

Titolo: Stimolazione autocrina della proliferazione di cellule di carcinoma mammario umano dell'ormone umano della crescita - Autocrine Stimulation of Human Mammary Carcinoma Cell Proliferation by Human Growth Hormone

Codice: GH004

Autore Kaulsay et al.

Data: 1999

Rivista: Experimental Cell Research 250, 35–50

Argomento: ormone della crescita

Accesso libero: no

DOI: doi.org/10.1006/excr.1999.4492

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014482799944920?via%3Dihub>

Parole chiave: GH endocrino, autocrino/paracrino, proliferazione cellulare, attivazione trascrizione, IGF-1, prolattina, recettori

Tumore: carcinoma mammario

Traduzione: tradotte solo la sezione "introduzione" e "discussione", e quest'ultima in modo semplificato

**Punti di interesse:** in questo lavoro hanno studiato in vitro due linee cellulari del carcinoma mammario modificate geneticamente per produrre il GH. Una linea cellulare può produrre il GH, la seconda linea, sebbene abbia il gene e lo possa trascrivere (producendo mRNA), non può tradurre l'RNA messaggero nella proteina corrispondente, e quindi non può produrre il GH. E' stato dimostrato che in queste linee cellulari di carcinoma mammario, la produzione autocrina del GH stimola la mitogenesi e quindi la proliferazione cellulare e attiva la trascrizione, quindi la sintesi delle proteine. Inoltre queste cellule sono state anche sottoposte a estradiolo e a IGF 1 ed è stata osservato 1) per quanto riguarda l'estradiolo, entrambe le linee cellulari hanno risposto in modo positivo e in egual modo alla stimolazione; 2) quando stimolate invece con IGF1 le due linee cellulari hanno risposto aumentando la proliferazione ma nella linea cellulare che produce il GH, questo aumento proliferativo è stato molto maggiore, suggerendo quindi che il GH autocrino possa aumentare la risposta cellulare al IGF1. Antagonisti del recettore del GH (molecole che possono legarsi al recettore in modo stabile, impedendo quindi il legame ligando/recettore, il ligando in questo caso è il GH), hanno bloccato gli effetti evidenziati (proliferazione cellulare e attivazione della trascrizione).

#### Riassunto

**Qui abbiamo studiato il ruolo della produzione autocrina dell'ormone della crescita umano (hGH) nella proliferazione delle cellule di carcinoma mammario (MCF-7) in vitro. Le cellule MCF-7 sono state trasfettate stabilmente con un plasmide che codifica per il gene hGH, e queste cellule (designate MCF-hGH) hanno sintetizzato hGH nella cellula, poi secreto nel mezzo di cultura. A scopo di controllo, è stata generata una linea cellulare MCF (MCF-MUT) in cui il codone iniziale del gene hGH è stato disabilitato e queste cellule hanno trascritto il gene hGH senza traduzione nella proteina hGH. Il numero di cellule MCF-hGH è aumentato**

**a una velocità significativamente maggiore di quella di MCF-MUT in condizioni di assenza di siero. L'hGH autocrino ha anche sinergizzato con il 10% di siero e fattore di crescita insulino-simile-1 ma non con 17- $\beta$ -estradiolo per aumentare il numero di cellule. L'aumentata proliferazione delle cellule MCF-hGH sia nei terreni privi di siero che in quelli contenenti siero potrebbe essere completamente abrogata mediante l'uso dell'antagonista del GH non dimerizzante il recettore, hGH-G120R. L'aumento della mitogenesi come conseguenza della produzione autocrina di hGH è stato prevenuto mediante l'inibizione delle vie MAPK p38 o MAPK p42 / 44. Le cellule MCF-hGH possedevano anche un livello più alto di attivazione trascrizionale mediata da STAT5 (ma non STAT 1 e 3) in condizioni sia prive di siero che contenenti siero rispetto alle cellule MCF-MUT. Quindi concludiamo che hGH può agire in modo autocrino / paracrino nelle cellule di carcinoma mammario umano per promuovere la proliferazione cellulare e l'attivazione trascrizionale.**

#### Introduzione

Il ruolo degli ormoni mammotrofici nella ghiandola mammaria normale è stato ampiamente studiato. La prolattina (PRL) controlla strettamente le funzioni della normale ghiandola mammaria [1], mentre il GH esercita un'azione diretta sullo sviluppo e sulla differenziazione della ghiandola mammaria dei roditori in vivo [2] e in vitro [3]. Di conseguenza, l'mRNA e la proteina del recettore GH (GHR) sono stati rilevati nei componenti epiteliali mammari nei roditori [4-6], nelle mucche [7] e nell'uomo [8-10] ed è stato dimostrato che l'espressione del gene PRLR (recettore per la prolattina) è espressa nella ghiandola mammaria [10-12] e localizzata nelle cellule epiteliali [10-12].

A causa della loro azione proliferativa, i livelli circolanti di ormoni mammotrofici (in particolare PRL) erano collegati alla carcinogenesi della ghiandola mammaria nei ratti e nei topi [13, 14]. Infatti, le osservazioni in vitro supportano un ruolo stimolante per PRL nelle cellule sia stromali che epiteliali, portando alla produzione / secrezione di fattori di crescita che creano un ambiente mitogenico promuovendo la proliferazione cellulare disregolata [14]. Alcuni degli effetti del GH sono mediati dalla produzione di IGF-I. L'elevata espressione di IGF-I, e del suo recettore nel carcinoma della ghiandola mammaria sono legato alla proliferazione cellulare, e alla formazione del tumore [15, 16].

È stato proposto che il GH migliora la proliferazione cellulare agendo su cellule staminali duttulari sensibili, rendendole bersagli degli effetti proliferativi IGF-I, con conseguente propagazione di errori genetici [14]. In ogni caso, l'ormone della crescita umano (hGH) è sia somatogeno che lattogenico e può quindi utilizzare il recettore hGH o hPRL per esercitare i suoi effetti cellulari [17].

GH e PRL possono anche facilitare la proliferazione cellulare tramite meccanismi paracrini e / o autocrini. La PRL è sintetizzata dalle cellule epiteliali della ghiandola mammaria sana [18, 19] e dai tumori mammari [20-24]. È stato anche dimostrato che il PRL prodotto nelle linee cellulari di tumore mammario del ratto e dell'uomo agisce come un fattore stimolante la crescita locale attraverso il suo recettore [22, 23]. Il gene GH è espresso anche nella ghiandola mammaria normale e tumorale di cane e gatto [25] e può promuovere la carcinogenesi mammaria anche attraverso il progesterone [26]. Nella mammella umana, l'mRNA dell'hGH identico all'hGH ipofisario è espresso anche dal tessuto non tumorale e dal tessuto tumorale benigno e maligno [27].

In questo lavoro abbiamo studiato il ruolo della produzione autocrina di hGH sulla proliferazione e sull'attivazione trascrizionale di cellule di carcinoma mammario umano in vitro.

Dimostriamo che la produzione autocrina di hGH si traduce nell'iperproliferazione delle cellule di carcinoma mammario e nel potenziamento dell'attivazione trascrizionale. Pertanto, la produzione locale di hGH nella ghiandola mammaria può partecipare alla progressione neoplastica per produrre il carcinoma mammario.

#### DISCUSSIONE

Abbiamo utilizzato una linea cellulare di carcinoma mammario che risponde al GH per studiare il ruolo della produzione di GH autocrino / paracrino nella funzione cellulare. Per questo abbiamo introdotto il gene hGH mediante trasfezione nella linea cellulare MCF-7, che normalmente non produce hGH ma può rispondere a hGH esogeno, aumentando la proliferazione cellulare e la trascrizione. Abbiamo anche generato una linea cellulare di controllo che trascrive il gene hGH ma non traduce l'mRNA in proteina. Pertanto, le due linee cellulari trasfettate stabilmente sono identiche in tutti gli aspetti eccetto per la produzione di hGH. La concentrazione di hGH secreta nel terreno dalle cellule MCF-hGH nelle condizioni sperimentali descritte è nel range di 100 pM, molto al di sotto dei 100 nM di hGH esogeno usato per ottenere la massima risposta biologica. Pertanto, in termini molari, l'hGH autocrino è uno stimolante più potente dell'hGH prodotto a livello endocrino (dall'ipofisi). Sembra quindi che hGH autocrino / paracrino possa essere preferenzialmente coinvolto nella progressione neoplastica della ghiandola mammaria rispetto all'hGH endocrino poiché sono necessarie concentrazioni relativamente elevate di hGH endocrino per produrre una risposta mitogenica. Una possibile spiegazione di ciò è che l'hGH prodotto per via autocrina viene somministrato più vicino e a concentrazioni di microambiente più elevate rispetto a quello "endocrino", di derivazione esterna che è distribuito in tutto il mezzo. Inoltre, l'hGH autocrino viene prodotto in quantità basse ma continuate nel tempo, rispetto all'hGH ipofisario, dove viene erogato come un singolo bolo. Un'altra possibilità è che l'hGH prodotto in modo autocrino possa interagire a livello intracellulare con il suo recettore direttamente dopo la sintesi.

In un recente lavoro abbiamo localizzato e quantificato l'espressione cellulare dei recettori GH e PRL in una serie di disturbi del seno femminile umano. I recettori GH e PRL erano presenti su tutti i campioni patologici esaminati (fibroadenoma, papilloma, adenosi, epiteliosi, carcinoma intra-duttale e carcinoma duttale, lobulare o midollare invasivo) [10]. Sorprendentemente, sebbene esistessero ampie variazioni inter-individuali, non c'erano differenze significative nell'espressione cellulare del recettore GH o PRL osservate tra le diverse malattie. Pertanto, qualsiasi effetto dell'hGH sul carcinoma mammario non è mediato da un aumento dell'espressione del recettore e, quindi, da una maggiore reattività ormonale della cellula. Noi abbiamo qui dimostrato che un aumento della produzione locale di ligando può infatti produrre uno stato di iperproliferazione e una maggiore attivazione trascrizionale.

A sostegno degli effetti proliferativi di hGH nella ghiandola mammaria umana è stato riportato che l'iniezione intramuscolare di hGH ricombinante 2 giorni prima della chemioterapia in pazienti con carcinoma mammario avanzato ha indotto un duplice aumento dell'attività proliferativa delle cellule tumorali [46]. Inoltre, Ng et al. hanno recentemente dimostrato che la somministrazione sistemica di hGH o hIGF-1 in scimmie Rhesus femmine anziane aumenta l'indice di proliferazione epiteliale della ghiandola mammaria [47]. Pertanto, è evidente che sia il hGH autocrino che endocrino agiscono come agenti proliferativi per la ghiandola mammaria.

La nostra ricerca ha anche esaminato la risposta delle due linee cellulari MCF-MUT e MCF-hGH a due principali ormoni mitogeni per la ghiandola mammaria, vale a dire, l'estradiolo e il fattore di crescita insulino simile IGF -1 [39, 40]. È interessante notare che sia le cellule MCF-MUT che MCF-hGH hanno avuto la stessa risposta all' estradiolo, indicando che le vie mitogeniche per l'estradiolo e quelle per l'hGH non interagiscono.

D'altra parte, IGF-1 ha stimolato la proliferazione sia di MCF-MUT che di MCF-hGH, ma la proliferazione della linea MCF-hGH era maggiore di quella osservata per MCF-MUT, suggerendo che la produzione di hGH autocrino può migliorare la risposta delle cellule a IGF-1. A ulteriore supporto dell'interazione tra hGH e hIGF-1 qui descritta, Ng et al. [47] hanno recentemente riportato che la somministrazione sistemica di hGH e hIGF-1 aumenta contemporaneamente la proliferazione delle cellule epiteliali mammarie nelle scimmie Rhesus più di qualsiasi ormone somministrato da solo. Noi e altri abbiamo già dimostrato che hGH stimola percorsi di trasduzione del segnale che mediano la mitogenesi e / o la trasformazione cellulare in risposta a vari stimoli cellulari [32].

Attraverso l'uso di antagonisti del recettore del GH, abbiamo infine dimostrato che l'inibizione delle vie di trasduzione del segnale prevengono la proliferazione cellulare stimolata da hGH autocrino / paracrino. Pertanto, la produzione autocrina di hGH da parte delle cellule di carcinoma mammario produce uno stato iperproliferativo che può contribuire negativamente alla prognosi clinica finale. La generazione di una linea cellulare di carcinoma mammario secernente hGH autocrino fornisce anche uno strumento utile per ulteriori studi sul ruolo dell'hGH autocrino nella funzione delle cellule mammarie. Tali ulteriori studi possono includere lo screening e l'identificazione di geni con regolazione alterata come conseguenza della produzione autocrina di hGH.