

ARTUR JURCZYSZYN, TERESA WOLSKA-SMOLEŃ, ALEKSANDER B. SKOTNICKI

## Mechanizmy patogenetyczne warunkujące nowe sposoby terapii szpiczaka mnogiego I. Znaczenie cytokin

### Mechanisms of Pathogenesis Conditioning New Therapeutic Methods of Multiple Myeloma I. Cytokines Significance

Katedra i Klinika Hematologii CM UJ w Krakowie

#### Streszczenie

Szpiczak mnogi (MM) jest złośliwą, do tej pory wciąż nieuleczalną chorobą nowotworową o niejasnej etiologii i patogenecie, której istotą jest powolny rozrost monoclonalnych plazmocytoz lub plazmoblastoz w szpiku kostnym. W USA na tę chorobę zapada rocznie około 15 000 osób. Częstość występowania MM w USA wynosi około 3 osoby na 100 000 mieszkańców, przeważają mężczyźni (60%); 98% pacjentów ma > 40 lat. Wstępne badania *in vitro* na zwierzętach sugerują rolę interakcji komórek nowotworowych z podścieliskiem szpiku kostnego w regulacji ich wzrostu, migracji i oporności na leki antyproliferacyjne. Komórki nowotworowe w mikrośrodowisku szpiku kostnego rosną, przeżywają, mimo genetycznej niestabilności i aberracji chromosomalnych oraz migrują, dzięki cytokinom. W świetle aktualnych danych największe znaczenie w powstawaniu i rozwoju choroby mają: interleukina 6 (IL-6), naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF), czynnik martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF). Istnieje pogląd, że oporność na leki w MM jest w znacznej mierze związana z patologiczną konstelacją cytokin promujących nieograniczony rozrost komórek nowotworowych i ich migrację (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 1, 137–143).

**Słowa kluczowe:** szpiczak mnogi, cytokiny, VEGF, IL-6, HGF.

#### Abstract

Multiple myeloma (MM) is a malignant, still incurable, neoplastic disease of unclear etiology and pathogenesis, which is characterised by a slow proliferation of monoclonal plasmocytes or plasmoblasts in the bone marrow. About 15 000 new cases of MM occur in the USA annually. Multiple myeloma incidence in the USA is 3 in 100 000, majority in men (60%), while 98% of patients are over 40 years of age. Primary *in vitro* animal studies suggest that interaction of neoplastic cells and interstitium in regulation of their growth migration and resistance to chemotherapy. Neoplastic cells in bone marrow microenvironment grow and survive notwithstanding genetic instability and chromosomal aberrations and migrate due to cytokines. According to most recent studies the greatest significance in MM occurrence and development are interleukin 6 (IL-6), vascular endothelium growth factor (VEGF), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), hepatocyte growth factor (HGF). There is a view that drug resistance of MM is to a large extent associated with a pathological constellation of cytokines promoting uninhibited growth of neoplastic cells and their migration (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 1, 137–143).

**Key words:** multiple myeloma, cytokines, VEGF, IL-6, HGF

Konwencjonalne sposoby terapii obejmujące środki alkilujące, antracykliny i kortykosteroidy mogą przedłużyć okres przeżycia chorego na szpiczaka mnogiego (MM – *multiple myeloma*) średnio do około 3–4 lat [1]. Zastosowanie terapii

wysokodozowanej z następowym autologicznym przeszczepieniem komórek macierzystych szpiku kostnego może wydłużyć średnią przeżycia do 4–5 lat [2]. Doskonalenie procedur autoprzeszczepów obejmuje zarówno powtarzalne zastosowanie

terapii wysokodozowanych [3], jak i immunologiczne strategie leczenia choroby resztkowej po wykonaniu przeszczepienia [4]. Chociaż wyniki terapii w kilku ostatnich latach znacznie się poprawiły, wyleczyć udaje się jednak niewielu, jeśli w ogóle, pacjentów. Terapia wysokodozowana i alloprzeszczep szpiku kostnego wiążą się wciąż z dużą śmiertelnością związaną z procedurą przeszczepową [5]. Trwają wysiłki obejmujące wykorzystanie tego sposobu leczenia we wcześniejszym etapie choroby [6], usunięcie limfocytów T z alloprzeszczepów w celu uniknięcia reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi [7] i wykorzystanie terapii niemieloablacyjnej do zmniejszenia toksyczności (tzw. minialloprzeszczep) [8]. Mimo postępu, MM pozostaje w dalszym ciągu chorobą nieuleczalną, m.in. z powodu rozwoju oporności komórek nowotworowych na wszystkie konwencjonalne sposoby leczenia, co zwraca uwagę na nagłą potrzebę nowych strategii terapeutycznych.

## Rola mikrośrodowiska szpiku kostnego w patogenezie choroby

Szpiczak mnogi jest B-komórkowym złośliwym nowotworem charakteryzującym się patologicznym, niekontrolowanym rozrostem klonalnych plazmocytów w szpiku kostnym, w powiązaniu z obecnością białka monoklonalnego w surowicy i/lub moczu, zmniejszonymi stężeniami prawidłowych immunoglobulin (Ig) oraz chorobą lityczną kości. Liczne dowody molekularne sugerują, że komórki MM są transformowanymi odpowiednikami plazmoblastów/plazmocytów centrów postgerminalnych w szpiku kostnym [9]. Mikrośrodowisko szpiku kostnego odgrywa istotną rolę w nasilaniu wzrostu, przeżywalności, migracji

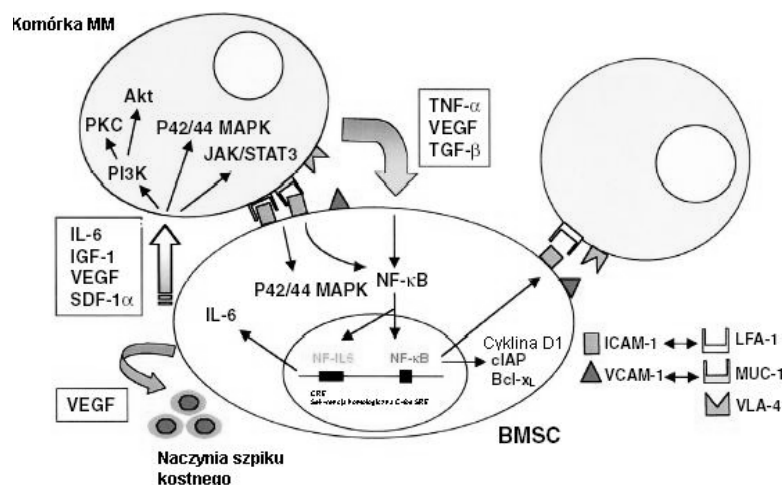
i oporności na leki komórek szpiczakowych [10] oraz określaniu mechanizmów pośredniczących w patogenezie nowotworu (ryc. 1). Komórki MM zagnieżdżają się i przylegają do białek macierzy pozakomórkowej oraz do komórek zrębowych podścieliska szpiku kostnego, co nie tylko umieszcza je w nowym środowisku, ale niesie również ważne następstwa czynnościowe. Przyleganie komórek MM do podścieliska szpiku nie tylko w sposób zbliżony pośredniczy w oporności na wywoływaną przez leki apoptozę, ale także wywołuje wydzielanie w sposób parakrynnny interleukiny 6 (IL-6), najważniejszej cytokiny pośredniczącej we wzroście i przeżyciu komórek MM [11].

Wykazano, że umiejscowione w środowisku szpiku kostnego komórki nowotworowe wydzielają cytokiny (czynniki martwicy nowotworów  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ , transformujący czynnik wzrostu  $\beta$  – TGF- $\beta$ , czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego VEGF, insulinopodobny czynnik wzrostu 1 – IGF-1 i czynnik pochodzący z komórek zrębowych SDF-1 $\alpha$ ), które następnie zwiększają wytwarzanie IL-6 w komórkach zrębu szpiku kostnego [12, 14] (ryc. 1). Kaskady sygnałowe pośredniczące w tych działaniach cytokin mogą być celem nowatorskich strategii terapeutycznych.

## Rola cytokin

### Interleukina 6 i rozpuszczalna forma receptora dla interleukiny 6

Interleukina 6 (IL-6) i rozpuszczalna forma receptora dla interleukiny 6 (sIL-6R) pełnią kluczową rolę w proliferacji plazmocytów szpiczakowych [15]. W warunkach prawidłowych IL-6 wyzwała różnicowanie limfocytów B i jest najważ-



Ryc. 1. Interakcje komórek szpiczaka mnogiego w środowisku szpiku kostnego

Fig. 1. Interaction of multiple myeloma cells and their bone marrow milieu

niejszym czynnikiem podtrzymującym zdolności ich przeżycia [16]. IL-6 powoduje przekształcenie nieufosforylowanej postaci białka *retinoblastoma* (pRB) w aktywną postać ufosforylowaną, co prowadzi do uwolnienia czynnika transkrypcyjnego E2F1 i proliferacji komórek szpiczakowych. Rolę genu *RB* w szpiczaku mnogim podkreśla sięgająca 70% częstość zarówno mutacji genu, jak i obecności jego produktu białka RB [17]. W przeciwieństwie do oddziaływania na prawidłowe plazmocyty IL-6 wzbudza proliferację komórek szpiczakowych *in vitro* i *in vivo*, ale nie indukuje wydzielania immunoglobulin [18].

Zasadniczym mechanizmem działania IL-6 jest najprawdopodobniej hamowanie apoptozy komórki szpiczakowej. IL-6 obficie wydzielana przez komórki nowotworowe jest zaangażowana w patogenezę niektórych zmian patologicznych typowych dla MM. Bezpośrednio działa osteoklastycznie oraz uszkadza nerki, sprzyjając powstaniu tzw. „nerki szpiczakowej” [19]. IL-6 może być wytwarzana w sposób autokrynnny przez nowotworowe plazmocyty lub parakrynnny przez komórki podścieliska szpiku kostnego wzbudzone w wyniku adhezji komórek szpiczakowych. W proliferacji plazmocytarnej podstawowe znaczenie ma parakrynnna droga sekrecji IL-6. Mniej istotny patogenetycznie autokrynnny sposób wydzielania IL-6 zachodzi po związaniu CD40L do powierzchniowego CD40 na plazmocytach, co powoduje przejście pRB do aktywnej ufosforylowanej postaci [20].

Receptor IL-6 składa się z dwóch podjednostek: łańcucha  $\alpha$  (CD126) oraz łańcucha  $\beta$  – glikoproteiny gp130 (CD130), będącej właściwym przekaźnikiem sygnałów do wnętrza komórki. Interleukina 6, podobnie jak inne cytokiny z rodziny IL-6 o podstawowym znaczeniu dla rozrostu nowotworowego, łączą się z antygenem CD126 i aktywują białko pełniące rolę przekaźnika sygnałów gp130. W komórce szpiczakowej istnieją dwie drogi wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnałów: szlak JAK – STAT-3 i szlak Ras – MAPK. W tym pierwszym istotną rolę odgrywają nieodłącznie związane z receptorem IL-6 kinazy tyrozynowe Janusa JAK1, JAK2 i TYK2, które fosforylują komórkowe substraty – czynniki transkrypcyjne STAT. Szczególną rolę odgrywa STAT-3, który po fosforylacji przechodzi do jądra komórkowego i działa jako czynnik inicjujący transkrypcję genu kodującego IL-6 [21]. Szlak ten może być odpowiedzialny za wywoływanie oporności komórki szpiczakowej na apoptozę. Uważa się, że bardziej istotna dla proliferacji nowotworowej jest druga ścieżka przekazywania sygnałów związana z onkogenem Ras i kinazą białkową aktywowaną przez mitogeny (MAPK) [22]. Różnice w udziale odpowiednich kaskad przekazywania sygnałów

w komórce mogą przekładać się między innymi na różnice odpowiedzi niektórych komórek szpiczakowych na IL-6 [23].

Rozpuszczalna forma receptora dla IL-6 (sIL-6R), o masie cząsteczkowej 55 KD, została wyizolowana z surowicy krwi i moczu chorych na MM [24]. Należy zaznaczyć, że sIL-6R tworząc kompleks z IL-6 zachowuje zdolność do wiązania się z gp130 i aktywacji komórki docelowej [25]. Odwrotnie zachowuje się większość pozostałych rozpuszczalnych receptorów cytokinowych, które po połączeniu ze swym rozpuszczalnym ligandem tracą aktywność. sIL-6R poszerza więc zakres komórek, które może aktywować IL-6, o komórki mające gp130, a nieposiadające IL-6R [26]. Wykazano, że stężenie sIL-6R w surowicy krwi jest podwyższone u chorych na szpiczaka mnogiego w porównaniu do zdrowych osób i koreluje z ciężkością choroby. Ocena stężenia sIL-6R w surowicy krwi jest uznawana za jeden z czynników rokowniczych w MM [27].

## Czynnik martwicy nowotworów- $\alpha$

Chociaż TNF- $\alpha$  wydzielany przez komórki MM nie indukuje ich znaczącego wzrostu, przeżycia lub oporności na leki, to wiąże się bezpośrednio z obszarem odpowiedzi na TNF- $\alpha$  promotora IL-6 i silnie pobudza wydzielanie IL-6 w podścielisku szpiku kostnego niż VEGF lub TGF- $\beta$  [12]. TNF- $\alpha$  wydzielany przez komórki MM indukuje również zależną od NF- $\kappa$ B zwiększoną ekspresję cząsteczek adhezyjnych w komórkach MM i podścielisku szpiku (CD49d i CD54) [12]. W ten sposób wiązanie komórek nowotworowych, transkrypcja i wydzielanie IL-6 w podścielisku zwiększa się (ryc. 1) [12]. Nowe leki, ukierunkowane na TNF- $\alpha$ , w tym talidomid i jego pochodne immunomodulujące, mogą działać, co najmniej częściowo, przez hamowanie następstw pośredniczonych przez IL-6.

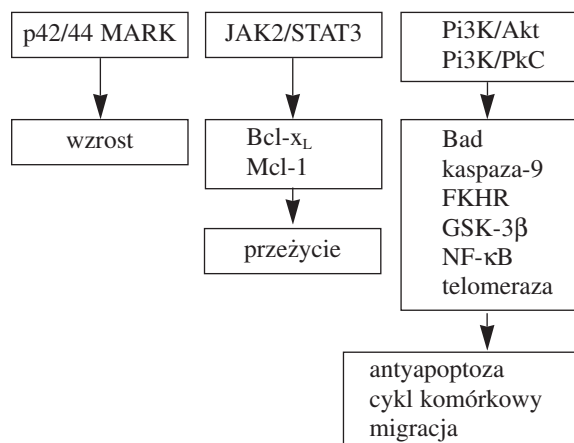
## Czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego

Czynniki wzrostu śródbłónka naczyniowego jest wytwarzany zarówno przez komórki MM, jak i w podścielisku szpiku kostnego. Może odpowiadać za zwiększenie angiogenezy obserwowane u chorych na MM. Aktywacja podjednostki CD40 indukuje zależne od p53 wydzielanie VEGF w ludzkich komórkach szpiczakowych [14]. Niektóre linie komórek MM i patologiczne plazmocyty pochodzące od pacjentów wykazują ekspresję

receptora VEGF (VEGFR) Flt1. Egzogenne VEGF wywołuje fosforylację Flt1 [14], słabe pobudzenie ERK, proliferację komórek nowotworowych, co może być neutralizowane przez przeciwciała przeciwko VEGF, inhibitor kinazy tyrozynowej VEGFR PTK787. Głównymi następstwami działania VEGF jest migracja komórek MM, w większym stopniu u chorych na białaczkę plazmatycznokomórkową (PCL), niż w komórkach chorych na MM. Indukowana przez VEGF migracja komórek MM wiąże się z zależną od  $\beta_1$ -integriny i PI3K aktywacją PKC $\alpha$ , ale nie z aktywacją ERK (ryc. 2). Bezpośrednie działania VEGF na komórki nowotworowe, indukowanie cytokin (IL-6) i angiogenezę w środowisku szpiku kostnego sugerują potencjalną użyteczność sposobów leczenia skierowanych na VEGF (ryc. 1), takich jak inhibitor kinazy tyrozynowej VEGFR PTK787 [28]. Badania polskie, przeprowadzone w Ośrodku Wrocławskim wskazują, iż duże stężenie VEGF w surowicy może być czynnikiem złego rokowania u chorych na MM [29].

Cytokiny	p42/44 MAPK	JAK2/STAT3	PI3K/Akt
IL-6	+	+	+
IGF-1	+	–	+
VEGF	+	–	–*
TNF- $\alpha$	+	–	+
SDF-1 $\alpha$	+	–	+

\* indukuje PKC.



**Ryc. 2.** Kaskady sygnałowe związane ze wzrostem, przeżyciem i migracją komórek szpiczaka mnogiego

**Fig. 2.** Signaling cascades mediating growth, survival and migration in multiple myeloma

## Czynnik wzrostu hepatocytów

Czynnik wzrostu hepatocytów (HGF) ma właściwości mitogenne, chemotaktyczne i morfogenne; działa na komórki za pośrednictwem receptora

powierzchniowego kodowanego przez prot-onkogen *c-met* [30]. HGF indukuje angiogenezę przez stymulację proliferacji, migracji i adhezji komórek śródbłonna. Ponadto wywiera istotny wpływ na morfogenezę nowych naczyń krwionośnych oraz pobudza podścielisko szpiku kostnego do syntezy czynników angiogennych [30]. Podwyższone stężenia HGF w surowicy u chorych na MM są związane z niekorzystną prognozą. Liczne badania dowodzą, iż HGF jest zaangażowany w proliferacji nowotworowej, uszkodzeniu kości, angiogenezie oraz adhezji komórek szpiczakowych do podścieliska w mikrośrodowisku szpiku kostnego [31]. Wydaje się, iż istotną rolę odgrywa mechanizm parakryny i autokryny stymulacji HGF i *c-met* [32]. Receptor *c-met* nie występuje na limfocytach B krwi obwodowej, jego obecność natomiast została potwierdzona w 100% komórek szpiczakowych na poziomie mRNA, a także na poziomie białka [32]. Najnowsze badania wskazują na istotną rolę osi HGF–*c-met* w stymulacji proliferacji oraz zahamowaniu apoptozy komórek MM. W badaniach własnych [33] analizowano 76 przypadków chorych na szpiczaka mnogiego leczonych w Klinice Hematologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Biorąc pod uwagę chorych z progresją oraz bez progresji MM wyróżniono, iż osoczowe stężenie HGF to optymalny marker prognostyczny różnicujący pacjentów. W grupie odpowiadającej na zastosowane leczenie (bez progresji choroby) wykazano osoczowe stężenia HGF o wartościach  $1283 \pm \pm 1583$  pg/ml, a w grupie z progresją choroby (wykazującej oporność na leczenie) uzyskano wartości  $3555 \pm 4498$  pg/ml; różnica ta była istotna statystycznie ( $p < 0,001$ ). W badaniach własnych ocena osoczowego stężenia HGF metodą krzywych ROC pozwoliła na rozpoznanie braku odpowiedzi na zastosowane leczenie z czułością 94,4% i swoistością 73,9% przy osoczowych wartościach stężeń  $> 1048$  pg/ml. W związku z powyższym wydaje się, iż stężenie HGF w osoczu krwi to dobry marker różnicujący chorych na szpiczaka mnogiego, jeśli chodzi o zastosowane leczenie antyproliferacyjne i rokowanie [33].

## Insulinopodobny czynnik wzrostu 1

Insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1) sprzyja proliferacji i oporności na leki w komórkach MM w wyniku aktywacji kaskad sygnałowych MAPK i PI3K/Akt [34]. IGF-1 stymuluje utrzymujące się pobudzenie NF- $\kappa$ B i PI3/Akt, indukuje fosforylację białka FKHR, reguluje w górę wewnątrzkomórkowe białka antyapoptotyczne, w tym białko FLIP, surwiwinę, cIAP-2, A1/Bfl-1,



XIAP [35] i zwiększa aktywność telomerazy (ryc. 2) [36]. Inhibitory receptora IGF-1 (IGF-1R) wykazywały w badaniach przedklinicznych aktywność przeciw MM [37], dostarczając podstaw do wykorzystania w przyszłych protokołach klinicznych.

## Czynnik wywodzący się z komórek zrębowych 1 $\alpha$

Czynnik wywodzący się z komórek zrębowych 1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ ) pośredniczy w migracji prawidłowych hematopoetycznych komórek zrębowych, jest obecny w osoczu oraz w nadsączach uzyskanych z komórek podścieliska szpiku kostnego uzyskanych od chorych na MM [38]. Receptor CXCR4 dla SDF-1 $\alpha$  wykazuje ekspresję na niektórych komórkach MM, a SDF-1 $\alpha$  aktywuje MAPK, PI3K/Akt i NF- $\kappa$ B w komórkach MM, z następową proliferacją, migracją oraz ochroną przeciwko apoptozie indukowanej przez deksametazon (ryc. 2). Na obszarze mikrośrodowiska szpiku kostnego, SDF-1 $\alpha$  reguluje zwiększone wydzielanie IL-6 i VEGF w szpiku kostnym, tym samym dalej wspierając wzrost, przeżycie, oporność na leki i migrację komórek nowotworowych (ryc. 1). Działanie SDF-1 $\alpha$  jest jednak niewielkie i nie jest obiecującym celem nowatorskich sposobów leczenia MM.

## Inne cytokiny

Rekombinowana IL-1 $\alpha$  pobudza komórki MM do wytwarzania IL-6, w ten sposób sprzyja-

jąc proliferacji komórek nowotworowych. TGF- $\beta$  wydzielany przez komórki MM wywołuje wydzielanie IL-6 w podścielisku szpiku i przyczynia się do niedoborów immunologicznych charakterystycznych dla MM na skutek zmniejszonej ekspresji limfocytów B, T i komórek NK. IL-10 jest czynnikiem proliferacji, lecz nie czynnikiem różnicowania w przypadku ludzkich komórek MM [39]. Makrofagowe białko zapalne 1 $\alpha$  jest silnym czynnikiem stymulacji osteoklastów w szpiku kostnym [40]. Donoszono o autokrynnym pośredniczeniu wzrostu w liniach komórek MM przez IL-15 [41] i IL-21 [42].

## Kierunki badań

Wiele badań z zakresu nauk podstawowych dotyczących biologii szpiczaka i czynników warunkujących przebieg choroby, niemal zawsze uwzględniające regulacje cytokinową, mają coraz wyraźniejsze implikacje kliniczno-praktyczne. Nowe obiecujące sposoby terapii opornych na leczenie przypadków MM, obejmujące talidomid i jego analogi, np.: Revimid; inhibitor proteasomów (Velcade), inhibitor NF- $\kappa$ B; trójtlenek arsenu (Trisenox), 2-metoksyestradiol, działają zarówno na komórki szpiczaka, jak i mikrośrodowisko szpiku i wywierają efekty antyangiogenne. Wciąż rosnąca liczba danych wskazuje, że te nowe generacje leków w połączeniu z konwencjonalną terapią, lub też samodzielnie, stwarzają szanse na poprawę wyników leczenia chorych na MM, a dla niektórych pacjentów mogą oznaczać możliwość uzyskania pełnej, wieloletniej remisji.

## Piśmiennictwo

- [1] Gregory WM, Richards MA, Malpas JS: Combination chemotherapy versus melphalan and prednisolone in the treatment of multiple myeloma: an overview of published trials. *J Clin Oncol* 1992, 10, 334–342.
- [2] Femand JP, Ravaud P, Chevret S, Divine M, Leblond V, Belanger C, Macro M, Pertuiset E, Dreyfus F, Mariette X, Boccacio C, Brouet JC: High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma: up-front or rescue treatment? Results of a multicenter sequential randomized clinical trial. *Blood* 1998, 92, 3131–3136.
- [3] Desikan R, Barlogie B, Sawyer J, Ayers D, Tricot G, Badros A, Zangari M, Munshi NC, Anaissie E, Spoon D, Siegel D, Jagannath S, Vesole D, Epstein J, Shaughnessy J, Fassas A, Lim S, Roberson P, Crowley J: Results of high-dose therapy for 1000 patients with multiple myeloma: durable complete remissions and superior survival in the absence of chromosome 13 abnormalities. *Blood* 2000, 95, 4008–4010.
- [4] Massaia M, Borriore P, Battaglio S, Mariani S, Beggiato E, Napoli P, Voena C, Bianchi A, Coscia M, Bostro B, Peola S, Stiefel T, Even J, Novero D, Boccadoro M, Pileri A: Idiotype vaccination in human myeloma: generation of tumorspecific immune responses after high-dose chemotherapy. *Blood* 1999, 94, 673–683.
- [5] Gahrton G, Tura S, Ljungman P, Belanger C, Brandt L, Cavo M, Facon T, Granena A, Gore M, Gratwohl A: Allogeneic bone marrow transplantation in multiple myeloma. *N Engl J Med* 1991, 325, 1267–1273.
- [6] Gahrton G, Svensson H, Cavo M, Apperly J, Bacigalupo A, Bjorkstrand B, Blade J, Cornelissen J, de Laurenzi A, Facon T, Ljungman P, Michallet M, Niederwieser D, Powles R, Reiffers J, Russell NH, Samson D, Schaefer UW, Schattenberg A, Tura S, Verdonck LF, Vernant JP, Willemze R, Volin L: Progress in allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma: a comparison between transplants performed 1983–93 and 1994–8 at European Group for Blood and Marrow Transplantation centres. *Br J Haematol* 2001, 113, 209–216.

- [7] Alyea E, Weller E, Schlossman R, Canning C, Webb I, Doss D, Mauch P, Marcus K, Fisher D, Freeman A, Parikh B, Gribben J, Soiffer R, Ritz J, Anderson K: T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation followed by donor lymphocyte infusion in patients with multiple myeloma: induction of graft-versus-myeloma effect. *Blood* 2001, 98, 934–939.
- [8] Kroger N, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Sayer HG, Renges H, Zabelina T, Fehse B, Togel F, Wittkowsky G, Kuse R, Zander AR: Autologous stem cell transplantation followed by a dose-reduced allograft induces high complete remission rate in multiple myeloma. *Blood* 2002, 100, 755–760.
- [9] Kuehl WM, Bergsagel PL: Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer* 2002, 2, 175–187.
- [10] Anderson KC: Targeted therapy for multiple myeloma. *Semin Hematol* 2001, 38, 286–297.
- [11] Chauhan D, Uchiyama H, Akbarali Y, Urashima M, Yamamoto K, Libermann TA, Anderson KC: Multiple myeloma cell adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF- $\kappa$ B. *Blood* 1996, 87, 1104–1112.
- [12] Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R, Richardson P, Anderson KC: The role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the pathogenesis of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene* 2001, 20, 4519–4527.
- [13] Gupta D, Treon SP, Shima Y, Hideshima T, Podar K, Tai YT, Lin B, Lentzsch S, Davies FE, Chauhan D, Schlossman RL, Richardson P, Ralph P, Wu L, Payvandi F, Muller G, Stirling DI, Anderson KC: Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia* 2001, 15, 1950–1961.
- [14] Podar K, Tai YT, Davies FE, Lentzsch S, Sattler M, Hideshima T, Lin BK, Gupta D, Shima Y, Chauhan D, Mitsiades C, Raje N, Richardson P, Anderson KC: Vascular endothelial growth factor triggers signaling cascades mediating multiple myeloma cell growth and migration. *Blood* 2001, 98, 428–435.
- [15] Klein B, Zhang XG, Lu ZY, Bataille R: Interleukin-6 in Human Multiple Myeloma. *Blood* 1995, 85, 863–872.
- [16] Zhang XG, Klein B, Bataille R: Interleukin-6 is a potent myeloma-cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma. *Blood* 1989, 74, 11–13.
- [17] Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW: Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood* 1994, 83, 113–118.
- [18] Kawano MM, Mihara K, Huang N, Tsujimoto T, Kuramoto A: Differentiation of early plasma cells on bone marrow stroma cells, respectively. *Br J Haematol* 1997, 99, 131–138.
- [19] Fattori E, Della Rocca C, Costa P, Giorgio M, Dente B, Pozzi L, Ciliberto G: Development of progressive kidney damage and myeloma kidney in interleukin-6 treated transgenic mice. *Blood* 1994, 83, 2570–2579.
- [20] Rawstron AC, Fenton JA, Ashcroft J, English A, Jones RA, Richards SJ, Pratt G, Owen R, Davies FE, Child JA, Jack AS, Morgan G: The interleukin-6 receptor alpha-chain (CD126) is expressed by neoplastic but not normal plasma cells. *Blood* 2000, 96, 3880–3886.
- [21] De Vos J, Jourdan M, Tarte K, Jasmin C, Klein B: JAK 2 tyrosine kinase inhibitor tyrphostin AG490 downregulates the mitogen activated protein kinase (MAPK) and signal transducer and activator of transcription (STAT) pathways and induces apoptosis in myeloma cells. *Br J Haematol* 2000, 109, 823–828.
- [22] Ogata A, Chauhan D, Urashima M, Teoh G, Treon SP, Urashima M, Schlossman RL, Anderson KC: IL-6 triggers multiple myeloma cell growth via Ras dependent mitogen-activated protein kinase cascade. *J Immunol* 1997, 159, 2212–2221.
- [23] Uchiyama H, Barut BA, Mohrbacher AF, Chauhan D, Anderson KC: Adhesion of human myeloma-derived cell lines to bone marrow stromal cells stimulates interleukin-6 secretion. *Blood* 1993, 82, 3712–3719.
- [24] Novick D, Engelmann H, Wallach D, Rubinstein M: Soluble cytokine receptors are present in normal human urine. *J Exp Med* 1989, 170, 1409–1414.
- [25] Yasukawa K, Saito T, Fukunaga T, Sekimori Y, Koishihara Y, Fukui H, Ohsugi Y, Matsuda T, Yawata H, Hirano T: Purification and characterization of soluble human IL-6 receptor expressed in CHO cells. *J Biol Chem* 1990, 265, 673–676.
- [26] Rose-John S, Heinrich PC: Soluble receptors for cytokines and growth factors: their generation and biological function. *Biochem J* 1994, 300, 281–290.
- [27] Jones S, Horiuchi S, Topley N: The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J* 2001, 15, 43–58.
- [28] Lin B, Podar K, Gupta D, Tai YT, Li S, Weller E, Hideshima T, Lentzsch S, Davies F, Li C, Weisberg E, Schlossman RL, Richardson PG, Griffin JD, Wood J, Munshi NC, Anderson KC: The vascular endothelial growth factor receptor kinase inhibitor PTK787/ZK222584 inhibits growth and migration of multiple myeloma cells in the bone marrow microenvironment. *Cancer Res* 2002, 62, 5019–5026.
- [29] Usnarska-Zubkiewicz L, Mazur G, Wróbel T, Poręba M, Kuliczowski K: Stężenie czynnika wzrostu śródbłónka (vascular endothelial growth factor) w surowicy koreluje z klinicznym przebiegiem szpiczaka mnogiego. *Pol Arch Med Wew* 2003, CX, 1, 719–724.
- [30] Jiang W, Hiscox S, Matsumoto K, Nakamura T: Hepatocyte growth factor/scatter factor, its molecular, cellular and clinical implications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 1999, 29, 209–248.
- [31] Iwasaki T, Hamano T, Ogata A, Hashimoto N, Kitano M, Kakishita E: Clinical significance vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002, 116, 4, 796–802.
- [32] Borset M, Seidel C, Hjorth-Hansen H, Waage A, Sundan A: The role of hepatocyte growth factor and its receptor *c-met* in multiple myeloma and other blood malignancies. *Leukemia Lymphoma* 1999, 32 (3–4), 249–256.

- [33] **Jurczyszyn A:** Cytokiny w patogenezie szpiczaka mnogiego, praca doktorska, 2003, Collegium Medicum UJ, 1–78.
- [34] **Ge NL, Rudikoff S:** Insulin-like growth factor I is a dual effector of multiple myeloma cell growth. *Blood* 2000, 96, 2856–2861.
- [35] **Mitsiades CS, Mitsiades N, Poulaki V, Schlossman R, Akiyama M, Chauhan D, Hideshima T, Treon SP, Munshi NC, Richardson PG, Anderson KC:** Activation of NF- $\kappa$ B and upregulation of intracellular anti-apoptotic proteins via the IGF-1/Akt signaling in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Oncogene* 2002, 21, 5673–5683.
- [36] **Akiyama M, Hideshima T, Hayashi T, Tai YT, Mitsiades CS, Mitsiades N, Chauhan D, Richardson P, Munshi NC, Anderson KC:** Cytokines modulate telomerase activity in a human multiple myeloma cell line. *Cancer Res* 2002, 62, 3876–3882.
- [37] **Mitsiades CS:** The IGF/IGF-1R system is a major therapeutic target for multiple myeloma, other hematologic malignancies and solid tumors. *Blood* 2002, 100, 170a.
- [38] **Hideshima T, Chauhan D, Hayashi T, Podar K, Akiyama M, Gupta D, Richardson P, Munshi N, Anderson KC:** The biologic sequelae of stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  in multiple myeloma. *Mol Cancer Ther* 2002, 1, 539–544.
- [39] **Lu ZY, Zhang XG, Rodriguez C, Wijdenes J, Gu ZJ, Morel-Fournier B, Harousseau JL, Bataille R, Rossi JF, Klein B:** Interleukin-10 is a proliferation factor but not a differentiation factor for human myeloma cells. *Blood* 1995, 85, 2521–2527.
- [40] **Choi SJ, Cruz JC, Craig F, Chung H, Devlin RD, Roodman GD, Alsina M:** Macrophage inflammatory protein 1- $\alpha$  is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood* 2000, 96, 671–675.
- [41] **Hjorth-Hansen H, Waage A, Borset M:** Interleukin-15 blocks apoptosis and induces proliferation of the human myeloma cell line OH-2 and freshly isolated myeloma cells. *Br J Haematol* 1999, 106, 28–34.
- [42] **Brenne AT, Baade Ro T, Waage A, Sundan A, Borset M, Hjorth-Hansen H:** Interleukin-21 is a growth and survival factor for human myeloma cells. *Blood* 2002, 99, 3756–3762.

### Adres do korespondencji:

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

Praca wpłynęła do Redakcji: 19.11.2003 r.

Po recenzji: 18.10.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 3.11.2004 r.

Received: 19.11.2003

Revised: 18.10.2004

Accepted: 3.11.2004