

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2026.17.020

外泌体 miRNA 在骨肉瘤诊断及治疗中的研究进展*

丁文强^{1,2}, 何卓家^{1,2} 综述, 浦飞飞^{1,2,3△} 审校

1. 华中科技大学同济医学院附属武汉中西医结合医院骨科, 湖北武汉 430022; 2. 武汉市中西医结合医院/武汉市第一医院骨科, 湖北武汉 430022; 3. 河南省洛阳正骨医院分子生物实验室, 河南洛阳 471026

摘要:骨肉瘤是起源于成骨间充质干细胞的常见恶性肿瘤, 其发生、发展与癌基因异常激活及抑癌基因失活紧密相关。外泌体通过运输蛋白质、核酸等多种生物活性分子, 对肿瘤生长、转移、血管生成及免疫逃逸等病理生理过程进行调控。该文从外泌体的生物学特征出发, 重点综述了外泌体中微小核糖核酸 (miRNA) 在骨肉瘤转移过程中的异常表达及其调控机制的研究进展。外泌体 miRNA 作为重要的关键信号分子, 介导细胞间的通讯, 从而影响受体细胞的生物学功能, 在骨肉瘤的增殖、转移和治疗过程中扮演重要角色。同时, 该系统总结了外泌体 miRNA 作为骨肉瘤新型诊断标志物及基因治疗靶点的临床应用潜力, 深入梳理了该领域当前的研究现状。尽管外泌体 miRNA 在骨肉瘤中的研究已取得显著进展, 但仍存在如具体调控网络尚不完全清楚、临床转化应用缺乏标准化方案等不足。未来需进一步阐明外泌体 miRNA 在骨肉瘤转移微环境中的复杂作用机制, 并致力于开发基于外泌体 miRNA 的液体活检技术与靶向递药系统, 以推动其在骨肉瘤精准诊疗中的实际应用。

关键词:骨肉瘤; 外泌体; miRNA; 诊断; 治疗**中图法分类号:**R738.1; R730.4**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2026)17-2431-07**Research progress of exosomal miRNA in the diagnosis and treatment of osteosarcoma***Ding Wenqiang^{1,2}, He Zhuojia^{1,2}, Pu Feifei^{1,2,3△}

1. Department of Orthopedics, Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430022, China; 2. Department of Orthopedics, Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine/ Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan, Hubei 430022, China; 3. Laboratory of Molecular Biology, Luoyang Orthodontics Hospital, Luoyang, Henan 471026, China

Abstract: Osteosarcoma is a common malignant tumor derived from osteogenic mesenchymal stem cells. Its occurrence and development are closely related to the abnormal activation of oncogenes and inactivation of tumor suppressor genes. Exosomes regulate pathophysiological processes such as tumor growth, metastasis, angiogenesis and immune escape by transporting a variety of bioactive molecules such as proteins and nucleic acids. Based on the biological characteristics of exosomes, this review focuses on the research progress of abnormal expression of exosomal microRNA (miRNA) in osteosarcoma metastasis and its regulatory mechanism. As an important key signal molecule, exosomal miRNA mediates intercellular communication, thereby affecting the biological function of recipient cells, and plays an important role in the proliferation, metastasis and treatment of osteosarcoma. At the same time, this article systematically summarizes the clinical application potential of exosomal mirnas as new diagnostic markers and gene therapy targets for osteosarcoma, and thoroughly reviews the current research status in this field. Although the research of exosomal miRNA in osteosarcoma has made significant progress, there are still some shortcomings such as the specific regulatory network is not fully understood, and the lack of standardized protocols for clinical transformation and applica-

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82474545、82274559); 中国博士后科学基金项目(2024T170247、2024M750820); 湖北省自然科学基金项目(2024AFB1011); 湖北省中医药管理局中医药科研项目青年人才项目(ZY2025Q039); 武汉市自然科学基金探索计划晨光计划(2024040801020366); 中华中医药学会青年人才托举工程项目(CACM-2025-QNRC2-B44)。

△ 通信作者, E-mail: pufeifei@hust.edu.cn.

中文引用格式: 丁文强, 何卓家, 浦飞飞. 外泌体 miRNA 在骨肉瘤诊断及治疗中的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2026, 23(17): 2431-2437.

英文引用格式: Ding W Q, He Z J, Pu F F. Research progress of exosomal miRNA in the diagnosis and treatment of osteosarcoma[J]. Lab Med Clin, 2026, 23(17): 2431-2437.

tion. In the future, it is necessary to further clarify the complex mechanism of exosomal miRNA in the meta-static microenvironment of osteosarcoma, and to work on the development of exosomal mirNA-based liquid bi-opsy technology and targeted drug delivery system to promote its practical application in the precision diagno-sis and treatment of osteosarcoma.

Key words: osteosarcoma; exosomes; microRNA; diagnosis; treatment

1 引 言

1.1 骨肉瘤的流行病学及临床挑战 骨肉瘤是一种原发恶性骨肿瘤。每年每百万人口中约有 4 例新发病例^[1-2]。骨肉瘤发病年龄特点具有双峰样,首峰出现于青少年,次峰出现于 60 岁以上中老年人^[3]。约五分之一的骨肉瘤患者在初诊时就伴有远处转移病灶,其中大部分的转移灶位于肺部^[4]。骨肉瘤肺部转移患者预后相对较差,5 年生存率不足 20%^[5]。虽然侵入性检查会导致瘤内出血、病理性骨折、局部肿瘤污染等,但组织活检仍是诊断骨肉瘤的金标准^[6-7]。骨肉瘤患者存在化疗耐药的临床治疗挑战,大剂量化疗会导致血小板减少、中性粒细胞减少、免疫力低下、机体感染等不良反应^[8]。近年来,随着对骨肉瘤致病分子特征的进一步揭示,特定通路关键分子的靶向治疗需要进一步探讨。

1.2 外泌体及其 miRNA 的生物学特性 外泌体有多种类型的细胞来源,在细胞凋亡、癌症转移、免疫调节等生理病理过程中发挥作用,外泌体的优势包括靶向性、稳定性、易收集、体积小、无明显宿主细胞排斥等,这些特性使其可作为抗肿瘤药物的理想载体^[9]。外泌体中的 miRNA 通过结合信使 RNA 上的互补配对位点,调节基因的转录后的表达^[10]。外泌体的磷脂双分子层结构可以保护 miRNA 不被降解,使 miRNA 能够稳定表达,加大细胞间信息传递的效率^[11]。因此,与循环 miRNA 相比,外泌体 miRNA 能更精确地反映细胞的生理状态^[12]。

1.3 外泌体 miRNA 在肿瘤发生与发展中的调控 外泌体不仅能够正常细胞间发挥重要功能,还在肿瘤的发展过程中起到重要的生物学调控作用。有研究表明,胃癌细胞来源的外泌体可携带高表达的 miR-155 至内皮细胞,miR-155 能够抑制转录激活因子 MYB(c-MYB),通过介导 c-MYB-血管内皮生长因子通路促进血管细胞的生长、转移,从而导致胃癌的发生与发展^[13]。也有学者发现在结直肠癌转移过程中,外泌体 miR-25-3p 从肿瘤细胞转移到内皮细胞,调控内皮细胞中血管内皮生长因子受体 2、紧密连接蛋白 1、封闭蛋白 5 的表达,最终改变了血管通透性从而促使血管生成^[14]。另一方面,外泌体 miRNA 是肿瘤的诊断重要标志物及治疗的靶点^[15]。在上皮性卵巢癌患者的血清外泌体中,miR-7977、miR-192-5p 和 miR-1260a 的水平相较于健康人群明显减少,这一特性使其可作为潜在的诊断标志物^[16]。有研究者通过检测外泌体 miRNA-196a 表达程度,使胰腺癌的诊断变得更为精准更为快速,灵敏度高达 1.82×10^{-19} M,为胰腺癌早期筛查带来新的突破^[17]。

1.4 外泌体 miRNA 在骨肉瘤发生与发展中的调控 外泌体 miRNA 在骨肉瘤的转移过程中也会异常表达,并调控相应的靶基因发挥不同的作用。外泌体通过 miRNA 调控骨肉瘤微环境,影响肿瘤细胞之间的信号传递^[18]。miRNA 也通过不同的基因靶点,在骨肉瘤发生与发展中发挥不同的抑癌或者致癌作用^[19]。见表 1、2。

表 1 骨肉瘤 miRNA 表达下调

miRNA	样品分析	靶基因	在骨肉瘤中的功能
miR-26a	MG-63、U2OS 细胞株和 32 例肿瘤样品	胰岛素样生长因子 1	抑制肿瘤细胞增长
miR-29 家族	MG-63 细胞株	B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、髓细胞白血病 1、E2F 转录因子 1、E2F 转录因子 3	诱导肿瘤细胞凋亡
miR-124	U2OS 细胞株和 32 例肿瘤样品	受体酪氨酸激酶样孤儿受体 2	抑制肿瘤细胞迁移和侵袭
miR-143	MG-63、U2OS 细胞株和 30 例肿瘤样品	B 细胞淋巴瘤-2、基质金属蛋白酶 13	抑制肿瘤细胞转移
miR-144	143B 细胞株和 24 例肿瘤样品	Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1、Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 2	抑制肿瘤细胞增殖和转移
miR-145	MG-63、U2OS 细胞株和 46 例肿瘤样品	血管内皮生长因子、Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1	抑制肿瘤细胞浸润和转移
miR-199a-3p	MG-63 细胞株	间质上皮转化因子、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、鼠双微体 4	介导 p53 信号通路诱导肿瘤细胞凋亡
miR-218	Saos-2 细胞株和 12 例肿瘤样本	T 细胞淋巴瘤侵袭转移诱导蛋白 1、基质金属蛋白酶 2、基质金属蛋白酶 9	抑制肿瘤细胞迁移和侵袭
miR-382	U2OS、HOS 细胞株	Krüppel 样因子 12、同源域相互作用蛋白激酶 3	抑制肿瘤细胞生长和增加化疗敏感性
miR-424	U2OS 细胞株	脂肪酸合成酶	抑制肿瘤细胞迁移和侵袭

表 2 骨肉瘤 miRNA 表达上调

miRNA	样品分析	靶基因	在骨肉瘤中的功能
miR-9	HOS、U2OS 细胞株	Grap2/细胞周期蛋白 D 相互作用蛋白	促进肿瘤细胞增殖
miR-21	MG-63 细胞株和 8 例肿瘤样本	含 Kazal 基序的逆转诱导半胱氨酸丰富蛋白	促进肿瘤细胞迁移和侵袭
miR-27a	Saos 细胞株	核心结合因子 α 2T3	促进肿瘤细胞转移
miR-93	HOS、MG-63、Saos 细胞株	磷酸酶和张力蛋白同源物	促进肿瘤细胞增殖和抑制凋亡
miR-135b	Saos、U2OS 细胞株和 7 例肿瘤样本	叉头框蛋白 O1	促进肿瘤细胞增殖和侵袭
miR-140	OVCA433、U2OS、PC3 细胞株	组蛋白去乙酰化酶 4	增加肿瘤细胞抗化疗敏感性
miR-181a	MG-63 细胞株和 30 例肿瘤样本	剪切因子 CFIm25	促进肿瘤细胞增殖、转移和抑制凋亡
miR-221	SOSP-9067、MG-63 细胞株	磷酸酶和张力蛋白同源物	促进肿瘤细胞存活和增加抗化疗敏感性
miR-374a	SOSP-9067 细胞株和 8 例肿瘤样本	叉头框蛋白 O1	促进肿瘤细胞增殖

肿瘤来源的外泌体 miRNA 运输多个生物分子调节肿瘤细胞间局部和远距离通讯,进一步参与肿瘤血管的生成、转移、耐药并参与调控免疫系统^[20]。见图 1。Zhao 等^[21]在骨肉瘤细胞或组织中鉴定出 190 个

miRNA,其中 82 个 miRNA 上调,102 个 miRNA 下调。特异性的 miRNA 对特定靶标或信号通路具有不同的调节作用。

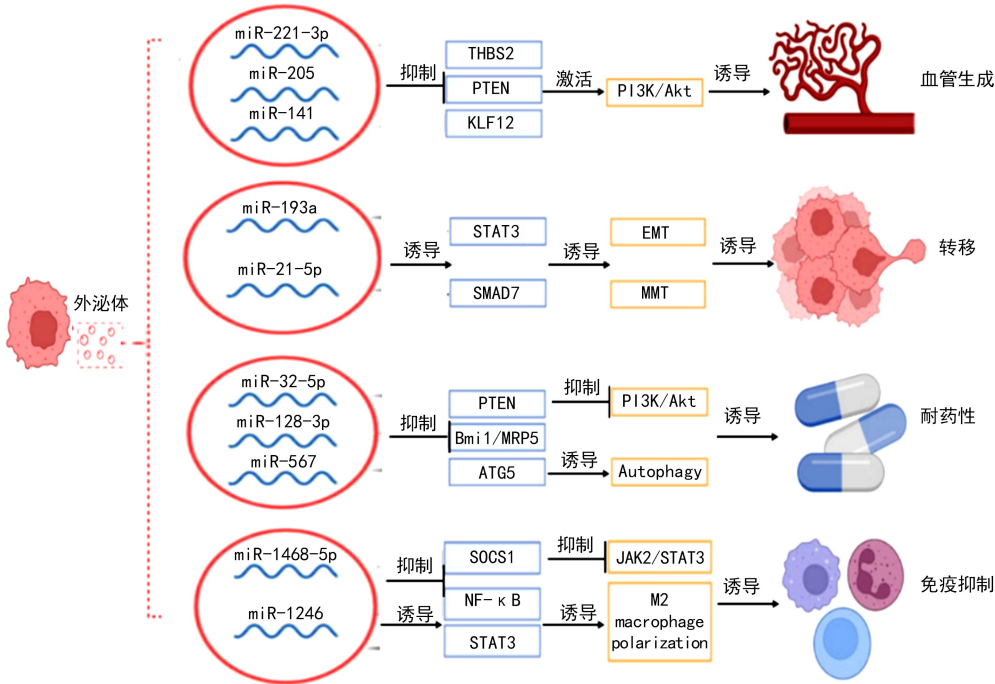


图 1 外泌体 miRNA 对肿瘤的调控作用

Wnt/ β -catenin 是一种相对复杂的信号通路,该通路与骨肉瘤的细胞增殖、侵袭和转移甚至是化疗耐药性密切相关^[22],外泌体 miRNA 可以调节骨肉瘤的 Wnt/ β -catenin 信号通路(见表 3)。Wnt/ β -catenin 信号通路被激活后, β -catenin 进入细胞核与 T 细胞结合,骨肉瘤细胞增殖相关基因的上调,下调细胞凋亡相关基因也会表达,使得肿瘤细胞的增殖和转移被其精准调控^[23]。miRNA-214 通过靶向调节 β -catenin 表达激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,从而促进骨肉瘤细胞增殖^[24]。miRNA-155 的上调也可以调节 HMG-

box 转录因子 1 的表达并参与 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活^[25]。此外,miRNA-182 直接抑制同源框蛋白 HOXA9 的表达并下调 Wnt/ β -catenin 信号传递,从而抑制细胞增殖并促进细胞凋亡^[23]。miRNA-107 还可以在体外调节 Wnt/ β -catenin 信号通路并抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移^[26]。

除了 Wnt/ β -catenin 信号通路,PI3K/Akt、p53 肿瘤抑制蛋白、Wnt 信号通路、Notch 信号通路、核因子 κ B 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)也是骨肉瘤发病过程中的重要信号通路^[27]。miR-122-5p 通过靶向肿

瘤蛋白 p53 调节 PI53K/Akt/mTOR 信号通路的激活,调节骨肉瘤细胞增殖和凋亡^[28]。骨肉瘤外泌体 miR-15a 下调 GATA 结合蛋白 2 并抑制鼠双微体 2 (MDM2),而 MDM53 激活 p53 通路可以诱导肿瘤细胞周期停滞^[29]。外泌体 miR-25-3p 直接靶向 Dickkopf 相关蛋白 3,通过调节 Wnt/ β -catenin 通路促进骨肉瘤生长、侵袭和耐药^[30]。有研究表明,miR-hsa-let-

7g 在骨肉瘤组织中高表达,通过下调同源盒基因 B1、激活 NF- κ B 通路促进骨肉瘤的发生^[31]。此外,miR-338-3p 可以靶向 Runt 相关转录因子 2、细胞周期蛋白依赖性激酶 4 抑制 MAPK 通路,miR-1296-5p 通过调控 Notch2 通路,miR-155 通过调节 Notch2 受体通路抑制骨肉瘤增殖、迁移和侵袭^[32-34]。

表 3 miRNA 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对骨肉瘤的调控作用^[22]

miRNA	表达情况	机制
miR-21-5p	下调	抑制 Wnt/ β -catenin,抑制细胞增殖与转移
miR-374a	下调	抑制 Wnt/ β -catenin,抑制细胞增殖与转移
miR-22-3p	上调	靶向转录因子 7 类似物 2,抑制 Wnt/ β -catenin,抑制骨肉瘤细胞增殖和细胞周期进程,并促进凋亡
miR-1-3p	上调	靶向细胞周期蛋白依赖性激酶 14,抑制 Wnt/ β -catenin,抑制骨肉瘤细胞增殖和细胞周期进程,并促进凋亡
miR-199b-3p	上调	抑制 Wnt/ β -catenin,抑制骨肉瘤细胞增殖和细胞周期进程,并促进凋亡
miR-377-3p	上调	抑制 Wnt/ β -catenin,抑制骨肉瘤细胞增殖和细胞周期进程,并促进凋亡
miR-140	上调	抑制 Wnt/ β -catenin,增强药物敏感性

2 外泌体 miRNA 在骨肉瘤诊断中的应用

2.1 外泌体 miRNA 作为诊断标志物的潜力 骨肉瘤患者血清中的 miRNA 常出现异常表达,可为骨肉瘤的诊疗和预后提供重要参考^[35]。骨肉瘤患者血清检测中发现,有 236 种 miRNA 表达高于健康人,miRNA-25-3p 和 miRNA-17-5p 在骨肉瘤细胞及其外泌体中同时高表达,而 miRNA-25-3p 上调相对更明显,这说明其表达水平与肿瘤负荷及患者的预后密切联系,可作为新的生物标志物为骨肉瘤患者诊疗和预后提供价值^[36]。

对于骨肉瘤患者血浆外泌体诊断,有学者用表面增强拉曼光谱和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱对 15 例健康人和 15 例骨肉瘤患者的血浆外泌体进行检测,该检测结果准确度、灵敏度、特异度均为 100%^[37]。Wang 等^[38]采用免疫学检测血浆外泌体小泛素相关修饰物特异性蛋白酶 1 在骨肉瘤组织及邻近组织中的高表达,进一步研究发现,高表达的患者的 1 年生存率和 3 年生存率均较差,使得此种特异性蛋白酶 1 有可能作为骨肉瘤预后的重要观察指标。

2.2 外泌体 miRNA 在骨肉瘤早期诊断中的应用 RNA 在血液中容易被降解,所以具有不稳定性,但由于外泌体膜的保护,使得外泌体中 miRNA 相对稳定。Jerez 等^[39]发现肿瘤来源的外泌体起着双重作用,不仅参与肿瘤的发生与发展,其表达的抗原还与不同的侵袭表型有关,可以作为肿瘤细胞的抗原靶标。此外,外泌体广泛存在于体液中,容易从外周血和其他体液中分离出来,可以作为无创诊断的工具。源自血液中存在的恶性细胞和其他受影响器官的外泌体称为循环肿瘤外泌体,由于它们与肿瘤细胞相似,可以在液体活检中识别出来。Brady 等^[40]从患有

骨肉瘤的犬、健康犬、创伤性骨折犬和骨肉瘤患者的血清中分离外泌体,使用质谱法分析外泌体的蛋白质成分,结果发现骨肉瘤患者的外泌体与骨肉瘤犬的外泌体高度相似,这表明骨肉瘤外泌体在实验动物和人类之间具有密切的相似性,动物模型结果可以进一步应用到临床研究中。此外,在骨肉瘤的疾病进展过程中,不同时间点收集的外泌体成分存在显著差异,表明不同病程中外泌体的成分分析可以作为骨肉瘤早期诊断和临床分期的依据^[35]。

3 外泌体 miRNA 在骨肉瘤治疗中的应用

3.1 外泌体 miRNA 在骨肉瘤化疗中的作用 在临床工作中,手术辅助放化疗是治疗骨肉瘤的主要手段,化疗是延长总生存期的主要选择手段^[41]。顺铂和阿霉素作为骨肉瘤常用的化疗药物,其耐药性已成为制约骨肉瘤治疗效果的障碍之一^[42]。miRNA 在骨肉瘤化疗耐药中具有不同的作用,部分 miRNA 可以促进化疗抵抗,也有部分 miRNA 能够抑制甚至逆转化疗耐药^[43-44]。有研究表明,miRNA-199a-3p 靶向下调腺苷酸激酶 4 表达降低骨肉瘤的多药耐药性^[45]。miRNA-143 通过下调自噬相关蛋白 2 同源物 B 和 Bcl-2 表达来增加骨肉瘤对阿霉素的敏感性^[46]。近年来,有研究表明 miRNA 在骨肉瘤化疗耐药中的另一个重要机制是对自噬的调节,这也影响骨肉瘤对化疗药物的敏感性。例如,miRNA-140-5p 可以上调高迁移率族核小体结合蛋白 5,并通过与核小体相互作用介导自噬,从而促进骨肉瘤化疗耐药^[47]。同时,miR-140-5p 通过肌醇 1,4,5-三磷酸激酶 2 在人骨肉瘤细胞中调节自噬,从而减轻化疗药物诱导的细胞死亡^[48]。此外,miRNA-199a-5p 还可以通过抑制骨肉瘤顺铂诱导的自噬,下调 Beclin1 蛋白的表达,从而增

强化耐药性^[49]。

3.2 外泌体 miRNA 在骨肉瘤免疫治疗中的应用 越来越多的学者聚焦于肿瘤免疫微环境的研究,并且在免疫治疗策略的应用方面取得了进展,这都为骨肉瘤的诊疗提供了新思路。有研究从犬骨肉瘤细胞和健康的成骨细胞中分离出外泌体,并评估外泌体来源对犬免疫系统的直接影响,结果发现,源自骨肉瘤的外泌体含有抑制免疫功能的蛋白质成分,包括转化生长因子 β (TGF- β)、 α 胎蛋白和热休克蛋白。这些外泌体可以直接降低 T 细胞的增殖速度,促进 CD4 细胞分化为调节性 T 细胞,并降低 CD25 细胞表面的 CD8 表达,从而诱导免疫抑制,促进骨肉瘤细胞的免疫逃逸,然而,成骨细胞外泌体尽管也可以降低 T 细胞活性,但其不像骨肉瘤外泌体那样明显,并且由于 TGF- β 的缺乏而不能分化为调节性 T 细胞^[50]。

Dong 等^[51]发现可以在体外用树突状细胞加载肿瘤来源的外泌体诱导 T 细胞增殖和细胞毒性 T 细胞反应,抑制骨肉瘤细胞的生长。基于骨肉瘤细胞能够捕获免疫细胞分泌的外泌体,可以利用天然外泌体来抑制骨肉瘤细胞的增殖^[52]。例如,TP53 突变体与多种肿瘤的发病相关,mutp53 通过外泌体 miR-1246 将巨噬细胞重编程为支持肿瘤的巨噬细胞,诱导抗炎微环境,募集免疫抑制性调节性 T 细胞并促进肿瘤进展^[53]。除巨噬细胞外,肿瘤来源的外泌体 miRNA 也可以诱导免疫细胞功能障碍,促进免疫抑制。有研究表明,肿瘤来源的外泌体 miR-1468-5p 可以通过淋巴血管的免疫抑制重编程促进肿瘤免疫逃逸,为肿瘤治疗提供了新的预后生物标志物和治疗靶点^[54]。

4 外泌体 miRNA 在骨肉瘤预后评估中的应用

Jerez 等^[55]在多种不同的骨肉瘤细胞间进行 miRNA 测序,发现 miR143-3p 和 miR-21-5p 在转移性的骨肉瘤细胞外泌体中高表达,使其可以作为骨肉瘤预后评估的重要生物标志物。另外一项研究表明,骨肉瘤肿瘤来源外泌体 miR-101 通过下调 Bcl6 在骨肉瘤中发挥肿瘤抑制因子的功能,脂肪组织来源的间充质间质细胞衍生的 miR-101 富集外泌体代表了转移性骨肉瘤的潜在创新疗法^[56]。部分患者外周血外泌体中的 miR-hsa-circ-103801 表达升高,同时这部分患者生存时间较短,这对评估该部分骨肉瘤患者治疗效果和预期生存时间也将具有重要指导意义^[57]。另一方面,也有骨肉瘤患者体内高 miR-25-3p 水平与不良预后呈负相关,但高 Dkk3 水平则与良好预后呈正相关。骨肉瘤细胞通过外泌体释放过量的 miR-25-3p,该分子被内皮细胞摄取后促进新血管形成,患者血清中的 miR-25-3p 作为预后指标的灵敏度优于传统的血清碱性磷酸酶检测^[36]。

5 外泌体应用于骨肉瘤治疗的结论与展望

5.1 本文研究内容及结论 本文系统梳理了外泌体 miRNA 在骨肉瘤治疗领域的研究现状。文章指出,外泌体作为天然纳米级载体,其携带的 miRNA 可通

过调控 Wnt/ β -catenin、PI3K/Akt 等多条信号通路,在骨肉瘤的增殖、转移、化疗耐药及免疫逃逸中发挥关键作用。尽管外泌体 miRNA 在诊断标志物筛选、化疗增敏及免疫治疗干预等方面展现出广阔的应用前景,但从基础研究向临床转化仍面临诸多亟待解决的科学与技术瓶颈。

5.2 当前研究面临的主要问题与挑战

5.2.1 技术层面 外泌体规模化制备与质量控制困难。外泌体的大规模生产面临产量低、蛋白质污染及颗粒聚集等问题,限制了其临床级应用的可行性。同时,外泌体对储存条件要求苛刻,常规低温易破坏脂质膜稳定性,导致内容物损失和功能下降,而冷冻干燥、喷雾干燥等新型保藏技术尚未成熟推广。

5.2.2 机制层面 miRNA 调控网络的复杂性难以解析。miRNA 与靶 mRNA 之间并非一一对应的简单关系,单个 miRNA 可靶向超过 100 个 mRNA,且多个 miRNA 常协同调控同一靶点,形成复杂的调控网络。这种高度复杂的相互作用机制,给精准干预策略的设计带来了巨大挑战。

5.2.3 基础研究层面 外泌体关键生物学机制认知不足。目前对外泌体关键膜成分、介导信号通路的精确识别机制及其在受体细胞内的功能释放过程缺乏深入理解。特别是,对于如何促进修复再生性 RNA 富集、同时阻断有害 RNA 递送的确切分子机制,仍不明确。

5.2.4 临床转化层面 靶向递送与治疗方案缺乏标准化。外泌体的靶向基因治疗能力信息匮乏,亟需借助生物工程或细胞修饰技术增强其对骨肉瘤细胞的归巢能力。此外,疾病特异性的治疗剂量、最佳给药方案及给药途径尚未建立标准化共识。

5.3 未来发展趋势与展望

5.3.1 深化基础机制研究,解析 miRNA 功能网络 未来需综合运用多组学与生物信息学技术,系统解析骨肉瘤相关 miRNA 的靶点图谱及其在信号通路中的精确功能,为精准干预提供理论依据。

5.3.2 优化制备与储存技术,推动工艺标准化 加强外泌体大规模生产、纯化工艺的研发,探索新型生物反应器与无血清培养体系,同时推动冷冻干燥等储存技术的应用验证,建立符合 GMP 标准的生产质控体系。

5.3.3 创新工程化改造策略,提升靶向递送效率 通过细胞基因工程改造或外泌体表面修饰(如连接特异性配体或抗体),构建具有主动靶向能力的工程化外泌体,实现 miRNA 药物在骨肉瘤组织的高效富集与可控释放。

5.3.4 推动临床转化研究,建立规范化治疗方案 开展大样本、多中心的临床研究,明确不同分期、分型骨肉瘤患者的外泌体 miRNA 表达谱特征,探索基于外泌体的液体活检新技术,并逐步建立标准化的治疗剂量、给药方案及疗效评估体系。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献 丁文强:文献检索,数据分析,文章构思,初稿撰写;何卓家:文章知识内容批判性审阅、指导,支持性贡献;浦飞飞:文章知识内容批判性审阅、指导、修改、质量控制,审校,支持性贡献。

参考文献

- [1] Zhao X, Wu Q R, Gong X Q, et al. Osteosarcoma; a review of current and future therapeutic approaches[J]. Biomed Eng Online, 2021, 20(1):24.
- [2] 陈成龙, 韩鹏飞, 孙晓娟, 等. 外泌体在骨肉瘤侵袭转移及耐药性中的研究进展[J]. 中华全科医学, 2019, 17(8): 1384-1387.
- [3] Moukengue B, Lallier M, Marchandet L, et al. Origin and therapies of osteosarcoma[J]. Cancers (Basel) 2022, 14(14):3503.
- [4] Shoaib Z, Fan T M, Irudayaraj J M K. Osteosarcoma mechanobiology and therapeutic targets[J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(2):201-217.
- [5] Xie L, Xu J, Sun X, et al. Apatinib plus ifosfamide and etoposide for relapsed or refractory osteosarcoma: A retrospective study in two centres[J]. Oncol Lett, 2021, 22(1):552.
- [6] Yu S N, Yao X D. Advances on immunotherapy for osteosarcoma[J]. Mol Cancer, 2024, 23(1):192.
- [7] Hegde V, Burke Z D C, Park H Y, et al. Is core needle biopsy reliable in differentiating between aggressive benign and malignant radiolucent bone tumors? [J]. Clin Orthop Relat Res, 2018, 476(3):568-577.
- [8] 孙超, 冯卫, 张丽华, 等. 阿霉素耐药细胞外泌体通过传递耐药性影响骨肉瘤细胞增殖和迁移的实验研究[J]. 中华骨科杂志, 2023, 43(10):645-658.
- [9] Zhang Y, Liu Z, Li S, et al. Upregulation of E-cadherin in bronchoalveolar lavage fluid-derived exosomes in patients with lung cancer[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(1):41-47.
- [10] Tang L, Song D L, Qi R X, et al. Roles of pulmonary telocytes in airway epithelia to benefit experimental acute lung injury through production of telocyte-driven mediators and exosomes[J]. Cell Biol Toxicol, 2023, 39(2): 451-465.
- [11] Du S S, Ling H, Guo Z Y, et al. Roles of exosomal miRNA in vascular aging [J]. Pharmacol Res, 2021, 165: 105278.
- [12] Tastan B, Tarakcioglu E, Birinci Y, et al. Role of exosomal microRNAs in cell-to-cell communication[J]. Methods Mol Biol, 2022, 2257:269-292.
- [13] Deng T, Zhang H Y, Yang H O, et al. Exosome miR-155 derived from gastric carcinoma promotes angiogenesis by targeting the c-MYB/VEGF axis of endothelial cells[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19:1449-1459.
- [14] Zeng Z C, Li Y L, Pan Y J, et al. Cancer-derived exosomal miR-25-3p promotes pre-metastatic niche formation by inducing vascular permeability and angiogenesis[J]. Nat Commun, 2018, 9(1):5395.
- [15] 李崇, 黄能干, 罗晓婷, 等. 外泌体携带的 RNA 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(16): 1126-1134.
- [16] Chen L, Wang K, Li L, et al. Plasma exosomal miR-1260a, miR-7977 and miR-192-5p as diagnostic biomarkers in epithelial ovarian cancer[J]. Future Oncol, 2022, 18(26):2919-2931.
- [17] Song P, Dong J, Yu T, et al. Accurate diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma by detection of miRNA-196a biomarker in exosome using solution-gated graphene transistor with antifouling design[J]. Adv Healthc Mater, 2025, 14(9):e2404572.
- [18] Raimondi L, De Luca A G, Gallo A, et al. Osteosarcoma cell-derived exosomes affect tumor microenvironment by specific packaging of microRNAs [J]. Carcinogenesis, 2020, 41(5):666-677.
- [19] Izadpanah S, Shabani P, Aghebati-Maleki A, et al. Insights into the roles of miRNAs; miR-193 as one of small molecular silencer in osteosarcoma therapy[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111:873-881.
- [20] Tang J X, He J Y, Feng C Y, et al. Exosomal MiRNAs in osteosarcoma: biogenesis and biological functions [J]. Front Pharmacol, 2022, 13:902049.
- [21] Zhao X, Wang Q, Lin F, et al. RNA sequencing of osteosarcoma gene expression profile revealed that miR-214-3p facilitates osteosarcoma cell proliferation via targeting Ubiquinol-Cytochrome c reductase core protein 1 (UQCRC1)[J]. Med Sci Monit, 2019, 25:4982-4991.
- [22] Ding Y, Chen Q. Wnt/ β -catenin signaling pathway: an attractive potential therapeutic target in osteosarcoma[J]. Front Oncol, 2025, 14:1456959.
- [23] Zhang Z F, Wang Y J, Fan S H, et al. MicroRNA-182 down-regulates Wnt/ β -catenin signaling, inhibits proliferation, and promotes apoptosis in human osteosarcoma cells by targeting HOXA9[J]. Oncotarget, 2017, 8(60):101345-101361.
- [24] Zhu X, Zhang Z, Han G, et al. Overexpression of miR-214 promotes the progression of human osteosarcoma by regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(4):1884-1892.
- [25] Sun X H, Geng X L, Zhang J, et al. miR-155 promotes the growth of osteosarcoma in a HBP1-dependent mechanism [J]. Mol Cell Biochem, 2015, 403(1):139-147.
- [26] Miao Y, Guo D Q, Cao Z L, et al. Inhibitory effect of MicroRNA-107 on osteosarcoma malignancy through regulation of Wnt/ β -catenin signaling in vitro[J]. Cancer Invest, 2018, 36(3):175-184.
- [27] Czarnecka A M, Synoradzki K, Firlej W, et al. Molecular biology of osteosarcoma[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(8):2130.
- [28] Li K, Wang S, Wei X, et al. Mechanism of miR-122-5p regulating the activation of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway on the cell proliferation and apoptosis of osteosarcoma cells through targeting TP53 gene[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(24):12655-12666.
- [29] Wu C Y, Li Z G, Feng G, et al. Tumor suppressing role of serum-derived exosomal microRNA-15a in osteosarcoma

- cells through the GATA binding protein 2/murine double minute 2 axis and the p53 signaling pathway[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 8378-8395.
- [30] Yoshida A, Fujiwara T, Uotani K, et al. Clinical and functional significance of intracellular and extracellular microRNA-25-3p in osteosarcoma[J]. *Acta Med Okayama*, 2018, 72(2): 165-174.
- [31] Zhou J L, Deng S, Fang H S, et al. Hsa-let-7g promotes osteosarcoma by reducing HOXB1 to activate NF-κB pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2335-2341.
- [32] Jia F, Zhang Z, Zhang X. MicroRNA-338-3p inhibits tumor growth and metastasis in osteosarcoma cells by targeting RUNX2/CDK4 and inhibition of MAPK pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4): 6420-6430.
- [33] Wang L, Hu K, Chao Y, et al. MicroRNA-1296-5p suppresses the proliferation, migration, and invasion of human osteosarcoma cells by targeting NOTCH2[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(2): 2038-2046.
- [34] Lu S, Liao Q, Tang L. MiR-155 affects osteosarcoma cell proliferation and invasion through regulating NF-κB signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(22): 7633-7639.
- [35] Ye Z, Zheng Z, Peng L. MicroRNA profiling of serum exosomes in patients with osteosarcoma by high-throughput sequencing[J]. *J Investig Med*, 2020, 68(4): 893-901.
- [36] Fujiwara T, Uotani K, Yoshida A, et al. Clinical significance of circulating miR-25-3p as a novel diagnostic and prognostic biomarker in osteosarcoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 33375-33392.
- [37] Han Z Z, Yi J, Yang Y, et al. SERS and MALDI-TOF MS based plasma exosome profiling for rapid detection of osteosarcoma[J]. *Analyst*, 2021, 146(21): 6496-6505.
- [38] Wang L, Wu J, Song S, et al. Plasma exosome-derived sentrin SUMO-Specific protease 1: a prognostic biomarker in patients with osteosarcoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 625109.
- [39] Jerez S, Araya H, Thaler R, et al. Proteomic analysis of exosomes and exosome-free conditioned media from human osteosarcoma cell lines reveals secretion of proteins related to tumor progression[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(2): 351-360.
- [40] Brady J V, Troyer R M, Ramsey S A, et al. A preliminary proteomic investigation of circulating exosomes and discovery of biomarkers associated with the progression of osteosarcoma in a clinical model of spontaneous disease [J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(5): 1137-1146.
- [41] 杨美菊, 武壮壮, 申振, 等. 调节骨肉瘤的微小 RNA 研究进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(7): 1386-1391.
- [42] Tang Z P, Lu Y B, Chen Y T, et al. Research progress of MicroRNA in chemotherapy resistance of osteosarcoma[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20: 15330338211034262.
- [43] 李骏宇, 孙贵才. 癌症相关成纤维细胞通过转移分泌体 LncRNANEAT1 促进骨肉瘤对 TRAIL 耐药性研究[J]. *中华转移性肿瘤杂志*, 2024, 7(1): 42-48.
- [44] Czarnecka A M, Synoradzki K, Firlej W, et al. Molecular biology of osteosarcoma [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(8): 2130.
- [45] Lei W, Yan C, Ya J, et al. MiR-199a-3p affects the multi-chemoresistance of osteosarcoma through targeting AK4 [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 631.
- [46] Zhou J H, Wu S, Chen Y X, et al. microRNA-143 is associated with the survival of ALDH1⁺ CD133⁺ osteosarcoma cells and the chemoresistance of osteosarcoma [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240(7): 867-875.
- [47] Meng Y C, Gao R, Ma J, et al. MicroRNA-140-5p regulates osteosarcoma chemoresistance by targeting HMG N5 and autophagy[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 416.
- [48] Wei R X, Cao G, Deng Z M, et al. miR-140-5p attenuates chemotherapeutic drug-induced cell death by regulating autophagy through inositol 1, 4, 5-trisphosphate kinase 2 (IP3k2) in human osteosarcoma cells [J]. *Biosci Rep*, 2016, 36(5): e00392.
- [49] Li Y S, Jiang W, Hu Y L, et al. MicroRNA-199a-5p inhibits cisplatin-induced drug resistance via inhibition of autophagy in osteosarcoma cells [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 4203-4208.
- [50] Troyer R M, Ruby C E, Goodall C P, et al. Exosomes from Osteosarcoma and normal osteoblast differ in proteomic cargo and immunomodulatory effects on T cells [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 358(2): 369-376.
- [51] Dong G, Liu F, Han J, et al. In vitro anti osteosarcoma cell growth effect of exosomes sensitized dendritic cells [J]. *Medical Herald*, 2014, 33(7): 874-877.
- [52] Xu J F, Wang Y P, Zhang S J, et al. Exosomes containing differential expression of microRNA and mRNA in osteosarcoma that can predict response to chemotherapy [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 75968-75978.
- [53] Cooks T, Pateras I S, Jenkins L M, et al. Mutant P53 cancers reprogram macrophages to tumor supporting macrophages via exosomal miR-1246 [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 771.
- [54] Zhou C, Wei W, Ma J, et al. Cancer-secreted exosomal miR-1468-5p promotes tumor immune escape via the immunosuppressive reprogramming of lymphatic vessels [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(4): 1512-1528.
- [55] Jerez S, Araya H, Hevia D, et al. Extracellular vesicles from osteosarcoma cell lines contain miRNAs associated with cell adhesion and apoptosis [J]. *Gene*, 2019, 710: 246-257.
- [56] Zhang K L, Dong C, Chen M, et al. Extracellular vesicle-mediated delivery of miR-101 inhibits lung metastasis in osteosarcoma [J]. *Theranostics*, 2020, 10(1): 411-425.
- [57] Pan Y, Lin Y, Mi C. Cisplatin-resistant osteosarcoma cell-derived exosomes confer cisplatin resistance to recipient cells in an exosomal circ_103801-dependent manner [J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(4): 858-868.