

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.11.010

文章编号: 1005-8982 (2020) 11-0048-04

综述

骨肉瘤的分化疗法与研究进展*

熊齐胜¹, 韩迎祥¹, 汪学松², 张宁泽¹, 林嘉盈¹

(1. 北京航空航天大学 生物与医学工程学院, 北京 100191; 2. 青岛市中心医院
脊柱外科, 山东 青岛 266042)

摘要: 骨肉瘤是一种恶性程度极高的骨肿瘤, 常发于儿童和青少年。虽然传统外科手术联合新辅助化疗可提高患者5年生存率, 但当骨肉瘤发生复发和转移时, 患者往往会面临死亡的威胁。约10%~20%患者被确诊为骨肉瘤时已伴随肿瘤肺部转移。此外, 大剂量的化疗药物存在副作用, 给患者的预后生活质量造成影响, 因而学者们提出一些新的治疗方法和研究方向。该文就骨肉瘤的诱导分化疗法、骨肉瘤干细胞及其成骨分化研究做一综述。

关键词: 骨肉瘤; 分化疗法; 间充质干细胞; 癌干细胞; 成骨分化

中图分类号: R738.1

文献标识码: A

Recent advances in osteosarcoma differentiation therapy*

Qi-sheng Xiong¹, Ying-xiang Han¹, Xue-song Wang², Ning-ze Zhang¹, Jia-ying Lin¹

(1. School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China;
2. Department of Spine, Qingdao Central Hospital, Qingdao, Shandong 266042, China)

Abstract: Osteosarcoma (OS) is one of the most malignant tumors particularly occurring in children, adolescents, and young adults. Over the past few decades, the combined use of chemotherapeutics with aggressive surgery has improved the 5-year survival rates of patients. When the tumor metastasizes to the lung, almost all patients succumb to death. However, approximately 10% to 20% of patients with OS have metastases at the initial diagnosis. Furthermore, conventional chemotherapy is always accompanied with toxic and adverse effects that compromise the quality of life of patients. Therefore, new research and therapeutic methods were proposed by researchers. Current study reviewed differentiation therapy, cancer stem cells and osteogenic differentiation in osteosarcoma.

Keyword: osteosarcoma; differentiation therapy; mesenchymal stem cell; cancer stem cell; osteogenic differentiation

骨肉瘤好发于儿童与青少年, 是一种扩散极为快速的原发恶性骨肿瘤, 常见于长骨干骺端, 如股骨远端、胫骨近端、肱骨近端。在所有的骨肉瘤患者中, 10~20岁的青少年约占60%, 40岁以上的成年人约占13%^[1]。老年人群中骨肉瘤往往伴随于畸形性骨炎, 或者是继发性肿瘤^[2]。目前临床采用手术治疗为主, 放化疗和生物治疗为辅的综合治疗, 但大多数治疗效果

不佳。截肢手术虽然在一定程度上能挽救部分患者的生命, 但对于青少年患者, 截肢手术不仅对其身体造成严重损伤, 而且术后还会造成精神伤害。近年来, 新辅助化疗联合保肢治疗在临床上取得很大成功, 患者免受截肢之苦的同时其5年生存率也提高到60%左右^[3]。骨肉瘤外科治疗的目的已从挽救生命发展到最大限度地保存患肢。

收稿日期: 2019-12-12

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 31470045)

[通信作者] 林嘉盈, E-mail: 09737@buaa.edu.cn; Tel: 13552146462

虽然新辅助化疗联合手术治疗可提高患者 5 年生存率,但当骨肉瘤复发和发生远处转移时,其预后效果很差,大部分患者会面临死亡的威胁。因此,越来越多的学者对骨肉瘤的发生和发展,以及骨肉瘤的分子生物学进行探究。本文就骨肉瘤的诱导分化疗法、骨肉瘤癌干细胞及其成骨分化研究进行了综述。

1 骨肉瘤的发病机制

骨肉瘤的发病机制尚不完全清楚,被认为是多种因素引起的疾病。例如当基因缺失或突变时可能会导致骨肉瘤的发生。在骨肉瘤中尤其以 *p53* 和 *Rb* 基因最为常见。将近 50% 骨肉瘤患者存在 *p53* 基因的缺失或突变,约 70% 骨肉瘤患者的 *Rb* 基因发生基因突变。因此 *p53* 和 *Rb* 基因被认为与骨肉瘤的发生有直接关系^[2]。虽然基因突变或缺失被证明与骨肉瘤有关,但至今仍没有发现某个具体的基因与骨肉瘤的发生有直接关系。另外,一些化学因素如致癌物质、辐射等环境因素均可能导致骨肉瘤的产生。此外,骨发育不良包括骨 Paget's 病、骨纤维性结构不良等,均可能增加骨肉瘤的风险^[1]。

近年来,骨肉瘤被认为是一种分化缺陷疾病,是由成骨分化时发生遗传或表观遗传破坏引起^[4-5]。在骨肉瘤中,肿瘤细胞与成骨细胞相似,都呈现出骨细胞分化并产生恶性类骨质的病征,不仅有成骨细胞区域,也有成软骨细胞或成纤维细胞区域。该特征表明骨肉瘤细胞可能起源于间充质干细胞^[6-9]。但肿瘤细胞起源于间充质干细胞成骨分化的具体阶段仍然难以确定^[8]。通过研究 *p53* 和 *Rb* 基因缺失的脂肪来源间充质干细胞和骨髓来源间充质干细胞,发现只有来源于间充质干细胞的骨髓被诱导向成骨细胞分化时才产生类骨肉瘤^[10]。因此成骨祖细胞被认为才是骨肉瘤的起始来源细胞^[7, 9-10]。骨肉瘤细胞成骨分化被认为是治疗骨肉瘤的一种全新方法。

2 骨肉瘤的诱导分化疗法

2.1 诱导分化疗法的机制

有研究^[11]发现,小鼠红白血病细胞能被二甲基亚砜诱导分化,从此开创肿瘤细胞分化研究的先河。由此分化疗法的概念随之被提出。诱导分化是指恶性肿瘤细胞在诱导分化剂的作用下,向正常或接近正常细胞方向分化逆转的现象。诱导分化治疗骨肉瘤迫使肿瘤细胞进行终端分化,虽然分化治疗不会导致肿瘤细

胞死亡,但肿瘤细胞的增殖和生长可受到抑制^[12]。

2.2 诱导分化治疗骨肉瘤

肿瘤细胞的诱导分化剂种类繁多,分类方式各有不同。在骨肉瘤的诱导分化研究中主要包含:维甲酸类化合物、细胞因子和酶类、动植物提取物等。

维甲酸类化合物:在骨肉瘤研究中常见的维甲酸类化合物诱导分化剂为全反式维甲酸 (All-trans retinoic acid, ATRA)。ZHANG 等^[5]利用 ATRA 成功诱导 U2OS 骨肉瘤细胞向成骨分化方向分化。并且有体内外研究^[13]证明,ATRA 能诱导肉瘤起源细胞朝着成骨分化方向分化,并且抑制肿瘤的生长。

细胞因子和酶类:甲状旁腺激素相关肽 (PTHrP) 被证明能诱导 MG-63 骨肉瘤细胞进行成骨分化,其成骨分化标志物碱性磷酸酶和 1 型胶原表达升高^[14]。LU 等^[15]研究表明,胰高血糖素样肽-2 (GLP2) 在体内外均能诱导 MG-63 骨肉瘤细胞向成骨细胞分化。此外,过氧化物酶体增殖剂激活受体 (PPAR) 被发现能诱导骨肉瘤细胞分化,上调细胞分化标志物碱性磷酸酶的表达,同时抑制肿瘤细胞的增殖^[16-17]。在小鼠异种移植瘤模型中,持续低剂量的组蛋白脱乙酰酶抑制剂同样能诱导骨肉瘤细胞成骨分化^[18]。

动植物提取物:二萜化合物 Coleusin 因子通过上调骨形成蛋白-2 (BMP-2) 的表达,诱导骨肉瘤细胞朝着成骨分化方向分化,肿瘤细胞的增殖和生长受到抑制^[19]。金丝桃苷同样被证实能将骨肉瘤细胞阻滞于 G₀/G₁ 期从而抑制其增殖,并且通过激活转化生长因子 β (TGF- β) 信号通路诱导骨肉瘤细胞成骨分化^[20]。

目前关于骨肉瘤诱导分化疗法的研究主要是对骨肉瘤细胞和动物体内外的探究。开发高效、低毒的诱导分化剂用以临床治疗仍需不断努力,合理的诱导分化剂和诱导分化方案仍需不断发展。

3 骨肉瘤癌干细胞的分化疗法

3.1 骨肉瘤癌干细胞

癌干细胞是肿瘤组织中极少数具有干细胞特性的可以自我更新、增殖和多向分化的细胞。在肿瘤的发生、发展、转移、复发、化疗药物耐药性等方面具有重要的作用^[21-22]。自从在急性髓性白血病中证明了癌干细胞的存在后^[23],在脑肿瘤、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌中也相继证明癌干细胞的存在^[24]。GIBBS 等^[25]首次在骨肉瘤中发现部分肿瘤细胞亚群具有自我更新并形成球状克隆聚落的能力。此后大量的研究也证明

癌干细胞在骨肉瘤中存在^[7-8]。

虽然在骨肉瘤中证明癌干细胞的存在,但是骨肉瘤癌干细胞的细胞起源目前尚不完全清楚。一般认为,癌干细胞来源于成体干细胞的突变,或已分化的细胞发生突变进而通过去分化获得干细胞特性^[24]。还有学者^[4,8]认为骨肉瘤癌干细胞来源于间充质干细胞。

3.2 癌干细胞的分化疗法机制

癌干细胞和正常干细胞类似,在某些特定的分化信号下能分化成多种类型的细胞,因而癌干细胞的分化疗法被提出^[24]。SELL 等^[26]认为,在成体组织中正常干细胞增殖以不对称分裂的方式来使其中的一个子代细胞维持前体细胞形态,而让其余子代细胞继续分化。而肿瘤往往是在这个过程中发生对称分裂,认为肿瘤的分化程度与细胞发生对称分裂的发生点有关,发生得越早,肿瘤的分化程度越低,其恶性程度也越高。因此,骨肉瘤癌干细胞的分化疗法被提出,即诱导骨肉瘤癌干细胞进行终端分化,从而抑制肿瘤细胞的持续生长^[27]。

癌干细胞的分化疗法已经在很多肿瘤中得到证明。骨形成蛋白-4 (BMP-4) 能诱导恶性脑胶质瘤癌干细胞高表达神经分化的标志物,同时肿瘤细胞增殖减少,生长受到抑制^[28]。恶性胶质瘤癌干细胞还证明能被全反式维甲酸诱导分化,肿瘤细胞的恶性程度被降低^[29]。此外在肝细胞肿瘤癌干细胞分化、自我更新,同时癌干细胞的化疗耐药性和致癌能力均被抑制^[30]。

3.3 骨肉瘤癌干细胞成骨分化

骨肉瘤癌干细胞也逐渐被证明能被诱导发生成骨分化。在体内和体外研究中发现, ATRA 成功地诱导 MG63 骨肉瘤癌干细胞进行成骨分化,并且显著降低癌干细胞在动物体内的致癌能力^[13]。在 OS99-1 骨肉瘤细胞系研究中还发现,受 BMP-2 的诱导,骨肉瘤癌干细胞标志物 Oct3/4、Nanog 和 Sox-2 的表达受到抑制,癌干细胞的致癌能力同样受到抑制,其恶性程度降低^[31]。持续的研究表明, BMP-2 通过 BMP-Smad 和 MAPK 信号通路诱导骨肉瘤癌干细胞进行成骨分化。且在动物体内研究也证明,骨肉瘤癌干细胞能被诱导成骨而形成具有一定结构的钙化骨组织^[32]。此外,在小鼠胫骨近端原位骨肉瘤模型中,外源性使用 BMP-2 不仅能抑制肿瘤细胞的增殖,而且对骨肉瘤细胞肺转移具有抑制作用。并且通过 BMP-2 的诱导成骨分化,从而使受肿瘤侵袭的骨具有比较完整的骨组

织结构^[33]。

虽然研究发现骨肉瘤癌干细胞被诱导分化剂诱导而发生成骨分化,使肿瘤细胞的增殖能力受到抑制,但目前在临床鲜有利用诱导分化剂诱导骨肉瘤癌干细胞发生成骨分化从而治疗骨肉瘤的报道。

4 展望

分化疗法虽然不能杀死肿瘤细胞,但通过诱导骨肉瘤细胞进行终端分化,可使肿瘤细胞失去自我更新和增殖的能力。同时还可以避免目前骨肉瘤治疗方案中的一些毒性和化疗耐药性。因而分化疗法逐渐成为治疗骨肉瘤的研究热点。另外,通过诱导骨肉瘤癌干细胞的成骨分化,其致癌能力被抑制。但目前对骨肉瘤癌干细胞分化疗法的研究还比较缺乏。虽然 BMP-2 被证明能通过 BMP-Smad 和 MAPK 信号通路诱导骨肉瘤癌干细胞进行成骨分化,但是其诱导分化的机制仍然有待被探讨^[32]。并且还有研究指出 BMP-2 可能促进骨肉瘤细胞的增殖^[34]。此外,诱导分化剂的副作用还需要被研究,诱导分化剂和诱导分化方案还需不断探讨。因此,临床利用诱导分化疗法来治疗骨肉瘤仍需不断研究和探索。

参考文献:

- [1] EK E T, OJAIMI J, KITAGAWA Y, et al. Outcome of patients with osteosarcoma over 40 years of age: Is angiogenesis a marker of survival[J]. International Seminars in Surgical Oncology, 2006, 3(1): 7.
- [2] LINDSEY B A, MARKEL J E, KLEINERMAN E S. Osteosarcoma overview[J]. Rheumatology and Therapy, 2016, 4(1): 25-43.
- [3] SARAF A J, FENGER J M, ROBERTS R D. Osteosarcoma: accelerating progress makes for a hopeful future[J]. Frontiers in Oncology, 2018, 8: 4.
- [4] SICLARI V A, QIN L. Targeting the osteosarcoma cancer stem cell[J]. Journal of Orthopaedic Surgery and Research, 2010, 5(1): 78.
- [5] ZHANG L, ZHOU Q, ZHANG N, et al. E2F1 impairs all-trans retinoic acid-induced osteogenic differentiation of osteosarcoma via promoting ubiquitination-mediated degradation of RAR α [J]. Cell Cycle (Georgetown, Tex), 2014, 13(8): 1277-1287.
- [6] ZHENG Y, WANG G Y, CHEN R L, et al. Mesenchymal stem cells in the osteosarcoma microenvironment: their biological properties, influence on tumor growth and therapeutic implications[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2018, 9(1): 22.
- [7] ABARRATEGI A, TORNIN J, MARTINEZ-CRUZADO L, et al. Osteosarcoma: cells-of-origin cancer stem cells and Targeted therapies[J]. Stem Cells International, 2016, 2016: 3631764.
- [8] BASU-ROY U, BASILICO C, MANSUKHANI A. Perspectives on

- cancer stem cells in osteosarcoma[J]. *Cancer Letters*, 2013, 338(1): 158-167.
- [9] MUTSAERS A J, WALKLEY C R. Cells of origin in osteosarcoma: Mesenchymal stem cells or osteoblast committed cells[J]. *Bone*, 2014, 62: 56-63.
- [10] RUBIO R, GUTIERREZ-ARANDA I, SÁEZ-CASTILLO A I, et al. The differentiation stage of p53-Rb-deficient bone marrow mesenchymal stem cells imposes the phenotype of in vivo sarcoma development[J]. *Oncogene*, 2012, 32: 4970.
- [11] WATANABE T, NOMURA S, OISHI M. Induction of erythroid differentiation by cytoplasm fusion in mouse erythroleukemia (friend) cells[J]. *Experimental Cell Research*, 1985, 159(1): 224-234.
- [12] ENANE F O, SAUNTHARARAJAH Y, KORC M. Differentiation therapy and the mechanisms that terminate cancer cell proliferation without harming normal cells[J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(9): 912.
- [13] HAN D, RODRIGUEZ-BRAVO V, CHARYTONOWICZ E, et al. Targeting sarcoma tumor-initiating cells through differentiation therapy[J]. *Stem Cell Research*, 2017, 21: 117-123.
- [14] CARPIO L, GLADU J, GOLTZMAN D, et al. Induction of osteoblast differentiation indexes by PTHrP in MG-63 cells involves multiple signaling pathways[J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2001, 281(3): e489-e499.
- [15] LU Y, LU D D, HU Y. GLP2 Promotes directed differentiation from osteosarcoma cells to osteoblasts and inhibits growth of osteosarcoma cells[J]. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2017, 10: 292-303.
- [16] HAYDON R C, ZHOU L, FENG T, et al. Nuclear receptor agonists as potential differentiation therapy agents for human osteosarcoma[J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2002, 8(5): 1288-1294.
- [17] WAGNER E R, HE B C, CHEN L, et al. Therapeutic implications of PPARgamma in human osteosarcoma[J]. *PPAR Research*, 2010, 2010: 956427.
- [18] CAIN J E, MCCA W A, JAYASEKARA W S N, et al. Sustained low-dose treatment with the histone deacetylase inhibitor LBH589 induces terminal differentiation of osteosarcoma cells[J]. *Sarcoma*, 2013, 2013: 608964.
- [19] GENG S, SUN B, LU R, et al. Coleusin factor, a novel anticancer diterpenoid, inhibits osteosarcoma growth by inducing bone morphogenetic protein-2-dependent differentiation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(6): 1431-1441.
- [20] ZHANG N, YING M D, WU Y P, et al. Hyperoside, a flavonoid compound, inhibits proliferation and stimulates osteogenic differentiation of human osteosarcoma cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e98973.
- [21] JORDAN C T, GUZMAN M L, NOBLE M. Cancer stem cells[J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(12): 1253-1261.
- [22] ABDULLAH L N, CHOW E K H. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells[J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2013, 2: 3.
- [23] LAPIDOT T, SIRARD C, VORMOOR J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice[J]. *Nature*, 1994, 367(6464): 645-648.
- [24] JIN X, JIN X, KIM H. Cancer stem cells and differentiation therapy[J]. *Tumor Biology*, 2017, 39(10): 1-11.
- [25] GIBBS C P, KUKKOV V G, REITH J D, et al. Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis[J]. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2005, 7(11): 967-976.
- [26] SELL S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2004, 51(1): 1-28.
- [27] LIN C Y. Differentiation Therapy with cancer stem cells[J]. *Journal of Stem Cell Research & Therapy*, 2014, 4(1): e117.
- [28] PICCIRILLO S G M, REYNOLDS B A, ZANETTI N, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells[J]. *Nature*, 2006, 444: 761.
- [29] CAMPOS B, WAN F, FARHADI M, et al. Differentiation therapy exerts antitumor effects on stem-like glioma cells[J]. *Clinical Cancer Research*, 2010, 16(10): 2715.
- [30] ZHANG L, SUN H, ZHAO F, et al. BMP4 administration induces differentiation of CD133⁺ hepatic cancer stem cells, blocking their contributions to hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Research*, 2012, 72(16):4276-4285.
- [31] WANG L, PARK P, ZHANG H, et al. BMP-2 inhibits the tumorigenicity of cancer stem cells in human osteosarcoma OS99-1 cell line[J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(5): 457-463.
- [32] WANG L, PARK P, LA MARCA F, et al. Bone formation induced by BMP-2 in human osteosarcoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(4): 1095-102.
- [33] XIONG Q S, WANG X S, WANG L Z, et al. BMP-2 inhibits lung metastasis of osteosarcoma: an early investigation using an orthotopic model[J]. *Oncotargets and Therapy*, 2018, 11: 7543-7553.
- [34] DENDULURI S K, WANG Z, YAN Z, et al. Molecular pathogenesis and therapeutic strategies of human osteosarcoma[J]. *Journal of Biomedical Research*, 2016, 30(1): 5-18.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 熊齐胜, 韩迎祥, 汪学松, 等. 骨肉瘤的分化疗法与研究进展 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(11): 48-51.