

Received: 2015.03.24
Accepted: 2015.05.22
Published: 2015.12.31

Inhibitory proteasomów w terapii onkologicznej

Proteasome inhibitors in cancer therapy

Wioletta Romaniuk¹, Agnieszka Ewa Ołdziej¹, Justyna Zińczuk², Janusz Kłoczko¹

¹Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyń, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

²Zakład Patomorfologii Ogólnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Proteasomy to wieloenzymatyczne kompleksy wykazujące aktywność chymotrypsynopodobną, trypsynopodobną i kaspazopodobną, których podstawową funkcją jest udział w degradacji nieprawidłowych białek. Inhibicja proteasomów powoduje nagromadzenie patologicznych białek, aktywację kaspaz i śmierć komórki. Zależność wykorzystano w terapii chorób nowotworowych. Jako pierwszy na rynek został wprowadzony bortezomib u chorych z nawrotowym/opornym szpiczakiem plazmocytowym. Przedstawicielem drugiej generacji inhibitorów proteasomu jest karfilzomib, zatwierdzony przez FDA w 2012 r. W fazie badań klinicznych znajdują się cztery nowe inhibitory: ixazomib (MLN9780/MLN2238), delanzomib (CEP-18770), oprozomib (ONX0912/PR-047) i marizomib (NPI-0052).

Słowa kluczowe:

proteasom • karfilzomib • ixazomib • delanzomib • oprozomib • marizomib

Summary

Proteasomes are multisubunit enzyme complexes. They contain three enzymatic active sites which are termed chymotrypsin-like, trypsin-like, and caspase-like. The elementary function of the proteasomes is degradation of damaged proteins. Proteasome inhibition leads to accumulation of damaged protein, which leads to caspase activation and cell death. This relationship is used in cancer therapy. Bortezomib is the first proteasome inhibitor approved by the US Food and Drug Administration for the treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. Carfilzomib belongs to the second generation of drugs, which was approved by the US FDA in 2012. Currently in the study phase there are four new inhibitors: ixazomib (MLN9780/MLN2238), delanzomib (CEP-18770), oprozomib (ONX0912/PR-047) and marizomib (NPI-0052).

Keywords:

proteasome • carfilzomib • ixazomib • delanzomib • oprozomib • marizomib

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1189941>

Word count:

2571

Tables:

1

Figures:

1

References:

55

Adres autorki:

mgr Wioletta Romaniuk, Klinika Hematologii z Pododdziałem Chorób Naczyń, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, 15-276 Białystok; e-mail: wioletta.romaniuk@vp.pl.

Wykaz skrótów:

BIK – białka proapoptyczne, **CEP-18770** – delanzomib, **ChT-L** – aktywność chymotrypsynopodobna proteasomu 20S, **C-L** – aktywność kaspazopodobna proteasomu 20S, **CLL** – przewlekła

białaczka limfocytowa, **CRd** – schemat leczenia karfilzomibem z lenalidomidem i małą dawką deksametazonu, **E1** – enzym aktywujący ubikwitynę, **E2** – enzym przyciągający ubikwitynę, **E3** – enzym wiążący ubikwitynę, **FDA** – Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków, **IKK** – kinaza inhibitora czynnika jądrowego, **I-κB** – inhibitor czynnika jądrowego, **INF-γ** – interferon γ, **MHC I** – układ zgodności tkankowej klasy I, **MLN9780**, **MLN2238** – ixazomib, **MM** – szpiczak plazmocytowy, **NF-κB** – czynnik jądrowy, **NPI-0052** – marizomib, **ONX0912**, **PR-047** – oprozomib, **T-L** – aktywność trypsynopodobna proteasomu 20S, **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu, **Ub** – ubikwityna, **UPS** – szlak ubikwityna-proteasom.

INHIBITORY PROTEASOMÓW W TERAPII ONKOLOGICZNEJ

Patogeneza chorób nowotworowych jest związana m.in. z zaburzeniem homeostazy między syntezą a degradacją poszczególnych białek komórkowych. Odkrycie mechanizmu degradacji białek za pomocą szlaku ubikwityna-proteasom (UPS, ubiquitin proteasome system) umożliwiło lepsze poznanie procesów zachodzących w komórce oraz mechanizmów, które je kontrolują. Układ ubikwityna-proteasom odpowiada za degradację białek o nieprawidłowej strukturze, wirusowych oraz białek o krótkim okresie półtrwania będących regulatorami cyklu komórkowego, apoptozy, sygnalizacji komórkowej czy ekspresji genów. Proces proteolizy jest skomplikowany i wymaga udziału wielu enzymów, nakładów energii pochodzącej z ATP, a także proteasomów - wieloenzymatycznych kompleksów, wewnątrz których odbywa się proteoliza [40].

Degradacji nie ulegają przypadkowe białka, lecz te, które wcześniej zostały naznaczone przez ubikwitynę (Ub, ubiquitin) w procesie ubikwitynacji. Proces składa się z kilku etapów, w których biorą udział enzymy: E1 (aktywujący ubikwitynę), E2 (przyciągający ubikwitynę) i E3 (wiążący ubikwitynę) zdolne do bardzo selektywnego rozpoznania substratu [27]. W pierwszym etapie E1 aktywuje ubikwitynę z udziałem ATP tworząc wysokoenergetyczne wiązanie między glicyną na C-końcu ubikwityny z grupą -SH reszty cysteinowej w centrum E1. Następnie cząsteczka Ub zostaje przeniesiona na substrat. Powstaje wiązanie izopeptydowe między aktywowanym C-końcem Ub i grupą ε-aminową jednej z reszt lizynowych obecnych w białku. Proces powtarza się aż do utworzenia łańcucha poliubikwitynowego, który zostaje rozpoznany przez proteasom [32]. W komórkach eukariotycznych wyróżnia się proteasomy 20S i 26S. Jedynie proteasomy 26S (1500-2000 kDa) są zdolne do degradacji ubikwitynowanych białek. Składają się z rdzeniowego kompleksu katalitycznego o stałej sedymentacji 20S (proteasom 20S, około 700 kDa) i dwóch kompleksów regulatorowych PA700 (19S) umiejscowionych na obydwu końcach rdzenia. Proteasom 20S jest zbudowany z 4 pierścieni, które ułożone jedno na drugim tworzą strukturę przypominającą beczułkę. Każdy pierścień składa się z 7 różnych podjednostek, których masa waha się 20-35 kDa. Pierścienie zewnętrzne są utworzone z podjednostek α, natomiast wewnętrzne z podjednostek β [2,34]. Jedynie podjednostki β są enzymami proteolitycznymi i wykazują odpowiednio: aktywność chymotrypsynopodobną (podjednostka β5), trypsynopodobną (β2) i kaspazopodobną (β1) [20].

W narządach układu immunologicznego w odpowiedzi na działanie cytokin uwalnianych z komórek we wczesnych stadiach zakażenia wirusowego (INF-γ bądź TNF-α), powstają odpowiedniki proteasomów, zwane immunoproteasomami (20S_i) [28,30]. Analogicznie do proteasomów zawierają podjednostki katalityczne: β1_i (LMP-2), β2_i (LMP-10, MECL1), β5_i (LMP-7) oraz kompleks aktywatora PA28 (11S). Podjednostki β2_i i β5_i wykazują większą aktywność proteolityczną niż podjednostki β2 i β5 proteasomów [28]. Immunoproteasomy degradują głównie białka powstałe podczas stresu oksydacyjnego oraz wytwarzają polipeptydy, które są prezentowane jako antygeny w ramach MHC I [28,30].

Podwyższone stężenie immunoproteasomów wykazano w wielu chorobach zapalnych i immunologicznych (choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie okrężnicy, choroba zapalna jelit i zapalenie wątroby), a także w chorobach nowotworowych (szpiczak plazmocytowy, nowotwór płuc i stercza). W nowotworach nerek, przełyku, skóry, a także głowy i szyi, zaobserwowano obniżone stężenie immunoproteasomów. Badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych choroby Alzheimera oraz choroby Huntingтона, wykazały zwiększoną ekspresję podjednostek β1_i i β5_i [30]. W grasicy wykryto swoisty podtyp immunoproteasomu tzw. tymoproteasom, którego jednostka katalityczna β5t, wykazuje swoistą aktywność enzymatyczną oraz bierze udział w selekcji tymocytów [28].

Degradacja białek przez UPS stanowi wewnątrzkomórkowy system kontroli zapobiegającej nagromadzeniu się defektywnych białek. W przebiegu chorób nowotworowych komórki nowotworowe stają się niestabilne genetycznie i syntetyzują ogromne ilości nieprawidłowych białek. Zablokowanie rozkładu takich białek przez inhibicję proteasomów powoduje ich nagromadzenie w świetle siateczki śródplazmatycznej doprowadzając do aktywacji kaspaz i śmierci komórki. Dlatego też związki hamujące aktywność proteasomów są obecnie wykorzystywane w terapii nowotworowej [40]. Istnieją przesłanki aby wykorzystać pomiar stężenia i aktywności proteasomów do monitorowania wyników leczenia pacjentów. Wstępne doniesienia literaturowe wykazują obniżenie stężenia i aktywności proteasomów po zastosowaniu chemioterapii w stosunku do wartości uzyskanych przed włączeniem leczenia u pacjentów chorych na szpiczaka plazmocytozowego odpowiadających na leczenie [22,33].



Pierwszym inhibitorem proteasomów zastosowanym u pacjentów z chorobami nowotworowymi jest bortezomib. Lek jest pochodną kwasu boronowego, odznacza się dużą swoistością oraz szybko i odwracalnie hamuje chymotrypsynopodobną aktywność kompleksu proteasomalnego 20S. Aktywność bortezomibu wykazano w wielu typach nowotworów. Okazało się, że jest on bardziej cytotoksyczny dla proliferujących komórek nowotworowych niż komórek prawidłowych [1]. Bortezomib hamuje aktywność czynnika transkrypcyjnego NF-κB indukując tym samym apoptozę komórek nowotworowych. W wyniku pobudzenia komórek, np. przez cytokiny, stres środowiskowy, chemioterapię, radioterapię, dochodzi do aktywacji kaskady sygnałów, które aktywują kinazę białkową IKK. Następnie IKK fosforyluje dwie reszty serynowe w N-końcowej domenie regulatorej inhibitora i zostaje rozpoznany przez ligazę ubikwitynową E3, która poddaje inhibitor ubikwitynacji. Tak naznaczone białko jest degradowane w proteasomie. Degradacja inhibitora I-κB wywołuje aktywację NF-κB, który przemieszcza się z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie nasila transkrypcję genów odpowiedzialnych za syntezę cytokin prozapalnych, białek antyapoptotycznych, molekuł adhezyjnych, białek biorących udział w procesie angiogenezy. NF-κB hamuje także transkrypcję genów odpowiedzialnych za syntezę białek proapoptotycznych [16,23]. Inhibitory proteasomów hamują aktywność NF-κB przez blokowanie degradacji jego inhibitora, co prowadzi do zmniejszenia ekspresji białek odpowiadających za przeżycie, rozwój i proliferację komórek nowotworowych.

Bortezomib jest zarejestrowany do leczenia chorych na szpiczaka plazmocytozowego (MM, multiple myeloma),

którzy byli poddani przynajmniej jednemu cyklowi leczenia, a od niedawna do leczenia pacjentów z nowo rozpoznany szpiczakiem plazmocytozowym [42]. Należy jednak podkreślić, iż bortezomib indukuje apoptozę nie tylko komórek nowotworowych szpiczaka plazmocytozowego [21], ale również raka trzustki [7,46], stercza, jajnika [17] oraz raka głowy i szyi [52]. Trwają badania nad zastosowaniem tego inhibitora w różnego typu chłoniakach oraz nowotworach złośliwych, takich jak czerniak złośliwy, mięsak, niedrobnokomórkowy rak oskrzela, rak stercza, jajnika, piersi, płuc, nerek, okrężnicy, żołądka i nowotwór centralnego układu nerwowego [53].

Druga generacja inhibitorów proteasomów

Po wprowadzeniu na rynek bortezomibu, jego zastosowanie w praktyce klinicznej przyniosło ogromny sukces, jednak występujące w czasie jego przyjmowania neuropatia obwodowa, trombocytopenia oraz oporność skłoniły badaczy do poszukiwania nowych związków, równie skutecznie hamujących aktywność proteasomów, ale mniej toksycznych dla prawidłowych komórek. Doprowadziło to do opracowania nowych związków należących do tzw. drugiej generacji inhibitorów proteasomów. Trwają badania oceniające farmakodynamikę, dawkę, schemat podania oraz profil ich bezpieczeństwa. Przedstawicielem tej grupy jest karfilzomib, który w 2012 r. został zatwierdzony przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (US FDA, US Food and Drug Administration) do leczenia pacjentów ze szpiczakiem plazmocytozowym, u których po zastosowaniu, co najmniej dwóch schematów leczenia, w tym kombinacji bortezomibu i leku immunomodulującego, nastąpił nawrót choroby lub progresja choroby w ciągu dwóch miesięcy od

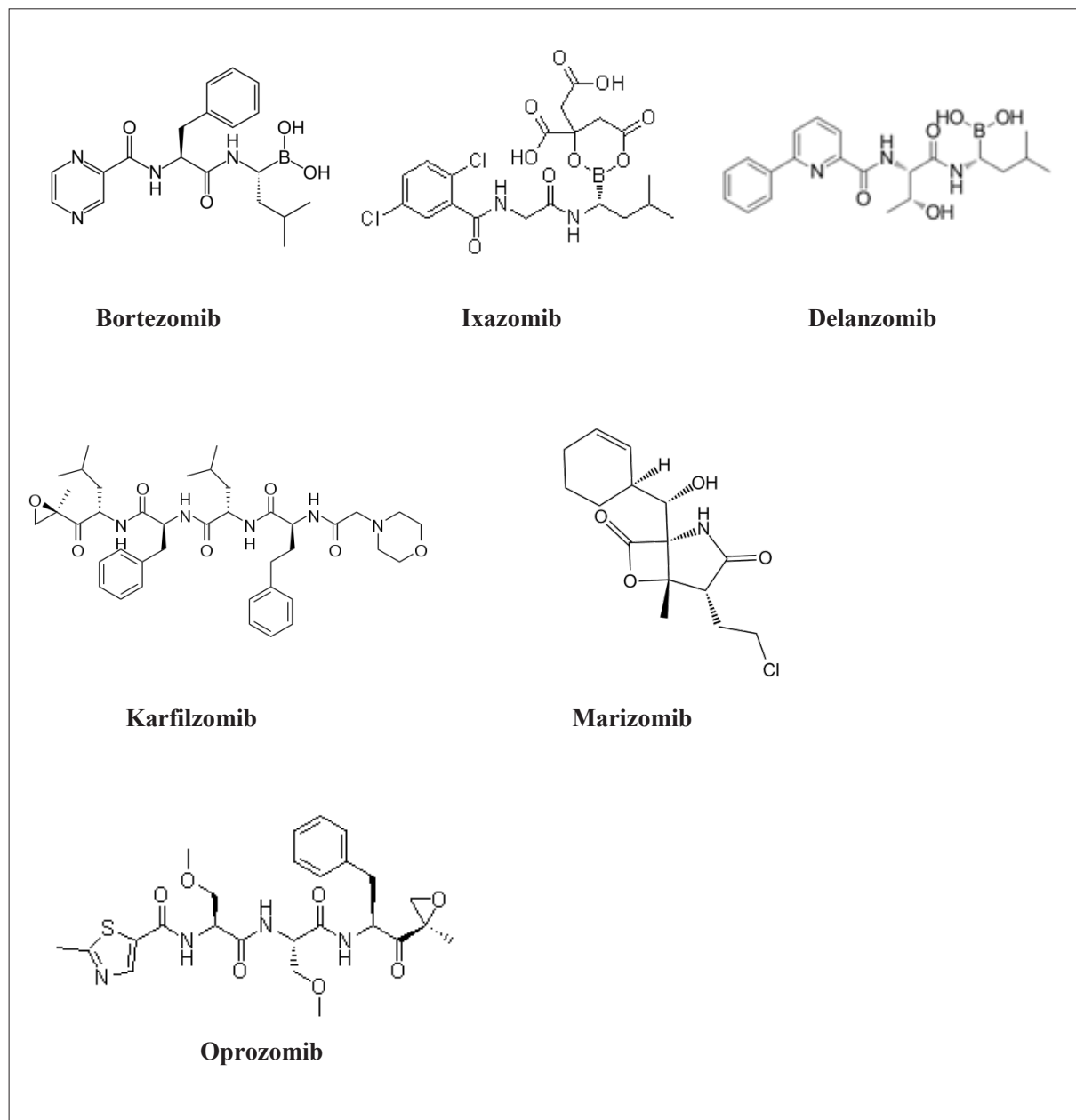
Tabela 1. Charakterystyka inhibitorów proteasomów [31]

Właściwości leku	Bortezomib (PS-341)	Ixazomib (MLN9780/MLN2238)	Delanzomib (CEP-18770)	Karfilzomib (PR-171)	Oprozomib (ONX0912/PR-047)	Marizomib (NPI-0052)
Struktura	pochodna kwasu boronowego	pochodna kwasu boronowego	pochodna kwasu boronowego	epoksyketon	epoksyketon	β-lakton
Etap badań klinicznych	zatwierdzony przez FDA	I faza badań	II faza badań	zatwierdzony przez FDA	I faza badań	II faza badań
Hamuje: - aktywność	ChT-L, (C-L) ^a	ChT-L	ChT-L	ChT-L	ChT-L	ChT-L, T-L, (C-L) ^a
-podjednostkę proteasomu						
20S	β5, (β1) ^a β5i	β5	β5	β5	β5	β5, β2, (β1) ^a -
20Si		-	-	β5i	β5i (>β5)	
Typ inhibicji	odwracalny	odwracalny	odwracalny	nieodwracalny	nieodwracalny	nieodwracalny
Czas połowicznego rozpadu (min)	110	18	-	<30	-	<10- 15
Droga podania	dożylna/ podskórna	dożylna/ doustna	dożylna/ podskórna	dożylna	dożylna/ doustna	dożylna/ doustna

- brak informacji

^a lek wykazuje minimalny efekt na daną aktywność bądź podjednostkę

FDA- Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration)



Ryc. 1. Wzory strukturalne bortezomibu oraz związków należących do drugiej generacji inhibitorów proteasomów

zakończenia terapii. W fazie badań znajdują się cztery inne inhibitory: ixazomib (MLN9780/MLN2238), delanzomib (CEP-18770), oprozomib (ONX0912/PR-047) oraz marizomib (NPI-0052) [1]. Krótką charakterystykę tych związków oraz ich wzory strukturalne przedstawiają: tabela 1 i rycina 1.

POCHODNE KWASU BORONOWEGO

MLN9780 oraz CEP-18770, podobnie jak bortezomib, są pochodnymi kwasu boronowego i hamują głównie podjednostkę β_5 proteasomu, a wynik inhibicji w tkance nowotworowej wydaje się dłuższy w porównaniu z bortezomibem [12]. Ponadto MLN9780 oraz CEP-18770 hamują angiogenezę, osteoklastogenezę oraz aktywa-

cję czynnika jądrowego NF- κ B. Wykazują silne działanie antyszpiczakowe, jak również wykazują dużą aktywność w stosunku do innych nowotworów wywodzących się z układu krwiotwórczego, co zostało potwierdzone w badaniach *in vitro* i *in vivo* [12,26]. Oba inhibitory mogą być podawane doustnie, co znacznie ułatwia ich dozowanie.

MLN9708

MLN9708 (cytrynian ixazomibu) ulega hydrolizie do postaci aktywnej farmakologicznie, MLN2238 (ixazomib), która głównie hamuje podjednostkę β_5 proteasomu [3,18], a przy większym stężeniu również podjednostki β_1 i β_2 [3]. Jest to pierwszy doustny inhi-



bitor proteasomów, który poddano badaniom klinicznym. W badaniach przeprowadzonych na bioptatach tkankowych różnych nowotworów litych wykazano znaczną dystrybucję ixazomibu do tkanek nowotworowych [5]. W monoterapii, wykazał przeciwnowotworowe działanie, z dobrym profilem bezpieczeństwa, u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym, chłoniakami oraz guzami litymi [25,29,48]. Przewyciężał oporność na bortezomib, bez wpływu na żywotność zdrowych komórek oraz wykazywał synergistyczne działanie z lenalidomidem, vorinostatem i deksametazonem u pacjentów z nowo rozpoznany szpiczakiem plazmocytowym [41]. Ponadto ixazomib u pacjentów z MM hamuje tworzenie osteoklastów, resorpcję kości oraz nasila osteoplastogenezę i aktywność osteoblastów [19]. U chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (CLL) MLN9708 powodował, zależne od dawki, obniżenie stężenia białka bcl-2 oraz zmniejszoną żywotność komórek nowotworowych spowodowaną zwiększoną przepuszczalnością błony mitochondrialnej komórek [37]. Obecnie prowadzi się 29 badań klinicznych z udziałem tego związku. Trwają badania III fazy, w których MLN9708 podawany jest chorym z nawrotowym szpiczakiem plazmocytowym łącznie z lenalidomidem i deksametazonem. Wyniki tych badań nie zostały jeszcze opublikowane. Trwają również badania mające na celu zastosowanie MLN9780 do leczenia chorych na amyloidozę [3].

CEP-18770

CEP-18770 (delanzomib), równie silnie jak bortezomib, hamuje proteasomy cechując się przy tym mniejszą aktywnością cytotoksyczną [38]. W przeciwieństwie do bortezomibu wykazuje aktywność przy podawaniu doustnym [3]. W mysim modelu szpiczaka plazmocytoowego przełamywał oporność na melfalan oraz zwiększał przeciwnowotworowe działanie bortezomibu zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* [45]. Pierwsza faza badań klinicznych z udziałem delanzomibu wykazała jego korzystny profil bezpieczeństwa przy braku neurotoksyczności i liniową farmakokinetyką w osoczu. W związku z długim okresem półtrwania CEP-18770, tygodniowy plan dawkowania może zmniejszać ryzyko jego kumulacji w organizmie [18]. W ostatnich badaniach wykazano, iż delanzomib w połączeniu z deksametazonem i/lub lenalidomidem skuteczniej redukuje liczbę komórek nowotworowych i dłużej hamuje ich wzrost w porównaniu z działaniem delanzomibu w monoterapii lub w duplecie z deksametazonem lub lenalidomidem [45]. Obecnie prowadzone są dwa badania z udziałem chorych z opornym/nawrotowym szpiczakiem plazmocytowym. Badanie dotyczące dozowania delanzomibu pacjentom z chłoniakiem nieziarnicznym i guzami litymi zostało zakończone, lecz wyników dotąd nie opublikowano [53].

EPOKSYKETONY

Karfilzomib oraz oprozomib w budowie zawierają epoksydowy keton, który stereoselektywnie reaguje z katali-

tyczną resztą treoniny, obecną w cząsteczce proteasomu blokując ją nieodwracalnie. Przywrócenie aktywności tej struktury jest możliwe wyłącznie przez syntezę nowej postaci. W badaniach przedklinicznych oba związki wykazują działanie antyresorpcyjne oraz anaboliczne związane z wytwarzaniem i mineralizacją kości przez osteoblasty [10].

Karfilzomib

Karfilzomib silnie hamuje aktywność chymotrypsynopodobną, a także nieco słabiej kaspazopodobną proteasomu 20S [15]. W badaniach *in vitro* na liniach komórkowych wywodzących się z różnych typów nowotworów ludzkich wykazuje działanie przeciwnowotworowe porównywalne z bortezomibem, pokonując oporność na ten lek [24]. W przeciwieństwie do bortezomibu, karfilzomib nie hamuje proteaz serynowych o działaniu neuroprotektynnym, dlatego nie wywołuje polineuropatii obwodowej [4]. Wykazuje synergiczne działanie z inhibitorami deacetylaz histonów: vorinostatem oraz SNDX-275 u pacjentów z chłoniakiem z komórek płaszczka [14]. W mysim modelu raka płuc i raka odbytu z docetakselem (rak płuca) lub lizosomalną doksorubicyną (rak odbytu), karfilzomib znacznie ograniczał wzrost guza [13].

Karfilzomib jest pierwszym inhibitorem drugiej generacji inhibitorów proteasomów zatwierdzonym przez FDA. Jego skuteczność potwierdziło głównie badanie II fazy PX-171-004, w którym był podawany 266 chorym z nawrotowym/opornym szpiczakiem plazmocytowym. Pacjenci wcześniej leczeni byli schematami w skład, których wchodziły m.in. bortezomib, lenalidomid oraz talidomid [47]. Karfilzomib zastosowany w monoterapii spowodował 23,7% całkowitych odpowiedzi przy medianie czasu trwania odpowiedzi u tych pacjentów 7,8 miesiąca. Całkowity czas przeżycia wyniósł 15,6 miesięcy. Ponadto karfilzomib był aktywny w grupach pacjentów z niekorzystnymi prognostycznie aberracjami cytogenetycznymi. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi karfilzomibu były powikłania hematologiczne: niedokrwistość i małopłytkowość, rzadziej obserwowano neuropatię obwodową głównie I i II stopnia. U chorych na opornego/nawrotowego szpiczaka plazmocytoowego, poddawanych nie więcej niż trzem liniom leczenia i nieotrzymujących wcześniej bortezomibu, po zastosowaniu karfilzomibu w monoterapii uzyskano 52,5% całkowitych odpowiedzi [54]. W początkowym okresie jest badanie III fazy FOCUS, które obejmuje 315 pacjentów z opornym/nawrotowym szpiczakiem plazmocytowym. Pacjenci zostali losowo przydzieleni do jednego z dwóch schematów leczenia: karfilzomib w monoterapii i steroid podawany opcjonalnie w kombinacji z cyklofosfamidem. Wstępne doniesienia wykazały, iż nie ma statystycznie znaczącej różnicy całkowitego przeżycia między tymi dwoma grupami [51]. Ostatnie badania wykazały, że nie jest konieczne dostosowywanie dawkowania karfilzomibu u pacjentów z upośledzonym funkcjonowaniem nerek. Trwają badania w celu potwierdzenia i rozszerzenia dotychczasowych ustaleń, w tym ocena upośledzenia

funkcji nerek w terapii skojarzonej (karfilzomib z lenalidomidem i małą dawką deksametazonu, CRd) [6]. Opublikowane wyniki badania II fazy PX-171-006 potwierdziły skuteczność podawania karfilzomibu z lenalidomidem i małą dawką deksametazonu chorym z nawrotowym/postępującym szpiczakiem plazmocytowym. Wykazano szybkie i trwałe klinicznie działanie leczenia CRd, które musi zostać jeszcze potwierdzone w badaniach III fazy [55]. Opierając się na roli karfilzomibu w połączeniu z lekami immunomodulującymi oceniano kombinację karfilzomib z pomalidomidem i deksametazonem (Car-Pom-d). W I/II fазie badań schemat był dobrze tolerowany i osiągnął wysoki odsetek całkowity odpowiedzi (ORR 64%). Przedmiotem badań są również nowe kombinacje wykorzystujące karfilzomib m.in. z ARRY-520, inhibitora białka wrzeciona kariokinetycznego [51]. Ostatnio opublikowane zostały wyniki podsumowujące badanie III fazy ASPIRE. Analizie poddano 792 chorych na opornego/nawrotowego szpiczaka plazmocytwego. Pacjenci poddani byli terapii wg jednego z dwóch schematów leczenia: karfilzomib, lenalidomid, deksametazon vs lenalidomid i deksametazon. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji wyniosła odpowiednio 26,3 miesiące vs 17,6 miesiąca w przypadku grupy kontrolnej ($p=0,0001$). Świadczy to o tym, że dodanie karfilzomibu do lenalidomidu i deksametazonu spowodowało znaczną poprawę przeżycia wolnego od progresji i korzystny stosunek korzyści do ryzyka [50].

Oprozomib (ONX-0912)

Oprozomib jest analogiem karfilzomibu, selektywnie hamuje aktywność chymotrypsynopodobną proteasomu 20S oraz wykazuje silne działanie przeciwnowotworowe [10]. Najnowsze badania przedkliniczne dowodzą, że oprozomib pobudza komórki NK i nie wykazuje toksyczności w stosunku do zdrowych komórek hematopoetycznych [3,10]. Oprozomib podawany doustnie równie skutecznie jak karfilzomib hamuje wzrost nowotworu. Lek indukuje apoptozę linii komórkowej nowotworów głowy i szyi przez zwiększenie ekspresji białek proapoptotyczny BIK [3]. Trwają badania fazy Ib/II u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym, makroglobulinemią Waldenströma i chłoniakiem z komórek płaszczka [53]. Zakończono badanie I fazy z zastosowaniem oprozomibu podawanego doustnie, w dniach 1-5 w 14-dniowym cyklu, pacjentom z zaawansowanymi guzami litymi. Najczęściej obserwowane objawy niepożądane dotyczyły układu pokarmowego i były zbliżone do tych obserwowanych na modelach zwierzęcych [35]. Wyniki badań nie zostały do tej pory opublikowane.

β -LAKTONY

NPI-0052 (Marizomib, Salinosporamid A) jest naturalnym β -laktonem otrzymany z szczepu morskiego promieniowca *Salinispora tropica*. Pierścień β -laktonowy w sposób nieodwracalny hamuje trzy aktywności proteasomu: chymotrypsynopodobną, trypsynopodobną oraz kaspazopodobną [9]. W odróżnieniu od bortezomibu,

który aktywuje apoptozę głównie za pośrednictwem kaspazy-9, NPI-0052 aktywuje ją szlakiem zależnym od kaspazy-8. NPI-0052 w komórkach MM wrażliwych i opornych na bortezomib indukuje apoptozę oraz skuteczniej niż bortezomib hamuje NF- κ B [39]. Wykazuje ponadto silne działanie synergistyczne z lenalidomidem oraz bortezomibem, co może być wykorzystane w przyszłości w terapii szpiczaka plazmocytwego [11]. Zaletą tego inhibitora jest możliwość podawania go doustnie. Obecnie znajduje się w I fазie badań klinicznych, w których uczestniczą pacjenci z zaawansowanymi nowotworami hematologicznymi oraz guzami litymi. Wstępne badania, w których podawano inhibitor dożylnie, jeden raz w tygodniu, wykazały, iż charakteryzuje się dobrym profilem bezpieczeństwa i skutecznością, bez znaczącej polineuropatii, neutropenii oraz trombocytopenii [49]. W innym badaniu, w którym podawano 0,5 mg/m² NPI-0052 dożylnie, dwa razy w tygodniu, przez trzy miesiące chorym na MM opornym na leczenie bortezomibem, NPI-0052 wykazywał silne działanie anty-szpiczakowe, wydłużał znacząco przeżycie chorych oraz czas wolny od progresji [43]. Obecnie planowane są dalsze badania mające na celu ocenę skuteczności leczenia NPI-0052 w skojarzeniu z lenalidomidem oraz deksametazonem u chorych na szpiczaka plazmocytwego.

PODSUMOWANIE

Odkrycie ubikwityno-proteasomalnej degradacji białek przez Avrama Hershko i Aarona Ciechanovera z Izraela oraz Irwina Rose z USA, zostało uhonorowane w 2004 r. Nagrodą Nobla w dziedzinie chemii [8]. Odkrycie stworzyło nowe możliwości terapeutyczne i zapoczątkowało badania nad związkami, które aktywują lub hamują szlak degradacji białek. Nieprawidłowości w funkcjonowaniu szlaku ubikwityna-proteasom odgrywają istotną rolę w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych (choroba Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona), genetycznych (mukowiscydoza, zespoły Angelmana, Liddle'a) oraz nowotworowych (rak jajnika, płuc, okrężnicy, białaczka mieloblastyczna) [36]. W chorobach nowotworowych wzrasta aktywność proteasomów, dlatego też wyzwaniem stało się stworzenie związków hamujących funkcjonowanie tych struktur.

Wieloletnie badania nad swoistymi, niskocząsteczkowymi inhibitorami proteasomów, zaowocowały wprowadzeniem na rynek bortezomibu, pierwowcześniego inhibitora zarejestrowanego do leczenia nawrotowego/opornego szpiczaka plazmocytwego. Trwające obecnie próby oceniają skutki jego działania w połączeniu z innymi lekami u pacjentów z nowotworami układu krwiotwórczego oraz u pacjentów z guzami litymi. Z powodu obserwowanej podczas przyjmowania bortezomibu neuropatii obwodowej oraz trombocytopenii rozpoczęto poszukiwanie innych związków, mniej toksycznych oraz bardziej swoistych, które równie skutecznie hamują proteasom. Trwają badania kliniczne czterech nowych inhibitorów należących do drugiej generacji. W 2012 r. karfilzomib został zarejestrowany do leczenia pacjentów z MM.



Wstępne badania wskazują, iż inhibitory drugiej generacji w porównaniu z bortezomibem cechują się mniejszą cytotoksycznością, pokonują oporność na konwencjonalną chemioterapię, a możliwość podawania ich doustnie znacznie ułatwia ich dozowanie.

Wyniki badań przedklinicznych i klinicznych oceniających działanie nowych inhibitorów proteasomów są bardzo obiecujące i wskazują na ich dużą skuteczność w leczeniu pacjentów z chorobami nowotworowymi.

PISMIENICTWO

- [1] Adams J.: Development of the proteasome inhibitor PS-341. *Oncologist*, 2002; 7: 9-16
- [2] Adams J.: The proteasome: structure, function, and role in the cell. *Cancer Treat. Rev.*, 2003; 29 (Suppl. 1): 3-9
- [3] Allegra A., Alonci A., Gerace D., Russo S., Innao V., Calabrò L., Musolino C.: New orally active proteasome inhibitors in multiple myeloma. *Leuk. Res.*, 2014; 38: 1-9
- [4] Arastu-Kapur S., Anderl J.L., Kraus M., Parlati F., Shenk K.D., Lee S.J., Muchamuel T., Bennett M.K., Driessen C., Ball A.J., Kirk C.J.: Nonproteasomal targets of the proteasome inhibitors bortezomib and carfilzomib: a link to clinical adverse events. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 2734-2743
- [5] Bacco A.D., Berger A., Gupta N., Gao F., Blakemore S., Qian M., Chen S., Stringer B., Yang Y., Liu R., Tirrell S., Bowman D., Smith D.C., Sullivan D., Infante J.R. i wsp.: Tumor drug distribution and target engagement of MLN9708, an investigational proteasome inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30 (Suppl.): 3077 (abstr.)
- [6] Badros A.Z., Vij R., Martin T., Zonder J.A., Kunkel L., Wang Z., Lee S., Wong A.F., Niesvizky R.: Carfilzomib in multiple myeloma patients with renal impairment: pharmacokinetics and safety. *Leukemia*, 2013; 27: 1707-1714
- [7] Bold R.J., Virudachalam S., McConkey D.J.: Chemosensitization of pancreatic cancer by inhibition of the 26S proteasome. *J. Surg. Res.*, 2001; 100: 11-17
- [8] Bury M., Niemierko A.: Proteasomalna degradacja białek komórkowych. *Postępy Biol. Kom.*, 2005; 32: 435-448
- [9] Chauhan D., Catley L., Li G., Podar K., Hideshima T., Velankar M., Mitsiades C., Mitsiades N., Yasui H., Letai A., Ovaia H., Berkers C., Nicholson B., Chao T.H., Neuteboom S.T., Richardson P., Palladino M.A., Anderson K.C.: A novel orally active proteasome inhibitor induces apoptosis in multiple myeloma cells with mechanisms distinct from bortezomib. *Cancer Cell*, 2005; 8: 407-419
- [10] Chauhan D., Singh A.V., Aujay M., Kirk C.J., Bandi M., Ciccarelli B., Raje N., Richardson P., Anderson K.C.: A novel orally active proteasome inhibitor ONX0912 triggers *in vitro* and *in vivo* cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood*, 2010; 116: 4906-4915
- [11] Chauhan D., Singh A.V., Ciccarelli B., Richardson P.G., Palladino M.A., Anderson K.C.: Combination of novel proteasome inhibitor NPI-0052 and lenalidomide trigger *in vitro* and *in vivo* synergistic cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood*, 2010; 115: 834-845
- [12] Chauhan D., Tian Z., Zhou B., Kuhn D., Orłowski R., Raje N., Richardson P., Anderson K.C.: *In vitro* and *in vivo* selective antitumor activity of a novel orally bioavailable proteasome inhibitor MLN9708 against multiple myeloma cells. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 5311-5321
- [13] Dajee M., Aujay M., Demo S., Jiang J., Krik C., Lee S., Parlati F., Sheild J., Sun M., Suzuki E.: The selective proteasome inhibitor carfilzomib in combination with chemotherapeutic agents improves anti-tumor response in solid tumor xenograft models. *Eur. J. Cancer*, 2008; 6 (Suppl.): 75
- [14] Dasmahapatra G., Lembersky D., Son M.P., Attkisson E., Dent P., Fisher R.I., Friedberg J.W., Grant S.: Carfilzomib interacts synergistically with histone deacetylase inhibitors in mantle cell lymphoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Cancer Ther.*, 2011; 10: 1686-1697
- [15] Demo S.D., Kirk C.J., Aujay M.A., Buchholz T.J., Dajee M., Ho M.N., Jiang J., Laidig G.J., Lewis E.R., Parlati F., Shenk K.D., Smyth M.S., Sun C.M., Vallone M.K., Woo T.M., Molineaux C.J., Bennett M.K.: Antitumor activity of PR-171, a novel irreversible inhibitor of the proteasome. *Cancer Res.*, 2007; 67: 6383-6391
- [16] Escarega E.O., Fuentes-Alexandro S., Garcia-Carrasco M., Gatica A., Zamora A.: The transcription nuclear factor-kappa B and cancer. *Clin. Oncol.*, 2007; 19: 154-161
- [17] Frankel A., Man S., Elliott P., Adams J., Kerbel R.S.: Lack of multicellular drug resistance observed in human ovarian and prostate carcinoma treated with the proteasome inhibitor PS-341. *Clin. Cancer Res.*, 2000; 6: 3719-3728
- [18] Gallerani E., Zucchetti M., Brunelli D., Marangon E., Noberasco C., Hess D., Delmonte A., Martinelli G., Böhm S., Driessen C., De Braud F., Marsoni S., Cereda R., Sala F., D'Incalci M., Sessa C.: A first in human phase I study of the proteasome inhibitor CEP-18770 in patients with advanced solid tumours and multiple myeloma. *Eur. J. Cancer*, 2013; 49: 290-296
- [19] Garcia-Gomez A., Quwaider D., Canaveses M., Ocio E.M., Tian Z., Blanco J.F., Berger A.J., Ortiz-de-Solorzano C., Hernández-Iglesias T., Martens A.C., Groen R.W., Mateo-Urdiales J., Fraile S., Galarraga M., Chauhan D., San Miguel J.F., Raje N., Garayoa M.: Preclinical activity of the oral proteasome inhibitor MLN9708 in myeloma bone disease. *Clin. Cancer Res.*, 2014; 20: 1542-1554
- [20] Groll M., Heinemeyer W., Jäger S., Ullrich T., Bochtler M., Wolf D.H., Huber R.: The catalytic sites of 20S proteasomes and their role in subunit maturation: a mutational and crystallographic study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 10976-10983
- [21] Hideshima T., Richardson P., Chauhan D., Palombella V.J., Elliott P.J., Adams J., Anderson K.C.: The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res.*, 2001; 61: 3071-3076
- [22] Jakob C., Egerer K., Liebisch P., Türkmen S., Zavrski I., Kuckelkorn U., Heider U., Kaiser M., Fleissner C., Sterz J., Kleeberg L., Feist E., Burmester G.R., Kloetzel P.M., Sezer O.: Circulating proteasome levels are an independent prognostic factor for survival in multiple myeloma. *Blood*, 2007; 109: 2100-2105
- [23] Jarczyszyn A., Skotnicki A.B.: Proteasome inhibition as a novel therapeutic target in neoplastic diseases. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006; 15: 309-320
- [24] Kuhn D.J., Chen Q., Voorhees P.M., Strader J.S., Shenk K.D., Sun C.M., Demo S.D., Bennett M.K., van Leeuwen F.W., Chanan-Khan A.A., Orłowski R.Z.: Potent activity of carfilzomib, a novel, irreversible inhibitor of the ubiquitin-proteasome pathway, against preclinical models of multiple myeloma. *Blood*, 2007; 110: 3281-3290
- [25] Kumar S., Bensinger W., Reeder C.B., Zimmerman T.M., Berenson J.R., Liu G., Berg D., Gupta N., Di Bacco A., Hui A.M., Niesvizky R.: Weekly dosing of the investigational oral proteasome inhibitor MLN9708 in patients (pts) with relapsed/refractory multiple myeloma (MM): A phase I study. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30 (suppl.): abstr. 8034
- [26] Kupperman E., Lee E.C., Cao Y., Bannerman B., Fitzgerald M., Berger A., Yu J., Yang Y., Hales P., Bruzzese F., Liu J., Blank J., Garcia K., Tsu C., Dick L., Fleming P., Yu L., Manfredi M., Rolfe M., Bolen J.: Evaluation of the proteasome inhibitor MLN9708 in preclinical models of human cancer. *Cancer Res.*, 2010; 70: 1970-1980

- [27] Li W, Tu D, Brunger A.T., Ye Y.: A ubiquitin ligase transfers preformed polyubiquitin chains from a conjugating enzyme to a substrate. *Nature*, 2007; 446: 333-337
- [28] Maliński M., Cichocki M.: Inhibicja aktywności proteasomu jako nowa strategia w terapii i chemioprewencji nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 90-106
- [29] Martin P., Chang J.E., Rifkin R.M., Hui A.M., Berg D., Gupta N., Liu G., Di Bacco A., Assouline S.E.: MLN9708, an investigational proteasome inhibitor, in patients (pts) with relapsed/refractory lymphoma: emerging data from a phase I dose-escalation study. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30 (Suppl.): 8064 (abstr.)
- [30] Miller Z., Ao L., Kim K.B., Lee W.: Inhibitors of the immunoproteasome: current status and future directions. *Curr. Pharm. Des.*, 2013; 19: 4140-4151
- [31] Moreau P., Richardson P.G., Cavo M., Orłowski R.Z., San Miguel J.F., Palumbo A., Harousseau J.L.: Proteasome inhibitors in multiple myeloma: 10 years later. *Blood*, 2012; 120: 947-959
- [32] Nagy V., Dikic I.: Ubiquitin ligase complexes: from substrate selection to conjugational specificity. *Biol. Chem.*, 2010; 391: 163-169
- [33] Oldziej A., Bolkun L., Galar M., Kalita J., Ostrowska H., Romaniuk W., Kloczko J.: Assessment of proteasome concentration and chymotrypsin-like activity in plasma of patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk. Res.*, 2014; 38: 925-930
- [34] Orłowski M., Wilk S.: Catalytic activities of the 20S proteasome, a multicatalytic proteinase complex. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000; 383: 1-16
- [35] Papadopoulos K.P., Mendelson D., Tolcher A.W., Patnaik A., Burris H.A., Rasco D., Bendell J.C., Gordon M., Kato G., Wong H., Bomba D., Lee S., Gillenwater H.H., Woo T., Infante J.: A phase I, open-label, dose-escalation study of the novel oral proteasome inhibitor ONX 0912 in patients with advanced refractory or recurrent solid tumors. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29 (Suppl.): 3075 (abstr.)
- [36] Paul S.: Dysfunction of the ubiquitin-proteasome system in multiple disease conditions: therapeutic approaches. *Bioessays*, 2008; 30: 1172-1184
- [37] Paulus A., Masood A., Miller K.C., Khan A.N., Akhtar D., Advani P., Foran J., Rivera C., Roy V., Colon-Otero G., Chitta K., Chanan-Khan A.: The investigational agent MLN2238 induces apoptosis and is cytotoxic to CLL cells *in vitro*, as a single agent and in combination with other drugs. *Br. J. Haematol.*, 2014; 165: 78-88
- [38] Piva R., Reggeri B., Williams M., Costa G., Tamagno I., Ferrero D., Giai V., Coscia M., Peola S., Massaia M., Pezzoni G., Allievi C., Pescalli N., Cassin M., di Giovine S. i wsp.: CEP-18770 a novel, orally active proteasome inhibitor with a tumor-selective pharmacologic profile competitive with bortezomib. *Blood*, 2008; 111: 2765-2775
- [39] Potts B.C., Lam K.S.: Generating a generation of proteasome inhibitors: from microbial fermentation to total synthesis of salinosporamide A (Marizomib) and other salinosporamides. *Mar. Drugs*, 2010; 8: 835-880
- [40] Qureshi N., Vogel S.N., Van Way C.3rd, Papsian C.J., Qureshi A.A., Morrison D.C.: The proteasome: a central regulator of inflammation and macrophage function. *Immunol. Res.*, 2005; 31: 243-260
- [41] Richardson P.G., Berdeja J.G., Niesvizky R., Lonial S., Roy V., Hari P., Berg D., Liu G., Gupta N., Di Bacco A., Hui A.M., Kumar S.: Oral weekly MLN9708, an investigational proteasome inhibitor, in combination with lenalidomide and dexamethasone in patients (pts) with previously untreated multiple myeloma (MM): A phase I/II study. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30(Suppl.): 8033 (abstr.)
- [42] Richardson P.G., Mitsiades C., Schlossman R., Ghobrial I., Hideshima T., Munshi N., Anderson K.C.: Bortezomib in the front-line treatment of multiple myeloma. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2008; 8: 1053-1072
- [43] Richardson P.G., Spencer A., Cannell P., Harrison S.J., Catley L., Underhill C., Zimmerman T.M., Hofmeister C.C., Jakubowiak A.J., Laubach J.P., Palladino M.A., Longenecker A.M., Lay A., Wear S., Lloyd G.K. i wsp.: Phase I clinical evaluation of twice-weekly marizomib (NPI-0052), a novel proteasome inhibitor, in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (MM). *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2011; 118: 302
- [44] Sanchez E., Li M., Li J., Wang C., Chen H., Jones-Bolin S., Hunter K., Ruggeri B., Berenson J.R.: CEP-18770 (delanzomib) in combination with dexamethasone and lenalidomide inhibits the growth of multiple myeloma. *Leuk. Res.*, 2012; 36: 1422-1427
- [45] Sanchez E., Li M., Steinberg J.A., Wang C., Shen J., Bonavida B., Li Z.W., Chen H., Berenson J.R.: The proteasome inhibitor CEP-18770 enhances the anti-myeloma activity of bortezomib and melphalan. *Br. J. Haematol.*, 2010; 148: 569-581
- [46] Shah S.A., Potter M.W., McDade T.P., Ricciardi R., Perugini R.A., Elliott P.J., Adams J., Callery M.P.: 26S proteasome inhibition induces apoptosis and limits growth of human pancreatic cancer. *J. Cell. Biochem.*, 2001; 82: 110-122
- [47] Siegel D.S., Martin T., Wang M., Vij R., Jakubowiak A.J., Lonial S., Trudel S., Kukreti V., Bahlis N., Alsina M., Chanan-Khan A., Buadi F., Reu F.J., Somlo G., Zonder J. i wsp.: A phase 2 study of single-agent carfilzomib (PX-171-003-A1) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood*, 2012; 120: 2817-2825
- [48] Smith D.C., Sullivan D., Infante J.R., Kauh J.S., Siu L.L., Vlahovic G., Thompson J.A., Gupta N., Di Bacco A., Liu G., Kalebit T.: MLN9708, an investigational proteasome inhibitor, in patients (pts) with solid tumors: Update phase I results. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30 (suppl.): abstr. e13603
- [49] Spencer A., Millward M., Mainwaring P., Harrison S., Catley L., Townsend A., Sukumaran S., Longenecker A.M., Palladino M.A., Lloyd G.K., Neuteboom S., Padrik P., Spear M.A., Price T.: Phase I clinical trial of the novel structure proteasome inhibitor NPI-0052. *ASH Annual Meeting Abstract*, 2009; 114: 2693
- [50] Stewart A.K., Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Masszi T., Spicka I., Oriol A., Hájek R., Rosinol L., Siegel D.S., Mihaylov G.G., Goranova-Marinova V., Rajnics P., Suvorov A., Niesvizky R., Jakubowiak A.J. i wsp.: Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 372: 142-152
- [51] Sugumar D., Keller J., Vij R.: Targeted treatments for multiple myeloma: specific role of carfilzomib. *Pharmgenomics. Pers. Med.*, 2015; 8: 23-33
- [52] Sunwoo J.B., Chen Z., Dong G., Yeh N., Crowl Bancroft C., Sausville E., Adams J., Elliott P., Van Waes C.: Novel proteasome inhibitor PS-341 inhibits activation of nuclear factor- κ B, cell survival, tumor growth, and angiogenesis in squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2001; 7: 1419-1428
- [53] US National Institute of Health. *ClinicalTrials.gov*. 2014. www.clinicaltrials.gov (13.10.2015)
- [54] Vij R., Wang M., Kaufman J.L., Lonial S., Jakubowiak A.J., Stewart A.K., Kukreti V., Jagannath S., McDonagh K.T., Alsina M., Bahlis N.J., Reu F.J., Gabrail N.Y., Belch A., Matous J.V. i wsp.: An open-label, single-arm, phase 2 (PX-171-004) study of single agent carfilzomib in bortezomib-naïve patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma. *Blood*, 2012; 119: 5661-5670
- [55] Wang M., Martin T., Bensinger W., Alsina M., Siegel D.S., Kavalchik E., Huang M., Orłowski R.Z., Niesvizky R.: Phase 2 dose-expansion study (PX-171-006) of carfilzomib, lenalidomide, and low-dose dexamethasone in relapsed or progressive multiple myeloma. *Blood*, 2013; 122: 3122-3128

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

