

# A PI3K/AKT szignálút aktivációjának mechanizmusai és terápiás következményei emlődaganatokban

Olasz Judit, Doleschall Zoltán, Dunai Zsuzsanna, Pazsitka András, Csuka Orsolya

Országos Onkológiai Intézet

Készült a Norvég Finanszírozási Mechanizmus által támogatott HU 0115/NA/2008-3/ÖP-9 számú pályázat keretében.

Vizsgálataink célja a foszfatidilinozitol-3-kináz/AKT (PI3K/AKT) növekedési jelátviteli útvonal genomikai paramétereinek összehasonlítása volt különböző emlődaganat-típusokban. A PI3K/AKT jelátviteli útvonal gyakran mutat fokozott aktivitást emlődaganatokban a PI3K-aktiváció vagy a proteinfoszfatáz és tenzin homológ (PTEN) inaktiválódása következményeként, így a szignálútban szereplő gének aktiválása/inaktiválása meghatározó szerepet játszik a kemorezisztencia (tamoxifen, trastuzumab) kialakulásában is. Ezért célul tűztük ki a PTEN-vesztés mechanizmusainak és a PI3K katalitikus alegysége (PIK3CA) „forrópont”-mutációinak meghatározását, mivel ezek az adatok a terápiás érzékenység előrejelzését teszik lehetővé. Új terápiás célpontok meghatározására PTEN-deficiens MCF10A sejtvonalat használtunk. Vizsgálatainkban 69 primer emlőtumorban határoztuk meg a PTEN-mRNS-szintet, a PTEN- és PIK3CA-mutációkat, valamint a PTEN-allélvesztést és promoter-hipermetilációt. PTEN-hiányos és PTEN-t expresszáló izogenikus MCF10A emlőráksejtvonalak mRNS-expressziós mintázatát oligonukleotid microarray segítségével hasonlítottuk össze, PD166866 FGFR1-inhibitorral szembeni érzékenységüket citotoxicitási assay-vel vizsgáltuk. Eredményeink szerint a tripla-negatív (TN) daganatok mintegy 68%-ában, míg az ER+/PR+ és HER2+ tumorok 45%-ában következtetett be a PI3K/AKT út fokozott aktivitása. A TN és HER2+ daganatokra a PTEN gén funkcióvesztése jellemző. Az ER+/PR+ daganatokban vagy a PTEN-inaktiváció, vagy a PI3K-aktiválódás figyelhető meg. A HER2+ daganatok egy csoportjában a PTEN-inaktiváció és a PI3K-aktiváció együttesen fordul elő. A PTEN-hiányos MCF10A emlőráksejtvonalban fokozott expressziót mutattak a fibroblaszt növekedési faktor 2 (FGF2)/FGFR1 jelút vonal egyes tagjai. Feltételezzük, hogy a PTEN hiánya felerősíti az autokrin FGF-szignalizációt, mely fokozza a sejtproliferációt. Az FGF2 és FGFR1 ígéretes terápiás célpont lehet a PTEN-negatív emlődaganatokban. Magyar Onkológia 59:346–351, 2015

**Kulcsszavak:** PI3K/AKT szignálút, PTEN, terápiás rezisztencia, célzott terápia, FGFR1

*The phosphatidylinositol-3-kinase/AKT (PI3K/AKT) pathway is commonly deregulated in breast cancer through several mechanisms, including PI3K catalytic subunit alpha (PIK3CA) mutations and loss of phosphatase and tensin homolog (PTEN). The hiperactivated PI3K/AKT signaling can be associated with endocrine or trastuzumab therapy resistance and underscore the impact of targeting the pathway. Our aim was to identify PIK3CA mutations and the mechanisms of PTEN loss and assess their therapeutic consequences in breast cancer patients. In addition, we aimed to identify further possible therapeutic targets associated with PTEN loss. Sixty-nine primary breast cancer samples (24 ER+/PR+/HER2-, 20 HER2+ (ER-/PR-/HER2+) and 25 triple-negative (TN) samples) were studied. We determined the PTEN mRNA levels, PTEN and PIK3CA mutations, PTEN allelic loss and promoter hypermethylation. mRNA expression patterns of PTEN knocked out and wild type MCF10A cell lines were compared using oligonucleotide microarray and their sensitivity to FGFR1 inhibitor PD166866 was tested. Elevated PI3K/AKT pathway activity was found in 68% of TN and about 45% of ER+/PR+ and*

Levelezési cím: Dr. Olasz Judit, Országos Onkológiai Intézet, 1122 Budapest, Ráth György utca 7–9., tel.: 06-30-594-9324, e-mail: olasz@oncol.hu

Közlésre érkezett: 2015. június 17. • Elfogadva: 2015. augusztus 5.

*HER2+ tumors. PTEN loss was dominant in TN and HER2+ tumors, while PTEN loss and PI3K activation were equally represented in ER+/PR+ cancers. The coexistence of PTEN loss and PI3K activation was typical of a portion of HER2+ tumors. The PTEN-deficient MCF10A cell line showed increased expression of certain members of the fibroblast growth factor 2 (FGF2)/FGFR1 pathway. We suppose that loss of PTEN enhances the autocrine FGF signaling promoting cell proliferation. FGF-2 and FGFR1 can be potential targets in PTEN deficient breast cancers.*

Olasz J, Doleschall Z, Dunai Z, Pazsitka A, Csuka O. PI3K/AKT pathway activation and therapeutic consequences in breast cancer. *Hungarian Oncology* 59:346–351, 2015

**Keywords:** PI3K/AKT pathway, PTEN, therapy resistance, targeted therapy, FGFR1

## BEVEZETÉS

Az emlőrák patológiai és molekuláris szempontból egyaránt heterogén daganatcsoport. A microarray-alapú gén-expressziós vizsgálatok legalább öt altípust különböztettek meg: luminális A, luminális B, HER2-pozitív, normál jellegű és bazális csoportot (1). A legrosszabb prognózissal a bazális csoport jellemezhető, mely jelentős átfedést mutat az ösztrogénreceptorra (ER), progesteronreceptorra (PR) és epidermális növekedési faktor receptor 2-re (HER2) egyaránt negatív, klinikailag tripla-negatívként definiált csoporttal. A különböző emlődaganat-altípusok terápiás célpontjai is eltérést mutatnak. Minden emlődaganat-típusra jellemző azonban az autonóm, szabályozatlan sejtosztódás. A foszfatidilinozitol-3-kináz (PI3K/AKT) szignálút kulcsfontosságú szerepet játszik a sejtosztódás, a túlélés, a migráció és angiogenezis szabályozásában (2). A PI3K/AKT utat aktiváló genetikai elváltozások az emlőrások mintegy 50%-ában fordulnak elő (3). A jelátviteli út negatív szabályozója a proteinfoszfatáz és tenzin homológ (PTEN), mely a PIP3 defoszforilálása révén gátolja az AKT foszforilációját. A PI3K/AKT szignalizáció magas aktivitása lehet a PI3K-t aktiváló mutációk, a PTEN-hiány, ritkábban az AKT1-mutációk következménye. Előzetes vizsgálatok alapján a PI3K katalitikus alegységének aktivációs mutációja az emlőtumorkok 36%-ában fordul elő (4, 5). A PTEN hiánya, mely elsősorban genomi deléciónak következménye, az emlőrások 37%-ában fordul elő (6), a tripla-negatív daganatok mintegy 50%-át érinti (7). A PTEN gén mutációja kevésbé gyakori (4, 5), az inaktivációban a génpromoter metilációs csendesítése is szerepet játszhat (8). Ismertté vált az is, hogy a PI3K/AKT jelút túlműködése az ER+ tumorok antiösztrógen-terápiával (9), a HER2+ tumorok trastuzumabkezeléssel szembeni (10, 11) rezisztenciájához vezet. Többféle, a PI3K/AKT utat célzó inhibitor van jelenleg klinikai fejlesztés alatt, ezek közé tartoznak a PI3K-inhibitorok, az AKT-inhibitorok, az mTOR-inhibitorok és a kettős PI3K/mTOR-inhibitorok.

A PI3K/AKT jelút egyik forrásirányú aktivátora a fibroblaszt növekedési faktor receptor 1 (FGFR1), melynek túltermelése vagy amplifikációja megfigyelhető az emlődaganatok egy részében (12, 13). A fibroblaszt növekedési faktorok (FGF) és receptoraik (FGFR) által közvetített jelátvitel szerepet játszik a sejtproliferáció, a túlélés, a migráció és a differenciálódás szabályozásában (14). A sejtproliferáció serkentésén túl az FGFR1 szignálút a mátrix metalloproteináz 3 (MMP3) aktiválása révén hozzájárul a sejtpolaritás elvesztéséhez és az invazív tulajdonságok kialakulásához (12), valamint fokozza a vaszkuláris endoteliális növekedési faktorok (VEGF) termelődését (15), fontos szerepet játszva a metasztázis és vaszkularizáció folyamataiban. Az FGF-szignalizáció lehetséges terápiás célpont mind a luminális, mind a bazális emlődaganatok kezelésében (16, 17).

Célul tűztük ki a PI3K/AKT útvonal aktiválásában szerepet játszó PTEN-vesztés mechanizmusainak és a PI3K katalitikus alegység  $\alpha$  (PIK3CA) „forrópont”-mutációinak meghatározását, valamint az ezekből következő terápiás érzékenység előrejelzését különböző receptorstátuszú emlődaganatokban. Munkánk második részében valamely, a PTEN-funkcióvesztéssel összefüggő további lehetséges terápiás célpontok meghatározását tűztük ki célul.

## ANYAGOK, MÓDSZEREK

### *Betegek, receptorstátusz meghatározása*

Az Országos Onkológiai Intézet Általános és Mellkassebészeti Osztályán 2005 és 2011 között operált betegek mélyfagyasztottmintáiból vizsgáltunk 24 szteroidhormonreceptor-pozitív (ER+/PR+/HER2-), 20 HER2+ (ER-/PR-/HER2+) és 25 tripla-negatív (TN) (ER-/PR-/HER2-) primer emlőtumormintát, melyek karakterizálása intézetünk Daganatpatológiai Központjában immunhisztokémiai és fluoreszcens *in situ* hibridizációs módszerekkel történt (18, 19). A receptorstátusz meghatározása standard kiértékelési módszerek szerint történt (20).

### Sejtvonalak, inhibitorkezelések

PTEN-gén-kiütött és vad PTEN-t expresszáló izogenikus MCF10A sejtvonalakat (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) DMEM/F12 tápfolyadékban tartottuk fenn a gyártó leírása szerint. A PD166866 szelektív FGFR1-inhibitor (Sigma-Aldrich) hatását 96 lyukú tálcán MTT (Sigma-Aldrich) assay-vel vizsgáltuk 0,2, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 1,5, 10, ill. 25  $\mu$ M-os koncentrációban, 72 órás inkubációs idővel. Az eredmények 3 független kísérlet 8-8 párhuzamos mintáinak értékeit tartalmazzák.

### DNS-izolálás, mutáció és allélvesztés vizsgálata

Ép és daganatos mélyfagyasztott szöveti mintapárokból genomi DNS-t izoláltunk QIAamp DNA mini kit alkalmazásával (Qiagen, Hilden, Németország). A PTEN gén teljes kódoló régióját multiplex PCR-okkal amplifikáltuk, a pszeudogéneket kizáró specifikus primerekkel. A PIK3CA 9. és 20. exonjait PCR-ral sokszorosítottuk. A PCR-termékeken szekvenálást végeztünk BigDye terminator v3.1 kittel, ABI-3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) segítségével. A PTEN-allélvesztést mikroszatellita fragmens analízissel vizsgáltuk a 10q23 lókuszon, D10S541 (szomszédos), D10S1491 és D10S14929 (intragenikus) mikroszatellita-markerek alkalmazásával. A fragmentumokat PCR-ral sokszorosítottuk, majd kapilláris-gélelektroforézissel választottuk el (ABI-3130 Genetic Analyzer, Applied Biosystems). Allélvesztést állapítottunk meg, ha legalább egy markerrel allélvesztést detektáltunk.

### Promotermetiláció vizsgálata

A szöveti DNS-mintákon Na-biszulfitos konverziót végeztünk EpiTect kit segítségével (Qiagen), majd MethyLight assay-t (21) futtattunk ABI-7900HT készüléken (Applied Biosystems). A metilációs értékeket mesterségesen metilált DNS-kontrollra vonatkoztattuk. Hipermetilálnak tekintettük a 10% PMR (Percent of Methylated Reference) fölötti értéket mutató mintákat.

### RNS-izolálás, mRNS-expressziós vizsgálatok

Ép és daganatos szöveti mintapárokból, valamint a sejtvonalpárból teljes RNS-t izoláltunk (Nucleospin XS RNA kit, Macherey Nagel, Düren, Németország), majd reverz transzkripciót végeztünk High Capacity RNA to cDNA kittel (Applied Biosystems). A szöveti mintákon kvantitatív PCR-t végeztünk ABI-7900HT készüléken TaqMan assay-k (Applied Biosystems) segítségével, a PTEN, ACTB, GAPDH cDNS-ek mérésére.

Az izogenikus sejtvonalpár cDNS-mintáin FGFR1-, FGF2-, VEGFC-, PLCG2-, GAPDH- és ACTB-specifikus

primerek segítségével real-time PCR-t végeztünk LC FastStart DNA Master SYBR Green I kittel (Roche, Mannheim, Németország), Light Cycler 2.0 készüléken (Roche). Minden esetben az értékeket a GAPDH és az ACTB belső kontrollok átlagára vonatkoztattuk.

A sejtvonalak RNS-mintáit Cy3/Cy5 jelöléssel láttuk el, majd Human V1 SurePrint oligonukleotid microarray-t (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) alkalmaztunk a gyártó leírása szerint. Az mRNS-expressziós mintázatokat GeneSpring 10.1 program (Agilent Technologies) segítségével hasonlítottuk össze.

### Statisztikai értékelés

Az expressziós és metilációs szinteket t-teszttel és Mann-Whitney-teszttel hasonlítottuk össze a mintacsoportok között. A különbségeket  $p \leq 0,05$  szinten tekintettük szignifikánsnak (GraphPad InStat3).

## EREDMÉNYEK

### PTEN-mutáció, -allélvesztés, -promotermetiláció

A PTEN gén mutációja a TN daganatok 20%-ában (5/25), az ER+/PR+ daganatok 8%-ában (2/24), a HER2+ daganatok 5%-ában (1/20) fordult elő. A mutációk egy kivételével a foszfatáz katalitikus domént érintették (1. táblázat). PTEN-delécióit detektáltunk a TN tumorok 32%-ában (8/25), az ER+/PR+ daganatok 18%-ában (4/22) és a HER2+ tumorok 15%-ában (3/20).

PTEN promoter-hipermetilációt állapítottunk meg a TN minták 20%-ában (5/25), az ER+/PR+ minták 4%-ában (1/24) és a HER2+ minták 25%-ában (5/20).

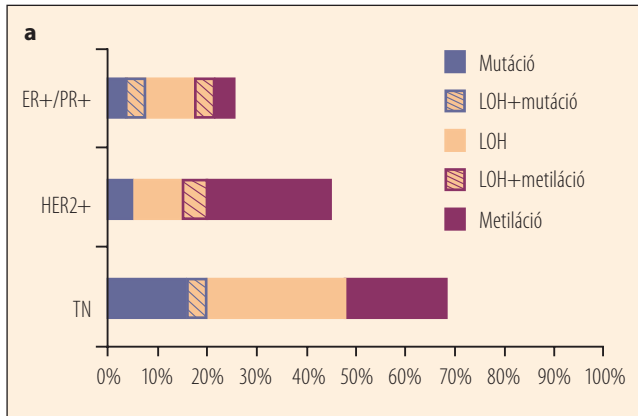
A PTEN géninaktiváció valamely formája a TN daganatok 68%-ában (17/25), a HER2+ tumorok 40%-ában (8/20) és az ER+/PR+ minták 20,8%-ában (5/24) fordult elő. A TN és ER+ daganatokban az allélvesztés, a HER2+ tumorokban

**1. táblázat.** A PTEN-génben azonosított mutációk a különböző receptorstátuszú emlődaganatokban

Receptorstátusz	Elváltozás	Domén	Következmény
TN	c.642insG	C2	kereteltolódás
TN	c.405insAA	3'-foszfatáz	kereteltolódás
TN	c.376G>A	3'-foszfatáz	aminosavcsere (p.A126T)
TN	c.209+4delAGTA	3'-foszfatáz	splice hiba
TN	c.53_79+4del	3'-foszfatáz	kereteltolódás
ER+/PR+	c.48T>G	3'-foszfatáz	lánctermináció (p.Y16X)
ER+/PR+	c.254G>T	3'-foszfatáz	aminosavcsere (p.G85V)
HER2+	c.100G>C	3'-foszfatáz	aminosavcsere (p.A34P)

ER: ösztrogénreceptor, PR: progeszteronreceptor, HER2: humán epidermális növekedési faktor receptor 2, TN: tripla-negatív

**1. ábra.** A PTEN-inaktivációs mechanizmusok megoszlása különböző receptorstátusú emlődaganatokban. ER: ösztrogénreceptor, PR: progeszteronreceptor, HER2: humán epidermális növekedési faktor receptor 2, TN: tripla-negatív, LOH: allélvesztés (loss of heterozygosity).

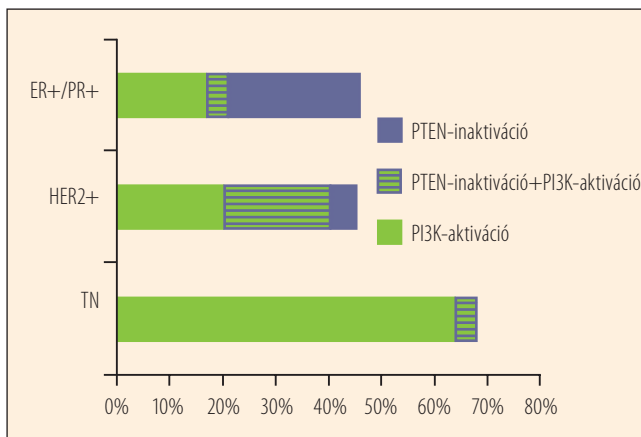


a hipermetiláció bizonyult a leggyakoribb inaktivációs tényezőnek (1. ábra). Kettős inaktivációt a minták kis hányában találtunk (5,8%) (4/69).

#### PTEN mRNA-expresszió

A PTEN mRNA a TN és HER2+ mintacsoportokban mutatott szignifikánsan alacsonyabb szintet a normális szöveti mintákhoz képest ( $p=0,002$ ;  $p<0,0001$ ). A normális szöveti minták átlagos PTEN mRNA-szintjét és szórását figyelembe véve a TN minták 72%-a (18/25), a HER2+ minták 40%-a (8/20), az ER+ minták 25%-a (6/24) mutat alacsony expressziót. A mutáció, az allélvesztés és a metiláció is szignifikáns negatív korrelációt mutatott az mRNA-szinttel ( $p=0,0093$ ;  $p=0,0003$ ;  $p=0,0463$ ).

**2. ábra.** A PTEN-inaktiváció és PI3K-aktiváció megoszlása a különböző receptorstátusú emlőtumorokban



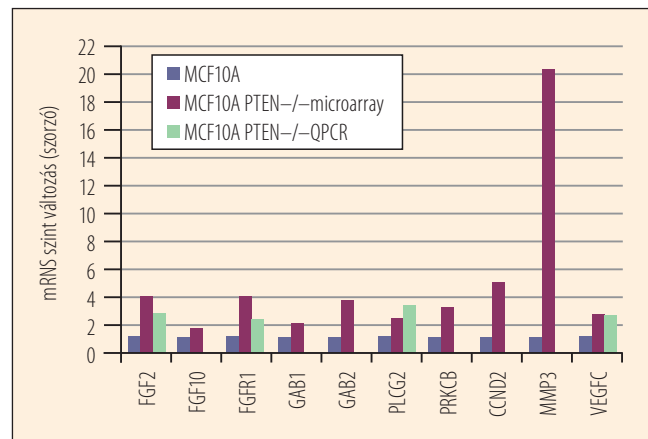
#### Aktiváló PIK3CA-mutációk

PI3KCA-mutációkat detektáltunk az ER+/PR+ daganatok 29%-ában (7/24), a HER2+ daganatok 20%-ában (4/20) és a TN daganatok 4%-ában (1/25). 2 mutáció a helikális domént, 10 mutáció a kinázdomént érintette. A TN és ER+ daganatok közül 1-1-ben (4%), míg a HER2+ daganatok közül 4-ben (20%) volt jellemző a PTEN-inaktiváció és a PI3KCA-aktiváció együttes jelenléte (2. ábra).

#### Microarray-eredmények

Az MCF10A és MCF10A PTEN<sup>-/-</sup> sejtvonalpár microarray-adatái alapján az FGFR1-jelátvitelben részt vevő gének közül fokozott mRNA-szintézist mutatott a fibroblaszt növekedési faktor 2 és 10 (FGF2, FGF10), a fibroblaszt növekedési faktor receptor 1 (FGFR1), a GRB2-asszociált fehérje 1 (GAB1), GRB2-asszociált fehérje 2 (GAB2), foszfolipáz-C  $\gamma$ 2 (PLCG2), a proteinkináz-C  $\beta$  (PRKCB), a ciklin D2 (CCND2),

**3. ábra.** Az MCF10A PTEN<sup>-/-</sup> sejtvonal mRNA-szint-változásai a vad típusú MCF10A sejtvonalhoz képest oligonukleotid microarray és kvantitatív PCR (QPCR) eredmények alapján



a matrix metalloproteináz 3 (MMP3) és a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor C (VEGFC) (3. ábra). Az általunk kiválasztott FGF2, FGFR1, VEGFC és PLCG2 gének mRNA-szintjei a microarray-eredményekkel összhangban alakultak (3. ábra).

#### FGFR1-inhibitor-érzékenység

A PD166866 szelektív FGFR1-inhibitorra a PTEN-negatív MCF10A sejtvonal kismértékben, de szignifikánsan érzékenyebb volt, mint a vad típusú MCF10A sejtvonal, a 0,1–7,5  $\mu$ M tartományban, 72 órás kezelés hatására ( $p\leq 0,001$ ) (4. ábra).



## MEGBESZÉLÉS

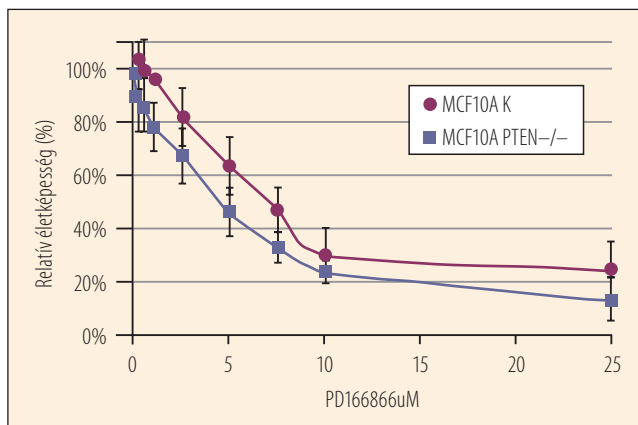
Eredményeink szerint a PI3K/AKT szignálút aktiválásában a TN és HER2+ daganatok esetén a PTEN gén funkcióvesztése játszik meghatározó szerepet, míg az ER+ daganatokban a PTEN-inaktiváció és a PIK3CA-t aktiváló mutációk közel azonos mértékben jelentkeznek. A PTEN gén inaktivációjában a mutáció, az allélvesztés és a hipermetiláció is szerepet játszik mindhárom mintacsoportban. A TN daganatokban az allélvesztés, a HER2+ daganatokban a hipermetiláció volt a leggyakoribb. A kettős géninaktiváció a mintáknak csak kis részét érintette, mely a PTEN gén haploid elégtelenségére utal.

A PIK3CA-mutációk szerepe az ER+ daganatok PI3K-inhibitorokkal szembeni érzékenységének előrejelzésében nem tisztázott (22, 23). Több vizsgálat arra utal, hogy az ER+ daganatokban a PIK3CA-mutációk csak kismértékben és nem minden esetben aktiválják az AKT fehérjét, illetve a PI3K/AKT útvonalat (4, 23, 24). Stemke-Hale és munkatársai megállapították, hogy a PTEN-hiány sokkal érzékenyebb teszi a sejteket az LY294002 PI3K-inhibitorral szemben, mint a PIK3CA-mutációk (23).

A korai és metasztatikus HER2+ betegek esetében mind a PIK3CA-mutációk jelenléte, mind a PTEN hiánya összefügg a trastuzumabrezisztenciával (11, 25). Az everolimus mTOR-inhibitor trastuzumabbal kombinált alkalmazása hatékonyan növeli a progressziómentes túlélést előrehaladott, trastuzumabrezisztens HER2+ emlőrákokban (26). A HER2-inhibitorokkal szembeni rezisztencia leküzdésére preklinikai kísérletekben a PI3K-inhibitorok is ígéretesnek bizonyultak (27, 28).

A PI3K szignálút tagjai legaktívabbak a bazális típusú emlődaganatokban (4), különösen a BRCA1-hiányos tu-

**4. ábra.** Az MCF10A PTEN<sup>-/-</sup> és a vad típusú MCF10A sejtvonallal PD166866 FGFR1-inhibitorral szembeni érzékenysége 72 órás kezelés hatására



morokban (29). A PTEN- és PIK3CA-mutációk már korán megjelennek és gyakoriak a domináns TN tumorklonokban (30). Lehmann és munkatársai kimutatták, hogy a PIK3CA- és/vagy PTEN-mutációt hordozó TN sejtvonalak a legérzékenyebbek a BEZ235 PI3K/mTOR kettős inhibitorral szemben (31).

Eredményeink alapján a PTEN-hiány és a PIK3CA-mutáció egymást nem kizáró jelenségek az emlődaganatokban, amely arra utal, hogy a PI3K szignálút különböző elváltozásai különböző szerepet játszhatnak az emlőtumorok patogenezisében. Saját vizsgálatunk alapján a HER2+ daganatok egy részére jellemző a PTEN-inaktiváció és a PI3K-aktiváció együttes előfordulása, mely szelekciós előnyt sejtet ebben a daganatcsoportban.

A TN mintacsoportban jelentősen magasabb PTEN-mutációs gyakoriságot (20%) tapasztaltunk az irodalomban fellelhető bazális mintacsoportra vonatkozó adathoz (1%) képest (4).

Mintáink jelentős részében, a TN daganatok mintegy 68%-ában, az ER+ és HER2+ minták kb. 45%-ában következtettünk a PI3K/AKT út fokozott aktivitására, mely az antiösztrogén- és anti-HER2-terápiával szembeni rezisztencia mellett a PI3K/mTOR-inhibitorokkal szembeni érzékenység megítélésében is fontos. Az ER+ emlőtumorokban a PTEN-hiány sokkal inkább aktiválja a PI3K/AKT jelátvitelt, mint a PIK3CA-mutációk (19). A TN és HER2+ tumorokban a PIK3CA-mutáció önmagában nagyon kevés esetben fordul elő (2. ábra), így a PI3K/AKT út túlműködése elsősorban a PTEN-inaktivációnak tulajdonítható.

Ezért a tripla-negatív emlődaganatok esetében elsősorban a PTEN vizsgálata segíthet az egyéni terápia kialakításában, melyben a PI3K/AKT útvonal tagjait (PI3K, AKT, mTOR) célzó gátlószerek a hagyományos szerekkel kombinálva tűnnek ígéretesnek. Mivel a PTEN gén inaktiválása módosíthatja a PI3K-szignálátvitel folyamatát, PTEN-deficiens és PTEN-pozitív vad típusú MCF10A izogénikus sejtvonallal vizsgáltuk a fibroblaszt növekedési faktor jelútvonalban részt vevő gének expressziós szintjét. Oligonukleotid microarray és kvantitatív PCR vizsgálataink alapján bebizonyosodott, hogy a PTEN-hiányos sejtvonallal emelkedett szintet mutattak az FGF jelútvonal egyes tagjai: az FGFR1, az FGF2, a GAB1 és GAB2 (GRB2-asszociált kötő fehérjék), melyek mind a PI3K/AKT, mind a MAPK/ERK szignálút aktiválását eredményezik. Ezen túlmenően emelkedett szintet mutattak az MMP3 és VEGFC mRNS-szintek is, amelyek metasztázis és angiogenezis kialakulását segítik elő. Az FGF-FGFR autokrin visszacsatolás megvalósításában a MAPK/ERK és a PI3K/AKT szignálút egyaránt szerepet játszik (32). Minthogy a PTEN negatív szabályozója a PI3K/AKT útnak,

feltételezhetjük, hogy hiánya felerősíti az autokrin FGF-szignalizációt.

Vizsgálatainkban mérsékelt különbséget találtunk a PTEN-hiányos és vad típusú emlőráksejtvonal általunk alkalmazott FGFR1-inhibitorral szembeni érzékenységében. Eredményeink szerint a PTEN-státusz meghatározása a tripla-negatív és HER2-pozitív emlődaganatokban fontos információt nyújt a terápiás terv kialakításához és a daganat kórlefolyásának megítéléséhez is. Vizsgálataink alapján felmerült annak a lehetősége, hogy a PI3K, AKT, mTOR fehérjék mellett az FGF2 és az FGFR1 is terápiás célpont lehet a PTEN-negatív emlődaganatok kezelésében.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket fejezzük ki az Országos Onkológiai Intézet Általános és Mellkassebészeti Osztályának, valamint Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztályának a minták biztosításáért és a szövettani diagnózisért.

## IRODALOM

- Sørlie, T, Perou, C M, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *PNAS* 98:10869–10874, 2001
- Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature* 441:424–430, 2006
- Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H, et al. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. *Nature* 486:400–404, 2012
- The Cancer Genome Atlas Network: Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 490:61–70, 2012
- Saal LH, Holm K, Maurer M, et al. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. *Cancer Res* 65:2554–2559, 2005
- Pérez-Tenorio G, Alkhorri L, Olsson B, et al. PIK3CA mutations and PTEN loss correlate with similar prognostic factors and are not mutually exclusive in breast cancer. *Clin Cancer Res* 13:3577–3584, 2007
- Marty B, Maire V, Gravier E, et al. Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 10:R101, 2008
- Khan S, Kumagai T, Vora J, et al. PTEN promoter is methylated in a proportion of invasive breast cancers. *Int J Cancer* 112:407–410, 2004
- Sanchez CG, Ma CX, Crowder RJ, et al. Preclinical modeling of combined phosphatidylinositol-3-kinase inhibition with endocrine therapy for estrogen receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res* 13:R21, 2011
- Berns K, Horlings HM, Hennessy BT, et al. A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer. *Cancer Cell* 12: 395–402, 2007
- Jensen JD, Knoop A, Laenkholm AV, et al. PIK3CA mutations, PTEN, and pHER2 expression and impact on outcome in HER2-positive early-stage breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy and trastuzumab. *Ann Oncol* 23:2034–2042, 2012
- Penault-Llorca F, Bertucci F, Adélaïde J, et al. Expression of FGF and FGF receptor genes in human breast cancer. *Int J Cancer* 61:170–176, 1995
- Courjal F, Cuny M, Simony-Lafontaine J, et al. Mapping of DNA amplifications at 15 chromosomal localizations in 1875 breast tumors: definition of phenotypic groups. *Cancer Res* 57:4360–4367, 1997
- Xian W, Schwertfeger KL, Vargo-Gogola T, et al. Pleiotropic effects of FGFR1 on cell proliferation, survival, and migration in a 3D mammary epithelial cell model. *J Cell Biol* 171:663–673, 2005
- Acevedo VD, Ittmann M, Spencer DM. Paths of FGFR-driven tumorigenesis. *Cell Cycle* 8:580–588, 2009
- Turner N, Pearson A, Sharpe R, et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer. *Cancer Res* 70:2085–2094, 2010
- Sharpe R, Pearson A, Herrera-Abreu MT, et al. FGFR signaling promotes the growth of triple-negative and basal-like breast cancer cell lines both in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 17:5275–5286, 2011
- Péter I, Számel I, Péley G. Az ösztrogénreceptor-béta expressziója invazív emlőtumorkokban. *Magyar Onkológia* 48:63–69, 2004
- Cserni G, Kálmán E, Kulka J, et al. HER2 immunhisztokémiai vizsgálatok minőségellenőrzése. Egy magyarországi körvizsgálat eredményei. *Magyar Onkológia* 51:23–29, 2007
- NHS Cancer Screening Programmes and The Royal College of Pathologists. Pathology Reporting of Breast Disease. NHSBSP Publication No 58, 2005. <http://www.cancerscreening.nhs.uk/breastscreen/publications/nhsbsp58.html>
- Eads CA, Danenberg KD, Kawakami K, et al. MethyLight: a high-throughput assay to measure DNA methylation. *Nucleic Acids Res* 28:E32, 2000
- O'Brien C, Wallin JJ, Sampath D, et al. Predictive biomarkers of sensitivity to the phosphatidylinositol 3' kinase inhibitor GDC-0941 in breast cancer preclinical models. *Clin Cancer Res* 16:3670–3683, 2010
- Stemke-Hale K, Gonzales-Angulo AM, Lluch A, et al. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Res* 68:6084–6091, 2008
- Beelen K, Opdam M, Severson TM, et al. PIK3CA mutations, phosphatase and tensin homolog, human epidermal growth factor receptor 2, and insulin-like growth factor 1 receptor and adjuvant tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 16:R13, 2014
- Razis E, Bobos M, Kotoula V, et al. Evaluation of the association of PIK3CA mutations and PTEN loss with efficacy of trastuzumab therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 128:447–456, 2011
- André F, O'Regan R, Ozguroglu M, et al. Everolimus for women with trastuzumab-resistant, HER2-positive, advanced breast cancer (BOLERO-3): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol* 15:580–591, 2014
- Chakrabarty A, Bhola NE, Sutton C, et al. Trastuzumab-resistant cells rely on a HER2-PI3K-FoxO-survivin axis and are sensitive to PI3K inhibitors. *Cancer Res* 73:1190–2000, 2013
- Rexer BN, Chanthaphaychith S, Dahlman K, et al. Direct inhibition of PI3K in combination with dual HER2 inhibitors is required for optimal antitumor activity in HER2+ breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 16:R9, 2014
- Xiang T, Jia Y, Sherris D, et al. Targeting the Akt/mTOR pathway in Brca1-deficient cancers. *Oncogene* 30:2443–2450, 2011
- Shah SP, Roth A, Goya R, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple negative breast cancers. *Nature* 486:395–399, 2012
- Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 121:2750–2767, 2011