

Titolo: "Gli antagonisti dell'ormone di rilascio dell'ormone della crescita sopprimono la crescita tumorale in vivo e l'espressione genica nei tumori al seno triplo negativi - Antagonists of growth hormone-releasing hormone suppress in vivo tumor growth and gene expression in triple negative breast cancers".

Codice: GHRH02

Autore: Perez et al.

Data: 2012

Rivista: *Oncotarget* 3:988-997

Argomento: GHRH

Accesso libero: si

URL/DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.634>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2025/03/16/ghrh02-perez-et-al-2012/>

Parole chiave: neuropeptide analogo, espressione genica tumorale, silenziamento recettoriale, terapia mirata, infiammazione

Tumore: cancro al seno triplo negativo

Traduzione: La traduzione è stata semplificata soprattutto nella sezione "Risultati". La sezione "Materiali e Metodi" non è stata tradotta.

Punti di interesse: Il cancro al seno è la principale causa di mortalità nelle donne e si stimano circa 4 milioni di nuovi casi e 820.000 decessi all'anno in tutto il mondo. Il cancro al seno è una malattia eterogenea e comprende diverse entità distinte. Il sottotipo definito come triplo negativo (TNBC), negativo per il recettore degli estrogeni, del progesterone e del fattore di crescita epidermico umano 2 (Her2), rappresenta il 10-15% di tutti i casi. Colpisce le donne più giovani, è più invasivo e ha una prognosi molto più sfavorevole. Le citochine infiammatorie sono raramente o minimamente espresse negli epiteli mammari normali, ma sono significativamente elevate in diversi sottotipi di tumore al seno. Recidive e metastasi sono associate ad un'espressione significativamente aumentata e prolungata citochine infiammatorie. L'esposizione prolungata delle cellule tumorali al seno alle citochine infiammatorie porta alla transizione epiteliali-mesenchimali (EMT), il meccanismo principale associato alla generazione di cellule staminali cancerose, allo sviluppo di resistenza e all'inizio e alla progressione delle metastasi. Numerosi studi hanno stabilito con certezza il ruolo regolatore delle citochine infiammatorie nel cancro. L'interruzione delle vie di segnalazione coinvolte nell'EMT può quindi fornire una strategia di trattamento efficace per i tumori attualmente difficili da trattare come il TNBC. L'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) è un ormone peptidico, secreto dall'ipotalamo, che regola la sintesi e il rilascio dell'ormone della crescita (GH) da parte dell'ipofisi. Il GH stimola successivamente il rilascio del fattore di crescita insulino-simile epatico, che è un importante fattore di crescita anabolico e un potente mitogeno per molte neoplasie. Il GHRH oltre a stimolare la produzione di GH agisce lui stesso come un fattore di crescita autocrino/paracrino nei tumori umani incluso quello al seno. In campioni chirurgici e linee cellulari tumorali di una moltitudine di tumori umani, inclusi vari tipi di cancro al seno, sono stati identificati GHRH biologicamente attivo, mRNA per GHRH, recettori per il GHRH (GHRH-R). Gli antagonisti del GHRH in tumori della prostata e del polmone e altri, hanno dimostrato la capacità di modulare le vie di segnalazione coinvolte nella proliferazione cellulare, sopravvivenza, metastasi e apoptosi. Più specificatamente, in alcuni studi il trattamento con antagonisti del GHRH ha diminuito l'espressione delle citochine pro-infiammatorie. L'ipotesi quindi è che gli antagonisti del GHRH possano sopprimere anche l'espressione delle citochine infiammatorie associate al cancro al seno, in particolare nel TNBC.

Per testare questa ipotesi, in questo studio, due linee cellulari umane di TNBC innestate su topi nudi sono state state trattate con l'antagonista del GHRH, MIA-602. Successivamente è stata valutata la crescita del tumore e l'espressione genica delle citochine infiammatorie. Per valutare gli effetti dell'antagonista del GHRH sull'espressione genica delle citochine, le colture cellulari sono state trattate in modo da silenziare l'espressione dei geni del recettore del GHRH (GHRH-R).

Proteina e mRNA per GHRH e il suo recettore sono stati trovati in entrambe le linee cellulari di TNBC e in sintesi i risultati del trattamento con l'antagonista del GHRH sono i seguenti: 1) diminuzione del volume della massa tumorale; 2) significativa riduzione dell'espressione di GHRH e del suo recettore; 3) significativa riduzione degli mRNA delle citochine infiammatorie, 4) il silenziamento del gene per il recettore del GHRH ha determinato la significativa soppressione di mRNA per il GHRH e per il suo recettore; 5) il silenziamento del gene per il recettore del GHRH ha soppresso anche l'espressione dell'mRNA delle citochine proinfiammatorie da parte delle cellule di TNBC.

L'analisi dei risultati di questo studio indica un'espressione soppressa delle citochine infiammatorie tumorali nelle colture cellulari di TNBC testate, determinata dal trattamento con l'antagonista del GHRH. Questi risultati suggeriscono che gli antagonisti del GHRH possono essere utilizzati per inibire la generazione di cellule staminali tumorali, il fenomeno della resistenza e il potenziale metastatico sopprimendo l'espressione dei geni delle citochine infiammatorie.

Traduzione articolo

Riassunto

Questo studio ha valutato gli effetti di un moderno analogo antagonista del GHRH sulla crescita tumorale e sull'espressione dei geni delle citochine infiammatorie in due modelli di tumori al seno tripli negativi umani (TNBC). Il sottotipo TNBC è refrattario alle opzioni di trattamento disponibili per altri tumori al seno indipendenti dagli ormoni. Le citochine infiammatorie svolgono un ruolo importante nella segnalazione cellulare associata alla patogenesi del cancro al seno e migliorano le transizioni epiteliali-mesenchimali (EMT), la resistenza ai farmaci e il potenziale metastatico. L'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) è un neuropeptide ipotalamico che regola la sintesi e il rilascio dell'ormone della crescita da parte dell'ipofisi ed è un fattore di crescita autocrino/paracrino per molteplici tumori umani. Gli effetti degli analoghi del GHRH sull'espressione delle citochine tumorali non sono stati precedentemente studiati. Gli animali portatori di xenotrapianti delle linee cellulari umane TNBC, HCC1806 e MX-1, sono stati trattati con MIA-602, un analogo antagonista del GHRH. Il trattamento con MIA-602 ha ridotto significativamente la crescita del tumore. Abbiamo quantificato i livelli di trascrizione dei geni per diverse citochine infiammatorie. L'espressione di INF γ , IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF α è stata significativamente ridotta dal trattamento con MIA-602. Concludiamo che il trattamento del TNBC con antagonisti del GHRH riduce la crescita del tumore attraverso un'azione mediata dai recettori tumorali del GHRH e produce una soppressione della segnalazione delle citochine infiammatorie. Il silenziamento dei recettori del GHRH in vitro con siRNA ha inibito l'espressione dei geni GHRH-R e dei geni delle citochine infiammatorie nelle cellule HCC1806 e MX-1. Ulteriori studi sugli antagonisti del GHRH possono facilitare lo sviluppo di nuove strategie per il trattamento dei tumori resistenti.

Introduzione

Il cancro al seno è la principale causa di mortalità nelle donne ispaniche e afroamericane e la seconda causa più comune di morte correlata al cancro nelle donne caucasiche. Solo negli Stati

Uniti, ogni anno circa 200.000 donne sono affette da cancro al seno e 41.000 muoiono a causa della loro malignità. [1] Queste cifre possono essere estrapolate a circa 4 milioni di nuovi casi e 820.000 decessi all'anno, in tutto il mondo. Il cancro al seno è una malattia molto eterogenea e comprende diverse entità distinte. Il sottotipo definito come cancro al seno triplo negativo (TNBC) è negativo per il recettore degli estrogeni, il recettore del progesterone e il recettore del fattore di crescita epidermico umano 2 (Her2). Il TNBC rappresenta il 10-15% di tutti i casi di cancro al seno. Questo fenotipo è ereditario, più invasivo, colpisce le donne più giovani e ha una prognosi molto più sfavorevole rispetto ad altri fenotipi. [2] I tumori al seno tripli negativi sono refrattari alle opzioni di trattamento disponibili per altri tumori al seno indipendenti dagli ormoni, che sono negativi per il recettore degli estrogeni e per il recettore del progesterone ma positivi per Her2. Ciò spiega la bassa sopravvivenza del TNBC. [3] Devono quindi essere ideate strategie di trattamento alternative per affrontare questa carenza clinica. È stato dimostrato che le citochine infiammatorie svolgono un ruolo importante nella segnalazione cellulare coinvolta nella patogenesi del cancro al seno. [4-6] Un'espressione aumentata di citochine infiammatorie è correlata a un grado tumorale più elevato e a un potenziale metastatico maggiore, entrambi fattori che predicono una sopravvivenza più scarsa. Le citochine infiammatorie migliorano anche la resistenza ai farmaci nel cancro al seno. [7] Tra i ruoli delle citochine nel cancro al seno c'è la loro capacità di regolare le transizioni epiteliali-mesenchimali (EMT). [8, 9] Nel corso dell'EMT, l'espressione delle molecole di adesione intercellulare e altre caratteristiche di un fenotipo epiteliale vengono perse e le cellule acquisiscono un fenotipo simile alle cellule staminali o "mesenchimale". Questo fenotipo è altamente mobile e possiede proprietà simili alle cellule staminali, tra cui un alto grado di resistenza alla chemioterapia e alle radiazioni. Oltre allo sviluppo delle cellule staminali del cancro e alla regolazione della resistenza al trattamento, l'EMT è il principale meccanismo coinvolto nelle metastasi e nell'invasione tumorale. [10-12] L'interruzione delle vie di segnalazione coinvolte nell'EMT può quindi fornire una strategia di trattamento efficace per i tumori attualmente difficili da trattare o non trattabili come il TNBC.

Il potenziale utilizzo di analoghi neuropeptidici per il trattamento del cancro è stato a lungo accertato. [13-15] L'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) è un ormone peptidico, secreto dall'ipotalamo, che regola la sintesi e il rilascio dell'ormone della crescita da parte dell'ipofisi. [16, 17] L'ormone della crescita stimola successivamente il rilascio del fattore di crescita insulino-simile epatico, che è un importante fattore di crescita anabolico e un potente mitogeno per molte neoplasie. [17-20] GHRH biologicamente attivo, mRNA per GHRH, recettori GHRH (GHRH-R) e varianti di splicing GHRH-R sono stati identificati in campioni chirurgici e linee cellulari tumorali di una moltitudine di tumori umani, inclusi vari tipi di cancro al seno [21-28]. Il GHRH agisce come un fattore di crescita autocrino/paracrino nei tumori umani [16, 29-31] incluso il seno [32]. Il GHRH-R di tipo pituitario e la variante di splicing 1 del GHRH-R sembrano mediare gli effetti diretti del GHRH e dei suoi analoghi sui tumori [33]. La proliferazione in vitro e in vivo di vari tumori umani è soppressa dagli analoghi antagonisti del GHRH (definiti "antagonisti del GHRH") [19, 34-36]. Questi risultati supportano ulteriormente il concetto di GHRH come fattore di crescita per il cancro clinico. Studi in vivo hanno dimostrato l'attività antitumorale degli antagonisti del GHRH contro molteplici tipi di cancro [16, 29].

Studi sugli antagonisti del GHRH sui tumori della prostata e del polmone hanno dimostrato la capacità di modulare le vie di segnalazione coinvolte nella proliferazione cellulare, sopravvivenza, metastasi e apoptosi [31, 37-39]. Tra i percorsi interessati c'è il PI3K-AKT, che regola le citochine infiammatorie attraverso NF- κ B. [37, 38] La resistenza al trattamento nel cancro al seno è aumentata dall'attivazione del percorso NF- κ B da parte dell'infiammazione. [40, 41] Studi in vivo sugli effetti degli antagonisti del GHRH sull'iperplasia prostatica benigna, una condizione parzialmente infiammatoria, hanno portato a significative riduzioni delle dimensioni della prostata dopo il trattamento [42]. Le analisi indicano che il trattamento con antagonisti del GHRH sopprime

l'espressione delle citochine pro-infiammatorie nell'iperplasia prostatica benigna (BPH). [42, 43] Questi risultati supportano anche l'ipotesi che gli antagonisti del GHRH sopprimeranno l'espressione delle citochine infiammatorie associate al cancro al seno.

In questo studio, le linee cellulari umane TNBC, HCC1806 e MX-1, sono state xenoinnestate in topi nudi per valutare gli effetti dell'antagonista del GHRH MIA-602 sulla crescita del tumore e sull'espressione genica delle citochine infiammatorie. Gli animali sono stati trattati quotidianamente con iniezioni sottocutanee di MIA-602 per cinque settimane, dopodiché i tumori sono stati raccolti per l'analisi dell'espressione genica. Per confermare gli effetti dell'antagonista del GHRH sull'espressione genica delle citochine, le colture di HCC1806 e MX-1 sono state trattate con piccoli RNA interferenti (siRNA) per silenziare l'espressione dei geni GHRH-R. È stata utilizzata la reazione a catena della polimerasi con trascrizione inversa quantitativa in tempo reale (qRT-PCR) in un unico passaggio per analizzare l'espressione dei geni delle citochine infiammatorie.

Risultati

Effetto dell'antagonista del GHRH MIA-602 sulla crescita di xenotrapianti di tumori mammari TNBC umani HCC1806 e MX-1.

- I tumori trattati con MIA-602 avevano volumi significativamente ($P < 0,01$) più piccoli rispetto ai controlli. Le differenze di volume erano significative ($P < 0,01$) per tutta la durata dell'esperimento.

- Il trattamento dei tumori HCC1806 con MIA-602 ha ridotto significativamente ($P < 0,01$) il volume medio del tumore del 68% rispetto ai tumori di controllo.

- Il trattamento dei tumori MX-1 con MIA-602 ha inoltre ridotto significativamente ($P < 0,01$) il volume medio del tumore del 54% rispetto ai tumori di controllo.

Espressione di GHRH e GHRH-R mRNA da parte di HCC1806 e tumori mammari TNBC umani MX-1.

- Proteina e mRNA per GHRH e GHRH-R sono stati trovati in entrambe le linee cellulari TNBC umane HCC1806 e MX-1.

- L'espressione dei geni GHRH e GHRH-R da parte dei tumori TNBC umani HCC1806 è stata significativamente ($P < 0,05$) soppressa dal trattamento con MIA-602.

- L'espressione dei geni GHRH e GHRH-R da parte dei tumori TNBC umani MX-1 è stata anche significativamente ($P < 0,05$) soppressa dal trattamento con MIA-602.

Espressione di mRNA per i geni proinfiammatori IFN γ , IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF α da parte di tumori mammari TNBC umani HCC1806 e MX-1.

- Il trattamento con l'antagonista del GHRH, MIA-602, ha soppresso l'espressione dei geni delle citochine proinfiammatorie da parte di entrambi i TNBC umani HCC1806 e MX-1.

Effetto del silenziamento del gene GHRH-R sull'espressione di mRNA GHRH e mRNA GHRH-R da parte delle linee cellulari umane TNBC HCC1806 e MX-1.

I livelli di espressione di mRNA per GHRH e GHRH-R sono stati determinati dopo aver silenziato l'espressione dei geni GHRH-R con siRNA e aver coltivato le cellule per sette giorni.

- L'espressione di mRNA GHRH e mRNA GHRH-R da parte di cellule umane TNBC HCC1806 è stata significativamente ($P < 0,01$) soppressa dal silenziamento dei geni GHRH-R con siRNA. L'analisi indica che il silenziamento dei geni GHRH-R con siRNA è stato efficiente all'82% ($\pm 4\%$).

- L'espressione di mRNA GHRH da parte di cellule umane TNBC MX-1 non è stata significativamente soppressa dal silenziamento di GHRH-R con siRNA. Al contrario, l'espressione di mRNA GHRH-R da parte di cellule umane TNBC MX-1 è stata significativamente ($P < 0,01$)

soppressa. L'analisi indica che il silenziamento dei geni GHRH-R nelle cellule TNBC umane MX-1 è stato efficiente all'83% ($\pm 2\%$).

Effetto del silenziamento del gene GHRH-R sull'espressione genica delle citochine proinfiammatorie da parte delle linee cellulari TNBC umane HCC1806 e MX-1.

- Il silenziamento dei geni GHRH-R con siRNA ha soppresso l'espressione dell'mRNA delle citochine proinfiammatorie da parte delle cellule di TNBC umane HCC1806 e MX-1.

Discussione

Sono state ora accumulate molte informazioni riguardanti il ruolo del GHRH, dei recettori del GHRH e delle varianti di splicing del recettore (SV) nella carcinogenesi. La proliferazione di alcuni tumori umani in vitro è stimolata dal GHRH esogeno e soppressa dagli antagonisti del GHRH o dagli antisieri del GHRH. [44] Studi suggeriscono che la disregolazione dell'espressione del GHRH o della secrezione autocrina/paracrina contribuisce alla patogenesi del cancro al seno e di altri tumori. [45] Studi in vivo hanno dimostrato l'attività antitumorale degli antagonisti del GHRH contro molteplici tipi di cancro. Studi sugli antagonisti del GHRH sui tumori della prostata e del polmone hanno dimostrato la loro capacità di modulare le vie di segnalazione coinvolte nella proliferazione cellulare, nella sopravvivenza, nelle metastasi e nell'apoptosi. Tra i percorsi interessati c'è il percorso PI3K-AKT che regola l'espressione delle citochine infiammatorie e l'inizio dell'EMT. [37, 38]

Diversi rapporti hanno descritto in dettaglio gli effetti del trattamento con antagonisti del GHRH sulla crescita dei tumori al seno. [16, 28, 46, 47] Tuttavia, il ruolo del GHRH nella regolazione dell'espressione delle citochine infiammatorie nel tumore al seno triplo negativo non è stato completamente studiato. Questo studio illustra i benefici dell'uso degli antagonisti del GHRH per il trattamento dei tumori che sono altamente resistenti al trattamento.

L'infiammazione è un processo di regolazione chiave nella progressione e nella gravità del tumore al seno. Le citochine infiammatorie sono raramente o minimamente espresse negli epitelii mammari normali, ma sono significativamente elevate in diversi sottotipi di tumore al seno. [48] Inoltre, la recidiva e la metastasi sono associate ad un'espressione significativamente aumentata e prolungata di TNF α , IL-1 e IL-6, indicando ruoli correlati alla progressione per queste citochine. [8, 48] Altri studi hanno dimostrato che l'esposizione prolungata delle cellule tumorali al seno alle citochine infiammatorie porta a EMT, che è il meccanismo principale associato alla generazione di cellule staminali cancerose, allo sviluppo di resistenza al trattamento e all'inizio e alla progressione delle metastasi. [7, 8, 11, 12]

Numerosi studi hanno stabilito con certezza il ruolo regolatore delle citochine infiammatorie nel cancro. [2, 4-8, 11, 48] Abbiamo recentemente segnalato la riduzione delle dimensioni della prostata e la soppressione delle citochine infiammatorie da parte degli antagonisti del GHRH in un modello sperimentale di roditori BPH. [42] Questo studio integra il nostro lavoro precedente dimostrando effetti simili sull'espressione genica delle citochine in vivo nel TNBC umano HCC1806 e MX-1. L'analisi dei livelli di mRNA dei geni espressi dai tumori trattati con MIA-602 indica un'espressione soppressa delle citochine infiammatorie tumorali.

Questi risultati suggeriscono che gli antagonisti del GHRH possono essere utilizzati per inibire la generazione di cellule staminali tumorali, la resistenza al trattamento e il potenziale metastatico sopprimendo l'espressione dei geni delle citochine infiammatorie. Date queste conclusioni, gli antagonisti del GHRH possono fornire un trattamento efficace per i pazienti affetti da tumori difficili da trattare o resistenti al trattamento come il TNBC.