

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.01023

• 学术园地 •

## 免疫调节剂治疗多发性骨髓瘤的抗血管生成及免疫调节作用机制

火俊<sup>1</sup>, 林天宝<sup>2</sup>, 侯健<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长征医院血液科, 上海 200003
2. 南京军区杭州疗养院特诊科, 杭州 310007

**[摘要]** 多发性骨髓瘤是一种多进程疾病, 不同疾病进程对化疗和放疗的敏感性不同, 敏感性减低可造成疾病复发或成为难治性多发性骨髓瘤。骨髓瘤细胞的生长、凋亡的抑制及耐药性依赖于参与免疫调节的细胞因子和血管生成的生长因子, 如 IL-6、VEGF 等。沙利度胺既具有抗血管生成作用, 又具有免疫调节功能, 是治疗多发性骨髓瘤的有效药物之一, 但长期服用沙利度胺可引起深静脉血栓等严重并发症, 使与沙利度胺结构相似但比其更安全、高效的免疫调节类药物 (immunomodulatory drugs, IMiDs) 的探讨成为热点。IMiDs 具有抗新生血管形成作用, 同时可共刺激 T 细胞亚群, 诱导细胞因子产生并提升 NK 细胞数量与功能, 通过增强抗体依赖细胞介导的细胞毒性杀伤肿瘤细胞。本文简述 IMiDs 治疗多发性骨髓瘤的机制及其初步临床试验结果。

**[关键词]** 免疫调节; 血管生成; 沙利度胺类似物; 多发性骨髓瘤

**[中图分类号]** R 733.3; R 979.1+9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)09-1023-03

### Anti-angiogenesis and immunomodulation effect of immunomodulatory drugs in patients with multiple myeloma

HUO Jun<sup>1</sup>, LIN Tian-bao<sup>2</sup>, HOU Jian<sup>1\*</sup>

1. Department of Hematology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China
2. Department of Ultrasound, Hangzhou Sanatorium of PLA Nanjing Military Area Command, Hangzhou 310007, Zhejiang, China

**[Abstract]** Multiple myeloma is a multi-step disease, and different steps have different sensitivities to chemotherapy and radiotherapy. Low sensitivity can result in recurrent and refractory multiple myeloma. The growth of myeloma cells, apoptosis inhibition and drug resistance depend on the participation of immunomodulatory cytokines and vascular endothelial growth factors, such as IL-6 and VEGF. Thalidomide, an effective drug for multiple myeloma, has both anti-angiogenesis effect and immunoregulatory function; but long term use of thalidomide can result in complications such as deep venous thrombosis. Immunomodulatory drugs (IMiDs) are more effective thalidomide analogues and they have become a focus of study. IMiDs have anti-angiogenesis effect; they can co-stimulate T cell subgroup, induce cytokine production, and increase the quality and quantity of NK cells, exerting cytotoxic effect against tumor cells *via* antibody dependent manner. This article reviews the mechanism of IMiDs in treatment of multiple myeloma and the preliminary result of the clinical trails.

**[Key words]** immunomodulatory; angiogenesis; thalidomide analogues; multiple myeloma

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(9):1023-1025]

尽管近年来恶性肿瘤治疗方法不断发展, 但诸如多发性骨髓瘤等恶性肿瘤患者的生存率仍不理想, 即使在美国这样的发达国家多发性骨髓瘤患者的平均存活时间约 2.5~3.5 年, 仅 34% 的患者生存超过 5 年, 而每年约有 2 万多人发病<sup>[1]</sup>。骨髓瘤细胞的生长依赖于新生血管的形成及机体的免疫环境, 沙利度胺既具有抗血管生成又具有免疫调节作用, 应用于骨髓瘤的治疗是“老药新用”的典型。但长期服用沙利度胺可引起深静脉血栓等严重并发症, 这使与沙利度胺结构相似但比其更安全、高效的免疫调节类药物 (immuno-

modulatory drugs, IMiDs) 的探讨成为热点。因此, 本文就 IMiDs 治疗多发性骨髓瘤的机制及其初步临床试验结果进行简述。

#### 1 多发性骨髓瘤的发病机制

多发性骨髓瘤的骨髓瘤细胞起源于记忆 B 细胞或幼浆细胞。这些细胞具有遗传不稳定性, 约 75% 的多发性骨髓瘤患者 14q32 免疫球蛋白重链基因位点上存在基因重排<sup>[2]</sup>。骨髓微环境中, 骨髓瘤细胞附着纤连蛋白防止细胞凋亡, 并

**[收稿日期]** 2010-03-11 **[接受日期]** 2010-06-25

**[作者简介]** 火俊, 硕士生. E-mail: huojun2010@gmail.com

\* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-81885424, E-mail: houjian@medmail.com.cn

通过粘合骨髓间质细胞诱导分泌细胞因子,如白细胞介素6(IL-6)、胰岛素样生长因子1(IGF-1)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和血管内皮生长因子(VEGF)等<sup>[3]</sup>。IL-6通过信号转导分子的磷酸化、转录因子的激活促进骨髓瘤细胞存活,并上调抗细胞凋亡因子如Mcl-1、Bcl-x<sub>1</sub>和C-Myc的表达<sup>[4]</sup>,进展性多发性骨髓瘤患者的骨髓中IL-6异常升高,提示以IL-6为中心的细胞因子网络失调可引起骨髓瘤细胞增殖。IGF-1由骨髓间质细胞分泌,可促使骨髓瘤细胞的生存与生长,并通过激活Ras、MAP激酶和PI3K、AKT途径使其产生耐药性。TNF- $\alpha$ 可激活NF- $\kappa$ B,而NF- $\kappa$ B可调节黏附分子的表达和细胞因子的产生。VEGF通过蛋白激酶C途径促进骨髓瘤细胞的生长和迁移,并可刺激骨髓内的血管生成<sup>[3]</sup>。此外,碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)不仅存在于外周血细胞,骨髓细胞也可表达<sup>[5]</sup>;在新诊断白血病患者尿中发现其水平远超过其他恶性肿瘤患者的尿样<sup>[6]</sup>,提示(微)血管生成对于血液系统肿瘤起着重要作用。

## 2 沙利度胺、IMiDs的抗血管生成及免疫调节作用

### 2.1 概述

沙利度胺是一种具有催眠作用的镇静剂,曾广泛应用于缓解妊娠呕吐症,20世纪60年代由于“海豹肢”的出现而退出欧洲市场。孕妇服用沙利度胺对胎儿的损害常发生在怀孕早期,肢芽异常与正常血管生成受到抑制有关。沙利度胺又是一种有效的抗血管生成剂,可以分别抑制bFGF和VEGF诱导的血管生成<sup>[7-8]</sup>,并具有抗肿瘤活性作用<sup>[9-10]</sup>。与此同时,沙利度胺的免疫调节作用得到认识并且被谨慎用于治疗慢性移植抗宿主反应、贝切特综合征、麻风结节红斑、人类免疫缺陷性病毒相关口腔溃疡等。由于骨髓瘤特殊的发病机制,目前沙利度胺已广泛应用于多发性骨髓瘤的治疗。但由于沙利度胺的不良反应较多,比如周围神经病、致畸、嗜睡、便秘、疲劳、深静脉血栓等,研发较沙利度胺疗效更好、毒副作用更少的类似物是必然的趋势。这些类似物通过多种途径发挥抗多发性骨髓瘤的作用,包括调节骨髓瘤细胞对骨髓和间质细胞的黏附、减少在骨髓微环境中一些细胞因子的分泌与其他免疫调节方面的效应<sup>[11]</sup>。IMiDs在结构上与沙利度胺类似,其作用机制还没有被完全理解,但各种研究表明它们可抑制IL-6、TNF- $\alpha$ 表达,拮抗bFGF和VEGF,是COX-2选择性抑制剂。目前国外已上市的2个IMiDs(CC-4047、CC-5013)较沙利度胺的作用明显且不良反应少<sup>[12-13]</sup>;而Kumar等<sup>[14]</sup>进行的体外实验发现沙利度胺类似物CPS11和CPS49可降低骨髓间质细胞分泌IL-6、IGF和VEGF的水平,抑制骨髓瘤细胞的增殖。Schey等<sup>[15]</sup>于2004年明确了CC-4047治疗多发性骨髓瘤的安全性和耐受性;同时表明CC-4047的免疫调节作用至少有一部分通过T细胞的共同刺激来发挥。Bartlett等<sup>[16]</sup>报道CC-5013也具有T细胞刺激活性。

### 2.2 IMiDs的T细胞共刺激作用及初步临床应用

为了证明CC-4047安全有效,Schey等<sup>[15]</sup>设计了开放性、单中心、剂量递增的I期临床。对CC-4047治疗24例复发或难治性多发性骨髓瘤患者的耐受性、疗效及免疫效应等进行分析。试验发现患者血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10、VEGF及bFGF水平在

治疗前后没有明显变化,与单克隆免疫球蛋白升降无关联,可能与疾病进程、机体代偿有关。但在开始治疗4周,CC-4047对血清IL-12和sIL-2r(血清IL-2受体)水平有显著影响,与单克隆免疫球蛋白下降相关。sIL-2r的持续高水平是CC-4047介导T细胞活化的一个间接证据,因为它包含在IL-2介导的活化通路。而IL-12的升高说明CC-4047可增强诱导Th1细胞产生免疫反应。

在试验开始的4周,患者CD8<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>T细胞明显减少,而CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>T细胞明显增加,这意味着从幼稚细胞向活化T效应细胞的转换。评价疗效达到至少PR(部分缓解)、VGPR(非常好的部分缓解)、CR(完全缓解)比例分别为54%、29%、17%,PFS(无进展生存)和OS(总生存)时间为39周和90周。结果表明CC-4047对于复发或难治性多发性骨髓瘤患者不失为有效的挽救治疗手段之一,主要不良反应是深静脉血栓、皮肤毒性、神经炎、便秘及中性粒细胞减少,且多为I级。2009年底美国血液病学会第51届年会上报道第1项CC-4047联合低剂量地塞米松治疗60例复发或难治性骨髓瘤患者的II期临床试验结果,评价疗效至少达PR者为63%;其中16例对沙利度胺耐药患者中6例有效,10例硼替佐米耐药患者6例有效,13例具有高危细胞遗传学或分子标志的患者11例有效,提示IMiD(CC-4047)具有良好的临床应用前景。

Bartlett等<sup>[16]</sup>进行了CC-5013治疗转移性恶性黑色素瘤的I期临床试验,研究发现血清sIL-2r水平持续升高、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)大量诱导生成,说明CC-5013可通过刺激T细胞的活化发挥抗肿瘤活性。这也支持了以往在体外实验中发现IMiDs能够共同刺激2个T细胞亚群,通过测定IL-2浓度发现,CC-5013、CC-4047可显著活化CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞,CC-5013对T细胞的共刺激作用较沙利度胺强50~2000倍,而CC-4047比CC-5013更强<sup>[13,17]</sup>。Mayo Clinic回顾性分析411例初发骨髓瘤患者资料发现,CC-5053组在疗效达到至少PR、VGPR、CR比例显著高于沙利度胺组(80.3% vs 61.2%, 34.2% vs 12%, 13.6% vs 3.3%,  $P < 0.001$ ),TTP(time to progression)、PFS、OS时间明显延长<sup>[18]</sup>;使用CC-5053出现乏力、周围神经炎、静脉血栓、便秘等的发生率较沙利度胺低,主要不良反应是中性粒细胞减少并可通过给予G-CSF防治。CC-5053在治疗复发难治性骨髓瘤患者的III期临床试验中总有效率也达60%左右<sup>[19]</sup>。

### 2.3 IMiDs的其他免疫调节作用

体外实验发现沙利度胺及IMiDs能增加自然杀伤细胞(NK细胞)引起骨髓瘤细胞裂解。体内试验证实沙利度胺治疗有效的多发性骨髓瘤患者其体内NK细胞数量也会增加<sup>[20]</sup>。不同于沙利度胺,IMiDs(CC-4047、CC-5013)还可增强抗体依赖细胞介导的细胞毒性(ADCC)发挥抗肿瘤作用,使NK细胞释放穿孔素和颗粒酶B,并促进死亡配体介导的肿瘤细胞凋亡<sup>[13]</sup>。IMiDs刺激T细胞与NK/T细胞分泌IL-2、IFN $\gamma$ 引起NK细胞的数量增多、效应增强,NK细胞由于抗体包被靶细胞的存在分泌单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、GM-CSF促进T细胞及树突细胞发

挥效应<sup>[21]</sup>。

综上所述,在多发性骨髓瘤的治疗中,IMiDs是抗血管生成和免疫调节因子且起到关键作用;IMiDs较沙利度胺治疗多发性骨髓瘤疗效更佳、不良反应少。这些抗血管生成并同时可使CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞活化、诱导细胞因子产生、提升NK细胞数量和功能、增强ADCC等效应可鼓励人们在更多的临床试验中将IMiDs作为治疗选择之一。目前CC-5013(Lenalidomid/Revlimid)、CC-4047(Pomalidomide/Actimid)已经在国外上市,我们期待发现更新更好的IMiDs。

#### [参考文献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun M J. Cancer statistics, 2009[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59: 225-249.
- [2] Kuehl W M, Bergsagel P L. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2: 175-187.
- [3] Hayashi T, Hideshima T, Anderson K C. Novel therapies for multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2003, 120: 10-17.
- [4] Sirohi B, Powles R. Multiple myeloma[J]. Lancet, 2004, 363: 875-887.
- [5] Brunner G, Nguyen H, Gabrilove J, Rifkin D B, Wilson E L. Basic fibroblast growth factor expression in human bone marrow and peripheral blood cells[J]. Blood, 1993, 81: 631-638.
- [6] Nguyen M, Watanabe H, Budson A E, Richie J P, Hayes D F, Folkman J. Elevated levels of an angiogenic peptide, basic fibroblast growth factor, in the urine of patients with a wide spectrum of cancers[J]. J Natl Cancer Inst, 1994, 86: 356-361.
- [7] D'Amato R J, Loughnan M S, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 4082-4085.
- [8] Kenyon B M, Browne F, D'Amato R J. Effects of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization[J]. Exp Eye Res, 1997, 64: 971-978.
- [9] Fine H A, Figg W D, Jaeckle K, Wen P Y, Kyritsis A P, Loeffler J S, et al. Phase II trial of the antiangiogenic agent thalidomide in patients with recurrent high-grade gliomas[J]. J Clin Oncol, 2000, 18: 708-715.
- [10] Little R F, Wyvill K M, Pluda J M, Welles L, Marshall V, Figg W D, et al. Activity of thalidomide in AIDS-related Kaposi's sarcoma[J]. J Clin Oncol, 2000, 18: 2593-2602.
- [11] Richardson P, Anderson K. Immunomodulatory analogs of thalidomide: an emerging new therapy in myeloma [J]. J Clin Oncol, 2004, 22: 3212-3214.
- [12] Aragon-Ching J B, Li H, Gardner E R, Figg W D. Thalidomide analogues as anticancer drugs[J]. Recent Pat Anticancer Drug Discov, 2007, 2: 167-174.
- [13] Quach H, Ritchie D, Stewart A K, Neeson P, Harrison S, Smyth M J, et al. Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDs) in multiple myeloma[J]. Leukemia, 2010, 24: 22-32.
- [14] Kumar S, Raje N, Hideshima T, Ishitsuka K, Roccaro A, Shiraiishi N, et al. Antimyeloma activity of two novel N-substituted and tetrafluorinated thalidomide analogs[J]. Leukemia, 2005, 19: 1253-1261.
- [15] Schey S A, Fields P, Bartlett J B, Clarke I A, Ashan G, Knight R D, et al. Phase I study of an immunomodulatory thalidomide analog, CC-4047, in relapsed or refractory multiple myeloma [J]. J Clin Oncol, 2004, 22: 3269-3276.
- [16] Bartlett J B, Michael A, Clarke I A, Dredge K, Nicholson S, Kristeleit H, et al. Phase I study to determine the safety, tolerability and immunostimulatory activity of thalidomide analogue CC-5013 in patients with metastatic malignant melanoma and other advanced cancers[J]. Br J Cancer, 2004, 90: 955-961.
- [17] Schafer P H, Gandhi A K, Loveland M A, Chen R S, Man H W, Schnetkamp P P, et al. Enhancement of cytokine production and AP-1 transcriptional activity in T cells by thalidomide-related immunomodulatory drugs[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003, 305: 1222-1232.
- [18] Gay F, Hayman S R, Lacy M Q, Buadi F, Gertz M A, Kumar S, et al. Lenalidomide plus dexamethasone *versus* thalidomide plus dexamethasone in newly diagnosed multiple myeloma: a comparative analysis of 411 patients[J]. Blood, 2010, 115: 1343-1350.
- [19] Bartlett J B, Tozer A, Stirling D, Zeldis J B. Recent clinical studies of the immunomodulatory drug (IMiD) lenalidomide[J]. Br J Cancer, 2005, 93: 613-619.
- [20] Davies F E, Raje N, Hideshima T, Lentzsch S, Young G, Tai Y T, et al. Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma[J]. Blood, 2001, 98: 210-216.
- [21] Roda J M, Parihar R, Magro C, Nuovo G J, Tridandapani S, Carson W E 3rd. Natural killer cells produce T cell-recruiting chemokines in response to antibody-coated tumor cells[J]. Cancer Res, 2006, 66: 517-526.

[本文编辑] 贾泽军