



Universiteit
Leiden
The Netherlands

PI3K signaling and adherens junctions in invasive lobular breast cancer

Klarenbeek, S.

Citation

Klarenbeek, S. (2021, April 15). *PI3K signaling and adherens junctions in invasive lobular breast cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3154437>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3154437>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/3154437> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Klarenbeek, S.

Title: PI3K signaling and adherens junctions in invasive lobular breast cancer

Issue date: 2021-04-15

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Invasief lobulair carcinoom (ILC) is het op één na meest voorkomende type borstkanker, na invasief ductaal carcinoom (IDC), en vertegenwoordigt 8-14% van alle borstkankers. De incidentie van ILC neemt toe, en vergeleken met IDC is er bij ILC meer kans op detectie in een verder gevorderd stadium, en bij grotere tumorafmetingen. Verstoring van de intercellulaire zonula adhaerens is een kenmerk van ILC, resulterend in een karakteristiek histologisch groeipatroon, met kankercellen in enkele rijen en niet-cohesieve, individueel verspreide cellen. Klassieke ILCs brengen vaak receptoren voor oestrogeen en progesteron tot expressie, terwijl ILC van het pleomorfe subtype vaker HER2-amplificatie en/of p53- expressie hebben.

Een groot deel van de borstkankers, inclusief ILC, bevat verkregen mutaties die leiden tot activatie van het phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaaltransductienetwerk, dat een centrale rol speelt in cellulaire processen die essentieel zijn bij kanker, zoals overleving, groei, deling, en motiliteit. Oncogene mutaties in het PI3K netwerk betreffen in het algemeen ofwel een activerende mutatie van het gen voor PI3K (*PIK3CA*) of AKT (*AKT1*), ofwel verlies of verminderde expressie van PTEN. In **hoofdstuk 1** wordt een algemene inleiding gegeven voor deze thesis, met een overzicht van ILC en de rol van het zonula adhaerens complex, PI3K signaaltransductie, en preklinische onderzoeksmodellen. In **hoofdstuk 2** geven we een literatuuroverzicht van muismodellen van PI3K signaaltransductie in borstkanker. We behandelen de rol van mutaties in PI3K signaaltransductie in borstkanker bij de mens en relevante genetisch gemodificeerde muismodellen, met speciale aandacht voor de rol van PI3K signaaltransductie in de oncogenese, respons op therapie, en therapieresistentie.

De behandeling van primaire tumoren is een voor de hand liggend en belangrijk doel in de oncologie, maar één van de grote uitdagingen in de kliniek is het voorkomen van uitzaaiing, en het effectief behandelen van uitzaaiingen. Ziekte door metastasering, en niet zozeer de directe effecten van de primaire tumor, is verantwoordelijk voor meer dan 90% van alle door kanker veroorzaakte sterfgevallen. De ontwikkeling van effectieve antimetastatische middelen is beperkt door de schaarsheid van relevante preklinische modellen van metastaserende kanker bij de mens. In **hoofdstuk 3** presenteren we een preklinisch muismodel van metastatisch invasief lobulair carcinoom. Gebruikmakend van het conditionele *K14cre;Cdh1Flox/Flox;Trp53Flox/Flox* (KEP) muismodel van *de novo* mammatumorontwikkeling hebben we het klinisch verloop van behandeling nagebootst door een mastectomie uit te voeren, waarna de muizen ziek werden door metastasen in lymfknoep, longen en spijsverteringsorganen.

Effectieve behandeling van ILC wordt beperkt door een slechte respons op chemotherapie. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaaltransductie, een van de bekende farmacologisch beïnvloedbare oncogene signaalnetwerken, is vaak geactiveerd in ILC. Mammalian target of rapamycin (mTOR) is één van de belangrijke kinases in dit netwerk. In **hoofdstuk 4** onderzoeken we de respons op en de resistentie tegen de mTOR inhibitor AZD8055 in het KEP-muismodel voor uitgezaaide ILC. Remming van mTOR signaaltransductie stopte zowel de groei van primaire KEP tumoren als de progressie van metastasen. Deze respons correleerde met activatie van antigeenpresentatie en verhoogde aantallen major histocompatibility complex class II-positieve (MHCII+) tumor-infiltrerende immuuncellen. De primaire tumoren en de metastasen werden na twee maanden resistent tijdens voortgezette behandeling met AZD8055, ondanks de nog steeds effectieve onderdrukking van mTOR signaaltransductie in het tumorweefsel. Resistentie tegen de behandeling was geassocieerd met reductie van MHCII+ cellen en verminderde expressie van genen die gerelateerd zijn aan het adaptieve immuunsysteem. Door te laten zien dat inhibitie van mTOR minder effectief is bij de behandeling van KEP tumoren in *Rag1*^{-/-} muizen, die geen mature T- en B-lymfocyten hebben, en dat resistente tumoren een deel van hun gevoeligheid voor AZD8055 terugkrijgen na transplantatie in een nieuwe, niet eerder behandelde recipient, tonen we aan dat het behandelingseffect van mTOR inhibitie deels wordt bepaald door het adaptieve immuunsysteem.

Activering van het PI3K signaaltransductienetwerk, door ofwel activerende *PIK3CA* mutaties, ofwel door homozygote deleties of inactiverende mutaties van *PTEN*, komt vaak voor bij ILC. In **hoofdstuk 5** laten we zien dat verlies van *PTEN* in E-cadherine-deficiënte mamma-epitheelcellen van de muis leidt tot de ontwikkeling van klassieke invasief lobulair carcinoom. Verlies van E-cadherine leidt tot onthechting en apoptose van cellen, maar additionele inactivatie van *PTEN* zorgt voor overleving van de cellen, evenals snelle vorming van invasieve mammatumoren met de histologische en moleculaire eigenschappen, oestrogenreceptorstatus, groeikinetiek, metastaserend gedrag, en het tumor-micromilieu die het klassieke invasief lobulair carcinoom bij de mens kenmerken. Deze tumoren bleken gevoelig voor farmacologische inhibitie van PI3K. *PTEN* inactivatie alleen leidde niet tot de vorming van ILC, maar tot squameus metaplastische mammatumoren. Met dit onderzoek leveren we bewijs voor de causale rol van de combinatie van verlies van E-cadherine en activatie van PI3K signaaltransductie in ILC, wat suggereert dat farmacologische inhibitie een beloftevolle behandelstrategie kan zijn.

In **hoofdstukken 6 en 7** presenteren we onze bevindingen met betrekking tot de rol van p120-catenine, een ander belangrijk molecuul in het zonula adhaerens complex. De adhesie tussen epitheliale cellen wordt in stand gehouden door homofiele interactie van het glycoproteïne E-cadherine op het celoppervlak. p120 stabiliseert E-cadherine door te binden aan het intracellulaire juxtamembraandomein. Daarnaast speelt p120 een rol in meerdere belangrijke intracellulaire signaaltransductienetwerken, zoals Wnt en Rho-ROCK. Het is bekend dat verlies van E-cadherine leidt tot het uiteenvallen van de zonula adhaerens en vervolgens translocatie van p120 naar de cytosol en de celkern. In **hoofdstuk 6** laten we zien dat somatisch verlies van p120 in een conditioneel muismodel voor noninvasief mammacarcinoom leidt tot vorming van stromarijke tumoren die lijken op metaplastische borsttumoren van de mens, en die uitzaaien naar de longen en lymfknoten. In borstkankercellijnen die afhankelijk zijn van hechting versterkte verlies van p120 in grote mate de resistentie van deze cellen tegen anoikis, door hypergevoeligheid van signaaltransductie via groeifactorreceptoren (GFR). p120 deletie leidde ook tot secretie van cytokinen, een fenomeen dat mogelijk aan de basis ligt van de vorming van het pro-metastatische micromilieu in p120-negatieve mammacarcinomen. Met gebruikmaking van muismodellen met weefselspecifieke inactivatie van E-cadherine, p120 en p53 in de melkklier tonen we in **hoofdstuk 7** dat vorming van ILC, geïnduceerd door verlies van E-cadherine en p53, wordt verhinderd door bijkomstige inactivatie van p120. Tumoren die zich ontwikkelden in de muizen met inactivatie van alle drie van deze genen waren voornamelijk basaal-achtige tumoren, met een epitheliaal-naar-mesenchymaal-transitie-fenotype (EMT). We laten zien dat verlies van p120 in de context van de p53-deficiënte muismodellen dominant is over inactivatie van E-cadherine, en dat het verlies van p120 bijdraagt aan de vorming van basaal-achtige, EMT-type invasieve mammatumoren. De thesis wordt afgesloten met een algemene discussie en toekomstperspectieven in **hoofdstuk 8**.

