

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.02.011

骨巨细胞瘤中 RunX2 表达及对骨质调控的临床研究^{*}

李国威,郭远清,陈 涛,张奎渤,张大卫,于 兵,张荣凯[△]
(中山大学附属第五医院脊柱外科,广东珠海 519000)

[摘要] **目的** 探讨核心结合因子(RunX2)表达与骨巨细胞瘤(GCT)临床病理特征之间的关系。**方法** 选择 GCT 标本 58 例,分别按照肿瘤恶性程度、肿瘤病理分级、是否侵犯软组织及是否伴发病理性骨折分组,应用免疫组织化学染色技术分析并比较 RunX2 在不同组表达水平的差异。**结果** RunX2 在恶性 GCT 组织内的表达水平显著高于良性 GCT 组织($P<0.05$);RunX2 的表达随着 GCT 组织分级的升高而升高($P<0.05$);有软组织侵犯状况的 GCT 组织内的表达 RunX2 水平高于无软组织侵犯 GCT 组织($P<0.05$);而伴发病理性骨折的 GCT 组 RunX2 表达量高于无伴发病理性骨折组($P<0.05$)。**结论** RunX2 的表达量与 GCT 严重程度有关。

[关键词] 核心结合因子类;巨细胞瘤;骨;骨质吸收
[中图法分类号] R738.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)02-0180-03

Clinical study on RunX2 expression in bone giant cell tumor and its regulation on bone^{*}

LI Guowei, GUO Yuanqing, CHEN Tao, ZHANG Kuibo, ZHANG Dawei, YU Bing, ZHANG Rongkai[△]
(Department of Spine Surgery, The Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Zhuhai, Guangdong 519000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between the RunX2 expression and the clinicopathological features in bone giant cell tumor(GCT). **Methods** Fifty-eight specimens of GCT were selected and grouped according to the malignant degree, tumor pathological grade, whether having soft tissue invasion and complicating pathological fracture. Then the immunohistochemical staining technique was used to analyze and compare the difference of RunX2 expression levels among different groups. **Results** The RunX2 expression level in malignant GCT tissues was significantly higher than that in benign GCT tissue($P<0.05$). RunX2 expression level was increased with the GCT tissue histological grade increase($P<0.05$). The expression level RunX2 in GCT tissue with soft tissue invasion was significantly higher than that in the GCT tissue without invasion($P<0.05$); the RunX2 expression level in GCT tissue with complicating pathologic fractures was significantly higher than that in the GCT tissue without complicating pathologic fractures($P<0.05$). **Conclusion** The RunX2 expression level is related to the severity of GCT.

[Key words] core binding factors;giant cell tumor of bone;bone resorption

骨巨细胞瘤(giant cell tumor of bone ,GCT)为常见的原发性骨肿瘤之一,具有较强的侵袭性,极少数有反应性新骨生成及自愈倾向,在大多文献中被描述为“低度恶性或潜在恶性的肿瘤”^[1-2]。但是目前仍缺乏能够反映 GCT 生物学行为的可靠组织学指标。核心结合因子(RunX2)在成骨细胞的分化、软骨细胞成熟和骨基质蛋白形成等过程中起到重要作用^[3-6]。本研究通过检测 GCT 组织中 RunX2 的表达情况,探讨 RunX2 与 GCT 临床病理特征之间的关系,为该病的诊疗和预后评判提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 研究所用标本均取自 2005 年 1—12 月本院病理实验室存档的手术切除肿瘤组织蜡块。选择病历资料齐全的 GCT 标本 58 例,男 31 例,女 27 例,年龄 20~64 岁,平均(35.23±9.63)岁。41 例为原发性肿瘤,17 例既往有肿瘤切除病史,后诊断为肿瘤复发。肿瘤生长部位:颈椎 1 例,胸椎 4 例,腰椎 3 例,股骨 18 例,胫骨 8 例,肱骨 6 例,桡骨 12 例,腓骨、尺骨、掌骨各 2 例。49 例患者首发症状为肿瘤生长区域局

部疼痛,从首发症状开始到手术的中位时间为 11.5(3~65)个月;肿瘤最大直径中位数值为 9.38(2.1~19.2)cm;手术治疗过程,肿瘤病灶刮除手术 34 例,肿瘤整块全部切除手术 19 例,肿瘤分块全切手术 2 例,肿瘤部分切除手术 3 例。

1.2 方法

1.2.1 分组 (1)将 58 例 GCT 患者按照肿瘤性质的良恶性分为两组,比较 RunX2 在良性及恶性 GCT 中表达水平的差异;(2)将 58 例 GCT 患者按照肿瘤病理分级分为 3 组,比较 RunX2 在不同级别 GCT 中的表达水平的差异,并在不同级别之间进行两两比较;(3)将 58 例 GCT 患者按照肿瘤是否侵犯软组织分为两组,比较 RunX2 表达与 GCT 软组织侵犯情况的差异;(4)将 58 例 GCT 患者按照肿瘤是否发生病理性骨折分为两组,比较 RunX2 在两组间的表达水平的差异。

1.2.2 分析 GCT 软组织侵犯情况 磁共振检查设备为 SIE-MENS MAGNETOM CI 磁共振扫描仪,采用体部表面线圈,常规做矢状位 T1WI(TR 350 ms,TE 17 ms,矩阵 256×256)、T2WI(TR 2 200 ms,TE 128 ms,矩阵 256×256)和横断 T2WI

^{*} 基金项目:广东省珠海市科技计划医疗卫生项目(20161027E030050)。 作者简介:李国威(1978—),主治医师,硕士,主要从事脊柱及骨肿瘤研究。 [△] 通信作者, E-mail:13926927979@163.com。

(TR 2 200 ms,TE 128 ms,矩阵 256×256)。

1.2.3 检测 RunX2 在良性及恶性 GCT 中的表达 应用免疫组织化学非生物素二步法(S-P 法),鼠抗人 RunX2(27-K)单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,超敏 SP(鼠/兔)试剂盒与二氨基联苯胺(DAB)酶底物显色试剂盒均购自福州迈新生物技术公司。取患者肿瘤组织蜡块进行切片,厚度 4 μm,按 S-P 法进行实验。染色结果由两位高年资病理科医师进行双盲阅片,RunX2 阳性表达主要定位于细胞核,镜下表现为棕黄色或者黄褐色颗粒。RunX2 表达评价标准:光学显微镜下随机选择 10 个高倍视野,每个高倍视野内计数 100 个肿瘤细胞,依照着色程度深浅(不着色、着色浅、中等着色和着色深者分别评为 0~3 分)与阳性细胞百分率(<5%计 0 分,5%~<25%计 1 分,25%~<50%计 2 分,≥50%计 3 分)的乘积,≤1 分为(—),2~4 分为(+),5~7 者为(++),≥8 分者为(+++)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行数据分析,计数资料用频数或百分率表示,组间比较采用两个独立样本 Mann-Whitney U 非参数检验分析,独立样本间比较先进行 Kruskal Wallis H 检验,利用 Mann-Whitney U 非参数检验分析进行两两比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计意义。

2 结 果

2.1 分析 GCT 软组织侵犯情况 肿瘤的实体部分在 T1WI 上呈较低信号,在 T2WI 上呈混杂的高信号,瘤组织包括基质细胞与多核巨细胞。受累椎体在 T2WI 上显示“囊状”明显高信号,考虑与富含大量血窦有关。椎体若伴有病理骨折的变扁则呈哑铃状,椎体后缘呈球形向后突入椎管内,病灶突破骨皮质显示很清楚,低信号的骨皮质为异常信号的肿瘤组织替代并形成软组织肿块,见图 1。巨细胞瘤侵及椎管及椎旁软组织,累及上下 2 个椎体,Tomita 分型为 6 型。

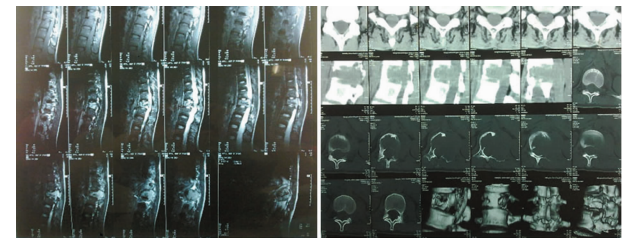


图 1 磁共振检查结果

2.2 RunX2 在良性及恶性 GCT 中的表达 RunX2 在良性 GCT 组织内的阳性表达率低于恶性 GCT 组织内的阳性表达率,差异有统计学意义($\chi^2=15.25,P<0.05$)。RunX2 表达水平与骨巨细胞恶性程度呈正相关($r=0.509,P<0.05$),见表 1。

表 1 RunX2 在良性及恶性 GCT 中的表达						
组别	n	RunX2 表达情况(n)				阳性率(%)
		—	+	++	+++	
良性 GCT 组	36	8	12	15	1	77.78
恶性 GCT 组	22	0	5	6	11	100.00

2.3 RunX2 在不同级别 GCT 中的表达 RunX2 在 I 级 GCT 组织内的阳性表达率低于 II 级 GCT 组织内的阳性表达率,III 级 GCT 组织内 RunX2 的阳性表达率最高,差异有统计学意义($\chi^2=13.89,P<0.05$)。RunX2 表达的水平随着 GCT 病理分型等级的增加而增高($r=0.480,P<0.05$),见表 2。

表 2 RunX2 在不同级别 GCT 中的表达						
组别	n	RunX2 表达情况(n)				阳性率(%)
		—	+	++	+++	
I 级	10	3	5	2	0	70.00
II 级	32	5	9	14	4	84.38
III 级	16	0	3	5	8	100.00

2.4 RunX2 表达与 GCT 软组织侵犯情况的关系 RunX2 在有软组织侵犯的 GCT 组织内的阳性表达率高于无软组织侵犯的 GCT 组织内的阳性表达率,差异有统计学意义($\chi^2=33.02,P<0.05$)。RunX2 的表达水平的增高与 GCT 发生周围软组织侵犯呈正相关($r=0.788,P<0.05$),见表 3。

表 3 RunX2 表达与 GCT 软组织侵犯情况的关系						
组别	n	RunX2 表达情况(n)				阳性率(%)
		—	+	++	+++	
有软组织侵犯	24	0	8	10	6	100.00
无软组织侵犯	34	27	4	3	0	20.58

2.4 RunX2 表达与 GCT 发生病理性骨折的关系 RunX2 在发生病理性骨折的 GCT 组织内的阳性表达率高于无病理性骨折的 GCT 组织内的阳性表达率,差异有统计学意义($\chi^2=6.58,P<0.05$)。RunX2 表达水平的增高与 GCT 发生病理性骨折呈正相关($r=0.338,P<0.05$),见表 4。

表 4 RunX2 表达与病理性骨折之间的关系						
项目	n	RunX2 表达情况(n)				阳性率(%)
		—	+	++	+++	
有病理性骨折	34	2	8	15	9	94.12
无病理性骨折	24	6	9	6	3	75.00

3 讨 论

临床上针对不同性质的 GCT 采用的治疗方法不同,因此对 GCT 良恶性的诊断成为后续临床治疗的关键。既往针对 GCT 良恶性的诊断多存在主观性强等缺点,因此临床漏诊及误诊率高。最新的研究表明,RunX2 在 GCT 基质细胞中高度表达^[7]。而本研究通过对临床上切取的标本采用免疫组织化学检测 Runx2 的表达发现:Runx2 表达量多少与 GCT 的良恶性呈相关性;同时对不同病理分级的 GCT 中 Runx2 表达进行分析后发现,Runx2 的表达量随着 GCT 病理恶性程度的提高而增加。

GCT 具有一定的侵袭性,主要是由其细胞组织学特点决定^[8-9]。在 GCT 组织中的 3 种细胞成分中,破骨细胞样的多核巨细胞是造成 GCT 溶骨性破坏的主要结构^[10-12];基质细胞具备与骨髓间充质干细胞的相似的增殖能力^[13-14],并且高表达与免疫系统及骨骼发育相关的基因如 RunX2 等^[15-16]。而 RunX2 是 runt 相关转录因子家族的重要成员,在成骨细胞的分化、软骨细胞成熟和骨基质蛋白形成等过程中起到主要作用,与 GCT 溶骨特性密切相关^[16-17]。本研究通过分析 GCT 病理性骨折与 Runx2 表达的相互关系,结果提示 Runx2 在伴有病理性骨折的 GCT 组织内的表达量增加,且与 GCT 发生病

理性骨折呈正相关。

Runx2 是目前肿瘤学研究中与肿瘤周围软组织浸润有关的基因之一,LEONG 等^[18]认为 Runx2 与肿瘤细胞的浸润性密切相关。CHIMGE 等^[19]通过实验证明,Runx2 可以通过 Smad 及旁路丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)通路影响 TGF- β 和 Wnt 通路起到影响肿瘤细胞浸润性的作用;此外,Runx2 还可以通过磷脂酰肌醇-3 羟基激酶/丝氨酸激酶(PI3K/Akt)信号通路增强细胞的软组织浸润性^[20]。这些实验均说明 RunX2 表达与肿瘤侵袭性密切相关。而本研究结果表明 RunX2 表达的增高与 GCT 发生周围软组织侵犯成正相关,不仅验证了该理论,同时为后续临床研究提供了依据。

综上所述,RunX2 的高表达与 GCT 性质恶变、高影像分级、有软组织侵犯以及伴发病理性骨折有关,RunX2 可作为 GCT 上述临床病理特征的判定的参考指标。

参考文献

- [1] 石磊,姜亮,刘晓光,等.胸腰椎骨巨细胞瘤手术治疗后复发的原因分析[J].中国脊柱脊髓杂志,2013,23(9):815-820.
- [2] 易志新,邹学农,彭建强.巨噬细胞对间充质干细胞成骨分化影响的研究进展[J].中国脊柱脊髓杂志,2015,25(12):1116-1119.
- [3] 孙强,邱勇,刘臻,等. Runx2 在青少年特发性脊柱侧凸患者骨髓间质干细胞中的表达及意义[J].中国脊柱脊髓杂志,2005,15(10):616-619.
- [4] VIMALRAJ S, ARUMUGAM B, MIRANDA P J, et al. Runx2: structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 78: 202-208.
- [5] BABETO E, CONCEIÇÃO A L, VALSECHI M C, et al. Differentially expressed genes in giant cell tumor of bone[J]. Virchows Archiv, 2011, 458(4): 467-476.
- [6] HAXAIRE C, HAY E, GEOFFROY V. Runx2 controls bone resorption through the down-regulation of the Wnt pathway in osteoblasts[J]. Am J Pathol, 2016, 186(6): 1598-1609.
- [7] MAK I W, COWAN R W, POPOVIC S A, et al. Upregulation of MMP-13 via Runx2 in the stromal cell of giant cell tumor of bone[J]. Bone, 2009, 45(2): 377-386.
- [8] HUANG Q, JIANG Z Y, MENG T, et al. MiR-30a inhibits osteolysis by targeting RunX2 in giant cell tumor of bone[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 453(1): 160-165.
- [9] COWAN R W, SINGH G. Giant cell tumor of bone: A basic science perspective[J]. Bone, 2013, 52(1): 238-246.
- [10] FELLEBERG J, SAEHR H, KUNZ P, et al. Restoration of miR-127-3p and miR-376a-3p counteracts the neoplastic phenotype of giant cell tumor of bone derived stromal cells by targeting COA1, GLE1 and PDIA6[J]. Cancer Lett, 2016, 371(1): 134-141.
- [11] CONNER J R, HORNICK J L. SATB2 is a novel marker of osteoblastic differentiation in bone and soft tissue tumours[J]. Histopathology, 2013, 63(1): 36-49.
- [12] NAKAJIMA K, KHO D H, YANAGAWA T, et al. Galectin-3 in bone tumor microenvironment: a beacon for individual skeletal metastasis management[J]. Cancer and Metastasis Reviews, 2016, 35(2): 333-346.
- [13] HE B H, HE G P, ZHENG X F, et al. Inhibitory effect of bone morphogenetic protein-2 on the proliferation of giant cell tumor of bone stromal cells in vitro[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(1): 309-314.
- [14] NUGENT M. MicroRNA function and dysregulation in bone tumors: the evidence to date[J]. Cancer Manag Res, 2014, 6: 15-25.
- [15] LIU H, SUN Q, WAN C Y, et al. MicroRNA-338-3p regulates osteogenic differentiation of mouse bone marrow stromal stem cells by targeting Runx2 and Fgfr2[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(10): 1494-1502.
- [16] WEI J W, SHIMAZU J, MAKINISTOGLU M P, et al. Glucose uptake and Runx2 synergize to orchestrate osteoblast differentiation and bone formation[J]. Cell, 2015, 161(7): 1576-1591.
- [17] DENG Y, WU S, ZHOU H F, et al. Effects of a miR-31, Runx2, and Satb2 regulatory loop on the osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2013, 22(16): 2278-2286.
- [18] LEONG D T, LIM J, GOH X, et al. Cancer-related ectopic expression of the bone-related transcription factor RUNX2 in non-osseous metastatic tumor cells is linked to cell proliferation and motility[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(5): R89.
- [19] CHIMGE N O, BANIWAL S K, LUO J Q, et al. Opposing effects of Runx2 and estradiol on breast cancer cell proliferation; in vitro identification of reciprocally regulated gene signature related to clinical letrozole responsiveness[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(3): 901-911.
- [20] PANDE S, BROWNE G, PADMANABHAN S, et al. Oncogenic cooperation between PI3K/Akt signaling and transcription factor Runx2 promotes the invasive properties of metastatic breast cancer cells[J]. J Cell Physiol, 2013, 228(8): 1784-1792.

(收稿日期:2017-07-12 修回日期:2017-09-19)