

Das tripelnegative Mammakarzinom

Molekulare Grundlagen und klinische Bedeutung

C. Liedtke

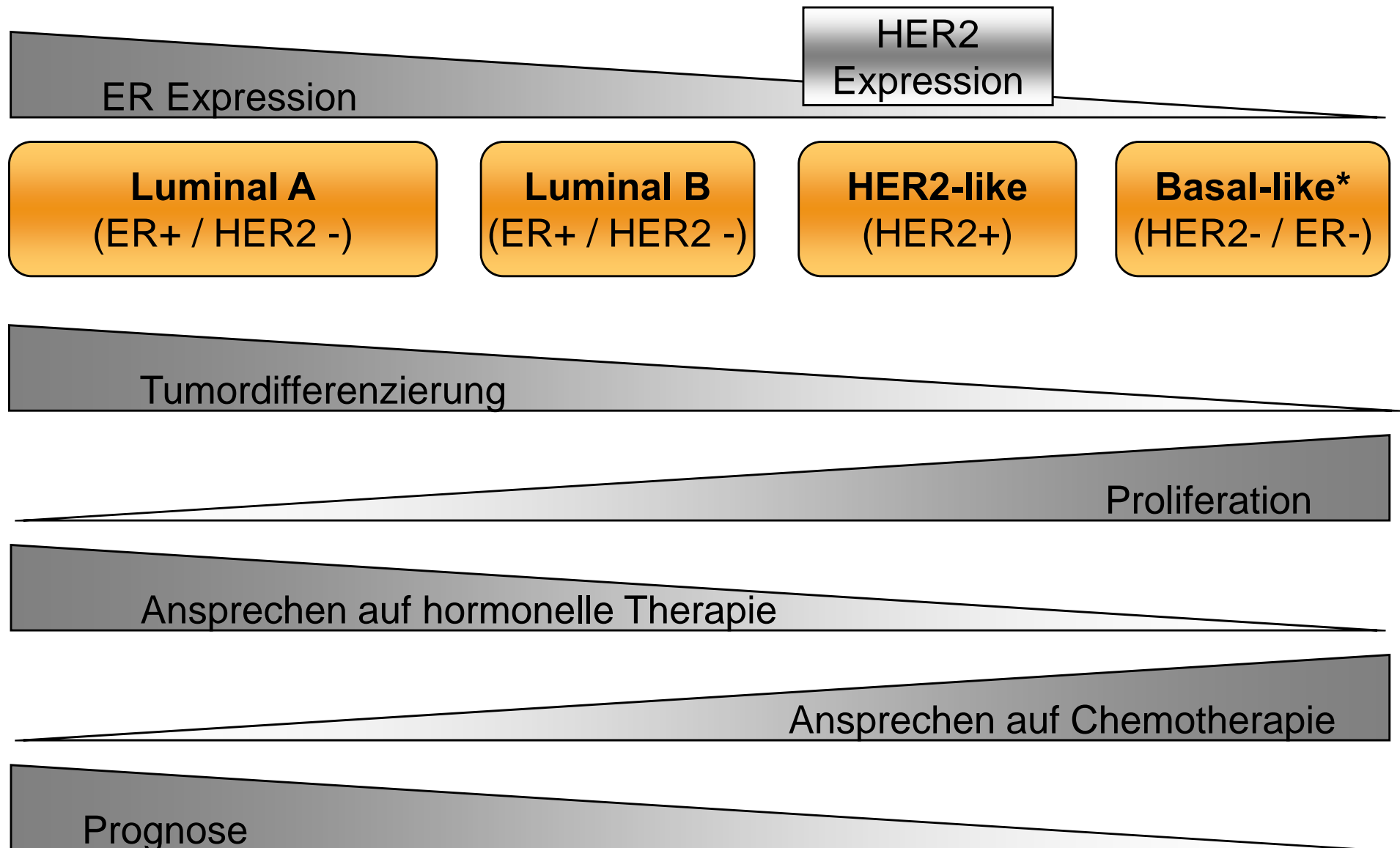


Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

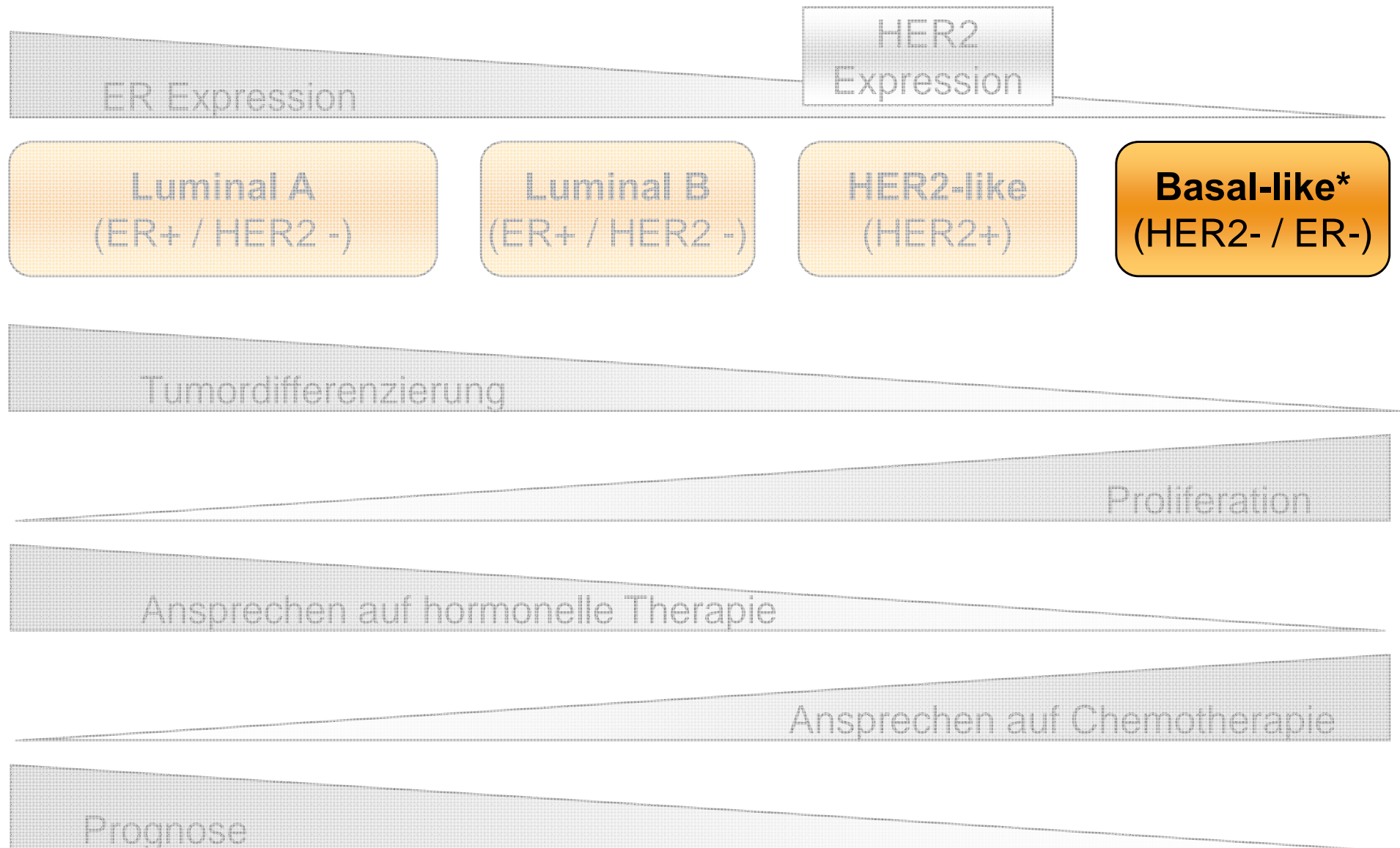
UKM Universitätsklinikum Münster

Mammakarzinom

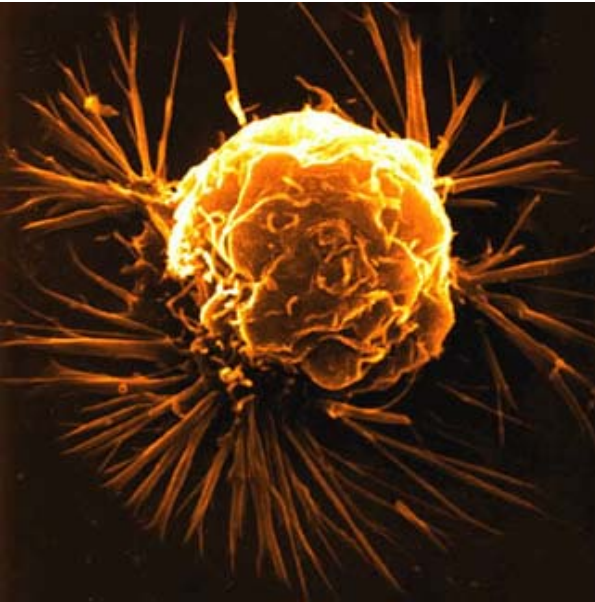
Moderne Taxonomie des Mammakarzinoms



Moderne Taxonomie des Mammakarzinoms

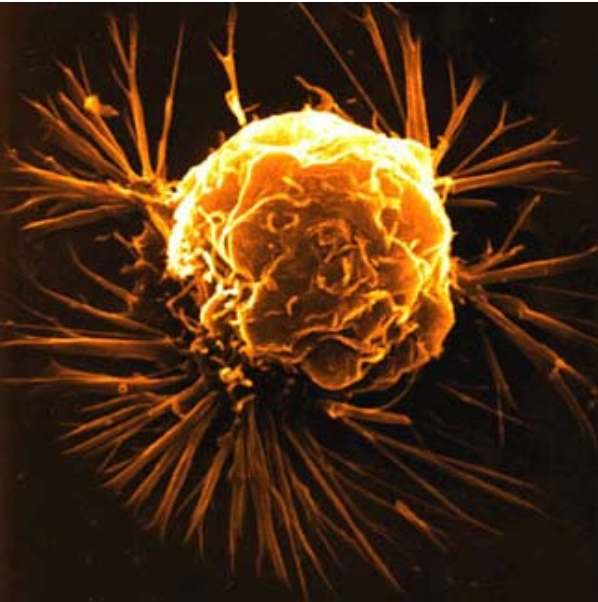


Das tripelnegative Mammakarzinom



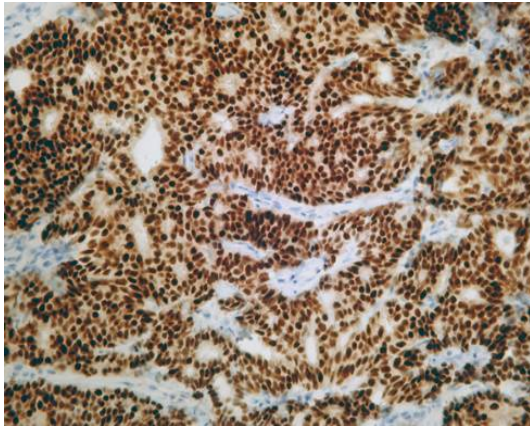
- Definition
- Klinisch-pathologische Charakterisierung
- Systemische Therapie
- Neue Therapieansätze

Das tripelnegative Mammakarzinom



- Definition
- Klinisch-pathologische Charakterisierung
- Systemische Therapie
- Neue Therapieansätze

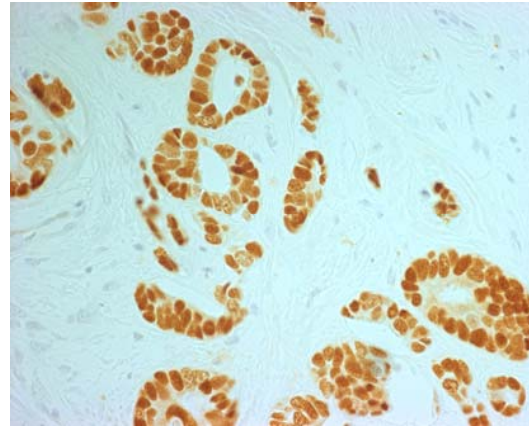
Definition des basalen / tripelnegativen Mammakarzinoms



“Triplenegativ” Status



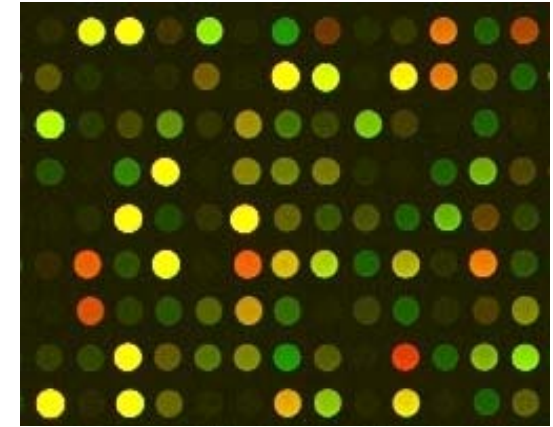
- Expression von ER, PR,
HER2



Immunohistochemisches Profiling (z.B. TMA)



- Expression verschiedener immunohistochemische Marker (z.B. Zytokeratine, Mib-1, etc.)

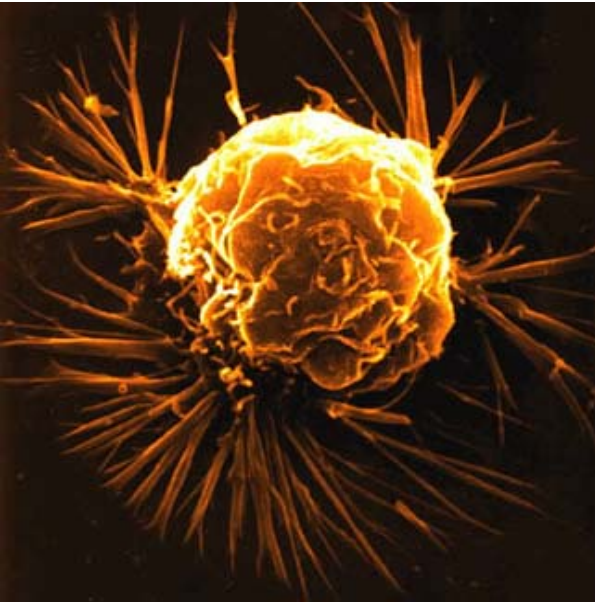


Genearrays



- Expression eines Pannels multipler Gene

Das tripelnegative Mammakarzinom



- Definition
- Klinisch-pathologische Charakterisierung
- Systemische Therapie
- Neue Therapieansätze

Assoziation zwischen Mammakarzinomsubtypen und Risikofaktoren

Populationsstudie (N=1424)

Adjustierte OR Fälle v. Kontrollen

	Luminal A N=796	Basal-like N=225
Menarche < 13	1,1 (0,9-1,3)	1,4 (1,1-1,9)
≥ 3 Kinder	0,7 (0,5-0,9)	1,9 (1,1-3,3)
1. Geburt < 26. LJ	0,7 (0,5-0,9)	1,9 (1,2-3,2)
Stillen ≥ 4 Monate	0,9 (0,7-1,1)	0,7 (0,4-0,9)
BMI ≥ 30	0,8 (0,6-1,0)	0,8 (0,6-1,2)
Tailen-vs.-Hüftumfang ≥ 0,84	1,5 (1,1-1,9)	2,3 (1,4-3,6)

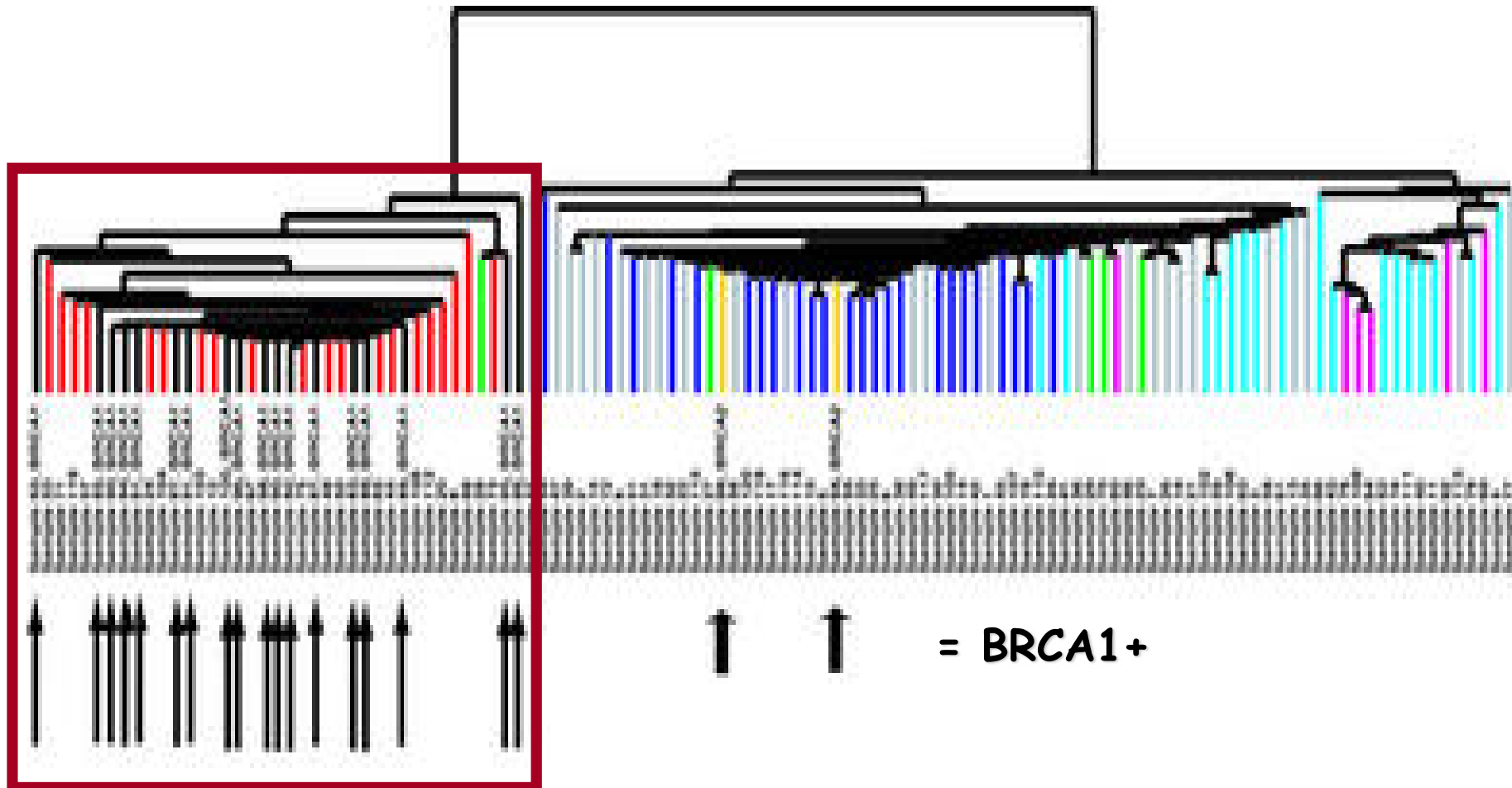
**!!! Mammakarzinom-
risikofaktoren
müssen reevaluiert
werden !!!**

Assoziation zwischen Mammakarzinomsubtypen und Ethnizität / Alter

	N	Basal	HER2+ (ER-)	Luminal A	Luminal B
Prämenopausale Afroamerikanerinnen	97	39%	9%	36%	9%
Postmenopausale Afroamerikanerinnen	99	14%	7%	59%	16%
Prämenopausale weiße Amerikanerinnen	164	16%	6%	51%	18%
Postmenopausal weiße Amerikanerinnen	136	16%	6%	58%	16%
GESAMT	496	20%	7%	51%	16%

P=0.0001

“Guilt by Association” - das basale Mammakarzinom und BRCA1

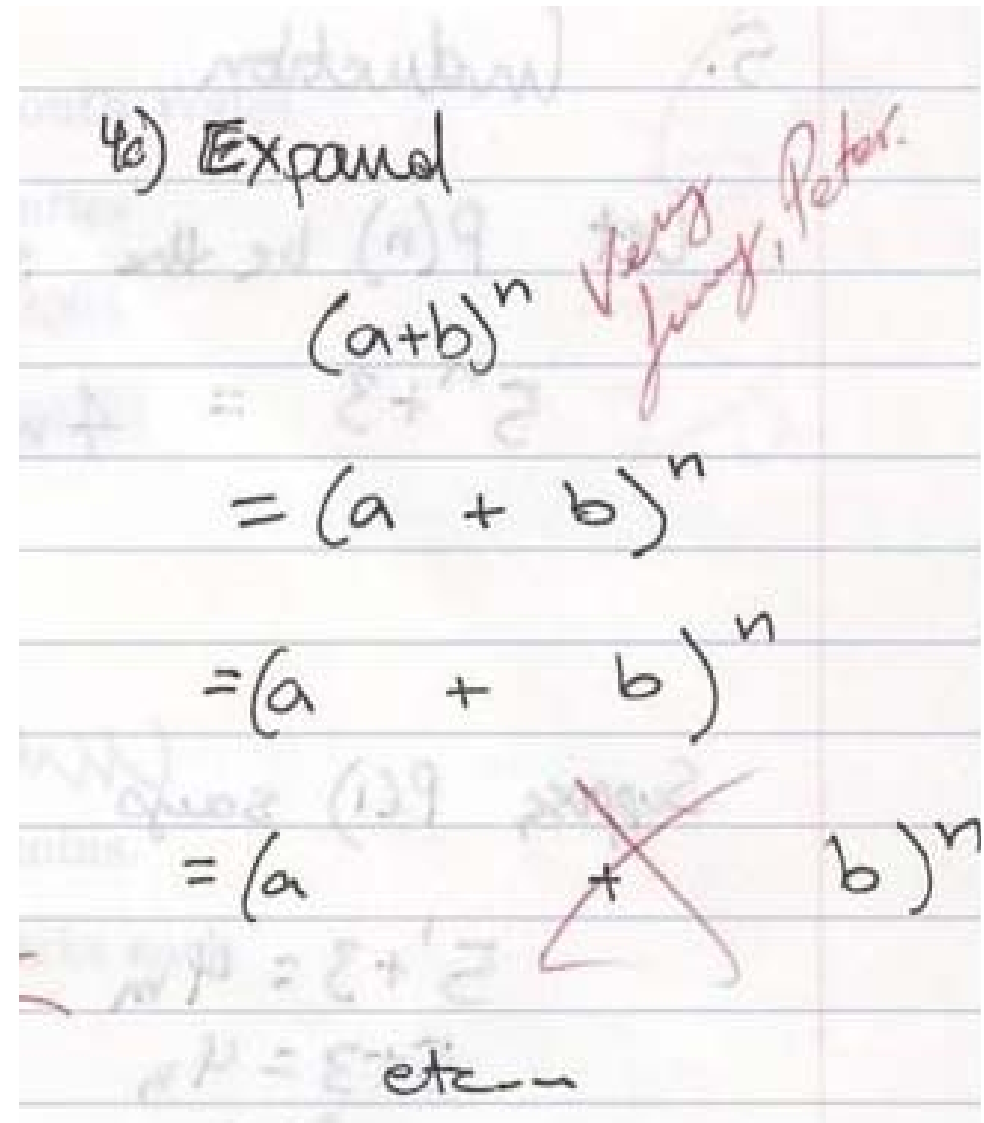


BRCA1-Mutationen und das sporadische basale Mammakarzinom

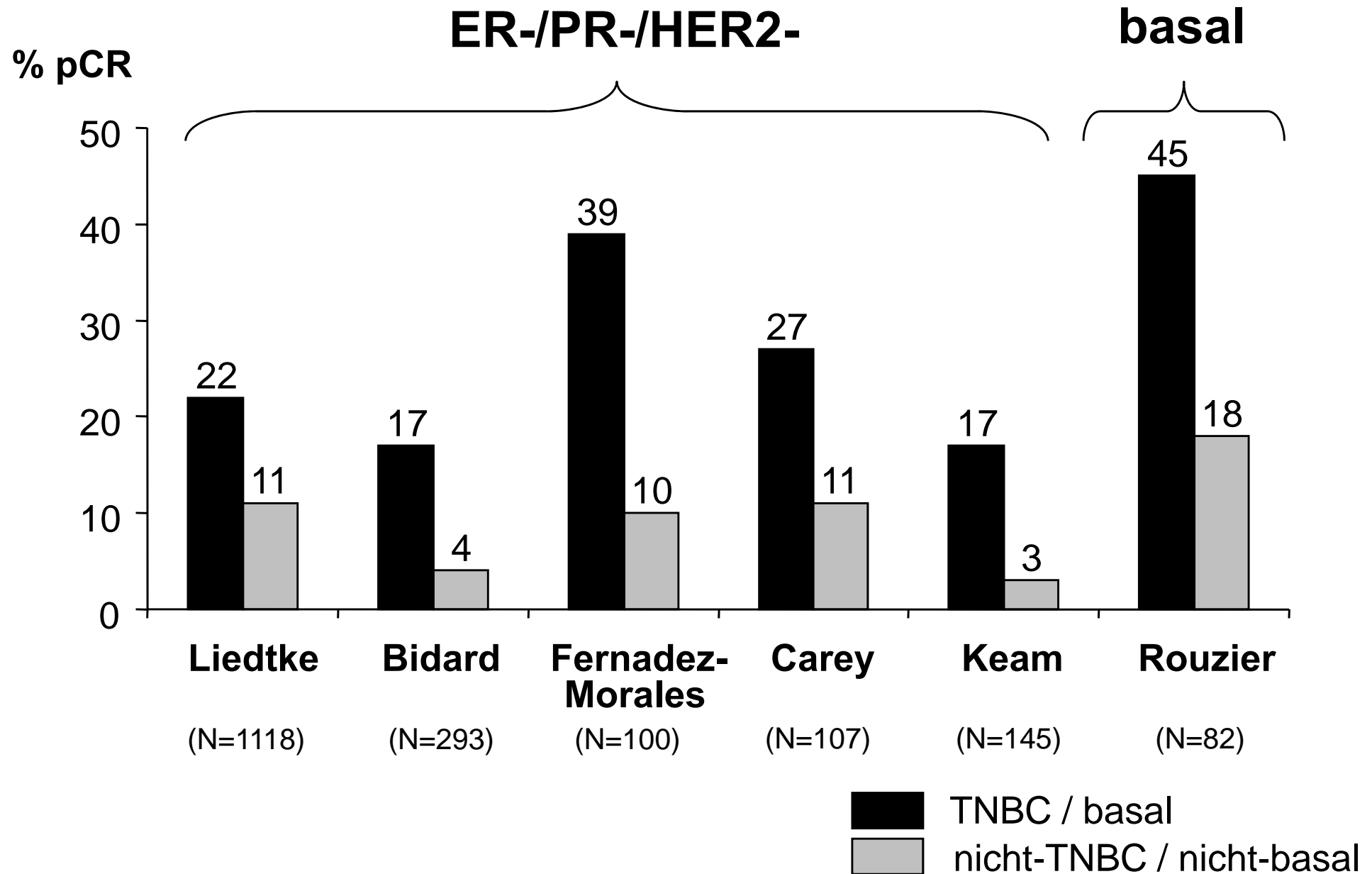
Die meisten BRCA-1-Mutationsträgerinnen zeigen einen basalen Phänotyp ...

aber

... die meisten Patientinnen mit einem Tumor basalen Phänotyps zeigen keine BRCA-1-Mutation

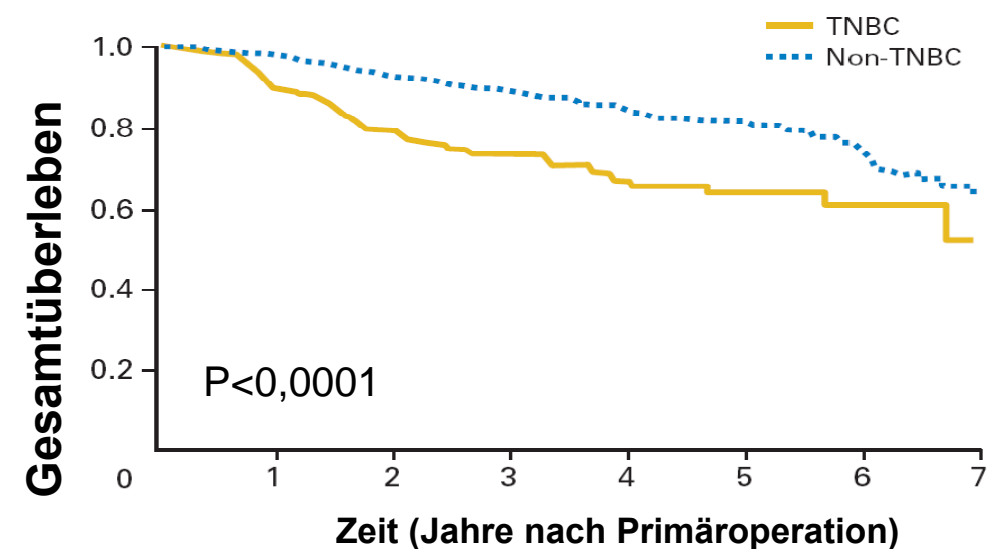
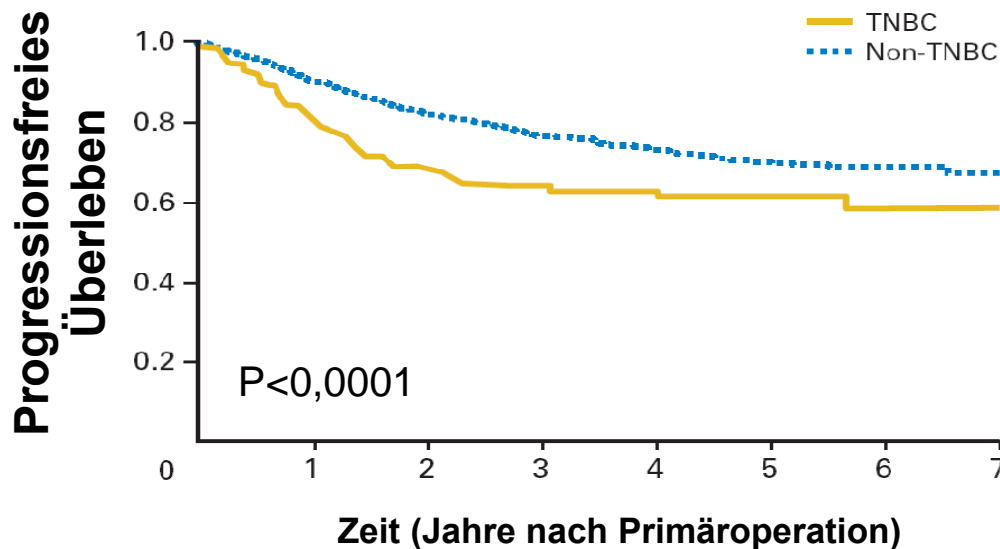
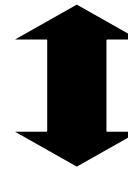


Ansprechen tripelnegativer Mammakarzinome gegenüber neoadjuvanter Chemotherapie

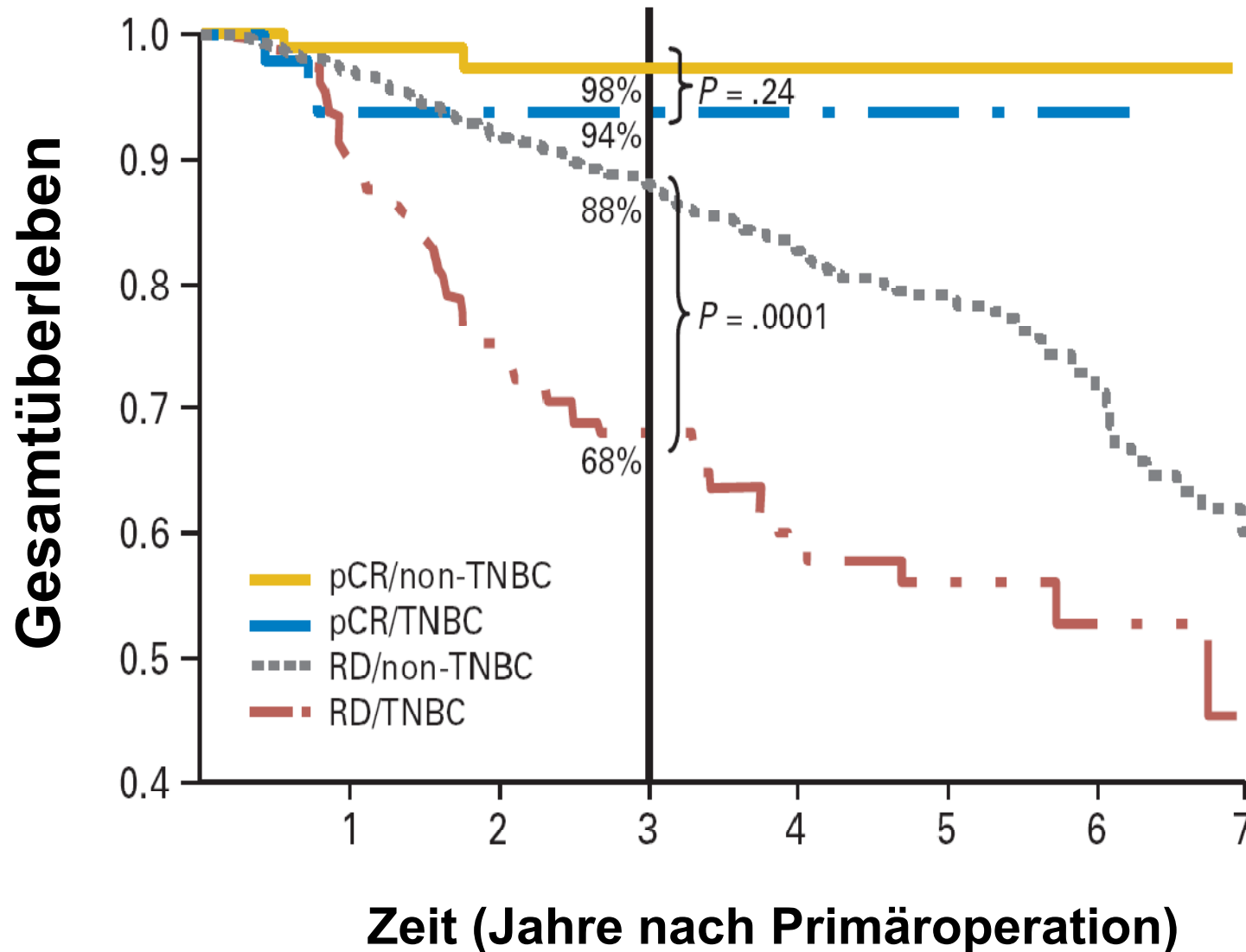


Effekt der Tripelrezeptorexpression auf Chemotherapieansprechen und Überleben – das “tripelnegative Paradoxon”

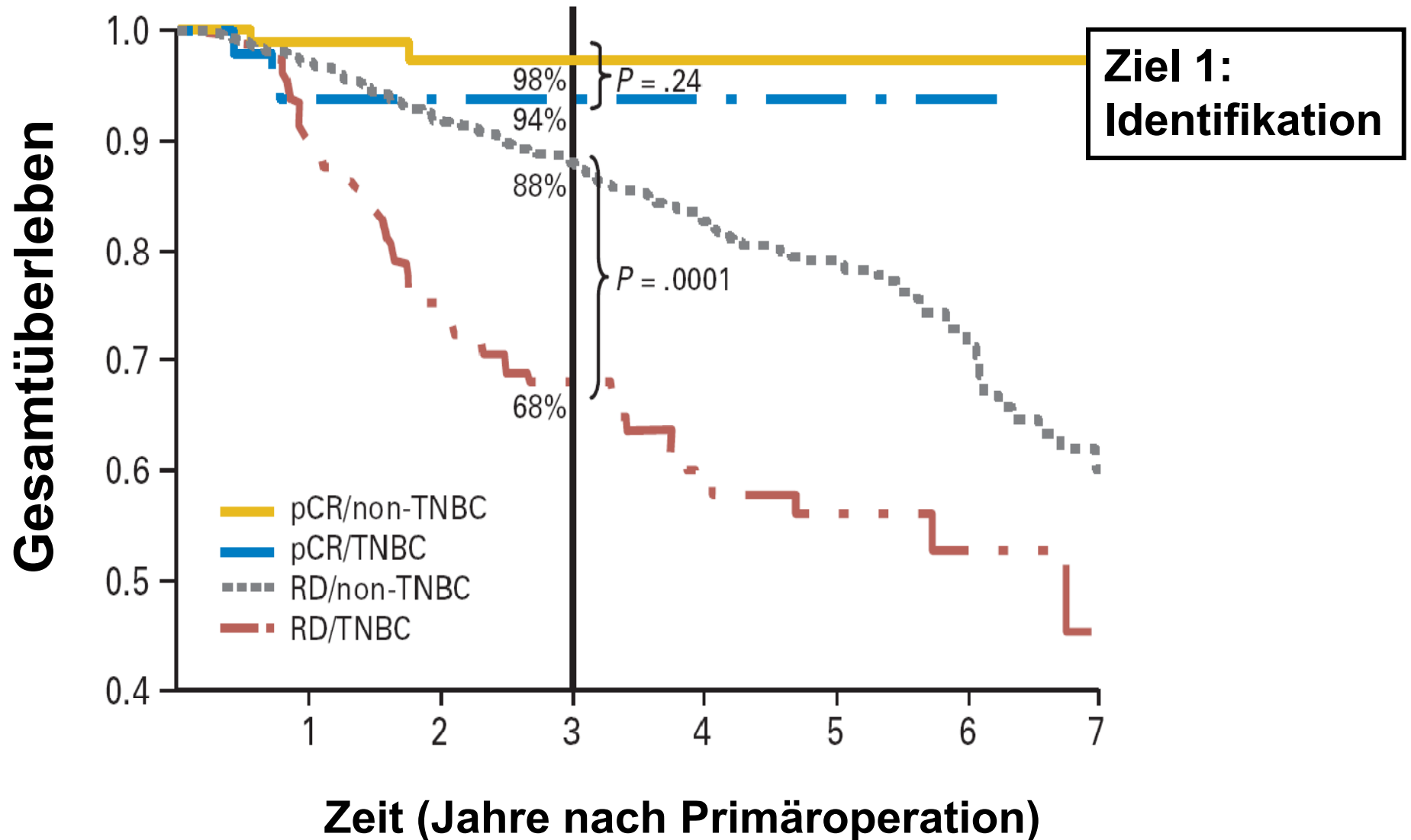
Regime	pCR-Rate						Unterschiede	95% CI	P*
	alle		TNBC		Non-TNBC				
	No.	%	No.	%	No.	%			
FAC†/FEC‡/AC§ (n = 308)	25	8	14	20	11	5	0.15	0.06 to 0.25	.0001
TFAC¶/TFEC¶ (n = 588)	112	19	35	28	77	17	0.11	0.03 to 0.20	.0072



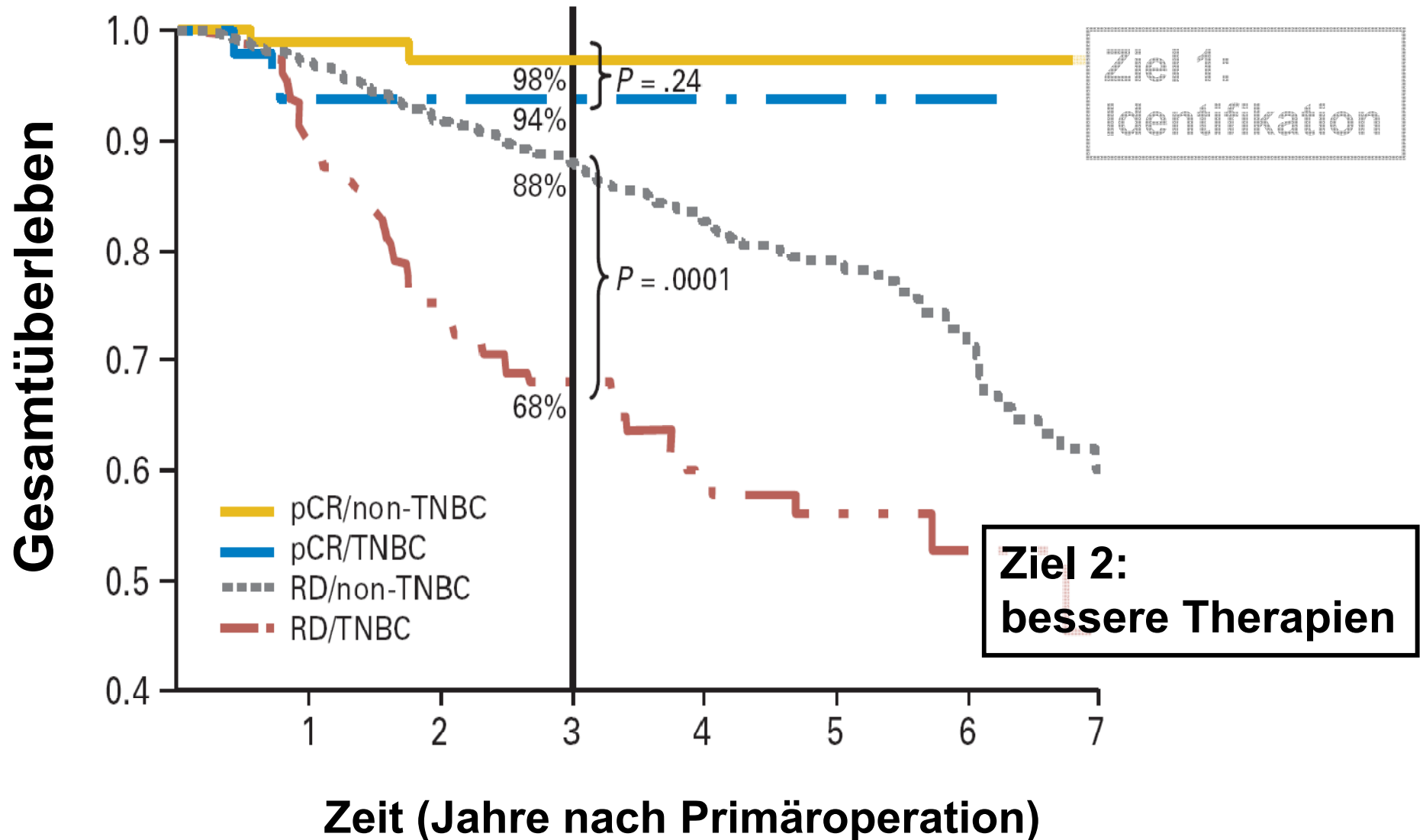
Effekt der Tripelrezeptorexpression auf Chemotherapieansprechen und Überleben – das “tripelnegative Paradoxon”



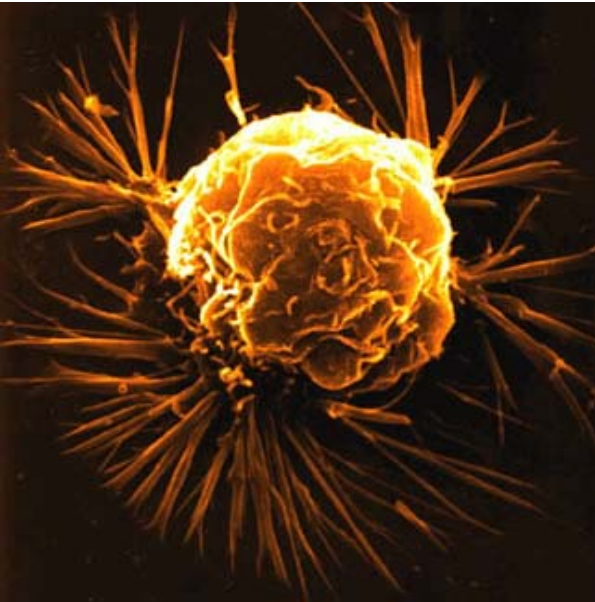
Effekt der Tripelrezeptorexpression auf Chemotherapieansprechen und Überleben – das “tripelnegative Paradoxon”



Effekt der Tripelrezeptorexpression auf Chemotherapieansprechen und Überleben – das “tripelnegative Paradoxon”



Das tripelnegative Mammakarzinom



- Definition
- Klinisch-pathologische Charakterisierung
- Systemische Therapie
- Neue Therapieansätze

Systemische Therapiemöglichkeiten beim Mammakarzinom

Taxane

Antimetaboliten

Anthrazykline

Alkylantien



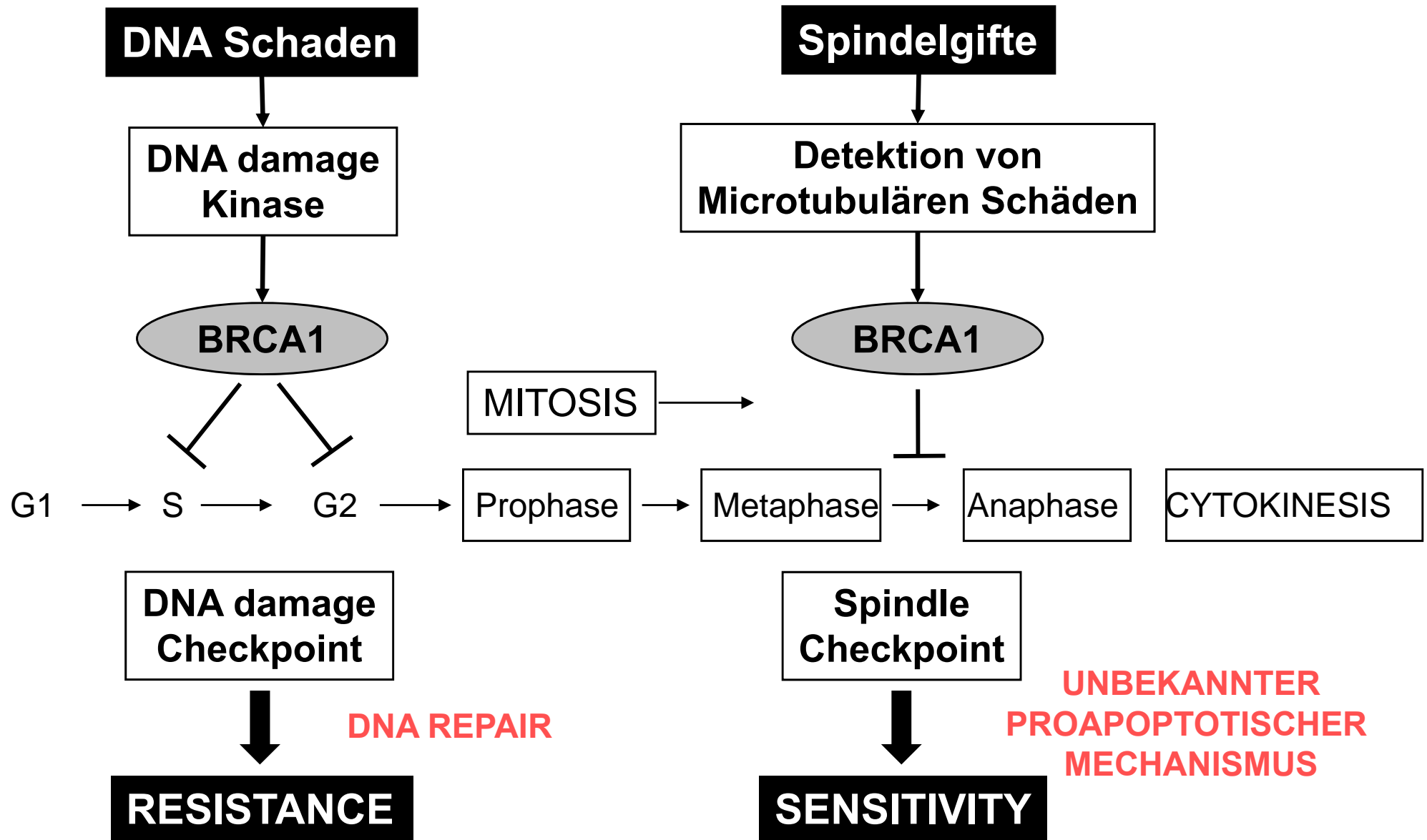
BRCA1 - die Achillesferse des tripelnegativen Mammakarzinoms?



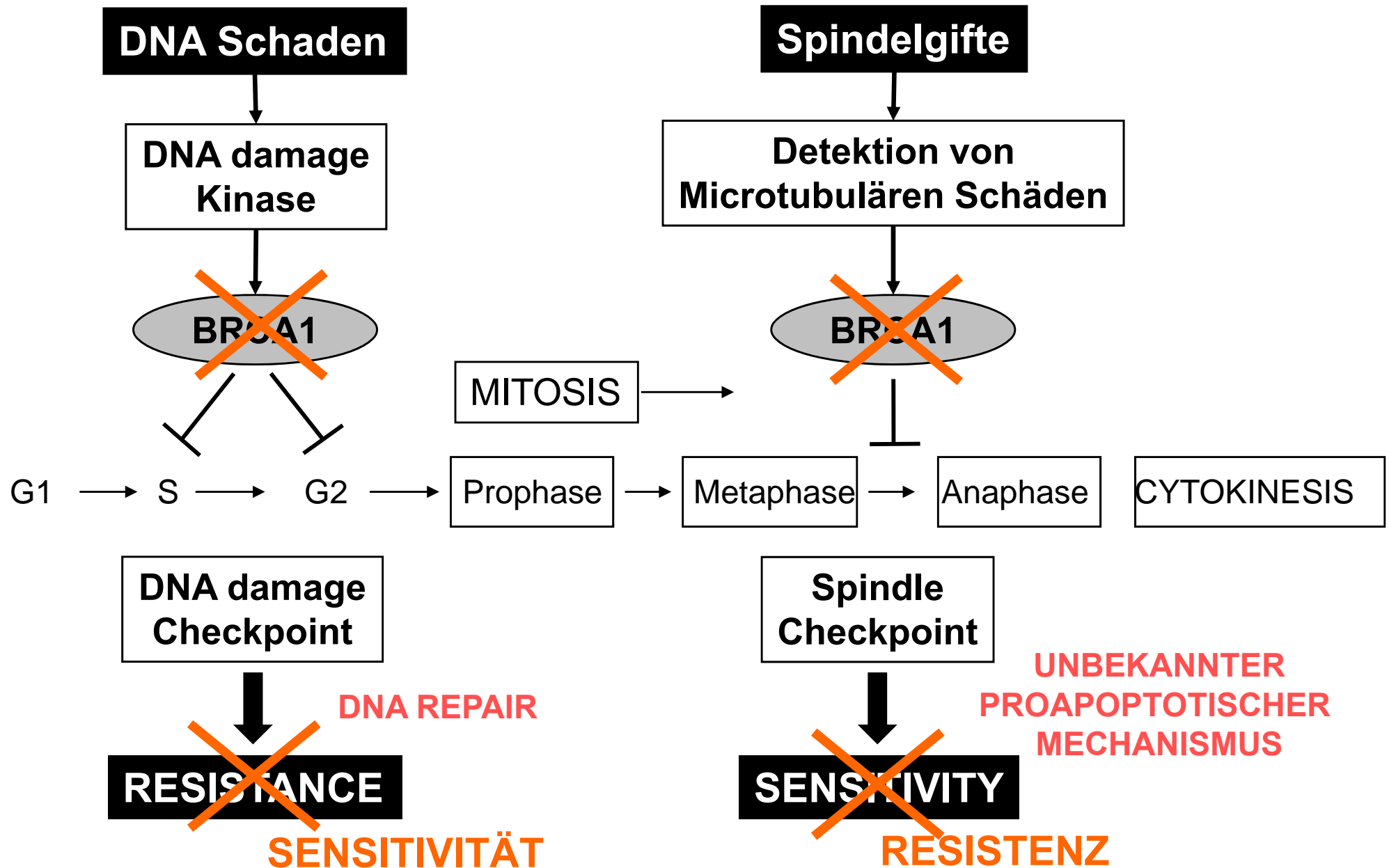
Dysfunktioneller BRCA1-Signalweg

- BRCA1-Mutationen
- Methylierung des BRCA1-Genpromotors
- Transkriptionelle Inaktivierung des BRCA1-Signalweges (Überexpression von ID4)

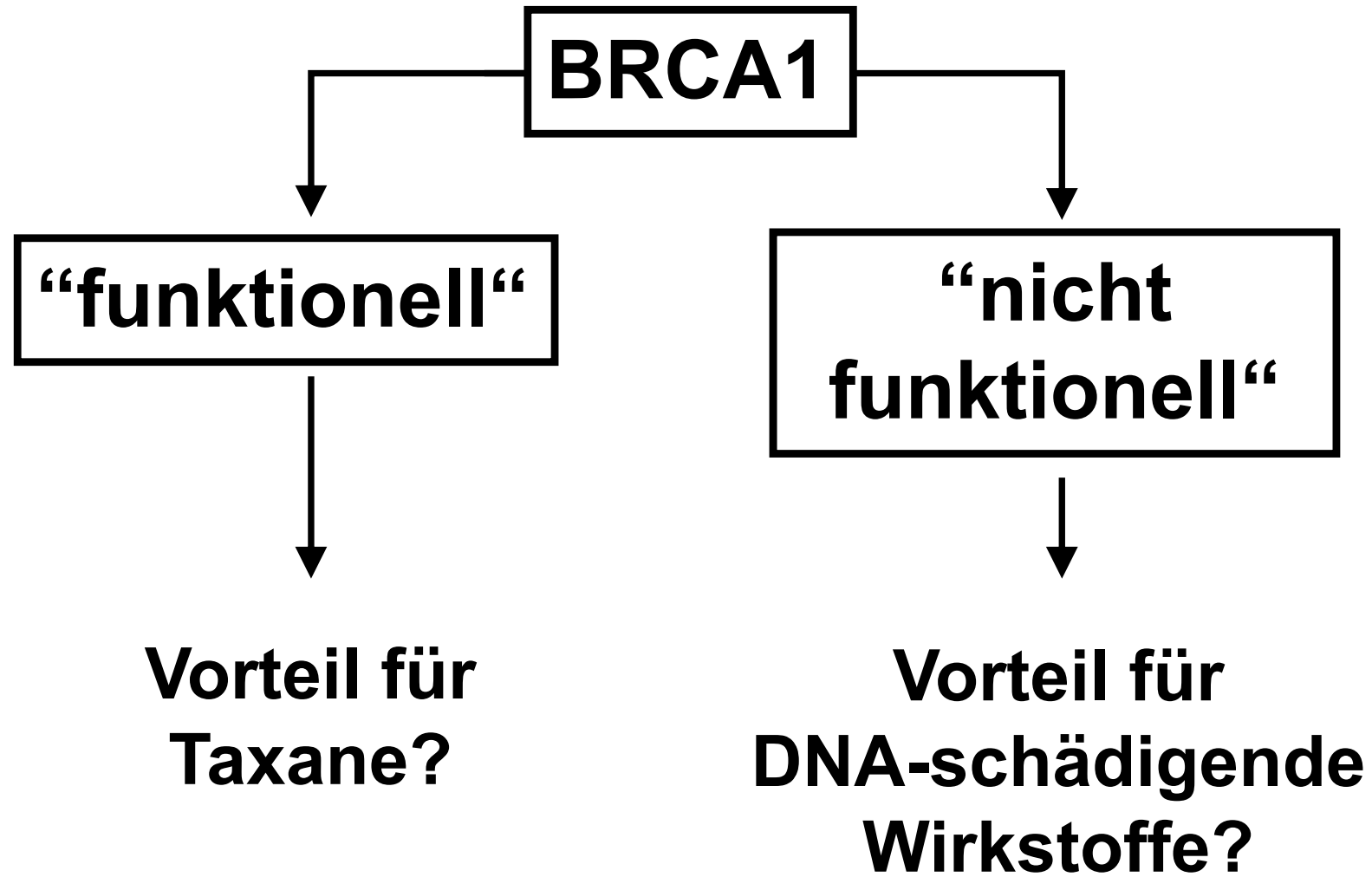
BRCA1 – ein prädiktiver Faktor des tripelnegativen Mammakarzinoms



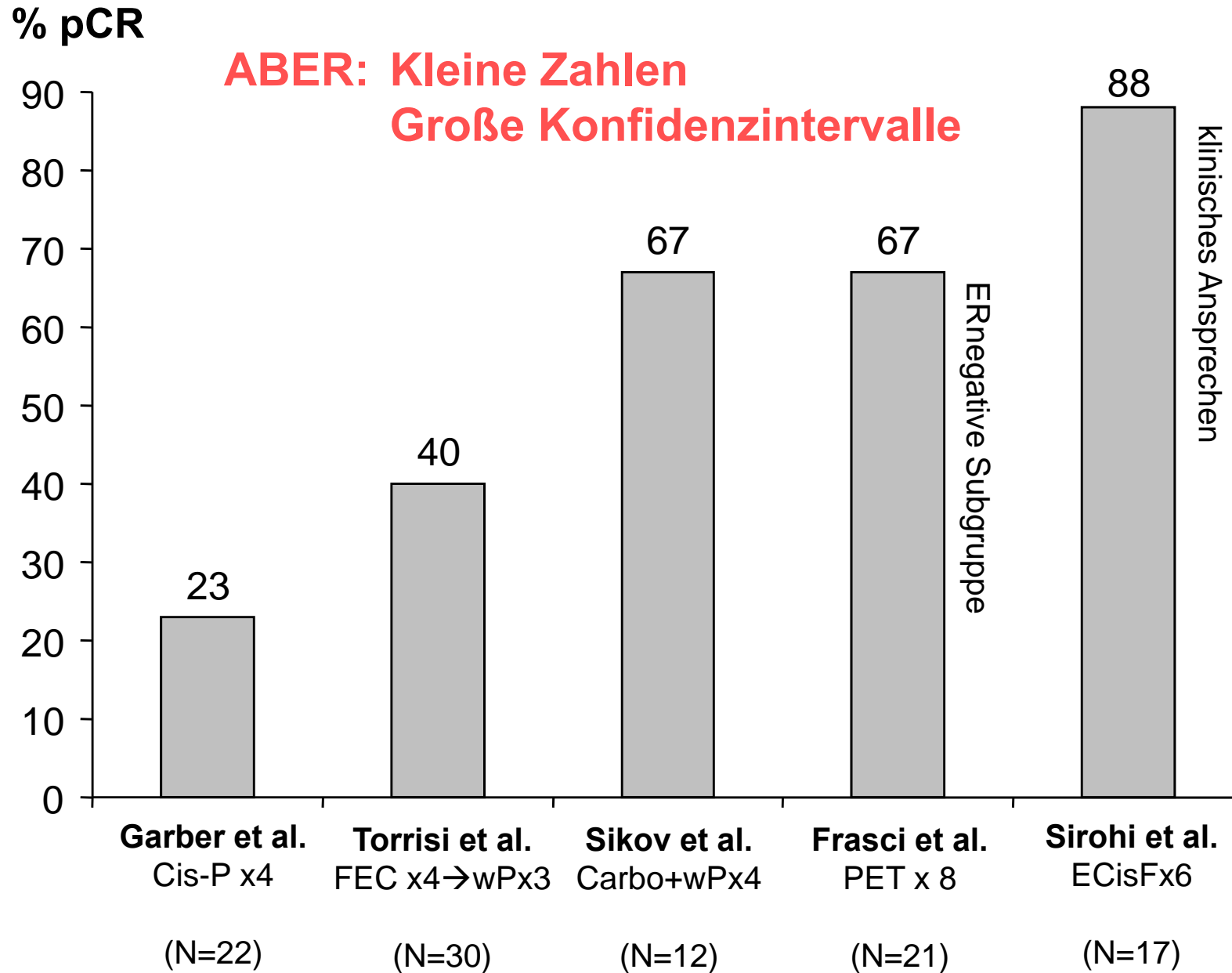
BRCA1 – ein prädiktiver Faktor des tripelnegativen Mammakarzinoms



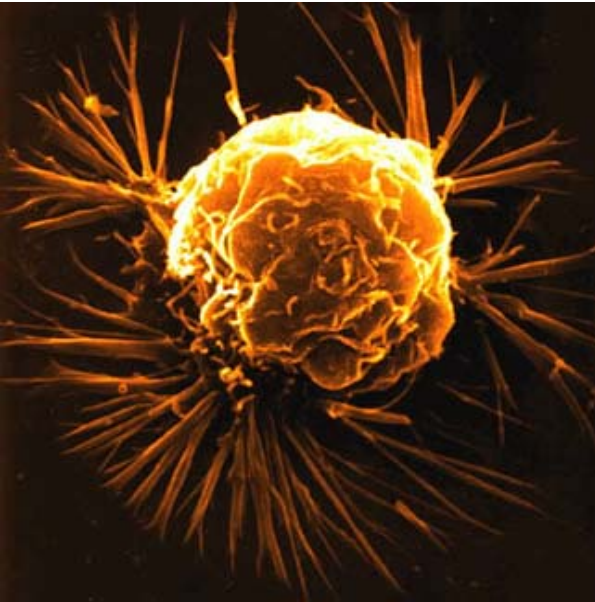
BRCA1 – ein prädiktiver Faktor des tripelnegativen Mammakarzinoms



Neoadjuvante platinhaltige Chemotherapie beim tripelnegativen Mammakarzinom



Das tripelnegative Mammakarzinom



- Definition
- Klinisch-pathologische Charakterisierung
- Systemische Therapie
- **Neue Therapieansätze**

Tripelnegatives Mammakarzinom – neue Targets

Was wir glauben zu wissen:

<1000 Gene, die hinsichtlich des (tripelnegativen) Mammakarzinoms derzeit untersucht werden

- ER
- HER-2/EGFR
- AKT/PI3K
- VEGF
- mTOR
- p53
- BRCA
- etc..

Tripelnegatives Mammakarzinom – neue Targets

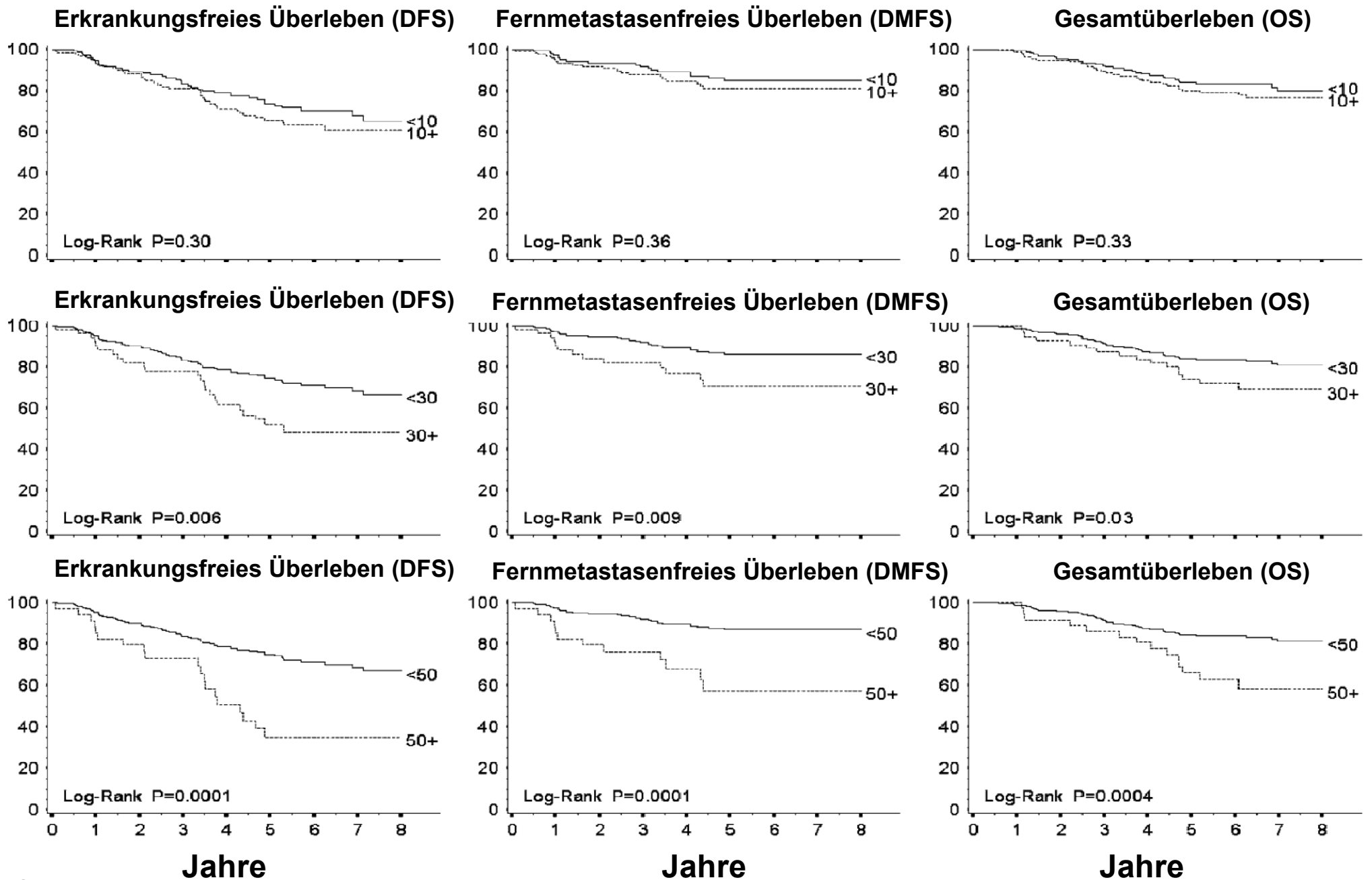
Was wir glauben zu wissen:

<1000 Gene, die hinsichtlich des (tripelnegativen) Mammakarzinoms derzeit untersucht werden

- ER
- HER-2/EGFR
- AKT/PI3K
- VEGF
- mTOR
- p53
- BRCA
- etc..

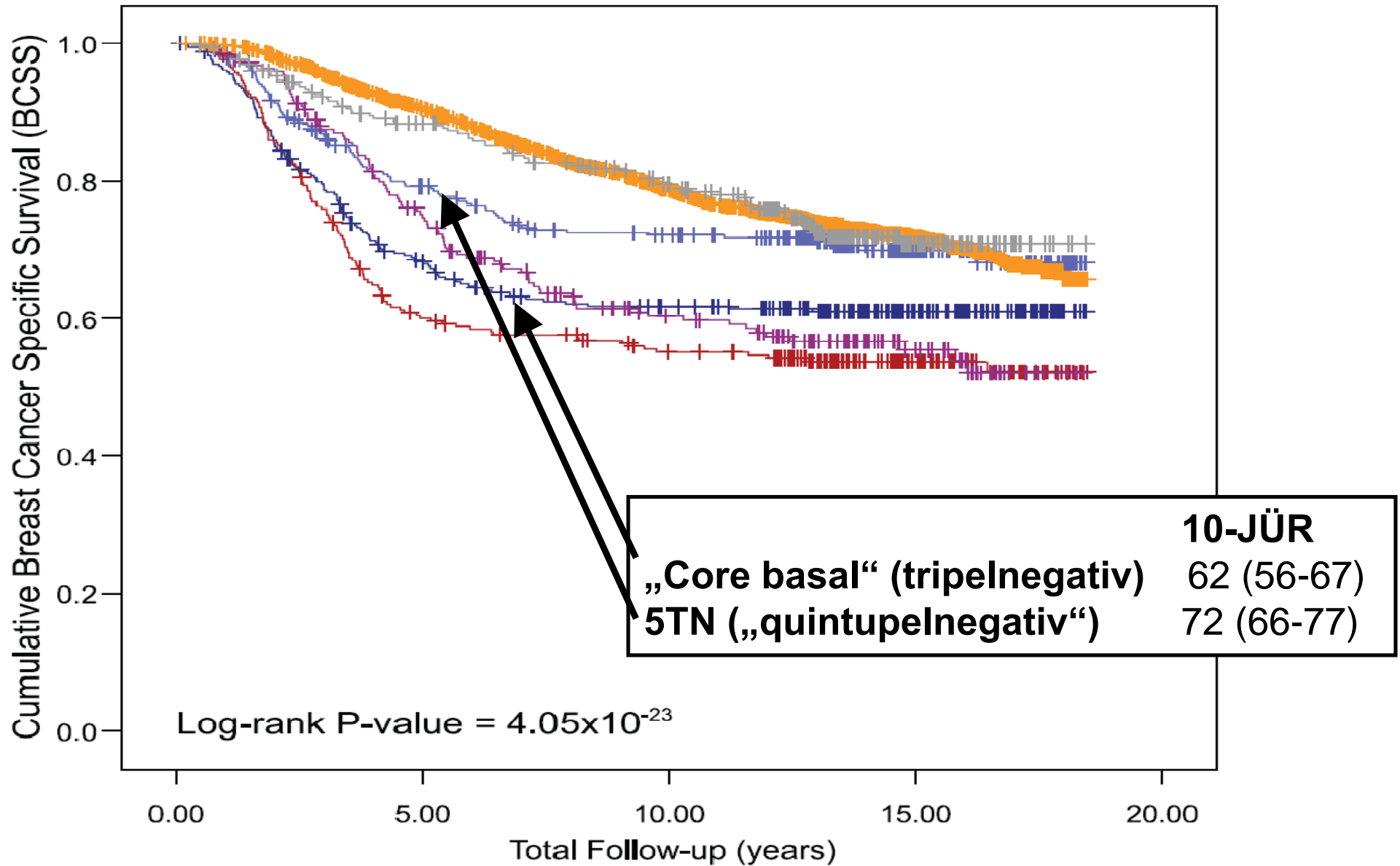
EGFR-Inhibitoren
Antiangiogeneseinhibitoren
PARP-Inhibitoren
AR-Antagonisten

Überlebensraten von Patientinnen mit tripelnegativem Mammakarzinom stratifiziert nach immunohistochemischer EGFR-Expression



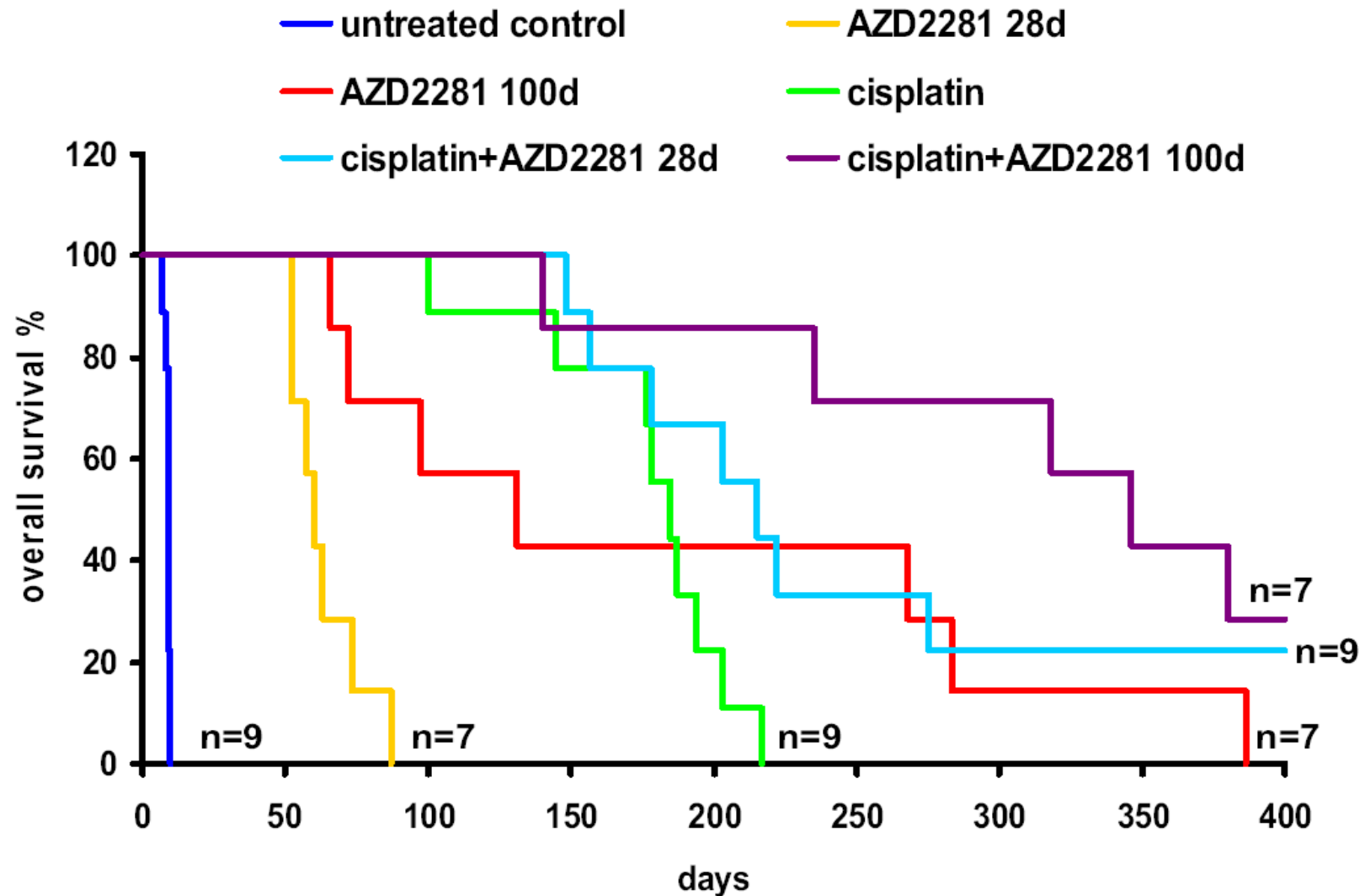
Verbesserte Klassifikation des Mammakarzinoms durch EGFR

B



PARP-Inhibition im BRCA1-negativen Xenograftmodell

Erhöhtes Gesamtüberleben durch die Kombination von AZD2281 mit Cisplatin



Tripelnegatives Mammakarzinom – neue Targets

Was wir glauben zu wissen:

<1000 Gene, die hinsichtlich des (tripelnegativen) Mammakarzinoms derzeit untersucht werden

- ER
- HER-2/EGFR
- AKT/PI3K
- VEGF
- mTOR
- p53
- BRCA
- etc..

Was wir annehmen nicht zu wissen

~5000 Transkripte, deren Funktion derzeit noch nicht bekannt ist



? neue Targets ?

? Tumorbilogie ?

Zwei Wege hin zur Entdeckung des Neuen



Christopher Columbus



Bioinformatische Ansätze zur Identifikation neuer Gene für funktionelle Studien

“Expressionsnetzwerke” zur Definition von Mammakarzinom-subgruppen

Koordiniert exprimierte Gene könnten funktionelle Signaltransduktionswege repräsentieren

Bimodal exprimierte Gene

Gene, die sich ähnlich verhalten wie ER oder HER2

Differentiell exprimierte Gene (zur Charakterisierung bestimmter klinisch relevanter Subgruppen)

Behandlungs-empfindlich *versus* Behandlungs-resistent

Tripelnegativ *versus* nicht-tripelnegativ

Rezidiert *versus* nicht rezidiert

Differentielle Genexpression zwischen tripelnegativen (n=88) und nicht-tripelnegativen (n=235) Mammakarzinomen

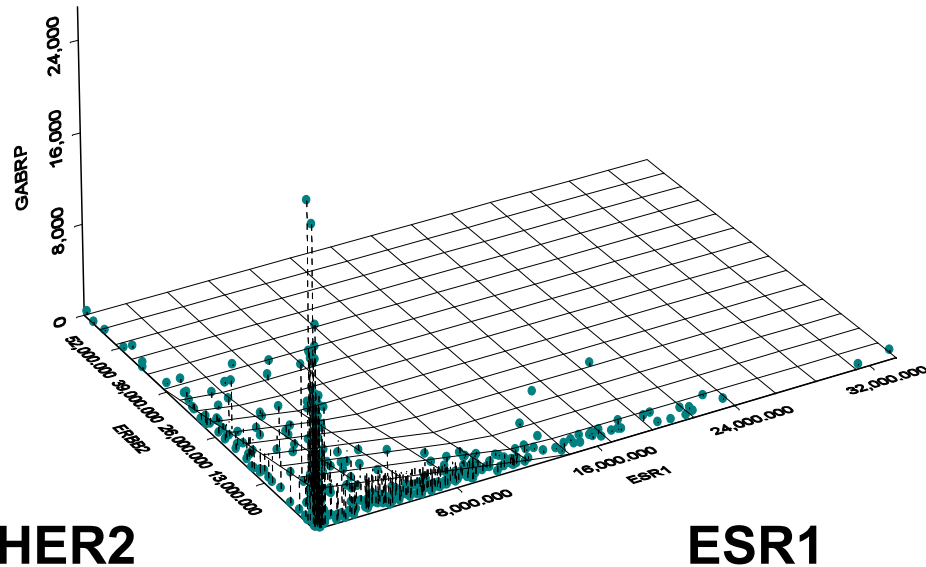
	GeneSymbol	Fold-Change	FDR level	TriNeg.mean	Others.mean
WNT signaling	SFRP1	4.7	<0.0001	2.3279	1.6602
	GABRP	4.1	<0.0001	2.7227	2.1101
	MMP7	3.7	<0.0001	2.7217	2.1533
Retinoic receptor Signalling	RARRES1	3.2	<0.001	2.6302	2.1288
	RARRES1	3.1	<0.001	2.6392	2.1482
Prolactin signaling, Brustdrüsendifferenzierung	ELF5	3.0	<0.0001	2.5127	2.0402
	SFRP1	2.8	<0.0001	2.5339	2.0804
	KRT6B	2.7	<0.001	2.6454	2.2188
	RARRES1	2.6	<0.001	2.5144	2.0924
	SFRP1	2.6	<0.0001	2.6318	2.2113
Transmebrane GP, CD133	FSCN1	2.6	<0.001	2.7736	2.3604
	PROM1	2.6	<0.001	2.5556	2.1465
ZNS Morphogenese Ras-independent EGFR signaling	FABP7	2.4	<0.01	2.1674	1.7832
	IL8	2.4	<0.01	2.5944	2.2140
β catenin pathway	EN1	2.4	<0.001	2.0627	1.6872
	KRT16	2.3	<0.001	2.0207	1.6497
	KRT5	2.3	<0.01	2.5888	2.2206

Differentielle Genexpression zwischen tripelnegativen (n=88) und nicht-tripelnegativen (n=235) Mammakarzinomen

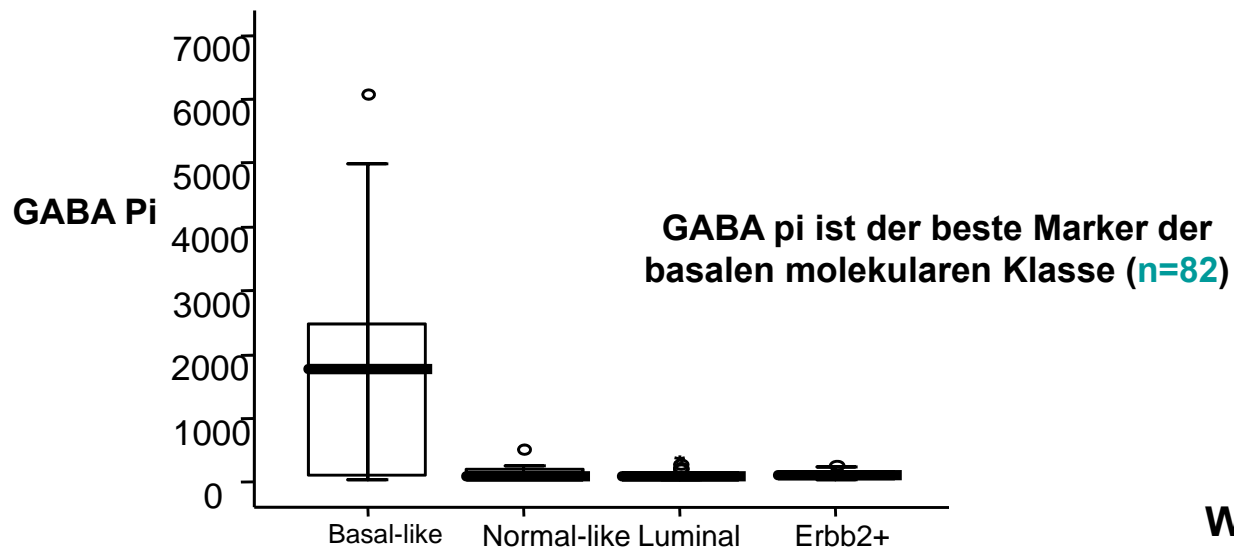
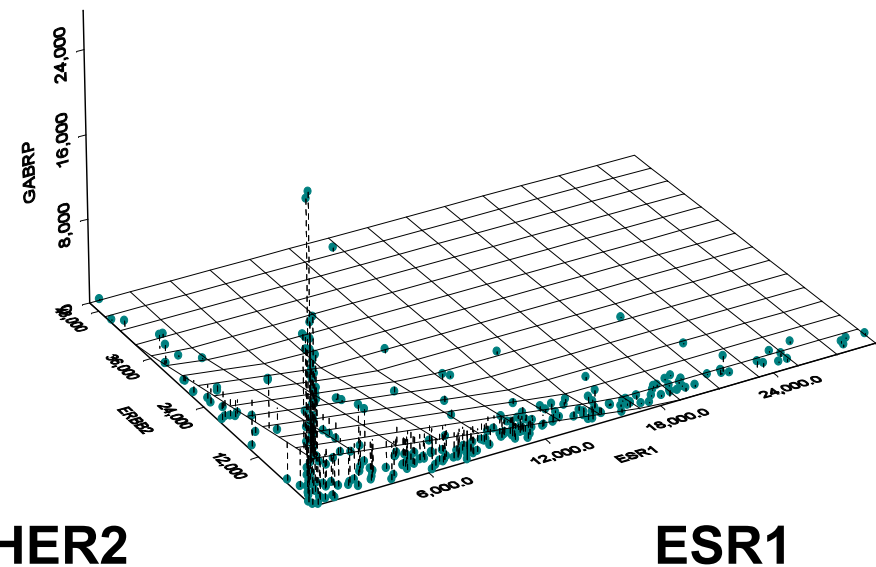
	GeneSymbol	Fold-Change	FDR level	TriNeg.mean	Others.mean
WNT signaling	SFRP1	4.7	<0.0001	2.3279	1.6602
	GABRP	4.1	<0.0001	2.7227	2.1101
	MMP7	3.7	<0.0001	2.7217	2.1533
Retinoic receptor Signalling	RARRES1	3.2	<0.001	2.6302	2.1288
	RARRES1	3.1	<0.001	2.6392	2.1482
Prolactin signaling, Brustdrüsendifferenzierung	ELF5	3.0	<0.0001	2.5127	2.0402
	SFRP1	2.8	<0.0001	2.5339	2.0804
	KRT6B	2.7	<0.001	2.6454	2.2188
	RARRES1	2.6	<0.001	2.5144	2.0924
	SFRP1	2.6	<0.0001	2.6318	2.2113
Transmebrane GP, CD133	FSCN1	2.6	<0.001	2.7736	2.3604
	PROM1	2.6	<0.001	2.5556	2.1465
ZNS Morphogenese Ras-independent EGFR signaling	FABP7	2.4	<0.01	2.1674	1.7832
	IL8	2.4	<0.01	2.5944	2.2140
β catenin pathway	EN1	2.4	<0.001	2.0627	1.6872
	KRT16	2.3	<0.001	2.0207	1.6497
	KRT5	2.3	<0.01	2.5888	2.2206

Gamma-amino-butyrat Receptor A pi (GABRP) und ER/HER2 Expression in zwei unabhängigen Datensätzen

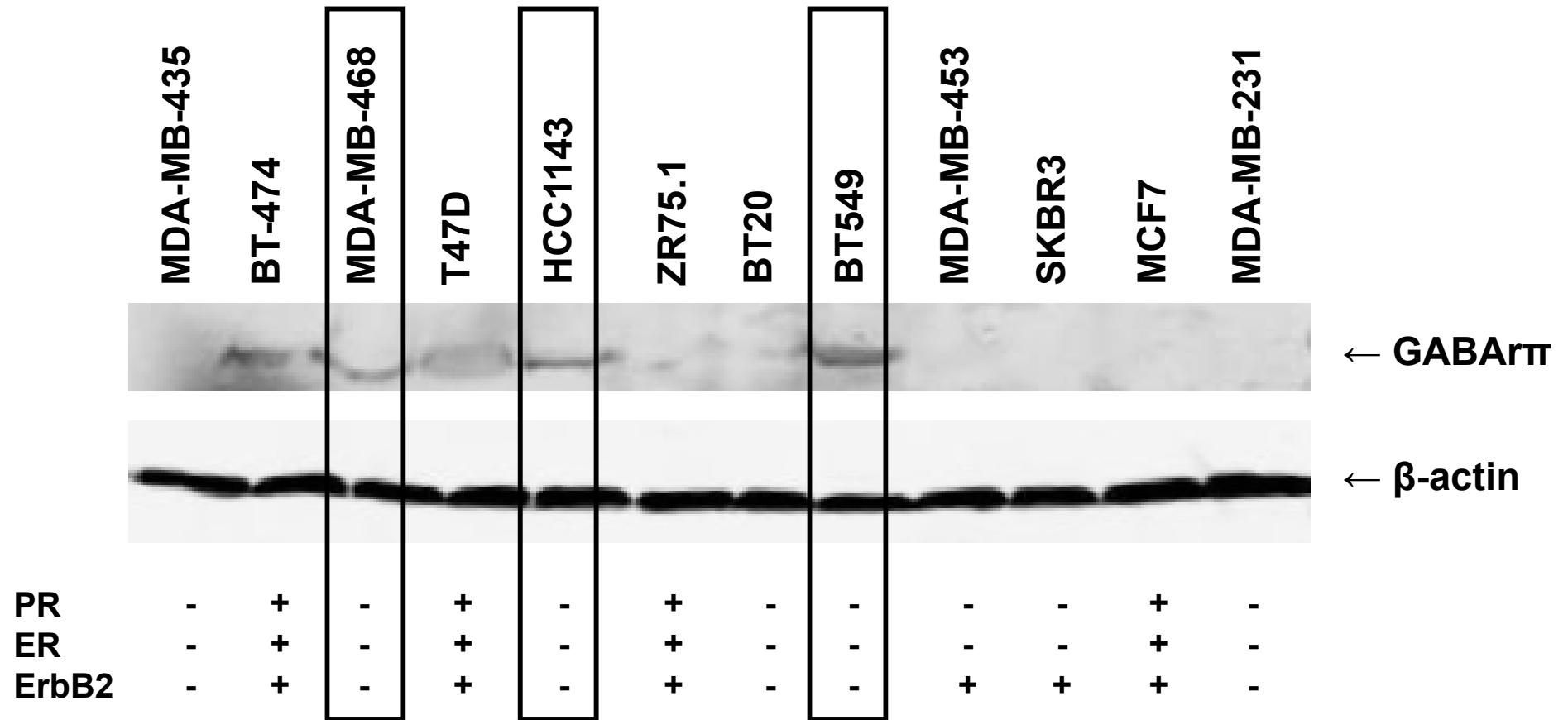
GABRP-Expression in 444 humanen Mammakarzinomen



GABRP-Expression in 286 humanen Mammakarzinomen

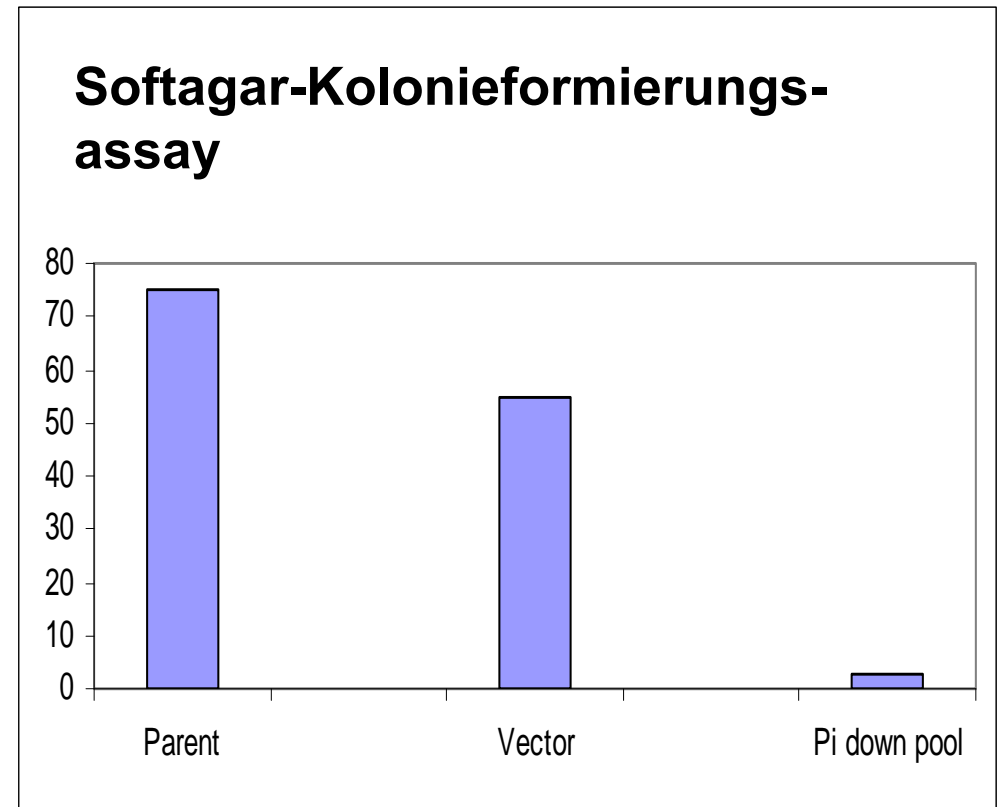
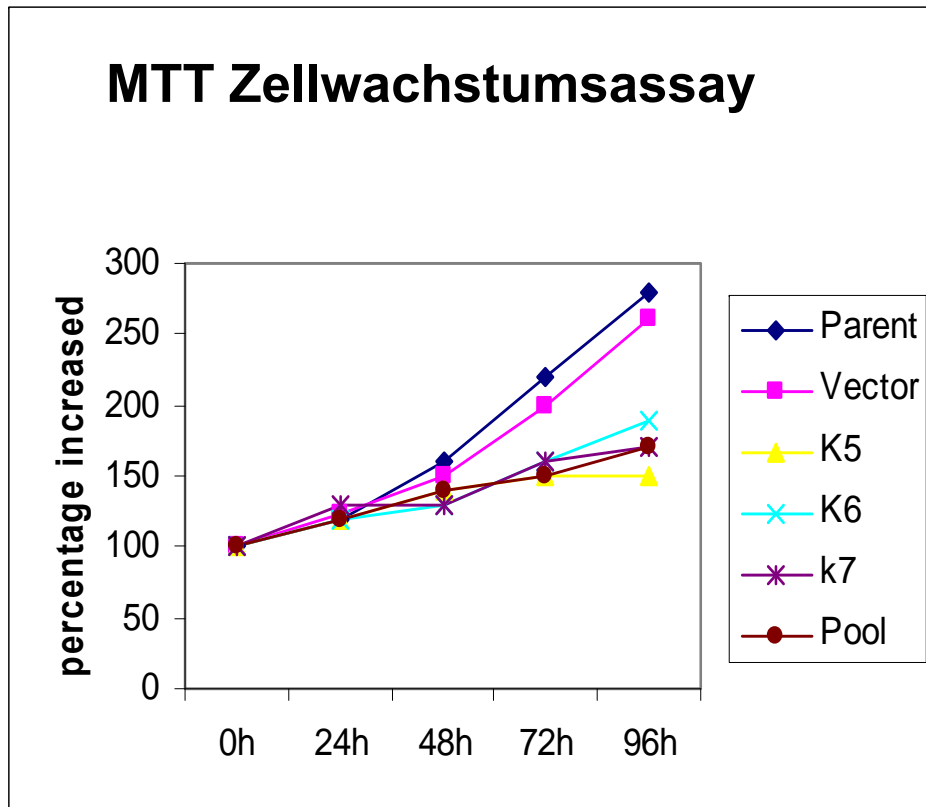


GABApi-Proteinexpression in humanen Mammakarzinomzelllinien



GABApi – Funktionelle Studien in Zellkultur

GABAp-siRNA-Knockdown in MDA-MB-468-Zelllinien



Zwei Wege hin zur Entdeckung des Neuen



Christopher Columbus



Zwei Wege hin zur Entdeckung des Neuen



Christopher Columbus



Vasco da Gama



Lauss et al.

„Characterization of the drugged genome“

Future Medicine 2007



Affymetrix

Drugbank

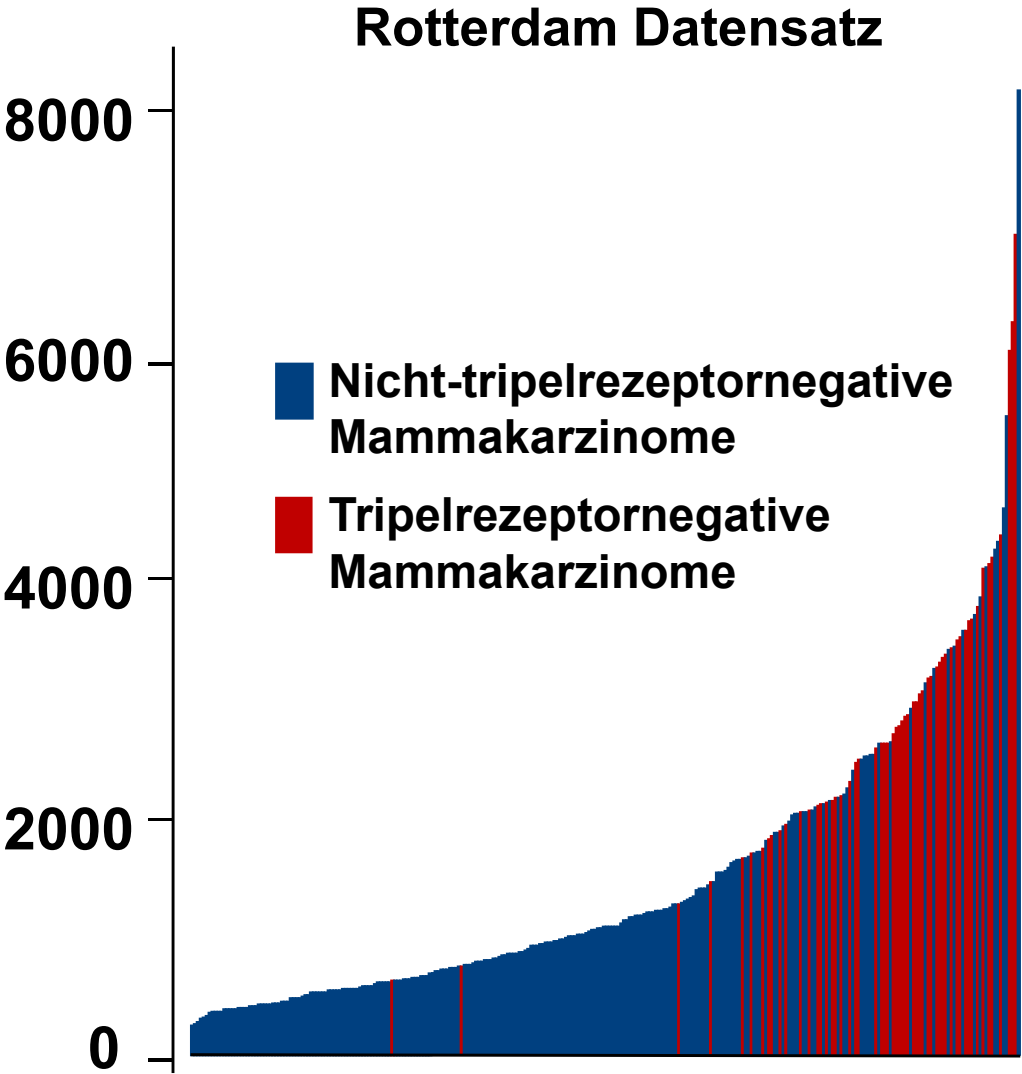
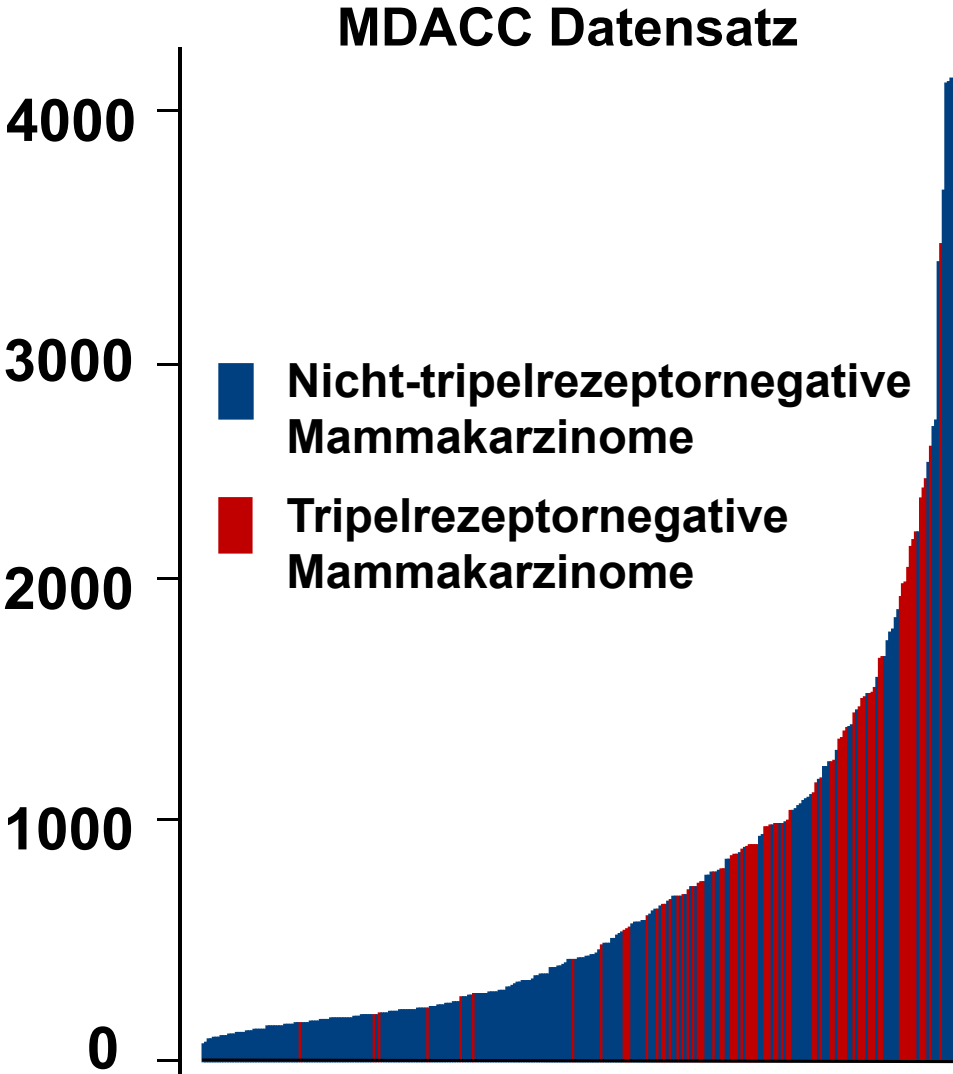
Überexpression von „drug targets“ beim tripelnegativen Mammakarzinom

Name	t.statistics	p.values	p.adj.Bonferroni	p.adj.FDR
Glutathione S-transferase pi	-10.2560	0	0	0
Phosphoserine aminotransferase 1	-8.2671	1.01E-13	6.85E-11	4.28E-12
Phospholipase A2, group IVA (cytosolic, calcium-dependent)	-7.5213	1.45E-11	9.83E-09	4.92E-10
Annexin A1	-7.5650	1.59E-11	1.08E-08	5.13E-10
Interferon (alpha, beta and omega) receptor 2	-7.2096	3.26E-11	2.21E-08	9.21E-10
Epidermal growth factor receptor (erythroblastic leukemia viral (v-erb-b) oncogene homolog, avian)	-6.9603	3.57E-10	2.42E-07	8.35E-09
Plasminogen activator, urokinase receptor	-7.0193	4.21E-10	2.85E-07	9.51E-09
Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase)	-6.6234	1.29E-09	8.75E-07	2.43E-08
Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase)	-6.5552	1.78E-09	1.21E-06	3.18E-08
Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1, beta, convertase)	-5.9762	2.89E-08	1.96E-05	4.08E-07
CD1a molecule	-5.7592	3.70E-08	2.51E-05	5.12E-07
Steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1 (3-oxo-5 alpha-steroid delta 4-dehydrogenase alpha 1)	-5.8295	7.12E-08	4.83E-05	9.47E-07
Fas (TNF receptor superfamily, member 6)	-5.7615	7.93E-08	5.38E-05	1.03E-06
Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	-5.6846	9.09E-08	6.16E-05	1.14E-06
5'-nucleotidase, cytosolic II	-5.5940	1.25E-07	8.48E-05	1.46E-06
Procollagen-lysine 1, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1	-5.7309	1.33E-07	9.02E-05	1.53E-06
Interferon gamma receptor 1	-5.6267	1.42E-07	9.63E-05	1.59E-06
Ryanodine receptor 1 (skeletal)	-5.6341	2.07E-07	0.000140346	2.16E-06
Pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase	-5.5618	2.31E-07	0.000156618	2.34E-06
Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	-5.4338	3.01E-07	0.000204078	2.94E-06

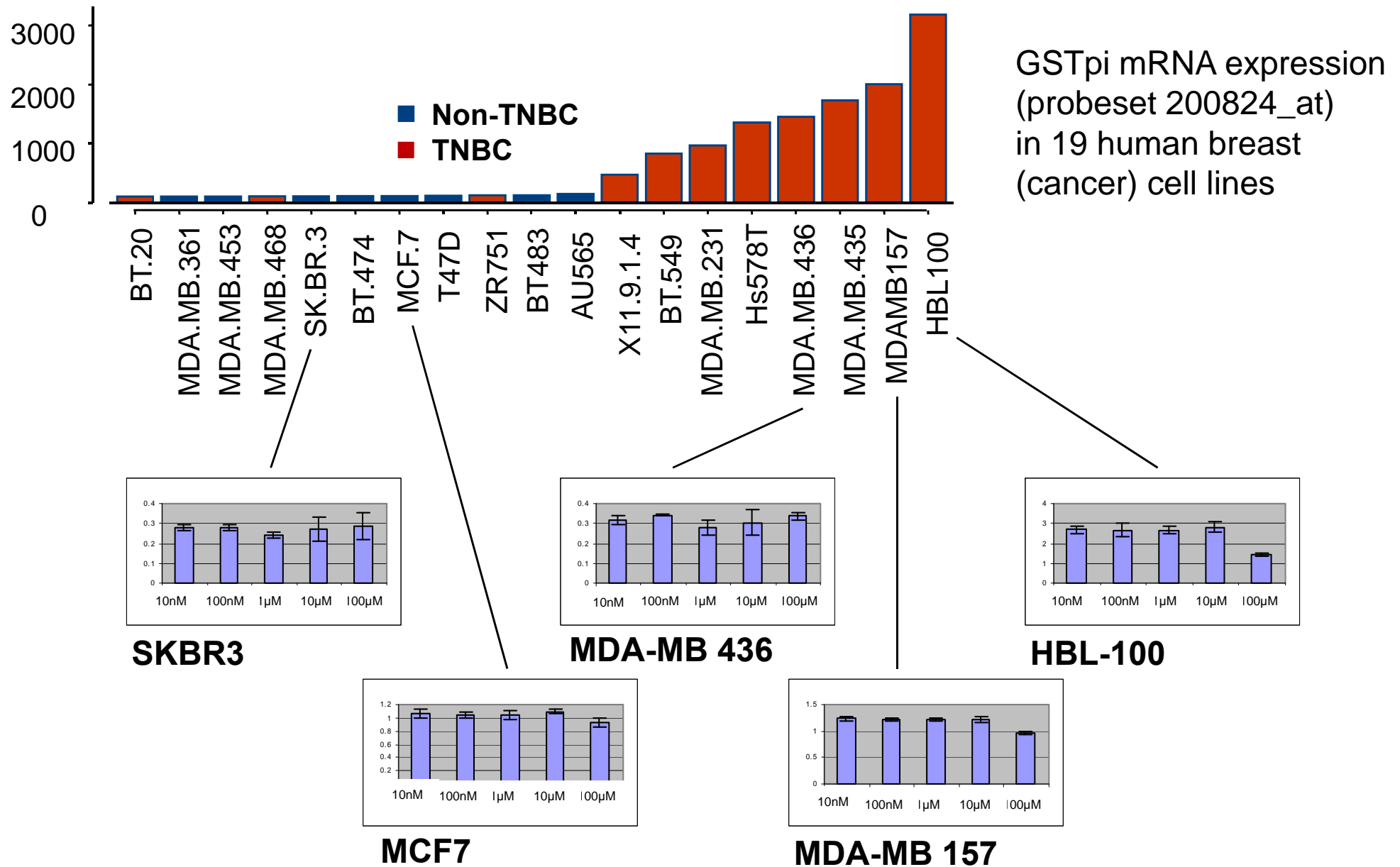
Überexpression von „drug targets“ beim tripelnegativen Mammakarzinom

Name	t.statistics	p.values	p.adj.Bonferroni	p.adj.FDR
Glutathione-S-transferase pi Phosphoserine aminotransferase 1	-10.2560	0	0	0
Phospholipase A2, group IVA (cytosolic, calcium dependent)	-8.2671	1.01E-13	6.85E-11	4.28E-12
Annexin A1	-7.5213	1.45E-11	9.83E-09	4.92E-10
Interferon (alpha, beta and omega) receptor 2	-7.5650	1.59E-11	1.08E-08	5.13E-10
Interferon (alpha, beta and omega) receptor 2	-7.2096	3.26E-11	2.21E-08	9.21E-10
Epidermal growth factor receptor (erythroblastic leukemia viral (v-erb-b) oncogene homolog, avian)	-6.9603	3.57E-10	2.42E-07	8.35E-09
Plasminogen activator, urokinase receptor	-6.6224	4.21E-10	2.85E-07	9.51E-09
Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1 beta convertase)	-6.6224	1.29E-09	8.75E-07	2.43E-08
Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1 beta convertase)	-6.6224	1.29E-09	8.75E-07	2.43E-08
Clomipramine (Anafranil)	-5.9762	2.89E-08	1.21E-06	3.18E-08
Caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase (interleukin 1 beta convertase)	-5.9762	2.89E-08	1.96E-05	4.08E-07
CD1a molecule	-5.7592	3.70E-08	2.51E-05	5.12E-07
Steroid-5-alpha-reductase, alpha polypeptide 1 (3-oxo-5 alpha-steroid delta 4-dehydrogenase alpha 1)	-5.8295	7.12E-08	4.83E-05	9.47E-07
Fas (TNF receptor superfamily, member 6)	-5.7615	7.93E-08	5.38E-05	1.03E-06
Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	-5.6846	9.09E-08	6.16E-05	1.14E-06
5'-nucleotidase, cytosolic II	-5.6846	9.09E-08	6.16E-05	1.14E-06
5'-nucleotidase, cytosolic II	-5.5940	1.25E-07	8.48E-05	1.46E-06
Procollagen-lysine 1, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1	-5.7309	1.33E-07	9.02E-05	1.53E-06
Interferon gamma receptor 1	-5.6267	1.42E-07	9.63E-05	1.59E-06
Ryanodine receptor 1 (skeletal)	-5.6341	2.07E-07	0.000140346	2.16E-06
Pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase	-5.5618	2.31E-07	0.000156618	2.34E-06
Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	-5.4338	3.01E-07	0.000204078	2.94E-06

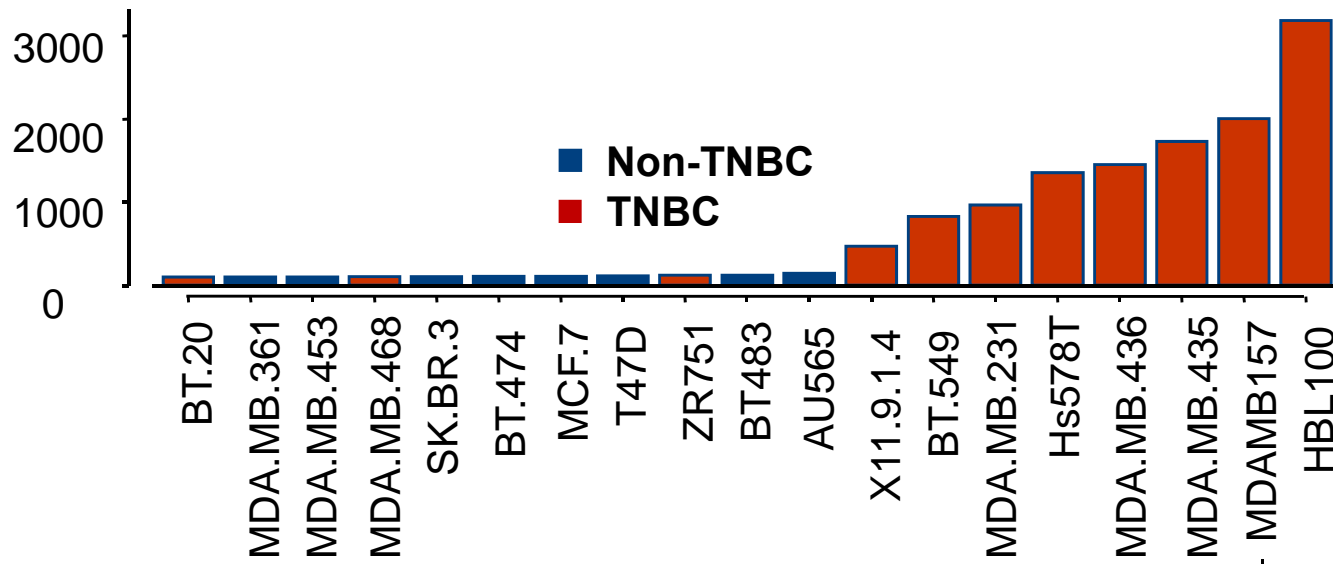
GSTpi-Expression in zwei unabhängigen Datensätzen



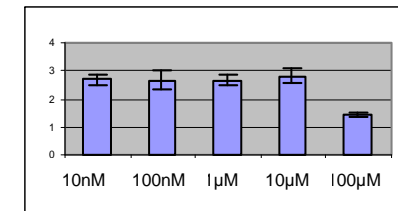
Proliferationshemmung durch 144h-Inkubation mit Clomipramin (Anafranil)



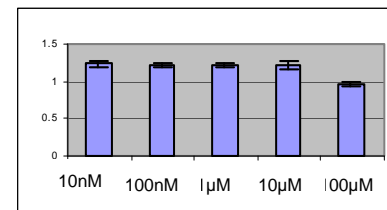
Proliferationshemmung durch 144h-Inkubation mit Clomipramin (Anafranil)



GSTpi mRNA expression
(probeset 200824_at)
in 19 human breast
(cancer) cell lines

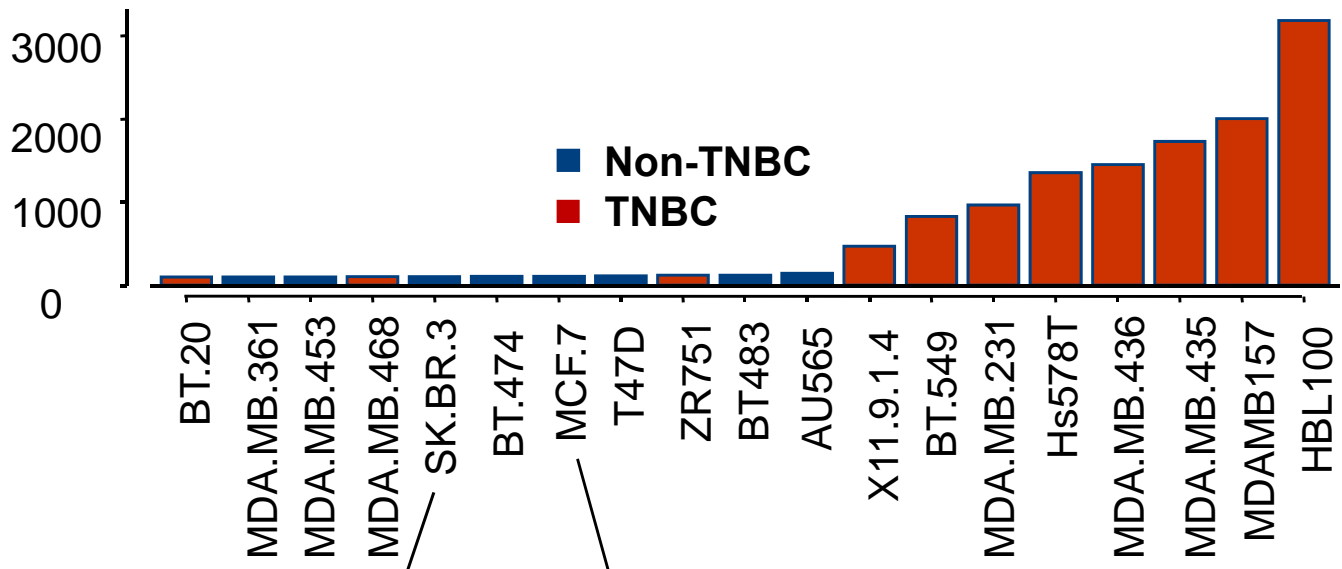


HBL-100

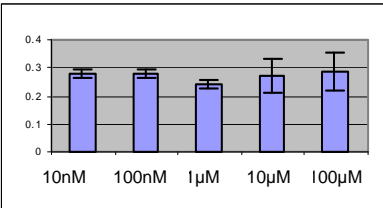


MDA-MB 157

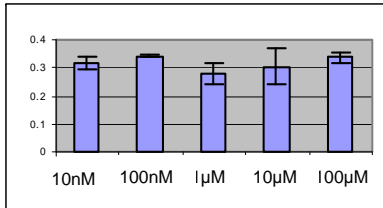
Proliferationshemmung durch 144h-Inkubation mit Clomipramin (Anafranil)



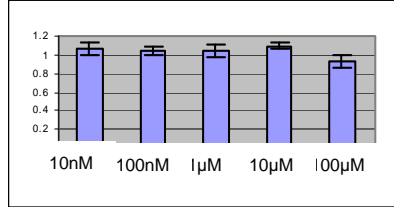
GSTpi mRNA expression (probeset 200824_at) in 19 human breast (cancer) cell lines



SKBR3

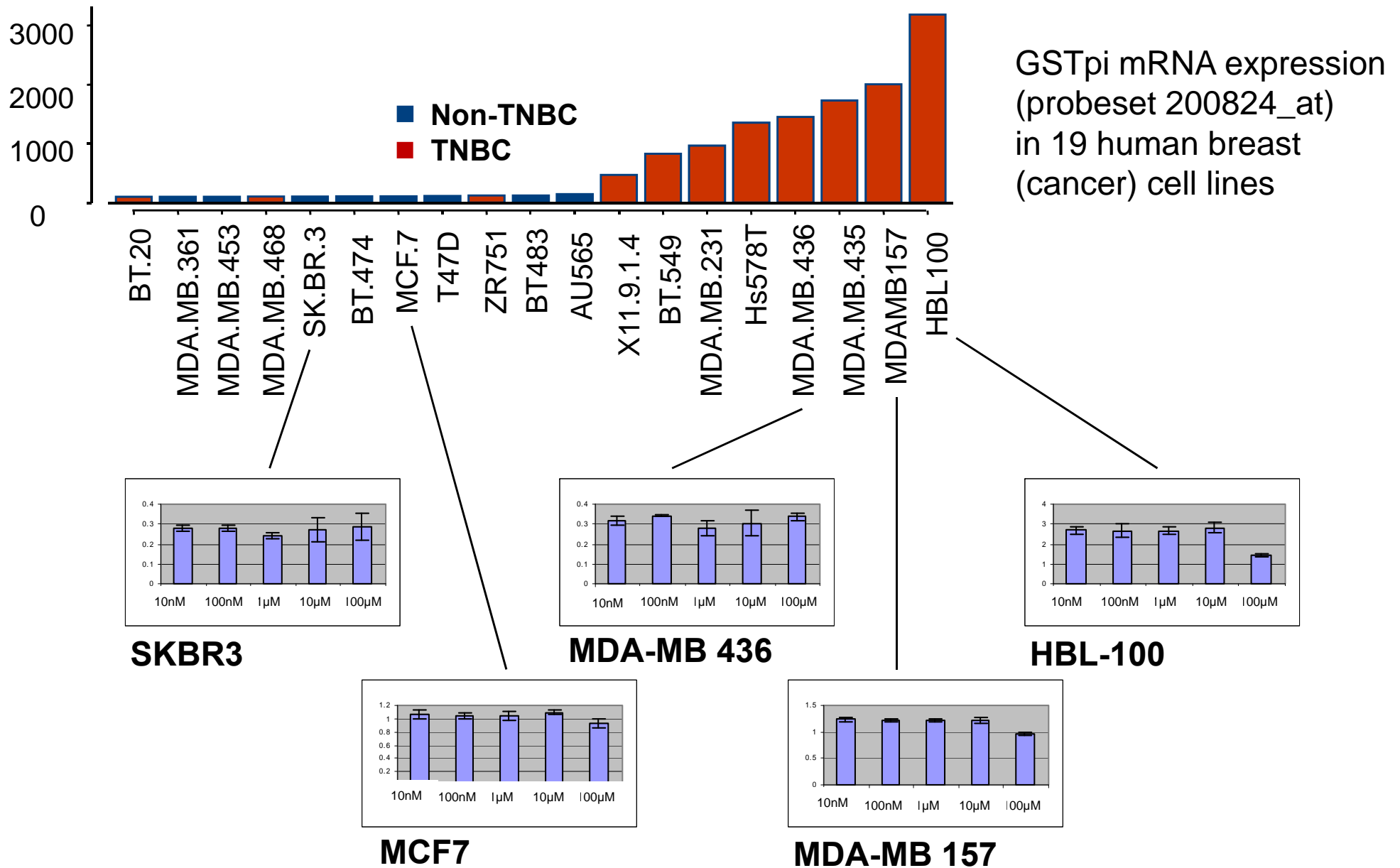


MDA-MB 436



MCF7

Proliferationshemmung durch 144h-Inkubation mit Clomipramin (Anafranil)





- Universitätsklinikum Münster
 - Ludwig Kiesel
 - Horst Bürger
 - Christian Kersting
 - Martin Götte
- Uniklinikum Eppendorf
 - Burkhard Brandt

Dfg (Deutsche Forschungsgemeinschaft)

- MDACC / BMO:
 - Lajos Pusztai
 - Ana Gonzalez-Angulo
 - Gabriel Hortobagyi
 - Vicente Valero
 - Francisco Esteva
- MDACC / Path:
 - Fraser Symmans
 - Rebekah Hubbard
 - Feng Lin
 - Robin Wu
- MDACC / Surgery:
 - Funda Meric-Bernstam
 - Kelly Hunt
- Institute Gustave Roussy / Paris
 - Fabrice André
 - Suzette Délaloge
- Jules Bordet Institute / Brussels
 - Christos Sotiriou
 - Martine Piccart
 - Christine Desmedt
- Nuvera Biosciences Inc / Boston
 - Christos Hatzis