

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.21.032

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190927.0902.002.html>(2019-09-27)

芦可替尼在骨髓增殖性肿瘤治疗中的应用及对免疫细胞的作用研究进展

蒧 瑞 综述,白 海 审校

(中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院血液科,兰州 730050)

[摘要] 骨髓增殖性肿瘤(MPN)是一种起源于造血干细胞,以骨髓一系或多系过度增殖为特征的疾病,此病会导致严重的纤维化,称为骨髓纤维化。其主要病症特点是脾肿大,机体炎症因子升高,出现进展性贫血等,超过一半的 MPN 患者出现 JAK2 突变,与信号转导和转录激活因子(JAK-STAT)信号传导途径密切相关。芦可替尼是一种选择性的 JAK 通路抑制剂,其对 MPN 患者炎性反应及细胞因子有一定的抑制作用。本文主要从芦可替尼在 MPN 患者中的应用现状及其对 MPN 患者 T 淋巴细胞、树突状细胞(DC)、自然杀伤细胞(NK)的影响做一综述,为其临床更广泛地应用提供理论依据。

[关键词] 芦可替尼;骨髓增殖性肿瘤;JAK 抑制剂;树突细胞

[中图法分类号] R551.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)21-3739-04

Advances in study of application of ruxolitinib in treating bone marrow proliferative tumor and its effect on immune cells

XI Rui, BAI Hai

(Department of Hematology, 940 Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Lanzhou, Gansu 730050, China)

[Abstract] Myeloproliferative neoplasms (MPN) is a disease originated from hematopoietic stem cells, characterized by bone marrow one serie or multi-series over proliferation, and this disease causes severe fibrosis, called myelofibrosis. Its main disease characteristics is splenomegaly, the inflammatory factors increase, progressive anemia appearance, etc. More than half of MPN patients appear the JAK2 mutation, which is closely correlated to signal transduction and signal transduction pathway of transcription activator (JAK-STAT). Ruxolitinib is a selective JAK channel inhibitor and has a certain inhibiting effect on inflammatory response and cytokines in the patients with MPN. This article reviewed the application status quo of ruxolitinib in MPN patients and the effects on T lymphocytes, dendritic cells (DC), macrophages and natural killer (NK) cell in the patients with MPN, in order to provide a theoretical basis for its widerly clinical application.

[Key words] ruxolitinib; myeloproliferative neoplasms; JAK inhibitor; dendritic cells

骨髓增殖性肿瘤(MPN)是一种危及生命的血液病性恶性肿瘤,其主要是由 JAK 信号转导因子和转录激活因子(STAT)信号网络调控失调,炎症状态加重导致的,主要分为原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)、真红细胞增多症(polycythemia vera, PV)、原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)3 种^[1]。其临床表现主要有脾肝肿大、血细胞异常、髓外造血、贫血、腹胀和早饱等症状^[2-3]。MPN 的传统治疗方法(羟基脲、干扰素、脾切除、脾区照射)在临床上也获得了一定的疗效,但是由于传统方法的收益有限或者容易引起较多的不良反应,治疗具有一定的局限性^[4]。目前,异基因造血干细胞移植仍是治愈 MPN 的唯一方法,但是移植标准只有极少

数的患者可以达到,而且移植相关病死率也较高^[5]。相较于传统治疗方法,新型靶向药物因具有治疗效果优、治疗时间短、对人体正常组织细胞基本无毒副作用及不良反应等特点,在 MPN 的治疗中得以应用推广^[6]。MPN 靶向药物磷酸芦可替尼(Ruxolitinib)可通过阻断 JAK/STAT 信号通路对 MPN 患者的细胞因子活化作用,从而达到治疗 MPN 的目的。

1 MPN 的发病机制及芦可替尼的作用机制

MPN 患者中有超过一半的是由于 JAK2V617F 的突变引发的疾病, JAK2 是定位于 9 号染色体短臂 2 区 4 带(9p24)的胞内酪氨酸蛋白激酶(PTK),与 JAK1、JAK3 和酪氨酸激酶-2(Tyk2)同属于 JAK 家族的非受体蛋白酪氨酸激酶^[7]。JAK2 由多种细胞因

子激活,包括促红细胞生成素(EPO)、血小板生成素(TPO)、生长激素、催乳素和 IL-3,并与其他受体一起参与 IL-6、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和 IFN- γ 的信号转导^[8]。JAK2 在人体造血祖细胞分化、增殖相关信号传导的过程中起关键作用^[9]。JAK2V617F 突变是一种获得性突变,主要是因位于假激酶结构域(JAK homology domain, JH) 617 位密码子(GTC)第一位碱基发生 G-T 的替换,从而使苯丙氨酸替代了编码的缬氨酸,导致 JAK2 表达被激活,从而使 JAK-STAT 信号通路激活,使造血祖细胞在缺乏促造血因子的情况下仍能持续增殖,最终导致疾病的发生^[7,10]。芦可替尼是一种 JAK1、JAK2 的选择性抑制剂,可抑制 JAK1/2 激酶结构域,催化亚基上的 ATP 结合位点来实现对 JAK 活性的抑制作用,可以从发病机制上达到治疗疾病效果;另外,芦可替尼还可抑制炎症因子的 JAK1 信号传导,减轻患者相关临床症状,且芦可替尼对于野生型及突变型 JAK2 均有抑制作用^[7]。

2 芦可替尼在 MPN 患者中的应用现状

芦可替尼是一种选择性的 JAK 抑制剂,早在 2011 年美国食品药品监督管理局(FDA)已批准使用 JAK2 抑制剂芦可替尼治疗中高危骨髓纤维化患者,2014 年 12 月批准羟基脲不耐受或耐药的真正红细胞增多症患者也可用芦可替尼进行治疗。2012 年 12 月欧盟药品局(EMA)批准可用芦可替尼治疗包括 PMF、PV 后骨髓纤维化和 ET 后骨髓纤维化的中危或高危骨髓纤维化。2017 年 3 月 10 日中国国家食品药品监督管理局批准芦可替尼治疗中高危 PMF、PV 继发的骨髓纤维化或者 ET 继发的骨髓纤维化的成年患者^[11-12]。

目前,已有大量的评价芦可替尼治疗效果和安全性的临床试验正在进行中。2013 年欧洲白血病网(ELN)通过 comfort-I、comfort-II 两项临床试验评价芦可替尼在 PMF 患者中疗效和安全性,comfort-I 是一项随机的临床 III 期试验,其结果显示芦可替尼可以明显地缩小骨髓纤维化患者的脾脏体积、改善其全身症状,治疗效果显著;comfort-II 试验将当前最有效疗法与芦可替尼治疗 PMF 的临床疗效进行对比,发现服用芦可替尼后,PMF 患者的脾肿大症状显著改善,疾病的其他相关症状也得到了缓解,可以显著且持久的提高患者生存质量^[13-14]。VANNUCCHI 等^[15]通过 response 试验评价芦可替尼治疗 PV 患者的疗效和安全性,结果显示芦可替尼在控制血细胞比容、缩小脾脏体积、降低 JAK2 V617F 等位基因负荷等方面明显优于标准治疗方法。在后期长达 80 周的随访中发现,芦可替尼对于羟基脲耐药或不耐受 PV 患者也有较好的疗效和安全性^[16]。HARRISON

等^[17]通过 majic 试验评价芦可替尼对羟基脲耐药或不耐受 ET 患者中的疗效,结果显示芦可替尼在治疗 ET 瘙痒、肌肉酸痛、盗汗等相关全身症状时疗效优于当前最有效疗法。封媛媛^[18]观察了芦可替尼治疗 PMF 患者的疗效及其不良反应发现,患者的脾脏缩小较明显,同时骨髓纤维化的其他症状也得到了明显的改善,但是患者出现了贫血和血小板减少的不良反应。

3 芦可替尼对 MPN 患者细胞生物学的影响

3.1 树突状细胞(DC)

DC 是 1973 年由加拿大大学者 Steinman 发现的,DC 主要分布在皮肤和鼻腔、肺、胃与肠的内层,血液中也发现其未成熟型。DC 的总数量不及外周血单核细胞的 1%,但它是功能强大的专职抗原递呈细胞(APC),DC 自身具有免疫刺激能力,可调节适应性免疫反应^[19]。肿瘤的发生、发展与 DC 之间有着密切关系,大部分实体瘤内浸润的 DC 数量多则患者预后好,有效的抗肿瘤免疫反应的核心是产生以 CD8⁺ T 细胞为主体的细胞免疫应答,这也是 DC 作为免疫治疗手段的基础。

芦可替尼对 MPN 患者的 DC 是否有影响,国内外研究学者做了相关研究。HEINE 等^[20]探讨芦可替尼是否影响 DC 生物学,在整个 DC 细胞分离分化过程中,低剂量的芦可替尼对 DC 细胞的凋亡无明显的诱导作用,当药物以更高的浓度或反复使用时,可以观察到大量的细胞死亡,高剂量的芦可替尼几乎完全阻断了单核细胞源性 DC 的体外发育。在刺激 Toll 样受体(TLR)后,脂多糖诱导的 CD83 细胞分泌的白细胞介素-12(IL-12)明显减少,人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和白细胞介素-4(IL-4)信号作为推动 DC 分化的关键因素,芦可替尼对 GM-CSF 和 IL-4 细胞因子信号有明显的抑制作用。研究还发现芦可替尼可降低 DC 在体内外的迁移能力,延缓腺病毒感染小鼠的腺病毒清除率,接受芦可替尼治疗的小鼠体内保留了更高的病毒载量。RUDOLPH 等^[21]通过离体耳真皮内建立的体外爬行实验分析了芦可替尼对 DC 迁移的影响。研究结果发现,芦可替尼明显的抑制了 DC 的体外迁移,芦可替尼诱导的 DC 的迁移调控与 JAK 无关,主要是通过非靶向抑制介导实现的。

3.2 T 淋巴细胞

在过去的几年中有学者关于 JAK 抑制剂对免疫系统的 T 细胞和其他关键组分的影响进行了研究,同时就芦可替尼对 MPN 患者 T 细胞方面的影响也做了相关研究。MASSA 等^[22]对 18 例仅接受芦可替尼治疗的骨髓纤维化患者进行了评估,结果显示,与健康对照组相比,接受了芦可替尼治疗的患者 CD25⁺ 调节性 T 细胞(Tregs)显著降低,在 90 d 及长达 570 d 的治疗中骨髓纤维化患者的 Treg 值始

终低于健康受试者的下限,研究发现芦可替尼停药或者减量都会影响 Tregs 的数量,其对 Tregs 的影响是一个不可逆的过程。PARAMPALLI 等^[23]发现在治疗过程中,芦可替尼可以使 MPN 患者的 CD3 总数、辅助 T 细胞群数量迅速减少,同时患者的 TBET1、ROR γ t 和 FOXP3 mRNA 和蛋白表达水平有所下降,但蛋白表达水平与对照组相比无明显变化($P > 0.05$)。体外实验结果发现,芦可替尼在体外可以抑制 T 细胞增殖,并分别抑制 Th1、Th2 和 Treg 的分化。PERNER 等^[24]对 JAK 抑制剂是否影响 T 细胞进行了初步研究,体外实验结果显示芦可替尼可显著降低 T 细胞活化的标记物,并抑制 T 细胞的增殖,同时还可以削弱 T 细胞的异源反应活性。KEOHANE 等^[25]研究 JAK 抑制剂对 50 例 MPN 患者外周血 CD4 T 细胞亚群的频率和功能的影响,结果发现 MPN 患者 CD4 T 细胞亚群的数量比健康对照组降低,服用 JAK 抑制剂治疗后更明显,MPN 患者治疗 6 个月后体内 T 辅助细胞-17(Th-17)数量增加。体外细胞试验也显示,芦可替尼可以诱导 T 辅助细胞百分率增加,从而导致细胞因子中 CD4 T 细胞群体比例显著增加。

3.3 自然杀伤(NK)细胞 NK 细胞是一种先天免疫效应细胞群,具有识别靶细胞、释放杀伤介质(穿孔素、NK 细胞毒因子和肿瘤坏死因子)、分泌细胞因子等功能,在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生、发展过程,NK 细胞功能必须通过各种活化和抑制性 NK 细胞受体之间的复杂平衡状态来严格调控,通过 JAK/STAT 途径介导的细胞因子信号是 NK 细胞活化的关键因素^[26]。SCHÖNBERG 等^[27]观察了芦可替尼对人体中 NK 细胞增殖、活化、杀伤、降低细胞毒性能力的影响。相对于细胞因子介导的激活,NK 刺激通过 NK 特异性受体 NKP46 起作用并不受芦可替尼的影响。芦可替尼治疗后 NK 细胞成熟功能受损,未成熟 NK 细胞比例增加,这些影响可能会减弱机体的抗感染防御,增加感染并发症的风险,如果患者曾接受过如干扰素- α 等药物治疗的话,就必须考虑潜在的危险,防止克隆性疾病的出现。CURRAN 等^[28]从健康供体白细胞浓缩物或 MPN 患者血液样本中分离得到 NK 细胞,通过体外细胞试验得到,芦可替尼对体内 NK 细胞功能有损害,可以显著的降低 MPN 的患者中循环 NK 细胞数量,同时发现单核细胞源 DC(MODC)刺激的 NK 细胞不受芦可替尼的影响。研究结果显示芦可替尼在治疗 MPN 的患者时对体内 NK 细胞数量和功能产生抑制,同时还可以减弱 T 细胞的作用。

MPN 的发病机制与 JAK-STAT 信号通路密切相关,患者表现为炎症状态,包括炎症因子[IL-1、IL-

6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]和促血管生成细胞因子(血管内皮生长因子和血小板源性生长因子)的明显升高,JAK 抑制剂芦可替尼可以改善 MPN 患者的炎症反应,能够显著并持续性缩小骨髓纤维化患者脾脏的体积,改善疾病相关的体质性症状,从而提高生活质量,并具有良好的耐受性,其治疗 MPN 主要是通过阻断异常的 JAK-STAT 信号通路来实现的。血液系统疾病中还有多种疾病及状态与上述 T、B、NK 细胞功能异常有关,致体内细胞因子水平异常,而出现病理状况的疾患,例如噬血细胞综合征就是各种原因导致 T/NK 细胞持续活化,巨噬细胞分泌大量细胞因子,产生细胞因子风暴,导致细胞免疫缺陷、全身高炎症反应,移植后 GVHD 也是因供受者组织相容性抗原不同,植入 T 细胞活化,引起 IL-6、IL-8、TNF- α 等细胞因子释放,同时也有供者 B 细胞的致敏、活化,综合因素导致受累器官、组织的损害^[29-31],对于 JAK-STAT 通路激活细胞及细胞因子的释放有关的上述疾患,JAK-STAT 抑制剂临床已有应用,也有报道取得良好效果,尤其是一线药物治疗效果欠佳的难治性 GVHD 的治疗,所以对这类疾病今后可进一步深入探索应用。

参考文献

- [1] JACOBSON P J, SALO A, FIALKOW P J. Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis[J]. *Blood*, 1978, 51(2): 189.
- [2] MESA R, MILLER C B, THYNE M, et al. Myeloproliferative neoplasms(MPNs) have a significant impact on patients' overall health and productivity: the MPN Landmark survey[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 1-10.
- [3] HULFCRANTZ M, WILKES S R, KRISTINSSON S Y, et al. Risk and cause of death in patients diagnosed with myeloproliferative neoplasms in Sweden between 1973 and 2005: a population-based study[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(20): 2288-2295.
- [4] VANNUCCHI A M. Management of myelofibrosis[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, 2011: 222-230.
- [5] GUPTA V, HARI P, HOFFMAN R. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis in the era of JAK inhibitors[J]. *Blood*, 2012, 120(7): 1367-1379.
- [6] MARCHETTI M, BAROSI G, CERVANLES F, et al. Which patients with myelofibrosis should receive ruxolitinib therapy? ELN-SIE evidence based recommendations[J]. *Leukemia*, 2017, 31(4): 882.
- [7] 刘梦琳, 赵艳红. 芦可替尼治疗费城染色体阴性骨髓增殖性肿瘤的临床研究进展[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2018, 17(6): 470-472.

- [8] WATERS M J, BROOKS A J. JAK2 activation by growth hormone and other cytokines [J]. *Biochem J*, 2015, 466 (1): 1-11.
- [9] VAINCHENKER W, DUSA A, CONSTANTINESCU S N. JAKs in pathology: role of Janus kinases in hematopoietic malignancies and immunodeficiencies [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(4): 385-393.
- [10] 王静雅. Ruxolitinib 治疗骨髓纤维化的研究进展 [J]. *国际输血及血液学杂志*, 2013, 36(3): 247-250.
- [11] 杨志瑞, 朱海燕. 芦可替尼治疗骨髓增殖性肿瘤安全性和有效性的 Meta 分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26 (2): 493-501.
- [12] 申敏慧, 李菲. ruxolitinib 在血液肿瘤中的临床应用进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2018, 45(11): 562-566.
- [13] MESA R A, GOTLIB J, GUPTA V, et al. Effect of ruxolitinib therapy on myelofibrosis-related symptoms and other patient-reported outcomes in comfort-1: a randomized, double blind, placebo-controlled trial [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(10): 1285-1292.
- [14] HARRISON C, KILADJIAN J J, AL-ALI H K, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366 (9): 787-798.
- [15] VANNUCCHI A M, KILADJIAN J J, GRIESSHAMMER M, et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(5): 426-435.
- [16] VERSTOVSEK S, VANNUCCHI A M, GRIESSHAMMER M, et al. Ruxolitinib versus best available therapy in patients with polycythemia vera: 80-week follow-up from the response trial [J]. *Haematologica*, 2016, 101(7): 821-829.
- [17] HARRISON C N, MEAD A J, PANCHAL A, et al. Ruxolitinib vs best available therapy for ET intolerant or resistant to hydroxycarbamide [J]. *Blood*, 2017, 130 (17): 1889-1897.
- [18] 封媛媛. Ruxolitinib 治疗 2 例原发性骨髓纤维化的病例报告 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2014.
- [19] 李娜, 吕新翔. 掌跖脓疱病发病机制研究进展 [J]. *内蒙古医学杂志*, 2018, 50(1): 16-19.
- [20] HEINE A, HELD S A, DAECKE S N, et al. The JAK-inhibitor ruxolitinib impairs dendritic cell function in vitro and in vivo [J]. *Blood*, 2013, 122(7): 1192-1202.
- [21] RUDOLPH J, HEINE A, QUAST T, et al. The JAK inhibitor ruxolitinib impairs dendritic cell migration via off-target inhibition of ROCK [J]. *Leukemia*, 2016, 30: 2119-2123.
- [22] MASSA M, ROSTI V, CAMPANELLI R, et al. Rapid and long-lasting decrease of T-regulatory cells in patients with myelofibrosis treated with ruxolitinib [J]. *Leukemia*, 2014, 28: 449-451.
- [23] PARAMPALLI YAJNANARAYANA S, STÜBIG T, CORNEZ I, et al. JAK1/2 inhibition impairs T cell function in vitro and in patients with myeloproliferative neoplasms [J]. *Br J Haematol*, 2015, 169(6): 824-833.
- [24] PERNER F, SAALFELD F, SCHNOEDER T, et al. Specificity of JAK-kinase inhibition determines impact on T-cell function [J]. *Blood*, 2013, 122(21): 1410.
- [25] KEOHANE C, KORDASTI S, SEIDL T, et al. JAK inhibition induces silencing of T Helper cytokine secretion and a profound reduction in T regulatory cells [J]. *Br J Haematol*, 2015, 171(1): 60-73.
- [26] 王桂萍, 李灵芝, 蒋俊青, 等. 白斑汤联合波姆光治疗肝肾阴虚型外阴硬化性苔藓疗效观察及其对病灶局部 CD57 蛋白表达的影响 [J]. *山西中医*, 2018, 34(3): 6-10, 14.
- [27] SCHÖNBERG K, RUDOLPH J, VONNAHME M, et al. JAK inhibition impairs NK cell function in myeloproliferative neoplasms [J]. *Cancer Res*, 2015, 75 (11): 2187-2199.
- [28] CURRAN S A, SHYER J A, ST ANGELO E T, et al. Human dendritic cells mitigate NK-cell dysfunction mediated by nonselective JAK1/2 blockade [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(1): 52-60.
- [29] 杨歌. 噬血细胞综合征与 IL-6、hs-CRP、PCT 的相关性及临床特征分析 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2017.
- [30] 王凤, 马晓露, 王贞. 侵袭性 NK 细胞白血病伴噬血细胞综合征 1 例 [J]. *广东医学*, 2017, 38(18): 2900.
- [31] CARNITI C, GIMONDI S, VENDRAMIN A, et al. Pharmacologic inhibition of JAK1/JAK2 signaling reduces experimental murine acute GVHD while preserving GVT effects [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(16): 1-41.

(收稿日期: 2019-03-20 修回日期: 2019-06-17)