

• 佳文解读 •

# 《低剂量阿糖胞苷、阿克拉霉素联合粒细胞集落刺激因子组成的 CAG 预激方案与 CVAD 方案在复发/难治性 Ph 染色体阴性的急性淋巴细胞白血病挽救性再诱导治疗中疗效的比较》解读<sup>\*</sup>

## Comments on “Efficacy of low-dose cytarabine and aclarubicin in combination with granulocyte colony-stimulating factor (CAG regimen) compared to Hyper-CVAD regimen as salvage chemotherapy in relapsed/refractory Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia”

薛胜利<sup>1</sup> 吴德沛<sup>1</sup>

[编者按]本文最初发表于 2015 年《Leukemia Research》杂志第 39 卷,题录为:Liu L, Jiao W, Zhang Y, et al. Efficacy of low-dose cytarabine and aclarubicin in combination with granulocyte colony-stimulating factor (CAG regimen) compared to Hyper-CVAD regimen as salvage chemotherapy in relapsed/refractory Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia[J]. Leuk Res, 2015, 39: 323—328。文章表明 CAG 预激方案对复发/难治性 ALL 的再诱导缓解效能与 Hyper-CVAD 方案相仿,且毒副作用少,安全性高;此外,与 B 淋系复发/难治性 ALL 相比, CAG 预激方案对 T 淋系复发/难治性 ALL 的疗效更为突出。该结果为 CAG 预激方案应用于复发/难治性 ALL 的再诱导缓解治疗提供了临床实践依据。经通信作者的许可,再次通过佳文解读的方式阐明这一治疗方案,供各位赏析。

[关键词] 白血病,淋巴细胞,急性;CAG 预激方案;CVAD 方案

Key words acute lymphoblastic leukemia; CAG regimen; CVAD regimen

doi: 10.13201/j.issn.1004-2806.2016.03.001

[中图分类号] R733.71 [文献标志码] A



**专家简介:**薛胜利,医学博士,副主任医师,副教授,硕士生导师。担任江苏省医学会血液学分会造血干细胞移植学组委员,国家自然科学基金通讯评审。先后获得江苏省教育厅、卫生厅、国家自然科学基金面上项目等多项资助进行血液病的诊断与治疗研究。2014—2015 年期间在美国 City of Hope/National Medical Center 研修。在国内率先开展先天性中性粒细胞减少症的基因诊断工作,参与的研究项目分别获得 2014 年江苏省医学新技术引进奖一等奖、2015 年度江苏省科学技术奖一等奖、2015 年中华医学科技奖二等奖。近年来发表核心科技论文 10 余篇。副主编全国高校国家级规划教材配套教材《血液科临床实践(习)导引与图解》。

在过去的几十年中,对于急性淋巴细胞白血病(ALL)的治疗已取得了长足进步。目前,儿童 ALL 的长期生存率接近 90%,成人 ALL 的 5 年整

体生存率可达 50%<sup>[1]</sup>。这很大程度上得益于诱导治疗、庇护所预防治疗、巩固治疗、维持治疗、系统治疗策略的合理应用;高强度联合化疗、依照危险度分级进行个体化治疗的实施;以及在年轻成人 ALL 中更多采用儿童 ALL 治疗方案<sup>[2-4]</sup>。

尽管如此,复发/难治性 ALL 仍然是 ALL 治疗中面临的重要挑战,也位于 ALL 治疗失败的主要原因之首。儿童 ALL 的疾病复发率接近 1/5<sup>[5]</sup>;

<sup>\*</sup> 基金项目:江苏省科教兴卫工程-临床医学中心(No: ZX201102);国家临床重点专科建设项目、江苏省教育厅研究生科研创新计划项目(No: CX08B\_169Z)

<sup>1</sup> 苏州大学附属第一医院 江苏省血液研究所,卫生部血栓与止血重点实验室,血液学协同创新中心(江苏苏州, 215006)

通信作者:吴德沛, E-mail: wudepei@suda.edu.cn

成人 ALL 的疾病复发率超过 1/3,特别在高危组的成人 ALL 中,复发率更是接近 2/3<sup>[6]</sup>。此外,复发/难治性 ALL 预后恶劣,在儿童中长期生存率不足 50%<sup>[5]</sup>,在成人中长期生存率仅 10%左右<sup>[6-9]</sup>。除了新型的如嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)疗法在特定类型复发/难治性 ALL 中有显著疗效外,异基因造血干细胞移植仍然是目前根治复发/难治性 ALL 的唯一方法。但移植前此类 ALL 患者是否处于完全缓解状态直接影响移植疗效。因此,在复发/难治性 ALL 中采用挽救性再诱导治疗方案取得完全缓解成为移植顺利实施及疗效保证的先决条件。

在晚期复发儿童 ALL 的挽救性再诱导治疗中,通常会采用原初始诱导治疗方案,取得的再诱导缓解率介于 71%~93%<sup>[5]</sup>;但在复发/难治性成人 ALL 的挽救性再诱导治疗中,再诱导治疗方案多样,包括原初始诱导治疗方案、Hyper-CVAD 方案、FLAG 方案、高剂量阿糖胞苷(Ara-C)联合蒽环类化疗药物方案、甲氨蝶呤联合门冬酰胺酶方案等,但再诱导缓解率很少超过 50%,且化疗相关毒副作用明显<sup>[6-9]</sup>。因此,为复发/难治性 ALL 寻找低毒、高效的再诱导治疗方案,特别对成人 ALL 意义重大。

在发表于 2015 年《Leukemia Research》第 39 卷的“Efficacy of low-dose cytarabine and aclarubicin in combination with granulocyte colony-stimulating factor (CAG regimen) compared to Hyper-CVAD regimen as salvage chemotherapy in relapsed/refractory Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia”研究报告中<sup>[10]</sup>,我们从 90 例复发/难治性 ALL 中回顾性评价了 CAG 预激方案作为复发/难治性 ALL 挽救性再诱导治疗方案的疗效,并与同期在 96 例复发/难治性 ALL 中采用的挽救性 Hyper-CVAD 再诱导治疗方案作对比。我们得出:CAG 预激方案对复发/难治性 ALL 的再诱导缓解效能与 Hyper-CVAD 方案相仿,且毒副作用少,安全性高;此外,与 B 淋系复发/难治性 ALL 相比,CAG 预激方案对 T 淋系复发/难治性 ALL 的疗效更为突出。我们的结果为 CAG 预激方案应用于复发/难治性 ALL 的再诱导缓解治疗提供了临床实践依据。

CAG 预激方案设计最初是为了治疗复发的急性髓系白血病(AML),其应用于复发/难治性 ALL 治疗的理论及实验依据我们亦进行了探索总结,分述如下。

## 1 关于 CAG 预激方案

在研究 AML 的过程中,研究者们早期即已发现 AML 细胞株和 AML 患者白血病细胞可表达粒细胞集落刺激因子受体(G-CSFR),而且体外实验

证实在粒细胞集落刺激因子(G-CSF)刺激作用下这些细胞可以增殖<sup>[11]</sup>。更为重要的是,研究者们发现当 G-CSF 协同 S 期特异性化疗药物共同作用于 AML 细胞时,可以增强化疗药物的细胞毒作用,但这种效应在正常造血细胞中表现并不明显<sup>[12]</sup>。以上发现促使研究者们设计出在对 AML 化疗前或同时给予造血刺激因子以增强化疗药物疗效的“预激方案”。

由日本学者设计的 CAG 预激方案最初是为了治疗复发的 AML,结果发现其疗效显著,甚至与传统所采用的挽救性再诱导治疗方案——大剂量 Ara-C 联合米托恩醌的疗效相当<sup>[13-14]</sup>。随后该方案被应用于各种预后不良的 AML 治疗,如难治性 AML、继发性 AML、老年性 AML 等,不仅在临床疗效上都取得了相当不错的结果,且化疗毒副作用明显低于高剂量及常规剂量化疗方案<sup>[15-16]</sup>。关于 CAG 预激方案如何高效清除 AML 细胞的作用机制国内外学者都进行了相关研究,普遍认为 G-CSF 通过与 AML 细胞表面 G-CSFR 结合促进 G<sub>0</sub> 期 AML 细胞进入细胞增殖周期,进而通过增强细胞周期特异性药物 Ara-C 以及非特异性药物阿克拉霉素的细胞毒作用进而高效杀伤清除 AML 细胞<sup>[17-18]</sup>。因此,G-CSF/G-CSFR 配体受体系统驱动 AML 细胞进入增殖周期的预激(Priming)效应在 CAG 方案清除 AML 细胞过程中起着关键作用。

## 2 CAG 方案应用于 ALL 治疗的临床实践过程

传统上认为,G-CSFR 主要表达于髓系造血干/祖细胞、髓系白血病细胞、中性粒细胞、单核细胞、血小板。G-CSF 通过 G-CSFR 特异地调节粒系细胞的增殖与分化,并增强成熟粒细胞的功能,提升机体的应激防御能力<sup>[19]</sup>。

但进一步的研究证实,G-CSFR 可表达在多种细胞和组织,如淋巴细胞、血管内皮细胞、结肠癌、肺癌、膀胱癌、口腔内肿瘤,甚至是神经组织细胞均有表达。G-CSFR 通过介导 G-CSF 刺激可对这些组织细胞产生多样的生物学效应,如可促进淋巴细胞增殖、改变 T 细胞的细胞因子分泌谱进而调节其免疫功能;促进肺癌、结肠癌细胞增殖;改变膀胱癌细胞的生物学特性,增强其侵袭力;使得口腔肿瘤患者预后更差;促进血管内皮细胞迁移、新生,并在神经组织细胞损伤及心肌缺血损伤后的修复中发挥一定作用<sup>[19-23]</sup>。

我们关注到有文献报道 G-CSFR 可以表达于 ALL 细胞,且表达 G-CSFR 受体的 ALL 细胞对 G-CSF 亦可产生增殖效应<sup>[24-26]</sup>。我们推测 CAG 方案有可能以清除 AML 细胞相似的机制杀灭 ALL 细胞。因此,我们率先尝试性地将 CAG 预激方案应用于少数复发/难治性 ALL 的治疗,并取得

了良好结果<sup>[27-29]</sup>。随后,我们进一步扩大了 CAG 方案治疗复发/难治性 ALL 研究病例数,均显示出 CAG 方案良好的再诱导治疗效能,并观察到 CAG 方案对 T 系 ALL 疗效更为优异。不同时段的研究成果均已发表<sup>[10,30]</sup>。

### 3 G-CSFR 在淋系细胞上表达特征的研究

CAG 方案对复发/难治性 ALL 的显著疗效及更有利于 T 系 ALL 再诱导治疗的特征,让我们高度怀疑 G-CSF/G-CSFR 配体受体系统可能在 CAG 方案清除 ALL 细胞中同样发挥类似于在清除 AML 细胞中发挥的 Priming 效应,由此产生与化疗药物的协同作用,从而使低剂量化疗产生出超越强度在常规剂量以上再诱导化疗的疗效。

然而,对 ALL 细胞表面 G-CSFR 表达情况及 G-CSF 作用于 ALL 细胞后可能产生的生物学效应的问题之前国内外尚无系统性的研究,仅有零星个案报道<sup>[24-26]</sup>。为了验证我们的推测,就必须澄清 2 个问题,ALL 细胞表面有 G-CSFR 表达吗? T-ALL 与 B-ALL 在 G-CSFR 表达上有区别吗?

我们利用荧光标记的 G-CSFR 单克隆抗体结合流式细胞技术,定量分析了正常人淋巴细胞及 ALL 细胞膜表面 G-CSFR 表达。结果显示淋巴细胞表达 G-CSFR,但表达密度明显低于髓系细胞,CD3<sup>+</sup>T 淋巴细胞 G-CSFR 表达密度与髓系细胞相仿,CD19<sup>+</sup>B 淋巴细胞 G-CSFR 表达密度高于髓系细胞<sup>[31]</sup>。而在 ALL 细胞中 G-CSFR 表达阳性率 84%,B-ALL 与 T-ALL 间 G-CSFR 阳性表达率无明显区别。表达 G-CSFR 的 ALL 细胞株及 ALL 原代细胞 G-CSFR 表达密度均高于髓系细胞<sup>[32]</sup>。

### 4 CAG 方案清除 ALL 细胞的机制探索

G-CSFR 在 ALL 细胞表面表达的确定,似乎为“G-CSF/G-CSFR 配体受体系统可能在 CAG 方案清除 ALL 细胞中同样发挥类似于在清除 AML 细胞中发挥的 Priming 效应,由此产生与化疗药物的协同作用”这种假说建立了前提。但 G-CSFR 在 T-ALL 与 B-ALL 中阳性率的相似性却无法解释 CAG 方案对 T-ALL 的疗效相对优异性。

我们以表达 G-CSFR 的 ALL 细胞株为研究对象,检测不同浓度 Ara-C 和 G-CSF 联合对各 ALL 细胞株的杀伤作用。结果发现在 G-CSF 作用下,S 期细胞比例增多的 ALL 细胞株上可呈现出 G-CSF 与 Ara-C 的协同杀伤作用;在 G-CSF 作用下,S 期细胞比例无变化的 ALL 细胞株上不能呈现出 G-CSF 与 Ara-C 的协同杀伤效应<sup>[33-34]</sup>。

我们继续增加原代 ALL 细胞为研究对象,检测不同浓度 Ara-C 和 G-CSF 联合对各原代 ALL 细胞的杀伤作用。结果发现在经 G-CSF 处理后 G-CSFR 表达密度下降(>10%)的原代 ALL 细胞上可呈现出 G-CSF 与 Ara-C 的协同杀伤作用,该

现象在 ALL 细胞株上亦存在<sup>[32,34]</sup>。而 G-CSF 处理后 G-CSFR 表达密度下降是中性粒细胞的特征之一<sup>[35]</sup>。我们的结果证实在 ALL 细胞中 G-CSF 对化疗增敏效应的存在;但同时也说明,尽管不同 ALL 细胞间均可表达 G-CSFR,但因具体细胞间生物学特性的差异,G-CSFR 介导 G-CSF 所产生的生物学效应可完全不同。

### 5 CAG 方案在复发/难治性 ALL 中个体化应用的展望

我们的实验结果显示,在 G-CSF 作用下,S 期细胞比例增多的 ALL 细胞株可呈现出 G-CSF 与 Ara-C 的协同杀伤作用;在经 G-CSF 处理后 G-CSFR 表达密度下降(>10%)的 ALL 细胞上可呈现出 G-CSF 与 Ara-C 的协同杀伤作用。因此,该两项指标似乎有望成为预判特定 ALL 患者对 CAG 方案的疗效,但需在临床研究中进一步验证。

此外,研究显示因 mRNA 剪接差异 G-CSFR 共有 7 种亚型,其胞外段相同,区别主要在胞内段。在髓系细胞中,主要表达 G-CSFR 1 型和 4 型。其中 1 型受体通过 Ras/Raf/MAPK、Jak-Stat 途径既可转导 G-CSF 诱发的促增殖信号,亦可转导促成成熟分化信号。而 4 型受体由于其转导促成成熟分化信号的胞内段缺失,故只能转导促增殖信号<sup>[19,36]</sup>。在 ALL 中我们尚未对 G-CSFR 亚型分布开展研究,G-CSFR 在 ALL 细胞中亚型分布及相对比例是否能够提示 CAG 方案对特定复发/难治性 ALL 患者的疗效亦需进一步研究。

### 参考文献

- [1] Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia[J]. Lancet, 2013, 381: 1943—1955.
- [2] Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia[J]. N Engl J Med, 2006, 354: 166—178.
- [3] Huguette F, Leguay T, Raffoux E, et al. Pediatric-inspired therapy in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: the GRAALL-2003 study[J]. J Clin Oncol, 2009, 27: 911—918.
- [4] Al-Khabori M, Minden MD, Yee KW, et al. Improved survival using an intensive, pediatric-based chemotherapy regimen in adults with T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 2010, 51: 61—65.
- [5] Ko RH, Ji L, Barnette P, et al. Outcome of patients treated for relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia; a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia Consortium study[J]. J Clin Oncol, 2010, 28: 648—654.
- [6] Oriol A, Vives S, Hernández-Rivas JM, et al. Outcome after relapse of acute lymphoblastic leukemia in adult patients included in four consecutive risk-adapted trials by the PETHEMA Study Group[J]. Haematologica, 2010, 95: 589—596.
- [7] Tavernier E, Boiron JM, Huguette F, et al. Outcome of treatment after first relapse in adults with acute lym-

- phoblastic leukemia initially treated by the LALA-94 trial[J]. *Leukemia*, 2007, 21: 1907—1914.
- [8] Fielding AK, Richards SM, Chopra R, et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study[J]. *Blood*, 2007, 109: 944—950.
- [9] Kozłowski P, Aström M, Ahlberg L, et al. High curability via intensive reinduction chemotherapy and stem cell transplantation in young adults with relapsed acute lymphoblastic leukemia in Sweden 2003-2007[J]. *Haematologica*, 2012, 97: 1414—1421.
- [10] Liu L, Jiao W, Zhang Y, et al. Efficacy of low-dose cytarabine and aclarubicin in combination with granulocyte colony-stimulating factor (CAG regimen) compared to Hyper-CVAD regimen as salvage chemotherapy in relapsed/refractory Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Res*, 2015, 39: 323—328.
- [11] Vellenga E, Young DC, Wagner K, et al. The effects of GM-CSF and G-CSF in promoting growth of clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia [J]. *Blood*, 1987, 69: 1771—1776.
- [12] Schiffer CA. Hematopoietic growth factors as adjuncts to the treatment of acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 1996, 88: 3675—3685.
- [13] Yamada K, Furusawa S, Saito K, et al. Concurrent use of granulocyte colony-stimulating factor with low-dose cytosine arabinoside and aclarubicin for previously treated acute myelogenous leukemia: a pilot study[J]. *Leukemia*, 1995, 9: 10—14.
- [14] Saito K, Furusawa S, Yamada K, et al. Comparison of low-dose cytosine arabinoside and aclarubicin in combination with granulocyte colony-stimulating factor to intermediate-dose cytosine arabinoside and mitoxantrone with or without etoposide in the treatment of relapsed acute myeloid leukemia[J]. *Rinsho Ketsueki*, 1995, 36: 165—174.
- [15] 吴德沛, 吴小津, 石培民, 等. 含 G-CSF 的预激方案用于难治性或复发性急性髓系白血病治疗的临床研究[J]. *中华血液学杂志*, 2004, 25(1): 51—52.
- [16] Li JM, Shen Y, Wu DP, et al. Aclarubicin and low-dose Cytosine arabinoside in combination with granulocyte colony-stimulating factor in treating acute myeloid leukemia patients with relapsed or refractory disease and myelodysplastic syndrome: a multicenter study of 112 Chinese patients[J]. *Int J Hematol*, 2005, 82: 48—54.
- [17] Bai A, Kojima H, Hori M, et al. Priming with G-CSF effectively enhances low-dose Ara-C-induced in vivo apoptosis in myeloid leukemia cells[J]. *Exp Hematol*, 1999, 27: 259—265.
- [18] 钟济华, 陈芳源, 王海啸, 等. CAG 方案对急性髓系白血病细胞作用机制的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2006, 27(7): 492—494.
- [19] Avalos BR. Molecular analysis of the granulocyte colony-stimulating factor receptor[J]. *Blood*, 1996, 88: 761—777.
- [20] Yang X, Liu F, Xu Z, et al. Expression of granulocyte colony stimulating factor receptor in human colorectal cancer[J]. *Postgrad Med J*, 2005, 81: 333—337.
- [21] Solaroglu I, Cahill J, Jadhav V, et al. A novel neuro-protectant granulocyte-colony stimulating factor[J]. *Stroke*, 2006, 37: 1123—1128.
- [22] Sloand EM, Kim S, Maciejewski JP, et al. Pharmacologic doses of granulocyte colony-stimulating factor affect cytokine production by lymphocytes in vitro and in vivo[J]. *Blood*, 2000, 95: 2269—2274.
- [23] Franzke A, Piao W, Lauber J, et al. G-CSF as immune regulator in T cells expressing the G-CSF receptor: implications for transplantation and autoimmune diseases[J]. *Blood*, 2003, 102: 734—739.
- [24] Matsushita K, Arima N. Involvement of granulocyte colony-stimulating factor in proliferation of adult T-cell leukemia cells[J]. *Leuk Lymphoma*, 1998, 31: 295—304.
- [25] Morikawa K, Morikawa S, Miyawaki T, et al. Constitutive expression of granulocyte-colony stimulating factor receptor on a human B-lymphoblastoid cell line [J]. *Br J Haematol*, 1996, 94: 250—257.
- [26] Tsuchiya H, El-Sonbaty SS, Watanabe M, et al. Analysis of myeloid characteristics in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Res*, 1993, 17: 809—813.
- [27] 薛胜利, 吴德沛, 孙爱宁, 等. CAG 方案治疗复发或初次诱导缓解治疗失败的 T 细胞急性淋巴细胞白血病[J]. *白血病. 淋巴瘤*, 2007, 16(2): 120—122.
- [28] 计成阜, 孙爱宁, 吴德沛, 等. CAG 方案治疗七例成人难治、复发性急性淋巴细胞白血病疗效观察[J]. *中华血液学杂志*, 2007, 28(1): 47—48.
- [29] Xue SL, Wu DP, Sun AN, et al. CAG regimen enables relapsed or refractory T-cell acute lymphocytic leukemia patients to achieve complete remission: a report of six cases[J]. *Am J Hematol*, 2008, 83: 167—170.
- [30] Xue SL, Cui HX, Zou JY, et al. Low-dose cytarabine and aclarubicin combined with granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of relapsed or primary refractory acute lymphocytic leukemia: a retrospective study of 25 Chinese patients[J]. *Hematol Oncol*, 2013, 31: 206—212.
- [31] 薛胜利, 戴兰, 乔曼, 等. 正常人外周血有核细胞膜表面 G-CSFR 受体的定量测定[J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 27(1): 54—59.
- [32] 薛胜利. 预激方案对难治、复发 ALL 治疗的临床及机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [33] 吴艳玲, 薛胜利, 孙爱宁, 等. CAG 方案清除 T 细胞急性淋巴细胞白血病细胞株 A3 细胞作用机制的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(6): 1279—1282.
- [34] 薛胜利, 戴兰, 陈艳, 等. G-CSF 对急性淋巴细胞白血病细胞株增殖活性的影响及协同化疗药物杀伤作用的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(1): 61—63.
- [35] Jilma B, Hergovich N, Homoncik M, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) downregulates its receptor (CD114) on neutrophils and induces gelatinase B release in humans[J]. *Br J Haematol*, 2000, 111: 314—320.
- [36] Berliner N. Lessons from congenital neutropenia: 50 years of progress in understanding myelopoiesis[J]. *Blood*, 2008, 111: 5427—5432.