

二磷酸盐与骨巨细胞瘤的治疗

于秀淳 孔维庆

骨巨细胞瘤(giant cell tumor of bone, GCT)是一种常见的原发骨肿瘤,自 Jaffe 1940 年首次对 GCT 作出详细描述至今,许多学者采取多种辅助方法以降低瘤灶内手术后局部复发率,但仍未降到令人满意的程度,有报道刮除术后复发率高达 27%~52%^[1],如何降低复发率仍是骨科医师亟需解决的问题。近年随着二磷酸盐抑制骨破坏的作用被验证,二磷酸盐的应用更加广泛,不仅应用于骨质疏松症等骨吸收性疾病,而且还可预防性地应用于关节置换术后假体松动等;有研究者将二磷酸盐作为一种辅助治疗,应用于 GCT 的临床治疗,取得了令人满意的疗效。

二磷酸盐是一种人工合成的焦磷酸盐类似物,它结构中的 P-C-P 键区别于焦磷酸盐中 P-O-P 键,正是这种差异改变了二磷酸盐在体内的代谢过程,使水解酶的降解能力下降,从而使理化性质和代谢过程更加稳定。现就二磷酸盐在骨巨细胞瘤中的应用从分子、细胞水平以及临床应用作一叙述。

一、分子水平

GCT 的组织病理学特点为在多核巨细胞分布于大量单核基质细胞中。赵宁侠等^[2-3]及 Goldring 等^[4]曾报道多核巨细胞不仅在细胞大体形态特征与破骨细胞相似,而且在超微结构、酶组织化学、激素调控及骨吸收功能方面都与破骨细胞无显著性差异,因此又称其为破骨细胞样细胞。正是基于这一方面,我们对二磷酸盐在 GCT 中应用的细胞水平可以通过对破骨细胞的影响来描述。

二磷酸盐抑制骨破坏的作用机制主要源于其化学结构,化学结构不同,不仅作用于破骨细胞的分子机制不同,而且抑制破骨细胞介导的骨吸收的效力也有区别。二磷酸盐的化学结构根据 R2 侧链的不同分为含氮化合物和不含氮化合物两种。

早期二磷酸盐类药物具有单一不含氮基团(-OH, -H, CH₃)如依替磷酸盐、氯磷酸盐,它们具有和焦磷酸盐类似的生物效应,均影响在破骨细胞内的磷酸水解酶、腺苷环化酶、乳酸盐产物和脂肪酸氧化等多种酶或

水解途径。Rogers 等^[5]发现,当黏菌阿米巴被氯磷酸盐和依替磷酸盐抑制生长时,它们的代谢产物形成非水化的 ATP 同型物;正常情况下,II 型氨酰基 tRNA 合成酶调节氨基酸与 ATP 发生可逆性反应形成焦磷酸和氨酰基-AMP,而如果焦磷酸被一些短侧链的二磷酸盐所取代,二磷酸盐就直接与酶活性位点发生结合,生成 Ap-pCp。Firth 等^[6-7]用氯磷酸盐对鼠人 MG63 骨肉瘤细胞和纯化的兔破骨细胞及 J774 巨噬细胞系进行体外试验后发现,在细胞内检测到的二磷酸盐代谢物均是 Ap-pCl₂p 型。由于代谢产物为非水化的 ATP 同型物,在正常或病理性骨吸收过程中,二磷酸盐代谢物竞争性地先于破骨细胞与骨的矿化成分结合。由于破骨细胞具有强大的胞内吞噬作用,在骨改建过程后期,这些细胞既吸收骨,也吸收与之结合的二磷酸盐,即 ATP 同型物。这些具有细胞毒性的 ATP 同型物在细胞内积聚,从而抑制破骨细胞功能并诱导凋亡。

将 R2 侧链改为含氮基团的新一类二磷酸盐,具有前者 1000 倍的抗骨吸收效应。常用的帕米膦酸、唑来膦酸、阿仑膦酸和利塞膦酸这些含氮二磷酸盐在细胞内不能被代谢,因而其作用机制不同于依替膦酸盐、氯膦酸盐等一代二磷酸盐^[8],它们主要通过抑制胞内甲羟戊酸途径^[9]发挥作用。

甲羟戊酸途径是二磷酸盐抑制骨吸收的主要分子机制,Fisher 等^[10]发现加入甲羟戊酸途径的中产物后,二磷酸盐对破骨细胞形成和抑制骨吸收的作用明显降低,细胞凋亡数目明显降低。含氮的二磷酸盐通过抑制某些目前尚不清楚的酶,抑制蛋白质异戊烯化,继而抑制 GTP 酶的合成;GTP 酶异戊烯化的缺乏,导致破骨细胞调节功能的丢失。这些抗肿瘤活性和导致细胞凋亡的能力提示含氮二磷酸盐抑制骨吸收的主要分子机制是抑制蛋白质异戊二烯化过程,同时也为我们应用二磷酸盐类药物控制骨巨细胞瘤的侵袭性、降低复发率、改善预后提供了分子生物学基础^[11]。

二、细胞水平

GCT 的组织学标志是大量的多核细胞样破骨细胞。该肿瘤组织基本上包括三种细胞类型^[12]:(1)梭形细胞(GCT 间质细胞),它是 GCT 的原发细胞,表达 RANKL。(2)单核细胞,被认为是破骨细胞的前身细胞^[13]。(3)多核细胞样破骨细胞^[14],有学者认为 GCT

中间质细胞来源于破骨细胞谱系,但也有学者认为破骨细胞区别于多核破骨样细胞^[15-16],它使 RANKL 过度表达。破骨细胞的前身细胞和多核破骨样细胞均导致骨质破坏^[17-18]。有报道二磷酸盐类药物在治疗破骨细胞介导的骨骼疾病中具有积极的作用^[19-20],在 GCT 溶骨性破坏中,可以减轻骨质破坏,控制肿瘤细胞的侵袭性,预防复发。通常认为破骨细胞是二磷酸盐作用的靶细胞,这是由于二磷酸盐在体内和体外和骨矿物质有较强的吸附性,它可以与破骨细胞骨吸收的暴露部位选择性地结合^[21],充分发挥破骨细胞吞噬能力,目前认为二磷酸盐的作用机制主要包括:(1)抑制破骨细胞形成;(2)促进破骨细胞凋亡;(3)抑制破骨细胞骨吸收。

在 GCT 中,二磷酸盐的抗破骨细胞作用已经被验证。二磷酸盐类药物在细胞内累积所导致的细胞凋亡,不仅出现在 GCT 中的破骨样巨细胞中,而且在间质细胞中也可以看到。Chang 等^[22]通过建立体外模型,采取免疫组化方法证实了二磷酸盐可以加速 GCT 中间质细胞的凋亡。Cheng 等^[23]分别通过 TUNEL 评估 DNA 片段的凋亡情况以及流式细胞仪的方法评估细胞凋亡,结果显示多核巨细胞和间质细胞在体内均凋亡。

此外,二磷酸盐还可以通过干扰具有骨吸收功能的破骨细胞的高代谢过程如抑制溶酶体酶的释放,降低蛋白激酶或磷酸水解酶的活性,阻碍依赖 ATP 酶的质子泵的泌 H^+ 功能等^[24],间接地发挥抑制骨吸收的功能。

二磷酸盐不仅对破骨细胞的分化、成熟进行调控,而且还可对成骨细胞进行调节^[25],这是因为在破骨细胞的分化、增殖和活化过程中,成骨细胞起着至关重要的作用。首先二磷酸盐可调节其细胞因子的释放,从而发挥间接抑制骨吸收的功能^[26-27]。此外,二磷酸盐增加骨密度的另外途径是减少骨更新而不抑制骨形成^[28]。Mackie 等^[29]曾报道,二磷酸盐可以直接作用于成骨细胞系,调节成骨细胞增殖和分化;Plotkin 等^[30]的研究显示,二磷酸盐能促进成骨细胞增殖和抑制成骨细胞凋亡。虽然二磷酸盐对成骨细胞的增殖分化作用是肯定的,但是它的作用机制仍存在分歧。

正常的骨重建是通过成骨细胞和破骨细胞之间的“偶联”机制保持动态平衡的。破骨细胞被激活后,可分泌酸性物质溶解矿物质,分泌蛋白酶消化骨基质,导致骨吸收形成骨陷窝之后,成骨细胞移行至骨吸收部位,分泌骨基质,经矿化后形成新骨。因此,绝大部分骨吸收调节因子都是通过成骨细胞介导而作用于破骨细胞。一些骨吸收抑制因子如二磷酸盐等也是通过成骨细胞介导而实现对破骨细胞的抑制作用^[31-32];研究

者们最近还发现 OPG/RANK/RANKL 系统在成骨细胞和破骨细胞之间相互作用的机制中有着重要的作用^[33-34],Atkins 等^[35-36]研究表明 GCT 中的溶骨性破坏作用也是由这一系统来传递破骨细胞分化活化的信号的。

OPG/RANK/RANKL 系统作为一个重要的信号传导通道,对调控破骨细胞分化和骨吸收起着至关重要的作用,是骨科领域的重大进展。骨组织局部微环境中破骨细胞形成及活性的关键是 RANKL/OPG 比值,即 RANKL 和 OPG 表达的相对水平,即两者表达的强弱决定骨吸收还是形成,若 RANKL 基因表达水平高于 OPG,则破骨细胞形成活跃;相反,则破骨细胞形成受抑。OPG/RANK/RANKL 系统的主要内容为 RANKL 与 RANK 结合后,促进破骨细胞分化、成熟,进一步使骨吸收增加;而 OPG 充分发挥“诱饵”的自身生物学特性,竞争性与基质细胞结合的 RANKL 及可溶性的 RANKL 结合,从而阻断 RANKL 与 RANK 结合的途径,发挥骨保护的作用。有研究表明,OPG/RANK/RANKL 系统的激活可能与蛋白激酶 C 途径以及应激活化蛋白激酶途径有关,但 OPG/RANK/RANKL 系统激活的确切机制尚不清楚。

三、二磷酸盐在 GCT 中的临床应用

目前已经有应用二磷酸盐药物作为辅助药物治疗 GCT 的报道。Tse 等^[37]报道了 1988 ~ 2004 年收治的 24 例 GCT 患者,术前均经过 2 个疗程及肿瘤切除术后 3 个月的持续二磷酸盐治疗,随访时间平均为 48 个月,其治疗组复发率降至 4.2%,明显低于对照组的 30%,尤以 3 级 GCT 患者的复发率降低明显,由对照组的 46% 降至治疗组的 9%,这是在 GCT 的治疗中,国内外文献所报道的最低的复发率。Cheng 等^[23]报道了帕米膦酸能够明显导致体内破骨细胞和间质细胞的凋亡,未使用帕米膦酸组中,6 例患者有 4 例局部复发,而使用帕米膦酸组中,12 例患者中仅有 1 例复发,该组试验随访 1 ~ 4 年,Cheng 的研究中没有涉及 GCT 的位置。Chang 等^[22]的研究证实了应用二磷酸盐(唑来膦酸)导致 GCT 的凋亡,而且有着剂量依赖性。Fujimoto 等^[38]报道了 1 例脊柱 GCT 患者应用二磷酸盐治疗后,取得满意的疗效。Arpornchayanon 等^[39]在 1 例巨大骶骨 GCT 手术后应用二磷酸盐 7 个疗程,随访 2 年后未有复发,临床效果良好。郑小飞等^[40]进行了多中心的随机对比研究发现,通过对应用二磷酸盐药物后 VAS 疼痛评分和 X 线表现的评价,进一步证实了二磷酸盐作为 GCT 辅助治疗,可以明显降低 GCT 的复发率,由对照组的 35.0% 降至治疗组的 5.3%,3 级 GCT 的复发率由对照组的 50.0% 降至治疗组的 9.1%。Balke 等^[41]

报道了应用二磷酸盐治疗 GCT 后, 原发肿瘤边界缩小, 肺转移灶没有增加, 肿瘤复发率明显降低。无论二磷酸盐治疗 GCT 单样本研究还是多中心研究, 均证实了二磷酸盐治疗 GCT 的有效性, 相信随着该药物临床应用的增加和随访时间延长将会为其治疗 GCT 提供更有力的临床数据与资料。

参 考 文 献

- [1] 愉惜华. 刮除植骨治疗四肢骨巨细胞瘤 50 例. 临床骨科杂志, 2001, 4:286-287.
- [2] 赵宁侠, 于世凤, 庞淑珍, 等. II 型碳酸酐酶在骨巨细胞瘤中的表达. 中国骨质疏松杂志, 1997, 3:1-2.
- [3] 赵宁侠, 于世凤, 庞淑珍, 等. 骨巨细胞瘤中的多核巨细胞体外骨吸收研究. 北京医科大学学报, 1998, 30:429-432.
- [4] Goldring SR, Roelke MS, Petrisson KK, et al. Human giant cell tumors of the bone identification and characterization of cell types. J Clin Invest, 1987, 79:483-491.
- [5] Rogers M, Ji X, Russell R, et al. Incorporation of bisphosphonates into adenine nucleotides by amoebae of the cellular slime mould dictyostelium discoideum. Biochem J, 1994, 303:303-311.
- [6] Frith JC, Monkkinen J, Auriola S, et al. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclasts and macrophage apoptosis. Arthritis Rheum, 2001, 44:2201-2210.
- [7] Frith JC, Monkkinen J, Blackburn G, et al. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'-(beta, gamma, dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. J Bone Miner Res, 1997, 12:1358-1367.
- [8] Rogers MJ, Gordon S, Benford L, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Cancer, 2000, 88:2961-2978.
- [9] Amin D, Cornell SA, Gustafson SK, et al. Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. J Lipid Res, 1992, 33:1657-1663.
- [10] Fisher JE, Rogers MJ, Halasy JM, et al. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate of the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption and kinase activation in vitro. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96:133-138.
- [11] Clezardin P, Gligorov J, Delmas P. Mechanisms of action of bisphosphonates on tumor cells and prospects for use in the treatment of malignant osteolysis. Joint Bone Spine, 2000, 67:22-29.
- [12] Goldring SR, Schiller AL, Mankin HJ, et al. Characterization of cells from human giant cell tumors of bone. Clin Orthop Relat Res, 1986 (204):59-75.
- [13] Liao TS, Yurgelun MB, Chang SS, et al. Recruitment of osteoclast precursors by stromal cell derived factor-1 (SDF-1) in giant cell tumor of bone. J Orthop Res, 2005, 23:203-209.
- [14] Hanaoka H, Friedman B, Mack RP. Ultrastructure and histogenesis of giant cell tumor of bone. Cancer, 1970, 25:1408-1423.
- [15] Wullung M, Delling G, Kaiser E. The origin of the neoplastic stromal cell in giant cell tumor of bone. Human Pathol, 2003, 34:983-993.
- [16] Huang L, Teng XY, Cheng YY, et al. Expression of preosteoblast markers and Cbfa-1 and Osterix gene transcripts in stromal tumor cells of giant cell tumor of bone. Bone, 2004, 34:393-401.
- [17] Huang L, Xu J, Wood DJ, et al. Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF- κ B in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation. Am J Pathol, 2000, 156:761-767.
- [18] Zheng MH, Robbins P, Xu J, et al. The histogenesis of giant cell tumor of bone: a model of interaction between neoplastic cells and osteoclast. Histol Histopathol Jan, 2001, 16:297-307.
- [19] Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, et al. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. Cancer, 2000, 88:1082-1090.
- [20] Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. Cancer J, 2001, 7:377-387.
- [21] Masarachia P, Weinreb M, Balena R, et al. Comparison of the distribution of 3 H-alendronate and 3 H-etidronate in rat and mouse bones. Bone, 1996, 19:281-290.
- [22] Chang SS, Suratwala SJ, Jung KM, et al. Bisphosphonates may reduce recurrence in giant cell tumor by inducing apoptosis. Clin Orthop Relat Res, 2004 (426):103-109.
- [23] Cheng YY, Huang L, Lee KM, et al. Bisphosphonates induce apoptosis of stromal tumor cells in giant cell tumor of bone. Calcif Tissue Int, 2004, 75:71-77.
- [24] Endo N, Rutledge S, Opas EE, et al. Human protein tyrosine phosphatases: alternative splicing and inhibition by bisphosphonates. J Bone Miner Res, 1996, 11:535-543.
- [25] Athanasou N. Current concepts review: cellular biology of bone-resorbing cells. J Bone Joint Surg Am, 1996, 78:1096-1112.
- [26] Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, et al. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. J Clin Invest, 1993, 91:2004-2011.
- [27] Nishikawa M, Akatsu T, Katayama Y, et al. Bisphosphonates act on osteoblastic cells and inhibit osteoclast formation in mouse marrow cultures. Bone, 1996, 18:9-14.
- [28] Rodan GA. Mechanism of action of bisphosphonates. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1998, 38:375-388.
- [29] Mackie PS, Fisher JL, Zhou H, et al. Bisphosphonates regulate cell growth and gene expression in the UMR 106-01 clonal rat osteosarcoma cell line. Br J Cancer, 2001, 84:951-958.
- [30] Plotkin L, Weinstein R, Parfitt A, et al. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. J Clin Invest, 1999, 104:1363-1374.
- [31] Suda T, Udagawa N, Nakamura I, et al. Modulation of osteoclast differentiation by local factors. Bone, 1995, 17:87s-91s.
- [32] Vitte C, Fleisch H, Guenther HL. Bisphosphonate induce osteoblasts to secrete an inhibitor of osteoclast-mediated resorption. Endocrinology, 1996, 137:2333-2342.
- [33] Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. Bone, 1999, 25:109-113.
- [34] Takahashi N, Udagawa N, Suda T. A new member of tumor necrosis factor ligand family, ODFL/OPGL/TRANCE/RANKL, regulates osteoclast differentiation and function. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 256:449-455.
- [35] Atkins GJ, Kostakis P, Vincent C, et al. RANK Expression as a cell surface marker of human osteoclast precursors in peripheral blood, bone marrow, and giant cell tumors of bone. J Bone Miner Res, 2006, 21:1339-1349.
- [36] Atkins GJ, Haynes DR, Graves SE, et al. Expression of osteoclast differentiation signals by stromal elements of giant cell tumor. J Bone Miner Res, 2000, 15:640-649.
- [37] Tse LF, Wong KC, Kumta SM, et al. Bisphosphonates reduce local recurrence in extremity giant cell tumor of bone: a case-control study. Bone, 2008, 42:68-73.
- [38] Fujimoto N, Nakagawa K, Seichi A, et al. A new bisphosphonate treatment option for giant cell tumors. Oncol Rep, 2001, 8:643-647.

- [39] Arpornchayanon O, Leerapun T. Effectiveness of intravenous bisphosphonate in treatment of giant cell tumor: a case report and review of the literature. *J Med Association Thai*, 2008, 91:1609-1612.
- [40] 郑小飞, 尹庆水, Kumta SM, 等. 双磷酸盐辅助治疗骨巨细胞瘤的临床研究. *临床肿瘤学杂志*, 2009, 12:1100-1104.
- [41] Balke M, Campanacci L, Gebert C, et al. Bisphosphonate treatment of aggressive primary, recurrent and metastatic Giant Cell Tumour of Bone. *BMC Cancer*, 2010, 10:462.

(收稿日期:2012-05-23)

(本文编辑:张岚)

于秀淳, 孔维庆. 二磷酸盐与骨巨细胞瘤的治疗[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2012, 6(17):4991-4994.



中华医学会