

# 骨肉瘤治疗的研究进展

张健峰 刘云霞

【摘要】骨肉瘤是一种常见的恶性骨肿瘤,其侵袭性强、恶性程度高、预后差,严重威胁着人类的健康。手术联合化疗模式,开启了骨肉瘤治疗的新时代。然而,近几十年来,骨肉瘤患者的整体预后仍不容乐观,5 年生存率约为 60%。笔者就近年来骨肉瘤新的治疗方法及策略作一综述。

【关键词】骨肉瘤 治疗 综述

骨肉瘤是起源于间叶组织的恶性肿瘤,好发于儿童及青少年;易发生在血运丰富的长管状骨干骺端。在临床上,骨肉瘤仅表现为局部疼痛和肿胀,偶伴有功能障碍,早期极有可能发生肺转移,且发展迅速<sup>[1]</sup>。随着手术方式的改进和化疗的应用,患者 5 年生存率有了大幅提高,但进一步提高疗效陷入瓶颈,尤其是肺转移患者的预后更差;因此,探索新的治疗方法及策略势在必行。近年来,骨肉瘤的综合治疗除手术、化疗和放疗外,还包括分子靶向治疗、免疫治疗、基因治疗、栓塞治疗、射频消融治疗及干细胞治疗等。

## 1 新辅助化疗联合保肢手术治疗

目前,骨肉瘤的治疗模式是术前新辅助化疗+手术切除+术后辅助化疗<sup>[2]</sup>。这种模式既能保留肢体关节功能,又能有效降低骨肉瘤的转移和复发<sup>[3]</sup>。化疗有效率的实现,建立在手术成功切除所发现的骨肿瘤基础之上,因此手术结果的好坏十分重要。手术包括肿瘤切除和肢体功能重建 2 个方面。针对肿瘤切除,目前更倾向于广泛切除而非全间室切除,且当涉及神经组织时,更倾向于保留重要组织,以最大程度保留肢体功能<sup>[4]</sup>。化疗主要药物有甲氨蝶呤(MTX)、阿霉素(ADM)、顺铂(DDP)、异环磷酰胺(IFO)、长春新碱(VCR)、表柔比星(EPI)、环磷酰胺(CTX)和依托泊苷(VP-16)等,其中以 MTX、ADM、DDP、IFO 最为常用<sup>[5]</sup>。以上药物通过不同方式联合应用,目前大剂量 MTX(HD-MTX)、ADM、DDP 联合应用

组成的 MAP 方案是欧美大部分治疗中心的标准方案<sup>[6]</sup>。国内常用的方案还包括 DDP+ADM、ADM+DDP+IFO+HD-MTX、IFO+EPI 等。但是,化疗耐药问题影响了化疗效果。有学者希望通过高通量测序技术探索骨肉瘤患者耐药与基因突变之间的关系,从而对不同患者采取个体化化疗,但最终能否提高化疗敏感性、进一步提高生存率等有待临床数据验证<sup>[7]</sup>。

## 2 放射治疗

对于不能手术切除的病变或切除时切缘有肿瘤残留,或肿瘤对化疗反应差的骨肉瘤患者,局部放疗具有一定的作用。由于骨肉瘤细胞对放疗的低敏感性,极大限制了其优势的扩大。近年来学者重点针对放疗增敏剂进行研究,其应用不会对正常组织产生伤害,还能提高肿瘤细胞对放疗的敏感性<sup>[8]</sup>。最新研究证实人参多糖(GPS)与电离辐射(IR)联合应用,可提高骨肉瘤细胞对 IR 的敏感性<sup>[9]</sup>。放疗一直力求于精确定位靶区,以期减少对周围正常组织的损害,故骨肉瘤肺转移患者的立体定向放射外科(SRS)治疗应运而生。Yu 等<sup>[10]</sup>将 73 例骨肉瘤肺转移患者进行分组治疗:33 例采用体部伽马刀系统行 SRS 治疗,40 例行手术切除。结果显示 SRS 组患者 4 年无进展生存率、4 年生存率、复发后无进展生存期、复发后总生存率与手术组相似,且 SRS 组患者耐受性良好,局部控制良好,并发症少。可见,对于骨肉瘤肺转移但不能手术的患者,SRS 不失为一种可靠的选择。总之,放疗不作为骨肉瘤主要治疗手段,但在综合保肢辅助治疗方面所起的作用不容忽视。

## 3 分子靶向治疗

人们在研究肿瘤发生、侵袭、扩散、转移的分子机制过程中,发现了与之相关的蛋白分子,并尝试将这些蛋白分子作为攻击的靶点,以特异性地抑制肿瘤细胞的增

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.7.2018-1469

基金项目:浙江省基础公益研究计划项目(LQ18H290001)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学第四临床医学院中西医结合临床专业(张健峰);杭州市第三人民医院肿瘤科(刘云霞)

通信作者:刘云霞, E-mail: zjhzylyx@163.com

殖、扩散。埃兹蛋白(Ezrin)、表皮生长因子受体 2(HER2)和端粒酶的分子靶向治疗是近年来骨肉瘤研究的热点。

Ezrin 作为连接肌动蛋白细胞骨架至细胞外基质的多功能蛋白,其高表达被证明与骨肉瘤的远处转移有关<sup>[11]</sup>。Zhang 等<sup>[12]</sup>研究指出,Ezrin 通过增加 N-钙黏着蛋白和激活细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号传导来促进骨肉瘤细胞的侵袭与转移。Yao 等<sup>[13]</sup>将热休克蛋白 70(HSP70)和 Ezrin 短发夹 RNA 的 DNA 片段克隆到相应的载体,并将载体转染至人成骨肉瘤 MG63 细胞,通过特定的载体同时下调 Ezrin 和上调 HSP70,成功抑制了骨肉瘤细胞的增殖,促进了肿瘤细胞的凋亡,为 Ezrin 分子靶向疗法的临床应用奠定了实验基础。

HER2 过表达与骨肉瘤患者存活率降低显著相关,可用来预测高级别骨肉瘤患者中淋巴结受累和转移情况<sup>[14]</sup>。相关临床研究表明,HER2 单克隆抗体——曲妥珠单抗(TRA)能够改善骨肉瘤 HER2 阳性患者的生存率<sup>[15]</sup>。为此,学者们不断深入研究 TRA,尝试挖掘其多方面的治疗潜能,弥补治疗缺陷。最近一项研究表明,当 TRA 治疗骨肉瘤患者无反应时,其与纳米材料氧化石墨烯(GO)所形成的的 TRA/GO 复合物,能明显增强与 HER2 结合活性,快速杀死骨肉瘤细胞;与此同时,TRA/GO 通过诱导氧化应激和 HER2 信号传导,从而导致细胞凋亡蛋白抑制剂和半胱天冬酶-8 快速耗尽,最终导致 RIP1/RIPK3/MLKL 信号通路坏死体的形成及骨肉瘤细胞的坏死。这种治疗效果是单独使用 TRA 无法获得的。

端粒酶作为又一个靶点,参与骨肉瘤基因稳定的调控过程,与骨肉瘤的发生、发展密切相关。实验表明,通过短发夹 RNA 靶向人端粒酶逆转录酶基因,从而降低端粒酶活性,最终能成功抑制骨肉瘤细胞增殖并促进细胞凋亡<sup>[16-17]</sup>。

#### 4 免疫治疗

免疫治疗是继手术、放化疗、分子靶向治疗之后,又一新型治疗骨肉瘤的方法。目前骨肉瘤免疫治疗的研究成果主要有树突状细胞(DC)疗法、细胞因子疗法<sup>[3]</sup>。随着研究的不断深入,免疫检查点阻滞肿瘤生长及嵌合抗原受体 T(CAR-T)细胞免疫疗法也是研究的热点。

**4.1 DC 疗法** DC 是最常见的抗原呈递细胞,具有强大抗原呈递能力,通过与肿瘤抗原孵育后成为疫苗,接种于患者产生特异性免疫应答,最终达到抗肿瘤的目的。Fang 等<sup>[18]</sup>将骨髓来源的 DC 与大鼠骨肉瘤细胞系 UMR106 通过电融合产生 DC-骨肉瘤融合(DOF)肿瘤

疫苗,并注射到大鼠骨肉瘤模型中,结果发现 DOF 疫苗能有效刺激 T 淋巴细胞增殖并诱导细胞毒性 T 细胞(CTL)的肿瘤细胞毒性活动,导致肿瘤萎缩或消失。DC 肿瘤疫苗抗肿瘤免疫反应和免疫记忆,与其注射途径直接相关。孙冲<sup>[19]</sup>通过腹腔注射 DC 肿瘤疫苗免疫治疗小鼠骨肉瘤的实验研究表明,与传统皮下及淋巴结注射比较,腹腔注射可增加腹腔淋巴器官主动吸收有活性 DC 疫苗的数量,从而提高疫苗的治疗效果。

**4.2 细胞因子疗法** 细胞因子通过诱导机体合成、分泌小分子多肽类因子,参与多种细胞生理及免疫应答功能的调节。Kiany 等<sup>[20]</sup>将 IL-2 与 NK 细胞联合应用于人骨肉瘤肺转移小鼠模型,其中 IL-2 为气雾剂。与两者单独治疗比较,联合疗法对骨肉瘤肺转移的疗效更好,且器官局部浸润更强,全身毒性反应更小。在临床应用方面,Meazza 等<sup>[21]</sup>采取化疗和 IL-2 治疗原发性肺转移骨肉瘤患者,结果证实 IL-2 参与的免疫治疗在改善患者存活率方面具有潜在作用。IFN 较早用于癌症的治疗,研究表明其可通过增强化疗药物的敏感性来达到治疗骨肉瘤的目的<sup>[22-23]</sup>。TNF 根据来源可分为 TNF- $\alpha$  和 TNF- $\beta$ ,两者均可参与免疫调节,杀伤肿瘤细胞。Gamie 等<sup>[24]</sup>报道的 TNF 相关凋亡诱导配体(TRAIL)可诱导癌细胞凋亡,在骨肉瘤治疗中显示中低等功效。Zhou 等<sup>[25]</sup>发现 miRNA-138 过表达可抑制 TNF- $\alpha$  诱导的蛋白质 8(TNFAIP8)的产生,继而抑制骨肉瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡。

**4.3 CAR-T 细胞免疫疗法** CAR-T 细胞免疫疗法是一种新兴的免疫治疗方法,已在血液肿瘤领域被成功应用。通过基因工程改造后的 CAR-T 在识别肿瘤的过程中,不再受到非主要组织相容性复合体的限制,以人类白细胞抗原分子(HLA)非依赖的方式识别肿瘤抗原,跨越 HLA 表达下调机制识别与杀伤肿瘤细胞,具有肿瘤抗原靶点识别多样性、体内发挥作用持久、降低排异反应发生率的优势<sup>[26]</sup>。

CAR-T 细胞免疫疗法在骨肉瘤治疗中的应用,关键在于寻找到合适的靶分子。目前,HER2、IL-11 受体链(IL-11R)、酪氨酸激酶样孤儿受体 1(ROR1)和神经节苷脂 2(GD2)已被证实于骨肉瘤细胞中表达,以上受体可能作为 CAR-T 细胞免疫治疗骨肉瘤并抑制肿瘤转移的有效靶点<sup>[27]</sup>。Mata 等<sup>[28]</sup>研究证实 HER2-CAR-T 能识别并杀死 HER2 阳性的犬骨肉瘤细胞系,拉开了 HER2-CAR-T 免疫治疗骨肉瘤的序幕。在随后的临床试验中,又确定了患者所耐受的 HER2-CAR-T 细胞输注安全剂量,并且这些细胞以剂量依赖的方式运输到肿

瘤部位,以低水平持续表达 6 周以上<sup>[29]</sup>。HER2-CAR-T 细胞所显示的抗肿瘤作用和一定时间范围内表达的持久性,为临床应用带来了信心。与此同时,在治疗的同时是否需要配合化疗、不同种化疗药物的选择是否会带来协同或拮抗作用、因人而异的最佳治疗剂量如何确定等问题的解答,也进一步推动了 CAR-T 细胞疗效提高的进程。分别以 IL-11R、ROR1 及 GD2 为特异性的 CAR-T 细胞,在小鼠骨肉瘤模型中均显示出明显的抗肿瘤作用<sup>[27]</sup>。若想进一步开展体内试验以获得充分的临床证据,更好地发挥治疗作用,明确相应受体在体内正常组织表达的分布及可能产生的不良反应的应对策略是未来努力的方向。

4.4 免疫检查点阻滞治疗 PD-1/PD-L1 是最早被发现的免疫检查阻滞点,目前骨肉瘤与 PD-1/PD-L1 相关研究在不断深入<sup>[30]</sup>。Shimizu 等<sup>[31]</sup>利用小鼠骨肉瘤模型评估免疫检查点抑制剂对肺转移的疗效,结果证实 PD-1/PD-L1 抗体治疗组抑制了骨肉瘤细胞的增殖和转移。Pembrolizumab 作为此免疫检查阻滞点具有突破性意义的单药抑制剂,在黑色素瘤和晚期非小细胞肺癌治疗中已取得较好的疗效<sup>[32]</sup>。Tawbi 等<sup>[33]</sup>进行的一项 Pembrolizumab 治疗晚期软组织肉瘤和骨肉瘤的 II 期临床试验结果不容乐观,40 例骨肉瘤患者中仅 2 例有客观反应,但学者们并未放弃,扩大队列后的修正试验正在继续。

## 5 基因治疗

骨肉瘤基因治疗主要集中在抑癌基因、自杀基因、基因联合治疗、反义基因、免疫基因、抗血管生成基因等方面<sup>[34]</sup>。目前尝试用于治疗的抑癌基因有 p53、p16、p21 和 Rb,其中以 p53 基因研究较为深入<sup>[35]</sup>。研究表明,骨肉瘤患者 p53 基因常发生突变<sup>[36]</sup>。Wu 等<sup>[37]</sup>又发现 p53 表达蛋白可能成为预测骨肉瘤总生存期的预后生物标志物,进一步加深了 p53 作为骨肉瘤基因治疗切入点的地位。Ye 等<sup>[38]</sup>研究发现野生型 p53 过表达会增加多药耐药性骨肉瘤细胞株的化疗敏感性,这为解决化疗耐药提供新的线索。关于自杀基因的治疗,首选胸苷激酶(TK)/丙氧鸟苷(GCV)系统。Zhang 等<sup>[39]</sup>将脂质介导的 TK 基因转染至骨肉瘤细胞株 MG-63 后,再加入 GCV,成功抑制了骨肉瘤细胞株 MG-63 的生长,并且随着 GCV 浓度的增加,细胞凋亡率也增加。这证实了 TK/GCV 自杀基因系统临床应用的广阔前景。Leinonen 等<sup>[40]</sup>一项体内实验对该系统进行了补充,即单纯转染 TK 基因不能抑制肿瘤生长,只有 GCV 加入 1 周或更长时间才能通过“旁观者效应”产生明显杀伤肿瘤细胞的作用。

## 6 栓塞治疗

栓塞治疗作为一种骨肉瘤的姑息治疗手段,在缓解疼痛、促进肿瘤坏死等方面发挥着一定的作用,临床上以选择性动脉栓塞治疗和经导管动脉化疗栓塞术(TACE)最为常见。

选择性动脉栓塞术,即利用弹簧圈或不同类型的明胶微球形成的栓子切断肿瘤的血供,从而造成肿瘤细胞缺血坏死<sup>[41]</sup>。Mavrogenis 等<sup>[42]</sup>利用该方法治疗 19 例晚期骨肉瘤患者,栓塞后 3d 所有患者疼痛均缓解,其中 5 例患者重复栓塞获得了持续缓解。可见,与放化疗等传统方法比较,该方法在晚期患者姑息性治疗中体现出其起效时间和重复可操作方面的优越性。

TACE 是将导管选择性或超选择性插入肿瘤供血靶动脉,通过注入化疗药物起到抗肿瘤的目的。TACE 更多被应用于保肢手术或根治性手术前的辅助治疗,以促进肿瘤坏死,提高手术成功率,减少并发症<sup>[43-44]</sup>。

## 7 射频消融治疗

骨肉瘤的消融治疗包括高强度能量聚焦消融(HIFU)、射频消融(RFA)、冷冻消融、微波消融等<sup>[45]</sup>。

HIFU 可治疗原发性骨肉瘤。Li 等<sup>[46]</sup>通过 HIFU 治疗 25 例恶性骨肿瘤患者,结果发现 HIFU 能安全、无创地消融恶性骨肿瘤并缓解患者疼痛。在随后的研究中,王会等<sup>[47]</sup>也阐述了 HIFU 治疗原发性骨肉瘤的安全性和有效性,但需结合化疗;一般采取化疗+HIFU+化疗的方式,可多次治疗。Chen 等<sup>[48]</sup>将 60 例 II b 期原发骨肿瘤患者(骨肉瘤 57 例)纳入研究,其中接受 HIFU 联合全周期化疗这一完整治疗方案的 30 例患者 5 年生存率为 86.4%,明显高于未完成完整治疗方案的 30 例患者的 5 年生存率(35.9%),为 HIFU 的临床应用进一步提供了可靠的证据。

关于骨肉瘤转移灶的治疗,临床上推荐 RFA 和冷冻消融。但两者因作用机制不同而存在区别:RFA 的能量很难穿透骨质,因此多应用于骨肉瘤的肺转移灶;冷冻探针可以穿透很深的骨组织,因此可以应用于骨转移灶。Saumet 等<sup>[49]</sup>对 10 例 25 岁以下骨肉瘤肺转移患者行 RFA 治疗,结果 7 例患者完全缓解且 RFA 治疗部位未再发生转移(时间范围 19~51 个月),这证明了 RFA 能有效实现小的周围型肺转移灶的局部控制。

## 8 干细胞治疗

骨肉瘤是由于间充质干细胞受到遗传或其他因素

干扰后,分化成骨的过程发生变化而导致的。间充质干细胞具有转变为肿瘤干细胞(TSC)的能力<sup>[50]</sup>,这为研究TSC与骨肉瘤之间的关系搭建了桥梁。TSC与肿瘤发生、增殖、复发及化疗耐药密切相关<sup>[51]</sup>。因此,骨肉瘤的TSC治疗是从源头上解决骨肉瘤复发、转移的问题。

孟红梅等<sup>[52]</sup>指出了从TSC领域出发治疗骨肉瘤的方向:(1)利用分子芯片技术所区分出骨肉瘤干细胞和普通肿瘤细胞基因表达特征的差异,从而鉴别显微镜下不能区分的肿瘤类型,由此得出新的抗肿瘤药物靶标;(2)根据骨肉瘤干细胞表达的特异性表面抗原的不同,精准分离出TSC,之后靶向中和抗体的加入便可诱导TSC的失活,继而阻断骨肉瘤的发生、发展;(3)包括HH、NOTCH、Wnt/ $\beta$ -catenin和MAPK在内的干细胞信号转导通路的研究为寻找新的TSC靶位提供了可能。Li等<sup>[53]</sup>证实低氧环境下的TSC通过增加缺氧诱导因子表达活化赖氨酰氧化酶,促进转移瘤的形成;提出了从改变TSC生存微环境角度,另辟治疗途径。TSC理论的引入,将骨肉瘤治疗方式的多样化推向了新的高度。

## 9 小结

手术联合化疗的治疗方式结束了骨肉瘤患者截肢的时代,提高了患者5年生存率。放疗、分子靶向治疗、免疫治疗、基因治疗等新技术的提出与应用,在控制局部复发和远处转移方面带来了新的希望。迎接新机遇的同时,也面临着新的挑战。新型疗法在临床应用与推广过程中尚存在一些问题:(1)缺乏明确的适应证和禁忌证;(2)不同地区、不同医院的疗效有所差别,不够稳定;(3)不良作用的提出与应对机制尚未完善。这都有待于制定适合国内患者特点的临床诊疗指南,使其更合理化、规范化。总之,运用各种方法综合治疗骨肉瘤成为主流。由于目前骨肉瘤发病、转移和复发机制尚未明确,借助分子生物学与基因组学等方法的探索是未来发展方向。

## 10 参考文献

- [1] 易生辉,秦刚,黄肖华,等.骨肉瘤的治疗进展[J].医学综述,2017,23(8):1529-1532. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2017.08.016.
- [2] Biazzo A, De PM. Multidisciplinary approach to osteosarcoma[J]. Acta Orthop Belg, 2016,82(4):690-698.
- [3] 贾斌,李朝旭,孔祥云,等.骨肉瘤的治疗进展[J].中国临床新医学,2016,9(10):941-944. DOI:10.3969/j.issn.1674-3806.2016.10.32.
- [4] 耿磊,陈继营,许猛,等.骨肉瘤的治疗进展[J].中国矫形外科杂志,2015,23(21):1975-1978. DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2015.21.14.
- [5] Ferrari S, Meazza C, Palmerini E, et al. Nonmetastatic osteosarcoma of the extremity. Neo-adjuvant chemotherapy with methotrexate, cisplatin, doxorubicin and ifosfamide. An Italian Sarcoma Group study (ISG/OS-Oss)[J]. Tumori, 2014,100(6):612-619. DOI:10.1700/1778.19262.
- [6] Luetke A, Meyers PA, Lewis I, et al. Osteosarcoma treatment where do we stand? A state of the art review[J]. Cancer Treatment Rev, 2014,40(4):523-532. DOI:10.1016/j.ctrv.2013.11.006.
- [7] 肖鑫,王臻,许聘,等.基于高通量测序技术的骨肉瘤基因研究与个体化治疗[J].中华骨科杂志,2014,34(4):466-471. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2014.04.020.
- [8] 杨英年.骨肉瘤治疗进展[J].中国医药科学,2014,4(6):49-52.
- [9] Zhang XY, Sun K, Zhu Q, et al. Ginseng polysaccharide serves as a potential radiosensitizer through inducing apoptosis and autophagy in the treatment of osteosarcoma[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2017,33(11):533-542. DOI:10.1016/j.kjms.2017.07.001.
- [10] Yu W, Liu Z, Tang L, et al. Efficacy and safety of stereotactic radiosurgery for pulmonary metastases from osteosarcoma: Experience in 73 patients[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):17480. DOI: 10.1038/s41598-017-14521-7.
- [11] Zhong GX, Feng SD, Shen R, et al. The clinical significance of the Ezrin gene and circulating tumor cells in osteosarcoma[J]. Onco Targets Ther, 2017, 8(10):527-533. DOI:10.2147/OTT.S125589.
- [12] Zhang J, Zuo J, Lei M, et al. Ezrin promotes invasion and migration of the MG63 osteosarcoma cell[J]. Chin Med J(Engl), 2014, 127(10):1954-1959.
- [13] Yao Q, Zhao XY, Xie BZ. Effects of Ezrin and Heat Shock Protein 70 on Apoptosis and Proliferation of Human Osteosarcoma Cells[J]. Orthop Surg, 2015,7(3):273-280. DOI:10.1111/os.12186.
- [14] Mardanpour K, Rahbar M, Mardanpour S. Coexistence of HER2, Ki67 and p53 in Osteosarcoma: A Strong Prognostic Factor[J]. N Am J Med Sci, 2016, 8(5):210-214. DOI:10.4103/1947-2714.183013.
- [15] Gill J, Geller D, Gorlick R. HER-2 involvement in osteosarcoma [J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 804:161-177. DOI:10.1007/978-3-319-04843-7\_9.
- [16] Li L, Luo C, Song Z, et al. Association of anti-HER2 antibody with graphene oxide for curative treatment of osteosarcoma[J]. Nanomedicine, 2018, 14(2):581-593. DOI:10.1016/j.nano.2017.11.001.
- [17] Chen P, Gu W, Gong MZ, et al. shRNA-mediated silencing of hTERT suppresses proliferation and promotes apoptosis in osteosarcoma cells[J]. Cancer Gene Ther, 2017,24(8):325-332. DOI:10.1038/cgt.2017.22.
- [18] Fang X, Jiang C, Xia Q. Effectiveness evaluation of dendritic cell immunotherapy for osteosarcoma on survival rate and in vitro immune response[J]. Genet Mol Res, 2015,14(4):11763-11770. DOI:10.4238/2015.October.2.10.
- [19] 孙冲.腹腔注射树突状细胞肿瘤疫苗免疫治疗小鼠骨肉瘤的实验研究[D]. 济南:山东大学,2018.
- [20] Kiany S, Gordon N. Aerosol Delivery of Interleukin-2 in Combination with Adoptive Transfer of Natural Killer Cells for the Treatment of Lung Metastasis: Methodology and Effect [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1441:285-295. DOI: 10.1007/978-1-

- 4939-3684-7\_24.
- [21] Meazza C, Cefalo G, Massimino M, et al. Primary metastatic osteosarcoma: results of a prospective study in children given chemotherapy and interleukin-2[J]. *Med Oncol*, 2017, 34(12):191. DOI:10.1007/s12032-017-1052-9.
- [22] Zhao J, Wang M, Li Z, et al. Interferon- $\alpha$  suppresses invasion and enhances cisplatin-mediated apoptosis and autophagy in human osteosarcoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(3):827-833. DOI:10.3892/ol.2013.1762.
- [23] Yuan XW, Huang XF, Chen ZX, et al. Interferon  $\alpha$  sensitizes human osteosarcoma cells to doxorubicin-induced apoptosis through p53-dependent pathway[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2016, 96(37):3008-3013. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.37.012.
- [24] Gamie Z, Kaprinotis K, Papanikolaou D, et al. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) for bone sarcoma treatment: Pre-clinical and clinical data[J]. *Cancer Lett*, 2017, 409:66-80. DOI:10.1016/j.canlet.2017.08.036.
- [25] Zhou Z, Li ZH, Shen Y, et al. MicroRNA-138 directly targets TNFAIP8 and acts as a tumor suppressor in osteosarcoma[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4):3665-3673. DOI:10.3892/etm.2017.4947.
- [26] 林才瑶, Muhammad K, 梁可莹, 等. CAR-T 疗法及其在肿瘤免疫治疗中的应用进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(3):412-427.
- [27] 童晨曦, 宋银宏. 嵌合抗原受体基因修饰的 T 细胞免疫治疗骨肉瘤的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2018, 38(7):1012-1015. DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2018.07.022.
- [28] Mata M, Vera JF, Gerken C, et al. Toward immunotherapy with redirected T cells in a large animal model: Ex vivo activation, expansion, and genetic modification of Canine T cells[J]. *J Immunother*, 2014, 37(8): 407-415. DOI:10.1097/CJI.0000000000000052.
- [29] Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) specific chimeric antigen receptor-modified T Cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(15): 1688-1696. DOI:10.1200/JCO.2014.58.0225.
- [30] 李奕麟, 常君丽, 施杞, 等. 骨肉瘤免疫治疗的研究现状[J]. *癌症进展*, 2017, 15(6):605-613. DOI:10.11877/j.issn.1672-1535.2017.15.06.01.
- [31] Shimizu T, Fuchimoto Y, Fukuda K, et al. The effect of immune checkpoint inhibitors on lung metastases of osteosarcoma[J]. *J Pediatr Surg*, 2017, 52(12):2047-2050. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2017.08.030.
- [32] 范云, 张嘉涛. Pembrolizumab 联合标准化疗方案治疗晚期非鳞非小细胞肺癌的疗效[J]. *循证医学*, 2017, 17(1):42-45. DOI:10.12019/j.issn.1671-5144.2017.01.012.
- [33] Tawbi HA, Burgess M, Bolejack V, et al. Pembrolizumab in advanced soft-tissue sarcoma and bone sarcoma (SARC028): a multicentre, two-cohort, single-arm, open-label, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(11):1493-1501. DOI:10.1016/S1470-2045(17)30624-1.
- [34] 浦飞飞, 邵增务. 骨肉瘤基因治疗研究进展[J]. *国际骨科学杂志*, 2013, 34(3): 193-195. DOI:10.3969/j.issn.1673-7083.2013.03.013.
- [35] 郭长升, 樊青霞. 骨肉瘤基因治疗研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(33):4158-4164.
- [36] Ru JY, Cong Y, Kong WB, et al. Polymorphisms in TP53 are associated with risk and survival of osteosarcoma in a Chinese population[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3):3198-3203.
- [37] Wu J, Guo A, Li Q, et al. Meta-analysis of clinical significance of p53 protein expression in patients with osteosarcoma[J]. *Future Oncol*, 2017, 13(21):1883-1891. DOI:10.2217/fo-2017-0180.
- [38] Ye S, Shen J, Choy E, et al. P53 overexpression increases chemosensitivity in multidrug-resistant osteosarcoma cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 77(2):349-356. DOI:10.1007/s00280-015-2944-z.
- [39] Zhang HD, Lu Z, Feng Y, et al. Experimental research in vitro of TK/GCV system for osteosarcoma MG-63 cell damage [J]. *Zhongguo Gu Shang*, 2014, 27(3):240-243.
- [40] Leinonen HM, Ruotsalainen AK, Määttä AM, et al. Oxidative stress regulated lentiviral TK/GCV gene therapy for lung cancer treatment[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(23):6227-6235. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-12-1166.
- [41] Krauel L, Albert A, Mora J, et al. Use of angioembolization as an effective technique for the management of pediatric solid tumors[J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(9):1848-1855. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2009.04.037.
- [42] Mavrogenis AF, Rossi G, Rimondi E, et al. Palliative embolization for osteosarcoma[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2014, 24(8): 1351-1356. DOI:10.1007/s00590-013-1312-0.
- [43] Zhang HJ, Yang JJ, Lu JP, et al. Use of intra-arterial chemotherapy and embolization before limb salvage surgery for osteosarcoma of the lower extremity[J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2009, 32(4): 672-678. DOI:10.1007/s00270-009-9546-2.
- [44] 吴艳梅, 胡显良, 王珊, 等. 经导管动脉化疗栓塞术治疗 41 例儿童实体肿瘤的临床研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(22):2599-2602. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.22.012.
- [45] 雷雨. 骨肉瘤的临床治疗进展[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.
- [46] Li C, Zhang W, Fan W, et al. Noninvasive treatment of malignant bone tumors using high-intensity focused ultrasound[J]. *Cancer*, 2010, 116(16):3934-3942. DOI:10.1002/cncr.25192.
- [47] 王会, 胡继红, 赵卫. 骨肿瘤的消融治疗[J]. *介入放射学杂志*, 2012, 21(10):879-883. DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2012.10.021.
- [48] Chen W, Zhu H, Zhang L, et al. Primary bone malignancy: effective treatment with high-intensity focused ultrasound ablation [J]. *Radiology*, 2010, 255(3):967-978. DOI:10.1148/radiol.10090374.
- [49] Saumet L, Deschamps F, Marec-Berard P, et al. Radiofrequency ablation of metastases from osteosarcoma in patients under 25 years: the SCFE experience[J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2015, 32(1):41-49. DOI:10.3109/08880018.2014.926469.
- [50] Yan GN, Lv YF, Guo QN. Advances in osteosarcoma stem cell

- 4939-3684-7\_24.
- [21] Meazza C, Cefalo G, Massimino M, et al. Primary metastatic osteosarcoma: results of a prospective study in children given chemotherapy and interleukin-2[J]. *Med Oncol*, 2017, 34(12):191. DOI:10.1007/s12032-017-1052-9.
- [22] Zhao J, Wang M, Li Z, et al. Interferon- $\alpha$  suppresses invasion and enhances cisplatin-mediated apoptosis and autophagy in human osteosarcoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(3):827-833. DOI:10.3892/ol.2013.1762.
- [23] Yuan XW, Huang XF, Chen ZX, et al. Interferon  $\alpha$  sensitizes human osteosarcoma cells to doxorubicin-induced apoptosis through p53-dependent pathway[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2016, 96(37):3008-3013. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.37.012.
- [24] Gamie Z, Kaprinotis K, Papanikolaou D, et al. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) for bone sarcoma treatment: Pre-clinical and clinical data[J]. *Cancer Lett*, 2017, 409:66-80. DOI:10.1016/j.canlet.2017.08.036.
- [25] Zhou Z, Li ZH, Shen Y, et al. MicroRNA-138 directly targets TNFAIP8 and acts as a tumor suppressor in osteosarcoma[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4):3665-3673. DOI:10.3892/etm.2017.4947.
- [26] 林才瑶, Muhammad K, 梁可莹, 等. CAR-T 疗法及其在肿瘤免疫治疗中的应用进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(3):412-427.
- [27] 童晨曦, 宋银宏. 嵌合抗原受体基因修饰的 T 细胞免疫治疗骨肉瘤的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2018, 38(7):1012-1015. DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2018.07.022.
- [28] Mata M, Vera JF, Gerken C, et al. Toward immunotherapy with redirected T cells in a large animal model: Ex vivo activation, expansion, and genetic modification of Canine T cells[J]. *J Immunother*, 2014, 37(8): 407-415. DOI:10.1097/CJI.0000000000000052.
- [29] Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) specific chimeric antigen receptor-modified T Cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(15): 1688-1696. DOI:10.1200/JCO.2014.58.0225.
- [30] 李奕麟, 常君丽, 施杞, 等. 骨肉瘤免疫治疗的研究现状[J]. *癌症进展*, 2017, 15(6):605-613. DOI:10.11877/j.issn.1672-1535.2017.15.06.01.
- [31] Shimizu T, Fuchimoto Y, Fukuda K, et al. The effect of immune checkpoint inhibitors on lung metastases of osteosarcoma[J]. *J Pediatr Surg*, 2017, 52(12):2047-2050. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2017.08.030.
- [32] 范云, 张嘉涛. Pembrolizumab 联合标准化疗方案治疗晚期非鳞非小细胞肺癌的疗效[J]. *循证医学*, 2017, 17(1):42-45. DOI:10.12019/j.issn.1671-5144.2017.01.012.
- [33] Tawbi HA, Burgess M, Bolejack V, et al. Pembrolizumab in advanced soft-tissue sarcoma and bone sarcoma (SARC028): a multicentre, two-cohort, single-arm, open-label, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(11):1493-1501. DOI:10.1016/S1470-2045(17)30624-1.
- [34] 浦飞飞, 邵增务. 骨肉瘤基因治疗研究进展[J]. *国际骨科学杂志*, 2013, 34(3): 193-195. DOI:10.3969/j.issn.1673-7083.2013.03.013.
- [35] 郭长升, 樊青霞. 骨肉瘤基因治疗研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(33):4158-4164.
- [36] Ru JY, Cong Y, Kong WB, et al. Polymorphisms in TP53 are associated with risk and survival of osteosarcoma in a Chinese population[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3):3198-3203.
- [37] Wu J, Guo A, Li Q, et al. Meta-analysis of clinical significance of p53 protein expression in patients with osteosarcoma[J]. *Future Oncol*, 2017, 13(21):1883-1891. DOI:10.2217/fon-2017-0180.
- [38] Ye S, Shen J, Choy E, et al. P53 overexpression increases chemosensitivity in multidrug-resistant osteosarcoma cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 77(2):349-356. DOI: 10.1007/s00280-015-2944-z.
- [39] Zhang HD, Lu Z, Feng Y, et al. Experimental research in vitro of TK/GCV system for osteosarcoma MG-63 cell damage [J]. *Zhongguo Gu Shang*, 2014, 27(3):240-243.
- [40] Leinonen HM, Ruotsalainen AK, Määttä AM, et al. Oxidative stress regulated lentiviral TK/GCV gene therapy for lung cancer treatment[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(23):6227-6235. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-12-1166.
- [41] Krauel L, Albert A, Mora J, et al. Use of angioembolization as an effective technique for the management of pediatric solid tumors[J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(9):1848-1855. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2009.04.037.
- [42] Mavrogenis AF, Rossi G, Rimondi E, et al. Palliative embolization for osteosarcoma[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2014, 24(8): 1351-1356. DOI:10.1007/s00590-013-1312-0.
- [43] Zhang HJ, Yang JJ, Lu JP, et al. Use of intra-arterial chemotherapy and embolization before limb salvage surgery for osteosarcoma of the lower extremity[J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2009, 32(4): 672-678. DOI:10.1007/s00270-009-9546-2.
- [44] 吴艳梅, 胡显良, 王珊, 等. 经导管动脉化疗栓塞术治疗 41 例儿童实体肿瘤的临床研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(22):2599-2602. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.22.012.
- [45] 雷雨. 骨肉瘤的临床治疗进展[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.
- [46] Li C, Zhang W, Fan W, et al. Noninvasive treatment of malignant bone tumors using high-intensity focused ultrasound[J]. *Cancer*, 2010, 116(16):3934-3942. DOI:10.1002/cncr.25192.
- [47] 王会, 胡继红, 赵卫. 骨肿瘤的消融治疗[J]. *介入放射学杂志*, 2012, 21(10):879-883. DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2012.10.021.
- [48] Chen W, Zhu H, Zhang L, et al. Primary bone malignancy: effective treatment with high-intensity focused ultrasound ablation [J]. *Radiology*, 2010, 255(3):967-978. DOI:10.1148/radiol.10090374.
- [49] Saumet L, Deschamps F, Marec-Berard P, et al. Radiofrequency ablation of metastases from osteosarcoma in patients under 25 years: the SCFE experience[J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2015, 32(1):41-49. DOI:10.3109/08880018.2014.926469.
- [50] Yan GN, Lv YF, Guo QN. Advances in osteosarcoma stem cell