

- cadherin. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65(23): 3756-88.
30. Marín-Briggiler CI, Veiga MF, Matos ML, Echeverría MF, Furlong LI, Vazquez-Levin MH. Expression of epithelial cadherin in the human male reproductive tract and gametes and evidence of its participation in fertilization. *Mol Hum Reprod* 2008; 14(10): 561-71.
  31. Gabrielli NM, Veiga MF, Matos ML, Quintana S, Chemes H, Blanco G, Vazquez-Levin MH. Expression of Dysadherin in the human male reproductive tract and in spermatozoa. *Fertil Steril* 2011; Jul 19. [Epub ahead of print].
  32. Marín-Briggiler CI, Lapyckyj L, González Echeverría MF, Rawe VY, Alvarez Sedó C, Vazquez-Levin MH. Neural cadherin is expressed in human gametes and participates in sperm-oocyte interaction events. *Int J Androl* 2010; 33(1): e228-39.
  33. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(6): 442-54.
  34. Lapyckyj L, Castillo LF, Matos ML, Gabrielli NM, Lüthy IA, Vazquez-Levin MH. Expression analysis of epithelial cadherin and related proteins in IBH-6 and IBH-4 human breast cancer cell lines. *J Cell Physiol* 2010; 222(3): 596-605.

---

## LABORATORIO DE MECANISMOS MOLECULARES DE CARCINOGENESIS

Interacciones entre factores de crecimiento (GFs) y el receptor de progesterona (PR) en cáncer de mama.

*Growth factors (GFs) and progesterone receptor (PR) crosstalks in breast cancer*

*Interações entre fatores de crescimento (GFs) e o receptor de progesterona (PR) em câncer de mama.*

Patricia V. Elizalde, Cecilia Proietti, Roxana Schillaci, María E. Balaña, Leticia Labriola, Mariana Salatino, Wendy Béguelin, Romina Carnevale, Celeste Díaz Flaqué, Eduardo H. Charreau

### Resumen

En trabajos previos hemos demostramos la existencia de interacciones bi-direccionales entre las vías de los progestágenos y de la heregulina (HRG) en cáncer mamario. Encontramos que los progestágenos regulan la actividad y expresión del ErbB-2 y de la HRG. Describimos que la interacción en-

tre la vía de la progesterona y de la HRG ocurre a nivel del PR que es activado transcripcionalmente por la HRG. Además encontramos que los progestágenos inducen la activación transcripcional de la proteína transductora de señales y activadora de la transcripción 3 (Stat3), que es un requisito para el crecimiento inducido por progestágenos en cáncer mamario. Demostramos que Stat3 es un punto de convergencia entre las vías de PR y de HRG/ErbB-2 en cáncer de mama, ya que la HRG, a través del ErbB-2, induce la activación de Stat3 mediante la integración del PR como molécula señalizadora. En línea con estos resultados, describimos la función de Stat3 como coactivador del PR activado por progesterona y como integrante de un complejo transcripcional en donde ErbB-2 actúa como coactivador de Stat3 sobre el promotor de ciclina D1. Estos resultados proveen nuevos blancos moleculares como terapéuticas alternativas para el tratamiento del cáncer de mama resistente a las terapias anti-hormonales y anti-tirosina quinasa.

**Palabras clave:** cáncer de mama \* receptor de progesterona \* ErbB2 \* heregulina

### Summary

*Accumulating findings, including ours, have proven the presence of bidirectional interactions between progestins and heregulin (HRG) signaling pathways in breast cancer. On the one hand, we showed that PR activates the HRG/ErbB-2 pathway. On the other, we found that HRG induces PR transcriptional activation. We have provided the first demonstration that progestins induced transcriptional activation of the signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3), which is an absolute requirement for progestin-mediated in vitro and in vivo breast cancer growth. We have identified Stat3 as a convergence point between PR and HRG/ErbB-2 signaling pathways in breast cancer, given that Stat3 is activated by HRG via ErbB-2 and through the co-option of PR function as a signaling molecule. In line with these results, we have described Stat3 as a coactivator of ligand activated-PR and as part of a novel transcriptional complex where ErbB-2 functions as a Stat3 coactivator in progestin-induced cyclin D1 promoter activation. These results provide novel molecular targets as alternative therapies for breast cancer resistant to anti-hormonal and anti-tyrosine kinase therapies.*

**Key words:** Breast cancer \* progesterone receptor \* ErbB2 \* heregulin ErbB2

### Resumo

*Em trabalhos prévios temos demonstrado a existência de interações bidirecionais entre as vias dos progestágenos e da heregulina (HRG) em câncer mamário. Encontramos que os progestágenos regulam a atividade e expressão do ErbB-2 e da HRG. Descrevemos que a interação entre a via da progesterona e da HRG ocorre em nível do PR que é ativado transcripcionalmente pela HRG. Além disso encontramos que os progestágenos induzem a ativação transcripcional da proteína transdutora de sinais e ativadora da transcrição 3 (Stat3), que é um requisito para o crescimento induzido por progestágenos em câncer mamário. Demonstramos que Stat3 é um ponto*

*de convergência entre as vias de PR e de HRG/ErbB-2 em câncer de mama, já que a HRG, através do ErbB-2, induz a ativação de Stat3 mediante a integração do PR como molécula sinalizadora. Em linha com estes resultados, descrevemos a função de Stat3 como coativador do PR ativado por progesterona e como integrante de um complexo transcripcional onde ErbB-2 atua como coativador de Stat3 sobre o promotor de ciclina D1. Estes resultados fornecem novos alvos moleculares como terapêuticas alternativas para o tratamento do câncer de mama resistente às terapias anti-hormonais e anti-tirosina quinase.*

**Palavras chave:** *câncer de mama \* receptor de progesterona \* ErbB2 \* heregulina*

Los efectos de la progesterona en la glándula mamaria son controversiales debido a la complejidad estructural y funcional de este órgano. Dependiendo del modelo experimental, del contexto celular y de la duración del tratamiento, la progesterona puede ejercer efectos proliferativos o antiproliferativos en el crecimiento del epitelio mamario. Se ha hipotetizado que, luego de una ronda de proliferación, el pulso inicial de progesterona actúa como un factor iniciador para las acciones de factores secundarios involucrados en vías proliferativas, de diferenciación o apoptóticas. Entonces, serían los múltiples factores secundarios que regulan el crecimiento y desarrollo de un tumor de mama, en combinación con la progesterona, los que contribuyen con esta variedad de efectos (1).

Nuestro laboratorio trabaja en el estudio de las interacciones funcionales entre hormonas esteroideas, en particular la progesterona, GFs y factores de transcripción en cáncer de mama. En este campo de investigación hemos demostrado la existencia de interacciones bi-direccionales entre los caminos de transducción de señales de los progestágenos y de la heregulina (HRG), proteína ligando de los receptores con actividad de tirosina quinasa tipo I (RTKs tipo I). Específicamente hemos encontrado que los progestágenos regulan la actividad y expresión de los RTKs, tipo I (ErbB-1, ErbB-2, ErbB-3 y ErbB-4) y de su ligando, HRG, en cáncer de mama, en modelos de ratón y humanos (2). Encontramos también que existe una interacción jerárquica funcional entre el ErbB-2 y el receptor del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-IR), perteneciente a los RTKs tipo II, en el cáncer de mama (3). Este trabajo demostró por primera vez que el IGF-IR dirige la activación del ErbB-2, abriendo una nueva posibilidad de intervención terapéutica en cáncer de mama resistente a estrategias de bloqueo del ErbB-2.

Con el fin de investigar la participación de los progestágenos y del PR en la progresión tumoral, estudiamos la regulación de caveolina-1, componente estructural de las caveolas y cuya expresión está asociada a la progresión y metástasis de tumores de mama y de próstata. Reportamos la inducción de caveolina-1 en cáncer

de mama y demostramos su rol en la proliferación inducida por progestágenos, constituyendo así un posible blanco en el tratamiento del cáncer de mama (4).

Nuestro grupo describió que la interacción entre la vía de la progesterona y de la HRG ocurre a nivel del PR que es activado transcripcionalmente por la HRG (5). Esta activación requiere la presencia de un ErbB-2 funcional y activo. Esta fue la primera demostración en literatura de la activación transcripcional ligando-independiente del PR.

En nuestra línea de trabajo más reciente nos encontramos investigando la formación de complejos multiméricos entre receptores de hormonas esteroideas y proteínas transductoras de señales y activadoras de transcripción (Stats) en los promotores de genes que participan en la regulación del crecimiento y capacidad metastásica del cáncer de mama. En este campo, hemos demostrado la capacidad de los progestágenos de activar transcripcionalmente a Stat3 (6). Dicha activación es un evento necesario para la proliferación inducida por progestágenos en las células de cáncer de mama humanas y murinas. En línea con estos resultados, probamos que Stat3 y PR forman un complejo transcripcional en donde Stat3 actúa como coactivador del PR en la transcripción de los genes bcl-X y p21<sup>CIP1</sup>, involucrados en la regulación del ciclo celular inducida por progestágenos (7). Evaluamos además la participación de Stat3 en la red de interacciones bi-direccionales entre PR y HRG/ErbB-2 en cáncer de mama. Probamos que la HRG, a través del ErbB-2, induce la activación de Stat3 mediante la integración necesaria del PR como molécula señalizadora (8). Más aún, demostramos que la activación de Stat3 es un requisito absoluto en la proliferación inducida por HRG en células de cáncer de mama. Stat3 activada actúa así como un factor efector río abajo de la vía HRG/ErbB-2 y del PR activado independiente de su ligando para estimular la proliferación del cáncer de mama. Esta interacción entre ErbB-2, PR y Stat3 necesaria para el crecimiento del cáncer de mama, junto con los novedosos y recientes resultados sobre la localización nuclear del ErbB-2 y su función como regulador transcripcional, nos impulsaron a estudiar la localización nuclear del ErbB-2 inducida por progestágenos y la asociación física y funcional con Stat3 a nivel nuclear (9). Nuestros resultados describen por primera vez que los progestágenos inducen el ensamblado de un complejo transcripcional integrado por Stat3/ErbB-2 en donde ErbB-2 actúa como coactivador de Stat3. Dilucidamos además la presencia del PR en este complejo. Probamos que la función de ErbB-2 como coactivador de Stat3 regula la transcripción del gen de ciclina D1, inducido por progestágenos y esencial para el crecimiento del cáncer de mama. El bloqueo de la translocación de ErbB-2 mediante la transfección de una forma mutante dominante negativa incapaz de migrar al núcleo, inhibió la expresión de ciclina D1 y la proliferación inducida por progestágenos en células de cáncer de mama. Nuestros hallazgos revelan una

nueva intervención terapéutica para tumores mamarios PR+/ErbB-2+ que consiste en el bloqueo específico de la translocación de ErbB-2 al núcleo. Otro campo de activa investigación en nuestro laboratorio son los efectos no genómicos de los progestágenos en el desarrollo del cáncer de mama. Demostramos que los progestágenos inducen el crecimiento celular, regulan la actividad de las metaloproteasas y la metástasis a través de la capacidad del PR de activar vías de señalización dependientes de la quinasa c-Src (10). Estos resultados sugieren una intervención terapéutica para tumores PR+ que consiste en el bloqueo específico de la función del PR como activador de las vías de señalización.

Actualmente estamos estudiando los efectos no genómicos de los progestágenos en el factor de transcripción AP-1, dímero compuesto por Jun y Fos, activados por fosforilación y cuya presencia en tumores mamarios está asociada a mal pronóstico. Nuestro objetivo es demostrar la activación de AP-1 por progestágenos y demostrar su participación en la transcripción del gen de ciclina D1 que contiene elementos respondedores a AP-1 en su promotor.

## Referencias bibliográficas

1. Lange CA, Richer JK, Horwitz KB. Hypothesis: Progesterone primes breast cancer cells for cross-talk with proliferative or antiproliferative signals. *Mol Endocrinol* 1999; 13(6): 829-36.
2. Balana ME, Lupu R, Labriola L, Charreau EH, Elizalde PV. Interactions between progestins and heregulin (HRG) signaling pathways: HRG acts as mediator of progestins proliferative effects in mouse mammary adenocarcinomas. *Oncogene* 1999; 18(46): 6370-9.
3. Balana ME, Labriola L, Salatino M, Movsichoff F, Peters G, Charreau EH, *et al.* Activation of ErbB-2 via a hierarchical interaction between ErbB-2 and type I insulin-like growth factor receptor in mammary tumor cells. *Oncogene* 2001; 20(1): 34-47.
4. Salatino M, Beguelin W, Peters MG, Carnevale R, Proietti CJ, Galigniana MD, *et al.* Progestin-induced caveolin-1 expression mediates breast cancer cell proliferation. *Oncogene* 2006; 25(59): 7723-39.
5. Labriola L, Salatino M, Proietti CJ, Pecci A, Coso OA, Kornblihtt AR, *et al.* Heregulin induces transcriptional activation of the progesterone receptor by a mechanism that requires functional ErbB-2 and mitogen-activated protein kinase activation in breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 2003; 23(3): 1095-111.
6. Proietti C, Salatino M, Rosembliht C, Carnevale R, Pecci A, Kornblihtt AR, *et al.* Progestins induce transcriptional activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) via a Jak- and Src-dependent mechanism in breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 200; 25(12): 4826-40.
7. Proietti CJ, Beguelin W, Flaque MC, Cayrol F, Rivas MA, Tkach M, *et al.* Novel role of signal transducer and activator of transcription 3 as a progesterone receptor coactivator in breast cancer. *Steroids* 2011; 76(4): 381-92.
8. Proietti CJ, Rosembliht C, Beguelin W, Rivas MA, Diaz Flaque MC, Charreau EH, *et al.* Activation of Stat3 by heregulin/ErbB-2 through the co-option of progesterone receptor signaling drives breast cancer growth. *Mol Cell Biol* 2009; 29(5): 1249-65.
9. Beguelin W, Diaz Flaque MC, Proietti CJ, Cayrol F, Rivas MA, Tkach M, *et al.* Progesterone receptor induces ErbB-2 nuclear translocation to promote breast cancer growth via a novel transcriptional effect: ErbB-2 function as a coactivator of Stat3. *Mol Cell Biol* 2010; 23: 5456-72.
10. Carnevale RP, Proietti CJ, Salatino M, Urtreger A, Peluffo G, Edwards DP, *et al.* Progestin effects on breast cancer cell proliferation, proteases activation, and *in vivo* development of metastatic phenotype all depend on progesterone receptor capacity to activate cytoplasmic signaling pathways. *Mol Endocrinol* 2007; 21(6): 1335-58.

---

## LABORATORIO DE CARCINOGENESIS HORMONAL

Crecimiento del cáncer de mama dependiente de receptores hormonales: aportes de un modelo experimental

*Growth of hormone receptor dependent breast cancer: Contributions of an experimental model*

*Crescimento do câncer de mama receptor de hormônio dependente: contribuições de um modelo experimental*

Claudia Lanari, Virginia Novaro, Carolina Lamb, Victoria Fabris, Paola Rojas, Sebastián Giulianelli, María Gorostiaga, Victoria Wargon, Tomás Guillardoy, María Laura Polo, Marina Riggio, Gonzalo Sequeira, Ana Sahores, María Pampera

### Resumen

Si bien los estrógenos han demostrado tener un rol protagónico en el cáncer de mama, hoy se sabe que la progesterona, así como sus derivados sintéticos, ejercen roles proliferativos tanto en la glándula mamaria normal como