Meme Kanserinde Hormon Reseptörleri ve Direnç Mekanizmaları

DOÇ.DR.PINAR UYAR GÖÇÜN
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

08.11.2018

Östrojen Reseptörü (ER)

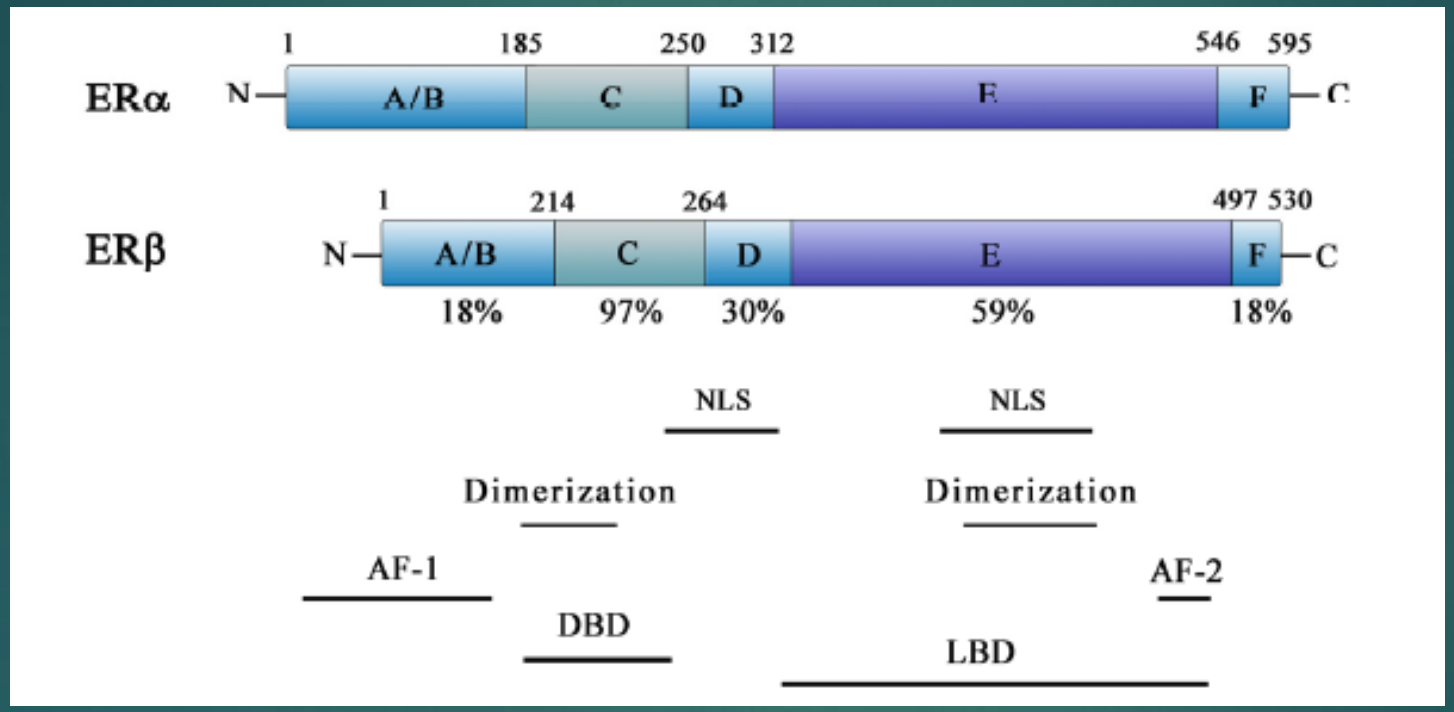
- ER transkripsiyon faktörü gibi görev yapan nükleer reseptörler ailesindendir.

- ER α: ESR1 geni (Kr 6). Meme kanserinde en önemli reseptör
  - Luminal hücrelerde +, myoepitelde –, stromal hücrelerde, areola düz kas hücrelerinde, lenfositlerde +.

- ER β: ESR 2 geni (Kr 14).
  - Luminal, myoepitelyal, stromal hücrelerde, lenfositlerde ve endotelde +

  - DNA bağlanma bölgeleri çok benzer, ancak ligand bağlama bölgeleri daha az benziyor.

ERα ve ERβ


ERα
N
A/B
C
D
E
F
C
1
185
250
312
546
595
ERβ
N
A/B
C
D
E
F
C
1
214
264
497
530
18%
97%
30%
59%
18%
NLS
NLS
Dimerization
Dimerization
AF-1
AF-2
DBD
LBD

- Östrojen reseptörü meme kanserinde %75 (+)
  - Postmenapozal ⬆
  - Genç hastalarda daha ⬇

Başlangıçtaki lenf nodu metastazı ile ilişkili değil, dolayısıyla primer tedaviden sonraki ***uzun dönem hastalık rekürrensi*** ve ***ölüm*** ile **KORELE DEĞİL.**

- Hasta yaşı ile ilişkili,
- ⬇ Tümör derecesi
- ⬇ Tümör proliferasyonu
- ⬇ Anöploidi
- ⬇ Her2 amplifikasyonu
- ⬇ p53 kaybı
- ⬆ PR ekspresyonu
- ⬇ Hastalık rekürrens oranı
- Kemik ve yumuşak doku metastazları

İLE KORELE

MEME KANSERİ VE ER

- İleri evre meme kanserinin ≈ %75'i hormon reseptörü (HR) (+)'dir.
  - ER + PR + (≈%65) ER + PR – (≈ %15) PR+ ER – (≈ %5)
  - ≥ %1 tümör hücresi nükleer (+) ise HR (+)'dir. (ASCO CAP)

Endokrin tedaviye direnç mekanizmalarının klinik ipuçları

- ER azalması veya kaybı
- Endokrin tedaviden sonra bazı hastalarda HER2 artışı
- Endokrin tedavi alırken progresyondan sonra PR kaybı
- Ardışık endokrin tedavilere cevap vermesi
- Ardışık endokrin tedavilere daha kısa süreli ve daha az yanıt vermesi
- Yüksek doz östrojen tedavisinden sonra yanıtın düşmesi
- Tüm endokrin tedavilere yanıtın kaybolması
- Yüksek dereceli, yüksek proliferasyonlu, yüksek 21-gene profil skoru olan ER + tümörlerin endokrin tedaviden daha az klinik fayda görmesi

Annu Rev Med. 2011; 62: 233-247

Endokrin tedaviye direnç tipleri

- De novo
- Tedavi sırasında kazanılmış
- ER kaybına bağlı östrojen bağımlılığının kaybı (ER -)
- ER pozitifliği devam etmesine rağmen östrojen bağımlılığının kaybı (ER +)
- Tümör hala östrojen bağımlı olmasına rağmen, spesifik bir tedaviye direnç (ER +)

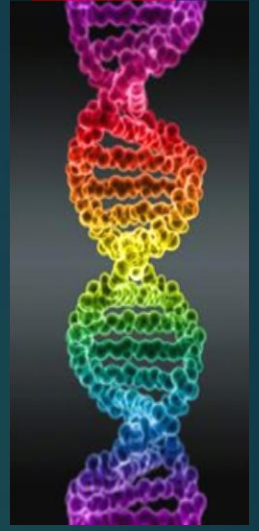
Annu Rev Med. 2011; 62: 233-247

Endokrin tedaviye direnç

- %20 hastada de novo direnç
- %30'u primer endokrin tedavi ile regresyon gösteriyor
- %20'sinde uzamış stabil dönem görülüyor.

Endocrine Related Cancer (2016) 23, 337-352
Int. J.Mol Sci. 2013, 14, 108-145
Med Princ Pract 2016;25 (suppl 2): 28-40

Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları

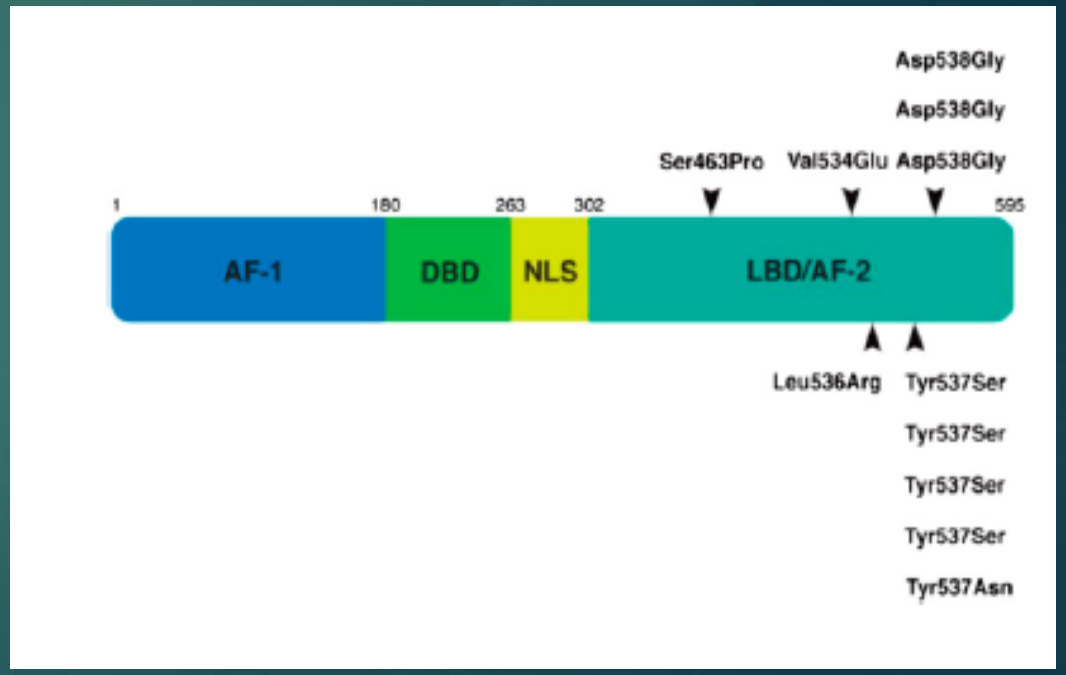


- ESR 1 mutasyonları
- Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu
- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler
- Artmış otofaji
- Tümör mikroçevresi
- Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)
- MicroRNA'lar

ER ekspresyon kaybı, ER mutasyonu ve endokrin direnç

- Endokrin tedaviye direnç geliştiren meme kanserinin %10'unda (Sighoko ve ark, 2014) - %15-20'sinde (Future Med.Chem. (2015)7(12):1511-19) ER ekspresyon kaybı mevcuttur.

- Geri kalan vakalardaki mekanizmalar
- ESR1 mutasyonları
  - Missense mutasyonlar
  - Epigenetik değişiklikler



Endocrine Related Cancer (2016) 23, 337-352

ESR1 mutasyonları

- **Delesyon** ve **nokta mutasyonların** endokrin tedaviye direnç ile ilişkili olduğu gösterilmiş.
- Çok nadir (%1)

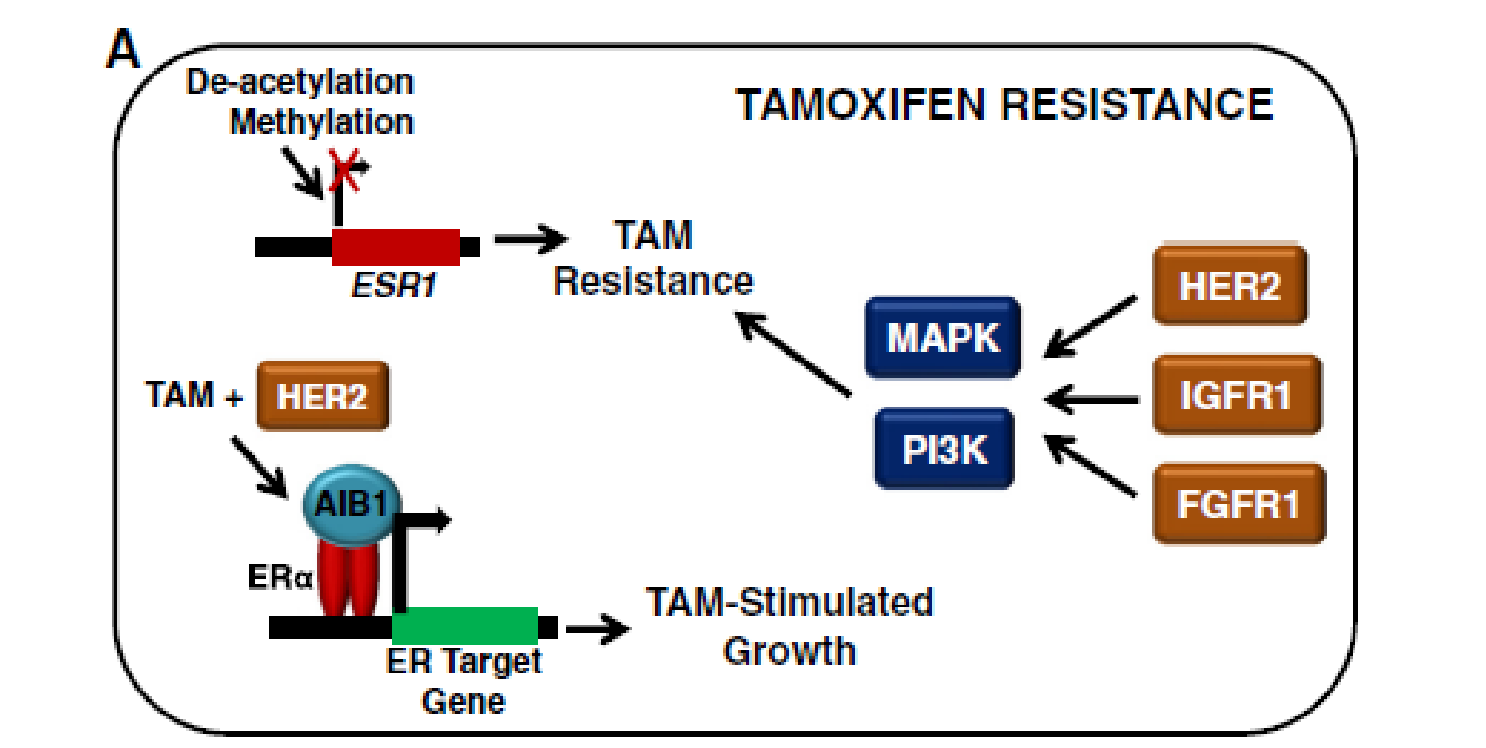
Endocrine Related Cancer (2016) 23, 337-352

ESR1'de epigenetik değişiklikler

- ER promoter bölgesindeki CpG adacıklarının aberan **metilasyonu**, transkripsiyonel inaktivasyona neden olup hormon direncine neden olabilir. (DNMT inhibitörleri)
  - ER gen metilasyonu olan %35 vakada hala ER/PR + 'dir.

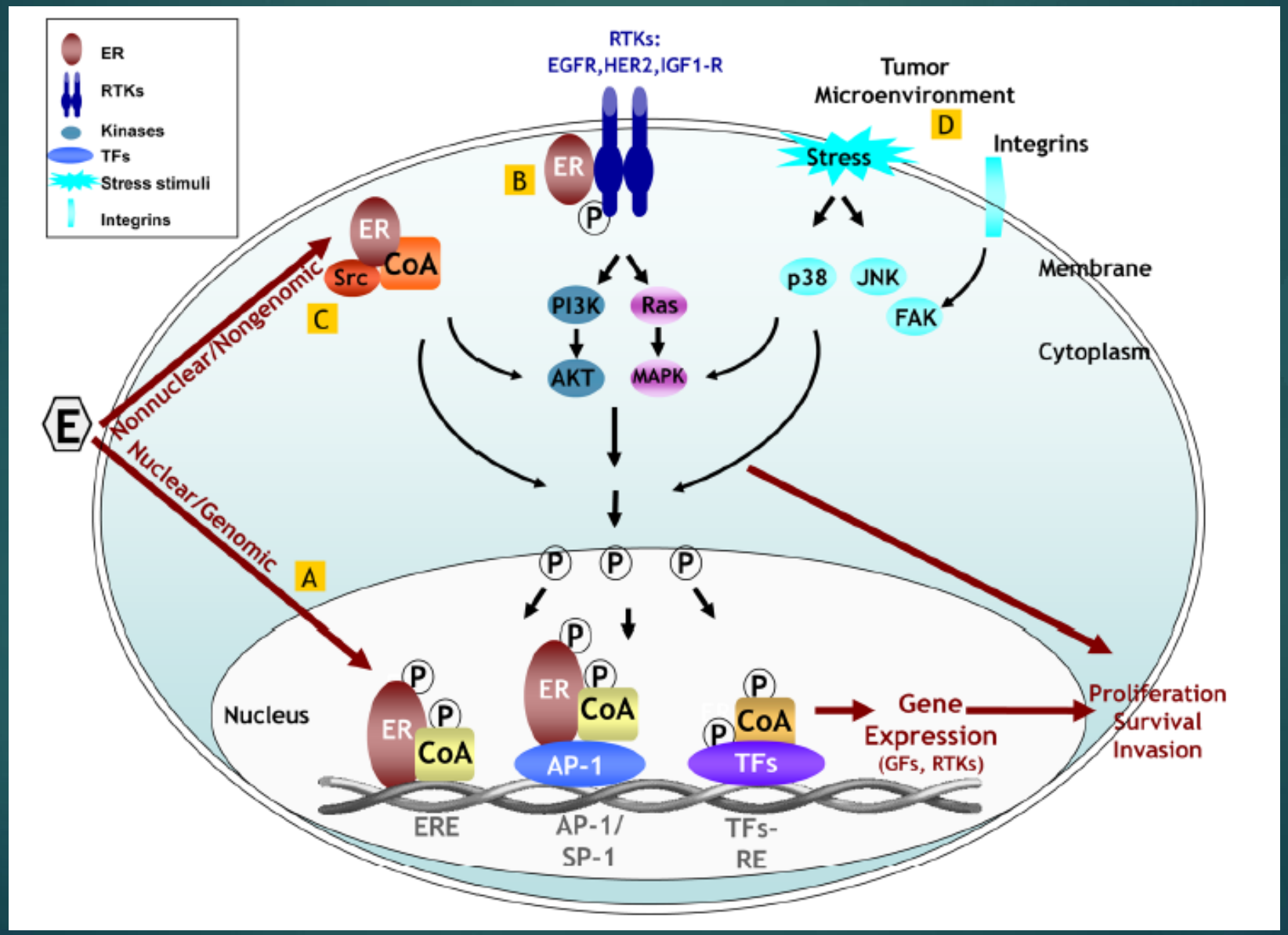
- **Histon deasitelasyonu**, bazı tümörlerde ER sessizleşmesine neden olur. (Histon deasetilaz inhibitörleri)

ESR1'de epigenetik değişiklikler



Hayes and Lewis-Wambi Breast ;Cancer Research (2015)17:40

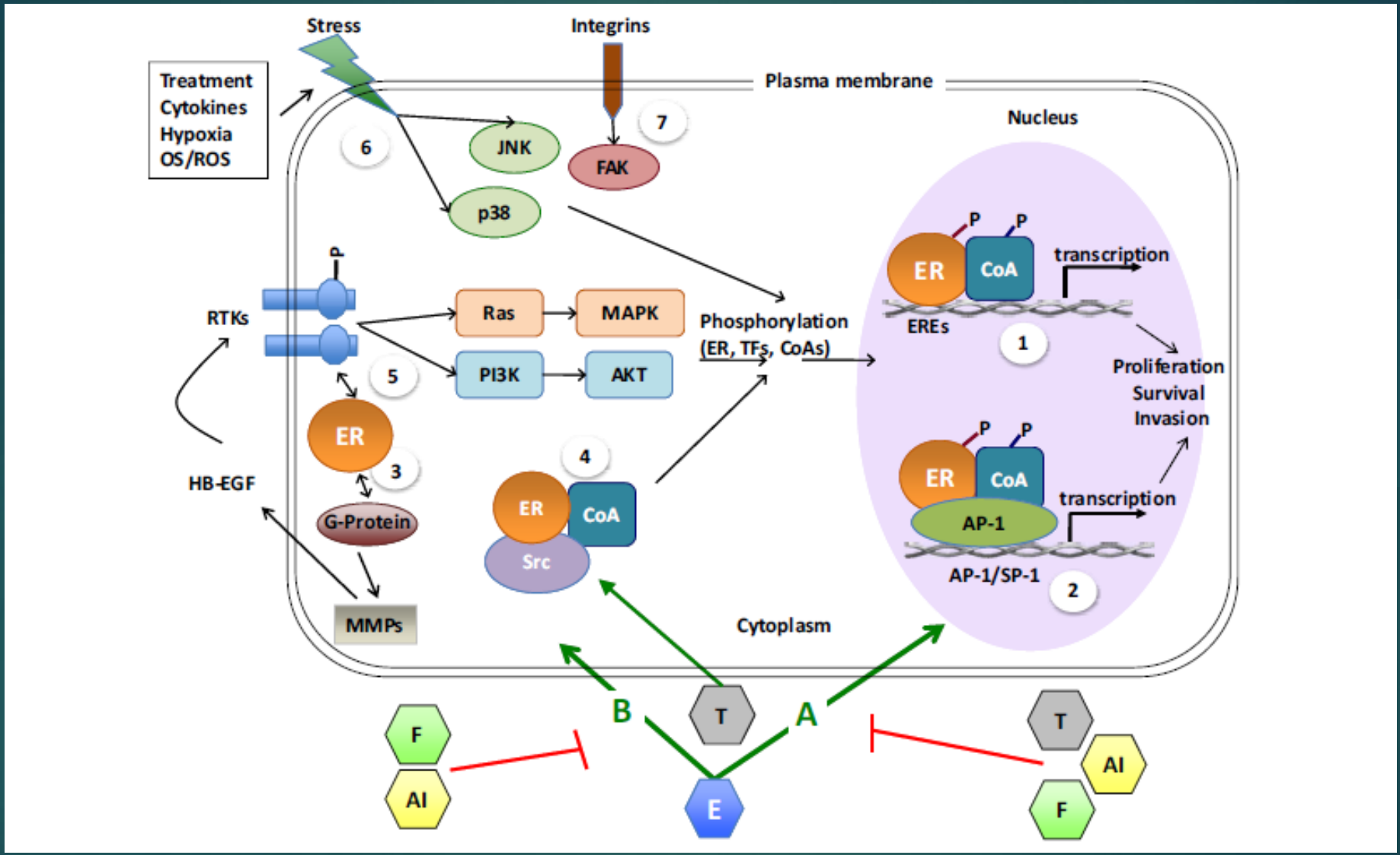
- ER → nükleer (genomik) fonksiyonlar
  → nonnükleer (nongenomik)fonksiyonlar



Annu Rev Med. 2011; 62: 233-247

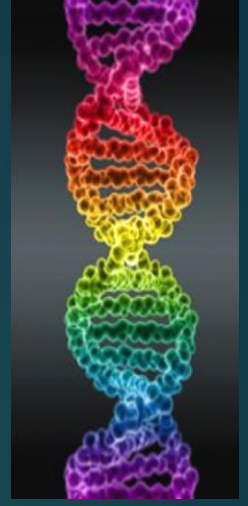
ER

- ERa hücre proliferasyonu ve yaşamı ile ilişkili (genomik ve nongenomik sinyal yolaklar üzerinden)
- **Genomik yolak** ligand – reseptör ilişkili, yapısal değişiklik, reseptör dimerizasyonu, nukleusa yer değiştirme.
- Estrogen-response element (ERE) – hedef genin promotor bölgesine direkt bağlanarak ya da AP1 veya SP1 bölgeleri ile etkileşerek koaktivatörleri veya korepresörleri artırır veya baskılar.



M.Giuliano et al. /The Breast 20 (2011):42-49

Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları



- ESR 1 mutasyonları
- **Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu**
- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler
- Artmış otofaji
- Tümör mikroçevresi
- Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)
- MicroRNA'lar

ER & EGFR / HER2 çapraz etkileşimi (crosstalk)

- HER2 overekspresyonu olan hastalarda, HR + iken bile antiöstrojen ajanlara direnç olduğu görülmüştür.
- ER+ tümörlerde, uzun dönem Tamoksifen tedavisi sonrası, dirençli klonlar gelişmiş ve bunlarda fosforile ve total **EGFR** ve **HER2** ekspresyonunun arttığı görülmüş.
- HER2 ve ER ko-aktivatörü olan AIB1'in çapraz etkileşimi tamoksifen-ER agonist aktivitesini artırabilir.

Future Med.Chem. (2015),1511-1519

PI3K-AKT-mTOR yolağı

- **PI3K-AKT-mTOR** yolağı tümör proliferasyonu ve progresyonunda önemli rol oynar.
- Bu yolaktaki artış, ER yolağı ile etkileşerek, endokrin dirence neden olur.
- **PI3K-AKT yolağı** ER fosforilasyonuna neden olarak liganddan bağımsız ER aktivasyonuna neden olur.

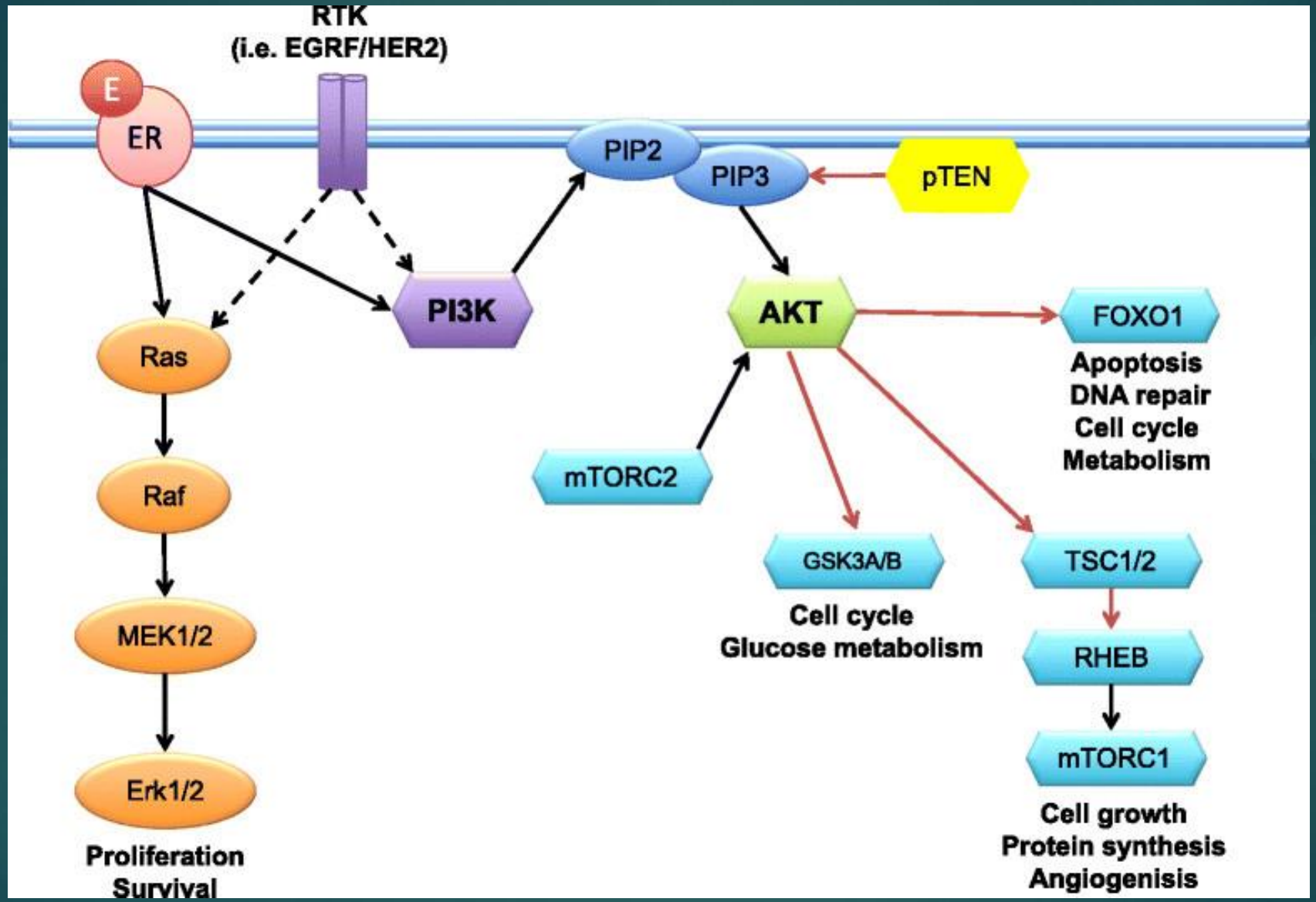
Future Med.Chem. (2015),1511-1519

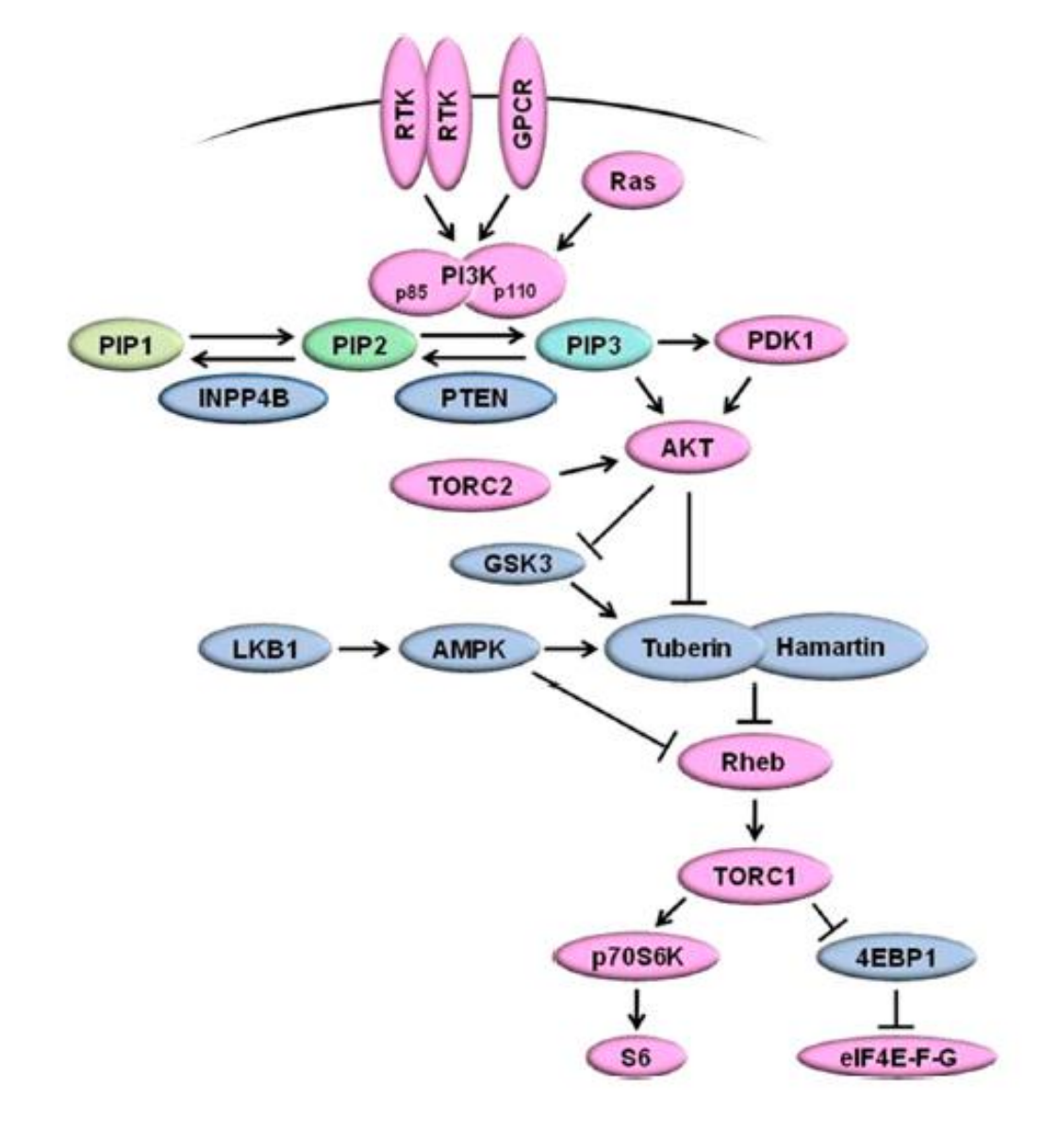
- **EGFR, HER2, IGF1R** ve/veya bunların daha altındaki sinyal molekülleri östrojen yokluğunda bile ER fosforilasyonuna direkt neden olabilir.

- Endokrin tedaviye dirençli meme kanserinde **PTEN** çoğunlukla inaktiftir.

- HER2'nin anti apoptotik protein **Bcl-2'**nin ekspresyonunu arttırdığı , böylece kanser hücresinin yaşamını ve östrojenden bağımsız çoğalmasını arttırdığı gösterilmiştir.

Med Princ Pract 2016;25(2):28-40


RTK
(i.e. EGRF/HER2)
E
ER
PIP2
PIP3
pTEN
PI3K
AKT
FOXO1
Apoptosis
DNA repair
Cell cycle
Metabolism
Ras
Raf
MEK1/2
Erk1/2
Proliferation
Survival
mTORC2
GSK3A/B
Cell cycle
Glucose metabolism
TSC1/2
RHEB
mTORC1
Cell growth
Protein synthesis
Angiogenisis

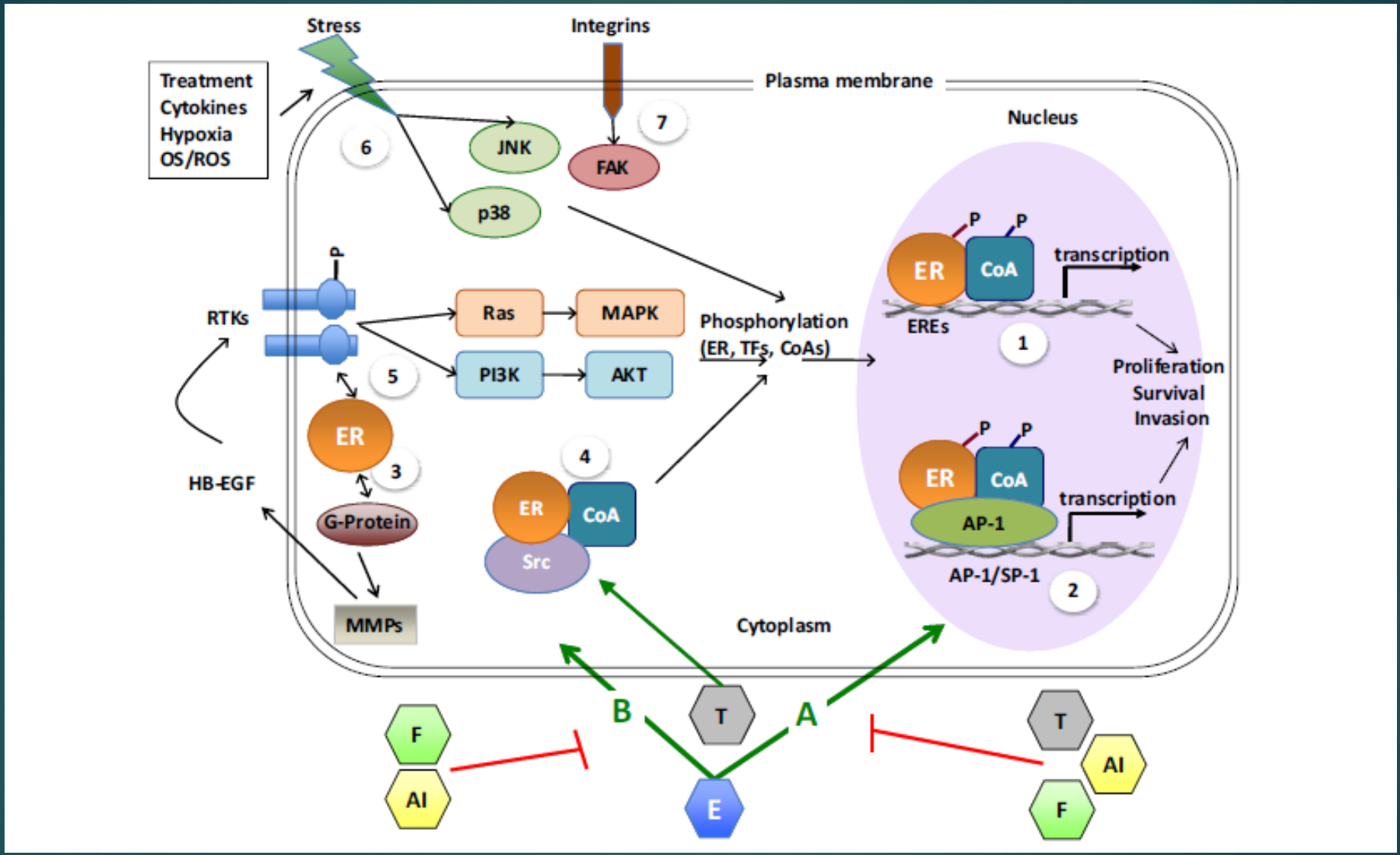

RTK
RTK
GPCR
Ras
PI3K
p85
p110
PIP1
PIP2
PIP3
PDK1
INPP4B
PTEN
AKT
TORC2
GSK3
LKB1
AMPK
Tuberin
Hamartin
Rheb
TORC1
p70S6K
4EBP1
S6
eIF4E-F-G

ER & EGFR / HER2 çapraz etkileşimi (crosstalk)

- **ERK1, MAPK ve AKT**, ER'yi fosforile edebilir ve AIB1'i aktive edebilir, nükleer tamoksifen-ER kompleksi ile bunların koaktivatörleri arasında çapraz etkileşimi ile hücre yaşamı ve proliferasyonunu uyarabilir.

- **HER2** ve membran ER çapraz etkileşimi tamoksifen direnci ile ilişkilidir.

Future Med.Chem. (2015),1511-1519



M.Giuliano et al. /The Breast 20 (2011):42-49

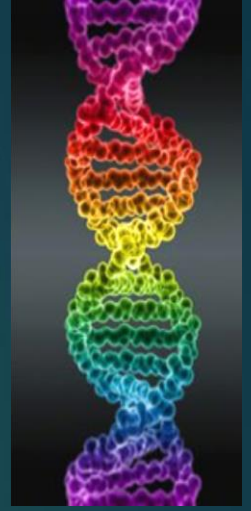
Diğer sinyal yolakları

- **NOTCH** ve **nükleer fatör κB (NFκB)** endokrin dirençle ilişkili genlerin ekspresyonunu kontrol eder.

- NFκB ekspresyonu ER – meme kanserinde yüksek iken, ER + hücrelerde belirgin olarak düşüktür. ER ile çapraz etkileşme yaptığı bilinmektedir.
- Endokrin dirençli meme kanserinde yüksek ekspresyonu olduğu bildirilmiştir.

Med Princ Pract 2016;25(2):28-40

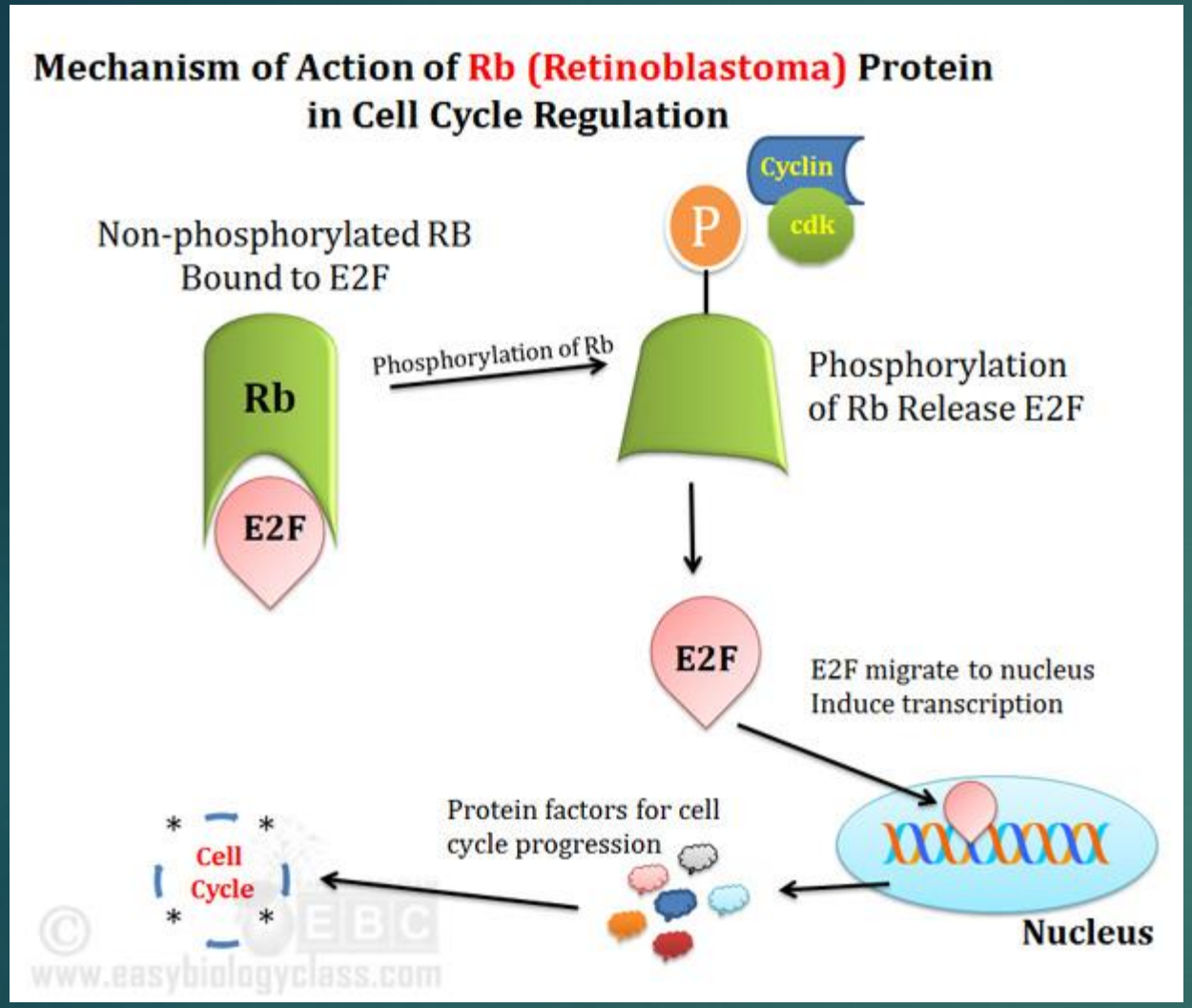
Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları

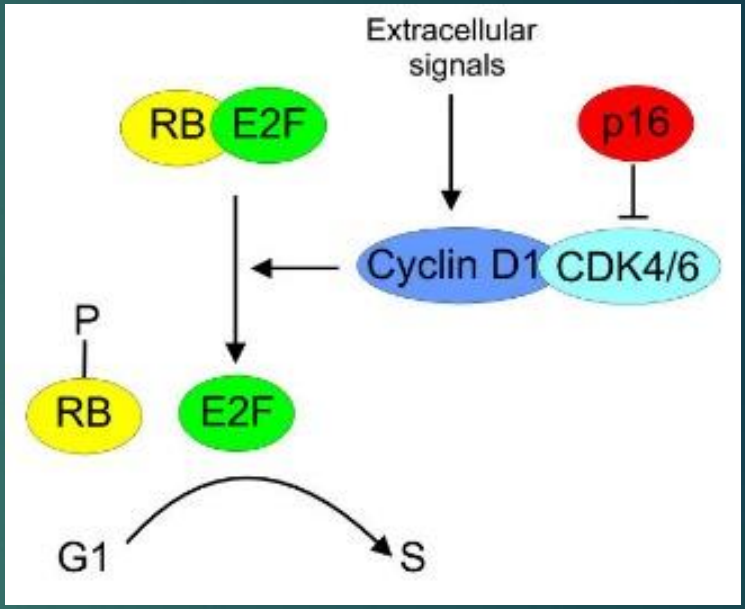


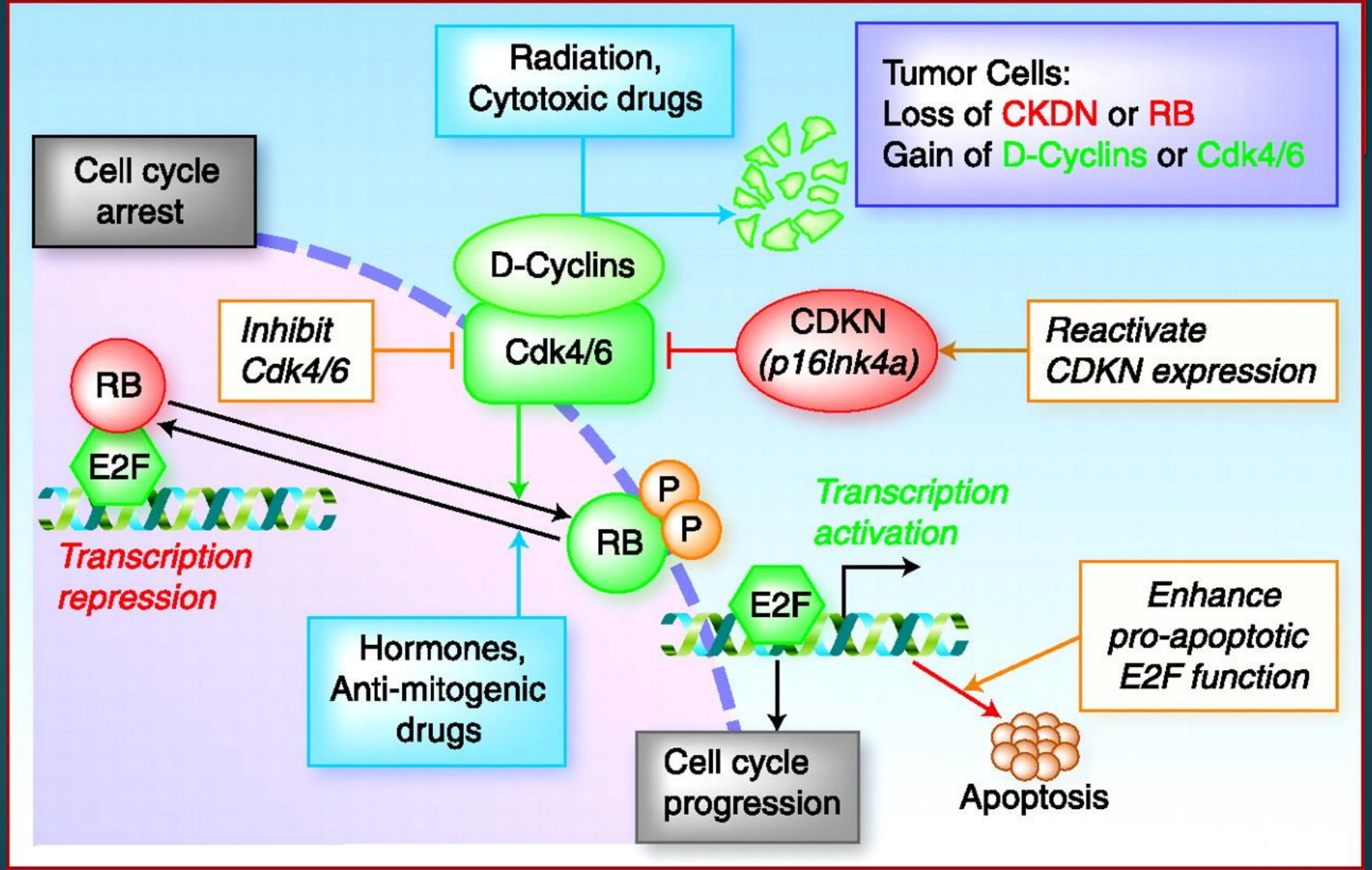
- ESR 1 mutasyonları
- Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu
- **Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler**
- Artmış otofaji
- Tümör mikroçevresi
- Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)
- MicroRNA'lar

Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler

- Rb → Antiproliferatif sinyaller
- Siklin ve Siklin bağımlı kinazlar (CDK), Rb genini düzenlerler.
- G1'den S fazına geçmek için Rb geni fosforile olmalıdır.
- **CDK4 veya homoloğu CDK6, Siklin D1, D2 veya D3** ile kompleks yaparak Rb'yi fosforile eder.
- Hiperfosforile Rb, E2F ailesi transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini baskılayamaz, DNA replikasyonu, S fazına geçiş ve mitoza ilerleme gerçekleşir.
- **Tümörlerde p16 inaktivasyonu, CDK4 amplifikasyonu, siklin D1 translokasyonu, amplifikasyonu, overekspresyonu** gibi mutasyonlar olur.


Mechanism of Action of Rb (Retinoblastoma) Protein in Cell Cycle Regulation
Cyclin
cdk
P
Non-phosphorylated RB Bound to E2F
Rb
E2F
Phosphorylation of Rb
Phosphorylation of Rb Release E2F
E2F
E2F migrate to nucleus Induce transcription
Protein factors for cell cycle progression
Cell Cycle
Nucleus
© EBC
www.easybiologyclass.com


Extracellular signals
RB
E2F
p16
Cyclin D1
CDK4/6
P
RB
E2F
G1
S



CCR Molecular Pathways

Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları

- ESR 1 mutasyonları
- Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu
- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler
- **Artmış otofaji**
- Tümör mikroçevresi
- Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)
- MicroRNA'lar

Artmış otofaji

- Otofaji, hasarlı veya gereksiz subselüler organellerin degradasyonuna öncülük eden hücre içi bir süreç.
- Açlık ve hipokside düzeyi artar.
- Otofaji inhibisyonu endokrin duyarlılıkta yeniden yapılanmaya neden olur ve preklinik modellerde endokrin dirençli meme kanserinde apoptotik hücre ölümünü teşvik ettiği gösterilmiştir.

Targeting autophagy in breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology (2014);* **5:** 224–240.

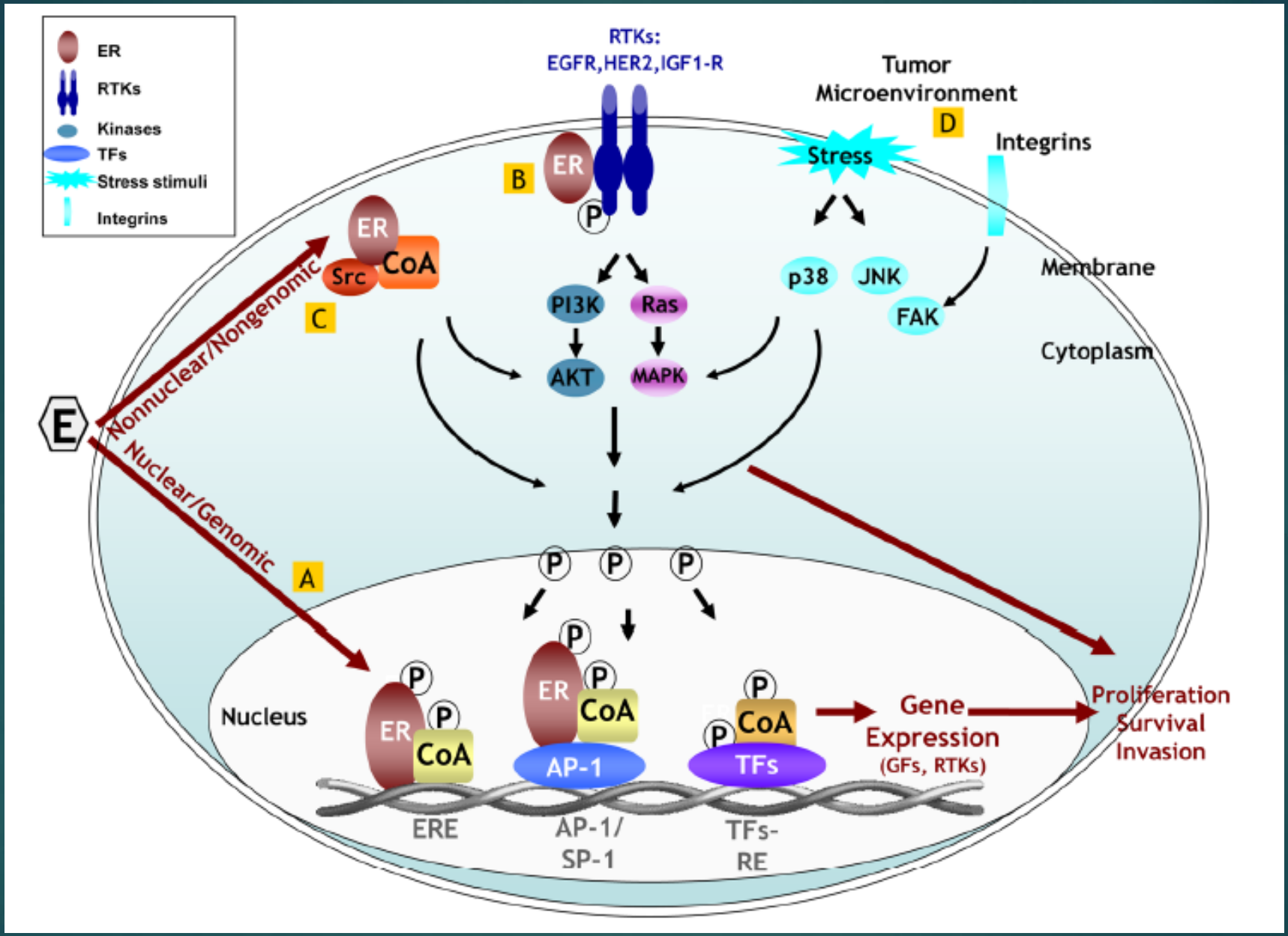
Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları

- ESR 1 mutasyonları
- Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu
- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler
- Artmış otofaji
- **Tümör mikroçevresi**
- Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)
- MicroRNA'lar

Tümör mikroçevresi

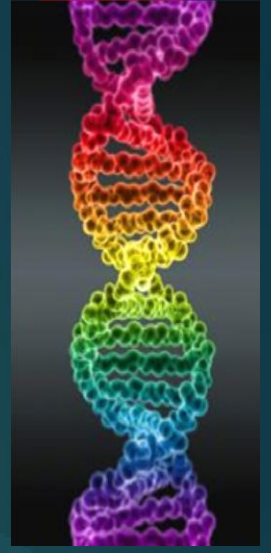
- İntegrinler ve aşağı yöndeki medyatörler FAK, MAPK, PI3K endokrin direnç ile ilişkilidir.
- İntegrin ile aktive FAK çeşitli büyüme faktörleri ile çapraz etkileşim yapar (ör. c-erbB2)

- Stres, heat shock protein (Hsp) ve p38 MAPK gibi stres ilişkili medyatörleri artırarak endokrin dirence neden olur.
  - Hsp90, Hsp70, Hsp27 mutasyone ve yüksek ekspresyone HER2, c-Src ve IGFR1 üzerinden etki eder.
  - p38 Era'yi fosforile ederek, AIB1 aktivitesini de arttırarak ER ligand bağımsız transaktivasyonuna neden olur.



Annu Rev Med. 2011; 62: 233-247

Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları



- ESR 1 mutasyonları
- Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu
- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler
- Artmış otofaji
- Tümör mikroçevresi
- **Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)**
- MicroRNA'lar

EMT

- Ekstraselüler sinyallere yanıt olarak transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile EMT başlar.

- EMT-TF'ler → Snail, Twist, Zeb
  - Epitelyal fenotipi baskılarlar
  - Mezenkimal özellikler kazandırırlar: Motilite, bazal membranı ve ekstraselüler matriksi degrade etme yeteneği kazandırırlar.

EMT

KAYIP

- Sitokeratin ekspresyonu
- E-cadherini de içeren sıkı bağlantılar ve epitelyal adezyonlar
- Epitel hücre polaritesi
- Epitel gen ekspresyon programı

KAZANIM

- Fibroblast benzeri şekil
- Motilite
- İnvazivlik
- Apoptozise rezistans
- Mezenkimal gen ekspresyon programı (EMT-indükleyen transkripsiyon faktörleri dahil)
- Mezenkimal adezyon proteini (N-cadherin)
- Proteaz sekresyonu (MMP-2, MMP-9)
- Vimentin ekspresyonu
- Fibronektin sekresyonu
- PDGF reseptör ekspresyonu
- $\alpha_v\beta_6$ integrin ekspresyonu
- Kök hücre benzeri özellikler

EMT'nin transkripsiyonel kontrolü

- İlk olarak SNAI1 ile CDH1 promoter (E-cadherini kodlar) etkileşimi tanımlanmış. Daha sonra:
- SNAI226
- ZEB1 ve ZEB2
- E47 (TCF3)
- Krüppel-like factor 8 (KLF8)
- Brachyury31 tanımlanmış.
- Bu faktörlerin gücü sadece E-cadherin represyonu ile değil,eş zamanlı diğer bileşke proteinlerinin –claudinler, desmozomlar- transkripsiyonunun baskılanması ile de ilişkildir.

Epitelyal Mezenkimal Dönüşüm (EMT)

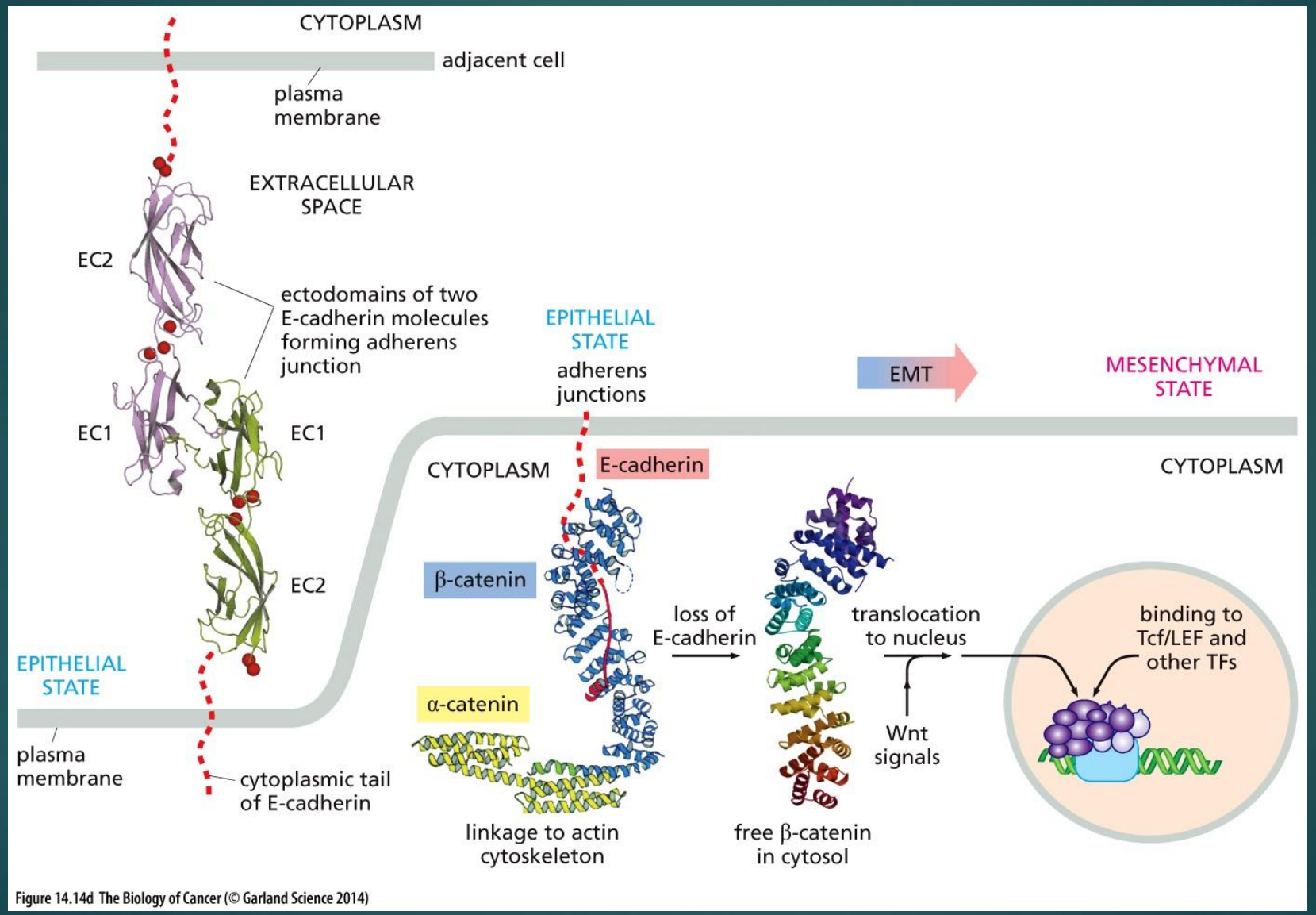
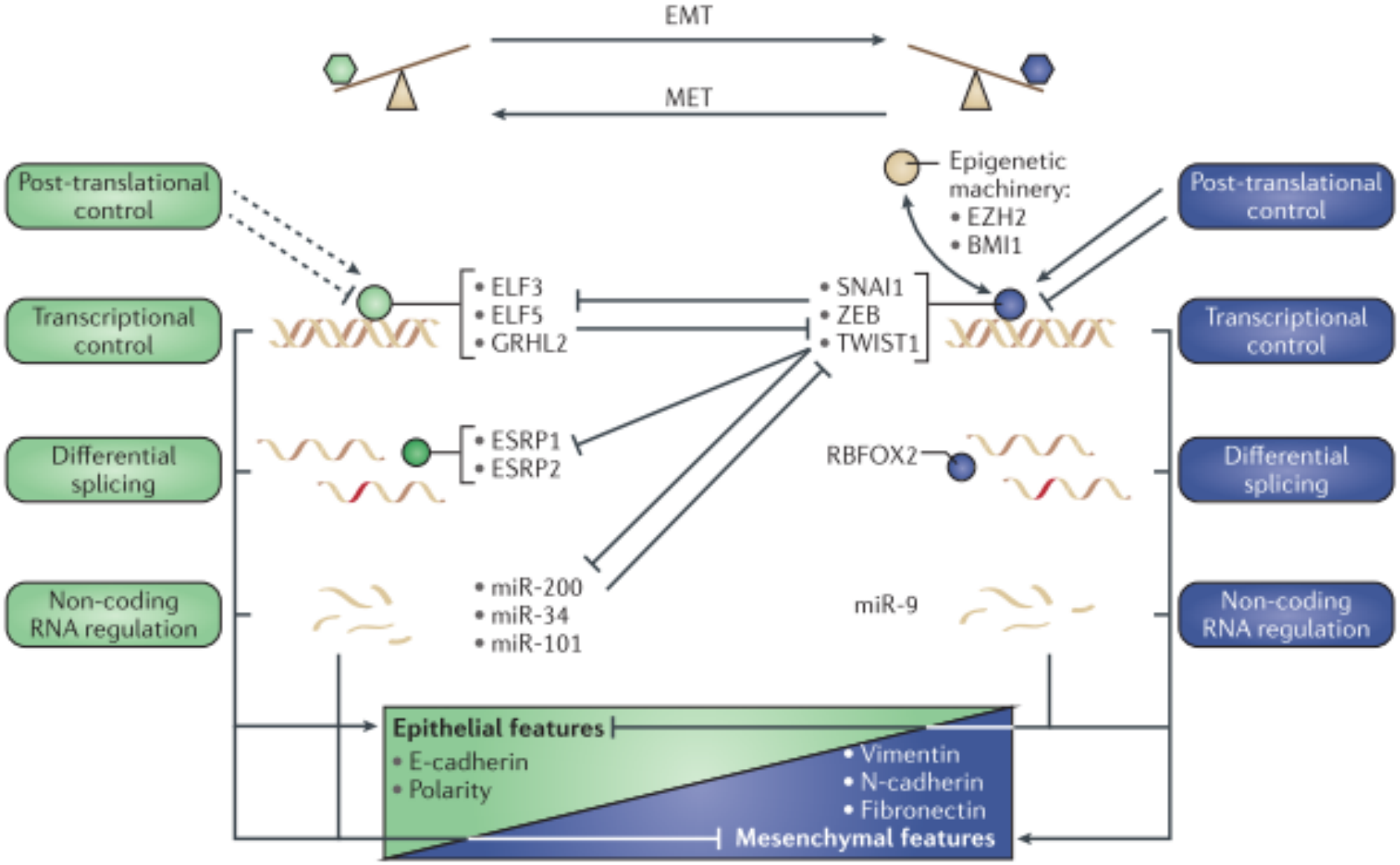
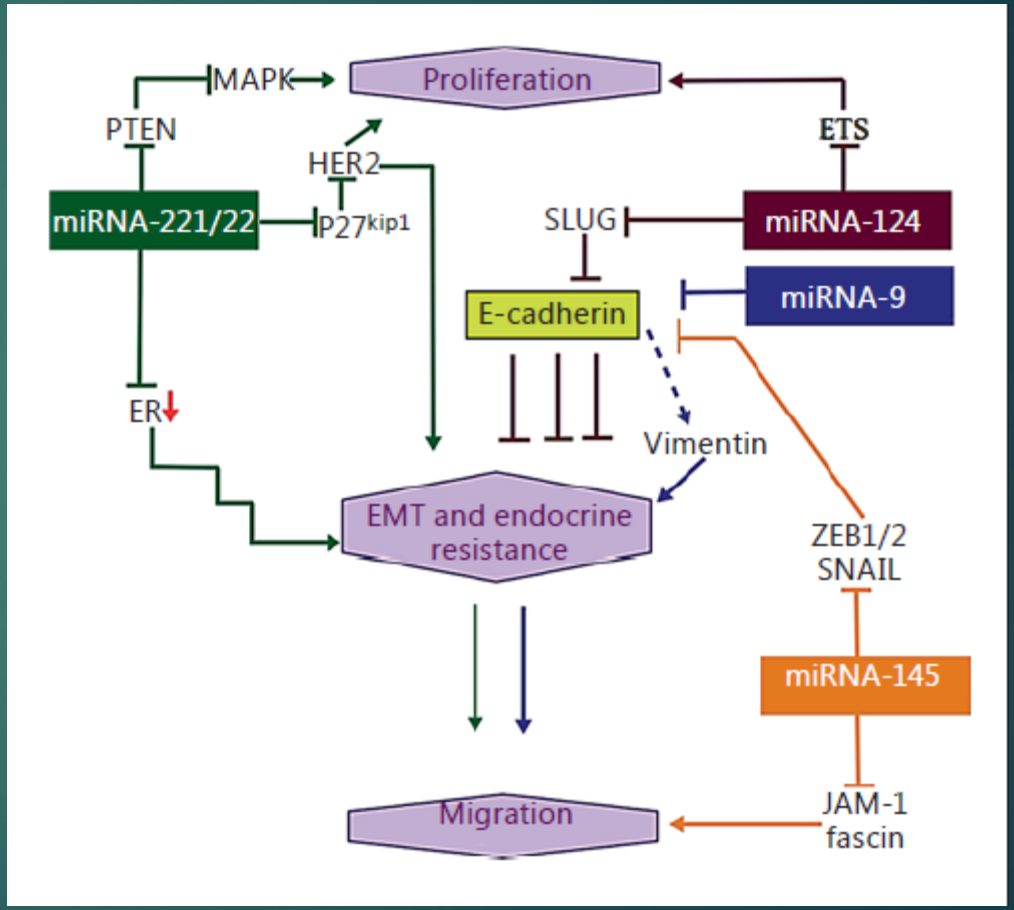


Figure 14.14d The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)


EMT
MET
Post-translational control
Transcriptional control
Differential splicing
Non-coding RNA regulation
Epigenetic machinery:
• EZH2
• BMI1
• ELF3
• ELF5
• GRHL2
• SNAI1
• ZEB
• TWIST1
• ESRP1
• ESRP2
RBFOX2
• miR-200
• miR-34
• miR-101
miR-9
Post-translational control
Transcriptional control
Differential splicing
Non-coding RNA regulation
Epithelial features
• E-cadherin
• Polarity
• Vimentin
• N-cadherin
• Fibronectin
Mesenchymal features

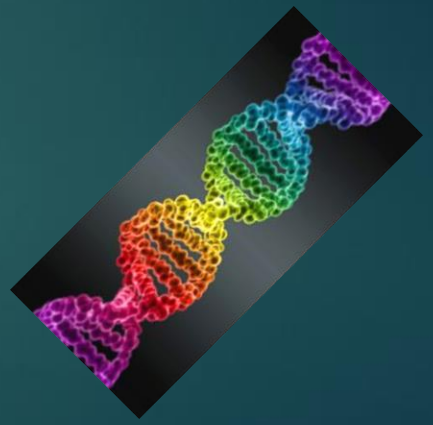
EMT ve endokrin direnci

- Çeşitli sinyal yolakları EMT transkripsiyonunu artışına neden olur.
  - RTK ve integrin yolakları, Src, MAPK, PI3K, AKT, FAK sinyal molekülleri ile SNAIL ekspresyonlarını arttırırlar.



Meme Kanserinde Endokrin Tedaviye Direnç Mekanizmaları

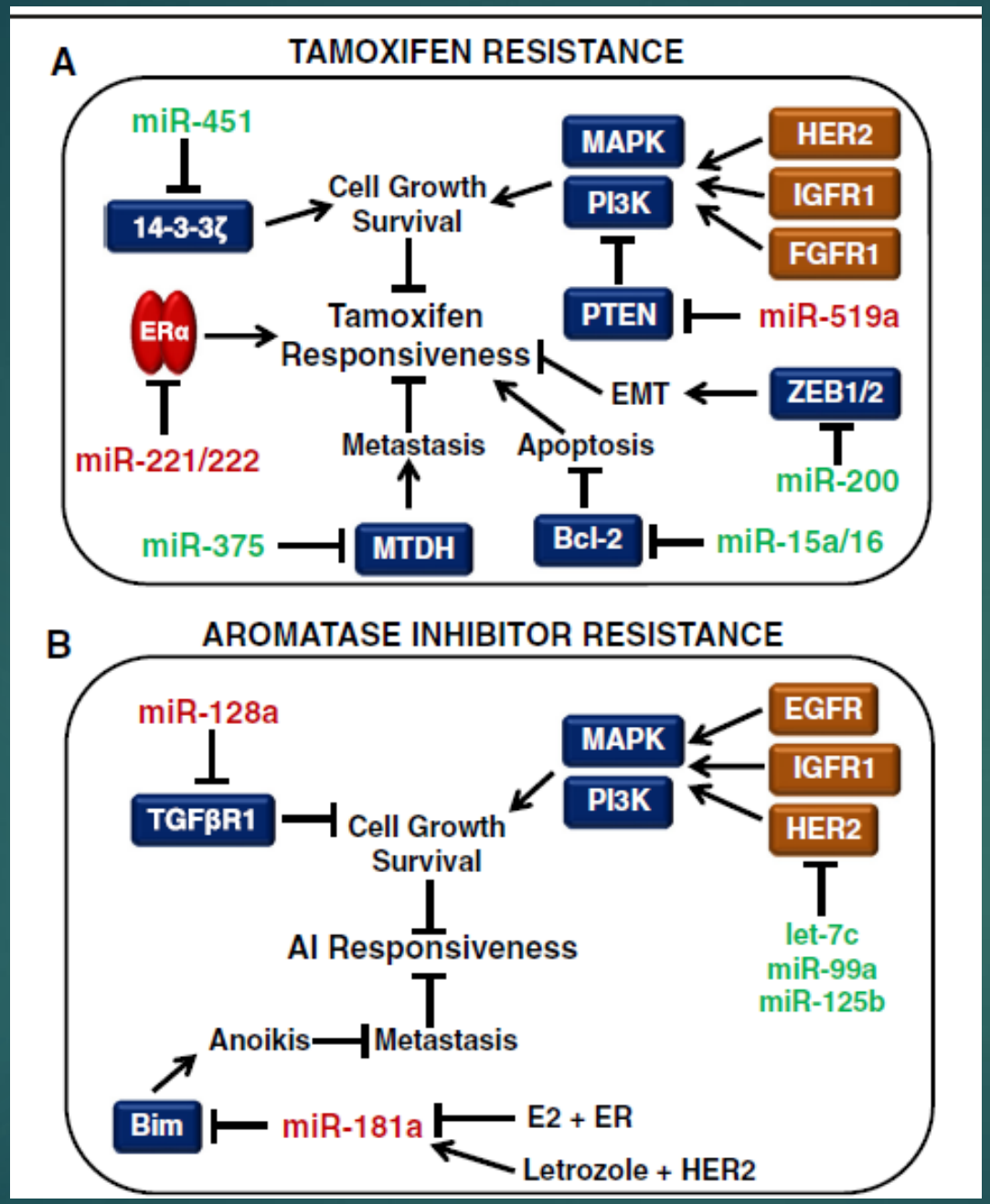
- ESR 1 mutasyonları
- Büyüme faktörü reseptörlerinin sinyal yolakları, PI3K/AKT/mTOR ve RAF/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu
- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler
- Artmış otofaji
- Tümör mikroçevresi
- Epitelyal mezenkimal dönüşüm (EMT)
- **MicroRNA'lar**



MikroRNA'lar ve EMT

- Bazı mikroRNA'lar meme kanseri hücrelerinde EMT'ye neden olmaktadır (miRNA-9, miRNA-24, miRNA-29, miRNA-103/107, miRNA16b-25, miRNA-155, miRNA-221/222)
- **miRNA-221/222),** HER2+, ER- tümörlerde daha yüksek seviyede (HER2-, ER+ tümörlere göre) ve ER protein ekspresyonunu inhibe eder. **Endokrin direnç ile ilişkili olduğunu bildiren yayınlar var.**
- EMT'yi tersine çeviren miRNA'lar da var (miR-7, miR-124, miR-145, miR-200 ilesi, miR205, miR-375, miR-448).

Med. Princ. Pract 2016;25(2): 28-40



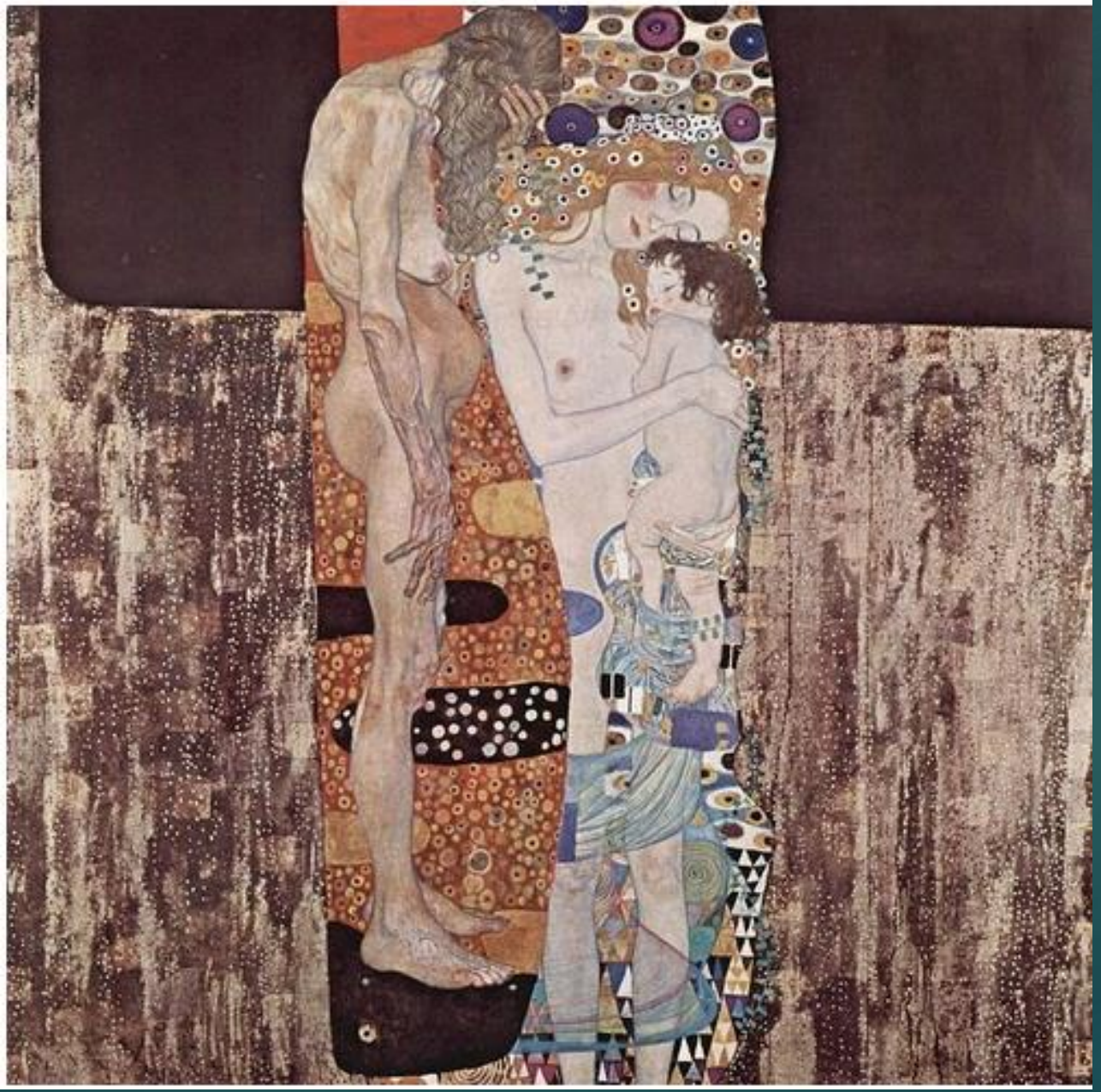
Hayes and Lewis-Wambi Breast ;Cancer Research (2015)17:40

Mechanisms of endocrine resistance

Resistance pathway	Mechanism	Reference(s)
ER expression and activity loss	Mutations	27
	Gene regulation	28
	Post-transcriptional modifications (e.g. splice variants, mRNA stability)	17,29
	Post-translational modifications	30
Transcriptional machinery of ER	Down-regulation of co-repressors (e.g. NCoR)	31
	Over-expression of co-activators (e.g. AIB1)	22,32
	Increased expression of transcriptional factors (e.g. AP-1, SP-1, NFκB)	33,34
Cross-talk between ER and RTKs	EGF/EGFR	35–37
	HER2	37–39
	IGF1R	40,41
	PI3Ks/Akt	41–45
	p44/42 MAPK	46,47
	Stress-induced kinases (JNK, p38 MAPK)	48
Cell cycle regulators	Over-expression of positive regulators (e.g. MYC and cyclins E1 and D1)	49
	Reduced expression of negative regulators (e.g. p21 and p27)	50,51
	Over-expression of anti-apoptotic molecules (e.g. BCL-XL)	52
	Reduced expression of pro-apoptotic molecules (e.g. BCL2-interacting killer and caspase 9)	52

ER: estrogen receptor; AIB1: amplified in breast 1; NCoR: nuclear receptor corepressor; AP1: activator protein 1; SP-1: specificity protein 1; NFκB: nuclear factor-κB; EGF: epidermal growth factor; EGFR: epidermal growth factor receptor; HER2: human epidermal growth factor receptor 2; IGF1R: insulin growth factor 1 receptor; PI3Ks: phosphatidylinositol 3-kinases; MAPK: mitogen activated protein kinase; JNK: c-Jun N-terminal kinase; BCL-XL: B-cell lymphoma-extra large; BCL2: B-cell lymphoma 2.

M.Giuliano et al. /The Breast 20 (2011):42-49

GUSTAVE KLIMT
Three Ages of Woman, 1905

Gustave Klimt “Kadının Üç Çağı”