

Titolo: Effetti inibitori degli analoghi della vitamina D e dei retinoidi sulla crescita di cellule tumorali del pancreas umano - Growth inhibitory effects of vitamin D analogues and retinoids on human pancreatic cancer cells

Codice: RET014

Autore: Zugmaier et al.

Data: 1996

Rivista: *British Journal of Cancer* 73, 1341-1346

Argomento: Retinoidi, vitamina D

Accesso libero: no

DOI: <https://doi.org/10.1038/bjc.1996.256>

URL: <https://www.nature.com/articles/bjc1996256>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2023/12/29/ret014-zugmaier-et-al-1996/>

Parole chiave: retinoidi, vitamina D, acido all trans retinoico, carcinoma pancreas, inibizione, recettori, sinergia

Tumore: carcinoma del pancreas

Traduzione: le sezioni "Riassunto, "Introduzione" e "Discussione" sono state tradotte tutte e in modo fedele. Le sezioni "Materiali e Metodi" e "Risultati" sono state tradotte semplificandole e riassumendole.

Punti di interesse: Il presente lavoro dimostra l'azione sinergica di retinoidi e di vitamina D nell'inibire la crescita di linee cellulari di adenocarcinoma del pancreas. I retinoidi e la vitamina D sono fattori importanti che regolano la crescita e la differenziazione cellulare. L'effetto inibitorio sinergico di retinoidi e vitamina D era già stato dimostrato in altri lavori su cellule del mieloma umano, leucemiche e del cancro al seno. Sulla base di queste evidenze, gli autori hanno quindi deciso di studiare gli effetti dell'analogo della vitamina D EB1089 e dell'acido all-trans retinoico e 9-cis-retinoico sulle linee cellulari di adenocarcinoma pancreatico umano Capan 1 e Capan 2 e sulla linea cellulare di carcinoma pancreatico indifferenziato Hs766T. Hanno inoltre studiato eventuali cambiamenti della presenza dei recettori di retinoidi e vitamina D a seguito dei trattamenti con le molecole testate. Le linee cellulari studiate esprimono il recettore della vitamina D, il recettore dell'acido retinoico (RAR)-alfa e gamma. Il recettore dei retinoidi RAR-beta era espresso solo nelle cellule Hs766T. L'acido all-trans retinoico ad una concentrazione di 10 nM ha inibito la crescita delle cellule Capan 1 e Capan 2 del 40% rispetto ai controlli. L'acido 9-cis-retinoico si è rivelato meno efficace. Né l'acido all-trans-retinoico né l'acido 9-cis-retinoico hanno influenzato la crescita delle cellule Hs766T. EB1089, se aggiunto da solo alle cellule, ha inibito in modo minore la crescita (inibizione massima del 25% raggiunta a concentrazione di 1 nM in tutte e tre le linee cellulari). Tuttavia, la combinazione di EB1089 1 nM con acido all trans retinoico 10 nM ha esercitato un effetto inibitorio sulla crescita del 90% nelle cellule Capan 1 e del 70% nelle cellule Capan 2. L'aggiunta di acido all-trans retinoico ha aumentato la quantità di mRNA di RAR-alfa nelle tre linee cellulari e ha indotto mRNA di RAR-beta nelle cellule Capan 1 e Capan 2. I dati del presente lavoro suggeriscono che gli analoghi della vitamina D e i retinoidi hanno un effetto inibitorio sulla crescita

di cellule tumorali del carcinoma al pancreas e agiscono sulla regolazione dei recettori di membrana. Inoltre questo lavoro dimostra che Vitamina D e retinoidi in sinergia hanno effetto è notevolmente maggiore.

Traduzione articolo

Riassunto

I retinoidi e la vitamina D sono fattori importanti che regolano la crescita e la differenziazione cellulare. È stato dimostrato un effetto additivo inibitorio di retinoidi e degli analoghi della vitamina D sulla crescita di cellule del mieloma umano, di cellule leucemiche e di cellule del cancro al seno. Abbiamo deciso di studiare gli effetti dell'analogo della vitamina D EB1089 e dell'acido all-trans retinoico e 9-cis-retinoico sulle linee cellulari di adenocarcinoma pancreatico umano Capan 1 e Capan 2 e sulla linea cellulare di carcinoma pancreatico indifferenziato Hs766T. Le linee cellulari studiate esprimevano il recettore della vitamina D, il recettore dell'acido retinoico (RAR)-alfa e gamma come determinato mediante reazione a catena della polimerasi dopo trascrizione inversa. RAR-beta era espresso solo nelle cellule Hs766T. L'aggiunta di acido all-trans-retinoico ha aumentato la quantità di mRNA di RAR-alfa nelle tre linee cellulari e ha indotto mRNA di RAR-beta nelle cellule Capan 1 e Capan 2. L'acido all-trans retinoico ad una concentrazione di 10 nM ha inibito la crescita delle cellule Capan 1 e Capan 2 del 40% rispetto ai controlli. L'acido 9-cis-retinoico si è rivelato meno efficace. Né l'acido all-trans-retinoico né l'acido 9-cis-retinoico hanno influenzato la crescita delle cellule Hs766T. EB1089, se aggiunto da solo alle cellule, non ha inibito significativamente la crescita. Tuttavia, la combinazione di EB1089 1 nM con acido all trans retinoico 10 nM ha esercitato un effetto inibitorio sulla crescita del 90% nelle cellule Capan 1 e del 70% nelle cellule Capan 2. I nostri dati suggeriscono che gli analoghi della vitamina D insieme ai retinoidi inibiscono la crescita delle cellule tumorali del pancreas umano. Tuttavia, sono necessari studi in vivo per esaminare il potenziale utilizzo dei retinoidi e degli analoghi della vitamina D sul cancro del pancreas.

Introduzione

Il carcinoma del pancreas è la quinta causa di morte per malattie maligne nella società occidentale. Negli Stati Uniti l'incidenza del carcinoma pancreatico è triplicata negli ultimi 50 anni (Kelly e Benjamin, 1995). Il carcinoma pancreatico è associato ad una prognosi particolarmente sfavorevole (Jeekel, 1994). Né la radioterapia né la chemioterapia migliorano i tassi di sopravvivenza a 5 anni, che non superano il 5% (Wagener et al., 1994). Pertanto nuove modalità terapeutiche sono essenziali per il trattamento del carcinoma pancreatico. Vi è una crescente evidenza che l'acido retinoico e la vitamina D sono agenti naturali che controllano la differenziazione e la proliferazione cellulare sia nelle cellule normali che in quelle maligne (Colston, 1993).

La forma biologicamente attiva della vitamina D, la 1,25-diidrossi-vitamina D3 [calcitriolo-1,25(OH) D3] esercita effetti non correlati all'omeostasi del calcio, come l'inibizione della proliferazione delle cellule tumorali (Cross et al., 1992). I recettori per la vitamina D sono presenti in una varietà di cellule tumorali, compreso l'adenocarcinoma pancreatico (Reichel et al., 1989). Tuttavia, uno dei principali svantaggi nel considerare i metaboliti convenzionali della vitamina D

come agenti terapeutici è la produzione di ipercalcemia a dosi superiori a pochi microgrammi al giorno (Reichel et al., 1989).

Recentemente numerosi laboratori hanno sviluppato analoghi sintetici della vitamina D che inibiscono la crescita delle cellule tumorali, ma hanno ridotto l'attività calcemica (Colston et al., 1992; Shabahang et al., 1994). Un composto, EB 1089, caratterizzato da una catena laterale C17 modificata della molecola di vitamina D, inibisce la crescita delle cellule di cancro al seno in vitro e in vivo (Colston et al., 1992).

I retinoidi sono derivati naturali e sintetici della vitamina A (Bollag e Holdener, 1992). Essi suscitano un'ampia gamma di risposte biologiche durante la morfogenesi e la differenziazione (Sporn e Roberts, 1983). La conoscenza degli effetti di questi composti ha portato a supporre che i retinoidi possano agire come agenti chemiopreventivi oltre che come inibitori della crescita tumorale (Bollag e Holdener, 1992). È stato dimostrato che i retinoidi deprimono l'incidenza e le dimensioni del tumore in modelli animali (Gudas, 1992). Studi con cellule tumorali dimostrano l'inibizione della crescita indotta dai retinoidi (Eliason et al., 1993; Peehl et al., 1994).

La combinazione dei retinoidi con citochine come l'interferone porta ad effetti potenziati sui tumori in vitro e in vivo (Bollag e Peck, 1994). Inoltre, recenti ricerche hanno dimostrato che i retinoidi insieme agli analoghi della vitamina D inducono un'inibizione additiva della crescita delle cellule del mieloma, delle cellule leucemiche e delle cellule del cancro al seno (Dore et al., 1993; Lutzky et al., 1994; Bollag e Peck, 1994).

Abbiamo deciso di studiare gli effetti dei retinoidi, dell'acido all-trans retinoico, dell'acido 9-cis retinoico e dell'analogo della vitamina D EB1089 su tre linee cellulari pancreatiche umane, due derivate da adenocarcinomi e una derivata da un carcinoma indifferenziato.

Materiali e Metodi / Risultati

Le linee cellulari di cancro del pancreas umano Capan 1, Capan 2 e Hs766T sono stati ricevuti dall'American Tissue Type Culture Collection e coltivate in terreni appropriati e testate regolarmente per la contaminazione da agenti esterni. Come controllo sono state usate linee cellulari di fibroblasti NRK. Per i retinoidi sono stati testati l'acido tutto trans retinoico e l'acido 9-cis retinoico. Per la vitamina D è stato testato l'analogo sintetico EB1089. Dopo i trattamenti delle colonie sono stati effettuati saggi di proliferazione e di vitalità cellulare. L'RNA cellulare totale è stato isolato, l'RNA per i recettori di Vit D e dell'acido retinoico è stato quantificato. Le culture cellulari sono state incubate con concentrazioni di retinoidi ed EB1089 che variavano da 1pM a 1 µM. Gli effetti antiproliferativi dell'acido tutto trans-retinoico e l'acido 9-cis-retinoico erano dose dipendenti. L'acido tutto trans-retinoico a una concentrazione di 10 nM ha inibito la crescita delle linee cellulari di adenocarcinoma del pancreas Capan 1 e Capan 2 del 40% rispetto ai controlli non trattati. L'acido 9-cis-retinoico alla stessa concentrazione ha diminuito la crescita del 25% rispetto ai controlli non trattati. La crescita della linea cellulare di carcinoma pancreatico indifferenziato Hs766T non è stata influenzata dall'acido tutto trans o 9-cis-retinoico. L'analogo della vitamina D EB 1089 ha avuto un valore inibitorio massimo sulla crescita del 25%, raggiunto a concentrazione di 1 nM in tutte e tre le linee cellulari. L'aumento delle concentrazioni di EB1089 non ha fatto

aumentare questo effetto. Tuttavia la vitamina D ha potenziato gli effetti dell'acido all-trans e 9-cis-retinoico. In presenza di 1 nM EB1089 l'acido tutto trans-retinoico, ad una concentrazione di 10 nM, ha indotto un'inibizione di 90% di crescita nelle cellule Capan 1 e un'inibizione del 70% di crescita nelle cellule Capan 2 (Figura 4). Acido 9-cis-retinoico (10 nM) in presenza di 1 nM EB1089 non è stato altrettanto efficace come l'acido tutto trans retinoico. Il trattamento con i retinoidi e vitamina D ha determinato la sintesi dell'RNA dei recettori di retinoidi e vitamina D studiati, in modo diverso nelle diverse linee cellulari.

Discussione

Il cancro del pancreas è scarsamente influenzato dalla chemioterapia (Jeekel, 1994), pertanto sono necessarie nuove modalità terapeutiche per migliorare la sopravvivenza a lungo termine dei pazienti (Wagener et al., 1994). Poiché la somministrazione di retinoidi è diventata una terapia consolidata per la leucemia promielocitica acuta, i membri della superfamiglia degli steroidi potrebbero diventare strumenti per il trattamento anche dei tumori solidi (Reichel et al., 1989; Cross et al., 1992; Bollag e Holdener, 1992; Gudas, 1992). In questo articolo riportiamo che i retinoidi sintetici insieme all'analogo della vitamina D EB1089 inibiscono la crescita di due linee cellulari derivate da adenocarcinomi pancreatici umani. L'acido all-trans-retinoico si è rivelato un inibitore della crescita più potente dell'acido 9-cis-retinoico. La crescita di una linea cellulare derivata da un carcinoma pancreatico umano indifferenziato non è stata influenzata.

Numerosi studi hanno dimostrato gli effetti inibitori della crescita dei retinoidi e della vitamina D nel cancro. Eliason et al. (1993) hanno dimostrato gli effetti antiproliferativi dell'acido retinoico Ro 40-8757 su linee cellulari umane di cancro al seno, al colon e al collo dell'utero. Gli effetti massimi vengono raggiunti ad una concentrazione compresa tra 1 μ M e 3 μ M. I retinoidi sintetici hanno effetti terapeutici sul cancro al seno (Teelman et al., 1993), sul cancro ovarico (Formelli e Cleris, 1993) e sul cancro alla prostata (Pienta et al., 1993) in modelli animali. Tuttavia i retinoidi non esercitano alcun effetto sulla crescita delle cellule di adenocarcinoma del polmone (Eliason et al., 1993; Geradts et al., 1993). Recettori dell'acido retinoico sono stati dimostrati in linee cellulari di cancro ovarico (Harant et al., 1993), linee cellulari di cancro al seno (Roman et al., 1992), cellule di mieloma e cellule leucemiche (Lutzky et al., 1994; Dore et al., 1993). Non esiste alcuna correlazione tra gli effetti biologici dei retinoidi e il grado di espressione dei recettori (van-der Leede et al., 1993; Lutzky et al., 1994), il che è coerente con i nostri risultati. Una mancanza di sottogruppi di recettori dell'acido retinoico come RAR- β è stata descritta nei tumori maligni (Gudas, 1992; Xu et al., 1994; Swisshelm et al., 1994).

Lotan et al. (1995) hanno dimostrato nelle lesioni orali precancerose che la perdita di espressione di RAR- β può essere ripristinata mediante trattamento con isotretinoina. Abbiamo ottenuto risultati simili. L'acido all-trans-retinoico induce l'espressione di RAR- β (Figura 7) e l'inibizione della crescita nelle cellule Capan 1 e Capan 2 (Figura 1), ma non influenza né l'espressione di RAR- β (Figura 7) né la crescita nelle cellule Hs766T. L'espressione di RAR- β nelle cellule Hs766T non dipende dalla presenza di acido all-trans retinoico (Figura 7). Sebbene i nostri dati non consentano una conclusione definitiva, indicano che la modulazione dell'espressione del recettore da parte del ligando piuttosto che la sola espressione del recettore è associata ad un effetto biologico. Non

abbiamo determinato l'espressione di RXR, perché il suo ligando, l'acido 9-cis-retinoico, non esercita un effetto biologico significativo a concentrazioni fisiologiche (Figura 2).

È stato dimostrato che la vitamina D inibisce la crescita delle cellule di carcinoma del colon umano (Shabahang et al., 1993) e induce la regressione del linfoma a cellule T della pelle (Scott-Mackie et al., 1993). I recettori per la vitamina D sono presenti in una varietà di linee cellulari tumorali, compreso il carcinoma della prostata (Miller et al. 1992), carcinoma pancreatico, osteosarcoma, melanoma, carcinoma mammario, carcinoma del colon, carcinoma della tiroide, carcinoma della vescica, carcinoma cervicale e fibrosarcoma (Reichel et al., 1989). Recentemente è stato sviluppato un nuovo analogo della vitamina D, EB 1089 (Colston et al., 1992). EB 1089 è un potente inibitore della proliferazione delle cellule del cancro al seno in vitro e in vivo (Colston et al., 1992). Sono stati sviluppati altri analoghi della vitamina D che inibiscono significativamente la crescita delle cellule tumorali del colon umano in vitro (Cross et al., 1992; Shabahang et al., 1994). Questi analoghi riducono il tasso di crescita due volte più efficacemente della diidrossivitamina D3 (Shabahang et al., 1994). Sebbene abbiamo dimostrato l'espressione del recettore della vitamina D (Figura 8), l'analogo EB 1089 (Figura 3) e la 1,25-diidrossivitamina D3 non inibiscono significativamente la crescita delle cellule di carcinoma pancreatico umano.

Combinazioni di retinoidi con vari composti portano ad attività antitumorali potenziate (Bollag e Peck, 1994). Negli studi clinici i retinoidi sono stati utilizzati principalmente insieme all'interferone. I migliori risultati sono stati ottenuti nei carcinomi a cellule squamose della pelle e della cervice (Bollag e Peck, 1994). Studi in vitro hanno mostrato effetti additivi inibitori della crescita degli analoghi della vitamina D e dei retinoidi nelle linee cellulari leucemiche mieloidi (Dore et al., 1993), nelle linee cellulari del mieloma (Lutzky et al., 1994) e nel cancro al seno umano positivo al recettore degli estrogeni linea cellulare T47D (Bollag e Peck, 1994).

Saranno necessari ulteriori studi in vitro e test su modelli animali per chiarire il potenziale ruolo degli analoghi della vitamina D e dei retinoidi nella terapia del cancro del pancreas.