

Anna Dmoszyńska

Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku Akademii Medycznej w Lublinie

Szpiczak mnogi — nowe cele leczenia

Myeloma multiplex — new targets of treatment

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Anna Dmoszyńska
 Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku
 Akademii Medycznej
 ul. Staszica 11, 20-081 Lublin
 Tel./faks: (+4881) 534 64 42/534 56 05
 e-mail: annadmosz@o2.pl

STRESZCZENIE

Szpiczak mnogi (plazmocytowy) jest chorobą polegającą na proliferacji atypowych plazmocyto-
 wów. Bardzo istotną rolę w progresji szpiczaka odgrywa mikrośrodowisko szpiku i kontakt komórek szpiczakowych z komórkami śródbłonki naczyń. Angiogeneza jest objawem patomorfologicznym procesu nowotworowego, a podścielisko szpiku kostnego tworzy warunki sprzyjające proliferacji komórek szpiczakowych, zapobiegając apoptozie oraz utrudniając dostęp leków cytostatycznych.

Słowa kluczowe: szpiczak mnogi, leczenie, angiogeneza

ABSTRACT

Myeloma multiplex (*plasmacytoma*) is determined by proliferation of atypical plasma cells. Microenvironment of bone marrow and contact of myeloma and endothelial cells play an important role in myeloma progression. Angiogenesis is a pathomorphological symptom of cancerogenesis and bone marrow stroma promotes proliferation of myeloma cells, prevents their apoptosis and impedes cytostatics access

Key words: multiple myeloma, treatment, angiogenesis

Onkol. Prak. Klin. 2008; 5: 172–176

Onkologia w Praktyce Klinicznej
 Tom 4, nr 5, 172–176
 Copyright © 2008 Via Medica
 ISSN 1734-3542
 www.opk.viamedica.pl

Wstęp

Szpiczak mnogi jest klonalną proliferacją atypowych plazmocyto-
 wów i chorobą nieuleczalną, mimo niewątpliwych postępów w leczeniu, jakie osiągnięto w ostatnich 10 latach. Coraz częściej wyboru terapii dokonuje się na podstawie zmian cytogenetycznych i molekularnych, które towarzyszą tej chorobie [1, 2]. Najczęściej występujące zmiany cytogenetyczne zestawiono w tabeli 1.

Rola mikrośrodowiska w szpiku

Bardzo istotną rolę w progresji szpiczaka odgrywa mikrośrodowisko szpiku i kontakt komórek szpiczakowych z komórkami śródbłonki naczyń za pośrednictwem szeregu molekuł adhezyjnych [3]. Kontakt ten uruchamia sekrecję wielu proangiogennych i proproliferacyjnych cytokin promujących angiogenezę i rozrost nowotworu [4]. Molekuły adhezyjne obejmują rodzinę β_1 integryn, fibronektynę, cząsteczkę adhezyjną śród-

błonka naczyniowego (VCAM, *vascular cell adhesion molecule*), cząsteczkę adhezji międzykomórkowej (ICAM1, *intercellular adhesion molecule*), stromalny czynnik wzrostu (SDF1, *stromal cell-derived factor*) i receptor dla niej proteoglikan transmembranowy CXCR₄ (CD 138) (*chemokine receptor*), oraz molekułę adhezyjną (CD 44, *cell surface glycoprotein*) [5, 3]. Wydzielone cytokiny modulują wytwarzanie dodatkowych cząsteczek adhezyjnych, co wzmacnia adhezję komórek szpiczaka do podścieliska szpiku, powodując powstanie mechanizmu „błędnego koła”. Przyleganie komórek szpiczaka do fibronektyny sprzyja indukcji fenotypu odpowiedzialnego za oporność na cytostatyki, zwiększa ekspresję białka p27, prowadząc do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G₁ [6, 7]. Bezpośredni kontakt z fibronektyną prowadzi również do blokady apoptozy indukowanej przez receptor FAS. Mediuwana przez β_1 -integrynę adhezja komórkowa chroni komórki nowotworu przed uszkodzeniem ich DNA przez leki przeciwnowotworowe, zmniejszając aktywność topozomerazy II [8, 9]. Na podstawie obserwacji tego wielokierunkowego mechanizmu, można przypuszczać, iż

Tabela 1. Niekorzystne czynniki cytogenetyczne w szpiczaku plazmocytowym

Table 1. Unfavourable cytogenic factors in multiple myeloma

Czynnik	Odsetek chorych
Nieprawidłowości chromosomu 13 Delecja Częściowa lub całkowita utrata	Metoda klasycznej cytogenetyki 17% Metoda FISH 45%
Nieprawidłowości chromosomu 17 Delecja	10%
Aberacje chromosomu 1	10%
Translokacje t(4;14)(p16q32) t(14;16)(q23q32) t(6;14)	15% 5–10% < 5%
Zwiększona ekspresja genów CSK1 B H-RAS RAN ze zmniejszoną ekspresją ZHX - 2 i CHC1L	Nie określono
Hipodiploidia DNA	9%

zahamowanie rozwoju szpiczaka jest możliwe dzięki blokowaniu szlaków sygnałowych indukowanych przez molekuły. Mikrośrodowisko nowotworowe w przypadku szpiczaka tworzą komórki nowotworowe białka macierzy pozakomórkowej i komórki podścieliska szpiku (osteoblasty, osteoklasty). Oddziaływanie między komórkami zależy od molekuł adhezyjnych. Interakcja między komórkami podścieliska i komórkami szpiczakowymi ma kluczowe znaczenie w procesie angiogenezy i apoptozy [10].

Rola angiogenezy i apoptozy

Angiogeneza, czyli proces formowania nowych naczyń, jest niezwykle ważnym czynnikiem karcynogenezy, w tym także rozwoju szpiczaka mnogiego. Jest stałym objawem patomorfologicznym tej choroby. Hamowanie angiogenezy to cel leczenia wielu nowotworów. Jednym z głównych czynników proangiogennych jest czynnik wzrostu śródlonka naczyń (VEGF, *vascular endothelial growth factor*). W przypadku szpiczaka plazmocytoowego obserwuje się zwiększone stężenie VEGF, które wzrasta wraz z progresją choroby. Istnieje wiele nowych leków ukierunkowanych na hamowanie angiogenezy. W leczeniu klinicznym zwykle kojarzone są one z chemioterapią. W tabeli 2. zestawiono leki wykazujące działanie antyangiogenne stosowane w terapii szpiczaka plazmocytoowego.

Choroba przebiegająca z translokacją 4;14 jest jedną z najbardziej agresywnych postaci występującą u blisko

15% chorych na szpiczaka [4]. Translokacja ta powoduje stałą aktywację receptora 3-fibroblastycznego czynnika wzrostu (FGFR3, *fibroblast growth factor receptor*) z fosforylacją następową 3. przekaźnika sygnału i transkrypcji (STAT 3, *signaling transducer and activator of transcription*). Wzmaga on ekspresję białek antyapoptycznych z grupy BCL (*B-cell lymphoma*) i blokuje apoptozę indukowaną przez FAS, prowadząc do nieprawidłowej proliferacji i wydłużając przeżycie komórek nowotworowych [11]. Ponadto jest również mediatorem szlaku sygnałowego zależnego od IL-6 [12–14]. Jego aktywacja jest kluczowa dla transformacji nowotworowej. Zahamowanie FGFR3 może być celem terapii ukierunkowanych z użyciem inhibitorów kinaz tyrozynowych, które stanowią alternatywę dla chorych z translokacjami 6;14, 11; [15, 9].

Mutacje genów rodziny RAS (N, K) są najczęstszymi mutacjami onkogennymi w przypadku szpiczaka [16]. Częstość tych mutacji zwiększa się wraz z progresją choroby i w stanach zaawansowanej postaci szpiczaka sięga prawie 50%. Do aktywacji RAS niezbędne jest wprowadzenie grupy farnezylowej za pośrednictwem transferazy farnezyli [9]. Po aktywacji RAS wiąże się z wewnętrzną częścią błony komórkowej, co ułatwia przewodzenie sygnałów do jądra komórkowego. A zatem zahamowanie farnezytacji RAS może hamować ten proces.

Komórki szpiczaka wykazują antyapoptyczny fenotyp charakteryzujący się dużą ekspresją białka antyapoptycznego BCL-2. Zahamowanie tej ekspresji może również stanowić cel terapeutyczny [17].

Tabela 2. Leki stosowane w terapii szpiczaka mnogiego o działaniu antyangiogennym

Table 2. Antiangiogenic drugs in multiple myeloma treatment

Lek	Molekularny punkt uchwytu	Uwagi	Piśmiennictwo
Talidomid	VEGFR, TNF	Lek zarejestrowany	[22]
Lenalidomid	TNF	Lek zarejestrowany	[26]
Bortezomib	NFκB	Lek zarejestrowany	[20]
Panitumumab	EGFR	II/III faza badania	[19]
Pazopanib	VEGFR, PDGFR, c-kit	III faza badania	[10]
Bewacizumab	VEGF	III faza badania	[19]
Pułapka (trap) VEGF	VEGF	III faza badania	[8]
As ₂ O ₃	BDNF	Lek zarejestrowany	[2]
Kwas zoledronowy	VEGFR-2	Lek zarejestrowany	[19]
ZD 6474 (Zactima)	VEGFR, EGFR	III faza badania	[24]
Kwas walproinowy	VEGFR-1	III faza badania	[10]
Temsirolimus	mTOR	III faza badania	[27]
Resweratrol	VEGF	I faza badania	[3]
CNTO 328	IL-6	III faza badania	[23]

TNF (*tumor necrosis factor*) — czynnik martwicy nowotworu; NFκB (*nuclear factor kappa beta*) — transkrypcyjny czynnik jądrowy κB; VEGFR (*vascular endothelial growth factor*) — receptor czynnika wzrostu śródbłonka naczyń; BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) — neurotroficzny czynnik mózgowo-pochodny; EGFR (*endothelial growth factor receptor*) — receptor naskórkowego czynnika wzrostu; mTOR (*mammalian target of rapamycin*) — ligand dla rapamycyny u ssaków; IL-6 (*interleukin 6*) — interleukina 6

Drogi przewodzenia sygnału w komórce szpiczakowej

Terapia celowana może być również skierowana na cytokiny, takie jak interleukina 6 (IL-6, *interleukin 6*), insulinoподобny czynnik wzrostu 1 (IGF-1, *insuline-like growth factor 1*), VEGF, czynnik martwicy nowotworu (TNF, *tumor necrosis factor*), które aktywują RAS, uruchamiając dwie różne drogi przewodzenia sygnałów komórkowych [18]. Pierwsza z nich to RAF/MEK/MAPK indukująca proliferację komórek szpiczaka. Druga to PI3K/AKT zapobiegająca apoptozie indukowanej przez leki i promieniowanie jonizujące [19, 20]. Droga indukowana przez RAS aktywuje również jądrowy czynnik transkrypcyjny (NFκB, *nuclear factor κB*) i stymuluje endogenne wytwarzanie IL-6.

Interleukiny 6 i 21 uruchamiają trzecią drogę sygnałową JAK/STAT, co hamuje apoptozę, wywołując nadekspresję BCL-XL i blokując receptor FAS [13, 20]. Inne cytokiny, takie jak VEGF i SDF-1 ułatwiają przerzutowanie i aktywują neoangiogenezę, wzmagając migrację komórek nowotworowych [5].

W tabeli 3 zestawiono główne szlaki przewodzenia sygnałów.

Rola apoptozy

Podścielisko szpiku kostnego tworzy szczególnie sprzyjające otoczenie dla komórek szpiczakowych, promując ich proliferację, zapobiegając apoptozie oraz utrudniając lekom cytostatycznym dostęp do nich przez uruchomienie mechanizmu oporności. Leczenie celowane powinno być ukierunkowane na hamowanie apoptozy, aby przeciwdziałać tym niekorzystnym zjawiskom. Pierwsza droga apoptozy indukowana przez „receptory śmierci” jest mediowana przez kaspazę 8 w odpowiedzi na leki uszkadzające DNA. Do tych leków stosowanych w terapii szpiczaka należą talidomid i jego nowe analogi [21, 22]. Nadekspresja FAS, TNFR₁ i TRAIL jest wskaźnikiem aktywacji tej drogi. Jest niezwykle interesujące, że prawidłowe komórki wykazujące ekspresję TRAIL są odporne na sygnały proapoptotyczne, podczas gdy komórki nowotworowe są na nie wrażliwe. A zatem kolejnym celem leczenia szpiczaka mogłoby być stosowanie TRAIL w połączeniu na przykład z talidomidem. Pojawienie się na rynku talidomidu było przełomem w leczeniu opornej/nawrotowej postaci szpiczaka. Talidomid ma plejotropowe działanie zarówno na komórki szpiczakowe, jak i komórki podścieliska szpiku, wzmagając neoangioge-

Tabela 3. Główne szlaki przewodzenia sygnałów w przypadku szpiczaka

Table 3. Main signaling pathways in multiple myeloma

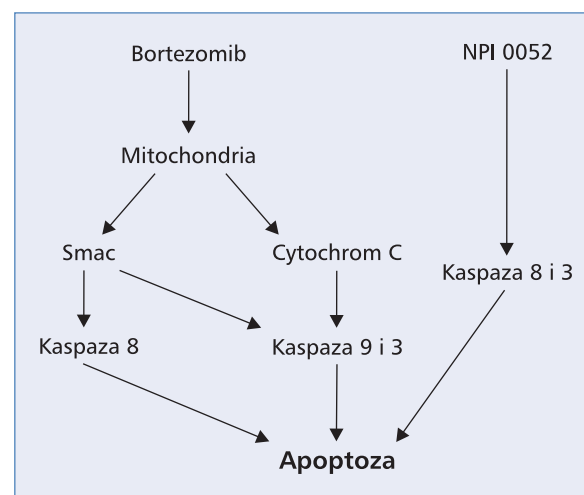
Szlak	Efekt aktywacji
JAK/STAT 3 → BCL-XL MCL 1	Przeżycie komórek Zahamowanie apoptozy
RAF → MEK/ERK	Prolifercja
NFκB → BCL-XL IAP Cyklina D	Przeżycie komórek Zahamowanie apoptozy Prolifercja komórek
MEK/ERK → p 27	Zahamowanie apoptozy
PKC PI3K AKT → kaspaza 9, NFκB, mTOR, BAD	Migracja Prolifercja komórek Zahamowanie apoptozy Cykl komórkowy

nezę oraz hamując apoptozę. Analog talidomidu — lenalidomid — ma znacznie silniejsze działanie, a przy tym nie wywołuje groźnych działań niepożądanych, jakie wiążą się ze stosowaniem talidomidu, takich jak polineuropatia czuciowa czy działanie teratogenne [22].

Drugą drogą wiodącą do apoptozy komórek jest droga mediowana przez aktywację kaspazy 9, inaczej nazywana też drogą mitochondrialną [12]. Szlak ten aktywowany jest między innymi przez deksametazon i trójtlenek arsenu. W czasie aktywacji tej drogi z mitochondriów uwalniane są dwa ważne białka: czynnik indukujący apoptozę (AIF, *apoptosis inducing factor*) i drugi mitochondrialny aktywaor kaspazy (Smac, *second mitochondria derived activator of caspase*), które wiążą i blokują inhibitory apoptozy (IAPs, *inhibitors of apoptosis proteins*).

Należy wspomnieć o bortezomibie, inhibitorze proteasomu, jako nowym leku blokującym obie drogi apoptozy [23]. Odkrycie funkcji proteasomu w komórce, a następnie zsyntetyzowanie jego inhibitorów stanowi kolejny przełom w leczeniu szpiczaka plazmocytoowego. Proteasom to kompleks enzymów obecny w jądrze i cytoplazmie komórki, którego funkcją jest degradacja białek naznaczonych tak zwanym „pocałunkiem śmierci” przez ubiquitynę. Substraty proteasomu są znanymi mediatorami szeregu szlaków metabolicznych w komórce, które w plazmocytach nowotworowych są zaburzone. Proteasom może zwiększać lub zmniejszać apoptozę komórek przez ingerencję w kaskadę kaspaz. Zahamowanie proteasomu wiąże się z zahamowaniem jądrowego czynnika transkrypcyjnego NFκB i prowadzi do apoptozy komórek. Aktywację tego czynnika obserwuje się w nowotworach komórki B, a szczególnie w szpiczaku mnogim, dlatego stosowanie inhibitorów proteasomu w leczeniu celowanym szpiczaka przy-

nosi dobre efekty. Pierwszym inhibitorem proteasomu zastosowanym w leczeniu szpiczaka był bortezomib, lek przeciwnowotworowy o odmiennym od cytostatyków mechanizmie działania, który w sposób selektywny i odwracalny hamuje enzymy wchodzące w skład kompleksu proteasomu. Bortezomib wywiera wielokierunkowe działanie na mechanizmy regulacyjne komórek szpiczakowych i w konsekwencji hamuje kluczowe procesy odpowiedzialne za proliferację nowotworowych plazmocytoów [17]. Obecnie w badaniach klinicznych stosuje się nowe inhibitory proteasomu o komplementarnym działaniu w stosunku do bortezomibu. Na rycinie 1 przedstawiono mechanizm działania inhibitorów proteasomu.



Rycina 1. Mechanizm działania inhibitorów proteasomu
Figure 1. Mechanism of action of proteasome inhibitors

Tabela 4. Zalety połączenia bortezomibu i lenalidomidu

Table 4. Advantages of combining bortezomib and lenalidomid

Synergizm działania

100% odpowiedzi w leczeniu pierwszej linii w tym 71% CR/VGPR

Kombinacja obu leków umożliwia uzyskanie 58% odpowiedzi u chorych opornych na bortezomib lub lenalidomid

W ostatnich doniesieniach podkreśla się niezwykle duży odsetek odpowiedzi leczniczych na łączne stosowanie bortezomibu i lenalidomidu (tab. 4). W przyszłości okaże się, czy zostanie dzięki temu wydłużony czas przeżycia chorych na szpiczaka.

Podsumowanie

Nowe leki ukierunkowane wpływające na komórki nowotworowe i komórki podścieliska szpiku przyczyniły się do zwiększenia odsetka całkowitych remisji i wydłużenia całkowitego czasu przeżycia osób chorych na szpiczaka. Identyfikacja nowych onkogenów i białek umożliwia opracowanie nowych leków przeciwszpiczakowych. Przyszła terapia szpiczaka plazmocytozowego, terapia ukierunkowana molekularnie obejmująca zarówno inhibitory proteasomów, inhibitory białek szoku cieplnego oraz przeciwciała monoklonalne pozwoli uzyskać u większości chorych trwałą remisję całkowitą, co niewątpliwie przyczyni się do dalszego wydłużenia czasu ich przeżycia.

Piśmiennictwo

1. Avet-Loiseau H., Li J.Y., Facon T. i wsp. High incidence of translocations t(11;14)(q13;q32) and t(4;14)(p16;q32) in patients with plasma cell malignancies. *Cancer Res.* 1998; 58: 5640–5645.
2. Cook JR., Hartke M., Pettay J., Tubbs R.R. Fluorescence in situ hybridization analysis of immunoglobulin heavy chain translocations in plasma cell myeloma using intact paraffin sections and simultaneous CD 138 immunofluorescence. *J. Mol. Diagn.* 2006; 4: 459–465.
3. Schmidmaier R., Baumann P. Anti-adhesion evolves to a promising therapeutic concept in oncology. *Curr. Med. Chem.* 2008; 15: 978–990.
4. Liebisch P., Döhner H. Cytogenetics and molecular cytogenetics in multiple myeloma. *Eur. J. Cancer* 2006; 42: 1520–1529.
5. Podar K., Anderson K.C. Inhibition of VEGF signaling pathways in multiple myeloma and other malignancies cell cycle. *Cell Cycle* 2007; 6: 538–5342.
6. Hideshima T., Mitsiades C., Tono G. i wsp. Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *Nat. Rev. Cancer* 2007; 7: 585–598.
7. McCubrey J.A., Steelman L.S., Chappell W.H. i wsp. Roles of the RAF/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformations and drug resistance. *Biochem. Biophys. Acta* 2007; 1773: 1263–1284.
8. Largo C., Alvarez S., Saec B., Blesa D. i wsp. Identification of overexpressed gene in frequently gained/ amplified chromosome regions in multiple myeloma. *Haematologica* 2006; 91: 184–191.
9. Zangari M., Cavallo F., Tricot G. Farnesyltransferase inhibitors and rapamycin in the treatment of multiple myeloma. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2006; 7: 449–453.
10. Hillengass J., Zechmann C.M., Nadler A. i wsp. Gain of 1 q 21 and distinct adverse cytogenetic abnormalities correlate with increased microcirculation in multiple myeloma. *Int. J. Cancer* 2008; 122: 2871–2875.
11. Bhardwaj A., Sethi G., Vadhan-Raj S. i wsp. Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and NFkB regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. *Blood* 2007; 109: 2293–2302.
12. Bommert K., Bargou R., Stühmer T. Signaling and survival pathways in multiple myeloma. *Eur. J. Cancer* 2006; 42: 1574–1580.
13. Löffler D., Brocke-Heidrich K., Pfeifer G. i wsp. Interleukin 6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the STAT 3 mediated induction of mRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* 2007; 110: 1330–1333.
14. Wang Y.D., Hu Y., Sun C.Y et al Involvement of Akt/e NOS in brain derived neurotrophic factor-induced angiogenesis. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi (English abstract)* 2006; 27: 529–533.
15. Gertz M.A., Lacy M.Q., Dispenzieri A. i wsp. Clinical implications of t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16.3;q32) and -17p13 in myeloma patients treated with high dose therapy. *Blood* 2005; 106: 2837–2840.
16. Lombardi L., Poretti G., Mattioli M. i wsp. Molecular characterization of human multiple myeloma cell lines by integrative genomics: insights into the biology of the disease. *Genes Chromosomes Cancer* 2007; 46: 226–238.
17. Cavo M. Proteasome inhibitor bortezomib for the treatment of multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 8: 1341–1352.
18. Zöllinger A., Stühmer T., Chatterjee M. i wsp. Combined functional and molecular analysis of tumor cell signaling defines 2 distinct myeloma subgroups. Akt dependent and Akt independent multiple myeloma. *Blood* 2008; 112: 3403–3401.
19. Chatterjee M., Jain S., Stümer T. i wsp. STAT3 and MAPK signaling maintain overexpression of heat shock proteins 90 alpha and beta in multiple myeloma cells, which critically contribute to tumor-cell survival. *Blood* 2007; 109: 720–728.
20. McCubrey J.A., Steelman L.S., Abrams S.L. i wsp. Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation in drug resistance. *Adv. Enzyme Reg.* 2006; 46: 249–279.
21. Singhal S., Mehta J., Desican R. i wsp. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *NEJM* 1999; 341: 1565–1571.
22. Weber D.M., Chen C., Niesvizky R. i wsp. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *NEJM* 2007; 357: 2133–2142.
23. Richardson P.G., Sonnevill P., Schuster M.W. i wsp. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *NEJM* 2005; 352: 2487–2498.
24. Bergsagel P.L. Individualizing therapy using molecular markers in multiple myeloma. *Clin. Lymphoma Myeloma* 2007; supl. 4: 170.
25. Fonseca R., Stewart A.K. Targeted therapeutics for multiple myeloma: the arrival of a risk stratified approach. *Mol. Cancer Ther.* 2007; 6: 802–810.
26. Podar K., Chauhan D., Anderson K.C. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy. *Leukemia* 2008; 9 (epub ahead of print).
27. Voorhees P.M., Chen Q., Kuhn D.J. i wsp. Inhibition of Il-6 signaling with CNTO 328 enhances the activity of bortezomib in preclinical models of multiple myeloma. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 6469–6478.
28. Voorhees P.M., Orlowski R.Z. Emerging role of novel combinations for induction therapy of multiple myeloma patients. *Clin. Lymphoma Myeloma* 2006; 7: 33–42.