

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00413

低剂量环磷酰胺联合泼尼松治疗多发性骨髓瘤的临床疗效及对血清 VEGF、PDGF-BB 水平的影响

郭列平¹, 周帆¹, 韦苇¹, 张忆梓¹, 石昊天¹, 凌晨晖¹, 李璐¹, 侯健^{2*}

1. 上海市闸北区中心医院血液肿瘤科, 上海 200070

2. 第二军医大学长征医院血液科, 上海 200003

[摘要] **目的** 探讨低剂量环磷酰胺联合泼尼松(CP方案)治疗多发性骨髓瘤的临床疗效及其对血清血管内皮生长因子(VEGF)和血小板源性生长因子BB(PDGF-BB)水平的影响。**方法** 54例难治或复发性多发性骨髓瘤患者给予低剂量环磷酰胺(CTX, 50 mg/d)联合泼尼松(Pred, 15 mg/d)持续口服,评价疗效。于治疗前和治疗后2、4、6个月分别取患者的血清并应用ELISA法检测血清中VEGF和PDGF-BB的表达。**结果** 治疗总有效率达69%(36/52)。其中有效并重复检测血清标本4次的患者30例(其中完全缓解2例,非常好的部分缓解4例,部分缓解24例),可评估无效患者7例。此30例有效组多发性骨髓瘤患者治疗2、4、6个月后血清VEGF和PDGF-BB水平与治疗前相比均降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);而7例无效组多发性骨髓瘤患者治疗2个月后血清VEGF和PDGF-BB水平与治疗前相比差异无统计学意义。**结论** 低剂量环磷酰胺联合泼尼松治疗多发性骨髓瘤患者有明显疗效,并可降低血清VEGF及PDGF-BB水平。推测其在多发性骨髓瘤中的作用机制可能与抑制新生血管的生成有关。

[关键词] 环磷酰胺;泼尼松;多发性骨髓瘤;血管内皮生长因子;血小板源性生长因子

[中图分类号] R 733.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)04-0413-04

Clinical effect of low-dose cyclophosphamide and prednisone in treatment of multiple myeloma and its influence on serum VEGF, PDGF-BB levels

GUO Lie-ping¹, ZHOU Fan¹, WEI Wei¹, ZHANG Yi-zi¹, SHI Hao-tian¹, LING Chen-hui¹, LI Lu¹, HOU Jian^{2*}

1. Department of Oncology and Hematology, Shanghai Zhabei District Central Hospital, Shanghai 200070, China

2. Department of Hematology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical effect of low-dose cyclophosphamide plus prednisone (CP regimen) in treatment of multiple myeloma (MM) and its influence on serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB). **Methods** Totally 54 patients with refractory or relapse MM were continuously treated with CP regimen; oral cyclophosphamide (CTX, 50 mg/d) and prednisone (Pred, 15 mg/d). The peripheral blood samples were collected from each group 0, 2, 4, and 6 months after treatment. Serum VEGF and PDGF-BB levels were analyzed by ELISA. **Results** The overall effective rate was up to 69%(36/52) in our study. The treatment was effective in 30 patients, including 2 complete response (CR) cases, 4 very good partial response (VGPR) cases and 24 partial response (PR) cases, and their serum samples were examined for 4 times. The serum levels of VEGF and PDGF-BB were significantly decreased in the 30 patients at 2, 4, and 6 months after treatment ($P < 0.01$); while their levels were not significantly change in the 7 invalid patients 2 months after treatment compared with before treatment. **Conclusion** Low-dose cyclophosphamide plus prednisone has noticeable effect in treatment of MM patients; it can also greatly down-regulate serum VEGF and PDGF-BB levels. The mechanisms of CP regimen in MM patients may be associated with the inhibition of new blood vessel generation.

[Key words] cyclophosphamide; prednisone; multiple myeloma; vascular endothelial growth factor; platelet-derived growth factor

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(4):413-416]

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种起源于浆细胞的恶性克隆性疾病,罹患该病的多为

[收稿日期] 2012-02-04 **[接受日期]** 2012-03-19

[作者简介] 郭列平, 硕士, 主治医师. E-mail: glplaying@sohu.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885421, E-mail: houjian167@sohu.com

老年患者,常合并其他基础疾病(如高血压、糖尿病、心脏病等),一定程度上限制了细胞毒化疗药物的应用。临床上,我们应用低剂量环磷酰胺(CTX, 50 mg/d)联合泼尼松(Pred, 15 mg/d)即 CP 方案持续口服治疗伴有严重并发症的 MM 患者,疗效显著,患者的生活质量及体力状况明显改善^[1-2]。本研究在上述研究的基础上,进一步收集 MM 患者在 CP 方案治疗前及治疗后 2、4、6 个月的血清,应用 ELISA 法检测血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和血小板源性生长因子 BB(platelet-derived growth factor BB, PDGF-BB)的表达水平,从而探讨低剂量环磷酰胺联合泼尼松治疗 MM 的作用机制。

1 材料和方法

1.1 病例选择 自 2009 年 7 月至 2011 年 10 月,上海闸北区中心医院血液肿瘤科共有 54 例难治或复发性 MM 患者应用 CP 方案治疗,3 个月无效或进展则退出研究,如完全缓解(CR)则维持 6 周后停药随访,如部分缓解(PR)继续 CP 方案,每月随访 1 次。于治疗前及治疗后 2、4、6 个月检测血清 VEGF 和 PDGF-BB 水平。有效并重复检测 4 次的患者 30 例;治疗 3 个月未达 PR 的患者视为无效,其中可评估无效患者 7 例;另有 17 例随访未达 6 个月或未能获取血清检测标本或失访。最终 37 例可评估患者纳入研究,均为难治或复发性 III 期 MM 患者^[3],男性 19 例、女性 18 例,中位年龄 66(46~90)岁,其中 <65 岁者 9 例,≥65 岁者 28 例。根据 Durie-Salmon 分期系统^[4]: III A 期患者 29 例,III B 期 8 例。根据免疫学分型: IgG 型患者 21 例, IgA 型 9 例, IgD 型 2 例, κ 轻链型 2 例, λ 轻链型 3 例。患者美国东部肿瘤协作组(ECOG)体力状况评级为 2~4 级。既往曾用 TD、MOD/T、VAD/T、MP/T、DECP/T、DT-PACE、VD/T 中一个或若干方案化疗至少 2 个周期。

1.2 化疗方案 环磷酰胺 50 mg/d 联合泼尼松 15 mg/d 持续口服。当中性粒细胞和血小板分别降至 $1.0 \times 10^9/L$ 和 $50 \times 10^9/L$ 时停用环磷酰胺,单服泼尼松;如分别降至 $0.5 \times 10^9/L$ 和 $30 \times 10^9/L$ 时,则停止化疗,服用利血生片 20 mg/次,3 次/d,合并感染的病例采用粒细胞集落刺激因子(G-CSF, 商品名:瑞白) 200 μg,待中性粒细胞 $>1.5 \times 10^9/L$ 时,继续使用本方案。

1.3 评价标准 按照国际骨髓瘤工作组(IMWG)评估标准每月评估疗效^[5]。其中严格意义的完全缓解(sCR)、CR、非常好的部分缓解(VGPR)和 PR 视

为有效。若血清 M 蛋白增加 10 g/L 或尿 M 蛋白增加 100%、溶骨性病变范围或数量增加、无其他原因可以解释的高钙血症及出现孤立性浆细胞瘤则视为疾病进展(PD)。随访记录无进展生存时间(PFS)和总生存时间(OS)。

1.4 ELISA 法检测 VEGF 和 PDGF-BB 的表达 分别在 CP 方案治疗前及治疗后 2、4、6 个月采集患者血清 2 ml。用无热源和内毒素的试管收集血液;避免溶血及高血脂标本。取血后常温下静置 2 h,离心 10 min,分离血清置于 -70℃ 冰箱保存待测,采用双抗体夹心 ELISA 法测血 VEGF 和 PDGF-BB 浓度(ELISA 检测试剂盒购自美国 R&D Systems 公司)。具体操作严格按试剂盒说明书进行。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,采用 Kaplan-Meier 乘积极限法计算累积生存率并进行 Log-rank 检验,采用方差分析比较 VEGF 和 PDGF-BB 的组间差异,检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 疗效及预后分析 有效并重复检测血清标本 4 次的患者 30 例(其中 CR 2 例, VGPR 4 例, PR 24 例),可评估无效患者 7 例,另有 17 例随访未达 6 个月或未能获取血清检测标本或失访(其中 PR 6 例, PD 9 例,失访 2 例)。治疗总有效率达 69%(36/52)。在此 37 例可评估患者中,有效组患者的中位 PFS 和 OS 分别为 17(95%CI: 12.7~21.3)个月和 25(95%CI: 21.7~28.3)个月,无效组患者的中位 PFS 和 OS 分别为 4(95%CI: 1.9~6.1)个月和 7(95%CI: 5.9~8.1)个月,两组间 PFS 和 OS 比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 CP 方案对患者血清 VEGF 表达的影响 CP 方案治疗 2、4、6 个月后,有效组血清 VEGF 表达与治疗前相比降低,差异有统计学意义($P < 0.01$,图 1A)。而无效组在治疗 2 个月,血清 VEGF 表达无明显改变[治疗前(498.16 ± 54.72) pg/ml, 2 个月后(512.25 ± 39.20) pg/ml, $P > 0.05$]。结果表明,应用低剂量环磷酰胺联合泼尼松治疗可使 MM 患者血清 VEGF 表达下降。

2.3 CP 方案对患者血清 PDGF-BB 表达的影响 CP 方案治疗 2、4、6 个月后,有效组血清 PDGF-BB 表达与治疗前相比降低,差异有统计学意义($P < 0.01$,图 1B)。而无效组在治疗 2 个月,血清 PDGF-BB 表达无明显改变[治疗前(488.23 ± 44.21) pg/ml, 2 个月后(452.33 ± 39.13) pg/ml, $P > 0.05$]。结果表明,应用低剂量环磷酰胺联合泼尼松治疗可下调患者血清 PDGF-BB 表达。

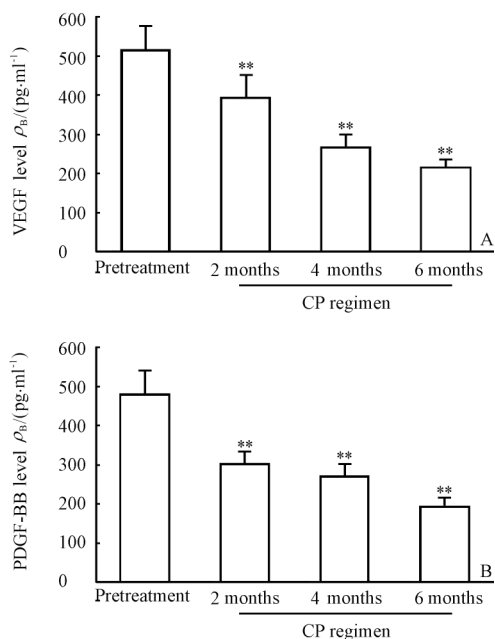


图1 低剂量环磷酰胺联合泼尼松对 MM 患者血清 VEGF(A)和 PDGF-BB(B)表达的影响
Fig 1 Influence of low-dose cyclophosphamide plus prednisone regimen on serum levels of VEGF(A) and PDGF-BB(B) in MM patients

MM: Multiple myeloma; VEGF: Vascular endothelial growth factor; PDGF-BB: Platelet-derived growth factor BB. ** $P < 0.01$ vs pretreatment; $n = 30$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

持续低剂量化疗 (continuous low-dose chemotherapy, LDM)^[6] 即节律性化疗 (metronomic chemotherapy), 指紧密、规律地给予相对低剂量的细胞毒类药物 (如: 环磷酰胺、长春碱、拓扑替康、顺铂等)。目前, 节律性化疗不仅在实体肿瘤治疗方面取得了显著的疗效, 在淋巴瘤、骨髓瘤及白血病领域也取得了较好的疗效^[7-12]。de Weerd 等^[10] 报道, 每日低剂量口服环磷酰胺 (100 mg) 和泼尼松 (10~20 mg) 用于治疗进展期 MM 方便有效, 且患者耐受性好。Trieu 等^[11] 发现每周口服环磷酰胺联合隔天泼尼松可作为自体干细胞移植后复发 MM 的挽救治疗。The Hoosier Oncology Group 对复发 MM 患者给予口服环磷酰胺 (50 mg, 2 次/d, 持续 21 d)、沙利度胺 (200 mg/d) 和泼尼松 (50 mg, 隔日), 每 28 d 为一周期的 II 期临床试验也顺利完成^[12]。我们的前期研究表明低剂量环磷酰胺 (50 mg/d) 联合泼尼松 (15 mg/d) 持续口服治疗伴有严重并发症的 MM 患者具有显著疗效, 可明显改善患者的生活质量及体力状况, 且该疗法不良反应小、患者耐受性好; 可作为 MM

的挽救治疗方案^[1-2]。

本研究中, 我们采用低剂量环磷酰胺联合泼尼松 (CP 方案) 治疗难治或复发性 MM 患者 54 例, 其中有效并重复检测血清标本 4 次的患者 30 例 (CR 2 例, VGPR 4 例, PR 24 例), 可评估无效患者 7 例, 另有 17 例随访未达 6 个月或未能获取血清检测标本或失访 (PR 6 例, PD 9 例, 失访 2 例)。治疗总有效率达 69% (36/52)。其中有效组患者的中位 PFS 和 OS 分别为 17 (95% CI: 12.7~21.3) 个月和 25 (95% CI: 21.7~28.3) 个月, 无效组患者的中位 PFS 和 OS 分别为 4 (95% CI: 1.9~6.1) 个月和 7 (95% CI: 5.9~8.1) 个月, 两组间 PFS 和 OS 比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示 CP 方案是难治或复发性 MM 患者的可选择性方案。

环磷酰胺是医学上常用的抗癌药, 也是最强的烷化剂类免疫抑制剂, 作用强且持久。环磷酰胺对免疫系统的影响同剂量相关, 较大剂量下可导致免疫系统的损伤^[13], 如诱导淋巴细胞核损伤、代谢功能受抑、增殖受抑等, 其中 B 细胞比 T 细胞对环磷酰胺更敏感。小剂量的环磷酰胺具有免疫增强效应^[14-16], 可抑制树突状细胞的成熟, 抑制 T 细胞封闭因子, 降低 T_s 细胞活性使 T 细胞充分发挥免疫作用。泼尼松是临床常用的糖皮质激素, 目前认为低剂量糖皮质激素治疗 MM 的作用机制包括: (1) 抑制白介素 6 分泌; (2) 抑制白介素 1- β 分泌; (3) 抑制核转录因子 (NF- κ B); (4) 诱导 MM 细胞凋亡^[17-18]。通过对正常组织的药敏测试, 研究人员发现血管内皮细胞对于一些常规化疗药物的敏感性要远高于其他正常细胞甚至是肿瘤细胞^[19]。因而从某种意义上说, 节律性化疗可以看作是传统化疗在剂量-强度条件下的变异。但其与传统化疗的根本区别在于治疗累计剂量远低于传统化疗的最大耐受量 (maximum tolerate dose, MTD), 并且其治疗靶靶不再是肿瘤细胞, 而是肿瘤内活化的血管内皮细胞。

本研究观察了 CP 方案治疗后 MM 患者血清 VEGF 及 PDGF-BB 表达水平的变化, 发现 CP 方案治疗有效组 MM 患者血清 VEGF 及 PDGF-BB 水平与治疗前相比均下降 ($P < 0.01$), 而无效组患者在治疗 2 个月后血清 VEGF 及 PDGF-BB 水平无明显变化, 提示 CP 方案在 MM 治疗中的作用机制可能与抑制新生血管的生成有关。但低剂量环磷酰胺联合泼尼松治疗 MM 的作用机制可能还有其他因素的参与, 尚有待进一步研究阐明。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Zhou F, Guo L, Shi H, Lin C, Hou J. Continuous administration of low-dose cyclophosphamide and prednisone as a salvage treatment for multiple myeloma[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2010, 10:51-55.
- [2] 周帆, 侯健, 石昊天, 邹剑峰, 韦苇, 张忆梓, 等. 小剂量环磷酰胺联合泼尼松持续应用治疗伴有严重并发症的多发性骨髓瘤[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2008, 17:353-355.
- [3] Anderson K C, Alsina M, Bensinger W, Biermann J S, Chanan-Khan A, Cohen A D, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: multiple myeloma [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2009, 7:908-942.
- [4] Durie B G, Salmon S E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival[J]. *Cancer*, 1975, 36:842-854.
- [5] Kyle R A, Rajkumar S V. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2009, 23:3-9.
- [6] Kerbel R S, Kamen B A. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4:423-436.
- [7] Buckstein R, Kerbel R S, Shaked Y, Nayar R, Foden C, Turner R, et al. High-dose celecoxib and metronomic "low-dose" cyclophosphamide is an effective and safe therapy in patients with relapsed and refractory aggressive histology non-Hodgkin's lymphoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12:5190-5198.
- [8] Sung C C, Chang P Y, Cheng M F, Sheu L F, Yao N S. Successful metronomic low-dose cyclophosphamide therapy in an older patient with advanced mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma[J]. *Ann Hematol*, 2009, 88:1257-1259.
- [9] Coleman M, Martin P, Ruan J, Furman R, Niesvizky R, Elstrom R, et al. Low-dose metronomic, multidrug therapy with the PEP-C oral combination chemotherapy regimen for mantle cell lymphoma[J]. *Leuk Lymphoma*, 2008, 49:447-450.
- [10] de Weerd O, van de Donk N W, Veth G, Bloem A C, Hagenbeek A, Lokhorst H M. Continuous low-dose cyclophosphamide-prednisone is effective and well tolerated in patients with advanced multiple myeloma[J]. *Neth J Med*, 2001, 59:50-56.
- [11] Trieu Y, Trudel S, Pond G R, Mikhael J, Jaksic W, Reece D E, et al. Weekly cyclophosphamide and alternate-day prednisone: an effective, convenient, and well-tolerated oral treatment for relapsed multiple myeloma after autologous stem cell transplantation[J]. *Mayo Clin Proc*, 2005, 80:1578-1582.
- [12] Suvannasankha A, Fausel C, Juliar B E, Yiannoutsos C T, Fisher W B, Ansari R H, et al. Final report of toxicity and efficacy of a phase II study of oral cyclophosphamide, thalidomide, and prednisone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma: A Hoosier Oncology Group Trial, HEM01-21[J]. *Oncologist*, 2007, 12:99-106.
- [13] 江明性. 药理学[M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 1995:405.
- [14] Tzai T S, Lin J S, Chow N H. Modulation of antitumor immunity of tumor-bearing mice with low-dose cyclophosphamide[J]. *J Surg Res*, 1996, 65:139-144.
- [15] Ishiyama N, Utsuyama M, Kitagawa M, Hirokawa K. Immunological enhancement with a low dose of cyclophosphamide in aged mice[J]. *Mech Ageing Dev*, 1999, 111:1-12.
- [16] Inoshima N, Nakanishi Y, Minami T, Izumi M, Takayama K, Yoshino I, et al. The influence of dendritic cell infiltration and vascular endothelial growth factor expression on the prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8:3480-3486.
- [17] Berenson J R, Crowley J J, Grogan T M, Zangmeister J, Briggs A D, Mills G M, et al. Maintenance therapy with alternate-day prednisone improves survival in multiple myeloma patients[J]. *Blood*, 2002, 99:3163-3168.
- [18] Tiplady C W, Summerfield G P. Continuous low-dose dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *Br J Haematol*, 2000, 111:381.
- [19] Hanahan D, Bergers G, Bergsland E. Less is more, regularly: metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105:1045-1047.

[本文编辑] 孙岩