

Titolo: La prolattina promuove la migrazione delle cellule del cancro al seno attraverso il rimodellamento del citoscheletro di actina - Prolactin Promotes Breast Cancer Cell Migration through Actin Cytoskeleton Remodeling

Codice: PRL007

Autore: da Silva et al.

Data: 2015

Rivista: Frontiers in Endocrinology 6:186

Argomento: prolattina

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00186>

URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2015.00186/full>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2021/09/30/prl007-da-silva-et-al-2015/>

Parole chiave: prolattina, cancro al seno, motilità cellulare, actina, citoscheletro, metastasi, ECM

Tumore: cancro al seno

Traduzione: tradotte le sezioni “Riassunto”, “Introduzione” e “Discussione” dell’articolo, con solo alcune minime semplificazioni

### **Punti di interesse**

In sintesi, in questo lavoro è evidenziato come la motilità delle cellule di linee cellulari di cancro al seno (T47D, ZR75-1 e MCF-7) è promossa dall'esposizione alla prolattina. Ciò porta ad una segnalazione dipendente da PRLR che coinvolge c-Src, moesina e FAK e determina il rimodellamento del citoscheletro di actina, rimodellamento necessario per la motilità cellulare. Queste scoperte evidenziano nuove vie di segnalazione attraverso le quali la PRL può influenzare il comportamento biologico del cancro al seno.

La segnalazione determinata dal legame prolattina con recettore attiva la c-Src, che a sua volta fosforila la moesina attivandola. La moesina attivata depolimerizza e rimodella l'actina verso la membrana plasmatica, formando un complesso di actina corticale verso la superficie della cellula. La formazione di questa piattaforma di actina di membrana è necessaria per sviluppare interazioni transmembrana tra il citoscheletro della cellula e le proteine della matrice extracellulare (EMC). Per ottenere il movimento cellulare sono formati complessi di adesione focale dove si formano ponti tra il complesso di actina corticale e l'ECM. Questo processo è mediato da FAK che favorisce lo sviluppo e il turnover dei complessi di adesione focale. La successiva contrazione del citoscheletro consente il movimento cellulare. Moesina e FAK sono sovraespressi nel carcinoma mammario e il loro livello di espressione è correlato al potenziale metastatico. I livelli plasmatici di PRL sembrano rappresentare un fattore di rischio per le metastasi del cancro al seno. La sovraespressione e l'attivazione funzionale di FAK, moesina e c-SRC nelle cellule del cancro al seno possono in parte spiegare questo risultato epidemiologico. Gli effetti della PRL sulla motilità delle cellule del cancro al seno possano essere innescati dal reclutamento della piccola proteina adattatrice, c-Src, e dal reclutamento di FAK e moesina, Seguono il riarrangiamento dell'actina e il potenziamento di motilità cellulare.

## **Cosa sono le CHINASI e altre chiarimenti di sigle dell'articolo**

In questo articolo si parla molto delle **chinasi**, che sono proteine enzimatiche fondamentali per le funzioni biologiche. In biochimica, una chinasi è un enzima che catalizza il trasferimento di gruppi fosfato da molecole ad alta energia donatrice del gruppo fosfato a substrati specifici. Questo processo è noto come fosforilazione, in cui una molecola di ATP ad alta energia dona un gruppo fosfato alla molecola substrato della fosforilazione.

Una **protein chinasi** è una chinasi che fosforila selettivamente altre proteine, le chinasi modificano lipidi, carboidrati o altre molecole. La fosforilazione di solito provoca un cambiamento funzionale della proteina bersaglio (substrato) modificando l'attività enzimatica, la posizione cellulare o l'associazione con altre proteine etc.

Una **protein tirosin chinasi**, è un enzima fosforilante che trasferisce specificatamente un gruppo fosfato in una posizione precisa, ovvero su residui di tirosina, un amminoacido, nella proteina bersaglio.

Con la sigla **c-Src** si indica una una protein tirosin chinasi non recettoriale codificata dal gene SRC. Una tirosina chinasi non recettoriale è un enzima citosolico (presente dentro la cellula, non sulla membrana cellulare). Svolge un ruolo nella regolazione dello sviluppo embrionale e della crescita cellulare. Si suggerisce che un elevato livello di attività di c-Src sia collegato alla progressione del cancro promuovendo altri segnali. E' una delle 9 proteine che appartengono alla famiglia della **Src chinasi (SFK)**.

**Janus Chinasi JAK2:** è una tirosina chinasi non recettoriale, un enzima che si trova dentro la cellula in grado di trasferire un gruppo fosfato da una molecola ad un'altra. E' cruciale per la trasduzione del segnale di un insieme di citochine e fattori di crescita.

**MAP chinasi o MAPK:** è una proteina chinasi attivata da mitogeni è un tipo di proteina chinasi coinvolta nel dirigere le risposte cellulari a una vasta gamma di stimoli, come i mitogeni, lo stress osmotico, lo shock termico e le citochine proinfiammatorie. Regolano le funzioni cellulari tra cui la proliferazione, l'espressione genica, la differenziazione, la mitosi, la sopravvivenza cellulare e l'apoptosi. Le protein chinasi attivate da mitogeni sono cataliticamente inattive nella loro forma base. Per diventare attive, richiedono eventi di fosforilazione. Mitogeni: piccole proteine che inducono una cellula ad iniziare la divisione cellulare, ovvero la mitosi. La mitogenesi è l'induzione (attivazione) della mitosi, tipicamente attraverso un mitogeno.

**PI3K (fosfoinositide 3-chinasi o fosfatidilinositolo-3-chinasi)** è una famiglia di chinasi coinvolti in complessi meccanismi cellulari come la crescita cellulare, la proliferazione, la differenziazione, la motilità e la sopravvivenza intracellulare; meccanismi questi coinvolti, anche, nello sviluppo del cancro. Le PI3K sono spostano un gruppo fosfato sul fosfatidilinositolo, da qui il nome.

La **chinasi di adesione focale (FAK)**, è la proteina chinasi citosolica coinvolta nell'adesione cellulare e nei processi di diffusione. Si trova concentrata nelle aderenze focali che si formano tra le cellule che si attaccano ai costituenti della matrice extracellulare. L'attività di FAK stimola percorsi di trasduzione del segnale intracellulare che promuovono il turn-over dei contatti cellulari con la matrice extracellulare.

Le **aderenze focali** sono grandi assemblaggi macromolecolari attraverso i quali la forza meccanica e i segnali regolatori vengono trasmessi tra la matrice extracellulare (ECM) e una cellula

interagente. Le aderenze focali fungono da collegamenti meccanici all'ECM e da hub di segnalazione biochimica per concentrare e dirigere numerose proteine di segnalazione nei siti di legame. Sono strutture multiproteiche, grandi complessi proteici dinamici, che formano legami meccanici tra i fasci di actina intracellulare e il substrato extracellulare in molti tipi di cellule. Le aderenze focali sono in uno stato di flusso costante: le proteine si associano e si dissociano continuamente mentre i segnali vengono trasmessi ad altre parti della cellula, in relazione a qualsiasi cosa, dalla motilità cellulare al ciclo cellulare. Possono contenere oltre 100 proteine diverse, il che suggerisce una notevole diversità funzionale. Nelle cellule sessili, le aderenze focali sono abbastanza stabili in condizioni normali. Nelle cellule in movimento la loro stabilità è diminuita perché le aderenze focali vengono costantemente montate e smontate man mano che la cellula stabilisce nuovi contatti al bordo anteriore e si rompe vecchi contatti sul bordo d'uscita della cella. Un esempio del loro ruolo importante è nel sistema immunitario, in cui i globuli bianchi migrano lungo l'endotelio connettivo seguendo segnali cellulari al tessuto biologico danneggiato.

La **famiglia di proteine ERM** è costituita da tre proteine strettamente correlate, ezrina, radixina e moesina. Queste proteine collegano le proteine di membrana con i filamenti di actina nella corteccia cellulare e regolano molti processi cellulari, tra cui la determinazione della forma cellulare, il trasporto di membrana e il segnale trasduzione.

**STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription** - trasduttori del segnale e attivatori della trascrizione) si indica una famiglia di proteine che mediano diversi processi dell'immunità, la proliferazione cellulare, l'apoptosi e la differenziazione cellulare. Sono attivate principalmente tramite fosforilazione, dopo di che sono trasportate verso il nucleo per la trascrizione del DNA e la sintesi delle proteine.

## Traduzione dell'articolo

### Riassunto

**Il ruolo della prolattina sullo sviluppo e la progressione del cancro al seno è dibattuto. La progressione del cancro al seno dipende in gran parte dal movimento cellulare e dalla capacità di rimodellare il citoscheletro di actina. In questo processo, le proteine che legano l'actina devono determinare la depolimerizzazione e il riposizionamento dell'actina fibrillare sulla membrana cellulare. Le chinasi, come la chinasi di adesione focale (FAK), sono successivamente necessarie per formare strutture arricchite di actina/vinculina chiamate complessi di adesione focale, che sono responsabili della ferma adesione alla matrice extracellulare. Questi controllori sono regolati da c-Src, che formano complessi di segnalazione multiproteici con i recettori di membrana e che sono regolato da numerosi ormoni, inclusa la prolattina. In questo lavoro evidenziamo che le cellule del cancro al seno esposte alla prolattina mostrano un'elevata espressione e fosforilazione di c-Src. In parallelo, si riscontra un aumento dell'espressione e della fosforilazione della moesina e FAK. Questi cambiamenti molecolari sono associati al trasferimento sulla membrana plasmatica delle fibre di actina del citoscheletro e all'aumento del movimento orizzontale delle cellule. In conclusione, la prolattina regola il rimodellamento dell'actina e migliora il movimento delle cellule del cancro al seno. Questa scoperta amplia la comprensione delle azioni della prolattina sulle cellule del cancro al seno, evidenziando nuovi percorsi che potrebbero essere rilevanti per la progressione del cancro al seno.**

### Introduzione

Nel recente passato, è stato riconosciuto che la prolattina (PRL) ha azioni più ampie di quanto si

pensasse in precedenza. Sebbene identificato per la prima volta come l'ormone chiave che media la crescita e la differenziazione dell'epitelio mammario e dell'allattamento, la PRL ha recentemente attirato l'attenzione per il suo ruolo nello sviluppo del cancro al seno (1, 2). Gli effetti della PRL sul cancro al seno sono mediati dall'interazione con il suo recettore (PRLR), un membro della superfamiglia dei recettori delle citochine, caratterizzato da una struttura tripartita: un dominio extracellulare legante il ligando, un breve dominio transmembrana e un dominio intracellulare. La segnalazione PRLR è innescata dall'interazione contemporanea della PRL con due recettori: un sito PRL ad alta affinità si lega a un recettore e un sito PRL ad affinità inferiore si lega a un altro recettore, favorendo così la formazione di un complesso ternario composto da PRL e due PRLR (3).

Livelli elevati di PRL sono direttamente collegati al rischio di cancro al seno (4) e alla prognosi peggiore nei pazienti con cancro al seno (5). I roditori transgenici che sovraesprimono PRLR nel seno sviluppano tumori mammari con un'alta frequenza (6). La PRL antagonizza anche la citotossicità da agenti chemioterapici, riducendo così l'efficacia dei trattamenti disponibili (2).

Il recettore della prolattina si trova fino all'80% delle cellule del cancro al seno (7), dove si accoppia a diverse vie di segnalazione, tra cui il trasduttore del segnale Janus Chinase (JAK)-2/, l'attivatore della trascrizione STAT-5, la proteina chinasi attivata dal mitogeno (MAPK) e la fosfatidilinositolo-3-OH-chinasi (PI3K). L'attivazione di queste vie influenza direttamente la proliferazione, la sopravvivenza e la dinamica del citoscheletro, influenzando così l'inizio e la progressione dei tumori mammari (1). Per questi motivi, la PRLR viene attualmente indagata come potenziale bersaglio terapeutico nel cancro al seno (3).

L'attivazione di MAPK e PI3K è un meccanismo consolidato attraverso il quale gli ormoni steroidei sessuali modulano l'architettura del citoscheletro nelle cellule di cancro al seno (8). Il citoscheletro di actina costituisce la spina dorsale della cellula e la sua organizzazione spaziale è cruciale per il movimento cellulare. La modifica della localizzazione intracellulare delle fibre di actina e della loro interazione con le strutture di ancoraggio della membrana, come le integrine e i complessi di adesione focale, consente il movimento cellulare nell'ambiente extracellulare ed è direttamente collegata alla capacità di ottenere metastasi locali e a distanza (9).

La prolattina è in grado di reclutare intermediari di segnalazione come c-Src che sono controllori a monte di PI3K e chinasi di adesione focale (FAK) nelle cellule di cancro al seno (10). L'attivazione di PI3K da parte di PRL risulta dal legame diretto con PRLR o dall'attivazione di Src (1). Questo è notevolmente simile alle azioni regolatorie del recettore alfa degli estrogeni (ER alfa) (11), che è noto agire come modulatore del citoscheletro di actina nelle cellule di cancro al seno attraverso il reclutamento di segnali mediati da c-Src alle proteine regolatrici di actina e FAK (8).

Al momento non è chiaro se la segnalazione PRL/PRLR possa trasformarsi in modifiche che hanno un impatto sul movimento delle cellule del cancro al seno e possibilmente sulla metastasi attraverso il controllo del riarrangiamento del citoscheletro di actina. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di esplorare questa possibilità, attraverso l'analisi del movimento orizzontale delle cellule di cancro al seno durante l'esposizione a PRL, attraverso lo studio delle modificazioni citoscheletriche indotte in queste cellule da PRL, e da una caratterizzazione preliminare delle vie molecolari coinvolte.

## Discussione

Il risultato principale di questo lavoro è che la PRL aumenta il movimento delle cellule del cancro al

seno delle linee cellulari T47D, ZR75-1 e MCF-7 inducendo cambiamenti strutturali nel citoscheletro. Ciò si ottiene attraverso la segnalazione ai controllori del citoscheletro, moesina e FAK, e si trasforma in un rimodellamento della posizione dell'actina verso la membrana cellulare.

Precedenti prove indicano che la motilità delle cellule del cancro al seno è correlata all'abbondanza di trascritti PRL e PRLR (19-21), suggerendo quindi l'ipotesi che la segnalazione PRL possa avere un ruolo in questo fenomeno. Comprendere i mezzi con cui PRL-PRLR controllano l'interazione tra le cellule tumorali e l'ambiente extracellulare influenzando così la motilità delle cellule del cancro al seno può avere implicazioni cliniche (22).

Diversi livelli di evidenza suggeriscono che la PRL può essere direttamente associata agli effetti sulla matrice extra cellulare (ECM) nel contesto del cancro al seno. Ad esempio, in un'analisi 3D del collagene di tipo 1, è stato osservato che le cellule hanno risposto con un aumento della densità dell'ECM dopo la stimolazione con PRL (23). Inoltre, il cancro al seno progredisce con il deposito di collagene fibrillare nel tessuto connettivo vicino al tumore (desmoplasia) (24). In questo contesto, la PRL può indurre la riorganizzazione del collagene, aumentando l'incidenza delle fibre orientate radialmente e modificando la rigidità del tessuto (25). È noto che questa maggiore rigidità meccanica della matrice extra cellulare (ECM) attiva le FAK e le chinasi della famiglia Src (SFK), stimolando così la motilità cellulare (26). Nelle cellule del cancro al seno, le chinasi SFK innescate dalla PRL possono generare segnali pro-tumorigeni e stimolare la motilità cellulare. Sebbene JAK2/STAT5 rappresenti la principale via fisiologica dell'azione di PRLR, la segnalazione agli SFK da parte di questo recettore potrebbe anche svolgere un ruolo nella progressione del cancro al seno (27).

È peculiare che la modulazione della matrice extra cellulare (ECM) da parte della PRL sembra essere specificamente associata alla progressione dei tumori al seno ER+. In questo sottogruppo di tumori, l'estensione e il tipo di allineamento geometrico delle fibre di collagene sono predittivi dell'aggressività biologica (28). Circa il 75% dei tumori al seno esprime ER. Tuttavia, le terapie mirate falliscono in circa il 25% dei casi (29). Le modifiche della matrice extra cellulare possono quindi rappresentare un'ulteriore area di indagine (23).

L'attivazione del recettore della prolattina dei membri della famiglia Src è stata precedentemente studiata in altri tipi cellulari, come epatociti, linfociti di ratto (Nb2 e W53) e persino in cellule epiteliali mammarie di topo (HC11) (10, 30). C-Src viene attivato attraverso l'interazione diretta con i recettori di membrana cellulare, portando all'autofosforilazione e quindi alla segnalazione a valle (31). Tra le molte protein chinasi controllate da c-Src nelle cellule del cancro al seno, la moesina, membro della famiglia ERM, è un mediatore chiave del rimodellamento del citoscheletro e della membrana cellulare. Quando fosforilata, la moesina attivata depolimerizza e rimodella l'actina verso la membrana plasmatica, inducendo lo sviluppo di un complesso di actina corticale (32). La formazione di questa piattaforma di actina di membrana è necessaria per sviluppare interazioni transmembrana tra il citoscheletro della cellula e le proteine della matrice extracellulare. Un secondo passo rilevante per ottenere il movimento cellulare è la formazione di complessi di adesione focale, o strutture arricchite in actina e vinculina dove si formano ponti tra il complesso di actina corticale e l'ECM attraverso l'ancoraggio di proteine della famiglia delle integrine (33). Questo processo è mediato da FAK che favorisce lo sviluppo e il turnover dei complessi di adesione (34). La successiva contrazione del citoscheletro consente il movimento cellulare. Moesina e FAK sono sovraespressi nel carcinoma mammario e il loro livello di espressione è correlato al potenziale metastatico (35, 36).

I livelli plasmatici di PRL sembrano rappresentare un fattore di rischio per le metastasi del cancro al seno (37). La sovraespressione e l'attivazione funzionale di FAK, moesina e c-Src nelle cellule del cancro al seno possono in parte spiegare questo risultato epidemiologico. Sulla base dei nostri risultati, si può ipotizzare che alcuni degli effetti della PRL sulla motilità delle cellule del cancro al seno possano essere innescati dal reclutamento della piccola proteina adattatrice, c-Src, e dal reclutamento di FAK e moesina, seguito dal riarrangiamento dell'actina e dal potenziamento di motilità cellulare.

In sintesi, mostriamo qui che la motilità delle cellule T47D, ZR75-1 e MCF-7 è migliorata dall'esposizione a PRL. Ciò porta alla segnalazione dipendente da PRLR a c-Src, moesina e FAK e al rimodellamento del citoscheletro di actina necessario alla motilità cellulare. Queste scoperte evidenziano nuove vie di segnalazione attraverso le quali la PRL può influenzare il comportamento biologico del cancro al seno. Questi percorsi possono essere studiati come nuovi bersagli per l'intervento per ridurre la capacità di progressione del cancro al seno.