	Caspase
Presenilin-1	PS-1
Calcium-dependent, non-lysosomal cystein proteases	calpain
T-cell factor/ lymphoid enhancer factor	TCF/ LEF
Hepatocyte Growth Factor Receptor	HGFR
Ras-related c3 botulinum toxin substrate	Rac
Cell division control protein 42 homology	Cdc42
Ras homomlogy protein member A	RhoA
Epithelial to Mesenchymal Transition	EMT
Mesenchymal to Epithelial Transition	MET
Transforming growth factor-beta	TGF-beta
Rat sarcoma	Ras
loss of heterozygosity	LOH
5-aza-2'-deoxycytidine ⁷	5AzaC7
Soluble E-cadherin	sE-cad
Extra Cellular Matrix	ECM
Mitogen activated Protein kinase- extracellular signal regulated kinase	MAPK- ERK
Fibroblast Growth Factor Receptor	FGFR
glycogen synthase kinase 3-Beta	GSK3-β
Focal Adhesion Kinase	FAK
Protein 63	P63
hypotrichosis with juvenile macular dystrophy	HJMD
ectodermal dysplasia, ectrodactyly, macular dystrophy	EEM
CCAAT/enhancer-binding proteinβ	C/EBP-β
Estrogen Receptor	ER
Breast Carcinoma1	BRCA1
Messenger RNA	mRNA
Roundabout-3	Robo-3
Suppression of movement	S
Modulation of movement	M
SRY (sex determining region Y)-box 9	SOX9

المقدمة:

يزداد العبء العالمي للسرطان في البلدان النامية اقتصادياً نتيجة زيادة معدل الأعمار، وزيادة التعداد السكاني إضافة إلى تبني نمط الحياة المرافق للسرطان كالتدخين، والنظام الغذائي الغربي، وقلة النشاط الجسدي.

يعد السرطان السبب الرئيسي للوفيات في البلدان المتطورة اقتصادياً، والسبب الثاني للوفيات في البلدان النامية، إذ تم تقدير حدوث حوالي 12.7 مليون حالة سرطان و 7.6 مليون حالة وفاة جراء السرطان في مختلف أرجاء العالم للعام 2008 (Jemal et al., 2011).

يحتل سرطان الرأس و العنق المرتبة الخامسة من ناحية شيوع السرطانات على مستوى العالم، 40% منها يشاهد في الحفرة الفموية (Ruback et al., 2012)، فقد قدر حدوث 263,900 حالة جديدة و 128,000 وفاة من سرطانات الحفرة الفموية (متضمنة الشفة) في العام 2008 في مختلف أرجاء العالم، أما في منطقة غرب آسيا فهو يشكل 2.9% من مجمل السرطانات عند الذكور، و 1.6% عند الإناث (Jemal et al., 2011).

رغم الكم الهائل من الأبحاث حول السرطان شائك الخلايا الفموي، والتقدم الكبير في مجالي الجراحة وعلم الأورام إلا أن معدل الوفيات الناجمة عن إصاباته لم يتغير، مما يعد تحدياً حقيقياً لطرق تقييم الإنذار المتوفرة ويحفز إلى البحث عن واسمات أفضل تساعد على تحسين معالجة المرضى المصابين.

انطلاقاً من هذه الفكرة، فقد أصبح تقصي التبدلات التي تصيب تعبيرية العديد من البروتينات في الخلية الشائكة أثناء تحولها في سياق السرطان مقصد العديد من الدراسات بهدف إيجاد واسمات Markers جديدة تساهم في إعطاء تقييم نسيجي أدق، وبالتالي تقييم الإنذار بشكل أفضل للسرطان شائك الخلايا الفموي.

من بين هذه البروتينات بروتينات اللصق بين الخلوي Intercellular Adhesion وخاصة عائلة الكادهيرينات الكلاسيكية Classical Cadherins ، التي تناولتها الدراسات بكثرة في السنوات الماضية نظرا لأهميتها في الحد من هجرة الخلايا الورمية، و بالتالي الحد من الغزو و الاستعمار في العديد من السرطانات البشرية.

من هنا برزت أهمية تقصي تعبيرية بعض هذه البروتينات في السرطان شائك الخلايا، وتحري فعاليتها كواسم للسلوك البيولوجي لخلايا هذا السرطان ، وبالتالي إسقاطاتها على الناحية السريرية من ناحية تحسين الإنذار، و المعالجة وبالتالي نسبة البقاء عند المرضى.

الهدف من البحث

يهدف هذا البحث إلى :

1. دراسة تعبيرية كل من البروتينين E-cadherin ، P-cadherin في الدرجة الأولى من السرطان شائك الخلايا الفموي، ومقارنتها بتعبيريهما في البشرة الفموية الطبيعية.
2. دراسة تعبيرية كل من البروتينات E-cadherin ، P-cadherin ، N-cadherin في الدرجات المختلفة من السرطان شائك الخلايا الفموي.
3. دراسة علاقة تعبيرية هذه البروتينات مع بعضها في الدرجات المختلفة من السرطان شائك الخلايا الفموي.
4. دراسة علاقة تعبيرية كل من هذه البروتينات مع عمر المريض وجنسه.

المادة الأولى

المراجعة النظرية

1- السرطان شائك الخلايا الفموي

يعرف السرطان شائك الخلايا الفموي تبعاً لمنظمة الصحة العالمية WHO بأنه تنشؤ ورمي بشروي غازٍ، ذو درجات مختلفة من التمايز، وذو ميل لأن يعطي نقائل إلى العقد اللمفية بشكل شديد ومبكر (Barnes et al., 2005).

يشكل السرطان شائك الخلايا الفموي مايقارب 95% من سرطانات الرأس والعنق (Ruback et al., 2012)، وقد ازدادت نسبة حدوثه خلال العقد الماضي بنسبة 50%. وعلى الرغم من تعدد طرق علاج هذا السرطان من جراحية وكيميائية وشعاعية، إلا أن نسبة البقاء لانتجاوز 53% بسبب نسبة النكس العالية لهذا السرطان، إضافة إلى التجاوب الضعيف مع العلاج (Rivera and Venegas, 2014).

تختلف معدلات الإصابة السنوية به ومعدلات البقاء بين البلدان المختلفة، تبعاً لعادات الشعوب المختلفة، وفترة الحياة المتوقعة، وثقافة الوقاية، ونوعية السجلات الطبية في البلدان المختلفة (Neville, 2009).

1-1- الأسباب المؤهبة للإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي:

▪ تدخين التبغ سواء المدخن أو المستعمل على شكل مضغ أو نشوق:

تدخين التبغ هو المصدر الأكثر انتشاراً للتعرض للمسرطنات المعروفة في العالم، فهو مرتبط بما لا يقل عن 10 أنواع من السرطانات (Hecht, 2003, Vineis et al., 2004)، وهو مسؤول عن 21% من وفيات السرطان العالمية، و42% من وفيات سرطان الحفرة الفموية (Jemal et al., 2011).

يزيد الاستخدام المزمن للتبغ غير المدخن (على شكل مضغ أو نشوق) من خطورة الإصابة بالسرطان الفموي، إذ تحتوي منتجات التبغ التقليدية المستخدمة مستويات مرتفعة جداً من النترورامينات الخاصة بالتبغ، التي تعتبر مسرطنة بشكل كبير. (Barnes et al., 2011).

(2005)، كما أن جوز الأريكا سواء استخدم وحده أم ضمن مضغ التبغ فقد اعتبر مادة مسرطنة بشرية (Cawson and Odell, 2008).

■ المشروبات الكحولية :

يعد الكحول ثاني أهم عامل مؤهب لتطور السرطان الفموي (Neville, 2009, Ruback et al., 2012)، حيث يشكل الاستهلاك الشديد للكحول 16% من وفيات سرطان الحفرة الفموية (Jemal et al., 2011). يترافق تعاطي الكحول مع الطلاوة الفموية، وتحولها الخبيث إلى السرطان (WARNAKULASURIYA, 2011)، إضافة إلى تصنيف الإيتانول من قبل الوكالة العالمية لأبحاث السرطان كمسرطن بشري، وارتباطه بسرطانات المسلك الهضمي الهوائي العلوي (Zygogianni et al., 2011a).

إضافة إلى ذلك فقد لوحظ أن الكثير من المرضى الكحوليين هم أيضا مدخنون للسجائر. وقد وجد أن هذا التعاطي المتآزر يزيد من خطورة سرطانات الرأس والعنق حتى 40 ضعفاً (Ruback et al., 2012)، كما أنه يعزز من خطورة تشكيل ورم بدئي ثانٍ عند المرضى المصابين بورم سابق في المسلك الهضمي الهوائي العلوي (Do et al., 2011b, Zygogianni et al., 2003).

■ العدوى بالفيروس الحليمي البشري HPV :

تم التعرف على دنا DNA الفيروس الحليمي البشري في حوالي 24% من السرطانات الشائكة الفموية المواقع التي تترافق مع السرطانات الشائكة المترافقة مع الفيروس الحليمي البشري هي اللوزات، وقاعدة اللسان، والبلعوم الفموي. يعتبر HPV-16 أكثر الأنماط شيوعاً حيث يشكل حوالي 16% من السرطانات الشائكة الفموية ويليه النمط HPV-18 إذ يشاهد في 8% من هذه السرطانات (Salahshourifar et al., 2014, Sasahira et al., 2014).

■ عوز الحديد:

يترافق عوز الحديد وخاصة الحالات الشديدة المزمنة منه كمتلازمة بلمر - فنسن،

أو متلازمة باترسون - كيلي مع خطورة أكبر للإصابة بسرطان القسم الخلفي من الفم (Regezi et al., 2008)، البلعوم الفموي، والمري (Neville, 2009).

■ يضاف إلى ماسبق أسباب مقترحة أخرى كالزهرى الثلاثي، وإنتان المبيضات البيض (Neville, 2009)، والتشعع، واستعمال الأدوية الكابحة للمناعة (كما في حالة زرع كلية أو نقي عظم) (Regezi et al., 2012).

1-2- المظاهر السريرية للسرطان شائك الخلايا:

يتطور السرطان الفموي غالباً عند الرجال متوسطي العمر والمسنين (Neville, 2012, Ruback et al., 2009)، إلا أن تطور السرطان الفموي عند اليافعين وعند الأفراد الذين لا يظهرون تعرضاً شديداً وواضحاً لعوامل الخطورة المعروفة يزداد مشاهدة في الآونة الأخيرة (Sloan, 2011, Salahshourifar et al., 2014, Halboub et al., 2012).

يكون السرطان الفموي لاعرضياً في مراحله المبكرة، حيث يكتشف مصادفة من قبل الطبيب أثناء فحص الأسنان الروتيني، أو عند الشكوى من سبب آخر، إذ أن أغلب المرضى لا يطلبون المساعدة الطبية إلا بعد ظهور أعراض وعلامات السرطان المتقدم موضعياً (Bagan et al., 2010). قد يأتي المريض بأعراض مبهمة كخدر أو نمل الذقن، أو تأخر الشفاء عقب القلع السني أو فقر الدم و الدنف (Barnes et al., 2005)، كما وقد يظهر في بعض الأحيان تضخم العقد اللمفية الرقبية نتيجة النقائل لدى المريض دون أية أعراض أخرى، لذلك لابد من وجود مشعر مرتفع الدلالة لدى الطبيب لمساعدته على التشخيص (Sloan, 2011).

تصبح الأعراض في المراحل المتقدمة أكثر وضوحاً كنمو الكتلة النسيجية المخاطية و تقرحها، والنزف، وعسر البلع والمضغ والكلام (Bagan et al., 2010)، وظهور النواسير (Sloan, 2011).

ليس للألم دلالة تشخيصية واضحة في السرطان شائك الخلايا، حيث يصبح الألم شديداً في المراحل المتأخرة من السرطانات عموماً إذ يظهر بشكل كتلة نامية أو متقرحة ذات امتدادات إلى النسيج المجاورة كالعظم، والعضلات، والجلد (Bagan et al., 2010).

1-3- الآلية الإمراضية للسرطان شائك الخلايا الفموي:

ينتج التسرطن، والذي يعد عملية تطور متعدد المراحل أو الخطوات، عن تراكم طفرات مورثية نتيجة تأثير التأهب الوراثي والعوامل البيئية (Ruback et al., 2012) (Sasahira et al., 2014)، مما يؤدي بالنتيجة إلى خلل الآليات الخلوية الطبيعية التي تنظم وظائف الخلية الأساسية كانقسام الخلية، وتمايزها، وموتها (Williams, 2000).



الشكل 1: الأشكال السريرية للسرطان شائك الخلايا الفموي: أ. سرطان الشفة. ب. سرطان اللسان. ج.

سرطان قاع الفم. د. سرطان اللثة (Regezi et al., 2012)

تتطور السرطانات الفموية افتراضياً من خلال مرحلتين حيويتين هامتين :

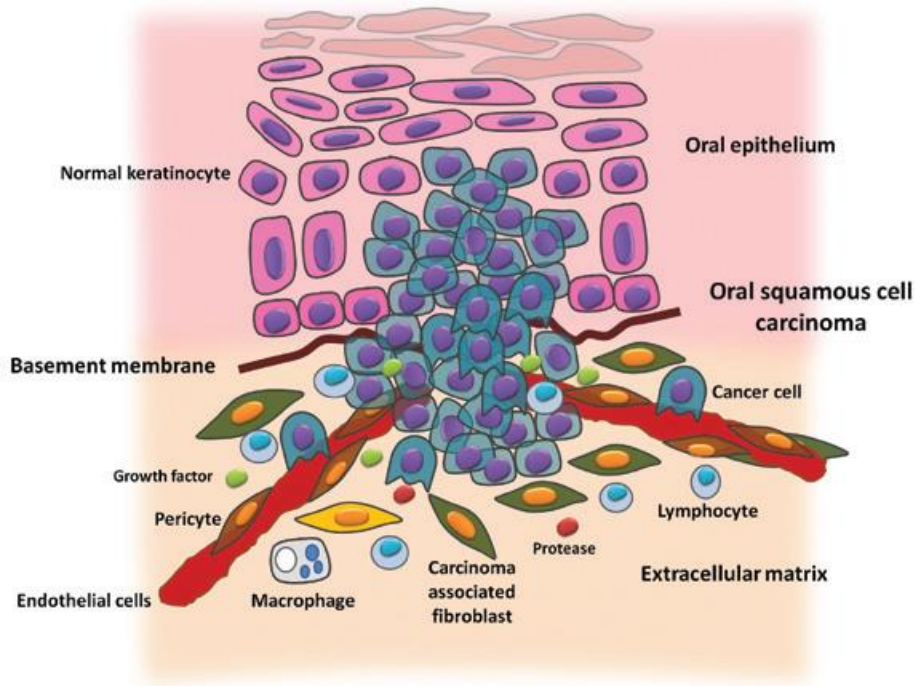
المرحلة الأولى هي فقدان القدرة على التحكم بالدورة الخلوية من خلال زيادة تعبيرية بروتينات المورثات الورمية، أو نقص تعبيرية بروتينات المورثات الكابحة للأورام. وقد وجد أن المورثات الكابحة للورم تلعب دوراً مهماً في تطور السرطان الفموي أكثر من المورثات الورمية (Regezi et al., 2012)، كالمورثة p53 التي تتطفر بنسبة عالية في السرطانات الفموية ، والسايكلين D1 الذي تزداد تعبيريته بنسبة 25-75% من السرطانات الفموية (Williams, 2000)، مما يسمح للخلايا المتأذية مورثياً بعبور نقطة التفتيش G1-S، إضافة إلى زيادة تعبيرية البروتينات المضادة للاستماتة BCL-X/BCL2. كل ذلك يرجح التوازن لصالح التطور غير الناضج والتكاثر، وبالتالي التنشؤ الورمي.

المرحلة الثانية هي زيادة حركة الخلايا الورمية مما يقود إلى الغزو والنقائل، إذ تخترق الخلايا البشرية السرطانية الغشاء القاعدي، وتغزو النسيج الواقعة تحتها (Choi and Myers, 2008).

إضافة إلى ما سبق، فإن الأدلة الحديثة تشير إلى أن تنشؤ الورم وتطوره لا يتحدد فقط بالتغيرات التي تطرأ على الخلايا الورمية، بل يرتبط أيضاً بالبيئة المحيطة به التي تضم العديد من أنواع الخلايا كالخلايا البطانية، والخلايا مصورات الليف التي ارتبطت في الفترة الأخيرة مع نمط غزو الورم وسوء الإنذار (Rivera and Venegas, 2014).

1-4- المظاهر النسيجية المرضية للسرطان شائك الخلايا الفموي:

ينشأ السرطان شائك الخلايا من بشرة مصابة بسوء التصنع Dysplastic (Neville, 2009)، ويتسم نسيجياً بتخرب الغشاء القاعدي، وغزو الخلايا البشرية الشائكة الخبيثة للنسيج الضام الذي تحتها (Barnes et al., 2005, Rivera and Venegas, 2014).



الشكل 2: غزو الخلايا السرطانية للنسيج الضام (Rivera and Venegas, 2014).

يشاهد اختراق بعض الخلايا السرطانية للغشاء القاعدي، في المرحلة المبكرة من الغزو لتصل إلى الصفيحة الخاصة، وعند عدم تجاوزها للطبقة الحليمية من الصفيحة الخاصة عندئذ يدعى السرطان بالسرطان شائك الخلايا الغازي مجهرياً، أما عند تجاوزها هذا العمق لتصل إلى الصفيحة الخاصة الشبكية عندئذ تدعى بالسرطان شائك الخلايا الغازي سطحياً. عند امتداد الخلايا السرطانية لتصل إلى النسيج الضام تحت المخاطي كالعضلات الهيكلية والنسيج الشحمي عندئذ يدعى السرطان بالسرطان شائك الخلايا الغازي (WOOLGAR and TRIANTAFYLLOU, 2011).

تختلف السرطانات شائكة الخلايا في تمايز خلاياها ودرجة شبيهها للخلايا الشائكة الطبيعية وإنتاجها للقرنين، وهو ما يعرف بدرجة التمايز "Differentiation" (Neville, 2009, WOOLGAR and TRIANTAFYLLOU, 2011).

تقسم السرطانات شائكة الخلايا تبعاً لدرجة تمايزها إلى جيدة (عالية)، متوسطة، سيئة (ضعيفة) التمايز (Barnes et al., 2005, WOOLGAR and 2011).

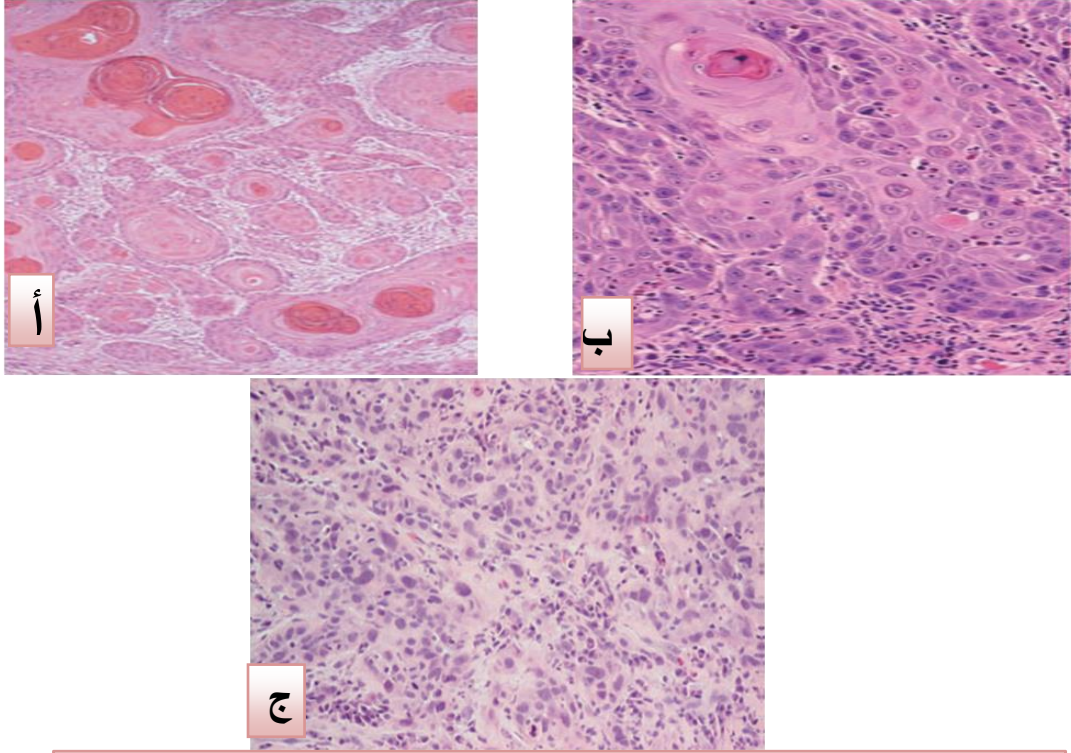
(TRIANTAFYLLOU, 2011)، كما يمكن يتم تصنيفها من خلال مقياس الدرجات "Grading" المؤلف من ثلاث درجات (I-II-III)، أو أربع درجات (I-II-III-IV)، حيث يأخذ من خلاله الورم رقماً أعلى كلما انخفض تمايزه (Neville, 2009).

تظهر الخلايا في السرطان جيد التمايز أو ذي الدرجة I تعدداً بسيطاً في أشكال الخلايا والأنوية، وغالباً كروماتين مبعثر، وانقسامات طبيعية المظهر، كما تبدي الخلايا درجات مختلفة من الالتصاق. يشاهد القرنيين على شكل لآلىء (مراكز دائرية من خلايا متقرنة على شكل طبقات متحدة المركز)، أو بشكل تقرن خلوي مفرد (Neville, 2009).

أما في السرطان سيء التمايز أو السرطان الدرجة III فيكون تعدد الأشكال الخلوي والنوي مميزاً، وتشيع الانقسامات الخلوية والتي غالباً ماتكون شاذة، ومن الشائع فقدان الالتصاق بين الخلوي، إضافة لكون القرنيين غير واضح مما قد يستدعي أحياناً استخدام الأضداد وحيدة النسيلة الموجهة ضد القرنيين الخلوي (السيتوكيراتين) لتمييز السرطان شائك الخلايا منخفض التمايز عن الخباثات الأخرى (Neville, 2009, WOOLGAR and TRIANTAFYLLOU, 2011).

يقع السرطان متوسط التمايز أو السرطان من الدرجة II بين السرطانيين السابقين، حيث تشاهد علامات اللانموزجية الخلوية Atypia وكرات التقرن بشكل متوسط (Neville, 2009). ترتبط درجة الخباثة النسيجية أيضاً إلى حد ما بالسلوك الحيوي إذ إن سرطان الدرجة الأولى أو جيد التمايز ينمو بمعدل بطيء نسبياً ويستعمر متأخراً أثناء مساره، أما سرطان الدرجة الثالثة أو الرابعة (اللاتصنعي) فهو غالباً ما يتضخم بسرعة، ويستعمر مبكراً أثناء مساره (Neville, 2009).

يعد المقياس السابق ذو قيمة محدودة في تقييم الانذار، حيث يعتمد الكثير من الأطباء في الغالب على التقييم السريري clinical staging الذي يعطي إنذاراً أفضل، مما حفز الكثير من الباحثين لإيجاد نظام تقييم أفضل، كنظام TIF في تقييم واجهة الغزو الذي اقترحه Bryne et al. (1992)، الذي يعتمد على درجة تمايز الخلايا



الشكل 3: درجات التمايز الثلاث للسرطان شائك الخلايا. أ. السرطان جيد التمايز. ب. متوسط التمايز. ج. سيء التمايز (Sloan, 2011).

الورمية في واجهة الغزو، ونمط الغزو ومستواه التشريحي، إضافة إلى رد فعل المضيف، وبالتالي فقد يكون أفضل في التنبؤ للنقائل إلى العقد اللمفية، والنكس، والإنذار من درجة التمايز وحدها (Woolgar and Triantafyllou, 2011, Rivera and Venegas, 2014).

إضافة إلى ذلك فقد أصبح تقصي التغيرات التي تطرأ على تعبيرية العديد من البروتينات في الخلية الشائكة أثناء تحولها في سياق السرطان مقصد العديد من الدراسات، بهدف إيجاد واسمات Markers جديدة تساهم في إعطاء تقييم نسيجي أدق، وبالتالي تقييم الإنذار بشكل أفضل للسرطان شائك الخلايا الفموي (Zygogianni et al., 2011b).

2- المواصل بين الخلايا

تتكون النسيج البشري من خلايا متعددة السطوح متلاصقة بشدة، تحصر فيما بينها القليل من المادة خارج الخلية. يعود هذا الالتصاق الشديد إلى الاندخالات الإصبعية للأغشية الخلوية وإلى بنى غشائية متخصصة تدعى المواصل بين الخلايا. تقسم هذه المواصل إلى عدة أنواع وهي:

1. المواصل المحكمة Tight Junctions.

2. المواصل اللاصقة Adherens Junctions.

3. جسيمات الوصل Desmosomes.

4. المواصل الفجوية Gap Junctions (Nanci and Ten Cate, 2008,)

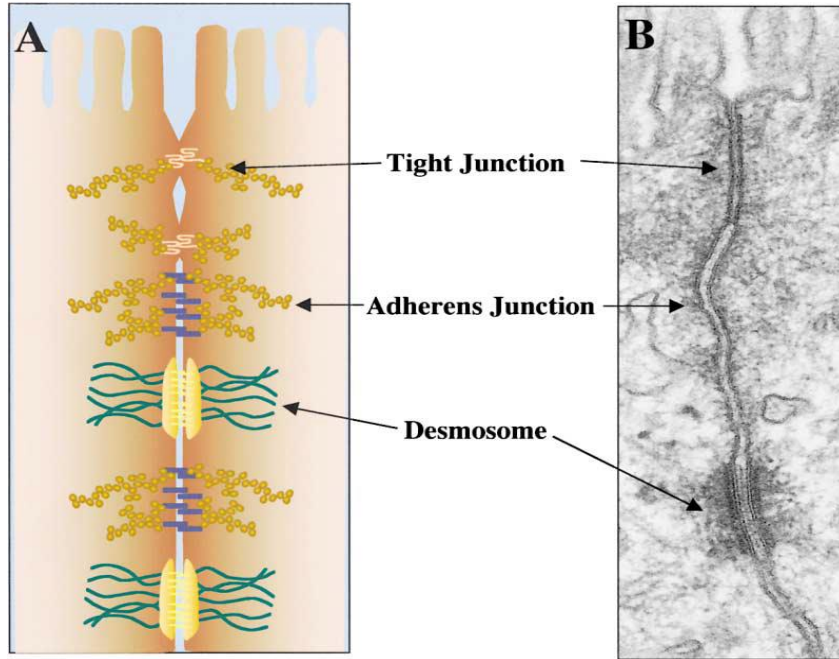
(Franke, 2009).

يشكل الموصل المحكم أو ما يدعى "الاطباق النطاقي" Zonula occludens الموصل الأكثر ذروة بين المواصل، وهو كما يشير الاسم عبارة عن بنية محيطية مستمرة شبيهة بالحزام تندمج الأغشية الخلوية المتقابلة فيها في أكثر من نقطة. يحدد هذا الموصل القسم الذروي من الغشاء الخلوي عن القسم القاعدي والجانبى، كما أنه يقوم بدور "سياج" مما يقيد انتشار المكونات الذروية والقاعدية ضمن الخلية (Schneeberger and Lynch, 2004, Niessen, 2007).

يتوضع الموصل اللاصق تحت الموصل المحكم ويتلوه جسيم الوصل. يأخذ جسيم الوصل شكلاً قرصياً صغيراً، وهو يشاهد في النسيج التي تواجه قوى الشد كال البشرة والقلب حيث يتوزع بشكل واسع على طول الغشاء الخلوي ليؤمن لها الإستقرار (Desai et al.,)

(2009, Franke, 2009)، كما أنه يشكل موصل أكثر تخصصاً ضمن السحايا و الخلايا البطانية اللمفية (Desai et al., 2009).

تقوم هذه المواصل الثلاث أساساً بوظيفة اللصق بين الخلوي وتشكل في البشرات عند الفقاريات مايدعى بمعقد الاتصال (Meng and Takeichi, 2009, Oda and) (Takeichi, 2011, Schneeberger and Lynch, 2004). تتكون هذه المواصل عموماً على المستوى الجزيئي من ثلاث مكونات هي بروتين لاصق عبر غشائي، وبروتين مكيف Adaptor هيولي (سيتوبلاسمي)، وخيط من الهيكل الخلوي، تختلف هذه المكونات الثلاث تبعاً لنوع الموصل (Nanci and Ten Cate, 2008, Desai et al., 2009).



الشكل 4: معقد الاتصال في النسيج البشري: يحتل الموصل المحكم الموقع الأكثر ذرؤية، يتلوه الموصل اللاصق ومن ثم جسيم الوصل (Perez-Moreno et al., 2003).

أما المواصل الفجوية فهي تتوزع بين جسيمات الوصل وهي تختلف عن المواصل الأخرى بكونها عبارة عن أقنية مائية تصل ما بين هيولي (سيتوبلاسم) خليتين متجاورتين،

وهي مسؤولة أساساً عن الاتصالات الكيميائية و الشاردية بين الخلايا البشرية (Desai et al., 2009, Amin and Vincan, 2012).

تتفاعل الموصل مع بعضها بطريقة تؤثر على حركية (ديناميكية) و وظيفة كل منها، على الرغم من أن لكل من هذه الموصل آليته المختلفة في التشكل، والتنظيم، والوظيفة (van Roy and Berx, 2008, Lioni et al., 2007, Wei et al., 2005).

2-1- الموصل اللاصق Adherence Junction :

يتوضع هذا الموصل تحت الموصل المحكم مباشرة (Knust and Bossinger, 2002)، وهو يتسم بزواج من الأغشية الخلوية المتقابلة، التي تفصلها مسافة 10-20 نانومتر وتمتد على طول 0,2-0,5 μm ، تشغلها جزيئات شبيهة بالقضبان تجسر ما بين الغشائين الخلويين (Niessen, 2007, Meng and Takeichi, 2009).

يعد إرساء قطبية الغشاء الخلوي والمحافظة على الترابط الفيزيائي للخلايا البشرية الوظيفة الأساسية للموصل اللاصقة، وذلك من خلال ربط الالتصاق بين الخلوي إلى الهيكل الخلوي مما يمكّن البشرة من القيام بوظيفتها الأساسية كحاجز ميكانيكي حيوي (Knust and Bossinger, 2002). إضافة إلى ذلك فإن هذه الموصل هي بنى ديناميكية حيث تقوم بنقل الاشارات الخلوية مما يؤثر في العديد من الوظائف الخلوية كالانقسام، والتمايز، والحركة، والبقاء (Niessen, 2007, Brandner et al., 2010)، كما أنها تعمل كحساسات ميكانيكية للقوى التي تقع على الخلايا (Bertocchi et al., 2012).

يتكون الموصل اللاصق على المستوى الجزيئي من اثنين من معقدات مستقبلات الوصل والتي سوية تحدد نوعية و قوة اللصق بين الخلوي:

(1) معقد كادهيرين- كاتينين Cadherin – Catenin complex.

(2) معقد نكتين- أفادين Nectin- Afadin complex (Meng and Takeichi,)

(2009, Brandner et al., 2010).

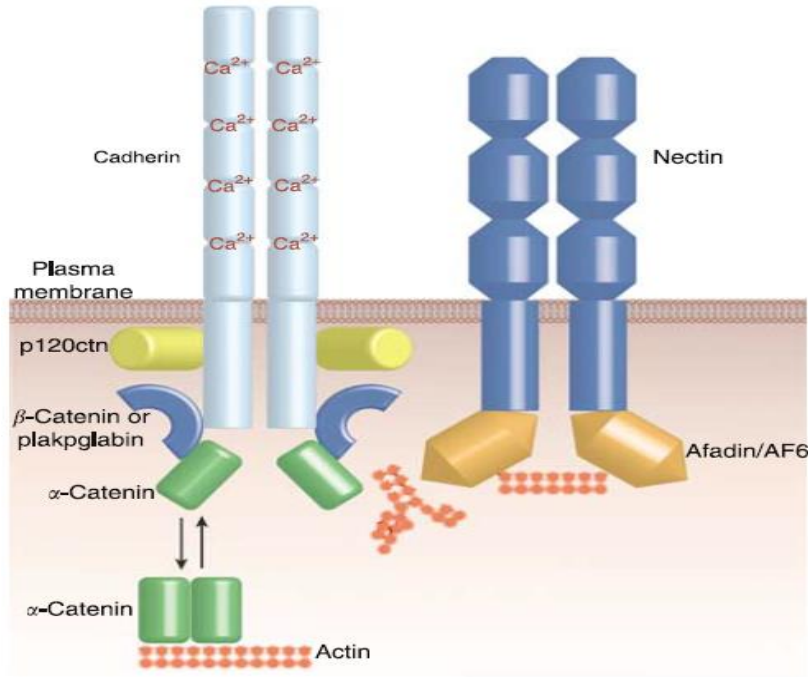
تشكل النكتينات عائلة من البروتينات عبر الغشائية الشبيهة جزيئياً بالكربونات (الغلوبولينات) المناعية، حيث تتكون من مجال عبر غشائي يصل ما بين المجال خارج الخلوي والمجال الهيولي (Ogita et al., 2010). تقوم النكتينات بوظيفتها في اللصق بين الخلوي من خلال مجالها خارج الخلوي والذي يشكل مثنيات لاصقة متطابقة Homophilic Dimers غير معتمدة على شوارد الكالسيوم بين الخلايا المتجاورة (Tanaka et al., 2003b). أما مجالها الهيولي فهو يرتبط بأكتين الهيكل الخلوي عبر البروتين الهيولي المكيف "أفادين" (Ogita et al., 2010, Amin and Vincan, 2012).

يلعب النكتين دور السقالة scaffold الأولى عند تشكل كل من الموصل اللاصق و موصل الاحكام (Franke, 2009)، حيث يشكل التماسات البدئية ومن ثم يجند الكادهيرين لهذه المواقع (Tanaka et al., 2003b, Niessen, 2007).

2-2- طائفة الكادهيرينات Cadherin Superfamily:

تتكون طائفة الكادهيرينات من عائلة كبيرة تضم أكثر من 350 عضواً (Saito et

al., 2012)، ومما لا يقل عن 100 عضواً في الثدييات (Hulpiau et al., 2013).



الشكل 5: الموصل اللاصق المكون من معقد نكتين - أفادين، ومعقد كادهيرين - كاتنين (Niessen, 2007).

تعدّ أفراد هذه الطائفة بروتينات عبر غشائية شبيهة بالكربونات المناعية، وقد سميت بهذا الاسم نسبة لاعتمادها على شوارد الكالسيوم (Ca^{2+}) للقيام بوظيفتها في اللصق بين الخلوي (Ca + Adherin) (Lewin, 2007, Franke, 2009).

تتشترك الكادهيرينات عموماً بوجود ما يدعى بالتكرار (EC) Repeat ضمن مجالها خارج الخلوي، إلا أنها تختلف في عدد هذه التكرارات، وفي احتواء بعضها على مواقع ومجالات محددة، كما أنها تختلف في مجالاتها الهيولية مما سمح بتقسيمها إلى عائلات فرعية تبعاً لتشابه الأفراد في هذين المجالين (Pettitt, 2005, Hulpiau and van Roy, 2011, Oda and Takeichi, 2009):

➤ الكادهيرينات الكلاسيكية Classic cadherins

➤ كادهيرينات جسيم الوصل: Desmosomal Cadherins

• ديسموكولين Desmocollins

• ديسموغولين Desmogleins

➤ Clustered Protocadherins

➤ Non-Clustered Protocadherins

➤ Protocadherins15

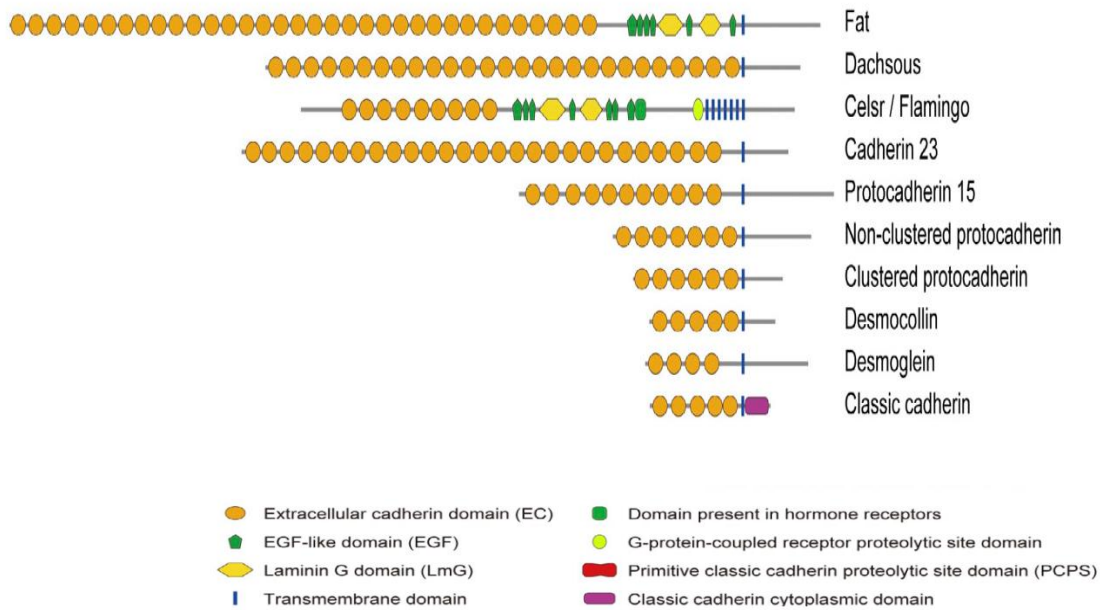
➤ Cadherin 23

➤ Celser / Flamingo

➤ Dachous

➤ Fat

Mouse



الشكل 6 : الاختلافات في بنية كل من المجالات خارج وداخل الخلية لعائلات طائفة الكادهيرينات (Oda and

.(Takeichi, 2011

يؤدي اختلاف هذه العائلات في متتاليات مجالها السيتوبلازمي إلى تفاعلها مع بروتينات داخل خلوية مختلفة وبالتالي اختلاف الوظائف التي تقوم بها كل عائلة (Meng and Takeichi, 2009, Oda and Takeichi, 2011).

2-3- عائلة الكادهيرينات الكلاسيكية:

تعد الكادهيرينات الكلاسيكية أول عائلة تكتشف من بين طائفة الكادهيرينات لذلك فهي تدعى بالكلاسيكية (Meng and Takeichi, 2009)، إضافة لكونها الأكثر دراسة في مجال الآلية و الوظيفة من بين الطائفة عامة (Pettitt, 2005, Halbleib and Nelson, 2006).

تضم الكادهيرينات الكلاسيكية عند الثدييات مايقارب 20 كادهيريناً (Meng and Takeichi, 2009, Oda and Takeichi, 2011)، وهي تقسم إلى عائلتين فرعيتين:

➤ عائلة النمط I

➤ عائلة النمط II (Brasch et al., 2012).

يتكون المجال الخارجي لجميع الكادهيرينات الكلاسيكية من خمس تكرارات -EC1- EC5، إلا أن طول هذا المجال و هندسته يختلف بين الأفراد، أما المجال الهيولي والبنية الظاهرية للموصل اللاصق فهو ثابت Conserved بين الأنواع (Oda and Takeichi, 2011, Hulpiau et al., 2013)، على الرغم من أن أفراد كل عائلة نوعية للتفاعل مع أفراد العائلة نفسها إلا أن التفاعل المتصالب يشاهد بين العائلتين (Brasch et al., 2012, Oda and Takeichi, 2011).

تلعب الكادهيرينات من النمط I دوراً رئيسياً في اللصق بين الخلوي المتواسط بالموصل اللاصق حيث يؤدي فقدانها إلى تخرب هذه المواصل (Niessen, 2007)، بينما لم يحدد دور النمط II في تشكل الموصل اللاصق بعد (Oda and Takeichi, 2011).

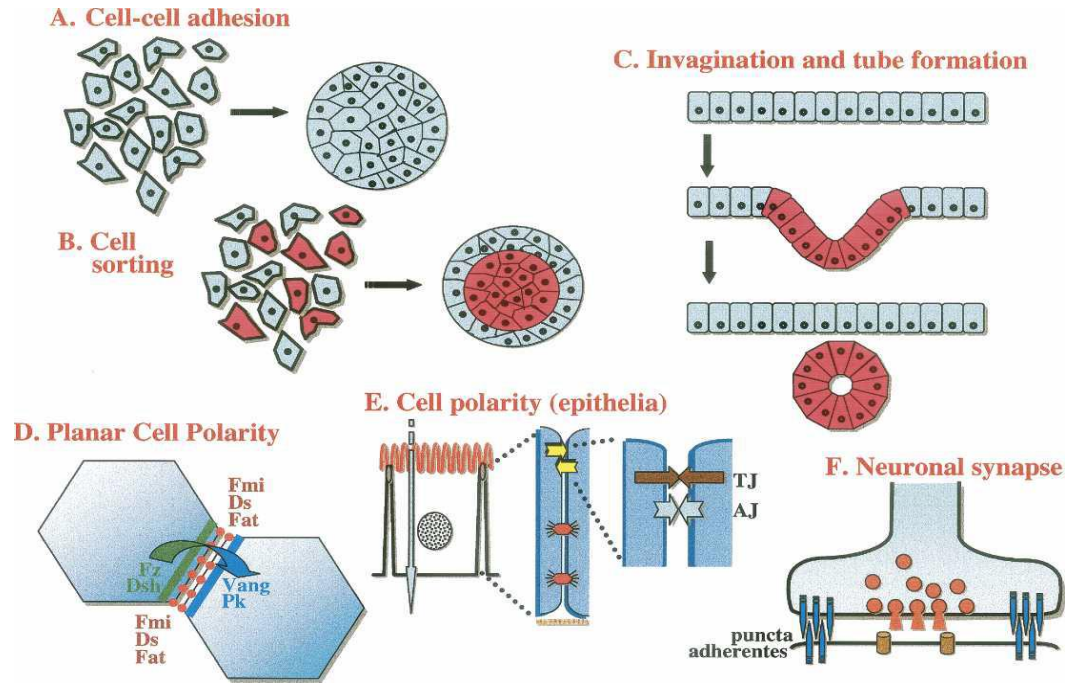
2-4- الكادهيرينات من النمط I:

تتكون هذه العائلة من الكادهيرين البشري Epithelial-cadherin، والكادهيرين المشيمي Placental-cadherin، والكادهيرين العصبي Neural-cadherin، والكادهيرين الشبكي Retinal-cadherin، والكادهيرين العضلي Muscle-cadherin (Hulpiau and van Roy, 2009)، وقد تمت تسمية كل كادهيرين تبعاً للنسيج الذي اكتشفت فيه، ليتبين لاحقاً أن تعبيريتها ليست محصورة بالنسيج الأصلي وحده (Saito et al., 2012).

تقوم هذه الكادهيرينات بعملية التخلق الشكلي للنسج morphogenesis خلال التطور الجنيني حيث تقوم بتنظيم اللصق بين الخلوي، وبفرز الأنواع المختلفة من الخلايا (Meng and Takeichi, 2009)، وتشكيل المشابك العصبية. إضافة إلى ذلك فهي أساسية للحفاظ على استتباب الهندسة النسيجية للنسج البالغة (Niessen, 2007, Oda and Takeichi, 2011, Benson and Huntley, 2012). تقوم الكادهيرينات إضافة لتواسط اللصق بين الخلوي، بنقل الاشارات داخل الخلوية والتي تنظم حركة الخلية، وشكلها، وتكاثرها، وتعبيرية مورثاتها (Hulpiau et al., 2013, Maitre and Heisenberg, 2013). كما أنها تنظم العديد من الشبكات الخلوية بما في ذلك طرق المرور الغشاء الخلوي membrane trafficking pathways، نقل إشارة عامل النمو، cytoskeletal remodeling (Saito et al., 2012) وتعمل كحساسات ميكانيكية لقوى المطبقة على الخلايا (Leckband and Sivasankar, 2012).

تتكون كادهيرينات النمط I من منطقة خارج خلوية أمينية النهاية، ومنطقة داخل خلوية كربونية النهاية يصل مابينهما مجال عبر غشائي كاره للماء مؤلف من 32 حمضاً

أمينياً. تتواسط المجالات الخارجية لكادهيرينات الخلايا المتقابلة الاتصالات بين الخلية المعتمدة على الكالسيوم، بينما يقوم المجال داخل الخلية بربط الالتصاق بين الخلية بخيوط الأكتين داخل الخلية (Shapiro and Weis, 2009, Niessen and Gottardi, 2008).

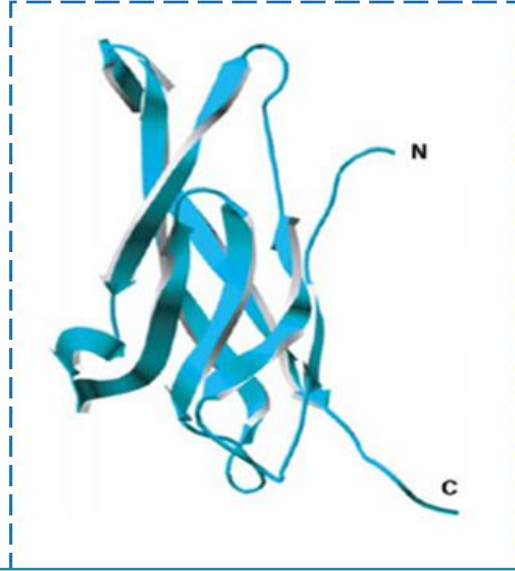


الشكل 7: وظائف الكادهيرينات المختلفة. A. اللصق بين الخلية. B. فرز الخلايا عن بعضها. C. الانغماد و تشكيل الأنبوب العصبي. D. قطبية الخلايا في مستويات البشرة المختلفة. E. القطبية الخلية. F. تشكيل المشابك العصبية (Halbleib and Nelson, 2006).

2-4-1- المجال خارج الخلية:

يبلغ طول المجال خارج الخلية حوالي 22 نانومتر (Oda and Takeichi, 2011)، وهو يضم خمسة تكرارات (EC) مرتبة تراكبياً Tandem بدءاً من التكرار القاصي ذي النهاية الآزوتية (EC1)، يفصل بينها موصل بين مجالية مكونة من 10 ثملات، والتي تشكل مواقع لربط شوارد الكالسيوم (Cailliez and Lavery, 2005).

يتألف كل تكرار منها من 110 حموض أمينية (Pettitt, 2005). وهو يتكون من سبعة شرائط بيتا (A,B,C,D,E,F,G) مرتبة بشكل صفحتي بيتا مفتولتين متقابلتين (Shapiro and Weis, 2009).



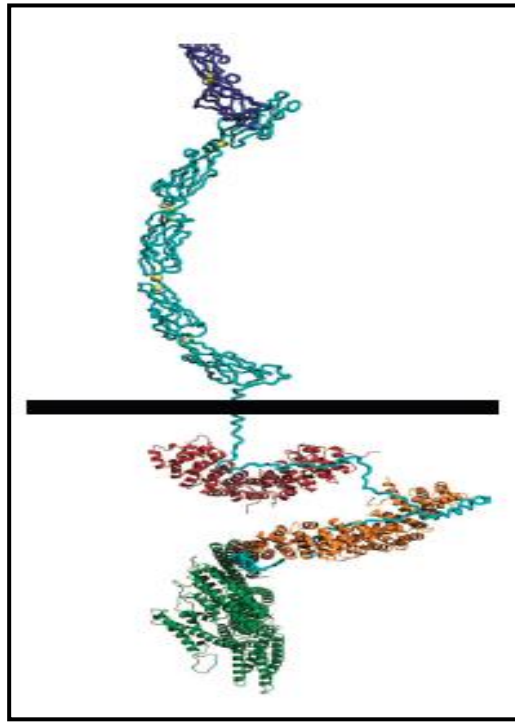
الشكل 8: يوضح بنية الكادهيرين المكونة من صفحتي بيتا و النهايتين الأمينية والكربونية (Truong and Ikura, 2002)

يتم تنسيق شوارد الكالسيوم بواسطة حموض أمينية ثابتة conserved بين أفراد هذه العائلة (Meng and Takeichi, 2009, Paredes et al., 2012)، إذ تنسق الشوارد من قاعدة أول تكرار وقمة الثاني، ومن المنطقة الواصلة بينهما (Shapiro and Weis, 2009).

يعتمد اللصق بين الخلوي المتطابق Homophilic المتواسط بالكادهيرينات على وجود شوارد الكالسيوم، إذ يتصلب rigidify المجال خارج الخلوي بوجود الكالسيوم ليصبح شبيهاً بالعود rod-like (Pettitt, 2005)، ويخضع لتغيرات مرحلية في هندسته الكروية فيأخذ انحناء على كامل طوله يشكل فيه المحور الطولي للمجالين الأول والخامس زاوية قائمة تقريباً (Shapiro and Weis, 2009). فقد أثبتت التجارب أن تطفر مواقع ربط شوارد

الكالسيوم تسبب فقدان وظيفة اللصق بين الخلوي (Ozawa et al., 1990) (Prakasam et al., 2006).

يعمل الارتباط بشوارد الكالسيوم أيضا على استقرار البروتين وحمايته من حالات البروتين (Nagar et al., 1996)، إذ يظهر المجهر الإلكتروني أن زوال شوارد الكالسيوم يؤدي إلى اضطراب الاتجاهات بين التكرارات (EC)، وزيادة حركتها، كما يزيد من الحساسية لحالات البروتين (Shapiro and Weis, 2009).

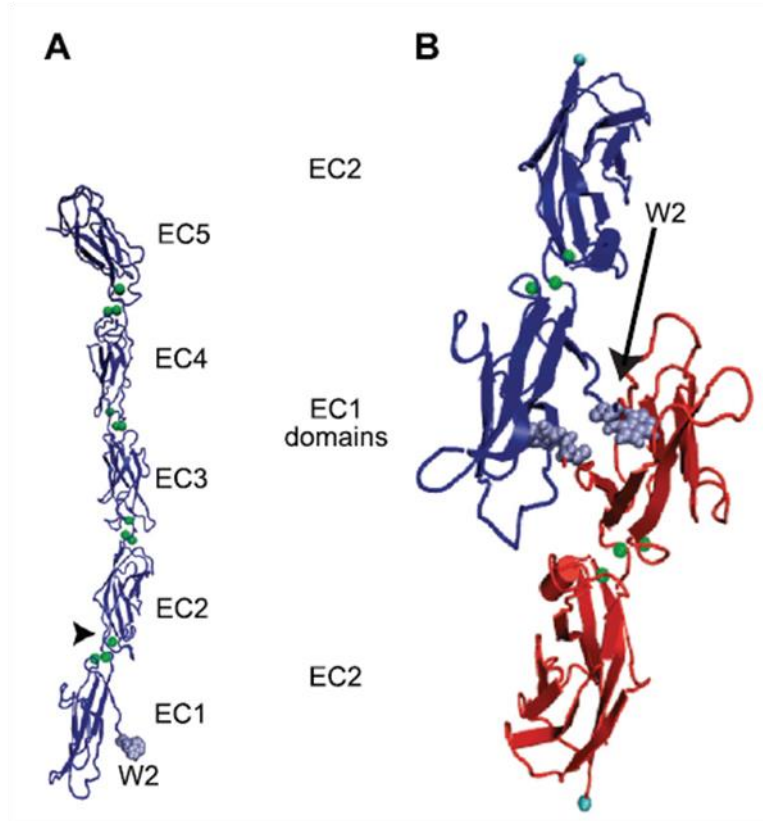


الشكل 9: بنية المجال الخارجي للكادهيرين عند الارتباط بشوارد الكالسيوم (Niessen et al., 2011).

الوصق بين الخلوي المتطابق:

على الرغم من أن آلية اللصق المتطابق لكادهيرينات النمط I لا تزال مثار جدل (Meng and Takeichi, 2009)، إلا أن الدراسات تجمع أن للتكرار الأول من المجال خارج الخلوي (EC1)، والتمالات المجاورة لموقع ارتباط شوارد الكالسيوم بين التكرار الأول و الثاني الدور الأساسي في عملية اللصق بين الخلوي المتطابق (Oda and Takeichi, 2005, Harrison et al., 2011)، حيث تتدخل السلسلة الجانبية للثمالة Trp-2 من

الشريط $\beta(A)$ لل تكرار EC1 من الكادهيرين الأول في جيب كاره للماء داخل التكرار EC1 لكادهيرين السطح المقابل (Shapiro and Weis, 2009, Saito et al., 2012). كما تعد المتتالية الببتيدية هيسدين – ألانين – فالين (HAV) ضمن EC1 متتالية أساسية لتمييز اللصق بين الخلوي بين الكادهيرينات الكلاسيكية من النمط I adhesion recognition (Taneyhill, 2008)، كما أن هوية الحمضين الأمينيين (AA78 and AA83) المجانحين للمتتالية HAV تساعد في تحديد نوعية اللصق (van Roy and Berx, 2008, Qian et al., 2004).



الشكل 10: اندخال Trp-2 من EC1 من الكادهيرين E الأول داخل جيب متوضع في EC1 من الكادهيرين المقابل (Niessen et al., 2011).

مما يدعم أهمية التكرار EC1 في اللصق بين الخلوي هو أولاً أن جميع كادهيرينات النمط I تتشكل بمجال بدئي Prodomain في النهاية الأمينية (Hulpiau et al.,)

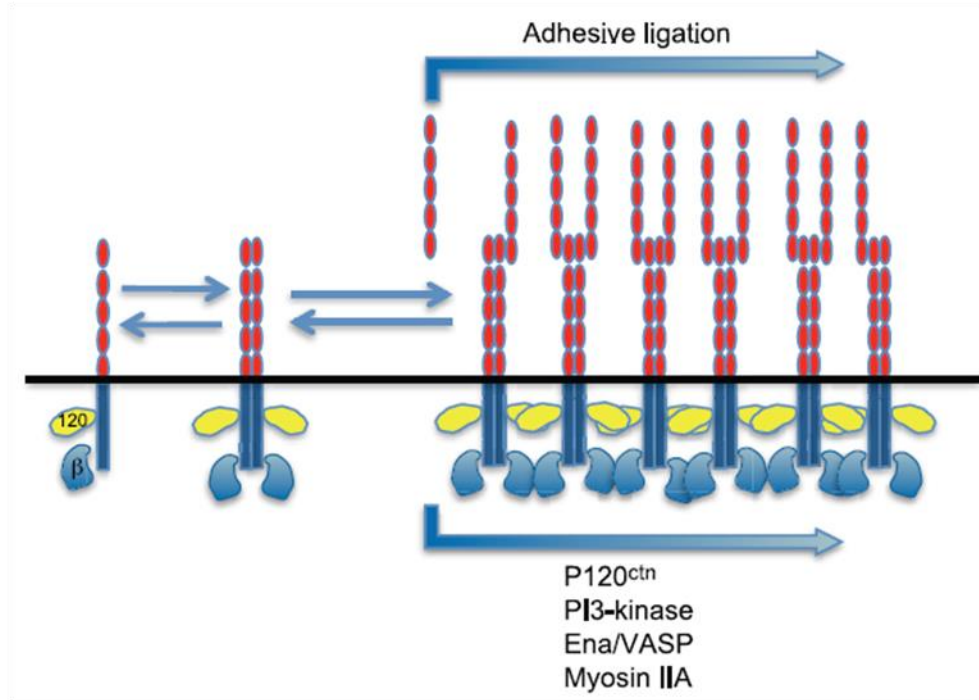
(2013)، الذي يخضع لتثذيب أنزيمي قبل توضع الكادهيرين على الغشاء الخلوي. عندما لا يخضع هذا الجزء للتثذيب نتيجة خلل ما فإن الكادهيرين يتوضع على الغشاء الخلوي ولكنه يفشل في وظيفة اللصق (van Roy and Berx, 2008). ثانياً أن تطفر Trp-2 يخل باللصق بين الخلوي أيضاً (Niessen et al., 2011).

على الرغم من ذلك إلا أن الدراسات الحديثة تشير إلى أن التكرار EC1 غير كاف لوحده، ولابد من وجود التكرارات الأخرى للحصول على لصق بين خلوي كامل، فقد أظهرت المركبات المكونة من التكرارين EC1-EC2 لصقاً خلوياً ضعيفاً يتفكك بسرعة مقارنة بتفاعلات اللصق للمجال خارج الخلوي كامل الطول للكادهيرين والتي أظهرت ارتباطاً أقوى و ذو معدل تفكك أقل (Niessen et al., 2011). أيضاً فإن تطفر مورثة الكادهيرين البشري E في السرطانات البشرية، والتي تؤدي إلى خلل في اللصق بين الخلوي، غالباً ما تصيب الاكسونات 7،8،9، التي تتوافق مع التكرارين الثاني و الثالث (Kremer et al., 1998, Berx et al., 2003).

ترتبط جزيئات الكادهيرين المتجاورة من السطح الخلوي نفسه لتشكل مثويات جانبية (Cis interaction)، إضافة إلى ارتباط جزيئات الكادهيرين من السطوح الخلوية المتقابلة (Trans interaction)، هذا وقد اختلفت الدراسات حول كيفية ارتباط هذه الكادهيرينات ببعضها وأي التكرارات هي المسؤولة عن الارتباط (Niessen et al., 2012, Saito et al., 2011)، إنما وجد أن نوعية التفاعلات بين الكادهيرينات المختلفة تتحدد بمستوى تفاعلات تبلمر cis، وأن تطفر Trp يؤثر على تفاعلات Trans وليس Cis (Ahrens et al., 2002)، كما لم يشاهد لشوارد الكالسيوم دور في تفاعلات Cis بين الكادهيرينات المتجاورة (Takeda, 2014).

تقوم الكادهيرينات المتجاورة أيضاً بتشكيل مجموعات أو عناقيد Clusters وخاصة في أماكن المواصل اللاصقة، مما يزيد من قوة اللصق بين الخلوي. على الرغم من أن هذه الارتباطات تتم من خلال المجالات خارج الخلوية، إلا أنها لا تتم إلا بتواسط المجال الهيولي (Brasch et al., 2012)، من خلال الكاتينين P120، إضافة إلى كل من

phosphatidylinositol 3-kinase ،Ena/VASP ،Nonmuscle myosin II
(Niessen et al., 2011)، وعائلة GTPases (Amin and Vincan, 2012).



الشكل 11: يوضح الأشكال المختلفة للكادهيرين على السطح الخلوي. بدءاً من اليسار الشكل الموحد، ومن ثم مثنوي Cis، ثم تعنقد الكادهيرينات. (Niessen et al., 2011)

2-4-2- المجال داخل الخلوي:

تتميز عائلة الكادهيرينات الكلاسيكية من النمط I بكون المجال الهيولي ثابتاً Conserved بين جميع أفرادها (Pettitt, 2005, Meng and Takeichi, 2009).

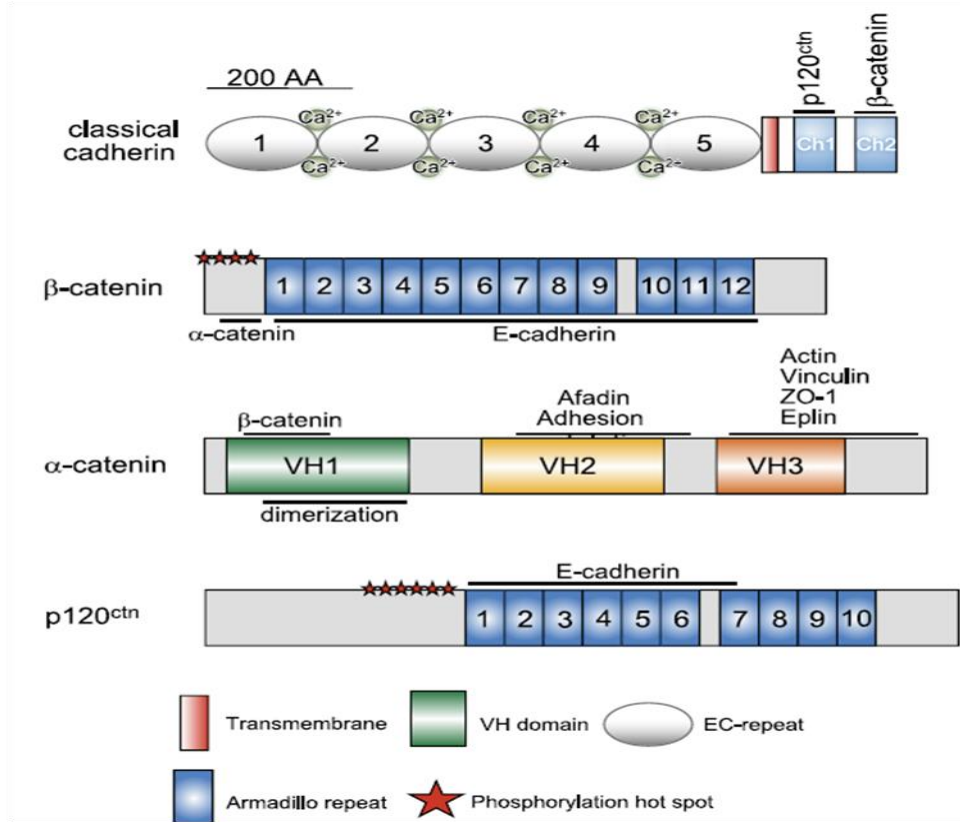
يرتبط المجال الهيولي بأكتين الهيكل الخلوي من خلال بروتينات وسيطة من عائلة تدعى بالكاتينينات Catenins وهي: الكاتينين بيتا (β-ctn)، الكاتينين ألفا (α-ctn)، الكاتينين p120 (Yagi and Takeichi, 2000, Niessen, 2007,) (Maruthamuthu et al., 2010).

يتكون المجال الهيولي من مجالين رابطتين للكاتينينات (CBD)، الأول هو المجال قرب الغشائي (JMD) والذي يربط الكاتينين p120، والثاني هو المنطقة الممتدة إلى النهاية الكربونية والذي يربط الكاتينين β (Perez-Moreno and Fuchs, 2006, Meng and Takeichi, 2009). يضم كل من هذين المجالين متتالية من 30-35 ثمانية تدعى بالترتيب CH2 و CH3، وتعد هذه المتتالية ثابتة بين كل الكادهيرينات الكلاسيكية من النمط الأول والثاني (Alattia et al., 1999, van Roy and Berx, 2008).

ترتبط الكاتينينات مع الكادهيرين ومع بعضها بطريقة معينة إذ يرتبط المجال الهيولي للكادهيرين بالمجال المركزي للكاتينين β ، أما الكاتينين α فيرتبط مع الكاتينين β بواسطة مجاليهما الحاوئين على النهاية الأوتية ولكن لا يرتبط مباشرة مع الكادهيرين. أما الكاتينين p120 فيرتبط بالكادهيرين فقط ولا يترافق مع الكاتينينات الأخرى (Liu et al., 2010).

يؤدي هذا الشكل من الارتباط إلى تشكل المعقد $\text{cadherin}/\beta\text{-catenin}/\alpha\text{-catenin}$ الذي يشار إليه اختصاراً "CCC"، وقد تم لفترة طويلة الافتراض أن المعقد CCC يرتبط مباشرة بأكتين الهيكل الخلوي عبر الكاتينين α (Pettitt, 2005)، وقد بني هذا الافتراض بناء على وجود المجال VH3 لربط الأكتين في النهاية الكربونية للكاتينين α . إلا أن الدراسات الحديثة قد أكدت أن الأكتين لا يرتبط بالكاتينين α إلا في حال المثويات المتطابقة من الكاتينين، ومن ناحية أخرى فإن الكاتينين α يرتبط بمعقد كادهيرين-كاتينين β بالشكل الموحد monomer فقط. كما وجد أيضاً أن معقد CCC يوجد في الغشاء الخلوي ولكنه لا يرتبط بشكل مباشر بالأكتين F (van Roy and Berx, 2008). قد يتواسط ارتباط الكاتينين α مع الأكتين F بعض البروتينات مثل vinculin ، formin ، ZO-1 ، EPLIN (Maruthamuthu et al., 2010)، إلا أن أكثرها إقناعاً هو اتصال الكاتينين α بالأكتين F من خلال البروتين EPLIN ، الذي يمتلك على الأقل موقعين لربط الأكتين، وهو يحفز تحزم bundling خيوط الأكتين واستقرارها، حيث يرتبط

هذا البروتين بالكاتينين α المرتبط بمعقد كاتينين β -كادهيرين، ومن ثم يقوم بربط هذا المعقد بالأكتين F (Abe and Takeichi, 2008, Meng and Takeichi, 2009).



الشكل 12: بنية الكادهيرين الكلاسيكي بمجالاته الثلاث، وبنية الكاتينينات المرتبطة به (Niessen et al., 2011).

تقوم الكاتينينات إضافة إلى ربط الكادهيرين بأكتين الهيكل الخلوي، بتنظيم التقامه Endocytosis، وتكريره Recycling، وتدركه Degradation، ونقل الإشارات داخل الخلوية، ونسخ المورثات (Perez-Moreno and Fuchs, 2006). حيث يرتبط الكاتينين β مباشرة بالعديد من بروتينات الإشارة كمستقبل EGF و تيروزين فوسفاتاز، كما أنه العنصر الأساسي في سبيل إشارة Wnt الذي يحدد مصير الخلية (Niessen, 2007). يعمل إرتباط الكاتينين p120 بالمجال قرب الغشائي على استقرار معقد الكادهيرين على الغشاء الخلوي من خلال منع استبطان Internalization الكادهيرين وتدركه (Saito et al., 2012)، إضافة لكونه يساهم في نقل الإشارة من خلال التفاعل مع Rho GTPases (Brandner et al., 2010).

2-4-3- الكادهيرين E

الكادهيرين البشري E هو بروتين سكري وحيد العبور للغشاء الخلوي، من النمط I للكادهيرينات الكلاسيكية (Hartsock and Nelson, 2008).

يعد الكادهيرين E أنموذج الكادهيرينات الكلاسيكية (Hulpiau et al., 2013)، حيث أنه أول كادهيرين يتم اكتشافه ويعود ذلك إلى العام 1977 حيث تم التعرف عليه بداية عند الفئران حيث دعي بـ Uvomorulin، ومن ثم أطلقت عليه تسميات متعددة (van Roy and Berx, 2008, Franke, 2009) لتتم تسميته أخيراً بـ E-cadherin (E-cad) نسبة إلى وجوده في جميع النسيج البشري عموماً (Epithelium) (Perez-Moreno and Fuchs, 2006, van Roy and Berx, 2008).

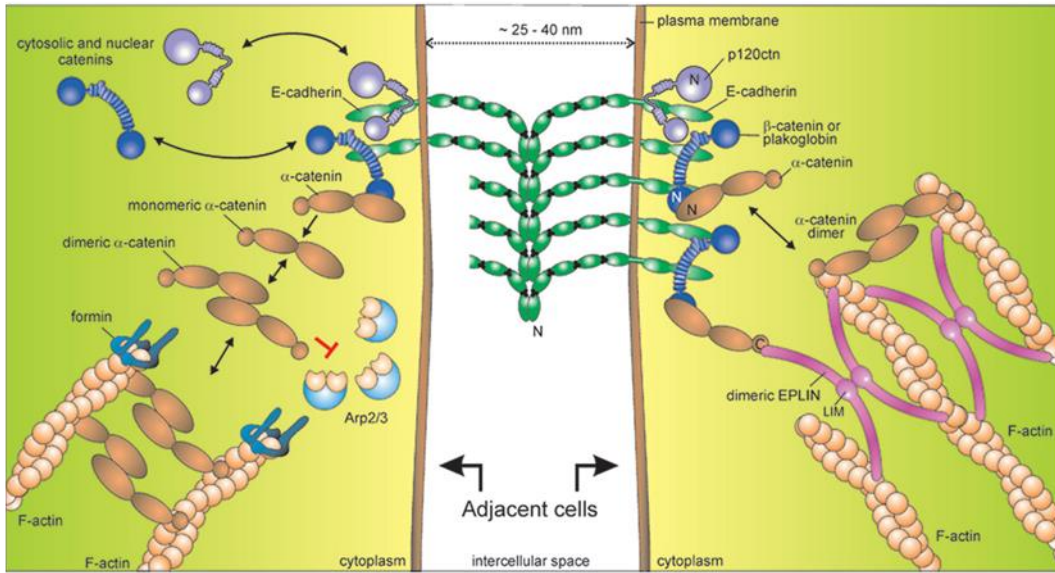
تقع مورثة الكادهيرين E البشري (CDH1) على الكروموزوم 16q22.1، حيث تشغل منطقة من حوالي 100 كيلوقاعدة، وهي تضم 16 إكسونا و 15 إنترونا (Pecina-Slaus, 2003, van Roy and Berx, 2008).

يتكون الكادهيرين E من مجال خارج خلوي مؤلف من حوالي 550 حمضاً أمينياً، ومن مجال داخل خلوي مكون من حوالي 150 حمضاً أمينياً، يصل بينهما مجال عبر غشائي مكون من 32 حمضاً أمينياً (van Roy and Berx, 2008).

يتوزع الكادهيرين E على طول الغشاء الجانبي بشكل مستقل عن الموصل بين الخلوية، إضافة إلى توضع في الموصل اللاصق (Niessen and Gottardi, 2008).

كان يعتقد، حتى أمد قريب، أن الكادهيرينات تدخل في تفاعلات متطابقة فقط، إلا أن الكادهيرين E قد أظهر حتى الآن موقعاً لربط اثنين من الإنتغرينات وهي ($\alpha_2\beta_1$) ، ($\alpha_5\beta_1$). يساهم التفاعل الأول في المحافظة على الخلايا اللمفية داخل البشروية (van

(Roy and Berx, 2008)، حيث تظهر تعبيرية الانتغرين $\alpha\beta_7$ على سطح الخلايا اللمفية التائية داخل البشرية والخلايا التائية في الآفات الالتهابية قرب البشرية، ويتم هذا التفاعل المتغاير بواسطة المجال الأول والخامس (Shiraishi et al., 2005). أما التفاعل الثاني فقد يشارك في تنظيم الطبقات المتعددة للبشرة. كما وجد أن الكادهيرين يدخل في تفاعلات متغايرة مع المستقبل (KLRG1) الذي يشاهد في كل من الخلايا NK و CD4+ و CD8+. إضافة لذلك يتواسط الكادهيرين E التفاعل مابين الخلايا المتقرنة (الكيراتينية) و خلايا لانغرهانس في البشرة الطبيعية (Van den Bossche et al., 2012).



الشكل 13: الكادهيرين E في المسافة بين الخلايا، و البروتينات المرتبطة به، إضافة إلى آلية ربط الكاتينين α للكادهيرين والأكتين (van Roy and Berx, 2008).

نقل الكادهيرين Trafficking :

يحدث نقل الكادهيرين E المصنع حديثاً من جهاز غولجي عبر الحاملات النيبية الحويصلية المعتمد على بروتين غولجي golgin-97 (golgin-97 dependent tubulovesicular carriers)، ومن ثم يلتحم بالجسيم الداخلي المسؤول عن إعادة التدوير

recycling endosome الذي ينقله إلى سطح الخلية (Lock et al., 2005, Delva)
(and Kowalczyk, 2009).

يتشكل الكادهيرين E من مجال بدئي Prodomain ذي وزن جزيئي 135 KDa،
يخضع لتشذيب إنزيمي هيولي ليشكل جزيئاً ناضجاً ذا وزن جزيئي 120 kDa، ثم يتوجه
إلى الغشاء الهيولي للخلايا البشرية ليتوضع ضمن الموصل اللاصق (Haussinger et al., 2004).

يترافق الكادهيرين E مع الكاتينين β مبكراً في سبيل التصنيع الحيوي عند الترجمة
cotranslationally (Niessen et al., 2011)، حيث يشكلان معقداً في طريقهما إلى
الغشاء الخلوي حيث يرتبط الكاتينين بواسطة متتالياته مباشرة بالمنطقة المركزية من النهاية
الكربونية للكادهيرين، ثم يرتبط كل من الكاتينين α و p120 بالمعقد بعد التشذيب الهيولي
لسلف الكادهيرين عندما يقترب المعقد من سطح الخلية (Hinck et al., 1994, van Roy and Berx, 2008).

تنظيم تعبيرية الكادهيرين E:

يتم تنظيم الكادهيرين على مستويين تنظيم قبل انتساخي Pretranscriptional،
وبعد انتساخي Posttranscriptional.

التنظيم قبل الانتساخ:

- يقوم كل من عوامل النسخ WT1، HNF3، Rb، c-Myc بالارتباط بمحفز promoter الكادهيرين E وتحريضه على نسخ الكادهيرين (van Roy and Berx, 2008, Paredes et al., 2012).
- أما تثبيط انتساخ الكادهيرين فيمكن أن يتم من خلال فرط مثيلة hypermethylation محفز الكادهيرين E مما يتسبب في إيقاف تعبيرية البروتين،
أو من خلال تثبيط E-pal box في محفز البروتين من خلال الارتباط بالكابحات
مثل Snail, Slug، وهما عوامل نسخ زنكية الإصبع zinc-finger، ومنتج مورثة

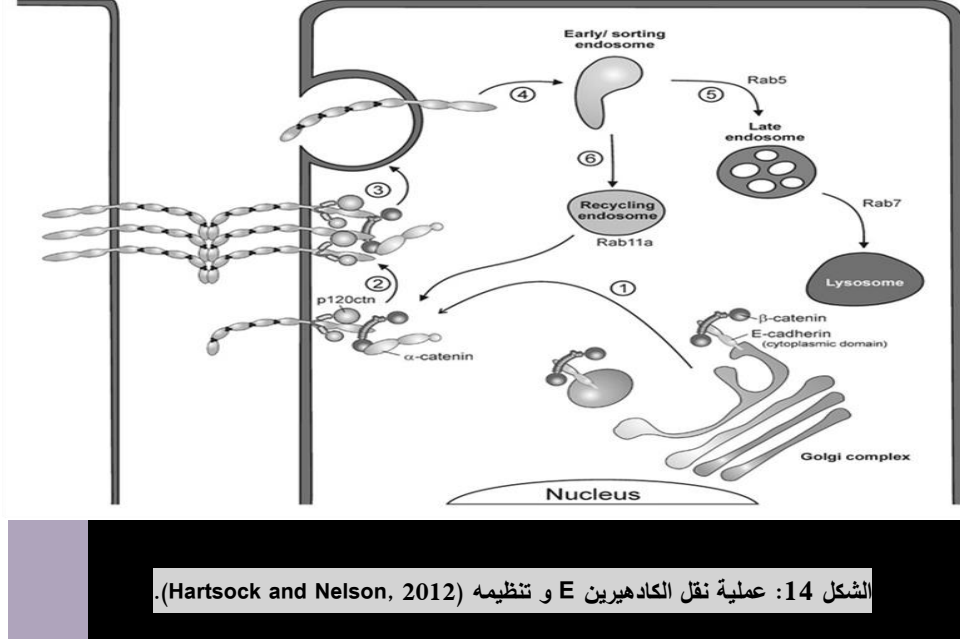
E2A (E12/47)، وكابحات عائلة zinc-finger homeobox (ZEB1,ZEB2) (Paredes et al., 2012).

التنظيم ما بعد الانتساخ:

• تُنظَّم المستويات الغشائية من الكادهيرين بواسطة الالتقام Endocytosis. حيث يتم بشكل مستمر استبطان الكادهيرين E وإعادة تدويره Recycling إلى الغشاء الخلوي بواسطة طريق الجسيمات الداخلية مابعد جهاز غولجي post-Golgi endosomal pathway، وتنظم هذه العملية بواسطة التماسات بين الخلوية. عندما يتم استبطان الكادهيرين فإنه إما يعاد تدويره إلى الغشاء القاعدي أو انه يستهدف للتدرك بالجسيمات الحالة (Bryant and Stow, 2004, van Roy and Berx, 2008). يزود طريق إعادة التدوير هذا الخلية بآلية للتعديل الديناميكي لتعبيرية الكادهيرين على سطح الخلية من خلال الموصل اللاصق وبالتالي اللصق بين الخلوي و التخلق الشكلي، قطبية الخلية (Wirtz-Peitz and Zallen, 2009). يتم استبطان الكادهيرين إما بواسطة الكلاثرين Clathrin، أو الكهيفات Caveolae، إضافة إلى الاحتساء macropinocytosis (Delva and Kowalczyk, 2009, Saito et al., 2012). ومن العوامل الأساسية في هذا المجال هو الكاتينين p120 الذي يمنع استبطان الكادهيرين ويعمل على استقراره على الغشاء الهولي (Davis et al., 2003, Peifer and Yap, 2003, Hartsock and Nelson, 2012)، إضافة إلى الكاتينين β الذي يشكل معقداً مع Rac مسبباً استبطان الكادهيرين E (Delva and Kowalczyk, 2009, Amin and Vincan, 2012).

• من المحددات الأساسية لسلامة بنية معقد E-Cad/ β -Ctn هي حالة سفرته (Tian et al., 2011). حيث تتم المحافظة على الكادهيرين E طبيعياً في حالة تيروزين منزوع الفسفرة، إذ إن فسفرة الذيل الهولي للكادهيرين بواسطة التيروسين كيناز (c-Met، EGFR، c-Src، Fyn) تجنّد HaKai مما يقود إلى استبطان الكادهيرين وتدركه في الجسيمات

الحالة (Pece and Gutkind, 2002, Fujita et al., 2002). وغالباً ما تكون فسفرة التيروسين نتيجة إشارة عوامل النمو التي تسبب تخرب الموصل اللاصق.



- يمكن تنظيم الكادهيرين من خلال الارتباط بالجليكوزيل O أو N (Bertocchi et al., 2012)، حيث تعد N-glycans أساسية لتعبيرية الكادهيرين E و طيه و نقله (Paredes et al., 2012).
- يمكن تثبيط الكادهيرين أيضاً بواسطة شطر المجال خارج الخلوي (Saito et al., 2012) بواسطة حالات البروتين الفلزية للقالب MMPs متضمنة MMP3, MMP7, MMP9, MMP14 (Covington et al., 2006) خلال عملية تدعى ectodomain shedding (Symowicz et al., 2007) التي يتوسطها أيضاً كل من PS-1, Caspase-3, ADAM10 (Heuberger and Birchmeier, 2010)، والبلاسمين، والكالكرين 7.

وظيفة الكادهيرين E:

(1) تشكيل الموصل بين الخلايا :

يشكل الكادهيرين E مع الكاتينين β معقداً بروتينياً ضرورياً لاستقرار الموصل الملتصق، ويشاركه في ذلك النكتين، حيث يؤسس النكتين مواقع اللصق بين الخلايا البدئية، ثم يجند الكادهيرين E لهذه المواقع حيث يتفاعل هذين البروتينين من خلال ارتباط أفادين بالكاتينين α أو P120 (Sakisaka et al., 2007).

إضافة إلى ذلك فإن الكادهيرين E يلعب دوراً هاماً في تشكل كل من الموصل المحكم و جسيمات الوصل، حيث أن حذفه من الخلايا البشرية في الجلد يؤدي إلى تخرب هذين الموصلين (Lewis et al., 1997, Tunggal et al., 2005).

يساهم الكادهيرين E في إرساء قطبية الخلايا البشرية من خلال تشكيله للموصل بين الخلايا، ومن خلال تفاعله مع البروتينات المسؤولة عن إرساء القطبية (Niessen and Gottardi, 2008, Nejsun and Nelson, 2009, Hulpiau et al., 2013)، إضافة إلى ذلك فهو من خلال ارتباطاته المتطابقة يقيد من حركة الخلايا و يثبط إشارات التكاثر الخلوي المتوسطة بعوامل النمو مما يحافظ على استقرار النسيج البشري ويمكنه من القيام بوظيفته كحاجز ميكانيكي ضد العوامل الخارجية (Kim et al., 2011, David and Rajasekaran, 2012). إضافة لذلك فإن الكادهيرين E يحدد مستوى Plane انقسام الخلايا (Halbleib and Nelson, 2006, Hulpiau et al., 2013)، ويعمل كحساس ميكانيكي لقوى الشد التي تتعرض لها الخلايا البشرية (Smutny and Yap, 2010).

(2) التحكم بالإشارات داخل الخلية:

يقوم الكادهيرين E بالتحكم بالإشارات داخل الخلية بشكل غير مباشر من خلال احتجاز الكاتينينات على سطح الخلية، حيث أن وجودها في الهيولى أو النواة ذا نشاط إنتساخي (van Roy and Berx, 2008)، وكمثال على ذلك هو الكاتينين β الذي يلعب دوراً رئيسياً في سبيل canonical Wnt-signaling حال عدم ارتباطه بالكادهيرين، حيث يتوضع في النواة ويرتبط بعوامل النسخ (TCF/ LEF) مما يفعل عدداً من البروتينات، التي

ينتج عنها مجموعة من التأثيرات الخلوية كاللصق بين الخلوي، والتخلق الشكلي للنسج، وهجرة الخلايا، و تطور الأورام (Tian et al., 2011, Amin and Vincan, 2012).

يمكن للكادهيرين أيضاً أن يعدل من نقل الإشارة داخل الخلوية بواسطة التفاعل مع مستقبلات التيروسين كيناز (EGFR و HGFR) (Qian et al., 2004, Cavallaro and Christofori, 2004) ومع مستقبلات التيروسين فوسفاتاز عبر الغشائية و الهيولية (PTPs)، التي بدورها تعدل من Src مما يفعل العديد من طرق الإشارة (Amin and Vincan, 2012). تتفاعل هذه البروتينات بشكل مباشر مع الكادهيرين، أو بشكل غير مباشر من خلال ارتباطها بالكاتينينات، مما يؤثر في تنظيم الكادهيرين نفسه، إضافة إلى تنشيط العديد من إشارات عوامل النمو (Niessen et al., 2011, Bertocchi et al., 2012).

يتفاعل الكادهيرين E أيضاً مع عائلة Rho family GTPases بأفرادها الثلاث Rac و Cdc42 و Rho مما ينعكس على تنظيم أكتين الهيكل الخلوي في أماكن اللصق بين الخلوي (Braga and Yap, 2005, Baum and Georgiou, 2011, Niessen, 2007)، وتنظيم نقل الكادهيرين و استبطانه (Amin, 2009, Delva and Kowalczyk, 2012, and Vincan, 2012)، إذ وجد أن الارتباط المتطابق للكادهيرين E يفعل كل من Rac و Cdc42 (Kim et al., 2000b, Kraemer et al., 2007)، ويثبط نشاط Rho (Arthur et al., 2002, Niessen et al., 2011). إضافة إلى ذلك فإن تفاعل الكادهيرين مع هذه البروتينات يساهم في تخفيف التوتر في أماكن اللصق بين الخلوي (Maitre and Heisenberg, 2013).

(3) التطور الجنيني:

للكادهيرين E دور مفصلي في التخلق الجنيني عند الثدييات، إذ تظهر تعبيريته بشكل مبكر جدا في التطور الجنيني في مرحلة الخلية الواحدة، كما أنه يلعب دوراً مهماً في

التصاق القسيمات الأرومية blastomeres أثناء تكدس المضغة Embryonic Compaction (Paredes et al., 2012).

يعد التحول البشري الضام EMT والتحول الضام البشري MET من أكثر المظاهر أهمية في التطور الجنيني.

يشاهد التحول البشري الضام EMT أثناء خلال تشكل المعيدة gastrulation وتشكل العصبية neurulation، إذ يحدث فقدان الالتصاق والاستقطاب البشري إذ يحدث استبدال الكادهيرين Switching وهو انخفاض تنظيم الكادهيرين E و استبداله بالكادهيرين N.

يلعب الكادهيرين E دوراً أساسياً في كل من عملية التحول البشري الضام EMT و التحول الضام البشري MET وهي عمليات وظيفية (فيزيولوجية) تشاهد أثناء التطور الجنيني، وتلief النسج. يتسم التحول البشري الضام بخضوع الخلايا البشروية المتميزة إلى تحول في النمط الظاهري phenotype حيث تخسر الخلية البشروية واسماتها كالكادهيرين E و ZO-1 (zonula occludens-1) و القرنين الخلوي (السيتوكيراتين)، وتكتسب النمط الظاهري الضام إضافة إلى ظهور تعبيرية البروتينات الضامة كالفايمنتين، و α -SMA (Tian et al., 2011).

تبدأ عملية التحول البشري الضام من خلال الإشارات خارج الخلية مثل Wnt، P13K، TGF-beta، Ras، Notch، التي تفعل كل من small GTPases وعائلة Src التي تؤدي إلى تفعيل العديد من الإشارات داخل الخلية، ومن ضمنها تفعيل كابحات الكادهيرين E مثل Snail و Slug ، وبالتالي تثبيط تعبيرية هذا البروتين مما يؤدي إلى تخرب التماسات بين الخلية وفقدان قطبية الخلايا. إضافة إلى ذلك يؤدي كبح الكادهيرين E وبالتالي تخرب ارتباطه بالكاتينين بيتا مما يجعل الأخير يتوضع في النواة و بالتالي تفعيل سبيل Wnt (Amin and Vincan, 2012).

تظهر تجارب التثبيط الشرطي للكادهيرين E خلال التخلق الجنيني أن أجنة الفئران ذات فقدان متماثل للواقع للمورثة CDH1 تموت خلال فترة الانغراس بسبب عدم القدرة على

تشكيل بشرة الأديم الظاهر الغذائي Trophectoderm (van Roy and Berx, 2008,)
(Stepniak et al., 2009). كما أن تطفر الكادهيرين E أثناء التطور الجنيني للبشر
يؤدي إلى تشكل التشوهات الخلقية للخط الأوسط كشق الشفة و قبة الحنك (Paredes et
al., 2012).

أيضا ينتج عن فقدان الكادهيرين E التالي للولادة في الخلايا المتقرنة (الكيراتينية) عند
الفئران غياب المواصل الملتصقة، والتمايز المناسب للجلد، حيث يشاهد فرط تنسج بشرة
الجلد، إضافة إلى فقدان المترقي لجريبات الأشعار (van Roy and Berx, 2008)
(Schmeiser and Grand, 1999). مما يقترح دورا أساسيا لهذا الكادهيرين في تنظيم
هندسة الموصل اللاصق للخلايا المتقرنة (الكيراتينية) والتخلق الشكلي للبشرة
(Wheelock and Jensen, 1992)

ينتج عن حذف المورثة CDH1 تمايز معيب بشدة للخلايا البشرية السنخية للغدد
الغدية عند الفئران (van Roy and Berx, 2008). إضافة إلى ذلك فقد تم تقصي
الكادهيرين E في خلايا نقي العظم، حيث أنه يشارك في مراحل محددة من نضج الكريات
الحمراء (Armeanu et al., 1995).

تظهر الدراسات الحديثة أن الكادهيرين E يشارك بشكل مباشر في بقاء الخلايا الجذعية
الجنينية البشرية وفي تجدد الذاتي (Li et al., 2012b).

يتوسط الكادهيرين E الارتباط ما بين الخلايا القتامينية و المتقرنة (الكيراتينية) في
الجلد (Bachmann et al., 2005).

دور الكادهيرين E في سياق التنشؤ الورمي:

على الرغم من أن الكادهيرين E يقوم بدور محفز للورم في سياق بعض الأورام، كسرطان
الثدي الإلتهابي، وسرطان المبيض، والورم الأرومي الدبقي (Rodriguez et al., 2012,)
(David and Rajasekaran, 2012)، إلا أنه يقوم بدور كابح للأورام في أغلب التنشؤات

الورمية، حيث أن انخفاض أو فقدان تعبيريته يحفز الغزو و النقائل من خلال عدة آليات (Onder et al., 2008).

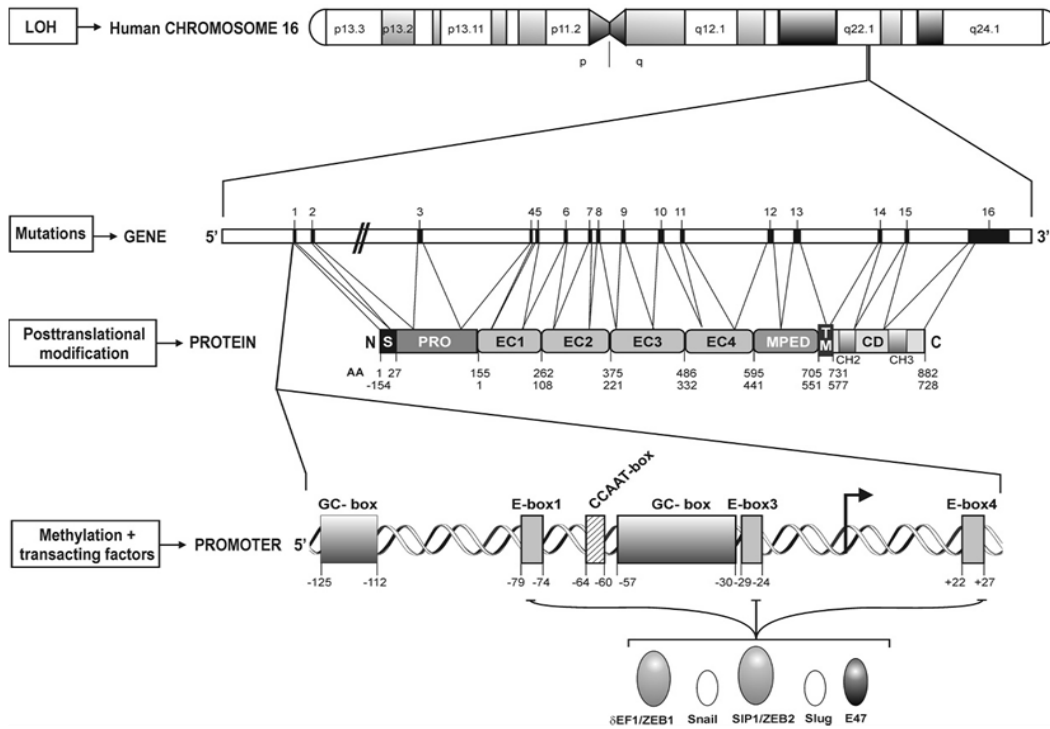
تتخفص تعبيرية هذا البروتين في السرطان الكولوني- المستقيمي (Tsanou et al., 2011, Van Marck et al., 2008, al.), والكبد (Zhai et al., 2008)، والمعدى (Pinheiro et al., 2010)، والصباغي (القتاميني) (Bachmann et al., 2005,) (Molina-Ortiz et al., 2009)، وقاعدي الخلايا الارتشاحي (Pizarro et al., 1995). كما تتخفص تعبيرية الكادهيرين E بالتزامن مع تقدم ورم عنق الرحم داخل البشري CIN وخاصة عند تحوله إلى السرطان الغازي (Branca et al., 2006).

لوحظ انخفاض تعبيرية الكادهيرين E في سرطان بطانة الرحم مقارنة مع بطانة الرحم الطبيعية كما لوحظ انخفاضه في السرطان منخفض التمايز مقارنة بعالي التمايز، مما يقترح أن لفقدانه دور في اكتساب الخلايا لسلوك حيوي (بيولوجي) عدواني (Shih et al., 2004).

هناك العديد من الآليات لتعطيل الكادهيرين في الأورام الخبيثة، وهي تتضمن : الطفرات، وكتم التخلق المتوالي، والالتهام، وزيادة تعبيرية الكادهيرينات غير البشرية (van Roy and Berx, 2008, David and Rajasekaran, 2012).

• فقدان تغاير الزيجوت loss of heterozygosity و الطفرات المعطلة:

يشاهد فقدان تغاير الزيجوت في 16q بشكل كبير في سرطان الثدي (Berx and van Roy, 2009). كما تعتبر الطفرات الجسدية للمورثة CDH1 من أكثر التبدلات شيوعا في السرطان المعدي ذي النمط المنتشر وسرطان الثدي القنوي (Graziano et al., 2003).



الشكل 15: الآليات المعطلة للكادهيرين E في سياق التشو الورمي. (van Roy and Berx,)

(2008)

• كتم التخلق المتوالي Epigenetic silencing للكادهيرين E:

يعد فرط مثيلة محفز الكادهيرين E واحدة من الآليات المهمة في كبح التخلق المتوالي

خلال تطور السرطان حيث انه يترافق مع فقدان تعبيرية هذا الكادهيرين (van Roy and Berx, 2009).

حيث ظهر في سرطان الدرق الحليمي بنسبة 83% من الحالات

(Semb and Christofori, 1998)، كما ظهر في السرطان المعدي ذو النمط

المنتشر (Graziano et al., 2004)، وسرطان الثدي (Caldeira et al., 2006)

حيث يرتبط بعملية EMT في سياق هذا السرطان (Lombaerts et al., 2006)

ومما يدعم تدخل فرط المثيلة في كبح الكادهيرين؛ هو إعادة تفعيل الكادهيرين E في هذه

الخلايا السرطانية عقب المعالجة بعامل نزع الميثيل (5AzaC).

ومن الآليات الأخرى في كبح التخلق المتوالي، نقص أسئلة محفز الكادهيرين E مما يتسبب في انخفاض تعبيرية الكادهيرين (Liao et al., 2013, Jordaan et al., 2013) يترافق فرط مثيلة محفز الكادهيرين E مع زيادة تعبيرية كابحات نسخ هذا البروتين في سياق العديد من أنواع السرطانات، مثل Snail (de Herreros et al., 2010) Slug، (Blechs Schmidt et al., 2008)، (Bex and van Roy, 2009).

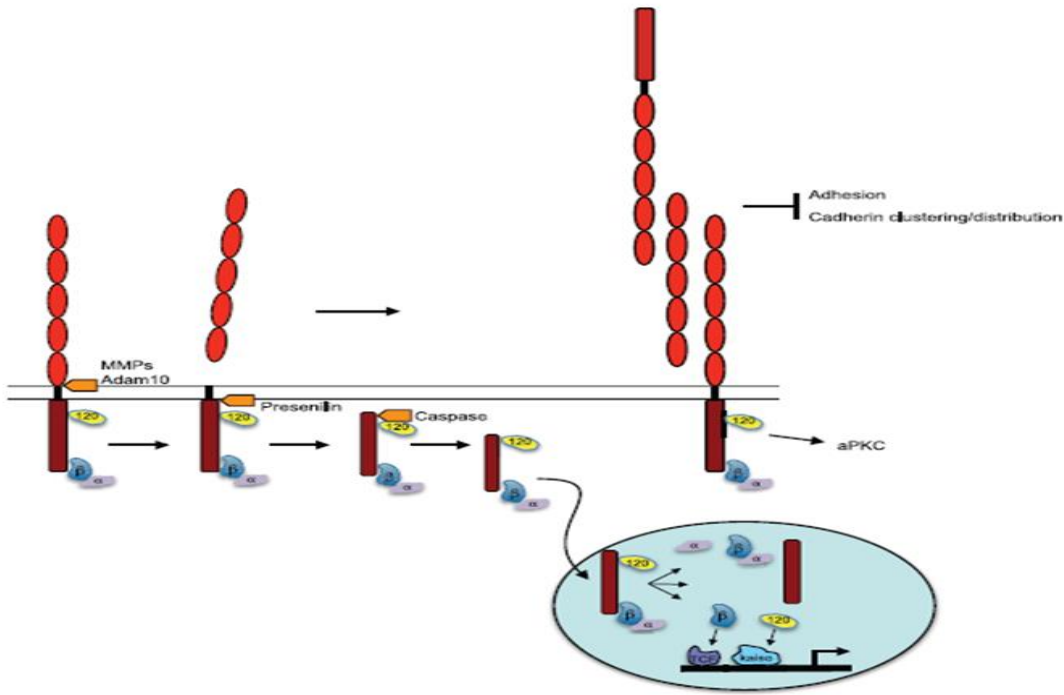
• التقام الكادهيرين E و التحلل البروتيني له:

ينتج عن التفعيل الشاذ للمورثات الورمية proto-oncogene مثل EGFR تجنيد سبيل E3-ubiquitin ligase HaKai وبالنتيجة توسط استيطان الكادهيرين E و التحلل المعتمد على ubiquitin.

كما ينتج عن شطر المجال خارج الخلوي للكادهيرين E في سياق السرطان بواسطة MMPs، أو البلاسمين، أو الكالكرين7، أو الكاثبسين، مايدعى بعملية تشدف الكادهيرين ectodomain shedding. تحول هذه العملية الكادهيرين (KDa120) إلى جزء خارج خلوي (KDa80)، وجزء داخل خلوي (KDa 38).

يتحرر الجزء خارج الخلوي والذي يدعى بالكادهيرين E الذواب(الحلول)(sE-cad) من الغشاء الخلوي إلى الوسط خارج الخلوي حيث يقوم بالعمل بطريقة نظيرة صماوية Paracrine حيث يحصر التفاعلات الطبيعية للكادهيرين E من خلال تشكيله لمتنويات متطابقة مع الكادهيرينات المتبقية على الغشاء الخلوي (Noe et al., 2001, Bex and van Roy, 2009).

أما المجال داخل الخلوي فيبقى مرتبطاً بالغشاء الخلوي حتى يقوم γ -secretase (1/2-Presenilin) بتحريره من الغشاء الخلوي (David and Rajasekaran, 2012)، حيث يتوضع في النواة ويرتبط بـ DNA بتوسط من الكاتينين p120. يقوم هذا الجزء المنشطر بتعديل طريق الإشارة المتواسط بـ p120-Kaiso الذي يقوم في الحالة الطبيعية بتنظيم سبيل Wnt، وقد يكون ذو دور في تنظيم عملية الاستموات (Ferber et al., 2008).



الشكل 16: شطر المجال الخارجي والهيولي للكادهيرين، ومصير كل منهما (van Roy and Berx, 2008)

• استبدال الكادهيرين خلال تطور السرطان :

تشاهد عملية التحول البشري الضام أو ما يدعى باستبدال الكادهيرين أيضا في سياق الأورام الخبيثة، حيث يترافق فقدان تعبيرية الكادهيرين E غالباً مع ظهور تعبيرية الكادهيرينات الميزانشيمية كالكادهيرين N والكادهيرين 11.

تحفز زيادة تعبيرية الكادهيرين N في الخلايا البشرية لسرطان الثدي الشكل المبعثر في هذه الخلايا، كما أنها تزيد القدرة على الحركة والغزو والاستعمار.

وقد يسهل التفاعل المتطابق homophillic للكادهيرين N بين الخلايا الورمية والخلايا الإيجابية للكادهيرين N بما فيها اللحمية الضامة، وبطانة الأوعية الدموية، نفوذ penetration الخلايا الورمية وبقائها في الأعضاء الثانوية (Bachmann et al., 2005, Blaschuk and Devemy, 2009, van Roy, 2014).

يرتبط EMT بسوء الانذار، حيث يرتبط انخفاض تعبيرية الكادهيرين E وارتفاع تعبيرية Slug مع زيادة النكس وانخفاض نسبة البقاء الخالية من المرض (Cappellesso et al., 2015).

يحفز ارتباط FGFR بالكادهيرين N إشارة MAPK-ERK، إضافة إلى تحفيز MMPs والذي يسبب شطر المجال خارج الخلوي للكادهيرين E، مما يقود إلى تثبيط إضافي للكادهيرين E (Halbleib and Nelson, 2006).

يلعب الكاتينين بيتا من خلال سبيل Canonical Wnt دوراً في EMT وهجرة الخلايا بشكل مباشر من خلال التنظيم التناقصي للكادهيرين E وذلك من خلال السماح بتراكم Snail و Slug نتيجة عدم فسفرتها ب $GSK3-\beta$ ، وبشكل غير مباشر حيث أنه يفعل MPPs التي بدورها تقوم بحل وتترك الغشاء القاعدي حتى تتمكن الخلايا من الغزو (Amin and Vincan, 2012).

دور الكادهيرين E في السرطان شائك الخلايا:

يقوم الكادهيرين E بدور المورثة الكابحة للورم في سياق السرطان شائك الخلايا في المريء (Ling et al., 2011)، وفي الجلد حيث يشاهد انخفاض تدريجي في تعبيريته بدءاً من سوء التصنع إلى السرطان (Brouxhon et al., 2007). يؤدي انخفاض تعبيريته إلى اكتساب الخلايا القدرة على الهجرة والانتقال من مرحلة سوء التصنع إلى السرطان (Alt- (Holland et al., 2008) وذلك من خلال فرط تعبيرية كل من FAK و Src (Andl et al., 2014).

تنخفض تعبيرية الكادهيرين E الغشائية، أيضاً، في البشرة الفموية المصابة بسوء التصنع (Diniz-Freitas et al., 2006)، وفي السرطان شائك الخلايا الفموي حيث يترافق هذا الانخفاض مع زيادة خباثة السرطان (Margulis et al., 2006)، ومع

الغزو (Afrem et al., 2014)، والنقائل، وسوء الإنذار (Christofori and Semb, 2004, Bankfalvi, 1999, Ziober et al., 2001, Kudo et al., 2004, Ahmed et al., 2014, et al., 2002).

من النادر مشاهدة تطفر مورثة الكادهيرين E في سياق السرطان شائك الخلايا الفموي، ويكون فرط مثيلة محفز الكادهيرين الأكثر مشاهدة في سياق هذا السرطان (DesRochers et al., 2012, Viswanathan et al., 2003, Kudo et al., 2004, Yeh et al., 2002)، حيث يعتقد أنه يقود عملية النقائل ويرتبط بنكس السرطان (Chang et al., 2008, de Moraes et al., 2002).

تتوسط عملية EMT تطور السرطان شائك الخلايا الفموي، حيث تنخفض تعبيرية الكادهيرين E و تظهر تعبيرية للكادهيرين N (Zhao et al., 2012). يتوسط فرط تعبيرية كل من عوامل النسخ ZEB-1/ δ EF، ZEB-2/SIP1، Snail (Takkunen et al., 2006)، Slug (Katafiasz et al., 2011) هذه العملية مما يسبب زيادة حركة الخلايا وغزوها. حيث تظهر الخلايا التي لا تزال تحتفظ بتعبيرية الكادهيرين E ولا تظهر Snail شكلا مكعبا طبيعيا أما سلالة الخلايا التي أظهرت Snail و لم تظهر الكادهيرين فقد أبدت شكلا مغزليا و قابلية للغزو أكثر من سابقتها (Yokoyama et al., 2001).

يشاهد EMT بشكل كبير في سياق السرطان مغزلي الخلايا، (Zidar et al., 2008)، حيث يشاهد فرط تعبيرية كل عوامل النسخ Snail، Slug، Twist، SIP1 في هذا السرطان مقارنة بالسرطان شائك الخلايا التقليدي (Kojc et al., 2009).

2-4-4- الكادهيرين P

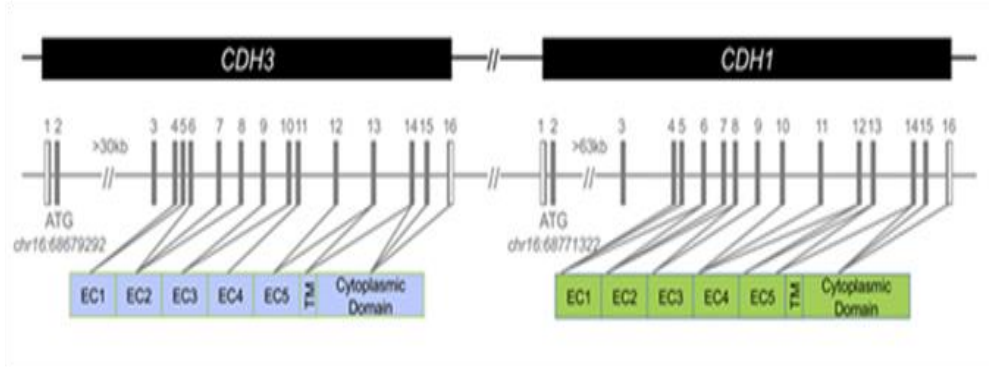
الكادهيرين المشيمي P هو بروتين سكري من النمط I للكادهيرينات الكلاسيكية.

يتكون الكادهيرين P (180 kDa) من بنية الكادهيرينات الكلاسيكية من النمط I (Paredes et al., 2007)

تتوضع المورثة CDH3 والتي ترمز الكادهيرين P على الكروموزوم 16q22.1، وهي 32 كيلوقاعدة من المورثة CDH1 التي تُرمز الكادهيرين E. تضم هذه المورثة 16 إكسون exon (Paredes et al., 2012). يشابه الكادهيرين P بنيويا الكادهيرين E بنسبة 67 % (Albergaria et al., 2011).

سمي هذا الكادهيرين بالمشيمي نسبة إلى اكتشافه في مشيمة الفئران بنسبة عالية أثناء الحمل، ليتبين لاحقا أنه على الرغم من تشابه الكادهيرين البشري P مع مثيله عند الفئران بنسبة 87% (Shimoyama et al., 1989)، إلا أن الخلايا البشرية في المشيمة البشرية تظهر الكادهيرين E أثناء الحمل وليس الكادهيرين P بشكل مخالف للمشيمة عند الفئران (Shimoyama et al., 1989) على الرغم من تحري الكادهيرين P في مكان التقاء الأرومات الغذائية في الزغابات الأثلوثية (الفصلية أو ذات الثلاث أشهر) الأولى first trimester villus.

يشاهد الكادهيرين P عند البالغين في الخلايا القاعدية للعديد من البشرات كبشرة الجلد و الحفرة الفموية ، والبروستات، و المبيض، و التيموس (Imai et al., 2008). إضافة لذلك فهو يشاهد في الخلايا العضلية البشرية للغدد الثديية (Faraldo et al., 2007)، وفي الخلايا القدمية للكبد الكلوية (Faul et al., 2007)، وفي الخلايا القتامينية للوحمة الأدمية (Bachmann et al., 2005) ولكن تعبيره في الوحمة الأدمية تكون أقل من تعبيره في الوحمة المركبة أو وحمة الاتصال (Bauer et al., 2006).



الشكل 17: يوضح الشكل التشابه ما بين مورثة الكادهيرين E والكادهيرين P
(Paredes et al., 2012).

دور الكادهيرين P أثناء التطور الجنيني :

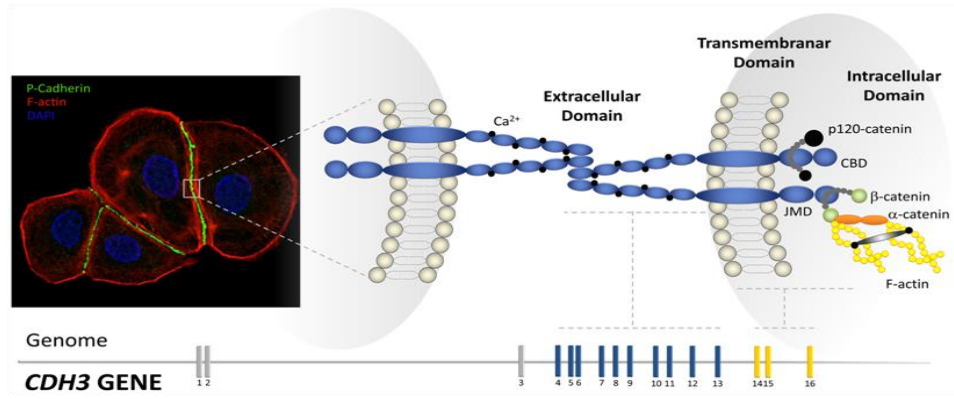
تعد المورثة CDH3 واحدة من المورثات التي ترمز بروتيناً سطحياً يحدد هوية السلالة متعددة القدرات population للخلايا الجذعية المضغية البشرية (Kolle et al., 2009).

كما تشاهد تعبيرية عالية للكادهيرين P في القسم المتكاثر من جريب الشعرة والبشرة الآخذة في التطور، حيث يقوم بفصل الخلايا المتقرنة (الكيراتينية) إلى مجموعات محددة عن بعضها، لذلك يعد الكادهيرين P أساسياً في المراحل النهائية من تمايز البشرة (Paredes et al., 2007).

أيضاً تشاهد تعبيرية عالية للكادهيرين P في الحافة القمية لبراعم الطراف، والظاهرة الصباغية الشبكية.

يلعب الكادهيرين P دوراً مهماً في التطور الطبيعي للثدي، حيث أنه يساهم في تنظيم طبقة الخلايا العضلية البشرية (Chanson et al., 2011). وعلى الرغم من أن تعبيرية هذا الكادهيرين في النسيج الثديية البشرية البالغة تنحصر في الأغشية الخلوية للخلايا العضلية البشرية، إلا أن تعبيره تنقل في الخلايا اللمعية خلال الفترة الأخيرة من الحمل و خلال الإرضاع ولكن بتعبيرية هيولية تتوافق مع بروتين مفرز وبالفعل فقد تم مشاهدة جزء

نواب من الكادهيرين P (sP-cad) (Soler et al., 2002) الذي يتوافق مع المجال خارج الخلوي لهذا البروتين (80 KDa)، إلا أن وظائفه الوظيفية لا تزال غير واضحة (Albergaria et al., 2011).



الشكل 18: بنية الكادهيرين P والكاتينينات المرافقة له. (Albergaria et al., 2011)

على الرغم من أن فقدان هذا الكادهيرين أثناء التطور الجنيني ليس قاتلاً كما هي الحال في الكادهيرين E إلا أنه يتسبب بالعديد من التشوهات وخاصة في الثدي (Paredes et al., 2012)، حيث تظهر الفئران عديمة الواسمات للكادهيرين p تطوراً مبكراً للغدد الثديية، كما يتطور لديها مع العمر فرط وسوء تصنع للثدي، ولكن تتطور الأطراف، والعيون، والأشعار بشكل طبيعي (Faraldo et al., 2007)، مما يشير إلى أهمية الكادهيرين P في تطور الثدي وليس فقط من خلال توسط اللصق بين الخلوي وإنما من خلال توسط الإشارات الخلوية (Paredes et al., 2007). كما يسبب تطفّر المورثة CDH3 أثناء التطور الجنيني عند البشر تناذر HJMD والذي يصيب جريبات الأشعار و الشبكية حيث يصاب المريض بفقدان بصر متروّج إضافة إلى امتلاكه شعر قصير مبعثر، كما يسبب تناذر EEM والذي يظهر فقدان الشعر المبكر والتتسكس المتروّج الشبكية المركزية والذي يقود إلى العمى بين العقدين الأول والثالث، إضافة إلى ذلك فهو يظهر أيضاً نقص في الأسنان وعيوب في تطور الأطراف كتشوه اليد و القدم الفلحاء (El-Amraoui and Petit, 2013).

يقوم الكادهيرين P بدور معاوض عند حذف الكادهيرين E من بشرة الجلد الجنينية عند الفئران حيث لم تصاب الموصل اللاصقة بأذى كبير (van Roy and Berx, 2008)، أما عند حذف كلا الكادهيرينين من البشرة فقد نتج عن ذلك تخرب كامل للموصل اللاصقة و الارتباطات بين الخلوية إضافة إلى زيادة الاستموات الخلوي (Stepniak et al., 2009).

أظهر الكادهيرين P نمط تعبيرية مؤقتاً زمنياً - مكانياً فريداً من نوعه في الألفية العرقية الآخذة في التطور، حيث تراكمت تعبيريته في الحواف البشرية EPIDERMAL RIDGES وأظهرت تبايناً عن قسم الخلايا المتكاثرة، مما يقترح دور الكادهيرين P في فصل الطبقات القاعدية إضافة إلى ترتيب الخلايا البشرية ضمن ألفية عرقية ناتحة، ولكن غير وثيقة الارتباط بتكاثر الخلايا (Albergaria et al., 2011).

تشاهد تعبيرية الكادهيرين E,P أثناء التشكل الجنيني لعضو الميناء للرحى الأولى عند الفئران حيث اختلفت تعبيرية الكادهيرينين تبعاً لمرحلة تطور السن مما يقترح أدواراً مختلفة لكل من هذين الكادهيرينين في التخلق الشكلي و التمايز الخلوي (Palacios et al., 1995).

تنظيم الكادهيرين P:

تظهر الدراسات أن الكادهيرين P هو هدف مباشر للبروتين p63 ، حيث يتفاعل البروتين p63 مباشرة مع منطقتين محددتين من محفز الكادهيرين p والذي قد يكون حدثاً أساسياً لتطور برعم الطرف وجريب الشعرة (Shimomura et al., 2008)، فقد وجد أن تعبيرية p63 تسبب انخفاض تنظيم مورثات اللصق بين الخلوي المرافقة، وانفصال الخلايا البشرية الثديية عن بعضها (Carrollet al.2006).

قد يكون الكاتينين β ذا دور في تنظيم تعبيرية الكادهيرين P خلال تشكل برعم الشعرة في الجلد (Samuelov et al., 2012). شوهد ارتفاع تنظيم نشاط محفز

الكادهيرين P بواسطة بيتا كاتينين بشكل مستقل عن العوامل LEF/TCF (Faraldo et al., 2007, Paredes et al., 2012).

وظائف الكادهيرين P:

➤ وجد أن الكادهيرين P يقوم بتنظيم القرنين الخلوي (السيتوكيراتين) 10/1 وهي البروتينات الأساسية في الخلايا الشائكة من خلال العامل المنظم لهذه السيتوكيراتينات. حيث أن حذف الكادهيرين P من الخلايا البشرية الطبيعية أدى إلى ارتفاع كل من السيتوكيراتين 10/1 وتعبيرية نووية قوية للعامل C/EBP- beta دون مشاهدة التأثير نفسه في الخلايا السرطانية. أما عند حذف الكادهيرين E فلم يتغير شيء لا للخلايا الطبيعية ولا البشرية (Bauer et al., 2012).

➤ يقوم كل من الكادهيرين E و الكادهيرين P بتوجيه الخلايا السليفة للخلايا القمامينية إلى مكانها النهائي في البشرة وقالب الشعرة (Nishimura et al., 1999).

دور الكادهيرين P في سياق التنشؤ الورمي:

تم تحري تبدل في الكادهيرين P في العديد من الأورام البشرية ولكن دوره في عملية التسرطن لا يزال مثيرا للجدل نظرا لكونه يتصرف بشكل مختلف اعتمادا على الورم المدروس.

ففي السرطان القماميني يتصرف الكادهيرين P كمورثة كابحة للورم، إذ تستطيع زيادة تعبيرية الكادهيرين P في سلالة خلايا السرطان القماميني الغازية بشدة (والتي تفقد الكادهيرين E)، أن تعزز التماسات بين الخلايا من جديد، وتعاكس الغزو من خلال مقاومتها للإشارات المحفزة للغزو التي ترسلها الخلايا مصورات الليف العضلية (Van Marck et al., 2011, Jacobs et al., 2005, al.). كذلك الأمر بالنسبة للسرطان الكولوني المستقيمي (Van Marck et al., 2011) وسرطان البروستات (Kumper and Ridley, 2010)، والسرطان الكبدي (Bauer et al., 2014).

يتصرف الكادهيرين P، من جهة أخرى، كمورثة ورمية في العديد من السرطانات، حيث تلاحظ تعبيريته الشاذة في السرطان قاعدي الخلايا (Pizarro et al., 1995)، (Marionnet et al., 2003)، وتحفز زيادة تعبيريته في كل من سرطان المبيض (Usui et al., 2014)، والمعتكلة (Taniuchi et al., 2005, Imai et al., 2008)، والسرطان المعدي (Kim et al., 2010)، والأقنية الصفراوية (Riener et al., 2010)، (Yi et al., 2014) على زيادة هجرة الخلايا الورمية والنقائل.

كما أن الكادهيرين P يعتبر واسماً للإنذار الضعيف في سرطان الثدي نظراً لترافق فرط تعبيريته مع الأنواع الثانوية عالية الخباثة لهذا السرطان، ومع نسبة بقيا قصيرة الأمد (Arnes et al., 2005, Paredes et al., 2007, Turashvili et al., 2011).

➤ كتم التخلق المتوالي لتعبيرية الكادهيرين P:

تم وصف انخفاض تعبيرية الكادهيرين P من خلال كتم التخلق المتوالي لمورثة الكادهيرين P بداية في دراسة لـ Sato et al. ، الذي وجد مثيلة شاذة لمورثة CDH3 في 20% من سرطانات البنكرياس، ولم يشاهد ذلك في البشرة الطبيعية للبنكرياس (Sato et al., 2003). وجد بشكل مشابه أن كتم مورثة CDH3 بواسطة المثيلة يسبب انخفاض تعبيرية الكادهيرين P في خلايا السرطان القتامي (Tsutsumida et al., 2004).

أما في السرطان الكولوني المستقيمي (Albergaria et al., 2011)، وفي سرطان الثدي الغازي، والسرطان المعدي فقد شوهدت علاقة بين فرط تعبيرية الكادهيرين P و نقص مثيلة محفزه Hypomethylation، حيث وجد أن محفز الكادهيرين P يكون ممثلاً في الخلايا الطبيعية البشرية لذلك تغيب تعبيرية البروتين منها (Paredes et al., 2007, Kim et al., 2010).

➤ دور الكادهيرين P في EMT واستبدال الكادهيرين:

يشاهد استبدال الكادهيرين E بالكادهيرين P في سياق التطور الجنيني، كما أنه يشاهد في سياق بعض الأورام وتحديدا سرطان المبيض (Patel et al., 2003)، وبطانة الرحم (Stefansson et al., 2004)، والمثانة (Bryan and Tselepis, 2010)، حيث تعطي زيادة تعبيرية الكادهيرين P المترافقة مع انخفاض تعبيرية الكادهيرين E الخطوة المفتاحية لتطور الورم.

من ناحية أخرى، وجد أن استبدال الكادهيرين E بالكادهيرين P لا يحفز إشارة EMT في سرطان الأوعية الصفراوية بما أنه لا يحفز تعبيرية الواسمات الميزانشيمية مثل Vimentin، Fibronectin (Baek et al., 2010).

تحافظ بعض الأورام كسرطان الثدي الغازي، وبعض سلالات خلايا سرطان الثدي النقيلي بشدة highly metastatic كنموذج الخلايا 4T1 على تعبيرية الكادهيرين E على الغشاء الخلوي، وتظهر بشكل مصاحب فرط تعبيرية للكادهيرين P (Albergaria et al., 2011)، والذي يحفز حركة الخلايا وغزوها (Ribeiro et al., 2010) من خلال آلية معتمدة على الكادهيرين E، حيث أنه يقوم بدور كابح للورم عندما تواجهه لوحده في هذه الخلايا، أما عندما يجتمع الكادهيرينين سوية فإنه إضافة إلى تحفيز الغزو فهو يشجع على بقاء الخلايا السرطانية (Sarrio et al., 2009, Ribeiro et al., 2013).

➤ طرق إشارة الكادهيرين P في سياق السرطان :

يلعب الكاتينين P120 دوراً مهماً في إشارة الكادهيرين P المحفزة للغزو (Paredes et al., 2004)، حيث وجد أن هجرة الخلايا المحفزة بالكادهيرين P تعود إلى تفعيل Rac1، و Cdc42 عبر تراكم الكاتينين P120 في سيتوبلازما خلايا سرطان المعثكلة (Taniuchi et al., 2005)، كما وجد أن الكادهيرين P يتعاون مع المستقبل insulin-like growth factor-1 لتعزيز إرسال إشارة النفاثل الهرمون المحرر للهرمون الموجه للغدد التناسلية في سرطان المبيض عبر الكاتينين P120 (Cheung et al., 2011)، وفي دراسة أخرى وجد أن حذف الكاتينين P120 من خلايا سرطان البروستات و الخلايا البشرية للثدي أدى إلى خفض تعبيرية كل من الكادهيرين E والكادهيرين P، وبالتالي فقدان

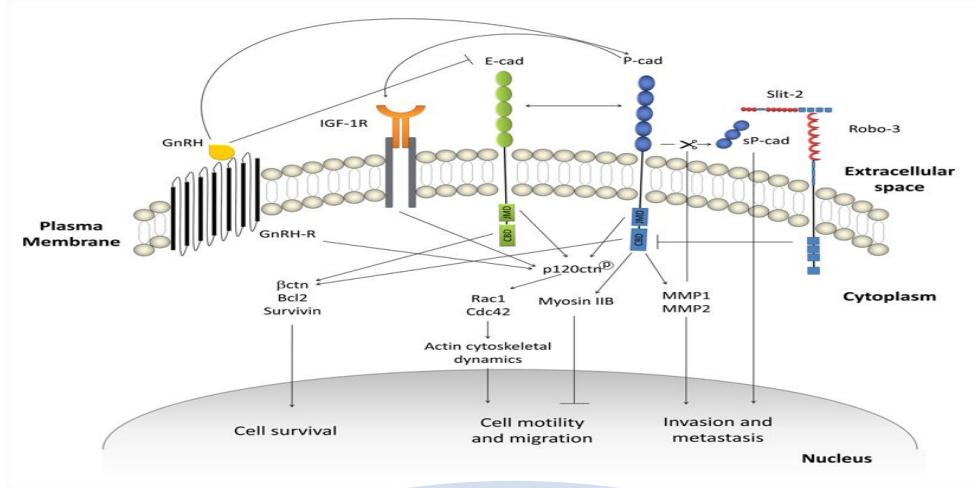
الاصق بين الخلو؁؁ إضافة إلى تحفيز زيادة سرعة هجرة الخلايا والغزو (Kumper and Ridley, 2010).

وجد أيضاً أن الكادهيرين P في سياق السرطان القتاميني يعاكس فعالية non-muscle myosin II-B الذي يحفز عادة هجرة الخلايا السرطانية (Jacobs et al., 2010).

كما وجد أيضاً أن عامل النسخ C/EBP-beta بمقدوره أن يفعل محفز الكادهيرين P في خلايا سرطان الثدي (Albergaria et al., 2013)، وأن المورثة CDH3 يمكن كبحها انتساخياً بواسطة بروتين BRCA1 في سلالات خلايا سرطان الثدي على مستوى mRNA، و المستوى البروتيني. كما أن c-Myc عند اجتماعه مع BRCA1 يشكلان معقداً كابحاً لمحفز الكادهيرين P مما يقترح آلية محتملة تشرح مشاهدة فرط التعبير في الواسمات القاعدية الأساسية للأورام الفاقدة لـ BRCA1 (Gorski et al., 2010) كفرط تعبيرية الكادهيرين P في سرطان الثدي ذي الطفرات في BRCA1 (Arnes et al., 2005). أيضاً فإن نقص إشارة ER تزيد من الكادهيرين P من خلال التأثير في محفزه في سياق سرطان الثدي (Paredes et al., 2004).

يحفز الكادهيرين P في سياق سرطان الثدي حالات البروتين الفلزية-1 MMP، MMP-2، التي تقوم لاحقاً بشطر المجال خارج الخلو؁؁ للكادهيرين P، مما يولد جزيء الكادهيرين الحلول sp-cad الذي يحفز هجرة وغزو الخلايا الورمية (Ribeiro et al., 2010).

شوه أيضاً شكل مشذب truncated مفرز من الكادهيرين P (Pcad50) في سياق السرطان القتاميني، والسرطان شائك الخلايا الفموي الذي وجد أنه يرتبط بالمجال خارج الخلو؁؁ للكادهيرين P كامل الطول مما ينظم سلبياً الاصق بين الخلو؁؁ ويحفز حركة الخلايا، وبذلك يلعب دوراً مهماً في الهجرة والنقائل في الخلايا السرطانية (Bauer et al., 2005, 2008).



الشكل 19 : الكادهيرين P في سياق التشو
الورمي (Albergaria et al., 2011)

دور الكادهيرين P في السرطان شائك الخلايا:

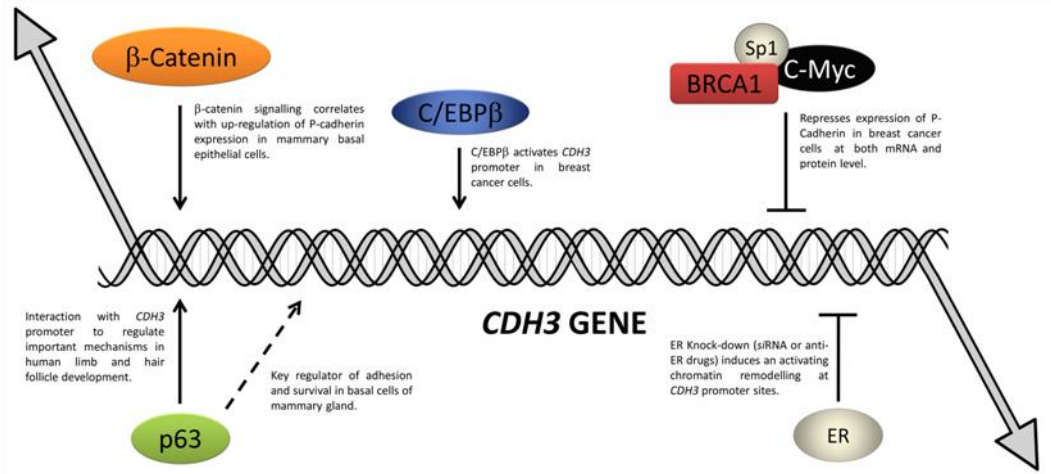
تؤدي مثيلة محفز الكادهيرين P إلى فقدان هذا الكادهيرين من الخلايا البشرية الطبيعية (Paredes et al., 2012).

يقوم الكادهيرين p بدور مورثة كابحة للورم في سياق السرطان شائك الخلايا (Marionnet et al., 2003) تنخفض تعبيرية هذا البروتين تدريجياً مع انخفاض تمايز السرطان وقد ارتبط هذا الانخفاض مع سوء الانذار.

يسبب فقدان الكادهيرين P من الخلايا البشرية في سياق السرطان زيادة معدل التكاثر الخلوي (Bauer et al., 2012).

اكتسبت الخلايا شكلاً شبيهاً بالبشرية، عند إعادة تعبيرية الكادهيرين P للخلايا السرطانية إضافة إلى زيادة تفعيل (GSK-3β) التي تفسر Snail ، ممايقود إلى توضع الهولي وتنشيطه (Bauer et al., 2009).

يتفاعل الكادهيرين P مع Slit-2 من خلال المستقبل Robo-3 مما يثبط هجرة الخلايا في السرطان شائك الخلايا الفموي (Bauer et al., 2011).



الشكل 20 : تنظيم تعبيرية الكادهيرين P. (Albergaria et al., 2011).

5-4-2- الكادهيرين N

الكادهيرين العصبي (Neural Cadherin) N-cad هو بروتين سكري من النمط I للكادهيرينات الكلاسيكية (Bruses, 2006).

قاد استنساخ cDNA للكادهيرين E إلى التعرف على الأعضاء المتبقية من عائلة الكادهيرينات الكلاسيكية خلال فترة قصيرة من اكتشاف الكادهيرين (Franke, 2009)، حيث تم اكتشاف هذا البروتين بداية في عام 1982 كجزء ذي وزن 130 kDa في الشبكية العصبية للدجاج، ثم في عام 1984 تم التعرف عليه كجزء متوضع في الموصل الملصق حيث سمي بـ A-CAM (Derycke and Bracke, 2004).

وجد أن مورثة الكادهيرين عند الفئران تتوضع على الكروموزوم 18 ليتم لاحقاً تحديد مورثة هذا الكادهيرين عند البشر (CDH2) في منطقة 250 كيلوقاعدة من الكروموزوم 18q11.2، حيث تتألف المورثة من 16 إكسون، وهي ليس فقط تشابه مورثة الفئران بل وتشابه الكادهيرينات الأخرى أيضاً (Wallis et al., 1994).

بنية الكادهيرين N:

تشابه بنية الكادهيرين N بنية كادهيرينات النمط I عامة. كما تم التعرف على المجال " S " على أنه مجال كبح الحركة في النهاية الكربونية لكل من الكادهيرين E والكادهيرين N. وبما أن الكادهيرين N تنقصه القدرة على كبح الحركة، فقد اقترح أن هذا المجال قد يكون مقنعاً أو كامناً في هذا الكادهيرين، إضافة إلى وجود المجال " M " وهو مجال تعديل الحركة، الذي يتألف من المجال قرب الغشائي، والذي يساعد في تثبيط كبح الحركة في هذا الكادهيرين (Fedor-Chaiken et al., 2003).

اقترح العلماء أن تنوع وظيفة الكادهيرين في الأنواع المختلفة من الخلايا قد يكون تبعاً لتنوع الجزيئات التي تتفاعل مع المجال S أو M، حيث أن الكادهيرين يقوم في بعض الخلايا بتثبيط هجرة بعض أنواع الخلايا بينما لا يكون له تأثير على بعضها الآخر لذلك فإن تأثير الكادهيرين يمكن أن يتبع نوع الخلايا.

يشكل الكادهيرين N من خلال ارتباطاته المتطابقة جزءاً من الموصل اللاصق الذي يأخذ في الخلايا مصورات الليف شكلاً بعبياً غير مستمر، أما في الخلايا العصبية فهو يشكل اتصالات نقطية Puncta Adherens كجزء من الموصل المشبكية (Meng and Takeichi, 2009).

على الرغم من أن الكادهيرين N يشكل غالباً إرتباطات مطابقة إلا أنه قد يشكل إرتباطات مخالفة في بعض الأحيان، حيث يربط الكادهيرين N كل من خلايا سيرتولي و الخلايا مصورات النطاف (Shan et al., 2000).

وظائف الكادهيرين N:

يتدخل الكادهيرين N في الجهاز العصبي في العديد من الحداثيات الرئيسية كتخفيز فرط نمو وتوجيه المحاور العصبية Neurite outgrowth، وتشكيل المشابك العصبية، و المساهمة في التكيفية المشبكية plasticity (Halbleib and Nelson, 2006, Arikath and Reichardt, 2008, Mendez et al., 2010, Takeichi, 2007).

إضافة إلى ذلك يمنع الكادهيرين N من خلال ارتباطاته المتطابقة الاستماتة لخلايا الطبقة المحبة في المبيض ovarian granulosa cells (Derycke and Bracke, 2004)، كما أنه يشاهد في الخلايا القتامينية للوحمة الأدمية (Bachmann et al., 2005)، حيث يتواسط ارتباط الخلايا القتامينية بالخلايا مصورات الليف في النسيج الضام (Derycke and Bracke, 2004, Taneyhill, 2008).

دور الكادهيرين N في التطور الجنيني :

تترافق التغيرات في تعبيرية الكادهيرينات مع تغيرات في شكل الخلايا وفي هندسة النسيج. يقوم الكادهيرين N بدور مهم أثناء التشكل الجنيني من خلال التحول البشري الضام EMT المشاهد في سياق تشكل المعيدة gastrulation حيث تنخفض تعبيرية الكادهيرين E في التلم البدائي primitive streak ويظهر بشكل متزامن تعبيرية للكادهيرين N في الأديم

المتوسط بتواسط من عامل النسخ Twist . أيضا خلال تكون العصبية neurulation يحدث تغير مشابه في التعبيرية في الظهارة العصبية الآخذة في التطور .

تظهر سلائف خلايا العرف العصبي، عندما لا تزال متوضعة على القسم الظهري من الأنبوب العصبي، تعبيرية للكادهيرين N مما يساهم في تثبيت حركة الخلايا المتواسط بالتماس (Maitre and Heisenberg, 2013)، ولكن حالما تبدأ بالهجرة فإنها تخضع للتحويل البشري الضام بتواسط من عامل النسخ Slug، وعائلة Rho GTPases (Maitre and Heisenberg, 2013)، حيث تتخفض تعبيرية الكادهيرين N وترتفع تعبيرية الكادهيرين 11، والكادهيرين مما يسبب فقدان الارتباط بين الخلوي ويسمح لهذه الخلايا بالهجرة إلى مناطق مختلفة من المضغة، للمشاركة بتشكيل طيف واسع من النسيج كالجهاز العصبي المحيطي، والخلايا القتامينية، والغضاريف والعظام الوجهية القحفية. تعود تعبيرية الكادهيرين N في نهاية الهجرة البطنية - الظهرية dorso-ventral لترتفع في الخلايا المتكدسة قبل تمايزها لتشكيل عقدة الجذر الظهري، والعقدة الودية، كما تظهر الخلايا القتامينية الجلدية الأدمية الكادهيرين N بعد الهجرة الظهرية-الجانبية (Derycke and Bracke, 2004, Taneyhill, 2008).

يتدخل الكادهيرين N في مراحل عدة من تطور القلب إذ يقوم بفصل القلب عن الأديم المتوسط أمامه precardiac mesoderm، وإرساء التباين بين اليمين واليسار، وتخلق العرى القلبية، وتطبق جدار العضلة القلبية. كما أنه يقوم بدور مهم في سياق تمايز العضلات الهيكلية.

يلعب الكادهيرين N دوراً في التكس الخلوي للخلايا الميزانشيمية في سياق تطور الغضاريف، كونه هدفاً رئيسياً لعامل النسخ SOX9، الأساس لتمايز الخلايا الغضروفية.

يتواسط الكادهيرين N التماسات بين الخلوية للخلايا النخامية وبالتالي تنظيم إفراز هرمون النمو البشري. تظهر تعبيرية N-cad في الخلايا المولدة للدم المبكرة (CD34+) (CD19+) وتتعلق بتطورها وتنشيتها في نقي العظم .

يشارك الكادهيرين N في تشكل الأوعية الدموية و التوعية الدموية أثناء التطور الجنيني، حيث يسبب حذفه عند الفئران إلى موت في منتصف الحمل نتيجة العيوب الوعائية (Blaschuk and Devemy, 2009).

يلعب الكادهيرين N دوراً في تمايز الخلايا مصورات العظم ونمو الهيكل العظمي بعد الولادة (Di Benedetto et al., 2010). كما أنه يلعب دوراً في تخلق العضلات (Taulet et al., 2009).

مما يدعم أهمية الكادهيرين N أثناء التشكل الجنيني هو أن الدواء ثاليدوميد Thalidomide الذي يسبب الإمساخ Teratogenicity أكثر ما يؤثر في الأعضاء التي تنشأ من خلايا العرف العصبي، فقد وجد أن هذا الدواء يرتبط بالنهاية الآزوتية للمجال الخارجي للكادهيرين N مقلداً ثمالة Trp-2 الأساسية للتبلمر Dimerization مما يثبط التبلمر وظيفياً.

إضافة لذلك، عندما تم حذف الكادهيرين N عند الفئران فوجد أنها ماتت في اليوم العاشر من الحمل، حيث أظهرت الأجنة عيوباً قلبية رئيسية و أنابيب عصبية وجسيدات مشوهة Somites. وعند إعادة تعبيرية الكادهيرين N لهذه الأجنة فإنها تبدي عدداً أكبر من الجسيدات، والأقواس الغصمية، ولكن يبقى تطور الدماغ معيماً (Derycke and Taneyhill, 2008) Bracke, 2004).

تتخصص تعبيرية الكادهيرين N عند البالغين بالخلايا البطانية، الخلايا الحوطية pericyte (Blaschuk and Devemy, 2009) النسيج العصبي، والخلايا العضلية المخططة و القلبية (Takeichi, 2007)، والشبكية، ومصورات الليف، ومصورات العظم (Taneyhill, 2008)، والمتوسطة Mesothelium، وغضروف الطرف، والخلايا البيضية Oocyte، وأرومة النطاف، وخلايا سيرتولي (Derycke and Bracke, 2004). تظهر تعبيرية الكادهيرين N في أنواع مختلفة من الخلايا كخلايا البشروية العصبية والخلايا الكبدية الجنينية و البالغة، ولكنها لا تظهر في الخلايا الجذعية الجنينية البشرية غير المتميزة (Li et al., 2012b).

تنظيم الكادهيرين N :

تتأثر وظائف الكادهيرين N بالعديد من العوامل داخل الخلية وخارج الخلية.

يتدخل مستقبل عامل نمو مصورات الليف (FGFR) في الوظائف السابقتين للكادهيرين N، من خلال تفاعل FGFR مع لازمة في التكرار الرابع للكادهيرين N (Halbleib and Nelson, 2006)، مما يقترح أن للتكرار الرابع دور في طريق إشارة للخلية يتحكم من خلاله FGFR بنسخ مورثة الكادهيرين و فعالية لصقه عبر snail (Nelson and Nusse, 2004). يكون تأثير الكادهيرين N على الخلايا الورمية من خلال تفاعله مع FGFR، حيث أن تثبيط FGFR يؤدي إلى انخفاض الغزو المتوسط بالكادهيرين N (Wheelock and Johnson, 2003).

يسبب فرط مثيلة محفز الكادهيرين N انخفاض تعبيرية هذا البروتين في الخلايا الكلوية (Akintola et al., 2008).

يرتبط الكاتينين P120 بالمجال قرب الغشائي، ويلعب دوراً أساسياً في تنظيم النمط الحركي أو الالتصاق للكادهيرين، فعندما يتفسر P120 يزداد ارتباطه بالكادهيرين N مما يسبب انخفاض فعالية اللصق بين الخلوي للكادهيرين. تخضع فعالية اللصق أيضاً للتنظيم من قبل Rho GTPases (Derycke and Bracke, 2004)، حيث أنها تنظم القوة الدافعة للحركة الخلوية من خلال تنظيمها لإعادة ترتيب للأكتين مما يوجه protrusion في الجهة الحركة و الانكماش في الجهة المعاكسة (Amin and Vincan, 2012).

إضافة لذلك، يقوم الكاتينين P120 أيضاً بتنظيم نقل ونضج معقد كادهيرين-كاتينين. حيث أنه يترافق مباشرة مع القسم الهيولي من الكادهيرين N في الشبكة الاندوبلازمية، بعد ذلك يتفسر القسم الهيولي مما يقود إلى ارتباط إضافي للكاتينين α و

β ، ومن ثم يخضع Prodomain للتشذيب بواسطة بروتياز فيورين furin protease ليتم بعدها نقل المعقد إلى الغشاء الخلوي (Wahl et al., 2003). إضافة إلى ذلك فإن الكاتينين P120 يعمل كسقالة لربط Kinesin بالكادهيرين N حتى يتم نقل الكادهيرين N حديث التشكل إلى الموصل اللاصق في الخلايا مصورات الليف (Delva and Kowalczyk, 2009)، إلا أنه لا يلعب دوراً أساسياً في استبطان الكادهيرين N في الخلايا العصبية (Benson and Huntley, 2012).

أيضاً في سياق تمايز الخلايا العصبية المعتمد على الكادهيرين N فإن RhoA يحفز هذا التمايز بينما يثبطه كل من Rac1 و Cdc42 حيث أن RhoA يتفعل عقب التماسات البدئية بين الخلايا المتوسطة بالكادهيرين N ، بينما لا يؤثر أي من Rac1 أو Cdc42 على هذه العملية وإنما تكون وظيفتها هي فقط وصل الكادهيرين بأكتين الهيكل الخلوي (Wheelock and Johnson, 2003).

يلعب الكاتينين β دوراً مهماً في استبطان ونقل الكادهيرين N في كل من الخلايا المهاجرة والمشابك العصبية (Delva and Kowalczyk, 2009)، وينظم هذا الارتباط بواسطة عدة بروتينات كالبروتين السكري Neurocan الذي يسبب فسفرة الكاتينين وبالتالي عدم ارتباطه بالكادهيرين N مما يثبط اللصق بين الخلايا و فرط نمو المحاور العصبية. أيضاً فإن التيروسين فوسفاتاز PTP1B ينظم فسفرة الكاتينين β ، حيث أن تفاعل الكادهيرين N مع PTP1B ضروري لارتباطه بالكاتينين β واستقراره على الغشاء الخلوي. أيضاً يلعب كل من PTP μ و Src دوراً في فسفرة الكادهيرين N و بالتالي عدم استقراره (Derycke and Bracke, 2004).

يرتبط PS-1 أيضا بالمجال قرب الغشائي ويعدل من قدرة الكادهيرين على اللصق كما أنه أساسي في نقل الكادهيرين N إلى الغشاء الخلوي حيث أن غيابه يسبب كبح اللصق وتوضع الكادهيرين حول النواة ضمن جهاز غولجي أو الشبكة الإندوبلازمية (Uemura et al., 2003).

يقوم كل من FAK و paxillin بتنظيم وظيفة الكادهيرين N في اللصق بين الخلوي (Schaller, 2004). أيضاً يقوم Cortactin، وهو بروتين رابط لخيوط الأكتين بتنظيم قوة اللصق بين الخلوي المتواسط بالكادهيرين N (El Sayegh et al., 2004)، من خلال آلية معتمدة على فسفرة Fer ل Cortactin (El Sayegh et al., 2005).

يقوم ADAM10 بشطر المجال خارج الخلوي للكادهيرين N في سياق تثبيطه أثناء هجرة خلايا العرف العصبي، ليقوم بعدها PS-1- γ -secretase (Taneyhill, 2008) أو Caspase-3 بشطر المجال داخل الخلوي. يقود كل من السبل السابقة إلى تحرر الكاتينين β وتفعيل سبيل Wnt (Heuberger and Birchmeier, 2010).

دور الكادهيرين N في سياق التنشؤ الورمي:

يمكن تقسيم السرطانات التي تظهر تعبيرية للكادهيرين N تبعاً لوجود أو عدم وجود هذا البروتين في النسيج الطبيعية البالغة أو الجنينية الموافقة لهذه السرطانات (Derycke and Bracke, 2004).

المجموعة الأولى (تعبيرية جديدة): تظهر تعبيرية للكادهيرين N في سياق هذه السرطانات على الرغم من أن النسيج الطبيعية البالغة أو الجنينية الموافقة لها لا تظهر هذا الكادهيرين عادة.

المجموعة الثانية (إعادة التعبيرية): فإن النسخ الجينية لهذه السرطانات تظهر تعبيرية لهذا الكادهيرين.

المجموعة الثالثة (فرط تعبيرية) فإن النسخ الطبيعية البالغة والجينية الموافقة لهذه السرطانات تظهر الكادهيرين N إلا أنها ترتفع في سياق التسرطن.

المجموعة الرابعة (انخفاض تعبيرية): تبقى تعبيرية الكادهيرين N في سياق السرطان كما هي في الحالة الطبيعية أو أنها تنخفض.

الجدول 1 : مجموعات تعبيرية الكادهيرين N في سياق التشؤ الورمي .

تعبيرية جديدة	إعادة تعبيرية	فرط تعبيرية	انخفاض تعبيرية
سرطان الثدي	السرطان القتامي	ورم العضلات الملساء	السرطان العظمي
سرطان البروستات	ابيضاض الدم	ورم المتوسطة Mesothelioma	سرطان المبيض
سرطان المثانة	سرطان المعدة	أورام الكظر	الورم الأرومي الدبقي
سرطان الدرق			سرطان الخلايا الكلوية
السرطان شائك الخلايا	سرطان الخلايا العضلية المخططة		

يحفز الكادهيرين N هجرة وغزو الخلايا إذ عرضت دراسات مختلفة أن تعبيرية شاذة للكادهيرين N تجعل الخلايا أكثر قدرة على الحركة و بالتالي الغزو (Blaschuk and Devemy, 2009)، وترتبط تعبيريته بسوء الانذار في سرطان الأبنية الصفراوية (Yi et al., 2014). يحفز الكادهيرين N أيضاً بقاء الخلايا في السرطان القتامي وسرطان البروستات، من خلال تثبيط الجزيء (Bad) المؤهب للاستماتة Pro-apoptotic.

لكن من ناحية أخرى يمكن أن يكون للكادهيرين N تأثير مثبط للتكاثر الخلوي، حيث أن زيادة تعبيريته في الخلايا تكبح التكاثر الخلوي بواسطة إطالة الطور G2/M وتحفيز تعبيرية P21 المعتمدة على الكاتينين بيتا (مثبط للكيناز المعتمد على السايكلين)، مما يثبط فعالية Cdc2.

يقوم كل من MMPs، Caspase-3، Presenilin بشطر الكادهيرين N مما يولد جزيئات جديدة، مثلاً فإن MMPs يولد جزيء المجال خارج الخلوي (90 KDa) والذي يدعى جزيء الكادهيرين N الذواب والذي يحتفظ بوظيفته في عملية اللصق، كما أن الجزء السيتوبلاسمي الذي ينتج عن شطر الكادهيرين N بواسطة Presenilin-1 يشكل معقد مع CBP في السيتوبلازما و يحفز تدركه في سبيل Ubiquitin-proteasome.

كل من الكادهيرين N بالطول الكامل و الجزء أمني النهائي (90 KDa) قادرين على تحفيز اللصق ما بين الخلايا والقلب خارج الخلوي، وفرط نمو المحاور العصبية (Derycke and Bracke, 2004).

يشطر ADAM-10 المجال الخارجي للكادهيرين N مما يحفز هجرة الخلايا في الورم الأرومي الدبقي (Kohutek et al., 2009).

يؤدي انخفاض MMP-9 والذي يكون عادة مرتفع في السرطان القتامي للجلد، إلى انخفاض تعبيرية الكادهيرين N (Aksenenko et al., 2012).

لعوامل النمو EGF, HGF القدرة على تحفيز استبدال الكادهيرين E بالكادهيرين N وكمثال على ذلك خلايا سرطان الثدي التي تظهر كلاً من الكادهيرين E و N التي عند معالجتها بالعامل EGF، تخضع إلى تغيرات شبيهة بالتحول (الانتقال) البشري الضام، بما في ذلك زيادة تنظيم الفايمنتين، و انخفاض تنظيم الكادهيرين E و ارتفاع تنظيم الكادهيرين N.

تتخفض التعبيرية الغشائية للكادهيرين N، وتزداد التعبيرية السيتوبلاسمية في سياق السرطان القتامي عند مقارنتها بالوحمة الأدمية ولكن في النقايل تكون تعبيريتها الغشائية أقوى من الورم الأولي (Bachmann et al., 2005).

شاهد في كل من السرطان القتامي والورم الأرومي الدبقي تعبيرية Pro-cad والذي يخفض من فعالية اللصق ويؤهب للهجرة والغزو (Maret et al., 2010).

يقوم الكادهيرين N في سياق الأورام بتشكيل أوعية دموية معيبة، سواء من خلال حدوث خلل في الارتباط ما بين الخلايا البطانية و الخلايا الحوطية في الأوعية الدموية المحفزة بالسرطان أو من خلال تأثير الكادهيرين E على الكادهيرين VE الذي تظهره الخلايا البطانية فقد وجد أن حذف الكادهيرين N يسبب انخفاض تعبيرية الكادهيرين VE، مما يجعل الكادهيرين N هدف للمعالجة الورمية من خلال التأثير على تشكل الأوعية الدموية في سياق التسرطن (Mariotti et al., 2007, Blaschuk and Devemy, 2009).

دور الكادهيرين N في السرطان شائك الخلايا :

لا تظهر خلايا البشرة الطبيعية تعبيرية للكادهيرين N (M et al., 2011)، حيث تبدأ تعبيريته بالظهور في البشرة المصابة بسوء التصنع (Li et al., 2009a)، وتزداد تدريجياً في السرطان شائك الخلايا في سياق عملية التحول البشري الضام EMT (استبدال الكادهيرين)، حيث يترافق فرط تعبيرية الكادهيرين N على مستوى mRNA، وعلى المستوى البروتيني (M et al., 2011) (Li et al., 2009a, Li et al., 2009b)، وخاصة في واجهة الغزو (Afrem et al., 2014)، مع انخفاض ملحوظ في تعبيرية الكادهيرين E، في كل من السرطان شائك الخلايا للمريء، والرأس والعنق (Nguyen et al., 2011)، والحنجرة، والحفرة الفموية، مما يترافق مع زيادة عمق الغزو والنقائل إلى العقد اللمفية (Li et al., 2009a, Li et al., 2009b).

يرتبط الكادهيرين N ويتفاعل وظيفياً مع مستقبل FGF مما يثبط استبطانه ويسبب تفعيلاً مستمراً لـ MAPK-ERK، ولـ MMP-9 وبالتالي تحفيز بقاء، وهجرة، وغزو الخلايا السرطانية (Suyama et al., 2002, van Roy, 2014).

يحفز الكادهيرين N حركة الخلايا في سياق السرطان شائك الخلايا من إشارة يتواسطها متتالية في التكرار الرابع في مجاله الخارجي (Kim et al., 2000a) حيث يبدىء FGF الإشارة لحدثية EMT (van Roy, 2014). كما أنه يحفز تعبيرية MMP-2 (Li et al., 2009b) ، MMP-9 (Li et al., 2009a) من خلال مجاله السيتوبلازمي وبتواسط الكاتينين P120. كما أن فرط تعبيرية N تزيد من فعالية نسخ الكاتينين بيتا بشكل كبير مما يقترح دورا للكاتينين في تحفيز إشارة الغزو للخلايا التي تظهر الكادهيرين N (Walker et al., 2014)، خاصة وأن التجارب قد أثبتت أن لهذين البروتينين تأثير متآزر في تحفيز هجرة الخلايا والنقائل (وخفض p21) في سياق السرطان شائك الخلايا (Li et al., 2009b)

ينظم $TGF-\beta$ تأثيرات الكادهيرين N في سياق السرطان شائك الخلايا، حيث أن زيادته تؤدي إلى فرط تعبيرية الكادهيرين N مما يؤثر في هجرة الخلايا (Yoshinaga et al., 2008, Diamond et al., 2004). يؤدي إعادة تفعيل P63 في السرطان شائك الخلايا إلى فرط تعبيرية للكادهيرين N وعامل النسخ Twist وتحول السرطان إلى النمط مغزلي الخلايا (Koster et al., 2006). يتواسط PKCK عملية استبدال الكادهيرين E بالكادهيرين N في سرطان المريء، وعملية مقاومة الخلايا السرطانية للاستماتة anoikis (Ko et al., 2012). تنظم المثيلة عملية الاستبدال (Chen et al., 2004).

تنخفض تعبيرية الكادهيرين E في الخلايا الجذعية المشاهدة في السرطان شائك الخلايا الفموي وترتفع تعبيرية الكادهيرين N (Siu et al., 2012).

الباب الثاني

مواد البحث وطرائقه

2-1- العينة:

تكونت عينة البحث من :

1- 40 خزعة من السرطان شائك الخلايا الفموي محفوظة في قوالب من شمع

البارافين، تم جمعها من أرشيف مشفى البيروني، ومن أرشيف قسم النسيج

والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان في جامعة دمشق بين الأعوام

2004-2010.

2- 15 خزعة من نسيج فموية سليمة من المخاطية المغطية للأرحاء الثالثة، والتي

أخذت في سياق قلع الأرحاء المنظرة في مشفى جراحة الفم والفكين في كلية

طب الأسنان – جامعة دمشق.

ضمت العينة السرطانية 35 ذكر (87,5 %) و 5 إناث (12,5%) و الذين تراوحت

أعمارهم بين 18 و 90 سنة. توزعت الحالات السرطانية تبعا لموقع الإصابة إلى:

حالتين من الشفة العلوية، و 16 حالة من الشفة السفلية، و 5 حالات من باطن الخد، و

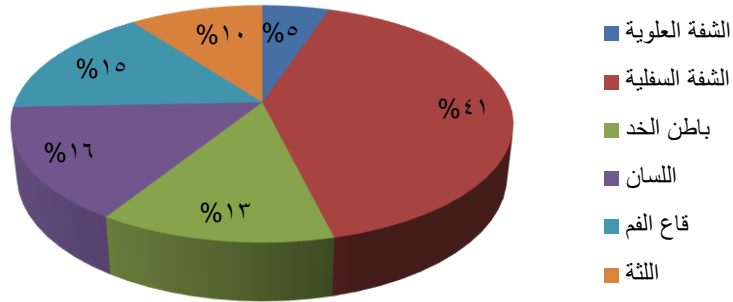
6 حالات من اللسان، و 6 حالات من قاع الفم، و 4 حالات من اللثة، وحالة واحدة من

الحنك.

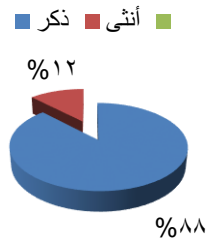
توزعت الحالات السرطانية بعد الفحص النسيجي إلى: 14 حالة من الدرجة الأولى، 15 حالة

من الدرجة الثانية، 11 حالة من الدرجة الثالثة.

الشكل ٢١: توزيع الحالات السرطانية تبعا لموقع الإصابة



الشكل ٢٢: توزيع الحالات السرطانية تبعا لجنس المريض



2-2- المواد والأدوات المستخدمة :

1. ملونات الهيماتوكسيلين والإيوزين.
2. الكحول والإكزليلول.
3. شمع البارافين.
4. الشرائح الزجاجية العادية.
5. الشرائح الزجاجية الخاصة بالتلوين المناعي.
6. السواتر.
7. بلسم كندا.

8. ماء مقطر .

9. سحاحة عدد 2.



الشكل 23: المواد المستخدمة في البحث. ملونات الهيماتوكسيلين والأيوزين، الكحول والاكزيلول، شمع البارافين، الشرائح الزجاجية والمناعية.

10. محلول استرجاع المستضد (Antigen retrieval) :

أ. محلول سترات الصوديوم (PH=6) من شركة abcam:

Antigen Retrieval Buffer (100×Citrate Buffer, PH6), 125ml, code (ab93678).

إ. محلول EDTA (PH=8) من شركة abcam:

Antigen Retrieval Buffer (100×EDTA Buffer, PH8), 125ml, code (ab93680).

11. المحلول الدائري (PBS) من شركة Amresco :

Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets, 100ml, Code (E404-200TABS).

12. محلول كبح البيروكسيداز.



الشكل 24: أ. محلول سترات الصوديوم (PH=6)، ب. محلول EDTA (PH=8)، ج. المحلول الدائري (PBS)، د. محلول كبح البيروكسيداز.

13. الواسمات المناعية وهي:

1. Anti-E cadherin antibody [HECD-1] antibody (ab1416)
2. Anti-P cadherin antibody [56C1], prediluted (ab75442)
3. Anti-N Cadherin antibody, prediluted (ab82140)

14. مجموعة التلوين المناعي من شركة Dako :

Dako REAL EnVision Detection System, Peroxidase/DAB
Rabbit/Mouse code (K5007).



الشكل 25: مجموعة التلوين المناعي.

2-3- الأجهزة المستخدمة:

- 1- المبخرة النسيجية (microtome) من شركة leica - ألمانيا.
- 2- المحم المائي من شركة leica - ألمانيا.
- 3- فرن التجفيف من شركة Necht drehens - ألمانيا.
- 4- المايكرويف.
- 5- قلم التحديد من شركة Dako - الدنمارك.
- 6- الممص pipette من شركة eppendorf - أميركا، بقياسين: الأول قياس 10-0,1
ميكرون، والثاني بقياس 10-100 ميكرون. استخدمت رؤوس ممصات بقياس 10
وقياس 100.
- 7- المجهر الضوئي نوع Nikon - اليابان.



الشكل 26: الأجهزة المستخدمة في البحث: أ. المبشرة النسيجية. ب. المحم المائي. ج. فرن التجفيف. د. الممص. و. المجهر الضوئي. ز. قلم التحديد.

2-4- طريقة العمل:

2-4-1- تحضير العينات النسيجية:

أ- العينة الشاهدة:

وضعت العينات بعد استئصالها في الفورمول المعتدل 10% ، ثم خضعت لمراحل التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين - إيوزين للتأكد من خلوها من الرشاحة الالتهابية.

ب- العينة السرطانية :

تم تقطيع العينات المحفوظة مسبقا بشمع البارافين، وعوملت بالهيماتوكسيلين- إيوزين لإعادة تقييم درجة خباثتها.

تقييم العينة الشاهدة:

تم فحص العينة الشاهدة بعد تلوينها بالهيماتوكسيلين - إيوزين تحت المجهر الضوئي، والتأكد من خلوها من أي علامات التهابية، أو فرط تكاثر، أو سوء تصنع.

تقييم الدرجة النسيجية :

بعد إنهاء تلوين محضرات العينة المرضية بالهيماتوكسيلين إيوزين، تم فحصها تحت المجهر الضوئي للتأكد من صحة التشخيص، واستبعدت أي حالة تدعو للشك، والحالات سيئة الحفظ أو التثبيت، ثم تم تقييم درجة التمايز النسيجية لكل حالة من قبل أستاذين في قسم النسيج والتشريح المرضي الخاص بالفم والأسنان في كلية طب الأسنان في جامعة دمشق، وقد تم اعتماد تصنيف منظمة الصحة العالمية (Barnes et al., 2005)، مضافا إليه نمط الغزو، وشدة الاستجابة الالتهابية، والغزو الوعائي (Akhter et al., 2011).

الجدول 2 : يبين المعايير المتبعة في تعيين الدرجة النسيجية.

الدرجة III	الدرجة II	الدرجة I	الدرجة النسيجية
قليلة أو معدومة	متوسطة العدد	كثيرة العدد	كرات التقرن
أكثر من 75%	25%-75%	أقل من 25%	علائم الكشم الخلوي
جزر صغيرة أو حبال	جزر أو حبال	جزر كبيرة	نمط الغزو
رقبة أو خلايا مفردة	متوسطة		
قليلة أو معدومة	متوسطة	غزيرة	الاستجابة اللمفية

2-4-2- التلوين بملونات الهيماتوكسيلين والأيوزين:

1- قطعت العينات المصبوبة في القوالب الشمعية بواسطة المبشرة النسيجية إلى شرائح بـ 0.4μ .

2- فرشت الشرائح في المحم المائي ذو الدرجة 30° م ليتم بعد ذلك وضعها على الشرائح الزجاجية.

3- وضعت الشرائح على صفيحة حرارية لمدة عشر دقائق.

4- وضعت الشرائح في فرن التجفيف بدرجة 60° م لمدة عشر دقائق.

5- مررت الشرائح بعدها على حمامين من الاكزيلول النقي 5 دقائق في كل مرة، لازالة الشمع منها.

6- ثم مررت الشرائح على ثلاثة حمامات من الكحول متدرجة انخفاضاً (مطلق - 75%- 50%) مدة خمس دقائق في كل مرة.

7- غسلت الشرائح بالماء الجاري.

8- توضع الشرائح في ملون الهيماتوكسيلين لمدة دقيقة، ثم تغسل بالماء.

9- توضع الشرائح في ملون الأيوزين لمدة دقيقة، ثم تغسل بالماء.

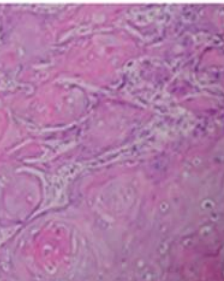
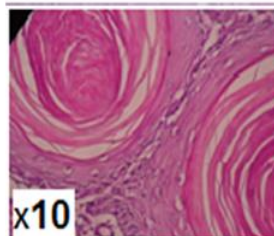
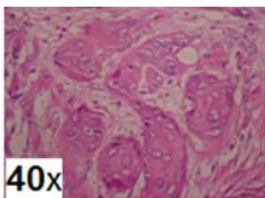
10- تمرر الشرائح بعدها في حمام من الكحول بتركيز 70% لمدة دقيقة ثم بتركيز

95% ثم حمامين من الكحول المطلق لمدة دقيقة في كل منها وذلك لنزع الماء من

النسيج.

11- تمرر الشرائح في حمامين من الكزيلول النقي لمدة خمس دقائق في كل منها.

12- تجفف الشرائح وتستر بواسطة بلسم كندا والسواتر المناسبة.



2-4-3- التلوين المناعي:

1. تم تحضير مقاطع بثخانة 0.4μ بواسطة المبشرة النسيجية، ثم فرشت بالمحم المائي

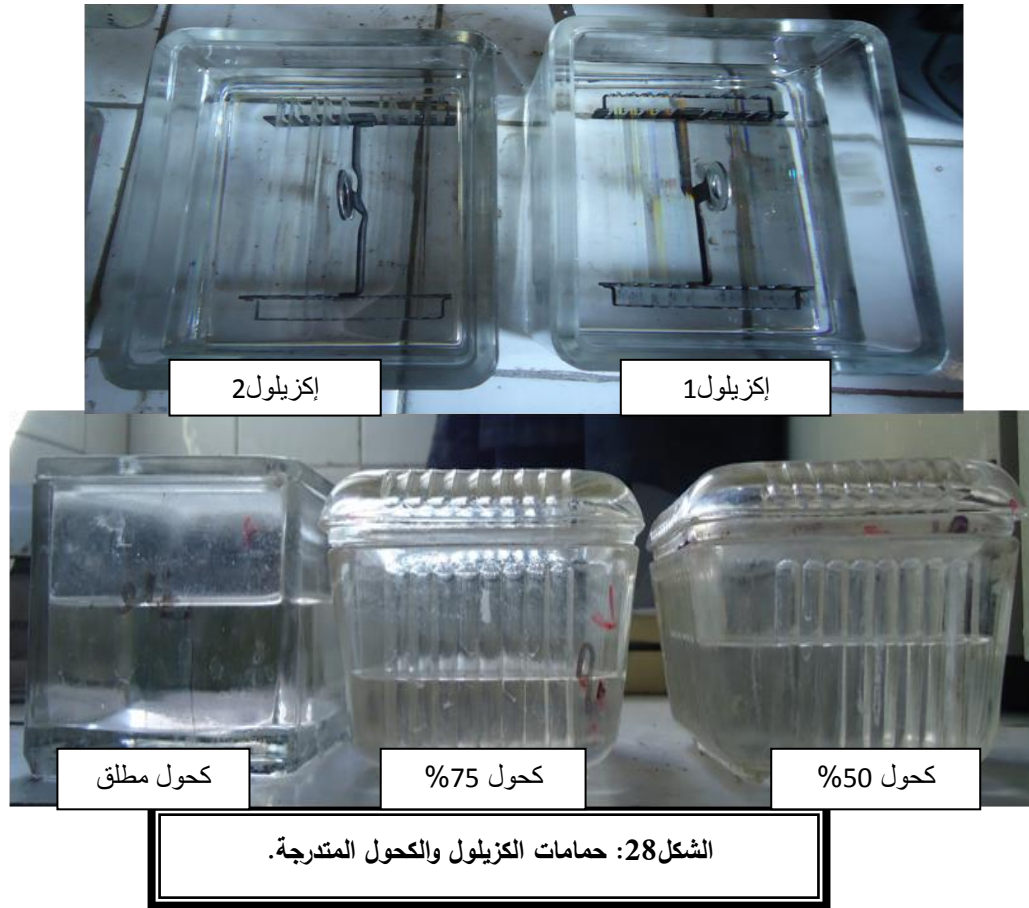
ليتم بعد ذلك وضعها على الشرائح الزجاجية المناعية المغطسة بالليزين، ثم وضعت

في فرن التجفيف مدة 10 دقائق.

2. إزالة شمع البارافين وإعادة الإماهة: وضعت المحضرات في حمامين من الإكزيلول

النقي 5 دقائق في كل مرة، ثم في حمامات كحول متدرجة انخفاضاً (مطلق-

75%- 50%) مدة خمس دقائق في كل مرة، وبعدها غسلت بالماء الجاري.



3. مرحلة استرجاع المستضد: تم تحضير كل من محلول سترات الصوديوم $\text{PH}=6$ ومحلول EDTA ($\text{PH}=8$) وفق تعليمات الشركة المصنعة، وذلك بتمديد 1 مل من المحلول لكل 100 مل من الماء المقطر. استخدم محلول سترات الصوديوم في تلوين الكادهيرين E، ومحلول EDTA في تلوين كل من الكادهيرين P والكادهيرين N. تغمس المحضرات المحمولة في سلة خاصة في عبوة من المحلول (300 مل) وتوضع في المايكرويف على الطاقة العليا (high power)، حتى يبدأ المحلول بالغليان، وقد استغرق ذلك 3 دقائق تقريباً، ثم تخفض درجة المايكرويف للطاقة الدنيا (low power)، وتترك مدة 10 دقائق مع الانتباه لعدم جفاف المحضرات.

4. تخرج العبوة من المايكرويف، وتترك لتبرد في درجة حرارة الغرفة مدة 20 دقيقة.



الشكل 29: مرحلة استرجاع المستضد.

5. تغسل بالماء الجاري 5 دقائق.

6. تغمر لمدة 5 دقائق في المحلول الدارئ PBS الذي تم تحضيره وفق تعليمات

الشركة المصنعة بتمديد 100/1 ، وذلك بإضافة قرص منه لكل 100مل من الماء

المقطر.

7. إحاطة العينة بواسطة قلم التحديد بهدف حصر المواد المطبقة على العينة تماما

ومنع تسربها.

8. تطبيق الماء الأوكسجيني بتركيز 0.3% (Hydrogen peroxide) مدة 5 دقائق،

لمنع فعالية البيروكسيداز.



الشكل 30: مرحلة كبح البيروكسيداز

9. تغسل الشرائح بالمحلول الدارى ثم تغمر بالمحلول الدارى مدة 5 دقائق.



الشكل 31: غسل وغمر الشرائح بالمحلول الدارى ٤.

10. تطبيق الضد الأولي primary antibody :

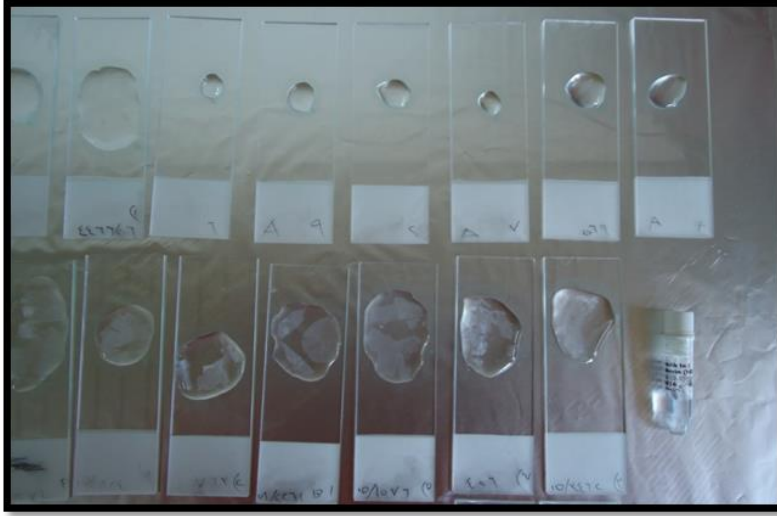
➤ **E-Cadherin** : أجريت دراسة ارتيادية Pilot study لمعرفة التمديد

المثالي والوقت المناسب لحضن الضد الأولي وحيد النسيلة الفأري (1:25)

مدة نصف ساعة/ساعة، 1:50 مدة نصف ساعة/ساعة، 1:100 مدة

نصف ساعة/ساعة)، فوجد أن التمديد المناسب هو 1:100 لمدة ساعة في

درجة حرارة الغرفة.



الشكل 32: تطبيق الضد الأولي E-cadherin

➤ **P-Cadherin**: استخدم الضد الأولي وحيد النسيلة الفأري مسبق التمديد من الشركة المصنعة، وبعد إجراء دراسة Pilot study لاختبار الوقت المثالي للحضن (نصف ساعة/ساعة) تم حضن الشرائح لمدة نصف ساعة في درجة حرارة الغرفة.



تطبيق 33: تطبيق الضد الأولي P-cadherin

➤ **N-cadherin**: استخدم الضد الأولي متعدد النسائل الأرنبى مسبق التمديد من الشركة المصنعة، وبعد إجراء دراسة Pilot study لاختبار

الوقت المثالي للحضن (نصف ساعة/ساعة) تم حضن الشرائح لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة.



الشكل 34: تطبيق الضد الأولي الكادهيرين N.

11. تغسل الشرائح بالمحلول الدارئ ثم تغمر بالمحلول الدارئ مدة 5 دقائق.

12. تم تطبيق الضد الثانوي لمدة 20 دقيقة تبعاً لتعليمات الشركة المصنعة.



الشكل 35 : تطبيق الضد الثانوي.

13. تغسل الشرائح بالمحلول الدارئ ثم تغمر بالمحلول الدارئ مدة 5 دقائق.

14. تطبيق المادة الملونة: تم تحضير المادة وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة وذلك

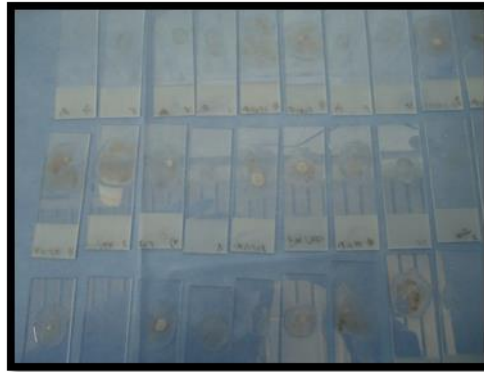
بإضافة 20 ميكرونًا من المادة الملونة (chromogen/DAB) لكل 1 مل من المادة

الأساسية (substrate)، وحفظت في عبوة كتيمة للضوء ثم طبقت المادة على

العينات وحضنت مدة 5 دقائق بعيداً عن الضوء.

15. غسّلت الشرائح بعدها بالماء الجاري.

16. تم تطبيق الهيماتوكسيلين التقليدي مدة دقيقة واحدة.



الشكل 36: تطبيق المادة الملونة

17. غسّلت الشرائح بعدها بالماء الجاري.

18. غمرت الشرائح في ثلاثة حمامات متدرجة صعوداً من الكحول 50% - 75% -

100% مدة خمس دقائق في كل مرة، بهدف طرد الماء.

19. غمرت الشرائح في حوضين من الإكزيلول النقي مدة خمس دقائق كل مرة، بهدف

طرد الكحول.

20. جففت المحضرات وتم بعد ذلك سترها باستخدام السواتر ولبس كندا، وبذلك

أصبحت جاهزة للفحص النسيجي.

2-4-4- طريقة عد الخلايا :

تم عد الخلايا السرطانية من أربع ساحات على الأقل على تكبير 40 ، بشكل لا يقل فيه مجموع الخلايا عن 1000 خلية ، إذ تم عد الخلايا في كامل الساحة أولاً، ثم عد الخلايا الملونة إذ اعتبرت الخلية التي تبدي تلوناً غشائياً مستمراً إيجابية التلون ، بينما الخلية التي تبدي تلون سيتوبلازمي أو نووي سلبية بالنسبة لكل من E-cad و P-cad ، بينما اعتبرت الخلية التي تظهر تلوناً غشائياً أو سيتوبلازمياً أو نووياً خلية إيجابية بالنسبة ل N-cad على اعتبار أنه غير موجود في البشرة الطبيعية، ثم أخذت النسبة المئوية للخلايا الملونة إلى عدد الخلايا الكلي.

2-5- الاختبارات الاحصائية المستخدمة :

➤ استخدم تحليل مان ويتني Mann-whitney لدراسة الفروقات في التعبيرية بين

الحالة الطبيعية، والدرجة الأولى من السرطان .

➤ استخدم تحليل أنوفا ANOVA لدراسة الفروقات في التعبيرية (تباين التعبيرية) بين

درجات الخباثة الثلاث عندما كانت النسب خاضعة للتوزيع الطبيعي، وتحليل

كروسكال والس Kruskal-Wallis عندما لم تكن النسب خاضعة للتوزيع

الطبيعي.

استخدم ارتباط بيرسون لدراسة العلاقة بين البروتينات الثلاث عندما كانت القيم تخضع

للتوزيع الطبيعي، و ارتباط سبيرمان عندما لم تخضع للتوزيع الطبيعي.

استخدم اختبار حجم الأثر لمعرفة أثر قيمة الاختبار.

ولدراسة العلاقة ما بين تعبيرية الكادهيرينات و عمر المريض أو جنسه استخدم اختبار

بيرسون كاي مربع لدراسة العلاقة بين تعبيرية البروتينات والجنس أو العمر، حيث تم تقسيم

التعبيرية إلى ثلاث فئات:

1- الفئة الأولى (+) وتتراوح النسبة بين (0% - 10%).

-2 الفئة الثانية (++) وتتراوح النسبة بين (60% - 11%).

-3 الفئة الثالثة (+++) وتتراوح النسبة بين (100% - 61%).

وتم تقسيم الفئات العمرية إلى أصغر أو أكبر من 45: ($X \geq 45$) ، ($X < 45$).

الباب الثالث

النتائج

الجدول 3: الحالات السرطانية المدروسة، من حيث بيانات المرضى ونتائج عد الخلايا للبروتينات الثلاث.

رقم السليل	درجة الخبث	الجنس	العمر	مكان الإصابة	البروتين E		البروتين P		البروتين N	
					عدد الخلايا الكلي	عدد الخلايا الايجابية	عدد الخلايا الكلي	عدد الخلايا الايجابية	عدد الخلايا الكلي	عدد الخلايا الايجابية
1	الأولى	ذكر	50	الشفة العلوية	1101	609	1341	468	1000	502
2		ذكر	48	باطن الخد	1074	304	1075	585	1116	543
3		ذكر	53	اللسان	1000	238	1611	445	1200	1100
4		ذكر	90	الشفة السفلية	1569	624	1753	193	1000	300
5		ذكر	82	الشفة السفلية	1105	971	1720	1028	1055	834
6		ذكر	42	الشفة السفلية	1191	457	1352	425	1034	489
7		ذكر	75	اللسان	1000	845	1000	640	1189	413
8		ذكر	53	الشفة السفلية	1000	505	1011	797	1002	432
9		ذكر	60	الشفة السفلية	1053	273	1073	207	1000	28
10		ذكر	42	اللثة	1132	375	1087	214	1099	289
11		ذكر	36	الشفة السفلية	1555	671	1009	401	1198	776
12		ذكر	55	الشفة السفلية	1051	834	1077	685	1000	190
13		أنثى	60	الشفة السفلية	1000	0	1251	356	1345	863
14		ذكر	44	باطن الخد	1011	0	1000	511	1100	990
1	الثانية	ذكر	42	الشفة السفلية	1002	620	1155	607	1000	136
2		ذكر	58	اللسان	1080	525	1496	816	1239	912
3		ذكر	57	الحنك	2100	230	1513	396	1319	700
4		ذكر	70	باطن الخد	1000	72	1008	80	1100	996
5		ذكر	64	قاع الفم	1455	55	1200	376	1199	897
6		أنثى	50	باطن الخد	1310	373	1517	405	1145	798
7		ذكر	90	الشفة السفلية	1165	449	1686	209	1006	576
8		أنثى	60	الشفة العلوية	1002	242	1044	218	1187	1176
9		ذكر	50	الشفة السفلية	1146	191	1592	293	1100	10

945	1100	316	1342	164	1083	اللثة	53	ذكر		10
787	1218	184	1149	208	1439	اللثة	42	ذكر		11
950	1023	278	1280	35	1000	الشفة السفلية	60	ذكر		12
278	1001	993	1148	470	1413	اللسان	65	ذكر		13
500	1240	233	1329	564	1247	اللسان	42	ذكر		14
1130	1137	601	1091	16	1000	الشفة السفلية	50	ذكر		15
1306	1320	239	1490	97	1150	اللثة	66	ذكر	الثالثة	1
1203	1203	355	1409	180	1307	قاع الفم	56	ذكر		2
413	1233	302	1083	427	1642	قاع الفم	39	ذكر		3
1332	1349	465	1216	171	1758	قاع الفم	72	ذكر		4
1267	1267	157	1358	26	1360	قاع الفم	51	ذكر		5
860	1055	452	1090	393	1542	اللسان	42	ذكر		6
1267	1267	119	1361	59	1074	الشفة السفلية	79	أنثى		7
1178	1178	258	1131	0	1008	الشفة السفلية	83	ذكر		8
1169	1169	301	1066	0	1000	الشفة السفلية	50	ذكر		9
891	1184	47	1150	153	1575	باطن الخد	18	أنثى		10
1308	1315	307	1027	45	1000	قاع الفم	70	ذكر		11

الجدول 4: نتائج عد الخلايا للعينه الشاهده لكل من الكادهيرين E والكادهيرين P.

العينه الشاهده للبروتين E-Cadherin		
رقم المحضر	عدد الخلايا	عدد الخلايا الملونه
1	1000	970
2	1055	1055
3	8510	1025
4	1090	1054
5	1010	1006
6	1034	1034
7	1027	991
8	1202	1202
9	1187	1187
10	1235	1231
11	1012	1012
12	1034	1029
13	1068	1065
14	1315	1315
15	1176	1170

العينة الشاهدة للبروتين P-cadherin		
رقم المحضر	عدد الخلايا	عدد الخلايا الملونة
1	1028	1020
2	1077	1053
3	1317	522
4	1203	1203
5	1248	632
6	1079	1079
7	1265	1232
8	1210	1210
9	1257	1219
10	1303	1296
11	1011	997
12	1166	1166
13	1100	913
14	1091	798
15	1015	857

1-3- نتائج دراسة تعبيرية البروتين E-cad

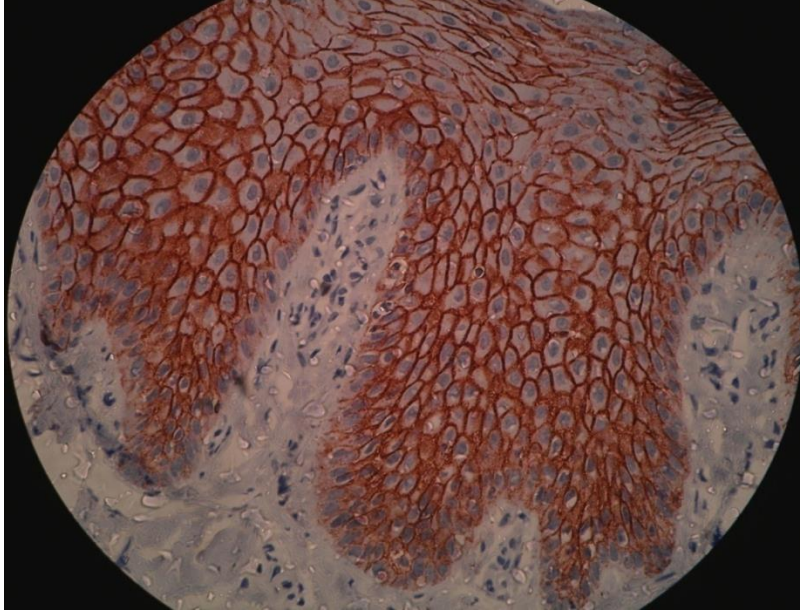
1-1-3- نتائج دراسة تعبيرية E-cad في العينة الشاهدة و تعبيرته في الدرجة الأولى

من السرطان :

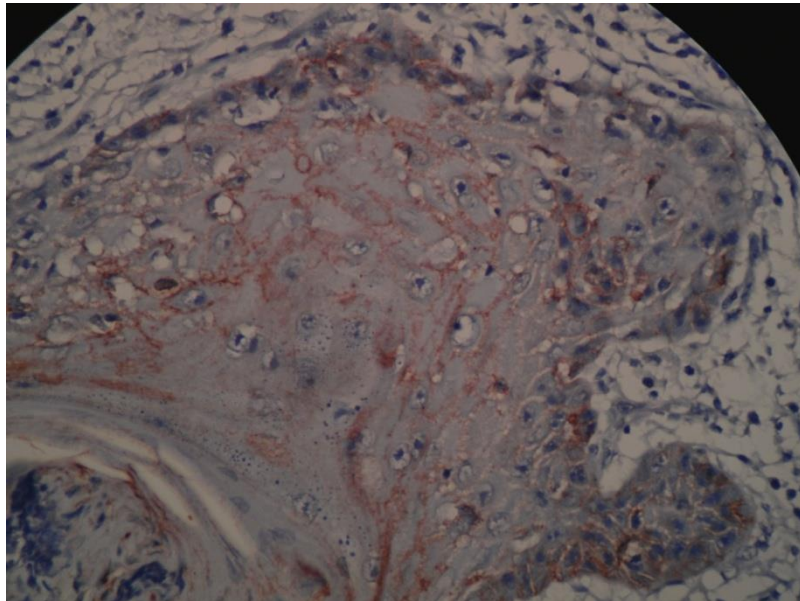
شوهدت تعبيرية الكادهيرين E في البشرة الطبيعية على الغشاء الخلوي لخلايا الطبقة القاعدية و فوق القاعدية والشائكة، حيث أظهرت الخلايا تعبيرية غشائية قوية ومستمرة، إلا أنها كانت في أغلب الحالات في الطبقة القاعدية ذات تعبيرية أضعف من تلك المشاهدة في الطبقة الشائكة.

أما في الدرجة الأولى من السرطان فقد انخفضت نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين E في الدرجة الأولى 42,14% مقارنة بنسبتها في البشرة الطبيعية 98,95%. حيث أظهر

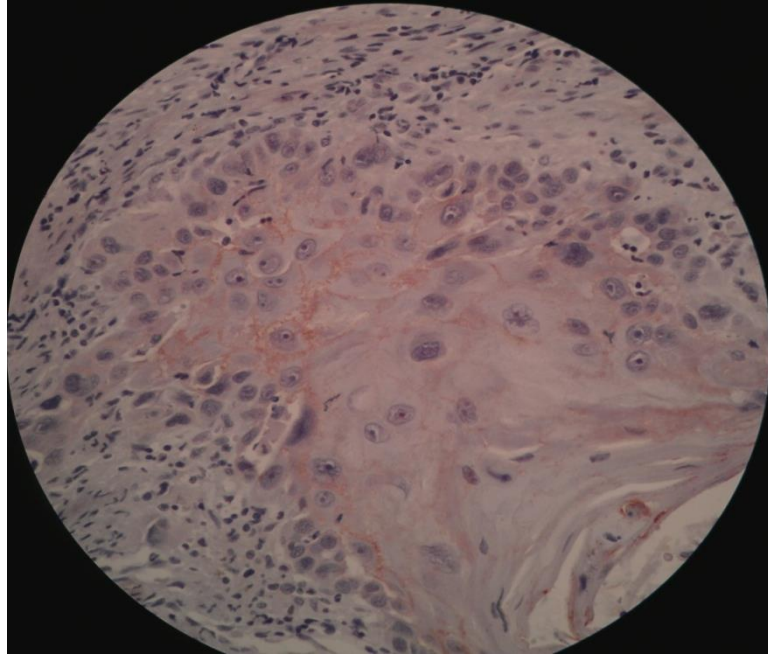
الكادهيرين E تعبيرية غير متجانسة في أغلب الحالات، ففي حين أظهرت العديد من الساحات تعبيرية غشائية قوية له، أظهرت ساحات أخرى تعبيرية سيتوبلاسمية له، إضافة لذلك فقد شوهدت ساحات سلبية تماماً لهذا البروتين.



الشكل 37: الكادهيرين E في العينة الشاهدة.



الشكل 38: الكادهيرين E في الدرجة الأولى من السرطان.



الشكل 39: الكادهيرين E في الدرجة الأولى من السرطان (2).

وللتحقق مما إذا كانت هذه العلاقة دالة إحصائياً نجري اختبار مان ويتي.

القيمة الاحصائية لاختبار مان ويتي تساوي 0.00 وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم ونقر بوجود اختلاف حقيقي وجوهري بين وسيطي العينتين المدروستين. وبما أن حجم الأثر 0.86 هو أكبر من العتبة 0.5 فإن حجم الأثر كبير.

الجدول 5: نتائج مقارنة تعبيرية الكادهيرين E بين الدرجة الأولى من السرطان و العينة الشاهدة.

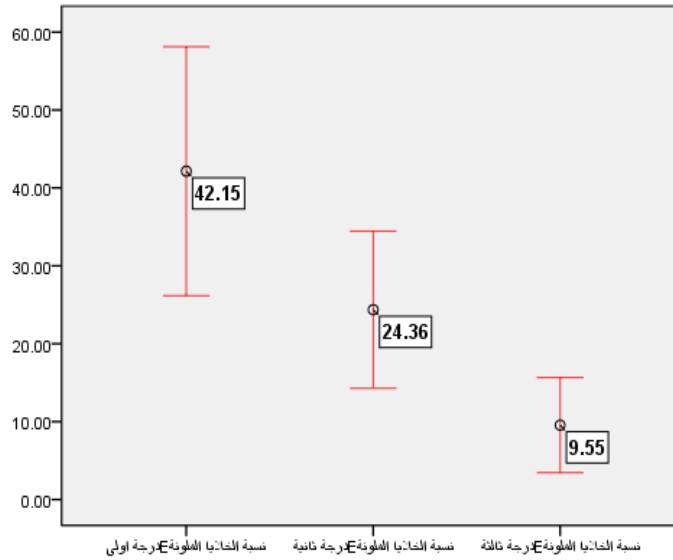
العينة	المتوسط	الانحراف المعياري	قيمة مان ويتي	قيمة P	حجم الأثر
العينة الشاهدة	98.95	1.82	0.00	<0.05	<0.5
الدرجة الأولى	42.14	2.76	0.00	0.000	0.86

3-1-2- نتائج دراسة تعبيرية E-cad في الدرجات الثلاث لخبثا السرطان:

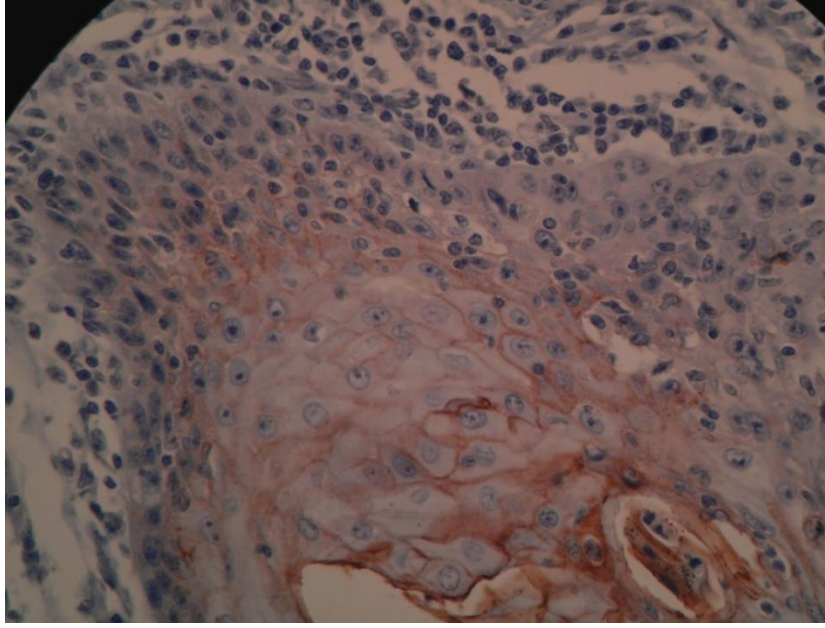
استمرت التعبيرية الغشائية للكادهيرين E بالانخفاض، حيث أظهرت أغلب الخلايا في الدرجة الثانية تعبيرية سيتوبلاسمية مهيمنة إضافة إلى ازدياد المساحات السلبية، أما خلايا الدرجة الثالثة فقد كانت أغلب الحالات سلبية للبروتين E.

بلغت نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين E في الدرجة الأولى من السرطان 42,14%، بينما تراجعت إلى 24,36% في الدرجة الثانية لتصل إلى 9,54% في الدرجة الثالثة. وللتحقق ما إذا كانت هذه الفروقات دالةً تجري تحليل ANOVA.

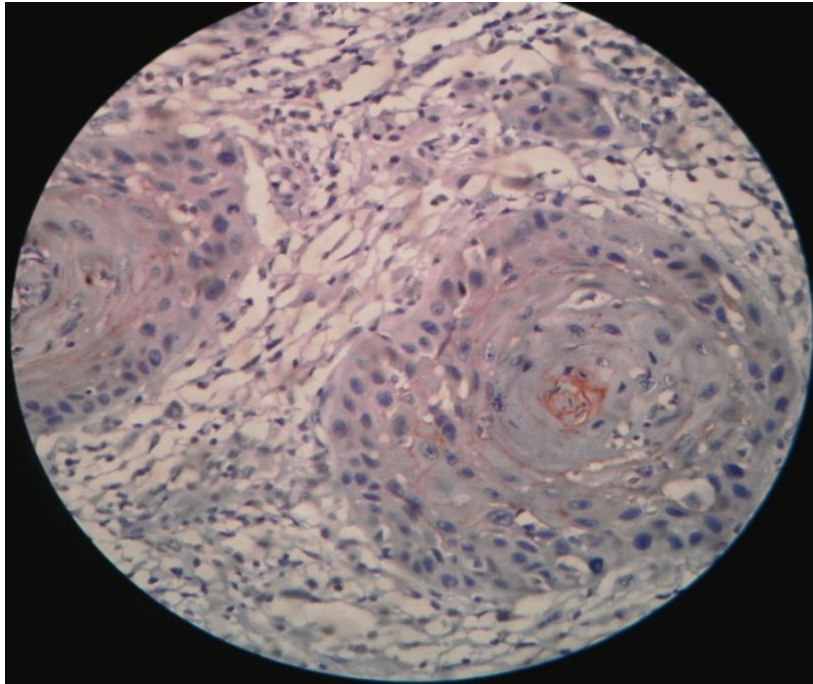
القيمة الإحصائية لـ ANOVA تساوي 0.001 وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم ونقر بوجود اختلاف حقيقي وجوهري بين المجموعات الثلاث.



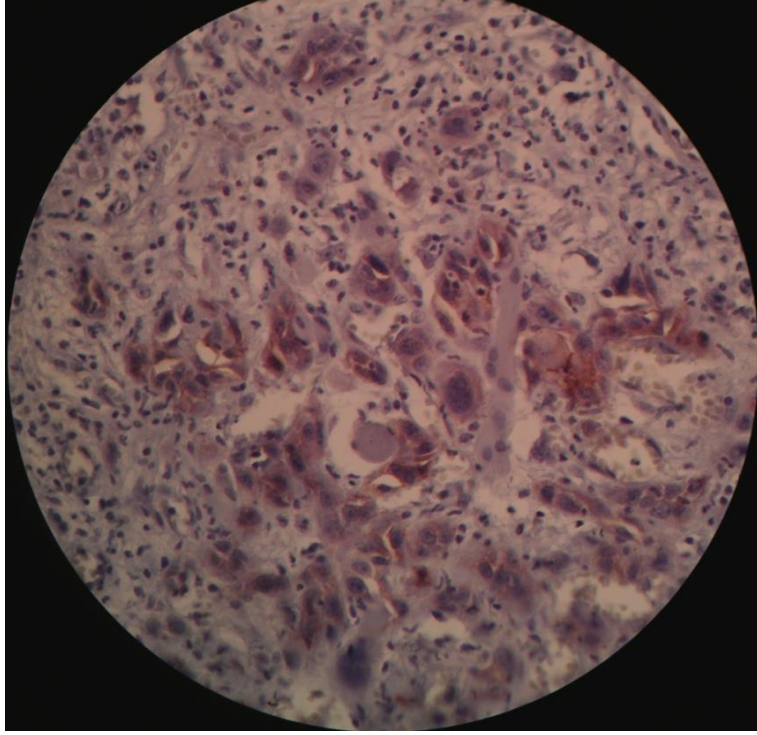
الشكل 40: نسب الخلايا الايجابية في الدرجات الثلاث للسرطان



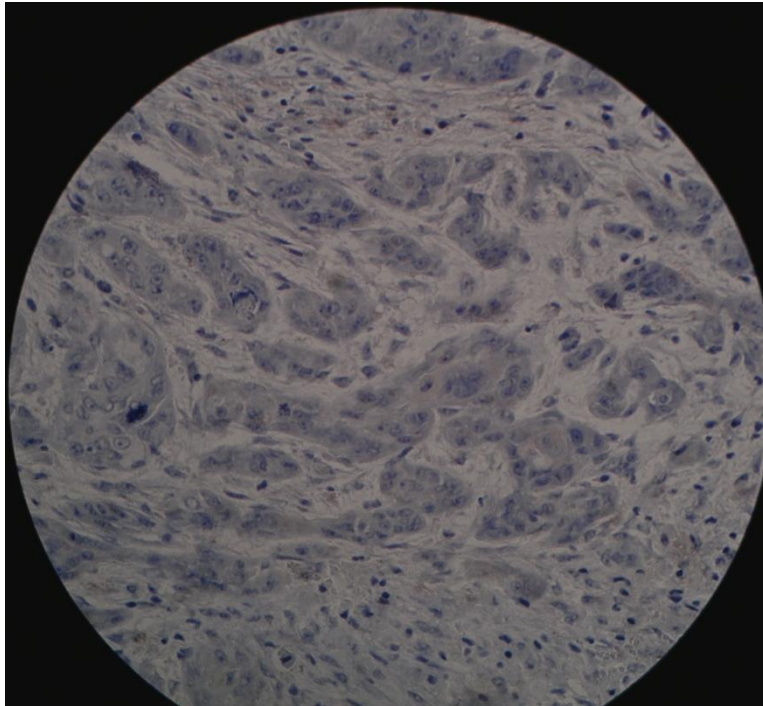
الشكل 41: الكادهيرين E في الدرجة الثانية من السرطان .



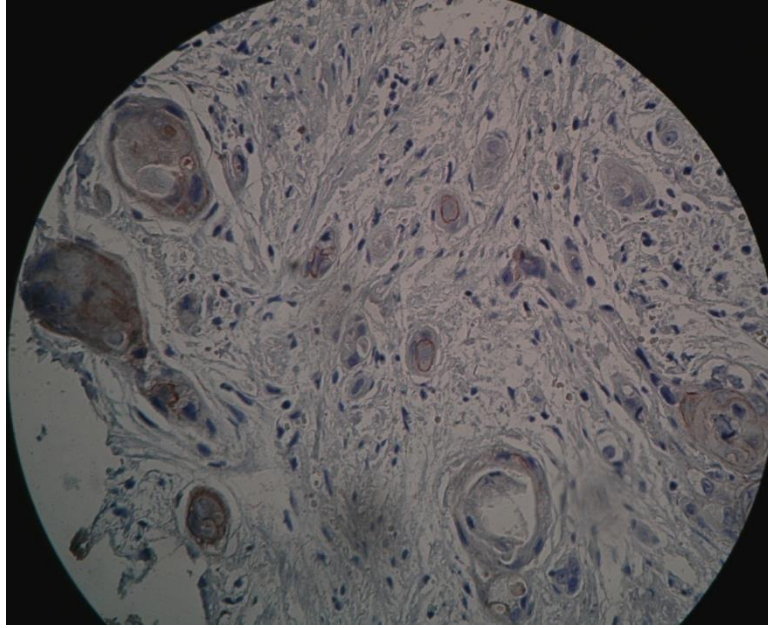
الشكل 42: الكادهيرين E في الدرجة الثانية من السرطان(2).



الشكل 43: الكادهيرين E في الدرجة الثالثة من السرطان .



الشكل 44: الكادهيرين E في الدرجة الثالثة من السرطان .



الشكل 45: الكادهيرين E في الدرجة الثالثة من السرطان (3)

الجدول 6: نتائج دراسة علاقة تعبيرية الكادهيرين E مع الجنس والعمر ودرجة الخباثة.

المتغيرات	عدد الحالات	متوسط إيجابية E-cad	الانحراف المعياري	P < 0.05	المقارنة بين المجموعات
عدد الحالات الكلي	40				
العمر					
<45	10(25%)	0.29	0.18	0.3501	
≥45	30(75%)	0.25	0.25		
الجنس					
ذكر	35(87.5%)	0.28	0.24	0.16	
أنثى	5(12.5%)	0.13	0.12		
درجة الخباثة					
GI	14	0.42	0.27	0.001	G1 vs. G3 P=0.00
GII	15	0.24	0.18		G2 vs. G3 P=0.07
GIII	11	0.09	0.09		G2 vs. G1 P=0.02

3-1-3- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad والجنس :

نجد أن قيمة كاي مربع تساوي 0.352 وبما أنها أكبر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم ونرفض الفرضية البديلة، أي لا يوجد علاقة بين جنس المريض ودرجة تعبيرية الكادهيرين E.

3-1-4- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad والعمر :

نجد أن قيمة كاي مربع تساوي 0.322 وبما أنها أكبر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم ونرفض الفرضية البديلة، أي لا يوجد علاقة بين سن المريض ودرجة تعبيرية الكادهيرين E.

3-2- نتائج دراسة تعبيرية البروتين P-cad:

3-2-1- نتائج دراسة تعبيرية P-cad في العينة الشاهدة وفي الدرجة الأولى من

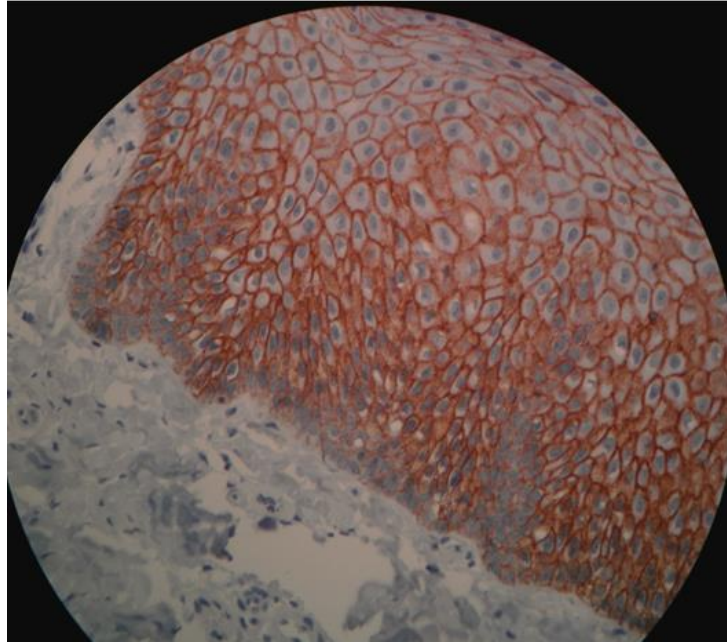
السرطان:

شوهدت تعبيرية الكادهيرين P في البشرة الفموية الطبيعية في كل من الخلايا القاعدية و فوق القاعدية و الشائكة، عدا بعض الحالات (3 حالات) التي اقتصرَت التعبيرية فيها على الخلايا القاعدية وفوق القاعدية.

تراجعت التعبيرية الغشائية للكادهيرين P في الدرجة الأولى من السرطان مقارنة بتلك المشاهدة في خلايا البشرة الطبيعية، إذ أصبحت الخلايا في الساحات الايجابية للبروتين

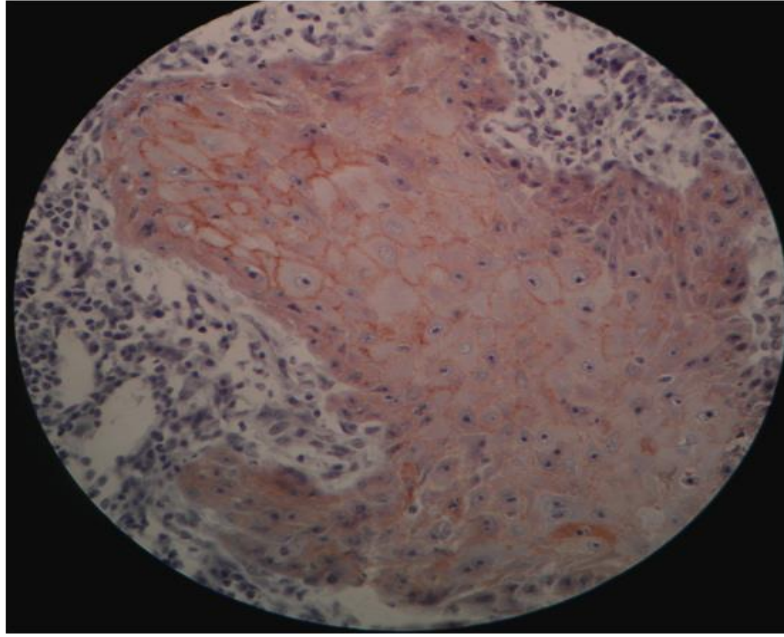
تظهر تعبيرية سيتوبلاسمية للبروتين بشكل كبير، إضافة إلى نسبة قليلة من الخلايا التي تظهر التعبير الغشائي الضعيف أو المتقطعة.

انخفضت نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين P في الدرجة الأولى من السرطان 39,83% مقارنة بنسبتها في البشرة الطبيعية 88%، وللتحقق إذا ما كانت هذه الفروق دالةً نحري اختبار مان ويتتي. القيمة الاحصائية لاختبار مان ويتتي تساوي 0.000 وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة 0.05



الشكل 46: تعبيرية الكادهيرين P في البشرة الطبيعية

فإننا نرفض فرضية العدم ونقر بوجود اختلاف حقيقي وجوهري بين وسيطي العينتين المدروستين. بما أن حجم الأثر 0.763 هو اكبر من العتبة 0.5 فإن حجم الأثر كبير.



الشكل 47: تعبيرية الكادهيرين P في الدرجة الأولى من السرطان.

الجدول 7: نتائج تعبيرية الكادهيرين E بين الدرجة الأولى من السرطان و البشرة الطبيعية.

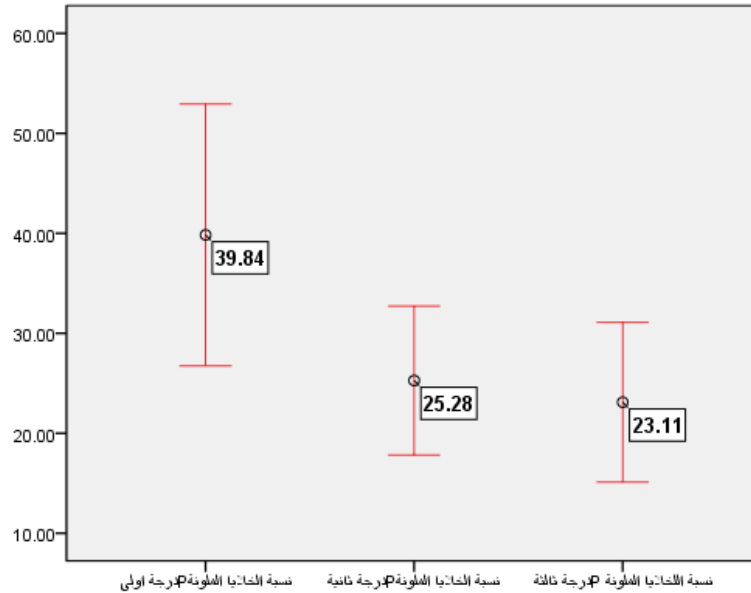
العينه	المتوسط	الانحراف المعياري	قيمة مان ويتني	قيمة P	حجم الأثر
العينه الشاهده	88.00	1.91			
			11.00	0.00	0.76
الدرجة الأولى	39.83	2.26			

3-2-2- نتائج دراسة تعبيرية P-cad في درجات السرطان الثلاث:

تراجعت تعبيرية الكادهيرين P في الدرجة الأولى من السرطان حيث بلغت نسبة الخلايا الايجابية له 39,83%، أما في الدرجة الثانية فقد تراجعت التعبيرية أكثر حيث بلغت نسبة الخلايا الايجابية 25,27%، لتصل في الدرجة الثالثة إلى 23,1%.

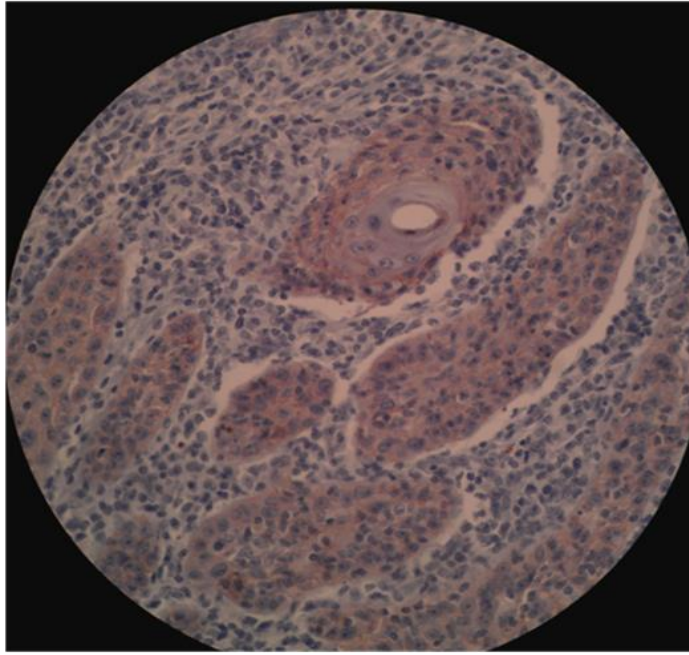
تراوحت التعبيرية في الساعات الايجابية للبروتين في الدرجة الأولى بين التعبيرية السيتوبلاسمية المسيطرة و التعبيرية الغشائية الأقل مشاهدة، أما في الدرجة الثانية والثالثة فقد سيطرت الساعات السلبية تماماً لهذا البروتين، إضافة إلى مشاهدة التعبيرية السيتوبلاسمية. ولكن بشكل مخالف، فقد أظهر ثلاثة حالات من الدرجة الثالثة تعبيرية غشائية قوية للخلايا السرطانية حتى المفردة منها.

وللتحقق ما إذا كانت هذه الفروق دالةً تجري اختبار AVOVA.

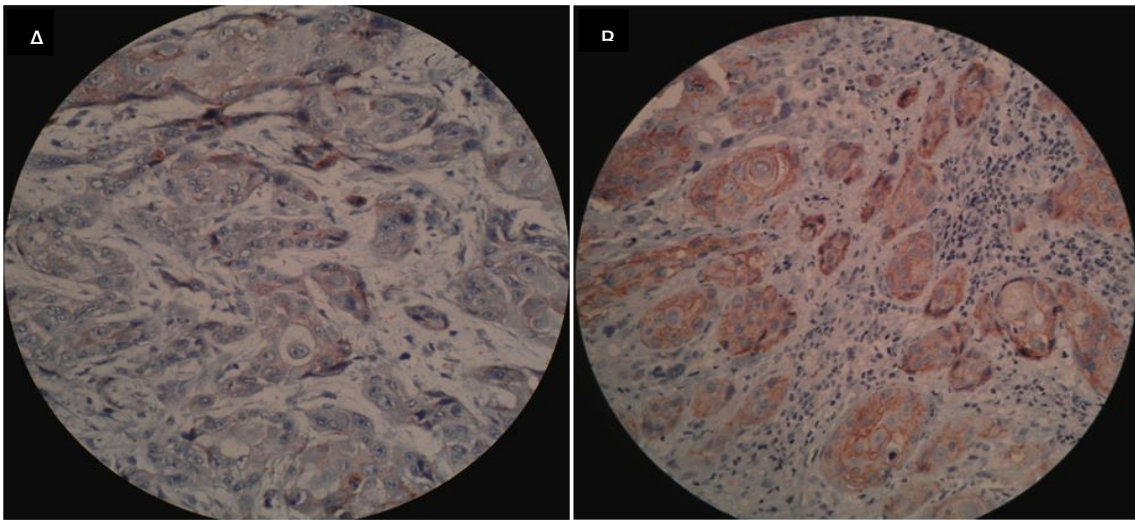


الشكل 48: نسب الخلايا الايجابية للكادهيرين P في الدرجات الثلاث للسرطان

نجد أن القيمة الاحصائية لاختبار ANOVA تساوي 0.037، وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم ونقر بوجود اختلاف حقيقي وجوهري بين المجموعات الثلاث.



الشكل 49: الكادهيرين P في الدرجة الثانية من السرطان.



الشكل 50: A. تعبيرية الكادهيرين P في الدرجة الثالثة من السرطان. B. واحدة من حالات الدرجة الثالثة التي لا تزال الخلايا تظهر تعبيرية غشائية قوية

عند المقارنة بين كل مجموعتين على حدى نجد أن:

هناك اختلاف ذو دلالة احصائية بين الدرجة الاولى والثانية من السرطان حيث أن

$0.03 = \text{sig}$ وهي أصغر من مستوى الدلالة 0.05 ، ويكون حجم الأثر $r = 0.40$.

هناك اختلاف ذو دلالة احصائية بين الدرجة الاولى والثالثة من السرطان حيث أن

$0.02 = \text{sig}$ وهي أصغر من مستوى الدلالة 0.05 ، ويكون حجم الأثر $r = 0.46$.

لكن لا يوجد اختلاف ذو دلالة احصائية بين الدرجة الثانية والثالثة من السرطان حيث أن

$0.74 = \text{sig}$ وهي أكبر من مستوى الدلالة 0.05 .

3-2-3- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad والجنس:

نجد أن القيمة الاحصائية لاختبار كاي مربع تساوي 0.328 ، وبما أنها أكبر من مستوى

الدلالة 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم، أي لا يوجد علاقة بين جنس المريض ودرجة تعبيرية

المتغيرات	عدد الحالات	متوسط إيجابية P-cad	الانحراف المعياري	$P < 0.05$	المقارنة بين المجموعات
عدد الحالات الكلي	40				
العمر					
<45	10(25%)	0.26	0.15	0.704	
≥45	30(75%)	0.30	0.18		
الجنس					
ذكر	35(87.5%)	0.31	0.17	0.328	
أنثى	5(12.5%)	0.17	0.10		
درجة الخباثة					
GI	14	0.38	0.21	0.037	G1 vs. G3 P=0.02
GII	15	0.25	0.13		G2 vs. G3 P=0.74
GIII	11	0.23	0.11		G2 vs. G1 P=0.03

الجدول 8 : يبين نتائج دراسة علاقة تعبيرية الكادهيرين P مع الجنس والعمر و درجة خباثة السرطان .

الكادهيرين P.

3-2-4- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad والعمر :

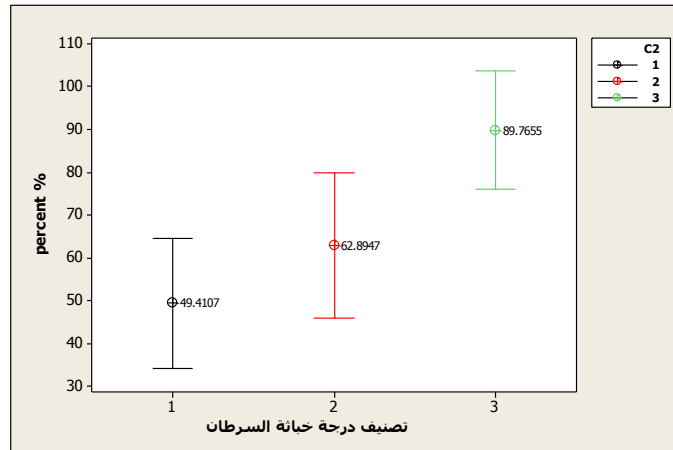
نجد أن القيمة الاحصائية لاختبار كاي مربع تساوي 0.704 وبما أنها أكبر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم، أي لا يوجد علاقة بين سن المريض ودرجة تعبيرية الكادهيرين P.

3-3- نتائج دراسة تعبيرية البروتين N-cad:

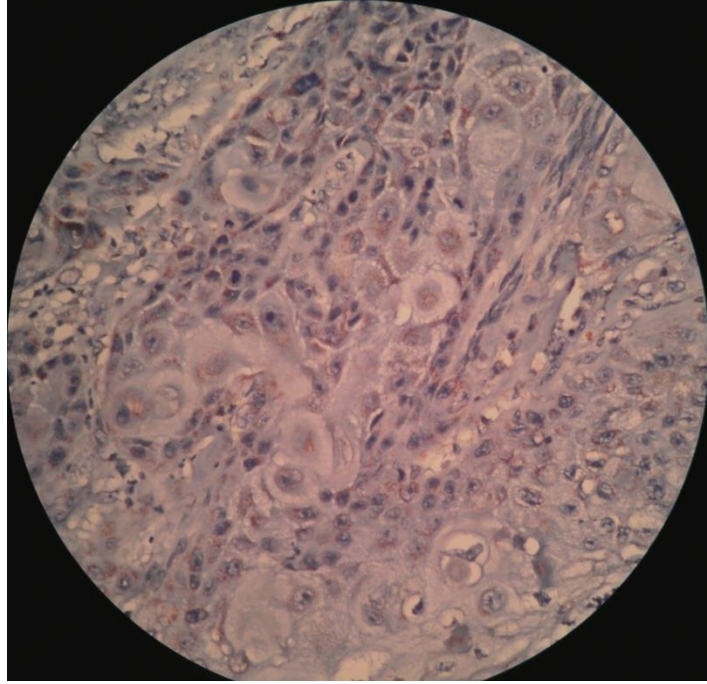
3-3-1 نتائج دراسة تعبيرية N-cad في درجات السرطان الثلاث:

ازدادت تعبيرية الكادهيرين N تدريجياً مع ازدياد درجة الخباثة، حيث كانت نسبة الخلايا الايجابية له في الدرجة الأولى 49,41%، و 62,89% في الدرجة الثانية، لتصل إلى 89,76% في الدرجة الثالثة. كانت التعبيرية سيتوبلاسمية في جميع الحالات، حول نووية في أغلبها.

لتحري ما إذا كانت هذه الفروقات دالة، نجري اختبار كروسكال والس اللامعلمي.

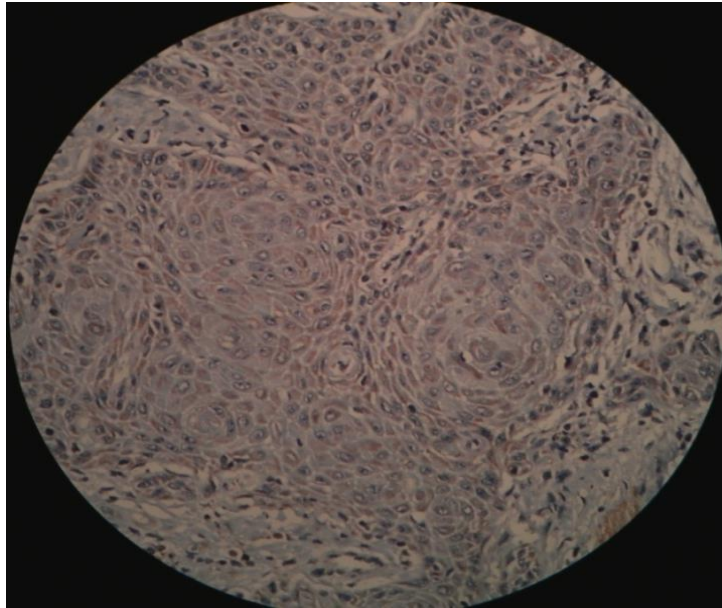


الشكل 51: نسب الخلايا الايجابية للكادهيرين N في درجات السرطان الثلاث.

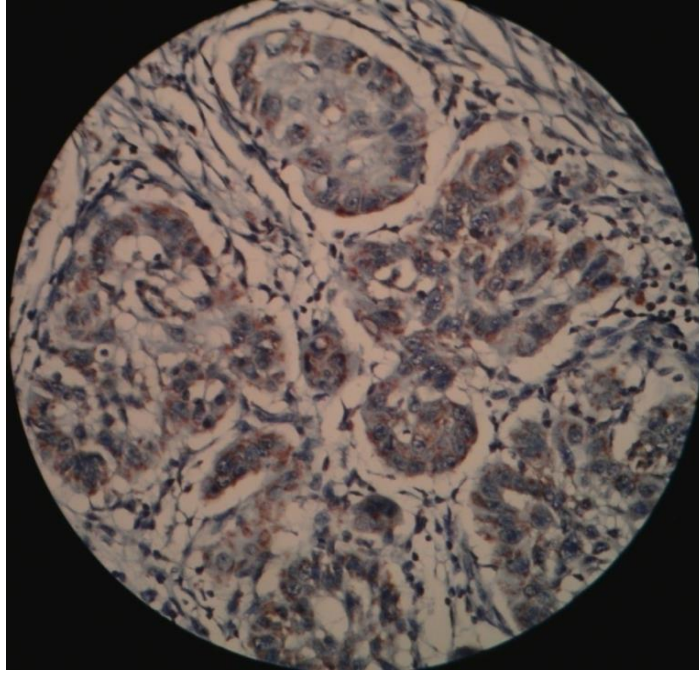


الشكل 52 : تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الأولى من السرطان

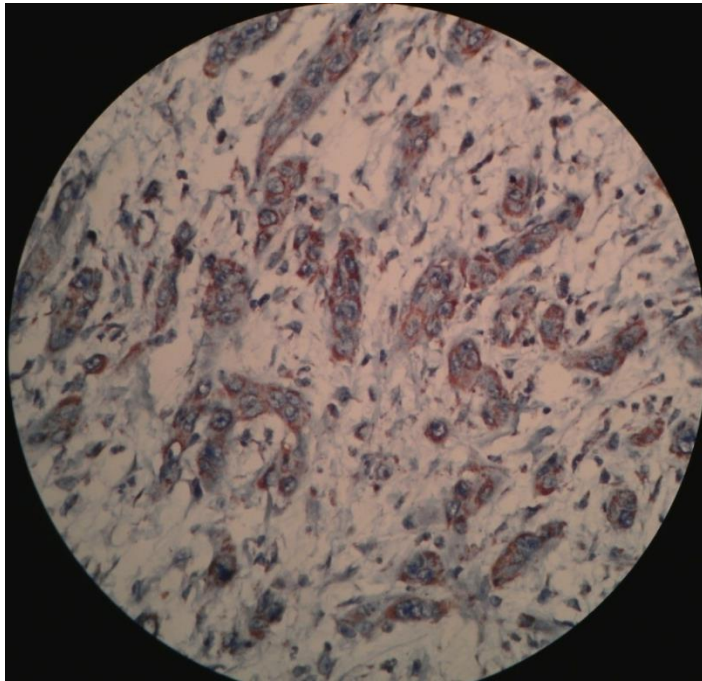
نجد أن قيمة الاختبار تساوي 0.002 ، وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة 0.05 ، فإننا نرفض فرضية العدم ونقر بوجود اختلاف حقيقي وجوهري بين متوسط نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين N يعود للاختلاف بين درجات السرطان الثلاث.



الشكل 53: تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الثانية من السرطان



الشكل 54: تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الثالثة من السرطان .



الشكل 55 : تعبيرية الكادهيرين N في الدرجة الثالثة من السرطان

لمعرفة أي المجموعات مختلفة عن الأخرى، نقوم بإجراء اختبار مان ويتني لكل مجموعتين

على حدی:

1- متوسط نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين N في الدرجة الأولى مع المتوسط في الدرجة الثانية:

نجد أن القيمة الاحصائية لاختبار مان ويتني تساوي 0.18 ، وبما أنها أكبر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم والاختلاف غير جوهري وليس له دلالة إحصائية. وبما أن حجم الأثر 0.259 أصغر من العتبة 0.5 فإن حجم الأثر صغير.

2- متوسط نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين N في الدرجة الأولى مع المتوسط في الدرجة الثالثة:

القيمة الاحصائية لاختبار مان ويتني تساوي 0.001 ، وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم والاختلاف جوهري و له دلالة إحصائية. وبما أن حجم الأثر 0.681 أكبر من العتبة 0.5 فإن حجم الأثر كبير.

3- متوسط نسبة الخلايا الايجابية للكادهيرين N في الدرجة الثانية مع المتوسط في الدرجة الثالثة:

القيمة الاحصائية لاختبار مان ويتني تساوي 0.01 وبما أنها أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم والاختلاف جوهري و له دلالة إحصائية. وبما أن حجم الأثر 0.577 هو أكبر من العتبة 0.5 بقليل، فإن حجم الأثر متوسط.

الجدول 9 : نتائج علاقة تعبيرية الكادهيرين N مع الجنس والعمر ودرجة خباثة السرطان .

المتغيرات	عدد الحالات	متوسط إيجابية N	الانحراف المعياري	P < 0.05	المقارنة بين المجموعات
عدد الحالات الكلية	40				
العمر					
<45	10(25%)	0.53	0.25	0.34	
≥45	30(75%)	0.69	0.31		
الجنس					
ذكر	35(87.5%)	0.63	0.31	0.06	
أنثى	5(12.5%)	0.81	0.16		
درجة الخباثة					
GI	14	0.49	0.26	0.002	G1 vs. G3 P=0.001
GII	15	0.62	0.30		G2 vs. G3 P=0.01
GIII	11	0.89	0.20		G2 vs. G1 P=0.18

3-3-2- نتائج دراسة العلاقة ما بين تعبيرية الكادهيرين N والجنس:

نجد أن قيمة كاي مربع تساوي 0.06 وبما أنها أكبر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05، لذلك نقبل فرضية العدم، أي لا يوجد علاقة ما بين تعبيرية الكادهيرين N وجنس المريض.

3-3-3- نتائج دراسة العلاقة ما بين تعبيرية الكادهيرين N والعمر:

نجد أن قيمة كاي مربع تساوي 0.34 أي أنها أكبر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم، أي لا يوجد علاقة بين تعبيرية الكادهيرين N وعمر المريض.

3-4- نتائج دراسة علاقة الكادهيرينات مع بعضها في درجات الخباثة المختلفة للسرطان

شائك الخلايا الفموي:

3-4-1- نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و P-cad:

بما أن البيانات لا تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط سبيرمان. قيمة معامل الارتباط بين العينتين هي 0.533 وهو ارتباط طردي، وبما أن قيمة sig تساوي 0.000 أي أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم والارتباط ذو دلالة احصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و P-cad في الدرجة الأولى من السرطان:

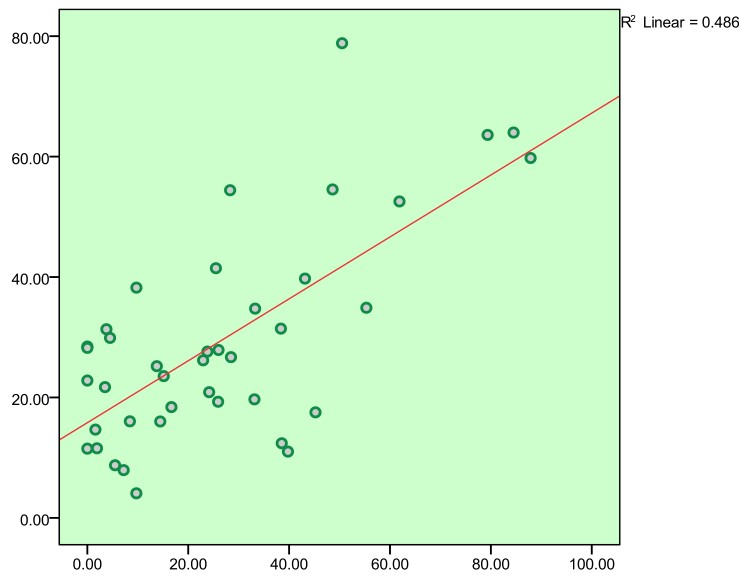
بما أن البيانات تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط بيرسون. معامل الارتباط بين العينتين يساوي 0.692 وهو ارتباط طردي، وبما أن قيمة sig تساوي 0.006 أي أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 فإننا نرفض فرضية العدم والارتباط ذو دلالة احصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و P-cad في الدرجة الثانية من السرطان:

بما أن البيانات لا تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط سبيرمان. نجد أن معامل الارتباط بين العينتين يساوي 0.429 وهو ارتباط طردي، وبما أن قيمة sig تساوي 0.111 أي أكبر من مستوى الدلالة 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم والارتباط ليس ذو دلالة احصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و P-cad في الدرجة الثالثة من السرطان:

بما أن البيانات تخضع للتوزيع الطبيعي، فإننا نقوم بإجراء اختبار ارتباط بيرسون. نجد أن معامل الارتباط بين العنيتين يساوي 0.419 وهو ارتباط طردي. بما أن قيمة sig تساوي 0.2 أي أكبر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 فإننا نقبل فرضية العدم والارتباط ليس ذو دلالة احصائية.



الشكل 56 : العلاقة ما بين الكادهيرين E والكادهيرين P.

3-4-2- نتائج دراسة العلاقة بين E-cad و N-cad:

بما أن البيانات لا تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط سبيرمان. نجد أن قيمة sig تساوي 0.000 أي أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 ، لذلك نرفض فرضية العدم أي أن الارتباط ذو دلالة إحصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و N-cad في الدرجة الأولى من السرطان:

بما أن البيانات تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط بيرسون.

نجد أن قيمة sig تساوي 0.362 أي أكبر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 ، لذلك نقبل

فرضية العدم والارتباط هنا غير معنوي وليس ذو دلالة إحصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و N-cad في الدرجة الثانية من السرطان :

بما أن البيانات تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط بيرسون.

نجد أن قيمة sig تساوي 0.032 أي أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 ، لذلك

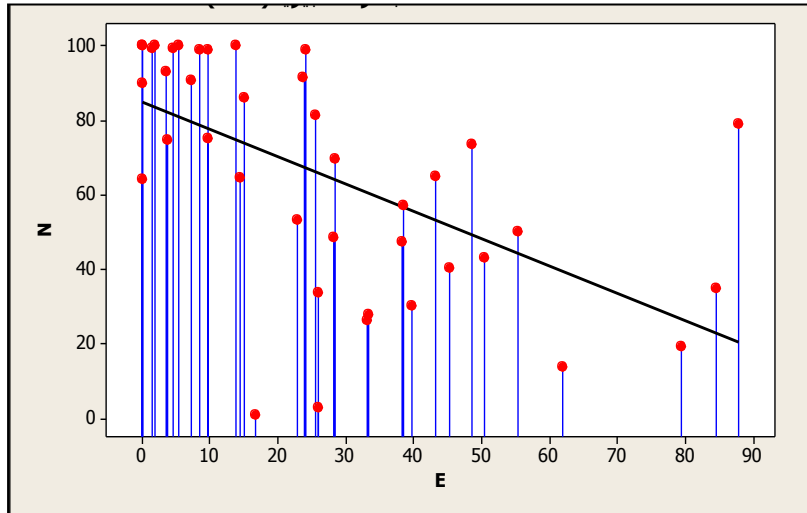
نرفض فرضية العدم والارتباط هنا معنوي و ذو دلالة إحصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية E-cad و N-cad في الدرجة الثالثة من السرطان:

بما أن البيانات لا تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط سبيرمان.

نجد أن قيمة sig تساوي 0.013 أي أصغر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 ، لذلك

نرفض فرضية العدم والارتباط هنا معنوي وذو دلالة إحصائية.



الشكل 57 : العلاقة مابين الكادهيرين E والكادهيرين N.

الجدول 10: نتائج العلاقة ما بين الكادهيرين E والكادهيرين N.

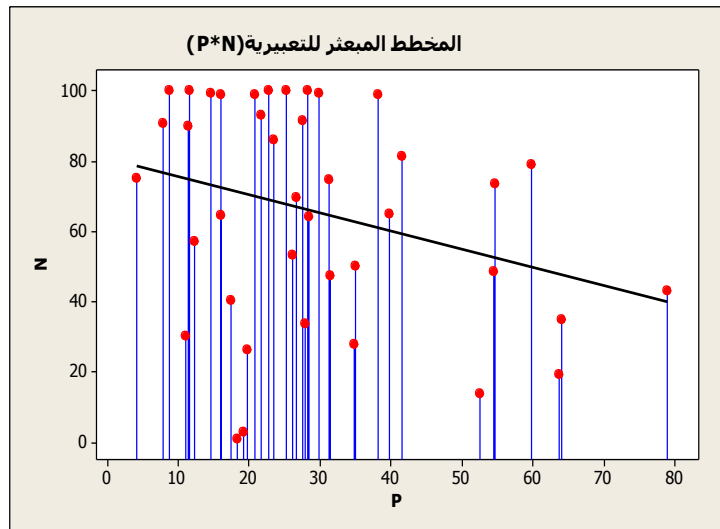
الدرجة I	متوسط ايجابية E-cad	متوسط ايجابية N-cad	إرتباط بيرسون	إرتباط سبيرمان	قيمة P
الدرجة I	0.42	0.49	-0.26		0.36
الدرجة II	0.24	0.62	-0.55		0.03
الدرجة III	0.09	0.89		-0.71	0.01
الكلية				-0.68	0.00

3-4-3- نتائج دراسة العلاقة بين N-cad و P-cad:

بما أن البيانات لا تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط سبيرمان.

نجد أن قيمة sig تساوي 0.082 أي أكبر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05 ، لذلك نقبل

فرضية العدم والارتباط هنا غير معنوي وليس ذو دلالة إحصائية.



الشكل 58: العلاقة ما بين الكادهيرين P والكادهيرين N.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad و N-cad في الدرجة الأولى من السرطان:

بما أن البيانات تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط بيرسون.

نجد أن قيمة sig تساوي 0.790 أي أكبر من مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05، لذلك نقبل

فرضية العدم والارتباط هنا غير معنوي و ليس ذو دلالة إحصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad و N-cad في الدرجة الثانية من السرطان:

بما أن البيانات لا تخضع للتوزيع الطبيعي، نقوم بإجراء اختبار ارتباط سبيرمان.

نجد أن قيمة sig تساوي 0.328 أي أكبر من مستوى مستوى الدلالة المحدد بـ 0.05، لذلك

نقبل فرضية العدم والارتباط هنا غير معنوي و ليس ذو دلالة إحصائية.

نتائج دراسة العلاقة بين تعبيرية P-cad و N-cad في الدرجة الثالثة من السرطان:

نجد أن قيمة sig لا اختبار ارتباط سبيرمان تساوي 0.499 أي أنها أكبر من مستوى الدلالة

المحدد بـ 0.05 ، لذلك فإن الارتباط غير معنوي وليس ذو دلالة احصائية.

الجدول 11: نتائج العلاقة بين تعبيرية الكادهيرين P والكادهيرين N.

متوسط ايجابية N-cad	متوسط ايجابية P-cad	ارتباط بيرسون	ارتباط سبيرمان	قيمة P	
0.49	0.38	-0.078		0.79	الدرجة I
0.62	0.25		-0.27	0.32	الدرجة II
0.89	0.23		-0.22	0.49	الدرجة III
			-0.27	0.08	الكلي

المادة الرابعة

مناقشة النتائج

1-4- الكادهيرين E:

يلاحظ تناقص تعبيرية الكادهيرين E جزئياً أو كلياً في خلايا العديد من الأورام البشرية في سياق تطورها باتجاه الخباثة، مما يدعم دور هذا البروتين ككبح للورم.

تنخفض تعبيرية الكادهيرين E تدريجياً مع زيادة درجة الخباثة في السرطان شائك الخلايا في الرأس والعنق، حيث كانت تعبيريته في الحالات جيدة التمايز قريبة من الحالة الطبيعية ومن ثم بدأت بالانخفاض تدريجياً لتختفي نهائياً في الحالات سيئة التمايز مما يدعم دوره في الحد من الغزو (Schipper et al., 1991). كما وجد (Simionescu et al., 2008) و (Wang et al., 2009) انخفاضاً ذا دلالة في تعبيرية الكادهيرين و في mRNA بين واجهة الغزو و المنطقة المركزية و السطحية من السرطان شائك الخلايا الفموي.

تم ربط انخفاض تعبيرية الكادهيرين E بالنكس والنقائل الناحية و البعيدة (de Moraes et al., 2008, Bosch et al., 2005, Li et al., 2012a)، وقد اعتبر عاملاً تنبؤياً لحدوث النقائل (Foschini et al., 2008) (Tanaka et al., 2003a) (Diniz-Freitas et al., 2006)، ونسبة البقاء الخالية من المرض -disease free survival (Kurtz et al., 2006) (Tanaka et al., 2003a) (Diniz-Freitas et al., 2006) واعتبر انخفاضه مؤشراً على النقائل للعقدة اللمفية الحارسة (Huber et al., 2011)، حيث أن السرطان شائك الخلايا جيد التمايز ذو النقائل للعقد اللمفية كان ذو تعبيرية منخفضة للكادهيرين E (de Moraes et al., 2008).

في دراستنا شوهدت تعبيرية الكادهيرين E في كل من الطبقة القاعدية وفوق القاعدية و الشائكة بشكل غشائي مستمر ومتجانس إلا أن تعبيريته في الطبقة القاعدية كانت أضعف من تعبيريته في الطبقة الشائكة، وبذلك اتفقنا مع (Tanaka et al., 2003a) (Liu et al., 2010) (Wang et al., 2009) ولكن اختلفنا مع (Hashimoto et al., 2012) الذي لاحظ أن تعبيرية الكادهيرين محدودة بالطبقة القاعدية و قرب القاعدية.

شاهد تراجع في تعبيرية الكادهيرين في الدرجة الأولى من السرطان مقارنة بالبشرة الطبيعية حيث أصبحت تعبيريته غير متجانسة؛ حيث أظهرت بعض الخلايا البروتين بشكل غشائي متقطع أو ضعيف، بينما أظهر بعضها الآخر البروتين في الهيولى بدلاً من الغشاء الخلوي، وبذلك اتفقنا مع كل من (Li et al., 2009a) في دراسته للسرطان شائك الخلايا في المريء، ومع (Li et al., 2009b) في دراسته للسرطان شائك الخلايا في اللسان حيث وجد تناقصاً دالاً في تعبيرية البروتين بدءاً بالبشرة الطبيعية مروراً بالبشرة المصابة بسوء التصنع و انتهاء بالسرطان شائك الخلايا.

استمر الكادهيرين بالتراجع في الدرجتين الثانية و الثالثة، وأصبحت تعبيريته هيولية مسيطرة في الدرجة الثانية، أو فقدت في معظم حالات الدرجة الثالثة.

على الرغم من هذه الفروقات في التعبيرية إلا أنه لم توجد علاقة دالة بين تعبيرية الكادهيرين E ودرجة الخباثة النسيجية، وبذلك اتفقنا مع كل من (Tanaka et al., 2003a) (Diniz-Freitas et al., 2006) (Liu et al., 2010) (Pyo et al., 2007) (Balasundaram et al., 2014) في دراساتهم للسرطان شائك الخلايا الفموي،

ومع (Lyakhovitsky et al., 2004) الذي وجد تعبيرية قوية للكادهيرين في بشرة الجلد الطبيعية، أما في السرطان شائك الخلايا فلم يجد علاقة بين التعبيرية و درجة تمايز السرطان، ومع (Li et al., 2012a) الذي شاهد انخفاض في تعبيرية الكادهيرين E في السرطان شائك الخلايا في الحنجرة مقارنة بالبشرة الطبيعية ولكنه لم يجد علاقة بين درجة الخباثة وتعبيرية هذا البروتين، ومع (Nijkamp et al., 2011) الذي لم يجد علاقة بين انخفاض تعبيرية E-cad والسرطان الشائك للرأس و العنق و درجة التمايز. ومع (Li et al., 2009b) في دراسته للسرطان شائك الخلايا في اللسان، ومع (Blehschmidt et al., 2008) في دراسته لسرطان المبيض، ولكن اختلفنا مع (Hashimoto et al., 2012) في دراسته للسرطان شائك الخلايا، قد يكون السبب هو أنه قد تحرى تعبيرية الكادهيرين في واجهة الغزو فقط، ومع (Huber et al., 2011) قد يكون السبب في ذلك أنه قد قسم الحالات إلى عالية التعبيرية للكادهيرين ومنخفضة التعبيرية للكادهيرين والمجموعة عالية التعبيرية هي فقط التي ارتبطت بدرجة الخباثة، إضافة إلى استخدامه طريقة مختلفة في تقييم التعبيرية تعتمد على عدد الخلايا الايجابية إضافة إلى شدة تلونها، إضافة إلى أن الخزعات قد كانت من الفم والبلعوم الفموي وليس فقط من الحفرة الفموية.

لم نجد في دراستنا علاقة مابين تعبيرية الكادهيرين E وعمر المريض، وبذلك اتفقنا مع (Liu et al., 2010) في دراسته للسرطان شائك الخلايا في الفم، وفي الحنجرة (Li et al., 2012a) ومع (Li et al., 2009b) في دراسته للسرطان شائك الخلايا في اللسان. كما لم نشاهد علاقة مابين تعبيرية الكادهيرين و جنس المريض و بذلك اتفقنا مع كل من (Wang et al., 2009) و (Liu et al., 2010) و (Li et al., 2009b).

4-2- الكادهيرين P:

وجد بعض الباحثين أن تعبيرية الكادهيرين P في البشرة الفموية الطبيعية تقتصر على الطبقة القاعدية (Takeichi, 1995) (Sakaki et al., 2003) وقد تمتد التعبيرية أحيانا لتشمل الطبقة فوق القاعدية (Tamura et al., 2003) (Lo Muzio et al., 2005). وبما أن هذه الطبقة تمثل القسم المتكاثر من البشرة فقد اقترح ارتباط تعبيرية هذا الكادهيرين مع تكاثر الخلايا و عدم تمايزها (Shimoyama and Hirohashi, 1991) (Hines et al., 1999).

تظهر نتائج دراستنا أن خلايا الطبقة الشائكة تظهر تعبيرية لهذا البروتين تماما كما تظهره الخلايا القاعدية و فوق القاعدية وبذلك اتفقنا مع (Munoz-Guerra et al., 2005). هذا يقترح أن الكادهيرين P يلعب دوراً في الخلايا المتميزة إضافة إلى الخلايا غير المتميزة.

لاحظ Williams et al. نقصان أو فقدان تعبيرية الكادهيرين P في السرطان شائك الخلايا الفموي سيء التمايز وفي واجهة الغزو للسرطانات الفموية (Williams et al., 1998). وفي دراسة لسرطانات اللثة البشرية وجد أن تراجع تعبيرية الكادهيرين P تزداد بشكل ملحوظ مع درجة تمايز السرطان، وهي تتوافق مع النمط الارتشاحي للغزو (Sakaki et al., 1994). أيضا فقد تم اختيار الكادهيرين P كمنبىء لفترة البقاء الخالية من النكس (Munoz-Guerra et al., 2005).

وجدنا في دراستنا تراجعاً في تعبيرية الكادهيرين P في السرطان شائك الخلايا من الدرجة الأولى مقارنة بتعبيريته المشاهدة في البشرة الفموية الطبيعية، إضافة إلى انتقال مكان هذه التعبيرية لتصبح غشائية - هيولية. ازداد تراجع التعبيرية في الدرجة الثانية وأصبحت التعبيرية هيولية مهيمنة بينما لم تظهر أغلبية خلايا الدرجة الثالثة تعبيرية لهذا البروتين. وبذلك اختلفنا مع (Lo Muzio et al., 2005) و (Lo Muzio et al., 2004) الذي لاحظ تفعيل انتساخ الكادهيرين P في البشرة المصابة بسوء التصنع و الدرجة الأولى من السرطان لتتراجع تعبيريته لاحقاً في الدرجتين الثانية و الثالثة، إلا أننا اتفقنا معه في التوضع الغشائي و الهيولي للبروتين في السرطان، قد يكون السبب هو اعتباره أن تعبيرية الكادهيرين في الطبقة الشائكة هو تعبيرية شاذة وناتجة عن تفعيل انتساخ، نظراً لكون البشرة الطبيعية في دراسته لم تبد تعبيرية للكادهيرين في الطبقة الشائكة بخلاف دراستنا.

يمكن ترجمة تراجع التعبيرية في الدرجة الأولى بكون الخلايا السرطانية الخبيثة تخفض من جزيء اللصق هذا حتى تتمكن من الانفصال عن مجاوراتها و الهروب من مكانها كخطوة أولى في سياق الغزو (Takeichi, 1993) وهذا ما أكدته Williams et al. في دراسته للبشرات المصابة بسوء التصنع المجاورة للسرطانات المرتشحة حيث ظهر انخفاض تعبيرية هذا الكادهيرين فيها (Williams et al., 1998). إضافة إلى ذلك فإن التوضع الهيولي للبروتين أو فقدانه يمكن أن يرتبط بالمراحل المتقدمة في سياق السرطان كالفنائل، حيث أنه قد ارتبط بالإنذار السيء مقارنة بالتوضع الغشائي (Lo Muzio et al., 2005).

على الرغم من هذه الفروقات لم تشاهد علاقة دالة بين تعبيرية هذا البروتين ودرجة تمايز السرطان أو الجنس أو العمر مما يتفق مع كل من (Munoz-Guerra et al., 2005) (Lo Muzio et al., 2005) (Pyo et al., 2007)، ويختلف مع (Lo Muzio et al., 2004) الذي وجد علاقة ما بين درجة التمايز وانخفاض تعبيرية الكادهيرين P ولكن اتفقنا معه فيما يخص الجنس و العمر. قد يكون السبب هو تصنيف تعبيرية الكادهيرين إلى فئتين أكبر أو أصغر من 5% من خلايا إيجابية ولم يحدد أي الفئتين هي المستخدمة في الاختبار، إضافة إلى عد 500 خلية من كل حالة بينما أخذنا ما لا يقل عن 1000 خلية من كل حالة، إضافة إلى أن قيمة الاختبار الاحصائي كانت ذات دلالة عند 0.01% بدلا من 0.05%.

ترافقت التعبيرية الهيولية للكادهيرين P في السرطان القتامي مع زيادة الغزو و انخفاض نسبة البقاء (Bachmann et al., 2005).

3-4- الكادهيرين N:

لاحظ (Islam et al., 1996) عند دراسته لسلاسل لخلايا سرطان شائك الخلايا ظهور تعبيرية شاذة للكادهيرين N في الخلايا السرطانية التي أظهرت تعبيرية منخفضة لكل من الكادهيرين E, P إضافة إلى اكتساب الخلايا لنمط مبعثر شبيه بالخلايا مصورات الليف، و عند معاكسة تعبيرية هذا الكادهيرين عادت الخلايا إلى الشكل الشائك مع عودة تعبيرية الكادهيرين البشريين، و عند تقديم هذا الكادهيرين إلى خلايا بشرية طبيعية

انخفضت تعبيرية كل من الكادهيرينين البشريين و اكتسبت الخلايا الشكل الضام المبعثر وفي كل الحالات لوحظت علاقة عكسية بين الكادهيرين E و الكادهيرين N.

في دراستنا، ازدادت تعبيرية الكادهيرين N تدريجيا بالتزامن مع زيادة درجة الخباثة، حيث بلغت نسبة الخلايا الايجابية له في الدرجة الأولى من السرطان 49.41%، بينما في الدرجة الثانية 62.89%، أما في الدرجة الثالثة فقد بلغت 89.76%. ظهرت تعبيرية البروتين في هوىلى الخلايا السرطانية وفي أنويتها.

على الرغم من هذه الفروقات إلا أننا لم نجد في دراستنا علاقة تربط تعبيرية الكادهيرين N مع درجة خباثة السرطان شائك الخلايا وبذلك اتفقنا مع (Li et al., 2009b) و (Hashimoto et al., 2012) و (Pyo et al., 2007)، واختلفنا مع (M et al., 2011) ربما بسبب كونه استخدم نظام scores إلى 3 فئات ولم يستخدم تحليل أنوفا، و (Li et al., 2009a) ربما يكون سبب الاختلاف هو اختلاف مكان السرطان حيث أن دراسته كانت على السرطان شائك الخلايا في المري، إضافة إلى اختلاف طريقة العد حيث استخدم نسبة الخلايا الايجابية إضافة إلى شدة التلوين، واستخدم تحليلاً إحصائياً مختلفاً.

لم تشاهد علاقة بين تعبيرية الكادهيرين N وعمر المريض وبذلك اختلفنا مع (Li et al., 2009b)، كما لم تشاهد علاقة بين تعبيرية البروتين وجنس المريض وبذلك اتفقنا مع (Li et al., 2009b).

4-5 - مناقشة نتائج دراسة علاقة البروتينات ببعضها:

تدل نتائج دراستنا على وجود علاقة طردية مابين الكادهيرين E و الكادهيرين P بشكل عام، إلا أنه عند تحري هذه العلاقة في كل درجة من درجات خباثة السرطان وجدنا ارتباط هذين البروتينين في الدرجة الأولى فقط، بينما لم تشاهد علاقة بينهما في الدرجتين الثانية و الثالثة.

اختلفنا في هذه النتيجة مع (Pyo et al., 2007)، وقد يكون السبب هو أن الباحث قد قيم تعبيرية الكادهيرين P في الخلايا المحيطية للجزر الورمية فقط على اعتبار أنها تمثل الخلايا القاعدية التي تظهر عادة الكادهيرين P، وبما أن الخلايا الشائكة لاتظهر هذا الكادهيرين في الحالة الطبيعية فان إظهار الخلايا المركزية في الجزر الورمية لهذا البروتين يعد تعبيرية شاذة.

أيضا لوحظت علاقة عكسية مابين الكادهيرين E والكادهيرين N في سياق السرطان بشكل عام وبذلك اتفقنا مع (Pyo et al., 2007) و (Li et al., 2009a) و (M et al., 2011)، ولكن عند تحري هذا الارتباط في كل درجة من درجات الخباثة لم تشاهد علاقة بين هذين البروتينين في الدرجة الأولى من السرطان، ولكنها ظهرت في الدرجتين الثانية والثالثة. مما يقترح أن استبدال الكادهيرين يلعب دوراً أكبر في المراحل المتقدمة من التسرطن حتى يسهل عملية النقائل إلى العقد اللمفية و الأعضاء الأخرى.

عند تحري علاقة البروتينين P و N لم تشاهد علاقة بينهما في أية درجة من درجات السرطان، وبذلك اتفقنا مع (Pyo et al., 2007) . تقترح هذه النتيجة أن كل من انخفاض

تعبيرية الكادهيرين P، وارتفاع تعبيرية الكادهيرين N يساهم في تطور السرطان شائك الخلايا، ولكن بطرق مختلفة لانتقاطع مع بعضها.

المرادف الخامس

الاستنتاجات

(1) تتخفّض تعبيرية كل من الكادهيرين E والكادهيرين P في الدرجة الأولى من

السرطان شائك الخلايا الفموي عند مقارنتها بتعبيريتهما في البشرة الطبيعية.

(2) يعد انخفاض تعبيرية الكادهيرين E والكادهيرين P وازدياد تعبيرية الكادهيرين N

مظهراً مميزاً في سياق تطور السرطان شائك الخلايا الفموي، على الرغم من عدم

ارتباط تعبيرية أي منها مع درجة خباثة هذا السرطان.

(3) يرتبط انخفاض تعبيرية الكادهيرين E والكادهيرين P بعلاقة طردية في سياق

السرطان شائك الخلايا الفموي.

(4) يرتبط انخفاض تعبيرية الكادهيرين E وارتفاع تعبيرية الكادهيرين N بعلاقة عكسية

في سياق السرطان شائك الخلايا الفموي.

(5) لم يرتبط انخفاض تعبيرية الكادهيرين P وارتفاع تعبيرية الكادهيرين N بأي علاقة

في سياق السرطان شائك الخلايا الفموي.

(6) لم يرتبط انخفاض تعبيرية الكادهيرين E أو الكادهيرين P مع جنس المريض

أو عمره.

(7) لم يرتبط ارتفاع تعبيرية الكادهيرين N مع جنس المريض أو عمره.

الباب السادس

المقترحات والتوصيات

المقترحات

(1) دراسة كل من الكادهيرين E والكادهيرين P والكادهيرين N على مستوى mRNA

إضافة إلى جانب المستوى البروتيني.

(2) إجراء دراسة مقارنة لتعبيرية هذه الكادهيرينات مابين السرطان الأولي والعقد اللمفية.

(3) دراسة سبل تعطيل كل من الكادهيرين E والكادهيرين P لتحري الاتفاق أو

الاختلاف.

التوصيات

(1) إجراء توثيق دقيق لحالات السرطان في المشافي، ومتابعة المرضى لتسجيل حالات

النكس، والنقائل، والوفاة، ليتم ربط المعطيات النسيجية مع السريرية، وبالتالي تقييم

الواسمات المدروسة بشكل أفضل، حتى نتمكن في النهاية من تحديد إنذار أدق

للمريض.

(2) إجراء دراسة أوسع على الكادهيرينات المختلفة لتحري دورها في السرطان شائك

الخلايا الفموي، وخاصة على المستوى الجزيئي لنتمكن من تحري الآليات المعطلة

أو المحفزة لهذه البروتينات.

(3) دراسة علاقة تعبيرية الكادهيرينات مع الأنماط المختلفة من السرطان شائك الخلايا

الفموي.

دراسة علاقة تعبيرية الكادهيرينات مع التقييم السريري Staging للسرطان شائك الخلايا

الفموي.

الباب السابع

المراجع

- ABE, K. & TAKEICHI, M. 2008. EPLIN mediates linkage of the cadherin catenin complex to F-actin and stabilizes the circumferential actin belt. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 13-9.
- AFREM, M. C., MARGARITESCU, C., CRAITOIU, M. M., CIUCA, M., SARLA, C. G. & COTOI, O. S. 2014. The immunohistochemical investigations of cadherin "switch" during epithelial-mesenchymal transition of tongue squamous cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*, 55, 1049-56.
- AHMED, R. A., SHAWKY AEL, A. & HAMED, R. H. 2014. Prognostic significance of cyclin D1 and E-cadherin expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Pathol Oncol Res*, 20, 625-33.
- AHRENS, T., PERTZ, O., HAUSSINGER, D., FAUSER, C., SCHULTHESS, T. & ENGEL, J. 2002. Analysis of heterophilic and homophilic interactions of cadherins using the c-Jun/c-Fos dimerization domains. *J Biol Chem*, 277, 19455-60.
- AKHTER, M., HOSSAIN, S., RAHMAN, Q. B. & MOLLA, M. R. 2011. A study on histological grading of oral squamous cell carcinoma and its co-relationship with regional metastasis. *J Oral Maxillofac Pathol*, 15, 168-76.
- AKINTOLA, A. D., CRISLIP, Z. L., CATANIA, J. M., CHEN, G., ZIMMER, W. E., BURGHARDT, R. C. & PARRISH, A. R. 2008. Promoter methylation is associated with the age-dependent loss of N-cadherin in the rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 294, F170-6.
- AKSENENKO, M. B., GYRYLOVA, S. N. & RUKSHA, T. G. 2012. Changes in the levels of N-cadherin and PCNA in skin melanoma cells are mediated through matrix metalloproteinase 9. *Bull Exp Biol Med*, 153, 364-6.
- ALATTIA, J. R., KUROKAWA, H. & IKURA, M. 1999. Structural view of cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Cell Mol Life Sci*, 55, 359-67.
- ALBERGARIA, A., RESENDE, C., NOBRE, A. R., RIBEIRO, A. S., SOUSA, B., MACHADO, J. C., SERUCA, R., PAREDES, J. & SCHMITT, F. 2013. CCAAT/enhancer binding protein beta (C/EBPbeta) isoforms as transcriptional regulators of the pro-invasive CDH3/P-cadherin gene in human breast cancer cells. *PLoS One*, 8, e55749.
- ALBERGARIA, A., RIBEIRO, A. S., VIEIRA, A. F., SOUSA, B., NOBRE, A. R., SERUCA, R., SCHMITT, F. & PAREDES, J. 2011. P-cadherin role in normal breast development and cancer. *Int J Dev Biol*, 55, 811-22.
- ALT-HOLLAND, A., SHAMIS, Y., RILEY, K. N., DESROCHERS, T. M., FUSENIG, N. E., HERMAN, I. M. & GARLICK, J. A. 2008. E-cadherin suppression directs cytoskeletal rearrangement and intraepithelial tumor cell migration in 3D human skin equivalents. *J Invest Dermatol*, 128, 2498-507.
- AMIN, N. & VINCAN, E. 2012. The Wnt signaling pathways and cell adhesion. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 17, 784-80.4
- ANDL, T., LE BRAS, G. F., RICHARDS, N. F., ALLISON, G. L., LOOMANS, H. A., WASHINGTON, M. K., REVETTA, F., LEE, R. K., TAYLOR, C., MOSES, H. L. & ANDL, C. D. 2014. Concerted loss of TGFbeta-mediated proliferation control and E-cadherin disrupts epithelial homeostasis and causes oral squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis*, 35, 2602-10.
- ARIKATH, J. & REICHARDT, L. F. 2008. Cadherins and catenins at synapses: roles in synaptogenesis and synaptic plasticity. *Trends Neurosci*, 31, 487-94.

- ARMEANU, S., BUHRING, H. J., REUSS-BORST, M., MULLER, C. A. & KLEIN, G. 1995. E-cadherin is functionally involved in the maturation of the erythroid lineage. *J Cell Biol*, 131, 243-9.
- ARNES, J. B., BRUNET, J. S., STEFANSSON, I., BEGIN, L. R., WONG, N., CHAPPUIS, P. O., AKSLEN, L. A. & FOULKES, W. D. 2005. Placental cadherin and the basal epithelial phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Clin Cancer Res*, 11, 4003-11.
- ARTHUR, W. T., NOREN, N. K. & BURRIDGE, K. 2002. Regulation of Rho family GTPases by cell-cell and cell-matrix adhesion. *Biol Res*, 35, 239-46.
- BACHMANN, I. M., STRAUME, O., PUNTERVOLL, H. E., KALVENES, M. B. & AKSLEN, L. A. 2005. Importance of P-cadherin, beta-catenin, and Wnt5a/frizzled for progression of melanocytic tumors and prognosis in cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res*, 11, 8606-14.
- BAEK, S., LEE, Y. W., YOON, S., BAEK, S. Y., KIM, B. S. & OH, S. O. 2010. CDH3/P-Cadherin regulates migration of HuCCT1 cholangiocarcinoma cells. *Anat Cell Biol*, 43, 110-7.
- BAGAN, J., SARRION, G. & JIMENEZ, Y. 2010. Oral cancer: clinical features. *Oral Oncol*, 46, 414-7.
- BAKI, L., MARAMBAUD, P., EFTHIMIOPOULOS, S., GEORGAKOPOULOS, A., WEN, P., CUI, W., SHIOI, J., KOO, E., OZAWA, M., FRIEDRICH, V. L., JR. & ROBAKIS, N. K. 2001. Presenilin-1 binds cytoplasmic epithelial cadherin, inhibits cadherin/p120 association, and regulates stability and function of the cadherin/catenin adhesion complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98, 2381-6.
- BALASUNDARAM, P., SINGH, M. K., DINDA, A. K., THAKAR, A. & YADAV, R. 2014. Study of beta-catenin, E-cadherin and vimentin in oral squamous cell carcinoma with and without lymph node metastases. *Diagn Pathol*, 9, 145.
- BANKFALVI, A., KRASSORT, M., VEGH, A., FELSZECHY, E. & PIFFKO, J. 2002. Deranged expression of the E-cadherin/beta-catenin complex and the epidermal growth factor receptor in the clinical evolution and progression of oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med*, 31, 450-7.
- BARNES, L., EVESON, J. W., REICHART, P. & SIDRANSKY, D. (eds.) 2005. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours*, Lyon: IARC Press.
- BAUER, K., DOWEJKO, A., BOSSERHOFF, A. K., REICHERT, T. E. & BAUER, R. 2011. Slit-2 facilitates interaction of P-cadherin with Robo-3 and inhibits cell migration in an oral squamous cell carcinoma cell line. *Carcinogenesis*, 32, 935-43.
- BAUER, K., DOWEJKO, A., BOSSERHOFF, A. K., REICHERT, T. E. & BAUER, R. J. 2009. P-cadherin induces an epithelial-like phenotype in oral squamous cell carcinoma by GSK-3beta-mediated Snail phosphorylation. *Carcinogenesis*, 30, 1781-8.
- BAUER, K., GOSAU, M., BOSSERHOFF, A., REICHERT, T. & BAUER, R. 2012. P-cadherin controls the differentiation of oral keratinocytes by regulating cytokeratin 1/10 expression via C/EBP-beta-mediated signaling. *Differentiation*, 84, 345-54.
- BAUER, R., DOWEJKO, A., DRIEMEL, O., BOSSERHOFF, A. K. & REICHERT, T. E. 2008. Truncated P-cadherin is produced in oral squamous cell carcinoma. *FEBS J*, 275, 4198-210.

- BAUER, R., HEIN, R. & BOSSERHOFF, A. K. 2005. A secreted form of P-cadherin is expressed in malignant melanoma. *Experimental Cell Research*, 305, 418-426.
- BAUER, R., VALLETTA, D., BAUER, K., THASLER, W. E., HARTMANN, A., MULLER, M., REICHERT, T. E. & HELLERBRAND, C. 2014. Downregulation of P-cadherin expression in hepatocellular carcinoma induces tumorigenicity. *Int J Clin Exp Pathol*, 7, 6125-32.
- BAUER, R., WILD, P. J., MEYER, S., BATAILLE, F., PAUER, A., KLINKHAMMER-SCHALKE, M., HOFSTAEDTER, F. & BOSSERHOFF, A. K. 2006. Prognostic relevance of P-cadherin expression in melanocytic skin tumours analysed by high-throughput tissue microarrays. *J Clin Pathol*, 59, 699-705.
- BAUM, B. & GEORGIU, M. 2011. Dynamics of adherens junctions in epithelial establishment, maintenance, and remodeling. *J Cell Biol*, 192, 907-17.
- BENSON, D. L. & HUNTLEY, G. W. 2012. Synapse adhesion: a dynamic equilibrium conferring stability and flexibility. *Curr Opin Neurobiol*, 22, 397-404.
- BERTOCCHI, C., VAMAN RAO, M. & ZAIDEL-BAR, R. 2012. Regulation of adherens junction dynamics by phosphorylation switches. *J Signal Transduct*, 2012, 125295.
- BERX, G., BECKER, K. F., HOFER, H. & VAN ROY, F. 1998. Mutations of the human E-cadherin (CDH1) gene. *Hum Mutat*, 12, 226-37.
- BERX, G. & VAN ROY, F. 2009. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1, a003129.
- BLASCHUK, O. W. & DEVEMY, E. 2009. Cadherins as novel targets for anti-cancer therapy. *Eur J Pharmacol*, 625, 195-8.
- BLECHSCHMIDT, K., SASSEN, S., SCHMALFELDT, B., SCHUSTER, T., HOFER, H. & BECKER, K. F. 2008. The E-cadherin repressor Snail is associated with lower overall survival of ovarian cancer patients. *Br J Cancer*, 98, 489-95.
- BOSCH, F. X., ANDL, C., ABEL, U. & KARTENBECK, J. 2005. E-cadherin is a selective and strongly dominant prognostic factor in squamous cell carcinoma: a comparison of E-cadherin with desmosomal components. *Int J Cancer*, 114, 779-90.
- BRAGA, V. M. & YAP, A. S. 2005. The challenges of abundance: epithelial junctions and small GTPase signalling. *Curr Opin Cell Biol*, 17, 466-74.
- BRANCA, M., GIORGI, C., CIOTTI, M., SANTINI, D., DI BONITO, L., COSTA, S., BENEDETTO, A., BONIFACIO, D., DI BONITO, P., PABA, P., ACCARDI, L., MARIANI, L., SYRJANEN, S., FAVALLI, C. & SYRJANEN, K. 2006. Down-regulation of E-cadherin is closely associated with progression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN), but not with high-risk human papillomavirus (HPV) or disease outcome in cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*, 27, 215-23.
- BRANDNER, J. M., HAFTEK, M. & NIESSEN, C. M. 2010. Adherens Junctions, Desmosomes and Tight Junctions in Epidermal Barrier Function. *The Open Dermatology Journal*, 4, 14-20.
- BRASCH, J., HARRISON, O. J., HONIG, B. & SHAPIRO, L. 2012. Thinking outside the cell: how cadherins drive adhesion. *Trends Cell Biol*, 22, 299-310.
- BROUXHON, S., KYRKANIDES, S., O'BANION, M. K., JOHNSON, R., PEARCE, D. A., CENTOLA, G. M., MILLER, J. N., MCGRATH, K. H., ERDLE, B., SCOTT, G., SCHNEIDER, S., VANBUSKIRK, J. & PENTLAND, A. P. 2007. Sequential down-

- regulation of E-cadherin with squamous cell carcinoma progression: loss of E-cadherin via a prostaglandin E2-EP2 dependent posttranslational mechanism. *Cancer Res*, 67, 7654-64.
- BRUSES, J. L. 2006. N-cadherin signaling in synapse formation and neuronal physiology. *Mol Neurobiol*, 33, 237-52.
- BRYAN, R. T. & TSELEPIS, C. 2010. Cadherin switching and bladder cancer. *J Urol*, 184, 423-31.
- BRYANT, D. M. & STOW, J. L. 2004. The ins and outs of E-cadherin trafficking. *Trends Cell Biol*, 14, 427-34.
- BRYNE, M., KOPPANG, H. S., LILLENG, R. & KJAERHEIM, A. 1992. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. *J Pathol*, 166, 375-81.
- CAILLIEZ, F. & LAVERY, R. 2005. Cadherin mechanics and complexation: the importance of calcium binding. *Biophys J*, 89, 3895-903.
- CALDEIRA, J. R., PRANDO, E. C., QUEVEDO, F. C., NETO, F. A., RAINHO, C. A. & ROGATTO, S. R. 2006. CDH1 promoter hypermethylation and E-cadherin protein expression in infiltrating breast cancer. *BMC Cancer*, 6, 48.
- CAMPISI, G., PANZARELLA, V., GIULIANI, M., LAJOLO, C., DI FEDE, O., FALASCHINI, S., DI LIBERTO, C., SCULLY, C. & LO MUZIO, L. 2007. Human papillomavirus: its identity and controversial role in oral oncogenesis, premalignant and malignant lesions (review). *Int J Oncol*, 30, 813-23.
- CAPPELLESSO, R., MARIONI, G., CRESCENZI, M., GIACOMELLI, L., GUZZARDO, V., MUSSATO, A., STAFFIERI, A., MARTINI, A., BLANDAMURA, S. & FASSINA, A. 2015. The prognostic role of the epithelial-mesenchymal transition markers E-cadherin and Slug in laryngeal squamous cell carcinoma. *Histopathology*.
- CAVALLARO, U. & CHRISTOFORI, G. 2004. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer*, 4, 118-32.
- CAWSON, R. A. & ODELL, E. W. 2008. *Cawson's essentials of oral pathology and oral medicine*, Edinburgh ; New York, Churchill Livingstone.
- CHANG, H. W., CHOW, V., LAM, K. Y., WEI, W. I. & YUEN, A. 2002. Loss of E-cadherin expression resulting from promoter hypermethylation in oral tongue carcinoma and its prognostic significance. *Cancer*, 94, 386-92.
- CHANSON, L., BROWNFIELD, D., GARBE, J. C., KUHN, I., STAMPFER, M. R., BISSELL, M. J. & LABARGE, M. A. 2011. Self-organization is a dynamic and lineage-intrinsic property of mammary epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108, 3264-9.
- CHAPPUIS-FLAMENT, S., WONG, E., HICKS, L. D., KAY, C. M. & GUMBINER, B. M. 2001. Multiple cadherin extracellular repeats mediate homophilic binding and adhesion. *J Cell Biol*, 154, 231-43.
- CHEN, Q., LIPKINA, G., SONG, Q. & KRAMER, R. H. 2004. Promoter methylation regulates cadherin switching in squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*, 315, 850-6.
- CHEUNG, L. W., MAK, A. S., CHEUNG, A. N., NGAN, H. Y., LEUNG, P. C. & WONG, A. S. 2011. P-cadherin cooperates with insulin-like growth factor-1 receptor to promote metastatic signaling of gonadotropin-releasing hormone in ovarian cancer via p120 catenin. *Oncogene*, 30, 2964-74.

- CHOI, S. & MYERS, J. N. 2008. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *J Dent Res*, 87, 14-32.
- CHRISTOFORI, G. & SEMB, H. 1999. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci*, 24, 73-6.
- COVINGTON, M. D., BURGHARDT, R. C. & PARRISH, A. R. 2006. Ischemia-induced cleavage of cadherins in NRK cells requires MT1-MMP (MMP-14). *Am J Physiol Renal Physiol*, 290, F43-51.
- DAVID, J. M. & RAJASEKARAN, A. K. 2012. Dishonorable discharge: the oncogenic roles of cleaved E-cadherin fragments. *Cancer Res*, 72, 2917-23.
- DAVIS, M. A., IRETON, R. C. & REYNOLDS, A. B. 2003. A core function for p120-catenin in cadherin turnover. *J Cell Biol*, 163, 525-34.
- DE HERREROS, A. G., PEIRO, S., NASSOUR, M. & SAVAGNER, P. 2010. Snail family regulation and epithelial mesenchymal transitions in breast cancer progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 15, 47-135.
- DE MORAES, R. V., OLIVEIRA, D. T., LANDMAN, G., DE CARVALHO, F., CABALLERO, O., NONOGAKI, S., NISHIMOTO, I. & KOWALSKI, L. P. 2008. E-cadherin abnormalities resulting from CPG methylation promoter in metastatic and nonmetastatic oral cancer. *Head Neck*, 30, 85-92.
- DELVA, E. & KOWALCZYK, A. P. 2009. Regulation of cadherin trafficking. *Traffic*, 10, 259-67.
- DERYCKE, L. D. & BRACKE, M. E. 2004. N-cadherin in the spotlight of cell-cell adhesion, differentiation, embryogenesis, invasion and signalling. *Int J Dev Biol*, 48, 463-76.
- DESAI, B. V., HARMON, R. M. & GREEN, K. J. 2009. Desmosomes at a glance. *J Cell Sci*, 122, 4401-7.
- DESROCHERS, T. M., SHAMIS, Y., ALT-HOLLAND, A., KUDO, Y., TAKATA, T., WANG, G., JACKSON-GRUSBY, L. & GARLICK, J. A. 2012. The 3D tissue microenvironment modulates DNA methylation and E-cadherin expression in squamous cell carcinoma. *Epigenetics*, 7, 34-46.
- DI BENEDETTO, A., WATKINS, M., GRIMSTON, S., SALAZAR, V., DONSANTE, C., MBALAVIELE, G., RADICE, G. L. & CIVITELLI, R. 2010. N-cadherin and cadherin 11 modulate postnatal bone growth and osteoblast differentiation by distinct mechanisms. *J Cell Sci*, 123, 2640-8.
- DIAMOND, M. E., SUN, L., OTTAVIANO, A. J., JOSEPH, M. J. & MUNSHI, H. G. 2008. Differential growth factor regulation of N-cadherin expression and motility in normal and malignant oral epithelium. *J Cell Sci*, 121, 2197-207.
- DINIZ-FREITAS, M., GARCIA-CABALLERO, T., ANTUNEZ-LOPEZ, J., GANDARA-REY, J. M. & GARCIA-GARCIA, A. 2006. Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 42, 190-200.
- DO, K. A., JOHNSON, M. M., DOHERTY, D. A., LEE, J. J., WU, X. F., DONG, Q., HONG, W. K., KHURI, F. R., FU, K. K. & SPITZ, M. R. 2003. Second primary tumors in patients with upper aerodigestive tract cancers: joint effects of smoking and alcohol (United States). *Cancer Causes Control*, 14, 131-8.

- EL-AMRAOUI, A. & PETIT, C. 2013. Cadherin defects in inherited human diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 116, 361-84.
- EL SAYEGH, T. Y., ARORA, P. D., FAN, L., LASCHINGER, C. A., GREER, P. A., MCCULLOCH, C. A. & KAPUS, A. 2005. Phosphorylation of N-cadherin-associated cortactin by Fer kinase regulates N-cadherin mobility and intercellular adhesion strength. *Mol Biol Cell*, 16, 5514-27.
- EL SAYEGH, T. Y., ARORA, P. D., LASCHINGER, C. A., LEE, W., MORRISON, C., OVERALL, C. M., KAPUS, A. & MCCULLOCH, C. A. 2004. Cortactin associates with N-cadherin adhesions and mediates intercellular adhesion strengthening in fibroblasts. *J Cell Sci*, 117, 5.31-117
- FARALDO, M. M., TEULIERE, J., DEUGNIER, M. A., BIRCHMEIER, W., HUELSKEN, J., THIERY, J. P., CANO, A. & GLUKHOVA, M. A. 2007. beta-Catenin regulates P-cadherin expression in mammary basal epithelial cells. *FEBS Lett*, 581, 831-6.
- FAUL, C., ASANUMA, K., YANAGIDA-ASANUMA, E., KIM, K. & MUNDEL, P. 2007. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton. *Trends Cell Biol*, 17, 428-37.
- FEDOR-CHAIKEN, M., MEIGS, T. E., KAPLAN, D. D. & BRACKENBURY, R. 2003. Two regions of cadherin cytoplasmic domains are involved in suppressing motility of a mammary carcinoma cell line. *J Biol Chem*, 278, 52371-8.
- FERBER, E. C., KAJITA, M., WADLOW, A., TOBIANSKY, L., NIESSEN, C., ARIGA, H., DANIEL, J. & FUJITA, Y. 2008. A role for the cleaved cytoplasmic domain of E-cadherin in the nucleus. *J Biol Chem*, 283, 12691-700.
- FOSCHINI, M. P., COCCHI, R., MORANDI, L., MARUCCI, G., PENNESI, M. G., RIGHI, A., TOSI, A. L., DE BIASE, D., PESSI, A. & MONTEBUGNOLI, L. 2008. E-cadherin loss and Delta Np73L expression in oral squamous cell carcinomas showing aggressive behavior. *Head Neck*, 30, 1475-82.
- FRANKE, W. W. 2009. Discovering the molecular components of intercellular junctions--a historical view. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1, a003.061
- FUJITA, Y., KRAUSE, G., SCHEFFNER, M., ZECHNER, D., LEDDY, H. E., BEHRENS, J., SOMMER, T. & BIRCHMEIER, W. 2002. Hakai, a c-Cbl-like protein, ubiquitinates and induces endocytosis of the E-cadherin complex. *Nat Cell Biol*, 4, 222-31.
- GORSKI, J. J., JAMES, C. R., QUINN, J. E., STEWART, G. E., STAUNTON, K. C., BUCKLEY, N. E., MCDYER, F. A., KENNEDY, R. D., WILSON, R. H., MULLAN, P. B. & HARKIN, D. P. 2010. BRCA1 transcriptionally regulates genes associated with the basal-like phenotype in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 122, 721-31.
- GRAZIANO, F., ARDUINI, F., RUZZO, A., MANDOLESI, A., BEARZI, I., SILVA, R., MURETTO, P., TESTA, E., MARI, D., MAGNANI, M., SCARTOZZI, M. & CASCINU, S. 2004. Combined analysis of E-cadherin gene (CDH1) promoter hypermethylation and E-cadherin protein expression in patients with gastric cancer: implications for treatment with demethylating drugs. *Ann Oncol*, 15, 489-92.
- GRAZIANO, F., HUMAR, B. & GUILFORD, P. 2003. The role of the E-cadherin gene (CDH1) in diffuse gastric cancer susceptibility: from the laboratory to clinical practice. *Ann Oncol*, 14, 1705-13.
- HALBLEIB, J. M. & NELSON, W. J. 2006. Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis. *Genes Dev*, 20, 3199-214.

- HALBOUB, E., AL-MOHAYA, M., ABDULHUQ, M., AL-MANDILI, A. & AL-ANAZI, Y. 2012. Oral squamous cell carcinoma among Yemenis: Onset in young age and presentation at advanced stage. *J Clin Exp Dent*, 4, e221-5.
- HARRISON, O. J., CORPS, E. M., BERGE, T. & KILSHAW, P. J. 2005. The mechanism of cell adhesion by classical cadherins: the role of domain 1. *J Cell Sci*, 118, 711-21.
- HARTSOCK, A. & NELSON, W. J. 2008. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta*, 1778, 660-9.
- HARTSOCK, A. & NELSON, W. J. 2012. Competitive regulation of E-cadherin juxtamembrane domain degradation by p120-catenin binding and Hakai-mediated ubiquitination. *PLoS One*, 7, e37476.
- HASHIMOTO, T., SOENO, Y., MAEDA, G., TAYA, Y., AOBA, T., NASU, M., KAWASHIRI, S. & IMAI, K. 2012. Progression of oral squamous cell carcinoma accompanied with reduced E-cadherin expression but not cadherin switch. *PLoS One*, 7, e47899.
- HAUSSINGER, D., AHRENS, T., ABERLE, T., ENGEL, J., STETEFELD, J. & GRZESIEK, S. 2004. Proteolytic E-cadherin activation followed by solution NMR and X-ray crystallography. *EMBO J*, 23, 1699-708.
- HECHT, S. S. 2003. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3.
- HEUBERGER, J. & BIRCHMEIER, W. 2010. Interplay of cadherin-mediated cell adhesion and canonical Wnt signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2, a002915.
- HINCK, L., NATHKE, I. S., PAPKOFF, J. & NELSON, W. J. 1994. Dynamics of cadherin/catenin complex formation: novel protein interactions and pathways of complex assembly. *J Cell Biol*, 125, 1327-40.
- HINES, M. D., JIN, H. C., WHELOCK, M. J. & JENSEN, P. J. 1999. Inhibition of cadherin function differentially affects markers of terminal differentiation in cultured human keratinocytes. *J Cell Sci*) 112 ,Pt 24), 4569-79.
- HUBER, G. F., ZULLIG, L., SOLTERMANN, A., ROESSLE, M., GRAF, N., HAERLE, S. K., STUDER, G., JOCHUM, W., MOCH, H. & STOECKLI, S. J. 2011. Down regulation of E-Cadherin (ECAD) - a predictor for occult metastatic disease in sentinel node biopsy of early squamous cell carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *BMC Cancer*, 11, 217:1-8.
- HULPIAU, P., GUL, I. S. & VAN ROY, F. 2013. New insights into the evolution of metazoan cadherins and catenins. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 116, 71-94.
- HULPIAU, P. & VAN ROY, F. 2009. Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol*, 41, 349-69.
- IMAI, K., HIRATA, S., IRIE, A., SENJU, S., IKUTA, Y., YOKOMINE, K., HARAO, M., INOUE, M., TSUNODA, T., NAKATSURU, S., NAKAGAWA, H., NAKAMURA, Y., BABA, H. & NISHIMURA, Y. 2008. Identification of a novel tumor-associated antigen, cadherin 3/P-cadherin, as a possible target for immunotherapy of pancreatic, gastric, and colorectal cancers. *Clin Cancer Res*, 14, 6487-95.
- ISLAM, S., CAREY, T. E., WOLF, G. T., WHELOCK, M. J. & JOHNSON, K. R. 1996. Expression of N-cadherin by human squamous carcinoma cells induces a scattered fibroblastic phenotype with disrupted cell-cell adhesion. *J Cell Biol*, 135, 1643-54.

- JACOBS, K., FEYS, L., VANHOECKE, B., VAN MARCK, V. & BRACKE, M. 2011. P-cadherin expression reduces melanoma growth, invasion, and responsiveness to growth factors in nude mice. *Eur J Cancer Prev*, 20, 207-16.
- JACOBS, K., VAN GELE, M., FORSYTH, R., BROCHEZ, L., VANHOECKE, B., DE WEVER, O. & BRACKE, M. 2010. P-cadherin counteracts myosin II-B function: implications in melanoma progression. *Mol Cancer*, 9, 255.
- JEMAL, A., BRAY, F., CENTER, M. M., FERLAY, J., WARD, E. & FORMAN, D. 2011. Global Cancer Statistics. *CA CANCER*, 61.
- JHA, P., RANSON, M. K., NGUYEN, S. N. & YACH, D. 2002. Estimates of global and regional smoking prevalence in 1995, by age and sex. *American Journal of Public Health*, 92.
- JORDAAN, G., LIAO, W. & SHARMA, S. 2013. E-cadherin gene re-expression in chronic lymphocytic leukemia cells by HDAC inhibitors. *BMC Cancer*, 13, 88.
- KATAFIASZ, D., SMITH, L. M. & WAHL, J. K., 3RD 2011. Slug (SNAIL2) expression in oral SCC cells results in altered cell-cell adhesion and increased motility. *Cell Adh Migr*, 5, 315-22.
- KAWAUCHI, T., SEKINE, K., SHIKANAI, M., CHIHAMA, K., TOMITA, K., KUBO, K., NAKAJIMA, K., NABESHIMA, Y. & HOSHINO, M. 2010. Rab GTPases-dependent endocytic pathways regulate neuronal migration and maturation through N-cadherin trafficking. *Neuron*, 67, 588-602.
- KIM, J. B., ISLAM, S., KIM, Y. J., PRUDOFF, R. S., SASS, K. M., WHEELOCK, M. J. & JOHNSON, K. R. 2000a. N-Cadherin extracellular repeat 4 mediates epithelial to mesenchymal transition and increased motility. *J Cell Biol*, 151, 1193-206.
- KIM, M. A., JUNG, E. J., LEE, H. S., LEE, H. E., YANG, H. K., OH, D. Y., BANG, Y. J. & KIM, W. H. 2010. P-cadherin expression in gastric carcinoma: its regulation mechanism and prognostic significance. *Hum Pathol*, 41, 877-85.
- KIM, N. G., KOH, E., CHEN, X. & GUMBINER, B. M. 2011. E-cadherin mediates contact inhibition of proliferation through Hippo signaling-pathway components. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108, 11930-5.
- KIM, S. H., LI, Z. & SACKS, D. B. 2000b. E-cadherin-mediated cell-cell attachment activates Cdc42. *J Biol Chem*, 275, 36999-7005.
- KNUST, E. & BOSSINGER, O. 2002. Composition and formation of intercellular junctions in epithelial cells. *Science*, 298, 1955-9.
- KO, H., KIM, S., JIN, C. H., LEE, E., HAM, S., YOOK, J. I. & KIM, K. 2012. Protein kinase casein kinase 2-mediated upregulation of N-cadherin confers anoikis resistance on esophageal carcinoma cells. *Mol Cancer Res*, 10, 1032-8.
- KOHUTEK, Z. A., DIPIERRO, C. G., REDPATH, G. T. & HUSSAINI, I. M. 2009. ADAM-10-mediated N-cadherin cleavage is protein kinase C-alpha dependent and promotes glioblastoma cell migration. *J Neurosci*, 29, 4605-15.
- KOJC, N., ZIDAR, N., GALE, N., POLJAK, M., FUJS KOMLOS, K., CARDESA, A., HOFER, H. & BECKER, K. F. 2009. Transcription factors Snail, Slug, Twist, and SIP1 in spindle cell carcinoma of the head and neck. *Virchows Arch*, 454, 549-55.
- KOLLE, G., HO, M., ZHOU, Q., CHY, H. S., KRISHNAN, K., CLOONAN, N., BERTONCELLO, I., LASLETT, A. L. & GRIMMOND, S. M. 2009. Identification of human embryonic

- stem cell surface markers by combined membrane-polysome translation state array analysis and immunotranscriptional profiling. *Stem Cells*, 27, 2446-56.
- KOSTER, M. I., LU, S. L., WHITE, L. D., WANG, X. J. & ROOP, D. R. 2006. Reactivation of developmentally expressed p63 isoforms predisposes to tumor development and progression. *Cancer Res*, 66, 3981-6.
- KRAEMER, A., GOODWIN, M., VERMA, S., YAP, A. S. & ALI, R. G. 2007. Rac is a dominant regulator of cadherin-directed actin assembly that is activated by adhesive ligation independently of Tiam1. *Am J Physiol Cell Physiol*, 292, C1061-9.
- KREMER, M., QUINTANILLA-MARTINEZ, L., FUCHS, M., GAMBOA-DOMINGUEZ, A., HAYE, S., KALTHOFF, H., ROSIVATZ, E., HERMANNSTADTER, C., BUSCH, R., HOFER, H. & LUBER, B. 2003. Influence of tumor-associated E-cadherin mutations on tumorigenicity and metastasis. *Carcinogenesis*, 24, 1879-86.
- KUDO, Y., KITAJIMA, S., OGAWA, I., HIRAOKA, M., SARGOLZAEI, S., KEIKHAEI, M. R., SATO, S., MIYAUCHI, M. & TAKATA, T. 2004. Invasion and metastasis of oral cancer cells require methylation of E-cadherin and/or degradation of membranous beta-catenin. *Clin Cancer Res*, 10, 5455-63.
- KUMAR, V., ABBAS, A. K., FAUSTO, N. & MITCHELL, R. N. 2007. *Robbins Basic Pathology*, International Edition, Saunders Elsevier.
- KUMPER, S. & RIDLEY, A. J. 2010. p120ctn and P-cadherin but not E-cadherin regulate cell motility and invasion of DU145 prostate cancer cells. *PLoS One*, 5, e11801.
- KURTZ, K. A., HOFFMAN, H. T., ZIMMERMAN, M. B. & ROBINSON, R. A. 2006. Decreased E-cadherin but not beta-catenin expression is associated with vascular invasion and decreased survival in head and neck squamous carcinomas. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 134, 142-6.
- LECKBAND, D. & SIVASANKAR, S. 2012. Cadherin recognition and adhesion. *Curr Opin Cell Biol*, 24, 620-7.
- LEWIN, B. 2007. *Cells*, Jones & Bartlett Learning.
- LEWIS, J. E., WAHL, J. K., 3RD, SASS, K. M., JENSEN, P. J., JOHNSON, K. R. & WHEELLOCK, M. J. 1997. Cross-talk between adherens junctions and desmosomes depends on plakoglobin. *J Cell Biol*, 136, 919-34.
- LI, J. J., ZHANG, G. H., YANG, X. M., LI, S. S., LIU, X., YANG, Q. T., LI, Y. & YE, J. 2012a. Reduced E-cadherin expression is associated with lymph node metastases in laryngeal squamous cell carcinoma. *Auris Nasus Larynx*, 39, 186-92.
- LI, K., WANG, X., HE, W., LIN, N. & FAN, Q. X. 2009a. Expression of N-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma and silencing expression of N-cadherin using RNA interference on invasiveness of EC9706 cells. *Ai Zheng*, 28, 8-13.
- LI, L., BENNETT, S. A. & WANG, L. 2012b. Role of E-cadherin and other cell adhesion molecules in survival and differentiation of human pluripotent stem cells. *Cell Adh Migr*, 6, 59-70.
- LI, S., JIAO, J., LU, Z. & ZHANG, M. 2009b. An essential role for N-cadherin and beta-catenin for progression in tongue squamous cell carcinoma and their effect on invasion and metastasis of Tca8113 tongue cancer cells. *Oncol Rep*, 21, 1223-33.
- LIAO, W., JORDAAN, G., SRIVASTAVA, M. K., DUBINETT, S. & SHARMA, S. 2013. Effect of epigenetic histone modifications on E-cadherin splicing and expression in lung cancer. *Am J Cancer Res*, 3, 374-89.

- LING, Z. Q., LI, P., GE, M. H., ZHAO, X., HU, F. J., FANG, X. H., DONG, Z. M. & MAO, W. M. 2011. Hypermethylation-modulated down-regulation of CDH1 expression contributes to the progression of esophageal cancer. *Int J Mol Med*-625 ,27 , .35
- LIONI, M., BRAFFORD, P., ANDL, C., RUSTGI, A., EL-DEIRY, W., HERLYN, M. & SMALLEY, K. S. 2007. Dysregulation of claudin-7 leads to loss of E-cadherin expression and the increased invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells. *Am J Pathol*, 170, 709-21.
- LIU, L. K., JIANG, X. Y., ZHOU, X. X., WANG, D. M., SONG, X. L. & JIANG, H. B. 2010. Upregulation of vimentin and aberrant expression of E-cadherin/beta-catenin complex in oral squamous cell carcinomas: correlation with the clinicopathological features and patient outcome. *Mod Pathol*, 23, 213-24.
- LO MUZIO, L., CAMPISI, G., FARINA, A., RUBINI, C., PANNONE, G., SERPICO, R., LAINO, G., DE LILLO, A. & CARINCI, F. 2005. P-cadherin expression and survival rate in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study. *BMC Cancer*, 5, 63.
- LO MUZIO, L., PANNONE, G., MIGNOGNA, M. D., STAIBANO, S., MARIGGIO, M. A., RUBINI, C., PROCACCINI, M., DOLCI, M., BUFO, P., DE ROSA, G. & PIATTELLI, A. 2004. P-cadherin expression predicts clinical outcome in oral squamous cell carcinomas. *Histol Histopathol*, 19, 1089-99.
- LOCK, J. G., HAMMOND, L. A., HOUGHTON, F., GLEESON, P. A. & STOW, J. L. 2005. E-cadherin transport from the trans-Golgi network in tubulovesicular carriers is selectively regulated by golgin .97-*Traffic*, 6, 1142-56.
- LOMBAERTS, M., VAN WEZEL, T., PHILIPPO, K., DIERSSEN, J. W., ZIMMERMAN, R. M., OOSTING, J., VAN EIJK, R., EILERS, P. H., VAN DE WATER, B., CORNELISSE, C. J. & CLETON-JANSEN, A. M. 2006. E-cadherin transcriptional downregulation by promoter methylation but not mutation is related to epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer cell lines. *Br J Cancer*, 94, 661-71.
- LYAKHOVITSKY, A., BARZILAI, A., FOGEL, M., TRAU, H. & HUSZAR, M. 2004. Expression of e-cadherin and beta-catenin in cutaneous squamous cell carcinoma and its precursors. *The American journal of dermatopathology*, 26, 372-378.
- M, D. I. D., PIERANTONI, G. M., FEOLA, A., ESPOSITO, F., LAINO, L., A, D. E. R., RULLO, R., MAZZOTTA, M., MARTANO, M., SANGUEDOLCE, F., PERILLO, L., D'ANGELO, L., PAPAGERAKIS, S., TORTORELLA, S., BUFO, P., LO MUZIO, L., PANNONE, G. & SANTORO, A. 2011. Prognostic significance of N-Cadherin expression in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*, 31, 4211-8.
- MAITRE, J. L. & HEISENBERG, C. P. .2013 .Three functions of cadherins in cell adhesion. *Curr Biol*, 23, R626-33.
- MARET, D., GRUZGLIN, E., SADR, M. S., SIU, V., SHAN, W., KOCH, A. W., SEIDAH, N. G., DEL MAESTRO, R. F. & COLMAN, D. R. 2010. Surface expression of precursor N-cadherin promotes tumor cell invasion. *Neoplasia*, 12, 1066-80.
- MARGULIS, A., ZHANG, W., ALT-HOLLAND, A., PAWAGI, S., PRABHU, P., CAO, J., ZUCKER, S., PFEIFFER, L., GARFIELD, J., FUSENIG, N. E. & GARLICK, J. A. 2006. Loss of intercellular adhesion activates a transition from low- to high-grade human squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*, 118, 821-31.
- MARIONNET, C., LALOU, C., MOLLIER, K., CHAZAL, M., DELESTAING, G., COMPAN, D., VEROLA, O., VILMER, C., CUMINET, J., DUBERTRET, L. & BASSET-SEGUIN, N.

2003. Differential molecular profiling between skin carcinomas reveals four newly reported genes potentially implicated in squamous cell carcinoma development. *Oncogene*, 22, 3500-5.
- MARIOTTI, A., PEROTTI, A., SESSA, C. & RUEGG, C. 2007. N-cadherin as a therapeutic target in cancer. *Expert Opin Investig Drugs*, 16, 451-65.
- MARUTHAMUTHU, V., ARATYN-SCHAUS, Y. & GARDEL, M. L. 2010. Conserved F-actin dynamics and force transmission at cell adhesions. *Curr Opin Cell Biol*, 22, 583-8.
- MENDEZ, P., DE ROO, M., POGLIA, L., KLAUSER, P. & MULLER, D. 2010. N-cadherin mediates plasticity-induced long-term spine stabilization. *J Cell Biol*, 189, 589-600.
- MENG, W. & TAKEICHI, M. 2009. Adherens junction: molecular architecture and regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1, a002899.
- MOLINA-ORTIZ, J. I., BARTOLOME, R. A., HERNANDEZ-VARAS, P., COLO, G. P. & TEIXIDO, J. 2009. Overexpression of E-cadherin on melanoma cells inhibits chemokine-promoted invasion involving p190RhoGAP/p120ctn-dependent inactivation of RhoA. *J Biol Chem*, 284, 15147-57.
- MUNOZ-GUERRA, M. F., MARAZUELA, E. G., FERNANDEZ-CONTRERAS, M. E. & GAMALLO, C. 2005. P-cadherin expression reduced in squamous cell carcinoma of the oral cavity: an indicator of poor prognosis. *Cancer*, 103, 960-9.
- NAGAR, B., OVERDUIN, M., IKURA, M. & RINI, J. M. 1996. Structural basis of calcium-induced E-cadherin rigidification and dimerization. *Nature*, 380, 360-4.
- NANCI, A. & TEN CATE, A. R. 2008. *Ten Cate's oral histology : development, structure, and function*, St. Louis, Mo., Mosby.
- NEJSUM, L. N. & NELSON, W. J. 2009. Epithelial cell surface polarity: the early steps. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 14, 1088-98.
- NELSON, W. J. & NUSSE, R. 2004. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science*, 303, 1483-7.
- NEVILLE, B. W. 2009. *Oral and maxillofacial pathology*, St. Louis, MO, Elsevier/Saunders.
- NGUYEN, P. T., KUDO, Y., YOSHIDA, M., KAMATA, N., OGAWA, I. & TAKATA, T. 2011. N-cadherin expression is involved in malignant behavior of head and neck cancer in relation to epithelial-mesenchymal transition. *Histol Histopathol*, 26, 147-56.
- NIESSEN, C. M. 2007. Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol*, 127, 2525-32.
- NIESSEN, C. M. & GOTTARDI, C. J. 2008. Molecular components of the adherens junction. *Biochim Biophys Acta*, 1778, 562-71.
- NIESSEN, C. M., LECKBAND, D. & YAP, A. S. 2011. Tissue organization by cadherin adhesion molecules: dynamic molecular and cellular mechanisms of morphogenetic regulation. *Physiol Rev*, 91, 691-731.
- NIJKAMP, M. M., SPAN, P. N., HOOGSTEEN, I. J., VAN DER KOGEL, A. J., KAANDERS, J. H. & BUSSINK, J. 2011. Expression of E-cadherin and vimentin correlates with metastasis formation in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Radiother Oncol*, 99, 344-8.

- NISHIMURA, E. K., YOSHIDA, H., KUNISADA, T. & NISHIKAWA, S. I. 1999. Regulation of E- and P-cadherin expression correlated with melanocyte migration and diversification. *Dev Biol*, 215, 155-66.
- NOE, V., FINGLETON, B., JACOBS, K., CRAWFORD, H. C., VERMEULEN, S., STEELANT, W., BRUYNEEL, E., MATRISIAN, L. M. & MAREEL, M. 2001. Release of an invasion promoter E-cadherin fragment by matrilysin and stromelysin-1. *J Cell Sci*, 114, 111-118.
- ODA, H. & TAKEICHI, M. 2011. Evolution: structural and functional diversity of cadherin at the adherens junction. *J Cell Biol*, 193, 1137-46.
- OGITA, H., RIKITAKE, Y., MIYOSHI, J. & TAKAI, Y. 2010. Cell adhesion molecules nectins and associating proteins: Implications for physiology and pathology. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 86, 621-9.
- ONDER, T. T., GUPTA, P. B., MANI, S. A., YANG, J., LANDER, E. S. & WEINBERG, R. A. 2008. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways. *Cancer Res*, 68, 3645-54.
- OZAWA, M., ENGEL, J. & KEMLER, R. 1990. Single amino acid substitutions in one Ca²⁺ binding site of uvomorulin abolish the adhesive function. *Cell*, 63, 1033-8.
- PALACIOS, J., BENITO, N., BERRAQUERO, R., PIZARRO, A., CANO, A. & GAMALLO, C. 1995. Differential spatiotemporal expression of E- and P-cadherin during mouse tooth development. *Int J Dev Biol*, 39, 663-6.
- PAREDES, J., CORREIA, A. L., RIBEIRO, A. S., ALBERGARIA, A., MILANEZI, F. & SCHMITT, F. C. 2007. P-cadherin expression in breast cancer: a review. *Breast Cancer Res*, 9, 214.
- PAREDES, J., FIGUEIREDO, J., ALBERGARIA, A., OLIVEIRA, P., CARVALHO, J., RIBEIRO, A. S., CALDEIRA, J., COSTA, A. M., SIMOES-CORREIA, J., OLIVEIRA, M. J., PINHEIRO, H., PINHO, S. S., MATEUS, R., REIS, C. A., LEITE, M., FERNANDES, M. S., SCHMITT, F., CARNEIRO, F., FIGUEIREDO, C., OLIVEIRA, C. & SERUCA, R. 2012. Epithelial E- and P-cadherins: role and clinical significance in cancer. *Biochim Biophys Acta*, 1826, 297-311.
- PAREDES, J., STOVE, C., STOVE, V., MILANEZI, F., VAN MARCK, V., DERYCKE, L., MAREEL, M., BRACKE, M. & SCHMITT, F. 2004. P-cadherin is up-regulated by the antiestrogen ICI 182,780 and promotes invasion of human breast cancer cells. *Cancer Res*, 64, 8309-17.
- PATEL, I. S., MADAN, P., GETSIOS, S., BERTRAND, M. A. & MACCALMAN, C. D. 2003. Cadherin switching in ovarian cancer progression. *Int J Cancer*, 106, 172-7.
- PECE, S. & GUTKIND, J. S. 2002. E-cadherin and Hakai: signalling, remodeling or destruction? *Nat Cell Biol*, 4, E72-4.
- PECINA-SLAUS, N. 2003. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. *Cancer Cell Int*, 3, 17.
- PEIFER, M. & YAP, A. S. 2003. Traffic control: p120-catenin acts as a gatekeeper to control the fate of classical cadherins in mammalian cells. *J Cell Biol*, 163, 437-40.
- PEREZ-MORENO, M. & FUCHS, E. 2006. Catenins: keeping cells from getting their signals crossed. *Dev Cell*, 11, 601-12.

- PEREZ-MORENO, M., JAMORA, C. & FUCHS, E. 2003. Sticky business: orchestrating cellular signals at adherens junctions. *Cell*, 112, 535-48.
- PETTITT, J. 2005. The cadherin superfamily. *WormBook*, 1-9.
- PINHEIRO, H., BORDEIRA-CARRICO, R., SEIXAS, S., CARVALHO, J., SENZ, J., OLIVEIRA, P., INACIO, P., GUSMAO, L., ROCHA, J., HUNTSMAN, D., SERUCA, R. & OLIVEIRA, C. 2010. Allele-specific CDH1 downregulation and hereditary diffuse gastric cancer. *Hum Mol Genet*, 19, 943-52.
- PIZARRO, A., GAMALLO, C., BENITO, N., PALACIOS, J., QUINTANILLA, M., CANO, A. & CONTRERAS, F. 1995. Differential patterns of placental and epithelial cadherin expression in basal cell carcinoma and in the epidermis overlying tumours. *Br J Cancer*, 72, 327-32.
- PRAKASAM, A., CHIEN, Y. H., MARUTHAMUTHU, V. & LECKBAND, D. E. 2006. Calcium site mutations in cadherin: impact on adhesion and evidence of cooperativity. *Biochemistry*, 45, 6930-9.
- PYO, S. W., HASHIMOTO, M., KIM, Y. S., KIM, C. H., LEE, S. H., JOHNSON, K. R., WHEELLOCK, M. J. & PARK, J. U. 2007. Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: correlation with the clinicopathologic features and patient outcome. *J Craniomaxillofac Surg*, 35, 1-9.
- QIAN, X., KARPOVA, T., SHEPPARD, A. M., MCNALLY, J. & LOWY, D. R. 2004. E-cadherin-mediated adhesion inhibits ligand-dependent activation of diverse receptor tyrosine kinases. *EMBO J*, 23, 1739-48.
- REGEZI, J. A., SCIUBBA, J. J. & JORDAN, R. C. K. 2008. *Oral pathology : clinical pathologic correlations*, St. Louis, Mo., Saunders Elsevier.
- REGEZI, J. A., SCIUBBA, J. J. & JORDAN, R. C. K. 2012. *Oral pathology : clinical pathologic correlations*, St. Louis, Mo., Elsevier Saunders.
- RIBEIRO, A. S., ALBERGARIA, A., SOUSA, B., CORREIA, A. L., BRACKE, M., SERUCA, R., SCHMITT, F. C. & PAREDES, J. 2010. Extracellular cleavage and shedding of P-cadherin: a mechanism underlying the invasive behaviour of breast cancer cells. *Oncogene*, 29, 392-402.
- RIBEIRO, A. S., SOUSA, B., CARRETO, L., MENDES, N., NOBRE, A. R., RICARDO, S., ALBERGARIA, A., CAMESELLE-TEIJEIRO, J. F., GERHARD, R., SODERBERG, O., SERUCA, R., SANTOS, M. A., SCHMITT, F. & PAREDES, J. 2013. P-cadherin functional role is dependent on E-cadherin cellular context: a proof of concept using the breast cancer model. *J Pathol*, 229, 705-18.
- RIENER, M. O., VOGETSEDER, A., PESTALOZZI, B. C., CLAVIEN, P. A., PROBST-HENSCH, N., KRISTIANSEN, G. & JOCHUM, W. 2010. Cell adhesion molecules P-cadherin and CD24 are markers for carcinoma and dysplasia in the biliary tract. *Hum Pathol*, 41, 1558-65.
- RIVERA, C. & VENEGAS, B. 2014. Histological and molecular aspects of oral squamous cell carcinoma (Review). *Oncol Lett*, 8, 7-11.
- RODRIGUEZ, F. J., LEWIS-TUFFIN, L. J. & ANASTASIADIS, P. Z. 2012. E-cadherin's dark side: possible role in tumor progression. *Biochim Biophys Acta*, 1826, 23-31.
- RUBACK, M. J., GALBIATTI, A. L., ARANTES, L. M., MARUCCI, G. H., RUSSO, A., RUIZ-CINTRA, M. T., RAPOSO, L. S., MANIGLIA, J. V., PAVARINO, E. C. & GOLONI-

- BERTOLLO, E. M. 2012. Clinical and epidemiological characteristics of patients in the head and neck surgery department of a university hospital. *Sao Paulo Med J*, 130, 307-13.
- SAITO, M., TUCKER, D. K., KOHLHORST, D., NIESSEN, C. M. & KOWALCZYK, A. P. 2012. Classical and desmosomal cadherins at a glance. *J Cell Sci*, 125, 2547-52.
- SAKAKI, T., TAMURA, I., KADOTA, H. & KAKUDO, K. 2003. Changing expression of E- and P-cadherin during rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *J Oral Pathol Med*, 32, 530-7.
- SAKAKI, T., WATO, M., KAJI, R., MUSHIMOTO, K., SHIRASU, R. & TANAKA, A. 1994. Correlation of E- and P-cadherin expression with differentiation grade and mode of invasion in gingival carcinoma. *Pathol Int*, 44, 280-6.
- SAKISAKA, T., IKEDA, W., OGITA, H., FUJITA, N. & TAKAI, Y. 2007. The roles of nectins in cell adhesions: cooperation with other cell adhesion molecules and growth factor receptors. *Curr Opin Cell Biol*, 19, 593-602.
- SALAHSHOURIFAR, I., VINCENT-CHONG, V. K., KALLARAKKAL, T. G. & ZAIN, R. B. 2014. Genomic DNA copy number alterations from precursor oral lesions to oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 50, 404-12.
- SAMUELOV, L., SPRECHER, E., TSURUTA, D., BIRO, T., KLOEPPER, J. E. & PAUS, R. 2012. P-cadherin regulates human hair growth and cycling via canonical Wnt signaling and transforming growth factor-beta2. *J Invest Dermatol*, 132, 2332-41.
- SARRIO, D., PALACIOS, J., HERGUETA-REDONDO, M., GOMEZ-LOPEZ, G., CANO, A. & MORENO-BUENO, G. 2009. Functional characterization of E- and P-cadherin in invasive breast cancer cells. *BMC Cancer*, 9, 74.
- SASAHIRA, T., KIRITA, T. & KUNIYASU, H. 2014. Update of molecular pathobiology in oral cancer: a review. *International Journal of Clinical Oncology*, 19, 431-436.
- SATO, N., FUKUSHIMA, N., MAITRA, A., MATSUBAYASHI, H., YEO, C. J., CAMERON, J. L., HRUBAN, R. H. & GOGGINS, M. 2003. Discovery of novel targets for aberrant methylation in pancreatic carcinoma using high-throughput microarrays. *Cancer Res*, 63, 3735-42.
- SCHALLER, M. D. 2004. FAK and paxillin: regulators of N-cadherin adhesion and inhibitors of cell migration? *J Cell Biol*, 166, 157-9.
- SCHIPPER, J. H., FRIXEN, U. H., BEHRENS, J., UNGER, A., JAHNKE, K. & BIRCHMEIER, W. 1991. E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res*, 51, 6328-37.
- SCHMEISER, K. & GRAND, R. J. 1999. The fate of E- and P-cadherin during the early stages of apoptosis. *Cell Death Differ*, 6, 377-86.
- SCHNEEBERGER, E. E. & LYNCH, R. D. 2004. The tight junction: a multifunctional complex. *Am J Physiol Cell Physiol*, 286, C1213-28.
- SEMB, H. & CHRISTOFORI, G. 1998. The tumor-suppressor function of E-cadherin. *Am J Hum Genet*, 63, 1588-93.
- SHAN, W. S., TANAKA, H., PHILLIPS, G. R., ARNDT, K., YOSHIDA, M., COLMAN, D. R. & SHAPIRO, L. 2000. Functional cis-heterodimers of N- and R-cadherins. *J Cell Biol*, 148, 579-90.

- SHAPIRO, L. & WEIS, W. I. 2009. Structure and biochemistry of cadherins and catenins. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1, a003053.
- SHIH, H. C., SHIOZAWA, T., MIYAMOTO, T., KASHIMA, H., FENG, Y. Z., KURAI, M. & KONISHI, I. 2004. Immunohistochemical expression of E-cadherin and beta-catenin in the normal and malignant human endometrium: an inverse correlation between E-cadherin and nuclear beta-catenin expression. *Anticancer Res*, 24, 3843-50.
- SHIMOMURA, Y., WAJID, M., SHAPIRO, L. & CHRISTIANO, A. M. 2008. P-cadherin is a p63 target gene with a crucial role in the developing human limb bud and hair follicle. *Development*, 135, 743-53.
- SHIMOYAMA, Y. & HIROHASHI, S. 1991. Expression of E- and P-cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res*, 51, 2185-92.
- SHIMOYAMA, Y., YOSHIDA, T., TERADA, M., SHIMOSATO, Y., ABE, O. & HIROHASHI, S. 1989. Molecular cloning of a human Ca²⁺-dependent cell-cell adhesion molecule homologous to mouse placental cadherin: its low expression in human placental tissues. *J Cell Biol*, 109, 1787-94.
- SHIRAISHI, K., TSUZAKA, K., YOSHIMOTO, K., KUMAZAWA, C., NOZAKI, K., ABE, T., TSUBOTA, K. & TAKEUCHI, T. 2005. Critical role of the fifth domain of E-cadherin for heterophilic adhesion with alpha E beta 7, but not for homophilic adhesion. *J Immunol*, 175, 1014-21.
- SIMIONESCU, C., MARGARITESCU, C., SURPATEANU, M., MOGOANTA, L., ZAVOI, R., CIUREA, R., SURLIN, P. & STEPAN, A. 2008. The study of E-cadherine and CD44 immunoexpression in oral squamous cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*, 49, 189-93.
- SIU, A., LEE, C., DANG, D. & RAMOS, D. M. 2012. Stem cell markers as predictors of oral cancer invasion. *Anticancer Res*, 32, 1163-6.
- SLOAN, P. 2011. Squamous cell carcinoma and precursor lesions: clinical presentation. *Periodontol 2000*, 57, 10-8.
- SMUTNY, M. & YAP, A. S. 2010. Neighborly relations: cadherins and mechanotransduction. *J Cell Biol*, 189, 1075-7.
- SOLER, A. P., RUSSO, J., RUSSO, J. H. & KNUDSEN, K. A. 2002. Soluble fragment of P-cadherin adhesion protein found in human milk. *J Cell Biochem*, 85, 180-4.
- STEFANSSON, I. M., SALVESEN, H. B. & AKSLEN, L. A. 2004. Prognostic impact of alterations in P-cadherin expression and related cell adhesion markers in endometrial cancer. *J Clin Oncol*, 22, 1242-52.
- STEPNIAK, E., RADICE, G. L. & VASIOUKHIN, V. 2009. Adhesive and signaling functions of cadherins and catenins in vertebrate development. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1, a002949.
- SUYAMA, K., SHAPIRO, I., GUTTMAN, M. & HAZAN, R. B. 2002. A signaling pathway leading to metastasis is controlled by N-cadherin and the FGF receptor. *Cancer Cell*, 2, 301-14.
- SYMOWICZ, J., ADLEY, B. P., GLEASON, K. J., JOHNSON, J. J., GHOSH, S., FISHMAN, D. A., HUDSON, L. G. & STACK, M. S. 2007. Engagement of collagen-binding integrins promotes matrix metalloproteinase-9-dependent E-cadherin ectodomain shedding in ovarian carcinoma cells. *Cancer Res*, 67, 2030-9.

- TAKEDA, H. 2014. Effects of Cd²⁺ on cis-dimer structure of E-cadherin in living cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 444, 467-72.
- TAKEICHI, M. 1993. Cadherins in cancer: implications for invasion and metastasis. *Curr Opin Cell Biol*, 5, 806-11.
- TAKEICHI, M. 1995. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol*, 7, 619-27.
- TAKEICHI, M. 2007. The cadherin superfamily in neuronal connections and interactions. *Nat Rev Neurosci*, 8, 11-20.
- TAKKUNEN, M., GRENNAN, R., HUKKANEN, M., KORHONEN, M., GARCIA DE HERREROS, A. & VIRTANEN, I. 2006. Snail-dependent and -independent epithelial-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells. *J Histochem Cytochem*, 54, 1263-75.
- TAMURA, I., SAKAKI, T., CHAQOUR, B., HOWARD, P. S., IKEO, T. & MACARAK, E. J. 2003. Correlation of P-cadherin and beta-catenin expression and phosphorylation with carcinogenesis in rat tongue cancer induced with 4-nitroquinoline 1-oxide. *Oral Oncol*, 39, 506-14.
- TANAKA, N., ODAJIMA, T., OGI, K., IKEDA, T. & SATOH, M. 2003a. Expression of E-cadherin, alpha-catenin, and beta-catenin in the process of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, 89, 557-63.
- TANAKA, Y., NAKANISHI, H., KAKUNAGA, S., OKABE, N., KAWAKATSU, T., SHIMIZU, K. & TAKAI, Y. 2003b. Role of nectin in formation of E-cadherin-based adherens junctions in keratinocytes: analysis with the N-cadherin dominant negative mutant. *Mol Biol Cell*, 14, 1597-609.
- TANEYHILL, L. A. 2008. To adhere or not to adhere: the role of Cadherins in neural crest development. *Cell Adh Migr*, 2, 223-30.
- TANIUCHI, K., NAKAGAWA, H., HOSOKAWA, M., NAKAMURA, T., EGUCHI, H., OHIGASHI, H., ISHIKAWA, O., KATAGIRI, T. & NAKAMURA, Y. 2005. Overexpressed P-cadherin/CDH3 promotes motility of pancreatic cancer cells by interacting with p120ctn and activating rho-family GTPases. *Cancer Res*, 65, 3092-9.
- TAULET, N., COMUNALE, F., FAVARD, C., CHARRASSE, S., BODIN, S. & GAUTHIER-ROUVIERE, C. 2009. N-cadherin/p120 catenin association at cell-cell contacts occurs in cholesterol-rich membrane domains and is required for RhoA activation and myogenesis. *J Biol Chem*, 284, 23137-45.
- TIAN, X., LIU, Z., NIU, B., ZHANG, J., TAN, T. K., LEE, S. R., ZHAO, Y., HARRIS, D. C. & ZHENG, G. 2011. E-cadherin/beta-catenin complex and the epithelial barrier. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 567305.
- TSANOU, E., PESCHOS, D., BATISTATOU, A., CHARALABOPOULOS, A. & CHARALABOPOULOS, K. 2008. The E-cadherin adhesion molecule and colorectal cancer. A global literature approach. *Anticancer Res*, 28, 3815-26.
- TSUTSUMIDA, A., HAMADA, J., TADA, M., AOYAMA, T., FURUUCHI, K., KAWAI, Y., YAMAMOTO, Y., SUGIHARA, T. & MORIUCHI, T. 2004. Epigenetic silencing of E- and P-cadherin gene expression in human melanoma cell lines. *Int J Oncol*, 25, 1415-21.

- TUNGGAL, J. A., HELFRICH, I., SCHMITZ, A., SCHWARZ, H., GUNZEL, D., FROMM, M., KEMLER, R., KRIEG, T. & NIESSEN, C. M. 2005. E-cadherin is essential for in vivo epidermal barrier function by regulating tight junctions. *EMBO J*, 24, 1146-56.
- TURASHVILI, G., MCKINNEY, S. E., GOKTEPE, O., LEUNG, S. C., HUNTSMAN, D. G., GELMON, K. A., LOS, G., REJTO, P. A. & APARICIO, S. A. 2011. P-cadherin expression as a prognostic biomarker in a 3992 case tissue microarray series of breast cancer. *Mod Pathol*, 24, 64-81.
- UEMURA, K., KITAGAWA, N., KOHNO, R., KUZUYA, A., KAGEYAMA, T., CHONABAYASHI, K., SHIBASAKI, H. & SHIMOHAMA, S. 2003. Presenilin 1 is involved in maturation and trafficking of N-cadherin to the plasma membrane. *J Neurosci Res*, 74, 184-91.
- USUI, A., KO, S. Y., BARENGO, N. & NAORA, H. 2014. P-cadherin promotes ovarian cancer dissemination through tumor cell aggregation and tumor-peritoneum interactions. *Mol Cancer Res*, 12, 504-13.
- VAN DEN BOSSCHE, J., MALISSEN, B., MANTOVANI, A., DE BAETSELIER, P. & VAN GINDERACHTER, J. A. 2012. Regulation and function of the E-cadherin/catenin complex in cells of the monocyte-macrophage lineage and DCs. *Blood*, 119, 1623-33.
- VAN MARCK, V., STOVE, C., JACOBS, K., VAN DEN EYNDEN, G. & BRACKE, M. 2011. P-cadherin in adhesion and invasion: opposite roles in colon and bladder carcinoma. *Int J Cancer*, 128, 1031-44.
- VAN MARCK, V., STOVE, C., VAN DEN BOSSCHE, K., STOVE, V., PAREDES, J., VANDER HAEGHEN, Y. & BRACKE, M. 2005. P-cadherin promotes cell-cell adhesion and counteracts invasion in human melanoma. *Cancer Res*, 65, 8774-83.
- VAN ROY, F. 2014. Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer. *Nat Rev Cancer*, 14, 121-34.
- VAN ROY, F. & BERX, G. 2008. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci*, 65, 3756-88.
- VINEIS, P., ALAVANJA, M., BUFFLER, P., FONTHAM, E., FRANCESCHI, S., GAO, Y. T., GUPTA, P. C., HACKSHAW, A., MATOS, E., SAMET, J., SITAS, F., SMITH, J., STAYNER, L., STRAIF, K., THUN, M. J., WICHMANN, H. E., WU, A. H., ZARIDZE, D., PETO, R. & DOL, R. 2004. Tobacco and Cancer: Recent Epidemiological Evidence. *Journal of the National Cancer Institute*, 96.
- VISWANATHAN, M., TSUCHIDA, N. & SHANMUGAM, G. 2003. Promoter hypermethylation profile of tumor-associated genes p16, p15, hMLH1, MGMT and E-cadherin in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*, 105, 41-6.
- WAHL, J. K., 3RD, KIM, Y. J., CULLEN, J. M., JOHNSON, K. R. & WHEELOCK, M. J. 2003. N-cadherin-catenin complexes form prior to cleavage of the proregion and transport to the plasma membrane. *J Biol Chem*, 278, 17269-76.
- WALKER, A., FREI, R. & LAWSON, K. R. 2014. The cytoplasmic domain of N-cadherin modulates MMP9 induction in oral squamous carcinoma cells. *Int J Oncol*, 45, 1699-706.
- WALLIS, J., FOX, M. F. & WALSH, F. S. 1994. Structure of the human N-cadherin gene: YAC analysis and fine chromosomal mapping to 18q11.2. *Genomics*, 22, 172-9.

- WANG, X., ZHANG, J., FAN, M., ZHOU, Q., DENG, H., AISHARIF, M. J. & CHEN, X. 2009. The expression of E-cadherin at the invasive tumor front of oral squamous cell carcinoma: immunohistochemical and RT-PCR analysis with clinicopathological correlation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 107.
- WARNAKULASURIYA, S. 2011. Squamous cell carcinoma and precursor lesions: prevention. *PERIODONTOLOGY 2000*, 57.
- WEI, C. J., FRANCIS, R., XU, X. & LO, C. W. 2005. Connexin43 associated with an N-cadherin-containing multiprotein complex is required for gap junction formation in NIH3T3 cells. *J Biol Chem*, 280, 19925-36.
- WHEELOCK, M. J. & JENSEN, P. J. 1992. Regulation of keratinocyte intercellular junction organization and epidermal morphogenesis by E-cadherin. *J Cell Biol*, 117, 415-25.
- WHEELOCK, M. J. & JOHNSON, K. R. 2003. Cadherin-mediated cellular signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 15, 509-14.
- WILLIAMS, H. K. 2000. Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. *Mol Pathol*, 53, 165-72.
- WILLIAMS, H. K., SANDERS, D. S., JANKOWSKI, J. A., LANDINI, G. & BROWN, A. M. 1998. Expression of cadherins and catenins in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*, 27, 308-17.
- WIRTZ-PEITZ, F. & ZALLEN, J. A. 2009. Junctional trafficking and epithelial morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev*, 19, 350-6.
- WOOLGAR, J. A. & TRIANTAFYLLOU, A. 2011. Squamous cell carcinoma and precursor lesions: clinical pathology. *Periodontology 2000*, 57.
- YAGI, T. & TAKEICHI, M. 2000. Cadherin superfamily genes: functions, genomic organization, and neurologic diversity. *Genes Dev*, 14, 1169-80.
- YEH, K. T., SHIH, M. C., LIN, T. H., CHEN, J. C., CHANG, J. Y., KAO, C. F., LIN, K. L. & CHANG, J. G. 2002. The correlation between CpG methylation on promoter and protein expression of E-cadherin in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*, 22, 3971-5.
- YI, S., YANG, Z. L., MIAO, X., ZOU, Q., LI, J., LIANG, L., ZENG, G. & CHEN, S. 2014. N-cadherin and P-cadherin are biomarkers for invasion, metastasis, and poor prognosis of gallbladder carcinomas. *Pathol Res Pract*, 210, 363-8.
- YOKOYAMA, K., KAMATA, N., HAYASHI, E., HOTEIYA, T., UEDA, N., FUJIMOTO, R. & NAGAYAMA, M. 2001. Reverse correlation of E-cadherin and snail expression in oral squamous cell carcinoma cells in vitro. *Oral Oncol*, 37, 65-71.
- YOSHINAGA, K., INOUE, H., UTSUNOMIYA, T., SONODA, H., MASUDA, T., MIMORI, K., TANAKA, Y. & MORI, M. 2004. N-cadherin is regulated by activin A and associated with tumor aggressiveness in esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res*, 10, 5702-7.
- ZHAI, B., YAN, H. X., LIU, S. Q., CHEN, L., WU, M. C. & WANG, H. Y. 2008. Reduced expression of E-cadherin/catenin complex in hepatocellular carcinomas. *World J Gastroenterol*, 14, 5665-73.
- ZHAO, D., TANG, X. F., YANG, K., LIU, J. Y. & MA, X. R. 2012. Over-expression of integrin-linked kinase correlates with aberrant expression of Snail, E-cadherin and N-

cadherin in oral squamous cell carcinoma: implications in tumor progression and metastasis. *Clin Exp Metastasis*, 29, 957-69.

- ZIDAR, N., GALE, N., KOJC, N., VOLAVSEK, M., CARDESA, A., ALOS, L., HOFER, H., BLECHSCHMIDT, K. & BECKER, K. F. 2008. Cadherin-catenin complex and transcription factor Snail-1 in spindle cell carcinoma of the head and neck. *Virchows Arch.* **74-267**, 453 ,
- ZIOBER, B. L., SILVERMAN, S. S., JR. & KRAMER, R. H. 2001. Adhesive mechanisms regulating invasion and metastasis in oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med*, 12, 499-510.
- ZYGOGIANNI, A., KYRGIAS, G., MYSTAKIDOU, K., ANTYPAS, C., KOUVARIS, J., PAPADIMITRIOU, C., ARMONIS, V., ALKATI, H. & KOULOULIAS, V. 2011a. Potential role of the alcohol and smoking in the squamous cell carcinoma of the head and neck: review of the current literature and new perspectives. *Asian Pac J Cancer Prev*, 12, 339-44.
- ZYGOGIANNI, A. G., KYRGIAS, G., KARAKITSOS, P., PSYRRI, A., KOUVARIS, J., KELEKIS, N. & KOULOULIAS, V. 2011b. Oral squamous cell cancer: early detection and the role of alcohol and smoking. *Head Neck Oncol*, 3, 2.

ملخص البحث:

المقدمة: لا يزال السرطان شائع الخلايا الفموي يمتلك معدل وفيات ملحوظ على الرغم من التقدم الكبير في مجال الجراحة و علم الأورام، لذلك فقد أصبح من الضروري تقصي التبدلات التي تصيب بروتينات الخلية الشائكة في سياق تحولها الورمي. تعتبر عائلة الكادهيرينات الكلاسيكية واحدة من هذه البروتينات، التي أصبحت محور الكثير من الدراسات في السنوات القليلة الماضية نظرا لأهميتها في الحد من الغزو و الإستعمار في العديد من السرطانات البشرية .

الهدف من البحث: تهدف هذه الدراسة إلى تحري تعبيرية ثلاثة من الكادهيرينات الكلاسيكية E,P,N-cad في سياق السرطان شائع الخلايا الفموي وعلاقتها مع بعضها البعض في درجات خباثته المختلفة.

مواد البحث وطرائقه: تم جمع 40 عينة من السرطان شائع الخلايا الفموي و 15 عينة من مخاطية فموية سليمة، أجريت الدراسة النسيجية المناعية باستخدام أضداد موجهة لكل من الكادهيرينات E,P,N، ثم أجريت الدراسة الإحصائية لتحري دلالة نتائج الدراسة المناعية.

النتائج: تراجعت تعبيرية كل من الكادهيرينين E,P في الدرجة الأولى من السرطان مقارنة بالبشرة الطبيعية مع فرق دال إحصائيا، وعلى الرغم من استمرار التراجع في التعبيرية بالتزامن مع زيادة درجة الخباثة إلا أنه لم يشاهد فرق دال إحصائيا. ارتفعت تعبيرية N-cad بالتزامن مع زيادة درجة الخباثة دون دلالة إحصائية. وجدت علاقة طردية بين الكادهيرينين E,P فقط في الدرجة الأولى من السرطان ، وعلاقة عكسية بين الكادهيرينين E,N في الدرجتين الثانية و الثالثة فقط، بينما لم تشاهد علاقة بين الكادهيرينين P,N في أي من درجات السرطان الثلاث.

الاستنتاج: يلعب كل من الكادهيرينين E و P دورا كابحا للورم في سياق السرطان شائع الخلايا الفموي، بينما يقوم الكادهيرين N بدور مبدئ للورم.

الكلمات المفتاحية: السرطان شائع الخلايا الفموي، الكادهيرين E، الكادهيرين P، الكادهيرين N.

Thesis Abstract:

Introduction: Despite the vast advance already accomplished in the fields of surgery and oncology, Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) still has a significant mortality rate. For this reason, it has become necessary to detect the changes of squamous proteins during their neoplastic transformation. Classical cadherins family is one of these proteins that have become the center of many studies in the past few years, considering its importance in preventing invasion and metastasis in a lot of carcinomas.

Aims: This study aims to detect the expression of three classical cadherins E-cad, P-cad, N-cad in the course of OSCC, and how do they relate to each other through its different grades.

Materials and Methods: 40 samples of OSCC and 15 samples of normal oral epithelium were collected, and the immunohistochemical study was performed using antibodies to E, P, and N-cad. Then the statistical analysis was done to assess the significance of the immunohistochemical results.

Results: The expression of E, P-cad was reduced significantly in grade I compared to normal epithelium. Although the expression continued to decrease with grade II, III however, no significant statistical correlation was found. A concomitant but not significant increase in N-cad expression and grade was found. A direct relationship between E-cad and P-cad was detected only in grade I, and a reverse relationship between E-cad and N-cad was found in grade II and III, while no correlation was found between P-cad and N-cad in any of three grades of carcinoma.

Conclusion: In the course of OSCC, E-cad and P-cad act like a tumor suppressor gene, while N-cad acts like oncogene.

Key Words: Oral squamous cell carcinoma, E- cadherin, P- Cadherin, N-cadherin.