

Örebro Studies in Medicine 123



ANNA GÖTHLIN EREMO

Biological profiles of endocrine breast cancer

© Anna Göthlin Eremo, 2015

Title: Biological profiles of endocrine breast cancer

Publisher: Örebro University 2015
www.oru.se/publikationer-avhandlingar

Print: Ineko, Källered 04/2015

ISSN 1652-4063
ISBN 978-91-7529-071-3

Abstract

Anna Göthlin Eremo (2015): Biological profiles of endocrine breast cancer. Örebro Studies in Medicine 123

The majority of breast cancer patients have a hormone responsive tumor and are candidates for endocrine treatment. Adjuvant tamoxifen significantly lowers the risk of recurrence for most patients, however up to 40% still experience a tumor relapse and the importance of finding additional predictive factors is substantial. The objective of present thesis was to study molecular aspects of tamoxifen resistance in endocrine breast cancer. We evaluated the transcription factor Foxl2 which may activate the enzyme aromatase (*CYP19A1*) gene expression, followed by increased intratumoral estrogen levels. We discovered Foxl2 and aromatase co-expression in tumor tissue and patients with nuclear Foxl2 had a longer recurrence-free survival. Protein expression of the tumor suppressor Wwox has previously been associated to endocrine breast cancer. The function of Wwox seem to be via protein-protein interactions, by keeping certain transcription factors from entering the nucleus. We found that patients with expression of Wwox had an improved recurrence-free survival compared to Wwox-negative, but only among those given adjuvant tamoxifen. Further, nuclear localization of the HER4 intracellular domain (4ICD) is a co-activator of ER α , although Wwox interaction may cause cytoplasmic sequestration. We investigated co-expression patterns of Wwox and 4ICD however found no correlations to patients' survival. Finally, we conducted a microarray study of gene expressions in tumors from tamoxifen treated patients with or without a distant recurrence. We found genes (e.g. AGTR1, S100P and AREG) with possible associations to endocrine resistance, which could offer basis for further investigations. In a future perspective, increased knowledge of tamoxifen resistance may lead to improved personalized medicine and hence survival for patients with endocrine breast cancer.

Keywords: Endocrine breast cancer, tamoxifen, Foxl2, Wwox, ErbB4, HER4, gene expression, randomized patients.

Anna Göthlin Eremo, School of Health and Medical Sciences
Örebro University, SE-701 82 Örebro, Sweden.
anna.gothlin-eremo@oru.se

Svensk sammanfattning

Hormonreceptorpositiv bröstcancer är den vanligaste typen av bröstcancer hos kvinnor och behandlas adjuvant med endokrina läkemedel. Ett exempel på denna typ av läkemedel är tamoxifen som ger en minskad recidivrisk genom bindning till östrogenreceptorn (ER), en molekylär interaktion som ändrar den tillväxtfrämjande effekten av östrogen. Dock förekommer resistens mot tamoxifen, vilket innebär att upp emot 40% av patienterna kan få ett recidiv trots behandling. Det har föreslagits flera orsaker till resistens, till exempel förändringar i ERs struktur, ökad aktivitet i andra tillväxtreglerande signalkedjor, ökad mängd transkriptionsfaktorer eller förändrad läkemedelsmetabolism, med det saknas fortfarande mycket kunskap. Det övergripande syftet med avhandlingen var att studera molekylära aspekter av tamoxifenresistens vid endokrin bröstcancer.

I det första arbetet (Paper I) undersöktes proteinuttrycket av forkhead box L2 (Foxl2) samt dess association till aromatas i brösttumörvävnad från tamoxifenbehandlade patienter. Foxl2 är en transkriptionsfaktor som kan aktivera uttrycket av enzymet aromatas (*CYP19A1*) vilket i sin tur kan resultera i ökade mängder av östrogen. Uttrycken av Foxl2 och aromatas var associerade, och patienter med nukleärt uttryck av Foxl2 hade längre återfallsfri överlevnad. Därmed visade resultaten att Foxl2 kan vara involverad vid endokrin bröstcancer.

I det andra och tredje arbetet (Paper II och III) användes ett tumörmaterial som härstammar från en randomiserad studie av patienter med eller utan tamoxifenbehandling. Patienterna inkluderades från 1976 fram till 1990 då nyttan av behandling var uppenbar och det ansågs etiskt oförsvarbart att inte behandla samtliga ER-positiva patienter med tamoxifen. I delarbete två (Paper II) undersöktes proteinuttrycket av WW-domain containing oxidoreductase (Wwox), en tumörsuppressorer som genom interaktion med andra protein inducerar apoptos. Förlust av Wwox har tidigare kopplats till tamoxifenresistens och våra resultat visade att patienter med Wwox-uttryck hade en signifikant längre återfallsfri överlevnad, men endast bland dem som behandlats med tamoxifen. I delarbete tre (Paper III) studerades den intracellulära delen (4ICD) av human epidermal growth factor receptor 4 (HER4), som i tidigare studier har visat association till både tamoxifenresistens och till Wwox. Vid receptoraktivering av HER4 frisätts 4ICD från cellmembranet vilken, beroende av interagerande protein som t ex Wwox, antingen kan inducera apoptos i cytoplasman eller agera co-faktor till ER i cellkärnan. Resultatet visade både cytoplasmatisk och nukleärt proteinuttryck av HER4/4ICD samt associationer till flera

markörer för endokrin respons. Däremot fanns ingen signifikant skillnad i överlevnad mellan patienter med olika uttrycksmönster av HER4 eller samtidigt uttryck av *Wwox*. *In vitro* försök påvisade ett minskat HER4 mRNA-uttryck i bröstcancer celler vid östrogenexponering, men ingen omfördelning av nuklära och cytoplasmatiska proteinfraktioner. Sammantaget visar studien att tumöruttryck av HER4 förmodligen är av mindre betydelse vid tamoxifenbehandling.

Syftet med det avslutande arbetet (Paper IV) var att genom microarrayanalys försöka finna skillnader i genuttryck mellan tamoxifenbehandlade patienter med och utan återfall (i form av fjärrmetastas). I tumörer från återfallspatienter fanns enskilda förändrade gener med association till metastasering (ex. *OLFM4*, *PLA2G10*, *SPP1*, *MUC16*, and *MUC6*), till endokrin resistens (ex. *S100P*, *AREG* and *AGTR1*) samt berikning av gener i signalvägar av betydelse för metastasering (ex TGF-signaler). Ingen av de enskilda generna ingår vid nuvarande prediktion av behandling men vi avser att utvärdera dem vidare för bedömning av eventuell framtida klinisk relevans. En vidare kartläggning av hur tamoxifenresistens uppkommer kan i framtiden leda till utveckling av nya skräddarsydda och mer direktriktade behandlingspreparat, vilket i sin tur kan öka överlevnaden hos patienter med denna cancerform.