

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2023-04-004

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

## PAX7 在横纹肌肉瘤和相关软组织肿瘤中的诊断价值分析<sup>①</sup>

赵 路<sup>1②</sup>, 杨 娟<sup>2</sup>, 刘春梅<sup>2</sup>, 吴 涵<sup>2</sup>

(1. 漯河医学高等专科学校第二附属医院, 河南 漯河 462000; 2. 漯河市中心医院, 河南 漯河 462000)

**摘要** 目的: 探讨 PAX7 在诊断横纹肌肉瘤和相关软组织肿瘤中的应用价值。方法: 选取横纹肌肉瘤患者 46 例作为研究组, 选取同期相关软组织肿瘤患者 50 例作为参照 1 组, 另收集 50 例正常组织标本作为参照 2 组, 均行 PAX7 的免疫组化染色检测。结果: 研究组中 PAX7 基因表达 28 例, 参照 1 组中 PAX7 基因表达 2 例, 参照 2 组中无 PAX7 基因表达, 研究组与参照组之间 PAX7 基因检出率比较差异均有统计学意义 ( $\chi^2=61.000, P<0.05$ ); 研究组中胚胎性横纹肌肉瘤 20 例, 其 PAX7 基因分别在胚胎性横纹肌肉瘤、腺泡性横纹肌肉瘤、多形性横纹肌肉瘤、梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤表达各为 80.00%、38.46%、71.00%、33.33%。结论: PAX7 免疫组化染色对横纹肌肉瘤及相关软组织肿瘤早期鉴别诊断具有一定价值, 临床可通过 PAX7 进行早期分型。

**关键词:** 横纹肌肉瘤; 软组织肿瘤; 免疫组化染色; 诊断价值

中图分类号: R730.45

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2023)04-0027-005

## Diagnostic value of PAX7 in rhabdomyosarcoma and related soft tissue tumors<sup>①</sup>

ZHAO Lu<sup>1②</sup>, YANG Juan<sup>2</sup>, LIU Chunmei<sup>2</sup>, WU Han<sup>2</sup>

(1. The Second Affiliated Hospital of Luohe Medical College, Luohe 462000;

2. Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China)

**Abstract** Objective: To investigate the application value of PAX7 in the diagnosis of rhabdomyosarcoma and related soft tissue tumors. Methods: 46 RMS patients were included in the study group, while another 50 patients with soft tissue tumors in the same period were selected as the control group 1, and 50 normal tissue samples were collected as the control group 2. All groups underwent PAX7 immunohistochemical staining. Results: 28 cases of PAX7 gene expression were found in the study group, two cases in control group 1 and none in control group 2. There were statistical differences in the detection rate of PAX7 gene between the study group and the control groups ( $\chi^2=61.000, P<0.05$ ). Among the 20 cases of embryonal rhabdomyosarcoma in the study group, PAX7 gene expression in embryonal rhabdomyosarcoma, acinar rhabdomyosarcoma, pleomorphic rhabdomyosarcoma, spindle cell/sclerosing rhabdomyosarcoma was 80.00%, 38.46%, 71.00% and 33.33%, respectively. Conclusion: PAX7 immunohistochemical staining

① 基金项目: 漯河医学高等专科学校 2020 年度创新创业发展能力提升工程项目 (2020-LYZKYZD012)。

② 第一作者简介: 赵路, 硕士, 主治医师, 研究方向为病理诊断学。E-mail: instituteof0@163.com。

is valuable for early differential diagnosis of rhabdomyosarcoma and related soft tissue tumors, and can be used for early clinical classification.

**Keywords:** rhabdomyosarcoma; soft tissue tumor; immunohistochemical staining; diagnostic value

横纹肌肉瘤为儿童人群常见恶性肿瘤,约占全部肿瘤患者的5%,占儿童软组织肉瘤患者的50%左右<sup>[1]</sup>。有研究报道指出,横纹肌肉瘤源于中胚叶未分化的多能间质细胞,发展速度快、恶性程度高,具有较高病死率<sup>[2]</sup>。目前,临床以病理、免疫组化为主要诊断方案,其中病理诊断将其分为胚胎性、腺泡性、多形性及梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤4个亚型,不同分型横纹肌肉瘤预后差别较大,且早期治疗方案存在显著差异。因此,积极探讨横纹肌肉瘤早期诊断、分型方案具有重大意义<sup>[3-4]</sup>。PAX7属于PAX(paired box)基因家族,与横纹肌肉瘤细胞多种代谢、肿瘤发展存在一定关联,其基因表达情况有助于对横纹肌肉瘤进行诊断、分型<sup>[5]</sup>。但临床鲜有PAX7应用于横纹肌肉瘤的相关研究,基于此,本研究试分析PAX7在诊断横纹肌肉瘤和相关软组织肿瘤中的应用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2010年8月至2021年8月漯河医学高等专科学校第二附属医院、漯河市中心医院收治的横纹肌肉瘤患者46例作为研究组,其中男28例,女18例;年龄4~11岁,平均(7.3±1.4)岁;体质量指数16.8~18.9 kg/m<sup>2</sup>,平均(17.72±0.38)kg/m<sup>2</sup>。另选取同期相关软组织肿瘤患者50例作为参照1组,其中男30例,女20例;年龄4~10岁,平均(7.2±1.3)岁;体质量指数16.5~19.1 kg/m<sup>2</sup>,平均(17.85±0.43)kg/m<sup>2</sup>;纤维肉瘤18例、平滑肌肉瘤13例、脂肪肉瘤6例、未分化肉瘤8例、尤文氏肉瘤2例。另收集50例正常组织标本作为参照2组,包括皮肤、甲状腺、颌下腺、肾脏、肝脏、子宫内膜等;3组一般资料比较无统计学差异( $P>0.05$ ),均衡可比。本研究经漯河医学高等专科学校第二附属医院医学伦理委员会审核批准。

### 1.2 入选标准

纳入标准:①研究组均经临床病理诊断确诊为

横纹肌肉瘤。②可接受本研究检查方案。③知晓本研究并签订知情同意书。

排除标准:①合并精神异常或检查依从性较差。②合并造血系统疾病、凝血功能障碍。③合并严重脏器功能障碍。④合并免疫组化检测相关禁忌症。⑤合并其他恶性肿瘤。⑥合并自身免疫性疾病。

### 1.3 方法

分别制作横纹肌肉瘤、软组织肉瘤及正常组织芯片,行免疫组化染色分析。

石蜡包埋组织制作:经10%福尔马林固定后采用石蜡包埋,连续切片15张(3 μm),行免疫组织化学染色备用。

免疫组织化学染色:切片经二甲苯溶液浸泡10 min后分别置于100%、95%、80%乙醇1 min,蒸馏水冲洗振荡1 min, PBS缓冲液冲洗振荡1 min, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>温室孵育10 min,对所需抗原修复的抗体切片浸入枸橼酸钠缓冲液,高压加热10 min冷却后采用PBS溶液冲洗,加1滴封闭用血清,常温培育15 min,滴加一抗后次日经PBS溶液冲洗2 min,滴加二抗后于恒温培养箱(37℃)培育20 min,经PBS溶液冲洗2 min,滴加适当比例DAB显色剂,显微镜观察蒸馏水冲洗终止显色,经苏木素复染5 min,将切片置于100%酒精1 min,95%酒精1 min,80%酒精1 min,然后行透明、封片。

基因表达检测:脱蜡后加入细胞裂解液、蛋白酶K,常温下静置一夜,待完全溶解后经Trizol试剂提取RNA,经一步法RT-PCR及半巢式PCR检测PAX7基因表达情况,PCR产物由上海基康生物公司纯化并测序。

### 1.4 观察指标

①分析不同分型横纹肌肉瘤免疫组化染色结果及形态学表现。②比较研究组、参照1组、参照2组PAX7基因检出率及不同分型横纹肌肉瘤PAX7基因表达情况。③分析PAX7基因表达对横纹肌肉瘤、相关软组织肿瘤鉴别诊断价值,统计诊断效能。

### 1.5 统计学方法

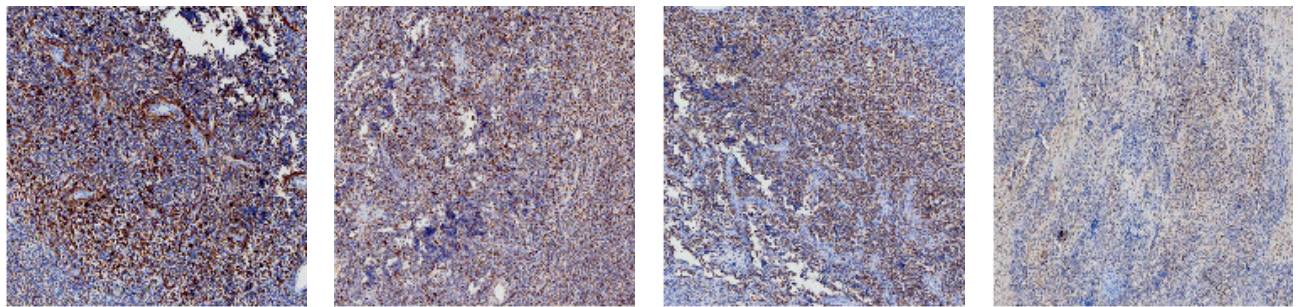
采用 SPSS 22.0 统计学软件处理数据,计数资料以  $n$ 、% 表示,组间比较行  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 免疫组化染色结果及形态学表现

病理诊断结果显示,研究组中胚胎性横纹肌肉瘤 20 例,腺泡性横纹肌肉瘤 13 例,多形性横纹肌肉瘤 7 例,梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤 6 例。经 PAX7 免疫组化染色观察发现,胚胎性横纹肌肉瘤的

部分肿瘤细胞呈球拍样,表现为横纹肌肉瘤细胞形态特征具有显著红染胞浆,分化较好的肿瘤细胞成片分布,核呈卵圆形或圆形,核仁不清,染色质疏松,呈弥漫性分布,并伴随黏液变性;腺泡性横纹肌肉瘤的肿瘤细胞被结缔组织分隔为腺泡样,部分细胞附于纤维间隔上,呈卵圆形或圆形,部分细胞较大,胞浆丰富,核仁不明显,偏位;多形性横纹肌肉瘤显示典型肉瘤特征,细胞较丰富,呈高度异型,多形性突出;梭形细胞横纹肌肉瘤呈束状生长或涡漩状排列,瘤细胞异型性不明显,呈纤维性、嗜酸性胞浆,具有丰富间质胶原纤维,可见玻璃样变性,见图 1。



a. 胚胎性横纹肌肉瘤

b. 腺泡性横纹肌肉瘤

c. 多形性横纹肌肉瘤

d. 梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤

图 1 横纹肌肉瘤染色图

### 2.2 PAX7 基因表达情况

研究组中共检测出 PAX7 基因表达 28 例,参照 1 组中 2 例尤文氏肉瘤 PAX7 基因表达为阳性,参照 2 组中未检测出 PAX7 基因表达。研究组与两个参照组之间比较 PAX7 基因检出率存在统计学差异 ( $\chi^2 = 61.000, P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组 PAX7 基因表达情况比较( $n$ , %)

组别	$n$	PAX7 基因表达		$\chi^2$	$P$
		阳性	阴性		
研究组	46	28(60.87)	18(39.13)		
参照 1 组	50	2(4.00)	48(96.00)	67.128	<0.05
参照 2 组	50	0	50(100.00)		

20 例胚胎性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 16/20 例 (80.00%), 13 例腺泡性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 5/13 例 (38.46%), 7 例多形性横纹

肌肉瘤中 PAX7 基因表达 5/7 例 (71.00%), 6 例梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 2/6 例 (33.33%), 见表 2。

表 2 不同分型横纹肌肉瘤 PAX7 基因表达情况比较( $n$ , %)

分型	$n$	PAX7 基因表达		$\chi^2$	$P$
		阳性	阴性		
胚胎性横纹肌肉瘤	20	16(80.00)	4(20.00)		
泡性横纹肌肉瘤	13	5(38.46)	8(61.54)		
多形性横纹肌肉瘤	7	5(71.00)	2(29.00)	8.051	<0.05
梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤	6	2(33.33)	4(66.67)		

## 2.3 鉴别诊断价值

以横纹肌肉瘤为阳性标本,相关软组织肿瘤为阴性标本,PAX7 基因表达对横纹肌肉瘤诊断准确率为 79.17%(76/96),灵敏度为 60.87%(28/46),特异度为 96.00%(48/50),误诊率为 4.00%(2/50),漏诊率为 39.13%(18/46),阳性预测值为 93.33%(28/30),阴性预测值为 72.72%(48/66),见表 3。

表 3 PAX7 对横纹肌肉瘤、相关软组织肿瘤诊断价值

病理诊断	PAX7 诊断		总计
	阳性	阴性	
横纹肌肉瘤	28	18	46
相关软组织肿瘤	2	48	50
总计	30	66	96

## 3 讨论

横纹肌肉瘤为一种软组织恶性肿瘤,约占儿童恶性实体性肿瘤的 12%,占儿童软组织肉瘤的 50%左右,好发于四肢、躯干等<sup>[6]</sup>。有研究报道指出,横纹肌肉瘤可发生于全身各个部位,且初发时无特异性临床症状,不易察觉,随病情进展至中晚期预后效果较差,发生远处转移累及其他器官,易引起复发等不良预后<sup>[7]</sup>。因此,积极探讨横纹肌肉瘤早期诊断、评估方案至关重要。

临床根据肿瘤病理分类将横纹肌肉瘤分为胚胎性、腺泡性、多形性、梭形细胞/硬化性,其中胚胎性、腺泡性多发于儿童人群。近年来依据肿瘤形态学表现及发生部位进一步分出不同亚型,如腺泡性中分为胚胎性-腺泡性混合型、实体型等,但临床诊断时,缺乏腺泡样结构的实体型病灶易诊断为小圆细胞恶性肿瘤,且混合型横纹肌肉瘤临床生物学行为及分子生物学特征与腺泡性无显著差异<sup>[8-10]</sup>。本研究所采用的免疫组化染色法结合形态学诊断特征,有助于临床早期诊断横纹肌肉瘤。本研究结果显示,46 例横纹肌肉瘤患者中共检测出 PAX7 基因表达 28 例,50 例相关软组织肿瘤患者中共检测出 PAX7 基因表达 2 例,而 50 例正常组织中未检测出 PAX7 基因表达。这个结果说明 PAX7 基因在肌源性分化组织中呈高表达,而在人体正常组织及相关软组织

肿瘤中无表达或低表达。本研究以横纹肌肉瘤为阳性标本,诊断准确率为 79.17%,说明 PAX7 免疫组化染色对早期诊断横纹肌肉瘤具有一定价值。需要注意的是,本研究选取的 50 例相关软组织肿瘤中包括尤文氏肉瘤 2 例,且 PAX7 免疫组化染色在这 2 例尤文氏肉瘤当中均为阳性,阳性率达到 100%,而其他形态学相似的软组织肿瘤 48 例,PAX7 免疫组化染色均为阴性。从另一个角度来说,PAX7 阳性的小圆细胞肿瘤可评估诊断为横纹肌肉瘤和尤文氏肉瘤,但是,随后要进行 desmin、myogenin (MYOG) 和 MYOD1 的免疫组化染色或分子检测加以区别。

有研究报道指出,横纹肌肉瘤不同病理分型临床治疗方案制定及预后恢复存在差异,其中腺泡性预后差,而胚胎性预后优于腺泡性,相关数据显示,腺泡性 5 年生存率不足 10%,而胚胎性 5 年生存率为 68%左右<sup>[11-12]</sup>。因此,早期分型诊断对临床制定治疗方案尤为重要。免疫组化染色虽可用于横纹肌肉瘤的早期诊断,但部分肿瘤细胞缺乏特征性形态学表现,且临床尚无一种抗体只在胚胎性或腺泡性横纹肌肉瘤中表达,因此仅参考免疫组化染色结果进行诊断及病理分型具有一定难度<sup>[13]</sup>。而本研究结果显示,不同分型横纹肌肉瘤 PAX7 基因表达检出率存在明显差异,20 例胚胎性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 16/20 例(80.00%),13 例腺泡性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 5/13 例(38.46%),7 例多形性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 5/7 例(71.00%),6 例梭形细胞/硬化性横纹肌肉瘤中 PAX7 基因表达 2/6 例(33.33%),可见胚胎性横纹肌肉瘤及多形性横纹肌肉瘤表达较高,据此可知,通过横纹肌肉瘤 PAX7 基因表达可初步评估横纹肌肉瘤分型<sup>[14]</sup>。

PAX7 基因定位于 1p36,为 PAX 转录因子基因家族成员,具有高度结构、序列相似性,近年来随细胞遗传学发展,研究发现横纹肌肉瘤存在遗传学变化,如 t(1;13)染色体易位、11p15.5 杂合性丢失、癌基因及抑癌基因改变等,推测其对横纹肌肉瘤分子分型诊断具有一定价值<sup>[15]</sup>。PAX7 基因与胚胎发育密切相关,其转录调控功能与肿瘤发生具有紧密联系,在抑制肿瘤细胞凋亡方面可发挥重要作用。相

关研究表明,将PAX7基因转染两种胚胎性横纹肌肉瘤后可在低血清条件生长,细胞生长加速,且形成强侵袭性移植瘤,具有促进细胞增殖、转化、移植细胞凋亡及干预组织器官发育等作用<sup>[16]</sup>。

综上所述,PAX7免疫组化染色可用于横纹肌肉瘤及相关软组织肿瘤早期鉴别诊断中,为临床早期病理分型、制定治疗方案提供可靠依据。

#### 参考文献:

- [1] 段超,张伟令,孙青,等.儿童及青少年横纹肌肉瘤多中心临床研究:CCCG-RMS-2016中期研究报告[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2022,27(2):78-82,96.
- [2] 赵丹,吕晓鸣,陈鹏,等.<sup>125</sup>I粒子近距离放疗联合化疗对儿童脑膜旁横纹肌肉瘤的疗效及其预后分析[J].中华医学杂志,2022,102(20):1500-1505.
- [3] 张淑萍,黄乾倩,沈乐园,等.儿童神经母细胞瘤和横纹肌肉瘤骨髓转移的细胞形态分析[J].中华检验医学杂志,2022,45(5):478-482.
- [4] HEGDE M, JOSEPH S K, PASHANKAR F, et al. Tumor response and endogenous immune reactivity after administration of HER2 CAR T cells in a child with metastatic rhabdomyosarcoma[J]. Nat Commun, 2020,11(1):3549.
- [5] LANGDON C G, GADEK K E, GARCIA M R, et al. Synthetic essentiality between PTEN and core dependency factor PAX7 dictates rhabdomyosarcoma identity [J]. Nat Commun, 2021,12(1):5520.
- [6] 赵志娟,孟莲,刘春霞.基于融合基因作用于横纹肌肉瘤的miRNA-mRNA调控网络的生物信息学分析[J].吉林大学学报(医学版),2022,48(1):154-162.
- [7] 吴纪恒,王金湖,茅君卿,等.儿童横纹肌肉瘤的靶向治疗临床试验进展[J].中国新药杂志,2022,31(15):1480-1486.
- [8] 文圆,张伟令,张谊,等.儿童头颈部横纹肌肉瘤疾病进展的危险因素及预后分析[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(15):1152-1156.
- [9] 唐丽芳,陈玲,朱里,等.儿童鼻窦区胚胎型横纹肌肉瘤MRI及CT分析[J].影像研究与医学应用,2021,5(13):198-199.
- [10] SHERN J F, SELFE J, IZQUIERDO E, et al. Genomic classification and clinical outcome in rhabdomyosarcoma; a report from an international consortium [J]. J Clin Oncol, 2021,39(26):2859-2871.
- [11] 陈希文,李鹤虹,吴慧莹,等.儿童皮下软组织横纹肌肉瘤临床特点及预后影响因素分析[J].宁夏医科大学学报,2019,41(11):1128-1131.
- [12] 徐可,彭剑波,周艳刚,等.横纹肌肉瘤骨髓转移患者临床特征及预后分析[J].肿瘤研究与临床,2020,32(11):796-800.
- [13] AZORSA D O, BODE P K, WACHTEL M, et al. Immunohistochemical detection of PAX-FOXO1 fusion proteins in alveolar rhabdomyosarcoma using breakpoint specific monoclonal antibodies [J]. Mod Pathol, 2021,34(4):748-757.
- [14] MESTRE-ALAGARDA C, GÓMEZ-MATEO M C, BERENGUER-ROMERO M D, et al. Rhabdomyosarcoma alveolar. dos casos negativos para la fusión PAX3-FOXO1 y PAX7-FOXO1 [alveolar rhabdomyosarcoma; two fusion-negative cases lacking PAX3-FOXO1 and PAX7-FOXO1] [J]. Rev Esp Patol, 2022,55(1):57-62.
- [15] SKRZYPEK K, ADAMEK G, KOT M, et al. Progression and differentiation of alveolar rhabdomyosarcoma is regulated by PAX7 transcription factor-significance of tumor subclones[J]. Cells, 2021,10(8):1870.
- [16] WEIEL J J, KOKH D, CHARVILLE G W, et al. PAX7 is a sensitive marker of skeletal muscle differentiation in rhabdomyosarcoma and tumors with rhabdomyosarcomatous differentiation in the female genital tract [J]. Int J Gynecol Pathol, 2022,41(3):235-243.

[收稿日期:2022-12-05]

[责任编辑:桂根浩 英文编辑:阳雨君]