



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research

New Technology of Tumor Diagnosis and Treatment—Review

抑制 FLT3 —— 急性髓系白血病分子靶向治疗的原型

Meira Yisraeli Salman^a, Jacob M. Rowe^{a,b,c,*}, Nir Weigert^a

^a Department of Hematology, Shaare Zedek Medical Center, Jerusalem 9103102, Israel

^b Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Rambam Medical Center, Haifa 3109601, Israel

^c Technion—Israel Institute of Technology, Haifa 3200003, Israel

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 January 2021

Revised 18 May 2021

Accepted 18 May 2021

Available online 21 August 2021

关键词

急性髓系白血病

靶向治疗

FLT3 抑制剂

米喹妥林

吉瑞替尼

奎扎替尼

索拉非尼

摘要

急性髓系白血病(AML)的现代治疗始于1973年,首例柔红霉素和阿糖胞苷联合治疗法成功随后拯救了大约45%的患者。准确的AML诊断依赖于形态学方法,其最初仅由细胞化学手段辅助。与急性淋巴细胞白血病(ALL)不同,至少在20世纪70年代和80年代,免疫分型在AML的诊断中几乎不起作用。可靠的细胞遗传学方法的出现为AML的预后发展带来了翻天覆地的变化。通过核型分析,可以对不同的AML实现分类与分层,以进行各种治疗。借助细胞上抗原标记物的免疫表型鉴定,独特的突变图谱可以里程碑式地进一步对AML患者进行分类。所有的这些进展都随着对肿瘤负荷[即微小残留病变(minimal residual disease, MRD)]的重要性的理解而成为AML患者管理的关键。MRD的疗效在过去10年迅速发展,其特异性从免疫分型的 10^{-3} 发展到聚合酶链反应(PCR)的 10^{-4} (且仅对于部分AML患者有效),并最终在具有下一代测序(NGS)技术的灵敏度极高的细胞中发展至 10^{-5} 甚至 10^{-6} 。所有这些进步都促进了个性化医疗概念的发展,并带来了可以准确用于特定诊断亚型的靶向药物。可以精准预测与测量其响应。这些靶向药物现已成为AML管理的基础,其疗效显著提高,而毒性则显著下降。本文的重点是研究最为深入的AML靶向药物之一——FMS样酪氨酸激酶3(FLT3)抑制剂,它影响了AML的预后与治疗。作为已被批准的其他新兴靶向药物以及目前正在开发的靶向药物的原型,本文将选择性地对FLT3抑制剂展开详细讨论。

© 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

急性髓系白血病(AML)是成年人群体中最常见的白血病形式,约占全球所有白血病的三分之一。仅在美国,每年就有超过两万名患者被诊断为AML,据估计,全球AML的总发病率为每年35万人[1]。成年人的中位年龄在过去的30年里一直在稳步增长,现在已经接近70岁,部分原因是医生对老年人的AML诊断能力更强了。

在所有白血病中,AML的生存率最低,只有28%的成年人存活时间超过5年[2]。在美国,AML的总发病率为3.4例患者/10万人,其中30岁人群为1.2例患者/10万人,但80岁人群有超过20例患者/10万人[3]。

AML的治疗是一贯的:近50年来,治疗的基础一直依赖于蒽环类药物和阿糖胞苷,即所谓的7+3方案[4]。虽然7+3方案最初是在1973年开发的,但直到1975年能储存血小板的里程碑式发现后,7+3方案才随着血小板输注

* Corresponding author.

E-mail address: rowe@jimmy.harvard.edu (J.M. Rowe).

的出现而得到广泛使用[5]。7+3方案的主要应用是诱导治疗，目的是实现完全缓解（CR）。几十年来，实现CR一直被认为是实现长期生存[6]的必要条件。20世纪80年代早期的关键研究表明，长期生存需要给予缓解后治疗，包括高剂量化疗、自体造血干细胞移植（ASCT）、异体造血干细胞移植（allo-SCT）或长期维持治疗[7]。50多年来，AML的长期生存率显著增加，特别是在较年轻的个体[8]中（图1）。

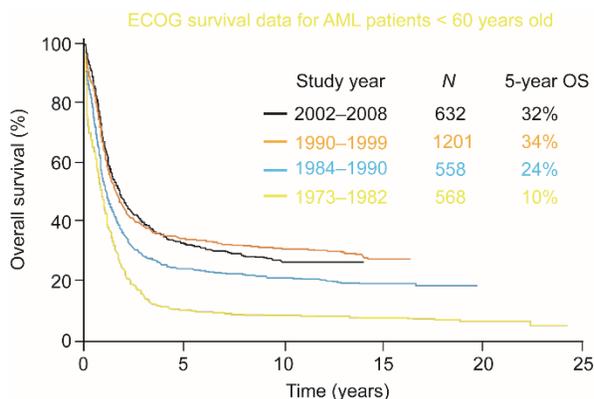


图1. 60年内新诊断的AML患者的长期生存率。数据来自东部肿瘤协作组织（ECOG）的连续研究，并更新自参考文献[8]。N：患者数量；OS：总生存率。

第一个成功的AML靶向治疗是通过识别全反式维甲酸（ATRA）而实现的，该维甲酸直接与维甲酸受体（RAR）融合，现在这是急性早幼粒细胞白血病（APL）的治疗标准。这种治疗将一种先前高度侵袭性的AML转化为AML的一种亚型，可治愈70%以上的患者[9]。随之而来的进一步发现是使用甲磺酸伊马替尼治疗费城染色体阳性慢性髓细胞白血病（CML），该药物被用作BCR-ABL致癌基因的独特靶点，将高恶性疾病转化为允许几乎所有患者的长期生存[10]。

令人遗憾的是，其他髓细胞白血病靶向药物并没有获得像ATRA和伊马替尼那样的显著成功。这两种药物都针对由单一驱动突变驱动的疾病，t(15;17)驱动的APL和t(9;22)驱动的CML。大多数AML亚型有多种驱动突变，使得特定的靶向治疗变得更难，不太可能像单一治疗那样有效。

AML最重要的靶向药物之一是维奈托克，它附着在Bcl-2蛋白上。维奈托克最初被批准用于治疗慢性淋巴细胞白血病，并很快被发现是治疗AML最有效的药物之一；现在它已被纳入护理标准，特别是对于新诊断为AML的老年患者，前提是给予阿糖胞苷[11]或低剂量阿糖胞苷[12]。同样令人感兴趣的是最近批准的异柠檬酸脱氢酶抑制剂（IDH）。在15%~18%的AML患者中发现了IDH突

变。IDH1（艾伏尼布）和IDH2（恩西地平）已被证明是治疗晚期AML[13–14]的高效药物。Hedgehog信号通路抑制剂格拉吉布，最近也被批准与阿糖胞苷联合用于新诊断为AML的老年患者[15]。

随着几种具有特异性作用的激酶抑制剂的发现，其中一类最重要的抑制剂也从中脱颖而出，它们可以特异性地或更广泛地作用于激活突变的FMS样酪氨酸激酶3（FLT3）的突变形式。由于这些突变很常见且是AML中最早出现的分子异常之一，因此正在以这类患者群体作为目标进行重点研究。几种具有不同特异性的药物正在临床使用，且目前正在进行临床观察。AML中FLT3突变的频率刺激了对一些酪氨酸激酶抑制剂（TKI）的研究，以试图中断FLT3驱动的致癌信号。米哚妥林是第一代靶向FLT3的抑制剂，在沉寂40年后，成为近期被批准用于治疗AML的9种新药物中的第一种[16]。因此，我们选择这组FLT3抑制剂作为AML靶向治疗的范例进行讨论，它们代表了从单个小型试验到广泛的多机构国际试验和临床应用等多个阶段。我们将详细讨论所有阶段的治疗，包括化疗后和异体移植后的诱导、巩固和维持。我们将考虑这些抑制剂对AML预后的影响，并将在本文中详细讨论所使用的多种药物，及强调它们的临床应用。

2. FLT3抑制剂

随着抗肿瘤治疗变得越来越有选择性，任何公认的突变都被作为治疗的潜在靶点进行严格研究。20世纪90年代中期，首次在AML患者中发现跨膜酪氨酸激酶FLT3的激活突变[17]。随后的研究表明，约三分之一的AML患者都存在这种突变，使其成为该疾病中最普遍的基因改变之一[18–21]。

FLT3是一种酪氨酸激酶受体，KIT和血小板源性生长因子受体（PDGFR）[22]也是如此。它位于染色体13q12上，具有细胞外区域、近膜结构域（JM）和酪氨酸激酶结构域（TKD）。该受体在正常造血干细胞上表达，并在干细胞的增殖、分化和存活中发挥重要作用。与其他酪氨酸激酶受体一样，FLT3受体的突变会通过自磷酸化导致激酶的结构性激活以及多个下游信号通路的激活。这会导致细胞快速增殖并减少细胞凋亡[23–24]。AML患者中已经发现了两种不同的FLT3突变：第一种是在JM中发现的内部串联重复（ITD）突变，被称为FLT3-ITD突变；第二种是TKD内的错义点突变，被称为FLT3-TKD突变[25]（图2）。更普遍的突变是FLT3-ITD突变，约25%的新诊断AML患者存在这种突变；相比之下，约有7%~

10%的AML患者存在*FLT3*-TKD突变。这两种突变都导致了*FLT3*激酶的固有活性，但只有*FLT3*-ITD被证明是一种具有明确预后影响的驱动突变[26]。*FLT3*-ITD很快被证明与AML患者的快速复发和较短的总生存期相关，特别是在那些等位基因负担较高的患者中，根据研究，其被任意定义为突变体与野生型的比值大于0.51~0.78 [18,27]。*FLT3*-TKD突变的含义尚未完全阐明，尽管一些研究显示其与临床结果存在微弱相关性，但其他研究则没有显示相同结果[28]。

在诊断*FLT3*-ITD突变时，强烈推荐进行常规检测[29]，现在这已成为标准做法。克隆进化是AML的一个重要概念，可以理解为在疾病的进展中可能会发生新的突变。*FLT3*突变没有什么不同，且也被证明在复发时会出现，表明有必要进行重复检测[18]。此外，在复发的AML中*FLT3*-ITD突变将显著增加，这表明，该突变为克隆提供了直接或间接的选择性优势[18]。关于*FLT3*-ITD在AML中的预后重要性的证据不断积累，因而人们对其治疗的潜力产生了兴趣[30]。*FLT3*的ITD突变已在研究中被证实为治疗AML [31]的治疗靶点。

重要的是要认识到，*FLT3*-ITD突变的检测必须结合实际背景进行解释。如前所述，一些研究报道，高等位基

因负担导致复发的风险较高[26,32–33]，且长期生存率较低（图3）。由于英国医学研究委员会的一项大型研究尚未确定与复发风险相关的特异性等位基因比率截断值[34–35]，因此构成高等位基因负担的因素还远未确定。*FLT3*-ITD突变[36–37]的长度和插入位点[38]也可能具有预后意义。在过去的10年中，基因和突变之间的相互作用一直被强调为AML [39]预后的关键。因此，*FLT3*-ITD突变的突变负担的重要性不能与其他同时发生的突变分开。几组有说服力的数据表明，低等位基因比例*FLT3*-ITD的相对良好的预后只有在突变核磷蛋白（NPM）存在的情况下能够观察到，该蛋白由*NPM1*基因编码（图4）[40–41]。这一发现已被广泛接受，如欧洲白血病网对AML的预后分类（图5）[29]。由于*FLT3*-ITD和*NPM1* [42]共发生的相对频率（图6），这一发现在AML的管理中具有实际意义，并对缓解后策略[29]有特殊的影响。

一旦确定了*FLT3*在AML中的预后影响，开发阻断*FLT3*的酪氨酸激酶抑制剂就成为合理的治疗概念。*FLT3*抑制剂可以通过多种方式进行分类。首先，它们被分类为第一代或第二代。第一代*FLT3*抑制剂包括米哚妥林、舒尼替尼、索拉非尼、来他替尼和普纳替尼，而第二代抑制剂是克萊拉尼、奎扎替尼和吉列替尼。在大多数情

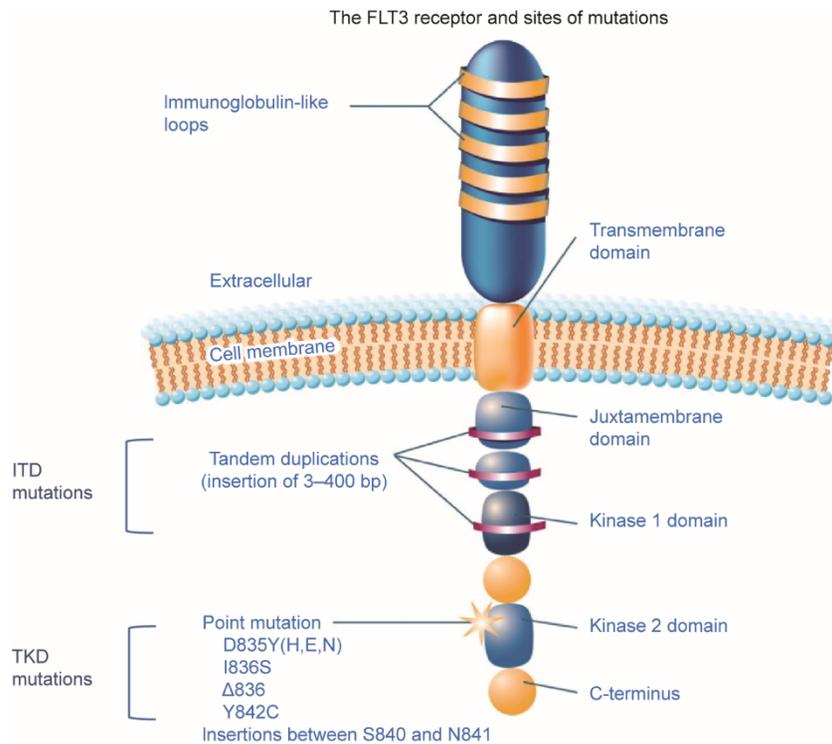


图2. 具有最常见的突变或改变位点的*FLT3*受体示意图。D835Y(H, E, N)表示密码子835处取代天冬氨酸的酪氨酸(Y)、组氨酸(H)、谷氨酸(E)或天冬酰胺(N); i836S表示密码子836处丝氨酸取代异亮氨酸; Δ836表示三个碱基对的突变(影响密码子836); Y842C表示密码子842处半胱氨酸取代酪氨酸。经 John Wiley and Sons 许可, ©2011, 转载自参考文献[25]。

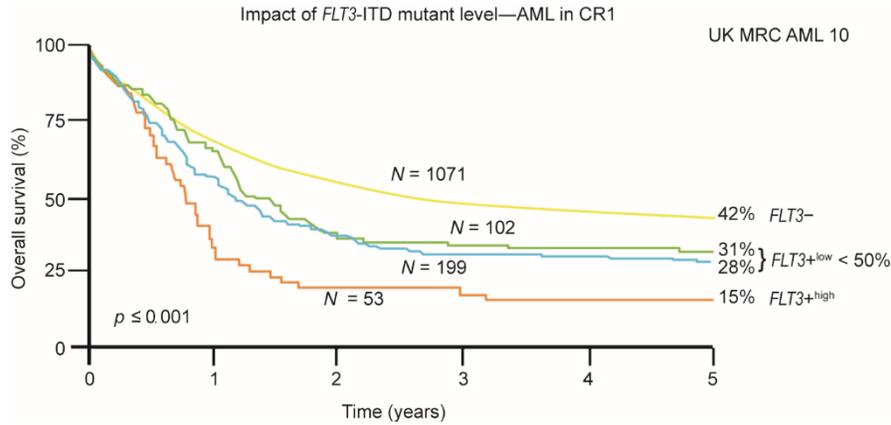


图3. UKMRCAML10 研究的结果清楚地显示了 FLT3 等位基因负担对 AML 长期生存的影响。绿线和蓝线分别对应编码基因 *NPM1* 突变的核磷脂素 (NPM) 的存在或不存在。CR1: 第一次完全缓解。FLT3^{low} 和 FLT3^{high} 分别定义为“低等位基因比”(小于 50%) 和“高等位基因比”(大于 50%)。经 Elsevier 许可, ©2008, 转载自参考文献[33]。

况下, 第一代抑制剂被认为特异性更低, 与第二代抑制剂相比, 其具有多个靶点和更广泛的活性谱, 但情况并非总是如此[18–20]。由于第一代抑制剂具有更广泛的潜在靶点, 因此假设它们具有更高的毒性。第二代抑制剂具有较低的半最大抑制浓度 (IC₅₀), 并可能有较少的副作用。

根据它们与 FLT3 受体的 TKD 区域结合的方式, FLT3 抑制剂也可以被分类为 I 型或 II 型酪氨酸激酶抑制剂。I 型抑制剂同时结合激酶的活性和非活性构象, 但对活性三磷酸腺苷 (ATP) 结合区域有更高的亲和力, 而 II 型抑制剂只与非活性形式结合[43]。II 型抑制剂适合于靠近 ATP 结合区域的“后口袋”, 其只有当酶处于非活性状态时才可用。II 型抑制剂特异性更强, 这是由于与活性形式相似的蛋白质结构相比, 激酶之间的非活性构象更具独特性。上述的错义 TKD 突变最常发生在激活环天冬氨酸[19,21,24,44]残基的单个氨基酸交换上。分子分析表明, D835 突变稳定了 FLT3 的“活性”构象。由于 II 型抑制剂对“非活性”构象具有特异性, D835 突变的发生导致对大多数 II 型抑制剂的耐药性, 我们将在后文进行更详细的讨论。然而, II 型抑制剂之间似乎存在临床差异性, 这表明 D835 突变之间的耐药性并不一致。临床研究报告显示 D835 突变并不总是存在, 尽管已经有人认为, 在 II 型抑制剂的情况下, 该突变可能会降低临床疗效, 更具体地说, 限制反应持续时间。还需注意, D835 突变正被认为是一种获得性耐药机制, 这可能与先前服用 FLT3 抑制剂有关。

在回顾不同的 FLT3 抑制剂时, 另一个需要考虑的问题是, 在治疗过程中, 抑制剂被认为是有效的。正如我们将进一步阐明的, 目前正在检测一些 FLT3 抑制剂在新诊断的 AML 患者中的作用, 而其他抑制剂正在被考虑用于复发疾病或维持治疗。在异体造血干细胞移植之后, 还对它们的使用进行具体讨论。

3. 诱导治疗

FLT3 已知的第一个抑制剂米哚妥林的故事始于目前仍在开发的选择性蛋白激酶 C (PKC) 抑制剂[30]。米哚妥林 (最初被称为 CGP41251 或 PKP412) 来源于星形孢菌素, 这是一种有效的 PKC 活性抑制剂[45–46]。虽然该化合物确实对 PKC 表现出一定的活性, 但人们很快发现 *N*-苯甲酰-星形孢菌素衍生物也抑制了其他一些重要的蛋白激酶。因此, 随后的研究表明, 它也是一种有效的血管内皮生长因子受体激酶的抑制剂, 使米哚妥林能够抑制血管生成。进一步研究表明, 米哚妥林对 AML 中 FLT3 的突变形式[47]以及晚期系统性肥大细胞增多症 (SM) 中 KIT 原癌基因受体激酶 (KIT) 突变具有抑制作用。人们很快发现, 米哚妥林是一种多激酶抑制剂, 具有广泛的激酶抑制特性, 对血液系统恶性肿瘤具有特殊意义, 因为它可以抑制引起白血病的几种重要激酶[48]。对激活 KIT D816 突变的 SM 患者的影响已被证明具有临床相关性, 而米哚妥林作为单一治疗也已被确定为该类人群[49]的一线治疗方法。

关于伴有 FLT3 突变的 AML, 来自体外和动物模型研究以及临床前和早期临床试验的证据清楚地表明, 米哚妥林对 FLT3-ITD 和 FLT3-TKD 突变体[50]均能抑制活性。米哚妥林似乎能降低 FLT3 的自磷酸化, 并拮抗下游信号转导。在比较该分子对野生型 FLT3 和突变型 FLT3 的活性的研究中, 米哚妥林对 FLT3 突变体 (ITD 和 TKD) 的选择性抑制作用比野生型高 10 倍。而已经确定的两种主要代谢物也对 FLT3 表现出抑制活性。该化合物口服后, 吸收迅速, 普遍耐受性良好, 最常见的不良反应是胃肠道 (GI) 和血液学疾病, 且两者均症状轻微。

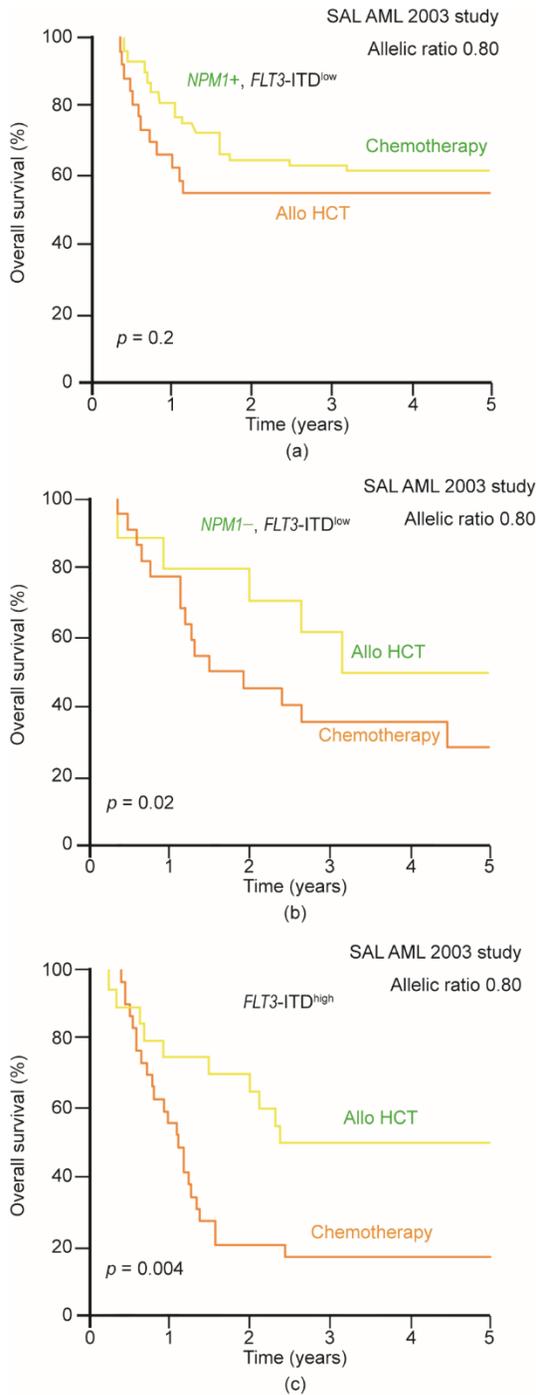


图 4. *FLT3-ITD* 突变与 *NPM1* 在 AML 缓解后治疗中的相互作用。(a) 在 *NPM1+* *FLT3-ITD*^{low} 中，化疗和异体移植之间的总生存率没有差异。(b) 在一些人群中，如果 *NPM1* 为阴性，移植和化疗的总体结果都明显更差。(c) 在 *FLT3-ITD*^{high} 中，无论 *NPM1* 状态如何，化疗的结果都很糟糕。AlloHCT: 异体造血细胞移植。经 Elsevier 许可，© 2016，转载自参考文献[40]。

对 *FLT3* 突变体复发/难治性 (R/R) AML 患者的临床前研究已经清楚地证明了米哚妥林在减少血液和骨髓母细胞方面的生物活性。值得注意的是，在非突变患者中也有一定程度的爆减，尽管程度较小。然而，人们很快就发现

2017 ELN risk stratification by genetics

Favorable: *t*(8;21) *inv* 16
NPM1+FLT3-ITD⁻ *α-FLT3-ITD*^{low}
 Biallelic *CEBPA*⁺

Intermediate: *NPM1+FLT3-ITD*⁺
NPM1⁻
t(9;11)(p21.3; q23.3) – MLL
 Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse

Adverse: *t*(6;9)(p23; q34.1)
t(v; 11q23.3)
t(9;22)
inv(3) *t*(3;3)
 -5; -7; -17/abn(17p)
 Complex karyotype; monosomal karyotype
NPM1-FLT3-ITD⁺
 Mutated *RUNX1*, *ASXL1*, or *TP53*

图 5. AML 的遗传学预后分层。CEBPA: CCAAT 增强子结合蛋白 α; MLL: 混合性白血病; *inv*: 倒位; *abn*: 异常。数据来自欧洲白血病网 (ELN) 的一个专家小组; 请注意，具有 *NPM1* 突变的 *FLT3-ITD*^{low} 被认为是“有利的” [29]。

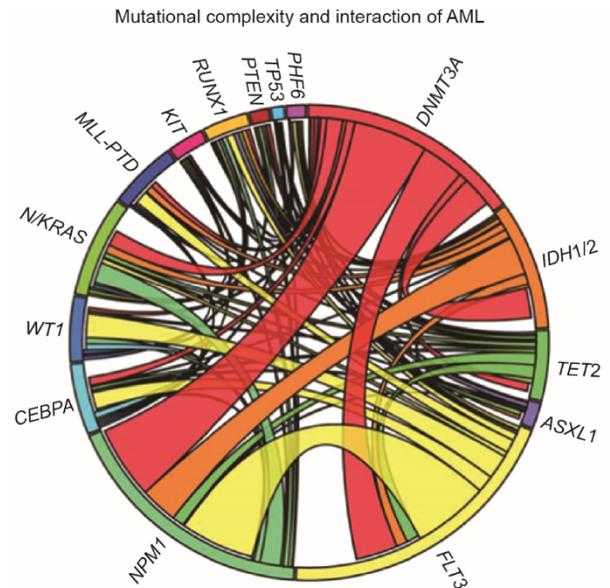


图 6. Circos 图描述了纳入 ECOG1900 临床试验的新诊断 AML 患者突变的相对频率和成对共现情况。弧的长度对应第一个基因的突变频率，带的宽度对应第二个基因突变的患者百分比。在这种情况下，AML 中最常见的两种突变——*FLT3* 发生在 37% 的患者中，而 *NPM1* 发生在 29% 的患者中，且有一组患者同时存在这两种突变。经马萨诸塞州医学协会许可，© 2012，转载自参考文献[42]。

将米哚妥林作为单一药物是不够的，而且在所有 [51–52] 研究组中都很少有完全缓解。研究人员没有继续研究米哚妥林在 R/R 疾病中的潜在作用，而是提出了一个假设，即对于这种非特异性抑制剂，为避免耐药性机制的进化，测试其药物效率的最佳环境是在新诊断的患者身上。因此，研究人员开始测试通过将米哚妥林与标准的细胞毒性化疗结合作为一线治疗来提高其已证明的生物活性的概念。

米哚妥林在 AML 中的研究是 AML 新药概念开发的一个里程碑 (图 7)。在此之前的几十年，最流行的概念是

在通常为复发或难治性的疾病晚期测试一种药物。当该药物在疾病晚期被证明有效时，它通常会被提出并作为一线治疗方法进行测试。米哌妥林的发展涉及一个关键的战略再思考：在一种药物显示出活性的前提下（如骨髓中母细胞的减少），就算缺乏有意义的临床反应，也不应该妨碍药物的开发或得出药物不具有活性的结论。许多活性药物都因为在疾病晚期存在多种耐药性机制时未能产生临床效果而被“雪藏”了。幸运的是，在这种情况下，这种前所未有的战略思维需要国际共识，而假设如果有任何药物在晚期存在任何生物活性，这样的药物（考虑到其明显的低毒性）很可能成为AML中有不良预后因素（如*FLT3*突变）患者的辅助治疗的基础。这种历史性的思维重组现在已经推进到好几个发展领域，包括治疗急性白血病以及其他疾病的药物。

癌症和白血病B组（CALGB）10603/RATIFY研究[53]是一项国际、随机、安慰剂对照的III期临床试验，该

试验在17个国家的225个地点进行，旨在对*FLT3*突变AML患者在标准诱导和巩固治疗中添加米哌妥林进行研究。这项具有里程碑意义的研究为将*FLT3*抑制剂纳入新诊断的AML患者的护理标准提供了概念证明[图7（a）]。

在长达三年广泛的学术、政府和行业合作中，超过3000名60岁以下的新诊断成年患者接受了*FLT3*突变ITD或TKD筛查。其中，717名符合条件的患者被选定并进行了随机分组。根据确定的*FLT3*突变类型对患者进行分层：*FLT3*-TKD（被认为预后良好）、具有高等位基因与野生型比例的*FLT3*-ITD（被认为预后较差）以及具有低等位基因比例的*FLT3*-ITD（该亚型的预后意义仍不确定）。主要终点是总生存期（OS），而非移植审查。米哌妥林组接受标准的7+3诱导（柔红霉素和阿糖胞苷）和巩固治疗（高剂量阿糖胞苷），并使用米哌妥林维持12个月。安慰剂组接受相同的标准诱导和巩固，并使用安慰剂维持（图8）。

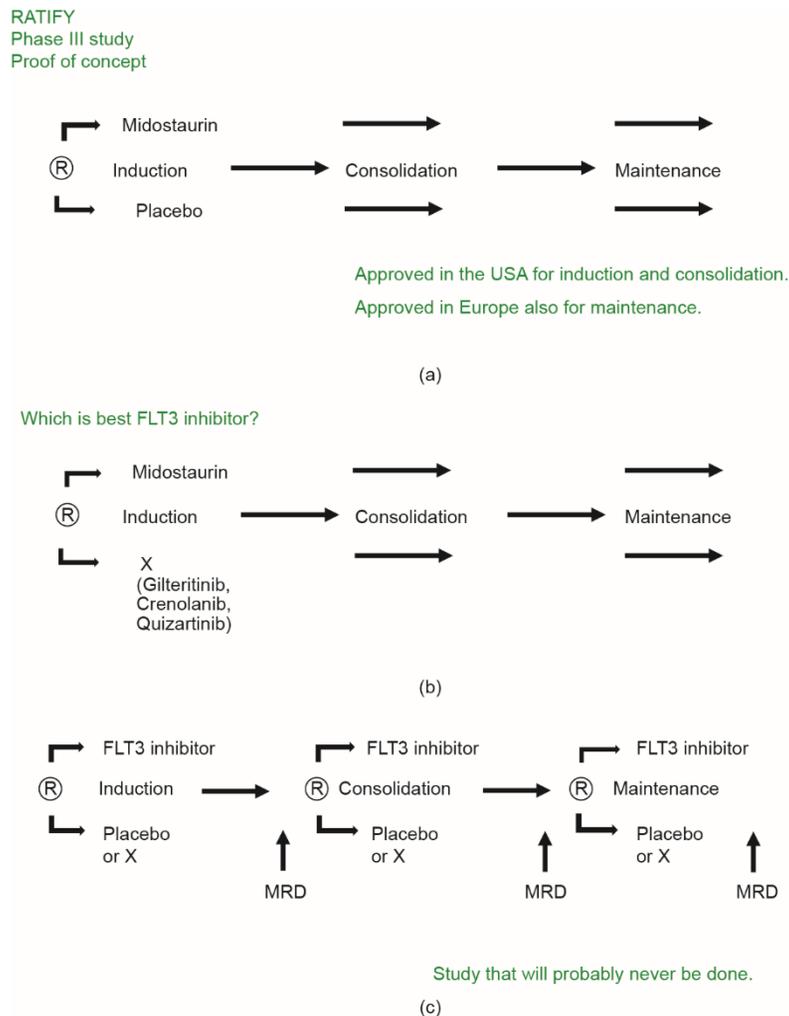


图7. *FLT3*抑制剂作为新诊断伴有*FLT3*突变的AML患者标准治疗的辅助治疗的开发阶段。(a) RATIFY研究（使用米哌妥林）；(b) 比较米哌妥林及其他抑制剂的研究；(c) 在AML治疗的每一步使用*FLT3*抑制剂和单独的安慰剂对照随机化的理想研究。MRD：最小残留疾病。Ⓡ：随机化。

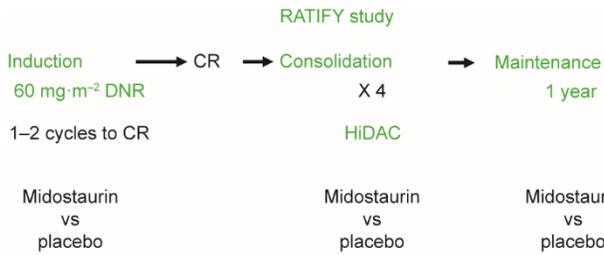


图8. RATIFY研究的大纲。DNR: 柔红霉素; CR: 完全缓解; HiDAC: 大剂量阿糖胞苷。

研究结果显示, 与安慰剂组相比, 米哌妥林组的OS明显更长[风险比 (HR) = 0.78, $p = 0.009$]。在所有亚型中, 米哌妥林组的无事件生存期和无病生存期均有显著改善(图9)。两组患者的完全缓解率无差异(图10), 而需要注意的是没有关于两组患者实现最小残留疾病的数据。米哌妥林在所有 $FLT3$ 突变亚型中均有益处, 两组间严重不良事件无差异。

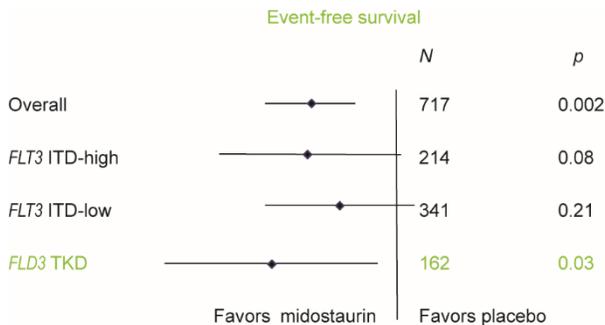


图9. 在RATIFY研究的所有组中提高了米哌妥林的无事件生存率, 如森林图所示。

| Complete response rates | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------------------|------|
| | Midostaurin (N = 360) | Placebo (N = 397) | p |
| CR by day 60 | 59% | 53% | 0.15 |
| Median time to CR | 35 days (20-60) | 35 days (20-60) | |

图10. 在RATIFY研究中, 米哌妥林组和安慰剂组之间的完全缓解率无显著差异。

在这项具有里程碑意义的研究发表后不久, 米哌妥林被美国食品和药物管理局(FDA)批准用于伴有 $FLT3$ 突变的AML成人患者的一线治疗, 作为阿糖胞苷和柔红霉素标准7+3诱导方案的辅助用药[50]; 因此, 它成为第一个用于AML的靶向治疗。

RATIFY研究的结果被认为是关键的; 一些学者将这项研究称为一种范式的转变, 因为它导致了第一个AML靶向治疗方法的出现。以下几点值得一提。首先, 研究发现, 所有亚型似乎都受益于米哌妥林, 包括被认为更良性

的 $FLT3$ -TKD亚型, 这提出了一个关于米哌妥林作用机制的问题。早期的临床试验表明, 该化合物对非突变的 $FLT3$ AML具有明显的生物活性, 这表明至少其部分作用可能是由于对其他激酶的抑制, 以及对 $FLT3$ 突变的抑制。事实上, 西班牙PETHEMA组正在进行一项研究, 评估II型 $FLT3$ 抑制剂奎扎替尼在伴有野生型 $FLT3$ 的AML中的作用, 而另外一项类似的研究则使用了米哌妥林(NCT 04107727和NCT 0351297)。同样需要注意的是, 生存曲线在治疗早期就是分离的, 并在治疗后保持基本平行, 这表明大部分的治疗益处是在治疗开始时实现的。有趣的是, 药物代谢动力学研究同样表明, 药物水平在治疗的前几周内达到最高水平。随后数据分析的另一项发现表明, 在RATIFY研究中, 在第一次完全缓解(CR1)期间接受异体移植的患者比未接受移植的患者从米哌妥林中获益更多。

FDA尚未批准将米哌妥林用于诱导和巩固以外的维持, 尽管它在欧洲已被批准用于单药维持治疗[54]。在最初的RATIFY研究中, 米哌妥林组的维持治疗被设计为持续12个月, 但超过一半的患者(略超过预期)在首次缓解后继续进行异体移植, 因此, 按照方案, 他们没有接受维持治疗。对RATIFY研究的一项事后分析显示, 该研究无法证明维持治疗对总体结果有任何好处[55]。关于这个问题有待进一步的研究[56]。

在RATIFY研究发表后, 大型III期随机研究目前正在对RATIFY研究中使用的米哌妥林以及两种更具特异性的 $FLT3$ 抑制剂吉瑞替尼和克莱拉尼(分别为NCT 04027309和NCT 03258931)进行精确比较[图7(b)]。

鉴于在RATIFY研究中缺乏MRD数据, 一个尚未解决的基本问题是AML治疗的精确点, 其中 $FLT3$ 抑制剂是最关键的。如果一种抑制剂在诱导中是活跃的, 那么在巩固以及维持治疗中进一步暴露的重要性如何? 虽然一些正在进行的随机研究正在调查维持治疗(如吉列替尼的安慰剂对照研究, NCT 02927262), 但理想的研究是在AML治疗的每个步骤: 诱导、巩固和维持时, 使用 $FLT3$ 抑制剂和单独的安慰剂对照随机分组[图7(c)]。尽管这样的临床试验在发展的早期阶段是理想的, 但考虑到目前在整个AML治疗中对 $FLT3$ 抑制剂的广泛使用和信任, 这样的研究不太可能进行。

4. 复发/难治性急性髓系白血病

4.1. 吉瑞替尼

吉瑞替尼(ASP2215, Xospata)是AXL的抑制剂,

AXL是一种小分子酪氨酸激酶受体,对AML中 $FLT3$ -ITD的生长至关重要[57]。ADMIRAL研究是评估吉瑞替尼与标准化疗相比用于治疗晚期 $FLT3$ 突变AML的关键试验。研究数据无可置疑地将吉瑞替尼置于R/R $FLT3$ 突变型AML治疗的前沿[58]。

这项大型国际III期临床试验招募了18岁以上的成年人,他们要么在标准治疗完全缓解后AML复发,要么诱导治疗无效。 $FLT3$ -ITD或TKD突变的患者被随机分为两组:一组接受吉替尼单药治疗;另一组接受研究者预先选择的标准挽救性化疗方案。两组中约有五分之一的患者之前曾接受过异基因造血细胞移植。主要终点是总生存期和完全或复合缓解率。该研究报道了吉瑞替尼组的优越OS(9.3个月 vs. 5.6个月; $p < 0.001$)。该研究的结论是,与挽救性化疗相比,吉瑞替尼组具有更高的应答率和更长的生存时间。吉瑞替尼单药治疗法目前在欧洲和美国被批准用于复发/难治性 $FLT3$ 突变的急性髓系白血病[18]。最新的数据分析报告显示,更多接受吉瑞替尼治疗的患者实现了CR或复合CR,并且有越来越多的患者能够进行异基因造血细胞移植[58]。

此处详细描述ADMIRAL研究代表了AML的 $FLT3$ 抑制剂开发的另外一个里程碑。在来他替尼、索拉非尼、舒尼替尼和米喹妥林[51,59–61]此前于晚期疾病试验中未能取得有意义的临床反应后,科研人员又踏上了以第二代 $FLT3$ 抑制剂作为单药治疗法的III期研究的征程。虽然我们有可能将该药物作为单一药剂来使用以有力证明其药物活性,从而获得监管部门的批准[图11(a)],但在实践

中,至少对于年轻人而言,它很可能被用作其他有效化疗方案的辅助药物。此类临床试验可能很快就会进行[图11(b)],特别是在禁止超说明书用药的国家。值得注意的是,一项对首次复发的 $FLT3$ 突变AML患者进行化疗后使用来他替尼的大范围随机试验表明,其应答率并未增加。然而,该实验中只有一小部分患者实现了 $FLT3$ 的持续抑制[62]。

ADMIRAL研究的结果提供了其他令人感兴趣的可能性。如果吉瑞替尼在单药治疗的情况下可以提高疾病晚期患者的存活率,那么它对新生AML是否也不太可能有效?特别令人感兴趣的是患有 $FLT3$ 突变的AML的老年患者的临床情况,他们不适合接受强化化疗。那么相对基于维奈托克(venetoclax)的治疗方案或作为其辅助治疗方案而言,具有低毒性的吉瑞替尼是否应当被当作是首选治疗方案?这类研究可能会在不久的将来进行。

4.2. 克莱拉尼和奎扎替尼

克莱拉尼(Crenolanib)对 $FLT3$ -ITD和 $FLT3$ -TKD均具有抑制活性。它还显示出对PDGFR的抑制作用。在复发/难治性疾病患者的几项II期研究中,研究者对 $FLT3$ 突变型AML患者使用了克莱拉尼并获得了令人振奋的数据结果。一项针对38名患者的小型研究评估了克莱拉尼使用效果,结果表明,在对 $FLT3$ 抑制剂不敏感的患者中,完全缓解伴血液学不完全恢复(CR_i)率为23% [63]。在另一项针对类似患者群体中的69名患者进行的更大规模的研究中,其CR_i为39%。特别具有生物学和临床意义的是,先前接受过 $FLT3$ 抑制剂治疗的患者也出现了显著的

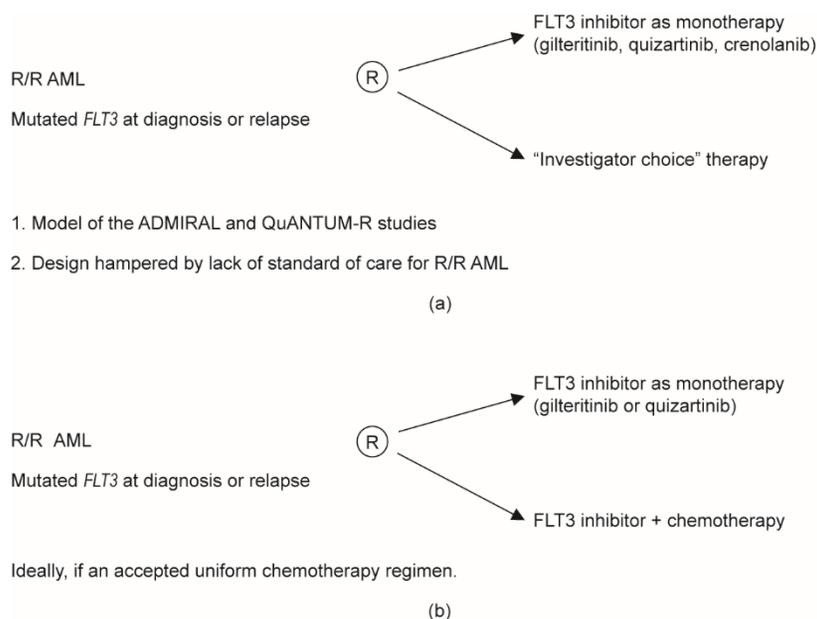


图11. 复发/难治性AML中第二代 $FLT3$ 抑制剂的发展阶段。(a)将药物作为单一药剂使用;(b)作为其他有效化疗方案的辅助药物的使用。

反应[64]。该药物还未获得FDA的批准，但已经获得欧洲药品管理局（EMA）的批准。对新诊断的*FLT3*突变AML患者进行诱导和巩固治疗后，克萊拉尼与米哌妥林的对比III期研究正在进行中（NCT 02668653）。如果结果是阳性的，本研究可能会进一步改善新诊断的*FLT3*突变AML的治疗效果。

奎扎替尼（Quizartinib）是*FLT3*-ITD的有效选择性抑制剂，但它对*FLT3*-TKD则不具上述效果[65–67]。据应用于复发/难治性AML的几项奎扎替尼I期和II期研究报告称，*FLT3*-ITD突变型的AML应答率大于50% [68]。QT间期延长（从QRS波复合物开始到T波结束）是一种明显的毒性反应。奎扎替尼的主要研究之一是QuANTUM-R研究，这是一项在19个国家进行的随机III期试验，受试者为接收标准治疗后的18岁或18岁以上的复发/难治性*FLT3*-ITD型AML患者。与ADMIRAL研究类似，患者被随机分配到奎扎替尼组或由研究者预先选择的化疗方案组。在奎扎替尼组的患者中，有23%的患者曾经接受过异基因造血细胞移植治疗，而化疗组为22%。其主要终点是总生存期。本研究覆盖了367名患者，其中245名患者被随机分配到奎扎替尼组，122名患者被分配到化疗组。奎扎替尼组的OS中位数为6.2个月，化疗组则为4.7个月（ $p = 0.02$ ）。除了奎扎替尼组QT间期延长以外，两组的主要毒性反应都是骨髓抑制治疗后观测到的典型毒性反应。奎扎替尼组与化疗组的死亡率分别为33%和17%。奎扎替尼显然为晚期*FLT3*突变AML的治疗提供了一种新的选择。其对*FLT3*-ITD所表现出的选择性令人振奋，同时，这也解释了所有早期研究中观测到的有效性[68]。

尽管研究结果表明，服用奎扎替尼的患者OS有所改善，但药物的不良反应给该研究带来了不可避免的局限性，因此奎扎替尼的总体有效性一直未能令人信服地得到证实。因此，EMA拒绝对其进行销售授权，根据肿瘤药物咨询委员会（ODAC）的建议，美国FDA也拒绝对其进行授权。在ODAC会议之前，FDA对药物疗效进行了分析，并确定奎扎替尼组的OS中位数为26.9周，化疗组的OS中位数为20.4周（ $p = 0.019$ ）。尽管这一分析证实了奎扎替尼的优势，但仍存在一些问题。其中，部分患者被随机分配但随后并未得到治疗，这部分患者的数量和患者在研究治疗停止后所接受的后续治疗的异质性都会对OS终点的准确评估产生不利影响。鉴于QuANTUM-R和ADMIRAL研究的普遍相似性，许多临床医生对不同的裁决结果提出了质疑，这两项研究都是在复发/难治性AML这一护理标准尚未建立的困难患者群体中进行的。相比之下，日本厚生劳动省（MHLW）在审核QuANTUM-R研

究数据后，批准使用奎扎替尼治疗复发/难治性*FLT3*-ITD型AML成人患者。

5. 其他*FLT3*抑制剂

5.1. 索拉非尼

在诸多AML前沿治疗方案中，值得考虑的另一种多激酶抑制剂是索拉非尼（Sorafenib）。与米哌妥林的情况一样，索拉非尼最初并非是为阻断*FLT3*激酶而制的。经证明，该化合物可以对在细胞增殖、分裂以及白血病发生中起作用的几种激酶产生抑制作用，如RAS/RAF、KIT、PDGF和血管内皮生长因子（VEGF）受体以及*FLT3*等。目前，索拉非尼已被批准用于治疗肾细胞癌和肝细胞癌[69]。通过其对*FLT3*突变的潜在抑制作用，该药物对AML具有一定疗效，但该作用效果也可能来源于其对RAS/RAF信号级联的已知干扰[70]。早在2004年，索拉非尼就对发生*FLT3*突变的人和小鼠细胞系显示出体外抑制活性，并开始AML患者中进行临床试验[71–72]。

一项I/II期试验测试了索拉非尼联合诱导治疗（本例为阿糖胞苷和伊达比星）的耐受性与疗效[73–74]。该研究的结果表明，该药品的应答率普遍很高，尤其是在*FLT3*-ITD型突变患者当中；然而，在长期随访中，大多数患者的疾病均复发。该药物总体而言耐受性良好；其不良反应包括胃肠道毒性、感染以及少数手足综合征。

由白血病研究联盟（Study Alliance Leukemia, SAL）小组率先开展的索拉非尼随机安慰剂对照试验是在60岁以上新诊断AML患者中进行的[75]。在该项研究中，索拉非尼在标准7+3诱导化疗后第三天给药，并持续给药至下一个化疗疗程前三天。结果该研究不仅表现出了更多的不良反应，而且没能表现出应有的疗效。然而，据悉没有并发症的年轻患者可能会对额外的药物治疗有更好的耐受性。因此，随后设计的SORAML试验只招募了既往健康的60岁以下成年AML患者，以及没有*FLT3*突变的患者[76]。这是一项随机、双盲、安慰剂对照的II期试验，在德国的276名患者中进行。事实上，对于这一年轻人群，研究结果确实证明，在标准诱导疗法中添加索拉非尼可提升疗效。研究的主要终点是中位无事件生存率（event free survival, EFS）（图12 [76]），三年后，索拉非尼组的EFS为40%，安慰剂组为22%（HR=0.65， $p = 0.012$ ）。索拉非尼组的无复发生存期（RFS）也显著延长。两组患者的OS没有显著差异，可能是因为研究中的患者数量相对较少，因此未能使得OS表现出显著差异。在一项重要的5年随访分析[77]中，OS的差异更为明显，索拉非尼组的

OS高出8%，但该差异未达到统计显著性。一项对46例*FLT3*-ITD型突变患者进行的探索性分析表明，索拉非尼组与安慰剂组相比，其OS和RFS均有所改善，尽管也未达到统计显著性。值得注意的是，即使将*FLT3*突变患者从分析中剔除，EFS仍然显著，这表明索拉非尼在非突变患者中也具有广泛的活性。

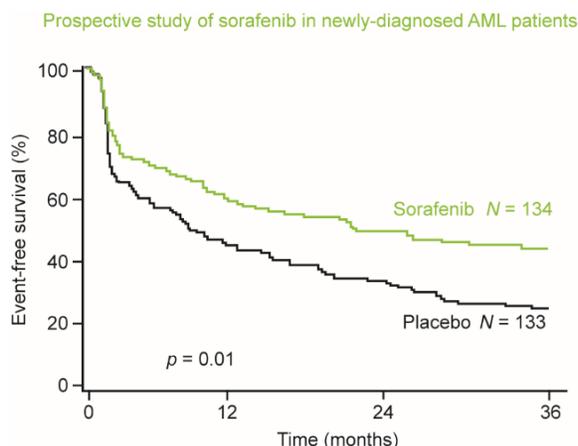


图12. SORAML研究在新诊断的AML患者中对索拉非尼与安慰剂进行了比较。经Elsevier Ltd.许可, ©2015, 转载自参考文献[76]。

澳大利亚白血病和淋巴瘤研究组(ALLG)最近对索拉非尼与安慰剂联合标准化疗进行了一项双盲研究,其结果显示EFS或OS未能得到显著改善[78]。

5.2. 舒尼替尼

舒尼替尼(Sunitinib)是另一个例子,该小分子最初被认为是PDGFR、VEGFR和KIT受体的有效抑制剂。随后,它被鉴定为*FLT3*抑制剂,并被证明能降低野生型和突变型激酶变体的磷酸化[79]。一项I期试验显示出了该药物适中的单药抗白血病活性[61]。随后,一项I/II期试验对舒尼替尼联合标准诱导疗法治疗新诊断的AML患者的情况进行了研究[80]。在本研究中,50%的*FLT3*-ITD突变患者和38%的*FLT3*-TKD患者实现了CR。其不良反应包括胃肠道毒性、黏膜炎以及疲劳。目前,尚未对该药物展开AML治疗方面的研究。

5.3. 来他替尼

来他替尼(Lestaurtinib)是另一种*FLT3*抑制剂,目前已被研究用于一线AML患者。与米喹妥林和索拉非尼一样,来他替尼是第一代*FLT3*抑制剂[81-82]。该药物在AML15与AML17试验中接受了测试,这两项试验是针对骨髓增生异常综合征(MDS)或新诊断AML患者的大型前瞻性III期多中心试验。总共500名*FLT3*突变患者被随机分成两组,分别在标准诱导的基础上接受来他替尼治疗

或只接受标准诱导治疗。试验连续进行,并对所得数据进行荟萃分析。该研究表明,该药物具有良好的耐受性,但总体上未能表现出临床疗效。来他替尼也被评估为AML患者的前沿治疗方案,主要适用于因为年龄原因难以接受标准强化化疗的患者[83]。在一项II期试验中,研究人员采用来他替尼单药治疗法并给药8周。试验结果仅表现出适中的临床疗效,并且未能实现CR[59]。另一项针对复发性AML患者的随机研究中,在抢救性化疗后添加来他替尼也未能表现出显著疗效[62]。

6. 移植后维持治疗

在AML诱导治疗成功后,除核型良好的患者外,对第一次完全缓解期患者的普遍做法往往是同种异体移植。特别是在*FLT3*-ITD型突变患者中,研究表明,进行该治疗会提高患者的移植后无病生存率[84-85]。然而,移植后维持治疗的概念在所有类型的AML中都存在争议[86-87]。不仅是AML,在其他血液系统疾病中也是一样,除了白血病微小残留病变阳性时,用于费城染色体阳性的急性淋巴细胞白血病的受体酪氨酸激酶抑制剂是个例外[88-89]。考虑到此类患者的免疫抑制状态,我们并不总是十分清楚维持治疗的风险是否大于疗效。另外,当假定肿瘤负荷最低时,我们通常认为移植后的环境条件是独一无二的。此外,从理论上讲,新移植的、未衰竭的免疫系统可能比其他环境更有能力使抗白血病药物发挥最优效果[90]。随着特定*FLT3*-ITD抑制剂的出现,关于移植后维持治疗的争论正被重新点燃。经证明,*FLT3*-ITD的克隆是使疾病复发的一个主要因素,这一事实似乎强调了通过移植后维持治疗以控制突变的潜在可能性。

6.1. 索拉非尼

在此背景下被人们研究的第一个*FLT3*-ITD抑制剂是索拉非尼(Sorafenib)。虽然索拉非尼不是大多数AML研究的首选酪氨酸激酶抑制剂,但关于它的研究进程却颇有独到之处,其中包含了随机研究等,因此我们将在这里进行详细讨论。2014年,一项I期试验在剂量递增试验设计中招募了22名*FLT3*-ITD型突变患者,旨在确定同种异体移植后患者的最大药物耐受剂量[91]。试验招募的患者均为形态学完全缓解且其嵌合体至少有70%来源于供体以及血小板和中性粒细胞计数恢复的患者。根据患者恢复时间的不同,索拉非尼可以在移植后45-120天之间的任何时间按日给药,每天一次,28天为一个周期。这项研究的结果表明,索拉非尼在移植后环境中是安全耐受的,最

大耐受剂量是200~400 mg，每天两次。其毒性主要表现在胃肠道以及皮肤，这在其他研究当中也已有报道。一些患者出现了类似于急性移植物抗宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）的斑疹皮炎，但停药后症状即消失。研究结果似乎表明索拉非尼可以改善患者的总生存期和无进展生存期。随后，研究人员对同一组患者进行了回顾性研究[92]。在这项研究中，鉴定出81名具有*FLT3*-ITD突变的AML患者，他们都在诱导治疗后处于CR1期间时接受了同种异体移植。在这些患者中，26名患者组成了索拉非尼组，他们接受了移植后索拉非尼维持治疗。对照组由移植后未接受索拉非尼治疗的类似患者组成。研究结果显示，索拉非尼组2年OS得以改善（从62%提升至81%），2年无进展生存期（progression-free-survival, PFS）也有所改善（从53%提升至82%），该组2年复发率也相对较低（从37.7%降至8.2%）。给药剂量范围为200~400 mg，可根据需要减少剂量。除两名患者外，其他所有患者都必须在某个时间停止索拉非尼治疗，但大多数患者能够耐受中位数为336天的持续治疗。另一项回顾性研究对27例移植后接受索拉非尼治疗的*FLT3*突变（其中两例为TKD突变，其余为ITD型）的AML患者进行了检验[93]。其1年OS和PFS均为92%；大多数毒性反应轻微，且会随着给药剂量减少而表现为可逆。其他几项研究均报道了类似的结果[94~95]。

随着回顾性研究所取得的积极成果，科研人员又开展了一系列前瞻性试验。Pratz及其同事[89]招募了44名曾接受过异基因干细胞移植（allo-SCT）并检测出*FLT3*-ITD突变阳性的患者，进行诱导/巩固治疗后，索拉非尼在移植前后均给药。开始时，患者每次服用200 mg，每天两次，7天后剂量增加，每当出现3或4级毒性时就减少剂量。肝酶升高是最常见的3或4级毒性表现，血小板减少症也几乎同样常见。大多数患者无法耐受400 mg的剂量。研究人员对试验血样的*FLT3*体外抑制情况进行了分析，其结果以基线*FLT3*磷酸化的百分比表示。值得注意的是，*FLT3*抑制似乎与耐受性所决定的剂量相关，这表明当施用剂量由于毒性反应而减少时，*FLT3*抑制仍然存在。36个月时OS为76%，但无事件生存率仅为64%。有趣的是，索拉非尼治疗后，患者实际出现GVHD的可能性会升高，这意味着治疗效果很可能因此而提升。根据动物研究，理论上人们认为索拉非尼可以在不增加全身GVHD的情况下，通过直接诱导白血病细胞产生白细胞介素（IL）-15来增强移植物抗白血病效应[96]。

需要考虑的另一项研究是SORMAIN试验[97]：一项在德国和奥地利对*FLT3*-ITD型突变的AML患者进行的随

机、双盲、安慰剂对照的II期试验中，这些患者都接受了异体干细胞移植。患者被随机分为安慰剂组和索拉非尼组，分别从移植后的第+30天至+100天开始，接受达24个月的对应治疗。最初的结果很有希望，索拉非尼维持组的2年RFS为85%，安慰剂治疗组则为53.3%。然而，由于仅有83名患者，且进展缓慢，该研究被提前终止。

最近，一项来自中国的研究旨在通过一项开放、随机的III期试验验证这些结果[98]。共有202名新诊断的*FLT3*-ITD型突变的AML患者参与了试验。所有患者均在CR1阶段接受了同种异体移植，造血功能在移植后60天内恢复。患者被随机分为对照组（ $N=102$ ）或索拉非尼组（ $N=100$ ），后者从移植后30~60天开始，到移植后180天为止，一直接受索拉非尼治疗。初始剂量为每次400 mg，每天两次。在移植后接受索拉非尼维持治疗的患者中，1年复发率仅为7%，而对照组为24.5%。2年的复发率也表明索拉非尼组具有优势，对照组复发率为31.6%，而索拉非尼组复发率仅为11.9%。索拉非尼组的OS和无白血病生存期（leukemia-free survival）也有所提高。试验中未出现因治疗而导致的死亡，索拉非尼的耐受性良好。对于过程中的异常症状（特别是皮肤相关症状）、体征或试验结果，有一个独立的研究委员会负责确认其应该归因于GVHD还是索拉非尼治疗。在实验组与对照组之间，患者们的总体不良反应相似。大约60%接受索拉非尼治疗的患者由于毒性反应需要减少剂量，最常见的不良反应主要表现在血液学、皮肤以及胃肠道等方面。其他研究也报道了类似的毒性[99]。因为不是盲测，该试验存在一定的限制；然而，除了证明移植后索拉非尼维持治疗的耐受性外，该试验似乎确实表明该疗法可能有效。

在最近的一项综合评估中，欧洲血液和骨髓移植学会（EBMT）急性白血病工作组发表了关于*FLT3*-ITD突变的AML患者移植的临床实践建议[100]。他们明确主张使用*FLT3*抑制剂进行移植后维持治疗。基于上述研究，他们建议，在缓解后环境中评估其他*FLT3*抑制剂的前瞻性临床试验未有定论之前，将索拉非尼用作当前的首选药物。另外，根据现有数据，实践中索拉非尼似乎是移植后维持治疗最常用的TKI。

6.2. 米哌妥林

人们也对米哌妥林（midostaurin）在移植后治疗中可能发挥的作用进行了评估。在一项名为RADIUS的研究中，一项随机、非盲的II期随机试验招募了60名*FLT3*-ITD突变患者[101]。在这项研究中，一半的患者在异基因造血细胞移植后28~60天内被随机分配接受米哌妥林治

疗。这种治疗持续了12个月，而后研究者又对患者进行了24个月的随访。结果表明，对照组在18个月时的无白血病患者生存率为76%，而被随机分配接受米哌妥林维持治疗组的无白血病患者生存率为89%——该差异无统计学意义。另一项研究在一项前瞻性的II期多机构试验中对这种情况下的米哌妥林进行了评估[56]。在该研究中，共有284名*FLT3*-ITD突变患者参与试验，除了口服米哌妥林诱导外，所有患者均接受标准的7+3治疗。符合异基因造血细胞移植条件的患者将继续进行移植，如有可能，从移植后第30天开始，直到不迟于移植后100天持续进行米哌妥林维持治疗。那些无法接受移植的患者在最后一次大剂量阿糖胞苷（HiDAC）巩固周期后才进行米哌妥林治疗。与历史对照组相比，本研究结果显示，接受米哌妥林治疗的患者会表现出更好的EFS和OS。本研究的目的还在于证明将米哌妥林引入诱导治疗和移植后维持治疗的有效性。对于老年患者而言，2年EFS为34%，OS为46%。应指出的是，大多数患者均因为毒性反应而提前停用药物。

6.3. 吉瑞替尼

吉瑞替尼（gilteritinib）是第三种被人们考虑用于移植后治疗的*FLT3*抑制剂。一些权威人士认为这种药物比米哌妥林或索拉非尼更安全且耐受性更好[87]，而其他人士则认为后者的毒性特征是可控的[102]。一项包含全球149个地点的III期随机安慰剂对照多中心研究，即血液和骨髓移植临床试验网络（BMT-CTN）1506号试验目前正在进行中，旨在评估*FLT3*-ITD阳性AML患者在同种异体移植后使用吉瑞替尼进行维持治疗的效果[87,103]。在这项研究中，移植后的*FLT3*-ITD型AML患者被随机分为吉瑞替尼组或安慰剂维持组。这项研究的目的是确定吉瑞替尼在移植后维持治疗中的作用，并将评估移植前和移植后的微小残留病变（MRD），这是以前的研究尚未涉及的方面。这是一项计划招募350名随机患者的明确性研究，预计将于2021年晚些时候得出结果。然而，由于缺乏索拉非尼对照组，临床解释将变得困难，一些研究人员强调需要在移植后环境中直接对比评估吉瑞替尼与索拉非尼[93,102]。

随着*FLT3*-ITD抑制剂融入临床实践，在未来我们很可能会看到更多的前瞻性研究，以评估同种异体移植后维持治疗的方案。

7. *FLT3*抑制剂与其他靶向药物的联合应用

将*FLT3*-ITD抑制剂与其他新型药物联合用于AML治

疗的趋势是一种与当前使用靶向药物的实践相一致的自然发展结果。维奈托克是一种与抗凋亡蛋白BCL2结合并选择性抑制其活性的小分子[104]。在某些淋巴恶性肿瘤中它常作为单一药物使用，但在单独用于AML的治疗时，其活性非常有限。然而，现在广为人知且被广泛使用的维奈托克与低甲基化药物或低剂量阿糖胞苷的联合疗法被证明是成功的，并且对于不适合标准诱导治疗的新发AML患者而言，属于首选治疗方案之一[11,105]。Ma及其同事[106]研究了*FLT3*抑制剂与BCL2抑制剂联合使用时的体内外反应。在研究中，他们发现米哌妥林和吉瑞替尼都能增强维奈托克在*FLT3*-ITD型突变AML细胞系中的抗白血病作用。在*FLT3*-ITD型突变的异种移植小鼠模型中，他们也证明了这种组合的体内疗效。已经有许多其他研究在体内和体外验证并扩展这些结果[107–108]。对接受维奈托克治疗的AML患者的突变分析表明，*FLT3*型突变的患者比其他突变类型的患者产生耐药性的速度更快[109]。结合临床前数据，这项研究表明这两种药物之间可能存在协同关系。目前正在进行的几项临床试验对维奈托克与*FLT3*抑制剂联合治疗*FLT3*-ITD突变型AML患者的方案进行了研究。因此，例如，来自美国费城宾夕法尼亚大学的一项最新研究报告显示，吉瑞替尼与维奈托克的联合使用产生了令人鼓舞的结果[110]。

另一个值得关注的领域是低甲基化药物如地西他滨或阿扎胞苷与*FLT3*抑制剂的组合。在体内研究中，例如，Chang等[111]进行的研究表明，地西他滨或阿扎胞苷与索拉非尼或奎扎替尼的组合对白血病细胞具有协同的细胞毒性。几项I+II期试验研究了各种组合，如米哌妥林与阿扎胞苷[112]或地西他滨[113]，以及索拉非尼与阿扎胞苷[114]或地西他滨[115]。这些有希望的组合似乎都有较好的耐受性。

美国得克萨斯州休斯顿的MD安德森癌症中心正在进行一项试验，研究奎扎替尼、地西他滨和维奈托克三重联合治疗*FLT3*突变的AML新诊断复发/难治性患者。最初的研究报告令人振奋[116]。

目前，仍有其他几种组合正在研究中。Dayal等[117]成功地使用了一种协同双*FLT3*/TOPK抑制剂HS1169，对*FLT3*-ITD和索拉非尼耐药细胞系进行作用。此外，自噬抑制剂TAK-165可以通过激活分子伴侣介导的自噬来诱导癌细胞死亡，从而提高癌症治疗的有效性[118]。将这些新型抑制剂与*FLT3*抑制剂相结合，它们的功效可能会进一步提高[119]。

免疫治疗也是与*FLT3*抑制剂进行联合治疗的潜在备选方案。因此，例如，一项II期研究正在检测在*FLT3*型

突变的AML复发/难治性患者中吉瑞替尼与程序性死亡配体1 (PD-L1) 检查点抑制剂阿替唑单抗 (NCT03730012) 的组合。此外,在嵌合抗原受体 (CAR) T细胞治疗的这一激动人心且发展迅速的领域,研究人员正在考虑基于FLT3配体的靶向治疗[120]。Jetani等[121]研究了靶向FLT3-ITD型AML的嵌合抗原受体 (CAR) T细胞与克莱拉尼的组合。报告的数据表明这种组合具有协同的细胞毒性。未来,我们很可能会看到许多此类研究将一些新型靶向药物纳入AML治疗体系。

8. FLT3抑制剂的耐药机制

几乎所有被用于AML治疗的靶向药物都可能产生耐药性。这是AML固有的生物性质所决定的,即在AML中存在多个驱动突变。FLT3抑制剂也没有什么不同,产生这种耐药性的各种机制已在前文中做了详细介绍。因此,尽管许多研究报道FLT3抑制剂对FLT3突变的AML患者具有良好的临床活性,但由于耐药性的快速发展,反应持续时间仍然很短,这并不奇怪。当FLT3抑制剂被用作单一疗法时尤其如此,同时这也是使用联合治疗法的主要理由。高复发率一直是成功治疗AML的阻碍,这可归因于原发性或获得性耐药。该疾病的克隆性使其易于产生耐药性克隆,尽管也存在其他几种耐药性发展机制[122–123]。

在诱导治疗期间,对AML克隆施加的选择压力是一个重要概念。该理论认为,在最初的化疗中存活下来的克隆体会增殖并导致疾病复发。体外研究表明,用FLT3抑制剂治疗FLT3-ITD突变的AML细胞系可导致FLT3-TKD突变细胞的发育[124]。如前所述,因为其结合位点,TKD区域的突变会为许多FLT3抑制剂 (尤其是II型抑制剂) 带来耐药性。FLT3抑制剂处理后的TKD区域出现的点突变最常见于活性区残基D835,此处不再赘述。然而,显然还有其他机制在起作用,因为只有大约一半的复发FLT3突变患者有TKD突变。

不同的FLT3抑制剂会通过不同的机制导致不同的耐药情况。因此,例如,研究人员在接受奎扎替尼[44]和索拉非尼[125]等II型抑制剂治疗的复发患者中记录到了D835残基的突变,并且在接受米哌妥林治疗的患者中发现了TKD N676K突变[122]。另外一个TKD突变会使得患者对克莱拉尼产生耐药性,但对普纳替尼不产生耐药性。在使用一些抑制剂 (如米哌妥林和克莱拉尼[126]) 治疗后,患者会表现出FLT3独立性,而FLT3-ITD突变在复发时完全丢失。

另一个耐药机制与FLT3配体 (FL) 相关,诱导治疗

后患者血浆中的FLT3配体浓度升高与FLT3-ITD抑制剂活性降低有关。据推测,FL通过激活野生型FLT3发挥作用,即使下游分子重新磷酸化,特别是丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路,从而抵消FLT3-ITD抑制。FL的上调或高水平的初始野生型FLT3,似乎均有助于FLT3抑制剂耐药性的发展[127]。

另一种可能在产生耐药性的过程中起作用的路径是响应FLT3抑制剂的致癌激酶的上调。已有研究表明,由FLT3-ITD突变组成型激活的激酶,如磷脂酰肌醇3-激酶 (PI3K) 和MAPK,在响应FLT3抑制时获得逃逸机制,这可能有助于耐药性的形成。甚至有人认为,在FLT3抑制剂治疗过程中,抑制某些激酶可能会减少耐药性的发展[128]。

随着FLT3抑制剂使用范围的扩大,耐药机制不断发展,对用于克服它们的策略的需求也在增加。应用于肿瘤学和其他领域 (如抗微生物治疗) 的一个直接概念是预先将几种具有不同作用机制的药物结合起来。前面曾提到的另一种方法是在FLT3抑制剂治疗期间同时抑制下游激酶,如MAPK和信号转导子及转录激活因子5 (STAT5)。另一点要考虑的是类间切换,特别是II型和I型抑制剂之间。因此,例如,一种I型抑制剂克莱拉尼对D835突变具有固有活性,D835突变却通常对II型抑制剂具有耐药性。

9. 总结与结论

分子靶标改变了AML的预后和治疗前景。自从1996年首次发现FLT3激活突变以来,相关技术进展迅速,最终改变了AML的治疗标准。对于25%~30%携带突变的AML患者,常规使用FLT3抑制剂进行治疗。FLT3抑制剂的主要非骨髓抑制性和通常良好的耐受性以及毒性反应使其可以被普遍使用。在认识到FLT3-ITD型突变的存在仍然会带来不良预后的同时,靶向抑制剂的开发明显改善了此类患者的短期和长期预后,并使得越来越多的患者实现MRD阴性,并尽可能减少对异基因造血细胞移植等更强化治疗的需求。耐药性的发展仍然是一个持续的挑战。本文考虑了所有这些方面,突出了靶向治疗对当前实践的巨大贡献。

Acknowledgements

We wish to thank Beth Zisman for assistance in the preparation of this manuscript.

Compliance with ethics guidelines

Meira Yisraeli Salman, Jacob M. Rowe, and Nir Weigert declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] www.who.int [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014 [cited 2021]. Available from: https://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/20/applications/cancer/en/2014.
- [2] seer.cancer.gov [Internet]. Washington: National Cancer Institute; 2017 [cited 2021]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl1.html>.
- [3] Rowe JM, Tallman MS. Therapy for acute myeloid leukemia. In: Hoffman R, Furie B, McGlave P, Silberstein LE, Shuttles SJ, Benz EJ, et al. editors. Hematology basic principles and practice. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 2009. p. 965–89.
- [4] Yates JW, Wallace HJ Jr, Ellison RR, Holland JF. Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Chemother Rep* 1973;57(4):485–8.
- [5] Murphy S, Gardner FH. Platelet storage at 22 degrees C: role of gas transport across plastic containers in maintenance of viability. *Blood* 1975;46(2):209–18.
- [6] Walter RB, Kantarjian HM, Huang X, Pierce SA, Sun Z, Gundacker HM, et al. Effect of complete remission and responses less than complete remission on survival in acute myeloid leukemia: a combined Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and M. D. Anderson Cancer Center Study. *J Clin Oncol* 2010;28(10):1766–71.
- [7] Cassileth PA, Lynch E, Hines JD, Oken MM, Mazza JJ, Bennett JM, et al. Varying intensity of postremission therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 1992;79(8):1924–30.
- [8] Tallman MS, Gilliland DG, Rowe JM. Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood* 2005;106(4):1154–63.
- [9] Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood* 2008;111(5):2505–15.
- [10] O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al.; IRIS Investigators. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003;348(11):994–1004.
- [11] DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, et al. Azacitidine and venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2020;383(7):617–29.
- [12] Wei AH, Montesinos P, Ivanov V, DiNardo CD, Novak J, Laribi K, et al. Venetoclax plus LDAC for newly diagnosed AML ineligible for intensive chemotherapy: a phase 3 randomized placebo-controlled trial. *Blood* 2020;135(24):2137–45.
- [13] Dhillon S. Ivosidenib: first global approval. *Drugs* 2018;78(14):1509–16.
- [14] Kim ES. Enasidenib: first global approval. *Drugs* 2017;77(15):1705–11.
- [15] Cortes JE, Heidel FH, Hellmann A, Fiedler W, Smith BD, Robak T, et al. Randomized comparison of low dose cytarabine with or without glasdegib in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2019;33(2):379–89.
- [16] Rowe JM. Will new agents impact survival in AML? *Best Pract Res Clin Haematol* 2019;32(4):101094.
- [17] Yokota S, Kiyoi H, Nakao M, Iwai T, Misawa S, Okuda T, et al. Internal tandem duplication of the *FLT3* gene is preferentially seen in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome among various hematological malignancies. A study on a large series of patients and cell lines. *Leukemia* 1997;11(10):1605–9.
- [18] Daver N, Schlenk RF, Russell NH, Levis MJ. Targeting *FLT3* mutations in AML: review of current knowledge and evidence. *Leukemia* 2019;33(2):299–312.
- [19] Thomas CM, Campbell P. FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia: current and future. *J Oncol Pharm Pract* 2019;25(1):163–71.
- [20] Wang ES. Beyond midostaurin: which are the most promising FLT3 inhibitors in AML? *Best Pract Res Clin Haematol* 2019;32(4):101103.
- [21] Antar AI, Otroek ZK, Jabbour E, Mohty M, Bazarbachi A. FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia: ten frequently asked questions. *Leukemia* 2020;34(3):682–96.
- [22] Kiyoi H, BiologyNaoe T., relevanceclinical, and molecularly targeted therapy in acute leukemia with *FLT3* mutation. *Int J Hematol* 2006;83(4):301–8.
- [23] Drexler HG, Meyer C, Quentmeier H. Effects of FLT3 ligand on proliferation and survival of myeloid leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 1999;33(1-2):83–91.
- [24] Kiyoi H, Kawashima N, Ishikawa Y. *FLT3* mutations in acute myeloid leukemia: therapeutic paradigm beyond inhibitor development. *Cancer Sci* 2020;111(2):312–22.
- [25] Pemmaraju N, Kantarjian H, Ravandi F, Cortes J. FLT3 inhibitors in the treatment of acute myeloid leukemia. *Cancer* 2011;117(15):3293–304.
- [26] Thiede C, Studel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker U, et al. Analysis of *FLT3*-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002;99(12):4326–35.
- [27] Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA, et al. The presence of a *FLT3* internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001;98(6):1752–9.
- [28] Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, Kiyoi H, Naoe T. Prognostic significance of *FLT3* internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia* 2005;19(8):1345–9.
- [29] Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al.; LeukemiaNetEuropean. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115(3):453–74.
- [30] Stone RM, Manley PW, Larson RA, Capdeville R. Midostaurin: its odyssey from discovery to approval for treating acute myeloid leukemia and advanced systemic mastocytosis. *Blood Adv* 2018;2(4):444–53.
- [31] Smith CC, Wang Q, Chin CS, Salerno S, Damon LE, Levis MJ, et al. Validation of ITD mutations in *FLT3* as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia. *Nature* 2012;485(7397):260–3.
- [32] Schlenk RF, Kayser S, Bullinger L, Kobbe G, Casper J, Ringhoffer M, et al.; Differential impact of allelic ratio and insertion site in *FLT3*-ITD-positive AML with respect to allogeneic transplantation. *Blood* 2014;124(23):3441–9.
- [33] Gale RE, Green C, Allen C, Mead AJ, Burnett AK, Hills RK, et al.; Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. The impact of *FLT3* internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with *NPM1* mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2008;111(5):2776–84.
- [34] Linch DC, Hills RK, Burnett AK, Khwaja A, Gale RE. Impact of *FLT3*^{ITD} mutant allele level on relapse risk in intermediate-risk acute myeloid leukemia. *Blood* 2014;124(2):273–6.
- [35] Pratz KW, Levis M. How I treat *FLT3*-mutated AML. *Blood* 2017;129(5):565–71.
- [36] Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, Engel JH, Pogosova-Agadjanyan EL, Linsley J, et al. Size of *FLT3* internal tandem duplication has prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2006;107(9):3724–6.
- [37] Liu SB, Dong HJ, Bao XB, Qiu QC, Li HZ, Shen HJ, et al. Impact of *FLT3*-ITD length on prognosis of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2019;104(1):e9–12.
- [38] Kayser S, Schlenk RF, Londono MC, Breitenbuecher F, Wittke K, Du J, et al.; German-Austrian AML Study Group (AMLSG). Insertion of *FLT3* internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. *Blood* 2009;114(12):2386–92.
- [39] Rowe JM. Reasons for optimism in the therapy of acute leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2015;28(2-3):69–72.
- [40] Ho AD, Schetelig J, Bochtler T, Schaich M, Schäfer-Eckart K, Hänel M, et al.; Study Alliance Leukemia. Allogeneic stem cell transplantation improves survival in patients with acute myeloid leukemia characterized by a high allelic ratio of mutant *FLT3*-ITD. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22(3):462–9.
- [41] Pratorcorona M, Brunet S, Nomdedéu J, Ribera JM, Tormo M, Duarte R, et al. Favorable outcome of patients with acute myeloid leukemia harboring a low-allelic burden *FLT3*-ITD mutation and concomitant *NPM1* mutation: relevance to post-remission therapy. *Blood* 2013;121(14):2734–8.
- [42] Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012;366(12):1079–89.
- [43] Daver N, Cortes J, Ravandi F, Patel KP, Burger JA, Konopleva M, et al.

- Secondary mutations as mediators of resistance to targeted therapy in leukemia. *Blood* 2015;125(21):3236–45.
- [44] Smith CC, Lin K, Stecula A, Sali A, Shah NP. *FLT3* D835 mutations confer differential resistance to type II *FLT3* inhibitors. *Leukemia* 2015; 29(12): 2390–2.
- [45] Gescher A. Analogs of Staurosporine. *Gen Pharmacol* 1998;31(5):721–8.
- [46] Fabbro D, Buchdunger E, Wood J, Mestan J, Hofmann F, Ferrari S, et al. Inhibitors of protein kinases: CGP 41251, a protein kinase inhibitor with potential as an anticancer agent. *Pharmacol Ther* 1999;82(2-3):293–301.
- [47] Weisberg E, Boulton C, Kelly LM, Manley P, Fabbro D, Meyer T, et al. Inhibition of mutant *FLT3* receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell* 2002;1(5):433–43.
- [48] Gallogly MM, Lazarus HM, Cooper BW. Midostaurin: a novel therapeutic agent for patients with *FLT3*-mutated acute myeloid leukemia and systemic mastocytosis. *Ther Adv Hematol* 2017;8(9):245–61.
- [49] Gotlib J, Kluin-Nelemans HC, George TI, Akin C, Sotlar K, Hermine O, et al. Efficacy and safety of midostaurin in advanced systemic mastocytosis. *N Engl J Med* 2016;374(26):2530–41.
- [50] Levis M. Midostaurin approved for *FLT3*-mutated AML. *Blood* 2017;129(26): 3403–6.
- [51] Stone RM, DeAngelo DJ, Klimek V, Galinsky I, Estey E, Nimer SD, et al. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in *FLT3* respond to a small-molecule *FLT3* tyrosine kinase inhibitor, PKC412. *Blood* 2005;105(11):54–60.
- [52] Fischer T, Stone RM, Deangelo DJ, Galinsky I, Estey E, Lanza C, et al. Phase IIB trial of oral Midostaurin (PKC412), the FMS-like tyrosine kinase 3 receptor (*FLT3*) and multi-targeted kinase inhibitor, in patients with acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome with either wild-type or mutated *FLT3*. *J Clin Oncol* 2010;28(28):4339–45.
- [53] Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a *FLT3* mutation. *N Engl J Med* 2017;377(5):454–64.
- [54] Tzoganis K, Yu Y, Meulendijks D, Herberts C, Hennik P, Verheijen R, et al. European Medicines Agency review of midostaurin (Rydapt) for the treatment of adult patients with acute myeloid leukaemia and systemic mastocytosis. *ESMO Open* 2019;4(6):e000606.
- [55] Larson RA, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer SM, Bloomfield CD, et al. An analysis of maintenance therapy and post-midostaurin outcomes in the international prospective randomized, placebo-controlled, double-blind trial (CALGB 10603/RATIFY [Alliance]) for newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) patients with *FLT3* mutations. *Blood* 2017;130:145.
- [56] Schlenk RF, Weber D, Fiedler W, Salih HR, Wulf G, Salwender H, et al.; AML Study Group German-Austrian. Midostaurin added to chemotherapy and continued single-agent maintenance therapy in acute myeloid leukemia with *FLT3*-ITD. *Blood* 2019;133(8):840–51.
- [57] Park I, Mundy-Bosse B, Warner S, Bearss D, Marcucci G, Caligiuri M. The receptor tyrosine kinase axl is required for resistance to *FLT3*-targeted therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 2014;124(21):2350.
- [58] Pandya BJ, Qi CZ, Yang H, Garnham A, Shah MV, Zeidan AM, editors. Comparison of cilteritinib and salvage chemotherapy in *FLT3*-mutated acute myeloid leukemia on the number needed to treat for various clinical outcomes: a secondary analysis of the admiral trial. Berlin: Springer; 2020.
- [59] Smith BD, Levis M, Beran M, Giles F, Kantarjian H, Berg K, et al. Single-agent CEP-701, a novel *FLT3* inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2004;103(10):3669–76.
- [60] Borthakur G, Kantarjian H, Ravandi F, Zhang W, Konopleva M, Wright JJ, et al. Phase I study of sorafenib in patients with refractory or relapsed acute leukemias. *Haematologica* 2011;96(1):62–8.
- [61] Fiedler W, Serve H, Döhner H, Schwittay M, Ottmann OG, O' Farrell AM, et al. A phase I study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. *Blood* 2005;105(3):986–93.
- [62] Levis M, Ravandi F, Wang ES, Baer MR, Perl A, Coutre S, et al. Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with *FLT3* mutant AML in first relapse. *Blood* 2011;117(12):3294–301.
- [63] Randhawa JK, Kantarjian HM, Borthakur G, Thompson PA, Konopleva M, Daver N, et al. Results of a phase II study of crenolanib in relapsed/refractory acute myeloid leukemia patients (Pts) with activating *FLT3* mutations. *Blood*. 2014;124:389.
- [64] Cortes JE, Kantarjian HM, Kadia TM, Borthakur G, Konopleva M, Garcia-Manero G, et al. Crenolanib besylate, a type I pan-*FLT3* inhibitor, to demonstrate clinical activity in multiply relapsed *FLT3*-ITD and D835 AML. *J Clin Oncol*. 2016;34:7008.
- [65] Gunawardane RN, Nepomuceno RR, Rooks AM, Hunt JP, Ricono JM, Belli B, et al. Transient exposure to quizartinib mediates sustained inhibition of *FLT3* signaling while specifically inducing apoptosis in *FLT3*-activated leukemia cells. *Mol Cancer Ther* 2013;12(4):438–47.
- [66] Wander SA, Levis MJ, Fathi AT. The evolving role of *FLT3* inhibitors in acute myeloid leukemia: quizartinib and beyond. *Ther Adv Hematol* 2014;5(3):65–77.
- [67] Cortes J, Perl AE, Döhner H, Kantarjian H, Martinelli G, Kovacsics T, et al. Quizartinib, an *FLT3* inhibitor, as monotherapy in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: an open-label, multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2018;19(7):889–903.
- [68] Cortes JE, Khaled S, Martinelli G, Perl AE, Ganguly S, Russell N, et al. Quizartinib versus salvage chemotherapy in relapsed or refractory *FLT3*-ITD acute myeloid leukaemia (QuANTUM-R): a multicentre, randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019;20(7):984–97.
- [69] Iyer R, Fetterly G, Lugade A, Thanavala Y. Sorafenib: a clinical and pharmacologic review. *Expert Opin Pharmacother* 2010;11(11):1943–55.
- [70] Zhang W, Konopleva M, Ruvoilo VR, McQueen T, Evans RL, Bornmann WG, et al. Sorafenib induces apoptosis of AML cells via Bim-mediated activation of the intrinsic apoptotic pathway. *Leukemia* 2008;22(4):808–18.
- [71] Zhang W, Konopleva M, Shi YX, Harris D, Small D, Ling X, et al. Sorafenib (BAY 43-9006) directly targets *FLT3*-ITD in acute myelogenous leukemia. *Blood* 2006;108(11):255.
- [72] Auclair D, Miller D, Yatsula V, Pickett W, Carter C, Chang Y, et al. Antitumor activity of sorafenib in *FLT3*-driven leukemic cells. *Leukemia* 2007;21(3):439–45.
- [73] Ravandi F, Cortes JE, Jones D, Faderl S, Garcia-Manero G, Konopleva MY, et al. Phase I/II study of combination therapy with sorafenib, idarubicin, and cytarabine in younger patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28(11):1856–62.
- [74] Ravandi F, Arana Yi C, Cortes JE, Levis M, Faderl S, Garcia-Manero G, et al. Final report of phase II study of sorafenib, cytarabine and idarubicin for initial therapy in younger patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2014;28(7): 1543–5.
- [75] Röhlig C, Serve H, Hüttmann A, Noppeney R, Müller-Tidow C, Krug U, et al.; Study Alliance Leukaemia. Addition of sorafenib versus placebo to standard therapy in patients aged 60 years or younger with newly diagnosed acute myeloid leukaemia (SORAML): a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2015;16(16):1691–9.
- [76] Serve H, Krug U, Wagner R, Sauerland MC, Heinecke A, Brunnberg U, et al. Sorafenib in combination with intensive chemotherapy in elderly patients with acute myeloid leukemia: results from a randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol* 2013;31(25):3110–8.
- [77] Röhlig C, Serve H, Noppeney R, Hanoun M, Krug U, Baldus CD, et al.; Study Alliance Leukaemia (SAL). Sorafenib or placebo in patients with newly diagnosed acute myeloid leukaemia: long-term follow-up of the randomized controlled SORAML trial. *Leukemia*. In press.
- [78] Wei AH, Kennedy GA, Morris KL, Grigg A, He S, Schwarzer A, et al. Results of a phase 2, randomized, double-blind study of sorafenib versus placebo in combination with intensive chemotherapy in previously untreated patients with *FLT3*-ITD acute myeloid leukemia (ALLG AMLM16). *Blood* 2020; 136 (Supplement 1):36–8.
- [79] O' Farrell AM, Abrams TJ, Yuen HA, Ngai TJ, Louie SG, Yee KW, et al. SU11248 is a novel *FLT3* tyrosine kinase inhibitor with potent activity *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 2003;101(9):3597–605.
- [80] Fiedler W, Kayser S, Kebenko M, Janning M, Krauter J, Schittenhelm M, et al. A phase I/II study of sunitinib and intensive chemotherapy in patients over 60 years of age with acute myeloid leukaemia and activating *FLT3* mutations. *Br J Haematol* 2015;169(5):694–700.
- [81] Levis M, Allebach J, Tse KF, Zheng R, Baldwin BR, Smith BD, et al. A *FLT3*-targeted tyrosine kinase inhibitor is cytotoxic to leukemia cells *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 2002;99(11):3885–91.
- [82] Knapper S, Russell N, Gilkes A, Hills RK, Gale RE, Cavenagh JD, et al. A randomized assessment of adding the kinase inhibitor lestaurtinib to first-line chemotherapy for *FLT3*-mutated AML. *Blood* 2017;129(9):1143–54.
- [83] Knapper S, Burnett AK, Littlewood T, Kell WJ, Agrawal S, Chopra R, et al. A phase 2 trial of the *FLT3* inhibitor lestaurtinib (CEP701) as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia not considered fit for intensive chemotherapy. *Blood* 2006;108(10):3262–70.
- [84] DeZern AE, Sung A, Kim S, Smith BD, Karp JE, Gore SD, et al. Role of allogeneic transplantation for *FLT3*/ITD acute myeloid leukemia: outcomes

- from 133 consecutive newly diagnosed patients from a single institution. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17(9):1404–9.
- [85] Labouré G, Dulucq S, Labopin M, Tabrizi R, Guérin E, Pigneux A, et al. Potent graft-versus-leukemia effect after reduced-intensity allogeneic SCT for intermediate-risk AML with *FLT3*-ITD or wild-type *NPM1* and *CEBPA* without *FLT3*-ITD. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18(12):1845–50.
- [86] Soiffer RJ. Maintenance therapy for high-risk acute leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation: wait a minute. *Blood Adv* 2020; 4(13): 3205–8.
- [87] Levis MJ, Chen YB, Hamadani M, Horowitz MM, Jones RJ; Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network. *FLT3* inhibitor maintenance after allogeneic transplantation: is a placebo-controlled, randomized trial ethical? *J Clin Oncol* 2019;37(19):1604–7.
- [88] DeFilipp Z, Langston AA, Chen Z, Zhang C, Arellano ML, El Rassi F, et al. Does post-transplant maintenance therapy with tyrosine kinase inhibitors improve outcomes of patients with high-risk philadelphia chromosome-positive leukemia? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2016;16(8):466–71.e1.
- [89] Warraich Z, Tennesi P, Thai T, Hubben A, Amin H, McBride A, et al. Relapse prevention with tyrosine kinase inhibitors after allogeneic transplantation for philadelphia chromosome-positive acute lymphoblast leukemia: a systematic review. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020;26(3):e55–64.
- [90] Pratz KW, Rudek MA, Smith BD, Karp J, Gojo I, Dezern A, et al.; ETCTN-8922 study team. A prospective study of peritransplant sorafenib for patients with *FLT3*-ITD acute myeloid leukemia undergoing allogeneic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020;26(2):300–6.
- [91] Chen YB, Li S, Lane AA, Connolly C, Del Rio C, Valles B, et al. Phase I trial of maintenance sorafenib after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for *fms*-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20(12):2042–8.
- [92] Brunner AM, Li S, Fathi AT, Wadleigh M, Ho VT, Collier K, et al. Haematopoietic cell transplantation with and without sorafenib maintenance for patients with *FLT3*-ITD acute myeloid leukaemia in first complete remission. *Br J Haematol* 2016;175(3):496–504.
- [93] Battipaglia G, Ruggeri A, Massoud R, El Cheikh J, Jestin M, Antar A, et al. Efficacy and feasibility of sorafenib as a maintenance agent after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for *fms*-like tyrosine kinase 3-mutated acute myeloid leukemia. *Cancer* 2017;123(15):2867–74.
- [94] Bazarbachi A, Labopin M, Battipaglia G, Djabali A, Forcade E, Arcese W, et al. Allogeneic stem cell transplantation for *FLT3*-mutated acute myeloid leukemia: *in vivo* T-cell depletion and posttransplant sorafenib maintenance improve survival. A retrospective Acute Leukemia Working Party–European Society for Blood and Marrow Transplant study. *Clin Hematol Int* 2019;1(1):58–74.
- [95] Antar A, Kharfan-Dabaja MA, Mahfouz R, Bazarbachi A. Sorafenib maintenance appears safe and improves clinical outcomes in *FLT3*-ITD acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015;15(5):298–302.
- [96] Mathew NR, Baumgartner F, Braun L, O’ Sullivan D, Thomas S, Waterhouse M, et al. Sorafenib promotes graft-versus-leukemia activity in mice and humans through IL-15 production in *FLT3*-ITD-mutant leukemia cells. *Nat Med* 2018; 24(3):282–91.
- [97] Burchert A, Bug G, Finke J, Stelljes M, Rollig C, Wäsch R, et al. Sorafenib as maintenance therapy post allogeneic stem cell transplantation for *FLT3*-ITD positive AML: results from the randomized, double-blind, placebo-controlled multicentre sormain trial. *Blood* 2018;132(Supplement 1):661.
- [98] Xuan L, Wang Y, Huang F, Fan Z, Xu Y, Sun J, et al. Sorafenib maintenance in patients with *FLT3*-ITD acute myeloid leukaemia undergoing allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation: an open-label, multicentre, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(9):1201–12.
- [99] Morin S, Giannotti F, Mamez AC, Masouridi-Levrat S, Simonetta F, Chalandon Y. Real-life experience of sorafenib maintenance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for *FLT3*-ITD AML reveals high rates of toxicity-related treatment interruption. *Blood* 2020;136(Supplement 1):5–6.
- [100] Bazarbachi A, Bug G, Baron F, Brissot E, Ciceri F, Dalle IA, et al. Clinical practice recommendation on hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia patients with *FLT3*-internal tandem duplication: a position statement from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica* 2020;105(6):1507–16.
- [101] Maziarz RTT, Patnaik MM, Scott BL, Mohan SR, Deol A, Rowley SD, et al. Radius: a phase 2 randomized trial investigating standard of care ± midostaurin after allogeneic stem cell transplant in *FLT3*-ITD-mutated AML. *Blood* 2018; 132(Supplement 1):662.
- [102] Assi R, Masri N, Abou Dalle I, El-Cheikh J, Bazarbachi A. Post-transplant maintenance therapy for patients with acute myeloid leukemia: current approaches and the need for more trials. *J Blood Med* 2021;12:21–32.
- [103] clinicaltrials.gov [Internet]. Washington: US National Library of Medicine; 2021 [cited 2021 May 10]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02997202>.
- [104] Knight T, Luedtke D, Edwards H, Taub JW, Ge Y. A delicate balance—the BCL-2 family and its role in apoptosis, oncogenesis, and cancer therapeutics. *Biochem Pharmacol* 2019;162:250–61.
- [105] Wei A, Strickland SA, Hou JZ, Fiedler W, Lin TL, Walter RB, et al. Venetoclax with low-dose cytarabine induces rapid, deep, and durable responses in previously untreated older adults with AML ineligible for intensive chemotherapy. *Blood* 2018;132(Supplement 1):284.
- [106] Ma J, Zhao S, Qiao X, Knight T, Edwards H, Polin L, et al. Inhibition of Bcl-2 synergistically enhances the antileukemic activity of midostaurin and gilteritinib in preclinical models of *FLT3*-mutated acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2019;25(22):6815–26.
- [107] Mali RS, Zhang Q, DeFilippis RA, Cavazos A, Kuruvilla VM, Raman J, et al. Venetoclax combines synergistically with *FLT3* inhibition to effectively target leukemic cells in *FLT3*-ITD⁺ acute myeloid leukemia models. *Haematologica* 2020;106(4):1034–46.
- [108] Brinton LT, Zhang P, Williams K, Canfield D, Orwick S, Sher S, et al. Synergistic effect of BCL2 and *FLT3* co-inhibition in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol* 2020;13(1):139.
- [109] Chyla B, Daver N, Doyle K, McKeegan E, Huang X, Ruvolo V, et al. Genetic biomarkers of sensitivity and resistance to venetoclax monotherapy in patients with relapsed acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2018;93(8):E202–5.
- [110] Daver N, Altman JK, Maly J, Levis M, Ritchie E, Litzow M, et al. Efficacy and safety of venetoclax in combination with gilteritinib for relapsed/refractory *FLT3*-mutated acute myeloid leukemia in the expansion cohort of a phase 1b study. *Blood* 2020;136(Supplement 1):20–22.
- [111] Chang E, Ganguly S, Rajkhowa T, Gocke CD, Levis M, Konig H. The combination of *FLT3* and DNA methyltransferase inhibition is synergistically cytotoxic to *FLT3*/ITD acute myeloid leukemia cells. *Leukemia* 2016; 30(5): 1025–32.
- [112] Strati P, Kantarjian H, Ravandi F, Nazha A, Borthakur G, Daver N, et al. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacytidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Am J Hematol* 2015;90(4):276–81.
- [113] Williams CB, Kambhampati S, Fiskus W, Wick J, Dutreix C, Ganguly S, et al. Preclinical and phase I results of decitabine in combination with midostaurin (PKC412) for newly diagnosed elderly or relapsed/refractory adult patients with acute myeloid leukemia. *Pharmacotherapy* 2013;33(12):1341–52.
- [114] Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, Rudek MA, Rajkhowa T, Richie MA, et al. Phase 2 study of azacytidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and *FLT3* internal tandem duplication mutation. *Blood* 2013;121(23): 4655–62.
- [115] Muppidi MR, Griffiths E, Thompson J, Ford L, Freyer C, Wetzler M, et al. Decitabine and sorafenib therapy in patients with *FLT3*-ITD mutant acute myeloid leukemia is associated with high response rates—a single institute experience. *Blood* 2014;124(21):5284.
- [116] Yilmaz M, Kantarjian HM, Muftuoglu M, Kadia TM, Konopleva M, Borthakur G, et al. Quizartinib with decitabine +/- venetoclax is highly active in patients (Pts) with *FLT3*-ITD mutated (mut) acute myeloid leukemia (AML): clinical report and Signaling Cytof Profiling from a phase IB/II trial. *Blood* 2020;136:19–20.
- [117] Dayal N, Opoku-Temeng C, Hernandez DE, Soreshjani MA, Carter-Cooper BA, Lapidus RG, et al. Dual *FLT3*/TOPK inhibitor with activity against *FLT3*-ITD secondary mutations potently inhibits acute myeloid leukemia cell lines. *Future Med Chem* 2018;10(7):823Fig.35.
- [118] Ouchida AT, Li Y, Geng J, Najafov A, Ofengeim D, Sun X, et al. Synergistic effect of a novel autophagy inhibitor and Quizartinib enhances cancer cell death. *Cell Death Dis* 2018;9(2):138.
- [119] Wu M, Li C, Zhu X. *FLT3* inhibitors in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol* 2018;11(1):133.
- [120] Wang Y, Xu Y, Li S, Liu J, Xing Y, Xing H, et al. Targeting *FLT3* in acute myeloid leukemia using ligand-based chimeric antigen receptor-engineered T cells. *J Hematol Oncol* 2018;11(1):60.
- [121] Jetani H, Garcia-Cadenas I, Nerreter T, Thomas S, Rydzek J, Mejjide JB, et al. CAR T-cells targeting *FLT3* have potent activity against *FLT3*-ITD⁺ AML and act synergistically with the *FLT3*-inhibitor crenolanib. *Leukemia* 2018; 32(5): 1168–79.
- [122] Lam SSS, Leung AYH. Overcoming resistance to *FLT3* inhibitors in the treatment of *FLT3*-mutated AML. *Int J Mol Sci* 2020;21(4):1537.

- [123] Ghiaur G, Levis M. Mechanisms of resistance to FLT3 inhibitors and the role of the bone marrow microenvironment. *Hematol Oncol Clin North Am* 2017;31(4):681–92.
- [124] Moore AS, Faisal A, de Castro DG, Bavetsias V, Sun C, Atrash B, et al. Selective FLT3 inhibition of *FLT3-ITD*⁺ acute myeloid leukaemia resulting in secondary D835Y mutation: a model for emerging clinical resistance patterns. *Leukemia* 2012;26(7):1462–70.
- [125] Man CH, Fung TK, Ho C, Han HH, Chow HC, Ma AC, et al. Sorafenib treatment of *FLT3-ITD*⁺ acute myeloid leukemia: favorable initial outcome and mechanisms of subsequent nonresponsiveness associated with the emergence of a D835 mutation. *Blood* 2012;119(22):5133–43.
- [126] Zhang H, Savage S, Schultz AR, Bottomly D, White L, Segerdell E, et al. Clinical resistance to crenolanib in acute myeloid leukemia due to diverse molecular mechanisms. *Nat Commun* 2019;10(1):244.
- [127] Sato T, Yang X, Knapper S, White P, Smith BD, Galkin S, et al. FLT3 ligand impedes the efficacy of FLT3 inhibitors *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 2011;117(12):3286–93.
- [128] Piloto O, Wright M, Brown P, Kim KT, Levis M, Small D. Prolonged exposure to FLT3 inhibitors leads to resistance via activation of parallel signaling pathways. *Blood* 2007;109(4):1643–52.