

## بررسی بروز پروتئین Gli 1 در انواع مختلف کارسینوم سلول بازال

دکتر حبیب انصارین<sup>۱</sup>، دکتر مهشید فیروزه<sup>۲</sup>، دکتر علیرضا صادقی پور<sup>۳</sup>، دکتر لیلا تجزیه چی<sup>۴</sup>

۱- دانشیار گروه پوست، ۲- متخصص پوست، ۳- استادیار گروه پاتولوژی، ۴- دستیار، گروه پوست؛ بیمارستان رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی ایران

**زمینه و هدف:** کارسینوم سلول بازال (Basal Cell Carcinoma (BCC)، شایع ترین کانسر در انسان است. فعال شدن سیگنال Hedgehog (Hh) در ایجاد این کارسینوم نقشی کلیدی دارد. نقطه نهایی سیگنال Hedgehog، پروتئین های Gli است. Gli1 یکی از پروتئین های Gli است که سبب فعال شدن نسخه برداری از DNA می شود. مطالعه های قبلی، افزایش بیان پروتئین Gli1 را در کارسینوم سلول بازال نشان داده است. **روش اجرا:** در این مطالعه ۳۸ نمونه پاتولوژی از بیماران مبتلا به کارسینوم سلول بازال از نظر بیان پروتئین Gli1 بررسی شد. **یافته ها:** نقش اساسی پروتئین Gli1 در پاتوژنز این کارسینوم تأیید شد. خلاف مطالعات قبلی، در این مطالعه، Gli1 عمدتاً موقعیت هسته ای داشت و بروز Gli1 در انواع مهاجم کارسینوم سلول بازال بالاتر بود، لذا ممکن است بروز Gli1 در تعیین پروگنوز تومور کمک کننده باشد. **نتیجه گیری:** در این مطالعه بین بروز Gli1 و محل تومور، عود تومور، سن، جنس و سابقه رادیوتراپی در بیماران ارتباطی به دست نیامد. **واژه های کلیدی:** کارسینوم سلول بازال، پروتئین Gli1، مسیر سیگنال Hedgehog

فصلنامه بیماری های پوست پاییز ۱۳۸۶؛ دوره ۱۰(۳): ۲۱۱-۲۱۸

وصول مقاله: ۸۵/۱۱/۱۵ پذیرش: ۸۶/۲/۹

### مقدمه

موتاسیون های ژن Patched در انواع اسپورادیک و فامیلیال BCC گزارش شده است (۳ و ۴).  
ژن Patched مسوول رشد و تمایز سلولی در بافت های در حال رشد بسیاری از حیوانات است (۵). ژن Patched یک پروتئین غشایی را، کد می کند که همراه با Smoothed (Smo) (Smo)، پروتئین غشایی دیگر، یک کمپلکس رسپتوری برای پروتئین های hedgehog (Hh) تشکیل می دهند (۵ و ۶). در انسان ۳ نوع پروتئین hedgehog شناسایی شده است: Sonic (Shh) (Ihh) و Desert (Dhh) (۱). در پوست مسیر Shh برای نگه داری تکثیر سلول های بنیادی و تنظیم تکامل فولیکول های مو و غدد سباسه حیاتی است (۷). PTCH مسیر Shh را با نگاه داشتن Smo در یک حالت غیر فعال، مهار می کند. بعد از اتصال Shh به PTCH، این مهار برداشته می شود و Smo از طریق فعال

کارسینوم سلول بازال (Basal Cell Carcinoma (BCC) شایع ترین کانسر در نژاد سفید پوست است (۱). همانند کارسینوم سلول سنگفرشی، BCC وسیله اشعه ماورا بنفش ایجاد می شود ولی نقش اشعه ماوراء بنفش از کارسینوم سلول سنگفرشی اندکی متفاوت است. به نظر می رسد وقایع زیر مسوول کارسینوم پوستی باشند:  
اشعه ماورا بنفش به لایه ای از اپیدرم می رسد که پیش ساز این تومورها واقعند، این اشعه به کمک DNA جذب می شود و موجب ایجاد تغییرهایی در تعدادی از ژن ها می شود. قابل توجه ترین تغییرها، در ژن های مهار کننده تومور رخ می دهد. ژن p53 و ژن Patched (PTCH)، هدف های اصلی اشعه ماورا بنفش هستند. غیرفعال شدن این ژن ها سبب تکثیر سلولی می شود (۲).

نمونه‌ها بعد از شست و شو با آب مقطر و با فرسفات در مجاورت یک عامل بلاک کننده پروتئینی قرار گرفت تا رنگ آمیزی زمینه به حداقل برسد. سپس نمونه‌ها در یک محفظه مرطوب در مجاورت آنتی‌بادی مونوکلونال Gli1 (به دست آمده از خرگوش) با رقت یک پنجاهم به مدت ۲ ساعت در حرارت اتاق گذاشته شد، در نهایت ماده کروموژن (۳ و ۳-دی آمینوبنزیلین تترایدروکلرید) اضافه شد و نمونه‌ها با هماتوکسیلین رنگ آمیزی شد. برای بررسی میزان بروز پروتئین Gli1 با رنگ آمیزی ایمنو هیستوشیمی، میزان بروز این پروتئین به ۴ درجه ۱: ۲۵-۰ درصد، ۲: ۵۰-۲۶ درصد، ۳: ۷۵-۵۱ درصد، ۴: ۱۰۰-۷۶ درصد تقسیم شد.

یافته‌ها با استفاده از آزمون مربع کای (یا دقیق فیشر) تجزیه و تحلیل شد و  $P < 0.05$  معنی دار تلقی شد.

#### یافته‌ها

در کل ۳۸ نمونه بافتی بررسی شد که ۱۴ مورد به بیماران خانم و ۲۴ مورد به بیماران آقا مربوط بود. پروتئین Gli1 در ۳۱ مورد (۸۱/۶ درصد) دیده شد و ۷ نمونه (۱۸/۴ درصد) برای پروتئین Gli1 منفی بود. در بیمارانی که بروز پروتئین Gli1 مثبت بود، ۱۳ مورد (۴۱/۹ درصد) زن و ۱۸ مورد (۵۸/۱ درصد) مرد بودند. در بیمارانی که بروز پروتئین Gli1 منفی بود، ۱ مورد (۱۴/۳ درصد) زن و ۶ مورد (۸۵/۷ درصد) مرد بودند. بین بیماران زن و مرد از نظر آماری در بروز پروتئین Gli1 تفاوت قابل توجهی وجود نداشت.

محدوده سنی بیماران بین ۴۱ تا ۹۳ سال (میانگین  $64.4 \pm 10.6$  سال) قرار داشت. بیماران این مطالعه به ۵ گروه سنی: ۵۰-۴۰ سال، ۶۰-۵۱ سال، ۷۰-۶۱ سال، ۸۰-۷۱ سال و بالاتر از ۸۰ سال تقسیم شدند. بروز پروتئین Gli1 در هر گروه بررسی و نتایج به دست آمده در نمودار شماره ۱ خلاصه شد. در بین گروه‌های سنی مختلف در بروز پروتئین Gli1 تفاوت

کردن پروتئین‌های Gli موجب انتقال سیگنال می‌شود (۱). ۳ نوع پروتئین Gli در انسان شناسایی شده است: Gli1، Gli2 و Gli3. تمام این پروتئین‌ها به DNA متصل می‌شوند (۶). Gli1 سبب فعال شدن نسخه‌برداری از DNA می‌شود، در حالیکه Gli2 و Gli3 هم فعال کننده نسخه‌برداری و هم مهار کننده آن هستند (۸).

اختلال‌های اجزای مسیر سیگنال Shh که شامل Shh، PTCH، Smo، Gli1 و Gli2 است، فاکتورهای اصلی در ایجاد BCC هستند (۷). در BCC، بروز Gli1 افزایش پیدا می‌کند (۹ و ۱).

به علت نقش مهم مسیر Shh در پاتوژنز BCC، در این مطالعه بروز پروتئین Gli1، نقطه‌نهایی این مسیر را در انواع مختلف بافت شناسی BCC مورد بررسی قرار گرفت تا معلوم شود که بین نوع بافت شناسی تومور و بروز پروتئین Gli1 ارتباطی وجود دارد یا نه. به علاوه ارتباط بین بروز پروتئین Gli1 و سن بیماران، جنسیت، سابقه رادیوتراپی، عود تومور و محل تومور نیز مورد بررسی قرار گرفت.

#### روش اجرا

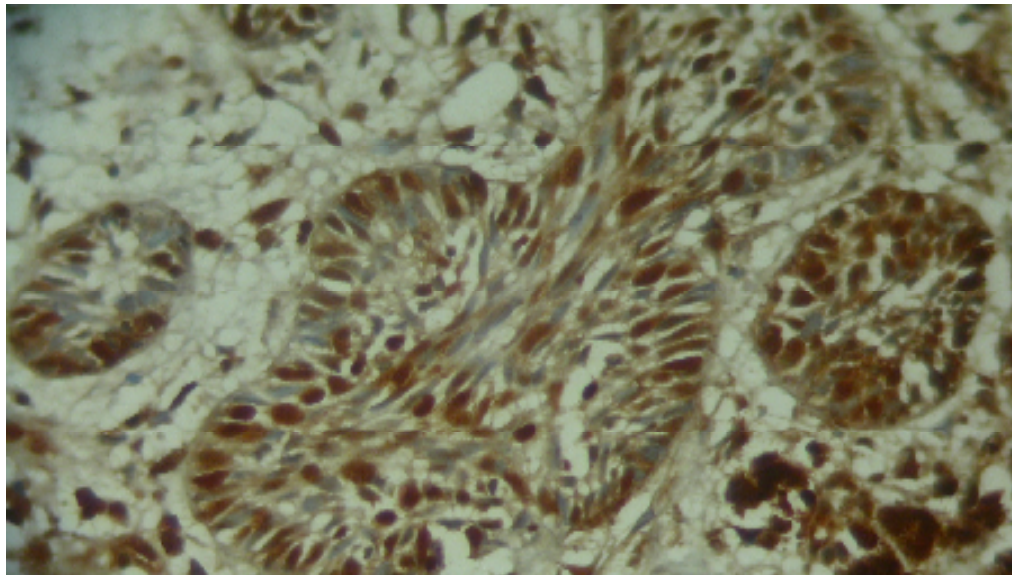
در این مطالعه ۳۸ نمونه بافتی با تشخیص پاتولوژی BCC بررسی شد. این نمونه‌ها از بلوک‌های پارافینی به دست آمدند و با رنگ آمیزی ایمنو هیستوشیمی رنگ آمیزی شدند. در تمام ۳۸ نمونه بافتی، رنگ آمیزی ایمنو هیستوشیمی با روش avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) آقای Hsu و همکارانش اجرا شد. برش‌های بافتی به ضخامت ۳-۴ میکرومتر تهیه شدند، با گزین، پارافین زدایی و با اتانول آبگیری شدند. فعالیت پراکسیداز اندوژن به کمک پراکسید هیدروژن ۱ درصد در متانول بلوک شد. برای افزایش رنگ آمیزی، برش‌های بافتی در بافر سیترات (10mmol/Lit) با pH=6 به مدت ۱۱ دقیقه در حرارت ۱۲۶ درجه سانتی گراد قرار داده شد.

این ۲ گروه در بروز پروتئین Gli1 تفاوت قابل توجهی به دست نیامد. از ۳۸ بیمار، ۵ بیمار BCC راجعه داشتند. از ۳۸ بیمار با Gli1 مثبت ۴ نفر و از ۷ بیمار با Gli1 منفی یک نفر دارای بیماری راجعه بود. میزان بروز پروتئین Gli1 در هر ۲ گروه با هم تفاوت قابل توجهی نداشت.

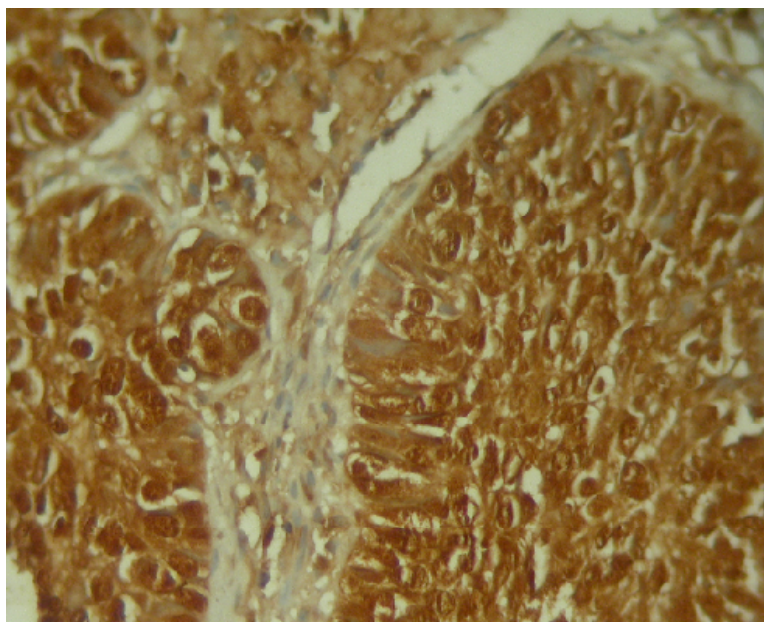
در مطالعه اخیر، بروز پروتئین Gli1 در انواع هیستولوژیک BCC تعیین شد، در اغلب نمونه‌های بافتی که از نظر پروتئین Gli1 مثبت بودند، این پروتئین موقعیت هسته‌ای داشت (تصویر شماره ۱)، در تعداد کمی (۴ مورد) این پروتئین علاوه بر هسته‌ها در سیتوپلاسم نیز دیده شد (تصویر شماره ۲). رنگ آمیزی، به سلول‌های تومورال محدود بود و در استرومای اطراف بروز پروتئین Gli1 دیده نشد. بروز پروتئین Gli1 در نواحی محیطی تومور قوی تر بود.

آماره قابل توجهی وجود نداشت. شایع‌ترین محل آناتومیک برای بروز BCC پلک بود. توزیع پروتئین Gli1 با توجه به محل تومور بررسی و نتایج در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. همراهی معنی‌داری بین محل تومور و بروز پروتئین Gli1 یافت نشد.

در این مطالعه ۳۲ مورد (۸۳ درصد) موارد تومور در نواحی در معرض نور خورشید و ۶ مورد (۱۷ درصد) در نواحی پوشیده بدن قرار داشت. بروز پروتئین Gli1 در ۲۷ مورد از موارد در معرض نور خورشید و ۴ مورد از موارد مربوط به نواحی پوشیده دیده شد. بین بروز پروتئین Gli1 و تماس با نور خورشید ارتباط قابل توجهی یافت نشد. ۱۳ مورد از بیماران، سابقه رادیوتراپی داشتند. بروز پروتئین Gli1 در ۱۰ مورد این افراد و ۲۱ مورد از افرادی دیده شد که سابقه رادیوتراپی نداشتند. از نظر آماری بین



تصویر شماره ۱- بیان پروتئین Gli1 در هسته



تصویر شماره ۲- بیان پروتئین Gli 1 در هسته و سیتوپلاسم

شایع‌ترین انواع بافت‌شناسی در این مطالعه انواع ندولار و انفیلتراتیو بود (هر ۲ با شیوع ۳۴/۲ درصد دیده شدند). برای مقایسه میزان بروز Gli1 در انواع مختلف بافت‌شناسی کارسینوم سلول بازال، از سیستم درجه‌بندی که قبلاً به آن اشاره شده استفاده شد. بروز پروتئین Gli1 در انواع مختلف بافت‌شناسی از

نظر آماری به طور قابل توجهی متفاوت بود ( $p = 0/04$ ). الگوهای رنگ‌آمیزی انواع انفیلتراتیو عمدتاً از درجه ۳ یا ۴ بود، در حالی که انواع سطحی، ندولار و دیگر انواع عمدتاً از نوع ۱ یا ۲ بود. بروز پروتئین Gli1 در انواع مختلف کارسینوم سلول بازال در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- بروز پروتئین Gli 1 و درجه آن در انواع مختلف بافت‌شناسی کارسینوم بازال

میزان بروز نوع BCC	۰-۲۵ درصد	۲۶-۵۰ درصد	۵۱-۷۵ درصد	۷۶-۱۰۰ درصد	جمع
آدنویید	۱	۱	۱	۰	۳
فولیکولر	۱	۰	۰	۰	۱
کراتونیک	۱	۰	۰	۰	۱
سطحی	۳	۰	۰	۰	۳
ندولر	۳	۲	۵	۳	۱۳
ندولر آدنویید	۰	۰	۰	۱	۱
ندولر انفیلتراتیو	۰	۰	۲	۱	۳
انفیلتراتیو	۰	۰	۴	۹	۱۳
جمع	۹	۳	۱۲	۱۴	۳۸

## بحث

کارسینوم سلول بازال اولین بار در سال ۱۸۲۴ توصیف شد و حدود ۷۵ درصد تمام کانسره‌های پوستی را به خود اختصاص می‌دهد (۱۰). بروز کانسره‌های پوستی غیرملانومایی در کل جهان در حال افزایش است (۱۱).

در کل، کانسره‌های پوستی غیرملانومایی در مردان شیوع بیش تری دارند. در گروه‌های سنی جوان تر این کانسره‌ها در زنان بیش تر دیده می‌شود، در صورتی که بعد از ۴۵ - ۳۵ سالگی، نسبت ابتلا مرد به زن ۲ برابر می‌شود. این کانسره‌ها قبل از ۴۰ سالگی نادرند (۱۲). در مطالعه اخیر نیز نتایج مشابه به دست آمد. تمام بیماران، بالاتر از ۴۰ سال بودند و نسبت ابتلای مرد به زن ۱/۷ بود.

به هم خوردن تنظیم مسیر Hh برای ایجاد BCC یک اختلال سلولی ضروری است. شواهد اخیر نشان می‌دهد که به هم خوردن تنظیم این مسیر به تنهایی و به طور مستقیم می‌تواند از کراتینوسیت‌های نرمال، BCC ایجاد کند.

این می‌تواند، این یافته را توجیه کند که خلاف کارسینوم سلول سنگفرشی و ملانوم بدخیم، BCC ضایعه پیش‌ساز مشخصی ندارد (۱۳). در مطالعه حاضر، در ۳۱ مورد (۸۱/۶ درصد) بروز پروتئین Gli1 دیده شد. بروز بالای پروتئین Gli1 در این مطالعه، با مطالعه‌های قبلی (۱۴ و ۱۵) هم خوانی دارد و نشان گر نقش مهم این پروتئین در پاتوژنز این کارسینوم است.

در مطالعه آقای Dahman میزان بروز پروتئین Gli1 بالاتر بود. علت این امر ممکن است، ثابت شدن زیاده از حد نمونه‌های بافتی با فرمالین در مطالعه پیش رو باشد که موجب کسب منفی کاذب شده است.

فولیکول‌های مو در انسان پروتئین Gli1 را نشان می‌دهد (فولیکول‌های مو در انسان به طور نرمال سیگنال Shh را طی فاز رشد خود فعال می‌کند)، لذا BCC می‌تواند از تغییر شکل بدخیم این سلول‌ها ایجاد شود. هم چنین BCC از سلول‌های

بازال غیر فولیکولار نیز ایجاد می‌شود که به طور نا به جا پروتئین Gli1 را نشان می‌دهند (۱۴).

Gli1 یک فاکتور رونویسی از DNA است (۶)، لذا انتظار می‌رود که در هسته دیده شود. مطالعه ما این مطلب را تأیید کرد. در اغلب نمونه‌ها این پروتئین در هسته دیده شد و سیتوپلاسم برای این پروتئین رنگ نگرفت یا به میزان بسیار جزئی رنگ گرفت. در ۴ نمونه، نواحی کانونی از رنگ آمیزی سیتوپلاسم، علاوه بر رنگ آمیزی هسته نیز دیده شد. جالب است که گفته شود، مطالعه اخیر، اولین مطالعه‌ای است که موقعیت غالب هسته‌ای Gli1 را با روش ایمونوهیستوشیمی نشان داده است. در مطالعه‌های قبلی، پروتئین Gli1 عمدتاً در سیتوپلاسم دیده می‌شد (۱۶-۱۴).

پروتئین Gli1 فقط در بافت تومورال دیده شد و در استرومای اطراف تومور دیده نشد. Ghali و همکارانش نیز نتایج مشابه‌ای به دست آوردند. آن‌ها اظهار کردند محدود بودن Gli1 به جزایر توموری در BCC این نظریه را که بروز Gli1 به علت تغییرهایی در استرومای اطراف تومور است، رد می‌کند (۱۵) بیش ترین تراکم Gli1 در قسمت‌های محیطی جزایر توموری دیده شد. در این نواحی فعالیت تکثیری بالاتر است و موید نقش مهم این پروتئین در تکثیر سلول‌های بازال در BCC است. در مطالعه Green و همکارانش، Gli1 در نواحی محیطی جزایر توموری تراکم بیش تری نداشت (۳) ولی نتایج Dahman و همکارانش شبیه مطالعه پیش رو بود (۱۴).

یکی از اهداف این مطالعه بررسی بروز پروتئین Gli1 در انواع بافت شناسی BCC و تعیین ارتباط بین نوع بافت شناسی این کارسینوم و میزان بروز پروتئین Gli1 بود. میزان بروز پروتئین Gli1 در انواع مهاجم (انفیلتراتیو و ندولوانفیلتراتیو) بالاتر بود. مطالعه حاضر، اولین مطالعه‌ای است که این موضوع را نشان داده است. Dahman و همکارانش بین میزان بروز پروتئین Gli1 و مهاجم تومور ارتباطی پیدا نکردند (۱۴). از آن

موتاسیون در PTCH می‌شود، موتاسیون‌های PTCH که ناشی از نور خورشید هستند، فقط در ۴۰-۳۰ درصد موارد اسپورادیک BCC دیده می‌شود (۲ و ۱). لذا ممکن است وقایع موتاژنیک دیگری به جز نور خورشید سبب غیرفعال شدن PTCH و القا تومور شود. این یافته، با مطالعه‌های اپیدمیولوژیک که نشان دهنده ی ارتباط ضعیف بین UVB و بروز BCC (خلاف ارتباط خوب بین UVB و بروز کارسینوم سلول سنگفرشی) هم خوانی دارد (۲).

در این مطالعه بین بروز پروتئین Gli1 و رادیوتراپی با اشعه X ارتباط قابل توجهی به دست نیامد. Mancuso و همکارانش اظهار کردند ژن PTCH1 یک هدف مهم رادیوتراپی است (۱۸). لذا برای روشن شدن این اختلاف، مطالعه‌های بیش تری توصیه می‌شود.

بروز پروتئین Gli1 در انواع راجعه BCC بالاتر نبود. از آن جا که تعداد موارد راجعه کم بود، برای تأیید این مطلب مطالعه‌های وسیع تری لازم است.

به طور خلاصه، درصد بروز پروتئین Gli1 در BCC، بالاست و این نشان گر نقش مهم پروتئین Gli1 در ایجاد این کارسینوم است. موقعیت هسته‌ای پروتئین Gli1 که با رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان داده شد، تأیید کننده فعالیت رونویسی این پروتئین است.

میزان بروز بالاتر پروتئین Gli1 در انواع مهاجم BCC یافته‌ای است که باید به کمک مطالعه‌های دیگر تأیید شود و در صورت تأیید، بروز این پروتئین در تعیین پروگنوز تومور کمک کننده است. هم چنین به علت بروز زودرس این پروتئین در BCC، از آن می‌توان به عنوان یک وسیله تشخیصی و به عنوان یک هدف برای عوامل درمانی استفاده کرد.

جا که پروتئین Gli1 یک فاکتور نسخه‌برداری است، بروز آن در انواعی از BCC که فعالیت تکثیری بیش تری دارند بالاتر است. میزان مهاجم BCC به کمک رفتار بالینی و پاتولوژیک آن تعیین می‌شود، لذا برای تعیین میزان مهاجم تومور، ویژگی‌های پاتولوژیک به تنهایی کافی نیست. بنابراین برای تعیین رابطه بین میزان بروز پروتئین Gli1 و رفتار تومور مطالعه‌های بیش تری توصیه می‌شود.

در بروز پروتئین Gli1 بین زن و مرد تفاوتی دیده نشد. Mancuso و همکارانش نقش هورمون‌های استروئیدی در ایجاد BCC را بیان کردند. آن‌ها اظهار کردند، ژن Patched 1 در پاسخ هورمون‌های استروئیدی مثل استروژن و پروژسترون نقش دارد (۱۸). برای بررسی ارتباط بین جنسیت و موتاسیون‌های سیر PTCH مطالعه‌های بیش تری نیاز است.

ارتباطی بین سن بیماران و بروز پروتئین Gli1 پیدا نشد. این مقوله در مطالعه‌های قبلی نیز بیان نشده است.

در حدود ۸۰ درصد موارد BCC در سر و گردن قرار دارد (۱۹). در مطالعه حاضر این مورد نیز تأیید شد. اغلب موارد تومور (۷۳/۹۴ درصد) در سر و گردن دیده شد.

شایع‌ترین محل‌ها پلک و بعد بینی بود. میزان بروز پروتئین Gli1 در محل‌های آناتومیک مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. Dahman و همکارانش نیز نتیجه مشابهی را یافتند (۱۴).

علت این امر ممکن است مجاور هم بودن این محل‌های آناتومیک باشد که سبب می‌شود فاکتورهای تحریک کننده مشابه بر آن‌ها اثر کند.

در مطالعه اخیر، تابش نور ماورا بنفش اثر قابل توجهی بر بروز پروتئین Gli1 نداشت. اگرچه نور خورشید موجب

## References

- 1-Holikova Z, Massi D, Lotti T, et al. Insight into the pathogenesis of the sporadic basal cell carcinoma. *Int J Dermatol* 2004 ; 43:866-69.
- 2-Lacour JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetics and molecular mechanisms. *Br J Dermatol* 2002 ;146 (Suppl 61) :17-19.
- 3-Green J, Leigh IM, Poulson R, et al. Basal cell carcinoma development is associated with induction of the expression of the transcription factor Gli-1. *Br J Dermatol* 1998;139:911-15.
- 4-Nagano T, Bito T, Kallassy M, et al. Overexpression of the human homologue of *Drosophila* patched (PTCH) in skin tumours: specificity for basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 1999;140 :287-90.
- 5-Baily E, Milenkovic L, Scott M, et al. Several PATCHED1 missense mutations display activity in patched 1-deficient fibroblasts. *J Biol Chem* 2002; 277: 33632-40.
- 6-Nilsson M, Unden AB, Krause D, et al. Induction of basal cell carcinoma and trichoepitheliomas in mice overexpressing GLI-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3438-43.
- 7-Athar M, Tang X, Lee JL, et al. Hedgehog signalling in skin development and cancer. *Exp Dermatol* 2006 ;15 :667-77.
- 8-Rahnama F, Shimokawa T, Lauth M, et al. Inhibition of GLI-1 gene activation by Patched1. *Biochem J* 2006; 394:19- 26.
- 9-Cui C, Elsam T, Tian Q, et al. Gli 1 proteins up-regulate the expression of basonuclin in basal cell carcinoma. *Cancer Res* 2004 ; 64: 5651-58.
- 10-Tilli C, Steensel M, Krekels G, et al. Molecular aetiology and pathogenesis of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2005;152:1108-24.
- 11-Tran H, Chen K, Shumack S. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2003; 149 (Suppl 66): 50-52.
- 12-Demers A, Nugent Z, Mihalciou C, et al. Trends of nonmelanoma skin cancer from 1960 through 2000 in a Canadian population. *J Am Acad Dermatol* 2005 ;53 :320-28.
- 13-Saldanha G, Fletcher A, Slater DN. Basal cell carcinoma: dermatopathological and molecular biological update. *Br J Dermatol* 2003; 148:195-202.
- 14-Dahman N, Lee J, Robins P, et al. Activation of transcription factor Gli 1 and sonic hedgehog signaling pathway in skin tumours. *Nature* 1997;389:876-81.
- 15-Ghali L, Tee Wong S, Green J, et al. Gli 1 protein is expressed in basal cell carcinoma, outer root sheath keratinocytes and a subpopulation of mesenchymal cells in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 595-99.
- 16-Zedan W, Robinson PA, Markham AF, et al. Expression of the sonic hedgehog receptor Patched in basal cell carcinomas and odontogenic keratocysts. *J Pathol* 2001;194:473-77.
- 17-Reasch BA, Buettner PG, Garbe C. Basal cell carcinoma: histological classification and body site distribution. *Br J Dermatol* 2006 ;155 :401-7.
- 18-Mancuso M, Pazzaglia S, Tanori M, et al. Basal cell carcinoma and its development: Insights from radiation-induced tumors in Patch1-deficient mice. *Cancer Res* ;2004 :934-41.



19-Strange RC, EL-Genidy N, Ramachandran S, et al. Susceptibility to basal cell carcinoma: association with PTCH polymorphisms. *Ann Hum Genet* 2004; 68: 536-42.