



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΑΝ.ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ ΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΖΕΡΒΟΣ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΟΣ ΙΑΤΡΟΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ & ΤΡΑΥΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ

«Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΟΣΤΕΟΒΛΑΣΤΩΝ ΣΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟ»

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΧΡΗΣΤΟΣ ΖΑΦΕΙΡΗΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ, ΔΙΔΑΚΤΩΡ / ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ ΕΘΝΙΚΟΥ
ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ, ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2023



NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS MEDICAL
SCHOOL

LABORATORY FOR RESEARCH OF THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM "TH. GAROFALIDIS"

POST-GRADUATE PROGRAM: METABOLIC BONE DISEASES

DIRECTOR: ASSOC. PROFESSOR EFSTATHIOS CHRONOPOULOS

MASTERTHESIS

EMMANOUIL ZERVOS

RESIDENT DOCTOR IN ORTHOPAEDIC SURGERY & TRAUMATOLOGY

«THE ROLE OF OSTEOLASTS IN BONE METASTATIC DISEASE»

SUPERVISOR:CHRISTOS ZAFEIRIS

ORTHOPAEDIC SURGEON, PhD/ SENIOR RESEARCH FELLOW AT NATIONAL AND
KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS, MEDICAL SCHOOL

ATHENS 2023

Βιογραφικό σημείωμα

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΖΕΡΒΟΣ

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- [13/09/2019 – 29/10/2023] **Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας**
Γ' Ορθοπαιδική Κλινική - Γ.Ν.Α. ΚΑΤ
Πόλη: Αθήνα
Χώρα: Ελλάδα
- [02/09/2022 – 01/09/2023] **Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας**
Β' Ορθοπαιδική Κλινική - Νοσοκομείο Παίδων << Η Αγία Σοφία >>
Χώρα: Ελλάδα
- [01/03/2022 – 31/08/2022] **Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας**
Κλινική Αθλητικών Κακώσεων - Γ.Ν.Α. ΚΑΤ
Πόλη: Αθήνα
Χώρα: Ελλάδα
- [01/03/2021 – 31/08/2021] **Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας**
Κλινική Χεριού - Άνω Άκρου - Μικροχειρουργικής - Γ.Ν.Α. ΚΑΤ
Πόλη: Αθήνα
Χώρα: Ελλάδα
- [16/10/2018 – 01/09/2019] **Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας**
Ορθοπαιδική Κλινική - Γ.Ν Ρόδου "Ανδρέας Παπανδρέου"
Πόλη: Ρόδος
Χώρα: Ελλάδα
- [17/01/2022 – 27/03/2022] **Επιβλέπων Εκπαιδευτής - ΠΡΑΚΤΙΚΗ ΑΣΚΗΣΗ ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ**
Ερευνητικό Κέντρο " Θ. ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ"
Χώρα: Ελλάδα
- [20/09/2021 – 30/11/2021] **ΠΡΑΚΤΙΚΗ ΑΣΚΗΣΗ ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ**
Ερευνητικό Κέντρο " Θ. ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ"
Χώρα: Ελλάδα
- [2021 – 2022] **Ιατρός Ομάδας Ποδοσφαίρου - " Super League Interwetten "**
Π.Α.Ε ΑΠΟΛΛΩΝ ΣΜΥΡΝΗΣ
- [17/08/2017 – 19/08/2018] **Ειδικευόμενος Ιατρός Γενικής Χειρουργικής**
Β' Γενική Χειρουργική Κλινική - Γ.Ν Ρόδου "Ανδρέας Παπανδρέου"
Πόλη: Ρόδος
Χώρα: Ελλάδα

[17/08/2017 – 19/08/2018] **Ειδικευόμενος Ιατρός Γενικής Χειρουργικής**

Β' Γενική Χειρουργική Κλινική - Γ.Ν Ρόδου "Ανδρέας Παπανδρέου"

Πόλη: Ρόδος

Χώρα: Ελλάδα

[09/2015 – 05/2019] **Ιατρός Ομάδας - Αγώνων Ποδοσφαίρου**

ΕΠΣ Δωδεκανήσου

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑ- ΤΑΡΤΙΣΗ

[25/06/2015] **Δόκτωρ Ιατρικής (Πτυχίο Ιατρικής) (MUDr.)**

Πανεπιστήμιο Charles στην Πράγα (Τσεχία)

Τελικός βαθμός: 9,15

[20/10/2020 – Τρέχουσα] **MSc (c) " ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ "**

ΕΚΠΑ

Διεύθυνση: Ελλάδα

[10/2022 – Τρέχουσα] **PhD (c) " ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΥΠΗΡΕΣΙΩΝ ΚΑΙ ΜΟΝΑΔΩΝ ΥΓΕΙΑΣ "**

FREDERICK UNIVERSITY

Διεύθυνση: Κύπρος

[2022 – 2023] **27ο ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΤΗΝ ΕΠΕΙΓΟΥΣΑ ΠΡΟΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΗ
ΙΑΤΡΙΚΗ**

ΕΚΑΒ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Κύριο θέμα / επαγγελματικές δεξιότητες που καλύπτονται:

- 3/11/2017 - 5/11/2017 : E-POSTER << ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΚΗΛΗ ΛΟΓΩ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ ΟΜΦΑΛΟΜΕΣΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΠΟΡΟΥ >> (13ο ΣΥΝΕΔΡΙΟ Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος "Σύγχρονη Τεχνολογία και Χειρουργική Εκπαίδευση")
- 6/10/2021 - 9/10/2021 : E-POSTER << ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΣΘΙΑΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ ΤΟΥ ΩΜΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ LATARJET >> (77ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας)
- 6/10/2021 - 9/10/2021 : E-POSTER << ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΤΕΧΝΙΚΗ MC LAUGHLIN ΓΙΑ ΟΠΙΣΘΙΟ ΕΞΑΡΘΡΗΜΑ ΤΟΥ ΩΜΟΥ ΜΕ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗ HILL SACHS ΚΑΚΩΣΗ >> (77ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας)
- 6/10/2021 - 9/10/2021 : E-POSTER << ΕΞΑΡΘΡΗΜΑ ΓΟΝΑΤΟΣ - ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ >> (77ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας)
- 31/5/2022 : Research Article << The Role of Osteoblasts in Bone Metastatic Disease >> (SunText Reviews)
- 12/10/2022 - 15/10/2022 : E-POSTER << Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΡΟΠΟΥ ΓΛΥΦΑΝΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΚΟΤΥΛΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΟΥ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΑΡΘΡΟΠΛΑΣΤΙΚΗ ΤΟΥ ΙΣΧΙΟΥ >> (78ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας)

- 12/10/2022 - 15/10/2022 : E-POSTER << ΜΙΑ ΣΠΑΝΙΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΣΗΣ ΠΡΟΚΑΛΛΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΦΘΟΡΑΣ ΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΖΙΡΚΟΝΙΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΑΠΟΤΥΧΗΜΕΝΗ ΟΛΙΚΗ ΑΡΘΡΟΠΛΑΣΤΙΚΗ ΤΟΥ ΙΣΧΙΟΥ : ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ >> (78ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας)

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ

Κύριο θέμα / επαγγελματικές δεξιότητες που καλύπτονται:

- 16/1/2016 : Σεμινάριο Ανανηπτών << ΒΑΣΙΚΗΣ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗΣ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΥ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟΥ >> (ΕΕΚΑΑ)
- 20/02/2016 : Σεμινάριο Ανανηπτών << ΗΛΕΚΤΡΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ >> (ΕΕΚΑΑ)
- 29/6/2018 : ATLS Course for Doctors
- 1/11/2019 - 2/11/2019 : Ορθοπαιδικό Σεμινάριο << ΕΝΔΟΑΡΘΡΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ ΓΟΝΑΤΟΣ >> ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ (Basic Level)
- 2/6/2017 - 5/6/2017 : 9ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο ΕΠΕΜΥ << ΣΥΝΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΩΝ ΣΤΙΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ >>
- 3/11/2017 - 5/11/2017 : 13ο Συνέδριο Χειρουργικής Εταιρείας Βορείου Ελλάδος << ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ >>
- 31/3/2018 - 1/4/2018 : 6ο Συμπόσιο Κλινικής Ογκολογίας Ρόδου << ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ Ν.ΑΙΓΑΙΟΥ >>
- 10/10/2018 - 13/10/2018 : 74ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας
- 28/6/2019 - 29/6/2019 : Σεμινάριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας << Νεότερες Εξελίξεις στην Ορθοπαιδική Χειρουργική >>
- 2/10/2019 - 5/10/2019 : 75ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας
- 28/11/2019 - 30/11/2019 : 3ο Πολυθεματικό Επιστημονικό Συνέδριο ΚΑΤ
- 7/5/2020 : ACL RECONSTRUCTION Webinar
- 25/9/2020 - 26/9/2020 : 5th Athens International ELBOW Course
- 14/10/2020 - 17/10/2020 : 76ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας
- 15/5/2021 : Ημερίδα ΚΑΤΑΓΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗΣ ΚΕΡΚΙΔΑΣ & ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ
- 17/9/2021 - 19/9/2021 : Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικού Ιδρύματος Οστεοπόρωσης
- 23/9/2021 - 26/9/2021 : XXXVI FIMS World Congress of Sports Medicine
- 25/9/2021 - 26/9/2021 : 1st Athens Foot And Ankle Arthroscopy Symposium
- 6/10/2021 - 9/10/2021 : 77ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας
- 5/11/2021 - 7/11/2021 : 28ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Μεταβολισμού των Οστών
- 4/12/2021 - 5/12/2021 : Επιστημονικό Σεμινάριο << Οι σημαντικότερες ανακοινώσεις των Συνεδρίων ECTS 2021 - IOF- ESCEO 2021 - ASBMR 2021 >>
- 12/5/2022 - 14/5/2022 : AO Trauma Course - Basic Principles of Fracture Management
- 12/10/2022 - 15/10/2022 : 78ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας
- 1/11/2022 - 3/11/2022 : AO Trauma Course - Advanced Principles of Fracture Management

[2008 – 2009] **Απολυτήριο Γενικού Λυκείου**

Κολλέγιο Ρόδου

Διεύθυνση: Ρόδος, Ελλάδα

Τελικός βαθμός: 19,5

ΓΛΩΣΣΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Μητρική γλώσσα/-ες: ελληνικά

Άλλη/-ες γλώσσα/-ες: αγγλικά, γερμανικά

Περίληψη

Η κύρια λειτουργία των οστεοβλαστών είναι η παραγωγή νέου οστού κατά τη διαδικασία της σκελετικής ανάπτυξης και της οστικής αναδιαμόρφωσης. Κατά τη διαδικασία αυτή, οι οστεοβλάστες αλληλεπιδρούν άμεσα με τα υπόλοιπα οστικά κύτταρα, μέσω πολύπλοκων κυτταρικών μηχανισμών. Μέσω αυτών των μηχανισμών, οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες διατηρούν το ισοζύγιο μεταξύ της οστικής παραγωγής και της οστικής απορρόφησης. Η μεταστατική νόσος των οστών είναι ένα συχνό και δυσάρεστο συμβάν σε προχωρημένα στάδια κακοήθων όγκων. Όταν τα καρκινικά κύτταρα διασπείρονται στο οστικό μικροπεριβάλλον, εκμεταλλεύονται τους συγκεκριμένους κυτταρικούς μηχανισμούς, διαταράσσοντας την ομοιόσταση των οστών. Η αλληλεπίδραση μεταξύ καρκινικών κυττάρων και κυττάρων του οστίτη ιστού είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της μεταστατικής διαδικασίας, συμπεριλαμβανομένης της αρχικής επιβίωσης και διασποράς των διάσπαρτων καρκινικών κυττάρων, της ενεργοποίησης ανενεργών μικρομεταστατικών βλαβών και της εξάπλωσης οστεοβλαστικών ή οστεολυτικών μεταστάσεων. Ο στόχος αυτής της εργασίας είναι η ανασκόπηση του ρόλου των οστεοβλαστών στη μεταστατική νόσο των οστών.

Λέξεις - Κλειδιά: οστεοβλάστες, οστεοκλάστες, καρκίνος, οστικές μεταστάσεις, μικροπεριβάλλον

Abstract

The main function of osteoblasts is new bone production during the process of skeletal growth and bone remodeling. During bone remodeling, osteoblasts interact directly with other bone cells through complex cellular mechanisms. Via these mechanisms, osteoblasts and osteoclasts preserve the balance between bone production and bone resorption. Bone metastatic disease is a frequent and unpleasant event in advanced stages of malign tumors. When the tumor cells spread to the bone microenvironment, they use the specific cellular mechanisms, disrupting the homeostasis of the bones. The cross-talk among cancer cells and bone tissue cells is crucial in the maintenance of the metastatic process, including the initial survival and seeding of disseminated tumor cells, activation of inactive micrometastatic lesions, and outspread of osteoblastic or osteolytic metastases. The aim of this review is to describe the role of osteoblasts in bone metastatic disease.

Key - Words: osteoblasts, osteoclasts, cancer, bone metastases, microenvironment

Περιεχόμενα

Βιογραφικό σημείωμα	3
Περίληψη	6
Abstract	7
Περιεχόμενα	8
Πίνακας Εικόνων	11
Πίνακας Πινάκων	14
Κεφάλαιο 1. Οστεοβλάστες	15
1.1 Προέλευση οστεοβλαστών	15
1.2 Μηχανισμός δράσης οστεοβλαστών	17
1.3 Ρύθμιση οστικής παραγωγής από τους οστεοβλάστες	18
1.3.1 Ρόλος του Runx2	18
1.3.2 Ρόλος του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt / β-κατενίνη	19
1.3.3 Ρόλος των αυξητικών παραγόντων	20
1.4 Τελική διαφοροποίηση των οστεοβλαστών	21
Κεφάλαιο 2. Οστική μεταστατική νόσος	22
2.1 Εισαγωγή	22
2.2 Παθοφυσιολογία	23
2.3 Ταξινόμηση	24
2.3.1 Οστεολυτικές μεταστάσεις	24
2.3.2 Οστεοβλαστικές μεταστάσεις	26
2.3.3 Μεταστάσεις μικτού τύπου	26
2.4 Κλινική εικόνα	27

2.5 Απεικονιστικά ευρήματα	28
2.6 Πρόγνωση	29
2.7 Θεραπεία	30
2.7.1 Διφωσφονικά	30
2.7.2 Denosumab	31
2.7.3 Ακτινοθεραπεία	31
2.7.4 Χειρουργική επέμβαση	31
2.7.5 Ραδιοϊσότοπα	32
2.7.6 Νεώτερα φάρμακα	32
Κεφάλαιο 3. Διασπορά και πολλαπλασιασμός των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων	33
3.1 Ρόλος του οστικού μικροπεριβάλλοντος	35
3.1.1 Ενδοοστική κρύπτη	37
3.1.2 Κρύπτη αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSC)	38
3.1.3 Περιαγγειακή κρύπτη	38
3.1.4 Κρύπτη λιποκυττάρων μυελού των οστών	41
3.2 Ενεργοποίηση μεταστατικών κυττάρων	41
Κεφάλαιο 4. Ο ρόλος των οστεοβλαστών στις οστεολυτικές μεταστάσεις	43
4.1 Ρόλος του SDF-1 στις οστεολυτικές μεταστάσεις	43
4.2 Ρόλος των αυξητικών παραγόντων στις οστεολυτικές μεταστάσεις	44
4.3 Ρόλος των κυτοκινών στις οστεολυτικές μεταστάσεις	45
4.4 Ρόλος του RANKL στις οστεολυτικές μεταστάσεις	46
4.5 Ρόλος του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt στις οστεολυτικές μεταστάσεις	49
4.6 Ρόλος του Runx2 στις οστεολυτικές μεταστάσεις	50
4.7 Αλληλεπίδραση οστεοβλαστών και καρκινικών κυττάρων στις οστεολυτικές μεταστάσεις	50
Κεφάλαιο 5. Ο ρόλος των οστεοβλαστών στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	53

5.1 Ρόλος των αυξητικών παραγόντων στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	53
5.2 Ρόλος του VEGF στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	55
5.3 Ρόλος της ενδοθηλίνης-1 (ET-1) στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	55
5.4 Ρόλος των μη κολλαγονικών πρωτεϊνών στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	58
5.4.1 Οστεονεκτίνη	58
5.4.2 Οστεοποντίνη	58
5.4.3 Οστική σιαλοπρωτεΐνη	60
5.5 Ρόλος των υποδοχέων ανδρογόνων στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	61
5.6 Ρόλος των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs) στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	62
5.7 Ρόλος των LIF στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	64
5.8 Ρόλος των miRNAs στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	65
Κεφάλαιο 6. Ο ρόλος των οστεοκλαστών στην οστική μεταστατική νόσο	68
6.1 Οστεοκλάστες	68
6.2 Ρόλος των οστεοκλαστών στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις	70
6.3 Ρόλος των οστεοκλαστών στις οστεολυτικές μεταστάσεις	70
Κεφάλαιο 7. Συμπεράσματα	72
ΠίνακαςΣυντομογραφιών	73
Βιβλιογραφία	75

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1. Διαδικασία οστεοβλαστογένεσης. Τροποποιημένο από Kim et al [3].	16
Εικόνα 2. Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οστεοβλάστη που παράγει οστεοειδές [6].	17
Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση της δράσης του Runx2 στα διάφορα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Τροποποιημένο από Komori [8].	19
Εικόνα 4. Φωτογραφία οστεοκυττάρου μέσα στην οστική εξωκυττάρια ουσία, από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο [16].	21
Εικόνα 5. Μετατροπή ενός αρχικού επιθηλιακού κυττάρου σε επιθετικό μεσεγχυματικό κύτταρο. Η μετάβαση λαμβάνει χώρα είτε μέσω διασποράς ενός κυττάρου, είτε μέσω συλλογικής μετανάστευσης. Τροποποιημένο από Fares et al [22].	23
Εικόνα 6. Οστεολυτική μετάσταση βραχιονίου από καρκίνο του πνεύμονα. Τροποποιημένο από Das et al [26].	25
Εικόνα 7. Οστεοβλαστική μετάσταση γόνατος από καρκίνο του προστάτη [27].	26
Εικόνα 8. Απεικονιστικά ευρήματα μεμονωμένης ασυμπτωματικής οστικής μετάστασης σε ασθενή με καρκίνο του μαστού. Το μαύρο βέλος (αριστερά) απεικονίζει αυξημένη πρόσληψη τεχνητίου -99m στον 1 ^ο οσφυϊκό σπόνδυλο σε σπινθηρογράφημα οστών. Λεπτομερέστερη απεικόνιση διεξήχθη με PET scan με χρήση FDG (λευκό βέλος, δεξιά). Τροποποιημένο από Clezardin et al [34].	28
Εικόνα 9. Σχηματική ανασκόπηση των βασικών μοριακών γεγονότων στη μεταστατική διαδικασία. Στα αρχικά στάδια, τα κύτταρα αποσπώνται από την πρωτογενή μάζα του όγκου, εισβάλλουν σε παρακείμενους ιστούς και στη συνέχεια εισέρχονται στο λεμφικό ή κυκλοφορικό σύστημα, το οποίο τα μεταφέρει σε απομακρυσμένα σημεία, όπου εξαγγειώνονται και εισέρχονται στο τοπικό μικροπεριβάλλον. Σε αυτό το σημείο, συγκεκριμένοι παράγοντες καθορίζουν εάν τα κύτταρα μπορεί να πολλαπλασιαστούν για να σχηματίσουν μια κλινικά ανιχνεύσιμη μετάσταση ή εάν πρόκειται να παραμείνουν αδρανείς ως μεμονωμένα κύτταρα ή μικρομεταστάσεις [49].	34
Εικόνα 10. Εντός των οστών, η προμεταστατική κρύπτη θεωρείται ότι αποτελείται από μια κρύπτη αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCs), μια ενδοοστική κρύπτη που αποτελείται από οστεοκλάστες (OC), οστεοβλάστες (OB), οστεοκύτταρα (OCY), ινοβλάστες και μια περιαγγειακή κρύπτη που αποτελείται	

από ενδοθηλιακά κύτταρα και περικύτταρα. Επίσης υπάρχει και ο ξεχωριστός ρόλος της κρύπτης των λιποκυττάρων του μυελού των οστών στην οστική μετάσταση. Η αλληλεπίδραση και η επικάλυψη μεταξύ των κρυπτών ρυθμίζει την εγκατάσταση, την επιβίωση και την αδράνεια των καρκινικών κυττάρων στο οστικό μικροπεριβάλλον. Τροποποιημένο από Haider et al ^[54]	36
Εικόνα 11. Φαύλος κύκλος των οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων. Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των καρκινικών κυττάρων, των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης και του αποικισμού των οστών κατά τις οστεοβλαστικές οστικές μεταστάσεις. Τροποποιημένο από Ottewell ^[64]	39
Εικόνα 12. Σχηματική απεικόνιση της εγκατάστασης των καρκινικών κυττάρων στην ενδοοστική και την περιαγγειακή κρύπτη. Τροποποιημένο από Clezardin et al ^[34]	40
Εικόνα 13. Απεικόνιση του ρόλου που παίζουν οι αυξητικοί παράγοντες και οι κυτοκίνες στην ανάπτυξη των οστεοβλαστικών μεταστάσεων. Τα καρκινικά κύτταρα στα οστά μπορούν να παράγουν παράγοντες που ενεργοποιούν το σχηματισμό οστεοκλαστών και την οστική απορρόφηση. Επιπρόσθετα, τα καρκινικά κύτταρα παράγουν κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες που ενεργοποιούν τη στρατολόγηση και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών υπέρ της οστικής παραγωγής. Τροποποιημένο από Croucher ^[99]	47
Εικόνα 14. Ο φαύλος κύκλος των οστεολυτικών οστικών μεταστάσεων. Τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν παράγοντες που ενισχύουν τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω των πρωτοοστεοβλαστών και των οστεοβλαστών. Τροποποιημένο από Suominen et al ^[118]	51
Εικόνα 15. Ρόλος του VEGF στις οστικές μεταστάσεις στον καρκίνο του προστάτη. Διασπορά των καρκινικών κυττάρων από τον πρωτοπαθή όγκο στις θέσεις των απομακρυσμένων μεταστάσεων. Τροποποιημένο από Roberts et al ^[130]	56
Εικόνα 16. Σχηματική απεικόνιση του ρόλου της οστεοποντίνης στην παθογένεση των καρκινικών μεταστάσεων. Τροποποιημένο από Zhao et al ^[142]	59
Εικόνα 17. Σχηματική απεικόνιση της προαγωγής της οστικής μετάστασης στον καρκίνο του μαστού μέσω της οστικής σιαλοπρωτεΐνης (BSP) και της ιντεγκρίνης $\alpha_v\beta_3$. Τροποποιημένο από Wang et al ^[148]	60
Εικόνα 18. Μηχανισμοί αύξησης της οστεογένεσης και μείωσης της λιπογένεσης στα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών από τους υποδοχείς ανδρογόνων. Τροποποιημένο από Chen et al ^[150]	62
Εικόνα 19. Ο φαύλος κύκλος των οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων. Τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν παράγοντες που επάγουν την αγγειογένεση και τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες. Τα καρκινικά κύτταρα χρησιμοποιούν τις περιαγγειακές κρύπτες του	

<i>ενδοθηλίου. Οι οστεοβλάστες επάγουν τη διαφοροποίηση και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και οι αυξητικοί παράγοντες που απελευθερώνονται από την οστική απορρόφηση υποστηρίζουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Τροποποιημένο από Suominen et al ^[118].....</i>	<i>67</i>
<i>Εικόνα 20. Απεικόνιση οστεοκλάστη σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ^[173].....</i>	<i>68</i>
<i>Εικόνα 21. Μικροσκοπική εικόνα οστεοβλαστών και οστεοκλαστών στην οστική επιφάνεια κατά τη διαδικασία της οστικής ανακατασκευής ^[174].....</i>	<i>69</i>

Πίνακας Πινάκων

<i>Πίνακας 1. Σχετικές συχνότητες οστικών μεταστάσεων ανά τύπο καρκίνου.....</i>	<i>22</i>
<i>Πίνακας 2. Διάμεση επιβίωση των ασθενών με οστικές μεταστάσεις από τη στιγμή της διάγνωσης</i>	<i>29</i>
<i>Πίνακας 3. Ρόλος των BMPs και των υποδοχέων τους στον καρκίνο του μαστού. Τροποποιημένο από Zabkiewicz et al ^[161].....</i>	<i>64</i>

Κεφάλαιο 1. Οστεοβλάστες

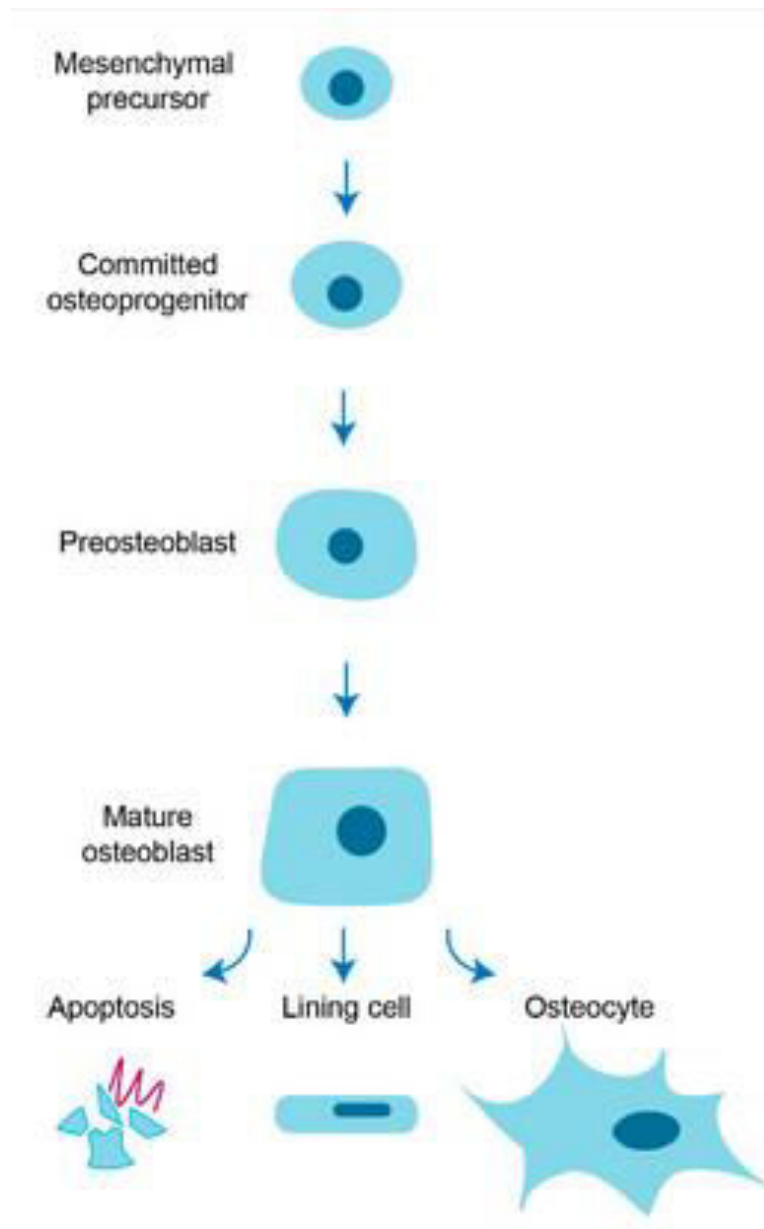
Οι οστεοβλάστες είναι μονοπύρηννα κύτταρα υπεύθυνα για την παραγωγή του οστίτη ιστού. Βρίσκονται σε μεγάλους αριθμούς στο περίοστεο και στο ενδόστεο των οστών.

1.1 Προέλευση οστεοβλαστών

Πρόκειται για εξειδικευμένα, πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα που προέρχονται από τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα. Από τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα προέρχονται, μεταξύ άλλων, οι οστεοβλάστες, τα λιποκύτταρα και οι μυϊκές ίνες. Οι οστεοβλάστες προέρχονται από δυο διαφορετικούς εμβρυϊκούς πληθυσμούς. Ο πρώτος προέρχεται από το νευρικό εξώδερμα και οι οστεοβλάστες σχηματίζονται απευθείας από συμπυκνωμένα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα χωρίς ενδιάμεσα στάδια. Αυτοί οι οστεοβλάστες συνθέτουν ως επί το πλείστον τα οστά της κεφαλής και της κλείδας, και η διαδικασία ονομάζεται ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση. Το υπόλοιπο τμήμα του σκελετού προκύπτει με ενδοχόνδρια οστεοποίηση, όπου οι οστεοβλάστες προέρχονται από μια ενδιάμεση κατηγορία περιχόνδριων κυττάρων ή απευθείας από υπερτροφικά χονδροκύτταρα [1-2].

Και στα δυο είδη οστεοποίησης, οι οστεοβλάστες προέρχονται από πολυδύναμα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα τα οποία μετατρέπονται σε οστεοπρογονικά κύτταρα (osteoprogenitorcells) και διαφοροποιούνται περαιτέρω μέσω της έκφρασης των μεταγραφικών παραγόντων Runx2 και Osterix. Τα οστεοπρογονικά κύτταρα μετατρέπονται σε προοστεοβλάστες, οι οποίοι με τη σειρά τους συνεχίζονται να διαφοροποιούνται σε ώριμους οστεοβλάστες που παράγουν εξωκυττάρια ουσία. Οι ώριμοι οστεοβλάστες έχουν διαφορετική μοίρα: Είτε καταλήγουν μέσω απόπτωσης,

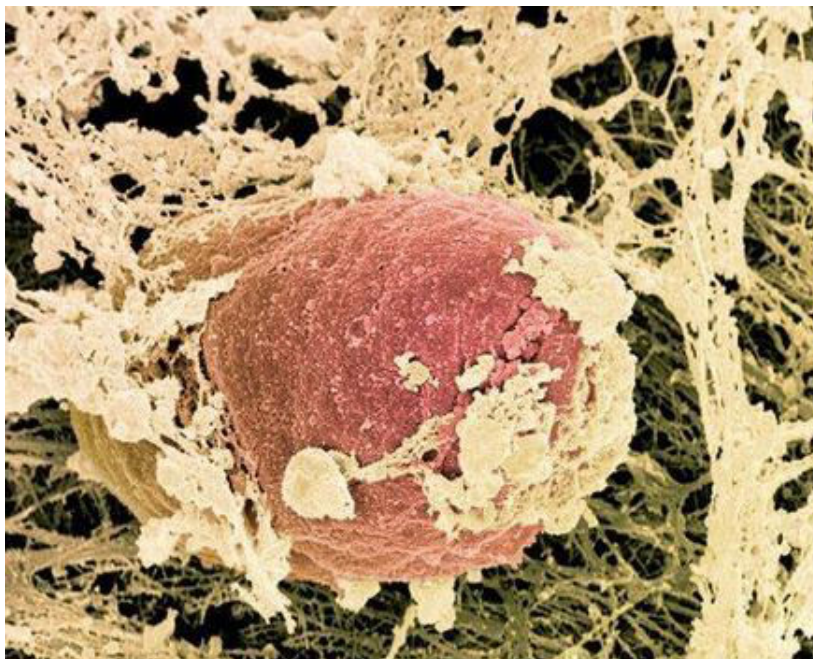
είτε μετατρέπονται σε επενδυματικά κύτταρα είτε σε οστεοκύτταρα. Η όλη διαδικασία καλείται οστεοβλαστογένεση και απεικονίζεται σχηματικά στην εικόνα 1^[3].



Εικόνα 1. Διαδικασία οστεοβλαστογένεσης. Τροποποιημένο από Kimetel^[3].

1.2 Μηχανισμός δράσης οστεοβλαστών

Κατά τη διάρκεια της διαμόρφωσης του σκελετού κατά την εμβρυογένεση και στη φάση της οστικής αναδιαμόρφωσης, οι οστεοβλάστες είναι τα οστικά κύτταρα που παράγουν τον οστίτη ιστό. Στα πλαίσια της οστικής παραγωγής, οι οστεοβλάστες παράγουν το κολλαγόνο τύπου I της οστικής εξωκυττάριας ουσίας. Επιπλέον, παράγουν μη κολλαγονικές πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας όπως η οστεονεκτίνη, η οστική σιαλοπρωτεΐνη, η θρομβοσποντίνη και η οστεοκαλσίνη. Έτσι, σχηματίζεται το οργανικό τμήμα της εξωκυττάριας ουσίας, που αποτελεί το οστεοειδές (εικόνα 2). Επιπλέον, οι οστεοβλάστες παράγουν τον υδροξυαπατίτη, που αποτελεί το ανόργανο τμήμα του οστίτη ιστού^[4]. Κατόπιν, οι οστεοβλάστες θάβονται μέσα στην εξωκυττάρια ουσία των οστών και μετατρέπονται σε οστεοκύτταρα, τα οποία έχουν σημαντικές λειτουργίες στη συντήρηση του σκελετού. Επίσης στα πλαίσια της οστεοποίησης, οι οστεοβλάστες παράγουν αυξητικούς παράγοντες, ένζυμα και ορμόνες όπως αλκαλική φωσφατάση, μεταλλοπρωτεΐνάσες, TGF- β και IGFs^[5].



Εικόνα 2. Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οστεοβλάστη που παράγει οστεοειδές ^[6].

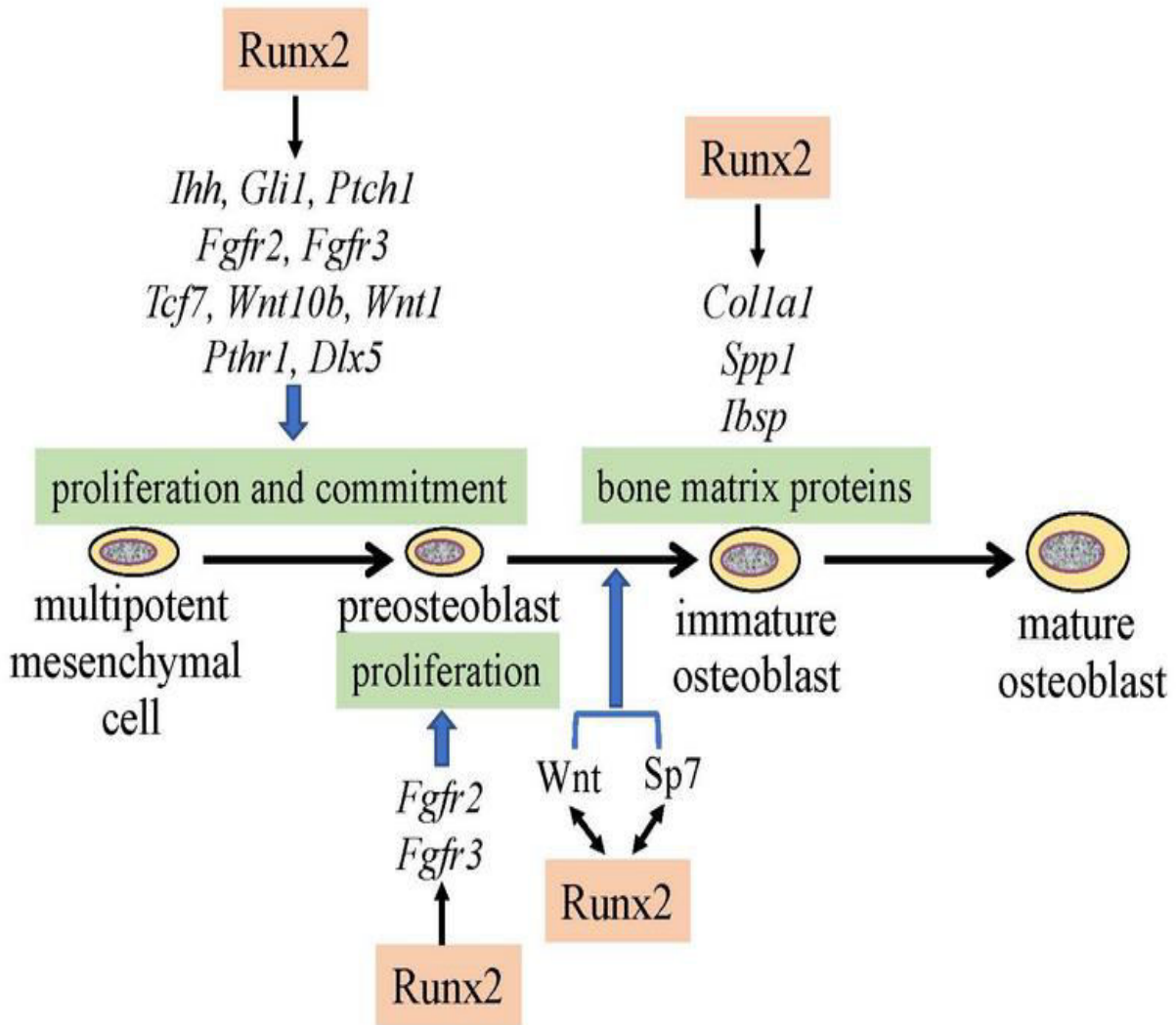
1.3 Ρύθμιση οστικής παραγωγής από τους οστεοβλάστες

Η συνδυασμένη δράση των μεταγραφικών παραγόντων Runx2 και Osx είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες [5]. Τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να διαφοροποιούνται σε κύτταρα μεσοδερμικής προέλευσης όπως χονδροκύτταρα, οστεοβλάστες και λιποκύτταρα. Η σύνδεση των πρόδρομων οστικών κυττάρων και των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων πυροδοτεί τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Σταδιακά, διαφοροποιούνται σε ώριμους λειτουργικούς οστεοβλάστες που εκφράζουν γονίδια οστεοβλαστών και τελικά μετατρέπονται σε οστεοκύτταρα, ενσωματωμένα στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία εντός του μυελού των οστών. Η ρύθμιση της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης πραγματοποιείται μέσω οστεογενετικών μονοπατιών σηματοδότησης [7].

1.3.1 Ρόλος του Runx2

O Runx2 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, ζωτικής σημασίας για την οστική παραγωγή. Η έκφρασή του είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς. O Runx2 συνδέεται με την περιοχή του promoter (OSE-2) των γονιδίων των οστεοβλαστών. O Runx2 εκφράζεται στα αρχικά στάδια της εμβρυϊκής σκελετογένεσης, σε συσσωματώματα αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε περιοχές που προορίζονται για οστίτη ιστό. Εκφράζεται επίσης στη φάση του σχηματισμού οστίτη ιστού, μετά την εμμηνόπαυση. Τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα σε αυτά τα πειραματόζωα μπορούν περαιτέρω να διαφοροποιηθούν σε χονδροκύτταρα και λιποκύτταρα [7]. Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης παρέχει μεταγραφικούς παράγοντες που ρυθμίζουν την οστεοβλαστογένεση. Συνεργάζονται κυρίως με τον Runx2 και καθοδηγούν τα οστεοπρογονικά κύτταρα στη διαφοροποίησή τους προς οστεοβλάστες. Η εικόνα 3

συνοψίζει τη δράση του Runx2 στα διάφορα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών.



Εικόνα 3. Σχηματική απεικόνιση της δράσης του Runx2 στα διάφορα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Τροποποιημένο από Komori^[8].

1.3.2 Ρόλος του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt / β-κατενίνη

Η ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt / β-κατενίνης διεγείρει την παραγωγή οστού από τους οστεοβλάστες, προκαλώντας τη συσσώρευση της β-

κατενίνης και τη μεταφορά της στον πυρήνα, όπου συνδέεται με τους μεταγραφικούς παράγοντες LEF / TCF ενεργοποιώντας γονίδια συμπεριλαμβανομένου του Runx2 [9]. Η καταστολή της β-κατενίνης μειώνει τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες, υποδεικνύοντας ότι η β-κατενίνη είναι ένα βασικό μόριο στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση. Εντός του πυρήνα των οστεοβλαστών, οNF-κB ενεργοποιεί συγκεκριμένα γονίδια που παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών [10].

1.3.3 Ρόλος των αυξητικών παραγόντων

Τρεις οικογένειες αυξητικών παραγόντων επηρεάζουν την οστεοβλαστική δραστηριότητα: οι TGF-β, οι IGFs και οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs). Αυτοί οι μεταγραφικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, με ορμόνες και άλλους ενδοκυττάρους μεσολαβητές. Η οικογένεια των αυξητικών παραγόντων FGF ελέγχει συγκεκριμένα στοιχεία του σχηματισμού του ενδοχόνδριου οστού στα αρχικά στάδια της σκελετογένεσης. Διεγείρει την αναπαραγωγή των οστεοβλαστών, αλλά τείνει να μειώνει το σχηματισμό νέου οστού μειώνοντας τη σύνθεση κολλαγόνου. Η πρωτεΐνη Ihh εμπλέκεται στη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των χονδροβλαστών κατά την ενδοχόνδρια οστεοποίηση, ενώ παράλληλα ρυθμίζει τη φωσφορυλίωση του Runx2 και επομένως τη μεταγραφή των γονιδίων των οστεοβλαστών. Οι BMPs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλαπλά στάδια την οστικής παραγωγής και μορφογένεσης. Αυξάνουν την έκφραση του Runx2 σε αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα και προοστεοβλάστες. Έτσι ασκούν ευοδωτική δράση στην οστική παραγωγή. Ο TGF-β έχει σημαντικό ρόλο στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση προάγοντας την οστική παραγωγή μέσω του Runx2 και ταυτόχρονα μειώνοντας τα επίπεδα εκείνων των μεταγραφικών παραγόντων που προάγουν τη λιπογένεση [7, 11-12].

1.4 Τελική διαφοροποίηση των οστεοβλαστών

Μόλις ολοκληρωθεί η διαδικασία οστικής παραγωγής, οι οστεοβλάστες είτε μετατρέπονται σε οστεοκύτταρα, είτε παραμένουν αδρανείς, παγιδευμένοι μέσα στην οστική εξωκυττάρια ουσία είτε υφίστανται κυτταρική απόπτωση ^(13, 14). Μέσω εκτεταμένου δίκτυου κυτταροπλασματικών προσεκβολών μέσα στην οστική εξωκυττάρια ουσία, τα οστεοκύτταρα επικοινωνούν με άλλα οστεοκύτταρα καθώς και με οστεοβλάστες, (εικόνα 4). Οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα παράγουν RANKL⁽¹⁵⁾. Επομένως, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ RANKL, οστεοκλαστών, οστεοβλαστών και οστεοκυττάρων επηρεάζουν άμεσα τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών, τη διατήρηση της οστεοκλαστικής οστικής απορρόφησης και την παραγωγή αυξητικών παραγόντων από την οστική εξωκυττάρια ουσία.



Εικόνα 4. Φωτογραφία οστεοκυττάρου μέσα στην οστική εξωκυττάρια ουσία, από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ^[16].

Κεφάλαιο 2. Οστική μεταστατική νόσος

2.1 Εισαγωγή

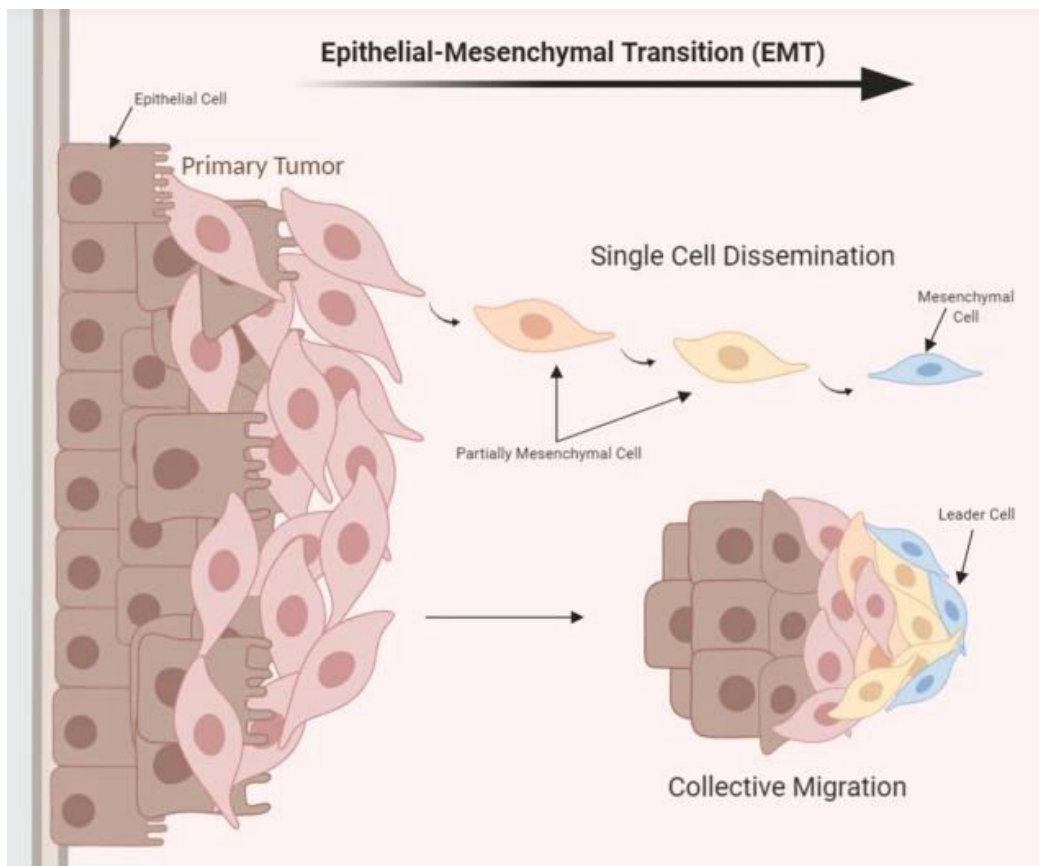
Τα οστά είναι μια συνήθης περιοχή καρκινικών μεταστάσεων. Συνήθως είναι ενδεικτικές για κακή πρόγνωση στην εξέλιξη των καρκίνων. Ο καρκίνος του προστάτη και του μαστού είναι υπεύθυνοι για το 65 - 80% των οστικών μεταστάσεων [17]. Τα οστά είναι η τρίτη πιο συχνή θέση μετάστασης, πίσω από τον πνεύμονα και το ήπαρ [18]. Ο πίνακας 1 απεικονίζει τις σχετικές συχνότητες οστικών μεταστάσεων στους διαφόρους τύπους καρκίνου [19].

Τύπος όγκου	Σχετική συχνότητα οστικών μεταστάσεων
Καρκίνος του μαστού	65 - 75%
Καρκίνος του προστάτη	65 - 75%
Καρκίνος του θυρεοειδούς	60%
Καρκίνος του πνεύμονα	30 - 40%
Καρκίνος της ουροδόχου κύστης	40%
Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα	20 - 25%
Μελάνωμα	14 - 45%

Πίνακας 1. Σχετικές συχνότητες οστικών μεταστάσεων ανά τύπο καρκίνου

2.2 Παθοφυσιολογία

Η διαδικασία των οστικών μεταστάσεων ενέχει πολλά στάδια: Αρχικά, τα καρκινικά κύτταρα του πρωτογενούς όγκου, αλλάζουν τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά τους από επιθηλιακά σε μεσεγχυματικά (εικόνα 5). Έτσι μπορούν να διαπεράσουν τη βασική μεμβράνη και να εισέλθουν στην αιματική και λεμφική μικροκυκλοφορία^[20-21].



Εικόνα 5. Μετατροπή ενός αρχικού επιθηλιακού κυττάρου σε επιθετικό μεσεγχυματικό κύτταρο. Η μετάβαση λαμβάνει χώρα είτε μέσω διασποράς ενός κυττάρου, είτε μέσω συλλογικής μετανάστευσης. Τροποποιημένο από Faresetal^[22].

Κατόπιν, μέσω της κυκλοφορίας, τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να διασπαρούν σε απομακρυσμένα όργανα, να εξέλθουν από τα αιμοφόρα αγγεία και να εγκατασταθούν στο ξένο μικροπεριβάλλον, παραμένοντας είτε σε αδράνεια είτε πολλαπλασιαζόμενα να σχηματίσουν δευτερογενείς όγκους (μεταστάσεις). Έχει υπολογιστεί ότι λιγότερο από το 0,1% των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων οδηγούν σε κλινικά ανιχνεύσιμες μεταστάσεις [23]. Τα οστά είναι μια από τις πιο συνηθισμένες θέσεις καρκινικών μεταστάσεων. Το μεγαλύτερο μέρος της γνώσης για την παθοφυσιολογία των οστικών μεταστάσεων βασίζεται σε πτωματικές μελέτες και μεγάλες σειρές περιπτώσεων. Στην περίπτωση των οστικών μεταστάσεων, τα καρκινικά κύτταρα μέσω της αιματικής κυκλοφορίας φτάνουν σε ειδικές θέσεις (κρύπτες) στο μυελό των οστών. Μετά την εγκατάστασή τους, μπορούν να παραμείνουν σε κατάσταση αδρανείας για πολλά έτη. Κάποια στιγμή, ενεργοποιούνται και αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται, μεταβάλλοντας τις λειτουργίες των κυττάρων του οστίτη ιστού, προάγοντας τη σκελετική καταστροφή [24].

Αν και πολλοί τύποι καρκίνου μεθίστανται στα οστά, υπάρχουν κάποιοι καρκίνοι που έχουν ιδιαίτερη προδιάθεση για οστικές μεταστάσεις, όπως είναι ο καρκίνος του μαστού και ο καρκίνος του προστάτη [25].

2.3 Ταξινόμηση

Οι οστικές μεταστάσεις ταξινομούνται ως οστεολυτικές, οστεοβλαστικές ή μικτές, σύμφωνα με τον κύριο μηχανισμό παρεμβολής στη φυσιολογική αναδιαμόρφωση των οστών.

2.3.1 Οστεολυτικές μεταστάσεις

Οι οστεολυτικές μεταστάσεις χαρακτηρίζονται από καταστροφή φυσιολογικού οστού, και απαντώνται σε καρκίνους όπως καρκίνος του μαστού, πολλαπλό μυέλωμα, νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, μελάνωμα, μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, λέμφωμα non-Hodgkin, καρκίνο θυρεοειδούς ή ιστοκυττάρωση κυττάρων Langerhans (εικόνα 6).



Εικόνα 6. Οστεολυτική μετάσταση βραχιονίου από καρκίνο του πνεύμονα. Τροποποιημένο από Dasetal^[26].

2.3.2 Οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Οι οστεοβλαστικές μεταστάσεις χαρακτηρίζονται από εναπόθεση νέου οστού, και απαντώνται σε καρκίνο του προστάτη, καρκινοειδή, μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, λέμφωμα Hodgkin ή μυελοβλάστωμα (εικόνα 7).



Εικόνα 7. Οστεοβλαστική μετάσταση γόνατος από καρκίνο του προστάτη [27].

2.3.3 Μεταστάσεις μικτού τύπου

Οι οστικές μεταστάσεις μικτού τύπου, χαρακτηρίζονται τόσο από οστεολυτικές όσο και οστεοβλαστικές βλάβες. Απαντώνται σε καρκίνους του πεπτικού συστήματος και πλακώδη καρκινώματα.

2.4 Κλινική εικόνα

Οι οστικές μεταστάσεις αποτελούν κύρια αιτία νοσηρότητας, που χαρακτηρίζεται από έντονο πόνο, μειωμένη κινητικότητα, παθολογικά κατάγματα, συμπίεση νωτιαίου μυελού, απλασία μυελού των οστών και υπερασβεστιαϊμία. Οι οστικές μεταστάσεις σχετίζονται με μειωμένη ποιότητα ζωής, μειωμένη φυσική λειτουργία και απώλεια λειτουργικής ανεξαρτησίας^[28]. Ο πόνος είναι το συχνότερο σύμπτωμα των οστικών μεταστάσεων. Μπορεί να έχει μονοεστιακή ή πολυεστιακή εντόπιση. Με την πάροδο του χρόνου ο πόνος τυπικά επιδεινώνεται και μπορεί να φτάσει σε επίπεδα να μην ανταποκρίνεται σε χορήγηση οπιοειδών^[29].

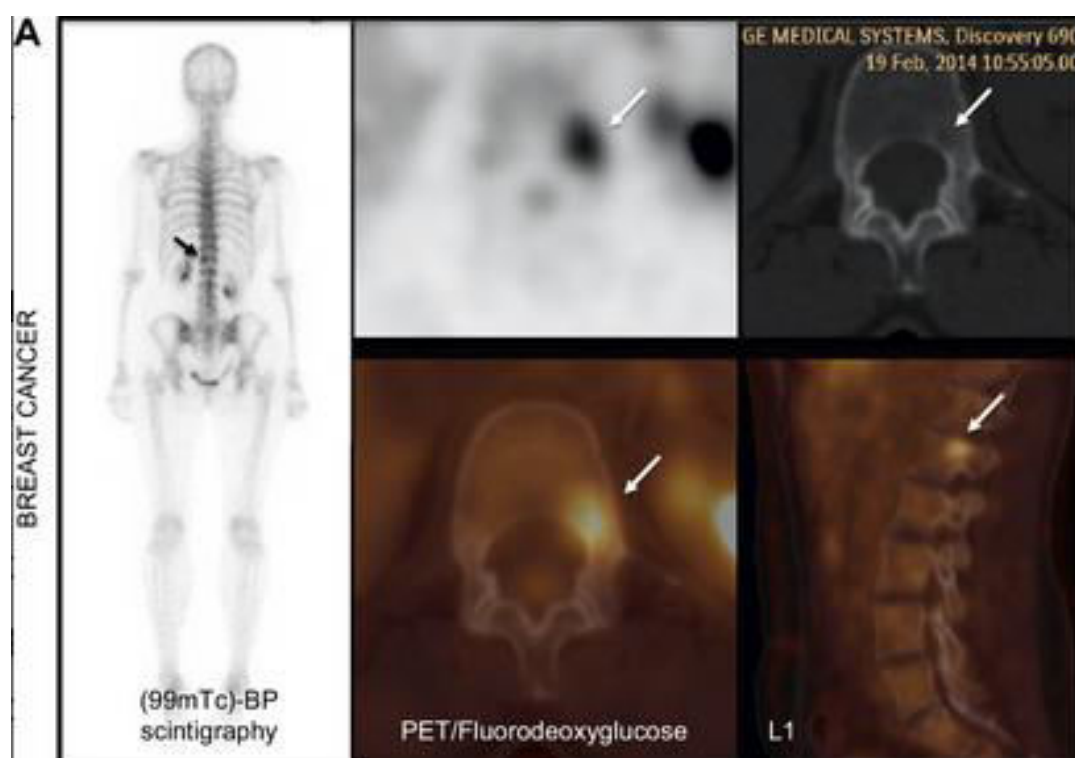
Η υπερασβεστιαϊμία είναι η πιο συχνή μεταβολική επιπλοκή της οστικής μεταστατικής νόσου. Οφείλεται κυρίως σε εστιακή οστεόλυση από καρκινικά κύτταρα, σε γενικευμένη οστεόλυση από χημικούς παράγοντες που εκκρίνονται από τον όγκο, σε αυξημένη νεφρική σωληναριακή επαναρρόφηση του ασβεστίου και σε διαταραχή της νεφρικής σπειραματικής λειτουργίας^[30]. Μπορεί να επιδεινωθεί από την παρανεοπλασματική έκκριση PTHrP ή από παθολογική ενεργοποίηση της 25-OH βιταμίνης D^[31]. Κλινικά σημεία της υπερασβεστιαϊμίας περιλαμβάνουν δυσκοιλιότητα, πολουρία, πολυδιψία, διαταραχές της διάθεσης και κόπωση. Σε τελικά στάδια, η υπερασβεστιαϊμία μπορεί να οδηγήσει σε καρδιακές αρρυθμίες, οξεία νεφρική ανεπάρκεια, διαταραχή της συνείδησης και τελικά κώμα ^[30, 32].

Η συχνότητα παθολογικών καταγμάτων στην οστική μεταστατική νόσο φτάνει το 10-30% όλων των καρκινοπαθών, με τα κεντρικά τμήματα των μακρών οστών να είναι η πιο συχνή θέση. Στο 50% των περιπτώσεων προσβάλλεται το μηριαίο οστό^[19]. Στην περίπτωση παθολογικών καταγμάτων, η πόρωση των οστών διακυβεύεται και συχνά απαιτείται χειρουργική επέμβαση^[28]. Ο πόνος των οστικών μεταστάσεων είναι διάχυτος, επιδεινώνεται τη νύχτα και δεν υποχωρεί με την ανάπαυση. Λόγω της εγγύτητας μεταξύ των οστών και των νευρικών δομών, οι οστικές μεταστάσεις προκαλούν συχνά παραισθησίες, αιμωδίες ή καυσalgίες^[28]. Η ανάπτυξη οσφυαλγίας σε

ασθενείς με καρκίνο, θα πρέπει να αποτελεί προειδοποιητικό στοιχείο για πιθανή οστική σπονδυλική μετάσταση και συμπίεση του νωτιαίου μυελού [33].

2.5 Απεικονιστικά ευρήματα

Οι απεικονιστικές εξετάσεις για τη διάγνωση των οστικών μεταστάσεων περιλαμβάνουν την αξονική τομογραφία, το PETscan και το σπινθηρογράφημα οστών (εικόνα 8).



Εικόνα 8. Απεικονιστικά ευρήματα μεμονωμένης ασυμπτωματικής οστικής μετάστασης σε ασθενή με καρκίνο του μαστού. Το μαύρο βέλος (αριστερά) απεικονίζει αυξημένη πρόσληψη τεχνήτιου-99m στον 1^ο οσφυϊκό σπόνδυλο σε σπινθηρογράφημα οστών. Λεπτομερέστερη απεικόνιση διεξήχθη με PET scan με χρήση FDG (λευκό βέλος, δεξιά). Τροποποιημένο από Clezardinet al [34].

Η διάγνωση των παθολογικών καταγμάτων μπορεί να γίνει και με απλές ακτινογραφίες. Το σπινθηρογράφημα των οστών είναι υψηλή ευαισθησία, άνω του 90%. Η μαγνητική τομογραφία (MRI) έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, ανιχνεύοντας και την επέκταση της μετάστασης στα μαλακά μόρια. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης μπορεί να γίνει με τη βιοψία του οστού μέσω λεπτής βελόνας

2.6 Πρόγνωση

Εκτός αν προέρχονται από σπάνιους καρκίνους όπως το λέμφωμα υψηλής διαφοροποίησης ή το σεμίνωμα, οι οστικές μεταστάσεις είναι επί του παρόντος ανίατη νόσος. Ωστόσο, σε αρκετές περιπτώσεις η πρόγνωση των οστικών μεταστάσεων μπορεί να είναι καλή και η αναμενόμενη επιβίωση να ξεπεράσει τα 5 χρόνια, είναι μετρήσιμη σε χρόνια, ειδικά σε καρκίνο του μαστού, καρκίνο του προστάτη ή πολλαπλό μυέλωμα. Ο πίνακας 2 απεικονίζει τη διάμεση επιβίωση των ασθενών με οστικές μεταστάσεις από τη στιγμή της διάγνωσης [19].

Τύπος όγκου	Διάμεση επιβίωση από τη στιγμή της διάγνωσης
Καρκίνος του μαστού	1,5 – 2 έτη
Καρκίνος του προστάτη	1 – 4,5 έτη
Καρκίνος του θυρεοειδούς	4 έτη
Καρκίνος της ουροδόχου κύστης	6 – 9 μήνες
Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα	1 έτος
Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	6 μήνες
Μελάνωμα	6 μήνες

Πίνακας 2. Διάμεση επιβίωση των ασθενών με οστικές μεταστάσεις από τη στιγμή της διάγνωσης

2.7 Θεραπεία

Γενικά, η θεραπεία των οστικών μεταστάσεων στοχεύει στην ανακούφιση της νοσηρότητας που σχετίζεται με τις οστικές βλάβες. Εκτός από τα κλασικά αναλγητικά φάρμακα και την αντικαρκινική θεραπεία του πρωτογενούς όγκου, η αντιμετώπιση των οστικών μεταστάσεων περιλαμβάνει συστηματικές αντιαπορροφητικές θεραπείες (διφωσφονικά ή denosumab) και τοπικές θεραπείες όπως ακτινοθεραπεία, χειρουργική επέμβαση και επεμβατική ακτινοθεραπεία. Η προσέγγιση πρέπει να είναι εξατομικευμένη και πολυπαραγοντική. Φάρμακα που στοχεύουν στα οστά όπως τα διφωσφονικά και τα denosumab έχουν αποδειχθεί πολύ αποτελεσματικά στην πρόληψη και μείωση των παθολογικών καταγμάτων και αποτελούν πλέον τη θεραπεία εκλογής για τις οστικές μεταστάσεις^[35].

2.7.1 Διφωσφονικά

Τα διφωσφονικά είναι φάρμακα ανάλογα του πυροφωσφορικού οξέος. Κατά τη διαδικασία της οστικής απορρόφησης, τα διφωσφονικά απορροφώνται από τον οστεοκλάστη, προκαλώντας γενικευμένη διαταραχή της λειτουργίας τους και οδηγώντας τελικά σε αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Η χορήγηση διφωσφονικών αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για τη θεραπεία και την πρόληψη επιπλοκών, τη μείωση του οστικού πόνου και των βιοχημικών δεικτών που σχετίζονται με οστικές μεταστάσεις σε ασθενείς με κακοήθεις όγκους^[31, 36]. Επίσης, τα διφωσφονικά χρησιμοποιούνται για την πρόληψη της μακροπρόθεσμης οστικής απώλειας που οφείλεται στην αντικαρκινική αγωγή. Στα χρησιμοποιούμενα διφωσφονικά περιλαμβάνεται η παμιδρονάτη, το ζολενδρονικό οξύ, η ιβαδρονάτη, η αλεδρονάτη και η ριζεδρονάτη^[37-38].

2.7.2 Denosumab

Το denosumab είναι ένα συνθετικό αντίσωμα που συνδέεται ισχυρά με το RANKL, εμποδίζοντας έτσι την αλληλεπίδρασή του με το RANK με τρόπο παρόμοιο με αυτόν της OPG^[39]. Έχει αποδειχθεί ότι είναι καλύτερο από το ζολεδρονικό οξύ για την πρόληψη των οστικών μεταστάσεων από τον καρκίνο του μαστού ^[40].

2.7.3 Ακτινοθεραπεία

Η ακτινοθεραπεία περιλαμβάνει τη χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας, η οποία κατευθύνεται με σκοπό την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων στην περιοχή της οστικής μετάστασης, ή την παύση του πολλαπλασιασμού τους. Επίσης, η ακτινοθεραπεία επιφέρει μείωση του οστικού πόνου και της πιθανότητας παθολογικών καταγμάτων. Εναλλακτική μέθοδος, τελευταία, αποτελεί η θερμική καυτηρίαση με ρεύματα υψηλής συχνότητας ^[41].

2.7.4 Χειρουργική επέμβαση

Η χειρουργική επέμβαση συνήθως περιλαμβάνει την αφαίρεση ολόκληρου ή μέρους του όγκου και τη σταθεροποίηση του οστού προς αποφυγή παθολογικού κατάγματος. Η σταθεροποίηση των οστών περιλαμβάνει την τοποθέτηση μεταλλικών πλακών, ράβδων, βιδών, συρμάτων, καρφιών ή προθέσεων. Μια άλλη επιλογή, σε περίπτωση που δεν είναι δυνατή η σταθεροποίηση, είναι η ανακατασκευή των οστών ή των αρθρώσεων.

2.7.5 Ραδιοϊσότοπα

Ραδιενεργά ισότοπα όπως το στρόντιο 89 έχουν εφαρμογή στην αντιμετώπιση οστικών μεταστάσεων από καρκίνο του μαστού και καρκίνο του προστάτη [42].

2.7.6 Νεώτερα φάρμακα

Στα νεώτερα, πολλά υποσχόμενα φαρμακευτικά σκευάσματα, τα οποία έχουν δώσει ελπιδοφόρα αποτελέσματα στις κλινικές δομές, περιλαμβάνονται οι αναστολείς καθεψίνης K, οι αναστολείς τυροσινικήςκινάσης, το miR-34α, οι αναστολείς BET, οι αναστολείς DOCK5, οι ανταγωνιστές του μονοπατιού Wnt, οι αναστολείς των υποδοχέων ET-1, οι αναστολείς ανδρογόνων και οι αναστολείς ακτιβίνης A^[34].

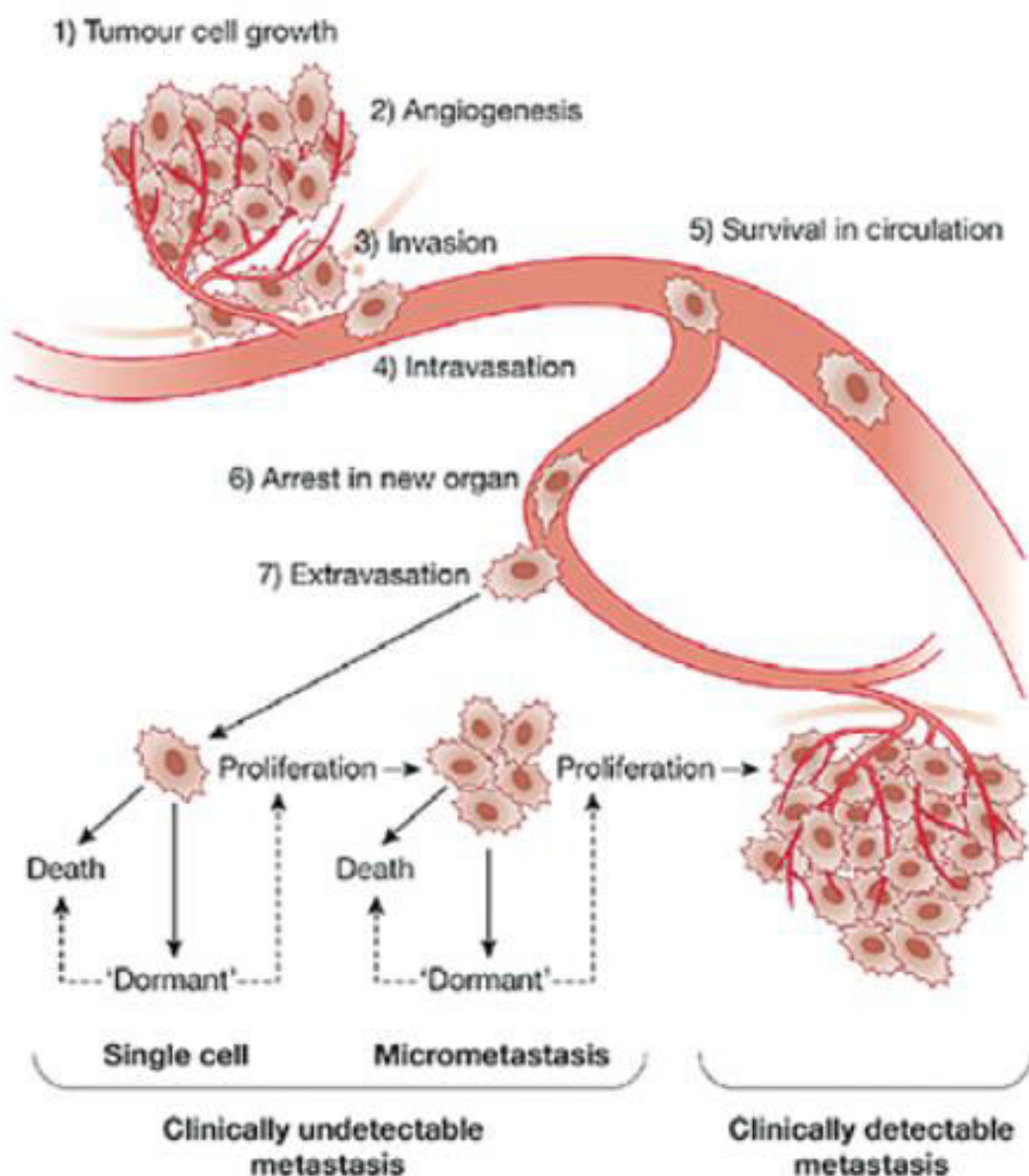
Κεφάλαιο 3. Διασπορά και πολλαπλασιασμός των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων

Η μετάσταση είναι μια διαδικασία που περιλαμβάνει απώλεια της μεσοκυττάριας συνοχής, κυτταρική μετανάστευση, αγγειογένεση, πρόσβαση στη συστηματική κυκλοφορία, επιβίωση στην κυκλοφορία, διαφυγή τοπικών ανοσολογικών αποκρίσεων και ανάπτυξη σε μακρινά όργανα (εικόνα9)^[23, 43].

Οι οστικές μεταστάσεις είναι σχεδόν πάντα πολλαπλές και αφορούν τον αξονικό σκελετό. Η κατανομή μπορεί να σχετίζεται με τον αιμοποιητικά ενεργό ερυθρό μυελό των οστών ^[44]. Υπάρχει ένα παρασπονδυλικό δίκτυο που μπορεί να παίζει ρόλο στην ανάπτυξη οστικής μετάστασης ^[45]. Αυτή η θεωρία υποστηρίζεται από την υψηλή συχνότητα οστικών μεταστάσεων χωρίς αντίστοιχες βλάβες στον πνεύμονα.

Μόλις τα καρκινικά κύτταρα μπουν στην κυκλοφορία χρειάζονται τα εξής:

- Αγγειακή προσκόλληση και εξαγγείωση: Τα κύτταρα αλληλεπιδρούν με το ενδοθήλιο προκειμένου να εξαγγειωθούν, χρησιμοποιώντας μόρια προσκόλλησης όπως τα VCAM και την E-σελεκτίνη ^[46-47].
- Υποστήριξη από το τοπικό μικροπεριβάλλον: Σύμφωνα με την υπόθεση του σπόρου και του εδάφους (seed-and-soil hypothesis), το μικροπεριβάλλον παρέχει ένα γόνιμο έδαφος (το έδαφος), για την επιβίωση και την ανάπτυξη των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων (ο σπόρος) ^[48].
- Επιθηλιακή - Μεσεγχυματική μετάβαση: Σύμφωνα με αυτήν τη διαδικασία, τα φυσιολογικά κύτταρα μπορεί να χάσουν τα επιθηλιακά χαρακτηριστικά τους και να αποκτήσουν μεσεγχυματικά χαρακτηριστικά, επιτρέποντας στα επιθηλιακά κύτταρα να μεταναστεύσουν σε ένα νέο περιβάλλον.



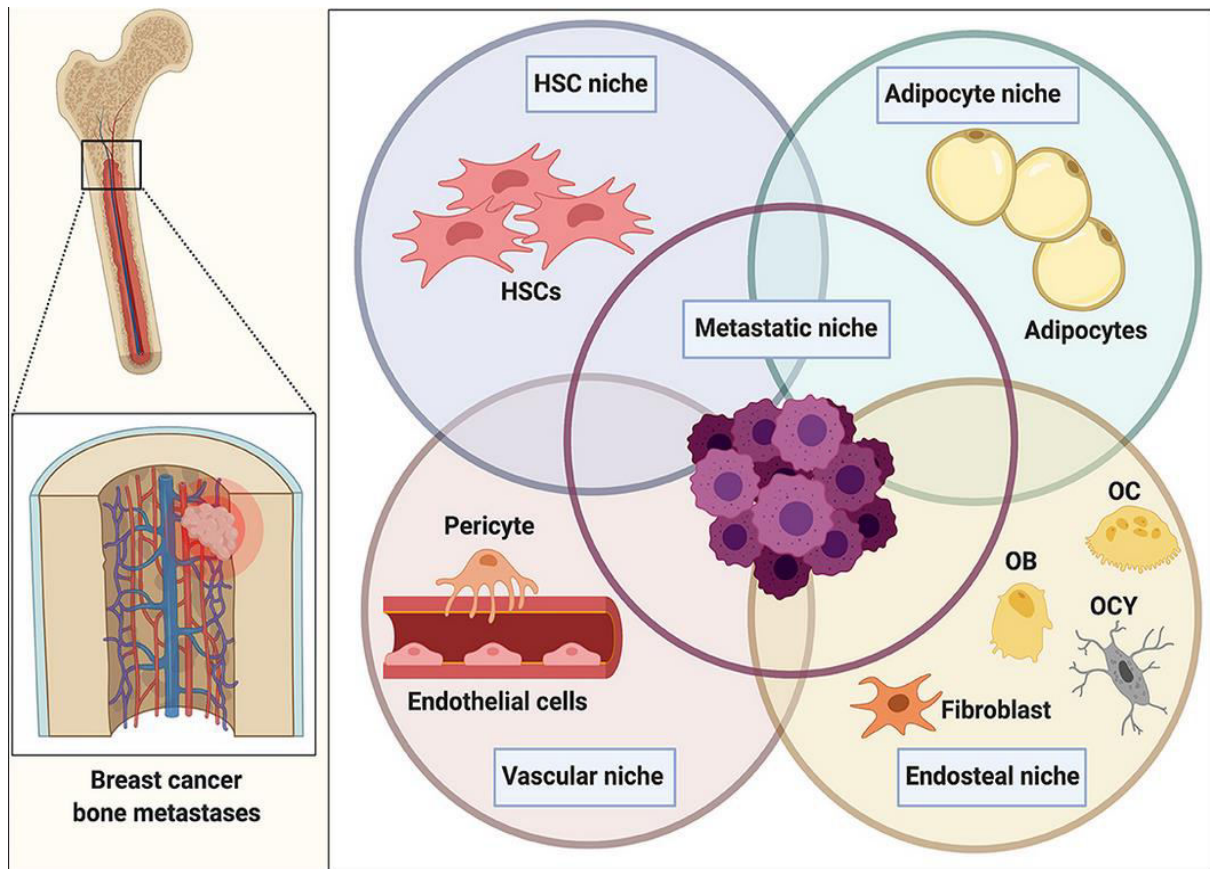
Εικόνα 9. Σχηματική ανασκόπηση των βασικών μοριακών γεγονότων στη μεταστατική διαδικασία. Στα αρχικά στάδια, τα κύτταρα αποσπώνται από την πρωτογενή μάζα του όγκου, εισβάλλουν σε παρακείμενους ιστούς και στη συνέχεια εισέρχονται στο λεμφικό ή κυκλοφορικό σύστημα, το οποίο τα μεταφέρει σε απομακρυσμένα σημεία, όπου εξαγγειώνονται και εισέρχονται στο τοπικό μικροπεριβάλλον. Σε αυτό το σημείο, συγκεκριμένοι παράγοντες καθορίζουν εάν τα κύτταρα μπορεί να πολλαπλασιαστούν για να σχηματίσουν μια κλινικά ανιχνεύσιμη μετάσταση ή εάν πρόκειται να παραμείνουν αδρανείς ως μεμονωμένα κύτταρα ή μικρομεταστάσεις^[49].

3.1 Ρόλος του οστικού μικροπεριβάλλοντος

Όταν τα καρκινικά κύτταρα διαφεύγουν από αρχικές θέσεις των κακοήθων όγκων και διασπείρονται σε απομακρυσμένες περιοχές, πολύ λίγα από αυτά καταφέρνουν να επιβιώσουν στην αιματική και λεμφική κυκλοφορία και να καταλήξουν στις θέσεις δευτεροπαθών μεταστάσεων. Για να αναπτυχθούν, τα καρκινικά κύτταρα πρέπει να φτάσουν σε ένα περιβάλλον αποδεκτό για αποικισμό και επακόλουθη ανάπτυξη. Για το λόγο αυτό, οι θέσεις των μεταστάσεων δεν είναι τυχαίες. Για να γίνει αυτό, τα καρκινικά κύτταρα εκμεταλλεύονται τις φυσιολογικές λειτουργίες του ξενιστή, εκφράζουν μόρια της εξωκυττάριας ουσίας και κινητοποιούν τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών, δημιουργώντας έτσι τη λεγόμενη «προμεταστατική κρύπτη» [50]. Η προμεταστατική κρύπτη μπορεί να οριστεί ως ένα υποστηρικτικό και δεκτικό ιστικό μικροπεριβάλλον που υφίσταται μια σειρά μοριακών και κυτταρικών αλλαγών για να σχηματίσει το γόνιμο «έδαφος» για την προετοιμασία για τον αποικισμό των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων, υποστηρίζοντας έτσι την εγκατάσταση του όγκου στο απομακρυσμένο όργανο και προάγοντας τη μετάσταση του όγκου[51].

Ο μεταστατικός χρόνος αδράνειας είναι ένα στάδιο της εξέλιξης του καρκίνου όπου τα καρκινικά κύτταρα που έχουν εξαπλωθεί από μια πρωτοπαθή καρκινική περιοχή σε περιφερειακές εστίες μπορεί να παραμείνουν σε κατάσταση αδράνειας για χρόνια [52]. Στην περίπτωση της οστικής μεταστατικής νόσου, τα καρκινικά κύτταρα φωλιάζουν σε συγκεκριμένες κρύπτες, οι οποίες καθορίζουν τη μοίρα τους [24, 53]. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι όλες οι παρακάτω κρύπτες έχουν σημαντικό ρόλο στις οστικές μεταστάσεις και ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των θέσεων καθορίζει την ενεργοποίηση ή την αδρανοποίηση των καρκινικών κυττάρων (εικόνες10 - 11)[54].

- Η ενδοοστική κρύπτη, που αποτελείται κυρίως από οστεοβλάστες
- Η κρύπτη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSC)
- Η περιαγγειακή κρύπτη και
- Η κρύπτη των λιποκυττάρων του μυελού των οστών



Εικόνα 10. Εντός των οστών, η προμεταστατική κρύπτη θεωρείται ότι αποτελείται από μια κρύπτη αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSCs), μια ενδοοστική κρύπτη που αποτελείται από οστεοκλάστες (OC), οστεοβλάστες (OB), οστεοκύτταρα (OCY), ινοβλάστες και μια περιαγγειακή κρύπτη που αποτελείται από ενδοθηλιακά κύτταρα και περικύτταρα. Επίσης υπάρχει και ο ξεχωριστός ρόλος της κρύπτης των λιποκυττάρων του μυελού των οστών στην οστική μετάσταση. Η αλληλεπίδραση και η επικάλυψη μεταξύ των κρυπτών ρυθμίζει την εγκατάσταση, την επιβίωση και την αδράνεια των καρκινικών κυττάρων στο οστικό μικροπεριβάλλον. Τροποποιημένο από Haideretal^[54].

3.1.1 Ενδοοστική κρύπτη

Σε μελέτες σε πειραματόζωα, κύτταρα από καρκίνο τόσο του μαστού όσο και του προστάτη έχουν εντοπιστεί σε οστικές περιοχές με αφθονία στους οστεοβλάστες. Σε πειραματικά μοντέλα καρκίνου του μαστού, η χορήγηση ζολεδρονικού οξέος τροποποιεί την ενδοοστική κρύπτη με αποτέλεσμα την επανατοποθέτηση των καρκινικών κυττάρων σε νέες οστικές θέσεις πλούσιες σε οστεοβλάστες [55-56].

Η αλληλεπίδραση CXCR4 / CXCL12 αποτελεί βασικό παράγοντα για την σύνδεση και την προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στην ενδοοστική μεταστατική κρύπτη. Οι οστεοβλάστες εκφράζουν τη χημειοκίνη CXCL12 ενώ η πλειονότητα των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων του μαστού και του προστάτη εκφράζουν τον αντίστοιχο υποδοχέα CXCR4. Μόλις τα καρκινικά κύτταρα εγκατασταθούν στην ενδοοστική κρύπτη, οι οστεοβλάστες διατηρούν αυτά τα καρκινικά κύτταρα ανενεργά μέσω αλληλεπίδρασης CXCR4 / CXCL12, με τους ίδιους μηχανισμούς που χρησιμοποιούνται για την απενεργοποίηση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων[57].

Οι οστεοβλάστες της ενδοοστικής κρύπτης έχουν ατρακτοειδές σχήμα και είναι θετικοί για N-καντερίνη. Οι ώριμοι οστεοβλάστες είναι βραχύβια κύτταρα και ως εκ τούτου δεν είναι πιθανή η εντόπιση τους στην ενδοοστική κρύπτη. Η σύνδεσή τους με τα καρκινικά κύτταρα και η έκκριση ανασταλτικών πρωτεϊνών από τα στρωματικά κύτταρα, όπως η φιμπροεκτίνη, διατηρεί επίσης την κατάσταση αδρανείας των καρκινικών κυττάρων[58].

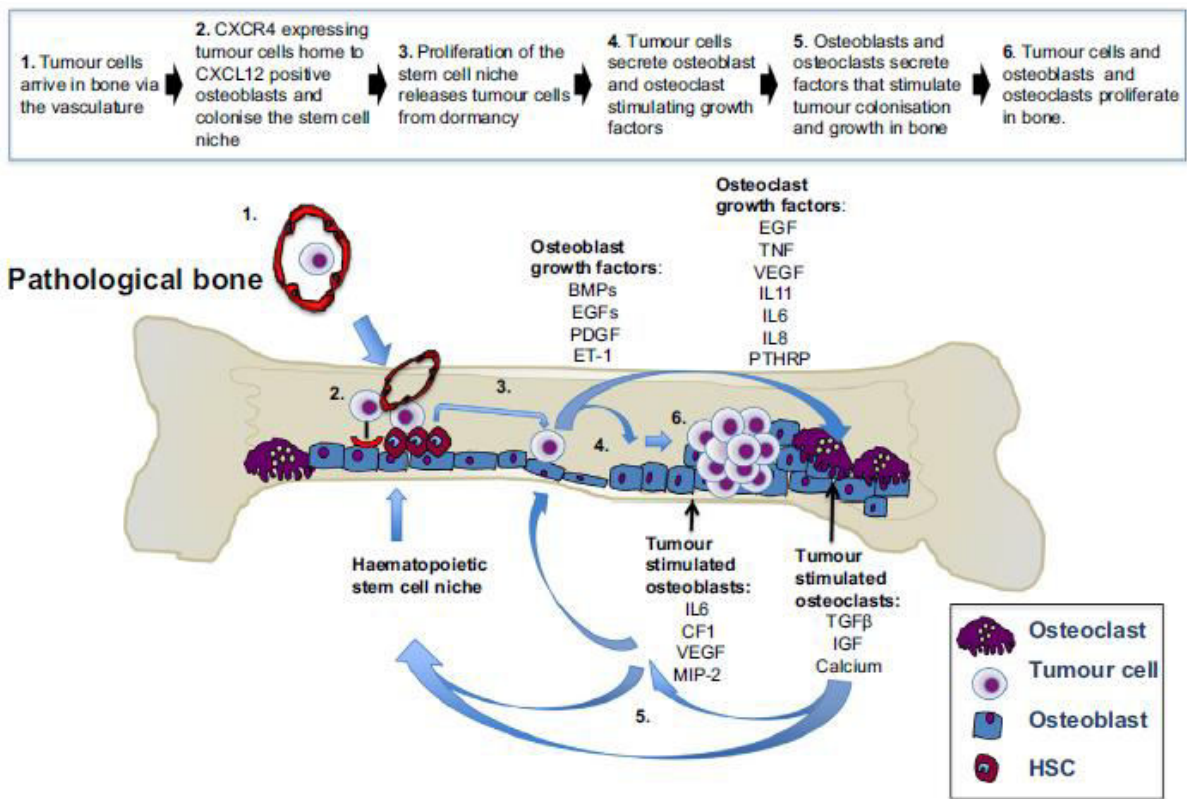
Στη μεταφορά των καρκινικών κυττάρων στην ενδοοστική κρύπτη, τα κύτταρα του καρκίνου του μαστού, αρνητικά σε υποδοχείς οιστρογόνων, ανταγωνίζονται με τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα για να αλληλεπιδράσουν με τους ατρακτοειδείς οστεοβλάστες μέσω μιας ειδικής αλληλεπίδρασης Jagged-Notch2, η οποία ρυθμίζει την κατάσταση αδρανείας των καρκινικών κυττάρων τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*[59].

3.1.2 Κρύπτη αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSC)

Τα διάσπαρτα καρκινικά κύτταρα τείνουν να μεταναστεύουν στην ενδοοστική επιφάνεια, μια θέση όπου εδράζονται μη πολλαπλασιαζόμενα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα. Η κρύπτη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων είναι επίσης πλούσια σε CXCL12, επομένως συνδέεται με τα καρκινικά κύτταρα CXCR4 (+) με τον ίδιο τρόπο όπως η ενδοοστική μεταστατική κρύπτη. Όταν τα καρκινικά κύτταρα αποικίζουν την κρύπτη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, ανταγωνίζονται τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα για εγκατάσταση στην επιφάνεια. Η ακόλουθη εξάπλωση καρκινικών κυττάρων εκτός της κρύπτης, που επιτρέπει την έναρξη ενεργών μεταστάσεων, επιτυγχάνεται με την κινητοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, μια διαδικασία που υποστηρίζεται από την περιαγγειακή κρύπτη [57, 60].

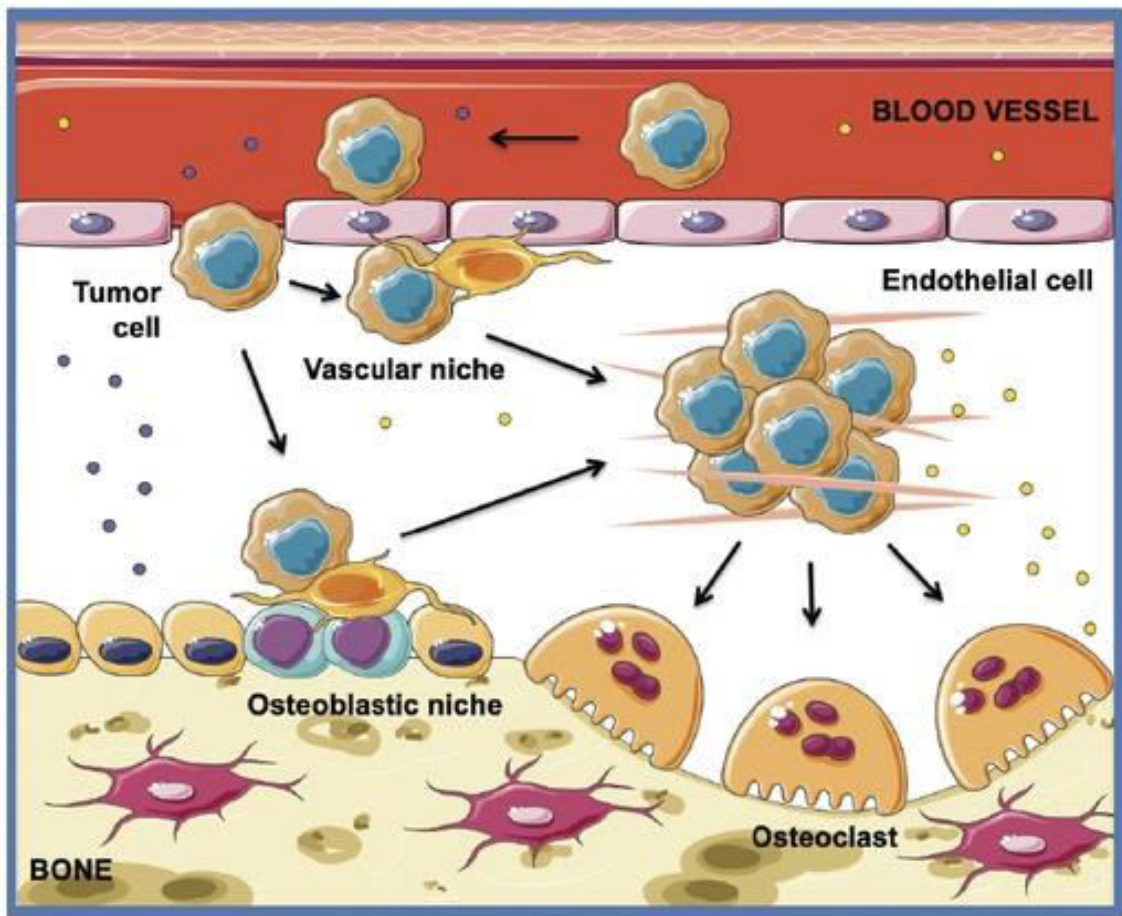
3.1.3 Περιαγγειακή κρύπτη

Η περιαγγειακή κρύπτη αποτελείται από ενδοθηλιακά κύτταρα, περικύτταρα και λείες μυϊκές ίνες. Η περιαγγειακή κρύπτη είναι σημαντική για τη λειτουργία των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων. Μέσω της έκκρισης αγγειοκρινών αυξητικών παραγόντων, η περιαγγειακή κρύπτη στρατολογεί αρχέγονα μεσεγχυματικά και αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα [61-62]. Σε αντίθεση με την ενδοοστική κρύπτη που υποστηρίζει τη σταθερότητα των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, η περιαγγειακή κρύπτη έχει αποδειχθεί ότι προάγει την κινητοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων [62]. Αν και η περιαγγειακή κρύπτη είναι ανεξάρτητη της ενδοοστικής κρύπτης, και οι δυο μπορούν να θεωρηθούν ως ανεξάρτητα μικροπεριβάλλοντα και η αλληλεπίδρασή τους είναι κρίσιμη για διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της αγγειογένεσης και της οστεογένεσης [63].



Εικόνα 11. Φαύλος κύκλος των οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων. Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των καρκινικών κυττάρων, των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης και του αποικισμού των οστών κατά τις οστεοβλαστικές οστικές μεταστάσεις. Τροποποιημένο από Ottewell^[64].

Η περιαγγειακή κρύπτη αποτελεί μια άλλη τοποθεσία για τον αποικισμό και τη φιλοξενία των αδρανών καρκινικών κυττάρων. Μέσα στην περιαγγειακή κρύπτη, τα καρκινικά κύτταρα βρίσκονται σε κεντρικά σημεία εντός του μυελού των οστών. Η μεμονωμένη αξιολόγηση της περιαγγειακής κρύπτης είναι δύσκολη λόγω της γειτνίασής της με την ενδοοστική κρύπτη και την κρύπτη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Στην περίπτωση των μεταστάσεων, τα καρκινικά κύτταρα, μετά την εξαγγείωση, παραμένουν κοντά στα τριχοειδή αγγεία, και πολλαπλασιάζονται κατά μήκος της βασικής μεμβράνης γύρω από τα τριχοειδή αγγεία, αναδιαμορφώνοντας το τριχοειδές αγγειακό δίκτυο (εικόνα 12)^[65-66].



Εικόνα 12. Σχηματική απεικόνιση της εγκατάστασης των καρκινικών κυττάρων στην ενδοοστική και την περιαγγειακή κρύπτη. Τροποποιημένο από Clezardinetal^[34].

Λαμβάνοντας όλα αυτά υπόψη, αποδεικνύεται ότι η ενδοοστική κρύπτη είναι σημαντική για τη διατήρηση της αδράνειας των καρκινικών κυττάρων, ενώ η κρύπτη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και η περιαγγειακή κρύπτη ενεργοποιούν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε ενεργές μεταστάσεις. Έτσι, είναι πιθανό ο οστικός μεταβολισμός και η δραστηριότητα των οστεοβλαστών να ρυθμίζουν την ενεργοποίηση των οστικών μεταστάσεων από καρκινικά κύτταρα που έχουν εξαπλωθεί στο οστικό μικροπεριβάλλον, μια παρατήρηση που έχει γίνει από καιρό σε μελέτες σε πειραματόζωα ^[67-68].

Μέσα στην περιαγγειακή κρύπτη τα καρκινικά κύτταρα βρίσκονται σε ηρεμία. Αυτό επιτυγχάνεται από ειδικά μόρια που παράγονται από την περιαγγειακή κρύπτη, κυρίως μέσω της αλληλεπίδρασης CXCR4 / CXCL12 [69]. Επιπλέον, η θρομβοσπονδίνη που εκφράζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα επάγει την ηρεμία των κυττάρων του καρκίνου του μαστού [70].

3.1.4 Κρύπτη λιποκυττάρων μυελού των οστών

Τα λιποκύτταρα εντός του μυελού των οστών παίζουν κρίσιμο ρόλο στη μεταστατική θέση. Ο αριθμός τους αυξάνεται κατά τη διάρκεια της γήρανσης, καθιστώντας τη θέση των λιποκυττάρων καθοριστική στους ηλικιωμένους ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο του μαστού. Σε πειραματική μελέτη των Templetonetal, «τα καρκινικά κύτταρα του μαστού βρέθηκαν να αλληλεπιδρούν απευθείας με τα λιποκύτταρα του μυελού των οστών, μετά τη μετανάστευση τους στον λιπώδη ιστό του μυελού των οστών. Αυτή η αλληλεπίδραση ρυθμίστηκε από τη λεπτίνη που προέρχεται από λιπώδη ιστό και την IL-1β» [71].

3.2 Ενεργοποίηση μεταστατικών κυττάρων

Όταν τα καρκινικά κύτταρα τελικά απομακρύνονται από τις αρχικές εντοπίσεις των καρκίνων και διασπείρονται σε απομακρυσμένες περιοχές, πολύ μικρό ποσοστό αυτών καταφέρνουν να επιβιώσουν στην αιματική και λεμφική κυκλοφορία, αποφεύγουν τους αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού και καταλήγουν στους δευτερεύοντες στόχους [72]. Μόλις εγκατασταθούν στα οστά, τα καρκινικά κύτταρα επηρεάζουν τα οστικά κύτταρα με δύο κύριους τρόπους. Συνήθως, τα καρκινικά κύτταρα διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση, αυξάνοντας τη διαφοροποίηση και τη

δραστηριότητα των οστεοκλαστών, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν τους οστεοβλάστες [14]. Όταν συμβαίνει αυτό, η οστική απορρόφηση από τους οστεοκλάστες υπερτερεί της οστικής παραγωγής από τους οστεοβλάστες, οδηγώντας σε οστική καταστροφή και δημιουργία οστεολυτικών βλαβών^[73-74].

Οι οστεοβλάστες μπορεί να έχουν άμεσο ρόλο στην ανάπτυξη των οστικών μεταστάσεων. Σε πειραματικά μοντέλα οστικής μετάστασης καρκίνου του μαστού, η χορήγηση παραθορμόνης οδήγησε σε αύξηση του αριθμού των ενεργών οστικών μεταστάσεων χωρίς τροποποίηση της διάδοσης καρκινικών κυττάρων στα οστά [64]. Αντίθετα, η καθημερινή χορήγηση παραθορμόνης ανέστειλε την εξέλιξη του καρκίνου ενώ αύξησε την παραγωγή οστού, σε ζωικά μοντέλα πολλαπλού μυελώματος^[75].

Κεφάλαιο 4. Ο ρόλος των οστεοβλαστών στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Οι οστεολυτικές μεταστάσεις είναι ο πιο κοινός τύπος οστικών μεταστάσεων. Εμφανίζονται σε συμπαγείς καρκίνους (πνεύμονα, προστάτη, μαστό, θυρεοειδή, νεφρό) και σε αιματολογικές κακοήθειες. Το οστεολυτικό στοιχείο είναι κυρίαρχο αλλά συνυπάρχουν εστίες οστεοβλαστικής δραστηριότητας όπως αποδεικνύεται από τα αυξημένα επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό.

Τα μεταστατικά κύτταρα εντός του μυελού των οστών δεν ασκούν απευθείας επίδραση στο οστό αλλά μπορεί να μεταβάλλουν τις φυσιολογικές λειτουργίες των οστεοβλαστών. Σε σύγκριση με τους οστεοκλάστες, ο ρόλος των οστεοβλαστών στις οστεολυτικές μεταστάσεις είναι μάλλον περιορισμένος^[76].

4.1 Ρόλος του SDF-1 στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Ο παράγοντας SDF-1, επίσης γνωστός ως CXCL12, είναι μια χημειοκίνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο CXCL12 στο χρωμόσωμα 10. Εκφράζεται σε πολλούς ιστούς και τύπους κυττάρων. Ο SDF-1 ασκεί έντονη χημειοταξία ως προς τα λεμφοκύτταρα ^[77]. Κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, ο SDF-1 κατευθύνει τη μετανάστευση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων από το ήπαρ προς τον μυελό των οστών επάγοντας την αγγειογένεση, ενώ ρυθμίζει την έκφραση του CD20 στα B λεμφοκύτταρα^[78]. Ο παράγοντας SDF-1 ασκεί έντονη χημειοταξία στα αρχέγονα μεσεγχοματικά κύτταρα και εκφράζεται κατά την οστεοκλαστογένεση. Στους ανθρώπους, ο SDF-1 έχει εμπλακεί στην παθογένεια όγκων όπως ο καρκίνος του παγκρέατος, ο καρκίνος του προστάτη και το μελάνωμα, καθώς και σε νευρολογικά νοσήματα όπως η πολλαπλή σκλήρυνση και η νόσος Alzheimer^[79-81].

Έχει βρεθεί ότι διάσπαρτα καρκινικά κύτταρα που προέρχονται από καρκίνο του μαστού βρίσκονται συχνά εγκατεστημένα σε περιοχές των οστών που είναι πλούσιες σε οστεοβλάστες. Με βάση την παρατήρηση αυτή, οι οστεοβλάστες θεωρούνται ότι παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην εγκατάσταση στα οστά των καρκινικών κυττάρων που προέρχονται από καρκίνο του μαστού^[82]. Αυτό το φαινόμενο θα μπορούσε εν μέρει να προκληθεί από το γεγονός ότι οι οστεοβλάστες εκφράζουν SDF-1 και RANKL, δύο κυτοκίνες που ευνοούν τη διάδοση των καρκινικών κυττάρων του μαστού^[69, 83]. Η σηματοδότηση του παράγοντα HIF σε οστεοπρογονικά κύτταρα, έχει αποδειχθεί ότι όχι μόνο προάγει την οστική μετάσταση, αλλά διεγείρει επίσης τη διάδοση των καρκινικών κυττάρων του μαστού και σε άλλα όργανα, όπως για παράδειγμα στον πνεύμονα, εν μέρει μέσω της παραγωγής SDF-1 ^[84].

4.2 Ρόλος των αυξητικών παραγόντων στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Οι αυξητικοί παράγοντες είναι πολυπεπίδια που παράγονται σε πολύ μικρές ποσότητες και δρουν ως ρυθμιστές της κυτταρικής λειτουργίας, μέσω της σύνδεσης τους με μεμβρανικούς υποδοχείς του κυττάρου – στόχου. Οι βασικοί αυξητικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην οστική παραγωγή από τους οστεοβλάστες είναι οι BMPs, οι IGF-I και IGF-II, ο PDGF, ο EGF, οι TGF και ο FGF^[85].

Ο TGF-β παράγεται από τους οστεοβλάστες και αποθηκεύεται στην εξωκυττάρια ουσία των οστών. Παίζει ρόλο στην εμβρυογένεση, τη φυσιολογική κυτταρική λειτουργία, τη φλεγμονή και την ιστική επιδιόρθωση. Εντοπίζεται στο περίοστεο μετά από κατάγματα και επιταχύνει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων. Ο IGF-I και IGF-II παράγονται επίσης από διάφορα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των οστεοβλαστών, και διεγείρουν την παραγωγή κολλαγόνου από τους οστεοβλάστες^[85].

Επιπλέον, τα καρκινικά κύτταρα προκαλούν απόπτωση των οστεοβλαστών. Αυτό προκαλεί ανισορροπία μεταξύ της οστικής καταστροφής και της οστικής παραγωγής σε βάρος της τελευταίας. Η αυξημένη οστική καταστροφή προκαλεί την έκκριση αυξητικών παραγόντων (TGF- β , IGF) από τις κοιλότητες απορρόφησης, διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων (εικόνες 13 - 14). Συνεπώς, τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν περαιτέρω αυξητικούς παράγοντες που προάγουν τον οστικό μεταβολισμό [24].

Η ακτιβίνη A είναι μέλος των αυξητικών παραγόντων της υπερικογένειας TGF- β . Στο πολλαπλό μύλωμα, η ακτιβίνη A που εκκρίνεται από τα πλασματοκύτταρα αναστέλλει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών μέσω της μείωσης της έκφρασης του γονιδίου DLX5 [86].

4.3 Ρόλος των κυτοκινών στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Η IL-1 παράγεται στα οστά και δρα στους οστεοκλάστες άμεσα και έμμεσα, επάγοντας την οστική απορρόφηση, αυξάνοντας την παραγωγή και δραστηριότητα του RANKL [87-88]. Η IL-1 αυξάνει επίσης τη σύνθεση προσταγλανδινών στα οστά (68, 69), η οποία αυξάνει επίσης την οστεοκλαστογένεση [89].

Η IL-6 παράγεται από οστεοβλάστες και αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Η IL-6 ρυθμίζει την ανάπτυξη ώριμων οστεοκλαστών και διεγείρει άμεσα την παραγωγή mRNA RANKL και OPG καθώς και προσταγλανδινών στα οστά [90]. Η IL-6 φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην αυξημένη οστική απορρόφηση και σχετίζεται με ασθένειες, όπως η νόσος Paget, η ινώδης δυσπλασία και οι γιγαντοκυτταρικοί όγκοι των οστών [91].

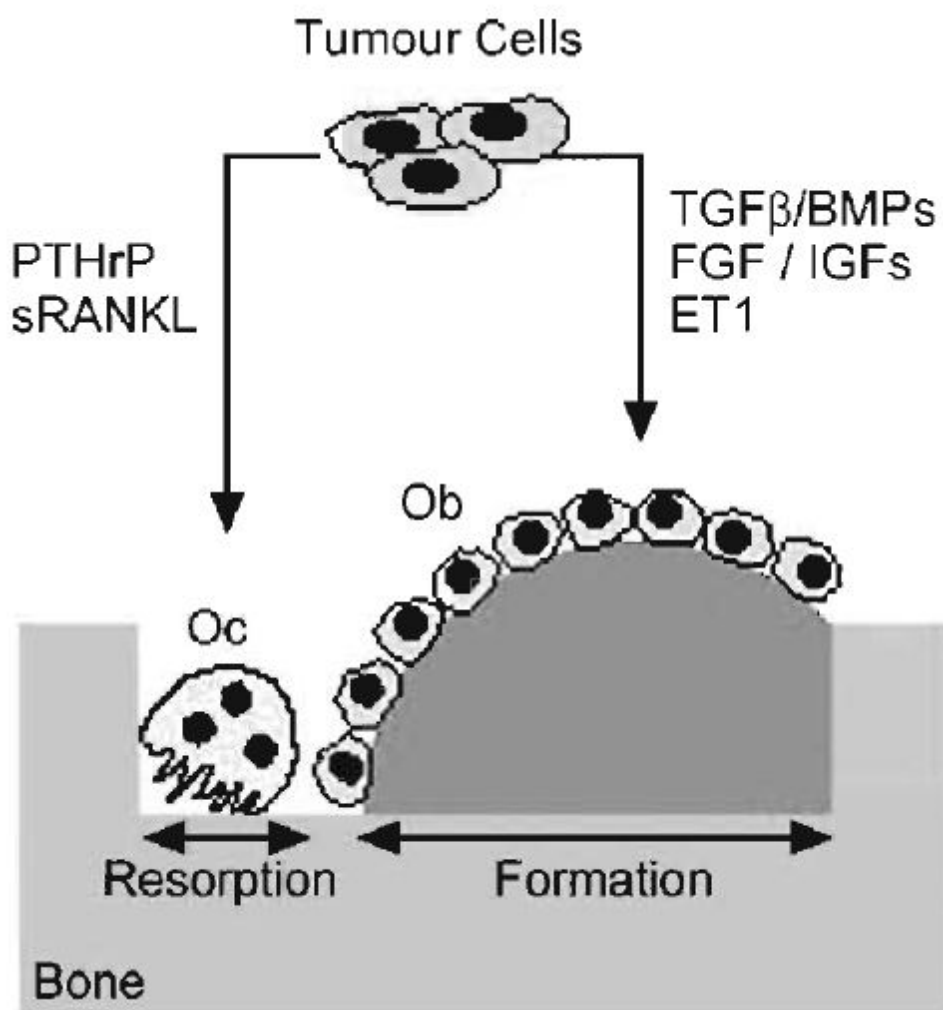
Η MCP-1 παράγεται από διάφορους τύπους κυττάρων, όπως επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, λείες μυϊκές ίνες, αστροκύτταρα, μικρογλοιακά κύτταρα και ινοβλάστες. Η MCP-1 παίζει σημαντικό ρόλο στην οστεοκλαστογένεση, αλλά

επίσης ρυθμίζει τις καταβολικές επιδράσεις της συνεχούς χορήγησης PTH στα οστά, συμπεριλαμβανομένης της στρατολόγησης μονοκυττάρων και μακροφάγων, του σχηματισμού οστεοκλαστών και της οστικής απορρόφησης^[92-93]. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η MCP-1 όχι μόνο εκφράζεται και εκκρίνεται από καρκινικά κύτταρα μαστού, αλλά και ότι αυξάνει τη διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων του μαστού invitro^[94].

Πειραματική μελέτη από τον Kinderetal ανέφερε ότι «τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα του μαστού αυξάνουν την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η IL-6, η MCP-1 και η IL-8 σε οστεοβλάστες ανθρώπων και ποντικών»^[95]. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν από τον Bussardetal που δείχνουν «αυξημένη παρουσία κυτοκινών που προέρχονται από οστεοβλάστες συμπεριλαμβανομένων των IL-6, IL-8, MCP-1, MIP-2 και VEGF, σε καρκινικά κύτταρα μαστού»^[96]. Σε πειραματόζωα, η IL-6 που εκκρίνεται από γηρασμένους οστεοβλάστες προάγει τη μεσολαβούμενη από οστεοκλάστες οστική απορρόφηση, αυξάνοντας τη διασπορά των καρκινικών κυττάρων και τον επακόλουθο σχηματισμό οστικών μεταστάσεων από καρκίνο του μαστού^[97].

4.4 Ρόλος του RANKL στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Η σύνδεση της πρωτεΐνης RANKL που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των οστεοβλαστών με την RANK που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των πρόδρομων μορφών των οστεοκλαστών έχει κύρια σημασία στο σχηματισμό των οστεοκλαστών από αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα της σειράς των μονοκύτταρων μακροφάγων. Η σύνδεση του RANKL με το RANK αναστέλλεται από την OPG που λειτουργεί ως υποδοχέας της πρωτεΐνης RANK. Τα οιστρογόνα έχουν σημαντική επίδραση στο σύστημα RANK/RANK-L/OPG καθώς διεγείρουν την έκφραση της OPG στους οστεοβλάστες^[98]



Εικόνα 13. Απεικόνιση του ρόλου που παίζουν οι αυξητικοί παράγοντες και οι κυτοκίνες στην ανάπτυξη των οστεοβλαστικών μεταστάσεων. Τα καρκινικά κύτταρα στα οστά μπορούν να παράγουν παράγοντες που ενεργοποιούν το σχηματισμό οστεοκλαστών και την οστική απορρόφηση. Επιπρόσθετα, τα καρκινικά κύτταρα παράγουν κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες που ενεργοποιούν τη στρατολόγηση και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών υπέρ της οστικής παραγωγής. Τροποποιημένο από Croucher^[99].

Στις οστεολυτικές οστικές μεταστάσεις, τα καρκινικά κύτταρα απελευθερώνουν μόρια που ενισχύουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα ενεργοποιώντας την οδό RANKL / RANK. Οι οστεοβλάστες εκφράζουν CXCL12 και RANKL που, όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, αυξάνουν τη διάδοση των καρκινικών κυττάρων του μαστού και την ανάπτυξη των οστικών μεταστάσεων ^[54]. Η έναρξη της οστικής απορρόφησης

προκαλείται από τους προ-οστεοβλάστες που παράγουν RANKL, το οποίο ενισχύει την οστεοκλαστογένεση^[100]. Πειράματα *in vitro* έδειξαν ότι τα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του μαστού επάγουν την ενεργοποίηση του συστήματος COX-2/PGE2 και διεγείρουν την αύξηση του RANKL στους οστεοβλάστες, οδηγώντας τελικά σε οστεόλυση. Η αφαίρεση της διέγερσης των οστεοβλαστών με τη χρήση αντισωμάτων έναντι στις β1 ιντεγκρίνες υποδηλώνει την πιθανή εμπλοκή τους σε αυτή τη διαδικασία ^[101].

Στα αρχικά στάδια, όταν το μέγεθος των όγκων είναι μικρό, παρατηρείται αύξηση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας και εξάλειψη των οστεοβλαστών στην επιφάνεια επαφής όγκου/οστού. Η αντιστάθμιση αυτής της τοπικής αύξησης των αυξητικών παραγόντων οστικής απορρόφησης από το απορροφούμενο οστό ενεργοποιεί τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών στην παρακείμενη οστική επιφάνεια, προκαλώντας τοπική αύξηση στην παραγωγή RANKL που διεγείρει τους οστεοκλάστες ^[102]. Η ταυτόχρονη καλλιέργεια οστεοβλαστών και οστεοκλαστών ενισχύει τη διεγερτική δράση της PGE2 λόγω αυξημένου RANKL και μειωμένης OPG στους οστεοβλάστες. Επιπλέον, οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες εκκρίνουν αυξανόμενη ποσότητα IL-6, που ενεργοποιεί την παραγωγή κυτοκινών (COX2, PGE2), οι οποίες με τη σειρά τους διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των οστεοκλαστών ^[103]. Σε αυτό το σημείο αναπτύσσονται οστικές μεταστάσεις ενώ στα προχωρημένα στάδια της μεταστατικής νόσου κυριαρχεί ο ρόλος των οστεοκλαστών. Μετά την εγκατάσταση οστεολυτικών μεταστάσεων στα οστά, η απελευθέρωση του TGF-β από τις κοιλότητες απορρόφησης προκαλεί ελάττωση του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών, μειώνοντας έτσι την παραγωγή οστεοειδούς και συμβάλλοντας περαιτέρω στη μεταστατική νόσο των οστών ^[104].

4.5 Ρόλος του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Η ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt / β-κατενίνης διεγείρει την παραγωγή οστού από τους οστεοβλάστες, προκαλώντας τη συσσώρευση της β-κατενίνης και τη μεταφορά της στον πυρήνα, όπου συνδέεται με τους μεταγραφικούς παράγοντες LEF / TCF ενεργοποιώντας γονίδια συμπεριλαμβανομένου του Runx2 [9]. Η καταστολή της β-κατενίνης μειώνει τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες, υποδεικνύοντας ότι η β-κατενίνη είναι ένα βασικό μόριο στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση.

Η σκληροστίνη και η DKK-1 αποτελούν αναστολείς της κανονικής οδού του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt. Τα καρκινικά κύτταρα από καρκίνο του μαστού, του προστάτη και του πνεύμονα παράγουν DKK-1 και σκληροστίνη που καταστέλλουν την οστεοβλαστική δραστηριότητα και διαφοροποίηση [105].

Το DKK-1 που παράγεται από κύτταρα μυελώματος έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, επάγει την πρόωμη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων και επομένως μειώνει τη βιωσιμότητά τους. Ο αποκλεισμός του DKK-1 με εξουδετερωτικά αντισώματα επιφέρει μείωση της οστεόλυσης και επιβράδυνσης της ανάπτυξης οστικής μετάστασης σε πειραματόζωα με πολλαπλό μυέλωμα^[106-107]. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, αυτά τα συμβάντα διαταράσσουν το ισοζύγιο μεταξύ οστεοκλαστών και οστεοβλαστών, μειώνοντας την παραγωγή οστεοειδούς και ενισχύοντας την οστική απορρόφηση [108]. Σε *in vitro* μελέτες, η μειωμένη έκφραση DKK-1 σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού και του προστάτη καταστέλλει τη δημιουργία οστικής μετάστασης, ενώ αντίθετα, η υπερέκφραση DKK-1 επιταχύνει την οστεόλυση και την οστική καταστροφή, αναστέλλοντας το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt^[109-110]. Το SOST-1 εκφράζεται σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού με αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς. Εξουδετερωτικό αντίσωμα έναντι της σκληροστίνης μειώνει την έκταση των οστεολυτικών βλαβών σε πειραματόζωα με καρκίνο του μαστού^[111-112].

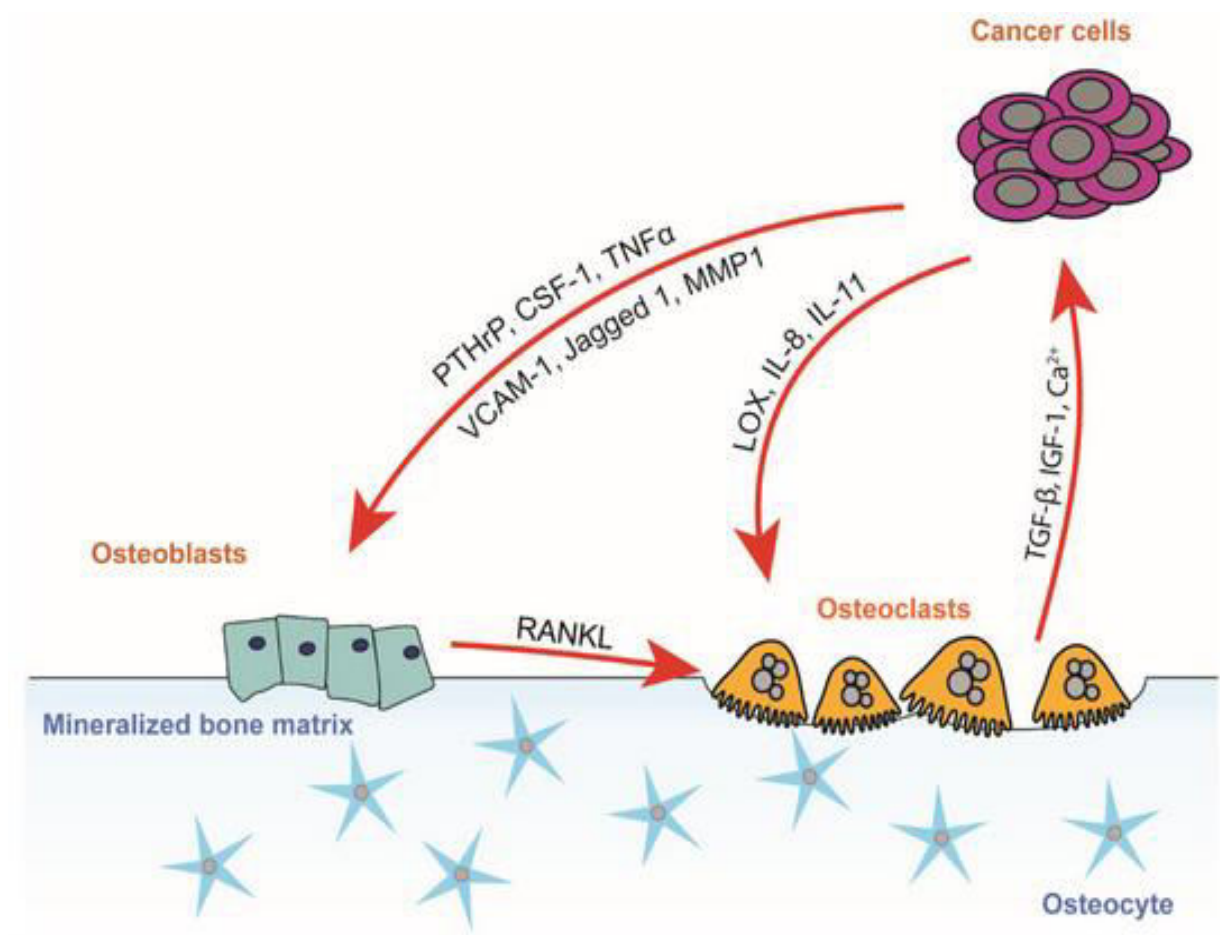
4.6 Ρόλος του Runx2 στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Ο Runx2 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, ζωτικής σημασίας για την οστική παραγωγή. Η έκφρασή του είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς. Ο Runx2 συνδέεται με την περιοχή του promoter (OSE-2) των γονιδίων των οστεοβλαστών^[113-114]. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο Runx2 παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διαδικασίας ωρίμανσης των οστεοβλαστών κατά τη διάρκεια της σκελετικής ανάπτυξης στην εμβρυϊκή ηλικία. Σύμφωνα με μελέτες, ο Runx2 εμπλέκεται πράγματι στην έκφραση των γονιδίων της MMP-3 και της οστικής σιαλοπρωτεΐνης, δίνοντας οστεομυητικά χαρακτηριστικά στα καρκινικά κύτταρα. Οι προκύπτουσες οστεολυτικές μεταστάσεις χαρακτηρίστηκαν από αναστολή της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και ενισχυμένη οστεοκλαστογένεση. Αυτά τα αποτελέσματα εξαλείφθηκαν όταν χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχες καρκινικές κυτταρικές σειρές που εκφράζουν μικρότερο, μη λειτουργικό μόριο Runx2^[115-116].

4.7 Αλληλεπίδραση οστεοβλαστών και καρκινικών κυττάρων στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Καθότι ο αριθμός των οστεοβλαστών μειώνεται κατά την εξέλιξη της οστεολυτικής μεταστατικής νόσου, δεν έχει διερευνηθεί εκτενώς η αλληλεπίδραση μεταξύ οστεοβλαστών και καρκινικών κυττάρων μαστού κατά την εξέλιξη των οστικών μεταστάσεων. Αναλύοντας την κατανομή των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων του μαστού σε θηλυκά ποντίκια σε μια χρονική περίοδο από 1 ώρα έως 6 εβδομάδες, οι Phadkeetal παρατήρησαν ότι οι μικρομεταστάσεις του καρκίνου του μαστού βρίσκονταν σε μεγάλη γειτνίαση με τους οστεοβλάστες, ενώ ο αριθμός των οστεοβλαστών μειώθηκε καθώς αυξανόταν το φορτίο του όγκου ^[117]. Επίσης, μελέτη από τους Brownetal αναφέρει ότι η παρουσία καρκινικών κυττάρων τροποποιεί την

αναλογία οστεοβλαστών-οστεοκλαστών στο οστικό μικροπεριβάλλον και ότι αυτές οι αλλαγές εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το εάν υπάρχει άμεση επαφή μεταξύ οστού και καρκινικών κυττάρων [104]. Σε αυτές τις μελέτες, η επίδραση των καρκινικών κυττάρων στους οστεοβλάστες ήταν πιο έντονη πριν από την έναρξη της οστεολυτικής νόσου. Σε σύγκριση με φυσιολογικά πειραματόζωα, ο αριθμός οστεοβλαστών ανά μονάδα επιφανείας σπογγώδους οστού αυξήθηκε σημαντικά σε ποντίκια που πάσχουν από καρκίνο πριν από την έναρξη της οστικής μεταστατικής νόσου, ακολουθούμενη από μείωση της αναλογίας οστεοβλάστες/οστεοκλάστες όταν έγιναν εμφανείς οι οστεολυτικές βλάβες[104].



Εικόνα 14. Ο φαύλος κύκλος των οστεολυτικών οστικών μεταστάσεων. Τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν παράγοντες που ενισχύουν τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω των προ-οστεοβλαστών και των οστεοβλαστών. Τροποποιημένο από Suominenetal^[118].

Αρκετές invitro μελέτες δείχνουν έναν βασικό ρόλο των οστεοβλαστών κατά τα πρώιμα στάδια των οστικών μεταστάσεων του καρκίνου του μαστού. Καλλιεργητικό μέσο με οστεοβλάστες μπορεί να λειτουργήσει ως χημειοελκτικό για τα καρκινικά κύτταρα του μαστού [96]. Οι προ-οστεοβλάστες αλλά όχι οι ώριμοι οστεοβλάστες αποδείχθηκε ότι ενισχύουν τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων του μαστού [119]. Η προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων του μαστού σε προ-οστεοβλάστες αυξήθηκε σημαντικά σε σύγκριση με αδιαφοροποίητα κύτταρα ή ώριμους οστεοβλάστες, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι οστεοβλάστες ρυθμίζουν τα πρώιμα στάδια που εμπλέκονται σε ανάπτυξη μεταστατικού καρκίνου του μαστού [119]. Ένας συγκεκριμένος υπο-τύπος οστεοβλαστών έχει αποδειχθεί ότι επιβραδύνει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού [120].

Η ποσοτική ιστομορφομετρική ανάλυση των οστικών βιοψιών έδειξε ότι εκτός από τη μείωση του αριθμού των οστεοκλαστών, υπήρξε μείωση στον αριθμό των οστεοβλαστών, στην επιφάνεια και στον απόλυτο όγκο του οστεοειδούς και μια αύξηση στις οστικές κοιλότητες χωρίς οστεοκύτταρα στην περιοχή γύρω από τη μεταστατική βλάβη [121]. Επιπλέον, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι παρατηρείται εξάλειψη ή διακοπή της οστεοβλαστικής δραστηριότητας κοντά στη μεταστατική περιοχή [122].

Κεφάλαιο 5. Ο ρόλος των οστεοβλαστών στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Οι οστεοβλαστικές μεταστάσεις αποτελούν τον πιο συχνό τύπο οστικών μεταστάσεων στον καρκίνο του προστάτη και λιγότερο συχνά στον καρκίνο του μαστού (15-20%), του παχέος εντέρου, του παγκρέατος και του τραχήλου της μήτρας. Χαρακτηρίζονται από υπερβολική οστική παραγωγή από τους οστεοβλάστες. Ωστόσο, το παραγόμενο οστό δεν έχει φυσιολογική αρχιτεκτονική με αποτέλεσμα αυξημένο ποσοστό καταγμάτων σε συνδυασμό με έντονο πόνο.

5.1 Ρόλος των αυξητικών παραγόντων στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Οι αυξητικοί παράγοντες είναι πολυπεπτίδια που παράγονται σε πολύ μικρές ποσότητες και δρουν ως ρυθμιστές της κυτταρικής λειτουργίας, μέσω της σύνδεσης τους με μεμβρανικούς υποδοχείς του κυττάρου – στόχου. Οι βασικοί αυξητικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην οστική παραγωγή από τους οστεοβλάστες είναι οι BMPs, οι IGF-I και IGF-II, ο PDGF, ο EGF, οι TGF και ο FGF^[85].

Ο PDGF συντίθεται από αιμοπετάλια, μονοκύτταρα, μακροφάγα και ενδοθηλιακά κύτταρα και επιδράσεις τα περισσότερα κύτταρα μεσοδερμικής προέλευσης. Αυξάνει τη σύνθεση του DNA, την κυτταρική αντιγραφή, τη σύνθεση κολλαγονικών και μη κολλαγονικών πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας. Η δράση του δεν είναι ειδική καθώς έχει μιτογόνο επίδραση και στους ινοβλάστες^[85].

Η οικογένεια αυξητικών παραγόντων FGF αποτελείται από 9 πολυπεπτίδια, συχνότερα εκ των οποίων είναι ο FGF-1 και ο FGF-2. Συντίθενται από πολλούς

κυτταρικούς τύπους, όπως οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα και μακροφάγα. Αποθηκεύονται στην εξωκυττάρια ουσία των οστών σε ενεργή μορφή και παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη των άκρων κατά την εμβρυογένεση και στην ιστική επιδιόρθωση μετά από τραύμα ή κάταγμα [85].

Στις οστεοβλαστικές οστικές μεταστάσεις, υπάρχει επίσης ένας φαύλος κύκλος μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των οστικών κυττάρων, όπως συμβαίνει στην οστεολυτική νόσο. Ωστόσο, επιπλέον, τα καρκινικά κύτταρα στα οστά παράγουν ουσίες που διεγείρουν τους οστεοβλάστες όπως BMPs, EGFs και PDGFs. Τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη παράγουν διάφορους αυξητικούς παράγοντες, που προάγουν την οστεοβλαστογένεση, επάγοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων του προστάτη [56, 57]. Μελέτη των Koenemanetalέδειξε ότι ο Runx2 εκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη από οστικές μεταστάσεις [86],τα οποία παράγουν επίσης FGF που επάγουν την απόπτωση οστεοβλαστών [87]. Αυτοί οι ενεργοποιημένοι οστεοβλάστες απελευθερώνουν μόρια σηματοδότησης όπως τα MCP-1, IL-6 και MIP-2, τα οποία ενισχύουν περαιτέρω τον αποικισμό και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων εντός του οστικού μικροπεριβάλλοντος.

Οι οστεοβλαστικές μεταστάσεις του καρκίνου του προστάτη προκαλούνται από την ισχυρή αλληλεπίδραση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων του προστάτη και των οστεοβλαστών. Η φυσική επαφή των οστεοβλαστών με τα καρκινικά κύτταρα προάγει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του προστάτη *in vitro* [124]. Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι τα μόρια που εκκρίνονται από τους οστεοβλάστες αδρανοποιούν τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη *in vitro* και *in vivo* [125]. Τα κυκλοφορούντα μεταστατικά κύτταρα του προστάτη συνδέονται με την ενδοοστική επιφάνεια όπου συνδέονται με τους οστεοβλάστες μέσω της σύνδεσης με τον υποδοχέα της αννεξίνης-2 [56, 126]. Αυτές οι μικρομεταστατικές εστίες σχηματίζονται σε περιοχές παραγωγής νέου οστίτη ιστού, όπου εντοπίζονται διαφοροποιημένοι και ενεργοί οστεοβλάστες. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ των οστεοβλαστών και των καρκινικών κυττάρων του μαστού έχει δείξει ότι τα μόρια που εκκρίνονται κατά τη διαδικασία διαφοροποίησης των οστεοβλαστών ενισχύουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων.

5.2 Ρόλος του VEGF στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

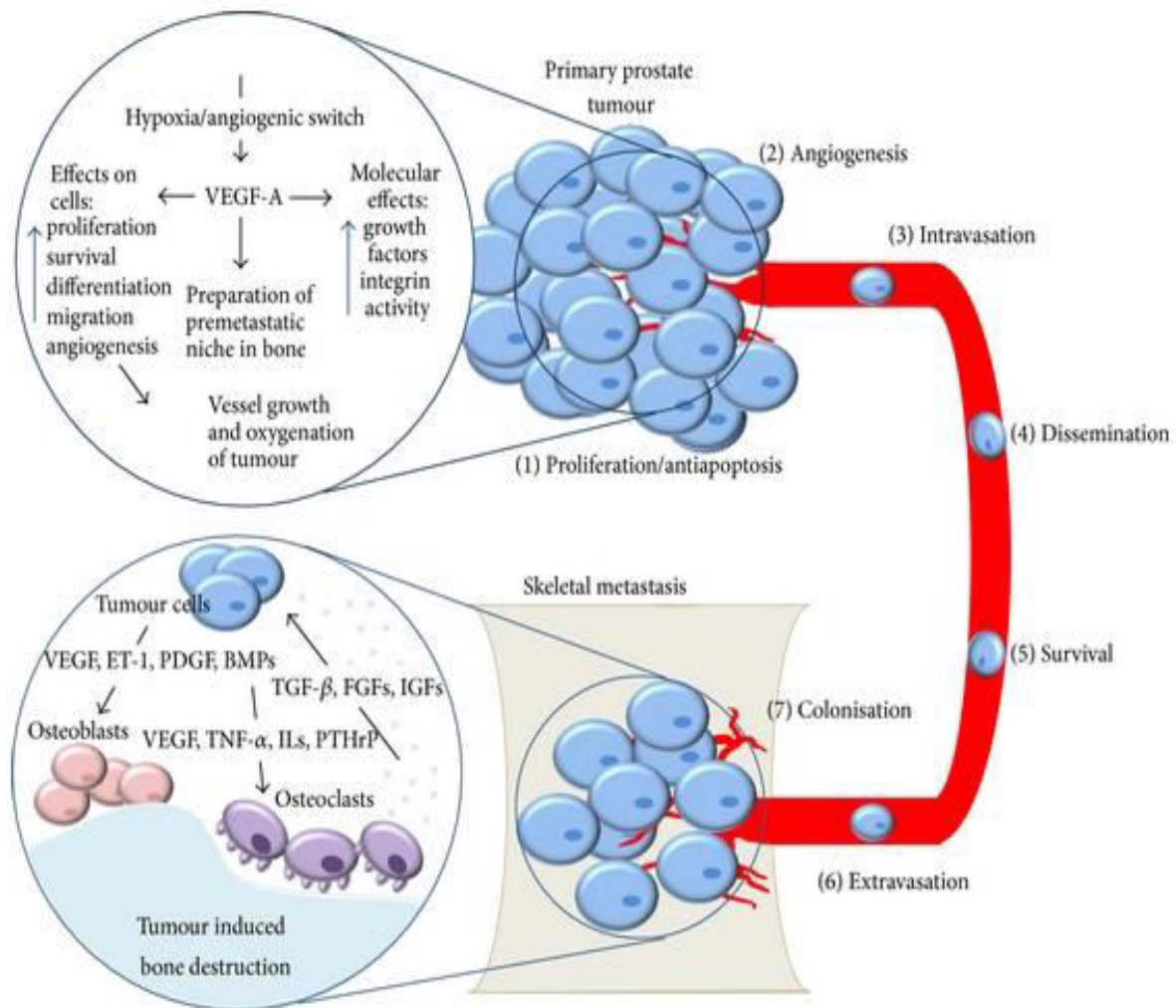
Παλαιότερα, η παρουσία του VEGF θεωρούταν αποκλειστική για τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ωστόσο πρόσφατες αναφορές επιβεβαίωσαν την παρουσία υποδοχέων VEGF, σε πολλούς άλλους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των οστεοβλαστών. Οι οστεοβλάστες μπορεί να απελευθερώσουν VEGF ως απόκριση σε έναν αριθμό ερεθισμάτων, όπως είναι συνθήκες υποξίας και ιστικής βλάβης [127]. Ο VEGF παίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση του κύκλου ζωής των οστεοβλαστών και της κυτταρικής απόπτωσης.

Με βάση τα ευρήματα ότι ο VEGF διεγείρει την οστεοβλαστική δραστηριότητα και επάγει την οστική αναδιαμόρφωση [128], οι Kitakawa et al πρότειναν ότι «τα κύτταρα του προστάτη αρχικά υποστηρίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων στα οστά μέσω της έκκρισης VEGF». Σε ένα δεύτερο στάδιο, η συνεχιζόμενη έκκριση VEGF διεγείρει την ενεργοποίηση των προ-οστεοβλαστών σε ώριμους, ενεργούς οστεοβλάστες μέσω της δέσμευσής του στη νευροπυλίνη-1 [129]. Έχει αποδειχθεί ότι η έκφραση του VEGF αυξάνεται στον καρκίνο του προστάτη και σχετίζεται με τη σταδιοποίηση και τη βαρύτητα της νόσου. Λόγω της πολυπαραγοντικής επίδρασης του VEGF στην αγγειογένεση του όγκου, στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και στην οστική καταστροφή (εικόνα 15), οι θεραπείες που στοχεύουν στον VEGF έχουν δείξει πολλά υποσχόμενα κλινικά αποτελέσματα και διερευνώνται σε κλινικές δοκιμές [130].

5.3 Ρόλος της ενδοθηλίνης-1 (ET-1) στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Πληθώρα πειραματικών δεδομένων υποδεικνύουν τον κεντρικό ρόλο της ET-1 στην παθογένεση των οστεοβλαστικών μεταστάσεων. Η ET-1 ανήκει σε μια οικογένεια

τριών πεπτιδίων 21 αμινοξέων. Έχει ισχυρές αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες. Οι ενδοθηλίες ασκούν τις επιδράσεις τους μέσω των υποδοχέων ενδοθηλίνης A (ET_A) και ενδοθηλίνης B (ET_B) [131].



Εικόνα 15. Ρόλος του VEGF στις οστικές μεταστάσεις στον καρκίνο του προστάτη. Διασπορά των καρκινικών κυττάρων από τον πρωτοπαθή όγκο στις θέσεις των απομακρυσμένων μεταστάσεων. Τροποποιημένο από Robertsetal^[130].

Η παρουσία της ενδοθηλίνης εντοπίστηκε αρχικά στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην υπέρταση, αλλά υπάρχει και σαφώς σημαντικός ρόλος στα οστά και τον καρκίνο. Η απόδειξη της συμμετοχής της στην παθογένεια των οστεοβλαστικών μεταστάσεων προέρχεται από το γεγονός ότι η ET-1 παράγεται επίσης από τον καρκίνο του μαστού και του προστάτη και είναι ένας ισχυρός διεγέρτης του πολλαπλασιασμού των οστεοβλαστών. Το 1995, οι Nelsonetal συσχέτισαν την ET-1 με οστεοβλαστικές μεταστάσεις του καρκίνου του προστάτη βρίσκοντας αυξημένα επίπεδα ET-1 στον ορό σε ασθενείς [132].

Υποτίθεται ότι τα καρκινικά κύτταρα της οστικής μετάστασης εκκρίνουν ET-1, η οποία διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και κατά συνέπεια το σχηματισμό νέου οστού. Με τη σειρά τους, οι διεγερμένοι οστεοβλάστες εμπλουτίζουν το οστικό μικροπεριβάλλον με κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες (IL-1β, IL-1α, EGF, TNFα, TGF-β), οι οποίοι ενισχύουν περαιτέρω την παραγωγή ET-1 από τα καρκινικά κύτταρα^[133]. Επιπλέον, τα καρκινικά κύτταρα παράγουν ET-1, ελαττώνοντας τη βιοσύνθεση του παράγοντα DKK-1 και διεγείροντας την οστεοβλαστογένεση ^[104].

Συλλογικά, τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η ET-1 που παράγεται από τα καρκινικά κύτταρα μεσολαβεί στις οστεοβλαστικές οστικές μεταστάσεις διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και το σχηματισμό νέου οστού. Ο αποκλεισμός των υποδοχέων ET_A μπορεί να έχει κλινική εφαρμογή στην πρόληψη και τη θεραπεία οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων λόγω καρκίνου του μαστού ή του προστάτη. Στοιχεία από άλλα μοντέλα εμπλέκουν τον PDGF που παράγεται από όγκους ως έναν άλλο μεσολαβητή των οστεοβλαστικών μεταστάσεων ^[134]. Συνολικά, αυτά τα παραδείγματα υποδεικνύουν ότι τα κύτταρα όγκου αλληλεπιδρούν επιλεκτικά με το μικροπεριβάλλον των οστών. Η κατανόηση αυτών των αλληλεπιδράσεων σε μοριακό επίπεδο έχει εντοπίσει νέους στόχους για θεραπευτική παρέμβαση που στοχεύει τόσο σε οστεολυτικές όσο και σε οστεοβλαστικές μεταστάσεις.

5.4 Ρόλος των μη κολλαγονικών πρωτεϊνών στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Η λειτουργία των καρκινικών κυττάρων του προστάτη επηρεάζεται από παράγοντες που εκκρίνονται από τους οστεοβλάστες, όπως η οστεοποντίνη, η οστεονεκτίνη, η οστεοκαλσίνη και η οστική σιαλοπρωτεΐνη^[73-74]. Πρόκειται για μη κολλαγονικές πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας των οστών που βρίσκονται ενσωματωμένες εντός των ινιδίων του κολλαγόνου.

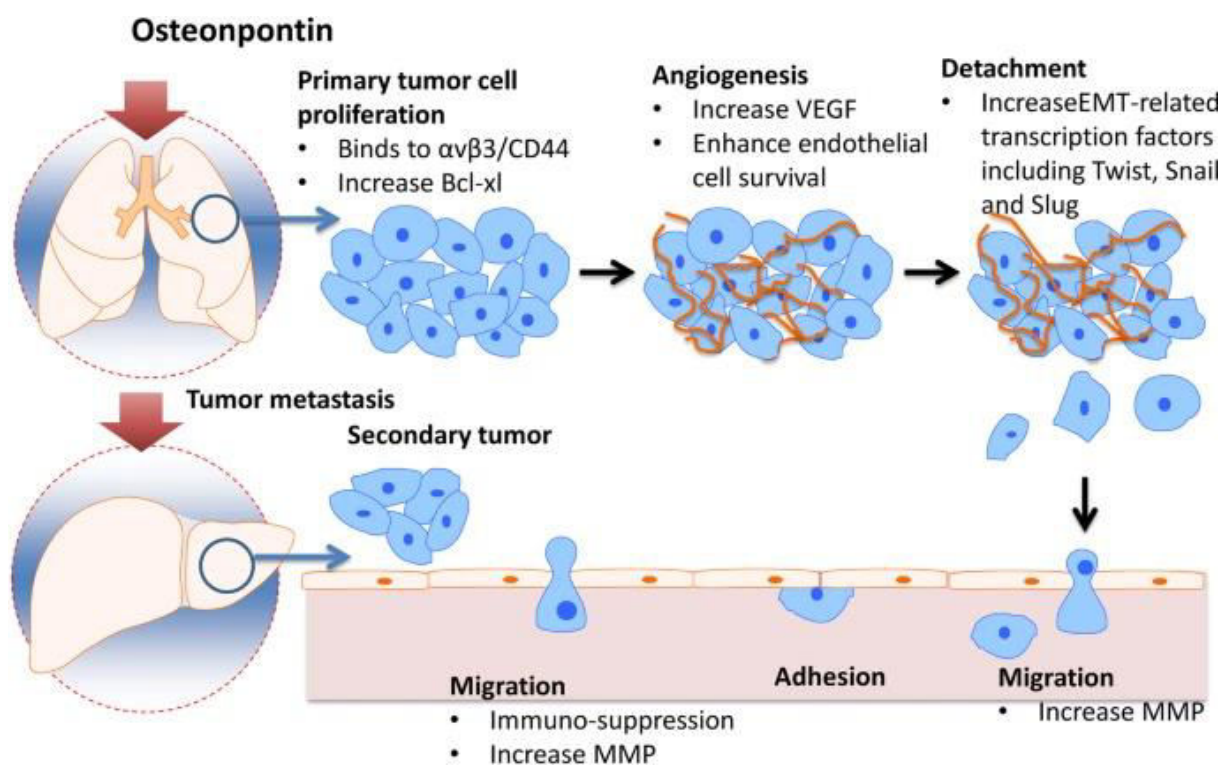
5.4.1 Οστεονεκτίνη

Η οστεονεκτίνη είναι γλυκοπρωτεΐνη που συνδέεται με το ασβέστιο και έχει χημειοτακτική δράση σε διάφορους τύπους καρκίνου. Το αμινοτελικό άκρο της οστεονεκτίνης είναι υπεύθυνο για την αναστολή της κυτταρικής διασποράς. Το καρβοξυτελικό άκρο είναι υπεύθυνο για την διέγερση μεταλλοπρωτεϊνών, την αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τη σύνδεση με τα κύτταρα και την εξωκυττάρια ουσία ^[135]. Μελέτη των Jacobetal κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η οστεονεκτίνη παίζει σημαντικό ρόλο στη διασπορά και τη διεισδυτικότητα του καρκίνου του προστάτη^[136].

5.4.2 Οστεοποντίνη

Η οστεοποντίνη είναι μια άλλη πρωτεΐνη που υπερεκφράζεται στην εξωκυττάρια ουσία των οστών και παίζει ρόλο στη χημειοταξία των καρκινικών κυττάρων (εικόνα 16). Ο ρόλος του στην κατευθυνόμενη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων ρυθμίζεται κυρίως από την ιντεγκρίνη $\alpha_v\beta_3$ ^{[137][138]}. Σε θέσεις οστικών μεταστάσεων, το

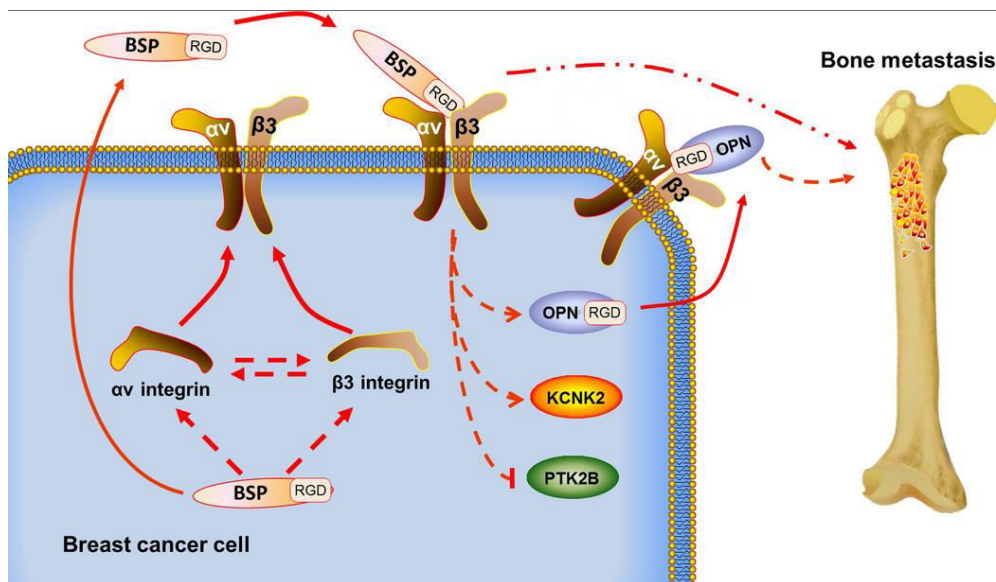
mRNA της οστεοποντίνης έχει ανιχνευθεί σε καρκινικά κύτταρα που βρίσκονται σε επαφή με το οστό, πιθανώς μεσολαβώντας αλληλεπιδράσεις στην επιφάνεια επαφής όγκου-ξενιστή. Επίσης, η ενδοφλέβια έγχυση κυττάρων μελανώματος B16 σε ποντίκια με έλλειψη οστεοποντίνης οδήγησε σε μειωμένες μεταστατικές βλάβες στα οστά σε σύγκριση με φυσιολογικά ποντίκια [139]. Επιπλέον, η δέσμευση της οστεοποντίνης στην ιντεγκρίνη $\alpha\beta_3$ επάγει την ενεργοποίηση των οστεοβλαστών σε οστεολυτικές μεταστάσεις [137, 140-141]. Ο κεντρικός ρόλος της οστεοποντίνης στη μεταστατική διαδικασία έχει οδηγήσει στην αναζήτηση πιθανών θεραπευτικών εφαρμογών που στοχεύουν είτε την ίδια την οστεοποντίνη είτε τους υποδοχείς της.



Εικόνα 16. Σχηματική απεικόνιση του ρόλου της οστεοποντίνης στην παθογένεση των καρκινικών μεταστάσεων. Τροποποιημένο από Zhaoetal^[142].

5.4.3 Οστική σιαλοπρωτεΐνη

Η οστική σιαλοπρωτεΐνη είναι άλλη μια από τις μη κολλαγονικές πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας του οστίτη ιστού του μυελού των οστών που παίζει σημαντικό ρόλο στη χημειοταξία των καρκινικών κυττάρων στον ιστό των οστών. Η οστική σιαλοπρωτεΐνη τόσο των οστών του ξενιστή όσο και των καρκινικών κυττάρων εμπλέκονται στη μεταστατική διαδικασία. Τα καρκινικά κύτταρα πιθανώς προσκολλώνται στην εξωκυττάρια ουσία των οστών με έναν μηχανισμό παρόμοιο με αυτόν των οστεοκλαστών μέσω της αλληλεπίδρασης με τις ιντεγκρίνες^[143]. Η προσκόλληση αυτή επιτυγχάνεται με τη σύνδεση με την ιντεγκρίνη $\alpha_v\beta_3$ και εξαρτάται από ένα τριπεπτίδιο αργινίνης-γλυκίνης-ασπαραγίνης (RGD) (εικόνα 17). Ωστόσο, η εμπλοκή περιοχών ανεξάρτητων από το τριπεπτίδιο RGD είναι επίσης δυνατή^[144-146]. Η έκτοπη έκφραση της οστικής σιαλοπρωτεΐνης πιθανότατα οφείλεται στη δράση των μεταγραφικών παραγόντων Runx2 και MSX2^[115]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η οστική σιαλοπρωτεΐνη μπορεί να εμπλέκεται στη διαδικασία ανεοαγγειογένεσης που παρατηρείται στις μεταστατικές εστίες^[147].

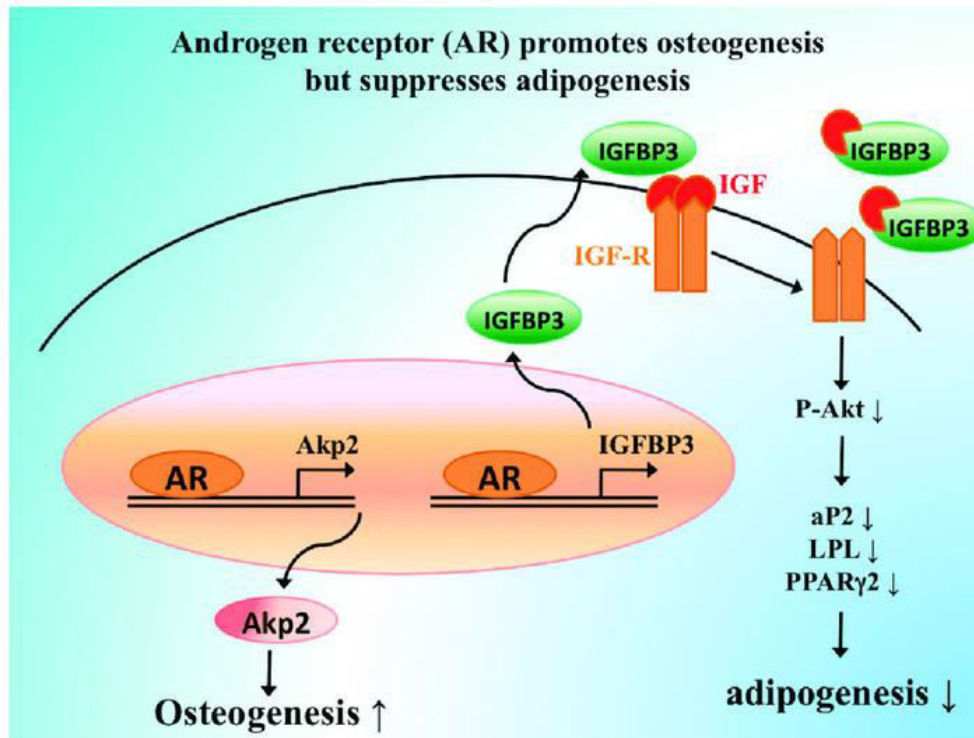


Εικόνα 17. Σχηματική απεικόνιση της προαγωγής της οστικής μετάστασης στον καρκίνο του μαστού μέσω της οστικής σιαλοπρωτεΐνης (BSP) και της ιντεγκρίνης $\alpha_v\beta_3$. Τροποποιημένο από Wang et al^[148].

Η αυξημένη δραστηριότητα των οστεοβλαστών αυξάνει την εναπόθεση ασβεστίου και φωσφόρου, οδηγώντας σε υπασβεστιαμία, με αποτέλεσμα αύξηση της παραγωγής PTH (δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός), η οποία ενεργοποιεί την παραγωγή RANKL σε αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα και οστεοβλάστες, αυξάνοντας τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών την οστική απορρόφηση ^(56, 57). Ως αποτέλεσμα, παράγονται αυξητικοί παράγοντες από το οστική εξωκυττάρια ουσία, προάγοντας την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων.

5.5 Ρόλος των υποδοχέων ανδρογόνων στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Ο υποδοχέας ανδρογόνων είναι ένας πυρηνικός υποδοχέας που ενεργοποιείται από την πρόσδεση ανδρογόνων, όπως η τεστοστερόνη και η διυδροτεστοστερόνη. Η πρόσδεση αυτή μετατρέπει τον υποδοχέα σε μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση ^[149]. Τόσο τα καρκινικά κύτταρα από τον καρκίνο του προστάτη όσο και οι οστεοβλάστες εκφράζουν υποδοχείς ανδρογόνων. Μάλιστα, η έκφραση των υποδοχέων ανδρογόνων αυξάνεται καθώς οι οστεοβλάστες ωριμάζουν σε οστεοκύτταρα. Έχει διαπιστωθεί ότι οι υποδοχείς ανδρογόνων αυξάνουν την οστεογένεση στα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, επάγοντας την έκφραση ALP-2, ενώ ταυτόχρονα καταστέλλουν τη λιπογένεση (εικόνα 18)^[150]. Με βάση τις παραπάνω διαπιστώσεις, υπάρχει πιθανότητα τα ανδρογόνα να εμπλέκονται επίσης στην παθογένεση των οστικών μεταστάσεων ^[151-152].



Εικόνα 18. Μηχανισμοί αύξησης της οστεογένεσης και μείωσης της λιπογένεσης στα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών από τους υποδοχείς ανδρογόνων. Τροποποιημένο από Chenetal^[150].

5.6 Ρόλος των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs) στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) βρίσκονται στο προσκήνιο του ενδιαφέροντος των ορθοπαιδικών, τα τελευταία χρόνια, καθώς έχουν μεγάλη συνεισφορά στη θεραπεία της ψευδάρθρωσης της κνήμης, στην αποκατάσταση των οστικών ελλειμμάτων, στα πρόσφατα κατάγματα, στην αποκατάσταση του μεσοσπονδύλιου δίσκου, στην ενσωμάτωση αλλομοσχευμάτων, στη σπονδυλοδεσία και στην ενίσχυση της ενσωμάτωσης τενόντιων μοσχευμάτων χρησιμοποιούμενων για την αποκατάσταση συνδεσμικών βλαβών. ^[153]

Οι BMPs ανήκουν στην TGF- β οικογένεια των αυξητικών παραγόντων. Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί περισσότερες από 40 BMPs. Η έκφραση των BMPs είναι μια σύμπλοκη ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια διαδικασία ανταλλαγής βιολογικών σημάτων, διαφορετική για κάθε στάδιο του καταρράκτη μορφογένεσης των οστών. Η BMP-7 εκδηλώνει τη δράση της με παραγωγή οστεογεννητικών κυττάρων από την 7^η εβδομάδα της εμβρυϊκής ζωής, με κορύφωση τη 2^η - 4^η εβδομάδα. Οι BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7 και BMP-9 αυξάνουν την έκκριση οστεοκαλσίνης και αλκαλικής φωσφατάσης στους προοστεοβλάστες, οδηγώντας στη μετάλλωση του οστίτη ιστού. Η BMP-3 έχει οστεοεπαγωγική δράση, αλλά μπορεί να δράσει και ως αναστολέας με την παρουσία των BMP-2 και BMP-7. [154]

Τα κύτταρα του καρκίνου του μαστού και του καρκίνου του προστάτη μπορούν να παράγουν BMPs, όπως BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7, BMP-10 και BMP-15 δρώντας ευοδωτικά ως προς την ανάπτυξη των οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων [155-156]. Ταυτόχρονα μπορούν και παράγουν και αναστολείς BMPs. Τα αυξημένα επίπεδα BMP των καρκινικών κυττάρων του προστάτη στο οστικό μικροπεριβάλλον είναι σημαντικοί παράγοντες για τον αποικισμό και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων στον οστίτη ιστό. Η BMP-2 έχει προ-αποπτωτική δράση στους οστεοβλάστες συμβάλλοντας στον σχηματισμό οστεολυτικής οστικής μετάστασης [157]. Η BMP-4 που παράγεται από τα κύτταρα του καρκίνου του προστάτη έχει ρυθμιστικό ρόλο στη μετατροπή των ενδοθηλιακών κυττάρων σε οστεοβλάστες, επάγοντας έτσι τη διαταραγμένη οστική παραγωγή [158]. Σε μια προηγούμενη μελέτη, η BMP-7 ανιχνεύθηκε στην πλειονότητα των δειγμάτων οστικών μεταστάσεων, αλλά όχι σε δείγματα φυσιολογικών οστών [159]. Φαίνεται ότι η διαταραχή της ισορροπίας BMPs και των αντίστοιχων αναστολέων συμβάλλει στη διαταραχή του οστικού μικροπεριβάλλοντος, στον καρκίνο του μαστού και του προστάτη [160]. Οι υποδοχείς των BMPs φαίνεται να επηρεάζονται από τα επίπεδα οιστρογόνων στον καρκίνο του μαστού [161]. Ο πίνακας 3 απεικονίζει την έκφραση και τη λειτουργία των BMPs στα κύτταρα του καρκίνου του μαστού.

	Expression in breast cancer		Function in breast cancer cells				Effect <i>in vivo</i>	
	Primary tumour	Bone metastases	Proliferation	Apoptosis	Motility	EMT	Primary	Bone
BMP-2	↓/↑		↓	↓/↑	↑	↑	↑	↑
BMP-4	↑		↓/↑		↓/↑	↑	↓/↑	
BMP-5	↑							
BMP-6	↓/↑		↓	↓	↓	↓		
BMP-7	↓/↑	↓/↑	↓/↑		↑	↓	↓	↓
GDF9A	↓		↓		↓			
BMP-9			↓	↑	↑		↓	↓
BMP-10	↓		↓		↓			
BMP-15	↓		↓		↓			
BMPR-IA		↑	↑		↑	↓/↑	↑	↑
BMPR-IB	↓/↑		↓		↑			
BMPR-II	↑		↑		↓			

Πίνακας 3. Ρόλος των BMPs και των υποδοχέων τους στον καρκίνο του μαστού. Τροποποιημένο από Zabkiewiczetal^[161].

5.7 Ρόλος των LIF στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Ο παράγοντας LIF είναι μια κυτοκίνη της οικογένειας IL-6 που ρυθμίζει έναν αριθμό φυσιολογικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της φυσιολογικής σκελετικής αναδιαμόρφωσης. Ο παράγοντας LIF επιδρά σε πολλά σκελετικά κύτταρα, όπως χονδροκύτταρα, οστεοβλάστες, λιποκύτταρα και ινοβλάστες. Η δράση του εξαρτάται από τον κυτταρικό τύπο και την κατάσταση διαφοροποίησης των

κυττάρων^[162]. Στους οστεοβλάστες, ο παράγοντας LIF σταματά τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, μεταβάλλοντας τη σύσταση της εξωκυττάριας ουσίας.

Οι οστεοβλάστες και τα οστεοκύτταρα εκκρίνουν LIF και η ενεργοποίηση των υποδοχέων LIF στα καρκινικά κύτταρα του μαστού φαίνεται να τα διατηρεί σε κατάσταση αδράνειας. Η απώλεια των υποδοχέων LIF οδηγεί σε μειωμένη έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στην αδράνεια των κυττάρων. Η πειραματική αδρανοποίηση των υποδοχέων LIF αυξάνει την κινητικότητα και τη διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων και τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών. Η υπερέκφραση του PTHrP μειώνει επίσης τη σηματοδότηση των υποδοχέων LIF^[163]. Ταυτόχρονα, το PTHrP έχει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των οστεοβλαστικών μεταστάσεων από τον καρκίνο του προστάτη αυξάνοντας τον πολλαπλασιασμό των στρωματικών κυττάρων του μυελού των οστών και την πρόωμη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών ^[164].

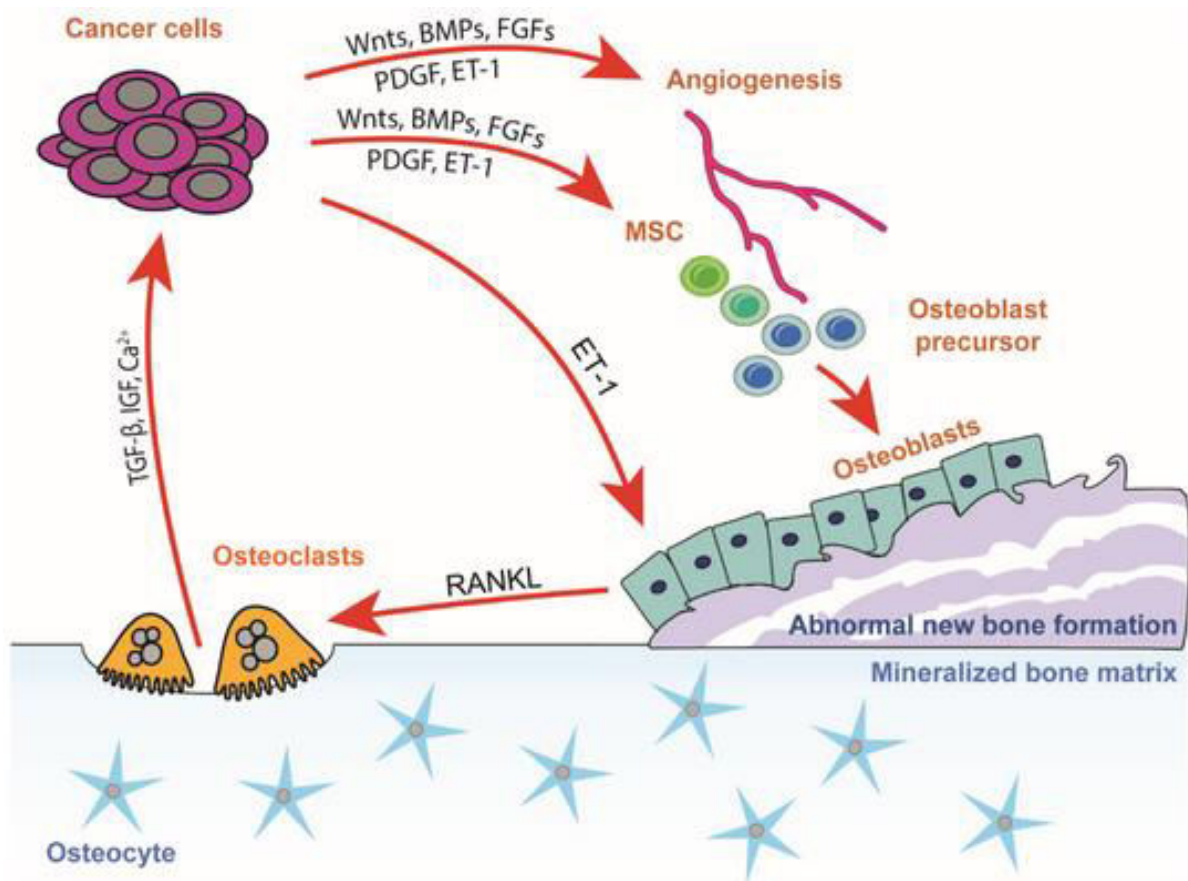
5.8 Ρόλος των miRNAs στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Το microRNA είναι ένα είδος βραχέος μη κωδικοποιητικού RNA με μήκος 20 – 25 νουκλεοτίδια, το οποίο ασκεί μετα-μεταγραφικό έλεγχο μέσω αναστολής ή αποικοδόμησης των γονιδίων - στόχων. Τα ώριμα miRNAs διαθέτουν τις συμπληρωματικές θέσεις στην 3'- αμετάφραστη περιοχή (UTR) του mRNA στόχου και συνδυάζονται μεταξύ τους, οπότε η μετάφραση να μπορεί να πραγματοποιηθεί, αναστέλλοντας έτσι την γονιδιακή έκφραση ^[165].

Το miR-9 έχει βρεθεί αυξημένο στα καρκινικά κύτταρα του καρκίνου του προστάτη. Μέσω της σηματοδότησης της ε-καντερίνης, επάγει τη διεισδυτικότητα και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων, διευκολύνοντας το σχηματισμό οστικών μεταστάσεων ^[166]. Το miR-33A-5p έχει βρεθεί μειωμένο στα καρκινικά κύτταρα του καρκίνου του προστάτη. Μέσω της αδρανοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού

του TGF- β , αναστέλλει τη διεισδυτικότητα και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων, εμποδίζοντας το σχηματισμό οστικών μεταστάσεων [167].

Τα miR-141 και miR-940 που παράγονται από κύτταρα καρκίνου του προστάτη προάγουν την οστεοβλαστογένεση, διευκολύνοντας τον σχηματισμό οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων σε πειραματόζωα [168]. Τα miRNAs δρουν κυρίως καταστέλλοντας τη γονιδιακή έκφραση. Το miR-141 προάγει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών αναστέλλοντας την έκφραση του mRNA του γονιδίου DLC1 που, με τη σειρά του, οδηγεί στην ενεργοποίηση της MAPκινάσης stop38 και αυξημένη έκφραση OPG στους οστεοβλάστες [169]. Το miR-940 προάγει την οστεογενετική διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων αναστέλλοντας απευθείας την έκφραση του mRNA των γονιδίων ARHGAP1 και FAM134A [170]. Το miR-1275 που παράγεται από τα κύτταρα του καρκίνου του προστάτη ρυθμίζει τη δραστηριότητα και τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού SIRT2/Runx2 [171]. Πρόσφατη μελέτη σε πειραματόζωα διαπίστωσε ότι τα miRNA συνεισφέρουν στο σχηματισμό οστεοβλαστικών μεταστάσεων στον καρκίνο του προστάτη επάγοντας τον πολλαπλασιασμό πρόδρομων μορφών οστεοβλαστών [172].



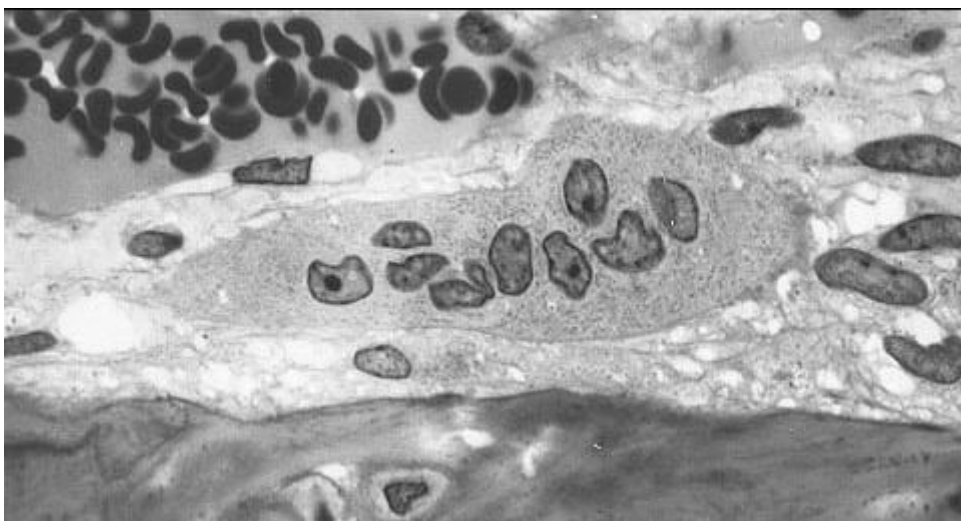
Εικόνα 19. Ο φαύλος κύκλος των οστεοβλαστικών οστικών μεταστάσεων. Τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν παράγοντες που επάγουν την αγγειογένεση και τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες. Τα καρκινικά κύτταρα χρησιμοποιούν τις περιαγγειακές κρύπτες του ενδοθηλίου. Οι οστεοβλάστες επάγουν τη διαφοροποίηση και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και οι αυξητικοί παράγοντες που απελευθερώνονται από την οστική απορρόφηση υποστηρίζουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Τροποποιημένο από Suominenetal^[118].

Κεφάλαιο 6. Ο ρόλος των οστεοκλαστών στην οστική μεταστατική νόσο

6.1 Οστεοκλάστες

Οι οστεοκλάστες σχηματίζονται από συνένωση πολλαπλών μονοπύρηνων κυττάρων, που προέρχονται από το μυελό των οστών. Πρόκειται για μεγάλα κύτταρα με ανώμαλο σχήμα, πολλούς πυρήνες και πολλά μιτοχόνδρια (εικόνα 20). Εδράζονται στις οστικές επιφάνειες του ενδόστεου, του περιόστεου και των συστημάτων Havers.

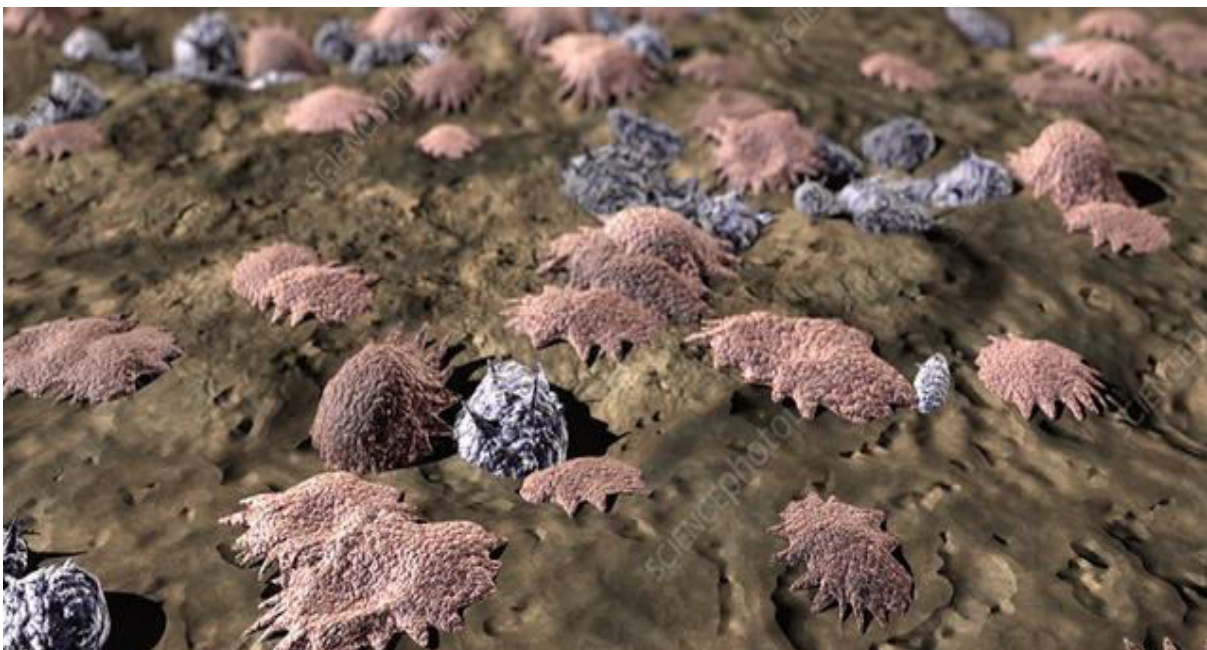
Οι οστεοκλάστες απορροφούν το οστό, βρισκόμενοι σε διαρκή συνεργασία με τους οστεοβλάστες. Στα σπογγώδη οστά σχηματίζουν χαρακτηριστική κοιλότητα (Howshiplacunae) ενώ στα φλοιώδη οστά σχηματίζουν τον κοπτικό κώνο του συστήματος Havers. Όταν ολοκληρώσουν τη δράση τους: α) Μετακινούνται σε παρακείμενη οστική επιφάνεια β) Διαιρούνται σε πολλαπλά μονοκύτταρα κύτταρα.



Εικόνα 20. Απεικόνιση οστεοκλάστη σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο [173].

Το σημαντικότερο μορφολογικό χαρακτηριστικό τους είναι η σύνθετη αναδίπλωση της κυτταρικής μεμβράνης προς την πλευρά της απορροφούμενης θεμέλιας ουσίας. Η αναδίπλωση σχηματίζει ένα σύνθετο όξινο μικροπεριβάλλον, με μεγάλη συγκέντρωση H^+ και πρωτεολυτικών ενζύμων. Έτσι επιτυγχάνεται ηφαίρεση των μεταλλικών ιόντων και η ενζυμική διάλυση θεμέλιας ουσίας.

Η οστική ανακατασκευή (boneremodeling) είναι σημαντική λειτουργία που ξεκινά από την 7^η εμβρυϊκή εβδομάδα και διαρκεί ως το θάνατο. Είναι υπεύθυνη για την προοδευτική αλλαγή της μορφής των οστών κατά την ανάπτυξη, για το ισοζύγιο του Ca στο σώμα, καθώς και τη διατήρηση, συντήρηση και προσαρμογή των οστών στα μηχανικά ερεθίσματα. Περιλαμβάνει ενεργοποίηση κυττάρων, απορρόφηση παλιού ώριμου οστού από τους οστεοκλάστες, αναστροφή και παραγωγή νέου οστεοειδούς από τους οστεοβλάστες (εικόνα 21).



Εικόνα 21. Μικροσκοπική εικόνα οστεοβλαστών και οστεοκλαστών στην οστική επιφάνεια κατά τη διαδικασία της οστικής ανακατασκευής [174].

6.2 Ρόλος των οστεοκλαστών στις οστεοβλαστικές μεταστάσεις

Τα καρκινικά κύτταρα από τον καρκίνο του προστάτη εκκρίνουν παράγοντες που διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση^[175], αυξάνοντας τη διαφοροποίηση και τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν τους οστεοβλάστες^[14]. Όταν συμβαίνει αυτό, η οστική απορρόφηση από τους οστεοκλάστες υπερτερεί της οστικής παραγωγής από τους οστεοβλάστες, οδηγώντας σε οστική καταστροφή και δημιουργία οστεολυτικών βλαβών. Στην περίπτωση του καρκίνου του προστάτη, η οστική μετάσταση μπορεί να συμβεί χρόνια ή δεκαετίες μετά την προστατεκτομή, υποδηλώνοντας ότι τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα βρίσκονται για πολλά χρόνια στη μεταστατική θέση των οστών σε κατάσταση ηρεμίας^[176].

Με βάση τα παραπάνω δικαιολογείται το γεγονός ότι τα αντιοστεοκλαστικά φάρμακα, όπως το denosumab, χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των οστικών μεταστάσεων από καρκίνο του προστάτη^[177].

6.3 Ρόλος των οστεοκλαστών στις οστεολυτικές μεταστάσεις

Οι οστεοκλάστες έχουν ενοχοποιηθεί για την αφύπνιση των καρκινικών κυττάρων που βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας και στη δημιουργία οστεολυτικών μεταστάσεων. Η διαδικασία της οστικής απορρόφησης από τους οστεοκλάστες εντός του μυελού των οστών, πυροδοτεί κυτταρικές διαδικασίες που μπορούν να προκαλέσουν την αφύπνιση των καρκινικών κυττάρων από την κατάσταση ηρεμίας. Χορήγηση RANKL σε πειραματόζωα με πολλαπλό μυέλωμα, διεγείρει την οστεοκλαστική δραστηριότητα, με αποτέλεσμα σημαντική μείωση στον αριθμό των αδρανών καρκινικών κυττάρων στον μυελό των οστών. Αντίστοιχα, οι ασθενείς με υποτροπιάζον πολλαπλό μυέλωμα εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα CTx στον όρο, ο οποίος αποτελεί βιοδείκτη οστικής απορρόφησης^[178]. Η οστική απορρόφηση απελευθερώνει αρκετούς

αυξητικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του TGF-β και της περιουστίνης, οι οποίοι είναι παράγοντες που επιταχύνουν την ανάπτυξη του οστικών μεταστάσεων^[179].

Τα καρκινικά κύτταρα εκκρίνουν PTHrP το οποίο επιταχύνει τη διαφοροποίηση και τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών^[180], η οποία με τη σειρά της έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων που βρίσκονται ενσωματωμένοι στην εξωκυττάρια ουσία των οστών, όπως ο TGF-β, ο οποίος διεγείρει περαιτέρω την κακοήθεια των καρκινικών κυττάρων ^[179].

Η απόδειξη ότι οι οστεοκλάστες παίζουν ρόλο στη διασπορά των μεταστατικών αλλοιώσεων του καρκίνου του μαστού προέκυψε επίσης από την παρατήρηση ότι τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν υψηλά επίπεδα του συνδέτη Notch, Jagged1 ^[181], ο οποίος ενεργοποιεί την απελευθέρωση IL-6 από τους οστεοβλάστες, ενεργοποιώντας άμεσα τη διαφοροποίηση και τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών ^[182].

Κεφάλαιο 7. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσης ανασκόπησης έδειξαν ότι οι οστεοβλάστες συμβάλλουν σημαντικά στην παθογένεση της οστικής μεταστατικής νόσου, αλλά η ακριβής συμβολή τους στην εγκατάσταση, την αδράνεια και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων δεν έχει ακόμη ξεκαθαριστεί πλήρως. Σε σύγκριση με τους οστεοκλάστες, ο ρόλος των οστεοβλαστών στις οστικές μεταστάσεις και στο σχηματισμό μεταστατικής βλάβης είναι μάλλον χαμηλός και δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς. Θα χρειαστεί καλύτερη κατανόηση της αλληλεπίδρασης των οστεοβλαστών με τα καρκινικά κύτταρα εντός του οστίτη ιστού για τον εντοπισμό νέων μεθόδων διαχείρισης για ασθενείς με μεταστατική νόσο των οστών.

Πίνακας Συντομογραφιών

ALP: Alkaline Phosphatase

ARHGAP1: Rho GTPase Activating Protein 1

ATF-4: Activating transcription factor 4

BET: bromodomain and extraterminal protein

BSP: Bone Sialoprotein

BMPs: BoneMorphogeneticProteins

CDH11: Cadherin 11

COX-2: Cyclooxygenase 2

CTx: C-terminal telopeptide

CXCR4: C-X-C Motif Chemokine Receptor 4

CXCL12: C-X-C Motif Chemokine Ligand 12

DKK-1: dickkopf-1 factor

DLC1: Deleted in Liver Cancer 1

DLX-5: distal-less homeobox 5

DOCK5: Deducator of cytokinesis 5

ECM: Extracellular matrix

EGF: Epidermal growth factor

ET-1: Endothelin-1

FAM134A: Family with Sequence Similarity 134Member A

FGF: Fibroblastgrowthfactors

HGF/c-met: Hepatocyte growth factor /c-mesenchymal-epithelial transition receptor

HIF: Hypoxia-inducible factor

HSCs: Hematopoietic stem cells

IGF- β : insulin-likegrowthfactors - β

Ihh: Indianhedgehog

IL-1a: Interleukin-1a

IL-1 β : Interleukin-1 β

IL-6: Interleukin-6

ITGA5: Integrin Subunit Alpha 5

LEF/TCF: T-cell factor/lymphoid enhancer factor
LIF: Leukemia inhibitory factor
MAP: Mitogen-activated protein
MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1
MIP-2: macrophage inflammatory protein-2
MMPs: Matrix metalloproteinases
MMP-3: Matrix Metalloproteinase – 3
MMP-13: Matrix Metalloproteinase – 13
MSX2: Msh Homeobox 2
MSCs: Mesenchymal stem cells
NF- κ B: Nuclear factor- κ B
OPG: Osteoprotegerin
OPN: Osteopontin
OSE2: osteoblastspecificis-element 2
Osx: Osterix
PDGF: Platelet-derived growth factor
PGE2: Prostaglandin E2
PTH: Parathyroid hormone
PTHrP: Parathyroid hormone-related protein
RANK: receptor activator of NF-kappaB
RANKL: RANK ligand
Runx2: Runt-related transcription factor 2
SDF-1: stromal cell-derived factor 1
SOST: Sclerostin
TGF- β : transforminggrowthfactor – β
TNFa: Tumor necrosis factor-a
VEGF: Vascular endothelial growth factor

Βιβλιογραφία

1. Nishimura R, Hata K, Matsubara T, Wakabayashi M, Yoneda T. Regulation of bone and cartilage development by network between BMP signalling and transcription factors. *J Biochem.* 2012 Mar;151(3):247-54.
2. Yang L, Tsang KY, Tang HC, Chan D, Cheah KS. Hypertrophic chondrocytes can become osteoblasts and osteocytes in endochondral bone formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Aug 19;111(33):12097-102.
3. Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells.* 2020 Sep 10;9(9).
4. Neve A, Corrado A, Cantatore FP. Osteoblast physiology in normal and pathological conditions. *Cell Tissue Res.* 2011 Feb;343(2):289-302.
5. Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C. Genetic Control of Bone Formation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology.* 2009;25(1):629-48.
6. <https://www.pinterest.com/pin/537476536748550768/>.
7. Bosetti M, Boccafoschi F, Leigheb M, Cannas MF. Effect of different growth factors on human osteoblasts activities: a possible application in bone regeneration for tissue engineering. *Biomol Eng.* 2007 Dec;24(6):613-8.
8. Komori T. Regulation of Proliferation, Differentiation and Functions of Osteoblasts by Runx2. *Int J Mol Sci.* 2019 Apr 4;20(7).
9. Bodine PV, Komm BS. Wnt signaling and osteoblastogenesis. *Rev Endocr Metab Disord.* 2006 Jun;7(1-2):33-9.
10. Karner CM, Long F. Wnt signaling and cellular metabolism in osteoblasts. *Cell Mol Life Sci.* 2017 May;74(9):1649-57.
11. Marie PJ. Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene.* 2003 Oct 16;316:23-32.

12. Ng F, Boucher S, Koh S, Sastry KS, Chase L, Lakshmipathy U, et al. PDGF, TGF-beta, and FGF signaling is important for differentiation and growth of mesenchymal stem cells (MSCs): transcriptional profiling can identify markers and signaling pathways important in differentiation of MSCs into adipogenic, chondrogenic, and osteogenic lineages. *Blood*. 2008 Jul 15;112(2):295-307.
13. Prideaux M, Findlay DM, Atkins GJ. Osteocytes: The master cells in bone remodelling. *Curr Opin Pharmacol*. 2016 Jun;28:24-30.
14. Suvannasankha A, Chirgwin JM. Role of bone-anabolic agents in the treatment of breast cancer bone metastases. *Breast Cancer Res*. 2014;16(6):484.
15. Xiong J, Onal M, Jilka RL, Weinstein RS, Manolagas SC, O'Brien CA. Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nat Med*. 2011 Sep 11;17(10):1235-41.
16. <https://fineartamerica.com/featured/osteocyte-sem-steve-gschmeissner.html>.
17. Suva LJ, Washam C, Nicholas RW, Griffin RJ. Bone metastasis: mechanisms and therapeutic opportunities. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Apr;7(4):208-18.
18. Coleman RE. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. *Cancer Treat Rev*. 2001 Jun;27(3):165-76.
19. Selvaggi G, Scagliotti GV. Management of bone metastases in cancer: a review. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005 Dec;56(3):365-78.
20. Chaffer CL, San Juan BP, Lim E, Weinberg RA. EMT, cell plasticity and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2016 Dec;35(4):645-54.
21. Puisieux A, Brabletz T, Caramel J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nat Cell Biol*. 2014 Jun;16(6):488-94.
22. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020 2020/03/12;5(1):28.
23. Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF, et al. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol*. 1998 Sep;153(3):865-73.

24. Weilbaecher KN, Guise TA, McCauley LK. Cancer to bone: a fatal attraction. *Nat Rev Cancer*. 2011 Jun;11(6):411-25.
25. Hofbauer LC, Rachner TD, Coleman RE, Jakob F. Endocrine aspects of bone metastases. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Jun;2(6):500-12.
26. Das A, Pandit S, Das SK, Basuthakur S, Das S. An osteolytic metastasis of humerus from an asymptomatic squamous cell carcinoma of lung: a rare clinical entity. *Case Rep Pulmonol*. 2014;2014:636017.
27. <https://radiopaedia.org/cases/osteoblastic-metastases-from-prostate-cancer?lang=gb>.
28. Coleman RE, Rubens RD. The clinical course of bone metastases from breast cancer. *Br J Cancer*. 1987 Jan;55(1):61-6.
29. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2002 Aug;2(8):584-93.
30. Turner JJO. Hypercalcaemia - presentation and management *Clin Med (Lond)*. 2017 Jun;17(3):270-3.
31. Van Poznak C, Somerfield MR, Barlow WE, Biermann JS, Bosserman LD, Clemons MJ, et al. Role of Bone-Modifying Agents in Metastatic Breast Cancer: An American Society of Clinical Oncology-Cancer Care Ontario Focused Guideline Update. *J Clin Oncol*. 2017 Dec 10;35(35):3978-86.
32. Maisano R, Pergolizzi S, Cascinu S. Novel therapeutic approaches to cancer patients with bone metastasis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2001 Dec;40(3):239-50.
33. Clohisy DR, Mantyh PW. Bone cancer pain. *Cancer*. 2003 Feb 1;97(3 Suppl):866-73.
34. Clézardin P, Coleman R, Puppò M, Ottewill P, Bonnelye E, Paycha F, et al. Bone metastasis: mechanisms, therapies, and biomarkers. *Physiol Rev*. 2021 Jul 1;101(3):797-855.
35. Costa L, Badia X, Chow E, Lipton A, Wardley A. Impact of skeletal complications on patients' quality of life, mobility, and functional independence. *Support Care Cancer*. 2008 Aug;16(8):879-89.

36. Coleman R, Body JJ, Aapro M, Hadji P, Herrstedt J. Bone health in cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. 2014 Sep;25 Suppl 3:iii124-37.
37. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, Blayney D, Lipton A, Sinoff C, et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastases. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *N Engl J Med*. 1996 Dec 12;335(24):1785-91.
38. Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K, et al. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer*. 2000 Mar 1;88(5):1082-90.
39. Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS, Kostenuik PJ, Dougall WC, Sullivan JK, et al. Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nat Rev Drug Discov*. 2012 May;11(5):401-19.
40. Henry DH, Costa L, Goldwasser F, Hirsh V, Hungria V, Prausova J, et al. Randomized, double-blind study of denosumab versus zoledronic acid in the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer (excluding breast and prostate cancer) or multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2011 Mar 20;29(9):1125-32.
41. Katsumi H, Yamashita S, Morishita M, Yamamoto A. Bone-Targeted Drug Delivery Systems and Strategies for Treatment of Bone Metastasis. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2020;68(7):560-6.
42. Dash A, Das T, Knapp FFR. Targeted Radionuclide Therapy of Painful Bone Metastases: Past Developments, Current Status, Recent Advances and Future Directions. *Curr Med Chem*. 2020;27(19):3187-249.
43. Chambers AF, Naumov GN, Varghese HJ, Nadkarni KV, MacDonald IC, Groom AC. Critical steps in hematogenous metastasis: an overview. *Surg Oncol Clin N Am*. 2001 Apr;10(2):243-55, vii.
44. Coleman RE, Seaman JJ. The role of zoledronic acid in cancer: clinical studies in the treatment and prevention of bone metastases. *Semin Oncol*. 2001 Apr;28(2 Suppl 6):11-6.

45. Berrettoni BA, Carter JR. Mechanisms of cancer metastasis to bone. *J Bone Joint Surg Am.* 1986 Feb;68(2):308-12.
46. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell.* 1994 Jan 28;76(2):301-14.
47. Mazo IB, von Andrian UH. Adhesion and homing of blood-borne cells in bone marrow microvessels. *J Leukoc Biol.* 1999 Jul;66(1):25-32.
48. Papotti M, Kalebic T, Volante M, Chiusa L, Bacillo E, Cappia S, et al. Bone sialoprotein is predictive of bone metastases in resectable non-small-cell lung cancer: a retrospective case-control study. *J Clin Oncol.* 2006 Oct 20;24(30):4818-24.
49. <http://www.rcsismj.com/2009-2010-issue/breast-ca-mets/>.
50. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature.* 2005 Dec 8;438(7069):820-7.
51. Liu Y, Cao X. Characteristics and Significance of the Pre-metastatic Niche. *Cancer Cell.* 2016 Nov 14;30(5):668-81.
52. Zhang XH, Giuliano M, Trivedi MV, Schiff R, Osborne CK. Metastasis dormancy in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2013 Dec 1;19(23):6389-97.
53. Massague J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature.* 2016 Jan 21;529(7586):298-306.
54. Haider MT, Smit DJ, Taipaleenmäki H. The Endosteal Niche in Breast Cancer Bone Metastasis. *Front Oncol.* 2020;10:335.
55. Haider MT, Holen I, Dear TN, Hunter K, Brown HK. Modifying the osteoblastic niche with zoledronic acid in vivo-potential implications for breast cancer bone metastasis. *Bone.* 2014 Sep;66:240-50.
56. Shiozawa Y, Pedersen EA, Havens AM, Jung Y, Mishra A, Joseph J, et al. Human prostate cancer metastases target the hematopoietic stem cell niche to establish footholds in mouse bone marrow. *J Clin Invest.* 2011 Apr;121(4):1298-312.

57. Wang N, Docherty FE, Brown HK, Reeves KJ, Fowles AC, Ottewell PD, et al. Prostate cancer cells preferentially home to osteoblast-rich areas in the early stages of bone metastasis: evidence from in vivo models. *J Bone Miner Res.* 2014 Dec;29(12):2688-96.
58. Kukreja P, Abdel-Mageed AB, Mondal D, Liu K, Agrawal KC. Up-regulation of CXCR4 expression in PC-3 cells by stromal-derived factor-1alpha (CXCL12) increases endothelial adhesion and transendothelial migration: role of MEK/ERK signaling pathway-dependent NF-kappaB activation. *Cancer Res.* 2005 Nov 1;65(21):9891-8.
59. Capulli M, Hristova D, Valbret Z, Carys K, Arjan R, Maurizi A, et al. Notch2 pathway mediates breast cancer cellular dormancy and mobilisation in bone and contributes to haematopoietic stem cell mimicry. *Br J Cancer.* 2019 Jul;121(2):157-71.
60. Pedersen EA, Shiozawa Y, Pienta KJ, Taichman RS. The prostate cancer bone marrow niche: more than just 'fertile soil'. *Asian J Androl.* 2012 May;14(3):423-7.
61. Butler JM, Kobayashi H, Rafii S. Instructive role of the vascular niche in promoting tumour growth and tissue repair by angiocrine factors. *Nat Rev Cancer.* 2010 Feb;10(2):138-46.
62. Park D, Sykes DB, Scadden DT. The hematopoietic stem cell niche. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012 Jan 1;17(1):30-9.
63. Stegen S, Carmeliet G. The skeletal vascular system - Breathing life into bone tissue. *Bone.* 2018 Oct;115:50-8.
64. Ottewell PD. The role of osteoblasts in bone metastasis. *J Bone Oncol.* 2016 Sep;5(3):124-7.
65. Carbonell WS, Ansorge O, Sibson N, Muschel R. The vascular basement membrane as "soil" in brain metastasis. *PLoS One.* 2009 Jun 10;4(6):e5857.
66. Kienast Y, von Baumgarten L, Fuhrmann M, Klinkert WE, Goldbrunner R, Herms J, et al. Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation. *Nat Med.* 2010 Jan;16(1):116-22.

67. Ottewell PD, Wang N, Brown HK, Fowles CA, Croucher PI, Eaton CL, et al. OPG-Fc inhibits ovariectomy-induced growth of disseminated breast cancer cells in bone. *Int J Cancer*. 2015 Aug 15;137(4):968-77.
68. Ottewell PD, Wang N, Meek J, Fowles CA, Croucher PI, Eaton CL, et al. Castration-induced bone loss triggers growth of disseminated prostate cancer cells in bone. *Endocr Relat Cancer*. 2014 Oct;21(5):769-81.
69. Price TT, Burness ML, Sivan A, Warner MJ, Cheng R, Lee CH, et al. Dormant breast cancer micrometastases reside in specific bone marrow niches that regulate their transit to and from bone. *Sci Transl Med*. 2016 May 25;8(340):340ra73.
70. Ghajar CM, Peinado H, Mori H, Matei IR, Evason KJ, Brazier H, et al. The perivascular niche regulates breast tumour dormancy. *Nat Cell Biol*. 2013 Jul;15(7):807-17.
71. Templeton ZS, Lie WR, Wang W, Rosenberg-Hasson Y, Alluri RV, Tamareisis JS, et al. Breast Cancer Cell Colonization of the Human Bone Marrow Adipose Tissue Niche. *Neoplasia*. 2015 Dec;17(12):849-61.
72. Wan L, Pantel K, Kang Y. Tumor metastasis: moving new biological insights into the clinic. *Nat Med*. 2013 Nov;19(11):1450-64.
73. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Apr 1;100(7):3983-8.
74. Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer*. 2003 Dec;3(12):895-902.
75. Yaccoby S. Osteoblastogenesis and tumor growth in myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2010 Feb;51(2):213-20.
76. <https://picturingscience.wordpress.com/image-gallery-2/brain-cancer-stem-cells/>.
77. Bleul CC, Fuhlbrigge RC, Casasnovas JM, Aiuti A, Springer TA. A highly efficacious lymphocyte chemoattractant, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1). *J Exp Med*. 1996 Sep 1;184(3):1101-9.

78. Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, Goldman CK, Forudi F, Kiedrowski M, et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet*. 2003 Aug 30;362(9385):697-703.
79. Guo JC, Li J, Zhou L, Yang JY, Zhang ZG, Liang ZY, et al. CXCL12-CXCR7 axis contributes to the invasive phenotype of pancreatic cancer. *Oncotarget*. 2016 Sep 20;7(38):62006-18.
80. Sorrentino C, Miele L, Porta A, Pinto A, Morello S. Activation of the A2B adenosine receptor in B16 melanomas induces CXCL12 expression in FAP-positive tumor stromal cells, enhancing tumor progression. *Oncotarget*. 2016 Sep 27;7(39):64274-88.
81. Krumbholz M, Theil D, Cepok S, Hemmer B, Kivisäkk P, Ransohoff RM, et al. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain*. 2006 Jan;129(Pt 1):200-11.
82. Haider MT, Holen I, Dear TN, Hunter K, Brown HK. Modifying the osteoblastic niche with zoledronic acid in vivo-potential implications for breast cancer bone metastasis. *Bone*. 2014 Sep;66(100):240-50.
83. Sun Y, Mao X, Fan C, Liu C, Guo A, Guan S, et al. CXCL12-CXCR4 axis promotes the natural selection of breast cancer cell metastasis. *Tumour Biol*. 2014 Aug;35(8):7765-73.
84. Devignes CS, Aslan Y, Brenot A, Devillers A, Schepers K, Fabre S, et al. HIF signaling in osteoblast-lineage cells promotes systemic breast cancer growth and metastasis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Jan 30;115(5):E992-E1001.
85. Solheim E. Growth factors in bone. *Int Orthop*. 1998;22(6):410-6.
86. Leto G. Activin A and bone metastasis. *J Cell Physiol*. 2010 Nov;225(2):302-9.
87. Walsh MC, Kim N, Kadono Y, Rho J, Lee SY, Lorenzo J, et al. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:33-63.
88. Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol*. 2007 Apr;7(4):292-304.
89. Klein DC, Raisz LG. Prostaglandins: stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology*. 1970 Jun;86(6):1436-40.

90. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med*. 1995 Feb 2;332(5):305-11.
91. Whyte MP, Mumm S. Heritable disorders of the RANKL/OPG/RANK signaling pathway. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2004 Sep;4(3):254-67.
92. Mulholland BS, Forwood MR, Morrison NA. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2) Drives Activation of Bone Remodelling and Skeletal Metastasis. *Curr Osteoporos Rep*. 2019 Dec;17(6):538-47.
93. Miyamoto K, Ninomiya K, Sonoda KH, Miyauchi Y, Hoshi H, Iwasaki R, et al. MCP-1 expressed by osteoclasts stimulates osteoclastogenesis in an autocrine/paracrine manner. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Jun 5;383(3):373-7.
94. Dutta P, Sarkissyan M, Paico K, Wu Y, Vadgama JV. MCP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancers and drives cancer invasiveness and metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Aug;170(3):477-86.
95. Kinder M, Chislock E, Bussard KM, Shuman L, Mastro AM. Metastatic breast cancer induces an osteoblast inflammatory response. *Exp Cell Res*. 2008 Jan 1;314(1):173-83.
96. Bussard KM, Venzon DJ, Mastro AM. Osteoblasts are a major source of inflammatory cytokines in the tumor microenvironment of bone metastatic breast cancer. *J Cell Biochem*. 2010 Dec 1;111(5):1138-48.
97. Luo X, Fu Y, Loza AJ, Murali B, Leahy KM, Ruhland MK, et al. Stromal-Initiated Changes in the Bone Promote Metastatic Niche Development. *Cell Rep*. 2016 Jan 5;14(1):82-92.
98. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology*. 1999 Sep;140(9):4367-70.
99. Croucher PI. Osteoblastic Metastases. In: Jasmin C, Coleman R, Coia L, Capanna R, Saillant G, editors. *Textbook of Bone Metastases* 2005. p. 41-50.

100. Akhtari M, Mansuri J, Newman KA, Guise TM, Seth P. Biology of breast cancer bone metastasis. *Cancer Biol Ther*. 2008 Jan;7(1):3-9.
101. Ohshiba T, Miyaura C, Ito A. Role of prostaglandin E produced by osteoblasts in osteolysis due to bone metastasis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Jan 24;300(4):957-64.
102. Sterling JA, Edwards JR, Martin TJ, Mundy GR. Advances in the biology of bone metastasis: how the skeleton affects tumor behavior. *Bone*. 2011 Jan;48(1):6-15.
103. Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, Levine AC. Cross-talk between the interleukin-6 and prostaglandin E(2) signaling systems results in enhancement of osteoclastogenesis through effects on the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) ligand/RANK system. *Endocrinology*. 2005 Apr;146(4):1991-8.
104. Brown HK, Ottewill PD, Evans CA, Holen I. Location matters: osteoblast and osteoclast distribution is modified by the presence and proximity to breast cancer cells in vivo. *Clin Exp Metastasis*. 2012 Dec;29(8):927-38.
105. Krzeszinski JY, Wan Y. New therapeutic targets for cancer bone metastasis. *Trends Pharmacol Sci*. 2015 Jun;36(6):360-73.
106. Croucher PI, McDonald MM, Martin TJ. Bone metastasis: the importance of the neighbourhood. *Nat Rev Cancer*. 2016 May 25;16(6):373-86.
107. Yaccoby S, Ling W, Zhan F, Walker R, Barlogie B, Shaughnessy JD, Jr. Antibody-based inhibition of DKK1 suppresses tumor-induced bone resorption and multiple myeloma growth in vivo. *Blood*. 2007 Mar 1;109(5):2106-11.
108. Tian E, Zhan F, Walker R, Rasmussen E, Ma Y, Barlogie B, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003 Dec 25;349(26):2483-94.
109. Thudi NK, Martin CK, Murahari S, Shu ST, Lanigan LG, Werbeck JL, et al. Dickkopf-1 (DKK-1) stimulated prostate cancer growth and metastasis and inhibited bone formation in osteoblastic bone metastases. *Prostate*. 2011 May;71(6):615-25.

110. Zhuang X, Zhang H, Li X, Cong M, Peng F, Yu J, et al. Differential effects on lung and bone metastasis of breast cancer by Wnt signalling inhibitor DKK1. *Nat Cell Biol.* 2017 Oct;19(10):1274-85.
111. Zhu M, Liu C, Li S, Zhang S, Yao Q, Song Q. Sclerostin induced tumor growth, bone metastasis and osteolysis in breast cancer. *Sci Rep.* 2017 Sep 12;7(1):11399.
112. Hesse E, Schröder S, Brandt D, Pamperin J, Saito H, Taipaleenmäki H. Sclerostin inhibition alleviates breast cancer-induced bone metastases and muscle weakness. *JCI Insight.* 2019 Apr 9;5(9).
113. Komori T. Runx2, a multifunctional transcription factor in skeletal development. *J Cell Biochem.* 2002;87(1):1-8.
114. Komori T. Requisite roles of Runx2 and Cbfb in skeletal development. *J Bone Miner Metab.* 2003;21(4):193-7.
115. Barnes GL, Javed A, Waller SM, Kamal MH, Hebert KE, Hassan MQ, et al. Osteoblast-related transcription factors Runx2 (Cbfa1/AML3) and MSX2 mediate the expression of bone sialoprotein in human metastatic breast cancer cells. *Cancer Res.* 2003 May 15;63(10):2631-7.
116. Selvamurugan N, Kwok S, Partridge NC. Smad3 interacts with JunB and Cbfa1/Runx2 for transforming growth factor-beta1-stimulated collagenase-3 expression in human breast cancer cells. *J Biol Chem.* 2004 Jun 25;279(26):27764-73.
117. Phadke PA, Mercer RR, Harms JF, Jia Y, Frost AR, Jewell JL, et al. Kinetics of metastatic breast cancer cell trafficking in bone. *Clin Cancer Res.* 2006 Mar 1;12(5):1431-40.
118. Suominen MI, Wilson T, Käkönen SM, Scholz A. The Mode-of-Action of Targeted Alpha Therapy Radium-223 as an Enabler for Novel Combinations to Treat Patients with Bone Metastasis. *Int J Mol Sci.* 2019 Aug 10;20(16).
119. Vallet S, Bashari MH, Fan FJ, Malvestiti S, Schneeweiss A, Wuchter P, et al. Pre-Osteoblasts Stimulate Migration of Breast Cancer Cells via the HGF/MET Pathway. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150507.

120. Kolb AD, Shupp AB, Mukhopadhyay D, Marini FC, Bussard KM. Osteoblasts are "educated" by crosstalk with metastatic breast cancer cells in the bone tumor microenvironment. *Breast Cancer Res.* 2019 Feb 27;21(1):31.
121. Stewart AF, Vignery A, Silverglate A, Ravin ND, LiVolsi V, Broadus AE, et al. Quantitative bone histomorphometry in humoral hypercalcemia of malignancy: uncoupling of bone cell activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982 Aug;55(2):219-27.
122. Taube T, Elomaa I, Blomqvist C, Beneton MN, Kanis JA. Histomorphometric evidence for osteoclast-mediated bone resorption in metastatic breast cancer. *Bone.* 1994 Mar-Apr;15(2):161-6.
123. Mansukhani A, Bellosta P, Sahni M, Basilico C. Signaling by fibroblast growth factors (FGF) and fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)-activating mutations blocks mineralization and induces apoptosis in osteoblasts. *J Cell Biol.* 2000 Jun 12;149(6):1297-308.
124. Zhang S, Wang J, Bilen MA, Lin SH, Stupp SI, Satcher RL. Modulation of prostate cancer cell gene expression by cell-to-cell contact with bone marrow stromal cells or osteoblasts. *Clin Exp Metastasis.* 2009;26(8):993-1004.
125. Kobayashi A, Okuda H, Xing F, Pandey PR, Watabe M, Hirota S, et al. Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J Exp Med.* 2011 Dec 19;208(13):2641-55.
126. Shiozawa Y, Havens AM, Jung Y, Ziegler AM, Pedersen EA, Wang J, et al. Annexin II/annexin II receptor axis regulates adhesion, migration, homing, and growth of prostate cancer. *J Cell Biochem.* 2008 Oct 1;105(2):370-80.
127. Street J, Lenehan B. Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival – evidence for an autocrine feedback mechanism. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research.* 2009 2009/06/16;4(1):19.
128. Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther KP, Dehio C, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone.* 2002 Mar;30(3):472-7.

129. Kitagawa Y, Dai J, Zhang J, Keller JM, Nor J, Yao Z, et al. Vascular endothelial growth factor contributes to prostate cancer-mediated osteoblastic activity. *Cancer Res.* 2005 Dec 1;65(23):10921-9.
130. Roberts E, Cossigny DA, Quan GM. The role of vascular endothelial growth factor in metastatic prostate cancer to the skeleton. *Prostate Cancer.* 2013;2013:418340.
131. Stern PH, Tatrai A, Semler DE, Lee SK, Lakatos P, Strieleman PJ, et al. Endothelin receptors, second messengers, and actions in bone. *J Nutr.* 1995 Jul;125(7 Suppl):2028S-32S.
132. Nelson JB, Hedican SP, George DJ, Reddi AH, Piantadosi S, Eisenberger MA, et al. Identification of endothelin-1 in the pathophysiology of metastatic adenocarcinoma of the prostate. *Nat Med.* 1995 Sep;1(9):944-9.
133. Le Brun G, Aubin P, Soliman H, Ropiquet F, Villette JM, Berthon P, et al. Upregulation of endothelin 1 and its precursor by IL-1beta, TNF-alpha, and TGF-beta in the PC3 human prostate cancer cell line. *Cytokine.* 1999 Feb;11(2):157-62.
134. Yi B, Williams PJ, Niewolna M, Wang Y, Yoneda T. Tumor-derived platelet-derived growth factor-BB plays a critical role in osteosclerotic bone metastasis in an animal model of human breast cancer. *Cancer Res.* 2002 Feb 1;62(3):917-23.
135. Motamed K. SPARC (osteonectin/BM-40). *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 1999 1999/12/01/;31(12):1363-6.
136. Jacob K, Webber M, Benayahu D, Kleinman HK. Osteonectin promotes prostate cancer cell migration and invasion: a possible mechanism for metastasis to bone. *Cancer Res.* 1999 Sep 1;59(17):4453-7.
137. Weber GF. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2001 Dec 28;1552(2):61-85.
138. Standal T, Borset M, Sundan A. Role of osteopontin in adhesion, migration, cell survival and bone remodeling. *Exp Oncol.* 2004 Sep;26(3):179-84.
139. Nemoto H, Rittling SR, Yoshitake H, Furuya K, Amagasa T, Tsuji K, et al. Osteopontin deficiency reduces experimental tumor cell metastasis to bone and soft tissues. *J Bone Miner Res.* 2001 Apr;16(4):652-9.

140. Engleman VW, Nickols GA, Ross FP, Horton MA, Griggs DW, Settle SL, et al. A peptidomimetic antagonist of the alpha(v)beta3 integrin inhibits bone resorption in vitro and prevents osteoporosis in vivo. *J Clin Invest.* 1997 May 1;99(9):2284-92.
141. Mastro AM, Gay CV, Welch DR, Donahue HJ, Jewell J, Mercer R, et al. Breast cancer cells induce osteoblast apoptosis: a possible contributor to bone degradation. *J Cell Biochem.* 2004 Feb 1;91(2):265-76.
142. Zhao H, Chen Q, Alam A, Cui J, Suen K, Soo A, et al. The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell Death & Disease.* 2018;9:356.
143. Waltregny D, Bellahcène A, de Leval X, Florkin B, Weidle U, Castronovo V. Increased expression of bone sialoprotein in bone metastases compared with visceral metastases in human breast and prostate cancers. *J Bone Miner Res.* 2000 May;15(5):834-43.
144. Felding-Habermann B. Integrin adhesion receptors in tumor metastasis. *Clin Exp Metastasis.* 2003;20(3):203-13.
145. Sung V, Stubbs JT, 3rd, Fisher L, Aaron AD, Thompson EW. Bone sialoprotein supports breast cancer cell adhesion proliferation and migration through differential usage of the alpha(v)beta3 and alpha(v)beta5 integrins. *J Cell Physiol.* 1998 Sep;176(3):482-94.
146. Byzova TV, Kim W, Midura RJ, Plow EF. Activation of integrin alpha(V)beta(3) regulates cell adhesion and migration to bone sialoprotein. *Exp Cell Res.* 2000 Feb 1;254(2):299-308.
147. Bellahcène A, Bonjean K, Fohr B, Fedarko NS, Robey FA, Young MF, et al. Bone sialoprotein mediates human endothelial cell attachment and migration and promotes angiogenesis. *Circ Res.* 2000 Apr 28;86(8):885-91.
148. Wang L, Song L, Li J, Wang Y, Yang C, Kou X, et al. Bone sialoprotein- $\alpha v \beta 3$ integrin axis promotes breast cancer metastasis to the bone. *Cancer Sci.* 2019 Oct;110(10):3157-72.
149. Roy AK, Lavrovsky Y, Song CS, Chen S, Jung MH, Velu NK, et al. Regulation of androgen action. *Vitam Horm.* 1999;55:309-52.

150. Chen J-F, Lin P-W, Tsai Y-R, Yang Y-C, Kang H-Y. Androgens and Androgen Receptor Actions on Bone Health and Disease: From Androgen Deficiency to Androgen Therapy. *Cells*. 2019;8:1318.
151. Gopalkrishnan RV, Kang DC, Fisher PB. Molecular markers and determinants of prostate cancer metastasis. *J Cell Physiol*. 2001 Dec;189(3):245-56.
152. Rycaj K, Tang DG. Molecular determinants of prostate cancer metastasis. *Oncotarget*. 2017 Oct 20;8(50):88211-31.
153. De Biase P, Capanna R. Clinical applications of BMPs. *Injury*. 2005 Nov;36 Suppl 3:S43-6.
154. Axelrad TW, Einhorn TA. Bone morphogenetic proteins in orthopaedic surgery. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009 Oct-Dec;20(5-6):481-8.
155. Dai J, Hall CL, Escara-Wilke J, Mizokami A, Keller JM, Keller ET. Prostate cancer induces bone metastasis through Wnt-induced bone morphogenetic protein-dependent and independent mechanisms. *Cancer Res*. 2008 Jul 15;68(14):5785-94.
156. Dai J, Keller J, Zhang J, Lu Y, Yao Z, Keller ET. Bone morphogenetic protein-6 promotes osteoblastic prostate cancer bone metastases through a dual mechanism. *Cancer Res*. 2005 Sep 15;65(18):8274-85.
157. Hay E, Lemonnier J, Fromigué O, Marie PJ. Bone morphogenetic protein-2 promotes osteoblast apoptosis through a Smad-independent, protein kinase C-dependent signaling pathway. *J Biol Chem*. 2001 Aug 3;276(31):29028-36.
158. Lin SC, Lee YC, Yu G, Cheng CJ, Zhou X, Chu K, et al. Endothelial-to-Osteoblast Conversion Generates Osteoblastic Metastasis of Prostate Cancer. *Dev Cell*. 2017 Jun 5;41(5):467-80 e3.
159. Masuda H, Fukabori Y, Nakano K, Takezawa Y, T CS, Yamanaka H. Increased expression of bone morphogenetic protein-7 in bone metastatic prostate cancer. *Prostate*. 2003 Mar 1;54(4):268-74.
160. Secondini C, Wetterwald A, Schwaninger R, Thalmann GN, Cecchini MG. The role of the BMP signaling antagonist noggin in the development of prostate cancer osteolytic bone metastasis. *PLoS One*. 2011 Jan 13;6(1):e16078.

161. Zabkiewicz C, Resaul J, Hargest R, Jiang WG, Ye L. Bone morphogenetic proteins, breast cancer, and bone metastases: striking the right balance. *Endocr Relat Cancer*. 2017 Oct;24(10):R349-R66.
162. Sims NA, Johnson RW. Leukemia inhibitory factor: a paracrine mediator of bone metabolism. *Growth Factors*. 2012 Apr;30(2):76-87.
163. Johnson RW, Finger EC, Olcina MM, Vilalta M, Aguilera T, Miao Y, et al. Induction of LIFR confers a dormancy phenotype in breast cancer cells disseminated to the bone marrow. *Nat Cell Biol*. 2016 Oct;18(10):1078-89.
164. Liao J, Li X, Koh AJ, Berry JE, Thudi N, Rosol TJ, et al. Tumor expressed PTHrP facilitates prostate cancer-induced osteoblastic lesions. *Int J Cancer*. 2008 Nov 15;123(10):2267-78.
165. Fang Z, Rajewsky N. The impact of miRNA target sites in coding sequences and in 3'UTRs. *PLoS One*. 2011 Mar 22;6(3):e18067.
166. Oh-Hohenhorst SJ, Lange T. Role of Metastasis-Related microRNAs in Prostate Cancer Progression and Treatment. *Cancers (Basel)*. 2021 Sep 6;13(17).
167. Dai Y, Wu Z, Lang C, Zhang X, He S, Yang Q, et al. Copy number gain of ZEB1 mediates a double-negative feedback loop with miR-33a-5p that regulates EMT and bone metastasis of prostate cancer dependent on TGF- β signaling. *Theranostics*. 2019;9(21):6063-79.
168. Labbé M, Hoey C, Ray J, Potiron V, Supiot S, Liu SK, et al. microRNAs identified in prostate cancer: Correlative studies on response to ionizing radiation. *Molecular Cancer*. 2020 2020/03/23;19(1):63.
169. Ye Y, Li SL, Ma YY, Diao YJ, Yang L, Su MQ, et al. Exosomal miR-141-3p regulates osteoblast activity to promote the osteoblastic metastasis of prostate cancer. *Oncotarget*. 2017 Nov 7;8(55):94834-49.
170. Hashimoto K, Ochi H, Sunamura S, Kosaka N, Mabuchi Y, Fukuda T, et al. Cancer-secreted hsa-miR-940 induces an osteoblastic phenotype in the bone metastatic microenvironment via targeting ARHGAP1 and FAM134A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Feb 27;115(9):2204-9.

171. Zou Z, Dai R, Deng N, Su W, Liu P. Exosomal miR-1275 Secreted by Prostate Cancer Cells Modulates Osteoblast Proliferation and Activity by Targeting the SIRT2/RUNX2 Cascade. *Cell Transplantation*. 2021;30:09636897211052977.
172. Furesi G, de Jesus Domingues AM, Alexopoulou D, Dahl A, Hackl M, Schmidt JR, et al. Exosomal miRNAs from Prostate Cancer Impair Osteoblast Function in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(3):1285.
173. <https://en.wikipedia.org/wiki/Osteoclast>.
174. <https://www.sciencephoto.com/media/708405/view/osteoblasts-and-osteoclasts>.
175. Polavaram NS, Dutta S, Islam R, Bag AK, Roy S, Poitz D, et al. Tumor- and osteoclast-derived NRP2 in prostate cancer bone metastases. *Bone Res*. 2021 May 14;9(1):24.
176. Ahove DA, Hoffman KE, Hu JC, Choueiri TK, D'Amico AV, Nguyen PL. Which patients with undetectable PSA levels 5 years after radical prostatectomy are still at risk of recurrence?--implications for a risk-adapted follow-up strategy. *Urology*. 2010 Nov;76(5):1201-5.
177. Hayes AR, Brungs D, Pavlakis N. Osteoclast inhibitors to prevent bone metastases in men with high-risk, non-metastatic prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2018;13(1):e0191455.
178. Lawson MA, McDonald MM, Kovacic N, Hua Khoo W, Terry RL, Down J, et al. Osteoclasts control reactivation of dormant myeloma cells by remodelling the endosteal niche. *Nat Commun*. 2015 Dec 3;6:8983.
179. Buijs JT, Stayrook KR, Guise TA. The role of TGF- β in bone metastasis: novel therapeutic perspectives. *Bonekey Rep*. 2012;1:96.
180. Guise TA, Yin JJ, Taylor SD, Kumagai Y, Dallas M, Boyce BF, et al. Evidence for a causal role of parathyroid hormone-related protein in the pathogenesis of human breast cancer-mediated osteolysis. *J Clin Invest*. 1996 Oct 1;98(7):1544-9.

181. Reedijk M, Odorcic S, Chang L, Zhang H, Miller N, McCreedy DR, et al. High-level coexpression of JAG1 and NOTCH1 is observed in human breast cancer and is associated with poor overall survival. *Cancer Res.* 2005 Sep 15;65(18):8530-7.
182. Sethi N, Dai X, Winter CG, Kang Y. Tumor-derived JAGGED1 promotes osteolytic bone metastasis of breast cancer by engaging notch signaling in bone cells. *Cancer Cell.* 2011 Feb 15;19(2):192-205.