

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.21.008
文章编号: 1005-8982 (2023) 21-0049-09

综述

白血病干细胞在急性髓系白血病治疗中的研究进展*

李秀钰¹, 胡绍雯², 朱惠芳³

(1. 赣南医学院第一临床医学院, 江西 赣州 341000; 2. 赣南医学院基础医学院, 江西 赣州 341000; 3. 赣南医学院第一附属医院 儿童医学研究所, 江西 赣州 341000)

摘要: 急性髓系白血病的高复发率及药物的耐药性是导致患者病死的主要原因。白血病干细胞被认为是急性髓系白血病发生及复发的起源, 是急性髓系白血病治疗产生耐药性的重要原因。靶向白血病干细胞有望成为提高急性髓系白血病治愈率和降低复发率的主要治疗策略。近几年国内外对靶向白血病干细胞的研究较多。该文从白血病干细胞的来源、生物学特性、生存微环境、相关免疫表型、相关信号通路、靶向治疗策略等方面进行综述, 并重点阐述治疗策略, 以期为急性髓系白血病的治疗提供新的思路。

关键词: 急性髓系白血病; 白血病干细胞; 靶向治疗

中图分类号: R733.71

文献标识码: A

The research progress of therapeutic strategies on acute myeloid leukemia by targeting leukemic stem cells*

Li Xiu-yu¹, Hu Shao-wen², Zhu Hui-fang³

(1. The First Clinical Medical College, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China;
2. School of Basic Medicine, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China;
3. Institute of Children's Medicine, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China)

Abstract: The high relapse rate and drug resistance are main causes of death in acute myeloid leukemia (AML) patients. Leukemic stem cells (LSCs) are supposed to be responsible for the proliferation of leukemia cells and facilitate the development of relapse. Therefore, targeting LSCs is expected to be an effective strategy to improve the patients' survival rate and reduce relapse rate even cure AML. In the last decade, more and more studies are focused on the special role of LSCs on leukemogenesis and therapeutic strategies based on LSCs. In this review, we will summarize the origin of LSCs, their biological characteristics, the survival microenvironment for LSCs, their relevant immunophenotypes, and the involved signaling pathways related to LSCs. Particularly, we will highlight the therapeutic strategies based on LSCs, which may provide novel ideas for the treatment of AML.

Keywords: leukemia; leukemia stem cells; targeted therapy

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是成人最常见、最致命的一种急性白血病, 原始造

血干细胞/下游祖细胞的异常克隆增殖是其发生发展的重要机制^[1], 也是最近的研究热点。现临床对

收稿日期: 2023-02-15

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 82003043); 江西省人才团队计划项目 (No: 20212BCJL23049)

[通信作者] 朱惠芳, E-mail: zhuhuifang1985@163.com

AML的治疗仍然使用的是经典的化学疗法^[2],再辅以免疫治疗或异体干细胞移植等。数十年来,虽然AML的首次完全缓解率及总体生存率较前均有提高,但化疗给患者带来的毒副作用,化疗后的机体状态、生活质量及居高不下的复发率仍是现代医学的难题。白血病干细胞通过其干细胞特性如耐药性、自我更新和未分化状态来识别,于1994年首次分离成功,是具有自我更新能力、强大分化潜能、并能产生异质性白血病细胞群体的细胞^[3]。近年研究发现,白血病干细胞在AML的发生、发展过程及疾病的复发中起到了重要推进作用,不仅可能在化疗后持续存在,而且可能会使克隆多样化,使疾病向更具侵略性的方向发展,从而导致致命性的结果。所以靶向白血病干细胞使其失去功能是值得深入研究的方向,具有重要的现实意义。本文将从白血病干细胞的来源、生物学特性、生存微环境、相关免疫表型、相关信号通路、靶向治疗策略等方面进行综述,旨在为靶向白血病干细胞治疗AML及降低AML复发率提供更清晰的思路与理解。

1 白血病干细胞相关简介

1.1 白血病干细胞的来源

探究白血病干细胞的来源,对于开展白血病干细胞的靶向治疗十分重要。然而众多研究表明,白血病干细胞的来源并不具有明确的指向性。有研究表明白血病干细胞可能来源于正常的造血干细胞^[4],而异常的造血干/祖细胞的克隆演进是白血病发生、发展的重要机制。造血干细胞是人体血液系统中的成体干细胞,具有长期自我更新的能力和分化成各类成熟血细胞的潜能,可以不对称分裂成前白血病造血干细胞和祖细胞。而前白血病造血干细胞经历二次突变成为白血病干细胞,白血病干细胞连续积累并发生恶性转化,导致了功能障碍的白血病祖细胞在骨髓或其他造血器官中的积聚。这类转化事件赋予了白血病细胞相对于正常造血干细胞的存活和增殖优势,从而导致正常造血功能的抑制和失败^[5]。除此之外,白血病干细胞与造血干细胞相同的免疫表型(CD34⁺CD38⁻),都是白血病干细胞可能起源于造血干细胞的证据。白血病干细胞还可能来源于相对早期的髓系祖细胞。CD90是一种细胞表面糖蛋白,作为一种细胞表面分化标志

物最初被发现在鼠脑和胸腺中表达。MAJETI等^[6]发现人脐血LIN⁻CD34⁺CD38⁻CD90⁻部分含有非造血干细胞多能祖细胞(multipotent progenitor, MPP),并且推断该MPP是AML的起源细胞。与这假设一致,MIYAMOTO等^[7]已证明白血病前期突变发生在克隆性造血干细胞人群中,最终导致AML MPP期白血病干细胞的发展。还有一种假说认为白血病干细胞可能来源于成熟的白血病细胞。这种假说认为成熟的白血病细胞获得干细胞特性是因为受到某种作用,从而激活干细胞相关途径。

总的来说,白血病干细胞的来源尚不明晰,但后续的研究可将这些可能的来源为切入点,以此找到靶向白血病干细胞的突破口。

1.2 白血病干细胞的生物学特性

1.2.1 自我更新 自我更新是所有干细胞的基本特征,也是白血病干细胞的最显著特征之一。白血病干细胞的生物学特性与造血干细胞有许多相似处。造血干细胞以其增殖和自我更新的能力而出名,负责维持造血系统并驻留在骨髓中^[1]。白血病干细胞的自我更新能力较造血干细胞强,且具有更强的细胞扩张能力,这也是AML化疗后复发率高的原因之一。一些信号通路参与调控白血病干细胞的自我更新,例如Wnt/ β -catenin、Notch信号通路等。

1.2.2 抗凋亡性 人体正常细胞内的促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白间复杂的相互作用受到严格的调控,两者的相对平衡决定了细胞遗传及对应激的反应。白血病复发率高的一个重要原因是抗凋亡蛋白(如BCL-2、BCL-xL等)的表达上调,使细胞凋亡受阻,从而促使了治疗过程中白血病干细胞的存活。核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)是一种核转录因子,通过诱导其靶基因的表达可以调节肿瘤的生长状态。慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)中的BCR-ABL融合基因作为抗凋亡基因可激活多种信号,如PI3K/Akt、JAK/STAT、RAS及NF- κ B信号通路。抗凋亡蛋白髓系细胞白血病1(myeloid cell leukemia 1, MCL1)的表达也被证明与NF- κ B的激活有关^[8]。这些都说明白血病中抗凋亡基因的表达与NF- κ B有关。因此,理论上,通过改变NF- κ B的活性降低抗凋亡基因的表达,使白血病干细胞进入凋亡程序便可以达到靶向清除白血病干细胞的目的。

1.2.3 耐药性 CD34⁺CD38⁻表型的白血病干细胞具有抗化疗药物的特性,这可能是微小残留疾病的发生原因。尽管白血病干细胞分化后的细胞快速增殖会导致不良的临床后果,但白血病干细胞自身基本上是静止的。静止的白血病干细胞一直处于细胞周期的G0期,使利用癌细胞快速分裂特性的典型化疗方案难以根除白血病干细胞。白血病干细胞的耐药性导致现有的治疗方案无法对其完全清除,进而引起AML治疗后的高复发率。诱导白血病干细胞脱离静止状态进入细胞生长周期,将会增强其对化学治疗的敏感性,这也是清除白血病干细胞的一个有效治疗策略。

1.3 白血病干细胞的生存微环境

骨髓微环境通过分泌各种生长因子及与造血干细胞和祖细胞的物理相互作用来支持正常造血^[9]。由于白血病干细胞与正常造血干细胞具有干细胞样特性,白血病干细胞也可能在骨髓微环境中受到调节。值得一提的是,在AML的形成过程中,骨髓微环境通过与白血病干细胞的相互作用促使白血病发生,白血病干细胞在骨髓微环境中驻留的同时又会反作用于该环境,能够改变环境中的组成,使环境变得更有利于白血病干细胞生存而不利于造血干细胞生存^[10]。骨髓微环境更像是白血病干细胞的避难所,帮助白血病干细胞躲避化疗药物进行免疫逃逸,如果有药物能够在骨髓微环境中准确识别并清除白血病干细胞,或者在不影响正常造血干细胞生存的情况下改变骨髓微环境,使其不利于白血病干细胞生存,AML的治疗及疾病复发的预防将会变得更容易。

1.4 白血病干细胞的相关免疫表型

AML白血病干细胞基因谱,即白血病干细胞特异性表达的基因,常用于疾病危险分层和评估预后^[11]。在AML造血分化的不同阶段,相关基因可能会发生突变,从而使白血病干细胞表达的免疫表型不同,故对谱系不明确的白血病,可以通过鉴定免疫表型来进行诊断和区分。白血病干细胞具有干细胞特性,与正常的造血干细胞有着相似的免疫表型,即CD34⁺CD38⁻。一些相关研究表明,与造血干细胞相比较,白血病干细胞在其他表型中有着更高的表达,如CD123、CD96、CD47、CD25、G蛋白偶联受体56(G-protein coupled receptor 56, GPR56)、C型凝

集素样受体1(C-type lectin-like receptor-1, CLL-1)、白细胞介素1受体辅助蛋白(Interleukin 1 receptor accessory protein, IL1RAP)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)和内皮细胞TEK酪氨酸激酶(recombinant TEK tyrosine kinase, Tie2)等。

1.4.1 CD123 CD123是白细胞介素-3(Interleukin-3, IL-3)受体 α 亚基,在白血病干细胞中高表达。CD123在正常造血干细胞中未被发现,因此,其可能为鉴定白血病提供了独特的标记,是识别和靶向白血病干细胞的重要标志物^[12]。CD123标记后能够在CD34⁺CD38⁻中区分几乎不表达CD123的正常造血干细胞和对该标记呈阳性的白血病干细胞。据报道,CD123的抗原表达水平与AML患者的化疗结果和预后呈负相关,诊断时高水平的CD123⁺白血病干细胞具有独立的预后意义^[13]。这意味着CD123可能作为临床白血病治疗后判断治疗效果及评估预后的一个重要指标。

1.4.2 CD96 CD96是免疫球蛋白超家族成员,是一种新的免疫检查点受体靶点,在抗肿瘤免疫应答中发挥关键作用^[14]。CD96存在于白血病干细胞上,在正常的CD34⁺CD38⁻细胞中表达较低,但在一些预后不良的患者中表达却高达90%^[15]。关于急性白血病患儿的干细胞表面分子CD96的表达研究显示,CD96主要在AML中表达,在急性淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)中表达较少^[16]。因此AML中的白血病干细胞可通过CD96的表达与正常造血干细胞区分。且与CD96⁻患儿相比,CD96⁺患儿诱导化疗后的完全缓解率呈下降趋势,而感染率和复发率却呈升高的趋势^[16]。这表明CD96⁺的白血病患者化疗后易复发,提示CD96可能是预测白血病预后的新指标。

1.4.3 CD47 CD47(也称为整合素相关蛋白)是一种跨膜蛋白,在不同的细胞表面广泛表达,在白血病干细胞中高表达,其主要功能是发挥抗吞噬作用。CD47在白血病干细胞的高表达使白血病干细胞能够逃避吞噬和消除。2009年MAJETI等^[17]研究发现CD47在AML患者来源的白血病干细胞中过表达,CD47通过与吞噬细胞上的抑制性受体相互作用抑制自身的吞噬作用,使AML持续发展,实验结果还表明CD47表达的增加会使成人AML患者的总体生存率更低,CD47 mRNA表达升高是AML患者预后

不良的独立因素。另外一项研究构建了慢病毒载体,将 CD47-siRNA 导入 AML 来源的白血病干细胞后检测其增殖及凋亡情况,发现敲低 CD47 能有效抑制 AML 患者来源白血病干细胞的增殖和促进其凋亡^[18]。这些都说明 CD47 是治疗白血病的有效靶点,并且可以作为预测预后的指标。

1.4.4 GPR56 GPR56 是一种黏附分子,能通过 III 型胶原结合与骨髓生态位相互作用^[19],这表明 GPR56 可能在白血病干细胞与骨髓微环境间的相互作用中发挥作用。DARIA 等^[20]的多中心 III 期试验发现,GPR56 在 NPM1 突变和 FLT3 突变的 AML 患者中高表达且其高表达与 AML 患者的不良预后相关。

1.4.5 N-cadherin 和 Tie2 N-cadherin 是钙黏蛋白超家族的经典钙黏蛋白。Tie2 是一种受体酪氨酸激酶,主要在小鼠、大鼠和人的血管内皮细胞上表达,在原始血管系统的重建和稳定中发挥重要作用,在肿瘤部位的新生血管内皮细胞中显著上调^[21]。ZHI 等^[22]的一项研究分析了化疗前后 AML 患者共表达 N-cadherin 或 Tie2 的 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 白血病干细胞的比例,发现化疗可以使 N-cadherin 和 Tie2 阳性的 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 白血病干细胞群体富集。因此,N-cadherin 和 Tie2 也可能是鉴定白血病干细胞的潜在标志物。

1.4.6 其他相关免疫表型 CD25 是白细胞介素-2 的受体 α 链,主要表达于正常人 T 细胞表面,诱导其增殖和分化,被证明在白血病干细胞上高表达。CLL-1 是一种 II 型跨膜糖蛋白,作为抑制性受体在免疫调节中发挥关键作用。CLL-1 在 90% 以上 AML 患者的恶性细胞中表达,但在造血干细胞中几乎不表达^[23]。IL1RAP 与 CLL-1 相似,在大多数 AML 患者的白血病干细胞上表达上调,在正常的造血干细胞上不表达。

总的来说,在白血病干细胞上高表达的免疫表型众多,这为白血病干细胞的基础研究提供了更多方向,同时也为临床靶向白血病干细胞治疗 AML 提供了更多选择。

1.5 白血病干细胞的相关信号通路

机体内有几条调控白血病干细胞的信号通路,不同的信号通路调控方向不同。目前已发现与白血病干细胞有关的信号通路有 JAK/STAT 信号通路、Wnt/ β -catenin 信号通路、PI3K/Akt 信号通路、NF- κ B

信号通路、Hedgehog 及 RAS 等信号通路。其中 Wnt、Hedgehog 或 NF- κ B 通路已被证明是参与白血病干细胞自我更新和分化的主要信号通路。

1.5.1 Wnt 信号通路 Wnt/ β -catenin 通路是一种进化保守的信号转导级联,在人类正常发育和疾病中发挥重要作用。Wnt 信号通路有 4 类,其中 Wnt/ β -catenin 是经典的参与基因转录调节、激活核内靶基因表达的通路,该通路在许多癌症中都存在过度激活的现象,在白血病干细胞中主要参与干细胞的自我更新及增殖。 β -catenin 是 Wnt 信号转导的中枢效应器及关键分子,对白血病干细胞自我更新、肿瘤发生、发展、复发和耐药性至关重要^[24]。理论上,使用该通路抑制剂,抑制其经典通路中的 β -catenin 表达,就可能使白血病干细胞的自我更新能力下降甚至丧失。因此, β -catenin 被认为是降低白血病干细胞自我更新能力进而达到清除白血病干细胞的一种潜在靶点通路。

1.5.2 Hedgehog 信号通路 Hedgehog 信号通路在促进胚胎发生、维持成体干细胞、调节细胞增殖和分化的过程中起重要作用。除了在正常胚胎发育和成人组织稳态中发挥重要作用外,Hedgehog 信号通路的异常还影响白血病相关细胞的存活。Hedgehog 信号通路通常有两种途径激活,这里主要阐述典型通路。典型通路有 3 种配体——Indian Hedgehog (IHH)、Desert Hedgehog (DHH) 和 Sonic Hedgehog (SHH),两种受体——Smoothed (SMO) 和 Ptched (PTCH)。当配体不存在时,PTCH 抑制 SMO 发挥作用,当配体存在时,配体与 PTCH 结合解除对 SMO 的抑制,SMO 被磷酸化后激活胶质瘤锌指转录因子 (glioma-associated oncogene homolog, GLI)。被激活的 GLI 在细胞核中与靶 DNA 结合,表达特定基因,负责细胞周期的诱导、抗凋亡和细胞分化。SMO 作为 Hedgehog 信号通路中重要的连接点,受到抑制或减少时可减少白血病干细胞的数量并降低白血病干细胞的自我更新能力,因此,靶向 SMO 治疗使其表达下降可在一定程度上提高白血病的治愈率。

1.5.3 NF- κ B 信号通路 NF- κ B 信号通路在多种白血病细胞中,特别是白血病干细胞中持续活化。NF- κ B 是细胞生存、增殖、分化的重要转录因子,其在造血干细胞中的表达较低,而在白血病干细胞中显著过表达。白血病干细胞中过度激活的 NF- κ B

诱导抗凋亡基因的表达,使白血病干细胞凋亡受阻、AML持续发展,导致AML治疗有效率下降和复发率升高^[25]。抑制AML病程中NF- κ B信号通路的异常表达从而下调抗凋亡使细胞凋亡正常进行,将有望使白血病干细胞增殖分化受阻,进而导致数量减少。

2 靶向白血病干细胞的治疗策略

理想中抗白血病干细胞的治疗靶点,应选择白血病干细胞上大量表达,而在造血干细胞上不表达,从而达到疗效最大化、脱靶效应最小化的结果。然而,这种靶点目前尚未发现,但仍可以从现有的

研究中去寻找方法,如通过改变白血病干细胞居住的骨髓微环境、下调白血病干细胞表面的相关免疫表型的表达,以及调控白血病干细胞中的一些异常信号通路,从而达到靶向清除白血病干细胞的目的。近些年已完成或目前正在进行的靶向白血病干细胞治疗AML的部分临床试验见表1。

2.1 靶向抑制骨髓微环境

越来越多的证据表明,白血病干细胞与骨髓微环境间的相互作用在白血病干细胞的生存和耐药性中起着关键作用。C-X-C基序趋化因子受体4(C-X-C chemokine receptor 4, CXCR4)及C-X-C基序趋化因子配体12(C-X-C chemokine ligand 12,

表 1 AML 靶向干细胞治疗的临床试验

研究名称	治疗靶点	条件	阶段	结局	NCD编号
MDS和AML患者中单药JNJ-56022473未能通过基于低甲基化剂的治疗(SAMBA)	CD123	MDS AML	II	提前终止(无法确定有效性)	NCT02992860
地西他滨加Talacotuzumab与地西他滨单独用于不适合强化疗的AML参与者的疗效和安全性研究	CD123	AML	II/III	提前终止(联合疗法未得到改善)	NCT02472145
IMGN632作为单药治疗或与维奈托克或阿扎胞苷用于CD123阳性AML患者	CD123	AML	I/II	正在研究中,未发布结果	NCT04086264
IMGN632治疗R/R白血病儿童的研究	CD123	儿童白血病	I/II	正在研究中,未发布结果	NCT05320380
Magrolimab或Magrolimab与AZA联合治疗血液系统恶性肿瘤的研究	CD47	AML R/R AML	I	研究进行中(客观缓解率:69%,完全缓解率:50%)	NCT03248479
抗TAC治疗白血病	CD25	T细胞白血病 HTLV-1感染	I/II	已停止(前期显示使用Daclizumab后患者的中位无进展生存期(12周)和总体生存期(132.6周)较原始生存期长,后期因Daclizumab停药后研究关闭)	NCT00001941
CD123靶向CAR-T治疗R/R AML的安全性和有效性	CD123	AML AL	I/II	正在研究中,未发布结果	NCT04272125
针对AML CD33的自然杀伤细胞疗法	CD33	成人AML	I	正在研究中,未发布结果	NCT05665075
CD38嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)在R/R AML中的应用	CD38	R/R AML	I/II	正在研究中,未发布结果	NCT04351022
低剂量阿霉素(DXR)治疗R/R急性白血病的研究	Wnt/ β -catenin	ALL AML	I	与单纯化疗组相比,化疗+低剂量DXR治疗的小鼠的中位生存期从44.5 d延长到104.5 d	NCT02914977
胆碱-三水杨酸镁(CMT)联合化疗治疗急性髓系白血病患者	NF- κ B	AML	II	2016年已结束研究,在接受CMT治疗的患者中12个NF- κ B靶基因的基因表达变化显著不同	NCT02144675
利巴韦林和Hedgehog抑制剂联合或不联合地西他滨治疗AML	Hedgehog	AML	II	2022.12.22完成,暂未发布研究结果数据	NCT02073838
一项评估PF-04449913(Glasdegib)联合化疗对AML或MDS患者的研究	Hedgehog	AML	II	2020年已完成,联合用药的中位生存期为8.8个月,单药化疗的为4.9个月;完全缓解率分别为17.0%和2.3%。	NCT01546038
Glasdegib加强化/非强化化疗治疗初诊AML患者的研究	Hedgehog	AML	III	2019年完成:Glasdegib加强化化疗的总生存期为17.3个月,对照组为10.3个月	NCT03416179

注:数据来源于ClinicalTrial.gov。

CXCL12)的相互作用是介导造血干细胞迁移和归巢的重要中介,激活CXCL12/CXCR4信号轴可以影响下游的信号通路,从而影响造血干细胞的存活和静息状态^[26]。CXCL12/CXCR4信号轴在白血病干细胞中也同样起重要作用,可以激活白血病细胞存活的多条信号通路,包括MAPK/ERK通路和PI3K/Akt通路,也可以使白血病干细胞归巢继而黏附到骨髓微环境的保护区域以躲避化疗^[27]。因此使用CXCR4抑制剂破坏CXCL12/CXCR4信号轴,降低趋化作用,从而影响白血病干细胞的生长、运动、黏附及转移,是一种有吸引力的研究性白血病治疗方法。LY2510924是一种抗白血病活性肽类CXCR4抑制剂,CHO等^[28]的一项体外研究发现,其作为单药或联合化疗药物可以迅速并持久破坏CXCL12/CXCR4信号轴,抑制白血病干细胞的生长并导致细胞死亡。作为一种针对CXCR4的完全人IgG4单克隆抗体,BMS-936564在复发/难治性AML患者中表现出较高的安全性及抗肿瘤活性^[29]。然而由于白血病干细胞与造血干细胞有着相似的生物学特性,靶向抑制微环境的相关抑制剂可能会在使用过程中不可避免地作用到正常造血干细胞上,这种非选择作用使得药物在临床的使用受到阻碍。

2.2 靶向抑制免疫表型

白血病干细胞通常可以通过CD34⁺CD38⁻的表面标记谱来识别,但由于正常造血干细胞也可以表现出这种特征,故CD34并不是治疗的理想靶点。

2.2.1 CD123靶向药物 CD123在正常造血细胞中低表达甚至不表达,并且已被鉴定为AML患者来源白血病干细胞上的独特标志物,因此被认为是免疫治疗的合适靶点之一。目前靶向CD123分子的药物主要包括Tagraxofusp、塔妥珠单抗(Talacotuzumab)和IMGN632。Tagraxofusp是一种融合毒素,由一部分融合到人白细胞介素-3的白喉毒素组成,由于其对AML细胞具有强大的细胞毒性,因此被支持用于治疗AML^[30]。Talacotuzumab在一项II期(作为单一疗法)和另一项II/III期(与地西他滨联合)临床试验中失败,主要原因是毒性或疗效有限。IMGN632是一种抗体-药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADC),近些年对IMGN632治疗白血病的研究较少,在KOVTON等^[31]的实验中,先比较IMGN632和X-ADC(另一种ADC)与正常髓系祖细胞的细胞毒性,

发现X-ADC对正常髓系祖细胞的细胞毒性是IMGN632的40倍,说明IMGN632的骨髓毒性低于X-ADC;后将IMGN632的效力与吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab ozogamicin, GO)活性进行比较,发现IMGN632对AML细胞的毒作用是GO的70倍,对正常髓系祖细胞的毒作用只是GO的5倍,且所有患者的AML细胞对IMGN632都非常敏感;最后使用患者来源的异种移植模型检验了IMGN632治疗的组织特异性效应,对AML小鼠模型给药治疗,治疗2周后,与其他ADC对照,只有IMGN632降低了模型小鼠外周血、脾脏,尤其是骨髓中的肿瘤负担^[31]。IMGN632显示出对CD123⁺AML白血病干细胞的有效细胞毒性,这种针对白血病细胞的选择性活性,加上在AML异种移植模型中良好的耐受性和强大的疗效,为IMGN632作为AML治疗药物的临床开发提供了理论基础,与现有药物相比具有潜在的治疗优势。ANGELOVA等^[12]的实验则表明IMGN632在B细胞型急性淋巴细胞白血病和淋巴瘤的临床前模型中也显示出良好的选择性活性。这些研究结果不仅推动了靶向抑制CD123临床试验的进展,也为靶向清除白血病干细胞提供了更多的临床数据。将靶向CD123治疗与白血病的常规治疗有效结合,有望提高白血病的长期缓解率和生存率。

2.2.2 CD47靶向药物 大量的数据表明,抗CD47抗体使巨噬细胞能够吞噬白血病干细胞,同时在体外保留正常造血干细胞,消除白血病干细胞的抗CD47疗法可能可以延长白血病患者的临床缓解期。迄今为止,已有3种CD47靶向剂在AML中进行了临床评估。其中包括莫洛利单抗(Magrolimab)、TTI-621和CC-90002。Magrolimab和CC-90002是IgG4抗CD47抗体,而TTI-621是一种新型IgG1 SIRP α -Fc融合蛋白。然而目前研究仅有Magrolimab在AML患者中的临床治疗数据,尚缺乏TTI-621或CC-90002的临床数据。在SALLMAN等^[32]的一项Ib期研究中,对25例AML患者进行Magrolimab与阿扎胞苷(Azacitidine, AZA)的联合治疗,结果显示联合治疗的起效时间比单独的AZA更快(中位数1.9个月),客观缓解11例(69%),完全缓解8例(50%),病情稳定5例(31%),形态学无白血病状态1例(6%),提示作为潜在的白血病干细胞靶向组合,Magrolimab联合AZA可能可以使白血病患者得到持久缓解。无

独有偶, WANG 等^[33]的实验中也把抗 CD47 抗体与其他药物联合使用, 阿糖胞苷 (cytosine arabinoside, Ara-C) 和抗 CD47 抗体的联合治疗降低了外周血和骨髓中的白血病负担, 并显著延长了用人细胞系 THP-1 异种移植的 AML 模型小鼠的生存期。因此, Ara-C 和抗 CD47 抗体的联合治疗或是 AML 靶向治疗的新选择^[33]。现阶段对靶向 CD47 药物的研究不多, 但已有的数据令人鼓舞, 这给未来研究靶向白血病干细胞治疗带来了新的希望。

2.2.3 其他免疫表型靶向药物 达格列珠单抗 (Daclizumab) 是一种人源化的抗 CD25 单克隆抗体。BERKOWITZ 等^[34]在一项关于初发及难治性 T 细胞淋巴瘤患者 II 期临床试验研究中使用 Daclizumab, 取得了较大成功, 研究队列为 34 例患成人 T 细胞/淋巴瘤 (adult T-cell leukemia/lymphoma, ATL)、中位生存期为 4 ~ 10 个月的患者, 使用 Daclizumab 后, 这些患者的中位无进展生存期与总体生存期分别为 12 周和 132.6 周, 较原始中位生存期长, 这说明 Daclizumab 可以在靶向白血病干细胞上提供有效治疗。mAb81.2 和 mAb3F8 是抗 IL1R1P 单抗, 2015 年 AGERSTAM 等^[35]先后将这两种独立抗体使用在 MA9Ras 移植小鼠模型和原代人 AML 细胞中, 均显示出较强的抗白血病作用, 不仅显著降低了外周血、骨髓和脾脏的白血病细胞水平, 还延长了存活时间。嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cell, CAR-T) 疗法是一种新型的肿瘤免疫疗法, 2021 年 TRAD 等^[36]的试验首次证实初诊和复发 AML 患者 T 细胞均可产生 IL1R1P CAR-T 细胞, 在患者来源的复发性 AML 异种移植模型中, IL1R1P CAR-T 细胞对原发 AML 细胞具有细胞毒作用, 并且提高了其总体存活率。

虽然目前针对白血病干细胞表型的单抗在一些实验研究及临床中已经取得初步成效, 但不能忽略白血病干细胞在不同患者上表现出的多样性和在同一患者上表现出的差异性。这些往往是导致白血病复发的重要原因, 给临床治疗带来了难题, 所以在患者初治前应准确鉴定白血病干细胞免疫表型, 治疗过程中须定期监测表型表达的变化, 及时调整治疗方案以增加治疗的有效性, 降低疾病的复发率。

2.3 靶向抑制信号通路

与白血病干细胞有关的信号通路, 在不同程度上调控白血病干细胞的自我更新、增殖分化及凋亡, 靶向抑制这些信号通路, 理论上将达到消除白血病干细胞治疗白血病的目的。

2.3.1 Wnt/ β -catenin 信号通路 吡啶美辛是一种可逆的环氧化酶抑制剂, 通过抑制 β -catenin 表达来阻断 Wnt 通路的激活。在 WANG 等^[37]的实验中, 吡啶美辛治疗可以抑制对 AML 发展至关重要的白血病起始细胞, 并影响已建立的白血病干细胞。除了单药抑制剂外, 药物的联合应用在靶向白血病干细胞治疗中也显示出良好成效。LIN 等^[38]的实验评估了磺胺嘧啶 (Sulfadiazine, SFN) 对伊马替尼 (Imatinib, IM) 耐药白血病干细胞的影响, 将 SFN 与 IM 联合应用治疗 CML, 结果证明 IM 和 SFN 联合治疗有效地消除了 CD34⁺/CD38⁻ 的白血病干细胞。SFN 治疗在靶向白血病干细胞和降低耐药性方面的作用主要体现在下调 β -catenin 的表达。在低剂量下, 阿霉素 (Doxorubicin, DXR) 是 Akt- β -catenin 相互作用的抑制剂^[24]。Wnt/ β -catenin 和 PI3K/Akt 通路的协同作用, 会促进肿瘤发生和对治疗的抵抗。PERRY 等^[24]的实验结果显示, 联合化疗和低剂量 DXR 显著提高了白血病模型小鼠的生存率, 低剂量 DXR 的白血病干细胞靶向特异性更强, 包括对化疗耐药白血病干细胞的靶向。

2.3.2 Hedgehog 信号通路 格拉吉布 (Glasdegib) 是一种选择性的 SMO 小分子抑制剂, 在人源性组织异种移植小鼠模型中, 其在体外和体内均显示出对 AML 细胞的有效性^[39]。Glasdegib 较短的半衰期有助于降低其对正常干细胞的毒性, 提高靶向白血病干细胞的能力, 尤其是与其他治疗剂联合使用。美国食品和药物管理局已经批准 Glasdegib 与低剂量 Ara-C 联合治疗新诊断的 AML 老年患者 (年龄 \geq 75 岁), 或无法使用强化诱导治疗且有较多合并症的患者。环丙胺是一种天然的植物甾体生物碱, 作为 SMO 抑制剂, 已被证明有能力降低 CD34⁺ 白血病细胞系对阿糖胞苷和阿霉素的耐药性^[40]。

2.3.3 NF- κ B 信号通路 小白菊内酯 (Parthenolide, PTL) 是一种 NF- κ B 激酶激活抑制剂, 可以抑制白血病干细胞增殖并使细胞停滞于 G2 期从而发挥其药效。PTL 是第一种针对白血病干细胞

的有效天然药物,这意味着其可优先杀死白血病干/祖细胞,但对非癌细胞没有影响^[41]。PTL治疗显著降低了AML患者来源白血病干细胞的植入潜力,但成药性差阻碍了其临床应用。GHANTOUS等^[42]的研究鉴定出一种新的复合物——二甲基氨基单性酚内酯(dimethylamino parthenolide, DMAPT),也是NF- κ B抑制剂,表现出与PTL类似的活性,可以选择性地根除白血病干细胞。DMAMCL(ACT001)同样能够通过抑制NF- κ B的活性来消除白血病干细胞^[43]。

通过这些抑制剂来调控AML中表达异常的信号通路,可以达到靶向清除白血病干细胞的目的,从而改善AML的预后。所以,靶向抑制信号通路仍然可以作为未来继续研究的一个方向。

3 小结与展望

AML是一种恶性的血液系统肿瘤,居高不下的复发率一直是临床上亟须解决的难题。白血病干细胞作为一类经典的肿瘤干细胞,在AML发生、发展和复发中都起到了重要作用。尽管白血病干细胞的来源尚未明确,但从造血干细胞突变时会产生白血病前干细胞并连续积累演变为白血病干细胞的角度来说,抑制造血干细胞的突变从而减少白血病干细胞的数量可以作为后续研究的一个方向。白血病干细胞所处的骨髓微环境是通过相关信号通路来调控白血病干细胞的,骨髓微环境及这些调控通路也是靶向治疗白血病干细胞的潜在有效靶点。关于免疫表型,应致力于寻找在白血病干细胞上表达但造血干细胞中不表达的免疫表型作为治疗靶点,以不破坏造血干细胞功能为前提清除白血病干细胞。在调控白血病干细胞的信号通路方面,可以使用信号通路抑制剂,阻断白血病干细胞生成或发挥功能。

AML现有的高复发率不仅给患者带来了极大痛苦,也加重了家庭的负担,故对白血病干细胞的靶向治疗是非常有必要的。靶向清除白血病干细胞可以从根本上降低高复发率,提高白血病患者的生存率、缓解率和治愈率。在靶向清除白血病干细胞治疗白血病及预防白血病复发的药物选择上,如何只清除白血病干细胞而不损伤正常的造血干细胞功能,如何使药物的副作用最小,如何最大程度提高完全缓解率,应该作为未来研究的重点方向。

参 考 文 献 :

- [1] YAMASHITA M, DELLORUSSO P V, OLSON O C, et al. Dysregulated haematopoietic stem cell behaviour in myeloid leukaemogenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(7): 365-382.
- [2] 王小蕊,李文倩,杨红艳. 维奈克拉联合小剂量阿柔比星、阿糖胞苷方案治疗老年急性髓系白血病的疗效观察[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(16): 74-78.
- [3] LAPIDOT T, SIRARD C, VORMOOR J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice[J]. *Nature*, 1994, 367(6464): 645-648.
- [4] SCHWITALLA S, FINGERLE A A, CAMMARERI P, et al. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties[J]. *Cell*, 2013, 152(1-2): 25-38.
- [5] LONG N A, GOLLA U, SHARMA A, et al. Acute myeloid leukemia stem cells: origin, characteristics, and clinical implications[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18(4): 1211-1226.
- [6] MAJETI R, PARK C Y, WEISSMAN I L. Identification of a hierarchy of multipotent hematopoietic progenitors in human cord blood[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(6): 635-645.
- [7] MIYAMOTO T, WEISSMAN I L, AKASHI K. AML1/ETO-expressing nonleukemic stem cells in acute myelogenous leukemia with 8;21 chromosomal translocation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(13): 7521-7526.
- [8] YEN T H, HSIEH C L, LIU T T, et al. Amentoflavone induces apoptosis and inhibits NF- κ B-modulated anti-apoptotic signaling in glioblastoma cells[J]. *In Vivo*, 2018, 32(2): 279-285.
- [9] BIANCO P. Bone and the hematopoietic niche: a tale of two stem cells[J]. *Blood*, 2011, 117(20): 5281-5288.
- [10] KRAUSE D S, SCADDEN D T. A hostel for the hostile: the bone marrow niche in hematologic neoplasms[J]. *Haematologica*, 2015, 100(11): 1376-1387.
- [11] NG S W K, MITCHELL A, KENNEDY J A, et al. A 17-gene stemness score for rapid determination of risk in acute leukaemia[J]. *Nature*, 2016, 540(7633): 433-437.
- [12] ANGELOVA E, AUDETTE C, KOVTUN Y, et al. CD123 expression patterns and selective targeting with a CD123-targeted antibody-drug conjugate (IMGN632) in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2019, 104(4): 749-755.
- [13] DING Y H, GAO H E, ZHANG Q. The biomarkers of leukemia stem cells in acute myeloid leukemia[J]. *Stem Cell Investig*, 2017, 4: 19.
- [14] 钟敏,苏群豪,胡敏,等. 急性髓细胞白血病患者CD96和CD123的表达及对预后的意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29(7): 30-33.
- [15] MOHAMMAD H, WAHBA Y, GOUIDA M, et al. Cluster of differentiation 96 in children with acute leukemia: a single center cohort study[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2020, 36(1): 178-182.
- [16] 苏军燕,李迎今,徐长妍. 急性白血病患者白血病干细胞表面CD96和CD71的表达对其疗效和预后的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2017, 43(4): 776-781.

- [17] MAJETI R, CHAO M P, ALIZADEH A A, et al. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Cell*, 2009, 138(2): 286-299.
- [18] SONG G L, YANG L Y. Inhibited CD47 gene affects the clearance of acute myelogenous leukemia stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 10303-10309.
- [19] LUO R, JEONG S J, JIN Z H, et al. G protein-coupled receptor 56 and collagen III, a receptor-ligand pair, regulates cortical development and lamination[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(31): 12925-12930.
- [20] DARIA D, KIRSTEN N, MURANYI A, et al. GPR56 contributes to the development of acute myeloid leukemia in mice[J]. *Leukemia*, 2016, 30(8): 1734-1741.
- [21] RICCIONI R, DIVERIO D, MARIANI G, et al. Expression of tie-2 and other receptors for endothelial growth factors in acute myeloid leukemias is associated with monocytic features of leukemic blasts[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 1862-1871.
- [22] ZHI L, WANG M, RAO Q, et al. Enrichment of N-cadherin and tie2-bearing CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺ leukemic stem cells by chemotherapy-resistance[J]. *Cancer Lett*, 2010, 296(1): 65-73.
- [23] MORSINK L M, WALTER R B, OSSENKOPPELE G J. Prognostic and therapeutic role of CLEC12A in acute myeloid leukemia[J]. *Blood Rev*, 2019, 34: 26-33.
- [24] PERRY J M, TAO F, ROY A, et al. Overcoming Wnt- β -catenin dependent anticancer therapy resistance in leukaemia stem cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(6): 689-700.
- [25] VOLK A, LI J, XIN J P, et al. Co-inhibition of NF- κ B and JNK is synergistic in TNF-expressing human AML[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(6): 1093-1108.
- [26] 谷佳礼, 高瀛岱. 靶向白血病干细胞的研究进展[J]. *中国科学(生命科学)*, 2017, 47(12): 1313-1322.
- [27] KONOPLEVA M Y, JORDAN C T. Leukemia stem cells and microenvironment: biology and therapeutic targeting[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(5): 591-599.
- [28] CHO B S, ZENG Z H, MU H, et al. Antileukemia activity of the novel peptidic CXCR4 antagonist LY2510924 as monotherapy and in combination with chemotherapy[J]. *Blood*, 2015, 126(2): 222-232.
- [29] 王学梅, 严媚, 刘玉, 等. 69例急性白血病患者白血病干细胞CD96分子的表达及临床意义[J]. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15(8): 633-637.
- [30] CARTER J L, HEGE K, YANG J, et al. Targeting multiple signaling pathways: the new approach to acute myeloid leukemia therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 288.
- [31] KOVTUN Y, JONES G E, ADAMS S, et al. A CD123-targeting antibody-drug conjugate, IMG632, designed to eradicate AML while sparing normal bone marrow cells[J]. *Blood Adv*, 2018, 2(8): 848-858.
- [32] SALLMAN D A, ASCH A S, AL MALKI M M, et al. The first-in-class anti-CD47 antibody magrolimab (5F9) in combination with azacitidine is effective in MDS and AML patients: ongoing phase 1b results[J]. *Blood*, 2019, 134, Supplement 1: 569.
- [33] WANG Y, YIN C, FENG L, et al. Ara-C and anti-CD47 antibody combination therapy eliminates acute monocytic leukemia THP-1 cells *in vivo* and *in vitro*[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 5630-5641.
- [34] BERKOWITZ J L, JANIK J E, STEWART D M, et al. Safety, efficacy, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of daclizumab (anti-CD25) in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma[J]. *Clin Immunol*, 2014, 155(2): 176-187.
- [35] ÅGERSTAM H, KARLSSON C, HANSEN N, et al. Antibodies targeting human IL1RAP (IL1R3) show therapeutic effects in xenograft models of acute myeloid leukemia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(34): 10786-10791.
- [36] TRAD R, WARDA W, ALCAZER V, et al. Chimeric antigen receptor T-cells targeting IL-1RAP: a promising new cellular immunotherapy to treat acute myeloid leukemia[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(7): e004222.
- [37] WANG Y Z, KRIVTSOV A V, SINHA A U, et al. The Wnt/ β -catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML[J]. *Science*, 2010, 327(5973): 1650-1653.
- [38] LIN L C, YEH C T, KUO C C, et al. Sulforaphane potentiates the efficacy of imatinib against chronic leukemia cancer stem cells through enhanced abrogation of Wnt/ β -catenin function[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(28): 7031-7039.
- [39] FUKUSHIMA N, MINAMI Y, KAKIUCHI S, et al. Small-molecule Hedgehog inhibitor attenuates the leukemia-initiation potential of acute myeloid leukemia cells[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(10): 1422-1429.
- [40] SHALLIS R M, BEWERSDORF J P, BODDU P C, et al. Hedgehog pathway inhibition as a therapeutic target in acute myeloid leukemia[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2019, 19(8): 717-729.
- [41] YI J, WANG L, WANG X Y, et al. Suppression of aberrant activation of NF- κ B pathway in drug-resistant leukemia stem cells contributes to parthenolide-potentiated reversal of drug resistance in leukemia[J]. *J Cancer*, 2021, 12(18): 5519-5529.
- [42] GHANTOUS A, SINJAB A, HERCEG Z, et al. Parthenolide: from plant shoots to cancer roots[J]. *Drug Discov Today*, 2013, 18(17/18): 894-905.
- [43] ZHANG Q, LU Y X, DING Y H, et al. Guaianolide sesquiterpene lactones, a source to discover agents that selectively inhibit acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells[J]. *J Med Chem*, 2012, 55(20): 8757-8769.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 李秀钰, 胡绍雯, 朱惠芳. 白血病干细胞在急性髓系白血病治疗中的研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(21): 49-57.

Cite this article as: LI X Y, HU S W, ZHU H F. The research progress of therapeutic strategies on acute myeloid leukemia by targeting leukemic stem cells[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(21): 49-57.