

Titolo: La melatonina inibisce le metastasi polmonari del cancro gastrico in vivo - Melatonin inhibits lung metastasis of gastric cancer in vivo

Codice: MLT004

Autore: Wang et al

Data: 2019

Rivista: Biomedicine & Pharmacotherapy 117, 109018

Argomento: Melatonina

Accesso libero: si

DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109018

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332219303348>

Parole chiave: metastasi, interleuchina 1 β , melatonina, metalloproteinasi della matrice, transizione epitelio mesenchimale EMT, fattori di trascrizione

Tumore: adenocarcinoma gastrico

Traduzione: tradotte solo alcune sezioni (riassunto, introduzione, discussione e conclusioni) con alcune minime semplificazioni

Punti di interesse: La melatonina esercita la sua attività antitumorale inibendo la proliferazione, la formazione di cloni, la migrazione e l'invasione e induce l'apoptosi. Inoltre, la melatonina ha aumentato significativamente l'effetto antitumorale di trattamenti chemioterapici e ha mostrato una bassa tossicità sistemica. Precedenti studi degli stessi autori sull'adenocarcinoma gastrico in vitro hanno dimostrato che la melatonina inibiva il processo di transizione epitelio-mesenchimale (EMT) indotto da interleuchina 1 β (IL-1 β) e riduceva l'invasione e la migrazione delle cellule tumorali. I risultati del presente lavoro in vivo indicano che IL-1 β ha stimolato la formazione di noduli metastatici polmonari da parte delle cellule dell'adenocarcinoma gastrico (GA). Il trattamento con melatonina ha inibito in modo significativo il processo di formazione di noduli metastatici indotto da IL-1 β . Inoltre alla differenza nell'invasione polmonare nei due casi da parte delle cellule dell'adenocarcinoma gastrico corrispondeva ai cambiamenti nell'espressione dei fattori correlati alla transizione epitelio-mesenchimale. I livelli di β -catenina ed E-caderina (proteine di adesione espresse nelle cellule epiteliali) nei noduli metastatici polmonari sono diminuiti e quelli di fibronectina, vimentina e proteina SNAIL (proteine pro-migratorie espresse nelle cellule mesenchimali) sono aumentati dal IL-1 β (indicando quindi EMT), ma questi effetti sono stati attenuati dalla melatonina.

La melatonina ha anche inibito l'iperattivazione indotta da IL-1 β delle metalloproteinasi della matrice MMP-2 e MMP-9 (enzimi proteolitici coinvolti nella degradazione della membrana basale e della matrice extracellulare, e quindi ne). Inoltre la somministrazione di melatonina potrebbe inibire anche la sovraespressione del fattore di trascrizione del DNA NF- κ B indotta da IL-1 β , indicando una diminuzione della sua attività funzionale. Presi insieme, questi risultati hanno suggerito che la melatonina inibisce le metastasi polmonari del carcinoma gastrico, metastasi indotte da interleuchina 1 β regolando i geni correlati alla transizione epitelio-mesenchimale e prevenendo l'attivazione di metalloproteinasi e fattori di trascrizione.

Riassunto

Scopo

La melatonina mostra benefici terapeutici nel cancro gastrico, ma il meccanismo alla base dei suoi effetti antitumorali rimane sfuggente. Lo scopo di questo studio era determinare se la melatonina inibisce le metastasi polmonari nel cancro gastrico.

Metodi principali

Un modello di metastasi polmonare del cancro gastrico è stato stabilito in topi nudi iniettati con cellule di adenocarcinoma gastrico umano MGC80-3. I topi sono stati suddivisi in gruppi di controllo, trattati con interleuchina 1 β (IL-1 β), trattati con melatonina e trattati con IL-1 β più melatonina e analizzati per la formazione di noduli metastatici polmonari mediante citometria a flusso e colorazione con ematosilina ed eosina. L'espressione dell'mRNA dei marcatori di transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) è stata valutata mediante RT-qPCR. Le attività delle metalloproteinasi di matrice (MMP) -2 e MMP-9 sono state determinate mediante zimografia della gelatina e la loro espressione proteica mediante western blotting e immunistochemica. I livelli di NF- κ B p65 e NF- κ B p65 fosforilato ((p) -p65) sono stati rilevati mediante immunistochemica.

Risultati chiave

Il numero di metastasi polmonari nel gruppo IL-1 β più melatonina era significativamente inferiore e le dimensioni dei noduli erano inferiori a quelle del gruppo IL-1 β . Inoltre, la melatonina ha invertito i cambiamenti nell'espressione dei marcatori EMT indotti da IL-1 β aumentando i livelli di mRNA di β -catenina ed E-caderina e diminuendo quelli di fibronectina, vimentina e proteina snail rispetto a IL-1 β . Il trattamento con IL-1 β ha sovraregolato l'espressione e le attività di MMP-2 e MMP-9 e l'espressione di NF- κ B p65 e fosfo-p65 (p-p65), ma la melatonina ha alleviato questi effetti.

Significato

La melatonina ha inibito le metastasi polmonari indotte da IL-1 β del cancro gastrico attraverso la sottoregolazione dell'espressione e delle attività di MMP-2, MMP-9 e NF- κ B p65. Questi risultati forniscono una base per un potenziale utilizzo della melatonina come terapia supplementare per i pazienti con carcinoma gastrico avanzato.

Introduzione

Il cancro gastrico (GC) è il quarto tumore maligno più comune al mondo con il secondo più alto tasso di mortalità tra tutti i tumori [1]. Sebbene l'incidenza e la mortalità del GC siano state significativamente ridotte negli ultimi anni a causa del crescente utilizzo della gastroscopia, il suo tasso di sopravvivenza a 5 anni rimane scarso perché il GC viene spesso diagnosticato quando è già in uno stadio avanzato [2]. La chirurgia è il trattamento più efficace per i tumori GC primari, ma i tumori avanzati sono soggetti a invasione e metastasi, il che complica l'intervento chirurgico e ne riduce l'efficacia. La metastasi tumorale è un processo dinamico in più fasi che si verifica attraverso la transizione epiteliale-mesenchimale (EMT), che è considerata un importante meccanismo che innesca l'invasione e la migrazione del tumore [3]. L'evidenza sperimentale indica che lo sviluppo, l'invasione e la metastasi del GC sono associati all'attivazione dei fattori di trascrizione correlati all'EMT e delle vie di segnalazione [[4], [5], [6]]; pertanto, l'inibizione dell'EMT può essere una strategia per prevenire l'invasione del tumore e le metastasi in GC. Sebbene i pazienti con GC con tumori avanzati possano essere trattati con radioterapia e / o chemioterapia adiuvante, la prognosi rimane insoddisfacente poiché queste terapie hanno gravi effetti collaterali e il loro successo varia a causa delle differenze individuali [7]. Pertanto, è necessario sviluppare modalità di trattamento complete per GC avanzato per aumentare il tasso di sopravvivenza.

La melatonina, un ormone prodotto dalla ghiandola pineale, ha effetti pleiotropici e può regolare diversi processi biologici. Un numero crescente di prove indica che la melatonina non ha solo funzioni ormonali, ma protegge anche le cellule dallo stress ossidativo e dagli xenobiotici [8] regolando la risposta antiossidante, l'emopoiesi e la reattività immunitaria [9,10]. Inoltre, diversi studi hanno riportato che la melatonina esercita significativi effetti antitumorali in diversi tipi di

cancro [[11], [12], [13]]. Pertanto, è stato dimostrato che la melatonina riduce il potenziale metastatico delle cellule di cancro al seno in coltura regolando l'espressione dei marcatori EMT, riducendo così la vitalità cellulare e l'invasività [14]. La melatonina ha anche mostrato proprietà anti-angiogeniche sottoregolando l'espressione dei fattori correlati all'angiogenesi HIF-1 α , HIF-2 α e VEGF nelle cellule di cancro alla prostata sotto ipossia [15] e ha dimostrato di diminuire la proliferazione delle cellule di cancro alla prostata inattivando il fattore di trascrizione nucleare NF- κ B [16]. Inoltre, è stato scoperto che la melatonina riduce le dimensioni e il peso del tumore e inibisce la proliferazione cellulare e l'angiogenesi in un modello murino di GC [17]. L'analisi retrospettiva ha indicato che i livelli sierici di melatonina nelle donne con carcinoma ovarico erano significativamente inferiori rispetto ai gruppi di controllo ($p < 0,05$), suggerendo che la riduzione delle concentrazioni di melatonina circolante potrebbe contribuire alla patogenesi del cancro ovarico [18]. Un nostro studio in vitro ha indicato che la melatonina potrebbe sopprimere in modo significativo l'EMT indotto da IL-1 β e ridurre l'invasione e il potenziale metastatico delle linee cellulari di GC possibilmente inibendo le attività del fattore di trascrizione NF-KB e delle metalloproteinasi della matrice MMP-2 e MMP-9 [19]. Lo scopo di questo studio era di chiarire ulteriormente gli effetti della melatonina sull'invasione delle cellule GC e sulle metastasi nel polmone in vivo e determinare i meccanismi di segnalazione sottostanti, che non sono stati precedentemente studiati.

Discussione

La GC è la più comune neoplasia gastrointestinale originata dall'epitelio e che rappresenta una grave minaccia per la salute umana. La maggior parte dei pazienti con GC riceve una diagnosi in una fase avanzata; quindi, nonostante il trattamento combinato, comprendente chirurgia, chemioterapia, radioterapia e mirata terapia, la loro sopravvivenza a 5 anni rimane scarsa, il che è in gran parte dovuto allo sviluppo di metastasi [2]. La metastasi non è solo un segno di deterioramento della malattia, ma anche una delle principali cause di fallimento del trattamento e morte [27]. Di conseguenza, agenti terapeutici efficaci mirati alle metastasi GC possono migliorare in modo significativo l'esito e la qualità della vita del paziente. L'EMT è un processo complesso di riprogrammazione delle cellule epiteliali, che svolge un ruolo essenziale nelle metastasi tumorali in diversi tumori, specialmente in GC [28]. Durante l'EMT, le cellule perdono le loro caratteristiche epiteliali, comprese le proteine di adesione cellula-cellula come E-caderina e β -catenina e acquisiscono caratteristiche mesenchimali, inclusa l'espressione di proteine citoscheletriche pro-migratorie come vimentina e fibronectina [29].

La melatonina può esercitare la sua attività antitumorale inibendo la proliferazione e metastasi delle cellule tumorali attraverso la stimolazione dell'immunità antitumorale e l'induzione dell'apoptosi delle cellule tumorali [[30], [31], [32], [33], [34]]. È stato rivelato che la melatonina era in grado di ridurre la proliferazione, la formazione di cloni, la migrazione e l'invasione e indurre l'apoptosi [35]. Inoltre, la melatonina ha aumentato significativamente l'effetto antitumorale del cisplatino e ha mostrato una bassa tossicità sistemica [35]. Negli studi clinici sul cancro, la melatonina è stata utilizzata principalmente con altri farmaci chemioterapici come adiuvante. Pertanto, Lissoni et al. [36] hanno valutato l'effetto di una somministrazione concomitante di melatonina (20 mg / die per via orale) in pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule metastatico che ricevevano un regime chemioterapico costituito da cisplatino ed etoposide. Nel loro studio, i pazienti trattati con melatonina avevano tassi significativamente più alti di regressione complessiva del tumore e sopravvivenza a 5 anni e una migliore tolleranza alla chemioterapia. Allo stesso modo, la co-somministrazione di melatonina con irinotecan ha determinato una percentuale maggiore di controllo della malattia nei pazienti con cancro coloretale metastatico rispetto al solo irinotecan, come indicato dall'aumento del numero di pazienti con risposta parziale e malattia stabile [37]. In uno studio precedente, abbiamo scoperto che la melatonina inibiva il processo EMT indotto da interleuchina 1 β (IL-1 β) e riduceva l'invasione e la migrazione delle cellule tumorali in vitro [19]. Per chiarire ulteriormente la relazione tra gli effetti di IL-1 β e melatonina sui processi metastatici in GC in vivo, in questo studio abbiamo utilizzato un modello animale per determinare se la

melatonina potesse ridurre le metastasi GC al polmone indotte da IL-1 β e per definire la meccanismo di segnalazione sottostante.

I nostri risultati indicano che IL-1 β ha stimolato la formazione di noduli metastatici polmonari da parte delle cellule dell'adenocarcinoma gastrico (GA) nei polmoni di topi nudi, come evidenziato dall'aumento del numero e delle dimensioni dei noduli rispetto al gruppo di controllo. Tuttavia, il trattamento con melatonina ha inibito in modo significativo il processo di formazione di noduli metastatici indotto da IL-1 β . La differenza nell'invasione polmonare da parte delle cellule dell'adenocarcinoma gastrico corrispondeva ai cambiamenti nell'espressione dei fattori correlati all'EMT. Pertanto, i livelli di β -catenina ed E-caderina nei noduli metastatici polmonari sono diminuiti e quelli di fibronectina, vimentina e proteina SNAIL sono aumentati dal IL-1 β , ma questi effetti sono stati attenuati dalla melatonina.

Le metalloproteinasi della matrice sono endopeptidasi zinco-dipendenti, che svolgono un ruolo significativo nella degradazione della membrana basale e della matrice extracellulare. MMP-2 e MMP-9 sono membri importanti della famiglia MMP coinvolti nello sviluppo e nella progressione del cancro, specialmente nell'invasione del tumore e nelle metastasi [25]. Pertanto, abbiamo analizzato le attività proteolitiche di MMP-2 e MMP-9 nel siero di topo e la loro espressione nei noduli metastatici polmonari. I nostri risultati hanno mostrato che le attività e l'espressione di MMP-2 e MMP-9 sono aumentate in seguito al trattamento con IL-1 β , ma la melatonina ha inibito l'iperattivazione indotta da IL-1 β di MMP-2 e MMP-9 durante la metastasi delle cellule del adenocarcinoma gastrico, il che è coerente con i nostri precedenti risultati in vitro.

È stato dimostrato che le cellule tumorali con il fattore di trascrizione nucleare NF- κ B costitutivamente attivo sono altamente metastatiche e che la riduzione dell'attività di NF- κ B in queste cellule riduce significativamente la loro invasività [38]. In questo studio, l'analisi immunohistochimica (IHC) ha indicato che il trattamento con IL-1 β ha aumentato i livelli di NF- κ B nei noduli metastatici polmonari di topo, ma la somministrazione di melatonina potrebbe inibire la sovraregolazione di NF- κ B indotta da IL-1 β , indicando una diminuzione della sua attività funzionale.

Conclusioni

Presi insieme, questi risultati hanno suggerito che la melatonina inibisce le metastasi polmonari indotte da IL-1 β di GC regolando i geni correlati all'EMT e prevenendo l'attivazione di MMP-2, MMP-9 e NF- κ B. I nostri risultati forniscono una base per l'applicazione della melatonina da sola o in combinazione con altri metodi terapeutici per ridurre le metastasi nei pazienti con GC avanzato.