

**Kanabidiol (CBD) ako sľubný liek proti rakovine
(Voľný preklad)**

Autori:

Emily S. Seltzer, Andrea K. Watters, Danny MacKenzie, Lauren M. Granat, Dong Zhang

Publikované:

Online 30.10.2020

Originálny článok dostupný na:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7693730/>

Kanabidiol (CBD) ako sľubný liek proti rakovine

Abstrakt

Jednoduché zhrnutie

Použitie kanabinooidov obsahujúcich rastlinné extrakty ako bylinný liek možno vysledovať už od roku 500 pred Kristom. V posledných rokoch si lekárske a zdravotné aplikácie jedného z nepychotických kanabinooidov, kanabidiolu alebo CBD, získali obrovskú pozornosť. V tomto prehľade budeme diskutovať o najnovších zisteniach, ktoré výrazne podporujú ďalší vývoj CBD ako sľubného protirakovinového lieku.

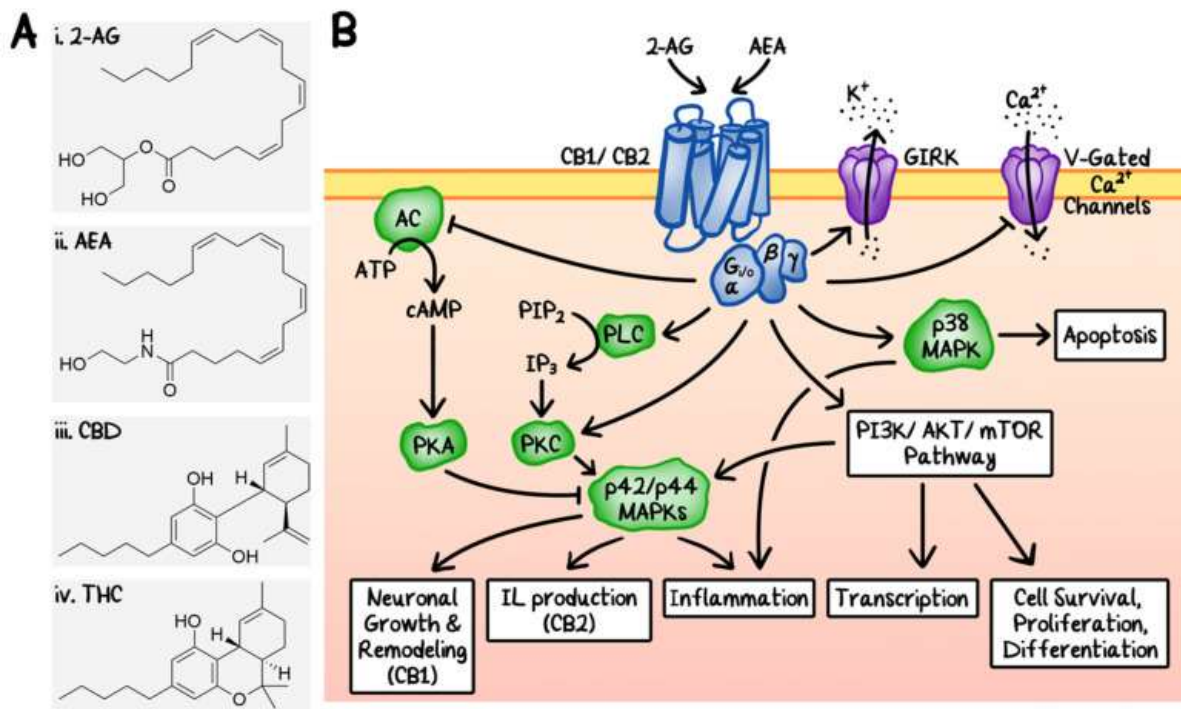
Abstraktné

Kanabinoidy, ako napríklad kanabidiol (CBD) a Δ^9 - tetrahydrokanabinol (THC), sú v poslednej dobe predmetom intenzívneho výskumu a intenzívneho skúmania. Kanabinoidy zahŕňajú širokú škálu organických molekúl, vrátane tých, ktoré sú fyziologicky produkované u ľudí, syntetizované v laboratóriách a extrahované primárne z rastliny *Cannabis sativa*. Tieto organické molekuly zdieľajú podobnosti vo svojich chemických štruktúrach, ako aj vo svojich profiloch viazania proteínov. Existujú však výrazné rozdiely v ich mechanizmoch účinku a klinických aplikáciách, ktoré budú stručne porovnané a porovnané v tomto prehľade. Mechanizmus účinku CBD a jeho potenciálne aplikácie pri liečbe rakoviny budú hlavným zameraním tohto prehľadového článku.

Kľúčové slová: kanabinoidy, kanabidiol, CBD, protirakovinové liečivo

Úvod

Použitie extraktu z rastliny *Cannabis sativa* ako bylinného lieku sa datuje už 500 rokov pred Kristom v Ázii. Ľudský endokanabinoidný systém bol odhalený po objavení kanabinooidných receptorov [1]. Pôvodne sa predpokladalo, že kanabinoidy vytvárajú svoje fyziologické účinky prostredníctvom nešpecifických interakcií s bunkovou membránou; výskum zahŕňajúci potkanie modely však koncom 80. rokov 20. storočia viedol k objavu a charakterizácii špecifických kanabinooidných receptorov, CB 1 a CB 2 [2 , 3]. Receptor CB1 je exprimovaný v centrálnom nervovom systéme (CNS) , zatiaľ čo CB2receptor sa nachádza predovšetkým v imunitnom systéme a hematopoetických bunkách [4]. Čoskoro po objave CB1 a CB2 boli identifikované aj ich endogénne ligandy alebo endokanabinoidy, vrátane 2-arachidonolyglycerolu (2-AG) a N - arachidonoyletanolamínu (AEA, tiež nazývaného anandamid) (postava 1A, i a ii) [5 , 6 , 7 , 8]. CB 1 a CB 2 patria do veľkej rodiny transmembránových proteínov, nazývaných receptory spojené s G proteínom (GPCR), a teraz sa verí, že sú zodpovedné za väčšinu fyziologických účinkov endokanabinoidov (postava 1B). Oba receptory sú spojené s Gai /o , ktorý môže inhibovať adenylcyklázu (AC) [4 , 9]. CB1 môže byť tiež spojený s Gaq/11 [10] a Ga 12/13 [11]. Ukázalo sa tiež, že CB 2 pôsobí prostredníctvom Gas [12] . Pre hlbšie pochopenie následných účinkov endokanabinoidov a ich receptorov za fyziologických podmienok vás odkazujeme na ďalšie vynikajúce recenzie na túto tému [13 , 14].



Endokanabinoidný systém. (A) Chemické štruktúry dvoch endogénnych kanabinooidov, 2-arachidonylglycerolu (i , 2-AG) a N -arachidonyletanolamínu (ii , AEA) a dvoch reprezentatívnych exogénnych kanabinooidov z Cannabis sativa , kanabidiolu (iii , CBD) a $\Delta 9$ - tetrahydrokanabinolu (iv , A9 - THC). (B) Schematické diagramy signálnych transdukčných dráh endokanabinoidného systému. 2-AG a AEA sú agonisty CB 1 a CB 2. Niektoré z následných účinkov zahŕňajú: (1) upreguláciu mitogénom aktivovaných proteínkináz p42/p44 (MAPK) priamou inhibíciou adenylylcyklázy (AC) a priamou aktiváciou fosfolipázy C (PLC), čo vedie k indukcii rastu neurónov, produkcia interleukínu a zápal. PKA: proteínkináza A. PKC: proteínkináza C. (2) Aktivácia p38 MAPK, ktorá vyvoláva zápal a apoptózu. (3) Aktivácia signálnych dráh fosfatidylinozitol-3-kinázy (PI3K)/AKT a cicavčieho cieľa rapamycínu (mTOR). Za určitých podmienok môžu tieto endokanabinoidy tiež indukovať transkripciu, prežitie buniek, proliferáciu a diferenciáciu prostredníctvom podobných dráh. okrem toho.

Dva primárne endokanabinoidy, 2-AG a AEA, môžu aktivovať buď CB 1 alebo CB 2 a sú syntetizované na požiadanie z fosfolipidových prekursorov v reakcii na zvýšenie intracelulárneho vápnika [15 , 16]. Okrem CB1 a CB2 , 2 - AG a AEA môžu viazať aj iné transmembránové proteíny, vrátane receptora 55 spojeného s orphan G proteínom (GPR55), receptorov aktivovaných peroxizómovým proliferátorom (PPAR) a vaniloidu s prechodným receptorovým potenciálom (TRPV) kanál typu 1 (TRPV1) [17 , 18].

Kanály TRPV sú mimoriadne zaujímavé v súvislosti s protinádorovými funkciami kanabidiolu (CBD) (postava 1A, iii), ktorý bude podrobnejšie diskutovaný neskôr. U ľudí bolo identifikovaných šesť rôznych TRPV kanálov a možno ich rozdeliť do dvoch skupín: TRPV1, TRPV2, TRPV3 a TRPV4 patria do skupiny I, zatiaľ čo TRPV5 a TRPV6 spadajú do skupiny II [19]. Hoci presné funkcie TRPV kanálov sú stále predmetom intenzívneho skúmania, pravdepodobne sa podieľajú na regulácii bunkovej homeostázy vápnika. Napríklad TRPV1 a TRPV2 možno nájsť v cytoplazmatickej membráne, ako aj v membráne endoplazmatického retikula (ER). Obidve hrajú dôležitú úlohu pri regulácii koncentrácie cytoplazmatického vápnika z extracelulárnych zdrojov, ako aj vápnika uloženého v ER. Narušenie bunkovej homeostázy vápnika môže viesť k zvýšenej produkcii reaktívnych foriem kyslíka (ROS), ER stresu a bunkovej smrti.

V rastline *Cannabis sativa* (známej aj ako rastlina konope alebo marihuana) existuje množstvo kanabinoidov. Existuje viac ako 100 rôznych kanabinoidov a $\Delta 9$ – tetrahydrokanabinol ($\Delta 9$ -THC) (postava 1A, iv) a CBD sú najznámejšie. Takzvaný drogový typ *Cannabis sativa* obsahuje vyššiu hladinu $\Delta 9$ -THC a používa sa vo väčšej miere na lekárske a rekreačné účely, zatiaľ čo konope vláknitého typu obsahuje menej ako 0,2 % $\Delta 9$ -THC a častejšie sa používa v textíliách. a jedlo [20 , 21]. Predpokladá sa, že $\Delta 9$ -THC je psychotický kanabinoid a mnohé z jeho psychoaktívnych účinkov sú spôsobené jeho interakciou s receptorom CB1 , zatiaľ čo jeho imunomodulačné vlastnosti sú pravdepodobne spôsobené jeho interakciou s receptorom CB2 . Naproti tomu CBD nie je psychoaktívne a má relatívne nízku afinitu k obom CB 1 a CB2 [22] .

Užitočnosť kanabinoidov pri liečbe rakoviny je už dlho predmetom veľkého záujmu. Nedávno sa zistilo, že CB 1 aj CB 2 sú exprimované v mnohých typoch rakoviny. Je zaujímavé, že oba receptory boli často nedetegovateľné v mieste pôvodu rakoviny pred neoplastickou transformáciou [23]. Ďalší dôkaz o úlohe endokanabinoidného systému pri neoplázii prišiel, keď Wang a kolegovia ukázali, že CB 1 má tumor-supresívnu funkciu v geneticky modifikovanom myšom modeli rakoviny hrubého čreva [24]. Na druhej strane, CB 1 je upregulovaný pri hepatocelulárnom karcinóme a Hodgkinovom lymfóme a rozsah, v akom CB 1 bola nadmerne exprimovaná v korelácii so závažnosťou ochorenia pri epiteliálnom ovariálnom karcinóme [25 , 26 , 27]. Podobne sa zistilo , že CB 2 je nadmerne exprimovaný v HER2+ rakovine prsníka a gliómoch [28 , 29]. Nakoniec sa ukázalo, že nadmerná expresia CB 1 aj CB 2 korelovala so zlou prognózou v štádiu IV kolorektálneho karcinómu [30 , 31]. V roku 1976 Carchman a kolegovia zistili, že podávanie kanabinoidov, ako je $\Delta 8$ -THC, $\Delta 9$ -THC a CBD inhibovali syntézu DNA a rast pľúcneho adenokarcinómu v kultivovaných bunkách, ako aj v modeloch myších nádorov [32 , 33]. Podobné účinky boli pozorované v in vitro aj in vivo modeloch rôznych iných rakovín, vrátane gliómu, prsníka, pankreasu, prostaty, kolorektálneho karcinómu a lymfómu [34 , 35]. Za týmito zisteniami sú rôzne navrhované mechanizmy účinku, vrátane, ale nie výlučne: zastavenia bunkového cyklu, indukcie apoptózy, ako aj inhibície neovaskularizácie, migrácie, adhézie, invázie a metastáz [36]. Napriek množstvu pozitívnych výsledkov s $\Delta 9$ -Kanabinoidy súvisiace s THC vo výskume rakoviny, klinické použitie týchto zlúčenín je obmedzené kvôli ich psychoaktívnym vedľajším účinkom.

Na rozdiel od kanabinoidov súvisiacich s $\Delta 9$ - THC nemá CBD žiadne známe psychoaktívne účinky, a preto sa v poslednom čase stal predmetom intenzívneho výskumu v mnohých terapeutických oblastiach vrátane rakoviny. V súčasnosti Food and Drug Administration (FDA) schválil iba Epidiolex, purifikovaný CBD, na použitie u pacientov so záchvatmi spojenými s Lennoxovým-Gastautovým syndrómom alebo Dravetovým syndrómom [37]. Celosvetovo viac ako 40 krajín schválilo liečebné programy týkajúce sa marihuany/kanabisu, pričom to platí pre 34 štátov v USA, plus District of Columbia, Guam, Portoriko a Americké Panenské ostrovy. Zatiaľ čo sa marihuana v USA považuje za látku kontrolovanú podľa zoznamu I, Úrad pre kontrolu drog rozhodol, že CBD je látka kontrolovaná podľa zoznamu V [38]. Po schválení FDA musí CBD obsahovať menej ako 0,1 % $\Delta 9$ -THC.

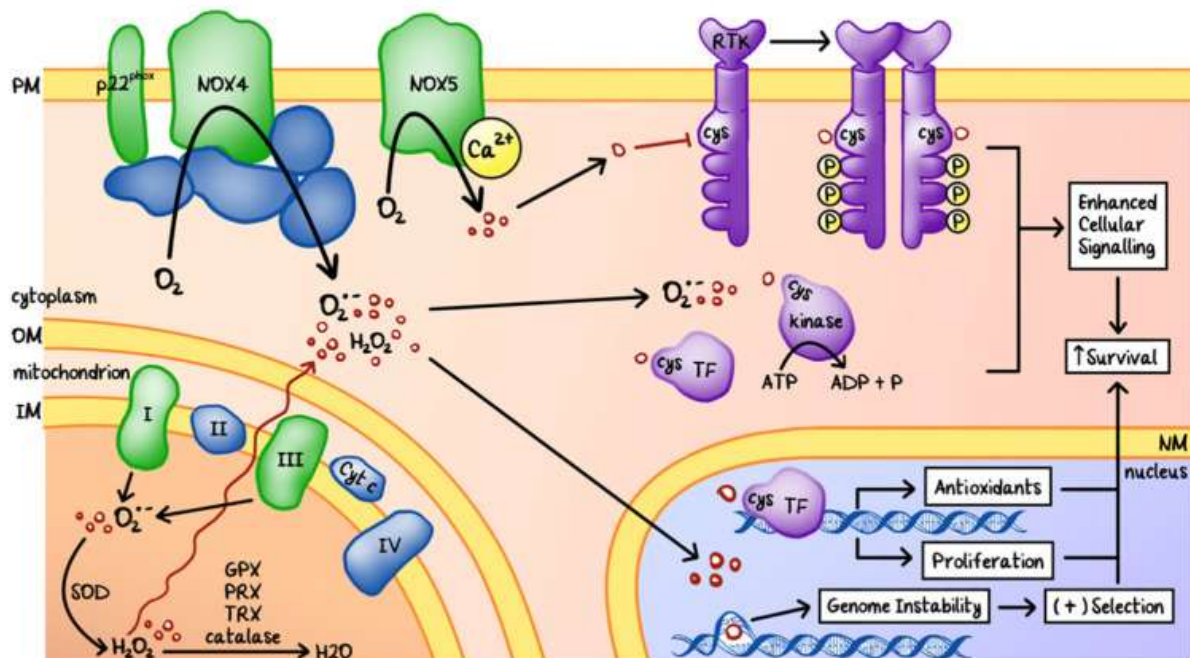
Bolo zaznamenané, že CBD má relatívne nízku afinitu k CB 1 aj CB 2 [22]. Zistilo sa však, že CBD môže pôsobiť ako antagonist CB 1 v chámovodoch a mozgovom tkanive myši in vitro [39]. Existujú aj dôkazy naznačujúce, že CBD môže pôsobiť ako inverzný agonista ľudského CB 2 [22]. Ďalšie bunkové receptory, s ktorými môže CBD interagovať, zahŕňajú TRPV, 5-HT1A, GPR55 a PPARy [40].

Predpokladalo sa, že CBD má silné antiproliferatívne a proapoptotické účinky. Okrem toho môže tiež inhibovať migráciu rakovinových buniek, inváziu a metastázy [1]. Užitočnosť CBD v protinádorovej terapii a potenciálne mechanizmy za ňou budú podrobnejšie diskutované nižšie. Pretože sa zdá, že veľká časť protinádorovej aktivity CBD závisí od jeho regulácie ROS, ER stresu a imunitnej modulácie, najprv zhrnieme vzájomné pôsobenie medzi ROS, ER stresom a zápalom a ich známe účinky na rôzne aspekty tumorigenézy. Potom budeme ďalej diskutovať o protinádorových účinkoch CBD na rôzne druhy rakoviny a molekulárnych mechanizmov za nimi.

Vzájomné pôsobenie medzi druhmi reaktívneho kyslíka (ROS), ER stresom, zápalom a rakovinou

2.1. ROS a rakoviny

ROS označujú rôzne druhy obsahujúce kyslík, ktoré sú energeticky nestabilné a vysoko reaktívne s rôznymi biomolekulami, vrátane aminokyselín, lipidov a nukleových kyselín. Bežne pozorované ROS zahŕňajú superoxid (O_2^-), peroxid (O_2^{2-}), peroxid vodíka (H_2O_2) a hydroxylové voľné radikály (OH^-) [41 , 42 , 43 , 44]. Najbežnejšími zdrojmi ROS sú elektrónový transportný reťazec v mitochondriách a rodina transmembránových enzýmov NADPH oxidáza (NOX) (Obrázok 2). Určité enzýmy a organely, ako sú peroxizómy a ER, môžu tiež produkovať ROS. ROS môže priamo oxidovať nukleové kyseliny, proteíny a lipidy, a tak meniť alebo narúšať ich funkcie [45].



Pôvod a účinky bunkových reaktívnych foriem kyslíka (ROS). ROS sú generované komplexom I a III elektrónového transportného reťazca v mitochondriách a enzýmami NADPH oxidázy (NOX) umiestnenými na cytoplazmatickej membráne (PM). ROS narúšajú bunkové procesy oxidáciou cysteínových (Cys) zvyškov rôznych proteínov a poškodzovaním nukleových kyselín. Oxidácia pomocou ROS by mohla spôsobiť inaktiváciu fosfatáz, aktiváciu kináz a transkripčných faktorov (TF) a genómové zmeny, čo vedie k zvýšenej bunkovej proliferácii a prežitiu. Proti produkcii ROS pôsobí tvorba antioxidantov, ako je superoxiddismutáza (SOD), glutatiónpoxidáza (GPX), peroxiredoxín (PRX), tioredoxín (TRX) a kataláza. Pri rakovinách je redoxná homeostáza modifikovaná tak, aby podporovala toleranciu ROS. OM: vonkajšia mitochondriálna membrána. IM: vnútorná mitochondriálna membrána. NM: jadrová membrána.

Aby sa zabránilo neustálemu poškodzovaniu biomolekúl, ROS sú vo vnútri buniek vyvážené rôznymi antioxidantmi. Medzi hlavné antioxidačné enzýmy patrí superoxiddismutáza (SOD), kataláza, peroxiredoxín (PRX), tioredoxín (TRX) a glutatiónpoxidáza (GPX) [42].

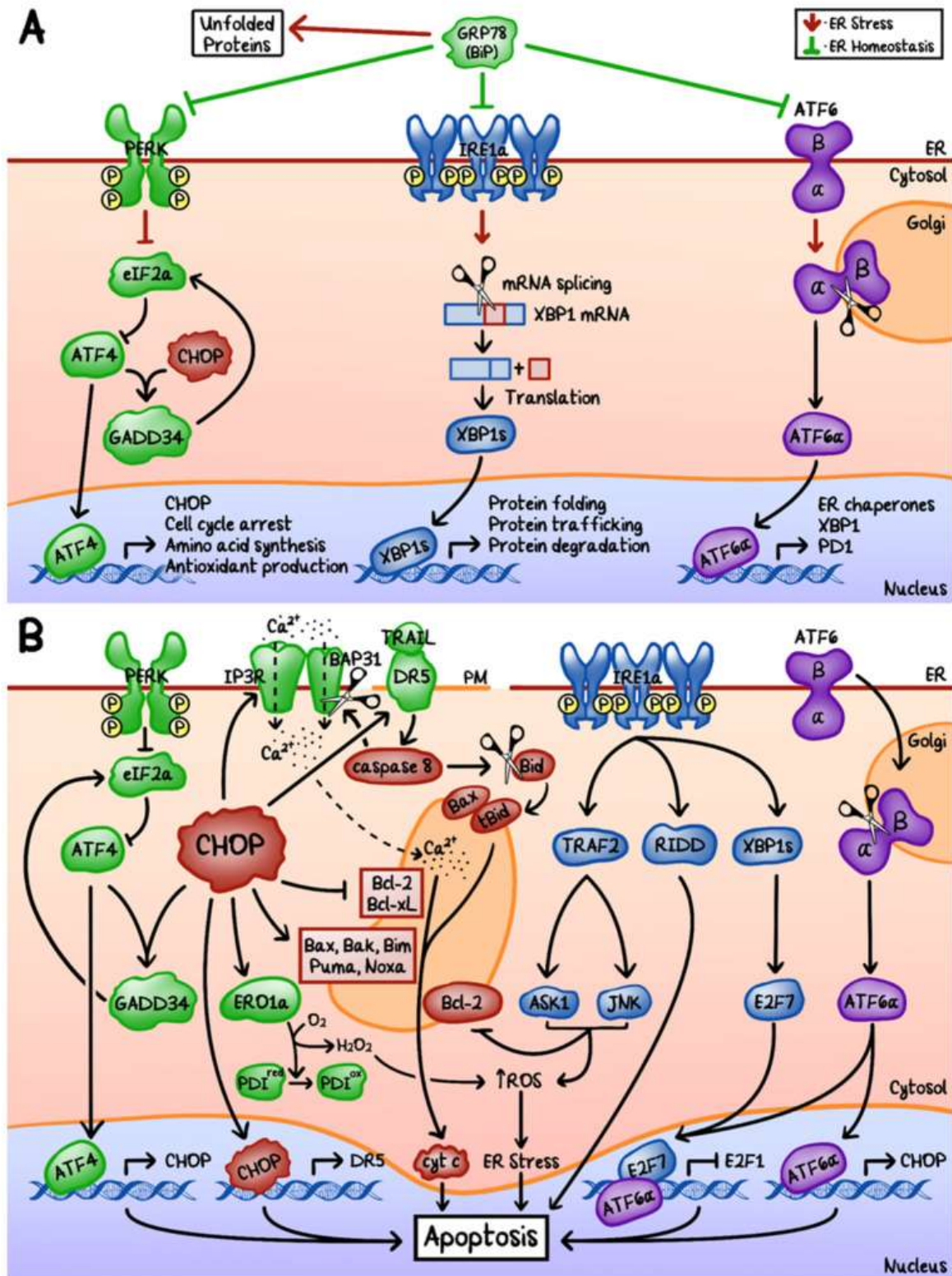
Pri rakovinách je redoxná rovnováha zmenená tak, že zvýšená produkcia ROS podporuje progresiu a expanziu nádoru a zároveň sa vyhýba bunkovej smrti. Pro-tumorové účinky zvýšenej tvorby ROS zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na, genómovú nestabilitu a zvýšenú proliferáciu [42 , 43 , 44] (Obrázok 2). ROS poškodzujú DNA oxidáciou guanínu a tvorbou 8-hydroxyguanínu a 8-nitroguanínu. To by mohlo viesť k deléciám/inzerciam, mutáciám v párovaní báz a zlomom reťazcov s následnou mutagénnou opravou [44 , 45]. Nestabilita genómu hrá kľúčovú úlohu v progresii nádoru prostredníctvom akumulácie mutácií, ktoré podporujú nekontrolovaný rast a vyhýbajú sa bunkovej smrti [43]. Proliferácia je ďalej zvýšená prostredníctvom oxidácie a aktivácie pro-rastových intracelulárnych signálnych dráh, vrátane dráh mitogénom aktivovanej proteínkinázy (MAPK) a dráhy fosfatidylinozitol-3-kinázy (PI3K)/proteínkinázy B (AKT). Nukleárny faktor kappa-light-chain-enhancer aktivovaných B buniek (NF- κ B), transkripčný faktor životne dôležitý pre rast a migráciu, sa tiež aktivuje ROS prostredníctvom inhibície fosforylácie inhibítora NF- κ B α (I κ B α), alebo prostredníctvom podpory S-glutathionylácie inhibítora NF- κ B kinázy podjednotky ρ (IKK ρ). Nakoniec, rakovinové bunky môžu prepojiť svoje signálne transdukčné dráhy, aby sa vyrovnali so zvýšenými intracelulárnymi ROS. Predovšetkým sa to dá dosiahnuť zvýšenou mitochondriálnou aktivitou SOD alebo inaktiváciou zachytávacích enzýmov [42,46] .

Toxické hladiny ROS však môžu vyvolať bunkovú smrť alebo autofágiu v rakovinových bunkách. ROS modulujú aktivitu vápnikových kanálov, púmp a výmenníkov oxidáciou ich Cys zvyškov [43]. Zvýšenie intracelulárneho mitochondriálneho vápnika alebo oxidácia lipidov poškodzuje mitochondriálnu membránu, čo vedie k uvoľneniu cytochrómu c, silného aktivátora apoptozómov [42 , 45]. ROS môže tiež priamo ovplyvniť aktivitu kaspázy a štiepenie Bcl-2 a/alebo zvýšiť expresiu receptorov bunkovej smrti, ako sú TRAIL a Fas [47]. Autofágia môže byť indukovaná aktiváciou dráhy mTOR.

2.2. Stres a rakovina endoplazmatického retikula (ER).

ER je dôležitá organela, ktorá hrá rozhodujúcu úlohu pri posttranslačnej modifikácii a skladaní proteínov, homeostáze vápnika a iných biologických procesoch [48 , 49]. Akumulácia neposkladaných a/alebo nesprávne poskladaných proteínov spúšťa reakciu rozloženého proteínu (UPR), ktorá pomáha znovu vyvážiť homeostázu ER. UPR dočasne zastaví syntézu proteínov a pokúsi sa opraviť a znovu poskladať proteíny. V prípade, že sa neposkladané a/alebo nesprávne poskladané proteíny nedajú včas opraviť, budú potom zamerané na degradáciu proteínov.

UPR je dobre preštudovaný bunkový proces (Obrázok 3A). Primárne je regulovaný 78-kDa glukózou regulovaným proteínom (GRP78), ktorý je známy aj ako väzbový imunoglobulínový proteín (BiP) [49]. V nestresových podmienkach GRP78 viaže a inhibuje tri transmembránové proteíny: inozitol vyžadujúce enzýmy 1 α (IRE1 α), kinázu pankreatického endoplazmatického retikula (PERK), ako aj aktivačný transkripčný faktor 6 (ATF6) [48 , 49]. Zatiaľ čo v podmienkach stresu ER sa GRP78 viaže na rozložené proteíny, disociuje sa od PERK, IRE1 α a ATF6 a vedie k aktivácii troch odlišných, ale vzájomne prepojených dráh. V smere kaskád PERK a ATF6 je aktivita CHOP zvýšená.



Homeostáza endoplazmatického retikula (ER), stres a rozložená proteínová odpoveď (UPR). (A) Homeostáza ER je sprostredkovaná 78-kDa glukózou regulovaným proteínom (GRP78). V stresových podmienkach sa GRP78 disociuje z pankreatickej endoplazmatickej retikulum kinázy (PERK), enzýmov vyžadujúcich inozitol 1 α (IRE1 α), ako aj aktivačného transkripčného faktora 6 (ATF6), čo vedie k aktivácii ich downstream signálnych kaskád, aby sa obnovila homeostáza ER . (B) Keď sa nepodarí obnoviť homeostázu ER, nadmerné UPR by mohlo viesť k apoptóze, predovšetkým prostredníctvom

upregulácie homológneho proteínu C/EBP (CHOP). PM: cytoplazmatická membrána; eIF2 α : eukaryotický iniciačný faktor 2 α ; ATF4: aktivačný transkripčný faktor 4; GADD34: proteín 34 indukovaný poškodením DNA; XBP1: proteín viažuci X-box (XBP1s: zostrihnutá forma); ERO1 α : oxidoreduktáza 1 α endoplazmatického retikula; PDI: proteín disulfid izomeráza; DR5: receptor smrti 5; TRAIL: ligand indukujúci apoptózu súvisiaci s TNF; IP3R: inozitol 1,4,5-trifosfátový receptor; BAP31: proteín 31 spojený s B bunkovým receptorom; Ponuka: BH3 Interacting Domain Death Agonist; TRAF2: faktor 2 spojený s receptorom tumor nekrotizujúceho faktora; RIDD: regulovaný rozpad závislý od IRE1; ASK1: kináza 1 regulujúca signál apoptózy; JNK: JUN N-koncová kináza; E2F7: E2F transkripčný faktor 7.

CHOP indukuje apoptózu prostredníctvom viacerých dráh (Obrázok 3B): (i) Zvyšuje transkripciu GADD34 [49]; (ii) Zvyšuje transkripciu ER oxidoreduktázy 1 alfa (ERO1 α), ktorá potom reoxiduje PDI a vytvára ROS; (iii) zvyšuje transkripciu inozitol 1,4,5-trifosfátového receptora (IP3R), čo potom zvyšuje hladinu vápnika v cytoplazme; (iv) Aktivuje vonkajšiu dráhu bunkovej smrti prostredníctvom receptora smrti 5 (DR5) a kaspázou-8 sprostredkovanú aktiváciu skráteného Bid (tBid), ktorá sa potom translokuje do mitochondrií a podporuje uvoľňovanie cytochrómu c; (v) Aktivuje vnútornú dráhu bunkovej smrti priamym znížením expresie faktorov prežitia, Bcl-2 a Bcl-xL, a zvýšením expresie proapoptotických faktorov, ako sú Bax, Bak, Bim, Puma a Noxa; (vi) Aktivuje kaspázu-8 prostredníctvom TRAIL-DR5 na cytoplazmatickej membráne, ktorý štiepi proteín 31 spojený s B bunkovým receptorom (BAP31) a tvorí p20. p20 potom uvoľňuje vápnik z ER do cytoplazmy, ktorý je vychytávaný mitochondriami a vedie k ďalšiemu uvoľňovaniu cytochrómu c.

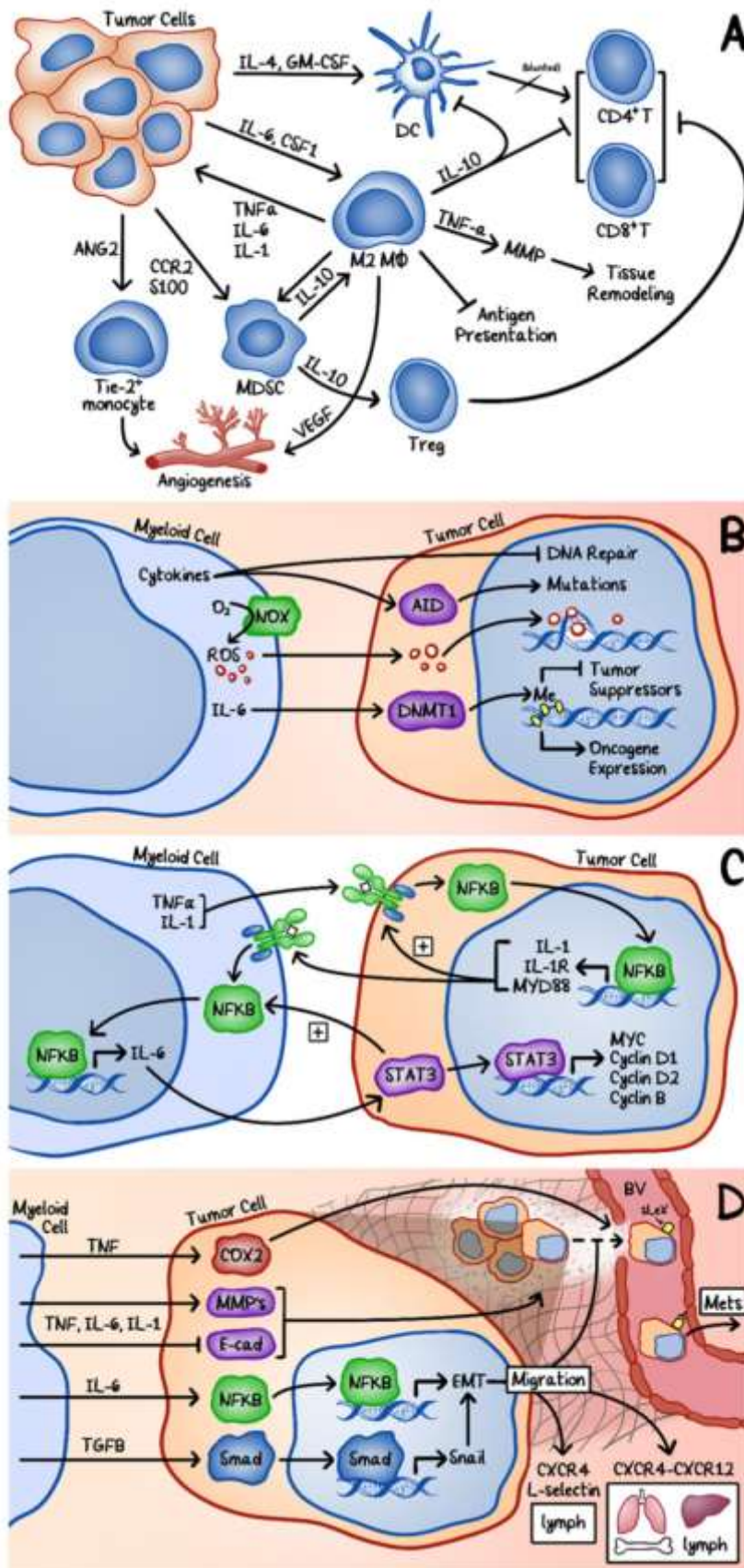
Počas svojho vývoja sa nádory vo veľkej miere spoliehajú na dráhu UPR pre prežitie buniek, pravdepodobne v dôsledku hypoxického prostredia a metabolického stresu sprevádzajúceho rýchlo rastúcu nádorovú hmotu. Napríklad PERK a ATF4 aktivujú vaskulárny endoteliálny rastový faktor (VEGF) a hypoxiou indukovaný faktor 1/2 (HIF1/2) pre angiogénu [48]. Umlčanie génu XBP1 zabránilo rastu nádoru a metastázovaniu trojnásobne negatívneho karcinómu prsníka (TNBC) in vivo [50]. Analýza s použitím bunkových línií TNBC ukázala, že zvýšená regulácia XBP1 zvýšila expresiu HIF1 α . Napriek tomu, keď je systém UPR preťažený, pre-apoptotické faktory sa stávajú dominantnými, čo vedie k bunkovej smrti.

2.3. Účinky zápalu a mikroprostredia na prežívanie nádoru, migráciu a únik imunity

Tkanivové mikroprostredie často hrá dôležitú úlohu pri podpore vzniku, expanzie a metastázovania nádoru. Nádorové mikroprostredie sa primárne skladá z infiltrovaných leukocytov vrátane makrofágov spojených s nádorom (TAM), dendritických buniek a supresorových buniek odvodených od myeloidov (MDSC) [51]. Presluchy medzi infiltrovanými bunkami a nádorovými bunkami by mohli potlačiť imunitnú odpoveď a vytvoriť prostredie podporujúce prežitie nádorových buniek.

Pri rozvoji rakoviny je nevyhnutné vyhnúť sa útoku imunitného systému. To sa dosahuje prostredníctvom dynamických interakcií medzi rôznymi cytokínmi a ich receptormi v mikroprostredí nádoru. Nádory aktívne vylučujú rôzne cytokíny, ktoré priťahujú rôzne infiltrujúce bunky, ako sú TAM, dendritické bunky, MDSC a imunosupresívne regulačné T bunky, ktoré následne pomáhajú nádorom vyhnúť sa útoku imunitného systému (Obrázok 4A). Cytokíny uvoľňované z myeloidných buniek môžu

tiež vyvolať genómovú nestabilitu v nádorových bunkách priamym poškodením DNA alebo epigenetickou zmenou expície génov (Obrázok 4B).



Súhra medzi nádorovými bunkami a zápalovými bunkami počas tumorigenézy. (A) Účinok nádorových buniek na zápalové bunky. Nádorové bunky vylučujú veľa cytokínov, aby zmenili mikroprostredie, aby podporili rast nádoru a inváziu a oslabili protinádorovú imunitnú odpoveď. (B) Zápalové bunky ovplyvňujú genómovú stabilitu nádorových buniek. AID: aktiváciou indukovaná cytidindeamináza; DNMT1: DNA metyltransferáza 1. (C) Zápalové bunky zvyšujú proliferáciu a prežitie nádorových buniek prostredníctvom autokrinnej a parakrinnej signalizácie. (D) Zápalové bunky podporujú migráciu, inváziu a metastázy nádorových buniek prostredníctvom produkcie cytokínov a chemokínov. COX-2: cyklooxygenáza 2; MMP: matricová metaloproteináza; E-cad: E-kadherín; EMT: epiteliálno-mezenchymálny prechod; sLex: sialyl Lewis X; CXCR: chemokínový receptor CXC; BV: krvná cieva.

Kľúčové zápalové mediátory pre proliferáciu a prežitie nádoru zahŕňajú NF- κ B a signálny prevodník a aktivátor transkripcie 3 (STAT3) (Obrázok 4C) [52]. IL-6, vylučovaný myeloidnými bunkami, aktivuje STAT3, ktorý potom upreguluje cyklíny D1, D2 a B, ako aj MYC, aby podporil proliferáciu nádorových buniek. STAT3 exprimovaný nádorovými bunkami ďalej zvyšuje sekréciu IL-6 myeloidnými bunkami prostredníctvom zvýšenej expresie NF- κ B v týchto zápalových bunkách, čím sa vytvára pozitívna spätná väzba. IL-22, produkovaný CD11c+ lymfoidnými bunkami, je tiež schopný aktivovať STAT3 v epitelových bunkách. Paralelne môže sekrécia TNF-a a IL-1 z leukocytov upregulovať expresiu NF- κ B v nádorových bunkách [52 , 53 , 54]. NF- κ B zase upreguluje expresiu IL-1 α , IL-1R a MYD88, čo môže ďalej zvýšiť aktivitu NF- κ B, čím sa vytvorí pozitívna autokrinná slučka [52]. Expresia NF- κ B môže byť priamo aktivovaná v imunitných bunkách zápalovými cytokínmi, TNF- α a IL-1, a TLR-MYD88 z poškodenia tkaniva [53 , 54]. Po smere signalizácie IL-6 sa tiež ukázalo, že NF- κ B indukuje epitelovo-mezenchymálny prechod (EMT), ktorý potom podporuje migráciu nádorových buniek [54]. V modeli rakoviny prostaty interakcia medzi aktivátorom receptora NF- κ B (RANK) na povrchu rakovinových buniek a ligandom RANK na infiltrujúcich leukocytoch podporovala metastázy prostredníctvom aktivácie dráhy NF- κ B. Táto NF- κ B/IL-6/STAT3 pozitívna spätná väzba je prítomná vo všetkých fázach tumorigenézy.

Okrem toho expresia STAT3 v leukocytoch spojených s nádorom tiež hrá kľúčovú úlohu pri modulácii imunity. Expresia STAT3 v zápalových bunkách umožňuje imunitný únik nádorov, zatiaľ čo delícia STAT3 v makrofágoch a neutrofiloch zvyšuje Th1-sprostredkovanú odpoveď so zvýšenou produkciou IFN γ , TNF- α a IL-1 [55]. Expresia STAT3 v myeloidných bunkách môže inhibovať dozrievanie dendritických buniek znížením ich expresie IL-12 a potláča imunitnú odpoveď zvýšením expresie IL-23 v TAM [53].

Súhrnne, aktivácia signálnych transdukčných dráh NF- κ B a STAT3 v rakovinových bunkách, ako aj v zápalových bunkách v mikroprostredí nádoru, poskytuje veľkú výhodu pre proliferáciu nádorových buniek, prežitie, migráciu a imunitný únik (Obrázok 4C, D).

Protirakovinové účinky CBD

3.1. Glióm

Glióm je najčastejšou primárnou malignitou mozgu. Glióm IV. stupňa, tiež nazývaný multiformný glioblastóm (GBM) alebo glioblastóm, je jedným z najagresívnejších typov rakoviny. Prognóza GBM je veľmi zlá s iba 4–5 % prežitím do piatich rokov. Súčasné liečebné modalita zahŕňajú chirurgický zákrok, po ktorom nasleduje rádioterapia a chemoterapia temozolomidom (TMZ) alebo karmustínom (BCNU). Bohužiaľ, väčšina nádorov GBM je na tieto liečby rezistentná.

Kanabinoidy boli vo veľkej miere študované pri gliómoch kvôli naliehavým neuspokojeným medicínskym potrebám. Tabuľka S1 sumarizuje publikované štúdie zamerané na účinky CBD na gliómy buď samostatne alebo spolu s BCNU, TMZ, tamoxifénom, cisplatinou, γ -žiarením, ATM inhibítormi a A9-THC [56 , 57 , 58 , 59 , 60 , 61 62 , 63 , 64] . V týchto štúdiách sa použilo veľa bunkových línií GBM s väčšinou použitím U87MG [56 , 57 , 58 , 60 , 61 , 6365 , 66 , 67 , 68 , 69 , 70 , 71 , 72 , 73 , 74] . Antiproliferačné účinky CBD na GBM sú celkom jasné, ale priemerné hodnoty IC50 CBD sa medzi rôznymi bunkovými líniami líšili: C6 (8,5 μ M) [67], U87MG (12,75 \pm 9,7 μ M), U373 (21,6 \pm 3,5 μ M) [65 , 75], U251 (4,91 \pm 6,1 uM) [57 , 60], SF126 (1,2 uM) [57] , T98 (8,03 \pm 4,0 uM) [58 , 59 , 6070 , 73], MZC (33,2 uM) [69] a GL261 (10,67 \pm 0,58 uM) [59] . Rozdiely medzi rôznymi publikáciami môžu byť spôsobené rozdielmi v postupoch vrátane testov používaných na meranie životaschopnosti a/alebo času expozície CBD.

Ukázalo sa, že CBD, samostatne alebo s inými látkami, úspešne indukuje bunkovú smrť, inhibuje bunkovú migráciu a inváziu in vitro, znižuje veľkosť nádoru, vaskularizáciu, rast a hmotnosť a zvyšuje prežitie a vyvoláva regresiu nádoru in vivo [58 , 59 , 62 , 65 , 68 , 70 , 71 , 74] . Pokiaľ ide o antiproliferačný účinok CBD na GBM, údaje ukazujú, že apoptóza sa vyskytuje nezávisle od CB 1 , CB 2 a TRPV1, ale je závislá od TRPV2 [58 , 65 , 66 , 67 , 69 , 72] . Konkrétne Ivanov a kol. zistili, že CBD, γ -žiarenie a inhibítor ATM KU60019 upregulujú signalizáciu TNF/TNFR1 a TRAIL/TRAIL-R2 spolu s DR5 v rámci vonkajšej apoptotickej dráhy [61 , 64] . CBD tiež aktivuje dráhy JNK-AP1 a NF-KB na vyvolanie bunkovej smrti. Menší dôraz sa kládol na úlohu autofágie alebo zastavenia bunkového cyklu v účinkoch sprostredkovaných CBD na gliové bunky [57 , 58 , 64 , 72 , 74] .

Bolo skúmaných mnoho následných účinkov CBD. Viaceré práce uvádzajú zvýšenú úroveň oxidačného stresu v bunkových línách GBM ošetrovaných CBD, ale nie A9-THC [58 , 65 , 73 , 76] . Massi a kol. zistili, že hladina ROS sa zvyšuje časovo závislým spôsobom, s významom už po piatich hodinách, keď boli bunky U87MG ošetrované 25 uM CBD [76] . Zároveň sa glutatión, antioxidant, výrazne znížil po šiestich hodinách liečby CBD. Na rozdiel od toho neexistuje žiadne výrazné zvýšenie ROS v normálnych gliových bunkách ošetrovaných CBD. Súbežná liečba CBD a antioxidantov, vrátane N-acetylcysteín (NAC) a α -tokoferol (tj vitamín E) zoslabili zabíjacie účinky CBD [58] . Celkovo vzaté, štúdie na bunkových línách GBM naznačujú, že CBD indukuje bunkovú smrť s najväčšou pravdepodobnosťou zvýšením regulácie ROS. Scott a kol. zistili, že CBD tiež zvyšuje expresiu proteínov tepelného šoku (HSP), o ktorých sa zistilo, že sú spojené so zvýšenou produkciou ROS, pretože NAC bráni úlohe HSP [73] . Je zaujímavé, že použitie inhibítorov HSP spolu s CBD preukázalo zvýšenie cytotoxického účinku a zníženie IC50 CBD .hodnota významne, od 11 \pm 2,7 uM do 4,8 \pm 1,9 uM v bunkách T98G. To naznačuje, že inhibítory HSP môžu byť použité ako doplnková liečba s CBD. Nedávno Aparicio-Blanco a spol. podávali CBD v lipidových nanokapsulách (LNC) GBM in vitro v snahe poskytnúť vzorec CBD s predĺženým uvoľňovaním [75] . LNC naplnené CBD boli účinnejšie pri znižovaní hodnôt IC50 , keď boli menšie a vystavené dlhší čas.

V GBM CBD inhibuje dráhu prežitia PI3K/AKT znížením fosforylácie AKT1/2 (pAKT) a p42/44 MAPK bez ovplyvnenia hladín celkového proteínu AKT a p42/44 MAPK [57 , 59 , 61 , 70 , 72 , 73] . Táto dráha môže byť tiež zodpovedná za autofágiu sprostredkovanú CBD v gliomových kmeňových bunkách, pretože v týchto bunkách je PTEN upregulovaný, zatiaľ čo AKT je downregulovaný [72] . Dráha PI3K

hrá dôležitú úlohu pri expresii TRPV2, ktorý je potenciálnym cieľom CBD. V U251 Δ9 - THC a CBD spolu, ale nie oddelene, znížili reguláciu p42/44 MAPK [57]. Zatiaľ čo Scott a spol. odhalili, že samotné bunky T98G a U87MG ošetrované CBD, aj keď vo vyššej koncentrácii (20 μM), znížili hladiny pAKT a p42/44 MAPK, a to ešte viac v kombinácii s γ-žiarením [59]. CBD môže tiež aktivovať proapoptickú dráhu MAP kinázy. Ivanov a kol. zistili, že liečba CBD spolu s γ-žiarením viedla k upregulácii aktívnych JNK1/2 a p38 MAPK, najmä v bunkách U87MG [61]. Avšak s použitím buniek U251 Marcu et al. ukázali, že A9 -THC a CBD nezvýšili aktivitu JNK1/2 alebo p38 MAPK [57]. Rozdiel môže byť spôsobený genetickým rozdielom medzi rôznymi bunkovými líniami GBM.

Massi a kol. skúmali, ako CBD moduluje 5-lipoxygenázu (5-LOX), COX-2 a endokanabinoidný systém v GBM [68 , 73 , 76]. Zistili, že CBD in vivo znížilo 5-LOX, ale nie COX-2. Liečba CBD tiež viedla k zvýšenej expresii amidhydrolázy mastných kyselín (FAAH), ktorá znižuje hladinu AEA, čo naznačuje, že CBD môže inhibovať produkciu zápalových mediátorov nepriamo zoslabovaním endokanabinoidného systému v GBM.

Okrem γ-žiarenia bol CBD testovaný aj s alkylačnými činidlami, najmä TMZ, pričom sa preukázalo, že spolu majú synergické antiproliferatívne účinky na gliómové bunky [60 , 62 , 63 , 74]. Kosgodage a kol. zistili, že bunky ošetrované CBD, samotné a s TMZ, zvýšili extracelulárne vezikuly (EV) obsahujúce antionkogénny miR-126 [63]. Boli tiež znížené hladiny proonkogénneho miR-21 a prohibitínu, ktoré sú zodpovedné za funkcie rezistentné voči chemoterapii a ochranné vlastnosti mitochondrií.

V predklinických modeloch GBM myší perorálne podávanie kombinácie A9 -THC a CBD podobnej Sativexu v pomere 1:1 s TMZ znížilo rast nádoru a zvýšilo prežitie [62 , 74]. Tieto zistenia viedli k dvom klinickým štúdiám fázy I/II [77 , 78]. Predbežné výsledky sú dostupné len pre jednu štúdiu a sú sľubné (NCT01812603) [79]. Pacienti s GBM boli liečení buď Sativexom, CBD:Δ9-THC (1:1), orálny-slizničný sprej s TMZ s intenzívnou dávkou alebo placebo a prvá časť štúdie nepreukázala žiadnu toxicitu 3. alebo 4. stupňa. V druhej časti tejto štúdie rovnaká kombinácia liekov zvýšila medián prežitia v porovnaní so skupinou s placebom so zvýšeným jednoročným prežitím o 83 % a 56 %. Najčastejšie hlásené nežiaduce účinky liečby boli závraty a nevoľnosť. Odolnosť voči liečbe TMZ môže byť znížená použitím kombinácií CBD: A9 -THC. Dúfame, že po zverejnení celej správy budú autori podrobnejšie diskutovať o bezpečnosti a účinnosti a pomôžu určiť, ktoré nežiaduce účinky možno pripísať Sativexu a TMZ.

Existuje aj niekoľko prípadových štúdií, ktoré popisovali použitie CBD u pacientov s gliómami vysokého stupňa [80 , 81]. Dvaja pacienti boli liečení prokarbazínom, lomustínom a vinkristínom spolu s CBD (jeden pacient v dávke 100–200 mg/deň perorálne a druhý v dávke 300–450 mg/deň perorálne) približne dva roky [80]. U oboch pacientov nedošlo počas dvoch rokov po liečbe k žiadnej progresii ochorenia. Nežiaduce účinky liečby zahŕňali vyrážku, stredne závažnú nevoľnosť, vracanie a únavu bez akejkoľvek lymfopénie, trombocytopénie, hepatálnej toxicity alebo neurotoxicity. V sérii prípadov popisujúcej deväť pacientov s GBM IV. stupňa sa priemerné prežitie s kombináciou chirurgického zákroku, rádioterapie a chemoterapie a CBD (200–400 mg/deň) predĺžilo na 22,3 mesiaca a dvaja pacienti nemali žiadne známky progresia ochorenia počas troch alebo viacerých rokov [81].

Celkovo vzaté, publikované výsledky naznačujú, že samotné CBD alebo v kombinácii s A9 -THC, TMZ alebo γ -žiarením sú veľmi sľubné pri liečbe gliómu. Okrem toho sa nepriaznivé účinky samotného CBD alebo spolu s A9 -THC zdajú byť relatívne neškodné.

3.2. Rakovina prsníka

Rakovina prsníka je hlavnou príčinou nových prípadov rakoviny a druhou hlavnou príčinou úmrtí žien na rakovinu v Spojených štátoch [82]. Účinky CBD na rakovinu prsníka sa skúmajú od roku 2006; výskum v tejto oblasti prešiel v poslednom čase rozšírením (tabuľka S2). Rôzne bunkové línie rakoviny prsníka sa použili na demonštráciu reakcie na CBD závislú od dávky, vrátane buniek pozitívnych na estrogénový receptor (ER) (MCF-7, ZR-75-1, T47D), ER-negatívnych buniek (MDA-MB -231, MDA-MB-468 a SK-BR3) a bunky trojnásobne negatívneho karcinómu prsníka (TNBC) (SUM159, 4T1up, MVT-1 a SCP2) [67 , 83 , 84 , 85 , 86 , 87 , 88]. Už 1 až 5 μ M CBD vyvolalo významnú bunkovú smrť v MDA-MB-231 po 24 hodinách [89]. Hodnoty IC 50 CBD pre väčšinu bunkových línií sú trvalo nízke, čo naznačuje, že bunkové línie rakoviny prsníka sú vo všeobecnosti citlivé na antiproliferatívne účinky CBD bez významného účinku na netransformované epiteliálne bunky prsníka [87].

CBD uplatňuje svoje antiproliferatívne účinky na bunky rakoviny prsníka prostredníctvom rôznych mechanizmov, vrátane apoptózy, autofágie a zastavenia bunkového cyklu [67 , 83 , 87]. Ligresti a kol. uviedli, že bunky MDA-MB-231 ošetrované CBD vyvolali apoptotický účinok zahŕňajúci kaspázu-3, zatiaľ čo CBD uplatnilo svoje účinky na MCF-7 prostredníctvom zastavenia bunkového cyklu v kontrolnom bode G1/S [67]. Ako už bolo povedané, zastavenie bunkového cyklu v kontrolnom bode G 1 / S bolo nedávno preukázané v bunkách MDA-MB-231 a 4T1 po liečbe CBD [90]. Počas aktivácie CB 2a TRPV1 receptory boli pozorované v MDA-MB-231 bunkách, účinok bol čiastočný. Novšie štúdie zistili, že antiproliferatívne účinky CBD na bunky rakoviny prsníka sú nezávislé od endokanabinoidných receptorov [87]. Neustále sa ukázalo, že CBD vytvára ROS, ktoré následne inhibujú proliferáciu a indukujú bunkovú smrť [63 , 67 , 87 , 88 , 89]. CBD uplatňuje svoje proapoptotické účinky downreguláciou mTOR, AKT, 4EBP1 a cyklínu D, zatiaľ čo upreguluje expresiu PPAR γ a jeho jadrovú lokalizáciu [83 , 87]. Shrivastava a kol. ukázali, že inhibícia AKT/mTOR signálnej dráhy a indukcia ER stresu tiež indukovali autofágiu popri apoptóze [87]. Pri zvýšených koncentráciách CBD alebo pri inhibícii autofágie sa hladiny apoptózy zvýšili. Ďalej ukázali, že CBD môže koordinovať apoptózu a autofágiu prostredníctvom translokácie a štiepenia Beclin-1.

Ukázalo sa tiež, že CBD inhibuje migráciu, inváziu a metastázy pri agresívnej rakovine prsníka in vivo a in vitro [67 , 84 , 88 , 90]. McAllister a kol. pozorovali zníženú reguláciu proteínu Id-1 prostredníctvom ERK a ROS v nádoroch MDA-MB-231 a MDA-MB-436 liečených CBD. Táto downregulácia korelovala s poklesom nádorovej invázie a metastáz [86 , 90]. Zistilo sa tiež, že expresia Id-1 je znížená v pľúcnych metastatických ložiskách. V súlade s týmito pozorovaniami CBD nedokázalo inhibovať pľúcne metastázy v bunkách rakoviny prsníka s nadmernou expresiou Id-1 [88]. Je zaujímavé, že táto istá štúdia ukázala, že pri nižšej koncentrácii (1,5 μ M), ktorá produkovala ROS a inhibovala expresiu Id-1 v bunkách MDA-MB-231, CBD neindukovalo autofágiu ani apoptózu [88]. Nedávno sa ukázalo, že CBD inhibuje proliferatívnu, migračnú a invazívnu povahu buniek TNBC potlačením aktivácie dráhy EGF/EGFR a jej následných cieľov (AKT a NF- κ B) [84]. MMP, faloidín a aktínové stresové vlákna sú dôležité pri invázii nádorov a boli tiež potlačené CBD. Tieto výsledky, keďže sa týkajú dráhy EGF/EGFR a MMP, faloidínových a aktínových stresových vlákien, boli tiež potvrdené in vivo. Ukázalo sa, že

veľkosť primárneho nádoru klesá spolu s počtom pľúcnych metastatických ložísk, objemom a vaskularizáciou u myši liečených CBD [84, 90]. Je zaujímavé, že keď sa CBD podávalo trikrát týždenne, a nie denne, ako to urobili McAllister et al., počet metastáz sa znížil a myši prežili dlhšie, ale primárny nádor sa neznižil [88, 90]. Zistilo sa, že znížená angiogenéza a invázia sú spôsobené zmenou v mikroprostredí nádoru, napríklad výrazným znížením CCL3, GM-CSF a MIP-2, čo viedlo k inhibícii náboru TAM (Obrázok 4A) [84]. Nakoniec ďalšia štúdia opísala syntetický kanabinoidný analóg, O-1663, ktorý sa ukázal byť účinnejší ako CBD aj A9-THC a podobne indukoval bunkovú smrť a autofágiu [88]. O-1663 tiež inhiboval agresivitu rakoviny prsníka in vitro a in vivo. Významne zvýšilo prežitie pri pokročilých metastázach rakoviny prsníka, inhibovalo tvorbu metastatických ložísk ≥ 2 mm a vyvolalo regresiu etablovaných metastatických ložísk, všetko bez výraznej toxicity. Celkovo dôkazy naznačujú, že existuje viacero mechanizmov, ktorými CBD bráni migrácii nádorov.

Kosgodage a kol. ukázali, že bunky rakoviny prsníka liečené CBD mali zvýšenú senzibilizáciu na cisplatinu. CBD významne znížilo uvoľňovanie exozómov a mikrovezikúl (EMV) (pri 100–200 nm), ktoré zvyčajne napomáhajú šíreniu nádorov a spôsobujú chemorezistenciu [89]. V tých istých bunkách MDA-MB-231 však došlo k zvýšeniu uvoľňovania väčších EMV (201–500 nm). Tieto bunky vykazovali koncentračne závislé zvýšenie ROS, úniku protónov, mitochondriálneho dýchania a hladín ATP. Autori pripisovali tieto účinky buď vyššej citlivosti, alebo príznakom vyskytujúcich sa pseudoapoptotických odpovedí, kde apoptotické faktory, ako je ROS, sú stále na nižšej úrovni, čo vedie ku konverzii apoptozómov na EMV. CBD inhibovalo paclitaxelom indukovanú neurotoxicitu prostredníctvom 5-HT_{1A} receptorového systému bez podmienenej odmeny alebo kognitívneho poškodenia [85]. Tiež znížila životaschopnosť buniek 4T1 a MDA-MB-231. CBD teda môže byť životaschopnou doplnkovou liečbou rakoviny prsníka, pretože môže senzibilizovať bunky, čo umožňuje predpisovať potenciálne nižšie dávky takýchto toxických chemikálií.

Celkovo sa ukázalo, že CBD je neustále účinné v mnohých bunkách rakoviny prsníka a myších modeloch, pokiaľ ide o jej antiproliferatívne a proapoptotické účinky, pričom mechanizmy týchto účinkov sa môžu líšiť. V tomto bode je naliehavá potreba klinických skúšok zameraných na protinádorový účinok CBD na rakovinu prsníka, pretože sa zdá, že ide o ďalší logický krok v progresii vývoja CBD ako alternatívnej liečby rakoviny prsníka.

3.3. Rakovina pľúc

Na základe epidemiologických štúdií American Cancer Society je rakovina pľúc druhou najčastejšou rakovinou u mužov aj žien [82]. Rakoviny pľúc sú klasifikované ako malobunkový karcinóm pľúc (SCLC, 13 %) a nemalobunkový karcinóm pľúc (NSCLC, 84 %), ktoré možno ďalej rozdeliť na adenokarcinóm, skvamocelulárny karcinóm a veľkobunkový karcinóm.

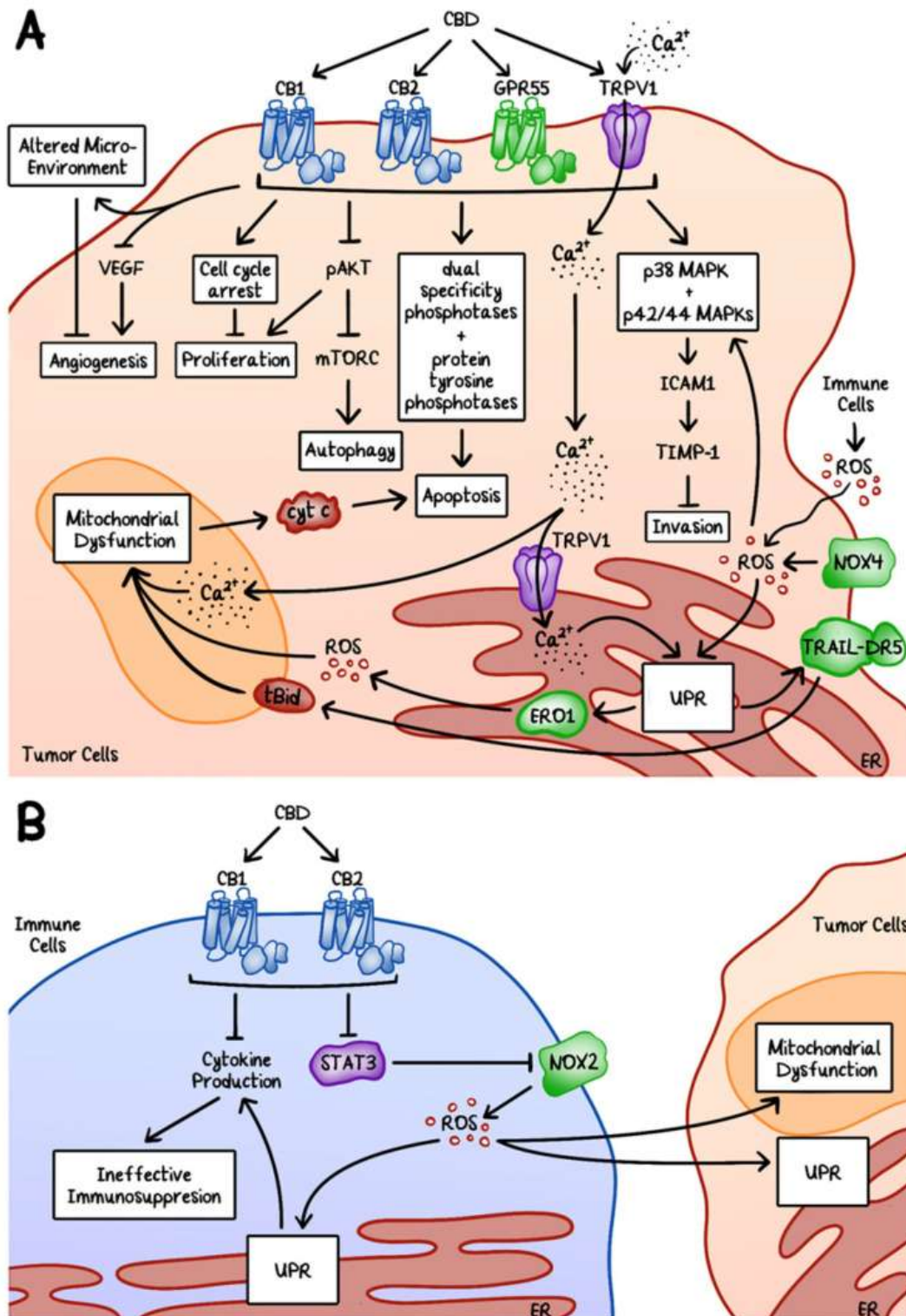
Ramer a kolegovia publikovali mnoho štúdií o účinkoch CBD na rakovinu pľúc (tabuľka S3) [91, 92, 93, 94]. Dôsledne používali test WST-1 na hodnotenie životaschopnosti rakoviny pľúc. CBD znížilo životaschopnosť dvoch bunkových línií NSCLC, A549 (bunková línia adenokarcinómu pľúc) a H460 (bunková línia veľkobunkového karcinómu pľúc), s hodnotami IC₅₀ 3,47 μ M a 2,80 μ M [94]. Došlo k 29 % a 63 % zníženiu invázie A549 po inkubácii s 0,001 μ M alebo 0,1 μ M CBD počas 72 hodín [92]. V bunkách A549 sa po ošetrení 0,001 μ M alebo 0,1 μ M CBD nezistila žiadna významná bunková smrť.

Ukázalo sa, že rôzne bunkové línie rakoviny pľúc (napr. A549, H358 a H460) exprimujú CB1, CB2 a TRPV1, na ktorých sa antiinvazívna funkcia CBD čiastočne opiera [91, 92, 93]. CBD tiež významne znížilo veľkosť nádoru a pľúcne metastatické uzliny (z priemeru 6 uzlín na iba 1 uzlík) v modeli nádoru s xenoštepom A549 [92, 93].

Jedným z mechanizmov proapoptotického účinku CBD je aktivácia COX-2, cesty degradácie endokanabinoidov, a PPAR- γ [94]. Liečba CBD pri 3 μ M v A549, H460 a bunkách primárneho pľúcneho nádoru od pacienta s mozgovými metastázami viedla k upregulácii COX-2 a PPAR- γ mRNA aj proteínu. Tieto pozorovania boli tiež potvrdené in vivo. Produkty odvodené od COX-2 (PGE2, PGD2 a 15d-PGJ2) boli tiež zvýšené v bunkách rakoviny pľúc ošetrovaných CBD. Potlačením aktivity COX-2 a PPAR- γ antagonistami alebo siRNA boli proapoptotické a cytotoxické účinky CBD výrazne oslabené. V súlade s myšlienkou na modeli pľúcneho nádoru inhibícia PPAR- γ pomocou GW9662 zvrátila supresívne účinky CBD na nádor.

Zatiaľ čo Ramer a spol. diskutovali o protinádorových účinkoch inhibítora aktivátora plazminogénu-1 (PAI-1), poskytli dôkazy podporujúce prvé z nich [92]. Pri 1 μ M CBD došlo k zníženiu PAI-1 mRNA a proteínu v A549, H358 a H460. Toto bolo potvrdené in vivo pomocou myšacieho modelu A549 s 5 mg/kg CBD trikrát týždenne. In vitro bola antiinvazívna vlastnosť CBD znížená knockdownom siRNA PAI-1 a bola zvýšená pri liečbe rekombinantného PAI-1. CBD-sprostredkovaný pokles PAI-1 je čiastočne spôsobený aktiváciou CB1, CB2 a TRPV1, pretože ich antagonizy zvrátili účinok. Preto CBD funguje ako agonista CB1, CB2 a TRPV1 pri rakovine pľúc.

Hodnotili sa tkanivové inhibítory MMP (TIMP), ktoré súvisia s antiinvazívnym účinkom CBD a zistilo sa, že sú indukované CBD spôsobom závislým od času a koncentrácie [93]. CBD-sprostredkovaná upregulácia TIMP-1 bola pripísaná aktivácii CB1, CB2 a TRPV1. CBD tiež aktivovalo p38 MAPK a p42/44 MAPK, dva downstream ciele TRPV1. Na pripojenie CB1, CB2 a TRPV1 k aktivácii MAPK a TIMP-1 Ramer a kol. skúmali expresiu a funkciu intercelulárnej adhézne molekuly-1 (ICAM-1), transmembránového glykoproteínu podieľajúceho sa na metastázovaní nádoru [91] (Obrázok 5A). Časovo a koncentračne závislé zvýšenie ICAM-1 bolo pozorované v CBD ošetrovaných A549, H358, H460 a bunkách od pacienta s mozgovým metastatickým NSCLC. Bolo tiež pozorované zvýšenie expresie TIMP-1 mRNA, ale nastalo po zvýšení ICAM-1 mRNA. Expresia ICAM-1 bola závislá od aktivácie p42/44 MAPK a p38 MAPK. V in vivo modeli A549 vykazujúcom antiinvazívne vlastnosti CBD boli tiež upregulované ICAM-1 a TIMP-1. Inaktivácia ICAM-1 pomocou neutralizačnej protilátky a siRNA viedla k zníženiu aktivácie TIMP-1, ako aj k zníženiu antiinvazívnych vlastností CBD. Tieto údaje naznačujú, že MAPK aktivujú ICAM-1, ktorý potom stimuluje funkciu TIMP-1, ktorý následne potláča inváziu nádoru.



Účinky CBD na rakovinové bunky a infiltráciu imunitných buniek. (A) Prostredníctvom svojich interakcií s receptormi CB1 , CB2 a TRPV1 indukuje CBD zastavenie bunkového cyklu a apoptózu v rakovinových bunkách. (B) CBD tiež viaže receptory CB 1 a CB 2 na infiltrujúcich zápalových bunkách a narúša produkciu protumorogénnych cytokínov, čo vedie k neúčinnnej imunosupresii a podporuje smrť nádorových buniek. Produkcia ROS fagocytárnymi bunkami narúša ER a mitochondriálnu homeostázu v nádorových bunkách, čo vedie k apoptóze. UPR: rozložená proteínová odpoveď.

V samostatnej štúdií Haustein a kol. skúmali CBD-indukovanú expresiu ICAM-1 na cytotoxicitu sprostredkovanú lymfokínom aktivovaným zabíjaním (LAK) [95]. Liečba 3 uM CBD indukovala expresiu ICAM-1 a lýzu nádorových buniek sprostredkovanú LAK bunkami v A549 a H460, spolu s metastatickými bunkami od pacienta s NSCLC. Zvýšená náchylnosť na adhéziu a lýzu prostredníctvom LAK v bunkách ošetrovaných CBD bola zvrátená použitím neutralizačnej protilátky ICAM-1. Tento efekt bunkovej lýzy bol zvrátený použitím ICAM-1 siRNA spolu s antagonistami CB1 , CB2 a TRPV1. Antigén asociácie funkcie lymfocytov (LFA-1) zvrátil CBD-indukované zabíjacie účinky na LAK bunky, čo naznačuje, že funguje ako protireceptor ICAM-1 [95]. Nakoniec, CBD neindukovalo bunkami LAK sprostredkovanú lýzu a upreguláciu ICAM-1 nenádorových bronchiálnych epitelových buniek, čo naznačuje, že tento účinok je špecifický pre rakovinové bunky.

Celkovo tieto štúdie naznačujú, že prostredníctvom receptorov CB1 , CB2 a TRPV1 CBD aktivuje p38 MAPK a p42/44 MAPK, ktoré najskôr indukujú ICAM-1 a potom TIMP- 1 . Upregulácia ICAM-1 a TIMP-1 potom tlmí inváziu rakoviny pľúc (Obrázok 5A).

V súčasnosti nie sú publikované žiadne výsledky klinickej štúdie s použitím CBD na liečbu pacientov s rakovinou pľúc. V nedávnej kazuistike sa však 81-ročný pacient pokúsil samostatne liečiť svoj pľúcny adenokarcinóm pomocou CBD oleja [96]. Pri prvej diagnóze s hmotnosťou 2,5 × 2,5 cm a viacerými mediastinálnymi masami bola pacientovi odmietnutá chemoterapia a rádioterapia vzhľadom na jeho vek a profil toxicity týchto liečebných postupov. O rok neskôr však počítačová tomografia (CT) ukázala, že nádor a mediastinálne lymfatické uzliny začali ustupovať. Počas tohto obdobia bol primárnym faktorom, ktorý sa zmenil, že začal užívať 2% CBD olej. Nežiaduce účinky zahŕňali miernu nevoľnosť a nepríjemnú chuť.

3.4. Kolorektálny karcinóm

V USA je kolorektálny karcinóm (CRC) treťou najčastejšou príčinou úmrtí na rakovinu u mužov aj žien [82]. Štúdie využívajúce dve CRC bunkové línie, Caco-2 a DLD-1, ako aj zdravé a rakovinové tkanivá od deviatich pacientov s CRC, naznačujú, že produkcia endokanabinooidov je významne zvýšená u prekancerózných adenomatózných polypov a v menšej miere aj v rakovinovom tkanive hrubého čreva [97]. Normálne ľudské kolorektálne tkanivo exprimuje CB1 aj CB2 spolu s AEA, 2-AG a enzýmami metabolizujúcimi endokanabinoidy, ako je FAAH . Transformované adenomatózne polypy majú zvýšené hladiny 2-AG v porovnaní s normálnymi kolorektálnymi tkanivami. Zatiaľ čo bunky DLD-1 exprimujú CB 1 aj CB 2 bunky Caco- 2 exprimujú iba CB1 . V závislosti od štádia rakoviny môžu endokanabinoidy buď inhibovať alebo podporovať rast CRC. V závislosti od štádia rakoviny teda môžu byť aktivátory aj inhibítory endokanabinooidného systému užitočné v boji proti CRC.

Účinky CBD na CRC sú zhrnuté v tabuľke S4 . Zabíjanie buniek CRC pomocou CBD v závislosti od dávky bolo preukázané mnohými štúdiami, avšak hodnoty IC50 SW480 boli hlásené ako nízke až 5,95 μ M a vysoké až 16,5 μ M počas 48 hodín [98 , 99 100] . Táto zabíjacia odpoveď závislá od dávky je špecifická pre bunky CRC a nie pre normálne ľudské kolorektálne bunky [101]. Hodnota IC50 pre CaCo -2 bola uvedená ako 7,5 \pm 1,3 uM [67]. Za fyziologických podmienok kyslíka v hrubom čreve, odhadovaných okolo 5 %, boli Caco-2 ešte citlivejšie na CBD, pričom vykazovali pokles proliferácie pri 0,5 μ M v porovnaní s 1 μ M pod atmosférickým kyslíkom (~20 %) [102] . Rovnaká štúdia zistila, že za

fyziologických podmienok kyslíka sú antiproliferatívne účinky CBD pravdepodobne spôsobené jeho schopnosťou indukovať mitochondriálne ROS. Apoptóza bola opísaná ako hlavná cesta bunkovej smrti prostredníctvom CBD pri CRC [98 , 101 , 103].

Sreevalsan a kol. použili bunky SW480 s 15 uM CBD, aby ukázali, že apoptóza bola závislá od fosfatázy a endokanabinoidov [98]. Po 24 hodinách CBD vyvolalo expresiu rôznych fosfatáz s dvojitou špecifickosťou a proteínových tyrozínfosfatáz, vrátane DUSP1, DUSP10, sérového ACPP, bunkového ACPP a PTPN6. V súlade s hypotézou sa apoptóza znížila použitím inhibítora fosfatázy, ortovanadátu sodného (SOV). Zničením CB 1 a CB 2 tiež inhibovalo apoptózu. Spoločne tieto štúdie naznačujú, že apoptotický účinok CBD v CRC je prostredníctvom endokanabinoidného systému a aktivácie jeho následných cieľov, vrátane rôznych fosfatáz.

Ukázalo sa, že CBD indukuje apoptózu sprostredkovanú Noxa prostredníctvom generovania ROS a nadmerného stresu ER [101]. V bunkách HCT116 a DLD-1 liečba CBD vyvolala nadprodukciiu ROS, najmä mitochondriálneho superoxidového aniónu, a to súviselo s aktiváciou Noxa. Jeong a kol. tiež zistili, že apoptóza aktivovaná Noxa bola závislá od nadmerného stresu ER z ATF3 a ATF4 [101]. Tieto proteíny viažu promótor Noxa a stimulujú jeho expresiu. Podobne, in vivo, CBD-ošetrované CRC nádory tiež viedli k významnému zníženiu veľkosti nádoru a indukcii apoptózy pomocou Noxa.

Použitím buniek HCT115 a Caco-2 Aviello et al. zistili, že 10 uM CBD má antiproliferatívne účinky prostredníctvom viacerých mechanizmov [104]. CBD môže pôsobiť prostredníctvom nepriamej aktivácie receptorov zvýšením endokanabinoidov, konkrétne 2-AG, v CRC bunkových líniách. In vivo CBD v dávke 1 mg/kg významne znížilo azoxymetánom indukované aberantné kryptové ložiská, polypy, nádory a percento myší nesúcich polypy. Zistilo sa, že protinádorový mechanizmus CBD prebieha prostredníctvom downregulácie dráhy PI3K/AKT a upregulácie kaspázy-3.

Niekoľko štúdií tiež skúmalo CBD ako doplnok k chemoterapii pre CRC [101 , 103]. CRC sa často lieči chirurgicky v spojení s kombináciou 5-fluóruracilu, leukovorínu a oxaliplatinu (FOLFOX). V snahe prekonať potenciálnu rezistenciu voči FOLFOX, Jeong et al. ošetrili bunky DLD-1 a colo205 rezistentné na oxaliplatinu oxaliplatinou a CBD (4 μ M) a zistili, že CBD dokázalo zvýšiť autofágiu sprostredkovanú oxaliplatinou prostredníctvom zníženej fosforylácie NOS3, ktorá sa podieľa na produkcii oxidu dusnatého (NO) a hrá úlohu pri rezistencii na oxaliplatinu [100]. Kombinácia oxaliplatinu a CBD spôsobila mitochondriálnu dysfunkciu (znížená spotreba kyslíka, potenciál mitochondriálnej membrány, aktivita mitochondriálneho komplexu I a počet mitochondrií) prostredníctvom zníženej expresie SOD2. Tieto výsledky boli potvrdené aj in vivo.

Alternatívna cieleňá terapia rakoviny CRC, ligand indukujúci apoptózu súvisiaci s TNF (TRAIL), tiež preukázal rezistenciu, ktorú možno prekonať pridaním CBD (4 uM) do buniek HCT116, HT29 a DLD-1 [103]. CBD a TRAIL zvýšili apoptózu prostredníctvom aktivácie génov súvisiacich so stresom ER, vrátane PERK, CHOP a DR5. In vivo TRAIL s CBD preukázal významný pokles rastu nádoru a zvýšený počet apoptotických buniek. Celkovo tieto štúdie terapie FOLFOX a TRAIL naznačujú, že CBD možno považovať za terapeutickú možnosť pre CRC alebo možno ako doplnkovú liečbu, aby fungovala

synergicky s konvenčnými chemoterapiami. V súčasnosti neexistujú žiadne klinické štúdie súvisiace s CBD v CRC, avšak tieto zistenia týkajúce sa synergických účinkov CBD s chemoterapiou sú veľmi sľubné a sú dobrým dôvodom na klinické skúšanie v budúcnosti.

3.5. Leukémia/lymfóm

Naše chápanie účinkov CBD na leukémiu a lymfóm sa v posledných rokoch rozšírilo (tabuľka S5). Bunkové línie EL-4 a Jurkat sú bežne používané modely pre lymfóm a leukémiu, v danom poradí. CBD vyvolalo na dávke a čase závislý zabíjací účinok na tieto leukemické a lymfómové bunkové línie, zatiaľ čo monomolekulárne bunky periférnej krvi boli voči CBD odolnejšie [105 , 106 , 107 , 108 , 109].

McKallip a kol. [106] zistili, že v bunkách EL-4 aj Jurkat boli antiproliferatívne účinky CBD sprostredkované prostredníctvom CB 2 , ale nezávisle od CB 1 a TRPV1 [106]. Avšak v samostatnej štúdii Olivas-Aguirre et al. ukázali, že účinky CBD sú nezávislé od endokannabinoidných receptorov a Ca²⁺ + kanálov plazmatickej membrány v bunkách Jurkat [110]. Tieto protichodné výsledky je potrebné vyriešiť budúcimi štúdiami. Napriek tomu väčšina výskumov leukémie/lymfómov potvrdila apoptózu ako mechanizmus, ktorým dochádza k bunkovej smrti sprostredkovanej CBD, buď samostatne alebo v kombinácii s inými liečebnými modalitami, vrátane γ -žiarenia, Δ 9-THC, vinkristín a cytarbín [105 , 106 , 107 , 110]. Jedna štúdia tiež preukázala, že CBD znížilo nádorové zaťaženie a vyvolalo apoptózu in vivo [106]. Kalenderoglou a kol. zistili, že CBD môže vyvolať zastavenie bunkového cyklu v bunkách Jurkat so zvýšeným počtom buniek vo fáze G1 [108]. Liečba CBD tiež viedla k zmenám morfológie buniek, vrátane zníženej veľkosti buniek, rozsiahlej vakuolizácie, opuchnutých mitochondrií, rozobratých ER a Golgiho a krvácania z plazmatickej membrány [108 , 110].

Podobne ako výsledky iných rakovín, ako je uvedené vyššie, CBD tiež vyvolalo ROS pri leukémii a lymfóme [106 , 110 , 111]. Liečba Jurkatom a MOLT-4, ďalšou leukemickou bunkovou líniou, s $\geq 2,5$ μ M CBD počas 24 hodín vyvolala zvýšené hladiny ROS [106]. Ošetrovanie buniek spolu s lapačmi ROS, α -tokoferolom a NAC znížilo zabíjacie účinky CBD. Expozícia CBD tiež zvýšila NOX4 a p22 phox, zatiaľ čo inhibícia NOX4 a p22 phox znížila hladiny ROS a inhibovala bunkovú toxicitu vyvolanú CBD. V súlade s týmito pozorovaniami boli hladiny ROS významne zvýšené už po dvoch hodinách liečby CBD v bunkách EL-4 so súčasným poklesom bunkových tiolov [111].

Kalenderoglou a kol. skúmali účinky CBD na dráhu mTOR v bunkách Jurkat [108]. Zistili, že CBD znižuje fosforyláciu AKT a ribozomálneho proteínu S6. Tiež testovali účinky CBD s rôznymi podmienkami živín a kyslíka a zistili, že antiproliferatívne účinky CBD samotného alebo spolu s doxorubicínom boli väčšie s 1% sérom ako s 5% sérom. Olivas-Aguirre a kol. zistili, že keď boli Jurkatove bunky ošetrované nižšími koncentráciami CBD, stále dochádzalo k proliferácii (pri 1 μ M CBD) a autofágia bola zvýšená pri 10 μ M CBD [110]. Avšak pri vyšších koncentráciách (30 μ M) sa aktivovala vnútorná apoptotická dráha, čo viedlo k uvoľneniu cytochrómu c a Ca²⁺ +preťaženie v mitochondriách. V bunkových líniách Burkittovho lymfómu, Jiyoye a Mutu I, AF1q stimuloval bunkovú proliferáciu a znižoval expresiu ICAM-1, vďaka čomu sa bunky stali odolnými voči chemoterapiám [104]. Po vystavení CBD počas 24 hodín bol účinok rezistentný na chemoterapiu dramaticky oslabený.

3.6. Rakovina prostaty

Rakovina prostaty je najčastejšou rakovinou a druhou najčastejšou príčinou úmrtí súvisiacich s rakovinou u mužov [82]. Podrobný súhrn štúdií popisujúcich účinky CBD na rakovinu prostaty možno nájsť v tabuľke S6 . Bunkové línie rakoviny prostaty použité v týchto štúdiách možno rozdeliť na androgénny receptor (AR)-pozitívne (LNCaP a 22RV1) a AR-negatívne (DU-145 a PC-3). CBD môže inhibovať expresiu androgénneho receptora v AR-pozitívnych bunkových líniách [112]. Pokiaľ ide o endokannabinoidné receptory, v závislosti od špecifického typu rakovinových buniek, buď CB 1 alebo CB 2 , alebo oboje, sú v bunkách rakoviny prostaty upregulované v porovnaní s normálnymi bunkami prostaty [112 , 113]. Konkrétne 22RV1 exprimuje iba CB1, zatiaľ čo DU-145 exprimuje iba CB2 . Hoci CB 1 a CB 2 možno nájsť v LNCaP aj PC-3, ich hladiny sú oveľa výraznejšie v PC-3. TRPV1 je exprimovaný vo všetkých štyroch bunkových líniách rakoviny prostaty, pričom najvyššia expresia sa nachádza v bunkách DU-145.

CBD indukované antiproliferatívne účinky a apoptózou sprostredkovaná bunková smrť (prostredníctvom vnútornej dráhy) v bunkách rakoviny prostaty, ktoré môžu byť závislé od CB 2 , ale nie CB 1 , a prechodného receptorového potenciálneho kationového kanála, člena podrodiny M 8 (TRPM8) receptor v LNCaP bunkách [112 , 113]. Okrem toho sa ukázalo, že liečba CBD znižuje expresiu prostatického špecifického antigénu (PSA), vaskulárneho endotelového rastového faktora (VEGF) a prozápalových cytokínov [113]. Liečba CBD viedla k zastaveniu bunkového cyklu pri prechode G0/G1 v bunkách LNCaP a PC3 a prechodu G1/S v bunkách DU-145.

Podobne ako CRC, Sreevalsan et al. zistili, že fosfatázy s duálnou špecifickosťou a proteín tyrozín fosfatázy boli tiež indukované CBD v bunkách LNCaP [98]. Inhibícia fosfatáz inhibítorom fosfatázy, SOV, znížila štiepenie PARP. Okrem toho CBD zvýšilo fosforyláciu p38 MAPK. Najnovšie Kosgodage a spol. zistili, že v PC3 liečba CBD (1 uM a 5 uM) znížila uvoľňovanie EMV [89 , 114]. Ukázalo sa tiež, že CBD znižuje mitochondriálne asociované proteíny, prohibitín a STAT3, čo môže byť príčinou poklesu EMV.

V tomto bode bola vykonaná iba jedna štúdia testujúca účinnosť CBD na rakovinu prostaty in vivo. Pred prechodom do fázy klinického skúšania je potrebných viac kvalitných štúdií s použitím myších modelov.

3.7. Iné typy rakoviny:

Boli tiež hlásené účinky CBD na rôzne iné druhy rakoviny, avšak v menšej miere (tabuľka S7). Bunkové línie rakoviny krčka maternice liečené CBD mali zabíjacie účinky závislé od času a koncentrácie, ktoré sa ukázali ako sprostredkované apoptózou a nezávislé od zastavenia bunkového cyklu [93 , 115]. Liečba CBD viedla k upregulácii p53 a Bax, proapoptotického proteínu, a downregulácii RBBP6 a Bcl-2, dvoch antiapoptotických proteínov, v bunkách SiHa, HeLa a ME-180 [115]. CBD tiež znížilo inváziu HeLa a C33A, ktorá bola závislá od CB 1 , CB 2 a TRPV1. Ramer a kol. tiež zistilo, že táto antiinvazívna vlastnosť CBD je spojená s upreguláciou p38 MAPK a p42/44 MAPK, spolu s ich downstream cieľom, TIMP-1, ktorý je podobný rakovine pľúc, ako je uvedené vyššie (Obrázok 5A).

CBD (1 μ M a 5 μ M) tiež znížilo životaschopnosť buniek bunkovej línie hepatocelulárneho karcinómu, Hep G2, spôsobom závislým od dávky po 24 hodinách [89]. Podobne ako bunkové línie prsníka a prostaty, MDA-MB-231 a PC3, bunky Hep G2 ošetrené CBD znížili uvoľňovanie EMV a expresiu CD63, prohibitínu a STAT3. Okrem toho ošetrenie buniek Hep G2 pomocou CBD ich senzibilizovalo na cisplatinu. Neumann-Raizel a kol. použili bunkovú líniu myšieho hepatocelulárneho karcinómu, BNL1 ME, ktorá exprimuje funkčné TRPV2 kanály, na demonštráciu účinkov CBD v spojení s doxorubicínom [116]. Ukázalo sa, že CBD (10 μ M) aktivuje TRPV2 a inhibuje transportér P-glykoproteínu ATPázy, čo umožňuje zvýšený vstup a akumuláciu doxorubicínu do bunky, pretože je transportovaný cez cytoplazmatickú membránu cez TRPV2 a pumpovaný von z bunky pomocou P- transportér glykoproteínu ATPázy. Tieto účinky boli pravdepodobne zodpovedné za schopnosť CBD znížiť dávku doxorubicínu potrebnú na zníženie životaschopnosti a proliferácie buniek.

Čo sa týka rakoviny štítnej žľazy, CBD vyvolalo antiproliferatívny účinok v KiMol prostredníctvom aktivácie apoptózy a zastavenia bunkového cyklu [67]. Ukázalo sa, že KiMol obsahuje zvýšené hladiny CB 1 , CB 2 a TRPV1, ale inhibítory CB 1 , CB 2 a TRPV1 len mierne znížili antiproliferatívne účinky CBD. CBD (5 mg/kg dvakrát týždenne) vyvolalo protinádorové účinky aj na myšom modeli nádoru štítnej žľazy.

Taha a spol. skúmali pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc štádia IV, karcinómom z jasných buniek obličiek a pokročilým melanómom liečených imunoterapiou nivolumabom (látka proti PD-1) a pacientov, ktorí navyše užívali kanabis vrátane CBD a A 9 -THC [117]. Ukázali zníženú mieru odpovede na liečbu v skupinách používajúcich kanabis s nivolumabom, zatiaľ čo pacienti, ktorí kanabis neužívali, mali 3,17-krát vyššiu pravdepodobnosť odpovede na liečbu nivolumabom. Užívanie kanabisu však nevedlo k žiadnemu významnému rozdielu v celkovom prežívaní a prežívaní bez progresie. Táto skupina naznačila, že môže existovať možná negatívna interakcia medzi kanabisom a imunoterapiou.

CBD znížilo bunkovú proliferáciu a tvorbu kolónií spôsobom závislým od koncentrácie v rakovinových bunkách žalúdka bez ovplyvnenia normálnych žalúdočných buniek [67 , 118 , 119]. Bunková línia adenokarcinómu žalúdka, AGS, má hojnú expresiu TRPV1 bez detekcie CB 1 alebo CB 2 [67]. Zhang a kol. zistili, že CBD vyvolalo zastavenie bunkového cyklu inhibíciou expresie CDK2 a cyklínu E v SGC-7901, ďalšej bunkovej línii rakoviny žalúdka [119]. Okrem toho CBD zvýšilo expresiu ATM a p21 a zároveň znížilo expresiu p53. Antiproliferatívne účinky CBD v SGC-7901 sa tiež pripisovali apoptóze závislej od mitochondrií, pretože zvýšila aktivitu kaspázy-3 a kaspázy-9, uvoľňovanie cytochrómu c a expresiu Apaf-1, Bad a Bax. proteínov a znížila expresiu Bcl-2. Zastavenie bunkového cyklu a apoptóza indukované CBD boli spojené so zvýšenými hladinami ROS. Vo viacerých bunkových líniiach rakoviny žalúdka Jeong et al. ukázali, že CBD spôsobil apoptózu vyvolaním ER stresu, ktorý potom upreguloval druhý mitochondriálny aktivátor kaspázy (Smac) [118]. Upregulácia Smac viedla k downregulácii X-viazaného inhibítora apoptózy (XIAP) prostredníctvom ubikvitinácie/aktivácie proteazómu. Ukázalo sa tiež, že CBD vyvoláva mitochondriálnu dysfunkciu (Obrázok 5A), ako je znázornené znížením spotreby kyslíka vyvolaným CBD, produkciou ATP, potenciálom mitochondriálnej membrány a podjednotkou 9 subkomplexu NADH dehydrogenáza ubichinón 1 α . In vivo myši, ktorým bola podaná injekcia MKN45, ďalšej bunkovej línie rakoviny žalúdka, vykazovali pomalší nádor rast a menšia veľkosť nádoru pri liečbe CBD (20 mg/kg) trikrát týždenne. Rovnako ako štúdie in vitro, CBD podporovalo apoptózu a znížovalo expresiu XIAP v nádoroch.

Bunkové línie rakoviny melanómu (B16 a A375) exprimujú endokanabinoidné receptory, CB 1 a CB 2 [120]. Predchádzajúce štúdie tiež ukázali, že aktivácia týchto receptorov s A9 - THC znížila rast melanómu, proliferáciu, angiogénu a metastázy in vivo [120]. Zatiaľ čo Δ^9 -THC vyzerá sľubne ako liečebná modalita melanómu, o účinkoch CBD na melanóm sa zatiaľ len málo skúmalo. Nedávna štúdia Simmermana a kol. testované CBD na myšom modeli melanómu (B16F10) [121]. Vytvorili tri skupiny myší: kontrolné (liečené etanolom a PBS), liečené cisplatinou (5 mg/kg intraperitoneálne raz týždenne) a liečené CBD (5 mg/kg intraperitoneálne dvakrát týždenne). Čas prežitia sa významne zvýšil a veľkosť nádoru sa významne znížila u myší liečených CBD v porovnaní s kontrolnými myšami, ale s menším účinkom v porovnaní s myšami liečenými cisplatinou. Kvalita života bola subjektívne opísaná a zistilo sa, že myši liečené CBD majú lepšiu kvalitu života, zlepšený pohyb a menej nepriateľských interakcií/bojov v porovnaní s kontrolami a myšami liečenými cisplatinou. Táto štúdia nezahŕňala skupinu kombinovanej liečby CBD a cisplatinou. Na pochopenie účinkov CBD na bunky ľudského melanómu je potrebný ďalší výskum.

Rakoviny pankreasu, najmä pankreatický duktálny adenokarcinóm (PDAC), zaznamenali len málo zlepšení v liečbe a prežití. Ferro a kol. použili rakovinové bunkové línie PDAC, vrátane ASPC1, HPAFII, BXPC3 a PANC1, ako aj myši KRAS Wt/G12D /TP53 WT/R172H /Pdx1-Cre +/+ (KPC) ako modely PDAC na preukázanie akumulácie GPR55 v PDAC tkaniva a že jeho narušenie viedlo k zlepšeniu prežitia a zníženiu proliferácie in vivo aj in vitro [122]. K tomu došlo hlavne zastavením bunkového cyklu pri prechode G1/S znížením expície cyklínov bez zvýšenia apoptózy. Okrem toho zistili, že downstream signálna dráha MAPK/ERK je inhibovaná v bunkách zbavených GPR55. In vivo liečba KPC myší s CBD (100 mg/kg) zvýšila prežitie podobne ako gemcitabín (GEM) (100 mg/kg), a keď sa CBD a GEM použili spolu, prežitie sa zvýšilo asi trojnásobne v porovnaní s kontrolou. Touto kombináciou sa tiež znížila proliferácia buniek. CBD bol tiež schopný pôsobiť proti zvýšenej aktivácii ERK pomocou GEM, čo je navrhovaný mechanizmus získanej rezistencie voči GEM.

Zhrnutie a závery

Ako dokazuje veľký objem vyššie uvedenej literatúry, CBD preukázalo silné antiproliferatívne a proapoptotické účinky na širokú škálu typov rakoviny v kultivovaných rakovinových bunkových líniách aj v modeloch myších nádorov. Na porovnanie, CBD má vo všeobecnosti miernejšie účinky na normálne bunky z rovnakého tkaniva/orgánu. Protinádorové mechanizmy sa líšia v závislosti od typov nádorov, od zastavenia bunkového cyklu po autofágiu, bunkovú smrť alebo v kombinácii. Okrem toho môže CBD tiež inhibovať migráciu nádorov, inváziu a neovaskularizáciu (Obrázok 5A), čo naznačuje, že CBD nepôsobí len na nádorové bunky, ale môže ovplyvňovať aj nádorové mikroprostredie, napríklad moduláciou infiltrujúcich mezenchymálnych buniek a imunitných buniek. Závislosť CBD na endokanabinoidných receptoroch, CB 1 a CB 2, alebo na rodine vápnikových kanálov TRPV sa tiež mení, čo naznačuje, že CBD môže mať viacero bunkových cieľov a/alebo rôzne bunkové ciele v rôznych nádoroch (stôl 1). Mechanicky sa zdá, že CBD narúša bunkovú redoxnú homeostázu a vyvoláva drastické zvýšenie stresu ROS a ER, čo by potom mohlo spôsobiť zastavenie bunkového cyklu, autofágiu a účinky bunkovej smrti (Obrázok 5A). Pre budúce štúdie je kľúčové objasniť vzájomné pôsobenie medzi rôznymi signálnymi transdukčnými dráhami, ako sú ROS, ER stres a zápal, aby sme lepšie pochopili, ako liečba CBD narúša bunkovú homeostázu v nádorových bunkách, ako aj v infiltrujúcich bunkách, čo vedie k smrti rakovinových buniek a inhibícia migrácie, invázie, metastáz a angiogénu nádoru. Posledným krokom vývoja CBD ako onkologického lieku sú rozsiahle a dobre navrhnuté klinické štúdie, ktoré sú naliehavo potrebné.

4.1. Bunkové ciele CBD

Aj keď sa afinita CBD k CB 1 a CB 2 považuje za relatívne nízku, CB 1 aj CB 2 môžu byť stále cieľmi CBD v určitých rakovinových bunkách a v infiltrujúcich bunkách v mikroprostredí nádoru. Ďalšie identifikované bunkové ciele CBD zahŕňajú TRPV1, TRPV2, GPR55 a možno aj iné GPCR alebo non-GPCR. Ako je zhrnuté vstôl 1sa tieto bunkové ciele môžu líšiť v závislosti od typov rakoviny. Napríklad účinky CBD pri glióme závisia od TRPV2, ale nie od CB 1, CB 2 a TRPV1 [58, 66, 67, 69, 72, 106]. Na druhej strane, účinky CBD pri rakovine pľúc, hrubého čreva, prostaty a krčka maternice do značnej miery závisia od určitej kombinácie CB 1, CB 2 a TRPV1 [91, 92, 93, 95, 98, 113]. Jednoduchá prítomnosť týchto receptorov na povrchu rakovinových buniek nie je nevyhnutne dobrým prediktorom citlivosti CBD. Napríklad CB1, CB2 a TRPV1 sú vysoko exprimované na bunkovom povrchu bunkovej línie rakoviny štítnej žľazy, SkiMol; avšak inhibícia týchto receptorov len mierne ovplyvnila antiproliferatívny účinok CBD v SkiMol [67].

4.2. CBD indukuje intracelulárny ROS a ER stres a zvyšuje imunitnú odpoveď

Hoci bunková odpoveď na liečbu CBD môže byť pomerne zložitá, objavili sa určité témy, ktoré vysvetľujú jej protinádorové účinky. Jednou zo spoločných čŕt rakovinových buniek liečených CBD je drastické zvýšenie ROS (stôl 1), pravdepodobne spôsobené narušením intracelulárnej vápnikovej homeostázy a/alebo mitochondriálnych funkcií. Stres ER a produkcia ROS spolu úzko súvisia a sú prísne regulované prostredníctvom aktivity ERO1 [123] (Obrázok 5A). Každá dráha môže aktivovať druhú, ale nakoniec vyvrcholia aktiváciou mitochondriou sprostredkovanej bunkovej smrti v dôsledku zvýšeného intracelulárneho vápnika. Upstream regulácia apoptózy vyvolanej stresom ROS a ER je do značnej miery neznáma. Jedným z možných mechanizmov sú kanály TRPV. Napríklad Wang a kol. preukázali, že liečba buniek rakoviny vaječníkov antagonistom TRPV1, DWP05195, zvýšila produkciu ROS prostredníctvom upregulácie NOX; zvýšená aktivita ROS upregulovaná CHOP, čo vedie k apoptóze sprostredkovanej ER stresom. Je zaujímavé, že antagonist TRPV1 drasticky nezmenil hladiny vápnika [124]. To naznačuje ďalší možný mechanizmus vnútrobunkovej regulácie vápnika – enzýmy NOX. Ukázalo sa, že uvoľňovanie vápnika z ER aktivuje NOX, čo vedie k produkcii ROS v endotelových bunkách [125]. To, či CBD - indukovaný ER stres a tvorba ROS sú sprostredkované aktiváciou CB1, CB2, TRPV1 alebo iných kanálov, si vyžaduje ďalšie skúmanie. CBD môže regulovať vnútrobunkový vápnik cez transmembránové kanály alebo uvoľňovanie ER, čo vedie k apoptóze.

Endokannabinoidné receptory, CB1 a CB2, sú vysoko exprimované na zápalových bunkách, vrátane B buniek, NK buniek, monocytov, T buniek a neutrofilov. Okrem toho je CB2 diferencovane exprimovaný, keď sa aktivujú B bunky a makrofágy. Štúdie týkajúce sa imunomodulačnej úlohy endokannabinoidného systému ukázali, že aktivácia CB 2 inhibuje produkciu TNF- α , IL-6 a IL-8 v monocytoch a makrofágoch [126]. Nie je prekvapujúce, že CBD znížilo produkciu TNF-a v makrofágoch po stimulácii LPS. Okrem toho CBD tiež znížilo vylučovanie IL-1p a TNF-a z aktivovaných lymfocytov a monocytov v periférnej krvi.

Sekrécia cytokínov je tiež do značnej miery sprostredkovaná produkciou ROS, hlavným zdrojom sú imunitné bunky exprimujúce NOX2. MSDC produkujú ROS v mnohých typoch rakoviny prostredníctvom zvýšenej expresie NOX2, ktorá je regulovaná STAT3 [127]. Ukázalo sa, že CBD znižuje hladiny STAT3 pri kolorektálnom karcinóme, rakovine prostaty, hepatocelulárnom karcinóme,

rakovine prsníka, leukémii a lymfómoch [89 , 101 , 106]. MDSC bez NOX2 neboli schopné zabrániť proliferácii T buniek a produkcii IFN γ [128 , 129]. Inhibícia STAT3 prostredníctvom CBD teda zvyšuje imunitnú odpoveď Th1 a je hlavným zdrojom produkcie ROS, čo vedie k smrti nádorových buniek. Je potrebné ďalej skúmať, či je downregulácia STAT3 v imunitných bunkách spojených s nádorom sprostredkovaná agonistom CBD alebo inverzným agonistickým účinkom na receptory CB2 .

4.3. Bezpečnosť CBD u ľudí

Väčšina výskumov týkajúcich sa účinkov CBD na rakovinu sa ešte nedostala do fázy klinického skúšania, takže sme obmedzení v chápaní bezpečnostného profilu pri dávkach potrebných na inhibíciu rastu nádoru. Štúdia CBD a A9 - THC pri liečbe GBM od Twelves et al. opísali závraty a nauzeu ako najčastejšie nežiaduce účinky [79]. Mimo oblasti liečby rakoviny sa ukázalo, že CBD je bezpečné bez vyvolania zmien srdcovej frekvencie, krvného tlaku, neurologických testov alebo krvných testov [130]. Na rozdiel od iných kontrolovaných látok sa u pacientov nezdá, že by si vyvinuli toleranciu na CBD [131]. Môžu sa vyskytnúť liekové interakcie s CBD, pretože tiež ovplyvňuje expresiu rôznych enzýmov CYP, preto je potrebná opatrnosť u pacientov, ktorí užívajú lieky metabolizované v pečeni [130].

4.4. Naliehavá potreba klinických skúšok

Ako je uvedené vyššie, existuje rozsiahly predklinický výskum, ktorý naznačuje, že CBD je účinným protirakovinovým činidlom buď samostatne, alebo v spojení s inými kanabinoidmi, chemoterapiami a radiačnou terapiou. Aj keď CBD spôsobuje miernu hepatotoxicitu u myší a mačiek, predbežné štúdie toxicity naznačujú, že stále môže existovať terapeutické okno pre liečbu rakoviny u ľudí [132 , 133 , 134]. Preto sú systematické klinické skúšky CBD, ktoré určujú jeho bezpečnosť a účinnosť pri rôznych druhoch rakoviny, ďalším logickým krokom vo vývoji CBD ako onkologického lieku. To by sa dalo dosiahnuť samotným CBD alebo v kombinácii so zavedenými terapeutickými modalitami.

Referencie

1. Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003;4:873–884. doi: 10.1038/nrn1247. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
2. Matsuda L.A., Lolait S.J., Brownstein M.J., Young A.C., Bonner T.I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nat. Cell Biol.* 1990;346:561–564. doi: 10.1038/346561a0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
3. Munro S., Thomas K.L., Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nat. Cell Biol.* 1993;365:61–65. doi: 10.1038/365061a0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
4. Howlett A.C. The cannabinoid receptors. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002;68:619–631. doi: 10.1016/S0090-6980(02)00060-6. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Devane W.A., Hanus L., Breuer A., Pertwee R.G., A Stevenson L., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992;258:1946–1949. doi: 10.1126/science.1470919. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

6. Stella N., Schweitzer P.J., Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nat. Cell Biol.* 1997;388:773–778. doi: 10.1038/42015. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
7. Sugiura T., Kishimoto S., Oka S., Gokoh M. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog. Lipid Res.* 2006;45:405–446. doi: 10.1016/j.plipres.2006.03.003. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
8. Mechoulam R., Ben-Shabat S., Hanus L., Ligumsky M., Kaminski N.E., Schatz A.R., Gopher A., Almog S., Martin B.R., Compton D.R., et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* 1995;50:83–90. doi: 10.1016/0006-2952(95)00109-D. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
9. Chen X., Yang W., Fan Y., Luo J., Hong K., Wang Z., Yan J., Lu J., Benovic J., Zhou N. Structural determinants in the second intracellular loop of the human cannabinoid CB1 receptor mediate selective coupling to Gs and Gi. *Br. J. Pharmacol.* 2010;161:1817–1834. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01006.x. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
10. Lauckner J.E., Hille B., Mackie K. The cannabinoid agonist WIN55,212-2 increases intracellular calcium via CB1 receptor coupling to Gq/11 G proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005;102:19144–19149. doi: 10.1073/pnas.0509588102. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
11. Roland A.B., Ricobaraza A., Carrel D., Jordan B.M., Rico F., Simon A., Humbert-Claude M., Ferrier J., McFadden M.H., Scheuring S., et al. Cannabinoid-induced actomyosin contractility shapes neuronal morphology and growth. *eLife.* 2014;3:e03159. doi: 10.7554/eLife.03159. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
12. Saroz Y., Kho D.T., Glass M., Graham E.S., Grimsey N.L. Cannabinoid Receptor 2 (CB2) Signals via G-alpha-s and Induces IL-6 and IL-10 Cytokine Secretion in Human Primary Leukocytes. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2019;2:414–428. doi: 10.1021/acspstsci.9b00049. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
13. Lu D., Immadi S.S., Wu Z., Kendall D.A. Translational potential of allosteric modulators targeting the cannabinoid CB1 receptor. *Acta Pharmacol. Sin.* 2018;40:324–335. doi: 10.1038/s41401-018-0164-x. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
14. Howlett A.C., Abood M.E. CB 1 and CB 2 Receptor Pharmacology. *Cannabinoid Pharm.* 2017;80:169–206. doi: 10.1016/bs.apha.2017.03.007. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
15. Howlett A.C. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacol. Rev.* 2002;54:161–202. doi: 10.1124/pr.54.2.161. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
16. Di Marzo V., Bisogno T., De Petrocellis L. The Biosynthesis, Fate and Pharmacological Properties of Endocannabinoids. *Bile Acids Recept.* 2005:147–185. doi: 10.1007/3-540-26573-2_5. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
17. Ryberg E., Larsson N., Sjögren S., Hjorth S., Hermansson N.-O., Leonova J., Elebring T., Nilsson K., Drmota T., Greasley P.J. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br. J. Pharmacol.* 2007;152:1092–1101. doi: 10.1038/sj.bjp.0707460. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

18. O'sullivan S. Cannabinoids go nuclear: Evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2007;152:576–582. doi: 10.1038/sj.bjp.0707423. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
19. Hastrate A., Prevarskaya N., Lehen'Kyv V. Role of the TRPV Channels in the Endoplasmic Reticulum Calcium Homeostasis. *Cells.* 2020;9:317. doi: 10.3390/cells9020317. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
20. Pellati F., Brighenti V., Sperlea J., Marchetti L., Bertelli D., Benvenuti S. New Methods for the Comprehensive Analysis of Bioactive Compounds in *Cannabis sativa* L. (hemp) *Molecules.* 2018;23:2639. doi: 10.3390/molecules23102639. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
21. Brighenti V., Pellati F., Steinbach M., Maran D., Benvenuti S. Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp) *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017;143:228–236. doi: 10.1016/j.jpba.2017.05.049. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
22. Thomas A., Baillie G.L., Phillips A.M., Razdan R.K., A Ross R., Pertwee R.G. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 2007;150:613–623. doi: 10.1038/sj.bjp.0707133. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
23. Sarfaraz S., Adhami V.M., Syed D.N., Afaq F., Mukhtar H. Cannabinoids for Cancer Treatment: Progress and Promise. *Cancer Res.* 2008;68:339–342. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2785. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
24. Wang D., Wang H., Ning W., Backlund M.G., Dey S.K., Dubois R.N. Loss of cannabinoid receptor 1 accelerates intestinal tumor growth. *Cancer Res.* 2008;68:6468–6476. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0896. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
25. Mukhopadhyay B., Schuebel K., Mukhopadhyay P., Cinar R., Godlewski G., Xiong K., Mackie K., Lizak M., Yuan Q., Goldman D., et al. Cannabinoid receptor 1 promotes hepatocellular carcinoma initiation and progression through multiple mechanisms. *Hepatology.* 2015;61:1615–1626. doi: 10.1002/hep.27686. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
26. Messalli E.M., Grauso F., Luise R., Angelini A., Rossiello R. Cannabinoid receptor type 1 immunoreactivity and disease severity in human epithelial ovarian tumors. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014;211:234.e1–234.e6. doi: 10.1016/j.ajog.2014.04.004. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
27. Benz A.H., Renné C., Maronde E., Koch M., Hohmann U., Kallendrusch S., Rengstl B., Newrzela S., Hartmann S., Hansmann M.-L., et al. Expression and Functional Relevance of Cannabinoid Receptor 1 in Hodgkin Lymphoma. *PLoS ONE.* 2013;8:e81675. doi: 10.1371/journal.pone.0081675. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
28. Pérez-Gómez E., Andradas C., Blasco-Benito S., Caffarel M.M., García-Taboada E., Villa-Morales M., Moreno E., Hamann S., Martín-Villar E., Flores J.M., et al. Role of Cannabinoid Receptor CB2 in HER2 Pro-oncogenic Signaling in Breast Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2015;107:djv077. doi: 10.1093/jnci/djv077. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
29. Dumitru C.A., Sandalcioglu I.E., Karsak M. Cannabinoids in Glioblastoma Therapy: New Applications for Old Drugs. *Front. Mol. Neurosci.* 2018;11:159. doi: 10.3389/fnmol.2018.00159. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

30. Jung C.K., Kang W.K., Park J.M., Ahn H.J., Kim S.W., Oh S.T., Choi K.Y. Expression of the cannabinoid type I receptor and prognosis following surgery in colorectal cancer. *Oncol. Lett.* 2012;5:870–876. doi: 10.3892/ol.2012.1081. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
31. Martínez-Martínez E., Gómez I., Martín P., Sánchez A., Román L., Tejerina E., Bonilla F., Merino A.G., De Herreros A.G., Provencio M., et al. Cannabinoids receptor type 2, CB2, expression correlates with human colon cancer progression and predicts patient survival. *Oncoscience.* 2015;2:131–141. doi: 10.18632/oncoscience.119. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
32. A Carchman R., Harris L.S., E Munson A. The inhibition of DNA synthesis by cannabinoids. *Cancer Res.* 1976;36:95–100. [PubMed] [Google Scholar]
33. Munson A.E., Harris L.S., Friedman M.A., Dewey W.L., Carchman R.A. Antineoplastic Activity of Cannabinoids2. *J. Natl. Cancer Inst.* 1975;55:597–602. doi: 10.1093/jnci/55.3.597. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
34. Bifulco M., Laezza C., Pisanti S., Gazzero P. Cannabinoids and cancer: Pros and cons of an antitumour strategy. *Br. J. Pharmacol.* 2006;148:123–135. doi: 10.1038/sj.bjp.0706632. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
35. Bifulco M., Malfitano A., Pisanti S., Laezza C. Endocannabinoids in endocrine and related tumours. *Endocr. Relat. Cancer.* 2008;15:391–408. doi: 10.1677/ERC-07-0258. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
36. Ramer R., Hinz B. Cannabinoids as Anticancer Drugs. *Cannabinoid Pharmacol.* 2017;80:397–436. doi: 10.1016/bs.apha.2017.04.002. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
37. Administration UFaD: FDA Approves First Drug Comprised of an Active Ingredient Derived from Marijuana to Treat Rare, Severe Forms of Epilepsy. [(accessed on 22 July 2020)];2018 Available online: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm611046.htm>.
38. Drug Enforcement Administration, Department of Justice Schedules of Controlled Substances: Placement in Schedule V of Certain FDA-Approved Drugs Containing Cannabidiol; Corresponding Change to Permit Requirements. Final order. *Fed. Regist.* 2018;83:48950–48953. [PubMed] [Google Scholar]
39. Pertwee R.G., A Ross R., Craib S.J., Thomas A. (-)-Cannabidiol antagonizes cannabinoid receptor agonists and noradrenaline in the mouse vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.* 2002;456:99–106. doi: 10.1016/S0014-2999(02)02624-9. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
40. Bih C.I., Chen T., Nunn A.V.W., Bazetot M., Dallas M.L., Whalley B.J. Molecular Targets of Cannabidiol in Neurological Disorders. *Neurotherapeutics.* 2015;12:699–730. doi: 10.1007/s13311-015-0377-3. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
41. Holmström K.M., Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014;15:411–421. doi: 10.1038/nrm3801. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
42. Moloney J.N., Cotter T.G. ROS signalling in the biology of cancer. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2018;80:50–64. doi: 10.1016/j.semcd.2017.05.023. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
43. Zhang J., Wang X., Vikash V., Ye Q., Wu D., Liu Y., Dong W. ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2016;2016:1–18. doi: 10.1155/2016/4350965. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

44. Gill J.G., Piskounova E., Morrison S.J. Cancer, Oxidative Stress, and Metastasis. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2016;81:163–175. doi: 10.1101/sqb.2016.81.030791. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
45. Murata M. Inflammation and cancer. *Environ. Health Prev. Med.* 2018;23:1–8. doi: 10.1186/s12199-018-0740-1. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
46. Guo B., Han X., Tkach D., Huang S.-G., Zhang D. AMPK promotes the survival of colorectal cancer stem cells. *Anim. Model. Exp. Med.* 2018;1:134–142. doi: 10.1002/ame2.12016. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
47. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim. et Biophys. Acta (BBA) Bioenerg.* 2016;1863:2977–2992. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
48. Corazzari M., Gagliardi M., Fimia G.M., Piacentini M. Endoplasmic Reticulum Stress, Unfolded Protein Response, and Cancer Cell Fate. *Front. Oncol.* 2017;7:78. doi: 10.3389/fonc.2017.00078. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
49. Limonta P., Moretti R.M., Marzagalli M., Fontana F., Raimondi M., Marelli M.M. Role of Endoplasmic Reticulum Stress in the Anticancer Activity of Natural Compounds. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:961. doi: 10.3390/ijms20040961. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
50. Chen X., Iliopoulos D., Zhang Q., Tang Q., Greenblatt M.B., Hatziaepostolou M., Lim E., Tam W.L., Ni M., Chen Y., et al. XBP1 promotes triple-negative breast cancer by controlling the HIF1 α pathway. *Nat. Cell Biol.* 2014;508:103–107. doi: 10.1038/nature13119. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
51. Coussens L. Session 2: Inflammation and Cancer. *Toxicol. Pathol.* 2004;32:732. doi: 10.1080/01926230490882402. [CrossRef] [Google Scholar]
52. Elinav E., Nowarski R., Thaiss C.A., Hu B., Jin C., Flavell R.A. Inflammation-induced cancer: Crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat. Rev. Cancer.* 2013;13:759–771. doi: 10.1038/nrc3611. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
53. Porta C., Larghi P., Rimoldi M., Totaro M.G., Allavena P., Mantovani A., Sica A. Cellular and molecular pathways linking inflammation and cancer. *Immunobiology.* 2009;214:761–777. doi: 10.1016/j.imbio.2009.06.014. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
54. Mantovani A., Allavena P., Sica A., Balkwill F.R. Cancer-related inflammation. *Nat. Cell Biol.* 2008;454:436–444. doi: 10.1038/nature07205. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
55. Lee H., Pal S.K., Reckamp K., Figlin R.A., Yu H. STAT3: A Target to Enhance Antitumor Immune Response. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2010;344:41–59. doi: 10.1007/82_2010_51. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
56. Jacobsson S.O.P., Rongård E., Stridh M., Tiger G., Fowler C.J. Serum-dependent effects of tamoxifen and cannabinoids upon C6 glioma cell viability. *Biochem. Pharmacol.* 2000;60:1807–1813. doi: 10.1016/S0006-2952(00)00492-5. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
57. Marcu J.P., Christian R.T., Lau D., Zielinski A.J., Horowitz M.P., Lee J., Pakdel A., Allison J., Limbad C., Moore D.H., et al. Cannabidiol Enhances the Inhibitory Effects of 9-Tetrahydrocannabinol on Human Glioblastoma Cell Proliferation and Survival. *Mol. Cancer Ther.* 2010;9:180–189. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0407. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

58. Torres S., Lorente M., Rodríguez-Fornés F., Hernández-Tiedra S., Salazar M., García-Taboada E., Barcia J., Guzmán M., Velasco G. A Combined Preclinical Therapy of Cannabinoids and Temozolomide against Glioma. *Mol. Cancer Ther.* 2011;10:90–103. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0688. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
59. Scott K.A., Dalglish A.G., Liu W.M. The Combination of Cannabidiol and Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Enhances the Anticancer Effects of Radiation in an Orthotopic Murine Glioma Model. *Mol. Cancer Ther.* 2014;13:2955–2967. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0402. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
60. Deng L., Ng L., Ozawa T., Stella N. Quantitative Analyses of Synergistic Responses between Cannabidiol and DNA-Damaging Agents on the Proliferation and Viability of Glioblastoma and Neural Progenitor Cells in Culture. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2017;360:215–224. doi: 10.1124/jpet.116.236968. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
61. Ivanov V.N., Wu J., Hei T.K. Regulation of human glioblastoma cell death by combined treatment of cannabidiol, γ -radiation and small molecule inhibitors of cell signaling pathways. *Oncotarget.* 2017;8:74068–74095. doi: 10.18632/oncotarget.18240. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
62. López-Valero I., Torres S., Salazar-Roa M., García-Taboada E., Hernández-Tiedra S., Guzmán M., Sepúlveda J.M., Velasco G., Lorente M. Optimization of a preclinical therapy of cannabinoids in combination with temozolomide against glioma. *Biochem. Pharmacol.* 2018;157:275–284. doi: 10.1016/j.bcp.2018.08.023. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
63. Kosgodage U.S., Uysal-Onganer P., MacLatchy A., Mould R., Nunn A.V., Guy G.W., Kraev I., Chatterton N.P., Thomas E.L., Inal J.M., et al. Cannabidiol Affects Extracellular Vesicle Release, miR21 and miR126, and Reduces Prohibitin Protein in Glioblastoma Multiforme Cells. *Transl. Oncol.* 2019;12:513–522. doi: 10.1016/j.tranon.2018.12.004. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
64. Ivanov V.N., Wu J., Wang T.J., Hei T.K. Inhibition of ATM kinase upregulates levels of cell death induced by cannabidiol and γ -irradiation in human glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2019;10:825. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
65. Massi P., Vaccani A., Ceruti S., Colombo A., Abbracchio M.P., Parolaro D. Antitumor effects of cannabidiol, a non-psychotropic cannabinoid, on human glioma cell lines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003;10:255–267. [Google Scholar]
66. Vaccani A., Massi P., Colombo A., Rubino T., Parolaro D. Cannabidiol inhibits human glioma cell migration through a cannabinoid receptor-independent mechanism. *Br. J. Pharmacol.* 2005;144:1032–1036. doi: 10.1038/sj.bjp.0706134. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
67. Ligresti A., Moriello A.S., Starowicz K., Matias I., Pisanti S., De Petrocellis L., Laezza C., Portella G., Bifulco M., Di Marzo V. Antitumor Activity of Plant Cannabinoids with Emphasis on the Effect of Cannabidiol on Human Breast Carcinoma. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006;318:1375–1387. doi: 10.1124/jpet.106.105247. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
68. Massi P., Valenti M., Vaccani A., Gasperi V., Perletti G., Marras E., Fezza F., Maccarrone M., Parolaro D. 5-Lipoxygenase and anandamide hydrolase (FAAH) mediate the antitumor activity of cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid. *J. Neurochem.* 2008;104:1091–1100. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.05073.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

69. Nabissi M., Morelli M.B., Santoni M., Santoni G. Triggering of the TRPV2 channel by cannabidiol sensitizes glioblastoma cells to cytotoxic chemotherapeutic agents. *Carcinogenesis*. 2012;34:48–57. doi: 10.1093/carcin/bgs328. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
70. Solinas M., Massi P., Cinquina V., Valenti M., Bolognini D., Gariboldi M., Monti E., Rubino T., Parolaro D. Cannabidiol, a Non-Psychoactive Cannabinoid Compound, Inhibits Proliferation and Invasion in U87-MG and T98G Glioma Cells through a Multitarget Effect. *PLoS ONE*. 2013;8:e76918. doi: 10.1371/journal.pone.0076918. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
71. De La Ossa D.H.P., Lorente M., Gil-Alegre M.E., Torres S., García-Taboada E., Aberturas M.D.R., Molpeceres J., Velasco G., Torres-Suárez A. Local Delivery of Cannabinoid-Loaded Microparticles Inhibits Tumor Growth in a Murine Xenograft Model of Glioblastoma Multiforme. *PLoS ONE*. 2013;8:e54795. doi: 10.1371/journal.pone.0054795. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
72. Nabissi M., Morelli M.B., Amantini C., Liberati S., Santoni M., Ricci-Vitiani L., Pallini R., Santoni G. Cannabidiol stimulates A ml-1a-dependent glial differentiation and inhibits glioma stem-like cells proliferation by inducing autophagy in a TRPV 2-dependent manner. *Int. J. Cancer*. 2015;137:1855–1869. doi: 10.1002/ijc.29573. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
73. A Scott K., Dennis J.L., Dagleish A.G., Liu W.M. Inhibiting Heat Shock Proteins Can Potentiate the Cytotoxic Effect of Cannabidiol in Human Glioma Cells. *Anticancer. Res.* 2015;35:5827–5837. [PubMed] [Google Scholar]
74. López-Valero I., Saiz-Ladera C., Torres S., Hernández-Tiedra S., García-Taboada E., Rodríguez-Fornés F., Barba M., Dávila D., Salvador-Tormo N., Guzmán M., et al. Targeting Glioma Initiating Cells with A combined therapy of cannabinoids and temozolomide. *Biochem. Pharmacol.* 2018;157:266–274. doi: 10.1016/j.bcp.2018.09.007. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
75. Aparicio-Blanco J., Sebastián V., Benoit J.-P., Torres-Suárez A. Lipid nanocapsules decorated and loaded with cannabidiol as targeted prolonged release carriers for glioma therapy: In vitro screening of critical parameters. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019;134:126–137. doi: 10.1016/j.ejpb.2018.11.020. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
76. Massi P., Vaccani A., Bianchessi S., Costa B., Macchi P., Parolaro D. The non-psychoactive cannabidiol triggers caspase activation and oxidative stress in human glioma cells. *Cell Mol. Life Sci.* 2006;63:2057–2066. doi: 10.1007/s00018-006-6156-x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
77. A Safety Study of Sativex in Combination With Dose-intense Temozolomide in Patients With Recurrent Glioblastoma. *ClinicalTrials.gov*. [(accessed on 11 February 2020)];2013 Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01812603>.
78. TN-TC11G (THC+CBD) Combination With Temozolomide and Radiotherapy in Patients With Newly-diagnosed Glioblastoma (GEINOCANN). *ClinicalTrials.gov*. [(accessed on 11 February 2020)];2018 Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT03529448>.
79. Twelves C., Short S., Wright S. Cannabinoid in Recurrent Glioma Study Group A two-part safety and exploratory efficacy randomized double-blind, placebo-controlled study of a 1:1 ratio of the cannabinoids cannabidiol and delta-9-tetrahydrocannabinol (CBD:THC) plus dose-intense temozolomide in patients with recurrent glioblastoma multiforme (GBM) *J. Clin. Oncol.* 2017;35:2046. doi: 10.1200/jco.2017.35.15_suppl.2046. [CrossRef] [Google Scholar]

80. Dall’Stella P.B., Docema M.F.L., Maldaun M.V.C., Feher O., Lancellotti C.L.P. Case Report: Clinical Outcome and Image Response of Two Patients With Secondary High-Grade Glioma Treated With Chemoradiation, PCV, and Cannabidiol. *Front. Oncol.* 2019;8 doi: 10.3389/fonc.2018.00643. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
81. Likar R., Koestenberger M., Stultschnig M., Nahler G. Concomitant Treatment of Malignant Brain Tumours With CBD - A Case Series and Review of the Literature. *Anticancer Res.* 2019;39:5797–5801. doi: 10.21873/anticancer.13783. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
82. Kim Y. American Cancer Society. Springer Science and Business Media LLC; Cham, Switzerland: 2019. pp. 1–2. [Google Scholar]
83. Sultan A.S., Marie M.A., Sheweita S.A. Novel mechanism of cannabidiol-induced apoptosis in breast cancer cell lines. *Breast.* 2018;41:34–41. doi: 10.1016/j.breast.2018.06.009. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
84. Elbaz M., Nasser M.W., Ravi J., Wani N.A., Ahirwar D., Zhao H., Oghumu S., Satoskar A.R., Shilo K., Carson W.E., et al. Modulation of the tumor microenvironment and inhibition of EGF/EGFR pathway: Novel anti-tumor mechanisms of Cannabidiol in breast cancer. *Mol. Oncol.* 2015;9:906–919. doi: 10.1016/j.molonc.2014.12.010. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
85. Ward S.J., McAllister S.D., Kawamura R., Murase R., Neelakantan H., A Walker E. Cannabidiol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain through 5-HT_{1A} receptors without diminishing nervous system function or chemotherapy efficacy. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171:636–645. doi: 10.1111/bph.12439. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
86. McAllister S.D., Christian R.T., Horowitz M.P., Garcia A., Desprez P.-Y. Cannabidiol as a novel inhibitor of Id-1 gene expression in aggressive breast cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* 2007;6:2921–2927. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-07-0371. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
87. Shrivastava A., Kuzontkoski P.M., Groopman J.E., Prasad A. Cannabidiol Induces Programmed Cell Death in Breast Cancer Cells by Coordinating the Cross-talk between Apoptosis and Autophagy. *Mol. Cancer Ther.* 2011;10:1161–1172. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-1100. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
88. Murase R., Kawamura R., Singer E., Pakdel A., Sarma P., Judkins J., Elwakeel E., Dayal S., Martínez-Martínez E., Amere M., et al. Targeting multiple cannabinoid anti-tumour pathways with a resorcinol derivative leads to inhibition of advanced stages of breast cancer. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171:4464–4477. doi: 10.1111/bph.12803. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
89. Kosgodage U.S., Mould R., Henley A.B., Nunn A.V., Guy G.W., Thomas E.L., Inal J.M., Bell J.D., Lange S. Cannabidiol (CBD) Is a Novel Inhibitor for Exosome and Microvesicle (EMV) Release in Cancer. *Front. Pharmacol.* 2018;9:889. doi: 10.3389/fphar.2018.00889. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
90. McAllister S.D., Murase R., Christian R.T., Lau D., Zielinski A.J., Allison J., Almanza C., Pakdel A., Lee J., Limbad C., et al. Pathways mediating the effects of cannabidiol on the reduction of breast cancer cell proliferation, invasion, and metastasis. *Breast Cancer Res. Treat.* 2011;129:37–47. doi: 10.1007/s10549-010-1177-4. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
91. Ramer R., Bublitz K., Freimuth N., Merkord J., Rohde H., Haustein M., Borchert P., Schmuhl E., Linnebacher M., Hinz B. Cannabidiol inhibits lung cancer cell invasion and metastasis via intercellular

adhesion molecule-1. *FASEB J.* 2011;26:1535–1548. doi: 10.1096/fj.11-198184. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

92. Ramer R., Rohde A., Merkord J., Rohde H., Hinz B. Decrease of Plasminogen Activator Inhibitor-1 May Contribute to the Anti-Invasive Action of Cannabidiol on Human Lung Cancer Cells. *Pharm. Res.* 2010;27:2162–2174. doi: 10.1007/s11095-010-0219-2. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

93. Ramer R., Merkord J., Rohde H., Hinz B. Cannabidiol inhibits cancer cell invasion via upregulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1. *Biochem. Pharmacol.* 2010;79:955–966. doi: 10.1016/j.bcp.2009.11.007. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

94. Ramer R., Heinemann K., Merkord J., Rohde H., Salamon A., Linnebacher M., Hinz B. COX-2 and PPAR- Confer Cannabidiol-Induced Apoptosis of Human Lung Cancer Cells. *Mol. Cancer Ther.* 2012;12:69–82. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0335. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

95. Haustein M., Ramer R., Linnebacher M., Manda K., Hinz B. Cannabinoids increase lung cancer cell lysis by lymphokine-activated killer cells via upregulation of ICAM-1. *Biochem. Pharmacol.* 2014;92:312–325. doi: 10.1016/j.bcp.2014.07.014. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

96. Sulé-Suso J., A Watson N., Van Pittius D.G., Jegannathen A. Striking lung cancer response to self-administration of cannabidiol: A case report and literature review. *SAGE Open Med. Case Rep.* 2019;7 doi: 10.1177/2050313X19832160. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

97. Ligresti A., Bisogno T., Matias I., De Petrocellis L., Cascio M.G., Cosenza V., D'Argenio G., Scaglione G., Bifulco M., Sorrentini I., et al. Possible endocannabinoid control of colorectal cancer growth. *Gastroenterology.* 2003;125:677–687. doi: 10.1016/S0016-5085(03)00881-3. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

98. Sreevalsan S., Joseph S., Jutooru I., Chadalapaka G., Safe S. Induction of apoptosis by cannabinoids in prostate and colon cancer cells is phosphatase dependent. *Anticancer. Res.* 2011;31:3799–3807. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

99. Raup-Konsavage W.M., Johnson M., Legare C.A., Yochum G.S., Morgan D.J., Vrana K.E. Synthetic Cannabinoid Activity Against Colorectal Cancer Cells. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2018;3:272–281. doi: 10.1089/can.2018.0065. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

100. Jeong S., Kim B.G., Kim D.Y., Kim B.R., Kim J.L., Park S.H., Na Y.J., Jo M.J., Yun H.K., Jeong Y.A., et al. Cannabidiol Overcomes Oxaliplatin Resistance by Enhancing NOS3- and SOD2-Induced Autophagy in Human Colorectal Cancer Cells. *Cancers.* 2019;11:781. doi: 10.3390/cancers11060781. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

101. Jeong S., Yun H.K., Jeong Y.A., Jo M.J., Kang S.H., Kim J.L., Kim D.Y., Park S.H., Kim B.R., Na Y.J., et al. Cannabidiol-induced apoptosis is mediated by activation of Noxa in human colorectal cancer cells. *Cancer Lett.* 2019;447:12–23. doi: 10.1016/j.canlet.2019.01.011. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

102. MacPherson T., Armstrong J.A., Criddle D.N., Wright K.L. Physiological intestinal oxygen modulates the Caco-2 cell model and increases sensitivity to the phytocannabinoid cannabidiol. *Vitr. Cell. Dev. Biol. Anim.* 2014;50:417–426. doi: 10.1007/s11626-013-9719-9. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

103. Kim J.L., Kim B.R., Kim D.Y., Jeong Y.A., Jeong S., Na Y.J., Park S.H., Yun H.K., Jo M.J., Kim B.G., et al. Cannabidiol Enhances the Therapeutic Effects of TRAIL by Upregulating DR5 in Colorectal Cancer.

Cancers. 2019;11:642. doi: 10.3390/cancers11050642. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

104. Aviello G., Romano B., Borrelli F., Capasso R., Gallo L., Piscitelli F., Di Marzo V., Izzo A.A. Chemopreventive effect of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol on experimental colon cancer. *J. Mol. Med.* 2012;90:925–934. doi: 10.1007/s00109-011-0856-x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

105. Gallily R., Even-Chena T., Katzavian G., Lehmann D., Dagan A., Mechoulam R. γ -Irradiation Enhances Apoptosis Induced by Cannabidiol, a Non-psychotropic Cannabinoid, in Cultured HL-60 Myeloblastic Leukemia Cells. *Leuk. Lymphoma.* 2003;44:1767–1773. doi: 10.1080/1042819031000103917. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

106. McCallip R.J., Jia W., Schlomer J., Warren J.W., Nagarkatti P.S., Nagarkatti M. Cannabidiol-Induced Apoptosis in Human Leukemia Cells: A Novel Role of Cannabidiol in the Regulation of p22phox and Nox4 Expression. *Mol. Pharmacol.* 2006;70:897–908. doi: 10.1124/mol.106.023937. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

107. Scott K.A., Dalglish A.G., Liu W.M. Anticancer effects of phytocannabinoids used with chemotherapy in leukaemia cells can be improved by altering the sequence of their administration. *Int. J. Oncol.* 2017;51:369–377. doi: 10.3892/ijo.2017.4022. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

108. Kalenderoglou N., MacPherson T., Wright K.L. Cannabidiol Reduces Leukemic Cell Size – But Is It Important? *Front. Pharmacol.* 2017;8 doi: 10.3389/fphar.2017.00144. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

109. Togano T., Kim N., Kim N., Park G.S., Park A.K., Bennet M., Park J. The evaluation of Cannabidiol's effect on the immunotherapy of Burkitt lymphoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;520:225–230. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.10.001. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

110. Olivas-Aguirre M., Torres-López L., Valle-Reyes J.S., Hernández-Cruz A., Pottosin I., Dobrovinskaya O. Cannabidiol directly targets mitochondria and disturbs calcium homeostasis in acute lymphoblastic leukemia. *Cell Death Dis.* 2019;10:1–19. doi: 10.1038/s41419-019-2024-0. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

111. Lee C.-Y., Wey S.-P., Liao M.-H., Hsu W.-L., Wu H.-Y., Jan T.-R. A comparative study on cannabidiol-induced apoptosis in murine thymocytes and EL-4 thymoma cells. *Int. Immunopharmacol.* 2008;8:732–740. doi: 10.1016/j.intimp.2008.01.018. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

112. De Petrocellis L., Ligresti A., Schiano Moriello A., Iappelli M., Verde R., Stott C.G., Cristino L., Orlando P., di Marzo V. Non-THC cannabinoids inhibit prostate carcinoma growth in vitro and in vivo: Pro-apoptotic effects and underlying mechanisms. *Br. J. Pharmacol.* 2013;168:79–102. doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.02027.x. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

113. Sharma M., Hudson J.B., Adomat H., Guns E.S.T., Cox M.E. In Vitro Anticancer Activity of Plant-Derived Cannabidiol on Prostate Cancer Cell Lines. *Pharmacol. Pharm.* 2014;5:806–820. doi: 10.4236/pp.2014.58091. [CrossRef] [Google Scholar]

114. Ståhl A.-L., Johansson K., Mossberg M., Kahn R., Karpman D. Exosomes and microvesicles in normal physiology, pathophysiology, and renal diseases. *Pediatr. Nephrol.* 2019;34:11–30. doi: 10.1007/s00467-017-3816-z. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

115. Lukhele S.T., Motadi L.R. Cannabidiol rather than Cannabis sativa extracts inhibit cell growth and induce apoptosis in cervical cancer cells. *BMC Complement. Altern. Med.* 2016;16:335. doi: 10.1186/s12906-016-1280-0. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
116. Neumann-Raizel H., Shilo A., Lev S., Mogilevsky M., Katz B., Shneor D., Shaul Y.D., Leffler A., Gabizon A., Karni R., et al. 2-APB and CBD-mediated targeting of charged cytotoxic compounds into tumor-like cells suggests the involvement of TRPV2 channels. *Frontiers Pharmacol.* 2019;10:1198. doi: 10.3389/fphar.2019.01198. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
117. Taha T., Meiri D., Talhamy S., Wollner M., Peer A., Bar-Sela G. Cannabis Impacts Tumor Response Rate to Nivolumab in Patients with Advanced Malignancies. *Oncologist.* 2019;24:549–554. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0383. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
118. Jeong S., Jo M.J., Yun H.K., Kim D.Y., Kim B.R., Kim J.L., Park S.H., Na Y.J., A Jeong Y., Kim B.G., et al. Cannabidiol promotes apoptosis via regulation of XIAP/Smac in gastric cancer. *Cell Death Dis.* 2019;10:1–13. doi: 10.1038/s41419-019-2001-7. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
119. Zhang X., Qin Y., Pan Z., Li M., Liu X., Chen X., Qu G., Zhou L., Xu M., Zheng Q., et al. Cannabidiol Induces Cell Cycle Arrest and Cell Apoptosis in Human Gastric Cancer SGC-7901 Cells. *Biomolecules.* 2019;9:302. doi: 10.3390/biom9080302. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
120. Blázquez C., Carracedo A., Barrado L., Real P.J., Fernández-Luna J.L., Velasco G., Malumbres M., Guzmán M. Cannabinoid receptors as novel targets for the treatment of melanoma. *FASEB J.* 2006;20:2633–2635. doi: 10.1096/fj.06-6638fje. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
121. Simmerman E., Qin X., Yu J.C., Baban B. Cannabinoids as a Potential New and Novel Treatment for Melanoma: A Pilot Study in a Murine Model. *J. Surg. Res.* 2019;235:210–215. doi: 10.1016/j.jss.2018.08.055. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
122. Ferro R., Adamska A., Lattanzio R., Mavrommati I., Edling C.E., Arifin S.A., Fyffe C.A., Sala G., Sacchetto L., Chiorino G., et al. GPR55 signalling promotes proliferation of pancreatic cancer cells and tumour growth in mice, and its inhibition increases effects of gemcitabine. *Oncogene.* 2018;37:6368–6382. doi: 10.1038/s41388-018-0390-1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
123. Forrester S.J., Kikuchi D.S., Hernandez M.S., Xu Q., Griendling K.K. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ. Res.* 2018;122:877–902. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311401. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
124. Wang Y.-Y., Lee K.-T., Lim M.C., Choi J.-H. TRPV1 Antagonist DWP05195 Induces ER Stress-Dependent Apoptosis through the ROS-p38-CHOP Pathway in Human Ovarian Cancer Cells. *Cancers.* 2020;12:1702. doi: 10.3390/cancers12061702. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
125. Sakurada R., Odagiri K., Hakamata A., Kamiya C., Wei J., Watanabe H. Calcium Release from Endoplasmic Reticulum Involves Calmodulin-Mediated NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Species Production in Endothelial Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:1644. doi: 10.3390/ijms20071644. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
126. Pellati F., Borgonetti V., Brighenti V., Biagi M., Benvenuti S., Corsi L. Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. *BioMed Res. Int.* 2018;2018:1–15. doi: 10.1155/2018/1691428. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

127. Corzo C.A., Cotter M.J., Cheng P., Cheng F., Kusmartsev S., Sotomayor E., Padhya T., McCaffrey T.V., McCaffrey J.C., Gabrilovich D.I. Mechanism Regulating Reactive Oxygen Species in Tumor-Induced Myeloid-Derived Suppressor Cells. *J. Immunol.* 2009;182:5693–5701. doi: 10.4049/jimmunol.0900092. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
128. Chen X., Song M., Zhang B., Zhang Y. Reactive Oxygen Species Regulate T Cell Immune Response in the Tumor Microenvironment. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2016;2016:1–10. doi: 10.1155/2016/1580967. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
129. Kraaij M.D., Savage N.D.L., Van Der Kooij S.W., Koekkoek K., Wang J., Berg J.M.V.D., Ottenhoff T.H.M., Kuijpers T.W., Holmdahl R., Van Kooten C., et al. Induction of regulatory T cells by macrophages is dependent on production of reactive oxygen species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010;107:17686–17691. doi: 10.1073/pnas.1012016107. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
130. Iffland K., Grotenhermen F. An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2017;2:139–154. doi: 10.1089/can.2016.0034. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
131. Bergamaschi M.M., Queiroz R.H.C., Zuardi A.W., Crippa J.A.S. Safety and Side Effects of Cannabidiol, a Cannabis sativa Constituent. *Curr. Drug Saf.* 2011;6:237–249. doi: 10.2174/157488611798280924. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
132. Deabold K.A., Schwark W.S., Wolf L., Wakshlag J.J. Single-Dose Pharmacokinetics and Preliminary Safety Assessment with Use of CBD-Rich Hemp Nutraceutical in Healthy Dogs and Cats. *Animals.* 2019;9:832. doi: 10.3390/ani9100832. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
133. Huestis M.A., Solimini R., Pichini S., Pacifici R., Carlier J., Busardò F.P. Cannabidiol Adverse Effects and Toxicity. *Curr. Neuropharmacol.* 2019;17:974–989. doi: 10.2174/1570159X17666190603171901. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
134. Ewing L.E., Skinner C.M., Quick C.M., Kennon-McGill S., McGill M.R., Walker L.A., ElSohly M.A., Gurley B.J., Koturbash I. Hepatotoxicity of a Cannabidiol-Rich Cannabis Extract in the Mouse Model. *Molecules.* 2019;24:1694. doi: 10.3390/molecules24091694. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]