

Giant Cell Lesions of the Maxillofacial Skeleton Express *RANKL* by RNA In Situ Hybridization Regardless of Histologic Pattern

卫美辰

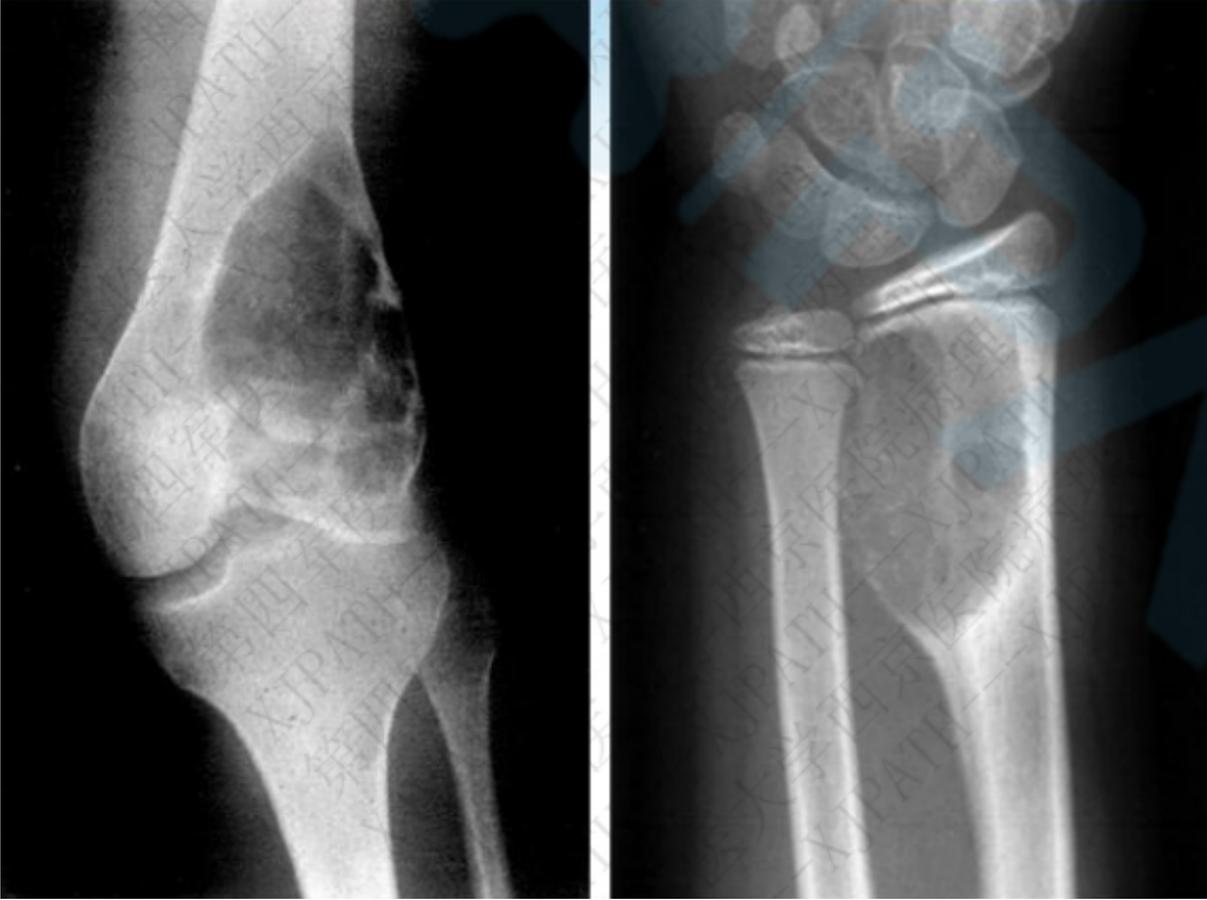
2019.07.10

GCTs

巨细胞瘤（Giant cell tumors, GCTs）

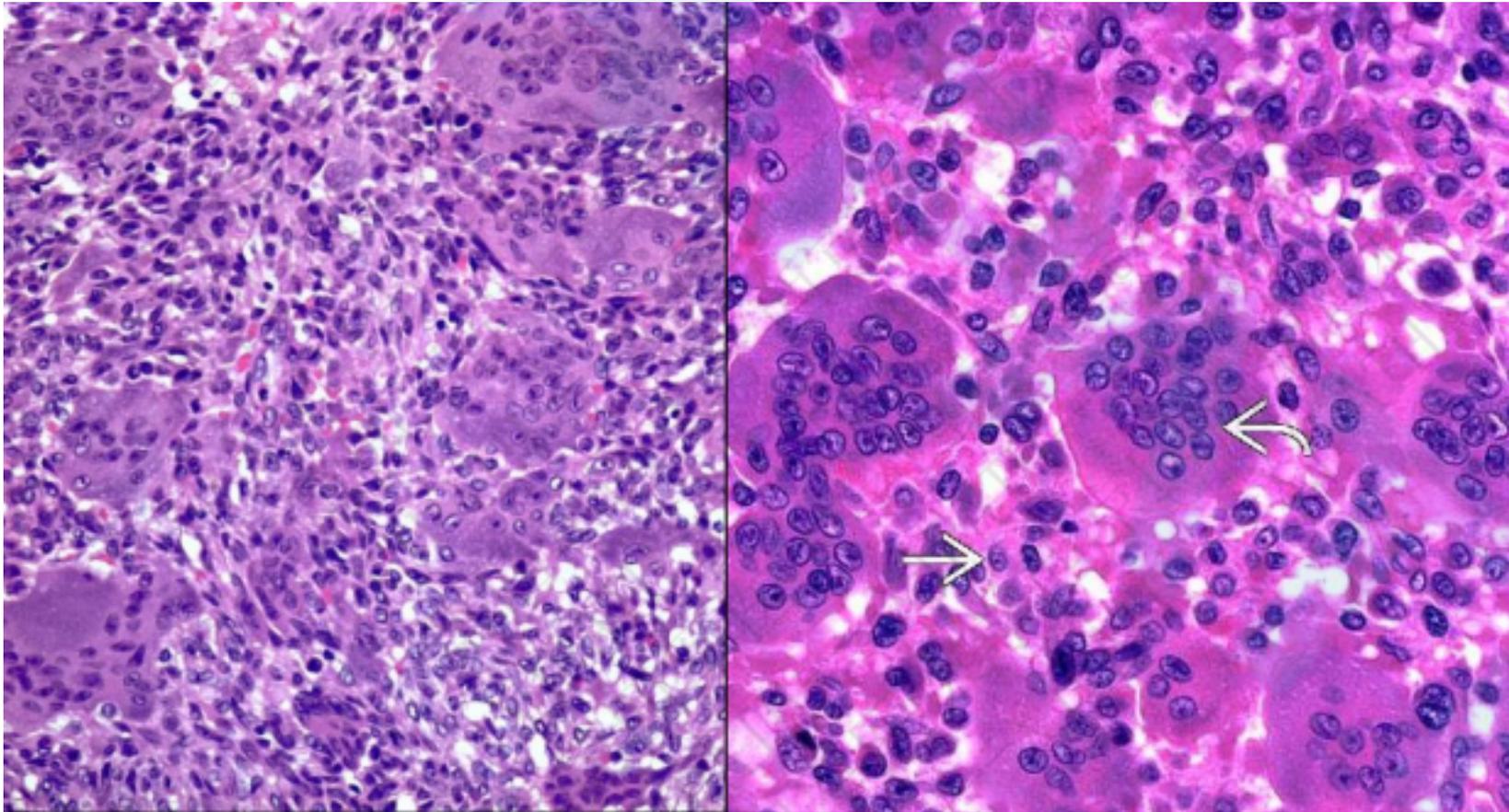
- 定义：具有局部侵袭性的良性肿瘤，由成片的肿瘤性卵圆形单核细胞和其间散在均匀分布的大量破骨样巨细胞构成
- 年龄性别分布：多见于20~45岁，10岁以前罕见；女性稍多见
- 部位：好发于长骨末端，特别是股骨远端，胫骨近端，桡骨远端和肱骨近端。脊柱、颌骨、手足骨少见

GCTs



膨胀性、偏心性的溶骨性病
变，肥皂泡样改变，主要累
及骨骺和干骺端

GCTs



From Diagnostic Pathology: Bone

圆形、卵圆形、多角形或梭形的单核细胞和均匀分布其中的破骨样巨细胞构成；

巨细胞体积大， >20 甚至50个核，形态与单核细胞的核相似，染色质疏松，有1~2个小核仁，胞浆界限不清

RANKL 和 Denosumab



GCT肿瘤基质细胞高表达RANKL (Receptor Activator of Nuclear factor-kappa B ligand), 是骨重塑信号通路的关键成员



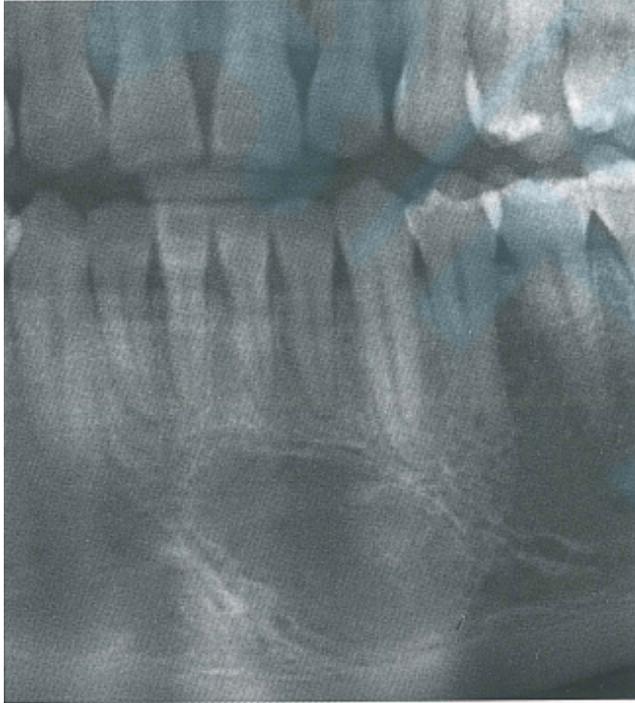
Denosumab (商品名 Prolial 和 Xgeva) 是一种治疗骨质疏松症的单克隆抗体，还用于治疗诱导性骨质丢失、骨转移和骨巨细胞瘤

Denosumab是 RANKL 抑制剂，它通过阻止破骨细胞发育起作用

CGCLs

- 颌骨中心性巨细胞病变 (central giant cell lesions of Maxillofacial , CGCLs of Maxillofacial)
- 又称作：巨细胞修复性肉芽肿 (giant cell reparation granuloma, GCRG)
- 定义：一种局限性、**良性，但有时具有侵袭性**的溶骨性病变，骨组织被增生的纤维组织取代，在血管性基质内可见破骨样巨细胞
- 部位：下颌骨比上颌骨常见
- 流行病学：颌骨良性肿瘤的10%，多于30岁以前发病，与骨巨细胞瘤不同，约1/3患者小于20岁；女多于男

CGCLs



影像学：

- 边界清楚的溶骨性病变
- 30%是侵袭性表现：疼痛、牙齿吸收和移位

CGCLs

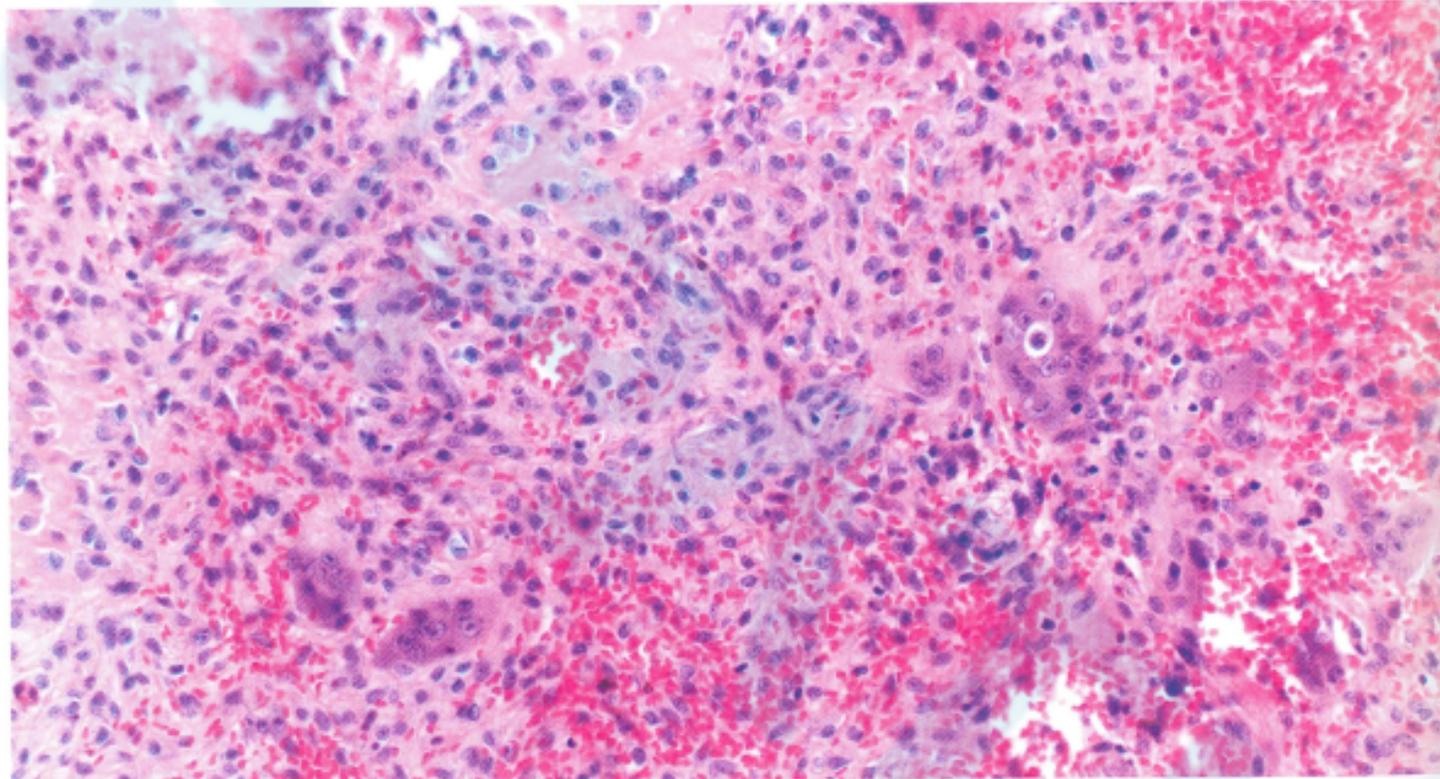
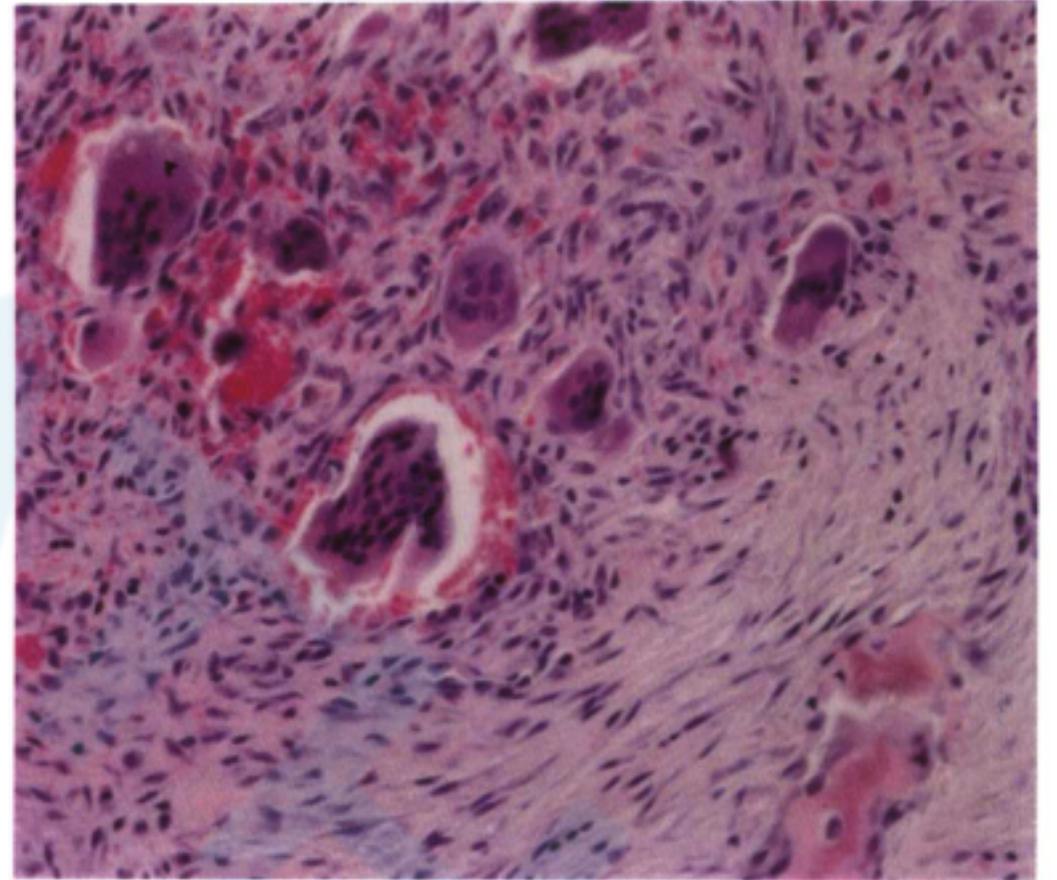
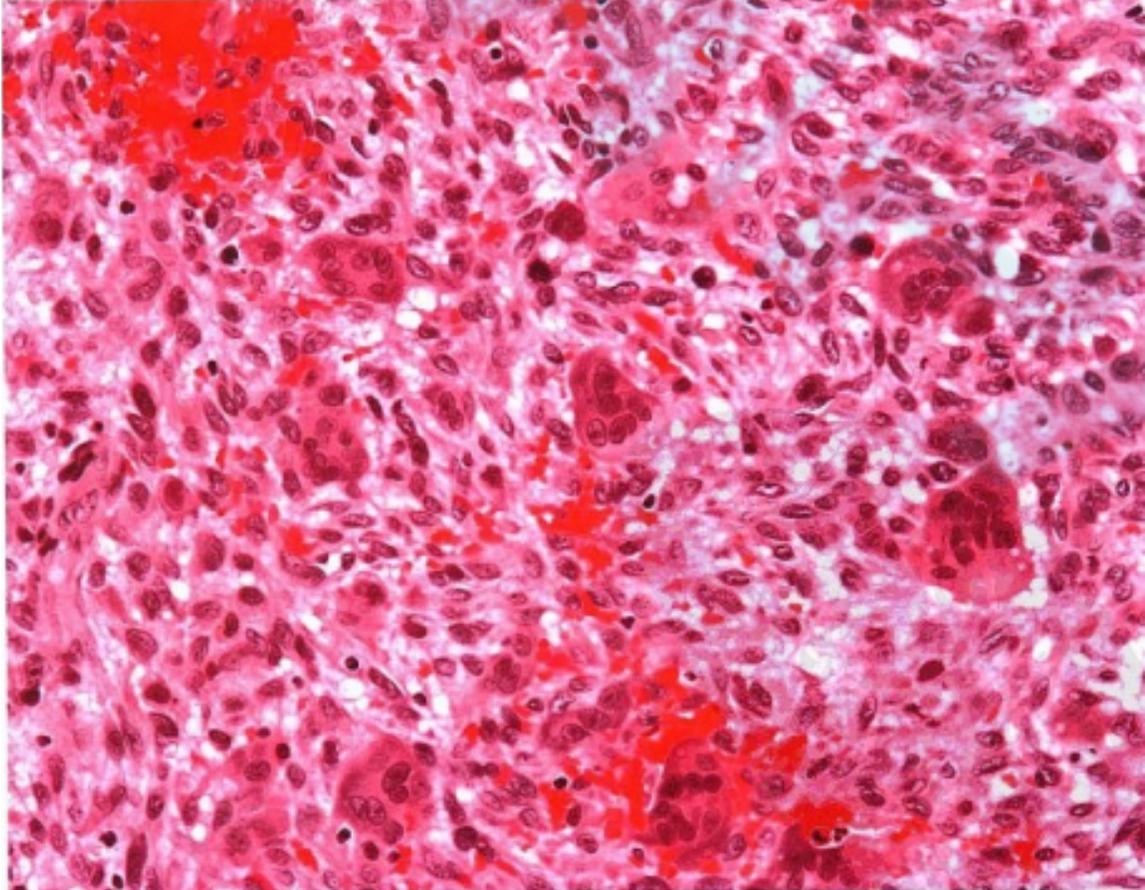


Fig. 8.103 Central giant cell granuloma. Osteoclast-like giant cells and mononuclear cells in a vascular stroma with reactive osteoid formation.

- 血管性背景，有出血及含铁血黄素沉积，在卵圆形-梭形成纤维细胞背景内可见破骨样巨细胞，常伴有反应性成骨

CGCLs



CGCLs

- 遗传学：没有明确的遗传学改变，缺乏骨巨细胞瘤特征性的*H3F3A*点突变
- 预后：组织学表现不能预测生物学行为，大部分病例局部切除术可治愈，对复发的病变应该扩大手术范围，病灶内用药如降钙素、皮质醇对部分病例有效，使用干扰素 α 进行抗血管形成治疗已被成功应用。

家族性巨颌症（Cherubism）

- 定义：一种常染色体显性遗传病，特征为颌骨的对称性膨大，常造成经典的面部特征。**组织学与中心性巨细胞病变无法区分。**
- 流行病学：男性100%发病，女性近70%，常在幼儿期确诊（14月-4岁），随着年龄增长，特别是骨生长停止后，病变可逆转。
- 部位：颌骨四个象限均可受累

家族性巨颌症（Cherubism）

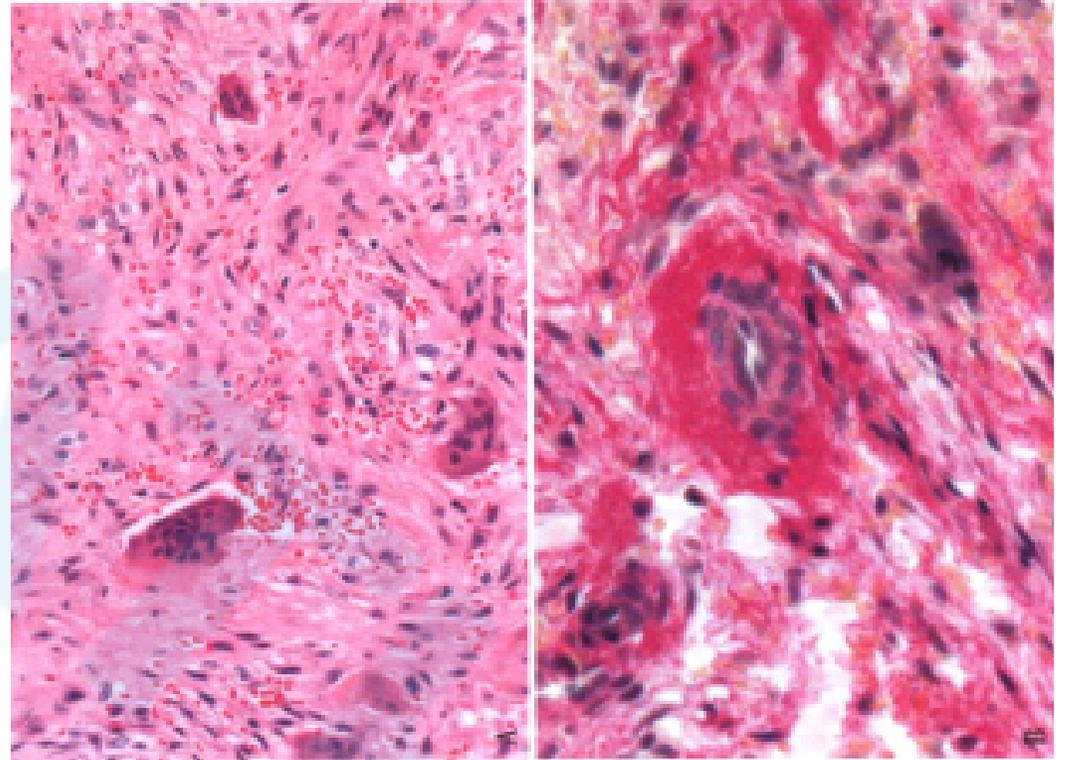
- 临床特点：颌骨对称性膨胀，可造成牙齿移位，阻生，言语不清等
- 影像学：界限清楚的肥皂泡样多房透射影，骨皮质变薄，局部可穿破
- 确诊要依据临床表现和全景片或CT中的特征性X线表现



家族性巨颌症（Cherubism）

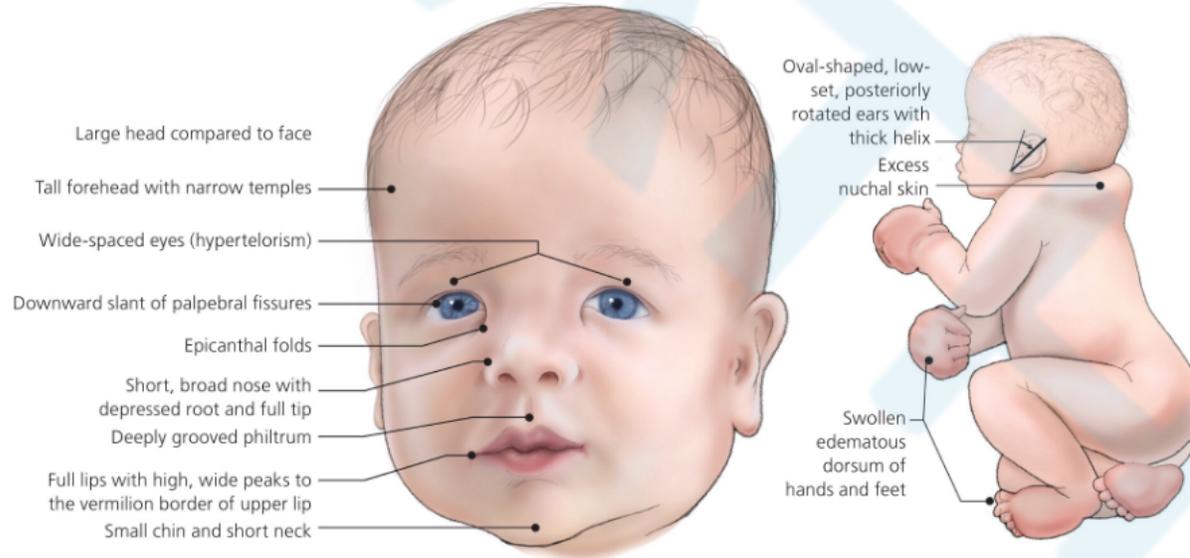
组织学：

- 早期与CGCL无法区分
- 血管周围袖口样胶原沉着非常少见，但被认为是巨颌症的特征性表现。



Noonan综合征

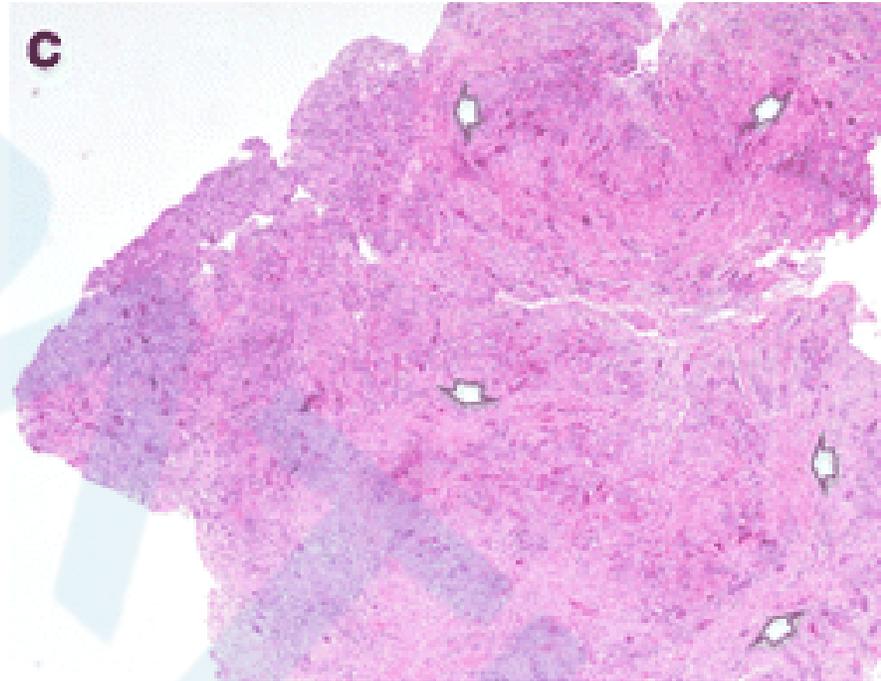
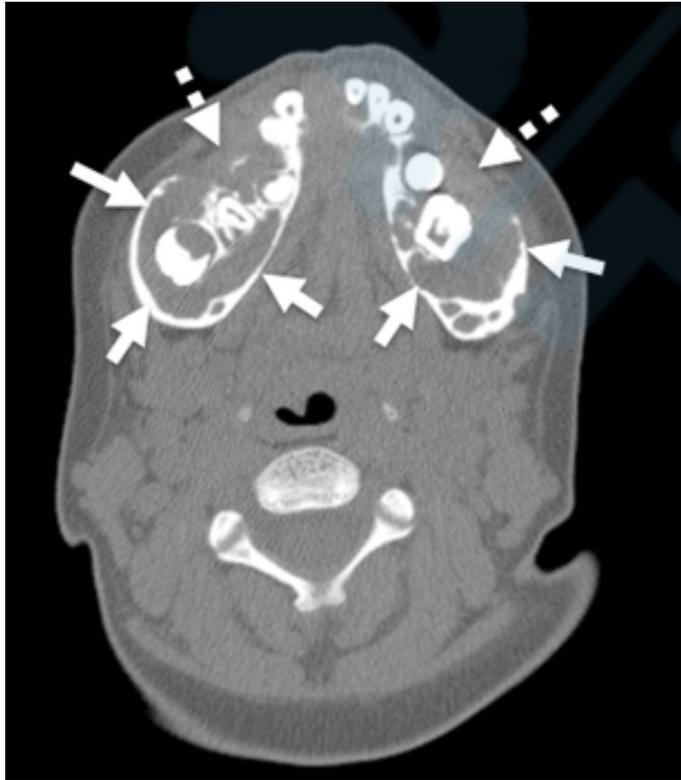
- Noonan（努南）综合征，常染色体显性遗传
- 症状包括不寻常的面部特征、矮小、出生时的心脏缺陷、出血问题、发育迟缓和肋骨畸形等
 - 头颈部症状：眼距宽、内眦赘皮、眼睑下垂并下斜；招风耳、双耳位置低；短颈、颈蹼；牙齿错位，小颌畸形等



Noonan综合症

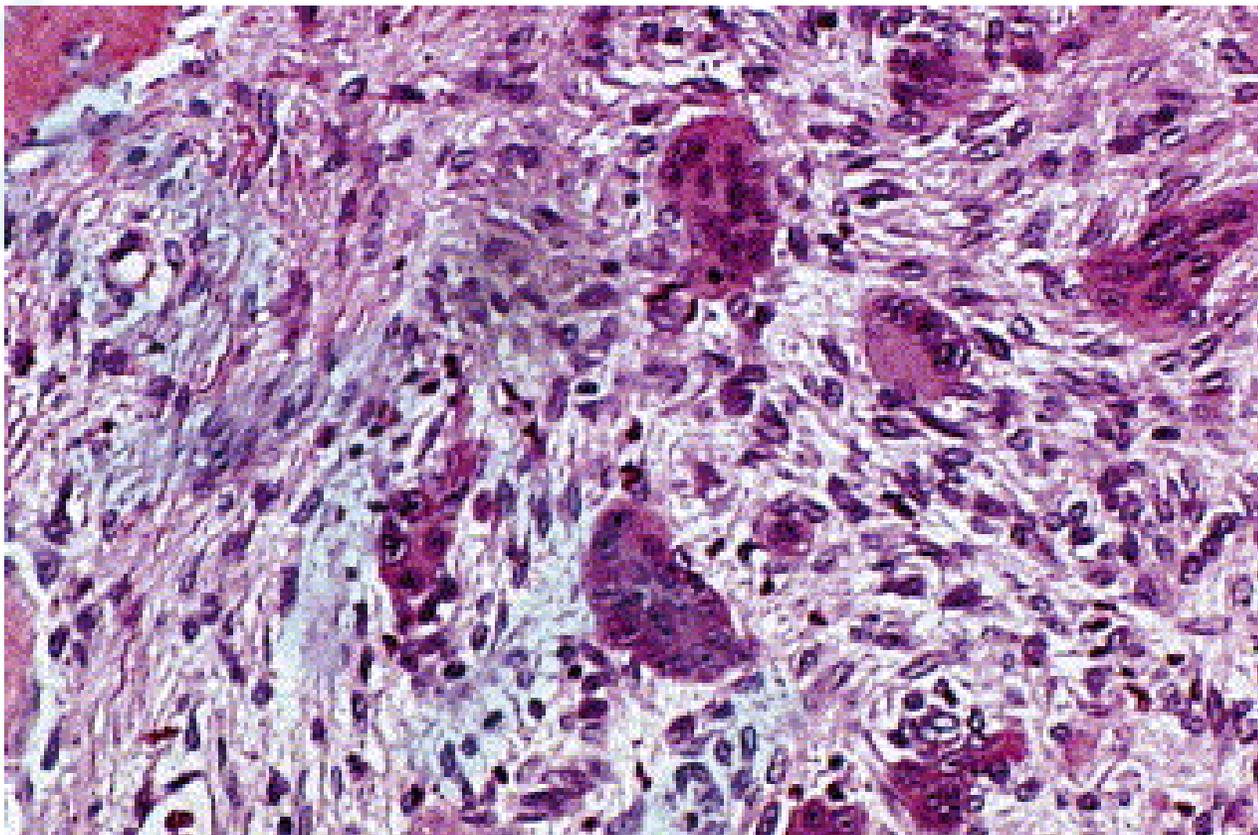
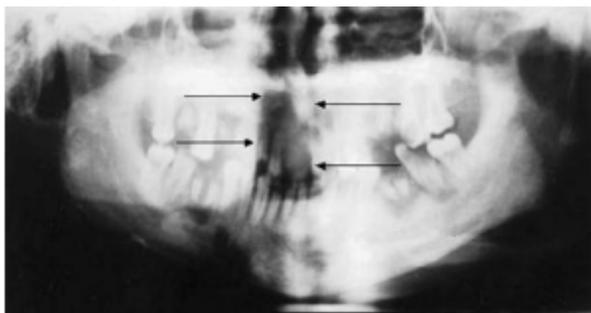
- 婴儿的临床诊断并不总是可行，多在6-7岁时诊断，诊断基于症状和体征
- *PTPN11*、*SOS1*、*RADF1*和*KRAS*四种基因是已知的与Noonan综合征相关的基因
 - 大约50%的患者*PTPN11*突变；20%的患者有*SOS1*突变；10%到15%患者*RAF1*突变；大约5%患者*KRAS*基因突变
 - 家族性复发符合常染色体显性遗传模式，大多数的病例是散发的，由于新生突变。可根据临床特征作出诊断，但症状轻微者可能漏诊。分子遗传学检测可确诊70%的病例，对遗传咨询和管理具有重要意义

Noonan综合症



- 4岁男孩，双侧颌骨肿胀，CT显示下颌骨双侧膨胀性病变，伴有皮质变薄和皮质侵蚀
- 下颌骨活检可见胶原纤维束（箭头）将病变分隔呈结节状，低倍镜可见巨细胞零星分布

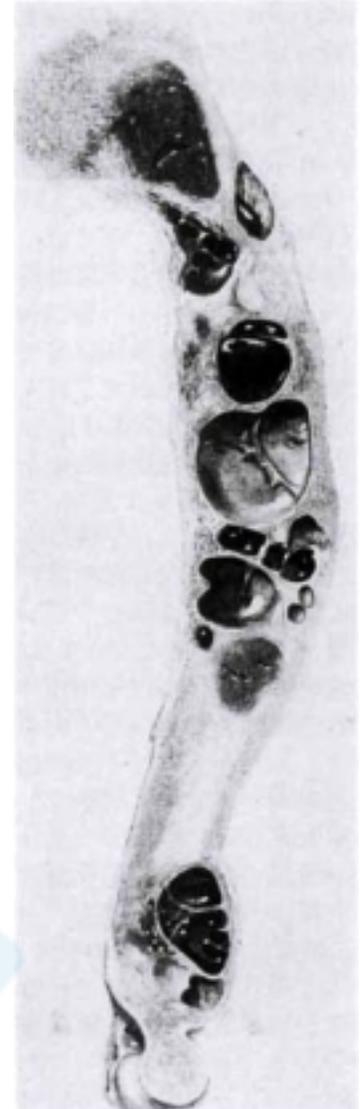
Noonan综合症



- 22岁男性，典型面容
- 口腔全景x线片显示，上颌中切牙向外侧移位，上颌前骨的单房性透光区，并延伸至鼻腔底部
- 组织学：散在的巨细胞，背景中为饱满的基质细胞和毛细血管

棕色瘤

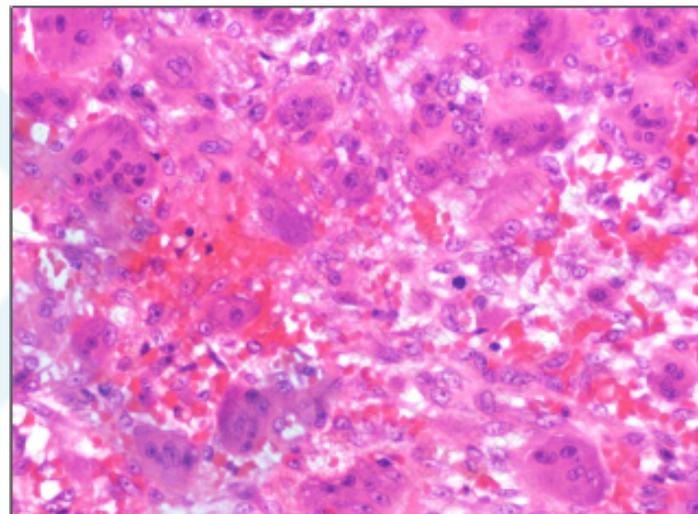
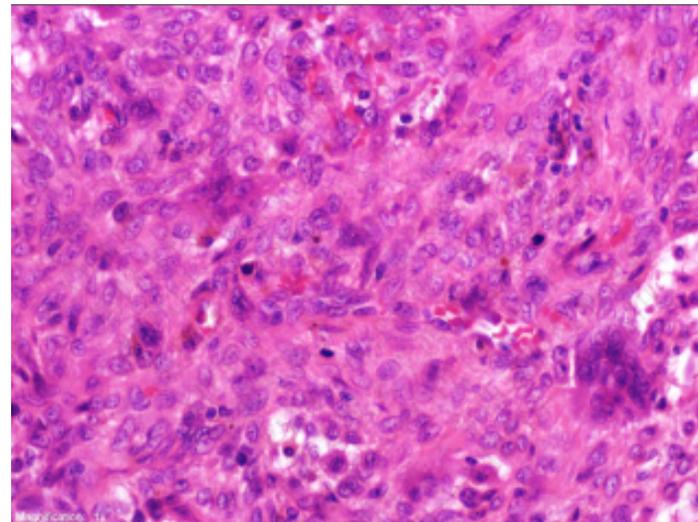
- 甲状旁腺功能亢进患者的骨表现
- 调节钙磷代谢的PTH过高引起代谢性骨病，表现为弥漫性骨骼脱钙和多发性局限性棕色瘤
- 影像学为膨胀性多房肿物
- 颌骨为好发部位，可为本病的第一个临床表现
- 大体检查：囊性和实性交替，囊性区由于有大量含铁血黄素沉积而呈棕色，故称“棕色瘤”
- 病因解除后可自行修复



棕色瘤

组织学:

- 纤维增生性病变，梭形纤维母细胞增生伴胶原形成、囊性变和反应性新生骨，破骨样多核巨细胞增生活跃，破坏骨质形成隧道样改变，可见呈簇的吞噬含铁血黄素的巨噬细胞
- 在组织形态上与CGCL不能区分（均好发于颌骨且镜下表现基本相同），必须进行PTH检测，特别是老年人或病变为多灶时



研究目的

- CGCLs表达RANKL已经在以前的少数病例中得到证实，使得这些颌面病变在复发的、局部破坏的病例中有可能用Denosumab治疗。尚不清楚其形态学与RANKL表达是否有关、对Denosumab治疗的反应是否有关。我们通过RNA原位杂交(ISH)评价了更大系列的CGCLs的RANKL表达，并探索其与组织学亚型（GCT样或非GCT样）的关系

材料与amp;方法

- 由2名骨病理学家独立审查17例HE和RANKL的RNA-ISH
- 患者临床信息包括病史，治疗过程和随访信息
- 基于临床行为和影像学特征将肿瘤分类为侵袭性或非侵袭性
 - 侵袭性肿瘤特点：大 (> 5cm)，快速生长，复发，影像学可见皮质变薄/穿孔，牙齿移位和/或牙根吸收

材料与amp;方法

- CGCLs组织病理学特点
 - 类似于GCT或非GCT，后者的特征是嵌入纤维梭形细胞背景中少量且分布不均匀的巨细胞
 - 记录基质细胞与巨细胞的核是否相似，并记录了每个巨细胞的细胞核数目
- 应用RANKL 探针对所有样本进行显色RNA-ISH分析 (A chromogenic RNA-ISH assay , QuantiGene ViewRNA, Affymetrix)

临床特点

- 17名患者年龄1至63岁（中位年龄15岁），9名<18岁
- M： F比例为8： 9
- 平均随访时间5-8年
- 部位： 下颌骨12例， 上颌骨4例， 鼻腔1例

临床特点

TABLE 1. RANKL ISH Score by Histologic Pattern in 17 Central Giant Cell Lesions

Case	Histologic Pattern		RANKL Score	Associated Syndrome
1	GCT-like	Aggressive	2	None
2	GCT-like	NA	3	<u>Brown tumor</u>
3	GCT-like	Nonaggressive	2	None
4	GCT-like	Aggressive	3	None
5	GCT-like	Aggressive	3	None
6	GCT-like	NA	3	<u>Noonan syndrome</u>
7	GCT-like	Aggressive	3	None
8	GCT-like	NA	4	<u>Brown tumor</u>
9	GCT-like*	NA	4	<u>Cherubism</u>
10	GCT-like*	Aggressive	4	None
11	Non-GCT-like	NA	0	<u>Noonan syndrome</u>
12	Non-GCT-like	Aggressive	0	None
13	Non-GCT-like	Aggressive	4	None
14	Non-GCT-like	Aggressive	3	None
15	Non-GCT-like	Nonaggressive	2	None
16	Non-GCT-like	Aggressive	4	None
17	Non-GCT-like	NA	4	<u>Brown tumor</u>

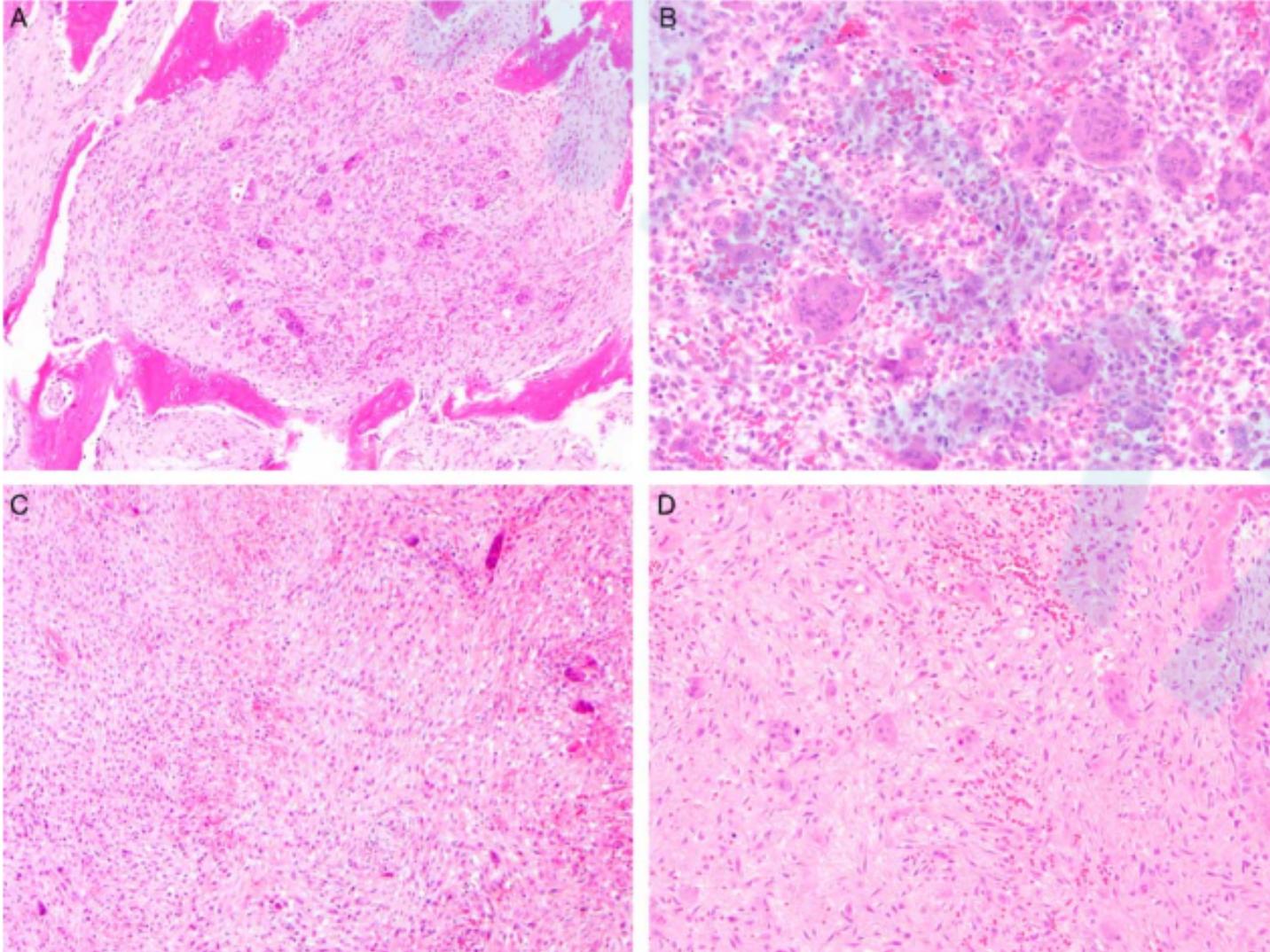
Point score = objective lens at which the signal was first detected (4 = ×4, 3 = ×10, 2 = ×20, 1 = ×40).

*Treated with denosumab.

NA indicates not applicable (not categorized due to associated syndrome).

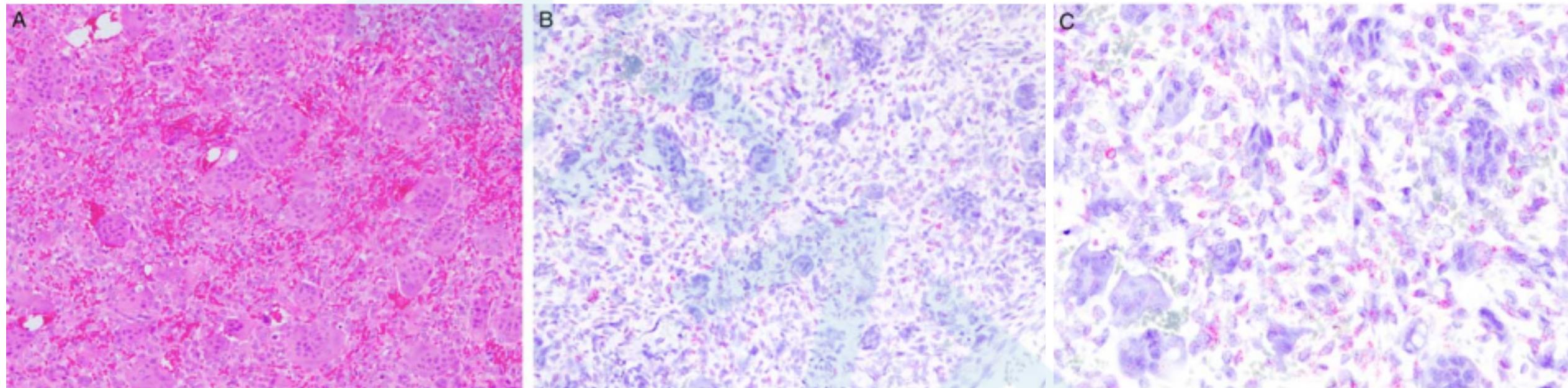
- 3例肿瘤与甲状旁腺功能亢进（褐色瘤）有关，2例与Noonan综合症相关，1例为家族性巨颌征
- 在11个非综合征性患者中，9例为侵袭性，2例为非侵袭性
（考虑到已知的多灶性和复发倾向，综合征性和棕色瘤不被归类为侵袭性或非侵袭性）

组织病理学特点



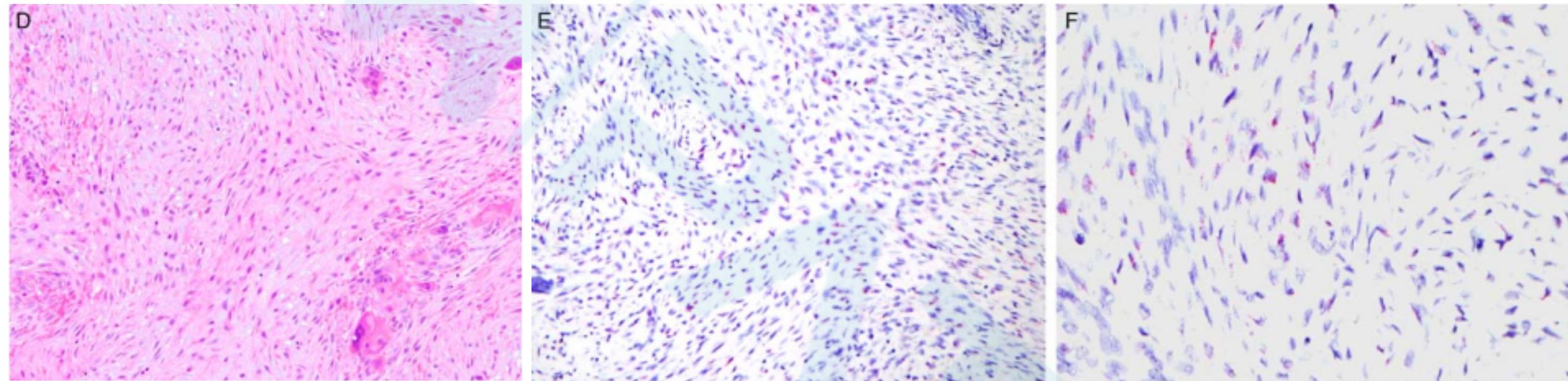
- A和B：10/17例为GCT样，有许多均匀分布的巨细胞，通常每个细胞 >50 个细胞核。基质细胞核饱满、卵圆形，与巨细胞核类似
- C和D：7/17例为非GCT样，基质细胞梭形，通常排列成束，巨细胞少、不均匀分布。巨细胞显示出较少的细胞核，通常 <20 个

RANKL表达



- GCT样肿瘤。肿瘤由均匀分布的具有大量细胞核的破骨型巨细胞和上皮样单核细胞组成，外观类似于长骨的巨细胞肿瘤。肿瘤中RANKL的表达水平较高，在4×镜下即可见(B、C显示高倍镜)。

RANKL表达



- 非GCT样肿瘤。细胞呈梭形，席纹状排列。破骨细胞型巨细胞数量较少，细胞核较少，分布欠均匀。RANKL在间质细胞中的表达在10×物镜(E)下才被观察到，(F)显示高倍

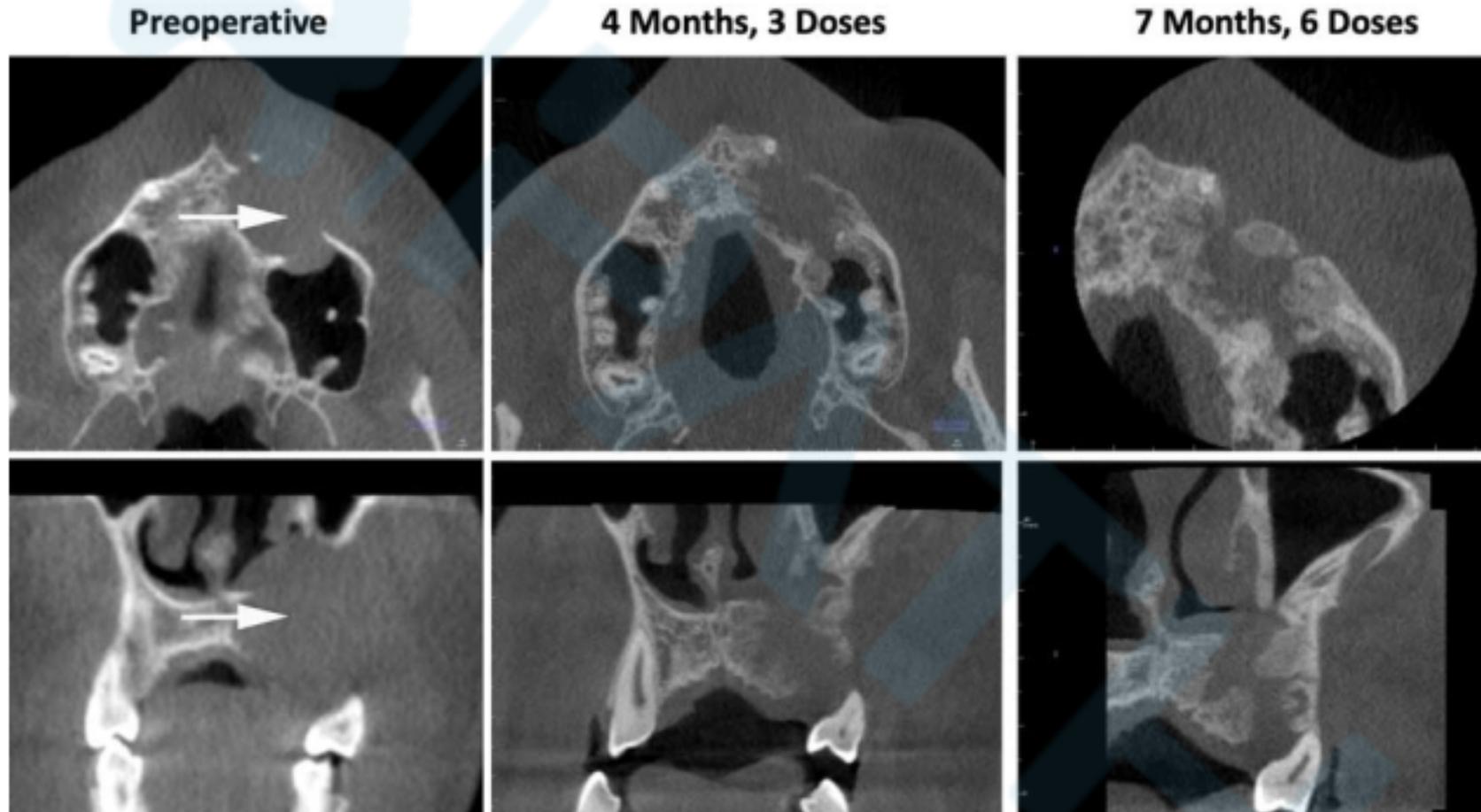
RANKL表达

- 15/17例，无论是否为综合征，均表现出RANKL（10/10 GCT样和5/7非GCT样）弥漫强阳，GCT和非GCT样两组之间RANKL的表达无统计学差异
- RANKL的表达局限于单核细胞，破骨细胞样巨细胞不表达
- 具有侵袭性临床表现、GCT样组织学形态和高RANKL表达（用4×物镜即可见阳性信号）的两名患者被作为denosumab临床反应试验的候选者，下文详述

Case 1

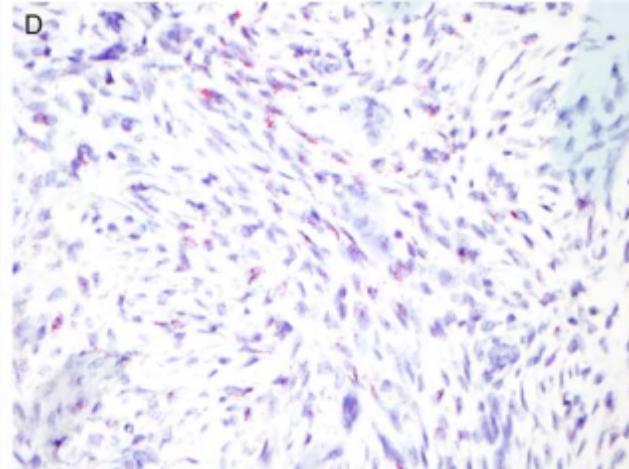
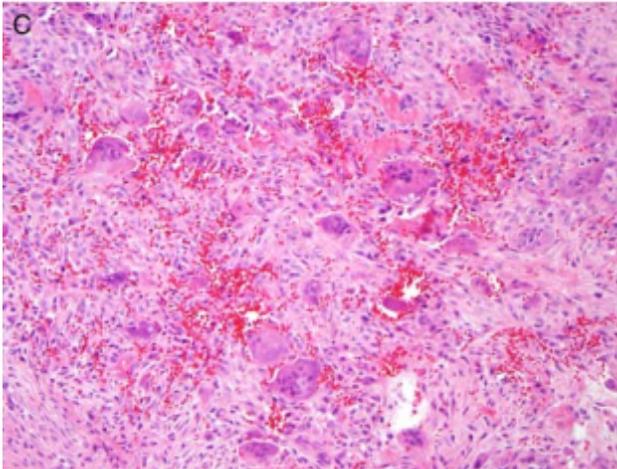
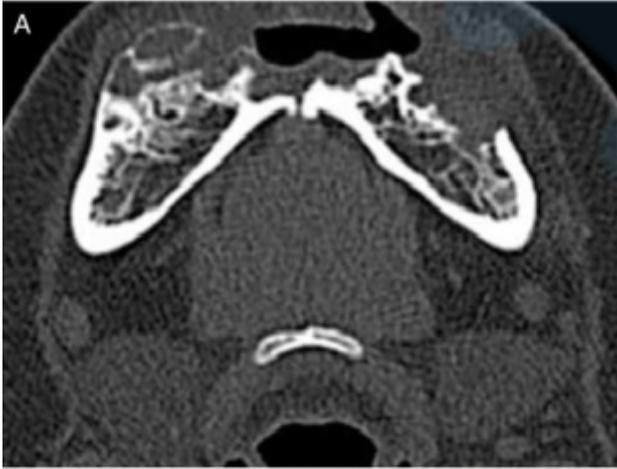
- 16岁男性患者，因左上颌尖牙和第一前磨牙自发移动而无法插入正畸牙固定器。回顾2年前正畸治疗时的全口腔X线检查是正常的。复查X线，在左上颌骨中发现了大的射线可透性病变。随后CT显示，一个35毫米的膨胀性病变突出到鼻腔底部，破坏左上颌窦和硬腭骨
- 鉴于其临床侵袭性特点，推荐切除和辅助治疗
- 鉴于患者有焦虑和抑郁病史，是干扰素 α (Interferon alpha) 相对禁忌症，所以用denosumab作为辅助治疗。手术切除后，患者在3个月内接受了denosumab三次120毫克皮下注射，无并发症。随后影像学表明病变改善，但持续存在大的骨缺损。之后5个月，患者共接受4次额外剂量的denosumab，重复影像显示显著病灶内骨形成。在2年的随访中发现病变腔几乎充满骨，没有复发。

Case 1



CT显示大的溶骨性病变，Denosumab 治疗后病变矿化

Case 2



- 21岁女性，患有家族性巨颌症，左下唇感觉异常和左下颌颊侧牙龈麻木。影像显示左下颌骨前部溶解性病变，破坏左下牙槽管，行病灶剜除术和神经减压。鉴于具有临床侵袭性特征，患者接受双膦酸盐的辅助治疗，并且通过病灶内类固醇注射治疗小面积可能的残余肿瘤。然而，病变逐渐扩大，患者在2年后进行了第二次切除手术。
- 组织学：GCT样。RNA-ISH显示高RANKL表达
-

讨论 CGCL与GCT

- 本研究确定了CGCLs的2个组织学类型：(1)类似于四肢骨的GCTs，以及(2)与四肢骨肿瘤缺乏相似之处，而特征为破骨型巨细胞较少且分布不均和梭形细胞性间质
- 虽然形态不同，但是RANKL 都弥漫强阳性。这一发现对侵袭性CGCLs有临床意义
- 编码组蛋白H3.3的*H3F3A*，在绝大多数GCTs中都存在，但在CGCLs中却没有发现；最近的研究显示多数CGCL中有*TRPV4*、*KRAS*和*FGFR*基因突变——这表明它们代表了基因上不同的实体

讨论 CGCLs的治疗

- 手术是CGCLs治疗的主要方法，但是报道的复发率从11%到49%不等，尤其是侵袭性肿瘤，强调需要新的治疗方式
- 虽然整体切除术在肿瘤治愈方面可能优于单独肿瘤摘除术，但面部畸形，牙齿缺失和下牙槽神经功能障碍强调了替代疗法的重要性
- 这都促使其他治疗方式的试验，包括病灶内皮质类固醇注射，降钙素， α 干扰素和双膦酸盐，没有一致的获益，特别是对于侵袭性病变。

讨论 CGCLs的治疗

- 发现GCT中多核巨细胞具有破骨细胞样表型，并在基质细胞源性RANKL的影响下分化，具有重要的治疗意义。鉴于denosumab治疗GCTs为单克隆抗体与RANKL的高亲和力结合，进一步研究RANKL在CGCL中的作用是必要的，无论其形态学表现如何
- 几位作者报道了denosumab治疗CGCL的成功，但没有对组织学或RANKL表达进行描述。在本研究中，我们报告了2例接受肿物切除术和辅助denosumab治疗的临床和影像学侵袭性CGCLs患者，两例患者均表现为GCT样组织学，RANKL弥漫强表达

讨论 CGCLs的RANKL表达与形态无关

- 我们用RNA-ISH检测了一系列CGCLs的RANKL mRNA表达。最值得注意的是，尽管本质上符合2种病理形态（GCT样和非GCT样），RANKL mRNA的表达模式和强度没有差异。
- 因此，虽然已经在组织病理学上对颌骨病变进行了大量的分类，但如果这两种组织学亚型都表现出RANKL弥漫强表达(至少在使用denosumab作为治疗方面)，这可能就不那么重要了。
- 病因多样的巨细胞丰富的病变，包括甲状旁腺功能亢进的棕色瘤，以及与家族性巨颌症和Noonan综合征相关的肿瘤，也表现出类似的RANKL表达。

讨论 RNA-ISH检测RANKL的优势

- 已有报道RANKL免疫组化染色成功的案例，但是使用免疫组织化学平台存在显着的挑战，一些研究报道了破骨型巨细胞的免疫组化反应性。RANKL可以3种不同的分子形式表达：（1）三聚体跨膜蛋白，（2）分泌形式，和（3）截短的胞外域。可以想象蛋白质的分泌形式是非特异性反应的原因。
- RNA-ISH平台克服了免疫组化的许多缺点，特别是那些与分泌蛋白相关的缺点。

讨论 本研究的局限性

1. 本研究队列侵袭性CGCL比例较高。然而，该队列允许评估可能需要denosumab治疗的CGCL中的RANKL。在实践中，复发病例或手术切除的高发病率病例，在考虑使用denosumab之前，RANKL-ISH可用于确认高表达水平。
2. 此外，鉴于CGCL通常是生命第二个十年的疾病，denosumab的使用将受到其对骨骼生长的不利影响的限制。这需要进一步的研究，包括更大的临床试验，以进一步评估denosumab治疗CGCL的安全性和有效性，以及RANKL表达是否与治疗反应相关

总结

- 本研究证明CGCL在RNA-ISH平台上单核基质细胞表达RANKL，无论组织学形态，侵袭性或散发/综合征状态如何。我们报告了用denosumab成功治疗的两名临床侵袭性肿瘤和RANKL高表达的患者。CGCL中的RANKL表达可能支持denosumab新的治疗应用，需要进一步研究。

谢谢