

EXPRESSION OF HISTONE DEACETYLASE 2 IN SPITZ  
TUMORS OF THE SKIN*EKSPRESIJA HISTON DEACETILAZE 2 U SPITZ  
TUMORIMA KOŽE*Ljubica Bakić<sup>1</sup>, Marko Barović<sup>1</sup>, Filip Milisavljević<sup>1</sup>, Martina Bosić<sup>2</sup><sup>1</sup> University of Belgrade, Faculty of Medicine, Serbia<sup>2</sup> Mentor: University of Belgrade, Faculty of Medicine, Institute of Patology, Serbia

Correspondence: ljubica\_993@hotmail.com

## ABSTRACT

**Introduction:** Atypical Spitz nevi are an important diagnostic problem in dermatopathology. The lack of clear histological criteria and reliable immunohistochemical markers makes their further determination toward Spitz nevus, benign tumor, or Spitzoid melanoma difficult. Expression of histone deacetylase 2 (HDAC2) in Spitz tumors has not been studied so far.

**Aim:** To determine level of expression of HDAC2 in Spitz tumors and to examine differences in the expression of HDAC2 related to clinical (sex and age of patients, localization and tumor size) and histopathological parameters (histological type, thickness, depth of invasion and mitotic activity).

**Material and methods:** The study included 78 cases with histopathological Spitz nevus diagnoses, atypical Spitz nevus, superficial atypical Spitz nevus and Spitzoid melanoma. The samples were stained using immunohistochemistry and anti-HDAC2 antibodies. HDAC2 expression was analyzed in three components of the tumor (epidermal, superficial and deep dermal) in relation to the clinical and histopathological characteristics.

**Results:** High expression of HDAC2 (>74%) was generally observed in Spitz tumors. HDAC2 expression was not associated with different clinical parameters. We found moderately strong positive correlation between the components of the tumor: epidermal and superficial dermal ( $r=0.53$ ;  $p=0.004$ ), epidermal and deep dermal ( $r=0.60$ ;  $p=0.04$ ), superficial and deep dermal ( $r=0.68$ ;  $p<0.001$ ). No difference in the HDAC2 expression was found between histological types of Spitz tumors. Also, HDAC2 expression was not associated with different histological prognostic parameters in Spitzoid melanoma.

**Conclusion:** The expression of HDAC2 in Spitz tumors is high and homogeneous throughout. HDAC2 expression is not associated with different histological types of Spitz tumors.

**Keywords:**Spitz nevus;  
Atypical Spitz nevus;  
Spitzoid melanoma;  
histone deacetylase

## SAŽETAK

**Uvod:** Atipični Spitz nevusi predstavljaju značajan dijagnostički problem u dermatopatologiji. Nepostojanje jasnih histoloških kriterijuma i pouzdanog imunohistohemijskog markera otežava njihovo dalje određivanje prema Spitz (Spitz) nevusu, benignom tumoru i spitzoidnom melanomu. Značaj ekspresije histon deacetilaze 2 (HDAC2) u Spitz tumorima do sada nije ispitivan.

**Cilj:** Utvrditi nivo ekspresije HDAC2 u Spitz tumorima i ispitati razlike u ekspresiji u odnosu na kliničke (pol i starost pacijenata, lokalizacija i veličina tumora) i histopatološke parametre (histološki tip, debljina, dubina invazije i mitotska aktivnost).

**Materijal i metode:** Istraživanjem je obuhvaćeno 78 slučajeva sa histopatološkim dijagnozama Spitz nevusa, atipičnog Spitz nevusa, superficijalnog atipičnog Spitz nevusa i spitzoidnog melanoma. Uzorci su bojeni imunohistohemijskom metodom, uz upotrebu anti-HDAC2 antitela. Ekspresija HDAC2 je analizirana unutar tri komponente tumora (epidermalna, površna i duboka dermalna) u odnosu na kliničke i histopatološke karakteristike.

**Rezultati:** U uzorcima Spitz tumora primećena je uglavnom visoka ekspresija HDAC2 (> 74%). Razlike u ekspresiji u odnosu na kliničke parametre nisu uočene. Uočena je umereno jaka pozitivna korelacija među komponentama tumora: epiderma i površnog derma ( $r = 0,53$ ;  $p = 0,004$ ), epiderma i dubokog derma ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,04$ ), kao i površnog i dubokog derma ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,001$ ). Nije uočena razlika u ekspresiji HDAC2 među histološkim tipovima Spitz tumora, niti je ekspresija bila povezana sa histološkim prognostičkim parametrima spitzoidnih melanoma.

**Zaključak:** Ekspresija HDAC2 u Spitz tumorima je visoka i homogena u svim delovima tumora. Ne postoji značajna razlika u ekspresiji HDAC2 među različitim histološkim tipovima Spitz tumora.

### Ključne reči:

Spitz nevus,  
atipični Spitz nevus,  
spitzoidni melanom,  
histon deacetilaza

## UVOD

Spitz tumore je prvi put opisala 1948. godine Sofi Spitz (*Sophie Spitz*). Ona ih je, zbog atipičnog i specifičnog histološkog izgleda i benignog biološkog ponašanja, nazvala benigni juvenilni melanom (1). Klasični Spitz nevusi se histološki odlikuju simetrijom, jasnim granicama, češćom pojavom epidermalne hiperplazije, Kamino telima i junkcionalnim rascepima, kao i sazrevanjem u dubljim delovima tumora (2). Prisustvo istanjenog epiderma ili ulceracije, dubokog i infiltrativnog rasta, povećane mitotske aktivnosti (naročito dubokih i atipičnih mitoz) i gubitak sazrevanja ukazuju na dijagnozu spitzoidnog melanoma (3). Prisustvo samo nekih od histoloških karakteristika melanoma u Spitz tumoru dovelo je do formiranja grupe atipičnih Spitz nevusa (2). Interpretacija histoloških karakteristika je relativno subjektivna, pa se na osnovu njih ne može precizno predvideti biološko ponašanje atipičnih Spitz nevusa. Primena imunohistohemije se nametnula kao potencijalno objektivnija metoda, kojom bi se u grupi atipičnih Spitz nevusa jasnije identifikovali Spitz nevusi i spitzoidni melanomi.

Imunohistohemijskim ispitivanjem primećeno je da je ekspresija Ki-67 najviša u melanomima, zatim u atipičnim Spitz nevusima, a najmanja u Spitz nevusima (4). Spitz nevusi imaju veću ekspresiju HMB-45 u površnim delovima lezije, dok melanomi imaju veću ekspresiju HMB-45 u dubokom dermu (5). Uočeno je i da je ekspresija S100 u Spitz nevusima slabija i difuzna u odnosu na melanome (6). Trenutno, ipak, nijedan marker nije dovoljno diskriminativan u dijagnozi Spitz tumora i određivanju

njegovog biološkog ponašanja (2).

Danas je za predviđanje biološkog potencijala u atipičnim Spitz nevusima u upotrebi i utvrđivanje delecije 9p21 uz pomoć fluorescentne in situ hibridizacije (FISH) (7). Ova metoda je, međutim, skupa i nedostupna određenim centrima, pa ostaje nada da će se prepoznati imunohistohemijski marker koji će pouzdano odrediti biološko ponašanje lezije.

Histon deacetilaza 2 (HDAC2) je enzim iz velike familije HDAC proteina koji uklanjaju acetilne grupe sa histona i nehistonskih proteina, što vodi kondenzaciji hromatina i posledičnoj represiji transkripcije (8). Aberantna aktivacija HDAC2 uzrokuje represiju regulatornih gena proliferacije, diferencijacije, angiogeneze, invazije, migracije i metastaziranja tumorskih ćelija (9). Povećana ekspresija HDAC2 je utvrđena u različitim humanim neoplazmama (10-19). Danas su u kliničkoj primeni inhibitori HDAC u terapiji leukemija, dok je još uvek u toku njihovo kliničko testiranje u terapiji karcinoma (20). Značaj HDAC2 ekspresije u dijagnostici pojedinih tipova Spitz tumora, kao i njen prognostički značaj u spitzoidnim melanomima, do sada nisu ispitivani.

Cilj ovog rada je ispitivanje nivoa ekspresije HDAC2 u Spitz tumorima, kao i utvrđivanje razlika u ekspresiji u odnosu na kliničke i histopatološke parametre.

## MATERIJAL I METODE

U istraživanju su korišćeni uzorci tkiva iz arhive Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, bioptirani od početka 2000. do kraja 2015.

godine. Ukupno je analizirano 78 slučajeva, od kojih je 41 slučaj bio sa histopatološkom dijagnozom *Spitz* nevusa, 15 slučajeva sa histopatološkom dijagnozom atipičnog *Spitz* nevusa, 11 slučajeva sa histopatološkom dijagnozom superficijalnog atipičnog *Spitz* nevusa i 11 slučajeva sa histopatološkom dijagnozom spitzoidnog melanoma. U **tabeli**

**1** su prikazane osnovne kliničke karakteristike pacijenata (pol i starost, lokalizacija i veličina tumora). Za spitzoidne melanome su izdvojeni histopatološki podaci o debljini po Breslou (prosečno  $2,91 \pm 2,09$  mm), broju mitozama (prosečno  $2,64 \pm 1,96$ ) i dubini invazije po Klarku (po jedan slučaj dubine I, II i V, kao i 7 slučajeva IV nivoa).

**Tabela 1.** Osnovne kliničke karakteristike pacijenata

KLINIČKE KARAKTERISTIKE		Spitz nevus	Atipični SN	Superficijalni atipični SN	Spitzoidni melanom	UKUPNO N (%)
pol	muški	18	6	3	2	29 (37,2)
	ženski	23	9	8	9	49 (62,8)
starost (god)	≤10	14	2	6	1	23 (29,5)
	10-20	8	5	3	4	20 (25,6)
	>20	19	8	2	6	35 (44,9)
lokalizacija	glava	9	4	0	1	14 (17,9)
	trup	5	0	0	1	6 (7,7)
	ruke	14	5	4	2	25 (32,1)
	noge	12	6	7	7	32 (41,0)
	nepoznato	1	0	0	0	1 (1,3)
veličina tumora	≤4 mm	11	4	2	1	18 (23,1)
	4-10 mm	26	8	8	8	50 (64,1)
	>10 mm	4	2	1	2	9 (11,5)
	nepoznato	0	1	0	0	1 (1,3)

\* SN – Spitz (*Spitz*) nevus

Tokom imunohistohemijske procedure iz parafin-skih kalupa su sečeni preseći debljine 4 do 5  $\mu$ m, a pločice su ostavljene da se suše 120 min na 60 °C. Uzorci su deparafinirani upotrebom ksilola i hidratirani etanolom opadajuće koncentracije. Demaskiranje antigena je vršeno u citratnom puferu (10mM, pH = 6,0) u mikrotalasnoj pećnici tokom 20 min. Blokiranje endogene peroksidaze je vršeno pomoću 3% vodonik-peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) tokom 15 min. Primarno zečije, monoklonalno anti-HDAC2 antite- lo (ab32117; *Abcam, Cambridge, MA, USA*) primenjeno je u razblaženju 1:500 na 4 °C preko noći. Imunohistohe- mijska reakcija vizualizovana je UltraVision LP sistemom za detekciju (*Lab Vision, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA*). Kao hromogen je korišćen 3-amino-9-etilkarbazol (AEC). Isečci su kontrastno bojani Majerovim (*Mayer*) hematoksilinom. Pločice su pokrивane uz pomoć vodenog medijuma. Kao unutrašnja pozitivna kontrola korišćene su epitelne ćelije kože, a kao negativna limfociti.

Za analizu su korišćene digitalne slike dobijene pomoću Leica DM4000 B LED mikroskopa na uveličanju 200 puta, sa digitalnom kamerom Leica DFC29, uz pomoć Leica Application Suite (LAS, v4.4.0) programskog sistema. Zasebno su fotografisana i analizirana tri dela svakog tumora: epidermalni (gnezda i pojedinačne ćelije u epidermu), površni dermalni (jedno vidno polje na uve- ličanju 200 puta od donje ivice epidermalne komponente ili bazalne membrane epiderma ukoliko tumor nije imao epidermalnu komponentu) te i duboki dermalni deo (jed- no polje na uveličanju 200 puta uz donju ivicu tumora).

Birana su polja sa najvećom jedarnom imunopozitivno- šću. Pozitivne i negativne ćelije su brojane manuelno, uz pomoć besplatno dostupnog programa ImageJ ([http:// imagej.nih.gov/](http://imagej.nih.gov/)) na ukupnom broju od 300 ćelija.

Nivo ekspresije HDAC2 je izračunat kao količnik između broja pozitivnih ćelija i ukupnog broja ćelija i izražen je u procentima za svaku komponentu prisutnu u tumoru (epidermalna, površna dermalna i duboka dermalna kom- ponenta).

Analizirane su razlike nivoa HDAC2 ekspresije u odnosu na pol i starost pacijenata, lokalizaciju, veličinu i histopatološki tip tumora. U spitzoidnim melanomima su dodatno analizirane razlike u nivoima HDAC2 ekspresije u odnosu na histološke prognostičke parametre (debljina po Breslou, dubina invazije po Klarku, broj mitozama). Za statističku analizu su korišćeni t-test, ANOVA i Pirsonov test korelacije. Vrednosti  $p < 0,05$  smatrane su statistički značajnim. U obradi i analizi rezultata korišćen je pro- gram SPSS, verzija 21.0 za Windows.

## REZULTATI

Tokom analize obima imunopozitivnosti prime- ćena je uglavnom visoka ekspresija HDAC2. Uočena je tendencija pada obima imunopozitivnosti od epidermal- ne komponente ( $82,87 \pm 12,60$ ), preko površne dermalne ( $79,83 \pm 15,33$ ) do duboke dermalne komponente tumora ( $74,08 \pm 15,31$ ).

Analizom obima imunopozitivnosti nisu uočene

**Tabela 2.** Ekspresija HDAC2 u odnosu na kliničke karakteristike pacijenata

KLINIČKE KARAKTERISTIKE		NIVO EKSPRESIJE HDAC2 (x±sd) [%]		
		epiderm	površni derm	duboki derm
pol	muški	83,88±10,19	78,31±15,29	72,69±10,47
	ženski	82,30±13,91	80,73±15,49	75,05±18,11
	p-vrednost	p=0,68	p=0,56	p=0,64
starost (god)	≤10	84,656,89±	78,9317,32±	73,9914,00±
	10-20	80,1115,10±	82,1712,85±	73,688,33±
	>20	83,2814,75±	78,8616,10±	74,3619,15±
	p-vrednost	p=0,63	p=0,76	p=0,99
lokalizacija	glava	86,78±9,13	87,79±8,62	75,38±11,15
	trup	78,85±22,98	80,10±15,77	72,27±14,28
	ruke	80,54±15,68	78,92±18,55	71,27±22,68
	noge	84,06±10,44	75,81±15,37	76,48±13,68
	p-vrednost	p=0,73	p=0,15	p=0,87
veličina tumora	≤4 mm	79,13±19,38	76,86±15,40	68,30±10,70
	4-10 mm	84,79±9,74	79,48±16,02	73,58±16,75
	>10 mm	79,45±10,18	89,05±5,64	82,15±9,44
	p-vrednost	p=0,73	p=0,26	p=0,29

HDAC2 - Histone deacetylaza 2 \*

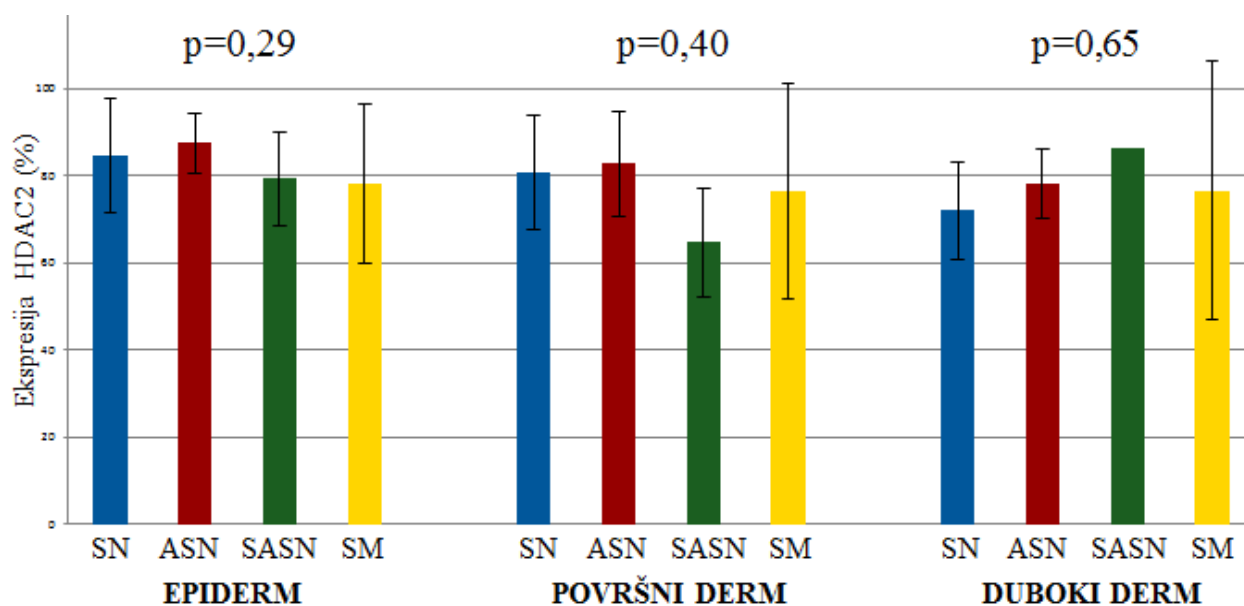
razlike u odnosu na pol i starost pacijenata, kao ni u odnosu na lokalizaciju i veličinu tumora (**tabela 2**).

Dalje je analizirana ekspresija HDAC2 u različitim tipovima *Spitz* tumora (**grafikon 1**). U atipičnim *Spitz* nevusima uočena je najviša ekspresija HDAC2 u epidermalnoj (prosečno  $87,36 \pm 6,89$ ) i površnoj dermalnoj komponenti tumora (prosečno  $80,64 \pm 12,96$ ) (**slika 1a-b**). Ekspresija HDAC2 duboke dermalne komponente tumora superficijalnog atipičnog *Spitz* nevusa bila je viša nego prosečne vrednosti ostalih histoloških tipova (86,40), ali je postojao samo jedan slučaj ovog tumora sa dubokom dermalnom komponentom. Najviše vrednosti ekspresije HDAC2 i velika varijabilnost ekspresije u dubokoj der-

malnoj komponenti pokazane su u spitzoidnim melanomima (**slika 1c**). Uočene razlike u ekspresiji HDAC2 među histološkim tipovima nisu bile značajne.

Uočena je umereno jaka pozitivna korelacija između obima imunopozitivnosti epidermalne i površne dermalne komponente tumora ( $r = 0,53$ ;  $p = 0,004$ ), epidermalne i duboke dermalne komponente tumora ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,04$ ), kao i površne i duboke dermalne komponente tumora ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,001$ ).

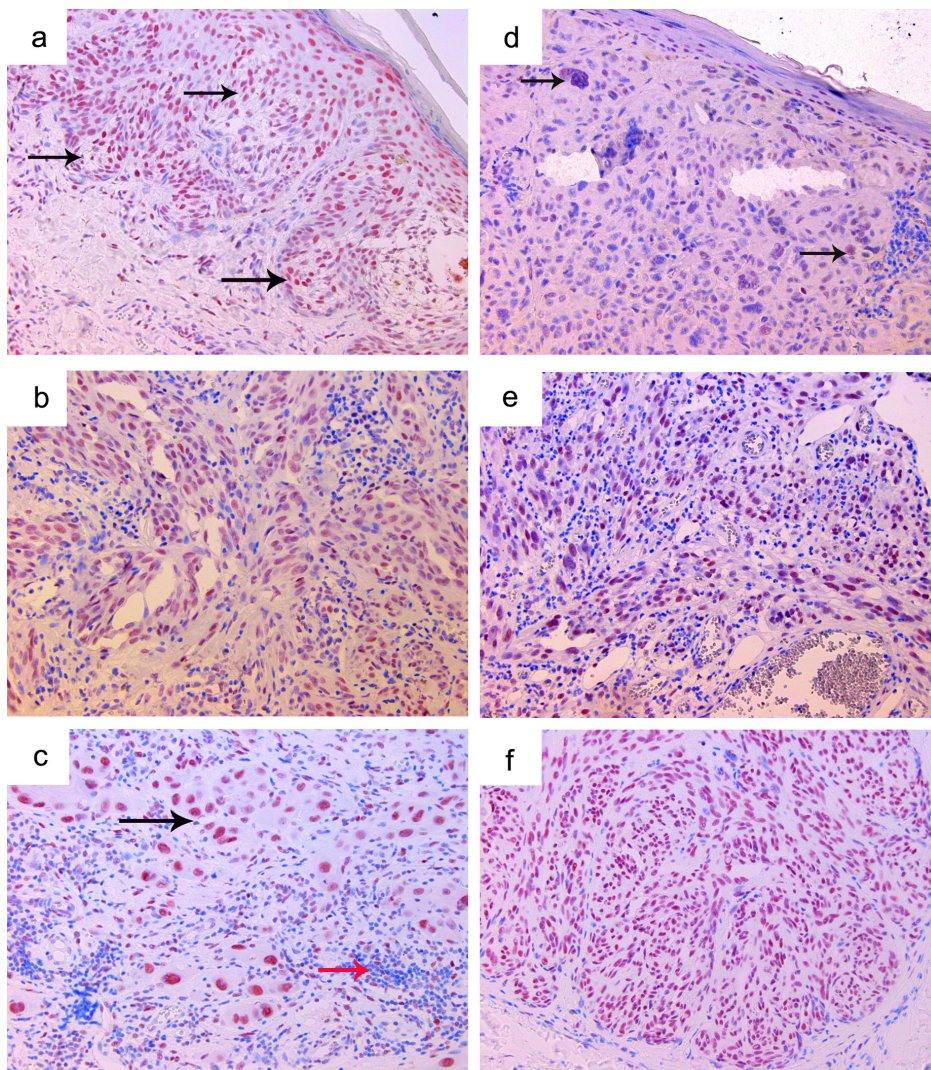
Analizom ekspresije HDAC2 u spitzoidnim melanomima uočena je viša ekspresija HDAC2 u površnoj i dubokoj dermalnoj komponenti melanoma debljih od 4 mm nego u tanjim melanomima (**slika 1d-f**), ali razlika

**Grafikon 1.** Ekspresija HDAC2 u komponentama različitih histoloških tipova Spitz tumora

**Tabela 3.** Ekspresija HDAC2 u spitzoidnim melanomima u odnosu na histološke prognostičke parametre

HISTOLOŠKI PROGNOŠTIČKI PARAMETRI		NIVO EKSPRESIJE HDAC2 (x±sd)		
		epiderm	površni derm	duboki derm
debljina po Breslow-u	≤1 mm	88,75±0,21	70,10	
	1-2 mm	50,65±5,02	63,80±22,49	
	2-4 mm	83,90±2,69	60,63±33,38	62,43±43,14
	>4 mm	88,90±15,70	96,28±4,13	87,20±12,12
	p-vrednost	p=0,06	p=0,23	p=0,31
dubina invazije po Clark-u	I	88,90	70,10	
	II	88,60	70,10	
	IV	72,98±22,02	73,09±28,17	68,56±31,96
	V		99,70	96,90
	p-vrednost	p=0,71	p=0,68	p=0,46
mitotska aktivnost	Pearson korelacija	r=-0,01; p=0,99	r=0,40; p=0,25	r=0,30; p=0,52

HDAC2 - Histon deacetilaza 2



**Slika 1.** Ekspresija HDAC2 u Spitz tumorima; a, b) visoka ekspresija u epidermalnoj i površnoj dermalnoj komponenti u atipičnom Spitz nevusu; c) visoka ekspresija u dubokoj dermalnoj komponenti u spitzoidnom melanomu; d) niža ekspresija u površnoj dermalnoj komponenti melanoma debljine manje od 4 mm; e, f) visoka ekspresija u površnoj i dubokoj dermalnoj komponenti u spitzoidnim melanomima debljine veće od 4 mm; crnom strelicom su označene HDAC2 pozitivne tumorske ćelije u epidermalnim ili dermalnim gnezdim; crvenom strelicom su označeni HDAC2 negativni limfociti (uveličanje 200 puta).

u HDAC2 ekspresiji u odnosu na debljinu tumora i dubinu invazije nije bila značajna. Nije uočena ni značajna korelacija HDAC2 ekspresije sa mitotskom aktivnošću u melanomu (**tabela 3**).

## DISKUSIJA

*Spitz* tumori su relativno retki u humanoju populaciji, naročito kod odraslih. Spitzoidni melanomi čine oko 10% ovih tumora (21). Jasno razlikovanje benignih tumora od spitzoidnih melanoma na osnovu histoloških karakteristika nije uvek jednostavno (2, 3). Ekspresija HDAC2 je do sada ispitivana u nekoliko humanih neoplazmi (10-19), ali njena ekspresija, kao i dijagnostički i prognostički značaj, nisu ispitivani u *Spitz* tumorima.

Tokom našeg istraživanja ustanovili smo da postoji uglavnom visoka ekspresija HDAC2 u *Spitz* tumorima (u proseku > 74%). Visoke vrednosti ekspresije HDAC2 ranije su uočene i u kolorektalnom karcinomu (95%) (14) i astrocitnim gliomima (84,4%) (22).

Ekspresija HDAC2 u ispitanim *Spitz* tumorima nije se razlikovala u odnosu na pol i starost pacijenata, kao ni u odnosu na lokalizaciju i veličinu tumora. Ranija analiza HDAC2 ekspresije u adenomima i karcinomima kolona nije pokazala razliku u odnosu na pol, starost i anatomsku lokalizaciju (23). Čang (*Chang*) i njegovi saradnici su, međutim, uočili da je ekspresija HDAC2 povišena u većim oralnim skvamocelularnim karcinomima, kao i u tumorima lokalizovanim na jeziku (10).

Istraživanja u drugim tumorima su pokazala razlike u HDAC2 ekspresiji između malignih i benignih varijanti tumora. Ekspresija HDAC2 u normalnom epitelu i adenomima debelog creva manja je nego u karcinoma debelog creva (23). Slično je uočeno i između oralnih epitelnih displazija i oralnog skvamocelularnog karcinoma (10), kao i benignih i malignih tumora štitaste žlezde (11). Naši nalazi ekspresije HDAC2 u različitim tipovima *Spitz* tumora ne ukazuju, međutim, na postojanje razlika između benignih, atipičnih i malignih tumora. Ovakav rezultat je možda posledica činjenice da nisu svi tumori imali sve tri komponente (epidermalnu, površnu i duboku dermalnu), zbog čega je poređen relativno mali broj slučajeva. Ranije je pokazano da su nivoi ekspresije HDAC2 u visokog stepena (engl. *high-grade*) prostatičnoj intraepitelnoj neoplaziji (engl. *high-grade PIN*) slični nivoima u karcinomu prostate, te da bi prekomerna ekspresija HDAC2 mogla da bude rani događaj u kancerogenezi tumora prostate (24). Moguće je da je slična pojava prisutna i u *Spitz* tumorima.

Uočena je umereno jaka pozitivna korelacija između obima imunopozitivnosti pojedinih komponenti tumora, što govori u prilog tome da su *Spitz* tumori, što se tiče ekspresije HDAC2, homogeni. Homogenost ekspresije HDAC2, kao i njen značaj, do sada nisu ispitivani u drugim tumorima.

Ekspresija HDAC2 u spitzoidnim melanomima nije se razlikovala u odnosu na debljinu i dubinu invazije tumora, što je verovatno posledica malog ispitivanog

uzorka (11 melanoma).

Du i saradnici su, međutim, na karcinomima žučne kese pokazali povezanost HDAC2 ekspresije sa dubinom invazije (16). Osim toga, u oralnim skvamocelularnim tumorima (SCC) najveća ekspresija uočena je u tumorima koji su infiltrirali kost ili mastikatorne mišiće (10).

Iz svega izloženog može se zaključiti da je ekspresija HDAC2 u *Spitz* tumorima visoka i homogena u svim komponentama tumora (epidermalnoj, površnoj i dubokoj dermalnoj). Ne postoji značajna razlika u ekspresiji HDAC2 među različitim histološkim tipovima *Spitz* tumora, kao ni u odnosu na histološke prognostičke parametre melanoma.

## LITERATURA

1. Spitz S. Melanomas of childhood. *Am J Pathol.* 1948; 24:591-609.
2. Luo S, Sepehr A, Tsao H. Spitz nevi and other Spitzoid lesions: Part I. Background and Diagnoses. *J Am Acad Dermatol.* 2011; 65(6): 1073-1084.
3. Requena C, Botella R, Nagore E. Characteristics of spitzoid melanoma and clues for differential diagnosis with spitz nevus. *Am J Dermatopathol.* 2012; 34(5):478-86.
4. Kapur P, Selim MA, Roy LC, Yegappan M, Weinberg AG, Hoang MP. Spitz nevi and atypical Spitz nevi/tumors: a histologic and immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 2005; 18:197-204.
5. Harvell JD, Bastian BC, LeBoit PE. Persistent (recurrent) Spitz nevi: a histopathologic, immunohistochemical, and molecular pathologic study of 22 cases. *Am J Surg Pathol.* 2002; 26:654-61.
6. Rode J, Williams RA, Jarvis LR, Dhillon AP, Jamal O. S100 protein, neurone specific enolase, and nuclear DNA content in Spitz naevus. *J Pathol.* 1990; 161:41-5.
7. Yazdan P, Cooper C, Sholl LM et al. Comparative analysis of atypical spitz tumors with heterozygous versus homozygous 9p21 deletions for clinical outcomes, histomorphology, BRAF mutation, and p16 expression. *Am J Surg Pathol.* 2014; 38(5):638-645.
8. Cress WD, Seto E. Histone deacetylases, transcriptional control, and cancer. *J Cell Physiol.* 2000; 184:1-16.
9. Mehdi O, Françoise S, Sofia CL et al. HDAC gene expression in pancreatic tumor cell lines following treatment with the HDAC inhibitors panobinostat (LBH589) and trichostatin (TSA). *Pancreatol.* 2012; 12:146-155.
10. Chang HH, Chiang CB, Hung HC, Lin CY, Deng YT, Kuo MYP. Histone deacetylase 2 expression predicts poorer prognosis in oral cancer patients. *Oral Oncology.* 2009; 45:610-614.
11. Giaginis C, Alexandrou P, Delladetsima I, Giannopoulou I, Patsouris E, Theocharis S. Clinical significance of histone deacetylase (HDAC)-1, HDAC-2, HDAC-4, and HDAC-6 expression in human malignant and benign thyroid lesions. *Tumor Biol.* 2014; 35:61-71.
12. Jung KH, Noh JH, Kim JK et al. HDAC2 overexpression confers oncogenic potential to human lung cancer cells by deregulating expression of apoptosis and cell cycle proteins. *J Cell Biochem.* 2012; 113:2167-2177.
13. Song J, Noh JH, Lee JH et al. Increased expression of histone deacetylase 2 is found in human gastric cancer. *APMIS.* 2005; 113(4):264-8.

14. Benard A, Goossens-Beumer IJ, van Hoesel AQ et al. Nuclear expression of histone deacetylases and their histone modifications predicts clinical outcome in colorectal cancer. *Histopathology*. 2015; 66:270–282.
15. Quint K, Agaimy A, Di Fazio P et al. Clinical significance of histone deacetylases 1, 2, 3, and 7: HDAC2 is an independent predictor of survival in HCC. *Virchows Arch*. 2011; 459:129–139.
16. Du X, Zhao H, Zang L et al. Overexpression of Histone Deacetylase 2 Predicts Unfavorable Prognosis in Human Gallbladder Carcinoma. *Pathol. Oncol. Res*. 2013; 19:397–403.
17. Patani N, Jiang WG, Newbold RF, Mokbel K. Histone modifier gene expression profiles are associated with pathological and clinical outcomes in human breast cancer. *Anticancer Res*. 2011; 31:4115–4125.
18. Hrzenjak A, Moïnfar F, Kremser ML et al. Valproate inhibition of histone deacetylase 2 affects differentiation and decreases proliferation of endometrial stromal sarcoma cells. *Mol Cancer Therapeut*. 2006; 5(9):2203–10.
19. Weichert W. HDAC expression and clinical prognosis in human malignancies. *Cancer Lett*. 2009; 280: 168–76.
20. Spiegel S, Milstien S, Grant S. Endogenous modulators and pharmacological inhibitors of histone deacetylases in cancer therapy. *Oncogene*. 2012; 31:537–551.
21. Lott JP, Wititsuwannakul J, Lee JJ et al. Clinical characteristics associated with Spitz nevi and Spitzoid malignant melanomas: the Yale University Spitzoid Neoplasm Repository experience, 1991 to 2008. *J Am Acad Dermatol*. 2014; 71(6):1077-82.
22. Benito Campos B, Bermejo J L, Han L et al. Expression of nuclear receptor corepressors and class I histone deacetylases in astrocytic gliomas. *Cancer Science* 2011; 102(2): 387-392.
23. Ashktorab H, Belgrave K, Hosseinkhah F et al. Global Histone H4 Acetylation and HDAC2 Expression in Colon Adenoma and Carcinoma. *Dig Dis Sci*. 2009; 54(10):2109–2117.
24. Weichert W, Röske A, Gekeler V et al. Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. *Br J Cancer*. 2008; 98(3):604-10.