Współczesna Onkologia (2002) vol. 6; 10 (644–652)

Mechanizmy rozwoju przerzutów nowotworowych do kości – cel dla nowoczesnego leczenia

Mechanisms of metastatic bone disease – target for modern treatment

Wojciech Z. Pawlak, Cezary Szczylik

Klinika Onkologii, Centralny Szpital Kliniczny, Wojskowa Akademia Medyczna w Warszawie

Problem przerzutów nowotworowych do kości dotyczy przede wszystkim chorych z rakiem piersi, prostaty, nerki i płuca. Leczenie przerzutów do kości jest w wielu nowotworach skuteczniejsze w porównaniu z leczeniem choroby uogólnionej o innej lokalizacji. Wpływ na taką sytuację ma wykorzystanie możliwości ingerencji w mechanizmy biologiczne, leżące u podłoża rozwoju i progresji zmian przerzutowych w kościach. Początkowe etapy tworzenia przerzutów są wspólne dla zmian o różnej lokalizacji. Natomiast w fazie inwazji tkanki docelowej i wzrostu przerzutu w kości, podstawowe znaczenie ma zachwianie równowagi pomiędzy działaniem osteoklastów i osteoblastów. Bezpośrednie niszczenie kości przez naciekające komórki nowotworowe ma stosunkowo niewielkie znaczenie. Zarówno w rozwoju osteolizy, jak i w początkowej fazie tworzenia przerzutów o charakterze osteosklerotycznym główna rola w destrukcji tkanki kostnej przypada aktywowanym osteoklastom. Do głównych aktywatorów osteolizy w chorobach nowotworowych należą: białko podobne do parathormonu (PTHrP), interleukina-1, interleukina-6, ligand receptora aktywującego NF-kappaB (RANKL), oraz białko zapalne makrofagów – 1α (MIP-1α). Rolę ochronną przed nadmierną aktywnością RANKL pełni osteoprotegeryna, która działa jako rozpuszczalny receptor wiążący się z RANKL. W rozwijającym się przerzucie wytwarzają się dodatnie sprzężenia zwrotne pomiędzy komórkami nowotworowymi i osteoklastami – komórki nowotworu produkują czynniki aktywujące osteoklasty, a te z kolei wytwarzają czynniki wzrostu stymulujące proliferację guza. Przerwanie tego błędnego koła jest warunkiem zahamowania wzrostu i spowodowania regresji zmian przerzutowych w kościach. Dwufosfoniany są pierwszą grupą leków ingerujących bezpośrednio i swoiście w mechanizmy kluczowe dla

KOŚĆ JAKO STRUKTURA DYNAMICZNA

Tkanka kostna podlega stałej przebudowie. W miejscach aktywnej przebudowy (ang. *bone remodeling units* – BRU) przez całe życie człowieka toczy się proces przebudowy wewnętrznej tkanki kostnej (ang. *bone remodeling*). Proces ten polega na cyklicznej resorpcji (osteoliza) i odtwarzaniu (osteogeneza, kościotworzenie) tkanki kostnej [3].

Przebudowa wewnętrzna tkanki kostnej jest precyzyjnie regulowana na dwóch zasadniczych poziomach:

1) stymulatory oraz inhibitory resorpcji tkanki kostnej i kościotworzenia oddziałują z zewnątrz na układ osteoblastów i osteoklastów,
2) system sprzężeń zwrotnych pozwala na wzajemną kontrolę czynności osteoblastów i osteoklastów.

W warunkach prawidłowych procesy osteolizy i osteogenezy pozostają w stanie równowagi dynamicznej. Osteoblasty aktywują czynniki stymulujące osteoklasty, a te z kolei po uruchomieniu osteolizy oddziałują hamująco na osteoblasty (ryc. 1.).

Szereg hormonów, cytokin i innych biologicznie czynnych związków bierze udział w regulacji przebudowy wewnętrznej kości (tab. 1. i 2.). Niektóre z tych substancji (np. interleukina-1 lub czynnik wzrostowy fibroblastów – FGF) mogą wykazywać odmienny wpływ zależnie od stężenia lub miejsca działania.

W kontekście powstawania przerzutów nowotworowych w kościach podstawowe znaczenie ma zrozumienie roli osteoklastów w procesie przebudowy tkanki kostnej. Aktywacja osteoklastów powoduje wytworzenie na ich powierzchni tzw. rąbka szczoteczkowego. Następnie aktywowany osteoklast wytwarza szereg proteaz, głównie katepsyn i metaloproteinaz, które ulegają aktywacji w kwaśnym środowisku zewnątrzkomórkowym pod powierzchnią rąbka szczoteczkowego [4]. Za zakwaszanie przestrzeni zewnątrzkomórkowej odpowiada enzym anhydraza węglanowa II, który katalizuje reakcję wytwarzania jonów wo-

aktywacji procesu niszczenia kości w przebiegu przerzutów.
Guzy przerzutowe są najczęstszymi zmianami nowotworowymi w układzie kostnym. Z kolei raki piersi, prostaty, płuca i nerki są tymi nowotworami, które w swoim przebiegu najczęściej dają przerzuty odległe do kości [1]. Około 60 proc. zmian przerzutowych w układzie kostnym lokalizuje się w kręgosłupie. Pozostałe zmiany występują najczęściej w kościach miednicy, czaszce, mostku, żebrach oraz w obrębie bliższych odcinków kości udowych [2].
Poznanie mechanizmów rządzących powstawaniem i rozwojem przerzutów nowotworowych do kości pozwoliło na wdrożenie skutecznych sposobów leczenia. Dwufosfoniany zajmują pozycję szczególną. Leki te działają hamująco zarówno na osteoklasty, jak i na komórki nowotworowe. Możliwość farmakologicznego blokowania czynności osteoklastów spowodowała przełom w podejściu do leczenia chorych z przerzutami w układzie kostnym.

Słowa kluczowe: rak, przerzuty do kości, mechanizmy molekularne, leczenie, dwufosfoniany.

Tab. 1. Stymulatory i inhibitory resorpcji tkanki kostnej

STYMULATORY
parathormon
białko podobne do parathormonu (PTHrP)
$1,25(OH)_2D_3$
czynniki wzrostu – PDGF, HGF, IGF-IV
RANKL
białko zapalne makrofagów – MIP-1α
czynniki martwicy nowotworów (TNFs)
M-CSF, GM-CSF
IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, IL-18
metaloproteinazy – MMP1, MMP2, MMP9
prostaglandyny
glikokortykoidy
hormony tarczycy
INHIBITORY
osteoprotegeryna
TGF-β
interferon-γ
czynnik hamujący białaczkę (LIF)
kalcytonina
estrogeny

dorowych [5]. Enzymy wytwarzane przez osteoklasty powodują degradację macierzy kostnej poprzez rozpuszczanie substancji mineralnej i trawienie kolagenu.

POWSTAWANIE I ROZWÓJ PRZERZUTU W TKANCE KOSTNEJ

Początkowe etapy tworzenia przerzutu są w przypadku kości takie same, jak podczas powstawania przerzutów o innej lokalizacji: komórki nowotworowe naciekają ściany naczyń krwionośnych, przedostają się do ich światła, następnie z prądem krwi wędrują do miejsc powstawania przerzutów, gdzie przechodzą do przestrzeni okołonaczyniowej [6]. Jednakże w tkance kostnej niezmiernie istotne są 2 elementy:

1) kluczowa rola osteoklastów w procesie rozwoju przerzutów

oraz

2) wpływ komórek podścieliska szpiku kostnego na aktywację osteoklastów.

Oba wymienione zjawiska nie występują w przypadku przerzutów zlokalizowanych poza układem kostnym.

Obecność komórek nowotworowych w obrębie tkanki kostnej zaburza naturalną równowagę między osteolizą i osteogenezą (ryc. 2.). Kluczową rolę odgrywają tu czynniki stymulujące osteoklasty. Białko podobne do parathormonu (PTHrP) oraz interleukiny (szczególnie Il-1, Il-6 i Il-11) stymulują osteoklasty przede wszystkim na drodze pośredniej – poprzez oddziaływanie na osteoblasty i komórki podścieliska szpiku [7–9]. Pod wpływem wymienionych czynników dochodzi

Bone is the third most common organ subject to by cancer metastases. Breast, prostate, lung and renal cancers metastasize to the bone most frequently. The results of metastatic bone disease treatment are better in comparison to metastases developed in other organs. It is possible by dint of understanding the molecular and cellular mechanisms specially involved in metastases to the bones. The initial stages of metastases formation are similar in tumors with different localization. However, bone invasion is dependent on the imbalance between osteoblast and osteoclast function. Direct destruction of bone by cancer cells is not very important. Activated osteoclasts play a pivotal role in both osteolytic, and initial steps of osteoblasic metastases. There are several most important factors involved in the osteoclast activation in-patients with neoplasia: parathyroid hormone-related protein (PTHrP), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL), and macrophage inflammatory protein-1-alpha (MIP-1α). RANKL activity can be blocked by osteoprotegerin (OPG), its soluble decoy receptor. Several positive feedbacks are made in developed bone metastases: cancer cells secrete osteoclast-activating factors that induce bone resorption, while increased bone resorption releases growth factors enhancing tumor growth. The disruption of this „vicious cycle" is the condition of successful treatment of patients with the metastatic bone disease. Bisphosphonates are the first drugs, which specifically block cellular signaling mechanisms involved in the cancer-induced bone disease.

Key words: cancer, metastatic bone disease, molecular mechanisms, treatment, bisphosphonates.

do silnej ekspresji cząsteczek RANKL (ligand RANK) na powierzchni osteoblastów i komórek podścieliska. RANKL wiąże się ze swoim receptorem RANK (receptor aktywujący czynnik transkrypcyjny NF-κB), obecnym u dużej ilości na powierzchni osteoklastów i ich prekursorów. Z kolei NF-κB aktywuje ekspresję szeregu genów, co prowadzi zarówno do przyspieszenia dojrzewania prekursorów osteoblastów, jak i do aktywacji czynności osteolitycznej form dojrzałych [4, 9]. Prawdopodobnie bardzo ważną rolę w procesie nadmiernej aktywacji osteoklastów przez RANKL odgrywa niedobór osteoprotegeryny (OPG), która jest rozpuszczalnym receptorem wiążącym się z RANKL i blokującym jego dostęp do RANK [10].

Niszczenie tkanki kostnej przez osteoklasty powoduje uwolnienie dużych ilości czynników wzrostu, przede wszystkim TGF-β i IGF. Cytokiny te mają nie tylko hamujący wpływ na osteolizę (TGF-β) lub stymulujący – na kościotworzenie (IGF), ale są również silnymi stymulatorami wzrostu komórek nowotworowych [11–13]. Ich uwalnianie podczas osteolizy jest prawdopodobnie kluczowym elementem hipotezy *błędnego koła* [4, 9], która zakłada istnienie dodatniego sprzężenia zwrotnego między komórkami nowotworowymi, osteoblastami, komórkami podścieliska szpiku kostnego i osteoklastami (ryc. 2.).

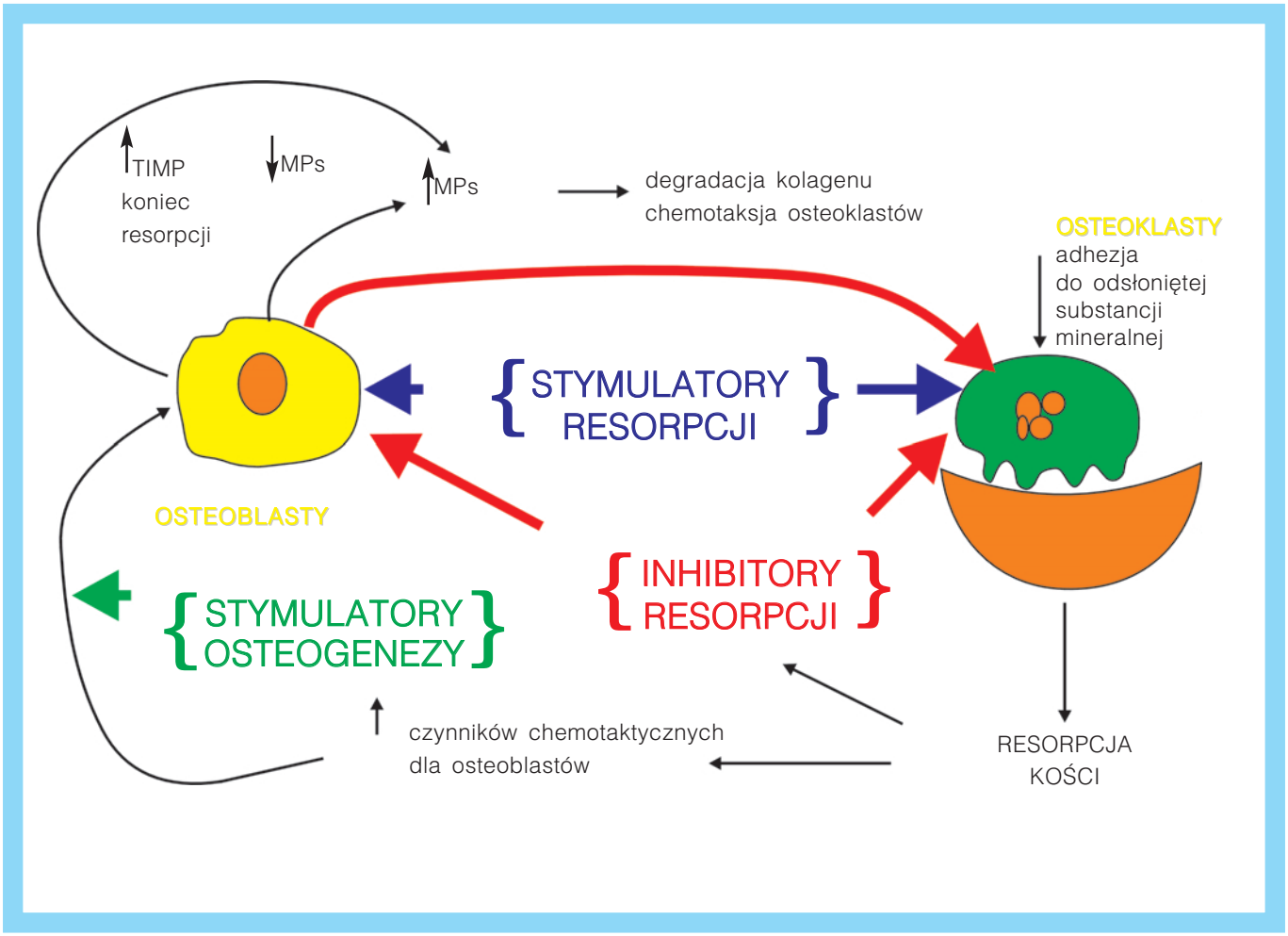
Opisane powyżej mechanizmy dotyczą przede wszystkim przerzutów o charakterze osteolitycznym. Mechanizm rozwoju przerzutów osteosklerotycznych jest słabiej poznany. Istotnym stymulatorem kościotworzenia jest endotelina-1, której stężenie w surowicy krwi obwodowej jest podwyższone u pacjentów z przerzutami osteoblastycznymi w przebiegu raka prostaty [14]. Jednakże istnieją dane świadczące o istotnej roli aktywacji osteoklastów w powstawaniu przerzutów osteoblastycznych – przynajmniej w początkowej fazie tego procesu. U chorych z przerzutami osteoblastycznymi raka prostaty stwierdzano zwiększone stężenie markerów osteolizy w surowicy w porównaniu z osobami zdrowymi oraz z pacjentami bez przerzutów do kości [15, 16]. Natomiast na zwierzęcym modelu przerzutów osteoblastycznych ludzkiego raka piersi wykazano, że proces kościotworzenia jest poprzedzony fazą dość intensywnej destrukcji tkanki kostnej w procesie osteolizy [17].

Tab. 2. Stymulatory i inhibitory kościotworzenia

STYMULATORY
PDGF
TGF-β
białka morfogenetyczne kości – BMPs
IGF-I, IGF-II
FGFs
IL-1
endotelina-1
prostaglandyny
hormony tarczycy
INHIBITORY
FGFs
glikokortykoidy
IL-1
prostaglandyny

DWUFOSFONIANY – CELOWANE LECZENIE PRZERZUTÓW DO KOŚCI

Przedstawione powyżej dane świadczą o kluczowej roli osteoklastów w procesie powstawania i rozwoju przerzutów nowotworowych do kości. Zatem zahamowanie czynności tych komórek powinno bardzo korzystnie oddziaływać na wyniki leczenia. Zrozumienie roli osteoklastów w przerzutach do kości pozwoliło na wynalezienie grupy leków, których mechanizm działania jest szczególnie przydatny w leczeniu chorych z rozsiewem nowotworu do układu kostnego. Tymi lekami są dwufosfoniany.



Ryc. 1. Mechanizmy regulujące przebudowę wewnętrzną kości (opis w tekście). TIMP – tkankowy inhibitor metaloproteinazy; MPs – metaloproteinazy

Ich cechą charakterystyczną jest wiązanie się z odsłoniętą w procesie osteolizy substancją mineralną kości [18].

Mechanizm działania dwufosfonianów jest różny w zależności od ich budowy chemicznej [19]:

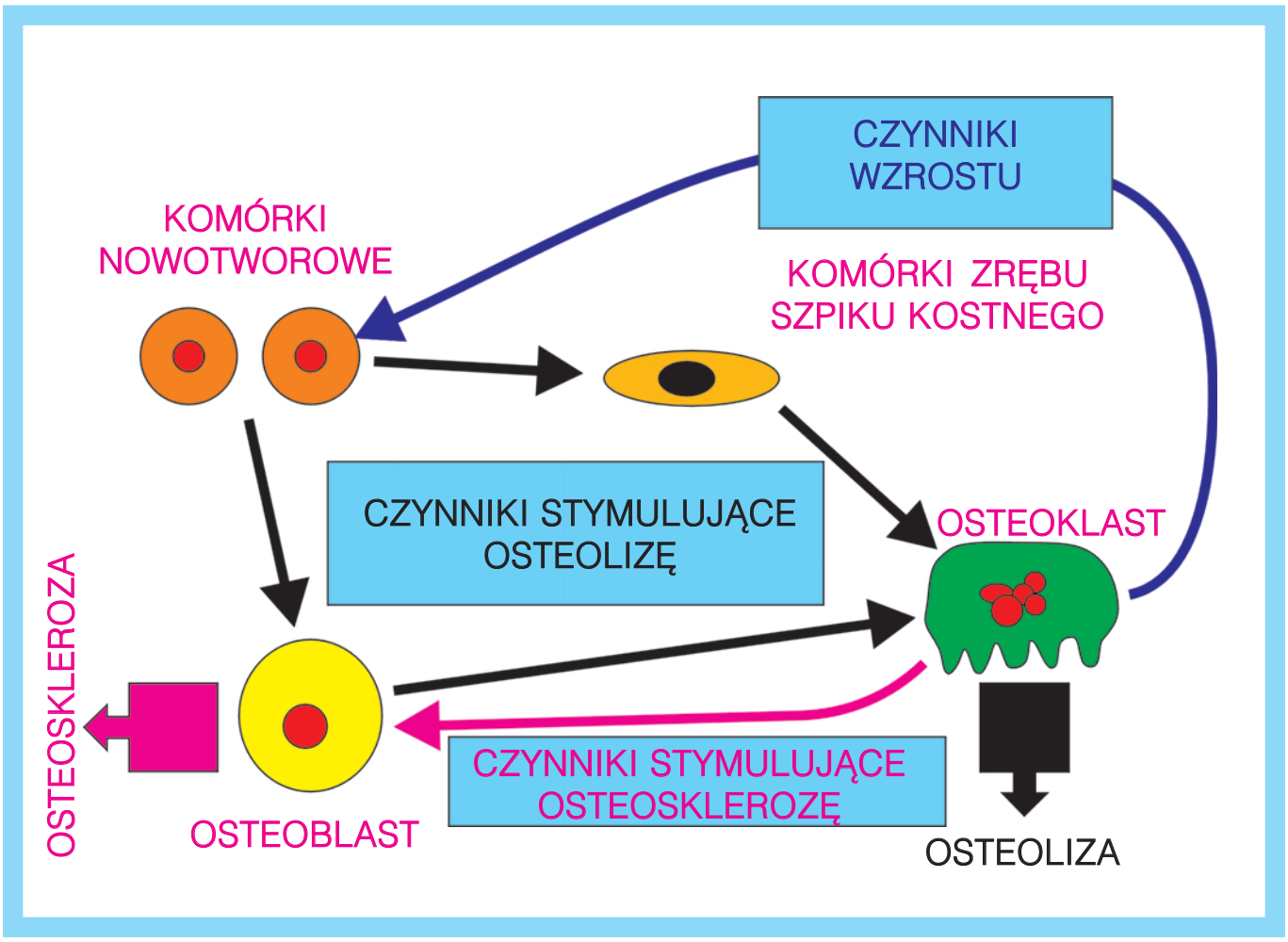
1) związki niezawierające azotu w cząsteczce (klodronian, etidronian, tiludronian) są metabolizowane przez osteoklasty *in vivo* do cytotoksycznych analogów ATP, które hamują zużycie tlenu w mitochondriach,
2) związki zawierające azot w cząsteczce (pamidronian, alendronian, ibandronian, risedronian, zoledronian) hamują syntazę dwufosforanu farnezylu, co powoduje zahamowanie potranslacyjnej modyfikacji (prenylacji) białek wiążących GTP, takich jak Ras, Rho i Rac.

Działanie dwufosfonianów na poziomie molekularnym przekłada się na efekty komórkowe [4, 9, 18, 20, 21]:

1) zahamowanie czynności i indukcja apoptozy osteoklastów,
2) zahamowanie wzrostu i indukcja apoptozy komórek nowotworowych,
3) hamowanie adhezji komórek raka piersi i raka prostaty do tkanki kostnej,
4) działanie synergistyczne z leczeniem przeciwnowotworowym (chemioterapia i hormonoterapia) – dwufosfoniany jako biologiczne modyfikatory odpowiedzi w raku piersi,
5) hamowanie angiogenezy.

Zatem dwufosfoniany są lekami, których działanie jest bardzo dobrze dostosowane do kluczowych mechanizmów, biorących udział w powstawaniu i rozwoju przerzutów nowotworowych w układzie kostnym. Znajduje to potwierdzenie w korzyściach klinicznych wynikających z ich stosowania [22]:

1) normalizacja poziomu wapnia w przebiegu hiperkalcemii (niezależnie od obecności przerzutów w układzie kostnym),
2) działanie przeciwbólowe u pacjentów z przerzutami do kości,
3) zmniejszenie liczby powikłań przerzutów do kości, głównie złamań patologicznych i incydentów hiperkalcemii,
4) zmniejszenie ryzyka wystąpienia nowych przerzutów do kości oraz wydłużenie czasu do progresji w przypadku przerzutów już istniejących,
5) zmniejszenie umieralności pacjentek bez przerzutów do kości po radykalnym leczeniu raka piersi – przy doustnym przyjmowaniu klodronianu przez 2 lata,



Ryc. 2. Hipoteza *błędnego koła* w przerzutach nowotworowych do kości (opis w tekście)

6) redukcja liczby powikłań wynikających z obecności osteoporozy.

PODSUMOWANIE

Poznanie patomechanizmów komórkowych i molekularnych zaangażowanych w powstawanie i rozwój przerzutów nowotworowych do kości jest dobitnym przykładem wykorzystania rezultatów badań doświadczalnych bezpośrednio dla celów medycyny klinicznej. Obecnie coraz częściej zwraca się uwagę na możliwość tworzenia nowych leków, czy wręcz nowych strategii leczenia, w oparciu o wyniki badań podstawowych, mających na celu określenie, jakie konkretne mechanizmy leżą u podłoża danego stanu patologicznego. Kolejnym etapem jest poszukiwanie i projektowanie takich substancji, które będą specyficznie oddziaływać na poznane mechanizmy molekularne. Taka strategia postępowania bardzo często prowadzi do sukcesu – badana substancja pomyślnie przechodzi kolejne etapy badań klinicznych i zostaje wprowadzona jako nowy lek do codziennej praktyki lekarskiej.

PIŚMIENNICTWO

1. Galasko C. *Incidence and distribution of skeletal metastases.* Clin Orthop 1986; 210: 14-22.
2. Dominok GW, Knoch HG. *Nowotwory i guzopodobne choroby kości.* PZWL, Warszawa 1985.
3. Dziedzic-Gocławska A. *Tkanka kostna.* W: *Histologia.* K. Ostrowski (red.) Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995; 244-305.
4. Roodman GD. *Biology of osteoclast activation in cancer.* J Clin Oncol 2001; 19: 3562-71.
5. Sly WS, Whyte MP, SundaramV, et al. *Carbonic anhydrase II deficiency in 12 families with the autosomal recessive syndrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification.* N Engl J Med 1985; 313: 139-45.
6. Fidler IJ. *Modulation of the organ microenvironment for treatment of cancer metastasis.* J Natl Cancer Inst 1995; 87: 1588-92.
7. Guise TA, Yin JJ, Taylor SD, et al. *Evidence for a causal role of parathyroid hormone-related protein in breast cancer-mediated osteolysis.* J Clin Invest 1996; 98: 1544-8.
8. Pederson L, Winding B, Foged NT. *Identification of breast cancer cell line--derived paracrine factors that stimulator osteoclast activity.* Cancer Res 1999; 59: 5849-55.
9. Mundy GR. *Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities.* Nature Rev 2002; 2: 584-93.
10. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. *Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): A mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro.* Endocrinology 1998; 139: 1329-37.
11. Pfeilschifter J, Mundy GR. *Modulation of transforming growth factor beta activity in bone cultures by osteotropic*

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

Współczesna Onkologia publikuje prace oryginalne z dziedziny onkologii doświadczalnej i klinicznej (w tym opisy przypadków), artykuły przeglądowe, streszczenia ze zjazdów i konferencji oraz listy do redakcji. Oryginalny manuskrypt, dwie kopie oraz 3,5 in. dyskietka zawierająca tekst pracy powinny być przesłane pod adresem redakcji lub pod adresem:

prof. Andrzej Mackiewicz
Zakład Immunologii Nowotworów
Wielkopolskie Centrum Onkologii
ul. Garbary 15, 61-866 Poznań
tel. 0 (prefiks) 61 854 06 65;
fax 0 (prefiks) 852 85 02
e-mail: amac@amu.edu.pl

Artykuły powinny być napisane w języku polskim i być zorganizowane w następujący sposób:

1) tytuł (w języku polskim i angielskim);
2) imiona, nazwiska i tytuły naukowe autorów;
3) instytucja, w której praca została wykonana;
4) streszczenia w języku polskim i angielskim (maksimum 250 słów, nie mniej niż 200);
5) słowa kluczowe (polskie i angielskie);
6) wstęp;
7) materiał i metody;
8) wyniki;
9) omówienie wyników;
10) podziękowania;
11) piśmiennictwo;
12) pełny adres głównego autora (również numer telefonu, faksu i e-mail).

Objętość tekstu wraz z rycinami nie powinna przekraczać 6 stron maszynopisu. Listy do redakcji nawiązujące lub nie do zamieszczonego artykułu nie powinny przekraczać 1 strony maszynopisu. Mogą zawierać 1 rycinę lub tabelę.

Bibliografia w tekście powinna być numerowana według kolejności cytowania. Numery przypisane odpowiednim pozycjom podajemy w nawiasach kwadratowych. Pozycje piśmiennictwa powinny zawierać nazwiska i inicjały autorów (w wypadku gdy liczba autorów przekracza 8, przedstawiamy 3 pierwsze nazwiska oraz „i wsp."), tytuł artykułu, skrót nazwy pisma (wg Index Medicus), rok wydania, wolumen oraz strony (pierwszą i ostatnią). Rozdziały w książkach lub monografie powinny być cytowane w następujący sposób: nazwisko i inicjały autorów, tytuł rozdziału, tytuł książki, nazwisko i inicjał redaktora książki, wolumen, nazwa wydawcy, miejsce wydania, rok, strony.

Przykłady:

artykuł: Paskiewitz S, Riehle MA. *Response of Plasmodium refractory and susceptible strains of Anopheles gambiae to inoculated Sephadex beads.* Dev Comp Immunol 1994; 18: 369–75.

książki: Zatoński WA. *Nowotwory złośliwe w Polsce.* Wiedza i Życie, Warszawa 1993.

Rozdziały w książkach: Schranz D, Morkowski S, Abelev G. *Affinity isotachoforesis on porous membranes.* W: *Affinity electrophoresis: principles and application,* J. Bręborowicz, A. Mackiewicz (red.) CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London 1992; 61–70.

Ryciny mogą być przygotowane w formie czarno-białej lub w kolorze. W wypadku przygotowania w formie elektronicznej ryciny powinny być zapisane w jednym z wymienionych formatów: cdr, tiff, jpg, ai lub eps. Natomiast fotografie przesyłane do nas w formie elektronicznej powinny posiadać rozdzielczość 300 dpi oraz rozszerzenia tiff lub jpg. Tabele powinny być dostarczone w formie maszynopisu i zawierać tytuł w języku polskim i angielskim (również na dyskietce). Opisy do rycin i tabel (w języku polskim i angielskim) powinny być załączone na oddzielnych stronach.

Redakcja

hormones. Proc Natl Acad Sci U S A 1987; 84: 2024-8.
12. Rasmussen AA, Cullen KJ. *Paracrine/autocrine regulation of breast cancer by the insulin-like growth factors.* Breast Cancer Res Treat 1998; 47: 219-33.
13. Yu H, Rohan T. *Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression.* J Natl Cancer Inst 2000; 92: 1472-89.
14. Nelson JB, Hedican SP, George DJ, et al. *Identification of endothelin-1 in the pathophysiology of metastatic adenocarcinoma of the prostate.* Nature Med 1995; 1: 944-9.
15. Nemoto R, Nakamura I, Nishijima Y, et al. *Serum pyridinoline crosslinks as markers of tumour-induced bone resorption.* Br J Urol 1997; 80: 274-80.
16. Maeda H, Koizumi M, Yoshimura K, et al. *Correlation between bone metabolic markers and bone scan in prostatic cancer.* J Urol 1997; 157: 539-43.
17. Yi B, Williams PJ, Niewolna M, et al. *Evidence that osteolysis precedes osteoblastic lesions in a model of human osteoblastic metastasis.* J Bone Miner Res 2000; 15: S177.
18. Berruti A, Dogliotti L, Tucci M, et al. *Metabolic bone disease induced by prostate cancer: rationale for the use of bisphosphonates.* J Urol 2001; 166: 2023-31.
19. Rogers MJ, Watts DJ, Russell RG. *Overview of bisphosphonates.* Cancer 1997; 80 (suppl 8): 1652-60.
20. Yoneda T, Michigami T, Yi B, et al. *Use of bisphosphonates for the treatment of bone metastasis in experimental animal models.* Cancer Treat Rev 1999; 25: 293-9.
21. van der Pluijm G, Lowik C, Papapoulos S. *Tumour progression and angiogenesis in bone metastases from breast cancer: new approaches to an old problem.* Cancer Treat Rev 2000; 26: 11-27.
22. Pawlak WZ, Szczylik C. *Zasady rozpoznawania i leczenia przerzutów nowotworowych do kości.* Standardy Medyczne (w druku).

ADRES DO KORESPONDENCJI
dr med. Wojciech Z. Pawlak
Klinika Onkologii
Centralny Szpital Kliniczny
Wojskowej Akademii Medycznej
ul. Szaserów 128
00-909 Warszawa
e-mail: wojpaw@cskwam.mil.pl