

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.06.001

· 专家论坛 ·

造血系统恶性肿瘤的定向诱导分化和靶向治疗

姜国胜(山东省医学科学院 基础医学研究所,山东 济南 250062)



姜国胜,博士、研究员、博士生导师,山东省有突出贡献中青年专家、山东省 1020 工程(免疫学)杰出学科带头人、山东省医药卫生免疫学学科带头人、济南市专业技术拔尖人才。1986 年于青岛大学医学院获学士学位,1993 年于上海第二医科大学获硕士学位,2003 年于山东大学获博士学位。2002 年和 2004 年 2 次留学于瑞典卡罗林斯卡医学院,并获得瑞典卡罗林斯卡医学院奖学金和美国癌症研究所青年基金资助。现任国家中医药管理局免疫药理学实验室主任、卫生部生物技术药物重点实验室副主任、山东省肿瘤免疫学与中药免疫学重点实验室主任、山东省现代医用药物与技术重点实验室副主任,兼任美国血液病学会会员、中国免疫学会常务理事、中国医药生物技术学会理事、山东省免疫学会理事长、山东省医药生物技术学会秘书长。作为第一完成人或主要完成人先后承担了国家“十一五”创新药物关键技术重大专项子课题、科技部国际合作项目、国家“八五”科技攻关项目、国家“十一五”科技支撑项目、国家 973 子课题、国家自然科学基金等科研项目 30 余项。先后获得省、部级科技进步二等奖 4 项、三等奖 5 项,山东省医学科技进步一等奖和山东省自然科学学术创新一等奖各 1 项。发表论文 80 余篇,其中在 *Blood*、*Molecular Immunology*、*Leukemia Research* 等 SCI 或 EI 收录杂志发表论文或摘要 20 余篇。E-mail: jianggsh@hotmail.com

[摘要] 造血系统恶性肿瘤(hematopoietic malignancy, HM)除了传统治疗方法外,各种生物治疗方法也发挥着重要作用。其中依据白血病分化障碍的特点,可以采用不同诱导分化剂进行定向诱导分化,即在不同诱导分化剂的作用下,定向诱导分化为粒系细胞、单核/巨噬细胞和 DC 细胞等。其次,针对 HM 发病机制中的关键致病基因、蛋白质或细胞膜抗原分子等,可以设计新型靶向抗体等药物。再有,鉴于白血病细胞分化障碍与 DNA 甲基化和染色体组蛋白乙酰化、去乙酰化异常有关,部分学者在研究白血病相关基因表观遗传学调控基础上,探讨了 DNA 甲基化和组蛋白乙酰化调节药物的治疗作用。另外,针对特异性肿瘤抗原或肽的肿瘤疫苗、细胞因子及其受体介导的靶向治疗,以及相对靶向性的细胞载体治疗都呈现出较好的应用前景。因此,无论是定向诱导分化,抑或是针对关键基因和分子的靶向药物,都为 HM 的治疗提供了新的手段,它们单独或者与其他治疗方法的联合使用,将明显提高 HM 的治疗效果。

[关键词] 造血系统恶性肿瘤;白血病;淋巴瘤;诱导分化;靶向治疗;表观遗传学修饰

[中图分类号] R733; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)06-0589-08

Induction of committed differentiation and target immunotherapy of patients with hematopoietic malignancy

JIANG Guo-sheng(Institute of Basic Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Ji'nan 250062, Shandong, China)

[Abstract] In addition to the conventional therapeutic strategies, biotherapy also plays an important part in the treatment of hematopoietic malignancy (HM). According to the differentiation disorders of leukemia cells, HM should be treated by different differentiation inducers, which may induce them to differentiate into granulocytes, monocytes or DCs. Secondly, based on the key disease-associated genes, proteins, and cell surface antigen molecules in the pathogenesis of HM, new anti-HM drugs such as target antibody can be designed. Thirdly, based on the relationship of abnormalities of DNA methylation, chromosomes histone acetylation and histone deacetylation with the differentiation disorder of leukemia cells, some researchers studied the epigenetic modification of leukemia-associated genes and the therapeutic effects of anti-HM

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30771103, No. 30810444);国家“十一五”重大新药创制科技重大专项子课题(No. 2009ZX09503-010);山东省科技攻关重大项目(No. 2007GG2002023)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30771103, No. 30810444), the National “Eleventh five-years plan” Key Project for Development of New Drugs (No. 2009ZX09503-010), and the Key Scientific Foundation of Shandong Province (No. 2007GG2002023)

drugs regulating DNA methylation and histone acetylation. Last, tumor antigen or peptide specific tumor vaccines, cytokine/receptors-mediated target therapy, and partially-targeted cell vector-based therapy also have potential clinical applications. In conclusion, the differentiation inducers, key genes and molecule-targeted drugs and other target therapy agents all provide new ways for the treatment of HM; these agents used alone or in combination with other therapies will greatly enhance the treatment outcomes of HM.

[**Key words**] hematopoietic malignancy; leukemia; lymphoma; differentiation induction; target therapy; epigenetic modification;

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(6): 589-596]

造血系统恶性肿瘤(hematopoietic malignancy, HM)是血液系统的常见病和多发病,主要包括急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)、急性和慢性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL; chronic lymphocytic leukemia, CLL)、多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)、骨髓增殖性疾病(myeloproliferative disorder, MPD)、霍奇金和非霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma, HL; non-Hodgkin lymphoma, NHL)等^[1]。HM是一种细胞分化障碍相关疾病,其发生的主要机制是由于造血细胞在某一分化阶段出现了分化障碍,不能继续终末分化,保留其恶性增殖的能力。因此可通过药物将白血病或淋巴瘤细胞定向诱导分化为成熟细胞或诱导细胞凋亡,达到治疗的目的。为此国内外学者进行了大量的体外诱导分化实验,如白血病定向诱导分化关键机制与诱导分化治疗模式的建立^[2],在粒系细胞、单核/巨噬细胞、红系细胞、淋巴细胞,以及树突状细胞(dendritic cell, DC)等定向诱导分化相关基础与临床研究方面,都取得了较大的进展。

近年来,随着分子生物学和免疫学技术的发展、对肿瘤细胞生物学和遗传学认识的不断深入以及基因组学和蛋白质组学的应用,与HM发病密切相关的基因、受体、细胞膜分子、细胞内关键转录因子和激酶逐渐被发现和认识,这些表达异常的基因、蛋白或激酶分子为采取针对性的干预治疗提供了靶点^[3]。例如白血病和淋巴瘤发病中的关键致病蛋白或肿瘤细胞膜分子可以作为靶点,开展靶向治疗,许多新型分子靶向治疗药物(molecular targeted therapeutic drug, MTTD)被相继研发^[4],由此形成了HM治疗的一种新手段,即靶向疗法^[5]。因此,定向诱导分化或靶向治疗将成为HM治疗的重要手段或途径^[6]。

1 HM的定向诱导分化治疗

HM是发生于不同分化阶段的一种细胞分化障

碍性疾病,原始细胞不能进行终末分化,保留其恶性增殖的能力。最初人们认为肿瘤细胞的分化障碍是不可逆转的,所以,国内外学者在相当长一段时间内主要依靠化学药物的直接杀伤作用治疗HM,通过破坏DNA的复制、转录和修饰,抑制和杀伤高增殖状态的肿瘤细胞。但是,由于化疗对处于增殖状态的正常细胞也产生杀伤效应,常导致骨髓抑制、免疫抑制及肝肾损害等严重的不良反应;而且反复治疗诱导肿瘤细胞耐药性后,患者难以获得再次缓解。因此,需要研发新的、更加有效和安全的药物。

20世纪50年代,部分学者提出诱导分化治疗恶性肿瘤的理论,即恶性肿瘤细胞在分化诱导剂的作用下向正常细胞方向分化,甚至完全转变成正常细胞。到60至70年代,少数学者报道了二甲基亚砷可诱导小鼠红白血病细胞分化^[7];到80年代初,面对化疗药物的毒性作用,部分学者更加重视肿瘤的诱导分化治疗,尤其是在白血病定向诱导分化方面取得了突破性进展。1986年,在证明维甲酸和异构体维甲酸对HL-60和U937白血病细胞株具有明显诱导分化作用的基础上,我国王振义教授^[8]应用全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)治疗急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)患者,获得了72%的完全缓解率,开创了临床应用诱导分化剂治疗白血病的先河。随后在体外实验的基础上,发现三氧化二砷(As₂O₃)也可诱导APL患者获得完全缓解,其主要作用机制也是通过诱导白血病细胞分化或凋亡^[9]。

在上述成功范例的启发下,国内外学者开始从新型诱导分化药物的发掘、不同类型白血病细胞的定向诱导分化和化疗药物联合应用等角度,探讨白血病诱导分化治疗模式^[10]。目前已证实,不同的白血病细胞株可以经过不同的诱导分化剂诱导分化为成熟的粒系、单核系或红系细胞。例如外源性Wnt5a可以诱导K562细胞分化为单核细胞;TPA能抑制白血病细胞HL-60的增殖,并诱导其向成熟单核细胞、粒细胞两个方向分化;而1,25-二羟基维生

素 D3 可诱导早幼粒细胞白血病细胞向单核细胞分化等^[11]。相对于髓系白血病定向诱导分化的研究,淋巴系白血病的诱导分化研究相对滞后,多数研究局限在体外实验,通过诱导分化剂诱导淋巴细胞或原代白血病细胞的分化或凋亡,并以诱导凋亡为主。

自 1960 年以来,全球已发现和合成各类天然和化学合成的诱导分化剂 80 余种,已应用于临床的有 30 多种。诱导分化剂和化疗药物的联合应用也取得了较好的基础与临床效果^[12]。白血病细胞定向诱导分化机制的研究,包括粒系细胞、单核/巨噬细胞定向诱导分化等也取得了较大进展,并为诱导分化治疗和化疗药物联合应用提供了依据^[13]。然而,尽管发现了许多新型诱导分化剂或者诱导凋亡药物,体外实验也初步证实了它们较好的诱导分化效果,但到目前为止,仍然没有出现类似 ATRA 或 As₂O₃ 诱导 APL 患者获得完全缓解那样好的临床效果。

除了上述白血病细胞经过诱导分化剂直接诱导定向分化成熟外,在证实 HM 患者免疫功能、DC 功能和数量降低的基础上,有学者开始尝试白血病细胞定向诱导分化为 DC 的研究,即白血病细胞诱导分化为白血病来源的 DC(leukemia-DC), leukemia-DC 通过活化 T 细胞发挥抗白血病作用。随后的体外和体内实验均证明了其可行性^[13]。目前的研究结果表明,CML 细胞^[14]、AML 细胞^[15]、CD34⁺ ALL 细胞^[16]、慢性 B 淋巴细胞白血病(B-CLL)细胞^[17]、慢性髓系单核系白血病(chronic myeloid myelogenous leukemia, CMML)细胞^[18]、MDS 细胞等原代白血病细胞,都可以经过不同细胞因子诱导分化为 DC 或 DC 样细胞^[19]。体外实验^[20]证实,K562、THP-1、KG-1、Monomac-6、U-937、MUTZ-3 或 NB4 细胞株也可以诱导分化为不同分化阶段的 DC 或 DC 样细胞(表达不同程度的 DC 分化或成熟标志)。但是,来源于不同类型白血病的 leukemia-DC 的临床治疗效果存在着较大差别^[21]。

2 针对关键基因的靶向治疗

HM 的发生机制比较复杂。以白血病为例,即使是同一种白血病也存在不同的发生机制,涉及到多个关键环节;不同种类的白血病更是存在不同的致病机制。因此,应该根据白血病发病机制中涉及的基因、分子和蛋白质,开展对应的靶向治疗。目前,在针对关键基因的白血病靶向治疗等方面,已经取得了某些进展。

由于 70% 以上的 AML 和前 B 细胞急性淋巴细

胞白血病(前 B-ALL)患者 FMS 样酪氨酸激酶-3 (FMS-like tyrosine kinase-3, *FLT3*) 基因往往发生高水平突变,导致酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK) 活性增强,继而引起白血病细胞增殖。因此,抑制 *FLT3* 的靶向药物具有治疗效果。例如 PKC-412、CEP-701、MLN581 和 SU11248 等 *FLT3* 抑制剂正在进行临床试验,而且初步证明其与化疗联合应用可以取得比较理想的效果^[22]。

通常情况下,Ras 通过法尼基转移酶(farnesyl transferase, FT) 发生法尼基化而活化,在细胞增殖中发挥重要的作用。因此,部分学者推测 *Ras* 基因突变与髓系白血病的发生密切相关。事实上 10% ~ 15% 的 MDS 和 15% ~ 25% 的 AML 患者有 *Ras* 基因突变或异常表达,而 FT 抑制剂(farnesyl transferase inhibitor, FTI) 的确可以通过预先诱导 *Ras* 法尼基化,干扰 *Ras* 信号,抑制白血病细胞增殖。目前,法尼基转移酶抑制剂——tipifarnib, 已在 AML 和 MDS 中获得了临床治疗效果^[23]。*C-Kit* 基因的突变可使其所含的 TK 激活,引起细胞的过度增殖,并常见于 AML、骨髓增生性疾病、鼻咽淋巴瘤等患者。某些抑制 *c-Kit* 基因的靶向药物,如伊马替尼(imatinib) 等,已经用于 HM 的治疗^[24]。

Bcl-2 基因编码的凋亡抑制蛋白在某些难治性白血病中高表达。*Bcl-2* 反义寡核苷酸对部分难治性白血病具有明显的治疗作用^[25]。*Bcl-6* 基因编码的转录抑制因子是生发中心 B 细胞分化的必要因子,在 B 细胞分化等过程中发挥重要作用。针对 *Bcl-6* 的靶向基因封闭措施可通过下调 *Bcl-6* 的表达,诱导 DNA 损伤,发挥抗淋巴瘤作用。例如针对 *Bcl-6* 复合物的特异肽段(*Bcl6* peptide inhibitor, BPI) 能够抑制 *Bcl-6* 复合物的形成和下游 *SMRT* 等基因的表达,用于治疗 B 细胞淋巴瘤^[26]。

其他白血病治疗相关基因靶点有 *SRC*、*MLL*、*CEBPA*、*BAALC*、*MEK/MAPK* 和 *P13* 等。它们在白血病发病机制中的作用以及相应的靶向药物尚待进一步阐明和研发^[27]。

3 针对 HM 细胞膜分子的靶向治疗

目前,针对 HM 细胞表面膜分子的靶向治疗是最为有效和成熟的方法,主要是针对不同表面抗原研发的单克隆抗体药物。例如 CD33 除了在各种骨髓祖细胞、部分早幼粒、中幼粒、晚幼粒细胞表达外,约 85% 的 AML 细胞表达 CD33。CD33 单抗或毒素-CD33 单抗复合物已成为治疗复发性 AML 的有效靶向药物^[28]。大多数恶性淋巴瘤和 CLL 细胞表达

CD52, CD52 单抗——阿仑单抗(alemtuzumab), 可用于 B 淋巴细胞白血病的治疗^[29]。CD20 在恶性增生性 B 细胞上高表达, 它的人源化单抗——利妥昔单抗(rituximab), 通过抗体依赖细胞毒作用(antibody dependent cell mediated cytotoxicity, ADCC)及补体依赖细胞毒作用(complement dependent cytotoxicity, CDC)杀伤 B 细胞, 临床上取得了明显的治疗效果^[30]。需注意的是, 随着 B 细胞的分化成熟 CD22 的表达逐渐增加^[31]。在 B 细胞淋巴瘤中 60%~80% 的 B 细胞表达 CD22, CLL 细胞上 CD22 也高表达^[32]。鼠源性 CD22 抗体——LL2, 或人源性 CD22 抗体——依帕珠单抗(epratuzumab), 可通过 ADCC、CDC 杀伤肿瘤细胞, 或者通过调节 BCR 的活化发挥抗肿瘤作用。用于 CLL 等治疗的抗 CD37 单抗、抗 CD40 单抗、抗 HLA-DR 单抗、抗 TRAIL 受体 CR4 和 DR5 单抗等, 正在进行 I 期临床试验。越来越多的实验结果表明, CD44 表达于所有亚型 AML 细胞, 与特异性单抗结合后, 可触发 AML1~AML5 型白血病细胞的终末分化, 抑制其增殖^[33]。这种 CD44 抗体的诱导分化作用也在体外 THP-1、HL-60、NB4 等白血病细胞系的实验中也得到证实^[34]。Johnsson 等^[35]以基因芯片技术分析了几种细胞对生长抑制剂耐药的细胞系的基因表达谱, 发现这些细胞系中 CD44 表达均有改变。上述结果表明, 以 CD44 为靶点的诱导分化剂具有重要的临床应用前景。多种实体肿瘤细胞高表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 白血病细胞也高表达 VEGF, 且 VEGF 高表达与预后不良相关。抗 VEGF 单抗(贝伐单抗, bevacizumab)可辅助化疗后 AML 的治疗。例如 II 期试验中, 复发/难治性 AML 大剂量化疗后第 8 天开始应用贝伐单抗, 获得了明显的疗效。

除了上述较为成熟的细胞膜分子抗体药物外, 其他 CD 抗原相应的抗体药物也取得了某些进展。如 95% 以上的 B 淋巴瘤细胞、B 细胞白血病前体细胞及 CLL 细胞表达 CD19 抗原。95% 的间变大细胞淋巴瘤及 87% 的 HL 细胞表达 CD30 抗原, 其他淋巴瘤如大细胞性淋巴瘤、淋巴增生性疾病的淋巴细胞上也表达 CD30。因此, CD30 抗体的研究倍受关注^[36-37]。CD74 是一种非多形性 II 型膜蛋白, CD74 激活后通过酪氨酸激酶(Syk)及磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3k)/蛋白激酶 B(Akt)导致 B 细胞的增殖^[38]。超过 95% 的 FL、80% 的 DLBCL、超过 90% 的 CLL/小淋巴细胞淋巴瘤、超过 95% 的多发性骨髓瘤及 30%~50% 的原发性巨球蛋白血症患者的白血病细

胞都表达 CD74 抗原。这些结果促进了抗 CD74 单抗的研究。进一步研究^[39]证实 B-CLL 白血病 B 细胞上的 CD74 被活化后, 通过上调 Bcl-xl 的表达, 抑制白血病 B 细胞凋亡。CD80(CD80(B7.1))是一种表达于细胞表面的共刺激因子, 一过性地表达于活化 B 细胞、抗原提呈细胞及 T 细胞表面, 持续地表达于各种类型 NH 细胞表面。抗 CD80 抗体与肿瘤细胞上 CD80 结合, 通过 ADCC 促进肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖^[40]。

4 针对融合蛋白及其激酶的靶向治疗

HM 所涉及的基因改变是十分复杂的, 有些 HM 有特异的染色体移位, 形成融合基因, 其编码的融合蛋白是 HM 发病的主要机制。例如 APL 典型的 t(15;17)染色体移位, 形成的 PML/RAR α 融合基因及相应蛋白能抑制 APL 白血病细胞分化和凋亡, 促进白血病细胞增殖; M2b 型急性白血病有典型的 t(8;21)染色体移位, 形成的 AML1/ETO 融合基因及相应蛋白是导致 M2b 型急性白血病的主要原因之一; CML 的染色体改变是 t(9;22), 形成 Bcr/Abl 融合蛋白, 其内源性酪氨酸激酶(TK)的活化与 CML 的发生密切相关。因此, 与 HM 发生密切相关的蛋白及其激酶分子, 如 Bcr/Abl 融合蛋白、ABL 蛋白中 TK 分子都可成为靶向药物的靶点。

以 Bcr/Abl 为靶点的靶向药物有两种: 一种是使 Bcr/Abl 降解的药物, 如砷剂, 体外和体内的研究都证明, 氧化砷可使 Bcr/Abl 融合蛋白降解, 这可能是砷剂治疗 CML 的主要机制。另一种是 Bcr/Abl 信号转导通路的抑制剂, 如 TK 抑制剂伊马替尼, 通过竞争性地阻断 ATP 与 TK 催化中心的结合, 抑制 TK 激活, 发挥靶向治疗的作用^[41]; 伊马替尼还可抑制 c-Kit、血小板衍生生长因子受体(PDGFR)中的 TK 活性^[42]。AMN107 是一种氨基吡啶, 为伊马替尼新的衍生物, 其作用效应约为伊马替尼的 25 倍。AMN107 主要针对伊马替尼耐药者设计, 对于伊马替尼耐药的 CML 患者, AMN107 无疑是一个新的希望。

RNA 沉默(RNA silencing)是一种在真核生物体内普遍存在的抑制基因表达的机制。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术也可通过转录后沉默机制, 高效抑制靶基因的表达。RNAi 对白血病实验性治疗已有报道, 针对 Bcr/Abl 融合基因的 siRNA 能显著抑制 Bcr/Abl 蛋白的表达, 抑制 Bcr/Abl 依赖性肿瘤细胞的生长。在以 TK 为靶点的靶向药物

研究中,发现急、慢性髓细胞白血病中 TK 常发生突变和异常活化,与白血病发生密切相关。因此,TK 可作为肿瘤治疗的一个靶点。不少处于实验阶段的 TK 抑制剂或 TK 受体抑制物等靶向药物为 HM 的靶向治疗提供了重要的手段。

5 针对凋亡相关蛋白的靶向治疗

白血病细胞不能发生终末分化或失去分化后凋亡的主要原因之一是抗凋亡蛋白优势表达或异常活化。因此,下调抗凋亡蛋白的表达可通过诱导白血病细胞凋亡治疗白血病。凋亡蛋白抑制物(inhibitors of apoptosis proteins, IAPs)属于 caspase 抑制物家族成员,可结合并抑制 caspase 3、7 和 9 活化,阻断细胞凋亡。目前已在人类至少发现 8 种 IAPs,其中 XIAP(X-linked IAP)和生存素(survivin)是最受关注的 IAPs。XIAP 和生存素的反义核苷酸以及针对 XIAP 分子 BIR2 功能区(结合并抑制 caspase 3 和 7)和 BIR3 功能区(结合并抑制 caspase 9)的小分子抑制物,能够阻断 XIAP 的活化。在部分 AML 患者的研究中,发现此 XIAP 小分子抑制物可诱导肿瘤细胞凋亡^[43]。由于对生存素蛋白结构及其抑制 caspase 活化和阻断有丝分裂的机制还不甚了解,目前尚未设计出合适的生存素小分子抑制物。

真核细胞中多数蛋白通过泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin proteasome pathway, UPP)降解,蛋白降解(如有丝分裂期间细胞周期蛋白及细胞周期蛋白依赖激酶的及时降解)对于细胞增殖等功能起着决定性作用。因此,泛素-蛋白酶体抑制物可通过降低相关蛋白或激酶的降解,抑制白血病细胞增殖。PS-341(现称为 bortezomib)具有诱导细胞凋亡的作用,可抑制 NF- κ B 的核转录,干扰 MARK 通路介导的细胞增殖信号,诱导 p21Cip1 和 p27Kip1 等的聚集。目前 bortezomib 已经进入 I-III 期临床试验, I 期试验主要用于多发性骨髓瘤(MM)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)^[44]的治疗。

在 Bcl-2 家族分子表达调控的研究方面, Bcl-2 家族成员根据 Bcl-2 同源区(Bcl-2 homology, BH)组成的不同可分为 3 组:抗凋亡成员组(包含 4 个 BH 区)包括 Bcl-2、Bcl-xl、Bcl-w、Mcl-1 和 A1;前凋亡成员组(包含 1~3 个 BH 区)包括 Bax 和 Bak;前凋亡蛋白相关成员组包括 Bid、Bad、Bim、Bik、PUMA 和 NOXA 等。设计 Bcl-2 抑制物是诱导肿瘤细胞凋亡的重要策略。ABT-737 是结合 Bcl 蛋白 BH3 功能区对接沟的小分子药物,可抑制 Bcl-xl、Bcl-2 和 Bcl-w 的活化,目前已在动物实验中证实了其抗肿瘤活性。

GX15-070 是另一种抑制 Bcl 蛋白的小分子药物,它可结合并抑制 Bcl-w、Bcl-xl 和 Mcl-1,进而活化前凋亡蛋白如 Bax 和 Bak,目前 GX15-070 已用于复发/难治性 CLL 的 I 期试验。淋巴瘤细胞常涉及 Bcl-2 基因的染色体易位,形成了 Bcl-2-IgH 转录本和 Bcl-2 的超表达,故下调 Bcl-2 的表达促进细胞凋亡是淋巴瘤靶向治疗的策略之一。如利用 Bcl-2 反义核苷酸下调 AML 细胞 Bcl-2 的表达,可增加 AML 细胞对化疗的敏感性;Bcl-2 反义核苷酸(genaense, GNS)的 I 期临床试验在 8/20 例复发/难治性 AML 患者中显示了较好的效果, III 期试验正在评价其对化疗诱导缓解和巩固治疗的协同作用。针对 Bcl-2 基因的 dsRNA 转染入 HL-60、U937、THP-1 和 K562 细胞,均可沉默 Bcl-2 蛋白的表达,诱导这些细胞的凋亡^[45]。siRNA 作为一种使异常基因沉默的有效方法,其在 HM 治疗中的应用还需进一步深入研究。

6 针对表观遗传修饰的靶向治疗

表观遗传修饰(epigenetics modification)是指 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和甲基化等^[46]。HM 的发生和发展与表观遗传修饰异常密切相关,尤其是细胞分化与特定基因的选择性表达。表观遗传修饰常通过组蛋白码(histone code)的翻译来实现,即通过局部染色体组蛋白乙酰化和组蛋白去乙酰化来启动或关闭相关基因的转录。因此,有人将组蛋白码称之为“第二套遗传密码”,它能决定特定基因的选择性表达,调控细胞的生长与分化。组蛋白乙酰化状态由组蛋白乙酰化酶(histone acetylase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)所调控。HAT/HDAC 的平衡紊乱会使基因表达失控和肿瘤的发生。例如白血病细胞由于染色体移位产生融合基因,表达的融合蛋白异常募集 HDAC,引起组蛋白过度去乙酰化,使基因转录受抑和白血病的发生。因此,以 HDAC 为靶点设计 HDAC 抑制剂(HDAC inhibitor, HDACI),通过抑制 HDAC 活性使组蛋白乙酰化,重新激活白血病细胞中由于不适当的组蛋白去乙酰化而表达受阻的基因,促进白血病细胞分化或凋亡,治疗白血病^[47]。HDACI 的作用机制主要有以下两个方面:一是阻滞细胞周期和促进细胞分化;二是诱导细胞凋亡。如在 HDACI 联合 TRAIL 治疗白血病的研究中发现,HDACI 可以增强 TRAIL 诱导白血病细胞(HL-60、Jurkat、K562 和 U937 细胞)凋亡的潜能。HDACI 作为一类新的靶向抗癌药,可以诱导多种肿瘤细胞分化和凋亡,其中几种已经进入临床试验,并在患者可以耐受的剂量

表现出对 HM 显著的抗肿瘤活性。近年来, HDACI 的种类不断增加, 常见的有丁酸盐及其衍生物苯基丁酸盐(phenylbutyrate, PB) 为代表的短链脂肪酸; 曲古菌素 A(trichostatin A, TSA)、SAHA、SBHA、CB-HA 等为代表的氧酸类; FR901228、oxamfltin 等为代表的环型四肽类; 以及苯胺胺类等, 它们已经成为肿瘤治疗的候选药物^[48]。

DNA 甲基化也是表观遗传修饰中研究最深入的机制之一。DNA 甲基化转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)将甲基转移到 DNA 上胞嘧啶 5 碳位置, 形成富含 CpG 区域的 CpG 岛, 延伸到 DNA 的启动子区域, 抑制基因的表达^[49]。肿瘤抑制基因启动子区域过甲基化是 HM 发生的重要机制。AML、MDS、ALL 和 NHL 患者都存在不同程度的 *p15INK4B* (*p15*) 基因的高甲基化, B 细胞 NHL 存在 *p16INK4A* (*p16*) 基因的高甲基化^[50]。另外, HM 也同样存在促凋亡基因高甲基化、抗凋亡基因低甲基化现象。细胞周期调控蛋白基因、细胞因子信号传导抑制基因等的甲基化水平也与 HM 有关, DNA 甲基化程度高的 HM 细胞表现为抗凋亡, 去甲基化处理后可恢复 HM 细胞对凋亡诱导的敏感性。目前甲基化为靶点的 HM 治疗药物, 效果比较明显的有传统代表性药物——去甲基化药物 5 杂氮-2'-脱氧胞嘧啶(5-Aza-CdR) 和主要成分为 HDACI 的纯化人尿制剂 CDA-2(cell differentiation agent-2)。

7 免疫治疗

免疫治疗通过恢复肿瘤患者低下的免疫功能, 调节被破坏的机体与肿瘤之间的平衡, 延长患者生存期。免疫治疗常用方法包括细胞因子疗法、细胞因子受体靶向治疗、细胞载体靶向治疗、肿瘤疫苗等。

在细胞因子的应用方面, 细胞因子可调节免疫效应细胞的功能, 或者改变免疫应答相关细胞表面共刺激分子的表达。细胞因子的效应具有一定的选择性, 如 IFN- α 可用于治疗毛细胞白血病和滤泡性淋巴瘤; IL-2 可以用于治疗 AML, 尤其是缓解期的 AML 患者^[51]。其他的细胞因子对白血病的治疗作用, 如 GM-CSF 或 IL-12 等, 还在进一步验证之中。

针对细胞因子受体的靶向治疗, 主要是利用细胞因子与细胞因子受体的特异性结合, 定向传递外毒素融合蛋白、放射性核素或细胞毒药物, 特异性杀伤高表达细胞因子受体的白血病细胞, 这是继抗原抗体结合导向治疗后的第二代靶向治疗。目前, 国内外学者已经对 IL-3/IL-3R、IL-4/IL-4R、GM-CSF/

GM-CSFR 等系统的靶向杀伤策略进行了较深入的研究。

细胞载体靶向治疗是指某些细胞具有靶向肿瘤部位的特性, 这些肿瘤趋化性细胞可以感应肿瘤微环境发出的信号, 到达肿瘤部位。因此, 可利用细胞这一特性携带不同的治疗性目的基因的病毒载体, 进行系统给药治疗, 通过细胞趋化性作用局部聚集细胞载体, 发挥细胞携带病毒载体的杀伤肿瘤作用。但是, 目前细胞载体的肿瘤特异性还不十分确切, 随着这方面研究的不断深入, 将会设计出更为特异及有效的靶向肿瘤的细胞载体。

针对 HM 抗原或抗原肽的肿瘤疫苗是一类肿瘤细胞及肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA) 疫苗, 可介导肿瘤特异性的免疫反应。在临床疫苗研制中, 抗独特型抗体疫苗 Id 可作为 TAA 或靶抗原。已明确证实, Id 疫苗对 MRD 的滤泡性淋巴瘤患者有明显的抗肿瘤效应, 但 Id 疫苗对于其他类型 B 细胞恶性淋巴瘤的效果尚未被证实。

8 结 语

HM 的治疗已从过去的化疗发展到定向诱导分化和靶向治疗。针对关键基因、细胞膜分子、特异融合蛋白及其激酶、凋亡相关蛋白的靶向治疗, 以及表观遗传学调控药物, 在体外实验结果的基础上, 都进行了不同阶段的临床试验。其中 ATRA 或砷剂治疗 APL、伊马替尼治疗 CML、利妥昔单抗治疗淋巴瘤等, 都是诱导分化治疗和靶向治疗的成功典范。尽管当前靶向治疗应用于临床取得的肯定疗效尚不多, 但随着人们对 HM 的发生、发展与机体免疫系统间关系更为深入的认识, HM 的靶向治疗将会取得更令人瞩目的效果。因此, 需要在进一步寻找 HM 发病相关的各种关键基因、蛋白和激酶分子的基础上, 设计新型靶向药物。针对靶向药物作用靶点单一, 而 HM 发病机制涉及多个基因和靶点的特点, 积极探索不同靶向药物间, 或者靶向药物与化疗药物间联合应用的治疗策略, 最终将攻克 HM。

[参考文献]

- [1] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: Rationale and important changes [J]. Blood, 2009, 114(5): 937-951.
- [2] de Thé H, Chen Z. Acute promyelocytic leukaemia: Novel insights into the mechanisms of cure [J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(11): 775-783.

- [3] 糜坚青, 王振义. 急性白血病细胞遗传和分子发病机制以及相关靶向治疗 [J]. 内科理论与实践, 2006, 1(1): 23-29.
- [4] Ueda T. Update on molecular-targeted therapy in hematologic malignancies [J]. Int J Clin Oncol, 2007, 12(5): 311-312.
- [5] Guinn BA, Mohamedali A, Thomas NS, Mills KI. Immunotherapy of myeloid eukaemia [J]. Cancer Immunol Immunother, 2007, 56(7): 943-957.
- [6] Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: From highly fatal to highly curable [J]. Blood, 2008, 111(5): 2505-2515.
- [7] Friedman H, Ceglowski WS. Leukemia virus-induced immunosuppression: VIII. Rapid depression of *in vitro* leukocyte migration after infection of mice with friend leukemia virus [J]. J Immunol, 1971, 107(6): 1673-1681.
- [8] Huang ME, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhao L, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia [J]. Blood, 1988, 72(2): 567-572.
- [9] Emadi A, Gore SD. Arsenic trioxide – an old drug rediscovered [J]. Blood Rev, 2010, 24(4/5): 191-199.
- [10] Nowak D, Stewart D, Koefler HP. Differentiation therapy of leukemia: 3 decades of development [J]. Blood, 2009, 113(16): 3655-3665.
- [11] Kim SH, Kang SN, Kim HJ, Kim TS. Potentiation of 1, 25-dihydroxyvitamin D(3)-induced differentiation of human promyelocytic leukemia cells into monocytes by costunolide, a germacranolide sesquiterpene lactone [J]. Biochem Pharmacol, 2002, 64(8): 1233-1242.
- [12] Chen Z, Wang W, Pan J, Chen L, Xue Y. Combination of all-trans retinoic acid with butyric acid and its prodrugs markedly enhancing differentiation of human acute promyelocytic leukemia NB4 cells [J]. Chin Med J (Engl), 1999, 112(4): 352-355.
- [13] Cignetti A, Vallario A, Roato I, Circosta P, Allione B, Casorzo L, et al. Leukemia-derived immature dendritic cells differentiate into functionally competent mature dendritic cells that efficiently stimulate T cell responses [J]. J Immunol, 2004, 173(4): 2855-2865.
- [14] Nieda M, Nicon A, Kikuchi A, Kashiwase K, Taylor K, Suzuki K, et al. Dendritic cells stimulate the expansion of ber-abl specific CD8⁺ T cells with cytotoxic activity against leukemic cells from patients with chronic myeloid leukemia [J]. Blood, 1998, 91(3): 977-983.
- [15] Bagheri K, Alimoghdam K, Pourfathollah AA, Hassan ZM, Hajati J, Moazzeni SM. The efficient generation of immunocompetent dendritic cells from leukemic blasts in acute myeloid leukemia: A local experience [J]. Pathol Oncol Res, 2009, 15(2): 257-267.
- [16] Cignetti A, Bryant E, Allione B, Vitale A, Foa R, Cheever MA. CD34(+) acute myeloid and lymphoid leukemic blasts can be induced to differentiate into dendritic cells [J]. Blood, 1999, 94(6): 2048-2055.
- [17] łuczynski W, Stasiak-Barmuta A, Piszcz J, Ilendo E, Kowalczyk O, Krawczuk-Rybak M. B-cell chronic lymphocytic leukemia-derived dendritic cells stimulate allogeneic T-cell response and express chemokines involved in T-cell migration [J]. Neoplasma, 2007, 54(6): 527-535.
- [18] Oehler L, Berer A, Keil F, Weinländer G, König M, Haas OA, et al. Generation of dendritic cells from human chronic myelomonocytic leukemia cells in fetal calf serum-free medium [J]. Leuk Lymphoma, 2000, 38(5/6): 577-586.
- [19] Kufner S, Fleischer RP, Kroell T, Schmid C, Zitzelsberger H, Sallih H, et al. Serum-free generation and quantification of functionally active Leukemia-derived DC is possible from malignant blasts in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes [J]. Cancer Immunol Immunother, 2005, 54(10): 953-970.
- [20] Mohty M, Olive D, Gaugler B. Leukemic dendritic cells: Potential for therapy and insights towards immune escape by leukemic blasts [J]. Leukemia, 2002, 16(11): 2197-2204.
- [21] Houtenbos I, Westers TM, Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA. Leukemia-derived dendritic cells: Towards clinical vaccination protocols in acute myeloid leukemia [J]. Haematologica, 2006, 91(3): 348-355.
- [22] Small D. Targeting FLT3 for the treatment of leukemia [J]. Semin Hematol, 2008, 45(3 Suppl 2): S17-21.
- [23] Karp JE, Lancet JE. Tipifarnib in the treatment of newly diagnosed acute myelogenous leukemia [J]. Biologics, 2008, 2(3): 491-500.
- [24] Zhu X, Ma Y, Liu D. Novel agents and regimens for acute myeloid leukemia; 2009 ASH annual meeting highlights [J]. J Hematol Oncol, 2010, 3:17.
- [25] Smith S. Anti-Bcl2 therapy in chronic myelogenous leukemia [J]. Leuk Lymphoma, 2008, 49(7): 1232-1233.
- [26] McLaughlin P. Antilymphoma therapy with a Bcl-6 inhibitor [J]. Curr Hematol Malig Rep, 2009, 4(4): 183-184.
- [27] Gore SD. New agents for the treatment of AML recent study findings [J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2008, 6(11): 6-8.
- [28] Kobayashi Y, Tobinai K, Takeshita A, Naito K, Asai O, Dobashi N, et al. Phase I/II study of humanized anti-CD33 antibody conjugated with calicheamicin, gemtuzumab ozogamicin, in relapsed or refractory acute myeloid leukemia: Final results of Japanese multicenter cooperative study [J]. Int J Hematol, 2009, 89(4): 460-469.
- [29] de Decker M, Bacher K, Thierens H, Slegers G, Dierckx RA, de Vos F. *In vitro* and *in vivo* evaluation of direct rhenium-188-labeled anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab for radioimmunotherapy of B-cell chronic lymphocytic leukemia [J]. Nucl Med Biol, 2008, 35(5): 599-604.
- [30] Murawski N, Pfreundschuh M. New drugs for aggressive B-cell and T-cell lymphomas [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(11): 1074-1085.
- [31] Kummur S, Chen HX, Wright J, Holbeck S, Millin MD, Tomaszewski J, et al. Utilizing targeted cancer therapeutic agents in combination: Novel approaches and urgent requirements [J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(11): 843-856.
- [32] Decker T, Oelsner M, Kreitman RJ, Salvatore G, Wang QC, Pastan I, et al. Induction of caspase-dependent programmed cell death in B-cell chronic lymphocytic leukemia by anti-CD22 immunotoxins [J]. Blood, 2004, 103(7): 2718-2726.
- [33] Magyarosy E, Sebestyén A, Timúr J. Expression of metastasis as-

- sociated proteins, CD44v6 and NM23-H1, in pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(1B): 819-823.
- [34] Bourguignon LY, Zhu D, Zhu H. CD44 isoform-cytoskeleton interaction in oncogenic signaling and tumor progression [J]. *Front Biosci*, 1998, 3: d637-649.
- [35] Iida N, Bourguignon LY. New CD44 splice variants associated with human breast cancers [J]. *J Cell Physiol*, 1995, 162(1): 127-133.
- [36] Hansen H, Heuck F. The fully human anti-CD30 antibody 5F11 activates NF- κ B and sensitizes lymphoma cells to bortezomib-induced apoptosis [J]. *Blood*, 2005, 106(5): 1839-1842.
- [37] Zhang M, Yao Z, Patel H, Garmestani K, Zhang Z, Talanov VS, et al. Effective therapy of murine models of human leukemia and lymphoma with radiolabeled anti-CD30 antibody, HeFi-1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(20): 8444-8448.
- [38] Stein R, Mattes MJ, Cardillo TM, Hansen HJ, Chang CH, Burton J, et al. CD74: A new candidate target for the immunotherapy of B-cell neoplasms [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(18 Pt 2): 5556s-5563s.
- [39] Starlets D, Gore Y, Binsky I, Haran M, Harpaz N, Shvidel L, et al. Cell-surface CD74 initiates a signaling cascade leading to cell proliferation and survival [J]. *Blood*, 2006, 107(12): 4807-4816.
- [40] Czuczman MS, Thall A, Witzig TE, Vose JM, Younes A, Emmanouilides C, et al. Phase I/II study of galiximab, an anti-CD80 antibody, for relapsed or refractory follicular lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(19): 4390-4398.
- [41] Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the Bcr/Abl tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia [J]. *New Eng J Med*, 2001, 344(14): 1031-1037.
- [42] Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, Stover EH, Legare RD, Cortes J, et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome [J]. *New Engl J Med*, 2003, 348(13): 1201-1214.
- [43] Schimmer AD. Novel therapies targeting the apoptosis pathway for the treatment of acute myeloid leukemia [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2007, 8(4): 277-286.
- [44] Benevolo G, Larocca A, Gentile M, Pregno P, Gay F, Botto B, et al. The efficacy and safety of bortezomib and dexamethasone as a maintenance therapy in patients with advanced multiple myeloma who are responsive to salvage bortezomib-containing regimens [J]. *Cancer*, 2010, [Epub ahead of print]
- [45] Cioca DP, Aoki Y, Kiyosawa K. RAN interference is a functional pathway with therapeutic potential in human myeloid leukemia cell lines [J]. *Cancer Gene Ther*, 2003, 10(2): 125-133.
- [46] Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy [J]. *Nature*, 2004, 429(6990): 457-446.
- [47] Kuendgen A, Strupp C, Aivado M, Bernhardt A, Hildebrandt B, Haas R, et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid [J]. *Blood*, 2004, 104(5): 1266-1269.
- [48] Bi G, Jiang G. The molecular mechanism of HDAC inhibitors in anticancer effects [J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3(4): 285-290.
- [49] Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer [J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(6): 415-428.
- [50] 陈燕, 李新刚. 表观遗传修饰与白血病 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2006, 14(4): 635-638.
- [51] Stein AS, O'Donnell MR, Slovak ML, Snyder DS, Nademanee AP, Parker P, et al. Interleukin-2 after autologous stem cell transplantation for adult patients with acute myeloid leukemia in first complete remission [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(4): 615-623.
- [52] Okur FV, Brenner MK. Cellular immunotherapy of cancer [J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 651: 319-345.
- [收稿日期] 2010-11-15 [修回日期] 2010-11-25
[本文编辑] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH用正体除外),例如*m*(质量)、*t*(时间)、*c*(浓度)、*V*(体积)、*p*(压力)、*F*(力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时,一般使用L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成mg/kg/d的形式,应写成mg/(kg·d)或mg·kg⁻¹·d⁻¹的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号A°(埃)已不用,应写作0.1nm;时间单位“小时”符号为h(不是hr)、“秒”符号为s(不是sec);转速单位符号为r/min(不是rpm);量浓度单位符号为mol/L(不是M、N,也不是mol/mm³);力的单位“牛顿”符号为N[不是dyn(达因)、kgf(千克力),换算1dyn=10⁻⁵N];热量单位“焦耳”符号为J[不是cal(卡)、kcal(千卡),换算1cal=4.187J];放射性活度单位符号为Bq[不是Ci(居里),换算1Ci=3.7×10¹⁰Bq]。

(本刊编辑部)