

La signalisation non génomique des œstrogènes dans les cancers du sein

Muriel Le Romancer

Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon-CRCL
INSERM U1052-CNRS UMR 5286. France

*39èmes journées de la Société française de Sénologie
et de pathologie mammaire
8 novembre 2017, Lille*

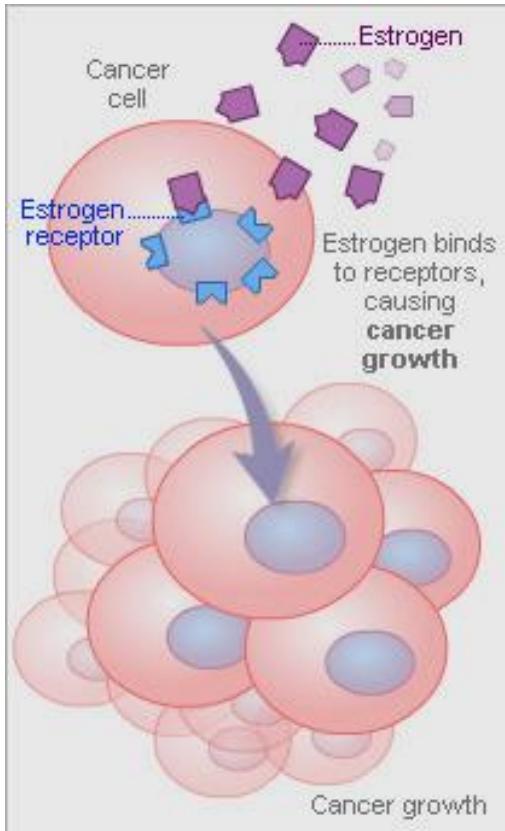
Pas de Conflit d'intérêts à déclarer

Muriel Le Romancer

Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon-CRCL
INSERM U1052-CNRS UMR 5286. France

*39èmes journées de la Société française de Sénologie
et de pathologie mammaire
8 novembre 2017, Lille*

$E_2/ER\alpha$ et cancer du sein

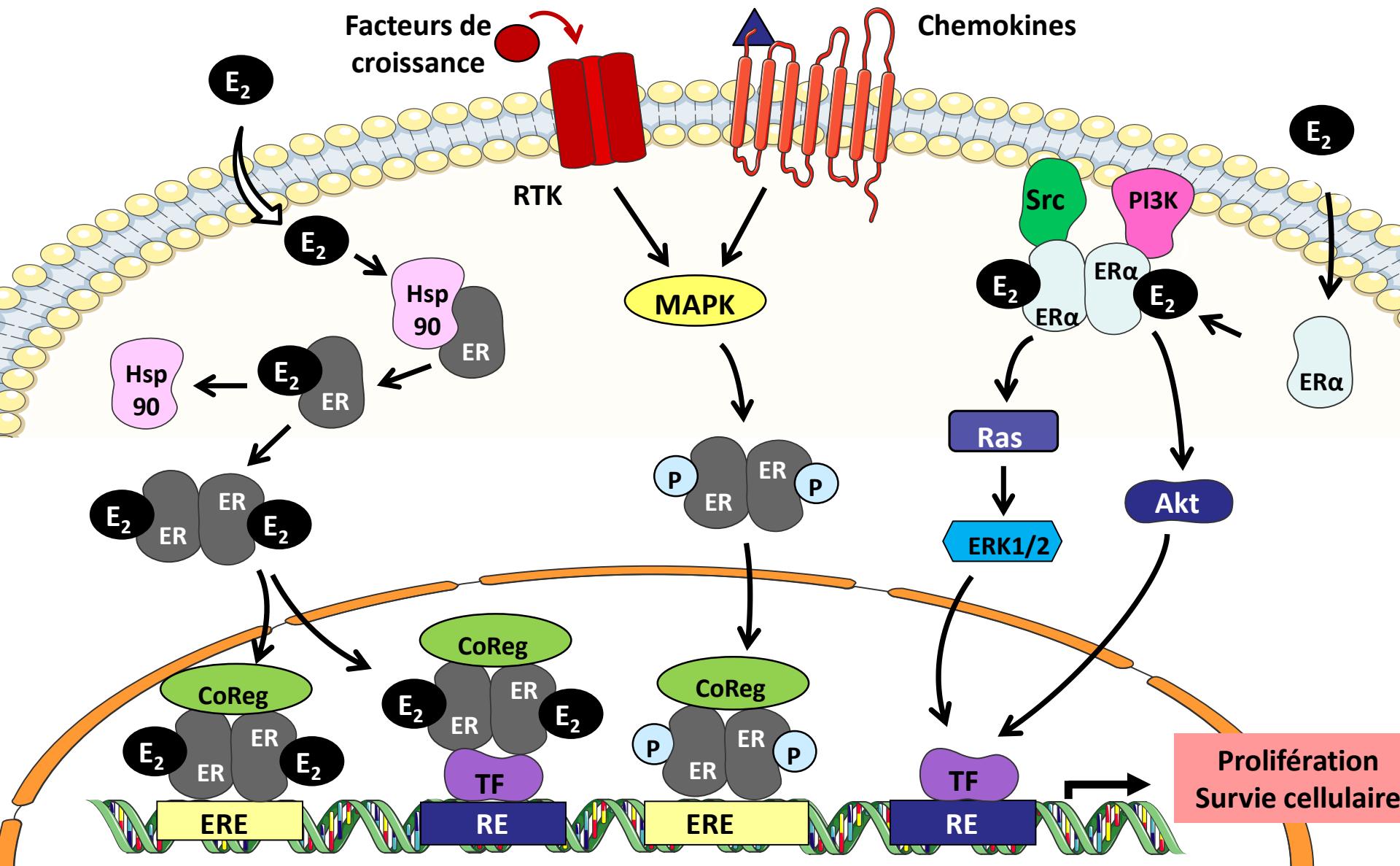


- Les oestrogènes sont impliqués dans le développement du cancer du sein.
- 70% des tumeurs sont ER α -positive: ER α est un marqueur pronostic et une cible thérapeutique.
- Agents bloquant la synthèse (anti-aromatases) ou les effets des oestrogènes (anti-oestrogènes).

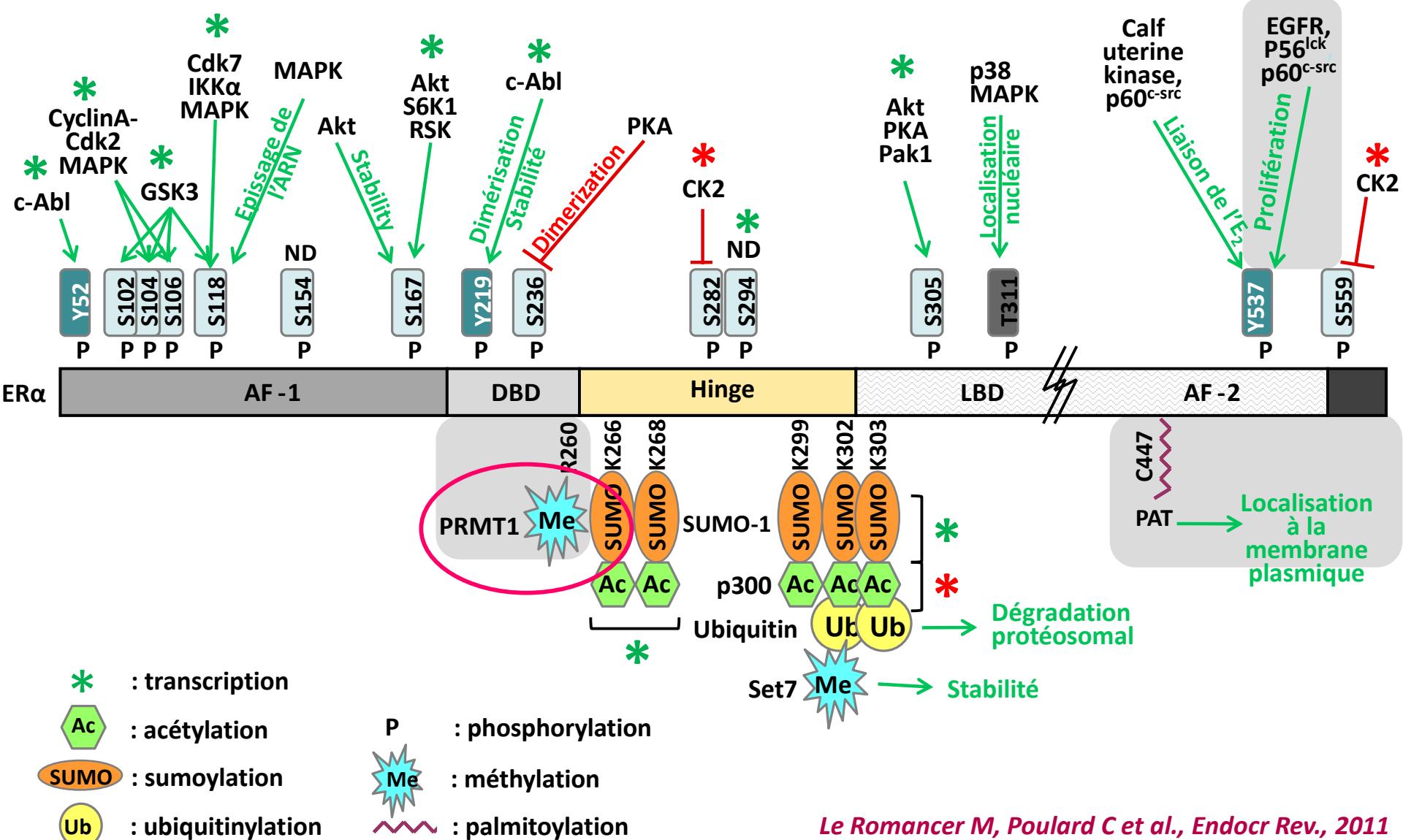
Cependant, environ 50% des patientes sont ou deviennent résistantes aux thérapies endocriniennes

Signalisation des oestrogènes

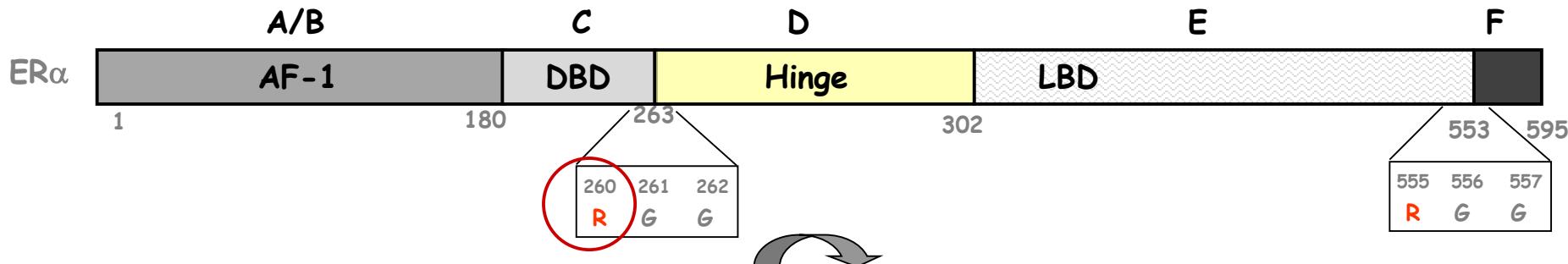
Le Romancer M et al,
Endo Rev., 2011



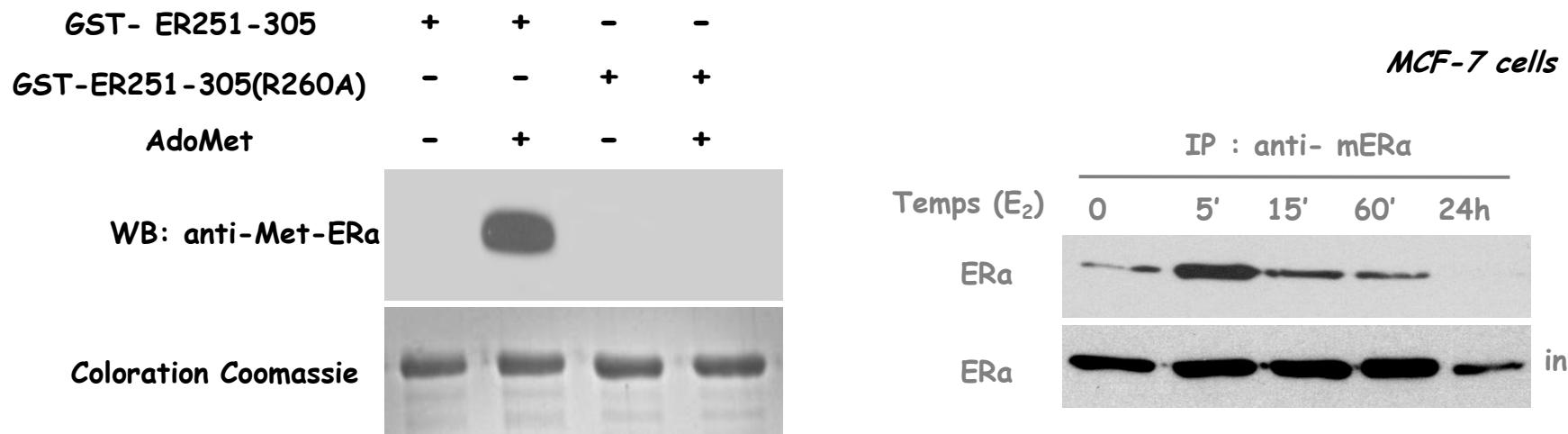
Les modifications post-traductionnelles de ER α



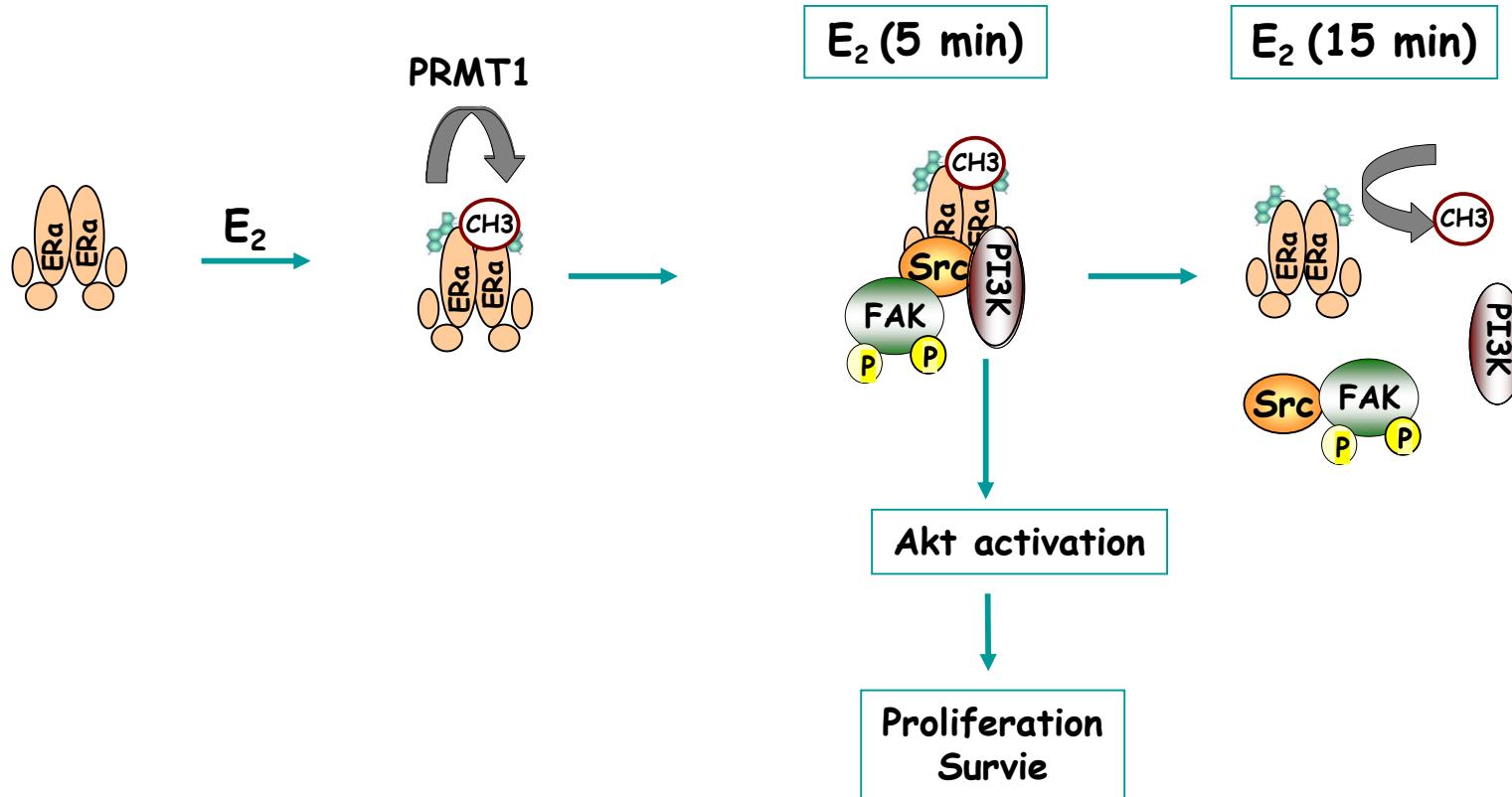
ER α est un nouveau substrat de PRMT1



Anticorps spécifique de metR260



metERα est un prérequis pour la signalisation non génomique



Le Romancer et al Mol Cell, 2008

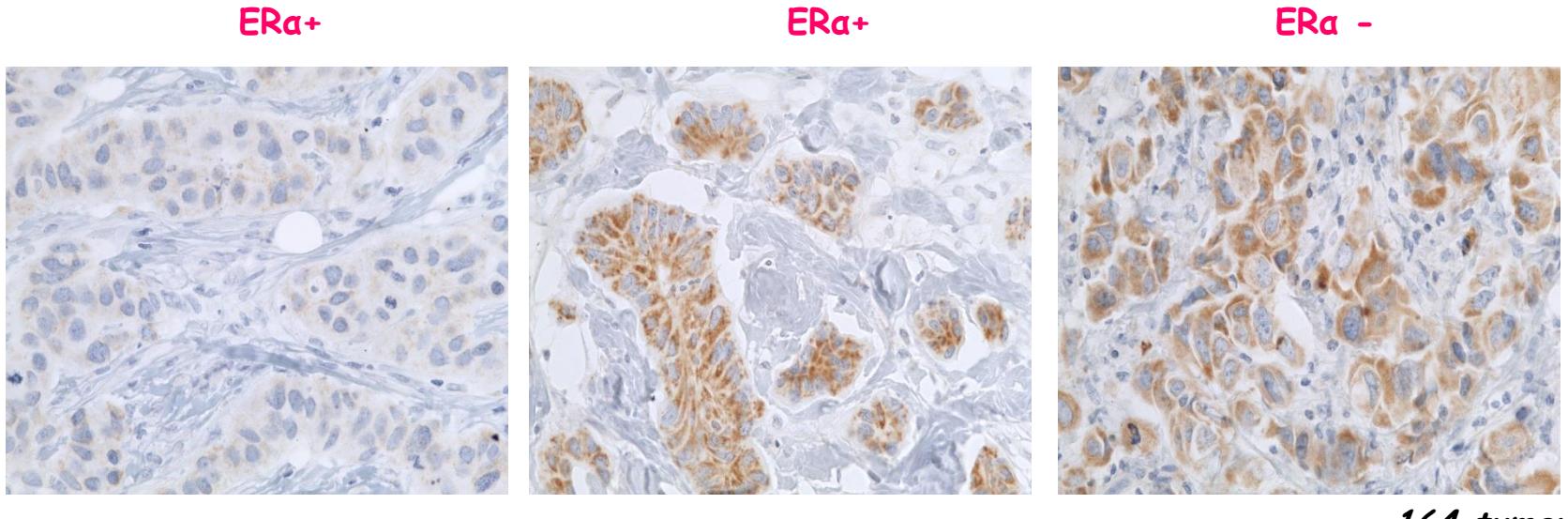
Le Romancer et al, Steroids, 2010

Teyssier, Le Romancer, TEM, 2010

Le Romancer et al, Endocrine rev 2011

Expression de metERα dans le cancer du sein

IHC : anti-metERα

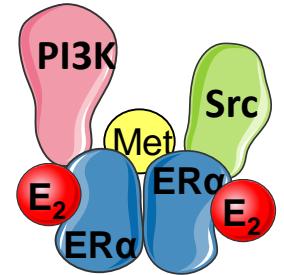


164 tumeurs

55% des tumeurs expriment metERα indépendamment
de l'expression d'ERα nucléaire

Est-ce que la signalisation non génomique des oestrogènes existe *in vivo*?

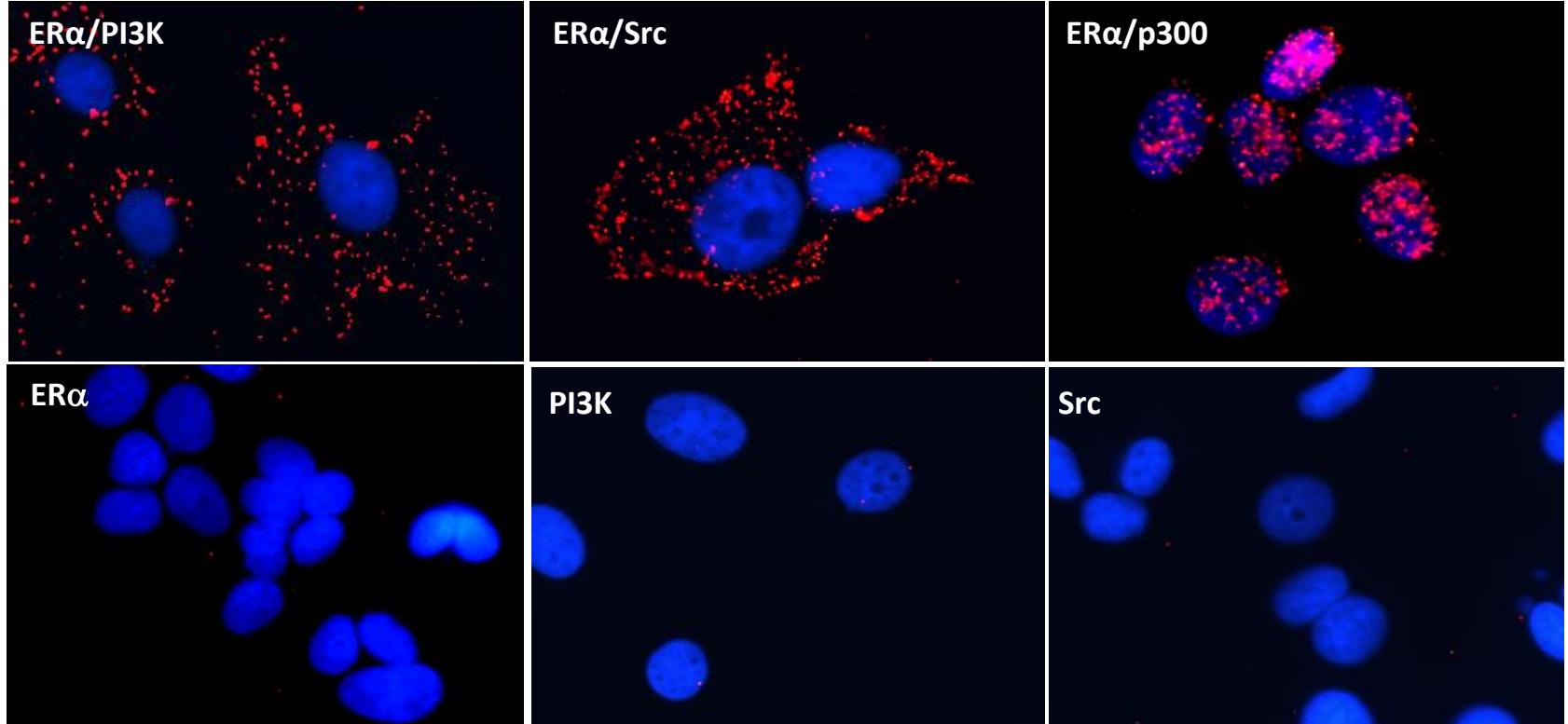
STRATEGIE: Etudier l'expression de metER α /Src/PI3K et p-Akt dans des tumeurs mammaires.



Outil : Proximity Ligation Assay (PLA)

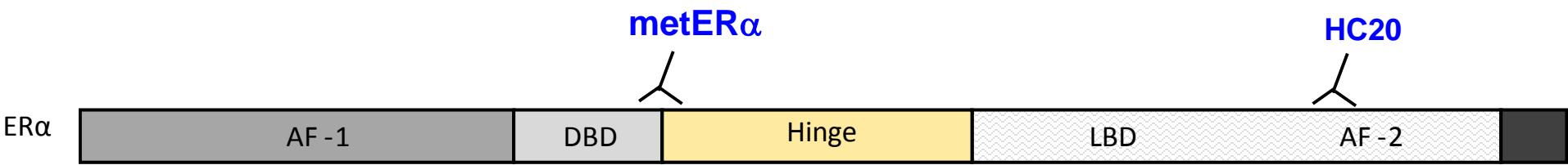
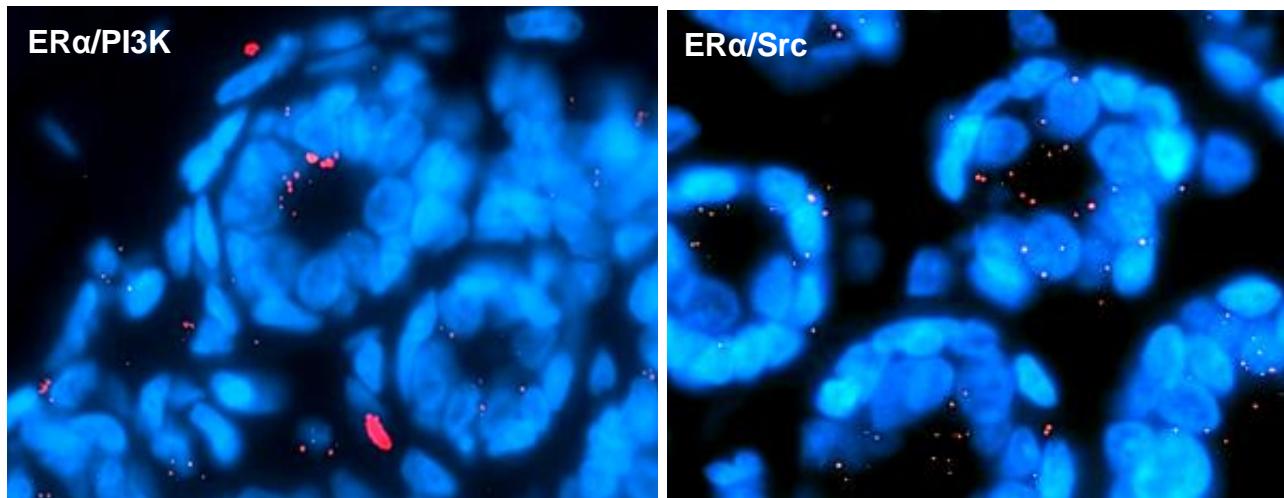
ER α /Src/PI3K dans les lignées tumorales (1)

MCF-7 (E₂ 10⁻⁸M)
PLA



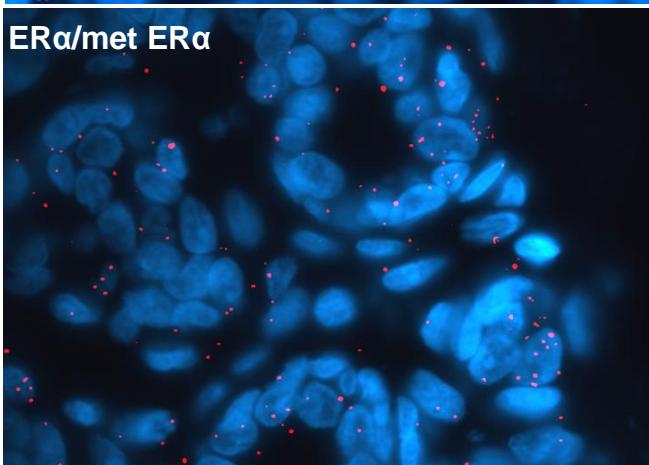
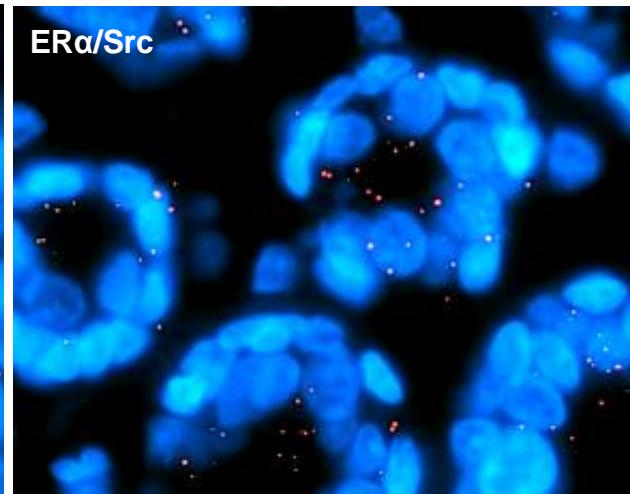
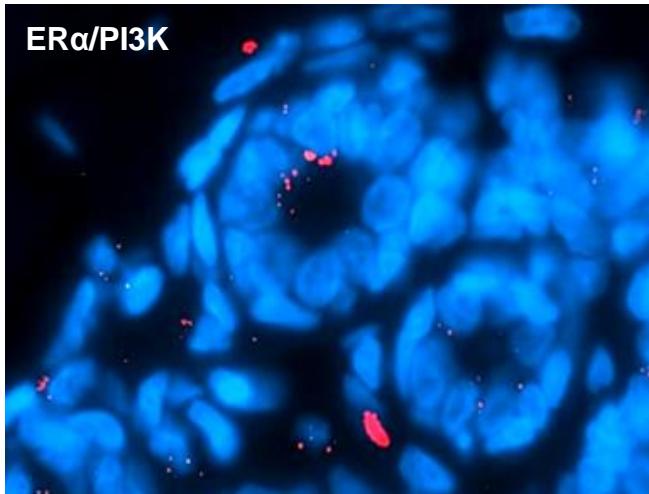
ER α /Src/PI3K est localisé dans le cytoplasme

Expression de ER α /Src/PI3K dans le sein normal



Expression de ER α /Src/PI3K dans le sein normal

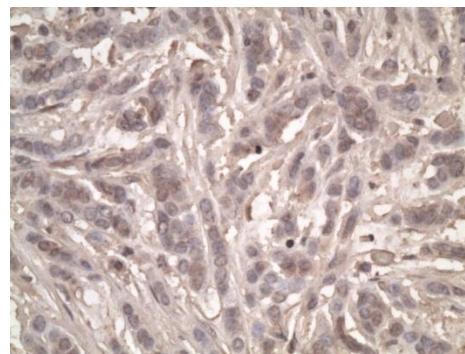
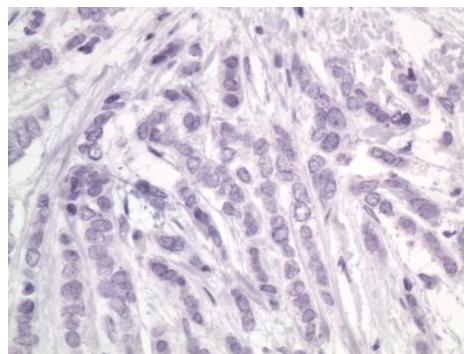
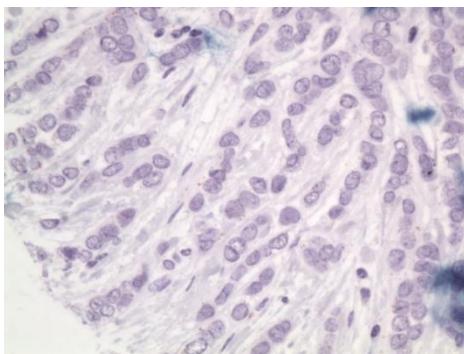
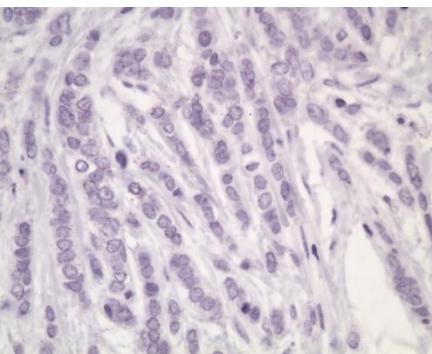
PLA



	Dots/cell		
	ER α /PI3K	ER α /Src	ER α /metER α
Sample 1	2	2	3
Sample 2	3	3	3
Sample 3	0	0	0

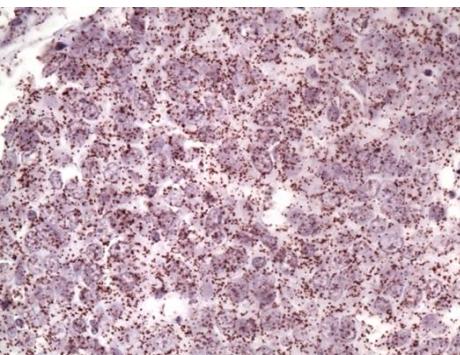
Expression de ER α /Src/PI3K dans 175 échantillons tumoraux

PLA

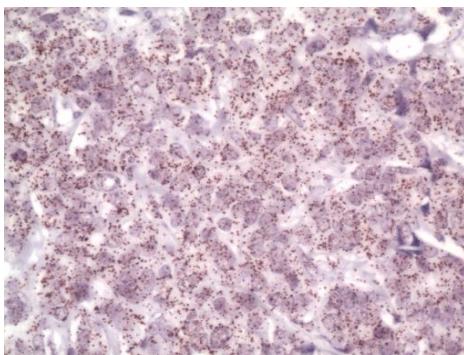


IHC

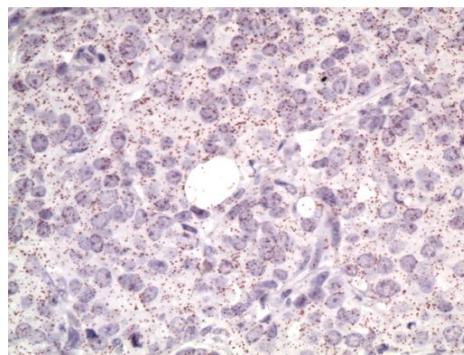
ER α /PI3K



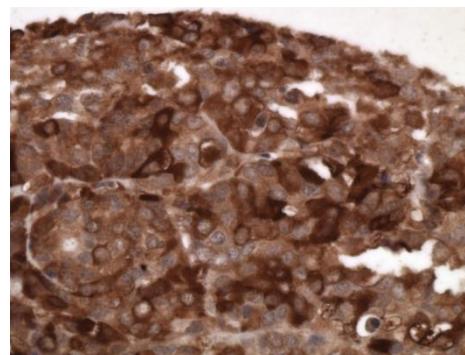
ER α /Src



ER α /metER α



p-Akt

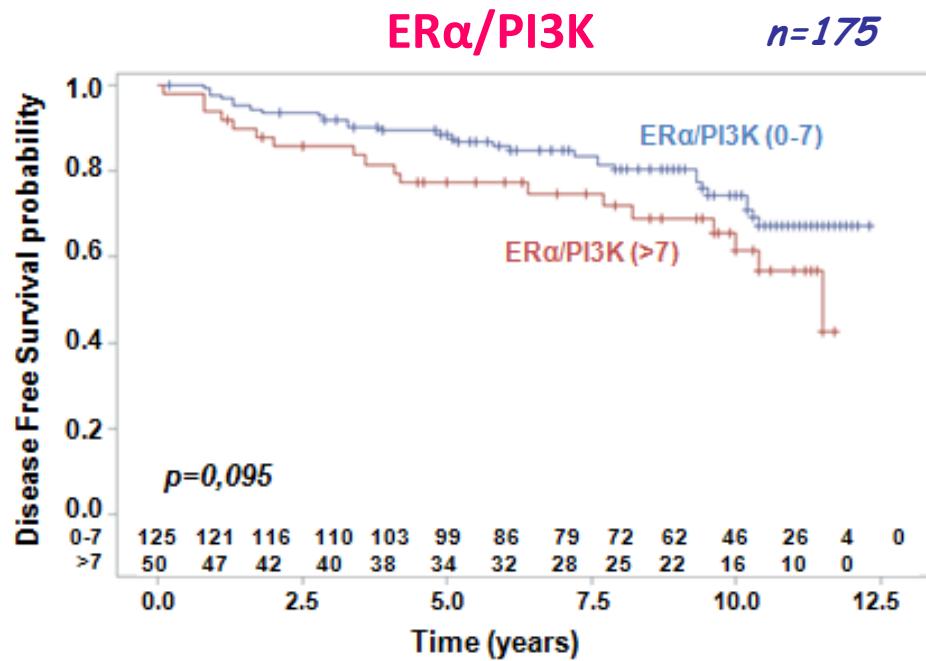
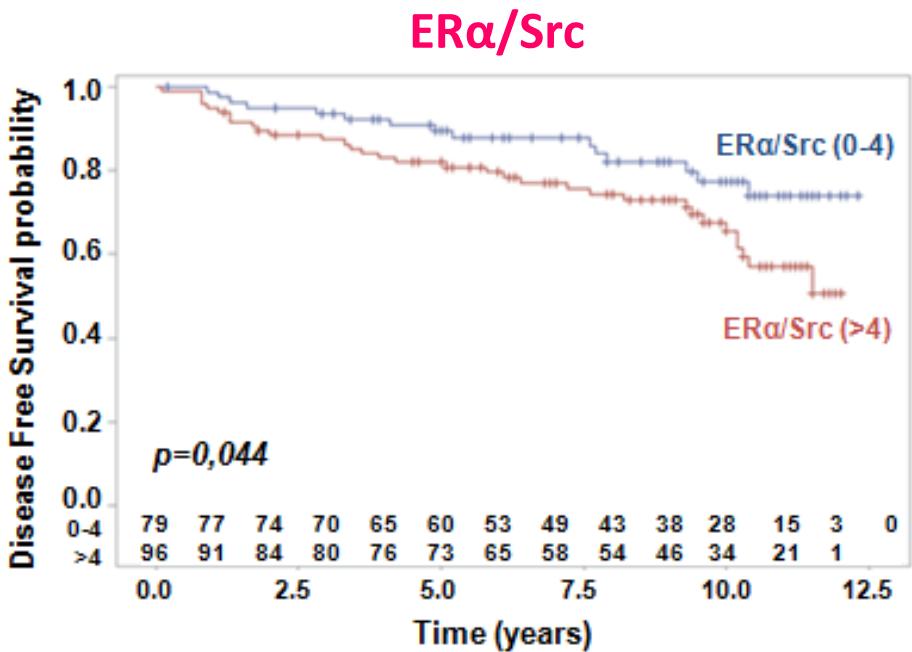


ER α /PI3K	0,79***	0,75***
ER α /Src	0,73***	
ER α /metER α		

*** $p<0.001$

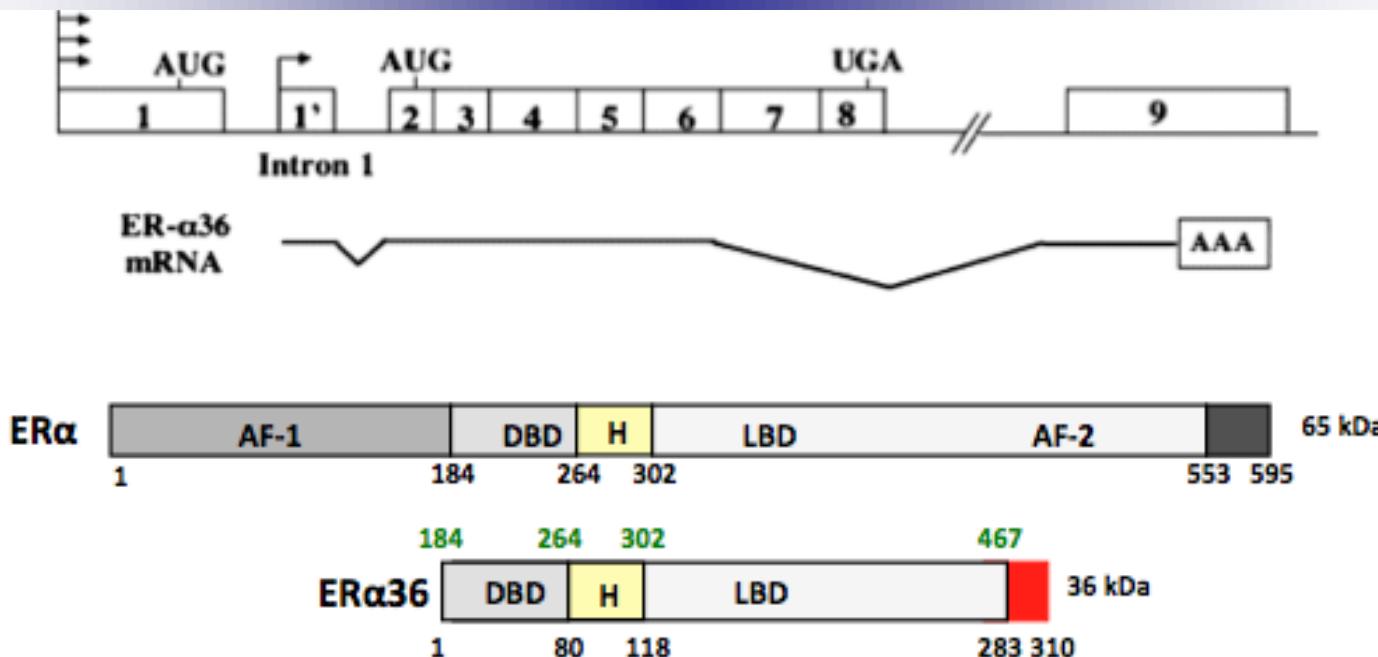
	ERα/Src interaction				Test (p)
	0-4 dots/cells (N=79)		>4 dots/cells (N=96)		
	N	%	N	%	
Age at diagnosis (years)					
< 50	16	20.3	40	41.7	Chi-2 P = 0.003
>=50	63	79.7	56	58.3	
Menopause					Chi-2 P = 0.006
ND	1		2		
No	19	24.4	42	44.7	
Yes	59	75.6	52	55.3	
Tumor size (mm)					Chi-2 P = 0.852
< 20 mm	31	39.2	39	40.6	
>= 20 mm	48	60.8	57	59.4	
Histological grade (SBR)					Chi-2 P = 0.315
1	17	21.5	15	15.6	
2/3	62	78.5	81	84.4	
Lymph node involvement					Fisher Exact P = 0.038
N0	34	43.0	42	43.8	
Micro metastasis	12	15.2	4	4.2	
Macro metastasis	33	41.8	50	52.1	
Estrogen receptor : % marked cells					Chi-2 P = 0.824
ND	1		0		
< 10% (ERα -)	19	24.4	22	22.9	
>= 10% (ERα +)	59	75.6	74	77.1	
Progesterone receptor : % marked cells					Chi-2 P = 0.834
ND	1		0		
< 10%	28	35.9	33	34.4	
>= 10%	50	64.1	63	65.6	
HER2 status					Chi-2 P = 0.935
ND	9		1		
0/+/++FISH-	60	85.7	81	85.3	
++FISH+/+++	10	14.3	14	14.7	

Une forte expression du complexe est associée à une mauvaise survie des patientes



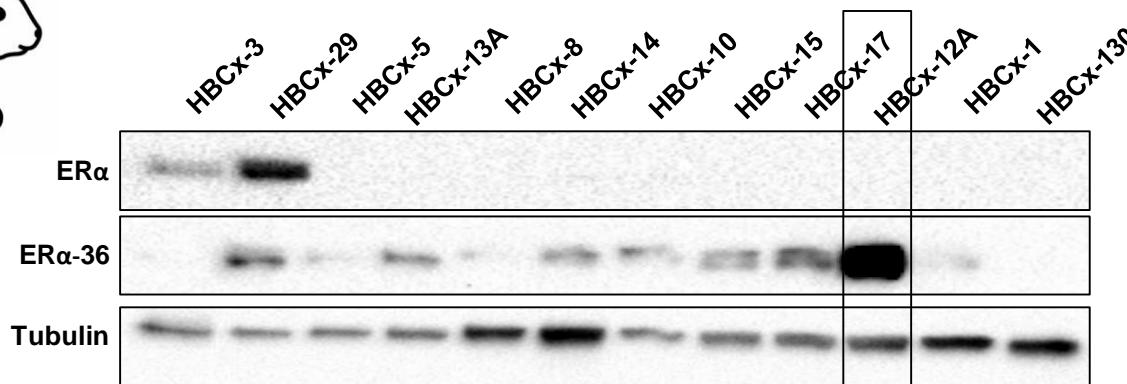
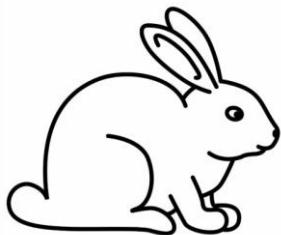
Confirmation des résultats dans une cohorte de 440 tumeurs mammaires (2001 -2003)

ER α 36, un nouveau variant d'épissage d'ER α , acteur de la signalisation non génomique

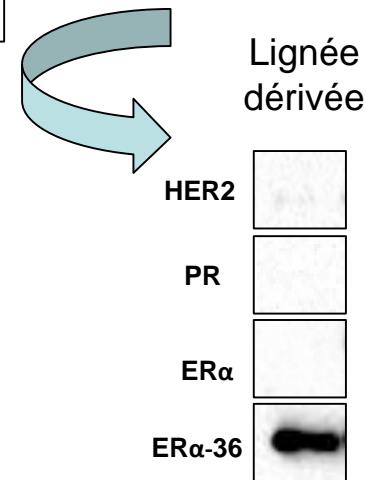
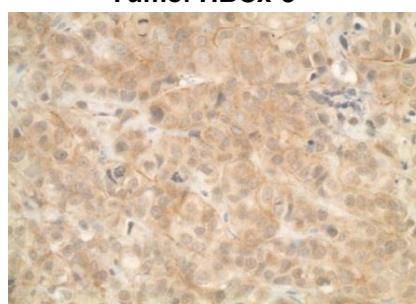
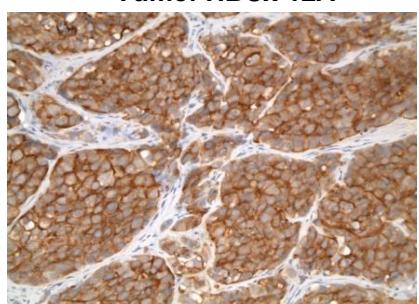


- Dépourvu des domaines AF-1 et AF-2
- Un domaine C-Terminal unique
- Localisation cytoplasmique et membranaire
- Active la voie MAPK sous E₂ et Tamoxifen

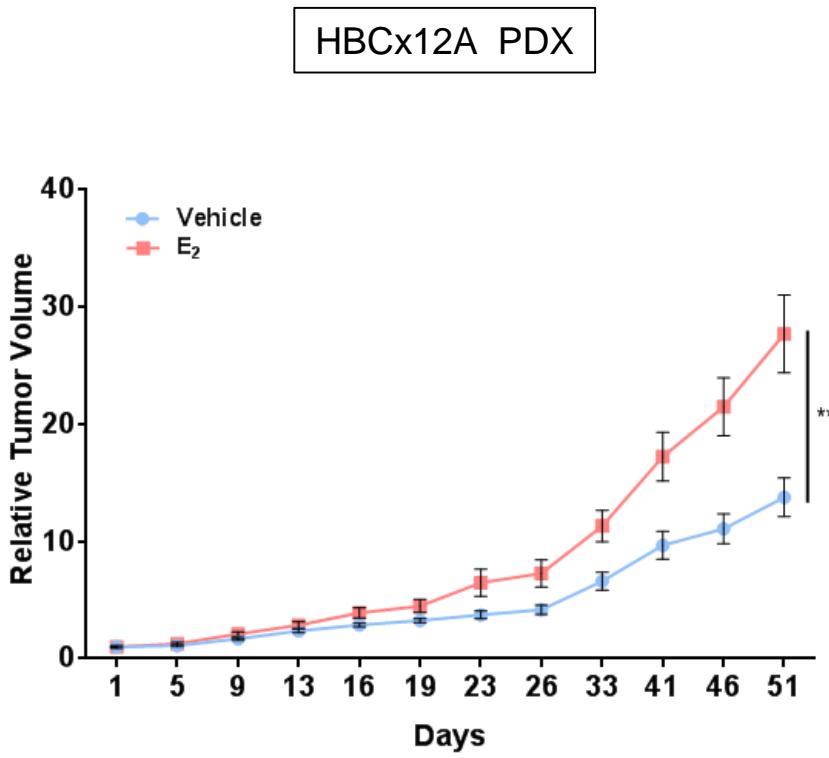
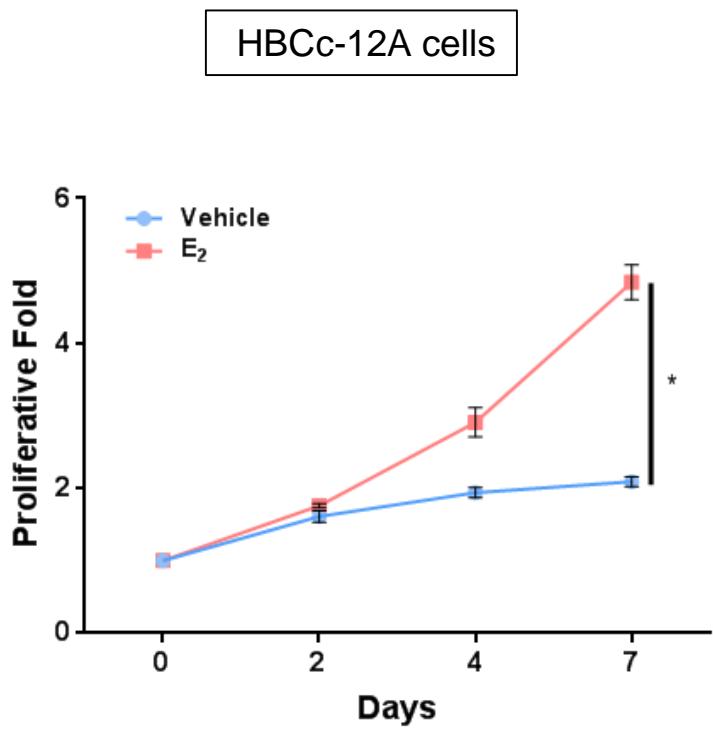
Génération d'un anticorps anti-ER α -36



anti-ER α -36



Effet d'E₂ sur la croissance tumorale



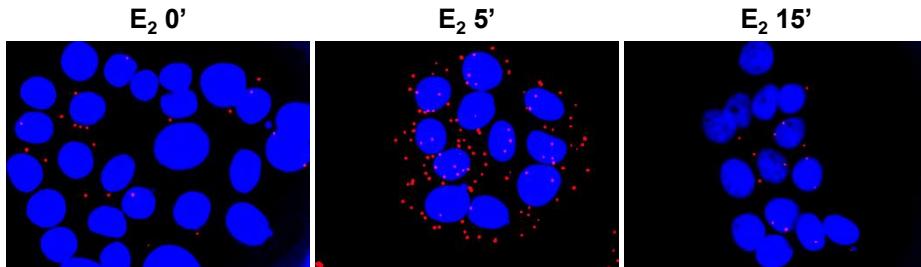
ER α -36 interagit avec Erk2 active

➤ Analyse bioinformatique du domaine C-Terminal

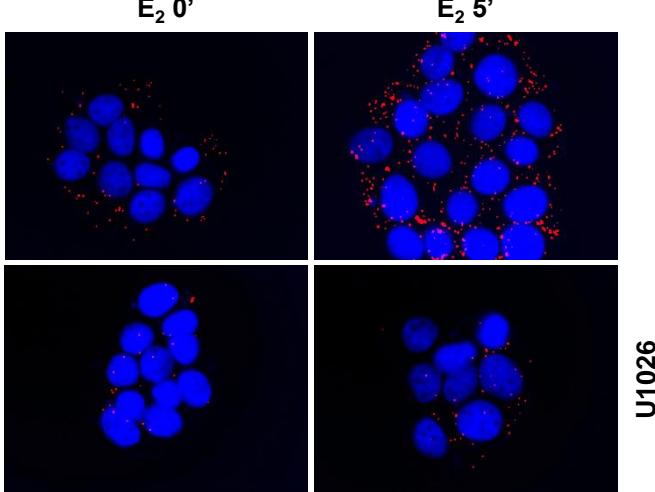
Domain: D domain pour ERK2

GISHVEAKKRILN**L**HPKIFGNKWFPRV
Putative ERK2 Binding AA

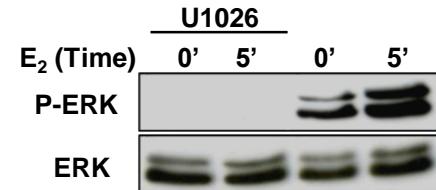
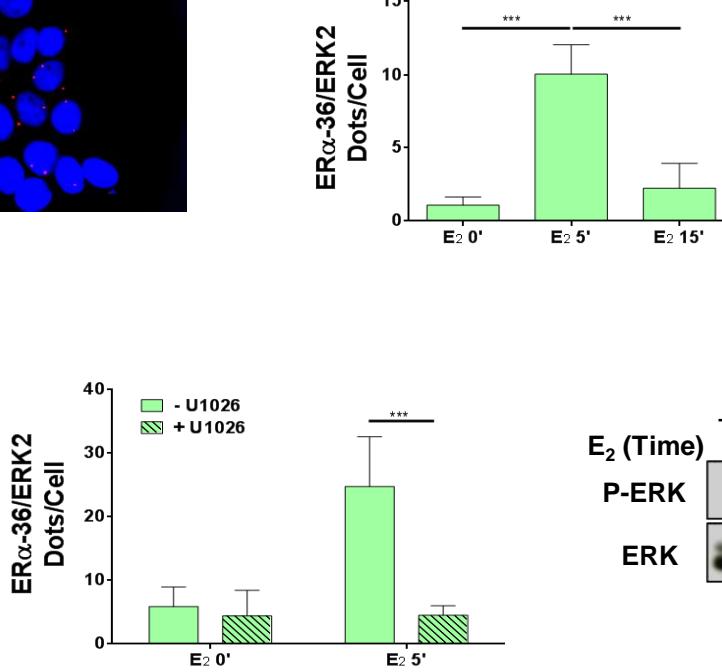
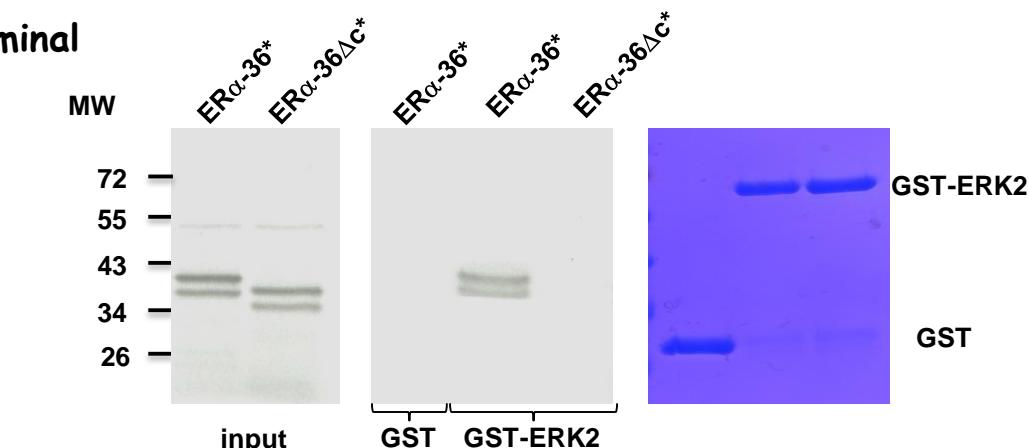
ER α -36/ERK2



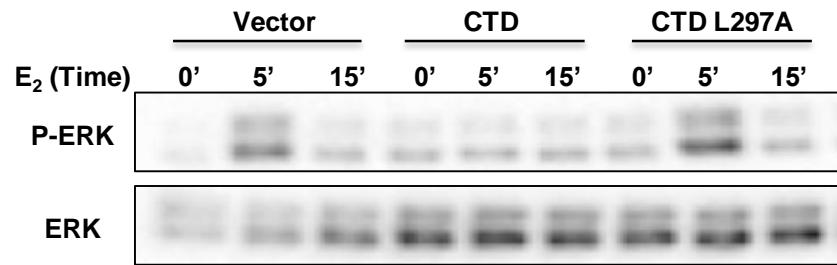
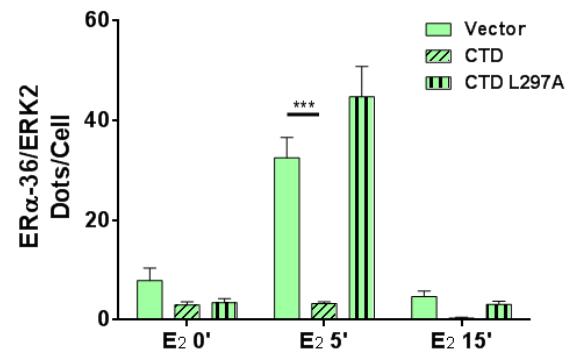
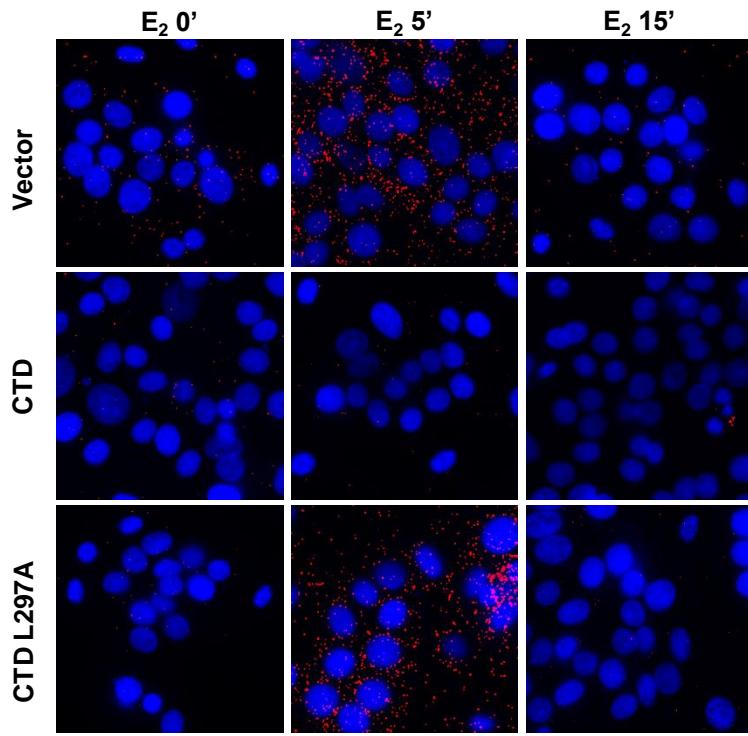
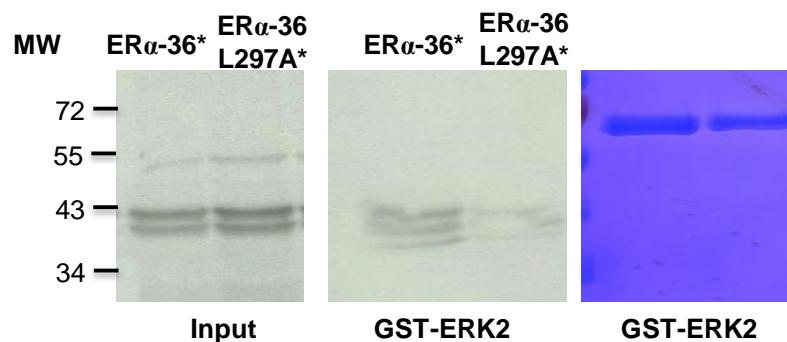
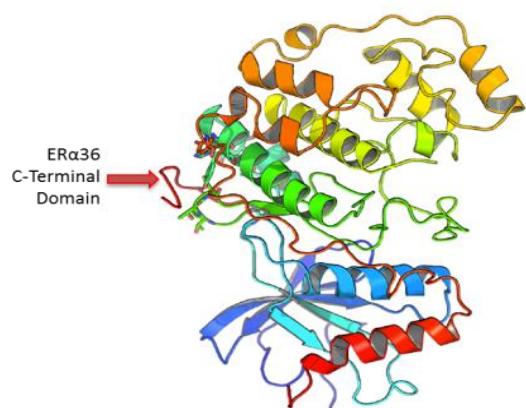
ER α -36/ERK2



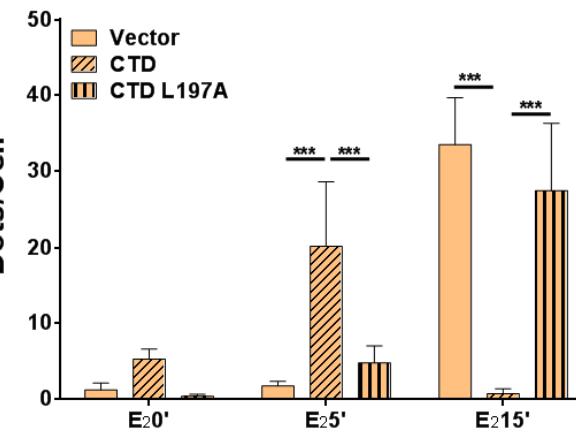
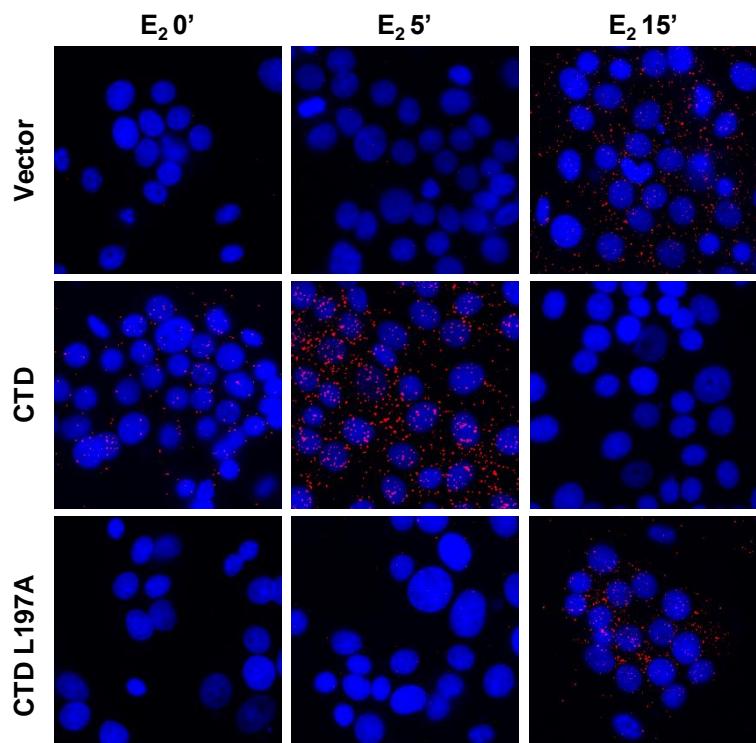
U1026



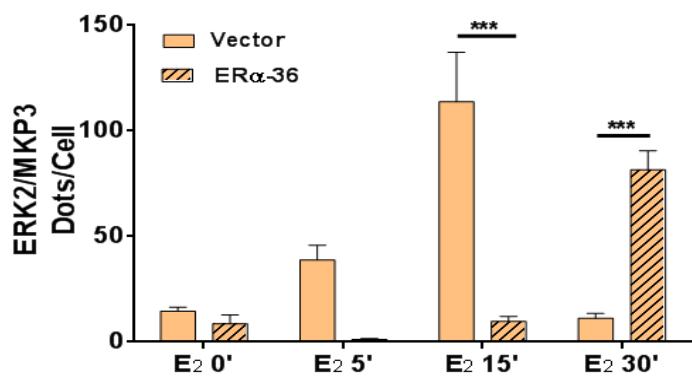
Rompre l'interaction ER α -36/ERK2 pour comprendre son rôle



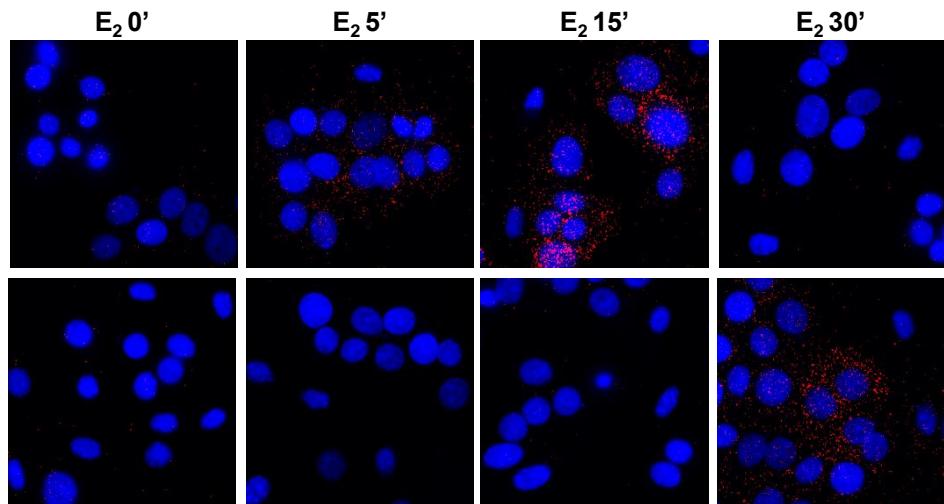
ERK2/MKP3



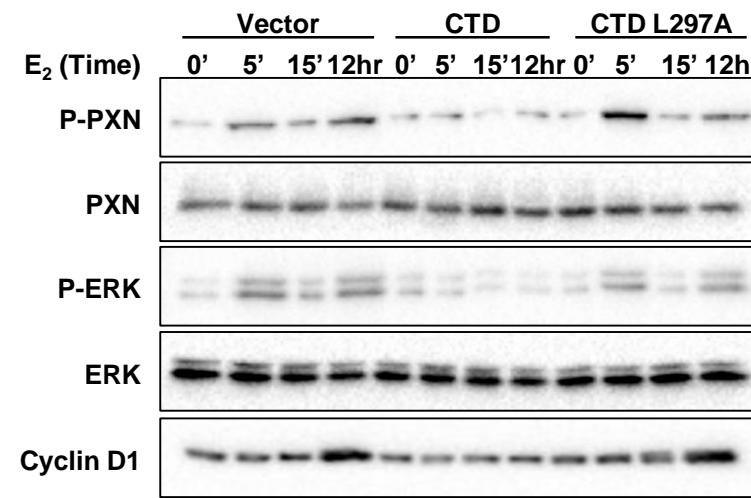
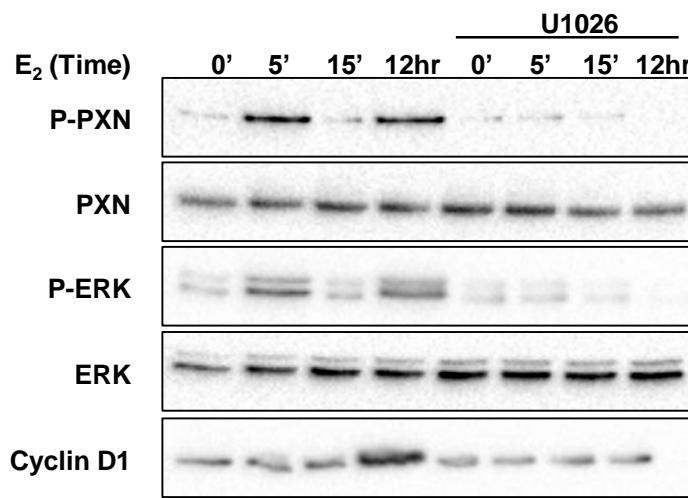
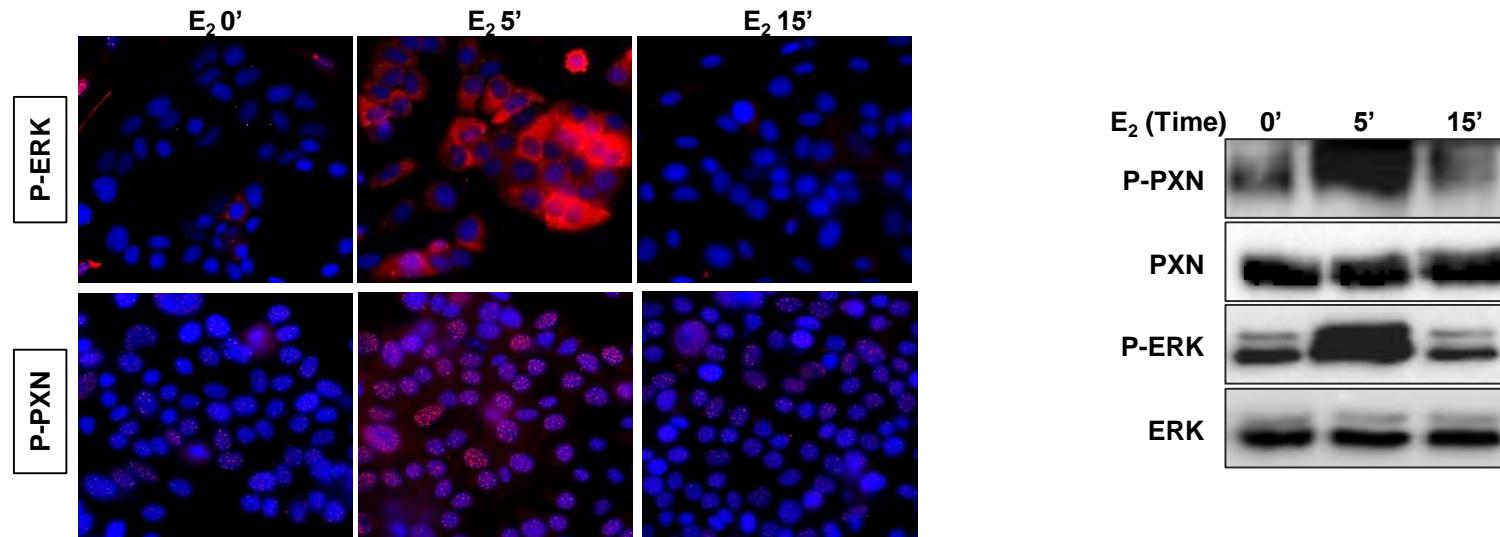
ERK2/MKP3



Vector ERα-36

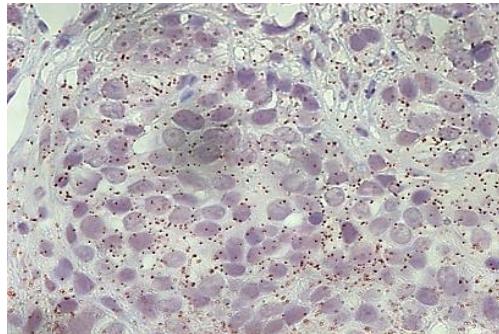
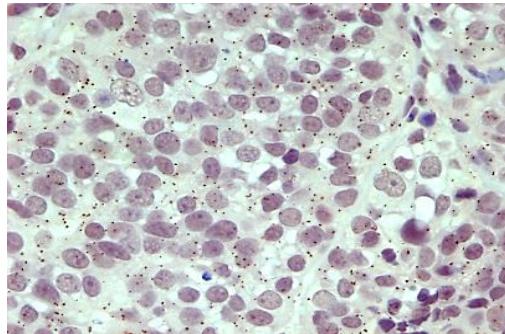
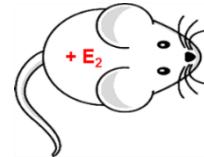
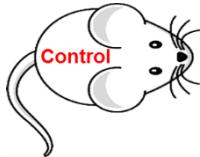


La signalisation d'ERα-36 en aval d'ERK dans les cellules

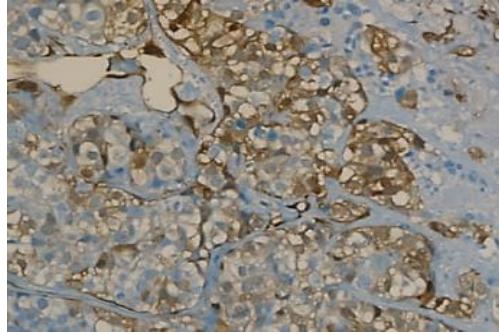
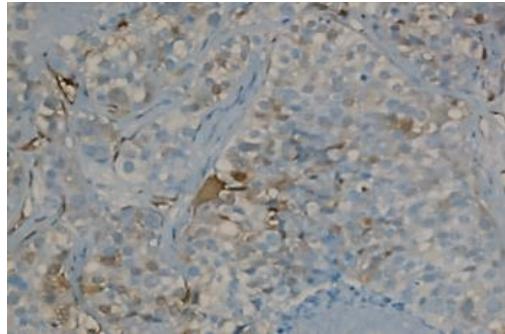


La signalisation d'ER α -36 dans les tissus

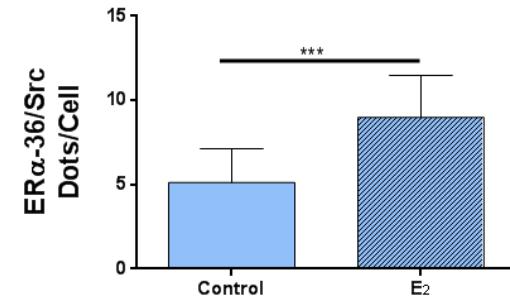
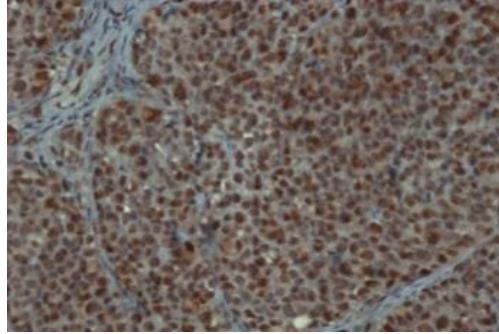
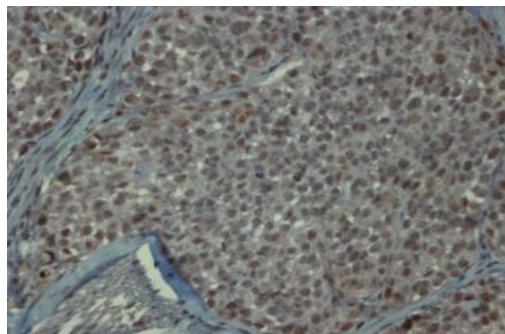
→ PDX traitées avec E2



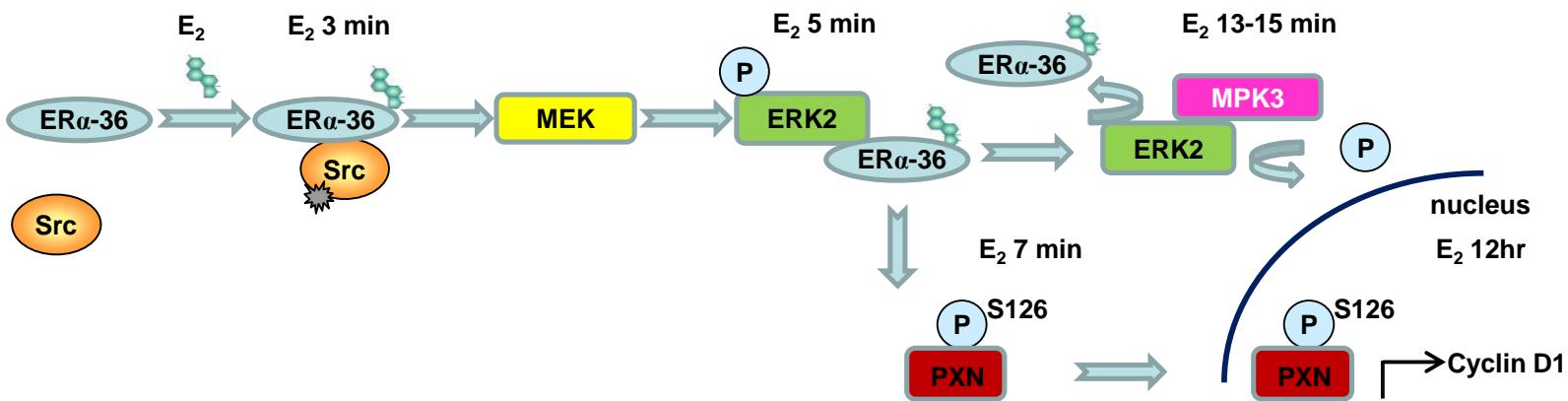
P-ERK



P-PXN

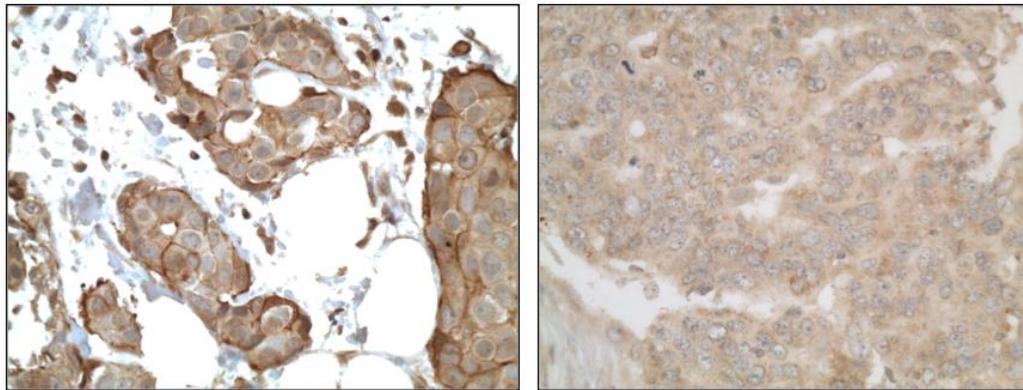


Modèle de régulation de l'activation d'ERK



ER α -36 est un marqueur de mauvais pronostic dans le cancer du sein

Analysis on 175 operable breast tumors from the Leon Berard Hospital (1999-2001)



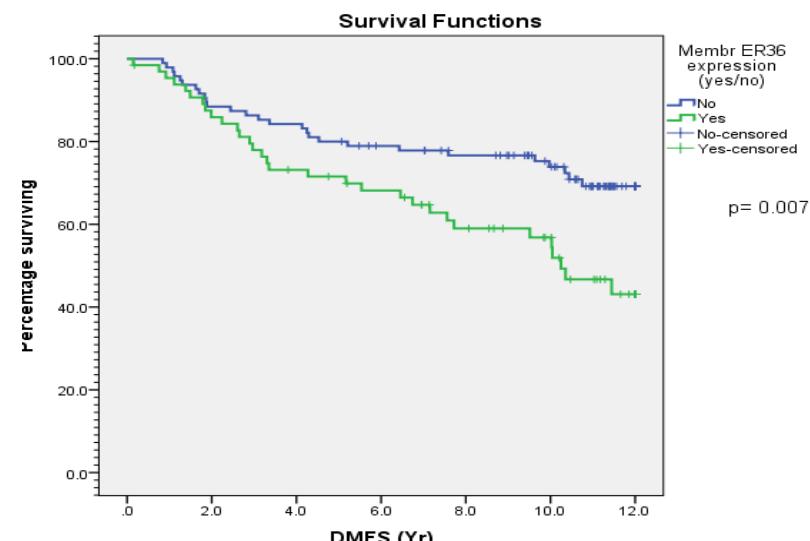
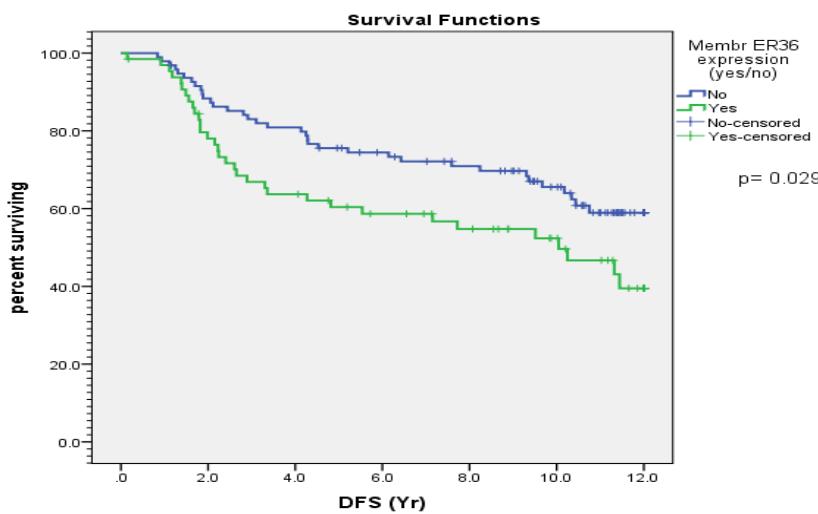
Highly Positive Tumor

Negative Tumor

ER α -36
IHC

Variable		ER36 Low No. (%)	ER36 High No. (%)	P value
SBR Grade	-Grade 1	13 (13.7%)	13 (20%)	P=0.039
	-Grade 2	50 (52.6%)	21 (32.3%)	
	-Grade 3	32 (33.7%)	31 (47.7%)	

Variable		ER36 Low No. (%)	ER36 High No. (%)	P value
Metastasis	-No Metastasis	73 (76.8%)	40 (61.5%)	P=0.037
	-Metastasis	22 (23.2%)	25 (38.5%)	



Conclusions

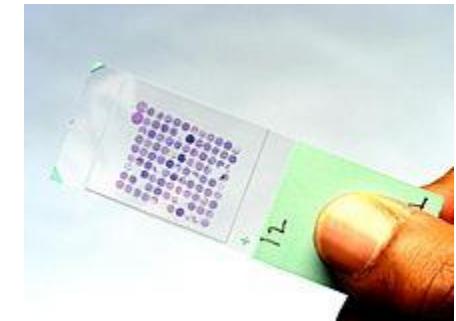
- ❖ metER α est un prérequis de la signalisation non génomique des œstrogènes.
- ❖ ER α /Src/PI3K est un nouveau facteur pronostic du cancer du sein.
- ❖ ER α -36 active et maintient la voie ERK en inhibant la déphosphorylation d'ERK par MKP3.
- ❖ ER α -36 pourrait constituer une nouvelle cible thérapeutique:
 - Exprimé à la membrane des cellules tumorales et pas des cellules normales
 - Facteur de mauvais pronostic associé au développement de métastases
 - Accessible à l'extérieur de la cellule
 - Pas de ciblage actuellement: les anti-œstrogènes activent ER α -36

Suite des projets...

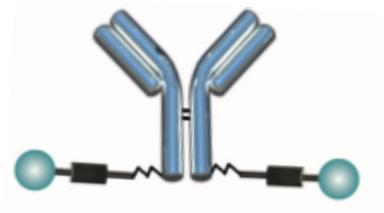
- ❖ Ciblage du complexe metER α /Src/PI3K dans des PDXs:
hormonothérapie + inhibiteurs de Src et de PI3K.
(Collaboration avec E. Marangoni, Institut Curie)



- ❖ Déterminer si la valeur pronostique d'ER α -36 est associée à un sous-type, 3^{ème} cohorte.



- ❖ Ciblage d'ER α -36 en générant un ADC: CovER α 36ADC (Covalab, Villeurbanne).



Acknowledgements



Olivier Trédan, CLB

Loay Kassem, Le Caire, Egypt

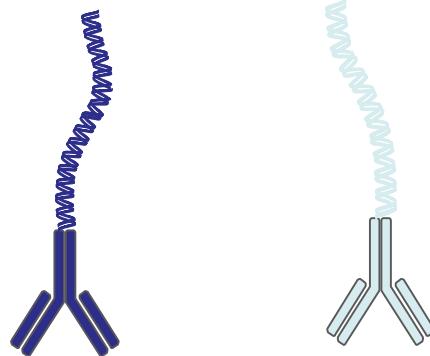
E. Marangoni, Curie, Paris

A. Dejaegere, IGBMC, Illkirch
Y. Chebaro

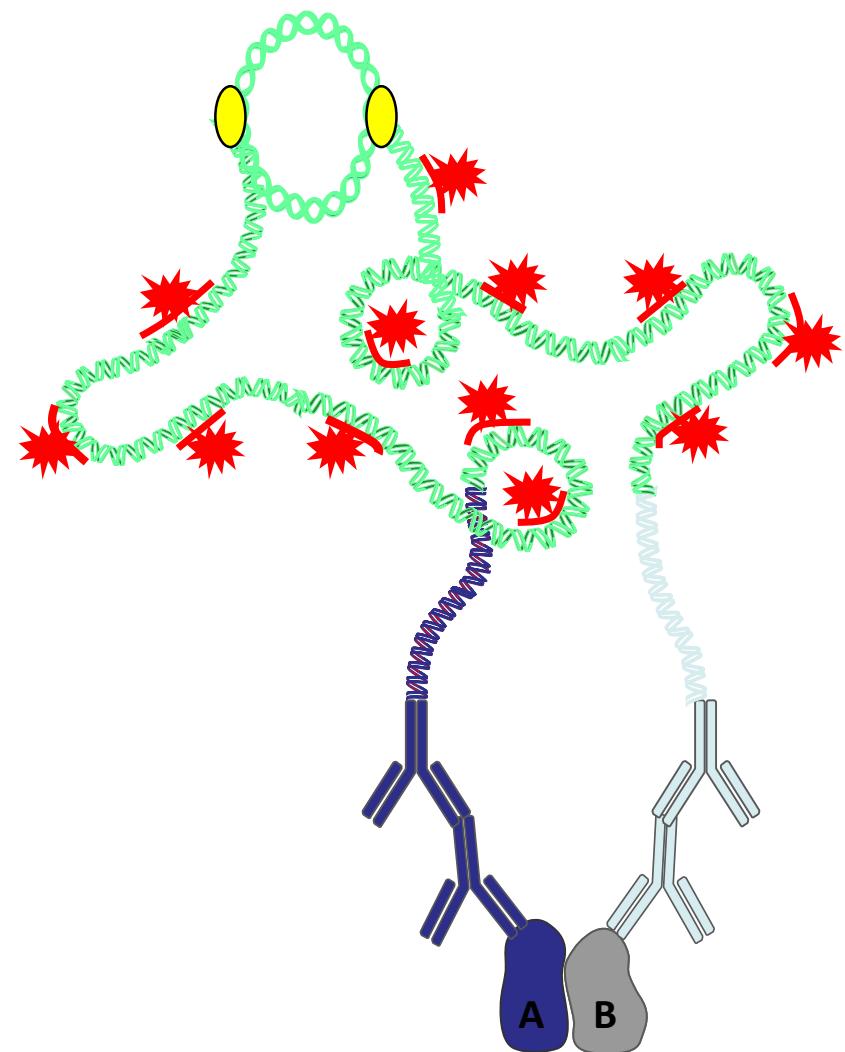
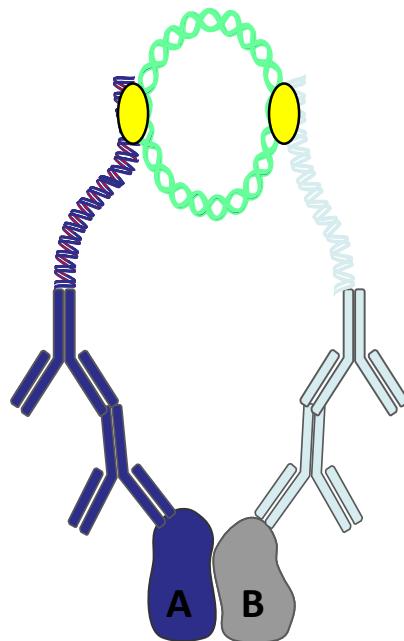
Projet
soutenu par

Proximity Ligation Assay (PLA)

PLA probe
minus



PLA probe
plus



Non genomic partners of ER α

