

[文章编号] 1007-385X(2008)03-S9-04

白血病干细胞靶向治疗研究进展

Targeted therapy for leukemia stem cells: an update

林之光 综述, 许小平 审阅(复旦大学 附属华山医院, 上海 200040)

[摘要] 白血病干细胞被认为是白血病克隆的来源, 根除白血病干细胞为治愈白血病提供了可能。NF- κ B 在白血病干细胞上高表达, 通过蛋白酶体抑制剂 MG-123、硼替佐米等抑制其活性, 配合蒽环类化疗药物可以有效杀灭白血病干细胞。白血病干细胞特异表面抗原 CD33、C 型凝集素样分子 1、CD96 和 IL-3 受体等均可作为治疗靶点, 其中包括应用单克隆抗体或配体结合细胞毒药物的靶向杀灭作用、单克隆抗体的诱导分化作用等。阻断白血病干细胞和骨髓微环境相互作用亦是有效减少白血病克隆的手段。针对慢性粒细胞白血病干细胞的 BCR - ABL 酪氨酸激酶等通路已有多种药物投入临床试验, 其中一部分已经获得较好的疗效。特殊化合物如小白菊内酯亦对白血病干细胞具有杀灭作用。

[关键词] 白血病干细胞; 凋亡; 膜抗原; 骨髓微环境; 靶向治疗

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

白血病被认为是由白血病干细胞不断克隆增殖分化而产生的。白血病的发生、发展, 乃至耐药性的产生、肿瘤的最终复发, 均同白血病干细胞有关。目前使用的大多数化疗药物均针对处于增殖期白血病细胞, 而处于静止期的白血病干细胞则较难以完全清除。直接针对白血病干细胞的治疗, 能从源头上治疗白血病, 有望成为治愈白血病的新方法。现将这方面国外研究进展作一综述。

1 针对 NF- κ B 的治疗

NF- κ B 高表达同细胞的抗凋亡活性相关。Guzman 等^[1]将处于静止期的正常造血干细胞和白血病干细胞加入可以抑制 NF- κ B 活性的蛋白酶体抑制剂 MG-132 共同培养, 结果显示白血病克隆的数量明显下降而正常造血干细胞几乎不受影响。目前广泛使用的蒽环类化疗药物不具有抑制 NF- κ B 的作用, 相反多可上调 NF- κ B 活性。实验表明单用蒽环类化疗药物去甲氧柔红霉素(idarubicin, IDA)对白血病克隆的数量影响并不大, 将 IDA 同 MG-132 共同作用, 即使是小剂量, 对白血病克隆即有明显的抑制作用, 而对正常干细胞影响甚微。在 NOD/SCID 小鼠体内重建白血病克隆的实验表明, IDA 同 MG-132 合用使其不再具有长期重建白血病克隆的作用。表明蒽环类化疗药物与 NF- κ B 抑制剂对白血病干细胞具有很好的协同作用。

硼替佐米是蛋白酶体抑制剂, 在体外实验中显示出对白血病干细胞的细胞毒性。在将硼替佐米和 IDA、阿糖胞苷用于急性髓细胞白血病患者的临床试验中, 结果显示, 61% 的患者获得完全缓解^[2]。

TDZD-8 是糖原合酶 3 β 抑制剂, 原用于神经系统疾病的治疗, 后发现它可以抑制 NF- κ B 活性。Guzman

等^[3]发现, 原发急性髓系白血病、慢性粒细胞白血病急变期、急性淋巴细胞白血病和慢性淋巴细胞白血病细胞经 TDZD-8 处理后迅速发生细胞死亡。TDZD-8 对髓系白血病干细胞具有细胞毒作用, 而对正常造血干细胞无效。TDZD-8 通过引发膜完整性丢失、抑制 PKC 和 FLT3 信号通路来介导细胞死亡。

2 针对膜表面抗原的治疗

针对白血病干细胞特定的免疫表型研制相应的单克隆抗体可能将成为清除白血病干细胞的有效手段。CD33 在部分白血病干细胞上表达, 针对其特异性单克隆抗体抗 CD33 并在单克隆抗体上结合刺孢霉素(calicheamycin)可以有效杀伤白血病干细胞。C 型凝集素样分子 1(C-type lectin-like molecule 1, CLL-1)在多数的白血病克隆中高表达, van Rhenen 等^[4]发现在白血病干细胞中亦有 CLL-1 表达。在缓解期, CLL-1 细胞高比例同快速复发有关。在正常造血干细胞中, CLL-1 表达完全缺失, 提示 CLL-1 可作为单克隆抗体作用的靶点。Hosen 等^[5]发现免疫球蛋白超家族中的 CD96 在大多数白血病干细胞中有表达, 且在正常干细胞中表达微弱, 也是白血病干细胞特异的免疫表型, 可以作为靶点。

体外实验发现 H90(抗 CD44 单克隆抗体)作用后的白血病细胞发生了多向分化, 粒、单系细胞的比例均

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 39770330)。Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 39770330)

[作者简介] 林之光(1983-), 男, 福建省福州市人, 学士, 住院医师, 主要从事血液肿瘤方面的治疗

* Corresponding author. E-mail: xpxu1111@163.com

明显升高,提示抗 CD44 具有诱导分化作用^[6]。在体外实验中,与 H90 共同培养的白血病干细胞(CD34⁺ CD38⁻)丧失了能在 NOD/SCID 小鼠体内重建白血病模型的能力。将 CD44 特异的单克隆抗体 H90 加入 NOD/SCID 小鼠的白血病模型,植入的白血病克隆减少了 91% 左右,且白血病干细胞(CD34⁺ CD38⁻)的数量较对照有明显减少。而相比较抗 CD44 对 NOD/SCID 小鼠正常造血的重建影响明显减少,即使将抗 CD44 的剂量加倍亦如此。此部分亦同抗 CD44 阻断白血病干细胞骨髓微环境作用有关。

人 IL-3 受体(IL-3 receptor, IL-3R)是一个异二聚体结构,其 α 亚基同配体结合至关重要,其普通 β 亚基同高亲和力配体结合有关,并介导信号转导。IL-3R 在白血病原始细胞上表达。研究发现 IL-3R 的 α 亚基在白血病干细胞上有表达,提示可作为细胞毒药物作用的靶点。白喉毒素同配体 IL-3 结合后经胞吞作用进入细胞液,抑制蛋白合成导致细胞死亡。研究发现白喉毒素白介素 3 融合蛋白 DT₃₈₈IL3 对白血病干细胞具有杀灭作用,而对正常骨髓细胞几乎没有影响。在将 DT₃₈₈IL3 应用到难治性急性髓细胞白血病和骨髓异常增生综合征患者的 I 期临床试验中,40 例 AML 患者中 1 名获得完全缓解(随访 8 个月),1 例获得部分缓解(随访 3 个月),提示疗效不佳^[7]。K116W 和 Δ 125-133 是 DT₃₈₈IL3 的两种变体,对 IL3R 的亲合力远高于 DT₃₈₈IL3。Hogge 等^[8] 研究发现, K116W 和 Δ 125-133 变体较 DT₃₈₈IL3 具有更强的对白血病干细胞的杀灭作用,且对正常骨髓细胞几乎没有影响。

3 干扰白血病干细胞与骨髓微环境的相互作用

造血干细胞的自我更新和分化受到干细胞自身基因和外部骨髓微环境的调节。白血病干细胞同骨髓微环境的相互作用同正常造血干细胞有相似之处。包括骨髓在内的许多器官都可以产生基质细胞衍生因子 1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)。SDF-1 与其受体 CXCR4 相互作用在维持内环境的稳定过程中扮演重要的角色。SDF-1/CXCR4 相互作用在成人干细胞的体内迁移中是必不可少的。在人造干细胞重建 NOD/SCID 小鼠造血的实验中,干细胞的移植受到干细胞表面 CXCR4 和骨髓基质细胞分泌的 SDF-1 的调节。体外和体内试验都表明,通过激活 VLA-4、VLA-5、LFA-1 黏附分子, SDF-1 可以介导干细胞移行至骨髓。Tavor 等^[9] 研究了 SDF-1/CXCR4 相互作用对白血病干细胞的移行和归巢的作用,在将白血病干细胞植入受亚致死剂量射线照射的 NOD/SCID 小鼠后 30 min 用抗人 CXCR4 12G5 阻断同 SDF-1 的作用,结果阻断了白血病

干细胞归巢于骨髓和脾脏;而在 2 d 后再加入抗人 CXCR4 12G5(此时白血病干细胞已归巢于骨髓),结果显示白血病克隆的数量远低于对照组,表明白血病克隆的再植能力亦受到 SDF-1/CXCR4 相互作用的影响。

Rozenveld-Geugien 等^[10] 研究发现, Rac 信号通路对正常造血干细胞和白血病干细胞骨髓基质细胞的相互作用有关。抑制 Rac 信号损害了脐带血 CD34⁺ 细胞对于 MS5 基质细胞的迁移和黏附。长期抑制 Rac 信号阻断了造血祖细胞同骨髓基质细胞的联系,导致干细胞的频率显著下降。CD34⁺ AML 细胞较 CD34⁺ 脐带血细胞具有较高活性的 Rac, 增强对于 MS5 基质细胞的迁移和黏附;而抑制 Rac 导致 CD34⁺ AML 细胞形成克隆的能力显著下降。Rac 信号传导通过影响干细胞同骨髓基质细胞的相互作用来调节白血病干细胞的维持和增殖。

Wang 等^[11] 将白血病干细胞同骨髓基质细胞长期共同培养,发现白血病干细胞的基因表达谱发生了改变。同骨髓基质细胞接触可促进白血病干细胞 VE-钙黏蛋白表达,稳定 β -连环素,上调 bcr/abl 融合基因表达。提示白血病干细胞在骨髓微环境中获得自我更新和增殖能力。Ph + VE-钙黏蛋白 + 肿瘤亚群通过基质细胞支持上调 bcr-abl 酪氨酸激酶活性,而无需外源性 Wnt 信号来获得自我更新能力。

4 针对慢性髓细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)干细胞的治疗

慢性髓细胞白血病也是由白血病干细胞克隆增殖而来,且研究发现 CML 干细胞也有 Ph 染色体,表达 BCR-ABL 酪氨酸激酶。伊马替尼是针对 BCR-ABL 的酪氨酸激酶抑制剂,是治疗 CML 的一线用药。它可以抑制 BCR-ABL 的自磷酸化及下游靶目标如 Crkl 的磷酸化。在伊马替尼临床试验中,发现仅 4% 的患者获得完全的分子生物学缓解,且仍然有部分患者对伊马替尼表现出原发耐药性。至少有 2 种机制可以解释这些现象:酪氨酸激酶基因突变和白血病干细胞对伊马替尼不敏感。达沙替尼是 SRC/BCR-ABL 抑制剂,是第二代酪氨酸激酶抑制剂。Copland 等^[12] 在体外实验中发现对伊马替尼耐药的白血病干细胞中,伊马替尼无法抑制 Crkl 的磷酸化,而达沙替尼在 150 μ mol/L 浓度时可以减少 79% Crkl 磷酸化,直接导致白血病干细胞数量的减少,提示达沙替尼对白血病干细胞具有更强的抑制作用。在将达沙替尼用于伊马替尼耐药的 CML 稳定期患者的 II 期临床试验中,达沙替尼获得了 52%

的细胞遗传学缓解和 16% 的分子生物学缓解;而大剂量伊马替尼仅获得 33% 细胞遗传学缓解和 4% 分子生物学缓解,其中水肿、体液潴留等不良反应在大剂量伊马替尼更常见,而应用达沙替尼后较易发生胸腔积液和骨髓抑制。达沙替尼较伊马替尼对 CML 稳定期患者有较高的细胞遗传学和分子生物学缓解率^[13]。在将达沙替尼用于伊马替尼耐药或不耐受的 CML 急变期患者的临床试验中,经过 8 个月随访观察,总体血液学有效率达 81%,24% 的患者达到完全细胞遗传学缓解^[14]。

伊马替尼可以抑制 CML 白血病干细胞增殖,但仅具有较弱的诱导干细胞凋亡的能力,部分因为凋亡仅限于分裂增殖期细胞,而白血病干细胞多处于静止期。伊马替尼对处于增殖期的白血病细胞亦具有抗增殖作用。Holtz 等^[15]研究发现高浓度的集落刺激因子可以促进 CD34⁺ 白血病细胞增殖,部分克服伊马替尼介导的增殖抑制作用。除了促进增殖作用之外,高浓度集落刺激因子尚具有促进白血病干细胞、祖细胞发育分化的作用。非增殖期白血病干细胞、祖细胞在集落刺激因子作用下进入增殖周期,在伊马替尼作用下发生凋亡。在临床应用中,集落刺激因子如 G-CSF、GM-CSF 增强了细胞的增殖活性,在结合伊马替尼治疗后,残留非增殖期细胞数量明显减少。

Copland 等^[16]考察了具有细胞毒作用的法尼基转移酶抑制剂 BMS-214662。有报道 BMS-214662 被用来杀灭非增殖期肿瘤细胞。伊马替尼可以阻滞慢性髓细胞白血病干细胞的增殖,但无法诱导凋亡从而根除白血病干细胞,而 BMS-214662 独用或者同伊马替尼或达沙替尼联用有效地诱导了增殖期和静止期肿瘤干细胞的凋亡。在将法尼基转移酶抑制剂 tipifarnib 应用于难治、复发急性髓细胞白血病的临床试验中,4% 的患者获得完全缓解,8% 的患者骨髓原始细胞 < 5%,11% 的患者骨髓原始细胞减少 50% 以上,获得缓解的患者中位生存期在 369 d^[17]。在将其用于具有不良预后因素的老年急性髓细胞白血病的临床试验中,14% 的患者获得完全缓解,总体有效率达 23%;在完全缓解的患者中,中位缓解时间达 7.3 个月,中位生存期达 18 个月^[18]。

5 其他治疗

5.1 针对 PTEN

磷酸酶张力蛋白同系物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)是一种负性调节 PI3K 通路的脂质磷酸酶。Yalmaz 等^[19]研究发现,突变 PTEN 使小鼠体内正常造血干细胞增殖能力增加,并动员至外周血和脾,而骨髓内造血干细胞的数量有所减少,且这些造血干

细胞无法在受照射小鼠体内重建造血,提示 PTEN 对维持正常造血至关重要。PTEN 缺失小鼠可发生骨髓增殖性疾病(myeloproliferative disorder, MPD),最终可发展成为白血病。哺乳动物雷帕霉素靶点(mammalian target of rapamycin, mTOR)是磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)通路的丝氨酸-苏氨酸激酶,PI3K 通路在调节细胞基因转录和翻译中起重要的作用,mTOR 是其下游调节因子,控制细胞基因转录和分化。在 PTEN 缺失发生前给予小鼠 mTOR 的抑制剂雷帕霉素可以阻断白血病发生。雷帕霉素不仅去除了白血病干细胞,而且重建了正常造血。在将雷帕霉素应用于对伊马替尼耐药的慢性粒细胞白血病血液学复发患者的临床试验中发现,6 名患者中有 2 名的白细胞由原来大于 20 000/ μ l 减少至 10 000/ μ l 以下,2 名白细胞有短暂下降,并且雷帕霉素抑制了 Ba/F3 细胞的生长,此类细胞表现出多种不同的对伊马替尼耐药的 BCR/ABL 突变^[20]。

5.2 针对特异性肿瘤蛋白

肿瘤治疗中针对酪氨酸激酶抑制剂产生抗药性的主要机制是酶结构域突变。Peng 等^[21]对慢性粒细胞白血病大鼠模型使用热休克蛋白 90(heat shock protein 90, Hsp90)的抑制剂 IPI-504,发现 IPI-504 能够导致 BCR/ABL 蛋白的降解,延长白血病鼠的生存时间,且 IPI-504 对于白血病干细胞具有显著抑制效应而正常造血干细胞不受影响。

5.3 特殊化合物的应用

有报道天然的小白菊内酯复合物可以诱导人白血病干细胞体外凋亡而不影响正常干细胞。然而,其相对较弱的药理特性限制了在临床的应用。Guzman 等^[22]设计小白菊内酯的类似物二甲氨基小白菊内酯,研究其对白血病干细胞的影响,发现它能快速导致白血病干细胞死亡;分子研究提示,二甲氨基小白菊内酯能诱导氧化应激反应,抑制 NF- κ B 活性,激活 P53。

6 结 语

白血病干细胞是白血病难以治愈及复发的根源。针对白血病干细胞的治疗,有可能成为根治白血病的方法。白血病干细胞的多种特性,包括同抗凋亡、自我更新等特性相关的转录因子、信号通道,膜表面特异抗原,同骨髓微环境的相互作用等,都可以作为治疗的靶点。至目前,已经研制出多种针对白血病干细胞靶点的药物,在体外试验中,很多药物显示出对白血病干细胞的良好疗效,而对正常造血细胞影响较小,使临床应用成为可能。部分药物已经进入临床试验,显示出良好的疗效。

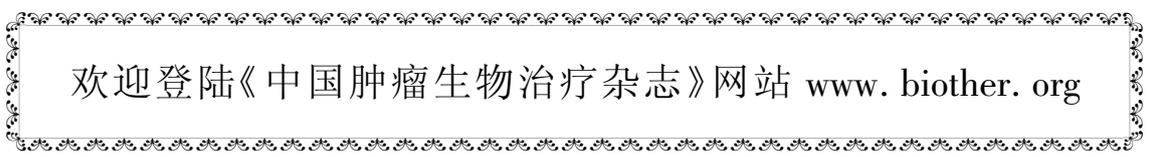
[参 考 文 献]

- [1] Guzman ML, Swiderski CF, Howard DS, *et al.* Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(25):16220-16225.
- [2] Attar EC, De Angelo DJ, Supko JG, *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of bortezomib in combination with idarubicin and cytarabine in patients with acute myelogenous leukemia[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(5): 1446-1454.
- [3] Guzman ML, Li X, Corbett CA, *et al.* Rapid and selective death of leukemia stem and progenitor cells induced by the compound 4-benzyl, 2-methyl, 1,2,4-thiadiazolidine, 3,5 dione (TDZD-8) [J]. Blood, 2007, 110(13): 4436-4444.
- [4] van Rhenen A, van Dongen GA, Kelder A, *et al.* The novel AML stem cell associated antigen CLL-1 aids in discrimination between normal and leukemic stem cells[J]. Blood, 2007, 110(7): 2659-2666.
- [5] Hosen N, Park CY, Tatsumi N, *et al.* CD96 is a leukemic stem cell-specific marker in human acute myeloid leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(26):11008-11013.
- [6] Jin L, Hope KJ, Zhai Q, *et al.* Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells[J]. Net Med, 2006, 12(10): 1167-1174.
- [7] Frankel A, Liu JS, Rizzieri D, *et al.* Phase I clinical study of diphtheria toxin-interleukin 3 fusion protein in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplasia[J]. Leuk Lymphoma, 2008, 49(3): 543-553.
- [8] Hogge DE, Yalcintepe L, Wong SH, *et al.* Variant diphtheria toxin-interleukin-3 fusion proteins with increased receptor affinity have enhanced cytotoxicity against acute myeloid leukemia progenitors[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(4):1284-1291.
- [9] Tavor S, Petit I, Porozov S, *et al.* CXCR4 regulates migration and development of human acute myelogenous leukemia stem cells in transplanted NOD/SCID mice[J]. Cancer Res, 2004, 64(18): 2817-2824.
- [10] Rozenveld-Geugien M, Baas IO, van Gosliga D, *et al.* Expansion of normal and leukemic human hematopoietic stem/progenitor cells requires rac-mediated interaction with stromal cells[J]. Exp Hematol, 2007, 35(5):782-792.
- [11] Wang L, O'leary H, Fortney J, *et al.* Ph⁺/VE-cadherin⁺ identifies a stem cell-like population of acute lymphoblastic leukemia sustained by bone marrow niche cells[J]. Blood, 2007, 110(9): 3334-3344.
- [12] Copland M, Hamilton A, Elrick LJ, *et al.* Dasatinib (BMS-354825) targets an earlier progenitor population than imatinib in primary CML but does not eliminate the quiescent fraction[J]. Blood, 2006, 107(11): 4532-4539.
- [13] Kantarjian H, Pasquini R, Hamerschlak N, *et al.* Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of first-line imatinib: a randomized phase 2 trial[J]. Blood, 2007, 109(12): 5143-5150.
- [14] Guilhot F, Apperley J, Kim DW, *et al.* Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase[J]. Blood, 2007, 109(10): 4143-4150.
- [15] Holtz M, Forman SJ, Bhatia R, *et al.* Growth factor stimulation reduces residual quiescent chronic myelogenous leukemia progenitors remaining after imatinib treatment[J]. Cancer Res, 2007, 67(3):1113-1120.
- [16] Copland M, Pellicano F, Richmond L, *et al.* BMS-214662 potently induces apoptosis of chronic myeloid leukemia stem and progenitor cells and synergizes with tyrosine kinase inhibitors[J]. Blood, 2008, 111(5):2843-2853.
- [17] Harousseau JL, Lancet JE, Reiffers J, *et al.* A phase 2 study of the oral farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2007, 109(12): 5151-5156.
- [18] Lancet JE, Gojo I, Gotlib J, *et al.* A phase 2 study of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in poor-risk and elderly patients with previously untreated acute myelogenous leukemia[J]. Blood, 2007, 109(4):1387-1394.
- [19] Yilmaz OH, Valdez R, Theisen BK, *et al.* Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells [J]. Nature, 2006, 441(7092): 475-482.
- [20] Sillaber C, Mayerhofer M, Böhm A, *et al.* Evaluation of antileukaemic effects of rapamycin in patients with imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia[J]. Eur J Clin Invest, 2008, 38(1): 43-52.
- [21] Peng C, Brain J, Hu Y, *et al.* Inhibition of heat shock protein 90 prolongs survival of mice with BCR-ABL-T315I-induced leukemia and suppresses leukemic stem cells[J]. Blood, 2007, 110(2): 678-685.
- [22] Guzman ML, Rossi RM, Neelakantan S, *et al.* An orally bioavailable parthenolide analog selectively eradicates acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells[J]. Blood, 2007, 110(13): 4427-4435.

[收稿日期] 2008 - 01 - 31

[修回日期] 2008 - 04 - 22

[本文编辑] 王莹



欢迎登陆《中国肿瘤生物治疗杂志》网站 www.biother.org