

骨肉瘤发生发展的分子生物学机制及相关治疗的研究进展

王子豪, 王宇, 范玉臻, 郭盈含, 袁涛

(云南省肿瘤医院, 昆明医科大学第三附属医院, 云南 昆明 650118)

摘要:近年来,越来越多的实验和临床研究表明,骨肉瘤患者中存在众多潜在的分子靶点,但暂无针对相应靶点的治疗药物。骨肉瘤发生及发展相关的分子生物学改变,其主要机制包括:①DNA突变,②表观遗传学改变(非编码RNA调控、DNA甲基化、组蛋白修饰等)。全文讨论包含一系列可能成为骨肉瘤治疗潜在靶点的内在分子生物学改变,并对骨肉瘤发病机制进行分析,以期基于骨肉瘤的特异性分子改变而选择相关治疗策略,为骨肉瘤的治疗和研究提供新思路。

关键词:骨肉瘤;发病机制;DNA;非编码RNA;表观遗传学

中图分类号:R738.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2023)03-0244-08

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2023.03.B013

Research Progress on Molecular Biological Mechanism of Osteosarcoma and Its Treatment

WANG Zi-hao, WANG Yu, FAN Yu-zhen, GUO Ying-han, YUAN Tao

(Yunnan Cancer Hospital, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650118, China)

Abstract: There is complex heterogeneity of osteosarcoma, the main mechanisms related to the occurrence and development of osteosarcoma include DNA mutation and epigenetic changes (non-coding RNA regulation, DNA methylation, histone modification, etc.). A series of internal molecular biological changes may be used as the potential targets for treatment of osteosarcoma, but there have been no therapeutic drugs targeting these molecular changes available yet. In this article we summarize the molecular biological changes related to the occurrence and development of osteosarcoma and discuss its potential therapeutic targets to provide reference for further studies.

Subject words: osteosarcoma; pathogenesis; DNA; non-coding RNA; epigenetics

骨肉瘤是最常见的原发恶性骨肿瘤,目前认为其起源于间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC),以异常骨生长区域为特征,约占原发恶性骨肿瘤的40%~50%,但在所有恶性肿瘤中占比不足1%。目前,全世界每年大约有3 600例新发恶性骨肿瘤病例,尽管在全球范围内骨肉瘤的治疗取得了巨大的进展,但经过治疗的骨肉瘤患者5年总生存

率仍不超过70%^[1]。目前,骨肉瘤仍面临转移率高、有效治疗药物少、肿瘤微环境特殊、异质性强、缺少特异性靶点等问题。国内针对高级别骨肉瘤患者的治疗主要是新辅助化疗,包括大剂量甲氨蝶呤、多柔比星和顺铂等,以及手术切除病灶并辅助化疗,但相比较于肺癌、乳腺癌等化疗联合靶向治疗的优势,针对骨肉瘤的治疗仍略显不足。本文旨在论述骨肉瘤的分子生物学发病机制,从与骨肉瘤发生与发展密切相关的DNA突变、非编码RNA表达与表观遗传学改变等方面进行讨论,并对相应治疗靶点及下游通路进行探讨,为进一步研究提供有力证据。

基金项目:云南省科技厅科技计划项目(202201AT070012);云南省卫生计生研究机构项目(2017NS197)

通信作者:袁涛, E-mail: yuantao2015@hotmail.com

王子豪和王宇共同第一作者

收稿日期:2022-10-20; **修回日期:**2022-12-05

1 DNA 突变促进骨肉瘤的发生及进展

众所周知, 基因学层面的改变是导致诸如骨肉瘤等恶性肿瘤发生发展的直接原因, 而 *TP53* 基因及 *RB1* 基因的相关突变是骨肉瘤散发性发展的主要原因。Groisberg 等^[2]对 102 例骨肉瘤患者进行 CLIA 认证综合基因组分析, 发现骨肉瘤患者中最常发生改变的基因是 *TP53* (31.4%)、*CDK4* (23.5%)、*MDM2* (21.6%)、*RB1* (18.6%) 和 *CDKN2A/B* (13.7%)。而在 Wang 等^[3]学者研究中, 通过对 10 例骨肉瘤患者的 86 个肿瘤区域进行多区域全外显子组和全基因组测序, 肿瘤 DNA 片段分析显示, 与正常组织相比, 原发骨肉瘤及其肺转移之间存在基因组的差异, 可见骨肉瘤的发生及进展均伴随有肿瘤细胞内部基因的改变。

1.1 *TP53* 突变促进骨肉瘤的发生

目前, 学界内对 *TP53* 和 *RB1* 基因突变与恶性肿瘤发生及进展的关系已达成明确共识, 各国学者们普遍认为 *TP53* 和 *RB1* 抑癌基因的改变在骨肉瘤中所起的作用类似于其他恶性肿瘤。

具有 *TP53* 基因缺陷或突变的 MSC 的成骨分化可能影响信号传导及其微环境, 并可能有助于细胞的恶性转化。约 90% 骨肉瘤患者与 *TP53* 突变相关, *TP53* 不仅调节 MSC 基因组稳定性, 还调节细胞分化进程, 包括成骨、骨重塑和骨重吸收, 以防止骨肿瘤的发生。*TP53* 功能的缺失可能会导致成骨、骨稳态和骨重塑发生变化, 从而导致肿瘤的发生。因此, 有学者提出 *TP53* 基因突变可能影响 MSC 的成骨分化, 并通过以下机制促进肿瘤的发生。①充当转录因子的功能被沉默, 抑制多能干细胞分化以介导早期成骨分化; ②增加 MSC 的基因组不稳定性, 增殖不受控制; ③下调对 MSC 免疫活性的调节, 增加生长因子和趋化因子的分泌^[4]。同时, 在骨母细胞向成骨细胞和骨细胞的分化过程中, 对其分化及生长关系密切的核心结合因子(runt-related transcription factor 2, Runx2)和含锌指结构的转录因子(osterix, Osx)的表达受到严格调控。而在 Wagley 等^[5]的实验中, 通过体外沉默小鼠胚胎成纤维细胞中的 *TP53* 基因进而诱导 MSC 中 Osx 和 Runx2 表达水平增加, 导致 *TP53* 缺陷小鼠中观察到的骨硬化表型及骨重塑受损, 甚至发生恶性化转变。Huang 等^[6]研究发现,

Runx2 可能通过组蛋白修饰诱导癌基因 *c-MYC* 转录来抑制 *p53* 在激活细胞凋亡中的作用。这也进一步解释了骨肉瘤细胞中 Runx2 表达水平升高的原因。

1.2 *RB1* 突变促进骨肉瘤的发生

视网膜母细胞瘤的特征是 *RB1* 突变, 而 *RB1* 为视网膜母细胞瘤的抑制基因, 现已被确定为骨肉瘤亚群发展的驱动因素。值得注意的是, 部分学者已在体外和体内实验中, 使用转基因小鼠将 MSC 与纯合缺失 *TP53* 和 *RB1* 的骨肉瘤细胞进行比较, 结果表明, 仅排除 *TP53* 纯合缺失, 骨肉瘤发病率可达到 60%。这进一步表明, *RB1* 基因对于机体的成骨分化、骨重塑及祖细胞增殖分化的稳定性具有重要意义, 该基因在调节细胞周期从 G₁ 期到 S 期的转变中起关键作用。正常时 *pRB1* 保持低磷酸化并与转录因子 E2F 结合, 但由于其突变或沉默, 下调了该细胞周期控制点, 进而导致针对细胞周期 G₁ 期停滞功能的缺失, 阻止了 DNA 损伤的修复, 并导致相关基因组不稳定而引发细胞恶变。因此, *RB1* 基因缺失或突变与骨肉瘤的分子生物学关系仍有待进一步研究, 而该基因与 E2F 结合的相关靶点有望在未来研究中阐明。

1.3 *WWOX* 缺失促进骨肉瘤进展

肿瘤抑制基因 *WWOX* 产物 WW 结构域氧化还原酶通过与 Runx2 结合而发挥对肿瘤的抑制作用, 但其功能在大多数人类肿瘤中被抑制或减弱。目前已在 30% 骨肉瘤中发现了 *WWOX* 基因的缺失, 约 60% 肿瘤中该基因的蛋白产物缺失或减少。该基因产物在骨肉瘤中主要抑制成骨细胞和肿瘤细胞中的转录活性, 进而发挥预防 MSC 向骨肉瘤恶性转化的功能, 而 *WWOX* 的负调控将导致 Runx2 活性的维持, 为骨肉瘤的发生及进展制造了有利的环境, 即低水平的 *WWOX* 表达增加了肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力。有研究通过对比 *WWOX* 基因敲除小鼠与野生型小鼠的致癌效果后, *WWOX* 基因的缺失会增强 Runx2 的活性, 进而使小鼠更易成瘤且肿瘤更具有侵袭性^[7], 这进一步验证了上述理论。因此推断, 通过向骨肉瘤机体患病部位靶向输注 *WWOX* 基因产物可能有利于延缓骨肉瘤的进展。

1.4 其他基因突变与骨肉瘤

Feng 等^[8]在中国西北汉族人群 596 例骨肉瘤患者和 1 696 名健康者进行基因分型的对照研究中

发现,一些保留野生型 *TP53* 的肿瘤中癌基因 *MDM2* 可抑制 *TP53* 活性。同时 He 等^[9]分析 415 例骨肉瘤患者及 431 名正常对照组后发现,骨肉瘤 *MDM2* 基因中 c.44C>T 和 c.1002T>c 基因大量变异。*MDM2* 基因编码蛋白 MDM2,该蛋白是一种 p53 结合蛋白。Ou 等^[10]利用 MDM2 拮抗剂 Nutlin-3a 中断 MDM2 表达产物与 *TP53* 的结合,使 *TP53* 定位于细胞核并执行其转录功能后,骨肉瘤细胞的增殖及侵袭能力都有较明显的下调。

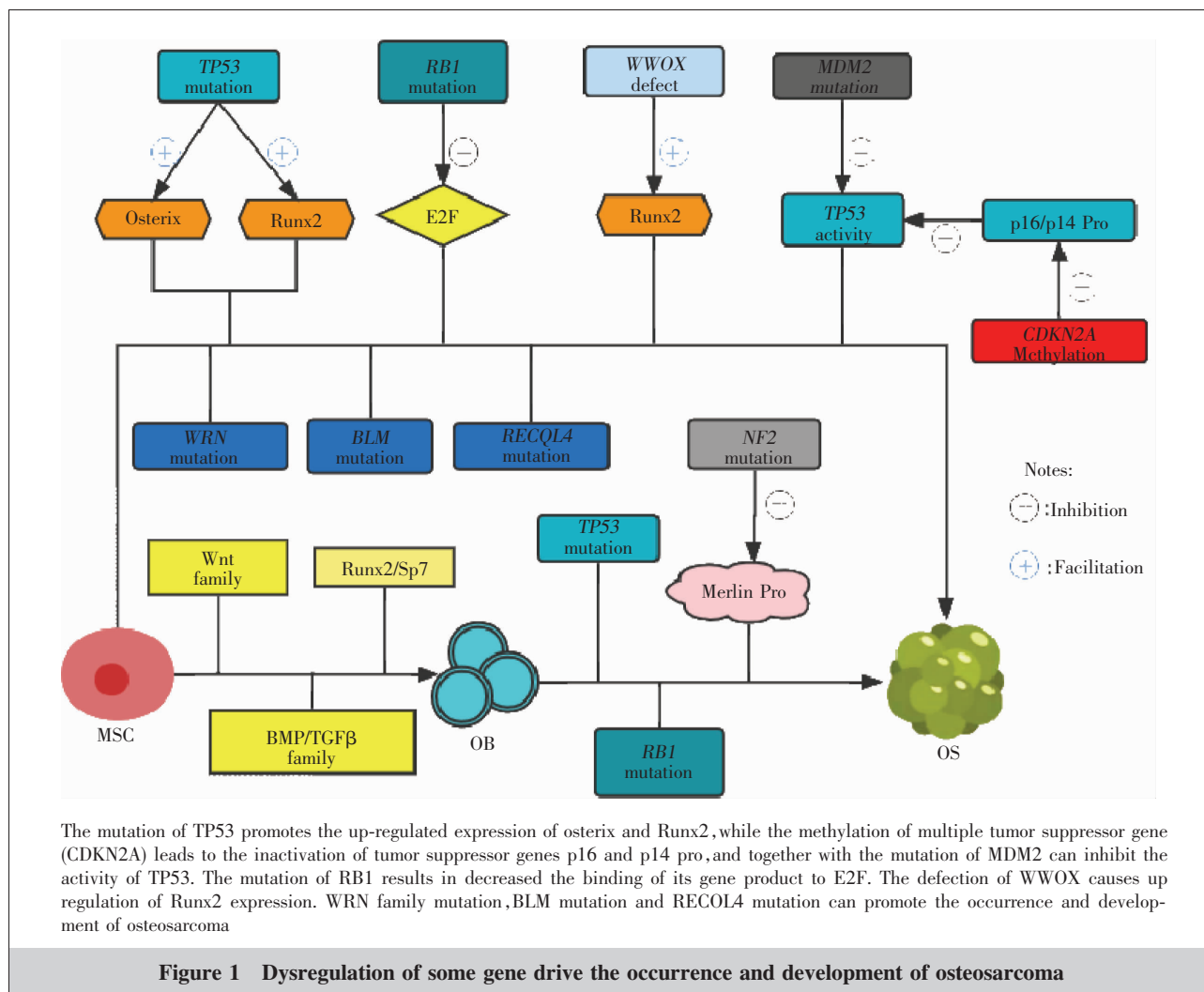
此外,神经纤维瘤病-2 (neurofibromatosis type 2, NF2) 与包括骨肉瘤在内的几种高转移性肿瘤的发生也明确相关。NF2 编码的蛋白 Merlin 已被证明具有稳定 *TP53* 的作用^[11],从而可能发挥抑制骨肉瘤发生的功能。其他疾病,包括 Bloom 综合征(*BLM* 基因突变)、Werner 综合征 (*WRN* 基因突变)和 Rothman-Thompson 综合征(*RECQL4* 基因突变)等,也

被相继证明可能与骨肉瘤的发生及进展密切相关^[12]。

综上,众多基因层面的突变、沉默、扩增等都能引发骨肉瘤的发生及进展^[2](Figure 1)。因此,针对该基因及其产物作用靶点的阻断或增强可能有望成为骨肉瘤治疗及延缓进展的新方向。

2 非编码 RNA 影响骨肉瘤的发生及进展

构成人体基因组的基因大多以转录成不同种类的 RNA 以进一步影响机体的效能,而其中又有超过 95%RNA 属于非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA),其中包括小干扰 RNA(microRNA)、非编码长链 RNA(lncRNA)和环状 RNA(circRNA)。尽管 ncRNA 在机体内不转化为蛋白质,但却发挥着重要的调节功能,如其在骨关节炎和类风湿性关节炎的进展中起到了



关键作用。近期,在众多学者的研究中均提到其与骨肉瘤等众多恶性肿瘤类疾病的发生发展也存在着密切的相关,尤以 miR-200 与 miR-101 等小干扰 RNA 在抑制骨肉瘤发生及发展的作用为著。因此,探究各类 ncRNAs 对骨肉瘤的发病及进展机制可能为治疗该疾病提供新思路。

2.1 miR-200 家族抑制骨肉瘤的发生及转移

在 de Azevedo 等^[13]对 miRNAs 的阐述中,低水平 miR-200 表达与骨肉瘤患者的晚期临床阶段和全身转移有明确相关,并且与正常成骨细胞及骨细胞相比,其在骨肉瘤细胞及其衍生的 U2OS、SaOS2、HOS 和 MG-63 细胞系中的表达明显下调。此外,部分研究表明 E 盒结合锌指蛋白 (zinc finger E-box-binding protein, ZEB) 基因可编码一种转录因子,该因子被鉴定为 miR-200 的靶点,其在骨肉瘤中的表达可被 miR-200 下调。同时,ZEB1 及 ZEB 2 的表达在肿瘤细胞中也显著性增加,而抑制 ZEB1/2 的表达则降低肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

de Azevedo 等^[13]假设如能恢复 miR-200 表达或使其表达上调,则可能导致肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭的程度及速度降低。值得注意的是,这一假设在 Mei 等^[14]研究中得到了进一步的证实。该团队通过体内和体外实验,利用一种双甲基磺酸酯类双功能烷化剂(白消安)静脉注射于骨肉瘤雄性 NOD/SCID 小鼠模型后使用 IVIS 成像系统采集荧光,并分析小鼠机体内转录因子编码基因产物 (ZEB1 和 ZEB2) 含量;同时将两种骨肉瘤细胞系(U2OS 和 MG-63)体外培养并使用白消安处理后,提取细胞群总 RNA 并将其逆转录,后行定量 PCR 以测定 miR-200 家族的 RNA 含量。结果显示,白消安通过上调 miR-200 家族成员并随后抑制其靶基因表达产物 ZEB1 和 ZEB2 来降低细胞活力和增殖能力,并诱导细胞衰老和凋亡。综上,miR-200 家族对骨肉瘤细胞的抑制作用可能成为未来治疗骨肉瘤的新靶点。

2.2 miR-101 抑制骨肉瘤的增殖

近年,miR-101 现已被公认与骨肉瘤的生长存在着明确相关性。Jiang 等^[15]提取了 20 例骨肉瘤患者的组织样本并对其进行了体外培养,以 miR-101 对体外培养细胞进行转染并观察转染后的骨肉瘤细胞的侵袭能力,结果显示,miR-101 在骨肉瘤组织和骨肉瘤细胞系中有所下调。对源自骨肉瘤的 MG-63 细胞

系的研究表明,与敲除 MG-62 细胞中的 miR-101 基因相比,miR-101 过表达显著性抑制一种编码丝氨酸/苏氨酸激酶信号蛋白即 Rho 相关的含卷曲螺旋蛋白激酶 1 的基因(ROCK1)的表达,从而在骨肉瘤中发挥抗肿瘤作用,并且 miR-101 过表达还可通过下调 ROCK1 基因表达使 PI3K/AKT 和 JAK/STAT 信号通路失活来抑制肿瘤生长和肿瘤细胞运动。因此,miR-101 过表达降低了 MG-63 细胞的存活、迁移和侵袭能力,并促进其凋亡速度。Deng 等^[16]对 43 例骨肉瘤样本行 miR-101-3p 模拟物转染,通过流式细胞仪分析细胞周期及其凋亡时发现,miR-101-3p 表达下调增强了 ROCK1 表达,并促进了骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力。

此外,其他学者研究发现,miR-101 也可靶向作用于 ZEB1 和 ZEB2 进而抑制骨肉瘤细胞增殖及侵袭的能力。LncRNA SPRY4-IT1、LncRNA RUSC1-AS1、LncRNA DSCAM-AS1 等也可以通过海绵化或靶向作用等方式调节 miR-101 的表达,进而调节骨肉瘤的增殖速度及侵袭能力^[17-18]。因此,miR-101 表达上调可以通过多种不同的信号通路联合作用于骨肉瘤细胞以抑制其增殖及转移能力。

2.3 circRNA-miRNA 轴调节骨肉瘤的增殖及进展

环状 RNA(circRNA)是一类由反向剪接产生的内源性非编码 RNA,其在形成环状结构时共价闭合,不受 RNA 外切酶影响,因此 circRNAs 表达具有稳定性和不易降解性。近年对 circRNAs 的多项研究中发现,circRNAs 含有众多 miRNAs 的结合位点,可以充当 miRNA 的海绵以抑制其功能。circRNAs 在骨肉瘤增殖及进展功能的基因层面调节中发挥不可忽视的作用。

Xi 等^[19]对 13 例骨肉瘤患者术后标本组织提取总 RNA 并逆转录合成 cDNA 后对产物进行测序,circRNA-32279 和 circRNA-24831 在骨肉瘤组织中显著性下调,而 circRNA-2137 和 circRNA-20403 在骨肉瘤组织中显著性上调。而 Wu 等^[20]进一步对骨肉瘤产物中 circRNA-TADA2A 进行荧光素酶报告基因、RNA 免疫沉淀、RNA pull-down 和荧光原位杂交检测等一系列研究后发现,circRNA-TADA2A 可作为 miRNA 海绵,miR-203a-3p 可下调骨肉瘤传导基因 CREB3 的表达,而在体外实验中抑制 circRNA-TADA2A 的表达则减弱了肿瘤细胞的增殖、迁移和

侵袭能力。

此外,仍有大量 circRNAs 可对骨肉瘤细胞的增殖及侵袭能力进行调节,诸如 circRNA-103801 通过海绵化 miR-338-3p 加速骨肉瘤细胞的增殖;circRNA-0004674 可通过结合 miR-142-5p 上调抗凋亡蛋白 MCL1,进而促进骨肉瘤的进展和化疗耐药性的产生等^[21]。因此,发现新型 circRNAs 及其作用靶点并对此予以抑制或增强可能将为骨肉瘤的治疗提供新方向。

2.4 其他非编码 RNA 调节骨肉瘤进展

在骨肉瘤等大多数恶性肿瘤中,非编码 RNA 在肿瘤细胞增殖和侵袭过程中发挥了举足轻重的作用。部分非编码 RNA 在骨肉瘤细胞中表达上调或下调,进而对骨肉瘤的发生及进展产生促进或抑制作用(Table 1),如 circRNA- MTO1 可通过海绵化 miR-630/ KLF6 轴进一步抑制骨肉瘤细胞的增殖及迁移能力; lncRNA-FGD5-AS1 在骨肉瘤细胞中表达上调,且可靶向作用于 miR-506/RAB3D 轴进而促进骨肉瘤细胞的增殖^[22-28]。不同非编码 RNA 对骨肉瘤的发生及进展的作用均各不相同。因此,针对各非编码 RNA 的细胞行为学研究可能有助于明确骨肉瘤增殖及转移的分子机制,并为改善骨肉瘤患者的远期预后提供理论依据。

3 其他表观遗传学参与骨肉瘤的发生及进展

表观遗传学还包括一组由环境因素触发的生物现象,这些环境因素通过 DNA 中的化学修饰,如基因的甲基化、乙酰化、磷酸化及组蛋白修饰、染色体重塑等方式来促进或抑制转录水平上的基因表达的调节。近 20 年,各国学者对表观遗传学与恶性肿瘤关系的研究有了长足的发展。表观遗传学的改变也

被确定为骨肉瘤发生的危险因素,异常的表现遗传改变可能引导正常 MSC 细胞、成骨细胞等向恶性肿瘤细胞转化^[29]。

3.1 DNA 甲基化影响骨肉瘤的生物学行为

DNA 甲基化是一种在 DNA 内胞嘧啶脱氧核苷酸中添加甲基的化学变化,其可通过抑制基因转录进而影响生物表型的变化。通常,正常基因启动子的 CpG 岛没有甲基化,而无论是低甲基化还是高甲基化都会导致基因组不稳定。现已证明,异常的 DNA 甲基化与多种癌症的发生及进展明确相关。甲基化作为基因的沉默因子所致恶性肿瘤已在大量骨肉瘤病例中报道,如 Li 等^[30]在骨肉瘤细胞中观察到,与 miR-449c 基因组位点相邻的两个 CpG 岛含有 DNA 高甲基化,而用 DNA 甲基化抑制剂 5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine,AZA)处理后将诱导 miR-449c 表达上调。即 DNA 甲基化将介导 miR-449c 的表达下调,进而减少 miR-449c 介导的癌基因 c-Myc 的抑制作用,导致下游靶标的激活,最终促成骨肉瘤的发生。

骨肉瘤细胞中的甲基化水平也与患者的复发及预后不良有着明确的联系。Moriarty 等^[31]在复发性疾病患者的基因体、基因内区域和启动子中发现了高甲基化,对 119 个原发性肿瘤和 134 个转移性结节的常见插入位点分析后分别确定了 232 个与骨肉瘤进展相关的位点和 43 个与转移相关的位点,即骨肉瘤复发患者 DNA 甲基化程度更高,而在未复发的患者中甲基化程度不足 1%。在其他的研究中发现,诸如 IRX1 低甲基化通过激活 CXCL14/NF-κB 信号传导来促进骨肉瘤转移;WNT6 的 DNA 甲基化水平与年轻骨肉瘤患者的预后呈负相关。

Table 1 The biological effects of non-coding RNA on osteosarcoma

Non-coding RNA	Action target	Function	Reference
miR-200	ZEB1,ZEB2	Inhibition osteosarcoma cell proliferation, migration and invasion	[13],[14]
miR-101	ROCK1,PI3K/AKT,JAK/STAT	Inhibits osteosarcoma cell proliferation, migration and invasion	[15],[16]
circR-001422	miR-195-5p/FGF2/PI3K/Akt	Accelerated osteosarcoma occurrence and metastasis	[23]
circR-ITCH	circ-ITCH /miR-7/EGFR	Promotes osteosarcoma proliferation and invasion	[24]
circR-0008934	miR-145-5p,PCNA	Promotes proliferation and migration of osteosarcoma	[25]
lncR- OR3A4	miR-1227-5p	Promotes proliferation and invasion of osteosarcoma cell	[26]
lncR-MNX1-AS1	KISS1	Promotes proliferation and invasion of osteosarcoma cell	[27]
lncR-ZMIZ1-AS1	PTBP1/ ZMIZ1	Upregulates osteosarcoma cell activity and promotes proliferation, migration and invasion	[28]

3.2 组蛋白修饰影响骨肉瘤的生物学行为

组蛋白即真核生物及原核生物中与染色质相结合的碱性蛋白。近年的大量研究发现,在众多恶性肿瘤细胞中出现了不同组蛋白的修饰。部分专家及学者假设组蛋白的表观遗传学改变可能对真核生物体的基因表达有着重要影响,而在部分研究中也明确表示组蛋白修饰与骨肉瘤的发生及转移明确相关^[29]。通常,组蛋白 H3K4、H3K36 和 H3K79 等乙酰化与基因表达有关,而 H3K9、H3K27 和 H4K20 甲基化与基因沉默有关。

Kong 等^[32]利用组蛋白乙酰基转移酶 PCAF 使组蛋白 H3 的 S28 位点磷酸化后观察骨肉瘤细胞自噬体数量后发现,PCAF/H3S28ph 轴通过靶向自噬相关基因 *ATG5* 和 *ATG7* 促进骨肉瘤细胞的自噬。而在 Zhang 等^[29]的研究中,对 41 例骨肉瘤患者的肿瘤组织及非肿瘤组织通过蛋白质印迹法评估Ⅵ型胶原蛋白 $\alpha 1$ (COL6A1)的表达,发现 COL6A1 在骨肉瘤组织中普遍上调(肺转移组织中更为显著);而乙酰化的组蛋白 H3K27 在 COL6A1 的启动子区域显著性富集,其富集程度高于正常组织和成骨细胞。当用组蛋白去乙酰化酶抑制剂丁酸钠处理骨肉瘤细胞后可显著性增加 COL6A1 和 H3K27 富集水平,进而抑制骨肉瘤细胞侵袭和迁移能力。因此,组蛋白的乙酰化或去乙酰化修饰可能改变了骨肉瘤等恶性肿瘤的生物学行为,而逆转这一化学性修饰可能对骨肉瘤患者起到有益作用。

3.3 相关表观遗传学潜在治疗靶点

除上述 DNA 甲基化、组蛋白修饰等表观遗传学改变外,仍有其他诸如基因的乙酰化、染色质重塑等

改变在骨肉瘤患者中大量出现。骨肉瘤的发生及进展并非单个基因或固定基因的改变而引起的,目前靶向药对此很难有效,因此具有潜在临床疗效的药物可能无法在标准Ⅱ期临床试验(以原发肿瘤的缩小作为治疗反应的关键指标)得到确切的验证。鉴于此,本文列出了可能改善骨肉瘤患者治疗结果的药物(Table 2)^[33-37],这些药物基于对骨肉瘤中发现的表观遗传改变的特异性而选择,在未来有望成为治疗骨肉瘤的新靶点。

4 总结与展望

目前在全球范围内对于骨肉瘤及其他原发性恶性骨肿瘤的病因学研究暂无明确的定论,大部分学者将其归为一种多因素起源的疾病,涉及多种因素和机制之间的复杂相互作用,当这些因素和机制共同作用时,促进细胞信号通路的调节,进而导致骨组织内稳态紊乱,甚至引发恶性转化。目前临床针对骨肉瘤患者的治疗方案主要包括顺铂、阿霉素、异环磷酰胺和大剂量甲氨蝶呤等化疗药物^[4],但高剂量的甲氨蝶呤及顺铂等化疗药物对机体肝脏、肾脏及中枢神经系统均具有明显的毒副作用;针对其基因突变的靶向治疗目前仅有如阿帕替尼、帕唑帕尼等少量针对广谱基因靶点的靶向治疗药物,且治疗效果并不明显。因此,发现骨肉瘤的潜在基因突变靶点并为此开发新型靶向治疗药物很有必要。

本文从基因层面针对骨肉瘤的发病机制进行讨论,DNA、非编码 RNA 及其他表观遗传学的改变对骨肉瘤的发生及进展、转移及远期预后的关系。骨肉瘤

Table 2 The candidate drugs for the treatment of osteosarcoma

Medicine	Targets action	Effect	Progress in clinical trials	Reference
Cidabenameide	Histone deacetylase	Inhibits histone acetylation and osteosarcoma cell invasion and migration	Defect	[33]
Dicitabine	Methyltransferases	Suppress hypermethylation of promoters and upstream components, and inhibit the occurrence and development of osteosarcoma	Phase I clinical trial	[34]
Zoledronic acid	Small GTPase	Blocking integrin binding sites and down-regulation of VEGF reduce the incidence of osteosarcoma lung metastasis	Phase I clinical trial	[35]
Tranamphetamine	Lysine specific demethylase 1	It acts on the demethylation in osteosarcoma nucleus and then inhibits the development of osteosarcoma	Defect	[36]
Olapali	Poly adp-ribose polymerase	Combination with doxorubicin may inhibit osteosarcoma growth	Phase I clinical trial	[37]

中抑癌基因及癌基因的改变,如基因突变、表观遗传学改变,甚至细胞因子对 MSC 等细胞的调节,均可导致细胞分化、增殖、迁移和凋亡等过程中信号通路的失活或激活,从而增加骨骼中正常细胞向恶性转化的风险。此外,外部环境等因素引发的表观遗传学改变,如 DNA 甲基化、组蛋白修饰、核小体重塑等,也可能引发抑癌基因、癌基因及非编码 RNAs 的表达上调或沉默,且通常与骨肉瘤进展及预后不良有关。

随着对肿瘤发病机制的认识不断加深,越来越多的肿瘤靶点及其对应药物得以研发。众多基因及其 RNA 产物和下游通路等可作为治疗骨肉瘤的靶点并可能对骨肉瘤的进展及远期预后取得良好的疗效。因此,对骨肉瘤发病的分子生物学研究及其后续对应靶点的治疗方案的探索,在未来针对骨肉瘤患者的疗效改善中仍有积极意义。

参考文献:

- [1] Zhang W, Wei L, Weng J, et al. Advances in the research of osteosarcoma stem cells and its related genes[J]. Cell Biol Int, 2022, 46(3): 336–343.
- [2] Groisberg R, Hong DS, Holla V, et al. Clinical genomic profiling to identify actionable alterations for investigational therapies in patients with diverse sarcomas[J]. Oncotarget, 2017, 8(24): 39254–39267.
- [3] Wang D, Niu X, Wang Z, et al. Multiregion sequencing reveals the genetic heterogeneity and evolutionary history of osteosarcoma and matched pulmonary metastases[J]. Cancer Res, 2019, 79(1): 7–20.
- [4] Otani S, Date Y. Runx3 is required for oncogenic Myc upregulation in p53-deficient osteosarcoma[J]. Oncogene, 2022, 41(5): 683–691.
- [5] Wagley Y, Chesni A, Acevedo PK, et al. Canonical Notch signaling is required for bone morphogenetic protein-mediated human osteoblast differentiation[J]. Stem Cells, 2020, 38(10): 1332–1347.
- [6] Huang Z, Huang L, Liu L, et al. Knockdown of microRNA-203 reduces cisplatin chemo-sensitivity to osteosarcoma cell lines MG63 and U2OS in vitro by targeting RUNX2[J]. J Chemother, 2021, 33(5): 328–341.
- [7] Del Mare S, Husanice H, Iancu O, et al. WWOX and p53 dysregulation synergize to drive the development of osteosarcoma[J]. Cancer Res, 2016, 76(20): 6107–6117.
- [8] Feng W, Wang Z, Feng D, et al. The effects of common variants in MDM2 and GNRH2 genes on the risk and survival of osteosarcoma in Han populations from northwest China[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 15939.
- [9] He J, Wang J, Wang D, et al. Association analysis between genetic variants of MDM2 gene and osteosarcoma susceptibility in Chinese[J]. Endocr J, 2013, 60(11): 1215–1220.
- [10] Ou WB, Zhu J, Eilers G, et al. HDACi inhibits liposarcoma via targeting of the MDM2-p53 signaling axis and PTEN, irrespective of p53 mutational status[J]. Oncotarget, 2015, 6(12): 10510–10520.
- [11] Ma J, Klemm J, Gerardo-Ramírez M, et al. Cluster of differentiation 44 promotes osteosarcoma progression in mice lacking the tumor suppressor Merlin[J]. Int J Cancer, 2020, 147(9): 2564–2577.
- [12] Tous-Romero F, Palma-Milla C, Ortiz-de Frutos J. Skin lesions associated with a new mutation in the RECQL4 gene in a patient with osteosarcoma[J]. Actas Dermosifiliogr, 2021, 113(10): 983–984.
- [13] de Azevedo JWV, de Medeiros Fernandes TAA, Fernandes JV, et al. Biology and pathogenesis of human osteosarcoma[J]. Oncol Lett, 2020, 19(2): 1099–1116.
- [14] Mei Q, Li F, Quan H, et al. Busulfan inhibits growth of human osteosarcoma through miR-200 family microRNAs in vitro and in vivo[J]. Cancer Sci, 2014, 105(7): 755–762.
- [15] Jiang R, Zhang C, Liu G, et al. MicroRNA-101 inhibits proliferation, migration and invasion in osteosarcoma cells by targeting ROCK1[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(1): 88–97.
- [16] Deng R, Zhang J, Chen J. LncRNA SNHG1 negatively regulates miRNA-101-3p to enhance the expression of ROCK1 and promote cell proliferation, migration and invasion in osteosarcoma[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(3): 1157–1166.
- [17] Jiang R, Zhang Z, Zhong Z, et al. Long-non-coding RNA RUSC1-AS1 accelerates osteosarcoma development by miR-101-3p-mediated Notch1 signalling pathway[J]. J Bone Oncol, 2021, 30: 100382.
- [18] Zhang S, Ding L, Gao F, et al. Correction: long non-coding RNA DSCAM-AS1 upregulates USP47 expression through sponging miR-101-3p to accelerate osteosarcoma progression[J]. Biochem Cell Biol, 2021, 99(2): 272–273.
- [19] Xi Y, Fowdur M, Liu Y, et al. Differential expression and bioinformatics analysis of circRNA in osteosarcoma[J]. Biosci Rep, 2019, 39(5): BSR20181514.
- [20] Wu Y, Xie Z, Chen J, et al. Circular RNA circTADA2A promotes osteosarcoma progression and metastasis by sponging miR-203a-3p and regulating CREB3 expression[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 73.

- [21] Ma XL,Zhan TC,Hu JP,et al. Doxorubicin-induced novel circRNA_0004674 facilitates osteosarcoma progression and chemoresistance by upregulating MCL1 through miR-142-5p[J]. *Cell Death Discov*,2021,7(1):309.
- [22] Liu DY,Li Z,Zhang K,et al. Circular RNA circMTO1 suppressed proliferation and metastasis of osteosarcoma through miR-630/KLF6 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2021,25(1):86–93.
- [23] Yang B,Li L,Tong G,et al. Circular RNA circ_001422 promotes the progression and metastasis of osteosarcoma via the miR-195-5p/FGF2/PI3K/Akt axis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2021,40(1):235.
- [24] Li H,Lan M,Liao X,et al. Circular RNA cir-ITCH promotes osteosarcoma migration and invasion through cir-ITCH/miR-7/EGFR pathway[J]. *Technol Cancer Res Treat*,2020,19:1533033819898728.
- [25] Li S,Zeng M,Yang L,et al. Hsa_circ_0008934 promotes the proliferation and migration of osteosarcoma cells by targeting miR-145-5p to enhance E2F3 expression[J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2020,127:105826.
- [26] Yang C,Cai X,Yu M,et al. Long noncoding RNA OR3A4 promotes the proliferation and invasion of osteosarcoma cells by sponging miR-1227-5p[J]. *J Bone Oncol*,2020,21:100278.
- [27] Zhang YX,Cui HX,Liu L,et al. Long non-coding RNA MNX1-AS1 promoted osteosarcoma proliferation and invasion via inhibiting KISS1[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2019,23(14):6045–6052.
- [28] Zhou Y,Jin Q,Chang J,et al. Long non-coding RNA ZMIZ1-AS1 promotes osteosarcoma progression by stabilization of ZMIZ1[J]. *Cell Biol Toxicol*,2022,38(6):1013–1026.
- [29] Zhang Y,Liu Z,Yang X,et al. H3K27 acetylation activated-COL6A1 promotes osteosarcoma lung metastasis by repressing STAT1 and activating pulmonary cancer-associated fibroblasts[J]. *Theranostics*,2021,11(3):1473–1492.
- [30] Li Q,Li H,Zhao X,et al. DNA methylation mediated downregulation of miR-449c controls osteosarcoma cell cycle progression by directly targeting oncogene c-Myc[J]. *Int J Biol Sci*,2017,13(8):1038–1050.
- [31] Moriarity BS,Otto GM,Rahrmann EP,et al. A sleeping beauty forward genetic screen identifies new genes and pathways driving osteosarcoma development and metastasis[J]. *Nat Genet*,2015,47(6):615–624.
- [32] Kong D,Ying B,Zhang J,et al. PCAF regulates H3 phosphorylation and promotes autophagy in osteosarcoma cells [J]. *Biomed Pharmacother*,2019,118:109395.
- [33] Murahari S,Jalkanen AL,Kulp SK,et al. Sensitivity of osteosarcoma cells to HDAC inhibitor AR-42 mediated apoptosis[J]. *BMC Cancer*,2017,17(1):67.
- [34] Chaiyawat P,Sirikaew N,Budprom P,et al. Expression profiling of DNA methyl transferase 1(DNMT1) and efficacy of a DNA-hypomethylating agent(decitabine) in combination with chemotherapy in osteosarcoma[J]. *J Bone Oncol*,2020,25:100321.
- [35] Bellone F,Catalano A,Sottile AR,et al. Early changes of VEGF levels after zoledronic acid in women with postmenopausal osteoporosis: a potential role of vitamin D[J]. *Front Med(Lausanne)*,2021,8:748438.
- [36] Kurmasheva RT,Erickson SW,Han R,et al. In vivo evaluation of the lysine-specific demethylase(KDM1A/LSD1) inhibitor SP-2577 (Seclidemstat) against pediatric sarcoma preclinical models: a report from the Pediatric Preclinical Testing Consortium (PPTC) [J]. *Pediatr Blood Cancer*,2021,68(11):e29304.
- [37] Park HJ,Bae JS,Kim KM,et al. The PARP inhibitor olaparib potentiates the effect of the DNA damaging agent doxorubicin in osteosarcoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2018,37(1):107.