靶向白血病干细胞的研究进展

谷佳礼, 高瀛岱*

中国医学科学院&北京协和医学院血液病医院(血液学研究所), 天津 300020

* 联系人, E-mail: ydgao@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2017-09-10; 接受日期: 2017-10-05; 网络发表日期: 2017-12-14

国家自然科学基金(批准号: 81600085)和中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(批准号: 2016-12M-1-017)资助

摘要 白血病是一种造血系统的恶性肿瘤性疾病, 目前的治疗手段以化疗为主, 还包括给药控制, 骨髓移植等常规疗法. 但传统的化疗方法副作用大, 在杀伤白血病细胞的同时也会损伤机体正常细胞, 降低患者的生活质量. 并且因为白血病干细胞(leukemia stem cells, LSCs)的存在, 使得传统治疗方法难以根治白血病. 目前学者普遍认为LSCs是引起白血病的根源, 也是其易于复发的主要原因. 因此寻找靶向清除LSCs的有效方法, 在降低对机体正常细胞的损伤的同时治疗疾病, 延长患者生命是十分必要的. 本文介绍了LSCs的主要生物学特征, 以及以此为基础而实现靶向杀伤白血病干细胞的方法, 并就靶向白血病干细胞自我更新与凋亡通路, 表面免疫受体, 生存微环境等方面的分子机制进行综述.

关键词 白血病干细胞, 靶向治疗, 小分子化合物

白血病干细胞是白血病的起源和维持细胞, 它具有正常干细胞的自我更新及多向分化的特征^[1]. 研究发现, 白血病干细胞可以产生白血病祖细胞, 没有自我更新能力的白血病祖细胞随后定向增殖分化产生大量的白血病原始细胞. 这些白血病原始细胞阻滞在不同的分化阶段, 能够被化疗药物作用. 但由于大部分白血病干细胞处于G₀期, 所以不易被常规化疗手段作用, 从而造成疾病复发^[2]. 因此若能有效标记并靶向消除白血病干细胞对于白血病的治疗具有重大意义.

1 白血病干细胞的靶向清除

1.1 靶向白血病干细胞的自我更新特性

自我更新是LSCs的重要生物学特性, 是导致白

血病复发的关键因素. 在LSCs中, WNT/ β -catenin, NOTCH, Hedgehog等信号通路表达发生变化^[3]. 研究表明, WNT通路与HSCs的自我更新以及增殖有关, 而且在许多癌症中都有WNT通路的过表达现象^[4], 白血病的发生发展也与经典WNT通路有关^[5]. 在存在MLL-AF9融合基因的AML白血病小鼠(*Mus musculus*)体内以及CML小鼠干细胞中均发现WNT/ β -catenin过度激活, LSCs的自我更新能力增强, 说明WNT/ β -catenin参与LSCs的自我更新. 同时在CML-CP小鼠模型体内LSCs中和初期AML病人病例细胞中, 都发现有Hh pathway过度激活^[6]. 也许可以通过靶向特异的信号通路来达到靶向LSCs的目的.

(1) WNT/ β -catenin通路抑制剂. 有研究表明, 抑制 β -catenin可影响BCR-ABL融合基因的形成. 而在CML

引用格式: 谷佳礼, 高瀛岱. 靶向白血病干细胞的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1313–1322

Gu J L, Gao Y D. Research progress in targeting leukemia stem cells (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1313–1322, doi: 10.1360/N052017-00263

白血病小鼠模型体内发现, 条件性敲除 β -catenin基因会特异性地使有BCR-ABL融合基因的LSCs细胞减少, 但并不能大量消除白血病成熟细胞. 而伊马替尼可以大量杀死白血病成熟细胞, 但对LSCs没有作用^[7]. 所以联合应用伊马替尼和 β -catenin抑制剂也许可以起到彻底消除所有白血病细胞的作用.

吡喹美辛. 吡喹美辛是COX-2抑制剂, 可以抑制 β -catenin. 在CML小鼠模型体内联合应用伊马替尼发现治疗作用是单独使用伊马替尼的100倍. 而且, 连续移植实验表明, 联合用药小鼠体内的LSCs自我更新能力丢失. 说明 β -catenin抑制剂可以通过作用于LSCs的自我更新能力而靶向消除LSCs. 同时, 吡喹美辛也可以抑制前列腺素, 从而抑制Wnt通路来影响LSCs的存活^[7].

BC2059. BC2059是葱醌类类似物, 能够降低胞内 β -catenin的水平. BC2059可以干扰 β -catenin与转导蛋白的结合, 引起核内 β -catenin的降低, 从而降低TCF4的转录活性, 降低cyclin D1, c-MYC以及存活素的表达. BC2059还可以剂量依赖性的体外诱导AML祖细胞的凋亡, 延长AML移植免疫缺陷鼠的存活时间^[8].

(2) Hedgehog通路抑制剂. Smoothened蛋白(SMO)是Hedgehog通路中的一种跨膜蛋白, 有报道称在CML小鼠模型体内敲除或抑制SMO可以减少LSCs的数量并且降低LSCs的自我更新能力^[9].

环杷明. 环杷明(cyclopamine)又称环巴胺、去氧芥芬胺, 是从藜芦属植物内分离得到的一种异甾体类生物碱, 主要存在百合科植物中北美山藜芦(*Veratrum californicum*)、印第安鹿食草(*Cornlily*)及毛叶藜芦(*Veratrum grandiflorum*)、伊贝(*Fritillaria pallidiflora* Schrenk) 4种植物中, 能与Hedgehog信号通路中的Smoothened蛋白结合, 从而抑制该蛋白活性. 实验证明环杷明可以通过抑制Hedgehog而引起AML CD34⁺细胞的凋亡. 作用于CML小鼠可使LSCs的自我更新水平下降且寿命减短, 但同时对于正常的造血干细胞也有损伤^[10].

LED225. LED225(索尼吉布)是一种人工合成的高效、选择性的小分子化合物, 可以直接作用于SMO^[6]. 与环杷明相似, 该化合物也通过下调Hedgehog通路的活性, 抑制LSCs的自我更新能力来消除LSCs. 而且低浓度的LED225即可达到对LSCs的杀伤作用, 同时对于正常造血干细胞没有毒副作用.

1.2 促进LSCs的凋亡

正常情况下, 促凋亡基因与抗凋亡基因在细胞中相互协调控制细胞的凋亡行为. 而在LSCs中, BCL-2, BCL-XL, MCL-1, XIAP等抗凋亡基因表达上调, 而促凋亡基因Bim的表达下调, 导致LSCs凋亡受阻不断增殖产生白血病细胞使得疾病不断发展. 所以特异性地下调这些抗凋亡基因的表达, 也许能促使LSCs凋亡而达到杀伤LSCs的目的. 同时, 在LSCs内NF- κ B通路异常表达^[11].

(1) 小白菊内酯(parthenolide, PTL). PTL是一种倍半萜烯内酯化合物, 是植物药野甘菊的主要活性成分. 近年来多项研究发现, 小白菊内酯可以诱导白血病, 多发性骨髓瘤等多种肿瘤细胞的凋亡, 同时对其他抗癌药物有增敏效应. NF- κ B可以通过调控细胞因子的基因表达, 或者诱导上调抗凋亡基因来抑制细胞凋亡. NF- κ B对于LSCs的生存生长有重要作用, 而PTL是一种有效的核转录因子NF- κ B激酶激活抑制剂, 使细胞的基因表达受阻; 促进氧化应激, 产生基因毒性作用; 通过使P53前体磷酸化, 激活P53抑制细胞的凋亡. 研究表明, 小白菊内酯可以抑制白血病干细胞增殖并使细胞停滞于G₂期, 可能的分子机制是抑制了c-myc, bcl-2, cyclin A1, cyclin E表达以及SDF-1-CXCR4信号通路^[12]. 但由于其成药性差限制了它的临床应用, 所以小白菊内酯类似物二甲氨基内酯(dimethylamino-parthenolide, DMAPT)应运而生. DMAPT具有良好的生物利用度与药理活性, 同时在自发性急性白血病小鼠模型体内实验中有良好效果. 目前, DMAPT已经在英国卡迪夫大学开展了 I 到 II 期临床试验^[13].

(2) MG132. 肽醛MG-132是一个有效的蛋白酶体抑制剂, 通过抑制调节分子I κ B α 的降解而抑制NF- κ B的活性. 通过维持I κ B α 表达的高水平, 从而限制NF- κ B停留在核内, 保持无活性的状态^[14].

Guzman等人^[14]从AML病人样品和正常骨髓或脐血细胞中, 分离出CD34⁺的干细胞. 利用电泳迁移率变动分析(electrophoretic mobility shift assays, EMSAs)发现, 相比于正常CD34⁺造血细胞的核提取物, NF- κ B与CD34⁺ AML细胞的核提取物显著地结合. 随后进一步分离出不同AML病人的CD34⁺CD38⁻CD123⁺的LSCs细胞, 并利用EMSA分析发现, NF- κ B只有AML LSCs的干性维持相关, 而不调节正常造血干细胞. 研究发现,

MG-132不仅可以有效抑制NF- κ B与AML CD34⁺的核提取物的结合活性, 并且可以抑制由NF- κ B激活的下游基因如*c-IAP2*, *IL-6*和*IL-8*的表达. MG-132在体外可以诱导AML CD34⁺的凋亡, 但是对正常CD34⁺无细胞毒性, 且有效浓度为0.5 μ mol/L. 通过与常用的化疗药Ara-C比对, MG-132表现出强烈的LSCs靶向性. 有研究表明, 蒽环毒素不仅可以诱导恶性细胞中的NF- κ B, 还可以增加白血病细胞中蛋白酶体的活性, 因此假设蒽环毒素可能能够增加白血病细胞对于蛋白酶体抑制的敏感性. 相比于IDR和MG-132单独使用, 联合使用在体外可以特异性的诱导AML CD34⁺细胞凋亡, 而不影响正常造血CD34⁺的存活. 利用NOD/SCID小鼠异体移植实验, 评估MG-132/IDR对于HSCs和LSCs体内活性的影响. 结果显示, MG-132/IDR给药组不影响正常HSC在NOD/SCID小鼠体内的增殖, 并且与对照组相比CD33⁺, CD19⁺, CD34⁺细胞的比例没有明显差异, 说明MG-132/IDR不影响HSCs的正常分化功能. 相反地, MG-132/IDR给药组可以显著抑制病人AML细胞的植入率, 并且通过连续移植实验证明MG-132/IDR联合使用可以有效地清除LSCs的自我更新功能^[15].

作用机制研究发现, NF- κ B的活性对于AML细胞的存活十分的重要, 但是只抑制NF- κ B不足以导致MG-132/IDR诱导的快速且大量凋亡的发生. 进一步通过检测基因和蛋白表达水平发现, MG-132/IDR可以导致*p53*表达水平的剧烈升高, 并且受*p53*调控的基因*Bax*, *GADD45*和*p21*表达均上调. 然而有趣的是, 抗凋亡蛋白*Bcl-xL*表达显著降低. *Bcl-xL*是NF- κ B的靶基因, 因此可能与NF- κ B的抑制有关. 总而言之, MG-132/IDR是通过激活*p53*调控的基因, 同时抑制NF- κ B的活性而诱导凋亡的^[15].

(3) ABT-737. 生理作用下, 抗凋亡蛋白BCL-2通过保持线粒体的完整性维持细胞生存. 然而, BCL-2蛋白表达异常往往导致肿瘤的发生和耐药. ABT-737是一类小分子BCL-2抑制剂, 它竞争性与BCL-2, BCL-XL的疏水口袋状结构结合, 促进细胞凋亡. 研究显示, ABT-737可以在MDS-AML转基因小鼠模型中靶向Lin⁻/Sca-1⁺/c-Kit⁺祖细胞^[16].

(4) Birinapant. 有学者利用反向蛋白芯片发现CD34⁺CD38⁻的AML干细胞/祖细胞与其他AML细胞相比, 表达了更多的*caspase 8*, 同时*cIAP*对SMAC的比率上升. Birinapant是一种新发现的SMAC类似物, 与

*cIAP*有很高的亲和性. 用Birinapant处理人AML移植小鼠模型, 可以显著提高小鼠的存活率^[17].

(5) 雷帕霉素(Rapamycin). 雷帕霉素是PI3K-Akt通路下游的mTOR通路的抑制剂. 多项研究发现, 雷帕霉素可以抑制白血病细胞株增殖及诱导其凋亡. 随着雷帕霉素浓度的上升, mTOR mRNA水平下降, 这说明雷帕霉素在体外通过作用于mTOR以发挥其抗白血病细胞的活性. 此外, 雷帕霉素还可以增加阿糖胞苷对白血病细胞的毒性, 减少白血病细胞对阿糖胞苷的耐药作用, 为联合用药提供了新的可能^[18].

1.3 靶向LSCs的免疫表型

LSCs与HSCs都表达CD34⁺CD38⁻, 这对于通过标记细胞表面marker来实现LSCs的靶向消除造成了困扰, 但是LSCs细胞膜还特异存在一些HSCs没有的表面marker. 通过靶向这一系列生物学标志, 可以实现对LSCs的靶向消除^[19].

(1) C-型凝集素样分子-1 (CLL-1). CLL-1在92%的AML白血病细胞中都有表达, 在正常CD34⁺CD38⁻的HSCs细胞上不表达, 但在CD34⁺CD38⁻的正常祖细胞中可检测到表达. 有研究发现, CD34⁺CLL-1⁺的白血病细胞可以在免疫缺陷鼠中引起白血病的发生, 说明这群细胞具有LSCs的特性. 而且, 从AML病人中分离出的富集LSCs的侧群细胞也表达CLL-1^[20]. Lu等人^[21]报道一种双特异性抗体 α CLL1- α CD3可以靶向CLL-1, 对多种AML细胞系以及AML原始细胞都具有细胞毒性. 而且 α CLL1- α CD3可以完全消除U937移植发病模型体内的白血病细胞.

(2) CD96. CD96是免疫球蛋白超家族成员, 是一种跨膜糖蛋白, 是T细胞表面特异受体, 与CD226同源. Hosen等人^[22]在2007年发现, CD96在HSCs和LSCs以及一些祖细胞上都有表达, 但在正常CD34⁺CD38⁻细胞中表达率只有18%, 而在部分AML病人CD34⁺CD38⁻细胞中表达率为40%, 有些预后不良的病人则高达90%. 移植实验也证明, CD96⁺的白血病细胞具有LSCs特性. TH111是CD96的单克隆抗体, 可以有效分离LSCs.

(3) CD44. CD44是细胞表面糖蛋白, 是透明质酸的受体, 主要参与细胞-细胞作用, 细胞黏附和细胞迁移. 对于HSCs和LSCs的归巢行为都是必需的. 在NOD/SCID小鼠体内使用CD44的拮抗剂可以有效地、有选择性地消除AML细胞. 主要机制是通过影响LSC

的归巢, 诱导细胞分化以及抑制细胞增殖^[23]. H90是CD44的单克隆抗体, Charrad等人^[24]在2002年就报道过它在体外能够诱导primary AML blast分化. Jin等人^[25]在2006年发现, 在H90作用的小鼠体内成熟髓系细胞表面marker表达上调, 说明H90在体内也有诱导分化作用. 另外有实验证明, H90处理小鼠来源的细胞归巢能力和增殖能力弱.

(4) CD123 (IL3R α). Muñoz等人^[26]发现, CD123在血液肿瘤细胞中普遍存在, 包括B-ALL, AML. 而且有大约45%的AML细胞过表达CD123, 而且这些过表达CD123的AML细胞通常具有更高的增殖活性, 对于凋亡刺激的耐受能力更强, 并且持续磷酸化Stat5. 临床研究还发现通常过表达CD123的病人预后较差. 许多研究表明, CD34⁺CD38⁻CD123⁺白血病细胞移植入免疫缺陷鼠可以引起白血病的发生和发展, 并且有NF-KB通路的激活^[27]. DT388IL3, CSL362以及MGD006均为报道过的可以靶向作用于IL3R的抗体^[28-30].

(5) CD47. CD47是一类跨膜糖蛋白, 在人体组织中广泛表达. 2009年Jaiswal等人^[31]发现, CD47在AML白血病干细胞中过表达. CD47是SIRP α 的受体, 与吞噬细胞产生的SIRP α 结合后可以抑制吞噬行为的发生. 推测AML的LSCs高表达CD47可以抑制吞噬细胞对LSCs的消除作用. 体内实验证明, 在缺乏CD47的AML LSCs中外源性表达CD47有利于肿瘤的发生发展. 因此干扰CD47-SIRP α 轴也许可以使LSCs被吞噬, 从而达到治疗效果. 体内外实验均证明, 应用CD47的单克隆抗体的确可以达到这样的目的^[32].

(6) CD25与CD32. Satio等人^[33]通过微阵列芯片分析, 发现CD25与CD35静息状态的在LSCs上表达, 而不在HSCs上表达. CD25是IL2R α , 与IL2R生物学功能相似, 它的激活可以控制细胞的增殖, 存活以及分化. CD32是Fc- γ 受体家族成员, 主要存在在免疫细胞上. 将CD34⁺CD38⁻CD25⁺细胞和CD34⁺CD38⁻CD32⁺细胞移植入NO/SCID小鼠体内可引发白血病, 而且对阿糖胞苷耐药^[33]. 有报道称AML细胞中CD25的过表达可能是由STAT5^[34]和MYC^[35]超活化引起的.

1.4 靶向LSCs的微环境

三十多年前有研究者发现, 造血干细胞在骨髓中集中存在, 这种骨髓微环境中干细胞聚集的地方称之为niche, 它为干细胞维持自我更新多向分化能力提供

了支持, 并且保护他们免受外界环境的干扰^[36]. Niche主要分为血管微环境和骨内膜微环境, 包括成骨细胞、破骨细胞、血管内皮细胞、间充质干细胞、血管周基质细胞、非髓鞘形成施万细胞和免疫细胞等, 这些细胞在造血调节中都起着重要作用^[37]. 骨髓Niche通过抑制与细胞分化相关的信号通路来维持HSCs的静息状态, 只有在接到特定的信号刺激时, 才动员HSCs分化成为造血前祖细胞^[38]. LSCs与HSCs同样都与niche中的细胞有相互作用, 但是目前有研究表明, LSCs在受到niche调控的同时, 还能够使niche的组成以及niche中各种细胞的功能发生改变, 使得niche更适合LSCs的居住, 而不适合维持HSCs的功能^[39]. 与此同时, 由于niche对于LSCs的保护作用, 使得LSCs对传统化疗并不敏感. 研究显示, 经过化疗的白血病干细胞会募集Nestin阳性细胞及 α -SMA阳性细胞, 建立NSM微环境保护自己^[40]. 因此niche以及其中调控LSCs的信号通路也是靶向治疗LSCs的潜在有效靶点^[41].

(1) CXCL12/CXCR4轴抑制剂. CXCL12/CXCR4轴是介导HSCs迁移和归巢的重要中介, 它的激活可以影响下游信号通路, 从而影响HSC的存活和静息状态. CXCL12/CXCR4轴同样也在LSCs中起着重要作用, 它可以活化多条促存活通路, 包括PI3K/AKT通路和MAPK/ERK通路^[42]. Möhle等人^[43]最早发现, 在AML中CXCR4的表达与CD34, C38白血病细胞的迁移有关, 并且CXCL12/CXCR4轴对静息状态的白血病干细胞在骨髓中的“锚定”有着重要作用. 之前的研究表明, SDF-1 α 可以刺激引起白血病细胞的迁移, 尤其是白血病干细胞. 而且所有AML细胞均表达SDF-1 α 和CXCR4^[44]. 体外培养AML细胞时加入SDF-1 α 因子可以提高AML细胞的活性, 而加入CXCR4的抑制剂则会降低细胞存活率^[45]. 将CXCR4抑制剂处理过的人AML祖细胞注入NOD/SCID/ β 2m小鼠体内观察到其归巢进入骨髓和脾脏的行为受阻. 每周持续给药则会导致骨髓、脾脏和外周血中的白血病细胞减少^[46]. 并且还有研究表明, AML中细胞表面CXCR4受体表达量上调与细胞对化疗有抵抗作用有关^[47]. 因此, CXCL12/CXCR4轴是一个基于靶向微环境来实现对白血病细胞杀伤的潜在靶点.

AMD3100. AMD3100是SDF-1 α /CXCL12的选择性拮抗剂, 可以与它竞争结合CXCR4. Broxmeyer等人^[47]发现, AMD3100可以动员人CD34⁺细胞和造血

前体细胞. Flomenberg等人^[48]发现, AMD3100可以增强G-CSF对CD34⁺的动员作用. Liesveld等人^[49]发现, AMD3100在0.1 mg/mL时就可以抑制SDF-1 α 引起的正常CD34⁺细胞和AML细胞从HUVEC和BMECs的迁移. 在0.1~1.0 mg/mL的范围内, AMD3100对液体培养基中的AML细胞(均为表达CXCR4的AML细胞)的增殖和活性没有影响,但可以抑制半固体培养基中CFU-L的形成,而且在0.05 mg/mL和更高浓度时就可起抑制作用. 将分别用SDF-1 α , AMD3100处理24 h后的AML细胞移植到半致死剂量照射的NOD/SCID小鼠体内. 移植后24 h发现,不论哪种条件处理过的小鼠骨髓中的CD45⁺细胞都低于0.5%,而脾脏和肝脏中则低于1%. 6周后, AMD3100处理组以及AMD3100联合SDF-1 α 处理组的小鼠骨髓中CD45⁺细胞的百分比不变,只有SDF-1 α 处理组小鼠骨髓中细胞比例增加. 说明AMD3100能够有效抑制SDF-1 α 对细胞的迁移作用^[50].

虽然AMD3100抑制SDF-1 α 的作用,但并不是通过抑制SDF-1 α 的作用通路AKT pathway来起作用的. AMD3100在有效浓度下也不会影响AML细胞的黏附作用,而应该是干扰基质细胞与AML细胞之间的相互联系,动员白血病干细胞离开具有保护作用的微环境,增加化疗的敏感性^[50]. 目前AMD3100已经进入临床I期实验^[51].

BL8040. BL8040 (BKT140, 4F-benzoyl-TN14003, T140)是CXCR4的高亲和力抑制剂, IC₅₀值大约为1 nm,并且解结合率非常低(>24 h). 它在体内外都可以直接引起FLT3-ITD/FLT-WT AML细胞的凋亡. 并且BL8040还能够动员AML细胞离开保护它们的微环境,引起白血病前祖细胞的分化^[52].

Beider等人^[53]发现,在BL-8040作用下, CML的发展被抑制. Abraham等人^[54]发现在4种不同的AML小鼠模型中,给BL8040一次和连续给BL8040 7天引起的效果不同. 在连续给药条件下,骨髓和脾脏中的白血病细胞都减少,而在仅给药一次的刺激下,只有小鼠脾脏的AML细胞数减少. 这是因为骨髓中AML细胞中抗凋亡基因*BCL-2*表达量高于脾脏中的AML细胞. BL8040引起脾脏中AML细胞凋亡的伴随着microRNA *miR-15/16-1*的表达上调, *BCL-2*表达量下调. 因此推测BL-8040引起白血病细胞凋亡和分化的机制是通过上调microRNA *miR-15/16-1*的表达来实现的.

在体外, BL-8040作用于3种类型的AML细胞系:

MV4-11, U937, THP-1均可引起细胞死亡,但不同细胞的有效浓度不同, MV4-11最敏感, THP-1最不敏感. 并且在MV4-11, U937中均可显著引起表达上调,降低它们的靶基因*BCL-2*, *cyclin-D1*, *MCL-1*的mRNA水平. 但在THP-1中未观察到显著的*miR-15a*和*miR-16-1*表达变化,仅发现*cyclin-D1*略微下降. 同时,与AML细胞存活和增殖有关的信号通路也被影响, Akt与ERK的磷酸化都被BL-8040抑制,但蛋白总量不变^[54].

更重要的是, BL-8040通过抑制CXCR4产生的细胞毒性更多的是针对恶性肿瘤细胞,而对正常造血干细胞以及外周血单个核细胞没有毒副作用^[53].

LY2510924. LY2510924是一种新型的选择性抑制CXCR4的肽,可以迅速而持久地抑制CXCR4^[55]. 在OCI-AML3细胞中,给药1 min后就开始与CXCR4结合,并且占据CXCR4的时间可长达72 h. 而且LY2510924在1 nmol/L时就可抑制SDF-1 α 引起的细胞迁移,比AMD3100更有效^[56]. Cho等人^[56]在体外将OCI-AML3细胞与LY2510924共培养,发现细胞生长被抑制,但并不死亡. 说明LY2510924可以抑制AML细胞的增殖而不引起细胞死亡. 而将它与基质细胞MS-5共培养发现它可以抑制基质细胞的化疗保护作用. 进一步研究表明, LY2510924在OCI-AML3小鼠和非照射NSG小鼠模型中可以起抗白血病作用,抑制细胞增殖并且促进白血病细胞进入循环而对化疗敏感.

LY2510924在体内外均可减弱SDF-1 α 对促存活信号通路PI3K/AKT的激活作用,而且在使细胞对化疗更加敏感的同时并不增加化疗的毒副作用^[56]. 目前已经进入临床I期实验^[57].

Ulocuplumab. Ulocuplumab (BMS-936564)是一种全人来源的单克隆抗体,在AML, NHL和许多骨髓瘤模型中都有抗癌作用^[58]. Kuhne等人发现, Ulocuplumab在纳摩尔级别就可以抑制SDF-1 α /CXCR4介导的由于钙离子内流而引起的CLL白血病细胞的迁移,效果与AMD3100相仿. 但与AMD3100不同的是, Ulocuplumab在纳摩尔级别时,无论基质细胞存不存在,都可以引起CLL白血病细胞的凋亡. Kashyap等人^[58]发现, CLL病人来源细胞在与Ulocuplumab共培养48 h后,细胞凋亡增加,而且引起凋亡程度与预后是否良好无关. 不同CLL亚型的Ulocuplumab IC₅₀值不同,但不论哪种亚型的白血病细胞IC₅₀值都小于正常T, B细胞的IC₅₀值. 也即Ulocuplumab对正常T, B细胞毒副作用小.

为了寻找 Ulocuplumab 的作用机制, Kashyap 等人^[58]检测了此单抗处理过的细胞中 caspase 的活性. 发现处理后在 CLL 细胞中产生大量活化的 caspase, 但在正常 B 细胞中没有. 然而用 Z-VAD 抑制 caspase 后, 依然不能消除由 Ulocuplumab 引起的细胞凋亡. 说明 Ulocuplumab 引起的细胞程序性死亡不依赖于 caspase. 所以推测 Ulocuplumab 引起细胞凋亡的机制可能是通过产生 ROS 来实现的. 体外 Ulocuplumab 处理 CLL 细胞 4 h 后可以观察到细胞迅速死亡, 大量活性氧产物出现. 而且同时应用 Ulocuplumab 和 Tiron (一种常用的 ROS 抑制剂) 在体外处理 CLL 细胞时发现, 没有 ROS 产物出现, 而且 Ulocuplumab 不能引起白血病细胞死亡. 说明 Ulocuplumab 可能的作用机制是通过产生 ROS 来消除白血病细胞. 有研究表明 Ulocuplumab 对 AML 也有一定抗癌作用^[59].

(2) 免疫疗法. 免疫细胞是 LSCs 微环境的重要组成部分之一, 所以通过作用于免疫细胞来达到抗肿瘤的目的的是一种新的肿瘤治疗方法. 主要有两种方式作用于免疫细胞, 促进其抗肿瘤活性. 一种是增强 T 细胞以及 NK 细胞的抗肿瘤活性, 另一种是减少机体的免疫抑制功能. 具体的方式有两种, 免疫检测点抑制剂以及过继细胞疗法 (adoptive cell therapy, ACT)^[60].

免疫检测点抑制剂. T 细胞的功能正常发挥需要双信号的刺激, 首先由抗原递呈细胞 (antigen-presenting cell, APCs) 表达的 MHC-抗原肽复合物与 T 细胞表面受体 (T cell receptor, TCR) 相互结合产生第一信号, 其次由共刺激分子产生第二信号. 研究发现, 共刺激分子不仅可以对 T 细胞发出正性调节信号, 也可以发出负性调节信号. 免疫检测点起着平衡这些正性调节信号与负性调节信号的重要作用. 在正常免疫系统中, 它可以通过一系列抑制性信号通路调节免疫反应的持续时间以及应答强度, 从而避免损伤机体正常组织, 维持机体对于自身抗原的耐受. 主要调节 T 细胞活化的共刺激分子有 CD28, 4-1BB, CD27, ICOS (以上共刺激分子表达在 T 细胞上), CD80 和 CD86 (表达在 APCs 细胞上). 而抑制 T 细胞活化的共刺激分子主要有细胞毒 T 淋巴细胞抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein, CTLA4) 和程序性死亡受体 1 (programed cell-death protein, PD1). 肿瘤细胞常利用机体自身的这种免疫调节机制来逃避免疫监视. 在此本文主要讨论 PD-1/PD-L1 通路而不讨论 CTLA4 以及 KIR 通路. 当肿瘤细胞表面高表达的

PD-L1 与免疫细胞表面的 PD-1 结合后, T 细胞以及 NK 细胞的活化被抑制, 并且还会促进 T 细胞的耗竭, 使得肿瘤细胞免于被杀伤而继续存活. 所以重新恢复 T 细胞功能从而实现抗肿瘤目的这一方法备受瞩目.

免疫检测点抑制剂疗法是通过解除对机体免疫系统的抑制, 从而恢复自身免疫细胞的活性而达到抗肿瘤目的. 随着免疫检测点抑制剂在实体瘤中的成功运用, 这一疗法也开始被引入血液肿瘤的治疗中, 包括 AML 以及 MDS. 白血病可以被看做是一种典型的免疫反应性肿瘤, 它是第一类通过免疫治疗即异体干细胞移植成功治愈的疾病. 不同于实体瘤, 白血病细胞表达更多的免疫检测点抑制性配体, 这也表明了靶向白血病的这些表面标志是一种潜在的治疗白血病的方法.

Norde 等人^[61]发现, 人未成熟髓系白血病细胞表面 PD-L1 表达上调, 而同时 CD80, CD86 几乎不表达. 因此, 他们认为未成熟的白血病前体细胞可能是通过 PD-1/PD-L1 通路来抑制 T 细胞的功能来实现逃避免疫系统对其的检测与杀伤的. 他们还发现, 在两例经过了 MiHA-specific 治疗后复发的白血病患者体内白血病 CD34+ 细胞表面 PD-L1 表达上调, 同时 T 细胞表面 PD-1 表达水平也上调. 因此干扰 PD-1/PD-L1 信号通路可能是一种对白血病治疗有效的免疫疗法.

百时美施贵宝公司的 Nivolumab (MDX-1106) 是一种靶向 PD-1/PD-L1 的全人的单克隆抗体, 可以与 T 细胞表面的 PD-1 结合, 从而阻断 PD-L1/PD-L2 触发的免疫抑制信号通路, 恢复 T 细胞的抗肿瘤功能. 其对黑色素瘤、肺癌和肾细胞癌等多种疾病中均有良好效果, 对其他实体瘤的研究目前正在进行. 默沙东公司的 pembrolizumab (Keytruda) 可以阻断 PD-1 及其配体 PD-L1, PD-L2 的相互作用. PD-L1 的抗体包括罗氏公司的 Atezolizumab, 阿斯利康公司的 Durvalumab 由默克雪兰诺与辉瑞公司共同研发的 Avelumab 等.

ACT. ACT 主要将是在体外人工修饰后的可以靶向肿瘤细胞的免疫细胞回输入患者体内, 从而达到抗肿瘤作用的方法. 在此主要综述最受关注的 CAR-T 疗法 (chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy).

CAR-T 细胞是一种经过体外人工修饰的嵌合抗原受体修饰淋巴 T 细胞, 体外人工合成的 CAR 部分包括胞外抗原结合部分也即抗体单链可变区 (single-chain antibody, scFv)、铰链区、跨膜区段以及共刺激区、T

细胞活化区. CAR-T细胞表面的scFv可以识别多种肿瘤细胞表面表达的肿瘤相关抗原, 绕过了抗原递呈阶段以及MHC限制性, 从而使淋巴细胞可以靶向攻击肿瘤细胞^[62].

第一代的CAR-T细胞胞内信号段主要是CD3 ζ 或者FccRI γ , CD3 ζ 链能够提供T细胞激活、裂解靶细胞、调节IL-2分泌以及体内发挥抗肿瘤活性所需的信号. 但是由于这类CAR-T细胞在体内很快就无法继续增殖, 所以它虽然有抗肿瘤效果但作用时间短不能在体内持续发挥作用. 因此在二代CAR-T细胞的设计上引入了一个共刺激分子, 比较常用的有CD28, ICOS, 4-1BB (CD137), OX40 (CD134). 所以二代CAR-T细胞的抗肿瘤活性, 增殖能力以及存在时间相较于一代都更长. 与此同时还提出了使用NK细胞受体CD244的思路. 第三代CAR-T细胞是在一代细胞的基础上加入两个或以上的共刺激分子, 目的在于进一步增强T细胞的活性, 扩增能力以及体内存活时间^[63]. 目前抗CD19的CAR-T细胞在治疗B-ALL中取得了巨大的成功, 临床试验显示, 3名复发的CLL病人接受特异性抗CD19的CAR-T细胞治疗后病情完全缓解^[64]. 随后有临床研究显示, 抗CD19的CAR-T细胞对难治性或复发性ALL患者的完全缓解率达到了70%~90%, 6个月无病生存率以及总生存率分别为67%和78%. 除了CD19之外, 胸腺基质淋巴细胞生成素受体(thymic stromal lymphopoietin receptor, TSLPR), CD20, CD22也是潜在的CAR-T细胞设计靶点^[65]. 目前也有许多研究报道了在临床前模型中发现了一些可作为CAR-T靶点的AML抗原. 如CD33, 在大约90%的AML患者体内的白血病细胞上都表达. 有两篇文献发现抗CD33的CAR-T细胞在原发肿瘤模型以及异种基因移植肿瘤模型中均具有抗肿瘤作用^[66,67].

上述临床前以及临床研究都表明, CAR-T细胞疗法对白血病有效, 但是CAR-T细胞疗法依然存在着一些问题. 例如, 脱靶问题, CAR-T细胞回输入患者体内可能会产生攻击与靶细胞具有相同抗原的机体正常细胞, 导致细胞因子风暴的出现, 从而带来了患者在接受治疗后死亡的风险. 所以对于CAR-T疗法来说最重要的是要确定出肿瘤细胞表面最为特异的分子标记, 而目前已鉴定出的肿瘤特异性抗原有限, 这也是限制CAR-T疗法的重要原因.

2 展望

尽管各种新药不断出现, 白血病的治疗结果已经有了显著的提高. 但由于LSCs的存在, 白血病依然存在难治愈、易复发的现象. 所以, 特异性地靶向消除LSCs对于白血病的治疗具有重大意义. 目前有的研究方向围绕着LSCs的生物学特征来展开, 了解LSCs的生物学特征有利于寻找新的靶向疗法. 一些可能有效消除LSCs的方法, 如通过标记LSCs表面的特异免疫表型, 扰乱LSCs与干细胞微环境之间的相互作用, 靶向LSCs中表达异常的信号通路, LSCs表观遗传重编程等研究策略已经取得了较好的临床前研究结果. 但是由于患者个体之间异质性较大, 所以在不同患者身上运用以上靶向LSCs的疗法可能疗效有较大差异. 因此寻找一些普遍存在在LSCs表面的免疫学标志以便这些疗法运用于临床后取得较好疗效是必需的. 而免疫治疗方法的出现是又一重大突破, 从患者自身分离处免疫细胞后进行人工体外修饰、扩增后再回输患者体内, 体现了个性化治疗特色. 但尽管如此, 目前尚未出现单一的, 特异性的途径可以消除LSCs, 所以多种方式联合治疗可能将会是有效地治疗白血病的方法.

参考文献

- 1 Dick J E. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood*, 2008, 112: 4793–4807
- 2 Ishikawa F, Yoshida S, Saito Y, et al. Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone-marrow endosteal region. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 1315–1321
- 3 ten Cate B, de Bruyn M, Wei Y, et al. Targeted elimination of leukemia stem cells; a new therapeutic approach in hemato-oncology. *Curr Drug Targets*, 2010, 11: 95–110
- 4 Atlasi Y. Wnt signaling in stem cells and cancer. *Nature*, 2013, 434: 843–850
- 5 Wang Y, Krivtsov A V, Sinha A U, et al. The Wnt/ β -catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML. *Science*, 2010, 327: 1650–1653

- 6 Irvine D A, Zhang B, Kinstrie R, et al. Deregulated hedgehog pathway signaling is inhibited by the smoothened antagonist LDE225 (Sonidegib) in chronic phase chronic myeloid leukaemia. *Sci Rep*, 2016, 6: 25476
- 7 Heidel F H, Bullinger L, Feng Z, et al. Genetic and pharmacologic inhibition of β -catenin targets imatinib-resistant leukemia stem cells in CML. *Cell Stem Cell*, 2012, 10: 412–424
- 8 Warren F, Sunil S, Saikat S, et al. Pre-clinical efficacy of combined therapy with novel β -catenin antagonist BC2059 and histone deacetylase inhibitor against AML cells. *Leukemia*, 2014, 29: 1267–1278
- 9 Zhao C, Chen A, Jamieson C H, et al. Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia. *Nature*, 2009, 458: 776–779
- 10 Siveen K S, Uddin S, Mohammad R M. Targeting acute myeloid leukemia stem cell signaling by natural products. *Mol Cancer*, 2017, 16: 13
- 11 Konopleva M, Contractor R, Tsao T, et al. Mechanisms of apoptosis sensitivity and resistance to the BH3 mimetic ABT-737 in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2006, 10: 375–388
- 12 章志福, 汤礼宾, 刘倩平, 等. 小白菊内酯对白血病干细胞增殖和细胞周期的调节作用及分子机制探究. *海南医学院学报*, 2015, 21: 888–890
- 13 Guzman M L, Rossi R M, Neelakantan S, et al. An orally bioavailable parthenolide analog selectively eradicates acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood*, 2007, 110: 4427–4435
- 14 Guzman M L, Neering S J, Upchurch D, et al. Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells. *Blood*, 2001, 98: 2301–2307
- 15 Guzman M L, Swiderski C F, Howard D S, et al. Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 16220–16225
- 16 Beurlet S, Omidvar N, Gorombe P, et al. BCL-2 inhibition with ABT-737 prolongs survival in an NRAS/BCL-2 mouse model of AML by targeting primitive LSK and progenitor cells. *Blood*, 2013, 122: 2864–2876
- 17 Carter B Z, Mak P Y, Mak D H, et al. Synergistic targeting of AML stem/progenitor cells with IAP antagonist birinapant and demethylating agents. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106: djt440
- 18 Yin B, Morgan K, Hasz D E, et al. *Nf1* gene inactivation in acute myeloid leukemia cells confers cytarabine resistance through MAPK and mTOR pathways. *Leukemia*, 2005, 20: 151–154
- 19 Pelosi E, Castelli G, Testa U. Targeting LSCs through membrane antigens selectively or preferentially expressed on these cells. *Blood Cells Mol Dis*, 2015, 55: 336–346
- 20 Bakker A B H, van den Oudenrijn S, Bakker A Q, et al. C-type lectin-like molecule-1. *Cancer Res*, 2004, 64: 8443–8450
- 21 Lu H, Zhou Q, Deshmukh V, et al. Targeting human C-type lectin-like molecule-1 (CLL1) with a bispecific antibody for immunotherapy of acute myeloid leukemia. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 9841–9845
- 22 Hosen N, Park C Y, Tatsumi N, et al. CD96 is a leukemic stem cell-specific marker in human acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 11008–11013
- 23 Ghaffari S, Smadja-Joffe F, Oostendorp R, et al. CD44 isoforms in normal and leukemic hematopoiesis. *Exp Hematol*, 1999, 27: 978–993
- 24 Charrad R S, Gadhoum Z, Qi J, et al. Effects of anti-CD44 monoclonal antibodies on differentiation and apoptosis of human myeloid leukemia cell lines. *Blood*, 2002, 99: 290–299
- 25 Jin L, Hope K J, Zhai Q, et al. Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells. *Nat Med*, 2006, 12: 1167–1174
- 26 Muñoz L, Nomdedéu J F, López O, et al. Interleukin-3 receptor alpha chain (CD123) is widely expressed in hematologic malignancies. *Haematologica*, 2001, 86: 1261–1269
- 27 Guzman M L, Neering S J, Upchurch D, et al. Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells. 2001, 98: 2301–2307
- 28 Frankel A E, McCubrey J A, Miller M S, et al. Diphtheria toxin fused to human interleukin-3 is toxic to blasts from patients with myeloid leukemias. *Leukemia*, 2000, 14: 576–585
- 29 Busfield S J, Biondo M, Wong M, et al. Targeting of acute myeloid leukemia *in vitro* and *in vivo* with an anti-CD123 mAb engineered for optimal ADCC. *Leukemia*, 2014, 28: 2213
- 30 Chichili G R, Huang L, Li H, et al. A CD3xCD123 bispecific DART for redirecting host T cells to myelogenous leukemia: Preclinical activity and safety in nonhuman primates. *Sci Transl Med*, 2015, 7: 289ra2–289ra2
- 31 Jaiswal S, Jamieson C H M, Pang W W, et al. CD47 is upregulated on circulating hematopoietic stem cells and leukemia cells to avoid phagocytosis. *Cell*, 2009, 138: 271–285
- 32 Majeti R, Chao M P, Alizadeh A A, et al. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia

- stem cells. *Cell*, 2009, 138: 286–299
- 33 Saito Y, Kitamura H, Hijikata A, et al. Identification of therapeutic targets for quiescent, chemotherapy-resistant human leukemia stem cells. *Sci Transl Med*, 2010, 2: 17ra9–17ra9
 - 34 Schepers H, Van G D, Wierenga A T, et al. STAT5 is required for long-term maintenance of normal and leukemic human stem/progenitor cells. *Blood*, 2007, 110: 2880–2888
 - 35 King B, Trimarchi T, Reavie L, et al. The ubiquitin ligase FBXW7 modulates leukemia-initiating cell activity by regulating MYC stability. *Cell*, 2013, 153: 1552–1566
 - 36 Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 1978, 4: 7
 - 37 Nwajei F, Konopleva M. The bone marrow microenvironment as niche retreats for hematopoietic and leukemic stem cells. *Adv Hematol*, 2013, 2013: 1–8
 - 38 Ferrara F, Schiffer C A. Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet*, 2013, 381: 484–495
 - 39 Raaijmakers M H G P, Mukherjee S, Guo S, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature*, 2010, 464: 852–857
 - 40 Duan C W, Shi J, Chen J, et al. Leukemia propagating cells rebuild an evolving niche in response to therapy. *Cancer Cell*, 2014, 25: 778–793
 - 41 Taylor S T, Hickman J A, Dive C. Epigenetic determinants of resistance to etoposide regulation of Bcl-xL and Bax by tumor microenvironmental factors. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92: 18–23
 - 42 Zeng Z, Xi Shi Y, Samudio I J, et al. Targeting the leukemia microenvironment by CXCR4 inhibition overcomes resistance to kinase inhibitors and chemotherapy in AML. *Blood*, 2009, 113: 6215–6224
 - 43 Möhle R, Bautz F, Rafii S, et al. The chemokine receptor CXCR-4 is expressed on CD34⁺ hematopoietic progenitors and leukemic cells and mediates transendothelial migration induced by stromal cell-derived factor-1. *Blood*, 1998, 91: 4523
 - 44 Voermans C, van Heese W P M, de Jong I, et al. Migratory behavior of leukemic cells from acute myeloid leukemia patients. *Leukemia*, 2002, 16: 650–657
 - 45 Tavor S, Petit I, Porozov S, et al. CXCR4 regulates migration and development of human acute myelogenous leukemia stem cells in transplanted NOD/SCID mice. *Cancer Res*, 2004, 64: 2817–2824
 - 46 Sison E A R, McIntyre E, Magoon D, et al. Dynamic chemotherapy-induced upregulation of CXCR4 expression: a mechanism of therapeutic resistance in pediatric AML. *Mol Cancer Res*, 2013, 11: 1004–1016
 - 47 Broxmeyer H E, Orschell C M, Clapp D W, et al. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med*, 2005, 201: 1307–1318
 - 48 Flomenberg N, Devine S M, Dpersio J F, et al. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood*, 2005, 106: 1867–1874
 - 49 Liesveld J L, Frediani K E, Harbol A W, et al. Characterization of the adherence of normal and leukemic CD34⁺ cells to endothelial monolayers. *Leukemia*, 1994, 8: 2111–2117
 - 50 Liesveld J L, Bechelli J, Rosell K, et al. Effects of AMD3100 on transmigration and survival of acute myelogenous leukemia cells. *Leukemia Res*, 2007, 31: 1553–1563
 - 51 Uy G L, Rettig M P, Motabi I H, et al. A phase 1/2 study of chemosensitization with the CXCR4 antagonist plerixafor in relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*, 2012, 119: 3917–3924
 - 52 Tamamura H, Fujisawa M, Hiramatsu K, et al. Identification of a CXCR4 antagonist, a T140 analog, as an anti-rheumatoid arthritis agent. *FEBS Lett*, 2004, 569: 99–104
 - 53 Beider K, Begin M, Abraham M, et al. CXCR4 antagonist 4F-benzoyl-TN14003 inhibits leukemia and multiple myeloma tumor growth. *Exp Hematol*, 2011, 39: 282–292
 - 54 Abraham M, Klein S, Bulvik B, et al. The CXCR4 inhibitor BL-8040 induces the apoptosis of AML blasts by downregulating ERK, BCL-2, MCL-1 and cyclin-D1 via altered miR-15a/16-1 expression. *Leukemia*, 2017, 31: 2336–2346
 - 55 Peng S B, Zhang X, Paul D, et al. Identification of LY2510924, a novel cyclic peptide CXCR4 antagonist that exhibits antitumor activities in solid tumor and breast cancer metastatic models. *Mol Cancer Therapeut*, 2015, 14: 480–490
 - 56 Cho B S, Zeng Z, Mu H, et al. Antileukemia activity of the novel peptidic CXCR4 antagonist LY2510924 as monotherapy and in combination with chemotherapy. *Blood*, 2015, 126: 222–232
 - 57 Galsky M D, Vogelzang N J, Conkling P, et al. A phase I trial of LY2510924, a CXCR4 peptide antagonist, in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 3581–3588
 - 58 Kashyap M K, Kumar D, Jones H, et al. Ulocuplumab (BMS-936564/MDX1338): a fully human anti-CXCR4 antibody induces cell death in

- chronic lymphocytic leukemia mediated through a reactive oxygen species-dependent pathway. *Oncotarget*, 2016, 7: 2809–2822
- 59 Kuhne M R, Mulvey T, Belanger B, et al. BMS-936564/MDX-1338: a fully human anti-CXCR4 antibody induces apoptosis *in vitro* and shows antitumor activity *in vivo* in hematologic malignancies. *Clinical Cancer Res*, 2013, 19: 357–366
- 60 Gay F, D'Agostino M, Giaccone L, et al. Immuno-oncologic approaches: CAR-T cells and checkpoint inhibitors. *Clin Lymphoma Myeloma Leukemia*, 2017, 17: 471–478
- 61 Norde W J, Maas F, Hobo W, et al. PD-1/PD-L1 interactions contribute to functional T-cell impairment in patients who relapse with cancer after allogeneic stem cell transplantation. *Cancer Res*, 2011, 71: 5111–5122
- 62 Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 86: 10024–10028
- 63 Masarova L, Kantarjian H, Garciamannero G, et al. Harnessing the immune system against leukemia: monoclonal antibodies and checkpoint strategies for AML. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 995: 73–95
- 64 Maude S L, Teachey D T, Porter D L, et al. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2015, 125: 4017–4023
- 65 Wang X, Xiao Q, Wang Z, et al. CAR-T therapy for leukemia: progress and challenges. *Transl Res*, 2017, 182: 135–144
- 66 Kenderian S S, Ruella M, Shestova O, et al. CD33-specific chimeric antigen receptor T cells exhibit potent preclinical activity against human acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2015, 29: 1637–1647
- 67 O'Hear C, Heiber J F, Schubert I, et al. Anti-CD33 chimeric antigen receptor targeting of acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 2015, 100: 336–344

Research progress in targeting leukemia stem cells

GU JiaLi & GAO YingDai

Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Leukemia is a malignant tumor of the hematopoietic system, which is primarily treated by chemotherapy. Traditional therapies still involve treating with drugs and bone marrow transplantation, which, however, result in adverse side effects. They cause harm to normal cells while killing leukemia cells and have negative effects on the patients' quality of life. Leukemia stem cells have been considered as the pivotal reason for conventional therapies not providing the desired outcomes. LSCs are generally regarded as the root of leukemia origin and recurrences after treatment. Therefore, it is important to identify new therapeutic strategies targeting LSCs with limited toxicity toward normal hematopoietic cells, which could prolong the life span of patients. In this review, we discuss the primary biological characteristics of LSCs and several strategies based on these cells. We also discuss the mechanism of the methods targeting the pathways through which LSCs acquire the capacity to self-renew, promote apoptosis, target specific cell surface immunological markers, and destroy the bone marrow microenvironment.

leukemic stem cells, targeted therapy, small molecular compound

doi: [10.1360/N052017-00263](https://doi.org/10.1360/N052017-00263)