

# From ER $\alpha$ 66 to ER $\alpha$ 36 : a new predictive marker for cancer progression and therapeutic response in breast tumors ?

THIEBAUT Charlène

Santé - Biologie - Signal

AM2I

INS2I  
INSIS



UMR 7039



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE

# Le cancer du sein

- ✓ **Maladie multifactorielle**
- ✓ **Première cause de décès liée au cancer chez la femme**
- ✓ **Classification moléculaire**

Sous type moléculaire	Fréquence	Statut ER $\alpha$ 66/PR/HER2	Traitement
Luminal A	50-60 %	ER+ PR+ HER2-	Hormonothérapie
Luminal B	10-20 %	ER+/- PR+/- HER2+/-	Hormonothérapie
HER2 positif	10-15 %	ER- PR- HER2+	Chimiothérapie Trastuzumab
Basal-like	10-20 %	ER- PR- HER2-	Chimiothérapie
Claudin-low	12-14 %	ER- PR- HER2-	Chimiothérapie
Normal-like	5-10 %	ER- PR- HER2-	Chimiothérapie

Résistance à l'hormonothérapie  
40% des cas



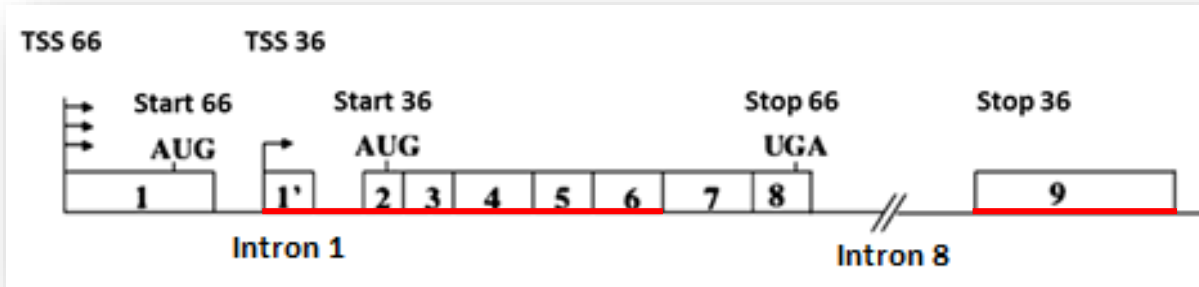
**ER $\alpha$ 36 ?**

(D'après EROLES *et al.*, 2012)

# Le variant ERa36

- ✓ Variant du récepteur nucléaire **ER $\alpha$ 66**
- ✓ Codé par le **gène ESR1**

**ESR1**

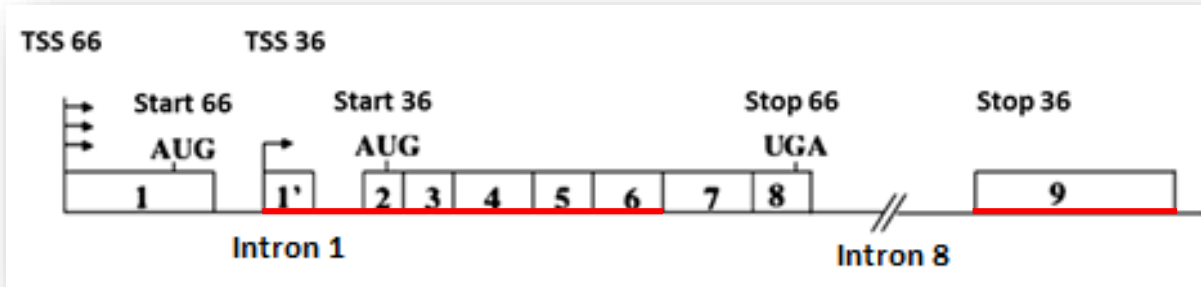


**TSS** : Site d'initiation de la transcription

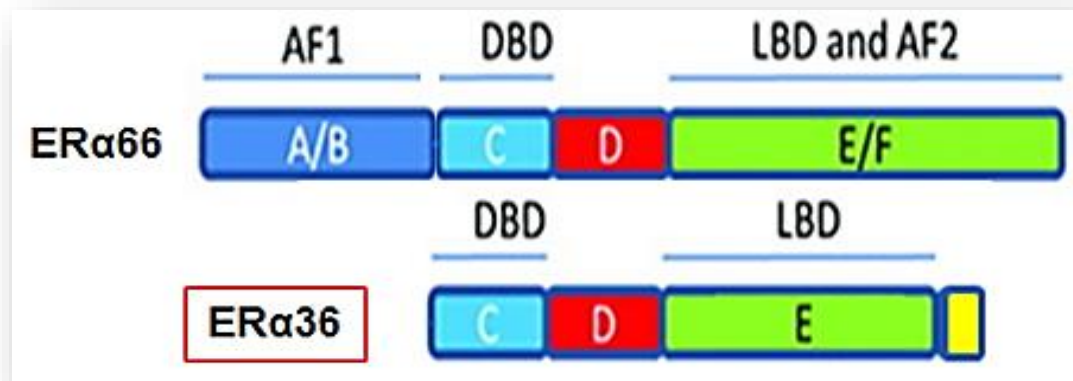
# Le variant ER $\alpha$ 36

- ✓ Variant du récepteur nucléaire **ER $\alpha$ 66**
- ✓ Codé par le **gène ESR1**

**ESR1**



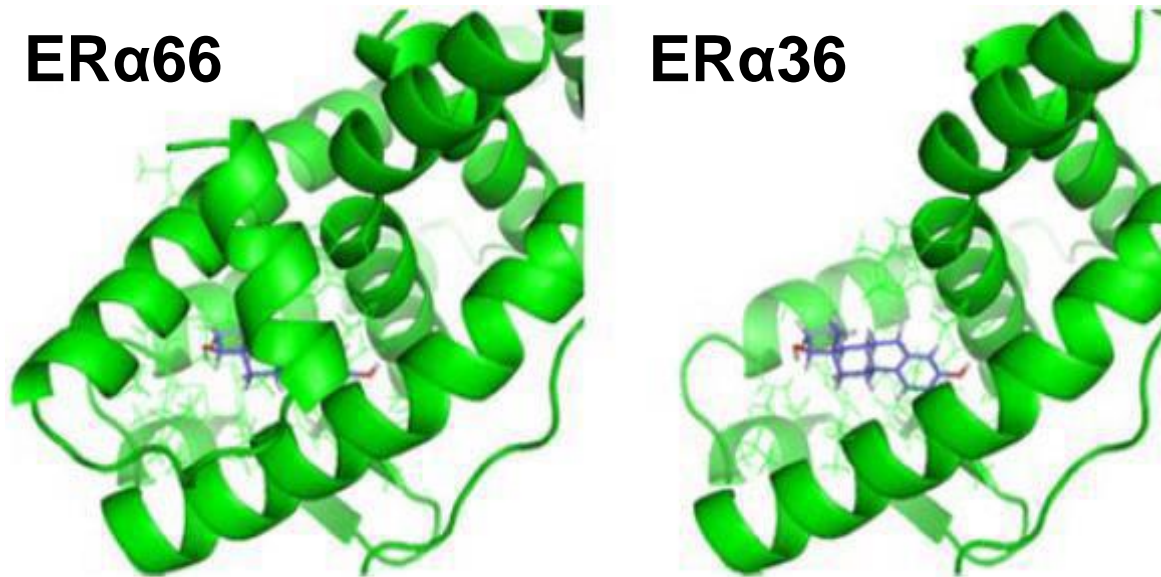
**TSS** : Site d'initiation de la transcription



**AF1 et 2**: Domaines de transactivation ; **DBD**: Domaine de liaison à l'ADN ; **LBD**: Domaine de liaison au ligand

# ER $\alpha$ 36 : études *in vitro*

- ✓ Absence des domaines de transactivation AF1 et AF2
  - Médiateur des voies de signalisation non génomiques
  - Prolifération, Migration, Survie
- ✓ Domaine de liaison au ligand tronqué
  - Résistance aux antiœstrogènes (Tamoxifène) ?

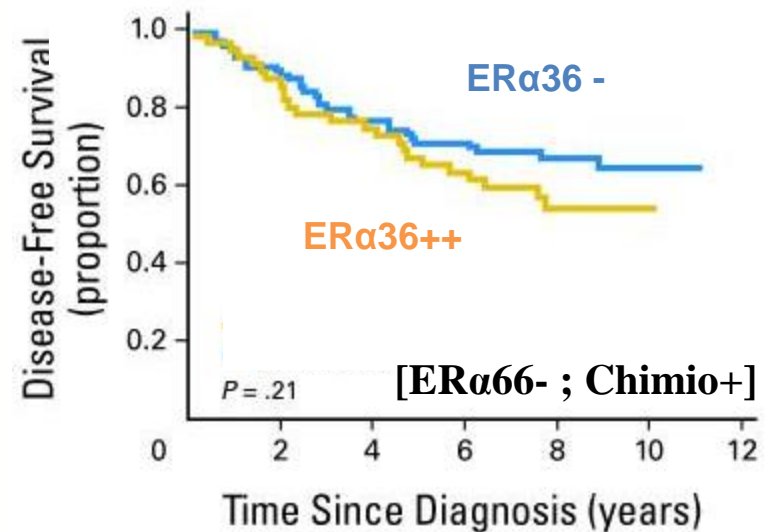
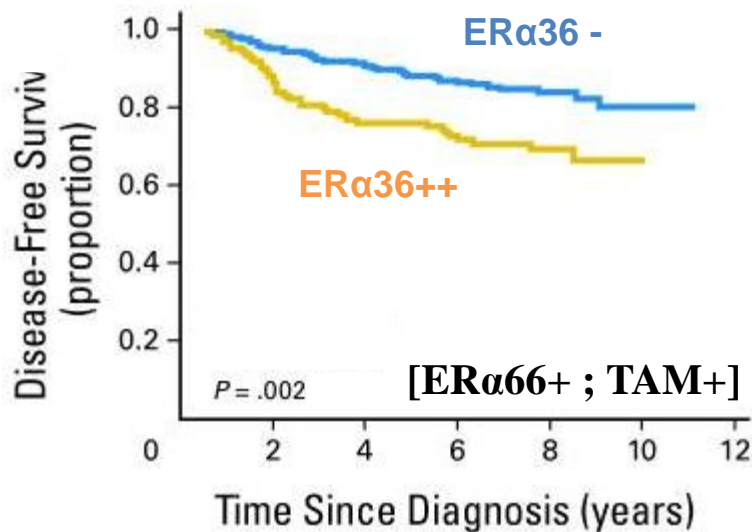


D'après KANG *et al.*, 2010

# ERα36 : études *in vivo*

## ✓ Expression d'ERα36 :

- Tumeurs mammaires **ERα66+ et ERα66-**
- **Mauvais pronostic**
- **Diminution de la sensibilité : Tamoxifène, Paclitaxel**



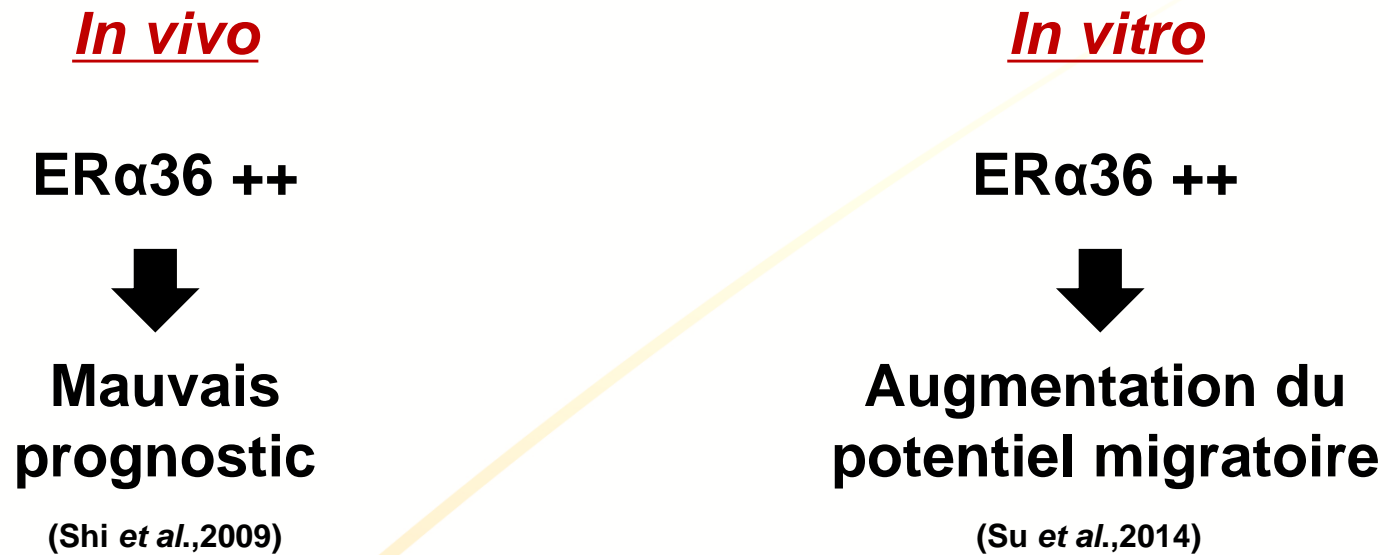
SHI *et al.*, 2009

**Validation du niveau d'expression d'ER $\alpha$ 36 comme marqueur pronostic de la progression tumorale**

➤ **Classification moléculaire des tumeurs mammaires**



**Projet Emergence PREDICTH-ERM**  
**Financement CGE 2012-2014**  
Centre Paul Strauss (Strasbourg)  
CRAN UMR CNRS 7039 (Nancy)



## Hypothèse

Lien entre une forte expression d'ERα36 et l'augmentation du potentiel migratoire des cellules tumorales mammaires ?



## Méthode générique de classification permettant d'évaluer le potentiel pronostique d'une expression génique

Etude rétrospective sur des tumeurs mammaires humaines  
Centre Paul Strauss (Strasbourg, France)

118 biopsies de tumeurs mammaires



PCR en temps réel (ADNc)

(ER $\alpha$ 36, voies de signalisation non génomiques (Kang *et al.*, 2011), progression métastatique (Chaudri *et al.*, 2009))



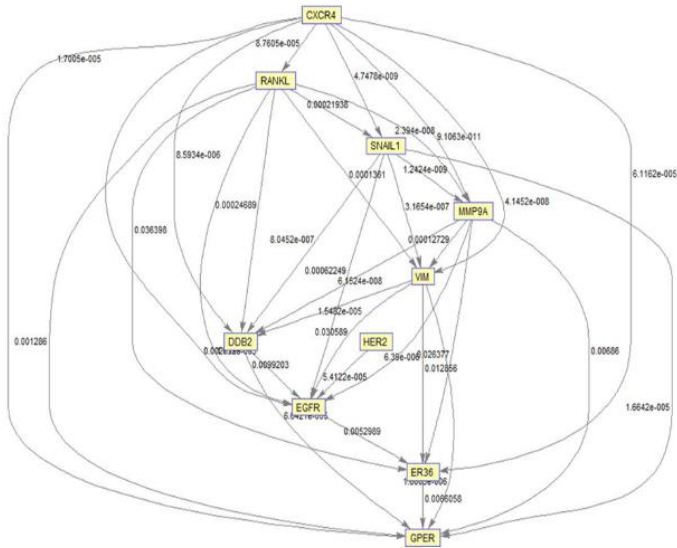
2 classes : ER $\alpha$ 36 +/- vs ER $\alpha$ 36 ++

Modélisation des réseaux de gènes associés

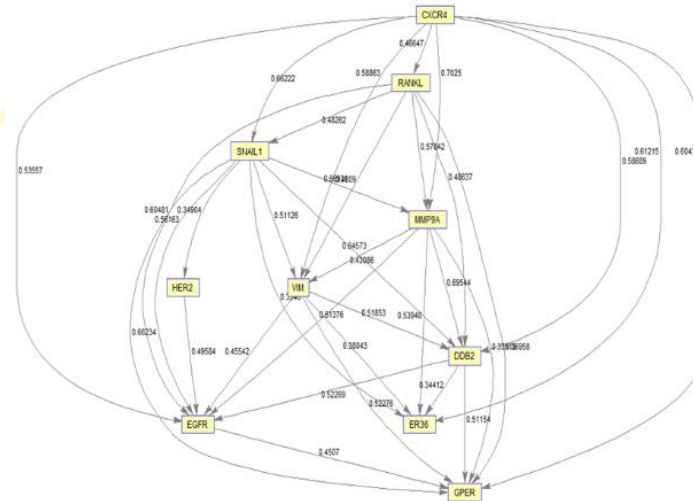
# ERα36 : Marqueur prédictif de la progression des tumeurs mammaires ?

1) Détermination du **seuil d'expression d'ERα36** permettant de distinguer des types de tumeurs différentes définissant les **classes ERα36+** et **ERα36+++**

Réseau de corrélations  
Classe < (ERα36+)



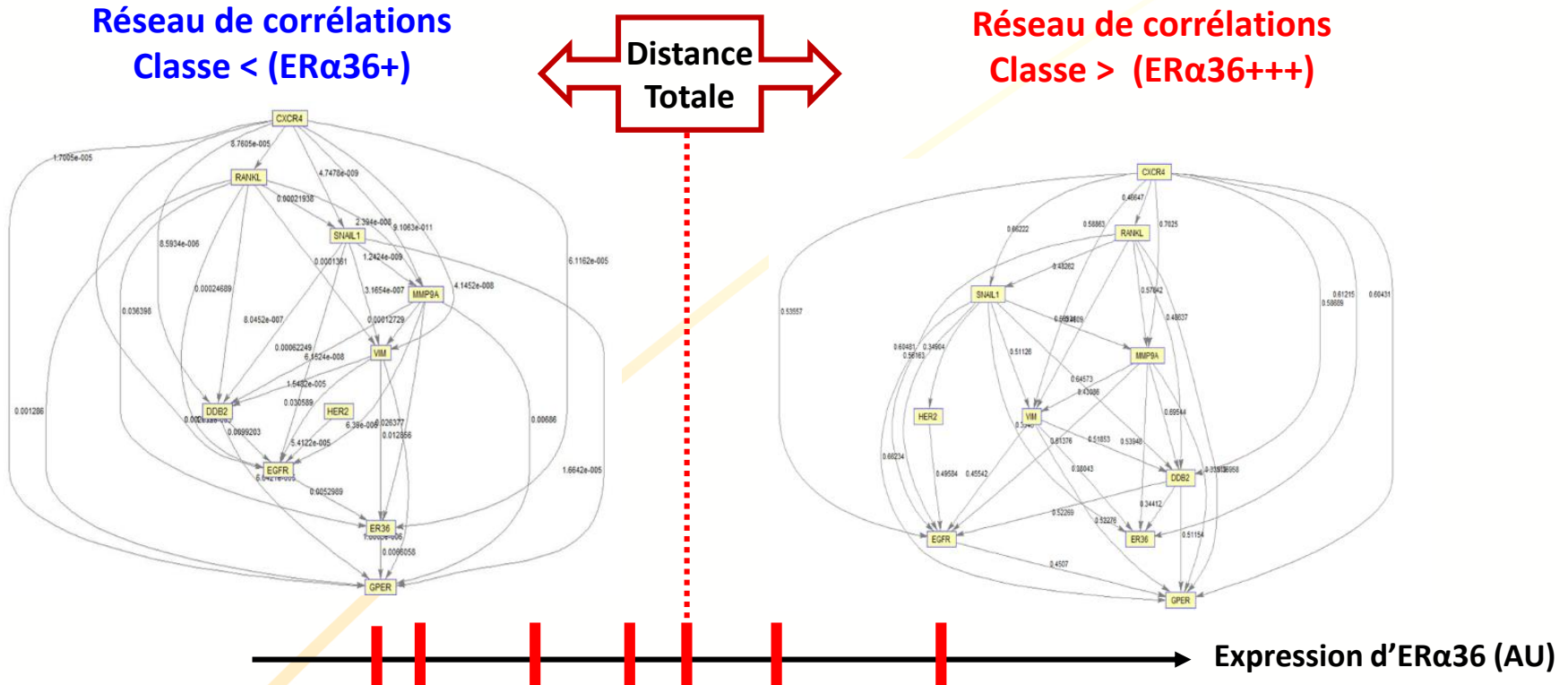
Réseau de corrélations  
Classe > (ERα36+++)



***Pour chaque niveau d'expression d'ERα36 :***  
***Construction des réseaux de gènes ERα36+ et ERα36+++ puis calcul de la distance***  
***(d) entre les réseaux***

# ERα36 : Marqueur prédictif de la progression des tumeurs mammaires ?

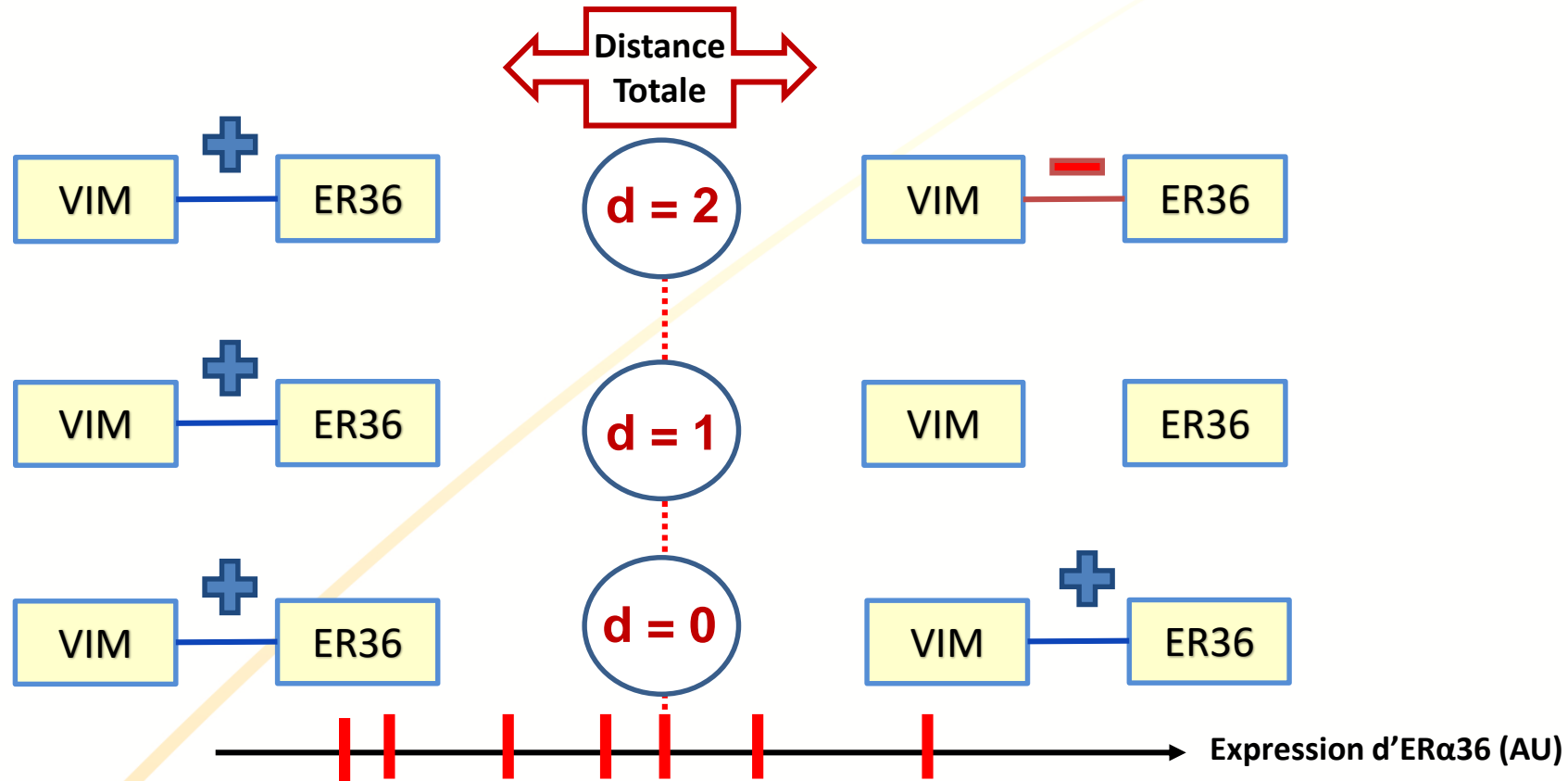
1) Détermination du **seuil d'expression d'ERα36** permettant de distinguer des types de tumeurs différentes définissant les **classes ERα36+** et **ERα36+++**



Distance totale =  $\Sigma$  ( $d$  associée à chaque arcs des réseaux < et >)

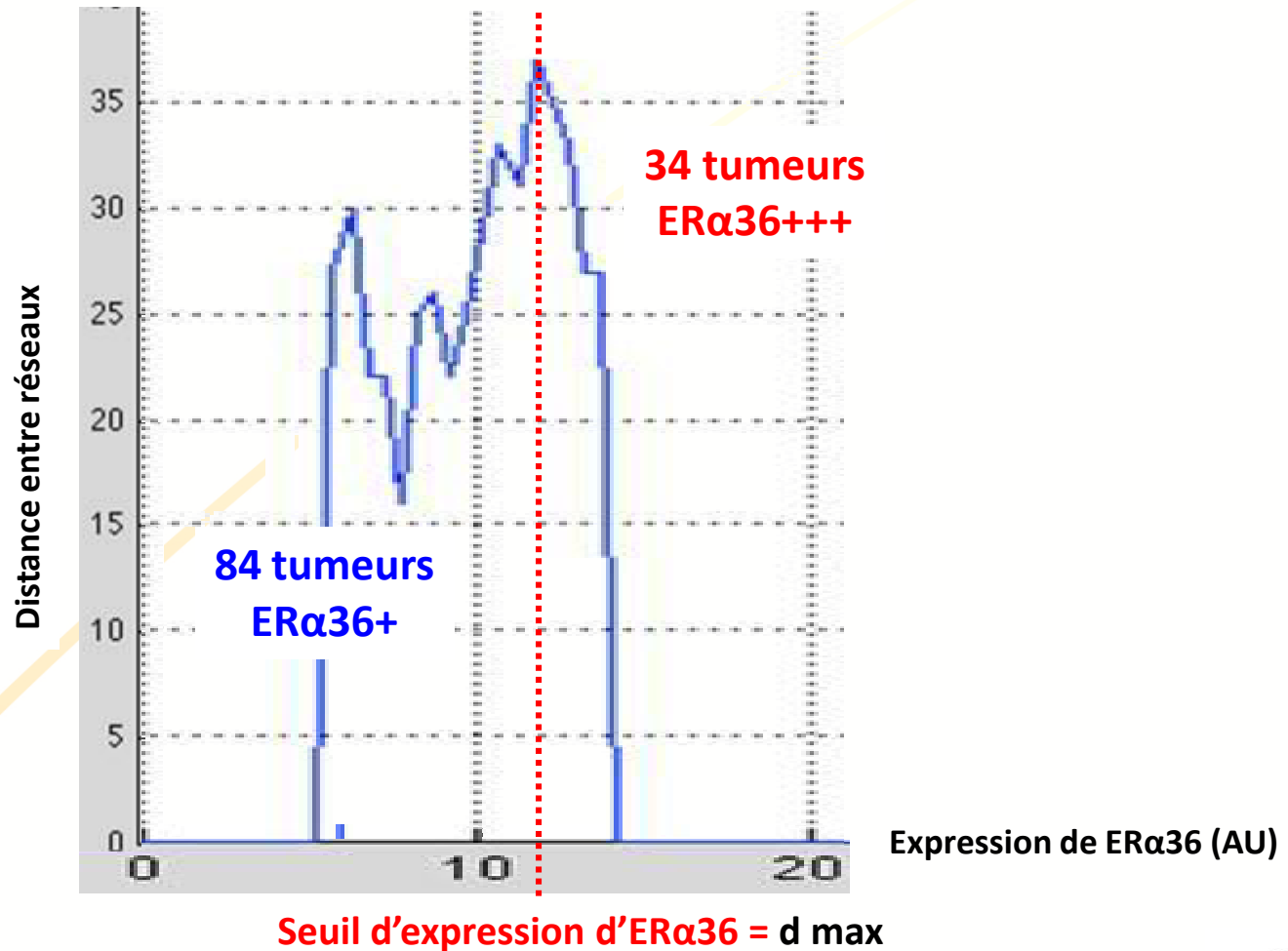
# ERα36 : Marqueur prédictif de la progression des tumeurs mammaires ?

1) Détermination du **seuil d'expression d'ERα36** permettant de distinguer des types de tumeurs différentes définissant les **classes ERα36+** et **ERα36+++**

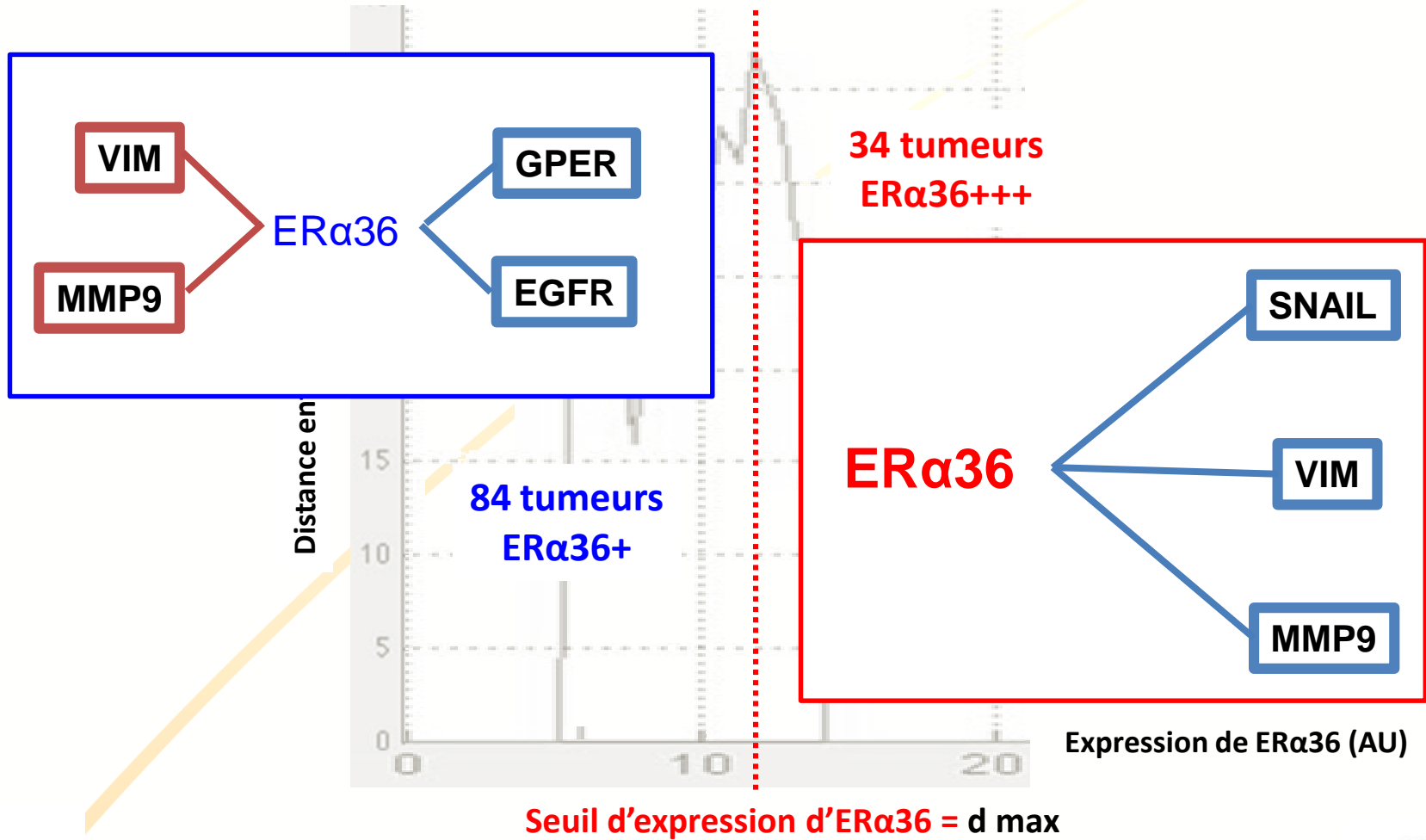


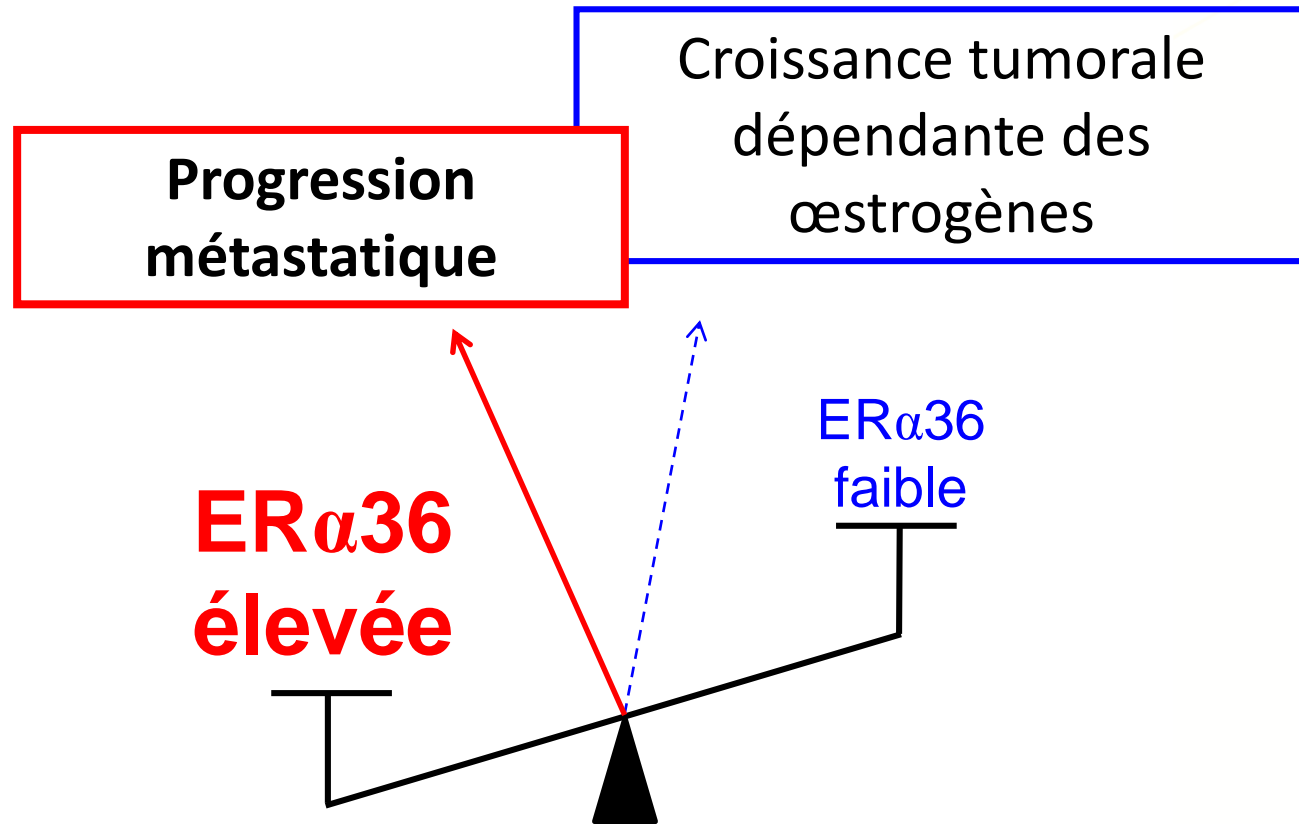
Distance totale =  $\Sigma$  (d associée à chaque arcs des réseaux < et >)

1) Détermination du **seuil d'expression d'ER $\alpha$ 36** permettant de distinguer des types de tumeurs différentes définissant les **classes ER $\alpha$ 36+** et ER $\alpha$ 36+++



## 2) Comparaison des réseaux obtenus pour les classes ERα36+ et ERα36+++





(CHAMARD-JOVENIN *et al.* BMC Systems Biology, 2015)

Le niveau d'expression d'ER $\alpha$ 36 est un bon marqueur prédictif de la progression des tumeurs mammaires

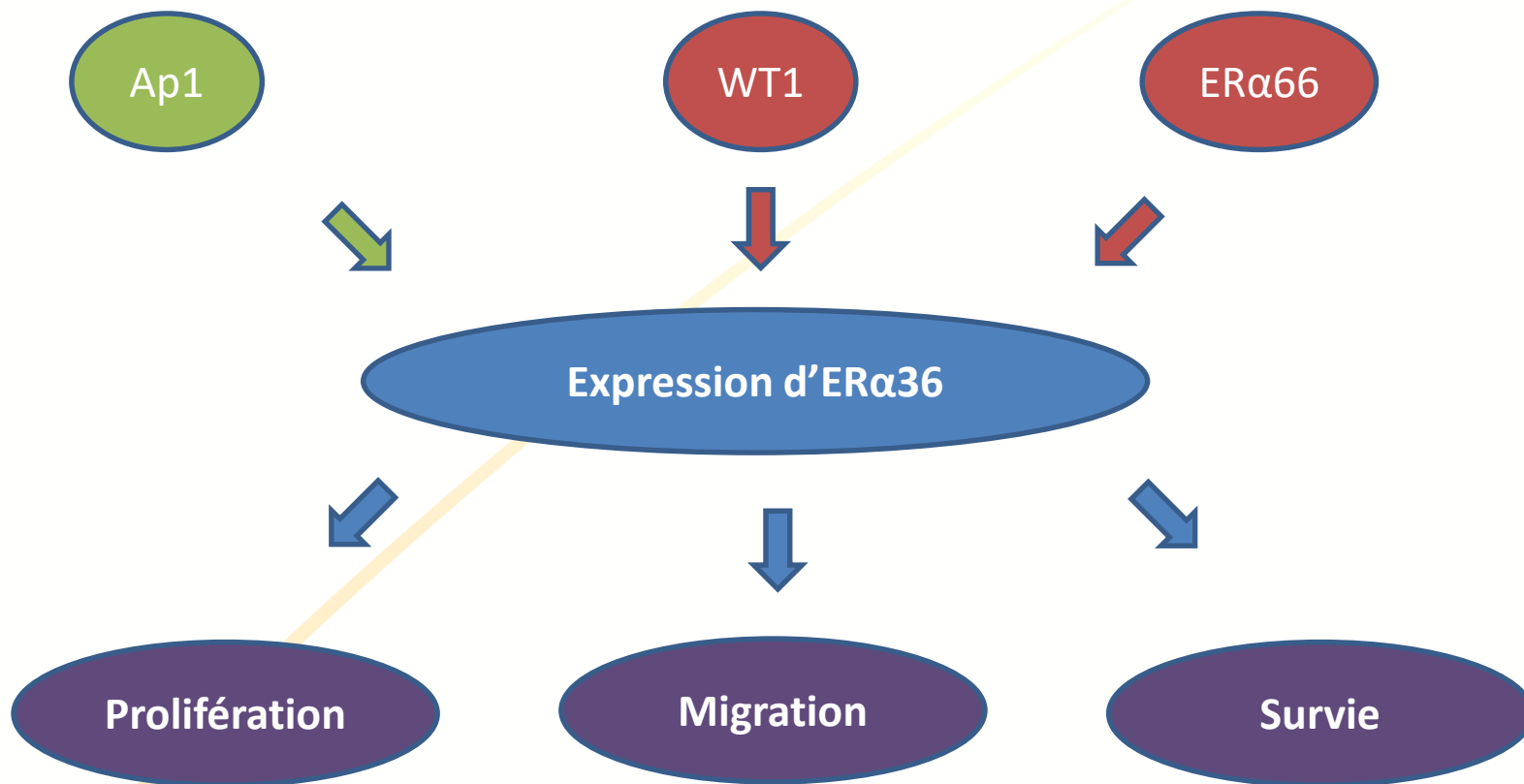
**Compréhension des mécanismes moléculaires pouvant expliquer le mauvais pronostic associé à l'expression d'ER $\alpha$ 36**



**Projet Ligue contre le cancer 2016**  
Institut de Cancérologie de Lorraine  
CRAN UMR CNRS 7039 (Nancy)



## ✓ Mécanismes de régulation **en amont** et **en aval** d'ERα36 ?



(ZOU et al., 2009 ; WANG et al. 2012)

## Hypothèse

Liens entre :

- Le statut épigénétique du promoteur d'ERα36 et l'expression de ce variant (Ajj *et al.*, 2013)
- L'expression d'ERα36 et la modulation des voies de signalisation impliquées dans la progression tumorale *in vivo*

## **Etude prospective sur des biopsies de tumeurs mammaires humaines** Institut de Cancérologie de Lorraine (Nancy, France)

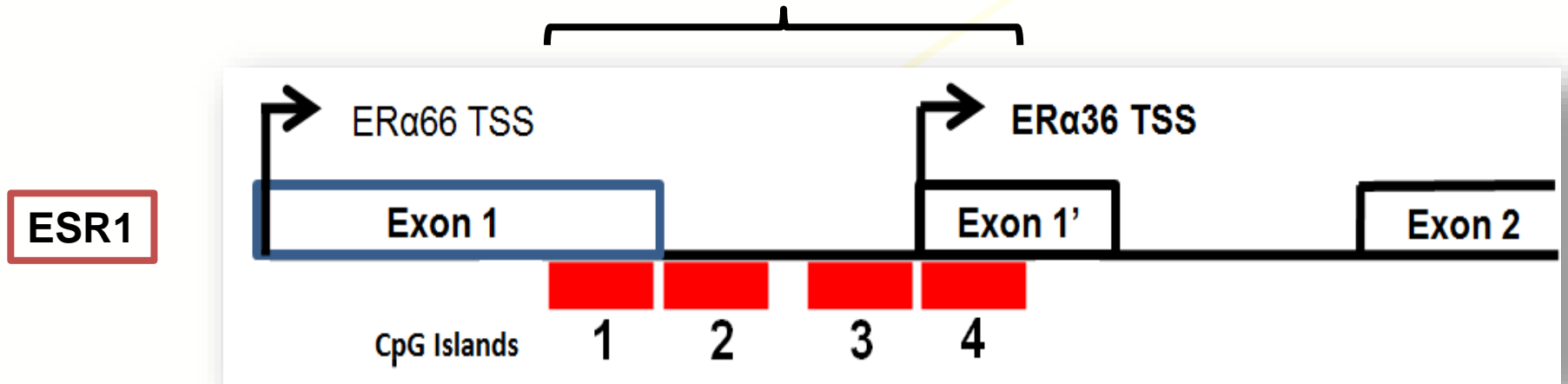
**21 biopsies de tumeurs mammaires**



**Niveau de méthylation du promoteur d'ERα36 (Séquençage au Bisulfite)**  
**Niveau d'expression d'ERα36 (PCR en temps réel)**  
**Taux de prolifération (Expression de Ki67)**  
**Niveau de phosphorylation pErk1/2, pMEK, pPI3K, pAkt (Bio-Plex®)**

- ✓ Promoteur d'ER $\alpha$ 36 : 1<sup>er</sup> intron du gène ESR1

## Région promotrice ER $\alpha$ 36



- ✓ Promoteur d'ER $\alpha$ 36 : **1<sup>er</sup> intron du gène ESR1**

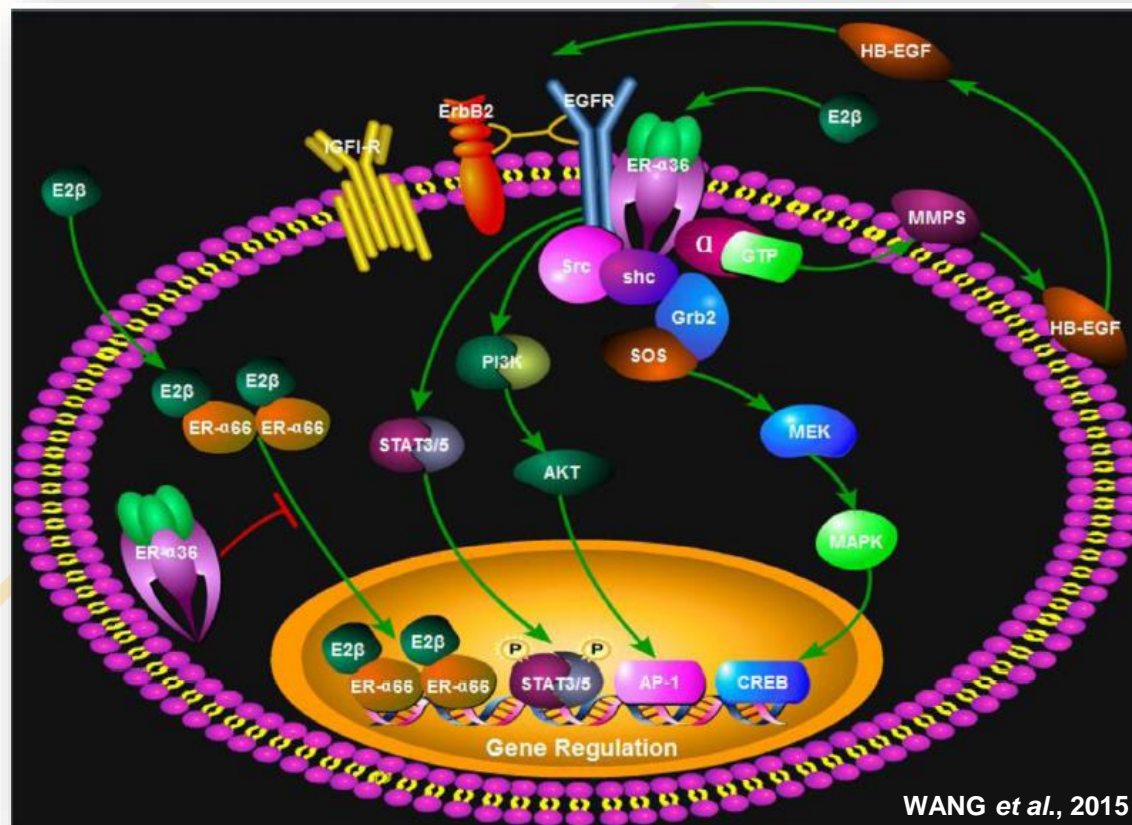
## Région promotrice ER $\alpha$ 36



- ✓ **Îlots CpG 3 et 4** : En amont et en aval du TSS ER $\alpha$ 36

Méthylation (> 50%) des sites CpG de l'îlot n° 4 : **Expression ER $\alpha$ 36<sup>+++</sup>**

- ✓ Voies de signalisation **MEK/Erk1/2** et **PI3K/Akt**
- ✓ **Prolifération et survie cellulaire**
- ✓ **ERα36** à l'interface des voies médiées par **EGFR** et **HER2**



**Stratégie expérimentale:** Bio-Plex® (flow cytometry immunoassay)  
Calcul de corrélation non linéaire  
Logiciel Matlab® (Coefficient de Spearman)

**Tumeurs mammaires HER2 positives :**

- ✓ Prolifération dépendante d'ERα36
- ✓ Activation de la voie de signalisation PI3K/Akt aux dépens de la voie MEK/Erk1/2

**Niveau d'expression d'ER $\alpha$ 36 corrélé à :**

- ✓ **Expression de marqueurs métastatiques**
  - Quel que soit le statut clinique
  
- ✓ **Prolifération des cellules tumorales**
  - Dans les tumeurs mammaires HER2+

**Validation d'ER $\alpha$ 36 comme marqueur pronostique qui pourrait permettre d'orienter la stratégie thérapeutique**



- ✓ Poursuivre l'étude prospective de validation d'ER $\alpha$ 36 comme marqueur pronostique de la progression tumorale.
  - Inclusion de nouveaux échantillons
  - Positionnement d'ER $\alpha$ 36 dans la signalisation œstrogénique
    - ➔ ciblage thérapeutique direct ou indirect
  
- ✓ Comprendre les mécanismes qui déclenchent/régulent l'expression d'ER $\alpha$ 36 dans un contexte sain et tumoral.



**Charlène Thiebaut**

**Clémence Chamard-Jovenin**

**Chloé Morel**

**Amand Chesnel**

**Stéphane Flament**

**Taha Boukhobza**

**Hélène Dumond**

**Alain Jung**



**CENTRE PAUL STRAUSS**  
centre régional de lutte contre le cancer

**Joseph Abecassis**

**Alexandre Harlé**

**Agnès Leroux**

**Jean-Louis Merlin**

