

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫名稱：蝕骨性骨腫瘤組織中基質分解酵素之分析

Studies of matrix proteolytic enzymes in the tissue of osteolytic bone tumors.

計畫編號：NSC88-2314-B002-264

計畫主持人：楊榮森 職稱:骨科教授 身分證號碼：N100804386

執行機關、單位：臺大醫學院 骨科

執行期限：87年8月1日至88年7月31日

連絡人：楊榮森 電話：(公) 02-23970800-3958 (宅) 02-23967271 傳真: 02-23956961

通訊地址：臺北市中山南路七號 臺大醫院骨科

e-Mail：yang@ha.mc.ntu.edu.tw

一、中文摘要:

關鍵詞：蝕骨性骨腫瘤、基質分解酵素、免疫組織化學染色

蝕骨性骨腫瘤乃是造成骨骼發生病理性骨折的主要原因之一，蝕骨性骨腫瘤含有原發性骨腫瘤和轉移性骨腫瘤兩大類，這些腫瘤都會破壞骨骼的構造，使骨骼失去原有的強度，進而引發病理性骨折。原發性骨腫瘤中有些種類會造成蝕骨變化，如巨大細胞瘤、纖維性骨腫瘤、以及一些惡性骨腫瘤等，此外轉移性骨腫瘤也會造成蝕骨性變化，如肺癌、腎細胞癌、和腺體癌等。在近二十年來，醫學診療技術進步神速，使其他系統的腫瘤治療效果大為改進，使許多腫瘤病患的五年存活率提高，因此也增高日後轉移到骨骼的機會，這些轉移性骨腫瘤有許多也會造成蝕骨的病變。因此，研究蝕骨性骨腫瘤的基本生物性質是重要的臨床課題之一。由於蝕骨性病變與骨骼基質的分解破壞有密切關係，而且臨床上相關的研究很少，因此本研究將著手研究蝕骨性骨腫瘤組織中基質分解酵素的表現情形。如此可有助於探討蝕骨性骨腫瘤的生物特性，以更進一步瞭解其治療反應，供為判定疾病

預後的參考。有鑑於此，本研究小組探討二十二例原發性蝕骨性骨腫瘤(A組)含9例巨大細胞瘤及13例原發性骨腫瘤)和三十五例轉移性蝕骨性骨腫瘤病患(B組)的骨腫瘤組織內的基質酵素分佈及含量多寡，結果證實這些腫瘤組織內表現出Cathepsin B (A組 21/22, B組 28/35), Cathepsin D(A組 20/22, B組 31/35), Cathepsin G(A組 21/22, B組 33/35), MMP-1(A組 22/22, B組 35/35), MMP-2(A組 20/22, B組 27/35)和MMP-3(A組 20/22, B組 29/35)等基質分解酵素，這些結果證實蝕骨性骨腫瘤具有高量分解基質的活性，此種情形可能與該腫瘤的蝕骨生物特性有關，此結果可供臨床治療參考。

英文摘要：

Keywords : Osteolytic bone tumor, Matrix _____ proteolytic _____ enzyme, Immunohistochemistry

Osteolytic bone tumor is a major cause of pathological fracture of bone. Either primary or metastatic osteolytic bone tumor can destroy the structure of bone, impair the biomechanical strength, and lead to final pathological

fracture. Some primary bone tumors can cause osteolytic lesions, such as giant cell tumors, fibrous tumors, and some malignant bone sarcomas. In addition, some metastatic bone tumors can also produce osteolytic bone lesions, such as bone tumors from lung cancer, renal cell carcinoma, adenocarcinoma, etc. The advent of various diagnostic and therapeutic techniques improve much the survival of many patients with cancers. The 5-year survival rates increase and hence increase the late bone metastasis. The osteolytic lesions are closely related to the degradation of bone matrix. Since there are few related clinical studies, therefore, it is very important to study the matrix proteolytic enzymes and the osteolytic nature of these bone tumors. Such an investigation of matrix proteolytic enzymes in the osteolytic bone tumors will shed a highlight on the biological behaviors of the tumors. It may help us to understand the response to therapy and its prognosis. Thus, we investigate the expression of matrix proteolytic enzymes, including cathepsin B, D, G, collagenase, gelatinase and stromelysin in 22 primary osteolytic bone tumor tissues (Group A, including 9 giant cell tumors and 13 primary osteolytic bone tumors) and 35 metastatic osteolytic tumor tissues (Group B). The results showed the expression of various matrix proteolytic enzymes in these tumor tissues, including Cathepsin B (Group A 21/22, Group B 28/35), Cathepsin D (Group A 20/22, Group B 31/35), Cathepsin G (Group A 21/22, Group B 33/35), MMP-1 (Group A 22/22, Group B 35/35), MMP-2 (Group A

20/22, Group B 27/35) and MMP-3 (Group A 20/22, Group B 29/35). These results demonstrated the expression of these proteolytic enzymes in the osteolytic tumors may be highly related to the osteolytic properties of these tumors. This study may help us to understand the basic biological behavior of osteolytic bone tumors and evaluation of treatment response in the clinical practice.

二、計畫緣由與目的：

蝕骨性病變(Osteolytic)會破壞骨基質，使骨骼結構發生破壞，並因而發生骨折。骨腫瘤在增殖過程中，都會涉及對原有骨基質的破壞作用，擴展腫瘤的生存空間[1-6]。許多原發性或轉移性骨腫瘤都可能會造成蝕骨性骨骼病變，如巨大細胞瘤，纖維性骨腫瘤，及轉移性骨腫瘤等，引起病理性骨折，且可能會導致許多相關的合併症，例如高鈣血症，或引起腫瘤血栓等，因此，在臨床上若能有效控制蝕骨性骨腫瘤的病程，減緩骨腫瘤的骨骼破壞速度或程度，都將有助於疾病的控制。所以研究蝕骨性骨腫瘤的生物特性，更顯得非常重要。

理論上，任何腫瘤的生長需擴充新的空間，解除基質的限制，使腫瘤有更大的空間生存增殖，也便於新生的血管進入，以提供腫瘤組織所必需的養分及氧氣，並且移除腫瘤的代謝廢物。研究證實，基質分解酵素是使腫瘤擴展範圍且持續成長的重要因素[3-5,7-11]。由於骨骼是一個堅固且空間限制更為嚴格的組織，因此，在骨骼部位生長的腫瘤若要生長，更必須克服骨骼的限制才能順利增殖，許多蝕骨性骨腫瘤短時間內即可達到明顯的破壞程度，更顯示出此類骨腫瘤具有很強的骨骼破壞能力。

造成蝕骨性骨骼病變的可能原因很多，基本上包括骨基質的破壞分解。許多腫瘤

細胞本身可能分泌或合成一些分解基質的酵素，以便於腫瘤細胞穿過基底膜的限制，骨基質的破壞可能與腫瘤細胞本身活性，破骨細胞活性，或組織內的巨噬細胞活性增高有關[3,5,9,12-18]。有些腫瘤細胞或巨噬細胞也可能會分泌一些細胞動力素，並間接增加基質分解酵素的分泌，使骨骼吸收的過程積極進行，且使巨噬細胞或破骨細胞受到刺激，而更進一步提高骨破壞的活性。

骨骼吸收作用主要由基質蛋白分解酵素所作用，這些酵素包括兩大類，其一為基質金屬分解酵素 (Matrix metalloproteinase, 簡稱 MMPs)，此為細胞外的酵素，即在細胞外進行基質分解作用，且包括多種酵素，如間質膠原分解酵素(可分解第 I 型，第 II 型和第 III 型膠原質)，Stromelysin(可分解第 I 型，第 II 型膠原質，Fibronectin, proteoglycan, laminin 等)，及 Gelatinase(可分解 Gelatin, 第 I 型和第 II 型膠原質等)[19]。另一類則為來自細胞溶小體的酵素 (Lysosomal enzyme)，乃是在細胞內的溶小體中進行分解作用，可對吞噬到細胞內的小微粒進行分解作用，包括 Cathepsin B, D, G, K, L 等[3-5,14,15,17-21]。兩者須密切配合才能達到良好的效果。此外，破骨細胞會分泌酸性磷酸酵素，使局部顯微環境有利於骨吸收的進行。這些細胞和酵素的作用都會受到細胞動力素和其他調節因子的調節。

由於臨床上關於蝕骨性骨腫瘤的骨吸收研究很少，因此我們計劃本研究方案來探討蝕骨性骨腫瘤內基質分解酵素對進行骨吸收的作用，以及研究該骨腫瘤組織內的細胞種類，及其與基質分解酵素間的關係，經由這些研究，可使吾人更明白蝕骨性骨腫瘤的生物特性，迄今為止臨床上有關蝕骨性骨腫瘤與基質分解酵素的相關研究很少，更顯得本研究的價值及需要。

研究目的

原發性骨腫瘤和轉移性骨腫瘤都可能造成蝕骨性的骨骼病變，這些病患若未得到適當治療，腫瘤經常會急速增生，並且造成嚴重的骨骼破壞，使病患發生病理性骨折，甚至於轉移到肺部而致死。臨床上及病理檢查發現蝕骨性骨腫瘤經常造成廣大範圍的骨骼破壞，理論上與基質分解酵素的關係十分密切，但是目前對於蝕骨性骨腫瘤與基質分解酵素的相關研究很少，在臨床上此類腫瘤的特性也較少被研究，因此探討此類因子與蝕骨性骨腫瘤之間的關係將有助於瞭解蝕骨性骨腫瘤的生物性質，因此本研究綜合研究這些造成蝕骨性骨病變的腫瘤組織內有關基質分解酵素的表現情形，希望可更明白這些變化的臨床意義。

三、結果與討論

本研究計畫使用的蝕骨性骨腫瘤組織皆由手術中取得。共計 57 例，其中 A 組為原發性蝕骨性病變，共 22 例(包括 9 例巨大細胞瘤，6 例原發性惡性肉瘤，7 例其他良性蝕骨性骨瘤)，B 組為轉移性蝕骨性病變，共 35 例(包括 15 例肺癌，5 例肝癌，4 例乳癌，3 例前列腺癌，2 例腎細胞癌，6 例其他癌症蝕骨性轉移性病例)。本研究小組利用免疫組織化學研究方法探討這些檢體的 Cathepsin B, D, G, Matrix metalloproteinase 1 (簡稱 MMP1), MMP2 和 MMP3 等酵素的分布情形。結果顯示，巨大細胞瘤中的巨大細胞會出現明顯的反應，其他許多蝕骨性骨腫瘤的細胞也會在細胞質出現陽性反應，而基質內的巨噬細胞也可出現明顯反應，表示此類骨腫瘤皆可分泌相當量的蛋白質分解酵素。其詳細分布情形如下列兩表所示：

	Cathepsin B	Cathepsin D	Cathepsin G
原發性	21/22	20/22	21/22

轉移性	28/35	31/35	33/35
-----	-------	-------	-------

	MMP1	MMP2	MMP3
原發性	22/22	20/22	20/22
轉移性	35/35	27/35	29/35

四、計劃成果自評

臨床上許多蝕骨性骨腫瘤會造成病理性骨折，嚴重影響病患的預後，使治療成果變差，因此本研究探討蝕骨性骨腫瘤組織內的骨基質分解酵素之來源、含量及其分佈情形，結果證實此類骨腫瘤皆可分泌相當量的蛋白質分解酵素，可有助於吾人對蝕骨性骨腫瘤基本生物特性的瞭解及治療之參考，同時利用這種方法可建立一種評估與研究腫瘤組織內所含特殊蛋白質的分佈情形，使我們對於此類腫瘤的基本性質能有深入瞭解，並可在未來推廣到其他的研究，探討腫瘤的可能致病機轉。希望更可利用此結果判定治療過程中的反應，在臨床應用上可供以判定選用治療方式，將有助於腫瘤的治療，改善病患的預後。經由本研究更可同時訓練相關技術人員，以更深切研究骨肉瘤的生物特性，並且建立組織免疫化學染色研究模式，供日後臨床治療參考。

參考文獻：

1. Hipp JA, Springfield DS, Hayes WC. Clin Orthop 312:120-135, 1995.
2. Miyasaka M. Clin Orthop 312:10-18, 1995.
3. Orr FW, Sanches-Sweatman OH, Kostenuik P, Singh G. Clin Orthop 312:19-33, 1995.
4. Mundy GR, Yoneda T. Clin Orthop 312:34-44, 1995.
6. Walls J, Bundred N, Howell A. Clin Orthop 312:51-63, 1995.

7. Rao VH, Bridge JA, Neff JR, et al. Clin Experi Metast 13:420-426, 1995.
8. Walther MM, Kleiner DE, Lubensky IA, et al. Urology 50:295-301, 1997.
9. Body JJ. Support Care Cancer 1:26-33, 1993.
10. Gohji K, Nakajima M, Fabra A, et al. Jpn. J Cancer 85:152-160, 1994.
11. Eilon G, Mundy GR. Cancer Res 43:5792-5794, 1983.
12. Athanasou NA, Quinn JMW. Br J Cancer 65:523-526, 1992.
13. Quinn JMW, Athanasou NA. J Cell Sci 101:681-686, 1992.
14. Eilon G, Mundy GR. Nature 276:726-728, 1978.
15. Sanchez-Sweatman OH, Khokha R, Singh G, Orr FW. Proc Am Asso Cancer Res 1994, p.71.
16. Roux S, Quinn J, Pichaud F, Orcel P, Chastre E, Jullienne A, de Vernejoul MC. J Cell Physiol 168:489-498, 1996.
17. Miyake H, Yoshimura K, Eto H, Arakawa S, Wada S, Chihara K, Kamidono S. Cancer Res 56:2440-2445, 1996.
18. Sanchez-Sweatman OH, Lee J, Orr FW, Singh G. Eur J Cancer 33:918-925, 1997.
19. Wahl LM, Corcoran ML. J Periondotol 64:467-473, 1993.
20. Delaisse JM, Ledent P, Vaes G. Biochem J 279:167-174, 1991.
21. Everts V, Delaisse JM, Korper W, Niehof A, Vaes G, Beertsen W. J Cell Physiol 150:221-231, 1992.