

ARTUR JURCZYSZYN, ALEKSANDER B. SKOTNICKI

Proteasome Inhibition as a Novel Therapeutic Target in Neoplastic Diseases

Zastosowanie inhibitorów proteasomów w chorobach nowotworowych

Katedra i Klinika Hematologii CM UJ, Kraków

Streszczenie

Proteasom 26S jest dużą, wewnątrzkomórkową proteazą, rozpoznającą i degradującą białka zaznaczone przez układ ubikwityny do zniszczenia. Właściwa degradacja białek komórkowych ma znaczenie dla czynności komórek prawidłowych, a inhibicja szlaku proteasomów prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego i apoptozy. Zaburzenia regulacji tego układu enzymatycznego mogą również odgrywać rolę w rozwoju nowotworu i oporności na leki, co czyni inhibicję proteasomów nowym celem terapeutycznym. Bortezomib – dipeptyd kwasu boronowego, bezpośrednio inhibujący kompleks enzymatyczny, jest pierwszym inhibitorem proteasomów, który wszedł do praktyki klinicznej. Ostatnio wykazano aktywność bortezomibu w kilku typach nowotworów, co potwierdza wartość terapeutyczną hamowania proteasomów w tych chorobach u człowieka. Został zatwierdzony w 2003 r. do leczenia opornego szpiczaka mnogiego (MM), a u około jednej trzeciej pacjentów z nawrotem MM nastąpiła remisja lub stabilizacja choroby, co stwierdzono w dużych badaniach klinicznych. Mechanizm działania bortezomibu jest częściowo monitorowany przez inhibicję czynnika jądrowego-kappa B, prowadząc do apoptozy, zmniejszenia ekspresji cytokin angiogennych i hamowania przylegania komórek nowotworowych do zrębu. Obecnie trwają badania kliniczne nad zastosowaniem bortezomibu w MM i w innych nowotworach złośliwych. W artykule omówiono inhibicję proteasomów jako nowy cel terapeutyczny, skupiając się na mechanizmach działania i aktualnych doświadczeniach klinicznych z bortezomibem (*Adv Clin Med* 2006, 15, 2, 309–320).

Słowa kluczowe: inhibicja proteasomów, bortezomib, szpiczak mnogi, NF-κB.

Abstract

The 26S proteasome is a large intracellular protease that identifies and degrades proteins tagged for destruction by the ubiquitin system. The orderly degradation of cellular proteins is critical for normal cell cycling and function, and inhibition of the proteasome pathway results in cell-cycle arrest and apoptosis. Dysregulation of this enzymatic system may also play a role in tumor progression, drug resistance, and altered immune surveillance, making the proteasome an appropriate and novel therapeutic target in cancer. Bortezomib is the first proteasome inhibitor to enter clinical practice. It is a boronic acid dipeptide that binds directly with and inhibits the enzymatic complex. Bortezomib has recently shown significant preclinical and clinical activity in several cancers, confirming the therapeutic value of proteasome inhibition in human malignancy. It was approved in 2003 for the treatment of advanced multiple myeloma (MM), with approximately one third of patients with relapsed and refractory MM showing significant clinical benefit in a large clinical trial. Its mechanism of action is partly mediated through nuclear factor-kappa B inhibition, resulting in apoptosis, decreased angiogenic cytokine expression, and inhibition of tumor cell adhesion to stroma. Several clinical trials are currently ongoing in MM as well as several other malignancies. This article discusses proteasome inhibition as a novel therapeutic target in cancer and focuses on the development, mechanism of action, and current clinical experience with bortezomib (*Adv Clin Med* 2006, 15, 2, 309–320).

Key words: proteasome inhibition, bortezomib, multiple myeloma, NF-κB.

Wielokatalityczny szlak ubikwityna–proteasomy odpowiada za degradację białek komórkowych [1]. Proces ten jest zależny od adenozyno-5'-trójfosforanu i jest właściwy dla prawidłowych cykli

komórkowych, co czyni inhibicję proteasomów nowym celem terapeutycznym w komórkach nowotworowych. Bortezomib jest pierwszym inhibitorem szlaku proteasomów, który wszedł do prak-

19S [1, 4, 7]. Składa się z dwóch zewnętrznych i dwóch wewnętrznych pierścieni, które są ułożone tak, że formują strukturę cylindryczną mającą trzy przedziały [8]. Każdy pierścień zewnętrzny ma siedem podjednostek alfa ($\alpha 1$ – $\alpha 7$), a każdy pierścień wewnętrzny zawiera siedem podjednostek beta ($\beta 1$ – $\beta 7$). Kompleks proteasomowy 20S ma aktywności chymotrypsyno-, trypsyno- i kaspazopodobne [7]. Konformacyjnie jest elastyczny; aktywne miejsca katalityczne są umiejscowione na wewnętrznej powierzchni cylindra, gdzie wiążą się substraty białkowe [9].

Białka znakowane ubikwityną są rozpoznawane przez kompleks regulatorowy 19S, gdzie też następuje usuwanie znaczników ubikwitynowych. ATP-azy o aktywności *chaperono*-podobnej u podstawy kompleksu regulatorowego 19S rozwijają następnie substraty białkowe i wprowadzają je do wewnętrznych przedziałów katalitycznych cylindra proteasomowego 20S [10]. Otwór wejściowy do komory katalitycznej 20S jest mały (około 1,3 nm) i jest konieczne znaczne rozwinięcie substratu [9]. Otworu wejściowego strzeże także bramka molekularna (N-końcowy fragment łańcucha podjednostki $\alpha 3$), ale jest ona konstytutywnie otwarta, kiedy podjednostki regulatorowe 19S są związane z proteasomem 20S [11]. Białka wchodzące do komory wewnętrznej ulegają hydrolizie przez sześć aktywnych miejsc proteolitycznych w podjednostkach β (dwa miejsca na każdej podjednostce $\beta 1$, $\beta 2$ i $\beta 5$) na małe polipeptydy o zakresie długości 3–22 aminokwasów [1, 9]. Białka nie mogą wchodzić do wewnętrznego cylindra przez zewnętrzne ściany proteasomu 20S, ponieważ szczeliny między pierścieniami są wąskie.

Inhibitory proteasomów

Degradacji przez szlak proteasomów ulega kilka białek regulatorowych, supresorów nowotworowych, czynników transkrypcyjnych i onkogenów (tab. 1). Inhibicja proteasomów może prowadzić do apoptozy przez wpływ na stężenia różnych białek, co wywołuje inhibicję aktywności NF- κ B, zwiększenie aktywności białek p53 i Bax oraz akumulację białek p27 i p21 inhibitorów cyklinozależnych kinaz [7]. Badania przedkliniczne wykazują, że komórki nowotworów złośliwych, wykazujące aktywność, proliferując są bardziej podatne na inhibicję proteasomów niż komórki prawidłowe [1].

Stworzono i opisano liczne inhibitory proteasomów [4, 7, 13]. Imajoh-Ohmi et al. [14] wykazali, że laktacystyna (nieodwracalny inhibitor podjednostki katalitycznej β proteasomu) indukuje apoptozę ludzkich komórek monoblastycznych U937. Następnie Shinohara et al. [15] wykazali, że

benzylooksykarbonylo-(Z)-Leu-Leu-leucynal (tripeptydowo-aldehydowy inhibitor proteasomów) indukuje w komórkach białaczkowych apoptozę zależną od białka p53. Powyższe oraz inne badania dostarczyły zasadniczych dowodów na to, że proteasomy są ważnym celem leczenia przeciwnowotworowego, dostępnym inhibitorem brakuje jednak swoistości [4, 7]. Dlatego też Adams et al. [16] zaprojektowali i stworzyli kilka związków będących pochodnymi kwasu boronowego, hamujących szlak proteasomów w sposób bardzo swoisty. Większość z tych inhibitorów proteasomów wykazywało aktywność w obrębie panelu 60 nowotworowych linii komórkowych zgromadzonych w Narodowym Instytucie Raka (NCI). Na podstawie swoistości działania oraz efektu cytotoksycznego bortezomib wybrano jako najlepszy lek do dalszych badań klinicznych.

Bortezomib – aktywność przedkliniczna

Bortezomib (kwas *N*-pyrazynokarbonylo-*L*-fenyloalanino-*L*-leucyno-boronowy; znany uprzednio jako PS-341 lub MLN-341), dipeptyd kwasu boronowego, jest unikatowym i swoistym inhibitorem szlaku proteasomów [3, 16]. Bortezomib inhibuje szlak proteasomów szybko i w sposób odwracalny przez wiązanie się bezpośrednio do kompleksu proteasomowego 20S i hamowanie jego aktywności enzymatycznej. W modelach zwierzęcych bortezomib nie przechodzi do mózgu, rdzenia kręgowego, jąder lub oczu, oszczędzając w ten sposób te tkanki od działań ubocznych inhibicji proteasomów. W tkankach nowotworowych izolowanych z mózgu i jąder nie obserwowano inhibicji proteasomów, jest mało prawdopodobne jednak, że inhibitory proteasomów będą użyteczne w tych typach nowotworów, chyba że bariera krew–mózg lub krew–jądra zostanie przerwana przez proces nowotworowy. Badania przedkliniczne wykazują, że cytotoksyczne i hamujące wzrost nowotworu działania bortezomibu korelują z inhibicją proteasomów, niezależnie od stanu białka p53 i nie nakładają się na działanie innych leków chemioterapeutycznych [12, 16].

Badania kliniczne fazy I z bortezomibem

Wykazana w badaniach przedklinicznych *in vitro* aktywność bortezomibu przeciw komórkom szpiczaka mnogiego została potwierdzona w badaniach pierwszej fazy, dotyczących nowotworów hematologicznych i litych guzów [17, 18]. Podczas

Tabela 1. Wybrane białka, na które wpływa inhibicja szlaku ubiquityna–proteasomy**Table 1.** Selected proteins affected by inhibition of the ubiquitin–proteasome pathway

Białka (Proteins)	Skutki inhibicji proteasomów (Results of proteasomes inhibition)
I-κB	zwiększenie stężeń I-κB jest przyczyną inhibicji aktywności NF-κB, co prowadzi do zahamowania wzrostu, apoptozy i zmniejszenia ekspresji cytokin angiogennych i cząsteczek adhezyjnych
p21, p27 (inhibitory cyklozależnych kinaz); p15, p16, p18, p19 (rodzina Ink inhibitorów kinazy 4/6 zależnej od cykliny-D)	zwiększenie stężeń tych inhibitorów cyklozależnych kinaz prowadzi do zatrzymania cyklu komórki w fazie G ₁ -S i apoptozy
p53	zwiększona ekspresja dzikiej formy białka p53 prowadzi do apoptozy na drodze kilku mechanizmów, w tym wzrost poziomu białek p21 i Bax
Bax	zwiększenie ilości białka Bax prowadzi do apoptozy, przewyższając skutki nadmiernej ekspresji Bcl-2 i zaburzeń równowagi między białkami Bax/Bcl-2
c-myc, N-myc – odpowiedzialne za transkrypcję, wpływają na inne geny	nie jest jasne, w jaki sposób nadmierna ekspresja produktów tych onkogenów sprzyja działaniu przeciwnowotworowemu; jedną z hipotez jest to, że występowanie sygnałów sprzecznych w związku z równoczesnymi sygnałami apoptotycznymi pochodzącymi od innych białek prowadzi ostatecznie do apoptozy
Cykliny – podwyższone poziomy poszczególnych cyklin występują w określonych formach cyklu komórkowego i pełnią określoną rolę w połączeniu z kinezami oraz inhibitorami	sprzeczne sygnały dla komórki w wyniku zwiększenia stężeń cyklin A, B, D i E w sposób nieuporządkowany oraz w połączeniu z równoczesnym zwiększeniem stężeń inhibitorów kinaz zależnych od cyklin promują apoptozę
Uszkodzone białka komórkowe	akumulacja tych białek, prawidłowo usuwanych przez proteasomy, może wywoływać apoptozę
JNK	aktywacja JNK prowadzi do aktywacji kaspazy-8 i kaspazy-3; może również uwalniać cytochrom C
Topoizomeraza IIα jest odpowiedzialna za przecięcia obu nici DNA w ściśle określonych miejscach; jest to wykorzystywane do stosowania inhibitorów tego enzymu w terapii nowotworów (np. antracykliny)	stężenie tego enzymu uwalniającego DNA od naprężeń związanych ze skręceniem jest regulowane podczas cyklu komórkowego; inhibicja proteasomów wpływa na tę regulację

I-κB – inhibitor czynnika jądrowego-kappa B.

NF-κB – czynnik jądrowy-kappa B.

JNK – N-końcowa kinaza c-Jun.

I-κB – nuclear factor-kappa B inhibitor.

NF-κB – nuclear factor-kappa B.

JNK – c-Jun N-terminal kinase.

wstępnego badania określającego zakres dawek u osób z opornym na leczenie szpiczakiem mnogim, chłoniakiem i białaczką, chorzy otrzymywali bortezomib we wstrzyknięciach dożylnych dwa razy w tygodniu przez 4 tygodnie, po czym następowala dwutygodniowa przerwa w stosowaniu tego leku. Maksymalna tolerowana dawka wynosiła 1,04 mg/m² [17]. Ubocznymi objawami toksycznego działania bortezomibu, ograniczającymi wielkość jego dawki, były zmęczenie i złe samopoczucie, małopłytkowość i zaburzenia równowagi elektrolitowej. Wyniki badań pierwszej fazy dotyczące skuteczności leczenia bortezomibem chorych na szpiczaka mnogiego były zachęcające. Odnotowano jedną odpowiedź całkowitą (CR – *complete response*), stwierdzoną na podstawie ujemnego wyniku immunofiksacji, oraz osiem przypadków zmniejszenia stężenia białka monoklonalnego w surowicy i nacieków nowotworowych w szpiku kostnym. Co

więcej, przeciwnowotworową aktywność bortezomibu w badaniach pierwszej fazy stwierdzono również u chorego na chłoniaka nieziarniczego (NHL – *non Hodgkin's lymphoma*).

W innym badaniu pierwszej fazy oceniano skuteczność bortezomibu w leczeniu chorych na zaawansowane nowotwory lite, z zastosowaniem 3-tygodniowego cyklu dawkowania (dwa razy w tygodniu przez 2 tygodnie i tydzień przerwy w leczeniu) [18]. Maksymalna dawka tolerowana wynosiła 1,56 mg/m² co sugeruje, że cykl 3-tygodniowy pozwala na podawanie większych dawek niż stosowanych w cyklu 6-tygodniowym. Nie stwierdzono żadnych hematologicznych działań toksycznych ograniczających dawkę, a inne działania toksyczne, ograniczające dawkę, obejmowały neuropatię trzeciego stopnia i biegunkę. Neuropatia występowała głównie u osób chorych na polineuropatię przed zastosowaniem bortezomibu. Nasile-

nie choroby ustępowało po przerwaniu podawania leku. Wyniki omawianego badania wskazywały na przeciwnowotworowe działanie bortezomibu nie tylko u chorych na szpiczaka mnogiego, ale także u osób cierpiących na inne nowotwory złośliwe, takie jak niedrobnokomórkowy rak oskrzela, raki nosogardła, czerniak złośliwy i rak nerki [18].

Racjonalne uzasadnienie badań klinicznych nad zastosowaniem bortezomibu u chorych na MM

Bortezomib bezpośrednio hamował proliferację komórek MM, indukował apoptozę w liniach komórkowych i pierwotnych komórkach MM oraz hamował wiązanie patologicznych plazmocytołów do komórek zrębowych szpiku kostnego [19]. Deksametazon nasilał aktywność bortezomibu, a interleukina-6 (IL-6) nie chroniła komórek MM przed apoptozą. Bortezomib indukował nieodwracalnie apoptozę w komórkach z zarówno dzikim typem białka p53, jak i białkiem będącym wynikiem mutacji genu p53. Linie komórkowe pochodzące od chorych na MM, wcześniej długo leczonych (w tym m.in. za pomocą konwencjonalnej i wysokodawkowanej chemioterapii, interferonu- α , talidomidu, liposomalnej doksorubicyny) nie odpowiadały dobrze na bortezomib lub doksorubicynę w monoterapii, podczas gdy leczenie skojarzone tymi lekami prowadziło do 4–5-krotnego zwiększenia ich cytotoksycznego działania wobec komórek szpiczakowych [20].

Stosując mysz model przeszczepu ksenogenicznego ludzkiego szpiczaka, zbadano skuteczność, toksyczność i mechanizm działania bortezomibu *in vivo* [21]. Zaobserwowano wyraźne zahamowanie wzrostu nowotworu u myszy leczonych bortezomibem. Mediana czasu przeżycia tych zwierząt była istotnie większa niż u osobników z grupy kontrolnej. Bortezomib był dobrze tolerowany w dawce 0,5 mg/kg masy ciała, niektóre myszy zaś leczone dawką 1,0 mg/kg traciły masę ciała i umierały. Analiza nowotworów uzyskanych od leczonych zwierząt wykazała, że bortezomib indukował apoptozę i zmniejszał angiogenezę. Wyniki te wykazują, że bortezomib, stosowany w dobrze tolerowanych dawkach, ma *in vivo* istotne działanie przeciw szpiczakowi mnogiemu. Te wyniki przedkliniczne, łącznie z dowodami aktywności w badaniach fazy I, dostarczyły racjonalnego podłoża do badań klinicznych fazy II nad bortezomibem.

Badania kliniczne nad bortezomibem zastosowanym u chorych na MM

W badaniu drugiej fazy, wykonanym przez Richardsona et al. [3], oceniano rezultaty stosowania bortezomibu u chorych z nawrotem szpiczaka mnogiego/szpiczakiem mnogim opornym na leczenie. Każdy cykl terapii obejmował podawanie bortezomibu (w dawce 1,3 mg/m²) dwa razy w tygodniu, z tygodniem bez leczenia. Stosowano 8 cykli leczenia u chorych odpowiadających na terapię, a osoby z odpowiedziami suboptymalnymi otrzymywały doustnie deksametazon po pierwszych 2 cyklach podawania bortezomibu. Przed rozpoczęciem leczenia bortezomibem wszyscy chorzy (n = 202) stosowali kortykosteroidy, 92% – leki alkilujące, 81% – antracykliny, 83% – talidomid, a u 64% osób wykonano przeszczep komórek pnia. Mediana liczby poprzednich terapii wynosiła sześć. Spośród 193 chorych 4% osiągnęło odpowiedź całkowitą (stwierdzoną na podstawie braku wykrycia białka M – zarówno za pomocą elektroforezy, jak i immunofiksacji), 6% – odpowiedź prawie całkowitą (stwierdzoną na podstawie wyniku immunofiksacji), 18% – odpowiedź częściową (PR – *partial response*), 7% – minimalną (MR – *minimal response*). Całkowity odsetek chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie wynosił 35%. Mediana czasu przeżycia dla całej populacji badanej wynosiła 16 miesięcy, a chorzy osiągający całkowitą lub częściową odpowiedź na leczenie przeżywali istotnie dłużej niż ci, u których takich odpowiedzi nie uzyskano. Spośród 74 pacjentów, którzy nie osiągnęli co najmniej MR i w związku z tym otrzymywali deksametazon w połączeniu z bortezomibem u 18% stwierdzono zwiększenie skuteczności terapii – w tym u 6 osób z chorobą oporną na leczenie deksametazonem, co wskazuje na to, że bortezomib może tę oporność przełamywać. Powszechnymi skutkami ubocznymi leczenia były: nudności, wymioty, biegunka, zmęczenie, utrata apetytu (w tym jadłowstręt), zaparcia, neuropatia obwodowa, gorączka, niedokrwistość i małopłytkowość.

W innym badaniu drugiej fazy, wykonanym przez Jagannath et al. [22], oceniano rezultaty stosowania bortezomibu u 54 chorych na szpiczaka mnogiego, którzy mieli nawrót po leczeniu lub byli oporni na terapię pierwszego rzutu. Było to badanie otwarte. Chorych przydzielono losowo do dwóch grup i podawano im dożylnie 1,0 lub 1,3 mg/m² bortezomibu dwa razy w tygodniu przez 2 tygodnie, co 3 tygodnie, przez maksymalnie 8 cykli. Stosowanie deksametazonu było dozwolone u osób z chorobą postępującą/stabilną po odpowiednio

2 lub 4 cyklach. Odsetki odpowiedzi całkowitych i częściowych – CR + PR – na leczenie samym bortezomibem wynosiły 30% (8 na 27 chorych) i 38% (10 na 26 chorych), odpowiednio w grupach otrzymujących lek w dawkach 1,0 mg/m² i 1,3 mg/m² powierzchni ciała. Odsetki odpowiedzi CR + PR na leczenie bortezomibem (stosowanym w monoterapii lub w połączeniu z deksametazonem) wynosiły 37 i 50%, odpowiednio w grupach leczonych dawkami 1,0 i 1,3 mg/m². Najpowszechniejszymi działaniami niepożądanymi trzeciego stopnia były: małopłytkowość (24%), neutropenia (17%), limfopenia (11%) i neuropatia obwodowa (9%). Działania czwartego stopnia stwierdzono u 9% chorych (5 spośród 54). W omawianym badaniu wykazano, że bortezomib, stosowany w monoterapii lub w połączeniu z deksametazonem, jest lekiem działającym przeciw szpiczakowi mnogiemu u chorych z nawrotami po terapii pierwszego rzutu.

W badaniu APEX (*assessment of proteasome inhibition for extending remissions*), przeprowadzonym z randomizacją w 93 ośrodkach w Stanach Zjednoczonych, Europie i Izraelu, wykazano większą skuteczność bortezomibu podawanego w monoterapii w porównaniu ze skutecznością deksametazonu stosowanego w dużych dawkach u chorych z nawrotem szpiczaka mnogiego [23]. Stwierdzono istotnie dłuższe okresy, w których nowotwór nie rozwijał się i dłuższy czas przeżycia chorych leczonych bortezomibem niż leczonych deksametazonem. Taką różnicę w wynikach terapii wykazano również w przypadku chorych otrzymujących leczenie drugiego rzutu, jak i późne leczenie ratujące. Bezpieczeństwo stosowania bortezomibu i deksametazonu można było przewidzieć, względnie zrównoważyć, usuwając skutki toksycznego działania tych leków. Omawiane badania nad bortezomibem stosowanym zarówno w monoterapii, jak również w leczeniu skojarzonym z deksametazonem wykazały dużą przeciwnowotworową aktywność tego leku. Działania uboczne u chorych na szpiczaka mnogiego można starać się zaakceptować.

Zalecenia do stosowania bortezomibu u chorych na MM

Pacjentów z nawrotem MM leczy się zwykle konwencjonalną chemioterapią, dużymi dawkami kortykosteroidów lub talidomidem, a zastosowanie bortezomibu u tych chorych jest obecnie ważną dodatkową możliwością leczenia. Ponieważ żadna z terapeutycznych propozycji nie daje w pełni zadowalającego rezultatu, chorych zwykle leczy się,

stosując wymienione sposoby sekwencyjnie, a wybór terapii podczas każdego nawrotu powinno określać się na podstawie sytuacji klinicznej i zgody pacjenta. U chorych, którzy nie odpowiadają na leczenie indukcyjne MM, często bardziej skutecznym jest autologiczny przeszczep komórek macierzystych szpiku kostnego, ponieważ intensywność dawki leczenia kondycjonującego opartego na mel-falanie zwykle przełamuje lekooporność [25]. Bortezomib może się okazać wartościowy i ułatwiać osiąganie remisji po przeszczepie, kluczowego celu terapeutycznego w leczeniu MM. Wstępne dane wykazują, że w połączeniu z deksametazonem bortezomib ma dużą aktywność zastosowany w leczeniu przedtransplantacyjnym u chorych na MM, z odsetkami odpowiedzi przekraczającymi 75% [26].

Podczas *XI International Myeloma Workshop*, które odbyły się w Sydney w 2005 r., doniesiono o bardzo obiecujących wstępnych próbach łączenia bortezomibu oraz CC-5013, osiągając odpowiedź pozytywną u ponad 70% pacjentów chorych na MM [24].

Aktywność bortezomibu w innych nowotworach złośliwych

Obecnie trwa kilkanaście badań klinicznych nad bortezomibem zastosowanym w różnych hematologicznych i innych nowotworach złośliwych. Dotychczasowe wyniki badań fazy II [3, 24, 27–32] przedstawiono w tabeli 2. Wstępne wyniki sugerują obiecującą aktywność w chłoniakach z komórek strefy płaszczu i być może w chłoniakach foliularnych oraz limfocytarnych z małych limfocytów o małym stopniu zaawansowania [33]. Przeciwnowotworowe działanie bortezomibu wykazano ponadto w innych nowotworach złośliwych, takich jak: niedrobnokomórkowy rak oskrzela, raki nosogardła, czerniak złośliwy i rak nerki [18].

Mechanizm działania bortezomibu

Przeciwnowotworowe działania bortezomibu są wynikiem apoptozy, które wynikają z efektów inhibicji proteasomów (tab. 1). Leżące u podłoża mechanizmy obejmują inhibicję NF-κB, zwiększenie aktywności szlaków apoptotycznych i działania na mikrośrodowisko nowotworu. Konsekwencje inhibicji proteasomów zbadano w kontekście MM i staje się coraz bardziej oczywiste, że zarówno komórki nowotworu złośliwego, jak i jego mikrośrodowisko są ważnymi celami terapii [34]. Nowe leki, takie jak talidomid i jego analog CC-5013 są re-

Tabela 2. Badania fazy II z bortezomibem**Table 2.** Phase II trials with bortezomib

Typ nowotworu (Type of neoplasma)	Liczba ocenianych pacjentów (Number of selected patients)	Schemat dawkowania (Administration)	Odsetek odpowiedzi (Response rate) (%)	Piśmiennictwo (References)
Nawrót szpiczaka mnogiego/szpiczak mnogi lekooporny	193	1,3 mg/m ² , dni 1, 4, 8 i 11, co 21 dni	35	Richardson et al. [3]
Nawrót szpiczaka mnogiego	54	1,0 mg/m ² (28 pacjentów) vs. 1,3 mg/m ² (26 pacjentów), dni 1, 4, 8 i 11, co 21 dni	33 (1,0 mg/m ²) 50 (1,3 mg/m ²)	Berenson et al. [24]
Nawrót chłoniaka/chłoniak lekooporny	11	1,5 mg/m ² , dni 1, 4, 8 i 11, co 21 dni	45*	Goy et al. [27]
Nawrót/oporny na leczenie o przebiegu powolnym/ /chłoniak z komórek strefy płaszczą	14	1,5 mg/m ² , dni 1, 4, 8 i 11, co 21 dni	50	O'Connor et al. [28]
Rak nerki	18	1,5–1,7 mg/m ² dwa razy w tygodniu przez 2 tygodnie, co 21 dni	6	Davis et al. [29]
Rak nerki	24	1,3–1,5 mg/m ² dwa razy w tygodniu przez 2 tygodnie, co 21 dni	13	Drucker et al. [30]
Nawracający/przerzutowy mięsak tkanek miękkich	11	1,5 mg/m ² dwa razy w tygodniu przez 2 tygodnie, co 21 dni	zbyt wcześnie na ocenę; obecnie brak pacjentów odpowiadających na leczenie	Maki et al. [31]
Zaawansowany rak niedrobnokomórkowy oskrzela	8	1,5 mg/m ² , dni 1, 4, 8 i 11, co 21 dni	12,5	Stevenson et al. [32]

* Wszystkich pięciu pacjentów, którzy odpowiedzieli na leczenie miało chłoniaka z komórek strefy płaszczą.

* All five patients that responded on therapy had mantle cell lymphoma.

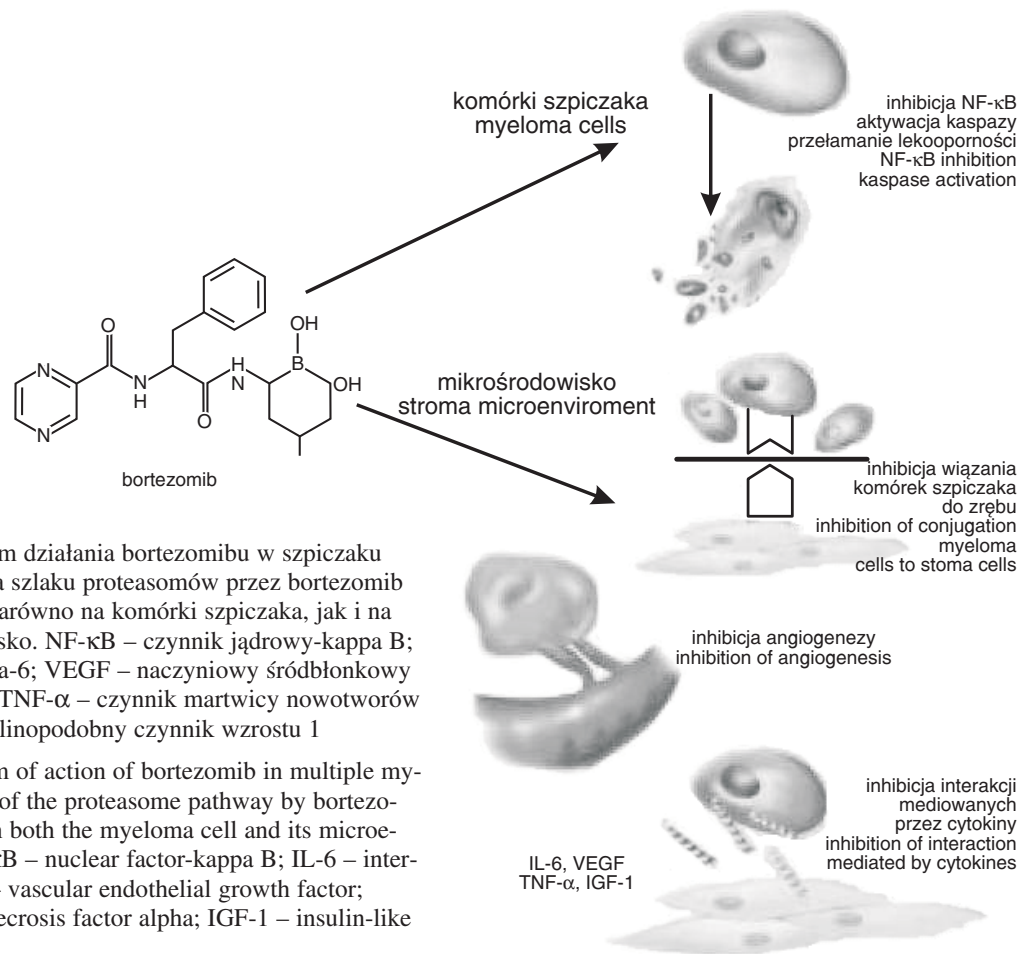
prezentatywne dla tej nowej strategii terapeutycznej w MM [35], a aktualne dane popierają podobną podwójną rolę bortezomibu [20, 36] (ryc. 2).

Inhibicja NF-κB

Kilka efektów bortezomibu, w tym apoptoza, wydaje się, że są monitorowane przez inhibicję NF-κB. Rodzina białek Rel/NF-κB to indukowalne dimeryczne czynniki transkrypcyjne rozpoznające i wiążące wspólny motyw sekwencji w jądrowym DNA [37]. NF-κB – główny czynnik transkrypcyjny z tej rodziny, jest heterodimerem p50/RelA (p50/p65) obecnym w cytoplazmie prawie wszystkich komórek [38]. NF-κB reguluje wzrost komórek i apoptozę, a także ekspresję różnych cytokin, cząsteczek adhezyjnych i ich receptorów [7]. W cytoplazmie NF-κB jest normalnie połączony ze swoim inhibitorem – I-κB. Gdy komórki są pobudzane (przez cytokiny, stres lub chemioterapię), aktywacji ulegają kaskady sygnałowe prowadzące do aktywacji kinazy I-κB, heterodimerycznej kinazy białkowej katalizującej fosfory-

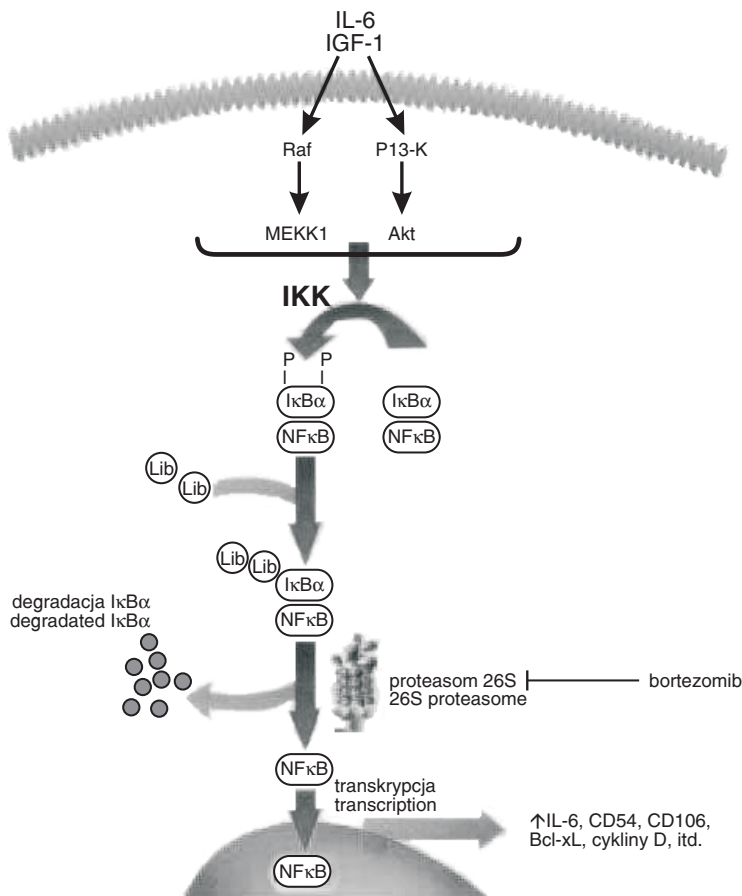
lację I-κB (ryc. 3). Kinaza I-κB fosforyluje dwie reszty serynowe w N-końcowej domenie regulacyjnej I-κB [39]. Ufosforylowane miejsca w I-κB są wtedy rozpoznawane przez E3RS (I-κB/β-TrCP), ligazę ubikwityny E3 typu SCF, co prowadzi do ubikwitynacji. I-κB jest następnie degradowane przez szlak proteasomów, uwalniając wolny, czynny NF-κB. Po aktywacji NF-κB przemieszcza się do jądra i wiąże do regionów promotorowych kilku genów docelowych, wywołując tym samym ich transkrypcję. Prowadzi to do zwiększenia ekspresji różnych cytokin i chemokin, cząsteczek adhezyjnych i cykliny D, sprzyjających wzrostowi i przeżyciu komórek [37].

Inhibitory proteasomów hamują aktywność NF-κB w komórkach przez blokowanie degradacji I-κB [37]. Inhibicja aktywności transkrypcyjnej NF-κB odgrywa korzystną rolę w nowotworach przez zmniejszenie ekspresji różnych czynników wzrostu, przeżycia i angiogenetycznych. Prowadzi to do zmniejszenia stężeń białek proapoptotycznych Bcl-2 i A1/Bfl-1, wywołujących uwalnianie cytochromu C, aktywację kaspazy-9 i apoptozę [20]. Biorąc pod uwagę znaną rolę NF-κB w MM, inhibicja NF-κB



Ryc. 2. Mechanizm działania bortezomibu w szpiczaku mnogim. Inhibicja szlaku proteasomów przez bortezomib wywiera wpływ zarówno na komórki szpiczaka, jak i na ich mikrośrodowisko. NF-κB – czynnik jądrowy-kappa B; IL-6 – interleukina-6; VEGF – naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostu; TNF-α – czynnik martwicy nowotworów alfa; IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1

Fig. 2. Mechanism of action of bortezomib in multiple myeloma. Inhibition of the proteasome pathway by bortezomib has effects on both the myeloma cell and its microenvironment. NF-κB – nuclear factor-kappa B; IL-6 – interleukin-6; VEGF – vascular endothelial growth factor; TNF-α – tumor necrosis factor alpha; IGF-1 – insulin-like growth factor-1



Ryc. 3. Bortezomib i inhibicja czynnika jądrowego-kappa B (NF-κB). Pobudzenie komórek nowotworowych przez czynniki wzrostu prowadzi do aktywacji kinazy (IKK) inhibitora (I-κB) NF-κB, która fosforyluje (P) I-κB. Ufosforylowany I-κB jest ubikwitynowany (Ub) i degradowany w szlaku proteasomów, uwalniając NF-κB. Bortezomib zapobiega degradacji I-κB i tym samym inhibuje aktywację NF-κB. IL-6 – interleukina-6; IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1

Fig 3. Bortezomib and nuclear factor-kappa B (NF-κB) inhibition. Stimulation of tumor cells by growth factors leads to activation of NF-κB inhibitor (Iκ-B) kinase (IKK), which phosphorylates (P) I-κB. Phosphorylated I-κB is ubiquitinated (Ub) and degraded by the proteasome pathway releasing NF-κB. Bortezomib prevents the degradation of I-κB and, thereby, inhibits NF-κB activation. IL-6 – interleukin-6; IGF-1 – insulin-like growth factor-1

jest prawdopodobnie jednym z głównych mechanizmów, na drodze których bortezomib indukuje apoptozę i następnie przełamuje lekooporność [37].

NF-κB jest również ważny dla ekspresji komórkowych cząsteczek adhezyjnych. W MM aktywacja NF-κB prowadzi do zwiększenia ekspresji przez komórki plazmatyczne cząsteczek adhezyjnych, takich jak ICAM-1 i VCAM-1. Z kolei wiązanie komórek MM do zrębu wywołuje mediowane przez NF-κB zwiększenie wydzielania IL-6 przez komórki zrębu, co prowadzi do hamowania apoptozy i oporności na chemioterapię [40]. Bortezomib inhibuje przyleganie komórek MM do zrębu, co częściowo wyjaśnia zahamowanie przez niego NF-κB [19].

Aktywacja NF-κB promuje ekspresję różnych cytokin mediujących angiogenezę i wzrost. W mysim modelu MM leczenie bortezomibem hamuje angiogenezę, działanie to może się również wiązać z inhibicją NF-κB [21]. Bortezomib ponadto blokuje zależną od NF-κB indukcję wydzielania przez komórki zrębowe czynników wzrostu, takich jak IL-6 [46].

PS-1145, swoisty inhibitor kinazy I-κB, wywołuje jedynie 20–50 procentowe (%) zahamowanie proliferacji komórek MM przy stężeniu większym niż 12,5 μmol/L w porównaniu z całkowitą inhibicją podczas stosowania bortezomibu w stężeniu ≤ 0,1 μmol/L [37]. W odróżnieniu od PS-1145 bortezomib indukuje również apoptozę komórek MM.

Zwiększenie aktywności szlaków proapoptotycznych

Badania z wykorzystaniem technologii mikromacierzy w komórkach MM leczonych bortezomibem wykazują zwiększenie ekspresji genów białek szoku termicznego i genów proapoptotycznych, geny wzrostu i antyapoptotyczne ulegają natomiast supresji. Bortezomib aktywuje kinazę N-końcową c-Jun (JNK), prowadząc do zwiększenia ekspresji Fas i aktywacji kaspazy-8 i kaspazy-3. Mediowany przez kaspazę-8 szlak apoptotyczny jest niezależny od szlaku mediowanego przez kaspazę-9, opisanego wcześniej w odniesieniu do inhibicji NF-κB. Aktywacja JNK wydaje się ważnym szlakiem dla indukowanej przez bortezomib apoptozy komórek MM, a blokada JNK przez swoisty inhibitor (SP600125) może hamować to działanie przez zablokowanie aktywacji kaspazy-3. Indukcja kaspazy-3 prowadzi do degradacji MDM2 i fosforylacji p53 (Ser 15), zwiększając przez to aktywność białka p53 i apoptozę. Bortezomib indukuje także ekspresję FasL, prawdopodobnie z powodu zwiększonej ekspresji białka c-myc, występującego w wyniku inhibicji proteasomów [20].

Inne działania bortezomibu

Bortezomib zmniejsza ekspresję insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 i receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 [20]. Hamuje również indukowaną przez IL-6 aktywację szlaku Ras/Raf/kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny, co prowadzi do inhibicji wzrostu w liniach komórkowych MM i pierwotnych komórkach MM [37]. Bortezomib nie wywiera jednak żadnego działania na indukowaną przez IL-6 sygnalizację poprzez szlak JAK/STAT3. Bortezomib indukuje również odpowiedzi cytoprotekcyjne, takie jak zwiększenie ilości białek szoku cieplnego (np. hsp90), inhibitory tych białek cytoprotekcyjnych mogą więc zwiększać wrażliwość na bortezomib lub pokonywać oporność na lek [20]. Pomimo omówionych wcześniej danych, swoiste efekty inhibicji proteasomów w nowotworach złośliwych i precyzyjny mechanizm działania bortezomibu pozostają niejasne i wymagają dalszych badań.

Bortezomib – farmakokinetyka i farmakodynamika

Farmakokinetyka i szlaki eliminacji bortezomibu nie zostały w pełni scharakteryzowane. Po podaniu dożylnym ponad 90% leku szybko znika z osocza w ciągu kilku minut [1]. Bortezomib jest metabolizowany przez mikrosomalne enzymy wątrobowe związane z cytochromem p450 na kilka nieczynnych metabolitów [41].

Z powodu szybkiego usuwania leku z krwi opracowano test biologiczny w celu oceny stopnia inhibicji proteasomów, pomocny w badaniach klinicznych fazy I i II. W badaniach na naczelnych stwierdzono, że docelowy poziom inhibicji proteasomów nie powinien przekraczać 80%. Przy zalecanym dawkowaniu osiąga się około 60% inhibicji proteasomów. Stopień inhibicji proteasomów jest zależny od dawki [1]. Monitorowanie inhibicji proteasomów nie jest konieczne w rutynowej praktyce klinicznej. Nie istnieją optymalne dane odnośnie do interakcji lekowych i farmakokinetyki u dzieci.

Bortezomib – działania uboczne i dawki

Najczęstszymi objawami toksycznymi przypisywanymi terapii bortezomibem są działania uboczne żołądkowo-jelitowe, przejściowa małopłytkowość, zmęczenie, gorączka i neuropatia obwodowa [3]. Nudności, wymioty i wzdęcia mogą być objawami neuropatii wegetatywnej, lecz nie

jest to jeszcze dobrze zbadane. Większość z tych objawów toksycznych ma 1–2 stopień ciężkości. Mniej powszechne objawy uboczne obejmują wysypkę (15%), ból (20%) i zawroty głowy (10%).

Nie występują zwykle działania uboczne związane z dożylnym wlewem leku, a rutynowa premedykacja nie jest konieczna. Zaleca się profilaktycznie środki przeciwwymiotne, jeżeli pacjent ma nudności lub wymioty podczas terapii, oraz podawanie roztworu izotonicznego chlorku sodu w celu zapewnienia właściwego nawodnienia. Gorączka występuje u około 20% pacjentów i nie przekracza zwykle 37,5°C, rzadko może osiągać 39°C lub więcej. Występuje często przy pierwszym cyklu terapii, około 12 godz. po podaniu leku i trwa 24–26 godz. Cytopenie (głównie leukopenia i małopłytkowość) są powszechne i leczy się je zgodnie ze standardami. U około 30% pacjentów może występować małopłytkowość 3. stopnia lub wyższego i może wymagać zmniejszenia dawki leku lub przetoczenia preparatu płytek krwi. W większości przypadków jest ona przejściowa i przewidywalna (występuje zwykle po 10. dniu). U niektórych pacjentów proporcja zmniejszenia liczby płytek może być stała, prowadząc do mniejszych spadków bezwzględnych wraz ze zmniejszaniem się liczby płytek podczas terapii. Neuropatia obwodowa występuje u około 35% pacjentów i jest częstsza u pacjentów, którzy uprzednio otrzymywali terapię neurotoksyyczną i u chorych z istniejącą już wcześniej neuropatią [3, 42, 43]. Neuropatia jest głównie czuciowa i może być 3. stopnia u około 10% pacjentów. Objawy neuropatii mogą być zmniejszone przez dostosowanie dawki i są zwykle odwracalne po zaprzestaniu stosowania bortezomibu. Niedociśnienie ortostatyczne (prawdopodobnie zależne od dawki) występuje u około 10% pacjentów i wiąże się z odwodnieniem, współistniejącym leczeniem przeciwnadciśnieniowym lub zaburzeniem układu вегетatywnego. Podawanie dożylnie roztworu chlorku sodu w chwili podawania bortezomibu może być pomocne w odwodnieniu. Następstwa niedociśnienia ortostatycznego mogą być poważne u chorych z istniejącymi już wcześniej stanami małej pojemności minutowej serca. Nie istnieją żadne dane farmakokinetyczne odnośnie do pacjentów z upośledzeniem czynności nerek lub wątroby [41]. Pacjentów z istotnym upośledzeniem czynności nerek (klirens kreatyniny 10–30 ml/min) włączano do badań i nie wydaje się, aby niewydolność nerek miała wpływ na skuteczność, toksyczność lub stopień inhibicji proteasomów. Bortezomib jest jednakże metabolizowany przez wątrobowe enzymy związane z cytochromem p-450 i zaleca się ostrożność podczas stosowania leku u pacjentów z uszkodzeniem wątroby. Zwykła dawka bortezomibu w leczeniu nawrotów MM wynosi 1,3

mg/m², podawana 2 razy w tygodniu (w dniu 1., 4., 8. i 11.) co 21 dni [3]. U pacjentów z działaniami niepożądanymi przy standardowej dawce bortezomibu można zmniejszyć dawkę do 1 mg/m² i 0,7 mg/m² [41].

Połączenie bortezomibu z innymi lekami chemioterapeutycznymi

W badaniach przedklinicznych oporność nowotworu na konwencjonalne leki chemioterapeutyczne może być pokonana przez dołączenie do terapii bortezomibu, co podkreśla znaczenie rozwoju badań nad takimi połączeniami w MM i innych nowotworach złośliwych [19]. W dwóch opisanych wcześniej badaniach fazy II w MM (prowadzonych przez Richardsona et al.) dodawano deksametazon u 106 pacjentów, u których nie udało się uzyskać odpowiedzi na leczenie lub mieli chorobę postępującą przy terapii pojedynczym lekiem – bortezomibem [3, 44]. Dziewiętnastu spośród tych pacjentów (18%) odpowiedziało pozytywnie na dołączenie deksametazonu. W tej grupie było kilku pacjentów, którzy byli uprzednio oporni na leczenie kortykosteroidami, co sugeruje działanie co najmniej addytywne.

We wstępnych doniesieniach dotyczących połączenia bortezomibu z melfalanem w MM relacjonowano synergizm działania, ale jest konieczne zmniejszenie dawek obu leków [45]. Wstępne wyniki sugerują, że połączenie bortezomibu z pegylowaną doksorubicyną również zasługuje na dodatkowe zbadanie z uwagi na synergizm działania [46].

Istnieją dowody przedkliniczne na to, że w nowotworach litych aktywność bortezomibu jest istotnie większa, gdy stosuje się go w połączeniu z lekami chemioterapeutycznymi, takimi jak gemcytabina, doksorubicyna, irynotekan, docetaksel i paklitaksel. Wstępne wyniki z badań fazy I wykazują, że połączenie bortezomibu z innymi lekami chemioterapeutycznymi jest wykonalne i bezpieczne dla chorych [47]. Obecnie trwają badania kliniczne fazy II nad bortezomibem w połączeniu z gemcytabiną, docetaksem, irynotekaniem i innymi lekami cytotoksycznymi.

Przyszłe kierunki badań

Inhibicja proteasomów to istotna strategia terapeutyczna w leczeniu nawrotów MM oraz szpiczaka mnogiego opornego na uprzednio stosowane leczenie. Inhibitor proteasomów – bortezomib – jest pierwszym od ponad dekady lekiem zatwierdzonym przez FDA do leczenia tej choroby. Trwają badania, w których ocenia się rezultaty stosowania

bortezomibu łącznie z innymi chemioterapeutykami, aby opracować nowe strategie lecznicze. Oceń się także skuteczność i bezpieczeństwo jego stosowania u chorych na inne nowotwory.

Sukces stwierdzany w przypadku bortezomibu jest nadzwyczajny, ponieważ udowodniono na je-

go przykładzie, że proteasomy są nowym i uzasadnionym celem w leczeniu chorób nowotworowych. Autorzy mają nadzieję, że inne, bardziej ulepszone inhibitory tego układu enzymatycznego, zostaną niedługo potwierdzone w badaniach klinicznych prowadzonych na całym świecie.

Piśmiennictwo

- [1] **Adams J:** Development of the proteasome inhibitor PS-341. *Oncologist* 2002, 7, 9–16.
- [2] **Cheson BD:** Hematologic malignancies: New developments and future treatments. *Semin Oncol* 2002, 29, 33–45.
- [3] **Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Jagannath S, Irwin D, Rajkumar SV, Srkalovic G, Alsina M, Alexanian R, Siegel D, Orlowski RZ, Kuter D, Limentani SA, Lee S, Hideshima T, Esseltine DL, Kauffman M, Adams J, Schenkein DP, Anderson KC:** A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med* 2003, 348 (26), 2609–2617.
- [4] **Adams J, Palombella VJ, Elliott PJ:** Proteasome inhibition: A new strategy in cancer treatment. *Invest New Drugs* 2000, 18, 109–121.
- [5] **Palombella VJ, Conner EM, Fuseler JW, Destree A, Davis JM, Laroux FS, Wolf RE, Huang J, Brand S, Elliott PJ, Lazarus D, McCormack T, Parent L, Stein R, Adams J, Grisham MB:** Role of the proteasome and NF-kappaB in streptococcal cell wall-induced polyarthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95, 15671–15676.
- [6] **Spataro V, Norbury C, Harris AL:** The ubiquitin-proteasome pathway in cancer. *Br J Cancer* 1998, 77, 448–455.
- [7] **Almond JB, Cohen GM:** The proteasome: A novel target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 2002, 16, 433–443.
- [8] **Lowe J, Stock D, Jap B, Zwickl P, Baumeister W, Huber R:** Crystal structure of the 20S proteasome from the archaeon *T. acidophilum* at 3.4 Å resolution. *Science* 1995, 268, 533–539.
- [9] **Pickart CM, VanDemark AP:** Opening doors into the proteasome. *Nature Struct Biol* 2000, 7, 999–1001.
- [10] **Braun BC, Glickman M, Kraft R, Dahmann B, Kloetzel PM, Finley D, Schmidt M:** The base of the proteasome regulatory particle exhibits chaperone-like activity. *Nature Cell Biol* 1999, 1, 221–226.
- [11] **Groll M, Bajorek M, Kohler A, Moroder L, Rubin DM, Huber R, Glickman MH, Finley D:** A gated channel into the proteasome core particle. *Nature Struct Biol* 2000, 7, 1062–1067.
- [12] **Orlowski RZ, Eswara JR, Lafond-Walker A, Grever MR, Orlowski M, Dang CV:** Tumor growth inhibition induced in a murine model of human Burkitt's lymphoma by a proteasome inhibitor. *Cancer Res* 1998, 58, 4342–4348.
- [13] **Traenckner EB, Wilk S, Baeuerle PA:** A proteasome inhibitor prevents activation of NF-kappa B and stabilizes a newly phosphorylated form of I kappa B-alpha that is still bound to NF-kappa B. *EMBO J* 1994, 13, 5433–5441.
- [14] **Imajoh-Ohmi S, Kawaguchi T, Sugiyama S, Tanaka K, Omura S, Kikuchi H:** Lactacystin, a specific inhibitor of the proteasome, induces apoptosis in human monoblast U937 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, 217, 1070–1077.
- [15] **Shinohara K, Tomioka M, Nakano H, Tone S, Ito H, Kawashima S:** Apoptosis induction resulting from proteasome inhibition. *Biochem J* 1996, 317, 385–388.
- [16] **Adams J, Palombella VJ, Sausville EA, Johnson J, Destree A, Lazarus DD, Maas J, Pien CS, Prakash S, Elliott PJ:** Proteasome inhibitors: A novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res* 1999, 59, 2615–2622.
- [17] **Orlowski RZ, Stinchcombe TE, Mitchell BS, Shea TC, Baldwin AS, Stahl S, Adams J, Esseltine DL, Elliott PJ, Pien CS, Guerciolini R, Anderson JK, Depcik-Smith ND, Bhagat R, Lehman MJ, Novick SC, O'Connor OA, Soignet SL:** Phase I trial of the proteasome inhibitor PS-341 in patients with refractory hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2002, 20, 4420–4427.
- [18] **Aghajanian C, Soignet S, Dizon DS, Pien CS, Adams J, Elliott PJ, Sabbatini P, Miller V, Hensley ML, Pezzulli S, Canales C, Daud A, Spriggs DR:** A phase I trial of the novel proteasome inhibitor PS-341 in advanced solid tumor malignancies. *Clin Cancer Res* 2002, 8, 2505–2511.
- [19] **Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, Palombella VJ, Elliott PJ, Adams J, Anderson KC:** The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res* 2001, 61, 3071–3076.
- [20] **Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, Chauhan D, Fanourakis G, Gu X, Bailey C, Joseph M, Libermann TA, Treon SP, Munshi NC, Richardson PG, Hideshima T, Anderson KC:** Molecular sequelae of proteasome inhibition in human multiple myeloma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99, 14374–14379.
- [21] **LeBlanc R, Catley LP, Hideshima T, Lentzsch S, Mitsiades CS, Mitsiades N, Neuberg D, Goloubeva O, Pien CS, Adams J, Gupta D, Richardson PG, Munshi NC, Anderson KC:** Proteasome inhibitor PS-341 inhibits human myeloma cell growth *in vivo* and prolongs survival in a murine model. *Cancer Res* 2002, 62, 4996–5000.
- [22] **Jagannath S, Barlogie B, Berenson J, Siegel D, Irwin D, Richardson PG, Niesvizky R, Alexanian R, Limentani SA, Alsina M, Adams J, Kauffman M, Esseltine DL, Schenkein DP, Anderson KC:** A phase 2 study of two doses of bortezomib in relapsed or refractory myeloma. *Br J Haematol* 2004, 127 (2), 165–172.
- [23] **Richardson PG, Sonneveld P, Irwin D, Stadtmeuer EA, Facon T, Harousseau JL, Lonial S, Goldschmidt H, Reece D, San-Miguel JF, Blade J, Boccadoro M, Cavenagh J, Dalton WS, Boral AL, Esseltine DL, Porter JB, Schenkein D, Anderson KC:** Bortezomib demonstrates superior efficacy to high-dose dexamethasone in relapsed multiple myeloma: final report of the APEX Study. San Diego (CA): American Society of Hematology 2004. Abstract.
- [24] **Richardson PG, Schlossman R, Munshi N, Avigan D, Jagannath S, Alsina M, Doss D, Colson K, McKenney**

- M, Hande K, Gorelik S, McAlister C, Freeman A, Warren D, Mitsiades C, Hideshima T, Michelle RR, Collins D, Balinski K, Byrne C, Chrystal C, Myers T, Trehu E, Knight R, Schenkein D:** Phase I study of the safety and efficacy of bortezomib (Velcade) in combination with CC-5013 (Revlimid) in relapsed and refractory multiple myeloma (MM): THE REVVEL STYDY. *Haematologica* 2005, PL 5.04.
- [25] **Blade J, Esteve J:** Treatment approaches for relapsing and refractory multiple myeloma. *Acta Oncol* 2000, 39, 843–847.
- [26] **Jagannath S, Durie BGM, Wolf J:** Bortezomib (VELCADE, formerly PS-341) as firstline therapy in patients with multiple myeloma (MM). *Blood* 2003, 102, 452a.
- [27] **Goy AH, East K, Mesina O:** Report of a phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in patients with relapsed or refractory indolent and aggressive B-cell lymphomas. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 570. Abstract 2291.
- [28] **O'Connor OA, Wright J, Moskowitz C:** Phase II clinical experience with the proteasome inhibitor bortezomib (formerly PS-341) in patients with indolent lymphomas. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 566. Abstract 2277.
- [29] **Davis NB, Taber DA, Ansari RH:** A phase II trial of PS-341 in patients (pts) with renal cell cancer (RCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 386. Abstract 1551.
- [30] **Drucker BJ, Schwartz L, Bacik J:** Phase II trial of PS-341 shows response in patients with advanced renal cell carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 386. Abstract 1550.
- [31] **Maki RG, Kraft A, Demetri GD:** A phase II multicenter study of proteasome inhibitor PS-341 (LDP-341, bortezomib) for untreated recurrent or metastatic soft tissue sarcoma (STS); CTEP study 1757. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 819. Abstract 3291.
- [32] **Stevenson J, Nho CW, Schick J:** Phase II clinical/pharmacodynamic trial of the proteasome inhibitor PS-341 in advanced nonsmall cell lung cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 202. Abstract 810.
- [33] **Cheson BD:** New drug development in non-Hodgkin lymphomas. *Curr Oncol Rep* 2001, 3, 250–259.
- [34] **Hideshima T, Chauhan D, Podar K, Schlossman RL, Richardson P, Anderson KC:** Novel therapies targeting the myeloma cell and its bone marrow microenvironment. *Semin Oncol* 2001, 28, 607–612.
- [35] **Richardson PG, Schlossman RL, Weller E, Hideshima T, Mitsiades C, Davies F, LeBlanc R, Catley LP, Doss D, Kelly K, McKenney M, Mechlowlitz J, Freeman A, Deocampo R, Rich R, Ryoo JJ, Chauhan D, Balinski K, Zeldis J, Anderson KC:** Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma. *Blood* 2002, 100, 3063–3067.
- [36] **Hideshima T, Mitsiades C, Akiyama M, Hayashi T, Chauhan D, Richardson P, Schlossman R, Podar K, Munshi NC, Mitsiades N, Anderson KC:** Molecular mechanisms mediating antimyeloma activity of proteasome inhibitor PS-341. *Blood* 2003, 101, 1530–1534.
- [37] **Hideshima T, Chauhan D, Richardson P, Mitsiades C, Mitsiades N, Hayashi T, Munshi N, Dang L, Castro A, Palombella V, Adams J, Anderson KC:** NF-kappa B as a therapeutic target in multiple myeloma. *J Biol Chem* 2002, 277, 16639–16647.
- [38] **Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, Chauhan D, Richardson PG, Hideshima T, Munshi N, Treon SP, Anderson KC:** Biologic sequelae of nuclear factor-kappaB blockade in multiple myeloma: Therapeutic applications. *Blood* 2002, 99, 4079–4086.
- [39] **Karin M, Delhase M:** The I kappa B kinase (IKK) and NF-kappa B: Key elements of proinflammatory signaling. *Semin Immunol* 2000, 12, 85–98.
- [40] **Hazlehurst LA, Dalton WS:** Mechanisms associated with cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR) in hematopoietic malignancies. *Cancer Metastasis Rev* 2001, 20, 43–50.
- [41] Millennium Pharmaceuticals: VELCADE (bortezomib) for Injection: Prescribing Information. Cambridge, MA, Millennium Pharmaceuticals, Inc. 2003
- [42] **Richardson PG, Briemberg H, Jagannath S:** Peripheral neuropathy following bortezomib (VELCADE, formerly PS-341) therapy in patients with advanced multiple myeloma (MM): Characterization and reversibility. *Blood* 2003, 102, 149a.
- [43] **Jagannath S, Barlogie B, Berenson J:** Limited experience from 2 phase 2 trials suggests bortezomib can be given safely in multiple myeloma (MM) patients (pts) with severe renal impairment with comparable responses and toxicities. *Blood* 2003, 102, 236a.
- [44] **Jagannath S, Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, Singhal S, Irvin D, Rajkumar SV, Srkalovic G, Alsina M, Alexanian R, Siegel D, Orlowski RZ, Kuter D, Limentani SA, Lee S, Hideshima T, Esseltine DL, Kauffman M, Adams J, Schenkein DP, Anderson KC:** Phase II trials of bortezomib in combination with dexamethasone in multiple myeloma (MM): Assessment of additional benefits to combination in patients with sub-optimal responses to bortezomib alone. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 582. Abstract 2341.
- [45] **Yang HH, Vescio RA, Adams J:** A phase I/II study of combination treatment with bortezomib and melphalan (Vc_M) in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (MM). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 582. Abstract 2340.
- [46] **Orlowski RZ, Voorhees PM, Garcia R:** Phase I study of the proteasome inhibitor bortezomib and pegylated liposomal doxorubicin in patients with refractory hematologic malignancies. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22, 200. Abstract 801.
- [47] **Lenz HJ:** Clinical update: Proteasome inhibitors in solid tumors. *Cancer Treat Rev* 2003, 29, 41–48.

Adres do korespondencji:

Artur Jurczyszyn
Katedra i Klinika Hematologii CM UJ
ul. Kopernika 17, 31-501 Kraków
e-mail: mmjucz@cyf-kr.edu.pl

Conflict of interest: None declared

Praca wpłynęła do Redakcji: 3.06.2005 r.

Po recenzji: 5.10.2005 r.

Zaakceptowano do druku: 10.10.2005 r.

Received: 3.06.2005

Revised: 5.10.2005

Accepted: 10.10.2005