

获得深层分子学反应:慢性髓性白血病治疗的新目标?

江倩

Deep molecular response: the new target of treatment of chronic myeloid leukemia? Jiang Qian

Corresponding author: Jiang Qian, Peking University People's Hospital, Peking University Institute of Hematology, Beijing 100044, China. Email: jiangqian@medmail.com.cn

酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的问世,大大降低了慢性髓性白血病(CML)患者疾病进展的风险,显著延长了患者生存期。TKI治疗中,细胞遗传学和分子学监测是衡量患者体内白血病负荷和判断治疗反应的方法,也是指导干预和预测TKI疗效的重要手段。研究证实,80%以上的初发CML慢性期(CP)患者在TKI一线治疗中可以获得完全细胞遗传学反应(CCyR)^[1-6],而后者预示着显著改善的无事件生存(EFS)、无疾病进展生存(PFS)和总生存(OS)率^[7]。因此,CCyR已经成为长期生存的替代标志^[8]。尽管在CCyR的基础上进一步获得主要分子学反应(MMR)并未显示出生存优势^[9],但MMR与EFS和稳定持久的CCyR显著相关^[10],而且是获得完全分子学反应(CMR)的前提^[11],后者是追求CML“停药治愈”或“无治疗缓解(TFR)”的必经之路。因此,在TKI治疗中获得比MMR更深的分子学反应,即“深层分子学反应”是否意味着更好的远期预后成为了近年关注的热点。本文笔者将探讨深层分子学反应是否应作为TKI治疗CML的目标。

一、深层分子学反应的概念

深层分子学反应是新近提出的一个概念,用于评估CML患者低于MMR(定义为BCR-ABL水平较标准基线下降 ≥ 3 log)水平时的白血病负荷。根据欧洲白血病网(ELN)推荐,实时定量PCR(Q-PCR)方法检测CML患者的分子学反应时,最好按照国际标准(IS)、以BCR-ABL转录本水平与ABL(或国际认可的其他内参基因)转录本水平的比值来评估^[8,12]。BCR-ABL数值为10%、1%、0.1%、0.01%、0.0032%、0.001%时,分别对应着BCR-ABL水平较标准基线下降1 log、2 log、3 log、4 log、4.5 log和5 log。深层分子学反应定义为BCR-ABL水平较标准基线下降 ≥ 4 log,包括MR4、MR4.5和MR5。MR4指当ABL > 10 000时,BCR-ABL < 0.01%或cDNA中不能检测到白血病;MR4.5指当ABL > 32 000时,BCR-ABL < 0.003 2%或cDNA中不能检测到白血病;MR5指

当ABL > 100 000时,BCR-ABL < 0.001%或cDNA中不能检测到白血病。由于BCR-ABL的数值与Q-PCR检测的敏感性和实验操作者的水平相关,因此,深层分子学反应同时取决于BCR-ABL水平和内参基因数量。

显然,以往常提及的CMR属于深层分子学反应的范畴。但在不同的报道中,CMR的定义不尽相同。例如,在NCCN指南中,CMR定义为“按照IS、以Q-PCR方法评估、敏感性至少为较标准基线下降4.5 log时不能检测到BCR-ABL mRNA”^[13]。然而,ELN推荐使用“分子学不能检测到白血病(UMD)”代替“CMR”,并指出内参基因数量在报告UMD时的重要性,即强调UMD与Q-PCR检测的敏感性相关,即使Q-PCR结果为阴性,白血病细胞仍然可能存在^[8]。

二、临床研究中的深层分子学反应的获得比例

在众多的临床研究中,由于Q-PCR检测的方法(IS或当地实验室标准)不统一、敏感性未注明,其他因素(如标本来源为外周血或骨髓、治疗反应以单一时间点或由多个样本确认检测结果、研究人群的危险度、中位随访时间、TKI治疗的药物类型及剂量)也影响评估结果,故CML患者在TKI治疗中获得深层分子学反应的比例不具可比性。表1列举了按照IS、Q-PCR检测的敏感性 ≥ 4 log时、伊马替尼或二代TKI治疗初发CML-CP患者的研究中获得深层分子学反应的数据^[14-19]。

三、获得深层分子学反应的影响因素

多项大宗病例数的研究探讨了TKI治疗CML-CP患者获得深层分子学反应的影响因素^[11,14-19],业已证实,深层分子学反应的获得比例随着TKI治疗时间的延长而增加,高剂量伊马替尼显著优于标准剂量伊马替尼,伊马替尼联合干扰素 α 优于伊马替尼单药,二代TKI(如尼洛替尼、达沙替尼和博苏替尼)优于伊马替尼。此外,治疗早期反应细胞遗传学或分子学反应、研究人群的疾病危险度、性别、年龄和依从性等也影响深层分子学反应的获得。

Hahlmann等^[16]报道了德国以伊马替尼为主要药物(伊马替尼400或800 mg、伊马替尼单药或联合干扰素或阿糖胞苷)治疗CML-CP患者(1551例)的随机对照研究IV亚组结果,中位追踪67.5(0.1~123.8)个月,9年中,累计获得MR4.5的比例为70%,累计获得“确认的MR4.5”(经2次连续的Q-PCR分析确认)的比例为54%。获得MR4.5的中位时间为4.9年。分析显示,采用高剂量伊马替尼(800 mg)、EUTOS低危组、年龄 < 65岁、治疗3个月和6个月获得MMR是获得MR4.5有利因素。Falchi等^[17]报道了MD Anderson癌症中心应用伊马替尼或二代TKI治疗诊断1年以内的CML-CP患者(483例)获得的分子学反应,后者包括MMR、MR4、MR4.5

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.027

基金项目:北京市科学技术委员会基金(Z131100004013026);
北京大学人民医院研究与发展基金(RDC2012-20)

作者单位:100044 北京大学人民医院、北京大学血液病研究所

通信作者:江倩,Email:jiaqing@medmail.com.cn

和不可检测到转录本(UND)四个水平,“持续的MR4.5”定义为MR4.5维持 ≥ 2 年。中位追踪75.1(2.5~140.3)个月,接受伊马替尼400、800 mg,尼洛替尼和达沙替尼的患者3年时获得UND的比例分别为18.1%、30.6%、29.2%和28.6%。多因素分析显示,采用二代TKI治疗、老年、血小板计数偏高和治疗3个月或6个月时获得CCyR是独立预示“持续的MR4.5”的指标。比较尼洛替尼与伊马替尼一线治疗初发CML-CP的有效性与安全性的ENESTnd研究中,不仅证实了尼洛替尼较伊马替尼可以更加快速获得深层分子学反应,而且Sokal积分高危的患者无论应用一代或二代TKI,均显示出较中低危患者显著降低的包括MR4和MR4.5在内的分子学反应率^[18]。Branford等^[11]报道了伊马替尼(400、600或800 mg)一线治疗CML-CP获得“稳定的MR4.5”的结果,患者(423例)来自4个连续的临床研究。该研究中,MR4.5定义为连续2次在敏感性至少为4.5 log的Q-PCR检测中未检测到BCR-ABL,“稳定的MR4.5”定义为上述状态维持2年。8年中,累计获得“稳定的MR4.5”的比例为36.5%。女性(54.4%对27.2%, $P=0.018$)和治疗3个月时BCR-ABL低水平($P<0.001$)是独立预示“稳定的MR4.5”的指标。治疗3个月时BCR-ABL $\leq 0.10\%$ 的患者8年累计获得“稳定的MR4.5”的

比例最高,达78.2%。然而,延迟获得MMR不利于获得“稳定的MR4.5”。此外,患者的依从性差也被发现是重要的妨碍获得深层分子学反应的因素。Marin等^[20]对在英国Hammersmith医院就诊的CML患者进行依从性与伊马替尼治疗反应的分析发现,依从率 $< 90\%$ 的患者6年获得CMR的比例显著低于 $\geq 90\%$ 者(0对43.8%, $P=0.002$),多因素分析显示,依从性是唯一影响获得CMR的因素。

四、深层分子学反应的临床意义

确定CML患者获得深层分子学反应的意义是目前研究的热点。因为达到MMR和CCyR时患者体内的白血病负荷接近(BCR-ABL水平仅相差1 log),一线TKI治疗CML时疾病进展或死亡事件较少发生,因此,MMR和CCyR的差异对预测远期预后的影响很小,需要长期随访和大样本量患者来证实获得MMR的额外获益。

然而,与CCyR相比,深层分子学反应意味着更少的白血病负荷(BCR-ABL水平相差至少2 log),其优势在新近发表的研究中得以显现。德国CML随机对照研究IV亚组的结果显示,4年时获得MR4.5的患者8年OS率显著高于BCR-ABL水平为0.1%~1.0%(相当于CCyR)的患者,92%对83%($P=0.047$)^[16]。中位观察3年,获得MR4.5的患者无一例

表1 酪氨酸激酶抑制剂治疗初发慢性髓性白血病慢性期临床试验中的深层分子学反应

试验名称	Q-PCR检测敏感性	中位追踪时间(月)	治疗	例数	深层分子学反应(%)
IRIS ^[14-15]	≥ 4.5 log	25	伊马替尼400 mg/d	333	CMR(1年时) 4
		81	伊马替尼400 mg/d	29	MR4/MR4.5(81个月内) 70/52 MR4.5(81个月时) 45
CML研究IV ^[16]	≥ 4.5 log	66	伊马替尼400 mg/d	337	MR4(2/4/6/8年时) 35.4/60.0/69.4/77.5 MR4.5(2/4/6/8年时) 20.9/40.5/55.6/62.3
		68	伊马替尼400 mg/d+IFN	358	MR4(2/4/6/8年时) 37.3/59.5/ 72.4/78.1 MR4.5(2/4/6/8年时) 21.5/41.5/58.7/68.8
		92	伊马替尼400 mg/d+阿糖胞苷	136	MR4(2/4/6/8年时) 26.4/64.3/71.1/76.8 MR4.5(2/4/6/8年时) 9.5/37.0/50.9/61.4
		92	伊马替尼400 mg/d(IFN失败后)	108	MR4(2/4/6/8年时) 12.6/43.3/53.5/55.1 MR4.5(2/4/6/8年时) 5.9/26.8/44.5/54.5
		50	伊马替尼800 mg/d	363	MR4(2/4/6年时) 45.6/64.4/71.5 MR4.5(2/4/6年时) 24.1/50.5/66.2
MDACC ^[17]	≥ 5 log	128.7	伊马替尼400 mg/d	71	MR4/MR4.5/UND(3年时) 12/25/18
		103.5	伊马替尼400 mg,每日2次	204	MR4/MR4.5/UND(3年时) 14/33/30
		30.4	尼洛替尼400 mg,每日2次	106	MR4/MR4.5/UND(3年时) 10/36/29
		36.4	达沙替尼100 mg/d或50 mg,每日2次	102	MR4/MR4.5/UND(3年时) 2/34/28
ENESTnd ^[18]	约4.5 log	≥ 36	尼洛替尼300 mg,每日2次	282	MR4(1/3年内) 20/50 MR4.5(1/3年内) 11/32
			尼洛替尼400 mg,每日2次	281	MR4(1/3年内) 15/44 MR4.5(1/3年内) 7/28
			伊马替尼400 mg,每日2次	283	MR4(1/3年内) 6/26 MR4.5(1/3年内) 1/15
BELA ^[19]	≥ 4 log	13.8	博苏替尼500 mg,每日2次	250	MR4(1年时) 12
			伊马替尼400 mg,每日2次	252	MR4(1年时) 3

注: CMR:完全分子学反应;IFN:干扰素;MR:分子学反应;UND:不能检测到疾病

发生疾病进展。然而,中位观察 3.8~4.7 年中,获得 CCyR、MMR 和 MR4 的患者中分别有 13、9 和 1 例发生疾病进展。因此,Hahlmann 等提出,MR4.5 是一个新的预示长期生存的分子学指标。MD Anderson 癌症中心的数据显示,在总的观察期内,获得 UND 的患者较仅获≤MMR 的患者无疾病转化(TFS)率和 OS 率显著改善,但在 18 和 24 个月时获得 UND 的患者较其他分子学反应的患者无额外获益^[17]。而且,在获得 MR4.5 的患者中,“持续的 MR4.5”也未体现出 TFS 和 OS 的优势。这两项研究的结果均显示,获得深层分子学反应意味着减少疾病进展和有利于长期生存,而治疗中特定时间点是否获得深层分子学反应对远期预后的预测价值或许需要长期大样本量追踪方能确定。

获得深层分子学反应的另一意义在于它是“停药试验”的入组标准和追求 TFR 的前提。近年,“停药试验”及其相关研究风起云涌,期望达到 TFR、减少 TKI 长期服用的不良反应和缩减治疗开支是患者、医生乃至社会或政府的初衷^[21-32]。尤其对于年轻患者,TFR 更是值得期待和追求的目标。虽然在数年的追踪期内超过半数的患者分子学复发,但分子学复发的患者均再次获益于 TKI 的治疗,也部分达到了节省治疗费用的目的,而少数持续未复发的患者有望达到 TFR。由于“停药试验”要求的分子学监测水平较高,追踪期有限、结果尚不乐观,因此,停药不可轻易采用、仅限于临床试验。

五、深层分子学反应是否应该作为 CML 的治疗目标?

与所有肿瘤一样,CML 的最终治疗目标是延长生存期和提高生活质量。当今,数种 TKI 的问世使 CML 患者最大程度地减少了疾病进展的风险,改善了 PFS 和 OS,大部分患者得以拥有与同龄人相似的寿命。因此,仍以 OS 作为 CML 的追求目标似乎太过遥远。于是,早期获得的与 PFS 和 OS 显著相关的治疗反应(如 CCyR)成为 OS 的近期替代指标。毕竟,深层分子学反应是 TKI 治疗中体内白血病负荷最大程度减少的标志,与降低疾病进展和延长 PFS 和 OS 相关^[16-17],而且,深层分子学反应使达到 TFR 成为可能,后者对于年轻患者更有意义。因此,有理由推荐:获得深层分子学反应应该成为 TKI 治疗 CML 中的值得追求的目标。

与此同时,也提出目前有待回答的问题:获得 CCyR 而未获得更深分子学反应的患者是否需要转换治疗? 一项正在进行的评估尼洛替尼有效性和安全性的临床试验-CMR (ENEST cmr)研究,旨在将伊马替尼治疗≥2 年仍可检测到 BCR-ABL 的患者随机分为继续应用伊马替尼或转换为尼洛替尼的治疗^[33]。追踪 12~24 个月后,换用尼洛替尼的患者较继续使用伊马替尼的患者获得 MR4.5 或更深的分子学反应的比例显著增多。容易理解,更强效的二代 TKI 可以使更多患者获得深层分子学反应,并有机会获得持久稳定的深层分子学反应。

目前,不少研究试图探索 TKI 联合免疫调节剂或其他靶向 CML 干细胞的药物以期增加获得持续稳定的深层分子学反应的患者比例,使更多患者成为“停药试验”的候选人。一

项伊马替尼治疗中达到 MMR 的患者联合应用α干扰素,2 年之后停用伊马替尼而以α干扰素作为维持的研究初见成效^[34]。该项研究中,20 例患者中 15 例在伊马替尼停药后中位追踪 2.4 年时仍在α干扰素的治疗中维持缓解。笔者从这一研究结果以及初发 CML-CP 患者伊马替尼联合干扰素较伊马替尼单药更易获得深层分子学反应的现象中得到启示,建议对于获得 CCyR 而未获 MMR 的患者,除了换用二代 TKI 以外,也可以尝试伊马替尼联合α干扰素以求获得深层分子学反应,后一选择特别适合于经济能力有限的患者。

六、小结

TKI 持续治疗中,相当比例的 CML-CP 患者可以获得深层分子学反应,后者与降低疾病进展风险、延长 PFS 和 OS 相关。持久稳定的深层分子学反应是追求 TFR 的必备条件,也可能是迈向 CML 治愈之路的第一步。获得深层分子学反应有望成为 CML 治疗的新目标。

参 考 文 献

- [1] Gambacorti-Passerini C, Antolini L, Mahon FX, et al. Multi-center independent assessment of outcomes in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib [J]. J Natl Cancer Inst, 2011,103(7):553-561.
- [2] Cortes JE, Baccarani M, Guilhot F, et al. Phase III, randomized, open-label study of daily imatinib mesylate 400 mg versus 800 mg in patients with newly diagnosed, previously untreated chronic myeloid leukemia in chronic phase using molecular end points: tyrosine kinase inhibitor optimization and selectivity study[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(3):424-430.
- [3] Cortes JE, Jones D, O'Brien S, et al. Nilotinib as front-line treatment for patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase[J]. J Clin Oncol,2010,28(3):392-397.
- [4] Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia [J]. N Engl J Med,2010,362(24):2251-2259.
- [5] Cortes JE, Jones D, O'Brien S, et al. Results of dasatinib therapy in patients with early chronic-phase chronic myeloid leukemia [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(3):398-404.
- [6] Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2010, 362(24):2260-2270.
- [7] Cortes J, Hochhaus A, Hughes T, et al. Front-line and salvage therapies with tyrosine kinase inhibitors and other treatments in chronic myeloid leukemia [J].J Clin Oncol, 2011, 29 (5): 524-531.
- [8] Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013[J]. Blood, 2013, 122(6):872-884.
- [9] Hehlmann R, Lauseker M, Jung-Munkwitz S, et al. Tolerability-adapted imatinib 800 mg/d versus 400 mg/d versus 400 mg/d plus interferon-α in newly diagnosed chronic myeloid leukemia [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(12):1634-1642.
- [10] Marin D, Milojkovic D, Olavarria E, et al. European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify pa-

- tients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor [J]. *Blood*, 2008, 112 (12): 4437-4444.
- [11] Branford S, Yeung DT, Ross DM, et al. Early molecular response and female sex strongly predict stable undetectable BCR-ABL1, the criteria for imatinib discontinuation in patients with CML[J]. *Blood*, 2013, 121(19):3818-3824.
- [12] Cross NC, White HE, Müller MC, et al. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2012, 26(10):2172-2175.
- [13] http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp
- [14] Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2003, 349 (15):1423-1432.
- [15] Branford S, Seymour JF, Grigg A, et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria[J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(23):7080-7085.
- [16] Hehlmann R, Müller MC, Lauseker M, et al. Deep Molecular Response Is Reached by the Majority of Patients Treated With Imatinib, Predicts Survival, and Is Achieved More Quickly by Optimized High-Dose Imatinib: Results From the Randomized CML-Study IV[J]. *J Clin Oncol*, 2013 Dec 2. [Epub ahead of print].
- [17] Falchi L, Kantarjian HM, Wang X, et al. Significance of deeper molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase treated with tyrosine kinase inhibitors[J]. *Am J Hematol*, 2013, 88(12):1024-1029.
- [18] Larson RA, Hochhaus A, Hughes TP, et al. Nilotinib vs imatinib in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase: ENESTnd 3-year follow-up[J]. *Leukemia*, 2012, 26(10):2197-2203.
- [19] Cortes JE, Kim DW, Kantarjian HM, et al. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: results from the BELA trial[J]. *J Clin Oncol*, 2012,30(28):3486-3492.
- [20] Marin D, Bazeos A, Mahon FX, et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(14): 2381-2388.
- [21] Rousselot P, Huguet F, Rea D, et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years [J]. *Blood*, 2007, 109(1):58-60.
- [22] Mahon FX, Réa D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11):1029-1035.
- [23] Mahon F, Rea D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who have maintained complete molecular response: Update results of the STIM study [J]. *Blood*, 2011, 118 (abstr 603).
- [24] Yhim HY, Lee NR, Song EK, et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myeloid leukemia who have received front-line imatinib mesylate therapy and achieved complete molecular response [J]. *Leuk Res*, 2012, 36 (6): 689-693.
- [25] Stagno F, Vigneri P, Cupri A, et al. Personalized strategies for CML patients considering discontinuation of tyrosine kinase inhibitors treatment[J]. *Leuk Res*, 2012, 36(9):1208-1209.
- [26] Hardan I, Stanevsky A, Volchek Y, et al. Treatment with interferon alpha prior to discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia [J]. *Cytokine*, 2012, 57 (2): 290-293.
- [27] Ohyashiki K, Katagiri S, Tauchi T, et al. Increased natural killer cells and decreased CD3(+)CD8(+)CD62L(+) T cells in CML patients who sustained complete molecular remission after discontinuation of imatinib [J]. *Br J Haematol*, 2012, 157 (2): 254-256.
- [28] Benjamini O, Kantarjian H, Rios MB, et al. Patient-driven discontinuation of tyrosine kinase inhibitors: single institution experience[J]. *Leuk Lymphoma*, 2013 Sep 10. [Epub ahead of print].
- [29] Iliakis T, Papadopoulou V, Diamantopoulos PT, et al. Cessation of tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia following durable complete molecular response: a single center facing the dilemma [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(8): 3509-3514.
- [30] Ross DM, Branford S, Seymour JF, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study[J]. *Blood*, 2013, 122(4):515-522.
- [31] Horn M, Glauche I, Müller MC, et al. Model-based decision rules reduce the risk of molecular relapse after cessation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2013, 121(2):378-384.
- [32] Thielen N, van der Holt B, Cornelissen JJ, et al. Imatinib discontinuation in chronic phase myeloid leukaemia patients in sustained complete molecular response: a randomised trial of the Dutch- Belgian Cooperative Trial for Haemato- Oncology (HOVON)[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(15):3242-3246.
- [33] Hughes TP, Lipton JH, Spector N, et al. Switching to nilotinib is associated with continued deeper molecular responses in CML-CP patients with minimal residual disease after ≥ 2 years on imatinib: ENESTcmr 2-year follow-up results [J]. *Blood*, 2012, 120 (abstr 694).
- [34] Burchert A, Müller MC, Kostrewa P, et al. Sustained molecular response with interferon alfa maintenance after induction therapy with imatinib plus interferon alfa in patients with chronic myeloid leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(8): 1429-1435.

(收稿日期:2013-12-10)

(本文编辑:董文革)