

三维模型重构骨肉瘤研究：从类器官到仿生微环境的范式革新

王微, 唐雪峰*

重庆医科大学, 重庆 400016

DOI:10.61369/MRP.2025080023

摘要：骨肉瘤是一种高度侵袭性的原发性恶性骨肿瘤，其发生、发展及转移进程与其所处微环境的动态互作密切相关。转移性骨肉瘤是临床治疗的主要难题，也是影响患者预后的关键因素，约20%–30%的初诊患者已发生肺转移，且术后复发患者的五年生存率不足30%，远低于非转移患者的60%–70%，这凸显了目前治疗策略的局限性。近年来，研究逐步阐明骨微环境通过机械信号传导（如YAP/TAZ通路）、代谢重编程及免疫抑制等机制在骨肉瘤转移中的关键调控作用，但针对微环境互作的靶向干预仍面临转化瓶颈。鉴于此，构建仿生三维培养体系以模拟体内生物力学微环境的异质性特征（如细胞外基质刚度、缺氧梯度及流体剪切力）成为研究热点。相较于传统二维模型，仿生三维体系能更真实地再现肿瘤—基质动态互作、药物响应异质性及转移级联反应，尤其在解析化疗耐药机制与免疫逃逸表型方面展现出显著优势。本综述系统梳理了生物打印、微流控芯片及类器官共培养等前沿技术在骨肉瘤研究中的应用进展，强调其在血管侵袭模拟、耐药机制解析等方面潜力。尽管标准化构建方案与多中心验证体系亟待完善，但此类技术的跨学科交叉创新有望为骨肉瘤精准医学的转化研究提供新方向，并为开发基于微环境调控的个体化治疗策略奠定理论基石。

关键词：骨肉瘤；三维模型；生物打印；类器官

Research on Osteosarcoma Using 3D Model Reconstruction: Paradigm Shift from Organoids to Biomimetic Microenvironments

Wang Wei, Tang Xuefeng*

Chongqing Medical University, Chongqing 400016

Abstract : Osteosarcoma is a highly aggressive primary malignant bone tumor, whose initiation, progression, and metastasis are closely linked to dynamic interactions within the bone microenvironment. Metastatic disease remains the major clinical challenge and a critical determinant of prognosis, with approximately 20 – 30% of patients presenting with pulmonary metastases at diagnosis. Furthermore, the five-year survival rate for patients with postoperative recurrence is less than 30%, significantly lower than the 60 – 70% observed in non-metastatic cases, highlighting the limitations of current therapeutic strategies. Recent studies have revealed that the bone microenvironment regulates osteosarcoma metastasis through mechanical signaling (e.g., YAP/TAZ pathways), metabolic reprogramming, and immune suppression. However, effective translation of microenvironment-targeted interventions remains challenging. To address this, biomimetic three-dimensional (3D) culture systems that replicate *in vivo* biomechanical heterogeneity—such as extracellular matrix stiffness, hypoxic gradients, and fluid shear stress—have emerged as promising research tools. Compared with traditional two-dimensional models, 3D systems better reproduce tumor – stroma interactions, drug response heterogeneity, and metastatic cascades, particularly in elucidating chemoresistance mechanisms and immune evasion phenotypes. This review summarizes advances in bioprinting, microfluidic chips, and organoid co-culture technologies for osteosarcoma research, emphasizing their potential in modeling vascular invasion and uncovering drug resistance mechanisms. Although standardized protocols and multicenter validation remain to be established, these interdisciplinary innovations offer new directions for translational research in precision medicine and lay a foundation for developing individualized, microenvironment-targeted therapies for osteosarcoma.

Keywords : osteosarcoma; three-dimensional model; bioprinting; organoids

引言

(一) 骨肉瘤治疗现状

骨肉瘤 (Osteosarcoma, OS) 是最常见的原发性恶性骨肿瘤，并表现出双峰年龄分布特征，主要发生于青少年（中位发病年龄约为18岁）以及老年人群（60岁以上）^[1]，作为青少年中最常见的骨肿瘤类型，OS 的治疗历经数十年发展仍面临巨大挑战^[2]。自20世纪70年代化疗引入临床实践以来，新辅助化疗联合手术切除已成为OS标准治疗方案。针对儿童和年轻成人（<25岁）的化疗方案以大剂量甲氨蝶呤（12 g/m²）为核心，联合依托泊苷与异环磷酰胺^[3]，其他常用方案则基于阿霉素、顺铂与异环磷酰胺的组合，部分研究尝试联用大剂量甲氨蝶呤以增强疗效^[4]。当前治疗体系使局限性OS患者的5年生存率提升至78%，但转移性或复发患者的5年生存率仍不足20%^[5]。过去40年间，未转移OS的治疗成果取得一定进展，但对于转移性OS，预后几乎无明显改善，打破当前治疗瓶颈仍是研究的关键目标。

(二) 骨肉瘤的微环境

OS微环境是一个由多种细胞成分构成的复杂动态体系，包括骨代谢核心细胞（破骨细胞、成骨细胞、骨细胞）、基质细胞（间充质干细胞、成纤维细胞）、血管系统（内皮细胞、周细胞）、免疫浸润细胞（巨噬细胞、淋巴细胞）以及矿化细胞外基质（Extracellular Matrix, ECM）。正常生理状态下，成骨–破骨偶联通过细胞间信号网络精确调控骨重塑平衡。基于Paget的“种子–土壤”学说^[6]，OS细胞可通过劫持骨微环境的生理信号通路，构建有利于自身定植和增殖的“恶性生态位”^[7]。这一过程涉及细胞因子、趋化因子及可溶性生长因子介导，并借助细胞外囊泡（Extracellular Vesicles, EVs）作为细胞间通讯的重要媒介。当前OS新型治疗策略的开发面临两大挑战：其一是肿瘤细胞的高度异质性导致驱动性治疗靶点匮乏；其二是微环境中基质细胞通过可溶性因子及EVs形成级联信号放大网络，显著增强治疗的复杂性。因此，开发能够保留肿瘤异质性并重建三维微环境结构的体外模型，成为深入理解OS发病机制与治疗策略的关键。

(三) 三维模型(3D)的优势

理想的体外肿瘤模型应具备高度多维仿生特性，能够精准再现肿瘤微环境的体内特征。传统2D培养体系因缺乏对肿瘤生态位关键组分（如血管网络、基质细胞及免疫浸润细胞）的重构能力，难以有效模拟体内肿瘤的异质性特征。此外，2D体系难以模拟三维肿块特有的缺氧梯度、侵袭性边界及干细胞生态位等病理特征。并且从生物力学角度来看，常规培养基底（玻璃/塑料）的刚性模量（~GPa级）与天然骨ECM（~kPa级）存在数量级差异^[8]，而ECM力学特性在OS恶性进展中具有重要调控作用。相比之下，3D培养不仅更贴近生理环境，还能够显著改变细胞的迁移模式（间质–阿米巴转换）、增殖动力学（接触抑制重建）及表观遗传调控（染色质可及性变化），能够为解析转移定植及耐药机制提供更真实的模型基础。更重要的是，3D系统可通过模拟ECM刚度梯度、构建共培养体系及引入流体剪切力，再现微环境对肿瘤侵袭表型和治疗响应的动态调控。目前，基于3D模型的高通量药物筛选、侵袭过程实时成像及机械转导机制解析，已展现出显著的转化医学价值。但需指出，该技术仍存在操作标准化程度低、批次间变异大等工程学瓶颈，制约了其在临床转化中的大规模应用。

一、骨肉瘤体外三维培养模型的技术革新

(一) 骨肉瘤细胞球状体(Spheroid)模型

基于低粘附表面与悬滴法的液基无支架3D培养技术，可高效构建OS肿瘤球状体，该模型通过非锚定依赖生长特性模拟体内肿瘤微球的三维结构，显著提升了体外研究的生理相关性^[9]。Rimann等采用悬滴法构建骨肉瘤经典细胞系（如SaOS2、HOS）来源的肿瘤球体，并发现相比于2D单层培养，3D球体对多种化疗药物（如蒽环类、铂类、紫杉烷类）的半数抑制浓度（IC₅₀）较2D培养显著升高（p<0.05），提示3D模型能够较好地模拟体内肿瘤的耐药特性。这一现象与临床观察一致，即基于2D模型进行剂量预测的治疗方案往往表现出疗效不足。多项独立研究进一步证实，球状体模型在药物渗透屏障（如紧密连接介导的扩散限制）、代谢异质性（糖酵解/氧化磷酸化亚群共存）及应激响应通路激活（HIF-1α/NF-κB信号轴）等方面更接近体内肿瘤特征，为克服临床前研究中的“体外–体内疗效鸿沟”提供了关键模型基础。

(二) 生物打印骨肉瘤模型

生物打印（bioprinting）作为组织工程领域的革新性技术，为构建生理模型提供了全新范式。它通过多喷头系统实现细胞、

生物材料及生物活性因子的同步空间沉积，从而生成具有仿生结构与功能的三维微组织，其优势在于可通过标准化流程实现模型的高通量制备，为体外生物学研究及药物筛选提供精准、可控的实验平台。在OS研究领域，生物3D打印技术可定制化构建仿生骨基质支架，其具备多级孔隙结构、仿生力学性能及优化的细胞–材料界面活性，包括稳定的结构化支撑、适合细胞相互作用的生化环境，以及确保打印组织内营养物质均匀分布的微环境，这为研究肿瘤–骨微环境互作提供理想载体。这些特性可通过调控支架的形态、孔隙率及化学成分实现优化。基于肿瘤–免疫共培养的生物打印模型，可在体外模拟免疫检查点信号及细胞毒性T细胞浸润过程，从而为骨肉瘤免疫疗法的靶标筛选与疗效评估提供高通量平台。该技术已被应用于OS靶向治疗，例如，载铜TCP纳米片修饰的β-TCP支架以及三维生物活性玻璃支架内嵌二维黑磷纳米片在实现原位骨肿瘤消融的同时可协同生物骨修复^[10]。

总而言之，生物3D打印技术可精准整合细胞、支架及生物活性因子，构建高度仿生的OS微环境模型，突破传统模型在模拟免疫–肿瘤互作的局限性，推动OS治疗向“精准清除–功能重建”模式转型。

(三) 类器官

类器官作为一种3D自组织培养的体外模型，广泛应用于生物

医学领域。该技术通过模拟体内微环境信号，引导胚胎干细胞、诱导多能干细胞或成体干细胞分化形成具有空间结构的自组织三维微组织，不仅具备自我更新能力，进行谱系特异性分化，还能够复现源组织的生理结构和功能特征。而人源类器官可保留原发肿瘤的基因组特征及异质性，这有效弥补了传统肿瘤异种移植模型的局限性，该技术被应用于：①肿瘤微环境模拟与演进建模；②个体化用药指导与疗效预测；③高通量抗癌药物筛选与耐药机制解析；④免疫检查点抑制剂响应评估；⑤临床前至临床转化研究范式优化。并且癌前病变来源的类器官可用于肿瘤早期事件的研究，能够展示驱动基因累积和表观遗传重编程的多组学动态变化。

类器官的传统培养体系在模拟癌症进程方面展现出显著优势，但仍难以动态调控以免疫细胞浸润梯度及基质刚度的动态变化为特征的肿瘤微环境的时空异质性。为实现对肿瘤-基质-免疫互作、转移生态位形成及耐药克隆演化等关键生物学过程的高精度动态模拟，通过整合器官芯片的流体力学调控、3D生物打印的空间仿生构建及CRISPR-HOT（同源重组非依赖型类器官基因编辑）的新型类器官培养技术应运而生，该技术在癌症精准医学研究中展现出巨大的应用潜力。

1.D 生物打印类器官

随着3D生物打印技术的兴起，结合类器官与3D生物打印的3D生物打印类器官模型为构建高仿生癌症模型提供了全新策略。它结合了3D生物打印技术，能够精准设计和构建生物材料的核心优势，使这些结构具备可打印性、交联性、生物相容性及可控性。该技术通过空间编程细胞-ECM拓扑排布，定制具有细胞类型特异性分区的异质性结构，能够让类器官的体外成熟度与功能保真性显著提升。此外，该技术还可通过预定义生物样本库（如肿瘤细胞、癌相关成纤维细胞、肿瘤相关巨噬细胞）的空间沉积，精确模拟肿瘤微环境（Tumor Microenvironment, TME）的异质性特征。并且在理想条件下，3D生物打印类器官技术可用于构建包含多种细胞类型、脉管系统，甚至神经与免疫成分的体外功能性器官，能够弥补传统类器官培养体系缺乏组织特异性的局限性，为研究肿瘤-基质相互作用、多器官转移、不同肿瘤类型的TME互作及药物筛选提供了强有力的平台。

2. 类器官与器官芯片的协同应用

参考文献

- [1] Kansara, M., Teng, M. W., Smyth, M. J. & Thomas, D. M. Translational biology of osteosarcoma. *Nat Rev Cancer* 14, 722 - 735 (2014).
- [2] Gaspar, N. et al. Results of methotrexate-etoposide-ifosfamide based regimen (M-EI) in osteosarcoma patients included in the French OS2006/sarcome-09 study. *European Journal of Cancer* 88, 57 - 66 (2018).
- [3] Meyers, P. A. et al. Osteosarcoma: A Randomized, Prospective Trial of the Addition of Ifosfamide and/or Muramyl Tripeptide to Cisplatin, Doxorubicin, and High-Dose Methotrexate. *JCO* 23, 2004 - 2011 (2005).
- [4] Bacci, G. & Lari, S. Current Treatment of High Grade Osteosarcoma of the Extremity: Review. *Journal of Chemotherapy* 13, 235 - 243 (2001).
- [5] Bishop, M. W., Janeway, K. A. & Gorlick, R. Future directions in the treatment of osteosarcoma. *Current Opinion in Pediatrics* 28, 26 (2016).
- [6] Luetke, A., Meyers, P. A., Lewis, I. & Juergens, H. Osteosarcoma treatment - Where do we stand? A state of the art review. *Cancer Treatment Reviews* 40, 523 - 532 (2014).
- [7] Paget, S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev* 8, 98 - 101 (1989).
- [8] Alfranca, A. et al. Bone microenvironment signals in osteosarcoma development. *Cell Mol Life Sci* 72, 3097 - 3113 (2015).
- [9] Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication | *Nature Cell Biology*. <https://www.nature.com/articles/s41556-018-0250-9>.
- [10] Corre, I., Verrecchia, F., Crenn, V., Redini, F. & Trichet, V. The Osteosarcoma Microenvironment: A Complex But Targetable Ecosystem. *Cells* 9, 976 (2020).

类器官与器官芯片均以“体外器官仿生”为目标。二者协同应用可构建具备血管化、机械传感及多组织界面特性的高阶模型，能够显著提升体外体系的生理相关性。相比于传统类器官仅依赖被动扩散进行营养/代谢物交换，难以模拟实体瘤的代谢异质性。类器官-芯片体系可通过嵌入式血管通道模拟可灌注脉管系统，有效克服扩散限制。该技术通过结合微流控通道与仿生支架，实现细胞-ECM-力学信号的精准时空耦合，复现器官发生的动态调控机制，突破了当前类器官模型对复杂肿瘤生态位的完整模拟能力以及时空调控精度不足的缺陷。

此外，类器官缺乏与邻近组织的生理连接，这限制了其在疗法开发、疾病建模及药物评估的应用，而器官芯片能够弥补这种缺失。近年来，骨肿瘤类器官模型的构建技术取得了显著进展，为骨肿瘤研究和精准治疗提供了重要平台。研究表明，利用患者来源组织建立的类器官模型可高度保留原发/转移性肿瘤的分子特征（保真度达85%），为个体化药敏测试奠定了基础；而细胞系衍生的3D模型（如鸡胚绒毛膜尿囊膜体系）则成功模拟了肿瘤的成骨分化潜能。多组学整合分析进一步揭示了关键信号通路（如PI3K-AKT-mTOR）在肿瘤克隆进化中的作用，为靶向治疗提供了新思路。然而，现有模型在模拟肿瘤微环境（如血管网络、免疫互作及力学特性）方面仍存在局限。未来研究需结合器官芯片、3D生物打印等技术优化模型系统，并推动其在个性化医疗和联合治疗评估中的临床转化应用。

总之，类器官与器官芯片的协同应用凭借其高临床预测性、低成本（较PDX模型降低70%）、短周期（培养时间≤4周）及伦理合规性，正逐步取代传统动物模型，成为转化医学研究的新标准。

二、总结

随着对骨肉瘤认识的深入，构建仿生3D培养体系已成为突破当前研究瓶颈的重要方向。尽管在标准化构建方案和多中心验证体系方面仍存在完善空间，但这些3D模型的创新发展无疑为骨肉瘤的精准医学研究开辟了新途径。随着相关技术的不断发展，3D培养体系将逐步实现临床转化，从而为精准医学和个体化治疗的进步提供关键支撑。