مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۸، شماره ۱، فروردین ۱۴۰۰ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط بروز مارکر CD133 به روش ایمونوهیستوشیمی در ادنوکارسینوم کولورکتال با یافته های کلینیکوپاتولوژیک

علی زارع میرزایی: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

فرزاد آچاک: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

پگاه باباحیدریان: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) pegibh@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: در پی مطرح شدن فرضیه سلول بنیادی سرطانی در سال‌های اخیر پژوهش‌های متعددی بر روی تومور مارکرهای گوناگون و با هدف یافتن سلول‌های بنیادی سرطانی که ارزش پیش‌آگهی دهنده و احتمالاً درمانی داشته باشد صورت گرفته که در این میان CD133 کم و بیش این ویژگی را در کانسرهای متفاوتی نشان داده است.

روش کار: بیان CD133 در ۱۳۷ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال را که با جراحی تنها درمان شده بودند به روش ایمونوهیستوشیمی بررسی کردیم. برای این منظور قسمتی به وسعت تقریبی ۱ سانتی‌متر مربع در جبهه تهاجمی تومور مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط بیان CD133 با نماهای بالینی آسیب‌شناسی به لحاظ آماری آزمون شد.

یافته‌ها: با در نظر گرفتن نقطه برشِ ۵٪ در میزان رنگ گرفتگی، (۲۰/۴٪) ۲۸ تومور برای این مارکر مثبت بودند و نمای رنگ شدگی منحصراً غشایی-لومینال بود. در میان نماهای بالینی آسیب‌شناسی مختلف فقط درجه تومور با بیان بیش از اندازه CD رابطه آماری داشت به‌نحوی‌که هیچ کدام از تومورهای درجه بالا مثبت نشد.

نتیجه‌گیری: مقایسه‌ی یافته‌های ما با دیگر پژوهش‌های مشابه نشان می‌دهد که قبل از استانداردسازیِ آنتی‌بادی‌های تک دودمانی، روش‌های IHC، نمای رنگ شدگی و نقطه برش هیچ نتیجه‌گیری در این باره نمی‌تواند منطقی و قطعی باشد و در صورت انجام این کار استفاده از آنتی‌بادی‌های تک دودمانی به‌عنوان درمان کمکی می‌تواند در آینده نزدیک اثرگذار باشد

کلیدواژه‌ها

سرطان کولورکتال،

یافته‌های کلینیکوپاتولوژیک

CD133

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۹/۱۱

تاریخ چاپ: ۰۰/۰۱/۱۹

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Zare-Mirzaie A, Achak F, Babaheidarian P. Evaluating relation of CD133 expression in colorectal adenocarcinoma and clinicopathlogic findings. Razi J Med Sci. 2021;28(1):55-63.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

Razi Journal of Medical Sciences. 2021;28(1):55-63. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Evaluating relation of CD133 expression in colorectal adenocarcinoma and clinicopathlogic findings

Ali Zare-Mirzaie: Pathology Department, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Farzad Achak: Pathology Department, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Pegah Babaheidarian: Assistant Professor, Pathology Department, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (* Corresponding author) pegibh@gmail.com

Abstract

Background & Aims: Colon cancer is among the four most prevalent cancers and the second lethal cancer in the world. After proposing of cancer stem cell hypothesis in recent years numerous studies have been done on various tumor markers with the aim of finding a molecule characterizing the cancer stem cell having prognostic and probably therapeutic value. Cancer stem cell model is well known nowadays which emphasize only small number of tumor cells could initiate tumor growth and maintain its own population.Multiple stem cell markers such as CD44, CD24, SOX2, OCT4, are introduced,among which CD133 has more or less shown this property in different kinds of cancers. CD133 is a glycoprotein which is produced by hematopoietic cells, glial cells and colorectal cancers. Tumor cells with expression of CD133 on their surface lose their special character but have strong epithelial adhesion molecule, recent studies have shown that CD133-positive colorectal cancer cells are a major trigger for this type of cancer; but the results are contradictory as to whether these cells are the same cancer stem cells. The expression of this marker may be associated with a poor prognosis, but its association with metastasis is unknown. The aim of this study was to determine the relationship between this tumor marker and clinical pathological findings, to clarify its role in tumor formation, spread and metastasis. In addition, this marker can be used as a potential pharmacological target in the treatment of cancer patients.

Methods: First, the pathology archive of Rasoul Akram Hospital was investigated and the clinical and pathological information related to the pathology files and reports of patients with colorectal cancer who underwent colon resection surgery in this hospital from 1390 to 1396 were extracted. The aim of this study was to evaluate the expression of CD133 marker in NOS adenocarcinoma. Therefore, in order to standardize the test conditions of patients with non-epithelial tumors, mucinous and ring cell carcinoma tumors were excluded from the study. Also, patients with rectosigmoid carcinoma who underwent neoadjuvant chemotherapy before surgery were excluded from the study due to its effect on the nature of cancer cells. Tumor location in patients was divided into two groups. Tumors located in the proximal to the middle of the transverse colon were called right colon tumors and distal tumors were called left colon tumors. Tumor size was entered as the largest tumor diameter in centimeters. Since pathology reports were prepared by three other pathologists during the mentioned years, in order to standardize the study conditions of patients' slides in terms of depth of tumor invasion, lymph node involvement, degree of tumor differentiation, vascular invasion and perineural

Keywords
Colorectal Aden Carcinoma,
CD133,
Clinic Pathologic Findings

Received: 01/12/2020
Published: 08/04/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

invasion was reviewed by a pathologist and, if necessary, slides were prepared from the relevant paraffin blocks. During the examination of the slides, an area with an approximate area of one square centimeter was identified with a marker in the part of the tumor that was located in the invasive front. Human retina was placed on a slide as a positive control. Then, according to the instructions of the marker manufacturer and standard immunohistochemical staining methods, IHC slides were prepared. In the light microscopy, the entire surface of the slides was examined for the color of the marker. According to previous studies, a 5% cut offwas used for this purpose, so that if more than 5% of tumor cells were positive for the above marker, the patient was positive, and if less than this amount was positive, or if no cells were positive, the tumor was reported negative.

Results: Among the 137 patients surveyed, 28 patients (20.4%) were positive for CD133 and 109 patients (79.4%) were negative. In this study, the staining of this marker was luminal and membrane, and as a result, no tumor with poor differentiation was positive. The mean age of patients with CD133 positive tumor was 61.2 16 16.2 years and in negative tumors was 57.2 16 16.3 years. There was no significant relationship. P-value: 0.28: In this study, 76 male patients And 61 were women. Among men, 15 were positive for markers and 61 were negative, and among women, 13 were positive and 48 were negative. There was no statistically significant relationship between patients' sex and the incidence of 133 CDs (= 0.83). The mean of the largest tumor diameter was 4.7 2 1.2 cm in CD133 positive tumors and 5.2 2 2.2 cm in CD133 negative tumors. Among the tumors located on the left, 22 were positive for CD133 and the remaining 83 were negative. Also, among the tumors located on the right colon, 6 tumors were positive for CD133 and 26 were negative, and in general, there was not significant relationship between the tumor site and marker. Apart from the degree of histological differentiation, no statistically significant relationship was found between any of the other clinical-pathological findings and the expression of this marker.

Conclusion: In our study, like some other researchers, but not all tumors with poor differentiation were negative in terms of the expression of markers, which could be explained by the low frequency of glandular structures and lumen formation in such tumors. Our study in comparison with other studies on the relationship between CD133 and clinical-pathological findings of colorectal cancer can show similarities and differences, four studies have found a significant relationship between tumor depth and the expression of this marker. In our study, if we compare T1 + T2 tumors with T3 + t4 tumors, the p-value for this relationship will be 0.07. It seems that if the samples in this study had a larger volume in each group, this relationship would be significant. In other words, the presence of small samples in the group of tumors with low invasive depth and also the presence of small samples in the group with high invasion Due to the lack of surgery in this group, the number of samples in each group was not enough and may be the cause of lack of relationship with some clinical pathological findings.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Zare-Mirzaie A, Achak F, Babaheidarian P. Evaluating relation of CD133 expression in colorectal adenocarcinoma and clinicopathlogic findings. Razi J Med Sci. 2021;28(1):55-63.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

مقدمه

سرطان کولورکتال در زنان و مردان با میزان بروز اختصاصی سنی به ترتیب در رتبه سوم و پنجم قرار داشته این در حالی است که سرطان کولورکتال قابل‌درمان‌ترین تومور لوله‌ی گوارش بوده و اکثر مرگ‌ومیرهای ناشی از سرطان کولورکتال قابل‌پیشگیری است (۱). الگوی سلول بنیادی سرطانی در حال حاضر موردتوجه تحقیقات سرطان است. بر طبق این الگو نباید به تومور به‌عنوان یک گسترش ساده از سلول‌هایی که به لحاظ کارکردی یکسان هستند نگاه کرد. برعکس، باوجود منشأ منوکلونالشان، فقط اقلیت کوچکی از سلول‌های توموری سلول‌های بنیادی سرطان یا سلول‌های شروع‌کننده تومور نامیده می‌شوند که قادر به حفظ جمعیت بدخیم هستند (۲-۴). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که مانند دیگر تومورهای توپر الگوی سلول بنیادی سرطانی در مورد سرطان کولورکتال نیز کاربرد دارد.

در سال‌های اخیر تئوری سلول بنیادی سرطان ممکن است بیانگر این باشد که چرا بعضی از تومورهای کولون پیش‌آگهی بدتری دارند و به درمان‌های مرسوم شیمی‌درمانی پاسخ مناسب نمی‌دهند. در چندین مطالعه مارکر سلول‌های بنیادی به نام‌های CD24، CD44، Sox2، Oct-4، CD166 و CD133 بررسی شده‌اند (۵ و ۶ و ۷)؛ که آخری موردتوجه مطالعه ما است. در محیط‌های آزمایشگاهی سلول‌های مثبت قادر بودند که خاصیت تومورزایی را حفظ کرده و به داروهای شیمی‌درمانی مقاومت نشان دهند که هر دو از ویژگی‌های سلول‌های بنیادی سرطان است؛ درحالی‌که سلول‌های CD133 منفی هیچ‌یک از این ویژگی‌ها را نداشتند (۸ و ۹)؛ بنابراین مارکر CD133 شاید یکی از بهترین مارکرها برای مشخص کردن سلول‌های بنیادی سرطانی تولیدکننده تومور کولون باشد.

CD133 گلیکوپروتئینی است که توسط سلول‌های خونساز بنیادی، پیش سازهای اندوتلیال، گلیوبلاستوما و سایر سلول‌ها ازجمله سلول‌های سرطان کولورکتال بیان می‌شود (۱۰ و ۱۱). این گلیکوپروتئین یک مولکول تراغشایی پنج دومینی با وزن ملکولی ۳۱۴ کیلودالتون است و بر روی رأس بیرون‌زدگی‌های غشای پلاسمایی و همچنین بر روی خط سلول سرطانی کولون کشت داده شده قرار دارد. این مارکر سلول‌های شبه بنیادی بافت‌ها و سرطان‌های گوناگون را مشخص می‌کند.

در سرطان کولون سلول‌های CD133 مثبت عاری از مارکر تمایز اپی تلیالی روده‌ای سایتوکراتین 14 *(CK)* بوده ولی برای مولکول چسبندگی اپی تلیالی *EpCAM* مثبت هستند؛ بنابراین علاوه بر فراوانی در سلول‌های بنیادی سرطانی آغازکننده تومور کولون، سلول‌های CD133 در مقایسه با سلول‌های توموری CD133 منفی ویژگی‌های سطحی جداگانه‌تری را نشان می‌دهند (۱۲ و ۱۳).

اخیراً مطالعاتی نشان داده‌اند که سلول‌های CD133 مثبت کانسر کولورکتال عامل اصلی شروع‌کننده این نوع از سرطان هستند؛ ولی در مورد اینکه این سلول‌ها همان سلول‌های بنیادی سرطانی باشند نتایج متناقض است. احتمالاً بروز این مارکر با پیش‌آگهی بد بیماری در ارتباط است ولی ارتباط آن با متاستاز ناشناخته است (۱۴ و ۱۵) هدف ما از این مطالعه تعیین ارتباط این مارکر تومورال با یافته‌های کلینیکوپاتولوژیک، نقش آن را در ایجاد، گسترش و متاستاز تومور روشن‌تر نموده و می‌توان با شناسایی بیماران پرخطر آن‌ها را تحت درمان‌های شدیدتر و پیگیری دقیق‌تر و با فواصل کمتر قرار داد و نهایتاً از میزان مرگ‌ومیر آن‌ها کاست. در ضمن از این مارکر می‌توان به‌عنوان یک هدف بالقوه فارماکولوژیک در درمان بیماران سرطانی استفاده کرد.

روش کار

ابتدا به بایگانی بخش پاتولوژی بیمارستان رسول اکرم مراجعه شد و اطلاعات کلینیکوپاتولوژیک مربوط به پرونده‌ها و گزارش‌های پاتولوژی بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال که در سال‌های ۹۰ ۱۳ تا ۱۳۹۶ در این بیمارستان تحت عمل جراحی رزکسیون کولون قرار گرفته بودند استخراج شد. هدف این مطالعه بررسی بروز مارکر CD133 در آدنوکارسینوم NOS بود بنابراین به جهت یکسان سازی شرایط آزمایش بیماران مبتلا به تومورهای غیر اپی تلیالی، تومورهای موسینوس و کارسینوم سلول حلقه انگشتری از مطالعه حذف شدند. همچنین بیماران مبتلا به کارسینوم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

رکتوسیگموئید که قبل از عمل جراحی تحت شیمی‌درمانی نئواجوانت قرار گرفته بودند نیز به دلیل تأثیر آن بر ماهیت سلول‌های سرطانی از مطالعه خارج شدند. محل تومور در بیماران به دو دسته تقسیم شد. به این صورت که تومورهای واقع در پروگزیمال به وسط کولون عرضی تومور کولون راست و دیستال به آن کولون چپ نامیده شدند. اندازه تومور به صورت بیشترین قطر تومور و به سانتی‌متر درج شد.

بازبینی اسلایدها. از آنجا که گزارش‌های پاتولوژی در طی سال‌های مذکور از طرف سه متخصص آسیب‌شناسی دیگر نیز تهیه شده بود، به جهت یکسان سازی شرایط مطالعه اسلایدهای مربوط به بیماران از جهت عمق تهاجم تومور، درگیری غدد لنفاوی، درجه تمایز تومور، تهاجم عروقی و تهاجم دور عصبی توسط یک پاتولوژیست بازبینی گردید و در مواردی که لازم بود از بلوک‌های پارافینه مربوطه اسلاید مجدد تهیه شد. لازم به ذکر است که هیچ‌یک از بیماران در دسته تهاجم به زیر مخاط قرار نگرفتند.

بررسی ایمونوهیستوشیمی: حین بازبینی لام‌ها ناحیه‌ای با وسعت تقریبی یک سانتی‌مترمربع در قسمتی از تومور که در جبهه تهاجمی قرار گرفته بود با مارکر مشخص گردید و از همان قسمت با استفاده از بلوک پارافینه برش‌های سه میکرونی تهیه شد و به همراه یک برش از بافت رتین طبیعی انسان به‌عنوان کنترل مثبت روی لام سایلین قرار داده شد. سپس با توجه به راهنمای شرکت سازنده مارکر و روش‌های استاندارد رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی به شرح زیر اسلایدهای IHC تهیه شد:

لام‌ها در بافر سیترات سدیم با pH=6 قرار داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد اتوکلاو شد (مرحله Antigen Retrieval بازیافت آنتی‌ژن). سپس بافت‌ها در اتاقک مرطوب قرار داده شد و محلول آب‌اکسیژنه روی آن‌ها ریخته شد به شکلی که سطح آن‌ها کاملاً پوشانده شد. بافت‌ها دوباره در اتاقک مرطوب قرار داده شد و سطح آن‌ها با آنتی‌بادی اولیه CD133 محصول شرکت Miltenyi Biotec کلون AC ایزوتیپ mouse IgG۳ با رقت ۱/۴۰ به شکل کامل پوشانده شد. بافت‌های شاهد منفی با بافر PBS پوشانده شدند. در این مرحله اسلایدها در اتاقک مرطوب به مدت ۱۴ دقیقه قرار داده شد. بعد از آن دوباره لام‌ها در اتاقک تاریک قرار داده شد و سطح آن‌ها با پلی مر Envision لیبل شده با پراکسیداز به مدت ۱۴ دقیقه پوشانده شد. در مرحله بررسی با میکروسکوپ نوری تمامی سطح اسلایدها از جهت رنگ‌پذیری مارکر مذکور کاوش شد. با توجه به مطالعات قبلی از معیار ۵٪ برای این کار استفاده شد به‌نحوی‌که اگر بیشتر از ۵٪ سلول‌های توموری از نظر مارکر فوق مثبت بودند بیمار مثبت و اگر کمتر از این مقدار مثبت بودند و یا اگر هیچ سلولی مثبت نبود تومور منفی در نظر گرفته شد.

به دلیل استفاده از بلوک‌های پارافینی موجود در بایگانی بدون اینکه هزینه یا نمونه جدید از بیماران اخذ شود طرح موردنظر بدون نیاز به بررسی در کمیته اخلاق تصویب شد.

آنالیز آماری: تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۱ و به‌وسیله آزمون‌های T-test و chi-square test صورت گرفته و p< ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از میان ۱۳۷ بیماری که بررسی شدند،۲۸ بیمار (۲۰/۴٪) برای CD133 مثبت و ۱۰۹ بیمار (۷۹/۴٪) منفی بودند. در این مطالعه نمای رنگ‌پذیری این مارکر به صورت لومینال و غشایی بود و در نتیجه هیچ توموری با تمایز ضعیف مثبت نشد. شکل ۱ رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای CD133 را در دو مورد آدنوکارسینوم کولون نشان می‌دهد. مشخصات کلینیکوپاتولوژیک بیماران در جدول ۱ نمایش داده شده است.

ارتباط باسن و جنس بیماران: میانگین سنی بیماران با تومور CD133 مثبت، ۱۶/۲±۶۱/۲ سال و در تومورهای منفی،۱۶/۳±۵۷/۲ سال بود. که ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (p: ۰/۲۸). در این مطالعه ۷۶ بیمار مرد و ۶۱ نفر زن بودند در میان مردان ۱۵ نفر از نظر مارکر مثبت و ۶۱ نفر منفی و در میان زنان ۱۳ نفر مثبت و ۴۸ نفر منفی بودند. به لحاظ آماری ارتباطی میان جنس بیماران و بروز CD ۱۳۳ وجود نداشت (p =۰/۸۳).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

جدول ۱- داده‌های کلینیکوپاتولوژیک بیماران

ویژگی‌ها		تعداد بیماران (٪)
تعداد کل بیماران		۱۳۷ (٪۱۰۰)
سن متوسط (سال ± انحراف معیار)		۵۸±۱۶/۳
جنس	مرد	۷۶ (٪۵۵/۵)
	زن	۶۱ (٪۴۴/۵)
محل تومور	راست	۳۲ (٪۲۳/۴)
	چپ	۱۰۵ (٪۷۶/۶)
متوسط اندازه تومور ±انحراف معیار،cm		۵/۱ ±۲/۳
عمق تومور	T1	۳ (٪۲/۲)
	T2	۱۸ (٪۱۳/۱)
	T3	۱۰۴ (٪۷۵/۵)
	T 4	۱۲ (٪۸/۸)
گرفتاری غدد لنفاوی	N0	۷۸ (٪۵۶/۹)
	N1	۳۳ (٪۲۴/۱)
	N2	۲۶ (٪۱۹)
درجه تمایز بافت شناختی	تمایز خوب/ متوسط (درجه پایین)	۱۲۷ (٪۹۲/۷)
	تمایز ضعیف (درجه بالا)	۱۰ (٪۷/۳)
تهاجم عروقی	مثبت	۲۸ (٪۲۰/۴)
	منفی	۱۰۹ (٪۷۹/۶)
تهاجم دور عصبی	مثبت	۳۸ (٪۲۷/۷)
	منفی	۹۹ (٪۷۲/۳)

جدول ۲- ارتباط بین بیان CD133 و یافته‌های کلینیکوپاتولوزیک در ۱۳۷ بیمار مبتلا به آدنوکارسینوم کولورکتال

ویژگی		CD133 مثبت (٪)	CD133 منفی (٪)	p
سن	بالای ۶۰ سال	۱۵ (٪۱۰/۹)	۴۵ (٪۳۲/۸)	۰/۲۸
	زیر۶۰ سال	۱۳ (٪۹/۵)	۶۴ (٪۴۶/۷)	
جنس	مرد	۱۵ (٪۱۰/۹)	۶۱ (٪۴۴/۶)	۰/۸۳
	زن	۱۳ (٪۹/۵)	۴۸ (٪۳۵)	
محل تومور	کولون راست	۶ (٪۴/۴)	۲۶ (٪۱۹)	۱
	کولون چپ	۲۲ (٪۱۶)	۸۳ (٪۶۰/۶)	
اندازه تومور	بیشتر از ۵ سانتی متر	۸ (٪۵/۸)	۳۷ (٪۲۷)	۰
	سانتی متر کمتر از ۵	۲۰ (٪۱۴/۶)	۷۲ (٪۵۲/۶)	
عمق تومور	T1	۰	۳ (٪۲/۲)	T1+T2 vs T3+T4= ۰/۰۷
	T2	۶ (٪۴/۴)	۱۲ (٪۸/۸)	
	T3	۲۱ (٪۱۵/۳)	۸۳ (٪۶۰/۶)	
	T4	۱ (٪۰/۷)	۱۱ (٪۸)	
گرفتاری غدد لنفاوی	N0	۱۵ (٪۱۰/۹)	۶۳ (٪۴۶)	Negative vs Positive= ۰/۷
	N1	۶ (٪۴/۴)	۲۷ (٪۱۹/۷)	
	N2	۷ (٪۵/۱)	۱۹ (٪۱۳/۹)	
درجه تمایز بافت شناختی	درجه پایین (تمایز خوب/متوسط)	۲۸ (٪۲۰/۴)	۷۹ (٪۵۷/۷)	۰/۰۳
	درجه بالا (تما یز ضعیف)	۰	۱۰ (٪۷/۳)	
درگیری عروقی	مثبت	۷ (٪۵/۱)	۲۱ (٪۱۵/۳)	۰/۶
	منفی	۲۱ (٪۱۵/۳)	۸۸ (٪۶۴/۲)	
درگیری دور عصبی	مثبت	۸ (٪۵/۸)	۳۰ (٪۲۱/۹)	۱
	منفی	۲۰ (٪۱۴/۶)	۷۹ (٪۵۷/۷)	

ارتباط با قطر و محل تومور: متوسط بزرگ‌ترین قطر تومور در تومورهای CD133 مثبت ۱/۲±۴/۷ سانتی‌متر و در تومورهای CD133 منفی ۲/۴ ±۵/۲ سانتی‌متر بود محل وقوع تومور در ۱۰۵ بیمار در سمت چپ کولون و در ۳۲ مورد در سمت راست قرار داشت از میان تومورهایی که در سمت چپ واقع شده

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

جدول ۳- مقایسه مطلعه حاضر با سایر مطالعات مرتبط

پژوهش	تعداد بیمار	روش	شرکت	سن	جنس	اندازه تومور	محل	عمق تومور	درگیری لنفاوی	درجه تمایز	تهاجم عروقی	تهاجم عصبی	مرحله	متاستاز
مطالعه ما	۱۳۷	IHC	Milten yi biotec	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر	خیر	انجام نشده	انجام نشده
هونگ (۲۳)	۲۲۵	IHC	Milten yi biotec	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	خیر	متغیر	انجام نشده	خیر	انجام نشده
هورست(۱۳)	۵۷	IHC	Cell signal	خیر	خیر	انجام نشده	انجام نشده	خیر	انجام نشده	انجام نشده	انجام نشده	انجام نشده	انجام نشده	انجام نشده
تاکاهاشی (۱۴)	۱۵۱	IHC	Abcam	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	بله	خیر	انجام نشده	بله	خیر
کوجیما(۱۷)	۱۸۹	IHC	Milten yi biotec	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر	خیر	بله	بله
چوی (۱۱)	۵۲۳	TMA	Santa cruz	خیر	بله/مرد	خیر	خیر	بله	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر
انگ(۱۲)	۳۱۰	TMA	Milten yi biotec	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	خیر	بله	خیر
کوکو (۱۵)	۱۳۷	IHC	Santa cruz	خیر	خیر	انجام نشده	انجام نشده	بله	خیر	خیر	انجام نشده	انجام نشده	بله	انجام نشده
ژی(۲۵)	۲۰۱	IHC	Abcam	خیر	خیر	خیر	انجام نشده	بله	بله	بله	انجام نشده	انجام نشده	بله	بله
لی(۱۹)	۱۰۴	IHC	Abcam	خیر	خیر	انجام نشده	خیر	خیر	خیر	خیر	انجام نشده	انجام نشده	انجام نشده	انجام نشده

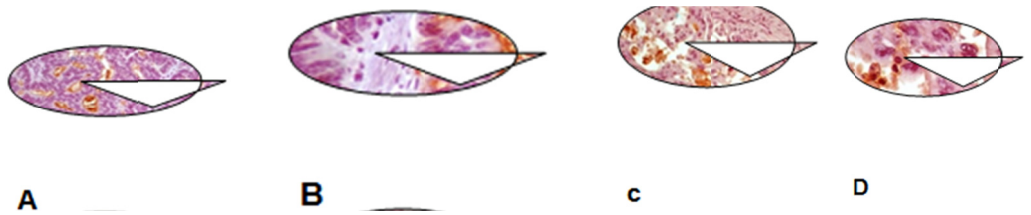
بودند ۲۲ نفر برای CD133 مثبت و بقیه ۸۳ نفر منفی بودند. همچنین در میان تومورهای واقع در سمت راست کولون ۶ تومور برای CD133 مثبت و ۲۶ مورد منفی شدند و در کل ارتباط معناداری بین محل تومور و میزان بروز مرکر بدست نیامد (p=۱).

ارتباط بروز مارکر با عمق تهاجم تومور تهاجم عروقی و عصبی تومور و تاستز به غدد لنفاوی نیز بررسی شد که به طور اجمالی در جدول ۲ خلاصه شده است.

به غیر از درجه تمایز بافت شناختی بین هیچ‌یک از دیگر یافته‌های کلینیکوپاتولوژیک و بروز مارکر مذکور رابطه معنی‌دار آماری به دست نیامد.

بحث

ما تومورهای ۱۳۷ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال را که در بیمارستان رسول اکرم تحت درمان جراحیِ تنها قرار گرفته بودند از جهت واکنش‌پذیری به CD133 به روش ایمونوهیستوشیمی بررسی کردیم. اغلب محققین از روش whole tissue IHC استفاده کرده بودند به جز سه مطالعه که با Tissue microarray انجام شده بود (۱۶ و ۱۷). مارکر مورد استفاده در مطالعه ما به مانند مطالعات هونگو و اُنگ محصول شرکت *Miltenyi Biotech* بود (۱۲). الگوی رنگ‌پذیری مارکر CD133 در این مطالعه فقط به صورت غشایی بود. از این نظر تفاوت‌های قابل‌ملاحظه‌ای بین پژوهش‌های مختلف وجود دارد



شکل ۱ بروز CD133 با ایموتوهیستوشیمی بر روی سطح غددی-لومینال یک آدنوکارسینوم کولورکتال با تمایز خوب. A) بزرگنمایی x۴۰ B) بزرگنمایی x۴۰ . همین رنگ آمیزی در یک آدنوکارسینوم کولورکتال با تمایز متوسط. C) دبری های سلولی ریخته شده به داخل لومن برای مارکر مثبت هستند. D) بزرگنمایی بیشتر نشان می دهد که علاوه بر دبری های سلولی، غشای لومینالِ سلول های توموری هم مثبت شده اند

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

زیـرا تعـدادی از پژوهشـگران ایـن الگـو را غشـایی و سیتوپلاسمی و تعـدادی دیگـر فقـط غشـایی یـا فقـط سیتوپلاسمی گزارش کرده‌اند (۱۸ و ۱۹) کـه احتمـالاً مربوط به تکنیک‌های سازنده است. البته گـزارش‌هـای دیگـری مبنـی بـر رنـگ‌پـذیری سـلول‌هـای سـرطان پانکراس با الگوی سیتوپلاسمی نیـز وجـود دارد (۲۰). به‌هرحال نتیجه مطالعه ما از این حیـث بـا تعـدادی از بررسی‌های پیشین همسو بود. ما در ایـن طـرح نقطـه برش را ٪۵ فرض کردیم. این عدد در مطالعات مختلف از ۰ تا ٪۵۰ متفاوت است. هر دو مطالعه‌ای که شـرکت سازنده مارکر آن‌ها با ما یکسان بود نقطه بـرش را ٪ ۵ در نظر گرفته بودند. ما به غیر از تمایز تومور بین بـروز CD ۱۳۳ و یافته‌های کلینیکوپاتولوژیک بیماران هـیچ ارتباط معنی‌داری مشاهده نکردیم درحـالی‌کـه بعضـی محققـین نتیجـه متفـاوتی گرفتـه‌انـد (۲۱ و ۲۲). در متاانالیز انجام شـده بـر روی ۳۷ مطالعـه کـه در سـال ۲۰۱۸ به چاپ رسیده است (۲۳) نشان داده شده است که بروز CD133, با Tتومور متاستاز دوردست تهـاجم لنفاتیک و تهاجم عروقی ارتباط دارد و افرادی که بروز CD133 بیشتر دارند و پیش‌آگهی بقای ۵ ساله کمتری دارند. مطالعه‌ای که توسط کازمـا و همکـاران در سـال ۲۰۱۷ (۲۴) انجام شد مشخص شـد کـه رنـگ‌آمیـزی CD133 با تمـایز تومـور و سـایز تومـور ارتبـاط دارد و می‌تواند در تکامل تومور نقش داشته باشد.

در مطالعـه‌ای کـه توسـط ری و همکـاران در سـال ۲۰۲۰ انجام شده است (۲۵) بـروز CD133 بـا سـن و جـنس و BMI و Hb و نـوع هیسـتوپاتولوژی ارتبـاط نداشـت. در حالیکـه در پروگزیمـال کولـون بیشـتر از رکتوم و دیسـتال کولـون بیشـتر از رکتـوم اسـت و در نهایت به این نتیجه رسیده است کـه بـروز CD133 بـا محل تومور ارتباط دارد ولـی بـا سـیر علایـم کلینیکـو پاتولوژیک ارتباط ندارد.

کوجیما و همکـاران بـین بـروز ایـن مـارکر و بافـت شناختی با تمایز خوب و متوسطِ تومور رابطه معنـی‌دار پیدا کردند. البته آن‌ها هـم هماننـد مطالعـه مـا هـیچ تومورِ با تمـایز ضـعیف را کـه CD133 باشـد گـزارش ننمودند. همچنین آن‌ها در میـان تومورهـای بـا تمـایز خوب و متوسط، بین CD133 و متاستاز دوردسـت رابطـه معنی‌دار یافتند؛ نمای کلینیکوپاتولوژیکی که ما بررسی نکردیم.

چوی و همکـاران تعـداد قابـل توجـه ۵۲۳ تومـور را بررسی کردند. آن‌ها بین بـروز ایـن مـارکر و جنسـیت مذکر، طبقه بندی T و مرحله AJCC رابطـه معنـی‌دار یافتند که مورد آخری در بررسـی مـا گنجانـده نشـده است. جالب آنکه آن‌ها موارد مثبتِ تومورهـای Tis، بـا تمایزِ ضعیف و حتی تمایز نیافتـه undifferentiated را ثبت کرده‌اند درحالی‌که ما تومورهای تمایز نیافتـه را از مطالعه خارج کرده و هیچ مـوردی از تومـور Tis یـا بـا تمایز ضعیفِ CD133 نداشتیم.

در مطالعه ما نیز مانند بعضی دیگـر از پژوهشـگران ولی نه همه تومورهای بـا تمـایز ضـعیف از نظـر بـروز مارکر منفی بودند که توجیه آن می‌توانـد فراوانـی کـم ساختارهای غددی و تشکیل لومن در این گونه تومورها باشد. مطالعه ما نیز در مقایسه با دیگر مطالعات انجـام شـده (۱۸ و ۲۰) بـر روی رابطـه بـین CD133 و یافتـه‌هـای کلینیکوپاتولوژیـک سـرطان کولورکتـال می‌توانـد نشـان دهنـده تشـابهات و اختلافـاتی باشـد. جدول ۳ به طور خلاصه این مطالعه را با پـژوهش‌هـای مختلف مقایسه می‌کند.

نتیجه‌گیری

همانگونه که ملاحظه می کنید چهار پـژوهش بـین عمق تومور و بروز این مارکر رابطـه معنـی‌دار مشـاهده کرده‌اند. در مطالعـه مـا اگـر تومورهـای بـا عمـق کـم T1+T2 را در مقابل تومورهای بـا عمـق زیـاد T3+T4 آزمون نمـاییم عـدد p-value بـرای ایـن رابطـه ۰/۰۷ خواهد شد؛ و به نظر می رسـد اگـر نمونـه هـا در ایـن مطالعه در هر گروه حجم بیشتری داشتند ایـن رابطـه نیز معنی‌دار می شد. به عبارتی وجود نمونه هـای کـم در گروه تومورهای با عمـق تهـاجم کـم و هـم چنـین وجود نمونه های کم در گروه با تهـاجم بـالا بـه خـاطر عدم انجام عمل جراحی در این گروه تعداد نمونه ها در هر گروه کافی نبود و ممکـن اسـت علـت عـدم وجـود رابطه با بعضی یافته های کلینیکو پاتولوژیـک ناشـی از این مساله باشد.

تقدیر و تشکر

با تشکر از خانم شرزوی پرسـنل بیمارسـتان رسـول

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]

اکرم که مسـولیت رنـگ‌آمیـزی ایمونوهیستوشـیمی را متقبل شدند.

References

1. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature. 2001424:200–222.
2. Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Opinion: migrating cancer stem cells – an integrated concept of malignant tumour progression. Nat Rev Cancer.2005:44–47.
3. Burkert J, Wright NA, Alison MR. Stem cells and cancer: an intimate relationship. J Pathol. 2006;1(7):287-297.
4. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. Nature. 2007;440:202–22.
5. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, et al. Identification and expansion of human coloncancer-nitiating cells. Nature. 2007;440:222–220.
6. Miraglia S, GodfreyW, Yin AH, Atkins K, Warnke R, Holden JT,et al .A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. Blood. 1997:3–12.
7. Corbeil D, Roper K, Hellwig A, Tavian M, Miraglia S, Watt SMet al. The human AC233 hematopoietic stem cell antigen is also expressed in epithelial cells and targeted to plasma membrane protrusions. J Biol Chem. 2000.
8. Mizrak D, Brittan M, Alison MR CD233: molecule of the moment. J Pathol. 2008124 3–7.
9. Wang J, Sakariassen PO, Tsinkalovsky O, Immervoll H, Boe SO, Svendsen A,et al, "CD133 negative glioma cells form tumors in nude rats and give rise to CD133 positive cells". Int J Cancer. 2008;211(4):22–28.
10. Ogden AT, Waziri AE, Lochhead RA,. Identification of CD133− and CD133+ tumor-initiating cells in adult human gliomas. Neurosurgery. 2008;21:0.0-024; discussion 024–020.
11. Chu P, Clanton DJ, Snipas TS. Characterization of a subpopulation of colon cancer cells with stem cell-like properties. Int J Cancer. 2009;214:2321–2312.
12. Kumiko Hongo,Shinsuke Kazama, Eiji Sunami, Nelson H. Tsuno, Koki Takahashi,et al, "Immunohistochemical detection of CD 133 is associated with tumor regression grade after chemoradiotherapy in rectal cancer". Med Oncol. 2012;781847–1800.
13. Ong ChW, Kim LG, Kong HH, Low LY, Iacopetta B, Soong R, et al. "CD233 expression predicts for non-response to chemotherapy in colorectal cancer". Modern Pathol. 2010;1, 2(13):40–400.
14. Takahashi S, Kamiyama T, Tomaru U, Ishizu A, Shida T, Osaka M, et al. "Frequency and pattern of expression of the stem cell marker CD 233 have strong prognostic effect on the surgical outcome of colorectal cancer patients". Oncol Rep. 2010 Nov;14(0):21.2-21.
15. Coco A. Increased expression of CD133 and reduced dystroglycan expression are strong predictors of poor outcome in colon cancer patients. J Experim Clin Cancer Res. 2012;32802.
16. Horst D, Kirchner Th, Jung A. "CD233 has high prognostic impact for colon cancer". Cancer Stem Cell Consortium. July 2009.
17. Kojima M, Ishii G, Atsumi N. "Immunohistochemical detection of CD 233 in colorectal cancer: A clinicopathologic study". Jpn Cancer Assoc. 2008.
18. Wang K, Xu J, Zhang J, Huang J. Prognostic role of CD133 expression in colorectal cancer: a meta-analysis. BMC Cancer. 2012 Dec 5;12:573
19. Li C, Li B, Liang Y, Peng R, Ding Y, Xu D, et al: Higher percentage of CD2331 cells is associated with poor prognosis in colon carcinoma patients with stage IIIB. J Transl Med. 2009;0802.
20. Grosse-Gehling Ph, Fargeas ChA, Dittfeld C, Garbe Y, Alison MR, Corbeil1 D, et al. CD133 as a biomarker for putative cancer stem cells in solid tumours: limitations, problems and challenges. J Pathol. 2013;117:300–308.
21. Maeda S, Shinchi H, Kurahara H, Mataki Y, Maemura K, Sato M, et al .CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer. Br J Cancer. 2008:2387–2370.
22. Choi D, Lee HW, Hur KY, Kim JJ, Park GS, Jang SH, et al. "Cancer stem markers CD133 and CD44 corrlate with invasiveness and differentiation in colorectal adenocarcinoma". World J Gastroenterol. 2009:ISSN 1007-9327.
23. Huang R, Mo D, Wu J, Ai H, Lu Y CD133 expression correlates with clinicopathologic features and poor prognosis of colorectal cancer patients: An updated meta-analysis of 37 studies. Medicine (Baltimore). 2018 Jun;97(23):e10446.
24. Kazama S, Kishikawa J, Kiyomatsu T, Kawai K, Nozawa H, Ishihara S, et al .Expression of the stem cell marker CD133 is related to tumor development in colorectal carcinogenesis. Asian J Surg. 2018 May;41(3):274-278.
25. Rey I, Putra A, Lindarto D, Yusuf F. Association between CD133 expression and clinicopathological profile in colorectal cancer. Med Glas (Zenica). 2020 Aug 1;17(2).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2023-03-26]