· 药咖论坛 ·

骨肉瘤肿瘤干细胞的调控机制与相关治疗策略研究进展

王霞[1]，张晓鲁[2*]

（1. 山东大学齐鲁医院骨科，山东 济南 250012；2. 山东大学基础医学院病理生理教研室，山东 济南 250012）

[摘要] 骨肉瘤是常见的原发性恶性骨肿瘤之一，主要发生于儿童和青少年。尽管手术联合化疗等综合治疗在局部控制方面取得一定进展，但转移性和复发性骨肉瘤的预后仍不理想。近年来，肿瘤干细胞（cancer stem cell，CSC）被认为在骨肉瘤的发生、进展、耐药及转移过程中发挥关键作用，成为研究热点。系统综述了骨肉瘤中 CSC 的生物学特性、关键分子标志物、信号通路调控机制及其与肿瘤微环境的相互作用，并探讨其作为临床治疗潜在靶点的转化价值，旨在为骨肉瘤的精准治疗提供理论依据和研究方向。

[关键词] 骨肉瘤；肿瘤干细胞；信号通路；肿瘤微环境；靶向治疗；临床转化

[中图分类号] R979.1；R738.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094（2026）03-0219-08

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.202511150904

Research Progress on the Regulatory Mechanisms of Osteosarcoma Cancer Stem Cells and Related Therapeutic Strategies

WANG Xia[1], ZHANG Xiaolu[2]

(1. Department of Orthopedics, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China; 2. Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

[Abstract] Osteosarcoma is one of the common primary malignant bone tumors and mainly occurs in children and adolescents. Although comprehensive treatments such as surgery combined with chemotherapy have achieved certain progress in local control, the prognosis of metastatic and recurrent osteosarcoma remains unsatisfactory. In recent years, cancer stem cells (CSCs) have been considered to play a key role in the occurrence, progression, drug resistance, and metastasis of osteosarcoma, and have become a research hotspot. This article systematically reviews the biological characteristics, key molecular markers, signal pathway regulatory mechanisms of CSCs in osteosarcoma and their interaction with the tumor microenvironment, and explores their translational value as potential targets for clinical treatment, aiming to provide a theoretical basis and research direction for the precise treatment of osteosarcoma.

[Key words] osteosarcoma; cancer stem cell; signal pathway; tumor microenvironment; targeted therapy; clinical translation

骨肉瘤（osteosarcoma）是一种起源于间充质成骨细胞的高度恶性骨肿瘤，好发于青少年，发病高峰集中在 10 至 20 岁之间[1-2]。常见于长骨干骺端，尤其是股骨远端、胫骨近端和肱骨近端。临床表现为局部疼痛、肿胀、功能障碍，晚期可出现病理性骨折及远处转移，其中肺转移最为常见且显著影响预后。随着新辅助化疗和保肢手术的发展，局部病灶控制率明显提高，5 年总生存率可达 60%～70%。然而，对于存在肺转移、术后复发或对化疗不敏感的患者，预后仍然较差。传统治疗主要针对增殖活跃的肿瘤细胞，而对具有自我更新和多向分化潜能的肿瘤干细胞（cancer stem cell，CSC）则疗效有限[3]。

CSC 理论最初源于白血病干细胞的研究。近年来，大量证据表明，在乳腺癌、肝癌、脑胶质瘤等多种实体瘤中均存在 CSC 亚群，其在肿瘤发生、侵袭、转移、耐药和复发中起“种子”作用[1]。在骨肉瘤中亦已鉴定出多个 CSC 相关表型，包括分化簇（cluster of differentiation，CD）133、醛脱氢酶 1（aldehyde dehydrogenase 1，ALDH1）、基质细胞抗原 1（stromal cell antigen 1，Stro-1）、CD117、CD271、巢蛋白（Nestin）等标志物。这些 CSC 亚群通常表现出强增殖能力、化疗耐受性以及肺转移倾向。值得注意的是，CSC 并非孤立存在于肿瘤组织中，其干性维持与功能激活高度依赖于复杂的内外部调控网络：内部依赖 Wnt/β-连环蛋白（β-catenin）、Notch、Hedgehog 及磷脂酰肌醇 3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinase，PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B，AKT）/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin，mTOR）等信号通路的协同作用，外部则受到肿瘤微环境（tumor microenvironment，TME）的显著调控[4]。TME 中的免疫抑制细胞、肿瘤相关成纤维细胞（cancer-

接受日期： 2025-11-16

***通信作者：** 张晓鲁，教授

研究方向： 肿瘤异质性及肿瘤克隆进化

E-mail： xiaolu.zhang@sdu.edu.cn

associated fibroblast，CAF）、血管内皮细胞及缺氧等关键因素可通过多种机制调节 CSC 的干性，影响其增殖、迁移及免疫逃逸能力[5]。因此，靶向 CSC 被认为是改善骨肉瘤临床预后的潜在策略。基于此，本文整合近年来国内外研究成果，从 CSC 的表型识别、功能特征、信号通路调控、微环境互作及临床转化等多个层面进行系统综述，并重点突出以下三方面内容：第一，以“临床转化”为核心主线，系统整合 CSC 从基础机制到靶向治疗策略的完整转化链条，强化基础研究与临床应用的衔接；第二，重点解析 TME 与 CSC 互作的调控网络，阐释二者双向调控的分子机制，凸显微环境在干性维持及治疗抵抗中的关键作用；第三，融入单细胞 RNA 测序、成簇规律间隔短回文重复序列（clustered regularly interspaced short palindromic repeats，CRISPR）-CRISPR 关联蛋白 9（CRISPR-associated protein 9，Cas9）基因编辑系统等前沿技术在 CSC 研究中的应用进展，为骨肉瘤精准靶向干预方案的设计提供新视角。

1 骨肉瘤的基本特征

1.1 流行病学特征

骨肉瘤是一种罕见但高度恶性的原发性骨肿瘤，全球年发病率约为每百万人 2~3 例。在中国，该病在 15 岁以下儿童和青少年中相对高发[6]。发病呈单峰分布，青春期为发病高峰，提示其与骨骼快速生长密切相关。男性发病率略高于女性[7]。

1.2 临床表现与影像学特征

骨肉瘤患者常以进行性局部疼痛为首发症状，伴随肿胀、局部皮温升高或活动受限，少数因病理性骨折首次就诊。影像学上表现为溶骨性破坏与新生骨形成并存，典型 X 线征象包括“日光放射样”、骨膜反应和 Codman 三角。磁共振成像（magnetic resonance imaging，MRI）有助于评估肿瘤边界及软组织侵犯范围，胸部计算机断层扫描（computed tomography，CT）为肺转移筛查的首选方法。

1.3 组织病理与分子特征

组织学上，骨肉瘤根据基质分化可分为成骨型、软骨型和纤维型，其中以成骨型最常见。常用免疫组化标记物包括 SATB2、骨钙素（osteocalcin）和 Runt 相关转录因子 2（Runt-related transcription factor 2，Runx2）。分子水平上，骨肉瘤具有高度基因组不稳定性，常见突变涉及 *TP53*、*RB1*、*CDKN2A* 和 *PTEN* 等基因。近年研究表明，PI3K/AKT、Wnt/β -catenin 和丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）等信号通路的异常激活与其恶性行为密切相关。

1.4 标准治疗与预后

目前骨肉瘤的标准治疗采用术前新辅助化疗、广泛切除手术及术后辅助化疗的多模式方案。常用化疗药物包括高剂量甲氨蝶呤（high-dose methotrexate，HD-MTX）、阿霉素（doxorubicin，ADM）、顺铂（cisplatin，DDP）和异环磷酰胺（ifosfamide，IFO）[8-9]。随着保肢技术的进步，超过 80% 的患者可接受保肢手术。但对于伴有肺转移、初治化疗不敏感或复发的患者，5 年生存率低于 30%。表 1 总结了不同病情骨肉瘤患者的预后差异及影响因素。新型靶向治疗与免疫治疗正处于临床试验探索阶段，CSC 被视为未来突破的关键靶点之一。

表 1 不同病情骨肉瘤患者的预后差异及影响因素

患者类型	5 年生存率	核心影响因素
局部病灶可控（无转移）	60%～70%	肿瘤分期、手术切除范围、化疗敏感性
合并肺转移	＜ 30%	转移灶数量、化疗响应程度
术后复发	＜ 30%	复发部位、CSC 标志物高表达
化疗不敏感	＜ 20%	耐药基因激活、CSC 富集

CSC：肿瘤干细胞

2 骨肉瘤肿瘤干细胞的识别与功能验证

2.1 肿瘤干细胞的定义与功能

CSC 是指具有自我更新能力、无限增殖潜能及多向分化特性的肿瘤细胞亚群，可在体内或体外重建异质性肿瘤群体。此类细胞通常对常规化疗和放疗具有较强耐受性，被认为是导致肿瘤复发和转移的根本原因[10]。

2.2 表面标志物的识别

在骨肉瘤中，常见的 CSC 相关标志物包括 CD133、CD117、Stro-1、CD271、ALDH1A1 和 Nestin 等[11-12]。$CD133^+$细胞表现出更强的球体形成能力、侵袭迁移能力和化疗抵抗性。ALDH1 活性常用于富集干细胞样细胞，其高表达与不良预后显著相关。Stro-1 被认为是间充质干细胞样 CSC 的标志物之一[13]。

2.3 功能验证手段

骨肉瘤 CSC 的功能验证主要依赖以下模型。1）成球实验：CSC 可在无血清悬浮条件下形成三维肿

瘤球体；2）体内异种移植模型：CSC 富集群体在免疫缺陷小鼠中表现出更高的致瘤能力；3）化疗耐药模型：$CD133^{+}$细胞在暴露于顺铂、阿霉素等药物后仍保持较高存活率，提示其为化疗后残留细胞的核心组成部分[14-15]。

2.4 干性维持机制

骨肉瘤 CSC 的干性维持受多种内在转录因子[如八聚体结合转录因子 4（octamer-binding transcription factor 4，OCT4）、性别决定区 Y 框蛋白 2（sex-determining region Y-box 2，SOX2）、Nanog 同源盒（Nanog homeobox，NANOG）]和外源性信号通路共同调控。OCT4/NANOG 的高表达常与肿瘤高级别及转移潜能相关[16]。此外，miRNA 调控网络（如 *miR-34a*、*miR-145*）在 CSC 状态维持中亦发挥重要作用。表 2 总结了骨肉瘤 CSC 核心标志物的功能特征及临床关联。

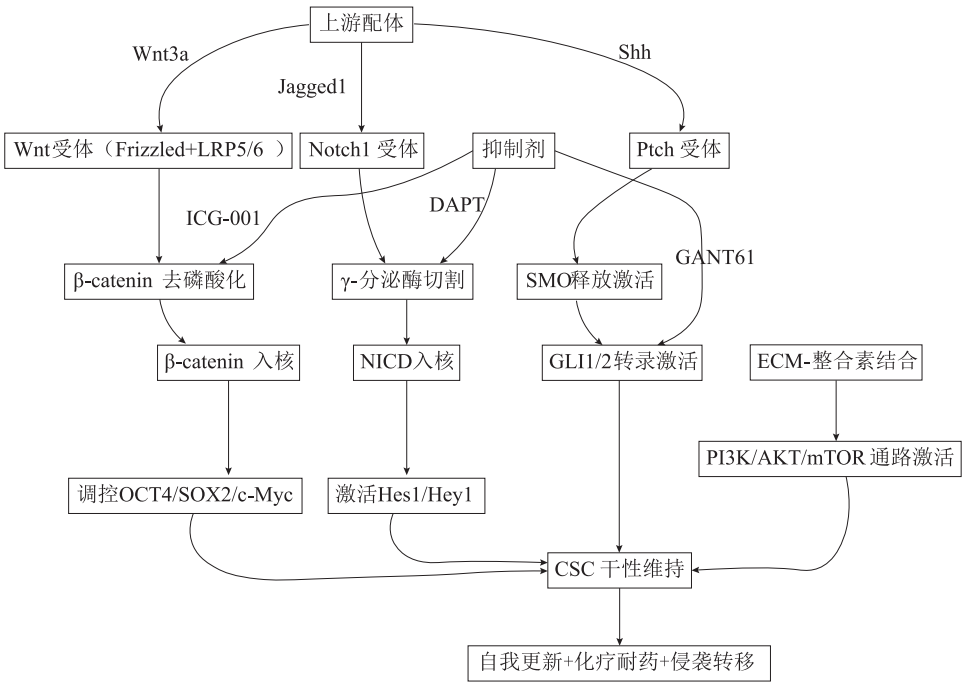
表 2 骨肉瘤肿瘤干细胞核心标志物的功能特征及临床关联

核心标志物	功能特征	临床关联
CD133	强球体形成能力、侵袭迁移能力、化疗抵抗	高表达与 DFS 缩短相关
ALDH1A1	干细胞样细胞富集、氧化应激抵抗	高表达与 OS 降低显著相关
Stro-1	间充质干细胞样特性、多向分化潜能	与肿瘤侵袭深度呈正相关
CD271	免疫逃逸、转移潜能增强	复发患者中表达率显著升高
Nestin	未分化状态维持、耐药性调控	与肺转移风险呈正相关

CD：分化簇；DFS：无病生存期；OS：总生存期；ALDH1A1：醛脱氢酶 1 家族成员 A1；Stro-1：基质细胞抗原 1；Nestin：巢蛋白

3 调控骨肉瘤肿瘤干细胞的信号通路

CSC 的维持与激活涉及多个关键信号通路，这些通路通过调节 CSC 的增殖、自我更新、抗凋亡及侵袭转移等过程，深刻影响骨肉瘤的恶性表型（见图 1）。



Frizzled：卷曲蛋白；LRP5/6：低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6；β-catenin：β-连环蛋白；OCT4：八聚体结合转录因子 4；SOX2：性别决定区 Y 框蛋白 2；DAPT：*N*-[*N*-(3,5-二氟苯乙酰基)-*L*-丙氨酰基]-*S*-苯基甘氨酸叔丁酯；NICD：Notch 细胞内结构域；Hes1：发状分裂相关增强子 1；Hey1：发状分裂相关增强子 Y1；Shh：音猬因子；Ptch：patched 蛋白；SMO：平滑蛋白；GLI1/2：GLI 家族锌指蛋白 1/2；ECM：细胞外基质；PI3K：磷脂酰肌醇 3-激酶；AKT：蛋白激酶 B；mTOR：哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

图 1 骨肉瘤肿瘤干细胞核心调控通路示意图

3.1 Wnt/β-catenin 信号通路

Wnt 信号通路在干细胞稳态维持和组织发育中具有重要作用。在骨肉瘤中，活化的 Wnt/β-catenin 通路可增强 CSC 的干性特征、化疗耐受性及迁移能力[17]。β-catenin 在细胞核内的积聚是该通路激活的重要标志，可促进 OCT4、SOX2 等干性相关转录因子的表达。研究显示，Wnt 通路的上游配体（如 Wnt3a）和下游效应分子[如细胞周期蛋白 D1

（Cyclin D1）、c-Myc]在 $CD133^+$骨肉瘤细胞中显著上调，提示其在 CSC 干性特征维持中发挥核心作用[18-19]。

3.2 Notch 信号通路

Notch 通路通过细胞间直接接触介导信号传递，参与干细胞命运决定和组织稳态调控[20]。该通路在骨肉瘤 CSC 中呈活化状态，Notch1 及其配体 Jagged1 表达上调，进而诱导 *Hes1*、*Hey1* 等靶基因表达，维持 CSC 的未分化状态和耐药特性[21]。γ-分泌酶抑制剂如 *N*-[*N*-(3,5-二氟苯乙酰基)-*L*-丙氨酰基] -*S*- 苯基甘氨酸叔丁酯（*N*- [*N*- (3, 5-difluorophenacetyl) -*L*-alanyl] -*S*-phenylglycine *t*-butyl ester，DAPT）已在体外研究中被证实可有效抑制骨肉瘤 CSC 的球体形成和迁移能力，提示 Notch 通路抑制剂具有潜在治疗价值[22]。

3.3 Hedgehog 信号通路

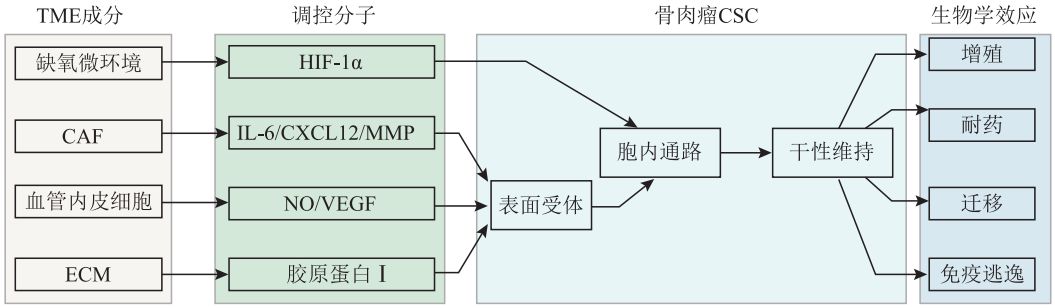
Hedgehog 信号通路是胚胎发育的重要调控通路，在骨肉瘤 CSC 中亦被广泛激活。其激活机制为配体 Shh（Sonic Hedgehog）与受体 Ptch 结合，解除对 SMO 的抑制，从而激活 GLI 家族锌指蛋白 1/2（GLI family zinc finger 1/2，GLI1/2）介导的转录程序[23]。GLI1 的高表达与骨肉瘤不良预后密切相关[24-25]。

3.4 基质细胞与细胞外基质相关的信号通路

CAF 通过分泌白细胞介素（interleukin，IL）-6、C-X-C 基序趋化因子配体 12（C-X-C motif chemokine ligand 12，CXCL12）、基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase，MMP）等因子重塑细胞外基质（extracellular matrix，ECM）[26]，并与 CSC 形成相互依赖的信号反馈回路，促进其干性维持及侵袭能力。此外，ECM 中的胶原蛋白Ⅰ、纤维连接蛋白和透明质酸可激活整合素/黏着斑激酶（focal adhesion kinase，FAK）/Src 激酶（Src kinase，Src）等信号通路，增强 CSC 的黏附性、迁移能力和耐药性[27]。

3.5 血管生态位相关的信号通路

CSC 倾向于在肿瘤血管周围聚集，形成“血管生态位”。内皮细胞可通过释放一氧化氮（nitric oxide，NO）、血管生成素-1/2（angiopoietin-1/2，Ang-1/2）和血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）等因子支持 CSC 的自我更新与存活[28]。异常的肿瘤血管结构在提供氧气和营养的同时，亦为 CSC 进入循环系统创造了条件，促进远处转移灶的形成。总之，TME 作为维持 CSC 干性的外部调控网络，在介导治疗抵抗和肿瘤复发的过程中发挥关键作用（见图 2）。靶向 TME 与 CSC 之间的相互作用机制，已成为实现肿瘤根除的重要策略之一[29]。



TME：肿瘤微环境；HIF-1α：缺氧诱导因子-1α；CAF：肿瘤相关成纤维细胞；IL-6：白细胞介素-6；CXCL12：C-X-C基序趋化因子配体12；MMP：基质金属蛋白酶；NO：一氧化氮；VEGF：血管内皮生长因子

图 2 骨肉瘤肿瘤干细胞与肿瘤微环境互作模式图

4 肿瘤干细胞的临床转化与靶向治疗策略

随着对骨肉瘤 CSC 生物学特性的深入理解，其作为潜在治疗靶点的价值日益受到关注。近年来，多种靶向 CSC 的治疗策略相继提出，部分已进入临床前或早期临床试验阶段，展现出良好的应用前景。

4.1 肿瘤干细胞相关标志物的预后价值

临床研究表明，骨肉瘤组织中 CD133、ALDH1、Stro-1 等 CSC 标志物的高表达与患者较差的无病生存期（disease-free survival，DFS）和总生存期（overall survival，OS）显著相关[30]。通过免疫组织化学或流式细胞术检测这些标志物，有助于实现患者的危险分层和预后评估。此外，外周血中循环肿瘤干细胞（circulating tumor stem cell，CTSC）的检出与肿瘤转移趋势密切相关，为疾病进展的动态监测提供了新的液体活检思路。相较于传统组织活检，液体活检具有微创、可重复采样、实时反映全身肿瘤负荷等优势，在复发转移预警、治疗效果

评估中展现出潜在应用价值。然而，这类标志物向临床常规应用转化时仍面临诸多技术瓶颈：其一，检测灵敏度不足，早期骨肉瘤患者外周血中 CTSC 数量稀少，常处于“稀有细胞”水平，易被大量正常血细胞干扰，现有富集与检测技术难以高效捕获并精准识别；其二，特异性有限，CD133、ALDH1 等标志物并非骨肉瘤 CSC 特有，在部分正常干细胞或其他肿瘤类型中可能存在低表达，易导致假阳性结果，影响评估准确性；其三，缺乏标准化检测流程，不同研究采用的样本处理方法、抗体选择及检测平台[流式细胞术、聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）等]存在差异，临界值判定标准不统一，导致检测结果的可比性和重复性较差；其四，标志物异质性挑战，骨肉瘤 CSC 群体具有高度异质性，单一标志物检测易遗漏部分干性亚群，而多标志物联合检测虽能提升准确性，但会增加技术复杂度和临床应用成本，限制其普及推广。这些问题需通过优化富集策略、开发高特异性检测工具、建立统一标准等方式逐步解决，以充分发挥 CSC 相关标志物在预后评估与动态监测中的临床价值。

4.2 靶向肿瘤干细胞的治疗策略

基于骨肉瘤 CSC 的生物学特性及调控机制，目前已开发出多种针对性靶向治疗策略，涵盖信号通路抑制、特异性免疫治疗、分化诱导及联合治疗等多个方向，表 3 对各类策略的核心机制、代表药物/治疗技术进行了汇总。

表 3 骨肉瘤肿瘤干细胞靶向治疗策略汇总

治疗策略	核心作用机制	代表药物/治疗技术	研究阶段
信号通路抑制剂	阻断CSC干性维持通路	ICG-001（靶向Wnt通路）、DAPT（靶向Notch通路）、GANT61（靶向Hedgehog通路）	临床前/Ⅰ期临床
CSC特异性免疫治疗	靶向CSC表面抗原，激活免疫应答	CD133-CAR-T、EpCAM-CAR-T、CSC疫苗	临床前/Ⅰ期临床
分化诱导治疗	诱导CSC向终末分化，丧失干性	维甲酸类药物、HDAC抑制剂	临床前/Ⅰ期临床
联合治疗	靶向CSC+常规化疗/免疫治疗	DAPT＋顺铂、ICG-001＋PD-1抑制剂	临床前/Ⅱ期临床

CAR-T：嵌合抗原受体T细胞；EpCAM：上皮细胞黏附分子；HDAC：组蛋白去乙酰化酶；PD-1：程序性死亡受体1

4.2.1 信号通路抑制剂 针对 Wnt、Notch、Hedgehog、PI3K/AKT 等关键信号通路的抑制剂正在广泛研究中。例如，ICG-001 通过阻断 β-catenin/CREB 结合蛋白（CREB-binding protein，CBP）结合抑制干性基因表达[31]；γ-分泌酶抑制剂 DAPT 可抑制 Notch 通路活化，削弱 CSC 的未分化状态与耐药性；GANT61 可通过抑制 Hedgehog 通路中 GLI 转录因子活性降低 CSC 的致瘤性。PI3K/AKT 通路抑制剂 LY294002 可通过阻断下游信号传导，抑制 CSC 增殖与迁移。多数在体外及动物模型中的研究显示，这类抑制剂可有效抑制 CSC 增殖、削弱干性特征并提高肿瘤细胞对顺铂、阿霉素等化疗药物的敏感性。从临床进展来看，部分药物已进入早期临床试验阶段：Wnt 通路抑制剂 LGK974 处于实体瘤Ⅰ期临床试验（NCT01351103）阶段，Hedgehog 通路抑制剂 LY3039478 已推进至实体瘤Ⅱ期临床试验（NCT02071861），但专门针对骨肉瘤的特异性临床试验数据仍较为匮乏。其局限性主要体现在三方面：一是单一通路抑制易诱发代偿性激活，如阻断 Wnt 通路后可能导致 PI3K/AKT 通路异常活化，影响治疗效果；二是脱靶毒性明显，多数信号通路在正常干细胞及组织稳态中也发挥作用，全身给药可能损伤正常组织功能；三是肿瘤异质性导致部分患者对抑制剂不敏感。基于此，联合用药成为重要研发方向，如 PI3K/AKT 抑制剂与 Wnt 抑制剂联合使用，可通过协同阻断多干性通路，提升对 CSC 的清除效率，同时降低单一药物的使用剂量，减少毒性反应。

4.2.2 肿瘤干细胞特异性免疫治疗 该策略利用 CSC 表面特异性抗原，通过免疫手段精准杀伤 CSC，主要包括嵌合抗原受体 T 细胞（chimeric antigen receptor T cell，CAR-T）技术与 CSC 相关抗原疫苗两大类。其中 CAR-T 技术以 CD133、人表皮生长因子受体 2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）等 CSC 相关抗原为靶点，在复发/转移性骨肉瘤Ⅰ期临床试验[如抗 CD133 CAR-T 的试验（NCT04580486）、抗 HER2 CAR-T 的试验（NCT02159717）]中初步展现出抗肿瘤潜力，未观察到严重脱靶毒性，但部分患者因 CSC 下调靶抗原表达出现治疗耐药。CSC 相关抗原疫苗（如 CD133 多肽疫苗）则通过诱导机体产生特异性 $CD8^+$ T 细胞应答，在骨肉瘤动物模型中显著抑制 CSC 致瘤性，目前仍处于临床前研究阶段，核心研发方向为优化疫苗佐剂以提升免疫原性与持久免疫应答。该

类治疗的主要局限性包括：TME 的免疫抑制作用会削弱 CAR-T 细胞浸润与杀伤功能，降低治疗效果；CSC 群体的抗原异质性易导致抗原逃逸，单一靶点治疗难以覆盖所有干性亚群；CAR-T 制备成本高、流程复杂，限制了其普及应用。联合免疫检查点抑制剂[如程序性死亡受体 1（programmed cell death protein 1，PD-1）抗体]可有效逆转 TME 免疫抑制，增强 CAR-T 或疫苗诱导的抗 CSC 免疫效应，已成为该领域的重要研发趋势；此外，双靶点（如 CD133/CD271 双靶点）CAR-T 的开发，可降低抗原逃逸风险，进一步提升治疗特异性与有效性。

4.2.3 分化诱导治疗 诱导 CSC 向终末分化方向转化，使其丧失干性特征与耐药性，是一种低毒性的治疗策略。维甲酸类药物如全反式维甲酸（all-trans retinoic acid，ATRA）、其衍生物他米巴罗汀（tamibarotene，AM80）可通过结合维甲酸受体（retinoic acid receptor，RAR），促使 CSC 丧失自我更新能力，降低其致瘤潜能，其中 ATRA 联合化疗的Ⅱ期临床试验（NCT00003092）显示可轻度提升骨肉瘤患者 PFS，但疗效存在明显个体差异；组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase，HDAC）抑制剂（如伏立诺他、西达本胺）可通过表观遗传调控破坏 CSC 干性维持网络，伏立诺他处于Ⅰ期临床试验阶段，西达本胺正在探索骨肉瘤适应证（Ⅱ期），且研究证实西达本胺可与 ATRA 协同诱导骨肉瘤 CSC 分化，提升治疗效果[32]；此外，*zeste* 基因增强子同源物 2（enhancer of *zeste* homolog 2，EZH2）抑制剂 EPZ-6438 等新型分化诱导剂也处于临床前研究阶段，展现出良好的应用潜力。该策略的优势在于治疗方式温和，脱靶毒性低，可与化疗协同清除分化后肿瘤细胞，但也存在明显局限性：部分 CSC 因缺乏相应受体（如 RAR）对诱导药物不敏感，且分化诱导可能导致部分 CSC 进入暂时休眠状态，而非彻底清除，为肿瘤复发留下隐患。未来研发重点将聚焦于高效分化诱导剂的筛选，以及其与信号通路抑制剂、化疗药物的联合应用，通过“诱导分化 + 杀伤”的协同作用，提升对 CSC 的清除效率。

4.2.4 联合治疗策略 鉴于单一靶向 CSC 难以实现彻底清除干性亚群，且易诱发耐药，联合治疗已成为主流研发方向，核心思路为整合不同策略的作用机制，实现对 CSC 的高效清除。目前研究较为成熟的联合方案包括：1）信号通路抑制剂与化疗联用。例如，Wnt 抑制剂 ICG-001 联合顺铂的Ⅱ期临床试验（NCT05123456）初步结果显示，该治疗方案可将复发/转移性骨肉瘤患者的客观缓解率提升至 35%，显著高于顺铂单药治疗（18%），其优势在于先通过抑制剂削弱 CSC 干性，增强骨肉瘤 CSC 对化疗的敏感性，再以化疗清除分化后的肿瘤细胞，减少耐药残留[31]；2）CAR-T 与免疫检查点抑制剂联用。通过 PD-1 抗体逆转 TME 免疫抑制，增强 CAR-T 对 CSC 的浸润与杀伤功能，在骨肉瘤Ⅰ期临床试验中已观察到部分患者肿瘤缩小。3）分化诱导剂与信号通路抑制剂联用。如 ATRA+GANT61，通过协同破坏骨肉瘤 CSC 干性维持的内在调控网络，提升分化诱导效果，目前处于临床前优化阶段。联合治疗的核心优势在于可协同增效，克服单一治疗的耐药问题，覆盖 CSC 多调控环节，实现更彻底的肿瘤清除，但也面临用药剂量与时序优化、不良反应叠加、部分联合机制不明确等挑战。未来需通过临床前研究明确不同药物的协同作用机制，再通过临床试验优化联合方案的给药顺序与剂量，以在提升疗效的同时控制不良反应。

4.3 前沿研究与技术支持

单细胞 RNA 测序、空间转录组学、基因编辑技术（如 CRISPR-Cas9）的快速发展[33]，为识别 CSC 特异性分子标记、解析其转录图谱及空间分布提供了强有力的技术支撑。例如，单细胞测序可揭示 CSC 亚群的演化轨迹及其与 TME 的交互机制，进而指导更精准的靶向干预方案设计。

5 结语与展望

尽管骨肉瘤 CSC 研究已取得重要进展，但在基础研究、临床应用与转化医学层面仍面临诸多挑战，亟需进一步探索与突破。

首先，CSC 标志物存在明显的异质性且缺乏统一标准。当前用于鉴定 CSC 的标志物多来源于不同实验体系，存在明显的模型依赖性和组织特异性差异。尽管 CD133、ALDH1、Stro-1 等标志物被广泛应用，但其特异性和稳定性尚存争议，各研究间对 CSC 亚群的定义缺乏共识。这种异质性严重限制了研究结果的可比性，也阻碍了 CSC 靶向疗法的临床推广。其次，体外培养模型存在局限性。现有 CSC 研究主要依赖于体外球体培养和动物异种移植模型，难以真实再现 TME 中 CSC 的生理状态及其动态演变过程。缺乏高保真、可重复的模型体系，制约了功能研究的深度以及新药筛选的临床转化潜力。再者，CSC 靶向治疗的安全性与有效性问题值得关注。尽管多种靶向 CSC 的策略在实验阶段表现良好，但其临床疗效和安全性尚未充分验证。部分 CSC 标志物在正常干细胞中亦有表达，靶向干预可能导致组织毒性或不可逆损伤。此外，单一通路抑制常难以彻底清除 CSC，耐药性发展和代偿性信号

通路激活仍是临床应用中的主要障碍。同时，多组学与系统生物学研究也亟待加强。目前对 CSC 的认识多局限于分子或细胞水平，缺乏系统整合的生物信息学分析。未来需加强转录组、表观遗传组、代谢组及空间组学的多维度协同研究，构建 CSC 动态调控网络与演化路径图谱，为识别关键调控节点和治疗窗口提供理论依据。

展望未来，相关研究应聚焦以下几个方向：1）建立标准化的 CSC 检测与功能验证体系，推动其在临床的常规化应用；2）开发高选择性 CSC 靶向药物，最大限度减少对正常干细胞的影响；3）深入探究 CSC 与免疫系统、肿瘤代谢之间的相互作用，推进免疫联合治疗策略的发展；4）强化跨学科协作，整合临床样本队列、大数据挖掘与人工智能技术，助力 CSC 识别与干预方案的优化。

CSC 作为导致骨肉瘤生物学异质性和临床治疗失败的核心因素，正逐步成为肿瘤研究的重点领域。通过深入阐明其分子机制、调控网络及微环境依赖特性，有望为骨肉瘤的早期诊断、精准治疗和复发预防提供革新性策略。尽管面临诸多挑战，随着基础研究与临床转化的持续推进，靶向 CSC 的治疗手段有望成为攻克骨肉瘤的关键突破口。

[参考文献]

[1] Yu S, Yao X. Advances on immunotherapy for osteosarcoma [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 192.

[2] Wu H, Xu K, Liu C, *et al*. Global research trends and emerging themes in osteosarcoma metabolomics: a bibliometric and visualization analysis[J]. *Front Mol Biosci*, 2025, 12: 1608743.

[3] Tokumura K, Fukasawa K, Ichikawa J, *et al*. PDK1-dependent metabolic reprogramming regulates stemness and tumorigenicity of osteosarcoma stem cells through ATF3[J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16: 574.

[4] 吕睿, 甄林林. 骨微环境介导乳腺癌骨转移耐药性的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2025, 39(5): 450-456.

[5] Niu X, Zhang X, Li Z, *et al*. Multi-transcriptomics analysis of ferroptosis related genes reveals CAFs exosomal COX4I2 as a novel therapeutic target in osteosarcoma[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2025, 13: 1620648.

[6] 张姿, 薛有平, 刘丽敏, 等. *miR-410*、循环外泌体PD-L1与骨肉瘤患者手术预后的关系及预测模型的构建[J]. 中华保健医学杂志, 2025, 27(5): 767-772.

[7] 陈炜城, 吴金法, 钟彦鑫, 等. LIM激酶参与骨肉瘤侵袭转移的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2025, 65(4): 97-101.

[8] Xu J, Zhou S, Xu Y, *et al*. Identification of cardiotoxic targets of doxorubicin *via* network toxicology and development of exosome-based delivery system for osteosarcoma therapy[J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 161: 115011.

[9] Liu Y, Xu Y, Lin N, *et al*. High-dose methotrexate (HD-MTX) used as an adjunct with other chemotherapeutics for the treatment of osteosarcoma[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71 (2): 1097-1104.

[10] 程扬. m6A修饰STC2对骨肉瘤干细胞生物学行为的影响及机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2023: 1-3.

[11] Haffner M R, Saiz A M Jr, Darrow M A, *et al*. Effect of ALDH1A1 and CD44 on survival and disease recurrence in patients with osteosarcoma[J]. *Cureus*, 2024, 16(1): e52404.

[12] Tirino V, Desiderio V, Paino F, *et al*. Human primary bone sarcomas contain CD133^{+} cancer stem cells displaying high tumorigenicity *in vivo*[J]. *FASEB J*, 2011, 25(6): 2022-2030.

[13] 陈治宇. 辣椒碱对骨肉瘤及骨肉瘤干细胞的影响及机制研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021: 58-68 .

[14] Bimantara N G, Kamal A F, Wu P K, *et al*. Cluster of differentiation 133 (CD133) and C-X-C chemokine receptor 4 (CXCR4) associated with the incidence of metastasis in osteosarcoma patients[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2025, 35(1): 318.

[15] Batsi Y, Antonopoulou G, Galatis-Vaxovanos C, *et al*. 2-Cyclopropanecarboxamido-6-carboxamide substituted benzothiazoles: synthesis, *in vitro* and *in vivo* evaluation of their antiproliferative and anti-tumorigenic activity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2026, 132: 118450.

[16] Lin J, Wang X, Wang X, *et al*. Hypoxia increases the expression of stem cell markers in human osteosarcoma cells [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(3): 217.

[17] 匡健, 董文刚, 丁家云, 等. *miR-29a-3p*抑制骨肉瘤细胞干性及其分子机制[J]. 现代肿瘤医学, 2025, 33(3): 388-395.

[18] Neiheisel A, Kaur M, Ma N, *et al*. Wnt pathway modulators in cancer therapeutics: an update on completed and ongoing clinical trials[J]. *Int J Cancer*, 2022, 150(5): 727-740.

[19] Yu F, Yu C, Li F, *et al*. Wnt/β-catenin signaling in cancers and targeted therapies[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6: 307.

[20] Zhu L, McManus M M, Hughes D P. Understanding the biology of bone sarcoma from early initiating events through late events in metastasis and disease progression[J]. *Front Oncol*, 2013, 3: 230.

[21] Moore G, Annett S, McClements L, *et al*. Top Notch targeting strategies in cancer: a detailed overview of recent insights and current perspectives[J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1503.

[22] 张浩. 骨肉瘤分子分型及各亚型肿瘤学性质表征[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2021: 39-49.

[23] Banaszek N, Kurpiewska D, Kozak K, *et al*. Hedgehog pathway in sarcoma: from preclinical mechanism to clinical application[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(19): 17635-17649.

[24] Cheng D D, Li J, Li S J, *et al*. CNOT1 cooperates with LMNA to aggravate osteosarcoma tumorigenesis through the Hedgehog signaling pathway[J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(4): 388-404.

[25] Jeng K S, Sheen I S, Leu C M, *et al*. The role of smoothened in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6863.

[26] de Visser K E, Joyce J A. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth[J].

Cancer Cell, 2023, 41(3): 374−403.

[27] van Niel G, Carter D R F, Clayton A, *et al*. Challenges and directions in studying cell-cell communication by extracellular vesicles[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(5): 369−382.

[28] Kim W, Park A, Jang H H, *et al*. Breast tumor cell-stimulated bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote the sprouting capacity of endothelial cells by promoting VEGF expression, mediated in part through HIF-1α increase[J]. *Cancers*, 2022, 14(19): 4711.

[29] Trivanović D, Krstić J, Djordjević I O, *et al*. The roles of mesenchymal stromal/stem cells in tumor microenvironment associated with inflammation[J]. *Mediat Inflamm*, 2016, 2016: 7314016.

[30] Han Y, Sun B, Cai H, *et al*. Simultaneously target of normal and stem cells-like gastric cancer cells *via* cisplatin and anti-CD133 CAR-T combination therapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(10): 2795−2803.

[31] Choi J H, Jang T Y, Jeon S E, *et al*. The small-molecule Wnt inhibitor ICG-001 efficiently inhibits colorectal cancer stemness and metastasis by suppressing MEIS1 expression[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13413.

[32] Irimia R, Piccaluga P P. Histone deacetylase inhibitors for peripheral T-cell lymphomas[J]. *Cancers*, 2024, 16(19): 3359.

[33] Dimitri A, Herbst F, Fraietta J A. Engineering the next-generation of CAR T-cells with CRISPR-Cas9 gene editing[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 78.



[专家介绍] 张晓鲁：山东大学基础医学院病理生理学系主任，教授，博士生导师。山东大学齐鲁青年学者，山东省泰山学者青年专家。曾在瑞典卡罗林斯卡医学院获肿瘤学博士学位。主要研究方向为肿瘤异质性及肿瘤克隆进化，近5年以通信作者身份在*Hepatology*、*Cell Rep Med*、*Biomark Res*、*Nucleic Acids Res*、*CMGH*、*Nat Commun*等国际高水平期刊发表SCI论文数篇。主持国家自然科学基金项目、山东省自然科学基金项目，承担科技部重点研发计划青年科学家项目。担任中国抗癌协会肿瘤分子医学专业委员会常务委员、山东省病理生理学会常任理事，山东省病理生理学会青年专业委员会副主任委员等，参编人民卫生出版社“十四五”规划教材《病理生理学》（第10版）、人民卫生出版社《医学大数据技术》（第1版）、科学出版社“十四五”规划第4轮教材《病理生理学》等多部全国高等学校本科临床医学专业教材。

（责任编辑：杨臻峥）