

Titolo: La melatonina sopprime la transizione da epitelio a mesenchimale nella linea cellulare MG-63 - Melatonin suppresses epithelial to mesenchymal transition in the MG-63 cell line

Codice: MLT005

Autore: Chen et al.

Data: 2020

Rivista: Molecular Medicine Reports 21: 1356-1364

Argomento: Melatonina

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10902>

URL: <https://www.spandidos-publications.com/mmr/21/3/1356>

Parole chiave: melatonina, EMT, metastasi, metalloproteasi, fattori di trascrizione, angiogenesi

Tumore: osteosarcoma

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

Punti di interesse: La melatonina esercita la sua attività antitumorale attraverso vari processi biologici tra cui chemiosensibilità, riduzione della resistenza ai farmaci ed effetti antiproliferativi nei tumori ovarico, mammario, prostatico, orale, gastrico e del colon-retto (8-10). La transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) porta a cambiamenti citologici per cui le cellule tumorali diventano più invasive durante le metastasi e la progressione. Precedenti studi hanno confermato che la transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) è una fase chiave nella transdifferenziazione delle cellule epiteliali e svolge un ruolo centrale nella progressione della malattia, nella guarigione delle ferite, nella fibrosi e nel cancro (19,20). Si ritiene generalmente che il fenomeno EMT si verifichi solo nelle cellule di derivazione epiteliale. Tuttavia, studi recenti hanno dimostrato che alcune cellule mesenchimali possono anche alterare le proteine correlate all'EMT e favorire il processo di metastasi. L'osteosarcoma (OA) è il più comune tumore osseo maligno di origine mesenchimale. In una linea cellulare di questo tumore, è stato evidenziato che le cellule regolano l'espressione delle proteine correlate all'EMT e promuovono l'invasione e le metastasi, il che ha suggerito che l'EMT non è solo il passaggio chiave nelle cellule tumorali derivate dall'epitelio, ma anche nell'osteosarcoma derivato dalle cellule mesenchimali.

In questo studio eseguito in vitro sono state usate linee cellulari dell'osteosarcoma umano. In queste cellule è stata indotta la EMT trattandole con il fattore di crescita trasformante di tipo beta (TGF- β 1) ed è stato investigato il ruolo della melatonina nell'inibizione dell'EMT promossa da TGF- β 1 nell'osteosarcoma. Sono stati studiate le seguenti molecole proteiche: SNAIL, metalloproteinasi MMP-9, la subunità alfa del fattore inducibile dall'ipossia (HIF-1 α).

Con il termine SNAIL si indica una famiglia di fattori di trascrizione che promuovono la repressione della molecola di adesione E-caderina per regolare la transizione da epiteliale - mesenchimale (EMT). L'espressione di questi fattori SNAIL quindi promuove la EMT.

Le metalloproteasi (o metalloproteinasi) della matrice costituiscono una famiglia di enzimi proteolitici, ovvero degradanti le proteine e sono coinvolti nella distruzione delle membrane basali e

della matrice extracellulare. Quindi anche la loro attivazione induce invasione e migrazione di cellule. Il fattore inducibile dall'ipossia, costituito da due subunità alfa e beta, aumenta in caso di ipossia dei tessuti e induce la produzione del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF), stimolando l'angiogenesi.

In questo studio è stato trovato che la melatonina inibisce l'espressione dei fattori SNAIL e le metalloproteasi indotte da TGF- β 1 nelle cellule di osteosarcoma, quindi inibisce i fattori che promuovono la EMT e i fattori che promuovono la migrazione cellulare.

Inoltre il presente studio dimostra anche che la melatonina sopprime la vitalità e l'angiogenesi delle cellule tumorali attraverso la sottoregolazione del fattore inducibile dall'ipossia 1 α (HIF-1 α), inibendo così anche il fattore di crescita dell'endotelio vascolare e l'angiogenesi.

Anche nell'osteosarcoma, questo studio in vitro, dimostra che la melatonina ha un effetto negativo sulla EMT, la migrazione delle cellule tumorali, e l'angiogenesi.

Riassunto

La transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) è un importante processo coinvolto nella progressione del tumore e nelle metastasi. La melatonina è secreta dalla ghiandola pineale ed è stata documentata come potenziale agente terapeutico per più tumori. Tuttavia, gli effetti della melatonina sull'EMT durante lo sviluppo dell'osteosarcoma (OA) rimangono indefiniti. Il presente studio ha esplorato le funzioni biologiche e gli effetti della melatonina sull'EMT indotti dalla trasformazione del fattore di crescita β 1 (TGF- β 1) e dei suoi meccanismi sottostanti nelle cellule MG-63. Utilizzando western blotting e immunofluorescenza, è stato riscontrato che il passaggio nell'espressione di E-caderina / N-caderina e vimentina è stato indotto dal TGF- β 1, che è stato invertito dalla melatonina attraverso la soppressione del fattore di trascrizione SNAIL e della metalloproteinasi 9 della matrice (MMP-9), attraverso l'inibizione del fattore 1 α inducibile dall'ipossia (HIF-1 α). Questi risultati hanno dimostrato che gli effetti antitumorali della melatonina contro le cellule OA MG-63 derivano dalla soppressione dell'EMT tramite la segnalazione HIF-1 α / Snail / MMP-9.

Introduzione

L'osteosarcoma (OA) è un tumore osseo maligno e aggressivo prevalente nei bambini e nei giovani adulti, che rappresenta il 60% di tutti i tumori ossei a livello globale (1). Sebbene il trattamento dell'OA, compreso l'intervento chirurgico e la chemioterapia sistemica, sia progredito, sono frequenti infiltrazioni locali e metastasi a distanza. Per i pazienti privi di diffusione del tumore e metastasi, i tassi di sopravvivenza a cinque anni sono del 60-80%. Per i pazienti con metastasi tumorali, i tassi di sopravvivenza a cinque anni diminuiscono al 17% (2). Una comprensione più profonda dei meccanismi chiave che promuovono la tumorigenesi dell'OA e interventi terapeutici efficaci contro l'OA sono quindi essenziali.

La melatonina è secreta dalla ghiandola pineale e svolge un ruolo citoprotettivo nella regolazione dello stress ossidativo, dei fattori correlati all'apoptosi e delle vie di segnalazione (3). La melatonina è utile durante il trattamento dell'insonnia, dell'obesità, del diabete di tipo 2 e della fibrosi epatica (4-6) e può inibire i tumori ormono-dipendenti o indipendenti dall'ormone (7). In particolare, è stato riscontrato che la melatonina esercita la sua attività antitumorale attraverso vari processi biologici tra cui chemiosensibilità, ridotta resistenza ai farmaci ed effetti antiproliferativi nei tumori ovarico, mammario, prostatico, orale, gastrico e del colon-retto (8-10). I meccanismi dettagliati alla base di questi effetti e la sua attività antitumorale rimangono scarsamente definiti. La transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) porta a cambiamenti citologici per cui le cellule tumorali diventano più invasive durante le metastasi e la progressione. Secondo Menéndez-Menéndez et al (11), gli effetti antitumorali della melatonina sulla sopravvivenza cellulare, l'invasione e le metastasi delle cellule del cancro al seno si verificano attraverso la regolazione dell'EMT, come dimostrato dall'aumento dei livelli di E-caderina e dalla perdita di vimentina, fattore di trascrizione Snail in cellule staminali tumorali (CSC) (12). La ricerca ha dimostrato che i fattori di trascrizione EMT sono fondamentali

per lo sviluppo dell'OA (13). Qui, abbiamo utilizzato l'EMT indotto da TGF- β 1 nelle cellule OA per confermare il ruolo della melatonina ed esplorare nuovi metodi per il trattamento dell'OA.

Discussione

Precedenti studi hanno confermato che la transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) è una fase chiave nella transdifferenziazione delle cellule epiteliali e svolge un ruolo centrale nella progressione della malattia, nella guarigione delle ferite, nella fibrosi e nel cancro (19,20). Si ritiene generalmente che il fenomeno EMT si verifichi solo nelle cellule di derivazione epiteliale. Tuttavia, studi recenti hanno dimostrato che alcune cellule mesenchimali possono anche alterare le proteine correlate all'EMT e favorire il processo di metastasi (21,22). L'osteosarcoma (OA) è il più comune tumore osseo maligno di origine mesenchimale. In una linea cellulare di OA, è stato evidenziato che le cellule regolano l'espressione delle proteine correlate all'EMT e promuovono l'invasione e le metastasi, il che ha suggerito che l'EMT non è solo il passaggio chiave nelle cellule tumorali derivate dall'epitelio, ma anche nell'OA derivato dalle cellule mesenchimali (23, 24). Pertanto, il targeting EMT rappresenta un obiettivo terapeutico chiave per il trattamento dell'OA (25). Negli ultimi anni, la melatonina è emersa come molecola chiave per la prevenzione e la gestione del cancro per la sua tossicità limitata e per i suoi effetti. I ruoli della melatonina nell'OA, tuttavia, rimangono in gran parte insoliti.

La melatonina isolata dalla pineale bovina ha numerose funzioni fisiologiche tra cui il controllo del ritmo circadiano, i ritmi sonno-veglia, la temperatura corporea, la protezione neuronale e l'attivazione immunitaria (26-28). La melatonina ha un forte potenziale terapeutico per vari tipi di cancro tra cui il cancro alla prostata, al seno e alle ovaie (29,30). Studi recenti hanno dimostrato che il trattamento con melatonina aumenta l'apoptosi nelle cellule di cancro al seno (31). È stato anche riportato che nel cancro della tiroide, la melatonina inibisce la fosforilazione di p65 e il conseguente stress redox (32). La melatonina esercita anche effetti antitumorali regolando indirettamente il sistema immunitario del corpo (33). Sebbene siano stati proposti una serie di meccanismi, pochi studi hanno valutato il ruolo della melatonina sull'EMT. Allo stesso modo, il potenziale antitumorale della melatonina sulle cellule OA non è definito.

Nel presente studio, è stato studiato il ruolo della melatonina nell'inibizione dell'EMT promossa da TGF- β 1 e sono state esplorate le vie di segnalazione coinvolte in questa regolazione. I nostri risultati hanno suggerito che il pretrattamento con melatonina fornisce una protezione efficace contro l'EMT causata da TGF- β 1, come evidenziato dalla sottoregolazione di N-caderina e vimentina e dall'aumentata espressione di E-caderina nelle cellule MG-63. Successivamente sono stati esplorati i meccanismi di questi effetti.

Il fattore di trascrizione SNAIL regola l'EMT e svolge un ruolo cruciale nell'invasione del tumore e nelle metastasi (34,35). Naber et al hanno riferito che TGF- β è pro-invasivo attraverso la sua attivazione di repressori trascrizionali (inclusi Slug e Snail) inducendo così EMT (36). In questo studio, è stato dimostrato che la melatonina inibisce l'espressione dei fattori SNAIL indotta da TGF- β 1 nelle cellule MG-63. La melatonina ha esercitato i suoi effetti inibitori in parte antagonizzando la segnalazione Snail / MMP-9 nelle cellule OA. Inoltre la sovraespressione di Snail ha impedito la soppressione dell'EMT in risposta alla melatonina. Pertanto, il targeting EMT e l'inibizione della segnalazione Snail / MMP-9 rappresenta una strategia promettente per prevenire le metastasi e migliorare la sopravvivenza dei pazienti con OA.

La melatonina sopprime la vitalità e l'angiogenesi delle cellule tumorali attraverso la sottoregolazione del fattore inducibile dall'ipossia 1 α (HIF-1 α), di specie reattive dell'ossigeno (ROS), del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF) nei tumori solidi contenenti abbondanti vasi sanguigni (37). HIF-1 α svolge anche un ruolo importante nei processi EMT e nelle metastasi tumorali (38). I nostri risultati hanno dimostrato che la melatonina inibisce l'espressione di HIF-1 α che è invece stimolata dal TGF- β 1 nelle cellule MG-63 di osteosarcoma.

In sintesi, il presente studio ha dimostrato che la melatonina attenua l'EMT causata da TGF- β 1 nelle cellule MG-63 prevenendo l'attivazione indotta da TGF- β 1 delle vie di segnalazione che attivano il fattore di trascrizione Snail, la metalloproteasi (MMP-9) e la subunità alfa del fattore inducibile dall'ipossia (HIF-1 α). Questi risultati forniscono nuove informazioni sui meccanismi attraverso i quali la melatonina impedisce lo sviluppo e l'invasione dell'OA. Questi risultati forniscono anche prove sperimentali per lo sviluppo di nuove strategie per il trattamento dell'OA.