

Peran *Runt-Related Transcription Factor 2* (Runx2) pada Patogenesis dan Resistensi Kemoterapi Osteosarkoma

Rischa Jean Rudijanto, Maria
Angela Putri Maharani,
Puspita Eka Wuyung
Departemen Patologi
Anatomik, Fakultas
Kedokteran, Universitas
Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto
Mangunkusumo
Jakarta

Penulis korespondensi: Rischa Jean
Rudijanto, dr. Maria Angela Putri
Maharani, sp.P.A., Subsp.K.A.(K), Dr.
Dra. Puspita Eka Wuyung, MS.
Departemen Patologi Anatomik,
Fakultas Kedokteran, Universitas
Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto
Mangunkusumo
Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta
e-mail: rischa.jean@gmail.com,
ma.putri.m@gmail.com,
ekawuyung@gmail.com

ABSTRAK

Osteosarkoma (OS) merupakan sarkoma tulang primer yang sering ditemukan. Berbagai faktor genetik, epigenetik, dan lingkungan yang berperan dalam osteogenesis, juga berperan dalam perkembangan OS. Penegakkan diagnosis OS berdasarkan pada gejala klinis, pemeriksaan radiologi, dan pemeriksaan histologik. Berdasarkan klasifikasi tumor WHO edisi ke-5, subtype OS terdiri dari osteosarkoma konvensional (COS), osteosarkoma telangiectatik (TAEOS), dan *small cell osteosarcoma* (SCOS), dengan gambaran histologik setiap subtype berbeda. Pemeriksaan IHK pada OS untuk membantu menentukan prognosis dan menyingkirkan diagnosis banding. Antigen yang umum diekspresikan pada OS, salah satunya adalah RUNX2.

Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam berbagai tahapan diferensiasi osteoblas dan maturasi kondrosit. Berbagai jalur pensinyalan yang berinteraksi dengan RUNX2 berpengaruh terhadap tumorigenesis, angiogenesis, dan resistensi kemoterapi pada OS. Ekspresi RUNX2 meningkat pada pasien dengan respons kemoterapi yang buruk. Peningkatan ekspresi RUNX2 dapat dideteksi menggunakan IHK, *western blot*, FISH, PCR, dan *next-generation sequencing*.

Kata kunci: Osteosarkoma (OS), *Runt-related transcription factor 2* (RUNX2), diferensiasi osteoblas, maturasi kondrosit, resistensi kemoterapi.

PENDAHULUAN

Osteosarkoma (OS) merupakan sarkoma tulang primer yang paling sering ditemukan. OS memiliki distribusi usia bimodal, yaitu usia 14–18 tahun dan usia lebih dari 40 tahun. Insidensi OS per tahun adalah 4,4 kasus per 1 juta populasi usia 0-24 tahun, 1,7 kasus per 1 juta populasi usia 25–59 tahun, dan 4,2 kasus per 1 juta populasi usia 60 tahun atau lebih.¹ Berdasarkan data Departemen Patologi Anatomik Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) terdapat 176 kasus OS tahun 2019–2023.

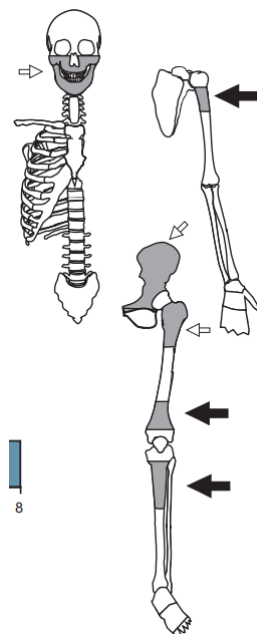
Tulang terdiri dari 4 jenis sel, yaitu osteoblas, osteoklas, osteosit, dan sel *bone-lining*. Selain itu terdapat lingkungan mikro tulang yang turut menyusun, seperti kartilago yang mengelilingi tulang. Kartilago terdiri dari kondrosit, sel endotel, fibroblas, sel hematopoetik yang berasal dari sumsum tulang, serta sel punca mesenkimal (MSC). Berbagai faktor genetik, epigenetik, dan lingkungan dapat mendorong sel punca mesenkimal untuk berdiferensiasi menjadi sel prekursor tulang, dan turut berperan dalam perkembangan OS.²

Berdasarkan klasifikasi *World Health Organization* (WHO), OS *high grade* dibagi menjadi 3 subtipe, yaitu osteosarkoma konvensional (COS), osteosarkoma telangiectatik (TAEOS), *small cell osteosarcoma* (SCOS).¹ Karakteristik OS terdiri dari pembentukan tulang yang abnormal dan osteoblas yang dominan. OS merupakan tumor dengan penyebaran lokal yang agresif dan dengan kesintasan 5 tahun sebesar 20%. Angka kesintasan tidak meningkat selama beberapa dekade sejak diperkenalkannya kemoterapi, sedangkan *targeted therapy* belum tersedia untuk OS.³

Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam diferensiasi osteoblas. RUNX2 dihubungkan dengan berbagai kanker pada manusia, termasuk kanker tulang dan metastasis pada tulang.⁴ Gen *RUNX2* terletak di kromosom lengan 6p12–21, yang mengalami amplifikasi pada 40–50% kasus OS. RUNX2 juga memiliki peran dalam perkembangan MSC menjadi osteoblas dan resistensi kemoterapi.^{1,5} Tujuan artikel ini untuk menggali peran RUNX2 dalam patogenesis dan resistensi kemoterapi pada OS.

OSTEOSARKOMA

Epidemiologi Osteosarkoma



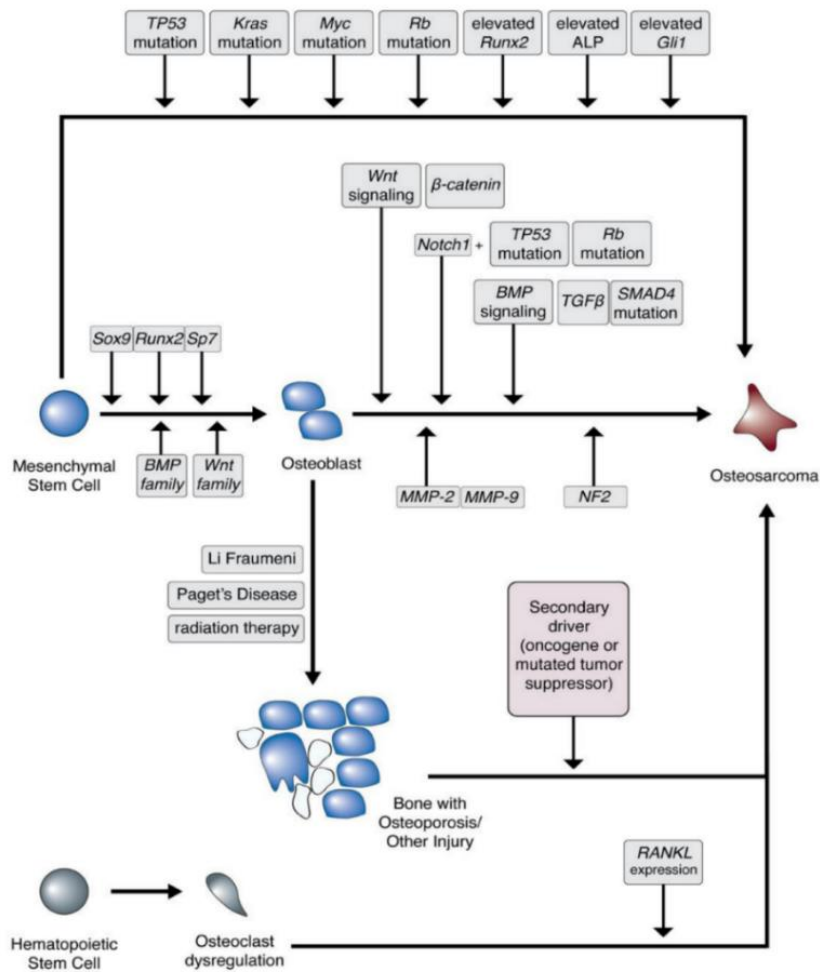
Gambar 1. Lokasi timbulnya OS.⁷ Panah hitam puncak pertama OS, panah putih puncak kedua OS.

OS *high grade* merupakan sarkoma yang paling sering ditemukan di tulang. OS memiliki distribusi usia bimodal, dengan sebagian besar kasus timbul pada usia 14–18 tahun dan pada usia lebih dari 40 tahun. OS lebih sering terjadi pada pria, dengan rasio pria:wanita 1,3:1.^{1,6} Pada anak, OS paling sering timbul pada metafisis femur distal, tibia proksimal, serta metafisis dan diafisis humerus proksimal. Pada usia dewasa, tumor lebih sering timbul pada tulang aksial dan tulang pipih (*flat bones*) (Gambar 1).⁷

Etiologi dan Patogenesis Osteosarkoma

Etiologi dan patogenesis OS sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Beberapa sindrom genetik berkaitan dengan peningkatan insidensi OS primer, seperti pada sindrom Li-Fraumeni, dan retinoblastoma herediter. Inaktivasi *TP53* akibat mutasi atau hilangnya heterozigositas/delesi pada sindrom Li-Fraumeni, dan mutasi *RB1* pada pasien retinoblastoma herediter, diketahui memiliki peran pada OS. Pasien OS usia dewasa berkaitan dengan *Paget's disease*, dimana ditemukan peningkatan mutasi *p53* dan gen supresor tumor lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa diperlukan "*second hit*" untuk terjadinya OS pada pasien dengan *Paget's disease*. Selain itu, terdapat faktor lingkungan yang merupakan faktor risiko dari OS. Paparan terapi radiasi menyebabkan terjadinya *radiation-induced* OS. Simian virus 40 (SV40) juga ditemukan pada OS, namun belum ada data pendukung yang lengkap untuk hal tersebut.^{1,2}

OS dapat terbentuk selama perkembangan tulang yang melibatkan MSC, osteoblas, serta osteoklas (Gambar 2). Kelainan pada osteogenesis mengganggu keseimbangan antara proliferasi dan diferensiasi, akibatnya sebagian sel mengalami proliferasi yang tidak terkontrol dan membentuk osteosarkoma. Gen-gen yang berperan dalam perkembangan osteoblas juga berkaitan dengan osteosarkomagenesis, salah satunya adalah *RUNX2*.^{2,8}

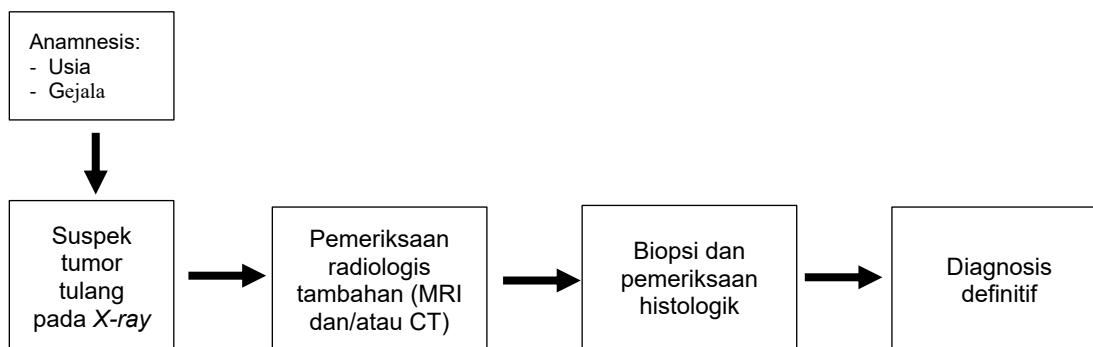


Gambar 2. Patogenesis Osteosarkoma.²

Penegakkan Diagnosis Osteosarkoma

Gejala OS dapat dialami beberapa minggu hingga bulan. Gejala paling umum adalah nyeri tulang yang persisten dan progresif, terutama malam hari, disertai dengan

pembengkakan dan gangguan fungsional jika tumor telah mengenai korteks dan periosteum. Penegakkan diagnosis OS berdasarkan pada gejala klinis, pemeriksaan radiologi, dan pemeriksaan histologik (Gambar 3).^{9,10}



Gambar 3. Strategi Diagnostik Osteosarkoma (Telah diolah kembali).¹⁰

Pemeriksaan radiologi perlu dilakukan jika terdapat gejala. X-ray merupakan pilihan pertama pada tulang yang mengalami keluhan disertai dengan sendi yang terdekat.

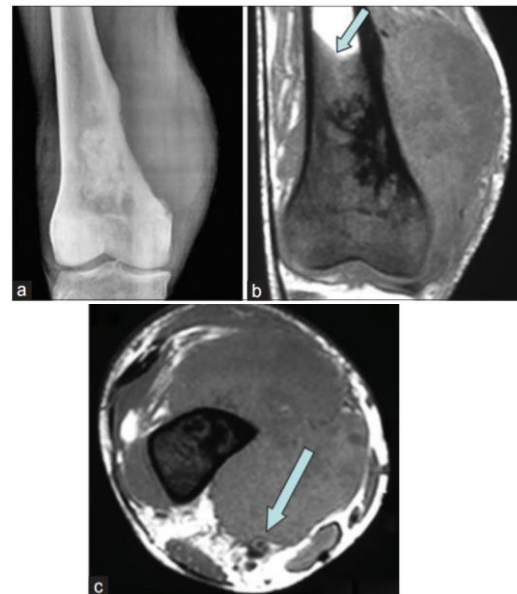
Karakteristik X-ray pada OS memperlihatkan gambaran "sunburst" akibat periostitis yang agresif, dan segitiga Codman akibat elevasi periosteum (Gambar 4). Gambaran lain seperti

destruksi pada korteks dan medula tulang disertai mineralisasi tumor atau gambaran campuran lesi litik/sklerotik, lesi pada tulang dengan batas tidak jelas berbentuk “fluffy” atau seperti awan, serta adanya massa pada jaringan lunak.^{1,10,11}



Gambar 4. Reaksi Periosteal Pada Osteosarkoma Femur.¹² X-ray antero-posterior (A) dan lateral (B) menunjukkan pola predominant osteoblas intramedular (*) dengan reaksi periosteal agresif (*sunburst* [panah di A] dan segitiga Codman [panah di B]).

Computed Tomography (CT) dapat memberikan informasi tambahan mengenai keterlibatan tulang (adanya kalsifikasi, pembentukan tulang periosteal dan destruksi tulang), namun keterlibatan medular tulang sulit dinilai. *Magnetic resonance imaging* (MRI) merupakan modalitas terbaik untuk menilai *staging* lokal tumor, dengan gambaran perluasan tumor, lesi yang melalui dan/atau di sekitar *growth plate*, *skip lesion* pada tulang yang sama, keterlibatan sendi kontralateral, dan keterlibatan neurovaskular (Gambar 5).^{10,11}



Gambar 5. Osteosarkoma Pada Distal Femur.¹¹ (a) X-ray menunjukkan komponen jaringan lunak yang besar pada sisi medial; (b) MRI-coronal menunjukkan perluasan tumor ke medula (panah); (c) MRI-axial menunjukkan tumor yang berdekatan ke pembuluh darah poplitea.

Biopsi merupakan tahap penting penegakkan diagnosis OS setelah pemeriksaan radiologis. Biopsi dapat dilakukan dengan cara *core-needle biopsy* atau *open biopsy*. Spesimen yang diperoleh dari biopsi dapat digunakan untuk pemeriksaan histologik dan imunohistokimia (IHK) untuk membantu penegakkan diagnosis dan penentuan subtype OS, yang akan mempengaruhi tatalaksana dan prognosis.^{10,11}

Klasifikasi Osteosarkoma

Berdasarkan klasifikasi tumor oleh *World Health Organization* (WHO) edisi ke-5 (Tabel 1), OS merupakan *high grade* intrameduler sarkoma. OS terdiri dari 3 subtype, yaitu osteosarkoma konvensional (COS), osteosarkoma telangiectatik (TAEOS), dan *small cell osteosarcoma* (SCOS).¹

Tabel 1. Klasifikasi Osteosarkoma Berdasarkan WHO Edisi 5.¹

Letak	Grade	
Superfisial	<i>Low grade</i>	Osteosarkoma parosteal
	<i>Intermediate</i>	Osteosarkoma periosteal
	<i>High grade</i>	Osteosarkoma <i>high grade</i> superfisial
Intrameduler	<i>Low grade</i>	Low grade sentral (LGCOS) osteosarkoma/Osteosarkoma intrameduler diferensiasi baik
	<i>High grade</i>	Osteosarkoma konvensional (COS)
		Osteosarkoma osteoblastik
		Osteosarkoma kondroblastik
		Osteosarkoma fibroblastik
		Osteosarkoma teleangiektatik (TAEOS)
<i>Small cell osteosarcoma</i> (SCOS)		
<i>Unspecified</i>		Osteosarkoma sekunder <i>Paget disease of bone</i> (PDB) <i>Radiation-associated sarcoma</i> Osteosarkoma <i>infarct-related</i> Osteosarkoma akibat osteomyelitis kronik Osteosarkoma <i>implant-related</i> Osteosarkoma sekunder kelainan <i>postzygotik</i> (fibrous displasia)

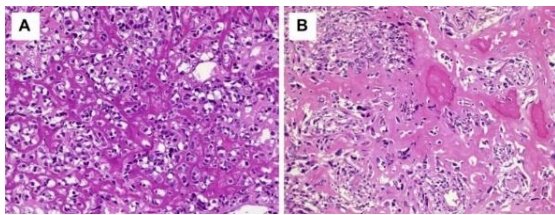
COS merupakan massa intrameduler berukuran besar (lebih dari 5–10 cm) yang berpusat di regio metafisis dengan ekstensi ke diafisis dan epifisis di dekatnya. Pada pembelahan, massa tampak heterogen, sesuai dengan derajat dan jenis mineralisasi matriks. Tumor dengan matriks yang mengalami mineralisasi yang berat tampak coklat-putih/kuning dan solid (menyerupai tulang kortikal), sedangkan komponen kartilago yang tidak mengalami mineralisasi berwarna abu-abu dan kenyal (jika asalnya *hyaline*) atau mukoid (jika matriks mengalami degenerasi *myxoid*). Area perdarahan, nekrosis, dan perubahan kistik juga dapat ditemukan. Keterlibatan intrameduler cukup besar. Jika terjadi infiltrasi ekstraoseus, tumor membentuk massa jaringan lunak eksentrik atau *circumferential* yang menggeser periosteum ke perifer (Gambar 6).¹



Gambar 6. Osteosarkoma dari regio metadiaphisis femur distal.¹³

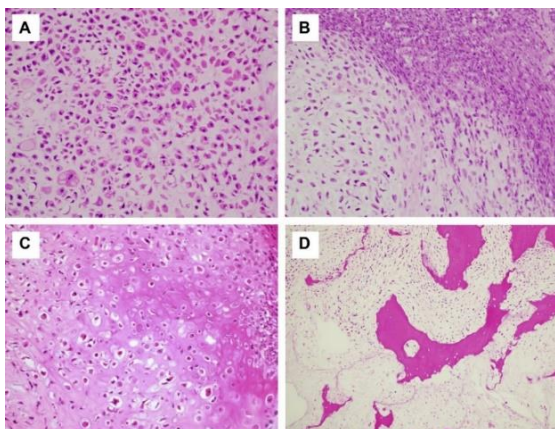
COS memiliki spektrum histomorfologi yang luas. Identifikasi tulang neoplastik penting untuk penegakkan diagnosis. Tidak ada jumlah minimum formasi tulang yang diperlukan untuk menegakkan diagnosis. Pola pertumbuhan tumor yang permeatif mengisi ruang sumsum tulang dan meliputi serta mengerosi trabekula tulang. Tumor kemudian mengisi dan meluas ke sistem *haversian* pada tulang kortikal. Sel neoplasma menunjukkan anaplasia dan pleomorfisme yang berat, dan sel tersebut dapat berbentuk fusiform, *plasmacytoid*, atau epiteloid. Sel neoplasma sering mengecil dan memiliki penampilan normal (menyerupai osteosit jinak) ketika dikelilingi oleh matriks tulang. Aktivitas mitosis biasanya cepat, dan sering ditemukan gambaran mitosis atipikal. Pada umumnya, matriks osteoid ganas memiliki kuantitas yang bervariasi; arsitektur seperti anyaman; dan berbentuk seperti trabekula yang primitif dan tidak beraturan yang dapat membentuk pola *filigree* atau *coarse lace-like*, atau sebagai lembaran tulang kompak yang luas yang dibentuk dari penyatuan trabekula. Matriks tulang eosinofilik pada pewarnaan *haematoxylin* dan *eosin* (H&E) jika tidak mengalami mineralisasi dan menjadi basofilik/ungu jika mengalami mineralisasi, dan dapat menunjukkan penampilan *pagetoid*.¹

Berdasarkan matriks yang dominan, sub tipe COS dibagi menjadi osteoblastik (76-80%), kondroblastik (10-13%), dan fibroblastik (10%). Pada osteosarkoma osteoblastik, tulang neoplastik merupakan matriks utama dan bervariasi mulai dari trabekula yang tipis, *lace-like* hingga tulang kompak (Gambar 7).¹



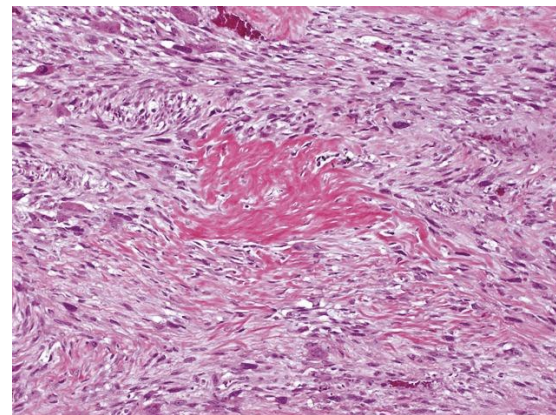
Gambar 7. Osteosarkoma osteoblastik.¹⁴ (A) Matriks dapat bersifat halus dan *lace-like* [H&E, pembesaran x100] atau (B) berbentuk trabekula atau lembaran [H&E, pembesaran x100].

Pada osteosarkoma kondroblastik, komponen matriks yang dominan adalah kartilago hyaline dengan sitologi atipik yang keras. Namun matriks *chondroid* juga dapat muncul seperti *myxoid* dengan sel tunggal atau *delicate cords of cells* yang menunjukkan atipia yang tidak menonjol, terutama pada tumor yang timbul dari tulang *gnathic*. Kartilago neoplastik menyatu dengan area yang mengandung tulang neoplastik, sering dengan kondensasi dan *spindling* dari sel tumor di perifer nodul *chondroid* (Gambar 8).¹



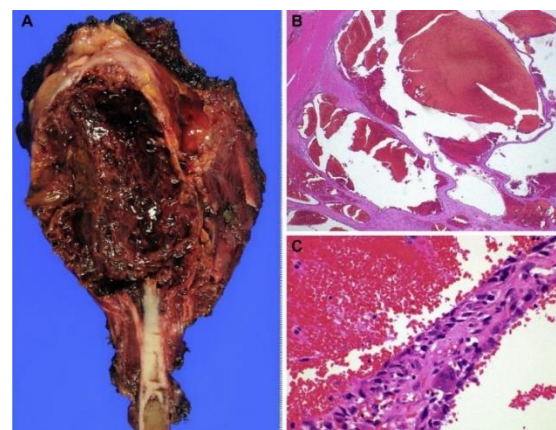
Gambar 8. Osteosarkoma kondroblastik.¹⁴ (A) Komponen kartilago pada sebagian besar kasus menunjukkan proliferasi sel atipik, menyerupai kondrosarkoma *grade 3* [H&E, pembesaran x100]. (B) Proliferasi sel *spindle* nonkartilago sering timbul di perifer lobulus kartilago [H&E, pembesaran x100]. (C) Matriks tulang dan kartilago menyatu secara bertahap menghasilkan stroma yang ambigu (*ambiguous stroma*) [H&E, pembesaran x200]. (D) Tumor memiliki area yang menyerupai kondrosarkoma *lower-grade* [H&E, pembesaran x40].

Pada osteosarkoma fibroblastik, sel malignan berbentuk *spindle* dan jarang berbentuk *epitheloid*; namun sering menunjukkan atipia keras. Sel tumor berhubungan dengan kolagen ekstraseluler, sehingga dapat ekstensif dan tersusun dalam pola *storiform* dengan sentral tulang neoplastik (Gambar 9).¹



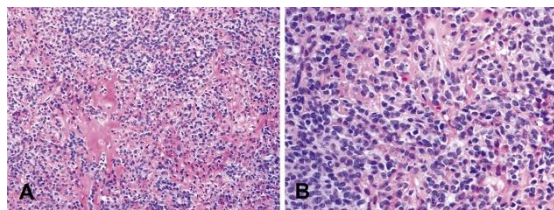
Gambar 9. Osteosarkoma fibroblastik.¹

Subtipe TAEOS menunjukkan lesi hemoragik yang berisi bekuan darah, dideskripsikan sebagai rongga berisi darah. Area solid *fleshy* atau sklerotik biasanya tidak ditemukan. Erosi atau destruksi kortikal yang ekstensif yang melibatkan dengan jaringan lunak di sekitarnya dapat ditemukan. Secara mikroskopis, tumor terdiri dari rongga kistik yang kosong atau berisi darah menyerupai *aneurysmal bone cyst*. Septa kista memiliki ketebalan yang bervariasi dan terdiri dari sel-sel pleomorfik dengan inti hiperkromatik. Beberapa sel malignan dapat ditemukan pada area hemoragik. Mitosis atipik dapat ditemukan. Pembentukan osteoid dapat fokal dan konfluen, namun dapat juga tidak ditemukan pada biopsi. Septa juga mengandung *osteoclast-type giant cells* (Gambar 10). Pada tepi lesi, penyebaran (*permeation*) trabekula tulang juga dapat ditemukan.¹

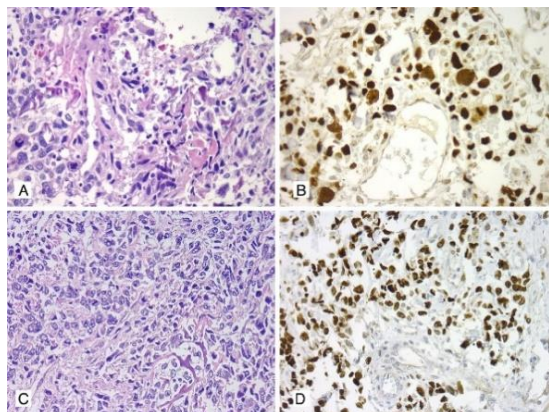


Gambar 10. Osteosarkoma telangiektatik.¹⁴ (A) Massa lunak hemoragik yang bersifat destruktif di caput fibula tanpa komponen sklerotik. (B) Tumor terdiri dari kista hemoragik multipel [H&E, pembesaran x20]. (C) Dinding kista mengandung sel *spindle* dan sejumlah kecil *osteoclast-like giant cells* [H&E, pembesaran x400].

Pada SCOS, gambaran makroskopis tidak dapat dibedakan dengan COS. Secara mikroskopis, SCOS terdiri dari sel-sel kecil dengan sitoplasma yang sedikit, yang berkaitan dengan produksi osteoid. Inti berbentuk bulat hingga oval dan kromatin dapat halus hingga kasar, dapat ditemukan mitosis. Pada tipe sel *spindle*, inti pendek dan berbentuk oval hingga *spindle*, dengan kromatin granuler dan nukleolus yang tidak jelas. Pola *haemangiopericytoma-like* fokal dapat ditemukan. Pembentukan osteoid yang seperti renda (*lace-like*) selalu ditemukan (Gambar 11).¹



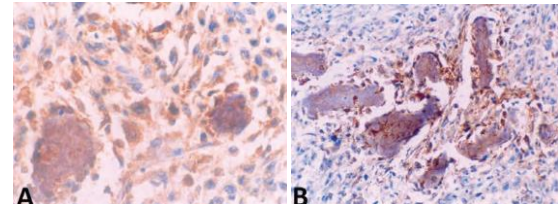
Gambar 11. *Small-cell* OS.¹⁵ A. Adanya matriks osteoid yang seperti renda. B. *High power view* menunjukkan pembentukan osteoid yang seperti renda.



Gambar 12. Ekspresi SATB2 pada OS.¹⁹ (A) COS (H&E) 40 kali. (B) Ekspresi SATB2 di inti, 40 kali. (C) SCOS, H&E 40 kali. (D) Ekspresi SATB2 pada SCOS, 20 kali.

Pemeriksaan imunohistokimia (IHK) umumnya tidak diperlukan untuk kasus-kasus yang memiliki gambaran histologik klasik, kecuali pada kasus yang gambaran histologiknya menyerupai tumor lain. Profil IHK OS sangat luas, namun tidak memiliki spesifitas untuk diagnostik. Antigen yang umum diekspresikan pada OS adalah *special AT-rich Sequence-Binding Protein 2* (SATB2) (Gambar 12), osteocalcin (*Bone Gamma-carboxyglutamic Acid-containing Protein/BGLAP*) (Gambar 13), osteonectin (*Secreted Protein Acidic And Rich In Cysteine/SPARC*), osteoprotegerin (*Tumour Necrosis Factor Receptor Superfamily Member*

11B/TNFRSF11B), RUNX2, S100, actins, dan *Cluster of Differentiation 99* (CD99).¹ Pemeriksaan IHK pada OS berfungsi untuk membantu menentukan prognosis dan menyingkirkan diagnosis banding, sehingga pemeriksaan IHK tidak terbatas pada antigen tersebut.^{1,16-18}



Gambar 13. Ekspresi osteocalcin pada OS.²⁰(A) Osteocalcin positif di sitoplasma osteoblas dan jaringan osteoid (400 kali). (B) Sel yang positif osteocalcin mengelilingi area yang memproduksi osteoid pada kasus OS (200 kali).

Tatalaksana Osteosarkoma

Sebelum berkembangnya kemoterapi, tatalaksana OS dengan pembedahan *limb-sparing* hingga amputasi. Angka mortalitas pasien yang hanya mendapatkan tatalaksana pembedahan sangat tinggi hingga lebih dari 80%. Tingginya angka mortalitas ini akibat metastasis paru yang terjadi dalam 6–12 bulan setelah amputasi. Penyebaran yang cepat menimbulkan teori adanya sel tumor yang sudah bersirkulasi dan metastasis-mikro yang sudah ada sejak saat diagnosis, sehingga diperlukan terapi sistemik.^{1,10,21}

Standar tatalaksana OS saat ini adalah kemoterapi *neoadjuvant*, reseksi luas, dan kemoterapi *adjuvant*. Doxorubicin, cisplatin, methotrexate dosis tinggi (HD-MTX) dan ifosfamide merupakan lini pertama kemoterapi OS. Untuk anak-anak dan remaja, regimen kemoterapi yang paling sering digunakan adalah regimen MAP yang terdiri dari doxorubicin, cisplatin, HD-MTX. Radioterapi dapat dipertimbangkan pada pasien dengan tumor primer yang tidak dapat direseksi.^{9,10} Manajemen multimodalitas ini meningkatkan probabilitas *disease free-survival* hingga lebih dari 60%. Pemberian kemoterapi *neoadjuvant* sebelum reseksi, memberikan kesempatan untuk menilai respons histopatologis terhadap kemoterapi. Respons histopatologis dinilai menggunakan *Huvos grading system*. Sistem ini berdasarkan nekrosis tumor dibandingkan dengan residu tumor yang viabel, dan terdiri dari 4 *grade*. Respons yang baik didefinisikan sebagai ditemukannya area nekrosis 90% atau lebih.^{1,10,21,22}

Tabel 2. Huvos Necrosis Grading System^{22,23}

Grade	Parameter
1	Sedikit atau tidak ada nekrosis
2	Area nekrosis 50%–90%
3	Area nekrosis 90%–99%
4	100% nekrosis

RUNX2

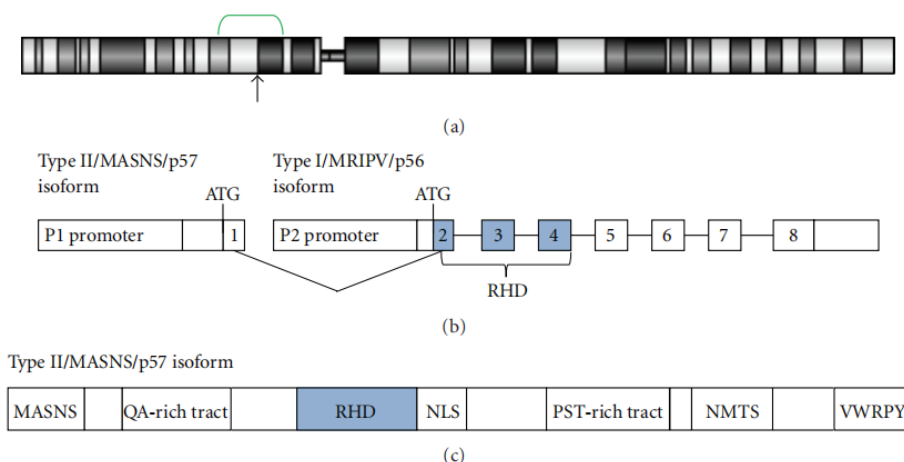
Runt-related transcription factor (*RUNX*) pertama kali diisolasi dan karakterisasi oleh Levanon et al tahun 1994. *RUNX* merupakan keluarga gen faktor transkripsi pengikat *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang mengatur ekspresi berbagai gen yang terlibat dalam proses seluler seperti proliferasi, diferensiasi *cell lineage specification* dan apoptosis. *RUNX* pada mamalia mengkode subunit alfa, dikenal sebagai subunit DNA binding factor polyomavirus enhancer-binding protein 2α (PEBP2α) atau subunit core-binding factor α (CBFα) atau *acute myeloid leukemia* (AML).^{3,24}

Pada mamalia terdapat 3 gen *RUNX* yaitu *RUNX1* terletak pada kromosom 21, *RUNX2* pada kromosom 6, dan *RUNX3* pada kromosom 1, dengan pola ekspresi yang berbeda, bergantung pada diferensiasi, tahap perkembangan dan sinyal lingkungan mikro. *RUNX1* berperan dalam perkembangan sel hematopoetik. *RUNX2* memiliki peran dalam osteogenesis, hipertrofi kondrosit, vaskularisasi perkembangan tulang, dan metastasis ke tulang. *RUNX3* berperan dalam neurogenesis dan perkembangan usus. Pada kanker, *RUNX1* dihubungkan dengan leukemia, tumor solid pada kulit, paru, usus dan payudara, sedangkan *RUNX2* dihubungkan dengan osteosarkoma, karsinoma papiler dan

karsinoma tiroid, dan *RUNX3* dihubungkan dengan kanker lambung.²⁴

Pada manusia gen *RUNX2* memiliki panjang sekitar 220kb, terletak di kromosom 6 antara sitoband 6p21.1 hingga 6p12.3 dan terdiri atas 8 exon dengan 2 promotor. *RUNX2* memiliki 2 domain yang berbeda dengan homolognya, yaitu *glutamine/alanine rich domain* (QA) di N-terminus, dan *proline/serine/threonine rich domain* (PST) di C-terminal.³ Domain aktif lainnya antara lain *transactivation domains* (AD1, 2 dan 3), *runt homology domain* (RHD), *nuclear localization signal* (NLS), *nuclear matrix targeting signal* (NMTS), dan regio VWRPY (Gambar 14).^{3,25} Ekspresi gen *RUNX2* dikendalikan oleh 2 promotor, yaitu promotor distal (P1) dan proksimal (P2). Kedua promotor ini menghasilkan 2 transkrip utama, yaitu tipe I (dimulai dengan urutan urutan MRIPV) dan tipe II (dimulai dengan urutan MASNS). Kedua isoform protein ini diekspresikan dalam osteoblas dan sel T.^{3,26}

Protein *RUNX2* memiliki 2 isoform utama, yaitu isoform P2 yang terdiri dari 507 asam amino, dan isoform P1 yang terdiri dari 521 asam amino. Domain Runt umumnya ditemukan diantara protein *RUNX*, memberi kemampuan untuk mengikat DNA dan heterodimerisasi dengan protein CBFβ untuk membentuk kompleks CBF. *RUNX2* berikatan dengan elemen spesifik *cis-acting* melalui domain Runt untuk meningkatkan transkripsi gen di jaringan saat embriogenesis khususnya pada limfosit T selama perkembangan timus dan perkembangan tulang rawan. Namun, fungsinya yang paling signifikan terlihat pada regulasi diferensiasi osteoblas selama perkembangan tulang.^{3,25}

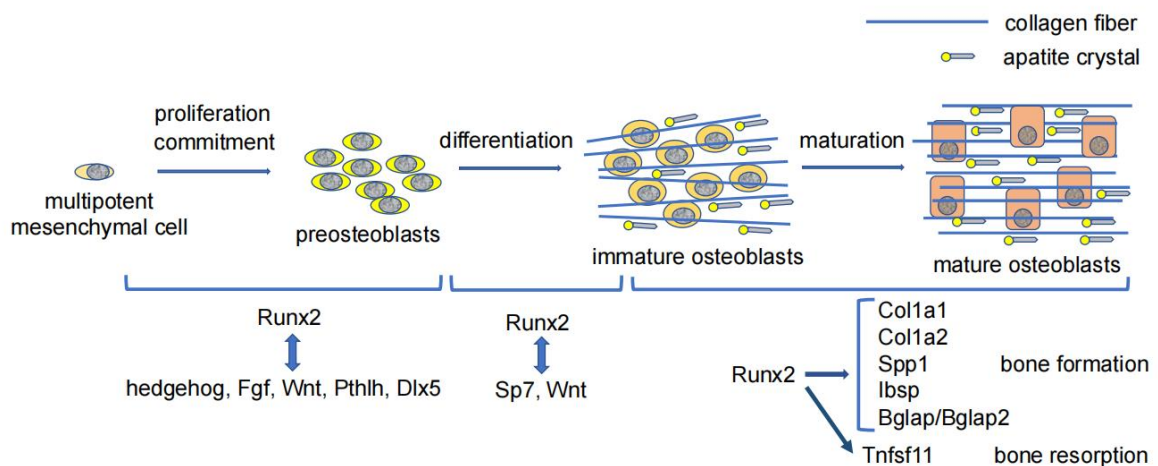


Gambar 14. Kromosom 6 dan *RUNX2/RUNX2*.³ (a) Kromosom 6 dan lokasi *RUNX2*, tanda kurung hijau merupakan sitoband 6p21.2 hingga 6p12.3 yang dideteksi dengan hibridisasi pada osteosarkoma. (b) Struktur gen *RUNX2*. (c) Struktur protein *RUNX2*.

Peran RUNX2 Dalam Osteogenesis

Osteogenesis merupakan proses pembentukan tulang baru. Proses pembentukan tulang ini memiliki 2 proses penting yaitu, osifikasi intramembran dan osifikasi endokondral.²⁷ Pada osifikasi intramembran, MSC berdiferensiasi menjadi progenitor osteoblas yang berkembang menjadi osteoblas. Pada osifikasi endokondral, MSC berdiferensiasi menjadi kondrosit, yang mengalami proliferasi dan hipertrofi.²⁸ RUNX2 secara genetik penting untuk pematangan tulang dan osteoblas. RUNX2 pada tahap awal embriogenesis berperan dalam menentukan garis keturunan osteoblas dari sel punca mesenkimal multipoten, sedangkan pada tahap akhir perkembangan tulang dihambat.^{24,29}

RUNX2 menginduksi dan menyebabkan terjadinya komitmen MSC menjadi osteoblas *lineage*, serta meningkatkan proliferasi progenitor osteoblas (Gambar 15). RUNX2 menginduksi ekspresi *hedgehog*, *fibroblast grow factor* (FGF), *Wingless-type* (WNT), *parathyroid hormone-like hormone* (PTH1H), dan *distal-less homeobox 5* (DLX5), yang juga meningkatkan ekspresi dan aktivitas RUNX2. Diferensiasi preosteoblas menjadi osteoblas imatur diinduksi oleh pensinyalan RUNX2, SP7 dan WNT. Pada tahap ini, RUNX2 menginduksi ekspresi SP7. SP7 dan WNT terlibat dalam aktivasi *osteoblast-specific RUNX2 enhancers*.²⁹



Gambar 15. Regulasi dari proliferasi, diferensiasi, dan ekspresi matriks tulang oleh RUNX2 pada diferensiasi osteoblas.²⁹

Pada osteoblas imatur, RUNX2 menginduksi ekspresi matriks tulang, di antaranya *collagen type I alpha 1* (COL1A1), COL1A2, *secreted phosphoprotein 1* (SPP1), *integrin-binding sialoprotein* (IBSP), dan *bone gamma carboxyglutamate protein* (BGLAP)/BGLAP2. Osteoblas mengalami maturasi dan memproduksi protein matriks tulang. RUNX2 juga menginduksi ekspresi *tumor necrosis factor superfamily member 11* (TNFSF11) dan meningkatkan resorpsi tulang. Osteocalcin (BGLAP/BGLAP2) berperan mengatur kristal apatite menjadi paralel dengan serat kolagen yang diproduksi oleh osteoblas matur, yang berpengaruh terhadap kekuatan tulang.²⁹

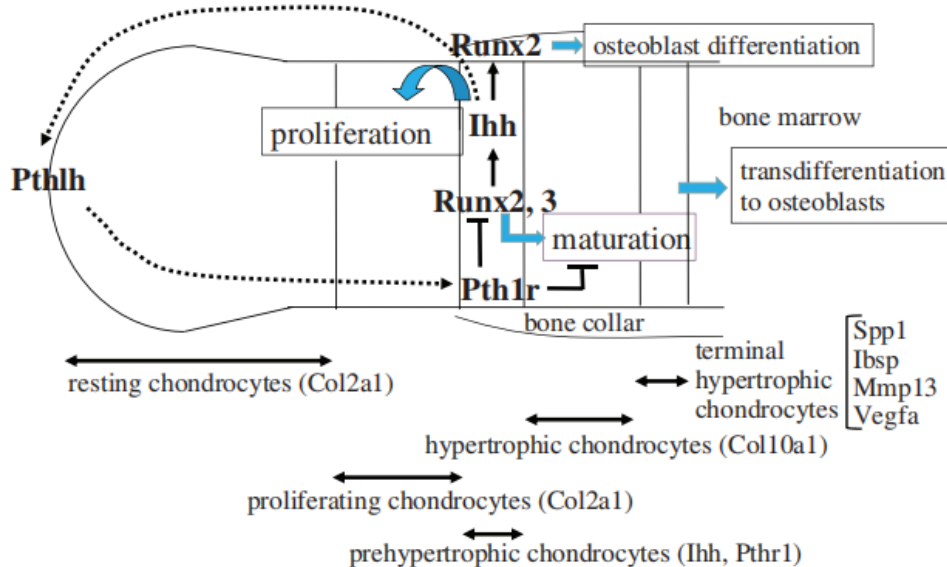
Pada *growth plate*, kondrosit mengalami proliferasi dan maturasi, dan membentuk lapisan *resting chondrocytes*, *proliferating chondrocytes*, *prehypertrophic chondrocytes*, *hypertrophic chondrocytes*, dan

terminal hypertrophic chondrocytes. Lapisan *resting chondrocytes* dan *proliferating chondrocytes* mengekspresikan *collagen type II alpha-1* (COL2A1), lapisan *prehypertrophic chondrocytes* mengekspresikan *Indian hedgehog* (IHH) dan *parathyroid hormone 1 receptor* (PTH1R). Lapisan *hypertrophic chondrocytes* mengekspresikan COL10A1, dan lapisan *terminal hypertrophic chondrocytes* mengekspresikan *vascular endothelial growth factor A* (VEGF-A), SPP1, IBSP, dan *matrix metalloproteinase 13* (MMP13).²⁹

Pada lapisan *resting chondrocytes* dan *proliferating chondrocytes*, RUNX2 diekspresikan lemah. Ekspresi RUNX2 mengalami peningkatan pada *prehypertrophic chondrocytes* dan menginduksi maturasi kondrosit. Pada lapisan ini, RUNX2 menginduksi ekspresi IHH. IHH meningkatkan proliferasi kondrosit pada lapisan *proliferating*

chondrocytes, serta menginduksi ekspresi PTHLH yang akan menghambat ekspresi RUNX2 melalui *parathyroid hormone 1 receptor* (PTH1R) sehingga mencegah maturasi kondrosit (Gambar 16). Pada *terminal hypertrophic chondrocytes*, RUNX2

menginduksi ekspresi VEGF-A, SPP1, IBSP, dan MMP13. Pada lapisan ini, RUNX2 mencegah apoptosis kondrosit dan menginduksi transdiferensiasi kondrosit hipertrofik terminal menjadi sel *lineage* osteoblas.²⁹



Gambar 16. Regulasi RUNX2 pada proliferasi dan diferensiasi kondrosit.³⁰

Peran RUNX2 Dalam Osteosarkoma

RUNX2 berperan pada patogenesis OS dan ekspresi RUNX2 yang tinggi diakibatkan adanya amplifikasi kromosom 6p12-21, menyebabkan terjadinya disregulasi faktor transkripsi diferensiasi osteoblas pada OS. Ekspresi berlebihan RUNX2 akibat amplifikasi, menyebabkan peningkatan ekspresi protein RUNX2 yang tinggi sepanjang siklus sel dan terganggunya regulasi aktivitas RUNX2. Akibatnya, diferensiasi osteoblas terhenti sebelum atau selama pematangan, karakteristik sel yang dihasilkan mirip dengan osteoblas imatur. RUNX2 diekspresikan secara berlebihan dalam jaringan OS manusia, terutama pada tumor yang merespons buruk kemoterapi.³¹

Amplifikasi RUNX2 ini didapatkan pada spesimen yang berasal dari tumor primer dan metastasis, serta pada spesimen yang telah menjalani pengobatan. Penemuan ini mendukung teori bahwa perubahan RUNX2 bersifat primer/de novo, keberadaan amplifikasi ini pada spesimen primer dan metastasis menunjukkan bahwa amplifikasi ini bukanlah kejadian akhir dalam perkembangan tumor. RUNX2 memiliki efek sinergis pada siklus sel dengan adanya perubahan TP53 dan RB1.

Amplifikasi kromosom 6p juga diduga berperan dalam hilangnya fungsi p53 pada OS.^{5,31}

RUNX2 berinteraksi secara selektif dengan hipofosforilasi pRB pada akhir perkembangan osteoblas, sebagai tanda berakhirnya siklus sel. Pada OS, terjadi inaktivasi pRB sehingga sel tidak mampu untuk mengakhiri siklus sel dan menyebabkan proliferasi yang tidak terkontrol dari sel osteoprogenitor yang berakibat peningkatan ketidakstabilan genomik.³¹ Selain itu, peningkatan ekspresi RUNX2 disertai dengan penurunan ekspresi p53 menyebabkan gangguan proses perbaikan kerusakan DNA.⁴

Gangguan genetik pada jalur p53-MDM2 menghambat perkembangan osteoblas yang dependen terhadap RUNX2, dan hilangnya fungsi p53 menyebabkan akumulasi RUNX2 selama proses diferensiasi. Delesi p53 menyebabkan peningkatan ekspresi protein RUNX2 pada berbagai *growth-factor-independent OS cell lines*.³¹

RUNX2 menginduksi transkripsi *SRY-Box Transcription Factor 9 (SOX9)*. SOX9 berinteraksi dengan RUNX2 dan *jumonji domain containing 1C (JMJD1C)* untuk mengaktifasi transkripsi MYC yang memicu ketahanan hidup OS.³²

RUNX2 juga berperan dalam angiogenesis OS. Peningkatan ekspresi RUNX2 pada sel mesenkimal menyebabkan peningkatan ekspresi *hypoxia-inducible factor 1 α* (HIF-1 α) dan VEGF, yang menstimulasi angiogenesis. Peningkatan ekspresi VEGF mendukung ketahanan hidup dan perkembangan, serta metastasis OS.^{33,34}

Peran RUNX2 dalam Resistensi Kemoterapi

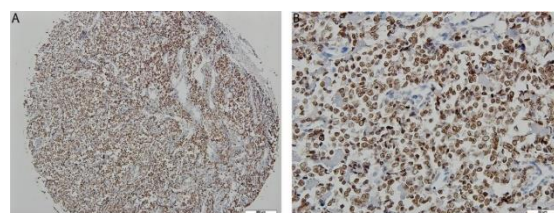
RUNX2 berperan signifikan dalam resistensi kemoterapi pada beberapa kanker.^{33,35} Ekspresi RUNX2 lebih tinggi pada pasien yang memiliki respons buruk dibandingkan pasien yang berespons baik terhadap kemoterapi.³¹ Peningkatan ekspresi RUNX2 dapat mengurangi respons kemoterapi melalui gangguan transkripsi TAp73, yang berperan dalam respons terhadap kerusakan DNA. Selain itu, RUNX2 juga menghambat aktivitas transkripsi dan pro-apoptosis p53 yang diinduksi oleh doxorubicin melalui interaksi p53 dengan *histone deacetylase 6* (HDAC6).³³

Mekanisme resistensi terhadap cisplatin sangat kompleks dan belum sepenuhnya dimengerti. Ekspresi RUNX2 yang berlebih menghambat peran miR-203 dalam meningkatkan apoptosis, menghambat proliferasi, migrasi dan invasi sel OS. Pada penelitian oleh Huang *et al*, didapatkan bahwa *silencing* RUNX2 (interferensi pada RUNX2 siRNA) meningkatkan apoptosis sel yang diinduksi oleh cisplatin pada sel OS dengan *knockdown* miR-203.³⁶

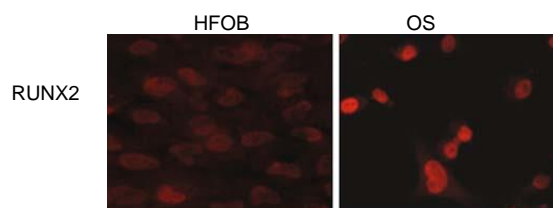
Metode Pemeriksaan RUNX2

Peningkatan ekspresi RUNX2 pada OS umum ditemukan dan dapat dideteksi menggunakan IHK. Pada IHK, RUNX2 diekspresikan di inti sel (Gambar 17).¹⁶ Ekspresi RUNX2 juga dapat dideteksi pada organ metastasis OS.³⁷ Selain dengan IHK, ekspresi RUNX2 dapat dideteksi menggunakan *western blot*. Peningkatan ekspresi RUNX2 ditemukan pada OS dibandingkan dengan ekspresi RUNX2 pada sel osteoblas yang diimmortalisasi (*human fetal osteoblasts*, HFOB).³⁸

Pada tingkat gen, peningkatan ekspresi RUNX2 juga dapat dideteksi dengan *polymerase chain reaction* (PCR).³⁹ Pada *profiling* OS menggunakan *next-generation sequencing* ditemukan adanya amplifikasi pada kromosom 6p12–21. Sel OS yang memiliki amplifikasi pada kromosom tersebut dilakukan pemeriksaan *fluorescence in situ hybridization* (FISH) dan didapatkan amplifikasi RUNX2 (Gambar 18).⁵



Gambar 17. Ekspresi IHK RUNX2 pada osteosarkoma.³⁷ (A) 10 kali. (B) 40 kali.



Gambar 18. Amplifikasi RUNX2 pada FISH.⁸

RINGKASAN

Osteosarkoma (OS), tumor ganas yang umumnya terjadi pada tulang dan memiliki prevalensi tertinggi pada remaja dan dewasa muda. Karakteristik OS terdiri dari pembentukan tulang yang abnormal dan osteoblas yang predominan. OS merupakan tumor dengan penyebaran lokal agresif dan dengan kesintasan 5 tahun sebesar 20%. Angka kesintasan tidak meningkat selama beberapa dekade sejak diperkenalkannya kemoterapi untuk OS.

Penegakkan diagnosis OS berdasarkan pada gejala klinis, pemeriksaan radiologi, dan pemeriksaan histologik. Pemeriksaan radiologi dilakukan pada tulang yang mengalami keluhan, dan sendi yang terdekat. Karakteristik X-ray pada OS menunjukkan gambaran "sunburst", dan segitiga Codman. MRI merupakan modalitas terbaik untuk menilai *staging* lokal tumor, dan dapat menilai keterlibatan jaringan lunak dan neurovaskular. Biopsi merupakan tahap penting penegakkan diagnosis OS dan penentuan sub tipe OS, yang akan mempengaruhi tatalaksana dan prognosis.

Berdasarkan klasifikasi tumor WHO edisi ke-5, OS terdiri dari 3 sub tipe, yaitu osteosarkoma konvensional (COS), osteosarkoma telangiektatik (TAEOS), *small cell osteosarcoma* (SCOS). COS merupakan massa intrameduler berukuran besar yang berpusat di regio metafisis dengan ekstensi ke diafisis dan epifisis di dekatnya. Pada pembelahan, massa tampak heterogen, sesuai dengan derajat dan jenis mineralisasi matriks, dengan spektrum histomorfologi yang luas. Sub tipe TAEOS menunjukkan digambarkan

sebagai kantong darah. Secara mikroskopis, tumor terdiri dari rongga kistik yang kosong atau berisi darah yang menyerupai *aneurysmal bone cyst*. Septa kista memiliki ketebalan yang bervariasi dan terdiri dari sel-sel pleomorfik yang menunjukkan inti hiperkromatik, serta *osteoclast-type giant cells*. Gambaran makroskopik subtype SCOS tidak dapat dibedakan dengan COS. Secara mikroskopis, SCOS terdiri dari sel-sel kecil dengan sitoplasma yang sedikit, yang berkaitan dengan produksi osteoid dengan inti berbentuk bulat hingga oval dan kromatin dapat halus hingga kasar, dapat ditemukan mitosis.

Profil IHK OS sangat luas. Pemeriksaan IHK pada OS berfungsi untuk membantu menentukan prognosis dan menyingkirkan diagnosis banding pada kasus yang gambaran histologiknya menyerupai tumor lain. Antigen yang umum diekspresikan pada OS adalah SATB2, osteocalcin, osteonectin, osteoprotegerin, RUNX2, S100, actins, dan CD99.

Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam berbagai tahapan diferensiasi osteoblas dan maturasi kondrosit. Gen *RUNX2* terletak di kromosom lengan 6p12-21, yang mengalami amplifikasi pada OS. Berbagai jalur pensinyalan yang berinteraksi dengan RUNX2 berpengaruh terhadap tumorigenesis, angiogenesis, dan resistensi kemoterapi pada OS. Ekspresi RUNX2 meningkat pada pasien dengan respons kemoterapi yang buruk. Peningkatan ekspresi RUNX2 dapat dideteksi menggunakan IHK, *western blot*, FISH, PCR, dan *next-generation sequencing*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Baumhoer D, Rosenberg AE, Cates JMM, Hogendoorn PCW, Böhling TO, O'Donnell PG, et al. Osteosarcoma. WHO Classification of Tumours series [Internet]. 2020 [cited 2024 Apr 12]. Diunduh dari: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chaptercontent/33/153>.
2. Rathore R, Van Tine BA. Pathogenesis and current treatment of osteosarcoma: perspectives for future therapies. *J Clin Med*. 2021;10:1182:1–18. Diunduh dari: <https://doi.org/10.3390/jcm10061182>
3. Martin JW, Zielenska M, Stein GS, van Wijnen AJ, Squire JA. The role of RUNX2 in osteosarcoma oncogenesis. *Sarcoma*. 2011;2011:1–13. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1155/2011/282745>
4. Li N, Luo D, Hu X, Luo W, Lei G, Wang Q, et al. RUNX2 and osteosarcoma. *Anticancer Agents Med Chem*. 2015;15:881–7.
5. Gupta S, Ito T, Alex D, Vanderbilt CM, Chang JC, Islamdoust N, et al. RUNX2 (6p21.1) amplification in osteosarcoma. *Hum Pathol*. 2019;94:23–8. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.09.010>
6. Horvai A. Bones, joints and soft tissue tumors. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Turner JR, editors. *Robbins and Cotran's pathologic basis of disease*. 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2021. p. 1171–215.
7. Czerniak B. Osteosarcoma. In: Czerniak B, editor. *Dorfman and Czerniak's Bone Tumors*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 200–355.
8. Jafari F, Javdansirat S, Sanaie S, Naseri A, Shamekh A, Rostamzadeh D, et al. Osteosarcoma: A comprehensive review of management and treatment strategies. *Ann Diagn Pathol* [Internet]. 2020 [cited 2024 April 13];49:1–10. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2020.151654>
9. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman nasional pelayanan kedokteran tata laksana osteosarkoma. Kemenkes [Internet]. 2019 [cited 2024 Apr 13]. Diunduh dari: <https://www.kemkes.go.id/id/pnpk-2019---tata-laksana-osteosarkoma>
10. Strauss SJ, Frezza AM, Abecassis N, Bajpai J, Bauer S, Biagini R, et al. Bone sarcomas: ESMO–EURACAN–GENTURIS–ERN PaedCan Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2021;32:1520–36. Diunduh dari: <https://www.annalsofncology.org/action/showPdf?pii=S0923-7534%2821%2904280-0>
11. Kundu ZS. Classification, imaging, biopsy and staging of osteosarcoma. *Indian J Orthop*. 2014;48:238–46. Diunduh dari: <https://doi.org/10.4103/0019-5413.132491>
12. Nguyen JC, Baghdadi S, Pogoriler J, Guariento A, Rajapakse CS, Arkader A. Pediatric Osteosarcoma: Correlation of Imaging Findings with Histopathologic Features, Treatment, and Outcome. *Radiographics*. 2022;42:1196–213. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1148/rg.210171>
13. Nielsen GP, Rosenberg AE. Conventional osteosarcoma. In: Nielsen GP, Rosenberg AE, editors. *Diagnostic pathology bone*.

- 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2021. p. 50.
14. Yoshida A. Osteosarcoma: Old and new challenges. *Surg Pathol Clin.* 2021;14:567-83.
 15. Choi EYK, Gardner JM, Lucas DR, McHugh JB, Patel RM. Ewing sarcoma. *Semin Diagn Pathol.* 2014;31:39-47. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2014.01.002>
 16. Liang S, Li Y, Wang B. The cancer-related transcription factor Runx2 combined with osteopontin: A novel prognostic biomarker in resected osteosarcoma. *Int J Clin Oncol.* 2021;26:2347-54. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1007/s10147-021-02025-4>
 17. Owosho AA, Ladeji AM, Adesina OM, Adebisi KE, Olajide MA, Okunade T, et al. SATB2 and MDM2 immunoexpression and diagnostic role in primary osteosarcomas of the jaw. *Dent J [Internet].* 2021 [cited 2024 May 27];10:1-11. Diunduh dari: <http://dx.doi.org/10.3390/dj10010004>
 18. Milton S, Prabhu AJ, Titus VTK, John R, Backianathan S, Madhuri V. Special AT-rich sequence-binding protein 2 (SATB2) in the differential diagnosis of osteogenic and non-osteogenic bone and soft tissue tumors. *J Pathol Transl Med.* 2022;56:270-80. Diunduh dari: <https://doi.org/10.4132/jptm.2022.07.11>
 19. Machado I, Navarro S, Picci P, Lombart-Bosch A. The utility of SATB2 immunohistochemical expression in distinguishing between osteosarcomas and their malignant bone tumor mimickers, such as Ewing sarcomas and chondrosarcomas. *Pathol Res Pract.* 2016;212:811-6. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2016.06.012>
 20. El-badawi ZH, Muhammad EM, Noaman HH. Role of immunohistochemical cyclooxygenase-2 (COX-2) and osteocalcin in differentiating between osteoblastomas and osteosarcomas. *Malays J Pathol.* 2012;34:15-23.
 21. Belayneh R, Fourman MS, Bhogal S, Weiss KR. Update on Osteosarcoma. *Curr Oncol Rep [Internet].* 2021;23(6):1-8. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1007/s11912-021-01053-7>
 22. Prabowo Y, Setiawan I, Kamal AF, Kodrat E, Labib Zufar ML. Correlation between prognostic factors and the histopathological response to neoadjuvant chemotherapy in osteosarcoma: A retrospective study. *Int J Surg Oncol.* 2021;2021:1-10. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1155/2021/8843325>
 23. Taran SJ, Taran R, Malipatil NB. Pediatric osteosarcoma: An updated review. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2017;38:33-43. Diunduh dari: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/pdf/10.4103/0971-5851.203513.pdf>
 24. Otálora-Otálora BA, Henríquez B, López-Kleine L, Rojas A. RUNX family: Oncogenes or tumor suppressors (Review). *Oncol Rep.* 2019;42:3-19. Diunduh dari: <https://doi.org/10.3892/or.2019.7149>
 25. Vimalraj S, Arumugam B, Miranda PJ, Selvamurugan N. Runx2: structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation. *Int J Biol Macromol.* 2015;78:202-8. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.008>
 26. Kim HJ, Kim WJ, Ryoo HM. Post-translational regulations of transcriptional activity of RUNX2. *Mol Cells.* 2020;43:160-7. Diunduh dari: <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0247>
 27. Kini U, Nandeesh BN. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. In: Fogelman, I., Gnanasegaran, G., van der Wall, H, editors. *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging.* Springer; 2012. p. 29-57.
 28. Chagin AS, Chu TL. The origin and fate of chondrocytes: Cell plasticity in physiological setting. *Curr Osteoporos Rep.* 2023;21:815-24. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1007/s11914-023-00827-1>
 29. Komori T. Whole aspect of Runx2 functions in skeletal development. *Int J Mol Sci [Internet].* 2022 [cited 2024 May 6];23:1-10. Diunduh dari: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23105776>
 30. Komori T. Molecular mechanism of Runx2-dependent bone development. *Mol Cells.* 2020;43:168-75. Diunduh dari: <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0244>
 31. Vimalraj S, Sekaran S. RUNX family as a promising biomarker and a therapeutic target in bone cancers: A review on its molecular mechanism(s) behind tumorigenesis. *Cancers (Basel) [Internet].* 2023 [cited 2024 Apr 14];15:1-12. Diunduh dari:

- <http://dx.doi.org/10.3390/cancers15123247>
32. Kim YI, Tseng YC, Ayaz G, Wang S, Yan H, du Bois W, et al. SOX9 is a key component of RUNX2-regulated transcriptional circuitry in osteosarcoma. *Cell Biosci* [Internet]. 2023 [cited 2024 Mar 13];13:1-14. Diunduh dari: <http://dx.doi.org/10.1186/s13578-023-01088-2>
 33. Chen X, Wang L, Yang M, Zhao W, Tu J, Liu B, et al. RUNX transcription factors: Biological functions and implications in cancer. *Clin Exp Med* [Internet]. 2024 [cited 2024 May 24];24:1-25. Diunduh dari: <http://dx.doi.org/10.1007/s10238-023-01281-0>
 34. Zhang C, Wang L, Xiong C, Zhao R, Liang H, Luo X. The role of vascular endothelial growth factor as a prognostic and clinicopathological marker in osteosarcoma: a systematic review and meta-analysis. *J Orthop Surg Res* [Internet]. 2021 [cited 2024 May 25];16:1-11. Diunduh dari: <http://dx.doi.org/10.1186/s13018-021-02888-3>
 35. Lin TC. Runx2 and cancer. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 10;24(8):1-17. Diunduh dari: <https://doi.org/10.3390/ijms24087001>
 36. Huang Z, Huang L, Liu L, Wang L, Lin W, Zhu X, et al. Knockdown of microRNA-203 reduces cisplatin chemo-sensitivity to osteosarcoma cell lines MG63 and U2OS in vitro by targeting RUNX2. *J Chemother*. 2021;33:328–41. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1080/1120009x.2021.1899441>
 37. Garimella R, Eskew J, Bhamidi P, Vielhauer G, Hong Y, Anderson HC, et al. Biological characterization of preclinical Bioluminescent Osteosarcoma Orthotopic Mouse (BOOM) model: A multi-modality approach. *J Bone Oncol*. 2013;2:11–21. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2012.12.005>
 38. Nathan SS, Pereira BP, Zhou YF, Gupta A, Dombrowski C, Soong R, et al. Elevated expression of Runx2 as a key parameter in the etiology of osteosarcoma. *Mol Biol Rep*. 2009;36:153–8. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1007/s11033-008-9378-1>
 39. Guo Q, Ma J, Wu J. MiRNA-218 inhibits cell proliferation, migration and invasion by targeting Runt-related transcription factor 2 (Runx2) in human osteosarcoma cells. *Regen Ther*. 2021;18:508–15. Diunduh dari: <https://doi.org/10.1016/j.reth.2021.11.003>