

# Effets des antagonistes du récepteur de la progestérone dans des modèles de cancer mammaire humain

## Résumé

Le rôle des progestatifs et du récepteur de la progestérone (PR) dans la carcinogénèse mammaire a été maintenant établi. Le PR est exprimé sous deux isoformes PRA et PRB dont leur expression est équimolaire et leur activité transcriptionnelle des gènes cibles diffère. La surexpression de PRA est associée à un pronostic défavorable du cancer mammaire et observée chez les femmes à haut risque génétique de cancer du sein (Hagan, BMC Med, 2014). L'objectif est d'évaluer les effets de l'anti-progestatif l'ulipristal acétate (UPA) sur la tumorigénèse mammaire dans deux modèles d'études complémentaires. In vitro, dans la lignée cancéreuse mammaire bi-inductible (MDA-iPRAB) (Khan, PLoS One, 2012), nous avons démontré que l'UPA inhibe la prolifération cellulaire induite par la progestérone en présence de PRA. Nous avons étudié l'expression de certains gènes clés de la tumorigénèse mammaire, cibles de PRA et corrélé la prolifération à l'expression au niveau messager et protéique du facteur anti-apoptotique BCL2L1. L'activation transcriptionnelle, dépendante de la progestérone et inhibée par l'UPA, s'accompagne d'un recrutement spécifique et sélectif de PRA sur des séquences régulatrices du gène BCL2L1, comme le démontrent les expériences de ChIP. In vivo, dans un modèle murin de xéno greffe de tumeur mammaire humaine, nous avons évalué les effets de l'UPA en quantifiant la croissance tumorale, les index mitotiques et nécrotiques, et l'expression de gènes de la tumorigénèse. L'ensemble de nos résultats démontrent une action anti-proliférative et apoptotique de l'UPA ce qui suggère un rôle potentiel dans la prise en charge du cancer du sein

## Objectifs

- Evaluer le pouvoir antiprolifératif de deux antagonistes de PR: UPA et APR19
  - Caractériser leur mécanisme d'action dans deux modèles expérimentaux complémentaires
1. Modèle *in vitro*: lignée mammaire humaine bi-inductible (MDA-iPRAB) (Khan et al., PLoS One, 2012)
  2. Modèle préclinique: xéno greffes de tumeurs humaines mammaires dans des souris nude (Marangoni et al., Current Opinion in Oncology, 2014).

## Résultats

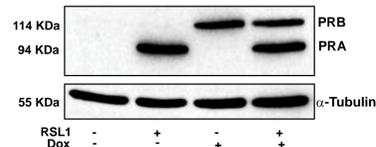
### 1. Modèles *in vitro*: lignée MDA-iPRAB

#### a. La lignée MDA-iPRAB

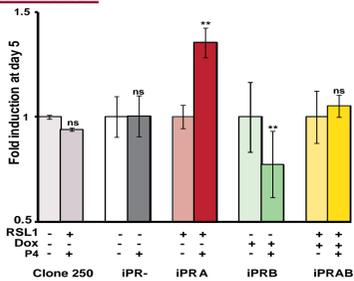
- MDA-MB-231 (ER-, PR-), métastase d'un cancer mammaire humain

Lignée bi-inductible exprimant les isoformes de PRA et / ou PRB (Systèmes Rheoswitch et T-Rex) (RSL1 et / ou Doxycycline)

(Khan et al., PLoS One, 2012)

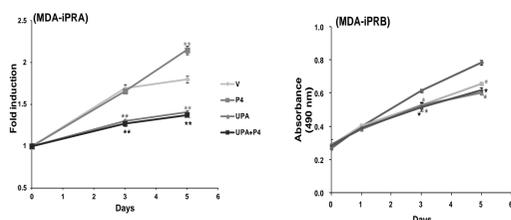


#### a. Effets isoforme-spécifique de la progestérone sur la prolifération cellulaire de la lignée MDA-iPRA/B



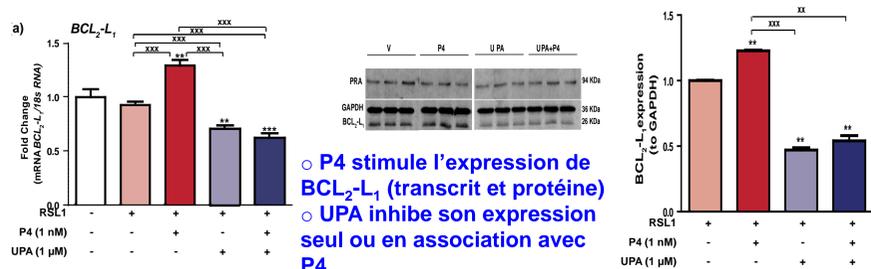
- P4 stimule la prolifération cellulaire dans la lignée MDA-iPRA et l'inhibe dans la lignée MDA-iPRB

#### b. Action inhibitrice de l'UPA sur la prolifération cellulaire de la lignée MDA-iPRA/B



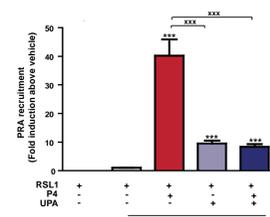
- UPA inhibe la prolifération cellulaire de la lignée MDA-iPRA/B: - Inhibition de l'effet de P4 lors de l'induction de PRA - Synergie avec P4 dans la lignée MDA-iPRB

#### c. Régulation de l'expression du facteur anti-apoptotique BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub> par P4 et UPA dans la lignée MDA-iPRA



- P4 stimule l'expression de BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub> (transcrit et protéine)
- UPA inhibe son expression seul ou en association avec P4

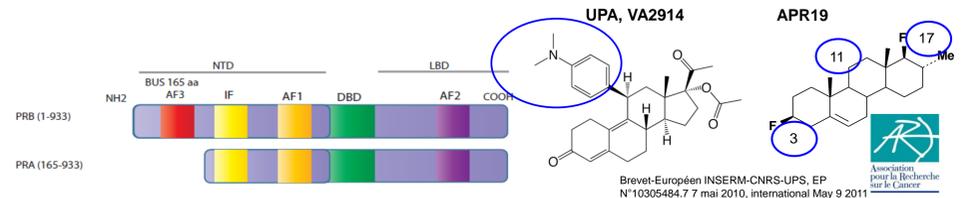
#### d. Recrutement de PRA sur le gène BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub> par immunoprécipitation de la chromatine (ChIP)



- P4 stimule le recrutement de PRA sur le gène BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub>
- Recrutement associé de l'ARN polymérase II et du coactivateur SRC1
- UPA inhibe le recrutement de PRA

## Introduction

- La progestérone (P4) agit *via* son récepteur (PR). Il existe deux isoformes PRA et PRB qui sont ont une expression équimolaire dans le tissu mammaire.
- Une surexpression de PRA est souvent observée dans le cancer du sein, associée à un mauvais pronostic et une résistance au tamoxifène.
- Ces deux isoformes régulent, de façon différentielle et tissu-spécifique, l'expression de nombreux gènes clés impliqués dans la tumorigénèse (BRCA1/2, WNTs, ...).
- Les progestatifs pourraient favoriser sur la carcinogénèse mammaire (études WHI, MWS).



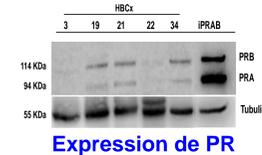
- L'UPA (ulipristal acétate, VA2914): SPRM (modulateur sélectif de PR): contraception d'urgence, traitement des fibromes utérins), antagoniste puissant de PR mais faible activité anti-glucocorticoïde.
- Une nouvelle classe d'antagonistes hautement sélectifs de PR (APRn) a été synthétisée et sont potentiellement utilisables en thérapeutique (Khan et coll., Mol. Endocrinol., 2013). Ils sont qualifiés d'antagonistes passifs.

### 2. Modèle *in vivo* de xéno greffe de tumeurs mammaires dérivées d'une patiente

#### a. Xéno greffes de carcinome canalaire invasif humain chez des souris nude



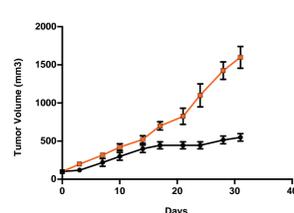
La tumeur HBCx-34 Carcinome canalaire invasif: (RE+, RP+: PRA<PRB)



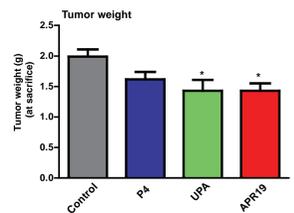
morphologiques et histologiques

- Evaluation de l'expression de gènes clés du cancer mammaire

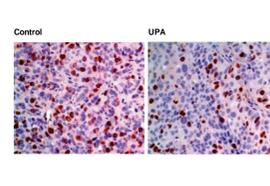
#### b. Prolifération tumorale œstrogéno-dépendante



#### c. Les antagonistes de PR réduisent la croissance tumorale

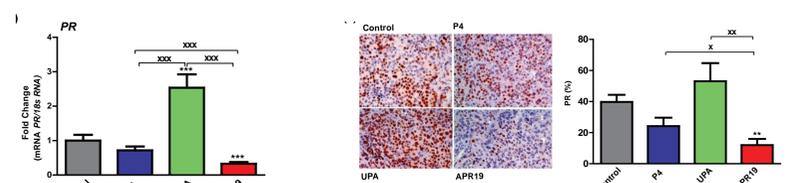


#### d. Analyse du marqueur de la prolifération cellulaire Ki67



- Diminution de l'expression de Ki67 chez le groupe de traitement par UPA

#### e. Effets de UPA et APR19 sur l'expression de PR



- UPA: Augmentation de l'expression de PR
- APR19: Diminution de l'expression de PR

#### f. Variation de l'expression de BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub>

- L'expression protéique du facteur anti-apoptotique BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub> est diminuée dans le groupe traité par UPA

## Conclusions

- La prolifération de la lignée cellulaire MDA-iPRAB est P4-dépendante et PRA-spécifique.
- UPA exerce une action antiproliférative et pro-apoptotique.
- UPA réduit la croissance tumorale, diminue Ki67, inhibe BCL<sub>2</sub>-L<sub>1</sub>.
- UPA Thérapie adjuvante potentielle du cancer du sein ciblant les progestatifs et PR.
- APRn investigation future.