



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea**  
**SCIENZE BIOLOGICHE**

***I CANNABINOIDI REGOLANO IL CROSS-TALK TRA LE CELLULE TUMORALI E LE CELLULE  
ENDOTELIALI NEL CANCRO COLON-RETTALE***

***CANNABINOIDS ORCHESTRATE CROSS-TALK BETWEEN CANCER CELLS AND ENDOTHELIAL  
CELLS IN COLORECTAL CANCER***

Tesi di Laurea di:  
Sara Montanini

Docente referente  
Chiar.ma Prof.ssa:  
Francesca Maradonna

Sessione OTTOBRE 2022  
Anno Accademico 2021/2022

Il cancro del colon-retto (CRC) è uno dei tipi di cancro per cui la terapia con marijuana viene usata per contrastare nausea e vomito indotti da chemioterapia.

La FDA (Food and Drug Administration) ha approvato 3 tipi di farmaci sintetici a base di cannabis: Marynol, Syndros e Cesamet.

È meno noto l'effetto diretto della somministrazione di farmaci a base di cannabis sulle cellule tumorali e sul microambiente tumorale.

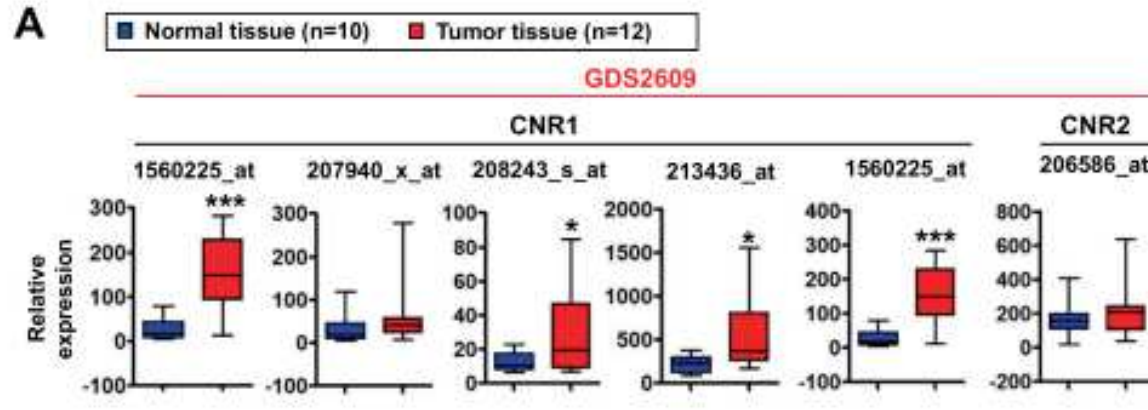
Il principio attivo delle droghe sintetiche a base di cannabis è

$\Delta^9$  -tetraidrocannabinolo.



L' **OBIETTIVO** di questo lavoro è indagare il ruolo dei cannabinoidi nella progressione del CRC ed identificare i possibili meccanismi molecolari attraverso i quali questi effetti si verificano.

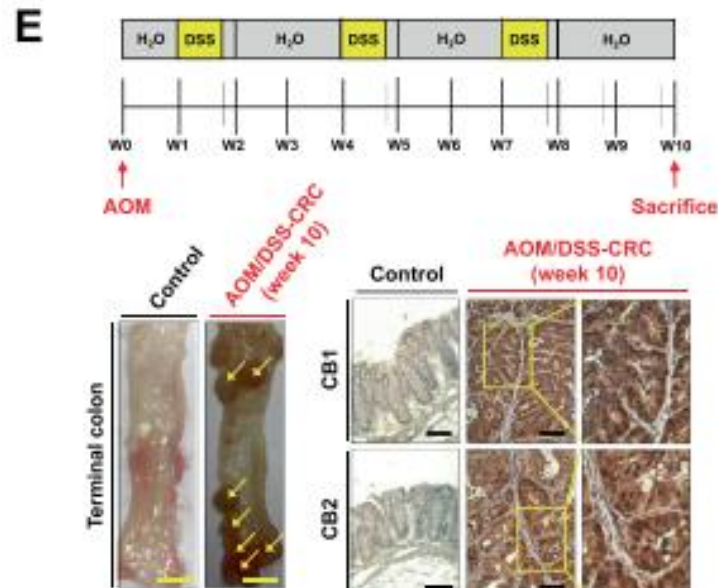
Gli effetti del  $\Delta^9$ -THC sono mediati principalmente dai recettori **CB1** e **CB2**.



L'espressione di tali recettori è più alta nei tessuti tumorali che nei controlli sani.

L'espressione di CB1 e CB2 è aumentata in un altro studio condotto utilizzando il modello di topo in cui il CRC è stato indotto dal trattamento con **AOM/DSS**.

Questo è stato possibile mediante colorazione immunoistochimica (IHC).



I loro livelli di espressione entrambi aumentati.

7 giorni → dieta regolare e acqua potabile.

3 cicli con DSS → DSS al 3,5% per 5 giorni, poi periodo di recupero di 14 giorni.

## $\Delta^9$ -THC induce la crescita del tumore colon-rettale

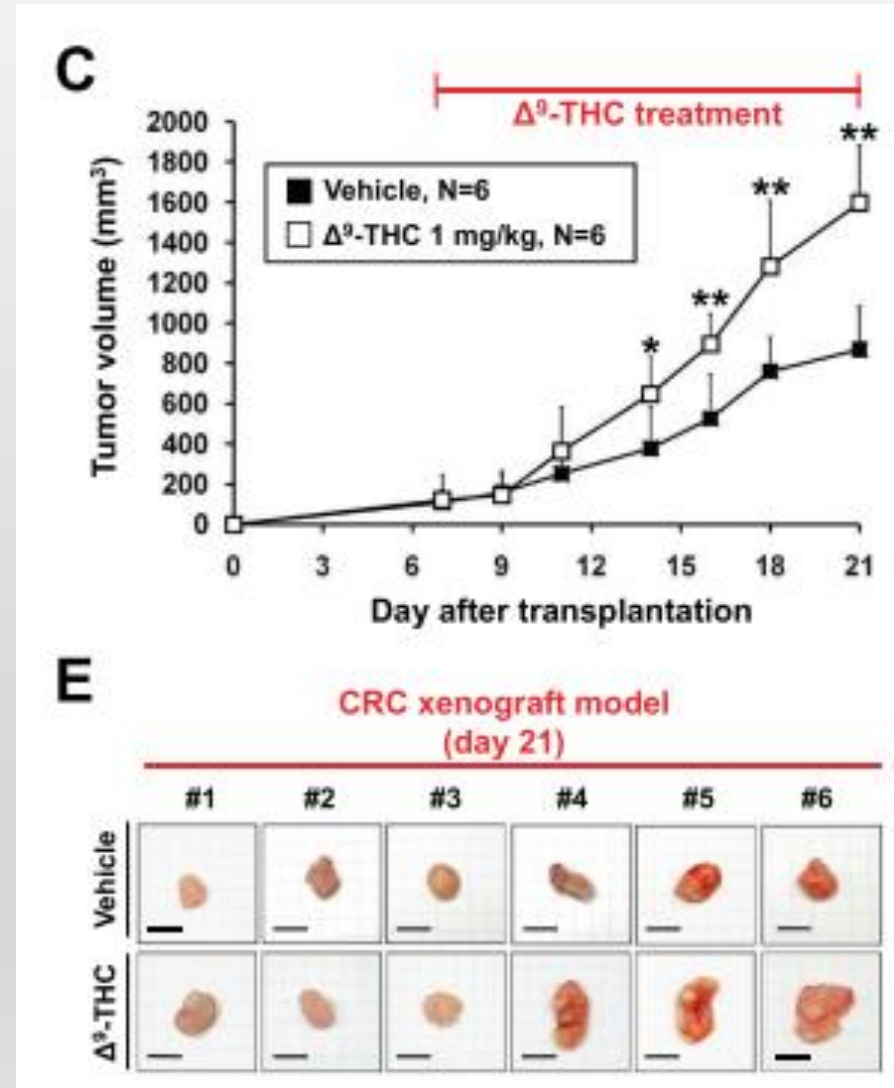
→ Linee cellulari CRC umane (HCT116, SW480, RKO e HT-29) =>  $\Delta^9$ -THC non ha influenzato la crescita cellulare.

→ Modello murino xenotrapianto HCT116.

Cellule HCT116 impiantate per via sottocutanea in **topi maschi nudi.**

Iniettati il veicolo (controllo) o il  $\Delta^9$ -THC (1 mg/kg) per via intraperitoneale ogni 2 giorni per 2 settimane e allo stesso tempo è stato misurato il volume del tumore.

$\Delta^9$ -THC ha promosso la crescita del tumore HCT116.



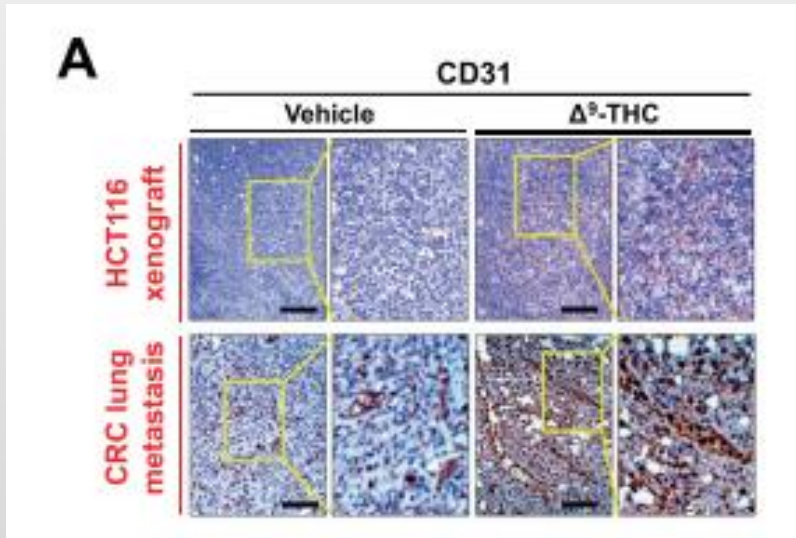
**D****CRC xenograft model  
(day 21)**

Carico tumorale ottenuto da ciascun gruppo. Il cerchio giallo indica le regioni tumorali.

# $\Delta^9$ -THC promuove l'angiogenesi del cancro colon-rettale in vivo

L'angiogenesi inizia con un segnale biologico noto come fattore di crescita angiogenico, come il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF), che attiva i recettori angiogenici.

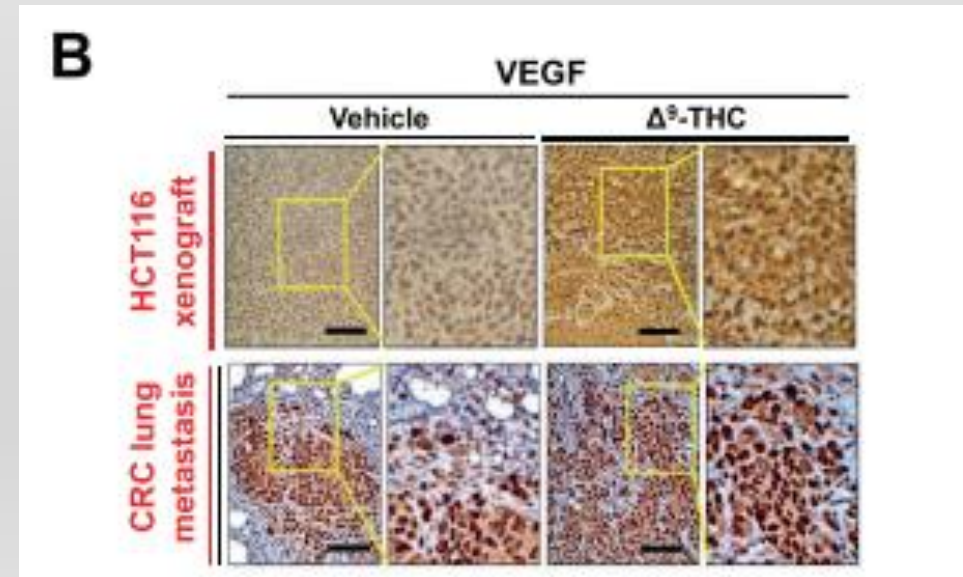
**CD31** e **VEGF** sono noti marcatori angiogenici.



L'espressione di CD31 è stata trovata nei topi xenotrapiantati e nel CRC modelli metastatici, e l'up-regulation di CD31 è stata osservata dopo il trattamento con  $\Delta^9$ -THC che ha anche determinato un aumento dell'espressione di VEGF e il livello di VEGF nel siero del topo in entrambi i modelli.

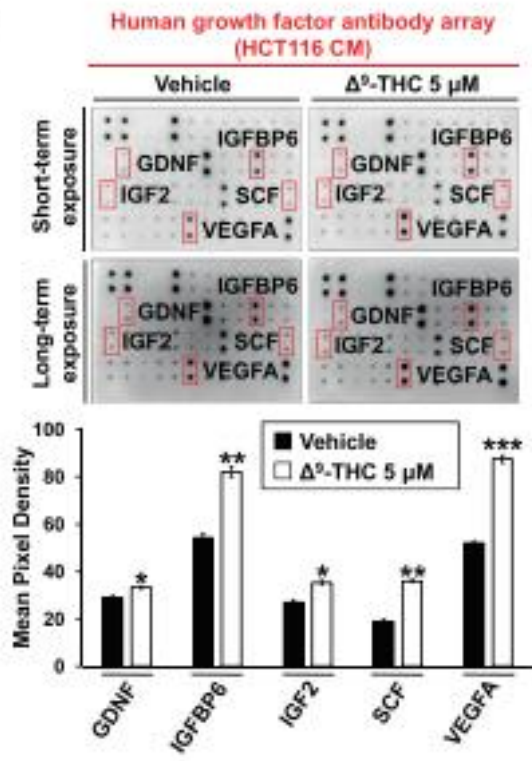
Correlazione positiva tra il volume del tumore, le metastasi polmonari e il rilascio di VEGF.

La somministrazione del THC favorisce la progressione del tumore e delle metastasi andando a stimolare il fattore VEGF.



# $\Delta^9$ -THC promuove la secrezione di fattori di crescita angiogenici da parte delle cellule del cancro attraverso il fattore di trascrizione STAT-1

**A**

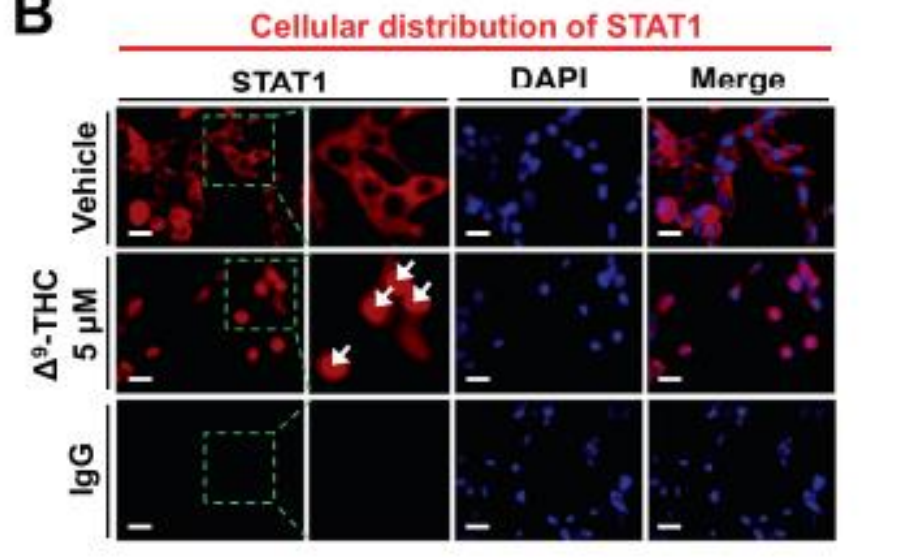


Array di anticorpi del fattore di crescita per studiare i fattori di crescita secreti dalle cellule CRC.

5 fattori di crescita: **GDNF**, **IGFBP6**, **IGF2**, **SCF**, e **VEGFA** up-regolati nel CM di cellule HCT116 trattate con  $\Delta^9$ -THC.

11 fattori di trascrizione sembrano essere coinvolti nella modulazione dei fattori di crescita tumorali precedentemente evidenziati.

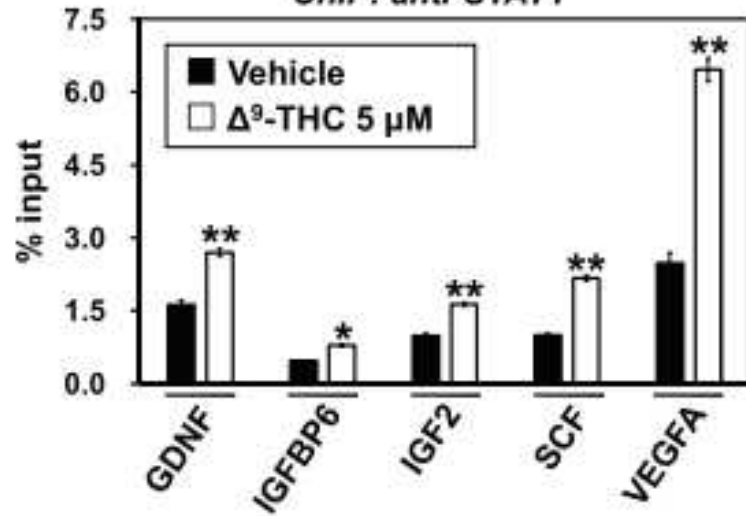
**B**



$\Delta^9$ -THC ha indotto la traslocazione di STAT1 dal citoplasma al nucleo delle cellule HCT116.



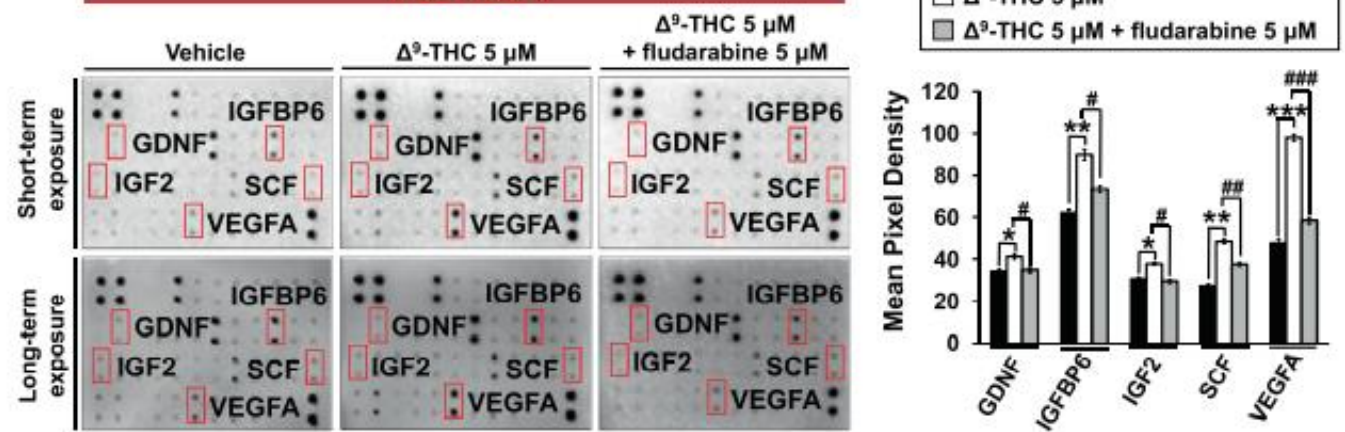
**ChIP: anti-STAT1**



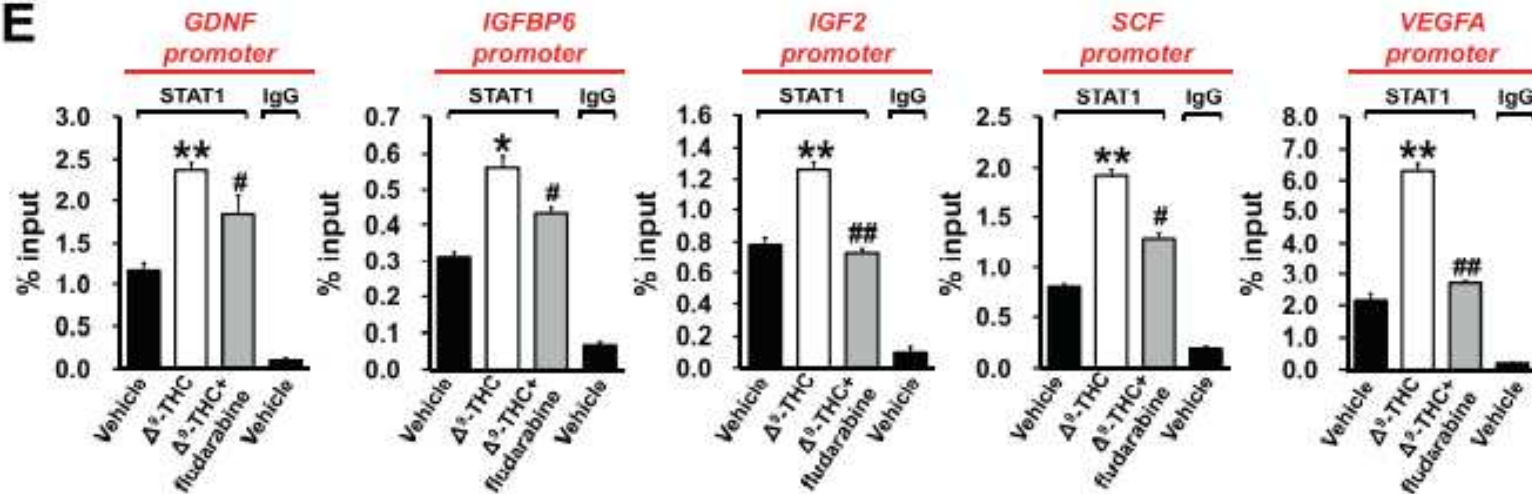
Δ<sup>9</sup>-THC ha indotto il legame di STAT1 ai promotori dei cinque fattori di crescita.

**D**

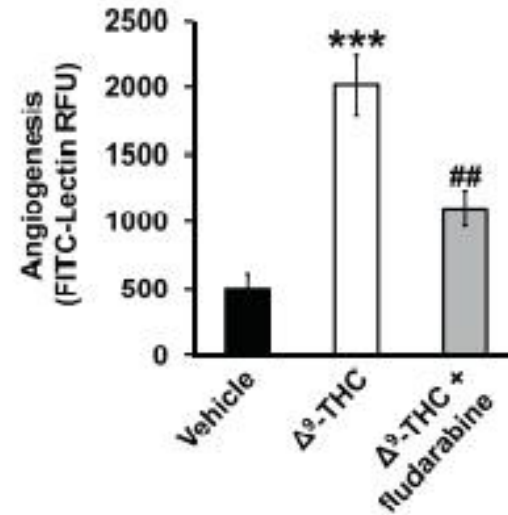
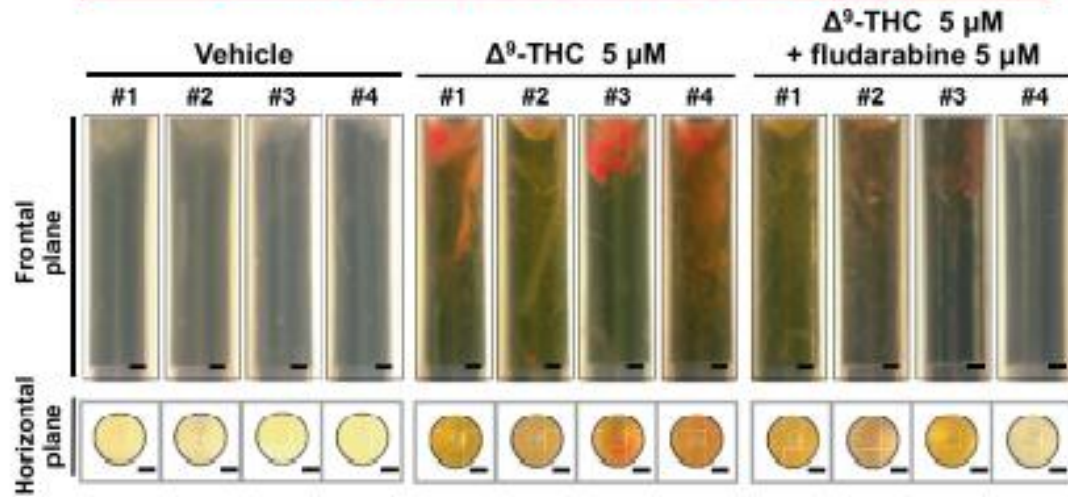
**Human growth factor antibody array (HCT116 CM)**



**E**



STAT1 fludarabina

**F****Directed In Vivo Angiogenesis Assay (DIVAA)**

Il trattamento con fludarabina ha invertito l'angiogenesi indotta da  $\Delta^9$ -THC (F). Ha anche ridotto la crescita e la migrazione delle cellule CRC (D).

**STAT1 gioca ruolo importante nell'angiogenesi indotta da  $\Delta 9$  -THC e crescita del tumore CRC, e l'inibizione di STAT1 può invertire questi effetti collaterali.**



## CONCLUDENDO:

$\Delta 9$ -Tetraidrocannabinolo ( $\Delta 9$ -THC) ha promosso la crescita del tumore in un modello murino xenotrapianto con HCT116 nonché la formazione di metastasi andando a stimolare il fattore VEGF.

La realizzazione di un array di proteine ha mostrato che il  $\Delta 9$ -THC ha promosso la secrezione di fattori di crescita angiogenici nel CRC, portando all'induzione della formazione di vasi e della migrazione nelle cellule endoteliali vascolari.

La traslocazione nucleare di STAT1 ha giocato un ruolo importante nell'angiogenesi indotta da  $\Delta 9$ -THC e nella progressione tumorale.

Il trattamento farmacologico con un antagonista di STAT1 (fludarabina) ha invertito l'angiogenesi indotta da  $\Delta 9$ -THC oltre ad aver ridotto la crescita e la migrazione delle cellule CRC.