

## Artykuły przeglądowe • Review articles

Postępy w poznaniu patogenezы  
i leczeniu szpiczaka plazmocytoowego

Maria Kraj

*Niestabilność genetyczna jest krytycznym czynnikiem w patogenezie szpiczaka plazmocytoowego. Translokacje chromosomalne do locus ciężkiego łańcucha immunoglobulinowego 14q32 wydają się być ważnym zdarzeniem, inicjującym chorobę, podczas gdy delecja chromosomu 13q14 ma związek z progresją choroby i jej rokowaniem. Istnieje funkcjonalna współzależność między komórkami szpiczakowymi i komórkami podścieliska szpiku, wyrażana poprzez swoiste interakcje adhezyjne i parakrynną sieć wielu cytokin, a jej wynikiem jest wspomaganie wzrostu klonu nowotworowego. Poprzez indukcję cytokin VEGF i bFGF komórki szpiczakowe wywołują neowaskularyzację szpiku, a zwiększona gęstość drobnych naczyń ma bezpośredni związek z rokowaniem. Poprzez indukcję ekspresji RANKL i obniżanie ekspresji osteoprotegeryny komórki szpiczakowe stymulują wytwarzanie osteoklastów i ich aktywację, prowadzące do destrukcji kostnej. Niektóre, wylaniające się kierunki i leki w leczeniu szpiczaka plazmocytoowego, oparte na coraz lepszym poznawaniu jego biologii, skierowane przeciw komórkom szpiczakowym i jego mikrośrodoowisku, to: wpływanie na angiogenezę – inhibitory VEGF i jego receptory, talidomid i jego pochodne o silnych właściwościach immunomodulujących (CC 5013), inhibitor proteasomu PS-341, trójtlenek azotu, immunoterapia przy zastosowaniu przeciwciała monoklonalnego AHM, skierowanego przeciw swoistemu antygenowi plazmocytoów HMI.24, radioterapia celowana przy zastosowaniu znakowanego izotopem indu przeciwciała monoklonalnego anti-CD138, oraz zastosowanie antagonistów RANKL. W procedurze przygotowawczej do autotransplantacji oceniane jest wykorzystanie radioterapii celowanej, przy użyciu <sup>166</sup>Ho-DOTMP oraz <sup>153</sup>Sm-EDTMP. Dla zmniejszenia toksyczności, związanej z transplantacją allogeniczną i zwiększenia efektu graft versus myeloma badana jest skuteczność mini-allotransplantacji niemieloablacyjnej, również w skojarzeniu z infuzją limfocytów dawcy po transplantacji.*

**Advances in the pathogenesis and treatment of multiple myeloma**

*Genetic instability is a critical factor in the pathogenesis of multiple myeloma. Translocations of the IgH locus, 14q32 seem to be an important universal event during the initiation of the disease whereas deletion of chromosome 13q14 affects disease progression and prognosis. The functional interplay between myeloma cells and the marrow stroma results in growth support of the tumour clone and is mediated by specific adhesive interactions and a paracrine network of several cytokines. Through induction of VEGF and bFGF cytokines myeloma cells trigger bone marrow vascularisation resulting in increased microvessel density which is directly related to the prognosis of the disease. By induction of RANKL expression and decrease of osteoprotegerin expression myeloma cells stimulate the generation of osteoclasts resulting in bone destruction. Some emerging novel biologically based therapies which target both the multiple myeloma cell and its microenvironment include: anti-angiogenesis approaches – vascular endothelial growth inhibitors, thalidomide and its potent immunomodulatory drug derivatives (CC 5013), proteasome inhibitor PS-341, arsenic trioxide, antibody-based immunotherapy against a myeloma cell-specific antigen HMI.24 (MoAb AHM), use of radiolabelled anti-CD138 monoclonal antibody for targeted radiotherapy and RANKL antagonists and RANKL antagonists. In the preparative regimen in autologous stem cell transplant the use of targeted radiotherapy with <sup>166</sup>Ho-DOTMP or <sup>153</sup>Sm-EDTMP is investigated. In an effort to decrease allogeneic transplant-related toxicity and to increase the graft versus myeloma effect, a “mini-allogeneic” transplant with nonmyeloablative regimens and also with donor lymphocytes infusions after transplantation is used.*

**Słowa kluczowe:** szpiczak plazmocytoowy, patogenezа, leczenie

**Key words:** multiple myeloma, pathogenesis, therapy

## Wieloetapowa molekularna patogeneza szpiczaka plazmocytoowego

Badania ostatnich lat dostarczają coraz więcej dowodów sugerujących, że rozwój szpiczaka plazmocytoowego jest procesem wieloetapowym, a gammapatia monoklonalna o nieokreślonym znaczeniu (MGUS) jest co najmniej w części chorych najwcześniejszym objawem choroby [1]. Badania cytogenetyczne, z zastosowaniem nowych technik molekularnych hybrydyzacji *in situ* FISH i PCR, ujawniły istnienie nieprawidłowości chromosomowych prawie w każdym chorego na szpiczaka plazmocytoowego [2]. Najczęstsze aberracje obejmują translokacje w zakresie regionu odpowiadającego lokalizacji genu dla ciężkiego łańcucha immunoglobulinowego (locus IgH, 14q32). Wiele dowodów sugeruje, że translokacje chromosomowe, z udziałem genu dla ciężkiego łańcucha immunoglobulinowego, stanowią ważny czynnik inicjujący w patogenezie szpiczaka. Translokacje występują zwykle w regionach przełączania „switch regions” łańcucha ciężkiego i obejmują wiele nie przypadkowych *loci*, które są związane z proliferacją komórkową, a mianowicie 11q13 (bcl-1, cyclin D1), 16q23 (c-maf), 8q24 (c-myc), 18q21 (bcl-2) i 4p16 (FGFR3). Bezpośrednie sąsiedztwo onkogenów z elementami regulatorowymi immunoglobuliny, o mocnym oddziaływaniu, prowadzi do ich ektopowej ekspresji w komórkach szpiczaka [3].

Translokacje chromosomowe do *locus* genu immunoglobulinowego, z częstym zajęciem trzech partnerskich *loci* 11q13, 4p16 i 16q23, były wykrywalne zarówno w objawowym szpiczaku, jak i MGUS [4]. Wyrazem rozwijającej się niestabilności chromosomalnej jest heterogenność populacji komórek klonalnych w MGUS, z obecnością różnych populacji, z różną utratą lub nadmiarem całych chromosomów. Progresa do objawowego szpiczaka jest związana z delecją długiego ramienia chromosomu 13 i wystąpieniem mutacji ras, a także ze zwiększoną ekspresją IL-1 $\beta$  w komórkach plazmatycznych. Delecja chromosomu 13q14 idzie w parze z krótkim przeżyciem chorego na szpiczaka. Nawrót szpiczaka i dalsza jego progresja, łącznie z rozrostem pozaszpiczkowym, są związane z mutacjami FGFR3 (w szpiczaku z t(4;14)) i wtórnymi translokacjami c-myc.

W badaniach Avet-Loiseau, obejmujących 669 chorych na szpiczaka plazmocytoowego, 46 z pierwotną białaczką plazmocytoową i 186 z MGUS lub tłym szpiczakiem, analizowano komórki plazmatyczne metodą FISH, pod względem występowania nieprawidłowości w zakresie regionów 13q14 i 14q32, a w przypadku chorych wykazujących rearanżację 14q32 komórki poddawane były dalszej charakteryzacji, z zastosowaniem sond specyficznych dla 4p16, 8q24, 11q13 i 16q23. Nieprawidłowości w zakresie 14q32 wykryto u 73% chorych z objawowym szpiczakiem, 84% z pierwotną białaczką plazmocytoową i 48% z MGUS. Stwierdzono, że translokacje t(4;14) i t(14;16) występują rzadko u chorych z MGUS i tłym szpiczakiem, co sugeruje, że mogą one dotyczyć chorych z wariantem szpiczaka *de novo*, pochodzącego z prawidłowych komórek B, transformujących bezpośrednio w objawowego szpiczaka. Podczas gdy występowanie t(4;14) było znamienne częstsze

u chorych na szpiczaka IgA, to występowanie t(14;16) okazało się być związane zwłaszcza z pierwotną białaczką plazmocytoową. Występowanie translokacji t(11;14) obserwowano we wszystkich stadiach (MGUS, objawowym szpiczaku i zwłaszcza w białaczkę plazmocytoowej), częściej w wariantcie szpiczaka pod postacią „choroby lekkiego łańcucha”. W grupie z t(11;14) mieszczą się chorzy odpowiadający wariantowi „wtórnemu”, szpiczaka rozwijającego się w następstwie MGUS. Brak nieprawidłowości 14q32 cechował chorych na szpiczaka IgG i korelował z dobrymi czynnikami rokowniczymi. Delecja chromosomu 13 związana była z progresją choroby, a występowanie t(4;14), t(14;16) było ściśle związane z podgrupą chorych o złym rokowaniu, jak to oceniano na podstawie stężenia  $\beta$ 2M w surowicy i obecności delecji chromosomu 13q14.

Określenie translokacji chromosomowych, które mogą stanowić zdarzenie inicjujące w patogenezie szpiczaka, identyfikuje zarazem krytyczne cele dla leczenia tej choroby. W szczególności FGFR3, który jest receptorem dostępnym na powierzchni komórki i kinaza tyrozynowa wydają się być pierwszymi kandydatami w rozwoju celowanej terapii. Receptor c-kit, wykazujący aktywność kinazy tyrozynowej, jest obecny na plazmocytach u ponad 30% chorych na szpiczaka plazmocytoowego [5]. Receptorowe kinazy tyrozynowe, aktywowane przez czynniki wzrostu, biorą udział w przenoszeniu sygnałów z mikrośrodowiska do wnętrza komórki, co prowadzi do zmiany ekspresji genów i biosyntezy specyficznych białek. Dotychczasowe badania, z zastosowaniem inhibitora kinazy tyrozynowej (STI-571) w przewlekłej białaczkę szpiczkowej, wskazują na możliwość osiągnięcia bardzo dobrych wyników leczniczych, przy stosowaniu leczenia, którego punktem uchwytu jest „zaburzenie inicjujące”, prowadzące do rozwoju nowotworu.

Wyniki aktualnych opcji terapeutycznych dla chorych na szpiczaka plazmocytoowego są niezadawalające, stąd poszukiwania nowych strategii terapeutycznych, opartych na rosnącej wiedzy o samej komórce szpiczkowej i jej mikrośrodowisku oraz doskonalenie procedur intensywnego leczenia, wspomaganego transplantacją macierzystych komórek krwiotwórczych.

## Angiogeneza, VEGF i jego inhibitory

Ostatnie badania sugerują ważność angiogenezy w rokowaniu i leczeniu szpiczaka plazmocytoowego [6, 8]. Zaobserwowano, że szpiczek wykazuje zwiększoną gęstość naczyń krwionośnych i że istnieje związek między rozległością i natężeniem waskularyzacji w czasie rozpoznania, a dalszym losem chorych na szpiczaka plazmocytoowego. Badania Rajkumara [8] w Mayo Clinic, obejmujące 400 chorych z dyskracją komórek plazmatycznych, wykazały, że gęstość drobnych naczyń i stopień angiogenezy były znamienne wyższe w szpiczaku plazmocytoowym (w fazie tłacej, świeżo rozpoznany i nawrocie) w stosunku do grupy kontrolnej oraz chorych z gammapatią monoklonalną, o nieokreślonym znaczeniu i skrobiawicą pierwotną. W innych badaniach, obejmujących 74 chorych, ustalono, że całkowite przeżycie było znamienne dłuższe u chorych

z niskim stopniem angiogenezy (53 miesiące), w porównaniu do chorych z wysokim (24 miesiące) lub pośrednim stopniem angiogenezy (48 miesięcy).

Angiogeneza, związana z wzrostem nowotworowym, pozostaje pod wpływem różnych czynników regulujących, a wśród nich istotną rolę zdają się spełniać czynniki wzrostu komórek śródbłonna (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) i zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF). VEGF jest silnym peptydem angiogenym o różnej biologicznej aktywności, obejmującej regulację rozwoju embrionalnych komórek macierzystych, przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej i miejscowe wytwarzanie cytokin prozapalnych. Działanie VEGF odbywa się poprzez co najmniej dwa jego receptory o silnym powinowactwie kinazy tyrozynowej Flt-1 (VEGFR1) i KDR (VEGFR2). Ekspresja komórkowa receptorów VEGF nie jest ograniczona do proliferujących komórek endotelialnych, ale jest także wykrywalna w makrofagach, megakariocytach i wczesnych hematopoetycznych komórkach macierzystych.

Plazmocyty szpiczakowe wydzielają VEGF, a adhezja komórek szpiczaka do komórek podścieliska szpiku wzmacnia sekrecję VEGF. Bellamy i wsp. [9] obserwowali ekspresję VEGF i bFGF we wszystkich badanych szpiczakowych liniach komórkowych, a spośród 42 chorych na szpiczaka, ekspresję VEGF na nowotworowych plazmocytach szpiku wykazywało 33 chorych (78%). Nie wykryto ekspresji receptorów Flt-1 i KDR na nowotworowych plazmocytach, natomiast stwierdzono silną ekspresję obu tych receptorów na komórkach podścieliska szpiku tych chorych. Taki rozkład ekspresji jest zgodny z parakrynną rolą VEGF w szpiczaku. VEGF wzmacnia sekrecję IL-6 w komórkach podścieliska szpiku i stymuluje osteoklastogenezę.

Z badań przeprowadzonych w Cedars – Sinai Medical Center, Los Angeles, USA [10] wynika, że istnieje korelacja między gęstością naczyń krwionośnych, a ekspresją VEGF na plazmocytach szpiczakowych i ich liczbą w szpiku oraz, że nawrót choroby po transplantacji komórek krwiotwórczych jest związany ze wzrostem w szpiku ekspresji VEGF i gęstości naczyń krwionośnych. Prowadzone są prace nad izolacją białek hamujących angiogenezę, a wśród nich inhibitora VEGF (*vascular endothelial growth inhibitor* – VEGI). VEGI jest białkiem transmembranowym typu II, należącym do rodziny czynnika martwicy nowotworu. Białko to hamuje angiogenezę i może bezpośrednio wywoływać apoptozę komórek nowotworowych, bez hamowania prawidłowych komórek. Przy użyciu wektorów wirusowych z genem VEGI wykazano hamowanie wzrostu wielu szpiczakowych linii komórkowych i indukcję apoptozy [10]. Także inhibitor receptora VEGF, inhibitor PTK i pochodne talidomidu blokują proliferację i migrację komórek szpiczaka, wywołaną przez VEGF.

### Leki immunomodulujące – talidomid i jego pochodne

Do leków o silnych właściwościach immunomodulujących należy talidomid i jego analogi (immunomodulatory, drug derivatives – IMiDs). Wywołują one apoptozę lub zatrzy-

mywanie wzrostu w fazie G1 nawet opornych na leki komórek szpiczakowych, hamują wytwarzanie TNF $\alpha$  i IL-1 $\beta$ , zmniejszają podwyższoną sekrecję IL-6 i VEGF, wywołaną przez adhezję komórek szpiczaka do komórek podścieliska szpiku, stymulują autologiczną odporność przeciw szpiczakową, w której pośredniczą komórki NK (*natural killer cell*), zmniejszają ekspresję protektyny w komórkach szpiczakowych i hamują angiogenezę w szpiku. Leki te wzmagają efekt deksametazonu, co może być tłumaczone odmienną sygnalizacją apoptozy: talidomid /IMiDs poprzez szlak kaspazy 8, a deksametazon poprzez szlak kaspazy 9 [11].

Talidomid, podawany jako jedyny lek, wykazuje skuteczność leczniczą u około 30% chorych, z opornym na standardowe leczenie szpiczakiem, a także z nawrotem szpiczaka; średni czas trwania reakcji leczniczej wynosi 4 miesiące [12]. Aktualnie prowadzone są próby kliniczne z zastosowaniem talidomidu łącznie z deksametazonem, a także chemioterapią, u chorych przygotowywanych do transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych, jak również u chorych po autotransplantacji, u których nastąpił nawrót choroby.

Coleman i wsp. [13] wykazali, że klarytromycyna (biaxin) wzmacnia efekt kortykosterydów i talidomidu u chorych na szpiczaka plazmocytowego i makroglobulinemię Waldenströma. Łączne stosowanie tych trzech leków dało odpowiedź leczniczą w 93% leczonych, a odpowiedź lecznicza utrzymywała się średnio 8 miesięcy. We wcześniejszych badaniach zaobserwowano hamujący wpływ antybiotyków makrolidowych (do których należy klarytromycyna), a zwłaszcza azitromycyny na proliferację komórek plazmatycznych *in vitro* [14].

Ze względu na objawy uboczne, związane z leczeniem talidomidem i dużą moc przeciwnowotworową *in vitro* jego analogów, podjęto próby kliniczne z zastosowaniem tych analogów. Aktualnie prowadzone są badania I fazy z użyciem CC-5013, małowzrasteczkowej pochodnej talidomidu, mocniejszej od talidomidu w leczeniu opornego szpiczaka plazmocytowego [15].

Skuteczność 2 metoksyestradiolu w wywoływaniu apoptozy, nawet opornych na leki szpiczakowych linii komórkowych, budzi nadzieję na jego użyteczność w leczeniu szpiczaka u ludzi [16].

### Proteasom i jego inhibitory

Proteasom 26S jest obecny we wszystkich komórkach, a jego główną czynnością jest rozkład białek komórkowych, w tym białek uszkodzonych oraz białek regulatorowych, zawiadujących funkcją komórki, jej żywotnością, różnicowaniem i podziałem. Komórki nowotworowe, o niekontrolowanej replikacji, dla dokonania mitozy potrzebują, zależnej od proteasomu, przemiany białek, zależnych od cyklu komórkowego. Zahamowanie proteasomu stabilizuje białka komórkowe, prowadząc do zatrzymania przejścia z fazy G2-M cyklu i ostatecznie apoptozy komórki [7].

W szpiczaku plazmocytowym aktywacja czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B jest związana ze wzrostem, prze-

życiem i opornością komórek szpiczakowych na leki, a także z transkrypcją IL-6 i jej sekrecją, wyzwalaną przez adhezję komórek szpiczaka do komórek podścieliska szpiku. Niskocząsteczkowy, selektywny inhibitor proteasomu PS – 341 hamuje aktywację NF –  $\kappa$ B, poprzez stabilizację I kappa B alfa, w tych samych stężeniach hamuje wzrost komórek szpiczakowych w większym stopniu niż komórek zdrowych, hamuje adhezję komórek szpiczakowych do komórek podścieliska szpiku, a tym samym wytwarzanie IL – 6 i wzrost komórek szpiczakowych, zmniejsza anty-apoptotyczny efekt IL-6. PS-341, indukuje apoptozę komórek szpiczakowych poprzez aktywację kaspazy -8; wzmacnia także efekty deksametazonu [18]. Aktualnie prowadzone są próby kliniczne I/II fazy, z zastosowaniem PS – 341 u chorych na szpiczaka plazmocytozy, jako jedynego leku oraz w skojarzeniu z chemioterapią [17].

Inhibitory proteasomu, wykazujące aktywność przeciwno – szpiczakową, a pozostające w fazie prób *in vitro* to: PS1, MG132, laktocystyna, pentoksyfilina, a także lowastatyna [18].

### Aktywność trójtlenku arsenu w szpiczaku

Niu i wsp. [19] wykazali skuteczność leczniczą  $As_2O_3$  w białaczce promielocytowej, a Roboz i wsp. [20] stwierdzili, że  $As_2O_3$  powoduje apoptozę komórek endotelium, co sugeruje osiągnięcie efektu przeciwbiałaczkowego, poprzez hamowanie angiogenezy. Jak wspomniano uprzednio, aktywność anty-angiogenna i przeciwnowotworowa talidomidu i jego analogów w szpiczaku plazmocytozy wyraża się poprzez hamowanie wytwarzania TNF $\alpha$  i hamowanie odpowiedzi komórek szpiczakowych na TNF $\alpha$ , a także poprzez hamowanie wytwarzania IL-6 przez komórki podścieliska szpiku, a w tej odpowiedzi na TNF $\alpha$  i IL-6 pośredniczy czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B. Aktywacja NF- $\kappa$ B wpływa pobudzająco na wzrost komórek szpiczakowych, wpływa także na mikrośrodowisko, promując przeżycie i progresję szpiczaka.  $As_2O_3$  blokuje aktywację NF- $\kappa$ B, a jego działanie w szpiczaku różni się od talidomidu, IMiDs i inhibitorów proteasomu tym, że blokuje również inny czynnik transkrypcyjny STAT 3, który jest pobudzany przez IL-6 i który pośredniczy w aktywności wielu mitogennych kinaz tyrozynowych. Tak więc poprzez różne mechanizmy  $As_2O_3$  w szpiczaku blokuje proliferację, indukuje apoptozę i hamuje angiogenezę. Aktualnie prowadzone są badania kliniczne I fazy u chorych na szpiczaka plazmocytozy, opornego na chemioterapię lub w nawrocie, przy zastosowaniu samego  $As_2O_3$  (Trisenox<sup>TM</sup>) lub łącznie z kwasem askorbinowym [21].

### Syndecan-1 i radio – immunoterapia celowana

Syndecan-1 (CD138), proteoglikan zawierający siarczan heparanu, jest obecny na powierzchni większości plazmocytozy szpiczakowych i jest wykorzystywany jako ich marker. Poprzez liczne różne interakcje jego łańcuchów siarczano-heparanowych, syndecan-1 pośredniczy w adhezji komórka-komórka, adhezji komórki do zewnątrzkomór-

kowej macierzy i wpływa na aktywność czynników wzrostu. Syndecan-1 umiejscawia się głównie w uropodach komórek szpiczakowych, co wpływa na ich agregację i ruchliwość [22]. Syndecan jest proteolitycznie odszczepiany i złuszczaony z powierzchni komórek. Ten złuszczone proteoglikan, pozbawiony części wewnątrzkomórkowej i transmembranowej, stanowiący rozpuszczalną formę syndecanu, gromadzi się w tkance włóknistej szpiku, gdzie staje się rezerwuarem, wiążących heparan czynników wzrostu, takich jak FGF-2, IL-6, HGF, co stwarza sprzyjające mikrośrodowisko dla wzrostu nowotworu lub staje się źródłem jego nawrotu. Rozpuszczalny syndecan-1 przechodzi także do krwi, a duże jego stężenia w surowicy chorych na szpiczaka są niekorzystnym czynnikiem prognostycznym [23, 24].

Komórki szpiczakowe są wrażliwe na napromienianie, nawet po rozwinięciu oporności na chemioterapię. Podejmowane są próby wykorzystania przeciwciał monoklonalnych, ze swoistością w stosunku do antygenów obecnych na komórkach szpiczakowych, jako wektorów dostarczających terapeutyczne dawki napromieniania, ściśle do miejsc chorobowych. Orchard i wsp. [25] zastosowali u chorych na szpiczaka znakowane indem<sup>111</sup> mysie przeciwciała monoklonalne BB4, które wykazuje specyficzność w stosunku do epitopów ludzkiego syndecanu-1 (CD138). Wychwyty w szpiku przeciwciała anty-CD138, znakowanego radioizotopem i ilość radioaktywności zlokalizowanej w szpiku były proporcjonalne do odsetka komórek plazmatycznych, obecnych w szpiku poszczególnych chorych, a tolerancja oznakowanego radioizotopem przeciwciała była dobra. Badania te wskazują na potencjalną możliwość użycia przeciwciał monoklonalnych anty-CD138 dla obrazowania i celowanej radioterapii.

### Przeciwciała monoklonalne anty-HM1.24 w leczeniu szpiczaka

Antygen HM1.24 jest białkiem transmembranowym o ciężarze cząsteczkowym około 29-33 KD, specyficznym dla komórek plazmatycznych, obficie występującym na komórkach szpiczakowych. Ze źródeł handlowych dostępne jest humanizowane przeciwciała monoklonalne anty-HM1.24 (AHM, Chugai Pharmaceutical Co. Ltd. Tokio, Japonia), które zostało skonstruowane przez wszczepienie „rejonów dopasowania – CDR” z macierzystego przeciwciała mysiego do ludzkiego przeciwciała monoklonalnego [26]. Podając to przeciwciała chorym na szpiczaka, wykorzystuje się zjawisko zależnej od przeciwciał cytotoxyczności komórkowej. Opłaszczony przeciwciałem komórki szpiczakowe są celem dla efektorowych komórek NK chorego. Aktualnie prowadzone są próby kliniczne I fazy [27, 28].

### Układ ligand RANK (RANKL) – osteoprotegeryna jako cel w leczeniu szpiczaka

Czynnik różnicowania osteoklastów, ligand RANK (RANK-ang. *receptor activator of nuclear factor kappa B*; RANKL – *ligand for receptor activator of NF- $\kappa$ B*) jest li-

gandem dla osteoprotegeryny, występującego w warunkach prawidłowych czynnika hamującego osteoklastogenezę, i jest identyczny z TRANCE (ang. *TNF-related activation – induced cytokine*) [29]. RANKL jest białkiem transmembranowym typu II, zawierającym 317 aminokwasów i o ciężarze cząsteczkowym około 40KD, wykazującym homologię ze składnikami rodziny ligandów TNF, zwłaszcza CD 40L. W czasie bezpośredniej interakcji komórka – komórka RANKL na komórkach zrębu szpiku i osteoblastach stymuluje różnicowanie osteoklastów z ich prekursorów mieloidalnych i pobudza resorpcję kostną przez dojrzałe osteoklasty. W przekazywaniu sygnałów dla różnicowania i aktywacji pośredniczy RANK, obecny na prekursorach osteoklastów i osteoklastach [30-32]. RANK, należący do rodziny receptorowej TNF, jest receptorem transmembranowym typu I, składającym się z 616 aminokwasów, a jego ekspresja w osteoklastach pojawia się senkwencyjnie w stosunku do c-fms, receptora dla czynnika stymulującego kolonie makrofagowe i równoległe z receptorem dla kalcytoniny [30]. Wiązanie RANKL do jego receptora RANK jest hamowane przez osteoprotegerynę [33]. Osteoprotegeryna, jak wspomniano uprzednio, zwana również czynnikiem hamującym osteoklastogenezę, identyfikowana pierwotnie jako pochodzący z osteoblastów regulator resorpcji kostnej i masy kostnej, jest wydzielanym receptorem czynnika martwicy nowotworu (TNFR), pozbawionym domeny transbłonowej, składającym się z 401 aminokwasów, którego ekspresja jest dość powszechna w różnych typach komórek, a stężenie w surowicy zależne między innymi od wieku i stanu hormonalnego organizmu [34]. Jak wynika z badań na modelach zwierzęcych, brak osteoprotegeryny prowadzi do rozwoju ciężkiej osteoporozy, a jej nadmiar do hipokalcemii i rozwoju osteopetrozy [35]. Wykazano również, że podanie rozpuszczalnego RANK lub przeciwciał hamujących RANK, prowadzące do nadmiernej ekspresji rozpuszczalnej postaci RANK, u transgenicznych myszy blokuje osteoklastogenezę, podczas gdy aktywacja RANK, przeciwciałami stymulującymi, pobudza osteoklastogenezę [36].

Warto wspomnieć, że RANKL, główna cytokina wymagana do tworzenia i aktywacji osteoklastów, poza funkcją osteotropową, spełnia rolę immunomodulującą. Poza peptydem związanym z komórką, RANKL może występować w formie rozpuszczalnej. Pierwotna postać rozpuszczalna jest wydzielana przez aktywowane limfocyty T, a wtórna pochodzi z formy związanej z komórką, w wyniku jej proteolizy enzymatycznej. Rozpuszczalny RANKL bierze udział w interakcjach między komórkami T i komórkami dendrytycznymi, wzmacnia immunostymulacyjne właściwości komórek dendrytycznych i stymuluje ich przeżycie. Jak to wykazano u myszy, brak RANKL wiązał się poza osteopetrozą z agenezją węzłów chłonnych i hipoplazją grasicy [37].

Destrukcja kostna w szpiczaku spowodowana jest nieprawidłowym wytwarzaniem i aktywacją osteoklastów [38]. Badania Pearse i wsp. [39] sugerują, że RANKL, główna cytokina w powstawaniu osteoklastów, jest wspólnym mediatorem, produkowanych przez komórki szpi-

czaka lub inne komórki pobudzane przez szpiczaka, czynników aktywujących osteoklasty i, że szpiczak plazmocyto- wy wywala osteoklastogenezę przez naruszenie równowagi między RANKL i jego naturalnym inhibitorem, osteoprotegeryną. Komórki szpiczakowe same wykazują ekspresję RANKL i pobudzają tworzenie osteoklastów bezpośrednio [40, 41], powodują też zwiększenie ekspresji RANKL w lokalnym środowisku i zmniejszenie ekspresji osteoprotegeryny przez komórki podścieliska szpiku. Wykazano w dwóch mysich modelach szpiczakowej choroby kości, że osteoprotegeryna i RANK-Fc, syntetyczny antagonistą RANKL, hamuje destrukcję kości, wywołaną przez szpiczaka, a także blokuje progresję szpiczaka, sugerując, że rozrost szpiczakowy jest zależny od deregulacji RANKL – osteoprotegeryna [39, 42]. W leczeniu szpiczaka plazmocyto-owego, nadzieje wiąże się z antagonistami układu RANKL: osteoprotegeryną – rekombinowaną (Fc.OPG), a także dostarczaną za pomocą wektorów wirusowych, oraz rozpuszczalnym RANK – rekombinowanym rozpuszczalnym RANK (sRANK.Fc). Ukazały się doniesienia o skuteczności osteoprotegeryny w osteoporo- zie [43] i próbach jej zastosowania u kobiet w okresie postmenopauzalnym [44], a także o skuteczności osteoprotegeryny w zapobieganiu hiperkalcemii i nowotworowej resorpcji kostnej w modelach doświadczalnych [45, 46] i klinice [47].

#### **Nowe kierunki w metodach transplantacji komórek krwiotwórczych**

Ostatnie analizy Europejskiej Grupy Przeszczepiania Szpiku (EBMT) [48] wskazują na poprawę wyników allogenicznej transplantacji w szpiczaku, wyrażającą się zmniejszeniem śmiertelności związanej z przeszczepem z 46% do 30% i poprawieniem całkowitego czteroletniego przeżycia z 32% w latach 1983-1993 do 50% w latach 1994-1998. Od 1994 r. zwiększa się liczba transplantacji allogenicznych komórek krwiotwórczych z krwi obwodowej, ale jak dotąd jej wyniki w szpiczaku nie są lepsze od transplantacji szpiku, w odróżnieniu od innych nowotworowych chorób hematologicznych, w których zauważono tendencję do lepszego przeżycia, przy zastosowaniu komórek krwiotwórczych z krwi obwodowej [49].

Celem zmniejszenia śmiertelności związanej z przeszczepem, a bez zwiększenia częstotliwości nawrotów, w fazie prób klinicznych pozostaje niemieloablacyjna transplantacja ("o zredukowanym kondycjonowaniu transplantacja", „mini-allotransplantacja”), zwykle łączona z transfuzjami limfocytów dawcy po transplantacji, w celu wzmocnienia efektu *graft versus myeloma*. Limfocyty dawcy są podawane albo prewencyjnie w ciągu pierwszych miesięcy po transplantacji, albo w okresie wczesnych objawów nawrotu. Udowodniono, że transfuzje limfocytów dawcy wywołują remisję u niektórych chorych z nawrotem szpiczaka [50].

W doniesieniach kongresowych opublikowano wyniki około 120 mini-allotransplantacji, wykonanych u chorych na szpiczaka. Najlepsze wyniki uzyskano u chorych z dobrymi czynnikami rokowniczymi, we względnie wcze-

snym okresie choroby [51] oraz u chorych dobrze reagujących na wcześniejszą autologiczną transplantację [52].

W zakresie niemieloablacyjnej transplantacji w szpiczaku aktualnie prowadzone są przez EBMT dwa badania drugiej fazy: jedno, oceniające efekt zredukowanego leczenia, kondycjonującego nisko dawkowym napromienianiem (TBI 2Gy) w połączeniu z fludarabiną i drugie, oceniające efekt zredukowanych dawek melfalanu, w połączeniu z fludarabiną i CAMPATH 1H (przeciwciała monoklonalne anti-CD52). W obu badaniach niemieloablacyjna transplantacja jest przeprowadzana w następstwie poprzedniej autologicznej transplantacji.

Rośnie liczba chorych na szpiczaka, poddawanych wysokodawkowemu leczeniu, wspomaganemu przeszczepem autologicznych komórek krwiotwórczych; do rejestru EBMT do 2000 r. zgłoszono 8362 przypadki [53]. Dla zwiększenia odsetka remisji całkowitych w następstwie wysokodawkowej terapii, wspomaganą przeszczepem autologicznych komórek krwiotwórczych, bez jednoczesnego narażania na zwiększoną toksyczność innych niż szpik tkanek, prowadzone są badania I-II fazy w zakresie radioterapii celowanej, jako procedury przygotowawczej do przeszczepu, z zastosowaniem <sup>166</sup>Ho-DOTMP oraz <sup>153</sup>Sa-EDTMP [54-56].

Warto również wspomnieć, że Quadramet™ – zawierający sól sodową kompleksu radioaktywnego samaru <sup>153</sup>Sm z lexidronamem – jest nowym radiofarmaceutykiem, przeznaczonym do zwalczania bólów kostnych u chorych z przerzutami, zwłaszcza osteoblastycznymi, które na scyntygramie wykazują gromadzenie kompleksu <sup>99m</sup>Tc-bisfosfoniany. Lexidronam jest tetrafosfonowym środkiem, chelatującym EDTMP (etylenodwuamino-tetrametyleno kwas fosfonowy) o wysokim powinowactwie do tkanki kostnej. Kompleks <sup>153</sup>Sm-lexidronam, po podaniu dożylnym, gromadzi się w obrębie zmiany przerzutowej w stężeniu pięć- sześciokrotnie wyższym niż w kości zdrowej i tkankach miękkich [57, 58].

Przedstawione w pracy nowe koncepcje w leczeniu szpiczaka plazmocytozowego wskazują na olbrzymią presję badawczą co jest widoczne na tle poprzedniego opracowania sprzed niespełna dwóch lat [59].

**Prof. dr hab. med. Maria Kraj**  
Klinika Hematologiczna  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
ul. Chocimska 5  
00-957 Warszawa

## Piśmiennictwo

- Avet – Loiseau H, Facon T, Daviet A i wsp. 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. Intergroupe Francophone du Myeloma. *Cancer* 1999; 59: 4546-4550.
- Hallek M, Bergsagel PL, Anderson KC. Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood* 1998; 91: 3-21.
- Chesi M, Bergsagel PL, Shonukan OO i wsp. Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma. *Blood* 1998; 91: 4457-4462.
- Bergsagel PL, Chesi M, Kuehl WM. Multi-step molecular pathogenesis of multiple myeloma. Abstracts *VIIIth International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 S7, 13-14.
- Kraj M, Poglód R, Kopec-Szlezak J, Kruk B. Expression of the CD117 antigen (c-Kit) on myelomatous plasma cells. *Immunology Letters* 2000; 73: 199.
- Rajkumar SV, Leong T, Roche PC i wsp. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3111-3116.
- Vacca A, Ribatti D, Presta M i wsp. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood* 1999; 93: 3064-3073.
- Rajkumar SV. Angiogenesis and anti-angiogenic therapy with thalidomide for myeloma. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta Canada May 4-8, 2001 S 68, 112.
- Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y, Grogan TM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer Res* 1999; 59: 728-733.
- Berenson JR. Increasing rationale for targeting VEGF anti-angiogenesis approaches to myeloma therapy. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 S 13, 25.
- Davies FE, Raje N, Hideshima T i wsp. Thalidomide (Thal) and immunomodulatory derivatives (IMiDs) augment natural killer (NK) cell cytotoxicity in multiple myeloma (MM). Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 222, 230.
- Singhal S, Mehta J, Desikan R i wsp. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 1999; 341: 1565-1571.
- Coleman M, Leonard JP, Pekle K i wsp. Biaxin, low-dose thalidomide, and dexamethasone (BLT-D) are highly active in Waldenström's Macroglobulinemia and multiple myeloma. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 211, 224.
- Sjak-Shie NN, Manyak SJ, Ma H i wsp. Clarithromycin adds to the efficacy of steroid therapy with / without thalidomide in multiple myeloma: clinical and laboratory evidence. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 158, 198.
- Richardson PG, Schlossman RL, Hideshima T i wsp. A phase I study of the safety and efficacy of CC 5013 treatment for patients with relapsed multiple myeloma: preliminary results. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 230, 234.
- Timm MM, Rajkumar SV, Witzig TE. Studies of proliferation and apoptosis induced by 2-methoxyestradiol (2-MOE) in myeloma cell lines and patient marrow samples. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 92,162.
- Adams J, Elliot P, Kauffman M i wsp. PS-341, a proteasome inhibitor for cancer treatment. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 162, 200.
- Oyajobi BO, Garrett IR, Mundy GR. Proteasome inhibitors are potent inducers of myeloma cell apoptosis in vitro and in vivo. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 163, 200.
- Niu C, Yan H, Yu T i wsp. Studies on treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide: remission induction, follow-up, and monitoring in 11 newly diagnosed and 47 relapsed acute promyelocytic leukemia patients. *Blood* 1999; 94: 3315-3324.
- Roboz GJ, Dias S, Lam G i wsp. Arsenic trioxide induces dose – and time – dependent apoptosis of endothelium and may exert an antileukemic effect via inhibition of angiogenesis. *Blood* 2000; 96: 1525-1530.
- Lee KP, Grad JM, Mc Murry IJ, i wsp. Arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) + ascorbic acid in the treatment of refractory / relapsed multiple myeloma. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 157, 197.
- Borset M, Hjertner O, Yaccoby S i wsp. Syndecan-1 is targeted to the uropods of polarized myeloma cells where it promotes adhesion and sequesters heparin-binding proteins. *Blood* 2000; 96: 2528-2536.
- Dhodapkar MV, Kelly T, Theus A i wsp. Elevated levels of shed syndecan-1 correlate with tumour mass and decreased matrix metalloproteinase-9 activity in the serum of patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 1997; 99: 368-371.
- Seidel C, Sundan A, Hjorth M i wsp. Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma. *Blood* 2000; 95: 388-392.
- Orchard KH, Cooper M, Wijdenes J i wsp. Targeted radiotherapy for multiple myeloma: pre-clinical and clinical evaluation of an anti-CD138 monoclonal antibody. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 118, 178.

26. Ono K, Ohtomo T, Yoshida K i wsp. The humanized anti-HM1.24 antibody effectively kills multiple myeloma cells by human effector cell-mediated cytotoxicity. *Mol Immunol* 1999; 36: 387-395.
27. Ozaki S, Kosaka M, Wkatsuki S, i wsp. Immunotherapy of multiple myeloma with a monoclonal antibody directed against a plasma cell-specific antigen, HM1.24. *Blood* 1997; 90: 3179-3186.
28. Ozaki S, Kosaka M, Wakahara Y i wsp. Humanized anti-HM1.24 antibody mediates myeloma cell cytotoxicity that is enhanced by cytokine stimulation of effector cells. *Blood* 1999; 93: 3922-3930.
29. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N i wsp. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin / osteoclastogenesis – inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3597-3602.
30. Arai F, Miyamoto T, Ohneda O i wsp. Commitment and differentiation of osteoclast precursor cells by the sequential expression of c-Fms and receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK) receptors. *J Exp Med*. 1999; 190: 1741-1754.
31. Lean JM, Matsuo K, Fox SW i wsp. Osteoclast lineage commitment of bone marrow precursors through expression of membrane-bound TRANCE. *Bone* 2000; 27: 29-40.
32. Nakagawa N, Kinoshita M, Yamaguchi K i wsp. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253: 395-400.
33. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR i wsp. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997, 18: 309-319.
34. Szule P, Hofbauer LC, Heufelder AE i wsp. Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3162-3165.
35. Yamamoto M, Murakami T, Nishikawa M i wsp. Hypocalcemic effect of osteoclastogenesis inhibitory factor / osteoprotegerin in the thyroparathyroidectomized rat. *Endocrinology* 1998; 139: 4012-4015.
36. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor –  $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med*. 2001; 79: 243-253.
37. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I i wsp. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315-323.
38. Kraj M. Bone disease and bisphosphonates in multiple myeloma. *Nowotwory* 2001; 51: 28-33.
39. Pearce RN, Sordillo EM, Yaccoby S i wsp. Deregulation of TRANCE and OPG by myeloma. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 S 64 str.105-106.
40. Altamirano CV, Ma HJ, Parker KM i wsp. Malignant multiple myeloma (MM) cells express RANKL, a moderator of osteoclast activation. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 205 str.221.
41. Plesner T, Boissy P, Dartell M i wsp. Myeloma cells express and secrete RANKL-ligand that promotes the generation of osteoclast – like cells. *Acta Haematol Pol* 2001; 32 Suppl.1: 52.
42. Croucher PI, Shipman CM, Perry MJ i wsp. Osteoprotegerin (OPG) inhibits the development of osteolytic bone disease in the 5T2MM model of multiple myeloma. *Blood* 2000; 96: 761a.
43. Min H, Morony S, Sarosi I i wsp. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000; 192: 463-474.
44. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A i wsp. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 348-360.
45. Capparelli C, Kosteniuk PJ, Morony S i wsp. Osteoprotegerin prevents and reverses hypercalcemia in a murine model of humoral hypercalcemia of malignancy. *Cancer Res* 2000; 60: 783-787.
46. Morony S, Capparelli C, Lee R i wsp. A chimeric form of osteoprotegerin inhibits hypercalcemia and bone resorption induced by IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , PTH, PTHrP, and 1: 25(OH)2D3. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1478-1485.
47. Honore P, Luger NM, Sabino MAC i wsp. Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med* 2000; 5: 521-528.
48. Gahrton G, Svensson H, Cavo M i wsp. Progress in allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. *Br J Haematol* 2001 – in press; 113: 209-216.
49. Bensinger WI, Martin PJ, Storer B i wsp. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral – blood cells from HLA – identical relatives in patients with hematologic cancer. *N Engl J Med* 2001; 344: 175-181.
50. Lokhorst HM, Schattenberg A, Cornelissen JJ i wsp. Donor leukocyte infusions are effective in relapsed multiple myeloma after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1997; 90: 4206-4211.
51. Lancette M, Rezvani K, Szydło R i wsp. Excellent outcome of non-myceloablative stem cell transplant (NMSCT) for good risk myeloma: the EBMT experience. *Blood* 2000; 96: 204a. Abstract No. 872.
52. Molina A, Mc Sweeney P, Maloney DG i wsp. Non-myceloablative peripheral blood stem cell (PBSC) allografts following cytoreductive autotransplants for treatment of multiple myeloma (MM). *Blood* 1999; 94: 347a.
53. Björkstrand B, Hagman A, Ljungman P i wsp. Autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: the 2000 EBMT registry update. *Bone Marrow Transplantation* 2001; 27 suppl.1: (OS 203), S 40.
54. Dispenzieri A, Wiseman GA, Lacy MQ i wsp. Phase I study of <sup>153</sup>Samarium-EDTMP with fixed dose melphalan as peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) conditioning regimen in patients with multiple myeloma. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 P 59,146.
55. Durrant S, Irving I, Mollee P, i wsp. Phase I/II study of <sup>153</sup>Sm lexidronam, limb irradiation and stem cell transplantation for the treatment of multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation* 2001; 27 suppl.1: S 41 (OS 204).
56. Giralt S, Champlin R, Alexanian R, i wsp. Results of a phase I/II trial with <sup>166</sup>Ho-DOTMP plus high dose chemotherapy in patients with multiple myeloma. Abstracts *VIII th International Myeloma Workshop*. Banff, Alberta, Canada May 4-8, 2001 S 24, 40-41.
57. Serafini AN, Houston SJ, Resche I, i wsp. Palliation of pain associated with metastatic bone cancer using Samarium <sup>153</sup>Sm Lexidronam: a double blind placebo – controlled clinical trial. *J Clin Onc* 1998; 16: 1574-1581.
58. Serafini AN. Samarium Sm-153 lexidronam for the palliation of bone pain associated with metastases. *Cancer* 2000; 88 suppl. 2934-2939.
59. Kraj M. Konwencjonalna i wysokodawkowana terapia w szpiczaku plazmacytowym. *Nowotwory* 1999; 49: 315-320.

Otrzymano: 20 sierpnia 2001 r.

Przyjęto do druku: 3 września 2001 r.