

酪氨酸激酶抑制剂治疗未达最佳疗效慢性髓系白血病患者联合自噬抑制剂羟氯喹的临床研究

黄佳瑜¹, 李砚如¹, 连芸¹, 谢月¹, 赵慧慧¹, 朱雨¹, 李骥², 李建勇¹, 钱思轩^{1*}

¹南京医科大学第一附属医院血液科, 江苏 南京 210029; ²西藏自治区人民医院内三科, 西藏自治区 拉萨 850000

[摘要] 目的:探讨酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)治疗慢性髓系白血病慢性期(CML-CP)患者疗效未达最佳状态(警告或失败)时联合硫酸羟氯喹(简称:羟氯喹)的疗效及不良反应。方法:15例TKIs治疗不满意的CML-CP患者被纳入研究。中位年龄为49(24~66)岁,其中男8例,女7例;Sokal积分:低危4例,中危7例,高危4例。9例为尼洛替尼一线治疗,其中1例9个月后因治疗失败更换为达沙替尼;6例为伊马替尼一线治疗,3~62个月后因疗效不佳全部更换为二代TKIs。联合治疗前,TKIs中位治疗时间为19(6~115)个月,疗效评估10例警告,5例治疗失败。羟氯喹治疗剂量为100 mg 1 d 3次。结果:TKIs联合羟氯喹中位治疗时间为8(6~12)个月。14例(93.3%)患者BCR-ABL转录本水平较前下降,其中9例(60%)在联合治疗2~8个月达到主要分子学反应(MMR),中位维持MMR时间为3(1~10)个月。联合治疗仅有1例出现消化道反应。随访到2016年12月,中位病程时间为29.3(13.8~157.5)个月,15例患者均无疾病进展。结论:羟氯喹可增强TKIs治疗慢性髓系白血病的疗效,耐受性好。

[关键词] 慢性髓系白血病;酪氨酸激酶抑制剂;羟氯喹

[中图分类号] R733.72

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)02-222-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20180215

慢性髓系白血病(CML)是起源于造血干细胞的恶性增殖性疾病,其发病机制是9、22号染色体易位形成融合基因BCR-ABL,表达P210蛋白,持续激活酪氨酸激酶,抑制细胞凋亡^[1]。酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)与ATP竞争结合BCR-ABL上的位点,阻碍酪氨酸残基磷酸化,已取代造血干细胞移植成为CML的一线治疗方案^[2]。

目前国内治疗CML的TKIs为一代的甲磺酸伊马替尼(简称:伊马替尼)和二代的尼洛替尼、达沙替尼,二代TKIs能克服多种ABL点突变引起的耐药^[3],但仍有部分患者疗效不佳。研究发现达到主要分子学反应(MMR)的患者疾病进展的风险减低,无进展生存期明显延长($P < 0.001$),多因素分析证实了TKIs治疗后能达到MMR是疾病无进展的独立预测因素^[4]。Hughes等^[5]报道TKIs治疗后能达到MMR的CML患者可以获得较持久的最佳反应,其中95%的患者无病生存期能长达7年。因而如何使经TKIs治疗后未达MMR的患者尽快取得最佳疗效成为目前关注点。

[基金项目] 国家自然科学基金(81570134, 81300379, 81270614)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: qiansx@medmail.com.cn

自噬是溶酶体介导的存在于真核细胞的自降解过程。有研究表明自噬与CML的发生、耐药密切相关,抑制自噬可提高CML细胞对TKIs的敏感性,增加细胞凋亡^[6]。羟氯喹,一种自噬抑制剂,在多发骨髓瘤中有增强硼替佐米疗效的作用^[7]。目前尚无TKIs联合羟氯喹治疗CML的临床报道,本文总结了15例因TKIs疗效不佳而联合羟氯喹治疗的慢性髓系白血病慢性期(CML-CP)患者,对其疗效及安全性进行评估。

1 对象和方法

1.1 对象

2004年1月—2015年10月本院收治的15例患者,均经血常规检查、骨髓形态、细胞遗传学分析(Ph染色体)及分子生物学(BCR-ABL融合基因)等检测确诊为CML-CP。患者中位年龄为49(24~66)岁,其中男8例,女7例,Sokal积分:低危4例,中危7例,高危4例。联合羟氯喹治疗前,中位TKIs治疗时间为19(6~115)个月,疗效评估发现10例处于警告状态,其中1例达到部分细胞遗传学反应(PCyR),9例达到完全细胞遗传学反应(CCyR);另5例为治疗失败,其中4例丧失MMR,1例达到次要细胞遗传学反应(mCyR)。

1.2 方法

1.2.1 治疗

9例(例1~例5,例12~例15)给予尼洛替尼作为一线治疗,剂量为300 mg bid,其中1例在9个月后因治疗失败更换为达沙替尼100 mg qd;6例(例6~例11)给予伊马替尼作为一线治疗,剂量为400 mg qd,在3~62个月后因疗效不佳均更换为二代TKIs。在二代TKIs疗效不佳(警告或失败)时联合羟氯喹0.1 g tid治疗。

1.2.2 检测

所有患者每2~4周检测血常规指标,每3~6个月复查骨髓形态学及染色体核型,定量RT-PCR检测BCR-ABL基因。在联合羟氯喹前以DNA直接测序法进行ABL激酶区突变检测。

1.2.3 疗效评估

参考中国慢性髓系白血病诊断与治疗指南(2016版)^[8],治疗反应分为血液学反应,包括完全血液学反应(CHR):WBC $< 10 \times 10^9/L$,PLT $< 450 \times 10^9/L$,外周血中无髓性不成熟细胞,嗜碱粒细胞 $< 5\%$,无疾病的症状及体征,可触及的脾肿大已消失;细胞遗传学反应(CyR),包括CCyR:Ph⁺细胞为0;PCyR:Ph⁺细胞为1%~35%;mCyR:Ph⁺细胞36%~65%;mini-CyR:Ph⁺细胞66%~95%;MMR:BCR-ABL^{IS} $\leq 0.1\%$ (ABL转录本 $> 10\ 000$);MR4:BCR-ABL^{IS} $\leq 0.01\%$ (ABL转录本 $> 10\ 000$)。不良反应评估按照NCI/NIH毒性标准分级(版本3.0)。

2 结果

2.1 疗效分析

15例均未检测到ABL突变。截止至2016年12月9日,TKIs联合羟氯喹中位治疗时间为8(6~12)个月,目前所有患者仍继续联合治疗中。

联合治疗后,14例(93.3%)BCR-ABL转录本水平较前下降,其中9例(60%)达到MMR,达到MMR的中位时间为5(2~8)个月,MMR中位维持时间为3(1~10)个月;余5例患者BCR-ABL转录本水平分别下降0.07、0.13、0.5、0.67、1.38 log,但未达到MMR。具体BCR-ABL转录本定量详见表1。1例在达到MMR后又再次丧失MMR。

2.2 安全性

TKIs治疗期间不良反应包括血液学反应如中性粒细胞减少、贫血、血小板减少和非血液学反应包括皮疹、恶心、腹泻、水肿、胆红素升高,有自限性。在联合羟氯喹前仅有例8呈现TKIs所致的IV级血液

学毒性状态,血小板波动在 $20 \times 10^9/L$;治疗后该患者血小板未有下降,所有患者均无血液学不良反应;仅有1例发生非血液学不良反应(I级消化道反应)。

2.3 随访及预后

随访至2016年12月9日,患者中位病程时间为29.3(13.8~157.5)个月;全部15例存活状态良好,无疾病进展。

表1 15例患者联合治疗前后BCR-ABL转录本水平

例数	BCR-ABL定量(%)	
	联合治疗前	联合治疗后
1	0.15	0.11
2	0.38	0.12
3	0.18	0.00
4	0.68	0.00
5	10.2	0.42
6	0.15	0.00
7	0.15	0.00
8	2.50	0.00
9	0.85	0.18
10	0.11	0.00
11	0.20	0.05
12	0.11	0.00
13	0.15	0.00
14	0.13	0.11
15	0.45	0.73

3 讨论

TKIs已明显提高CML的疗效及长期生存率,但仍不能“治愈”CML,可能原因包括ABL激酶区点突变、BCR-ABL基因扩增和过度表达、多药耐药基因的表达、SRC家族激酶的过度表达、干细胞对TKIs治疗的“不敏感”等^[9],这极大促使了以TKI为基础的联合用药方案的开发。

本中心纳入15例TKIs治疗不满意的CML-CP患者进入研究。9例给予尼洛替尼作为一线治疗,前4例在二代TKIs治疗12个月仅达到CCyR;1例治疗6个月仅达到PCyR;3例治疗期间丧失MMR,1例治疗19个月仅达到mCyR。6例给予伊马替尼作为一线治疗,更换为二代TKIs后6~53个月仍未达到MMR,或丧失MMR。本组研究发现TKIs联合羟氯喹治疗后,93.3%患者BCR-ABL转录本水平较前下降,更有60%患者达到MMR,提示羟氯喹可增强TKIs清除BCR-ABL细胞作用,其机制可能与自噬相关。

在CML中,一方面自噬可促进BCR-ABL阳性细胞存活以及白血病的发生。Altman等^[10]研究发现

BCR-ABL阳性的CML细胞存在低水平的自噬活性,却高度依赖自噬,中断自噬可阻止白血病的发生。另一方面自噬介导干细胞对TKIs耐药的发生^[11]。体外试验发现TKIs及羟基脲联合明显增加K562白血病细胞凋亡^[12];Bellodi等^[13]也通过集落形成实验证实TKIs与自噬抑制剂联合应用可提高干细胞对TKIs的敏感性,甚至可以清除表型和功能定义干细胞。对此,Calabretta等^[14]认为TKIs对干细胞BCR-ABL的抑制可以激活CML细胞的保护性自噬途径,从而抵抗细胞凋亡。羟基脲是羟基脲类似物,通过酸化溶酶体,抑制自噬体与溶酶体结合而发挥抑制自噬作用^[15]。本研究结果证实患者TKIs治疗不能达最佳状态与自噬有密切相关性,自噬抑制剂羟基脲明显增加患者对TKIs的敏感性。

本研究中5例BCR-ABL定量虽有下降,但仍未达到MMR,提示耐TKIs是多因素和多途径所致,自噬不是唯一的细胞保护机制^[16]。

不良反应主要发生在TKIs治疗期间,包括血液学毒性和非血液学毒性,但均为自限性,可耐受;联合羟基脲前仅有1例处于IV级血液学毒性状态,治疗后该患者血液学毒性未有增加,且无1例患者发生III~IV级不良反应,而既往羟基脲的报道中不良反应多表现为视力模糊、角膜病变、皮疹等^[17],这可能是因为在本研究羟基脲治疗时间短、剂量偏小。截止至随访时间,15例均存活,无疾病进展,提示CML中位生存时间长,而且本研究中纳入的多为近两年病例。

总之,本研究初步证明羟基脲联合TKIs治疗可提高CML患者疗效,但例数偏少,尚需要大样本数据验证。

[参考文献]

- [1] Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management[J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(5): 547-556
- [2] Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. Treatment recommendations for chronic myeloid leukemia[J]. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2014, 6(1): e2014005
- [3] Rosti G, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. Second-generation BCR-ABL inhibitors for frontline treatment of chronic myeloid leukemia in chronic phase[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012, 82(2): 159-170
- [4] Press RD, Love Z, Tronnes AA, et al. BCR-ABL mRNA levels at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML[J]. *Blood*, 2006, 107(11): 4250-4256
- [5] Hughes TP, Hochhaus A, Branford S, et al. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS) [J]. *Blood*, 2010, 116(19): 3758-3765
- [6] Salomoni P, Calabretta B. Targeted therapies and autophagy: new insights from chronic myeloid leukemia [J]. *Autophagy*, 2009, 5(7): 1050-1051
- [7] Vogl DT, Stadtmauer EA, Tan KS, et al. Combined autophagy and proteasome inhibition: a phase 1 trial of hydroxychloroquine and bortezomib in patients with relapsed/refractory myeloma [J]. *Autophagy*, 2014, 10(8): 1380-1390
- [8] 中华医学会血液学分会. 中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南(2016版)[J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(8): 633-639
- [9] Ekiz HA, Can G, Baran Y. Role of autophagy in the progression and suppression of leukemias [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012, 81(3): 275-285
- [10] Altman BJ, Jacobs SR, Mason EF, et al. Autophagy is essential to suppress cell stress and to allow BCR-Abl-mediated leukemogenesis [J]. *Oncogene*, 2011, 30(16): 1855-1867
- [11] Yu Y, Cao L, Yang L, et al. microRNA 30A promotes autophagy in response to cancer therapy [J]. *Autophagy*, 2012, 8(5): 853-855
- [12] Mishima Y, Terui Y, Mishima Y, et al. Autophagy and autophagic cell death are next targets for elimination of the resistance to tyrosine kinase inhibitors [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(11): 2200-2208
- [13] Bellodi C, Lidonnici MR, Hamilton A, et al. Targeting autophagy potentiates tyrosine kinase inhibitor-induced cell death in Philadelphia chromosome-positive cells, including primary CML stem cells [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(5): 1109-1123
- [14] Calabretta B, Salomoni P. Suppression of autophagy by BCR/ABL [J]. *Front Biosci*, 2012, 4: 453-460
- [15] Rabinowitz JD, White E. Autophagy and metabolism [J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1344-1348
- [16] Ohtomo T, Miyazawa K, Naito M, et al. Cytoprotective effect of imatinib mesylate in non-BCR-ABL-expressing cells along with autophagosome formation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 310-315
- [17] Avina-Zubieta JA, Galindo-Rodriguez G, Newman S, et al. Long-term effectiveness of antimalarial drugs in rheumatic diseases [J]. *Ann Rheum Dis*, 1998, 57(10): 582-587

[收稿日期] 2017-03-13