

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale

—

**Volume 2009
publié le 9.12.2009**



*TRENTE-TROISIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2009*

Hormonothérapie des cancers du sein. Pour qui ? Comment ? Critères décisionnels pour une hormonothérapie

P. FENICHEL *
(Nice)

Résumé

L'hormonothérapie adjuvante du cancer du sein en pratique clinique se base sur l'expression par la tumeur du récepteur classique des œstrogènes REa. La capacité pour ce récepteur d'induire la prolifération en favorisant la transcription de gènes cibles est attestée par l'expression de l'un d'entre eux, le récepteur de la progestérone RP.

Néanmoins, les résistances de novo ou acquises au tamoxifène, la possibilité pour RE d'exercer un effet indépendant du ligand rendant inefficace l'action des inhibiteurs de l'aromatase ou la mise en évidence de nouveaux récepteurs des œstrogènes ont conduit à préciser les mécanismes moléculaires par lesquels les œstrogènes et leurs récepteurs exerçaient leur effet promoteur sur les cellules tumorales. En particulier, l'effet membranaire des œstrogènes est aujourd'hui bien documenté. Le dialogue avec les récepteurs à tyrosine kinase des facteurs de croissance comme EGFR et HER-2 implique

*Hôpital de l'Archet 1 - Service d'endocrinologie, gynécologie et médecine de la reproduction - INSERM U895 - BP 3079 - 06202 Nice cedex 3

une forme particulière de REa qui transloque à la membrane et/ou un récepteur des œstrogènes couplé aux protéines G, GPR-30, totalement distinct de REa.

Aussi, s'il est classique de s'appuyer pour l'hormonothérapie adjuvante, sur l'expression de REa et RP, sur le statut ovarien et sur les caractéristiques cliniques et paracliniques, il est vraisemblable que comme pour les autres thérapeutiques qui se développent aujourd'hui dans le cancer du sein, l'hormonothérapie s'appuiera de plus en plus sur une signature moléculaire dont l'expression de EGFR, HER-2, GPR30 et le couple UPA/PAI-1 constitue déjà une illustration.

Mots clés : récepteur des œstrogènes, récepteur non classique des œstrogènes couplé aux protéines G, tamoxifène, inhibiteurs de l'aromatase, résistance hormonale, GPR30, EGFR, HER-2

INTRODUCTION

S'il y a presque un siècle que l'on sait que la castration chirurgicale améliore le pronostic du cancer du sein, l'œstrogénodépendance physiologique et physiopathologique de la glande mammaire garde encore sa part de mystère et de paradoxe [1].

C'est la découverte des récepteurs aux œstrogènes (RE) par Jensen en 1962 [2] qui conduisit aux premières manipulations anti-œstrogéniques dans le cancer du sein et aux essais avec le tamoxifène [3]. Les nombreuses études cliniques aux résultats encourageants ont conduit à considérer dans les trois dernières décennies l'hormonothérapie par tamoxifène comme le gold standard, aussi bien en prévention secondaire que dans le cancer du sein évolutif, surtout chez les femmes ménopausées mais également en pré-ménopause.

Le traitement adjuvant par tamoxifène est mis en route lorsque la tumeur exprime le récepteur RE, à savoir dans 70 % des cas. Une résistance soit *de novo* soit d'apparition secondaire ou les effets indésirables liés à l'effet agoniste du tamoxifène ont conduit à tester d'autres molécules pour s'opposer à l'effet des œstrogènes, non pas tant les agonistes purs mais les inhibiteurs de l'aromatase. Ceux-ci qui s'opposent à la transformation des androgènes en œstrogènes ont dans des essais cliniques récents montré une aptitude à égaler, voire à dépasser l'efficacité des modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes.

De façon plus générale, une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques responsables de la promotion et/ou de la dissémination métastatique du cancer du sein suggèrent une multiplication des outils thérapeutiques, y compris pour l'hormonothérapie, et l'évolution se fait progressivement vers un traitement à la carte où la signature moléculaire de la tumeur jouera vraisemblablement un rôle essentiel.

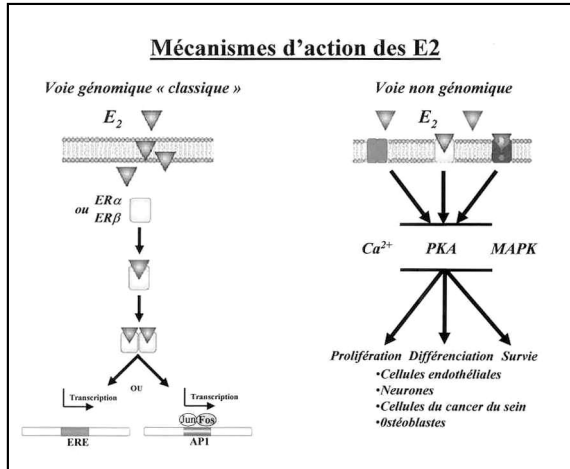
En ce qui concerne plus particulièrement l'hormonothérapie, il est aujourd'hui important de prédire une efficacité ou une résistance immédiate ou acquise, et les liens des œstrogènes et de leurs récepteurs avec les voies de signalisation activées par les récepteurs à tyrosine kinase des facteurs de croissance, et plus généralement avec les acteurs impliqués dans le contrôle de la prolifération, la survie, la dissémination et l'apoptose des cellules tumorales.

NOTIONS RÉCENTES SUR LES RÉCEPTEURS DES ŒSTROGÈNES ET LEURS MÉCANISMES D'ACTION

Les œstrogènes sont responsables du développement et de l'homéostasie de la glande mammaire ainsi que de la croissance de la majorité des tumeurs du sein. Il est classique de considérer que les actions physiologique et physiopathologique des œstrogènes passent par leur interaction avec une famille de récepteurs nucléaires spécifiques, les récepteurs des œstrogènes (RE) dont il existe deux homologues structuraux REa et REb. Lorsqu'on évoque ces récepteurs classiques des œstrogènes, on fait le plus souvent référence à REa, impliqué dans l'effet promoteur. REa agit comme un facteur de transcription ligand-dépendant. Le complexe hormone-récepteur après dimérisation au sein du cytoplasme va gagner le noyau et se fixer sur des éléments de réponse aux œstrogènes (ERE) présents sur les sites promoteurs de gènes œstrogénodépendants (Figure 1).

Cette liaison à l'ADN va conduire au recrutement selon le tissu cible de co-activateurs ou de co-répresseurs qui vont favoriser ou inhiber la transactivation et donc la transcription du gène. Par cet effet nucléaire, les œstrogènes stimulent le cycle cellulaire donc la prolifération, la survie voire la dissémination métastatique. Les différents gènes cibles œstrogénodépendants activés via REa incluent le récepteur à la progestérone qui est directement soumis à cette régulation et dont la présence traduit la fonctionnalité de cette voie

Figure 1 - Action génomique et non génomique des œstrogènes



classique. Sont concernés également de nombreux acteurs, facteurs de croissance, récepteurs à tyrosine kinase de ces facteurs de croissance et protéines impliquées dans le contrôle de la survie et l'apoptose.

L'utilisation d'antagonistes purs comme le Fulvestrant ou d'un modulateur sélectif des récepteurs des œstrogènes comme le tamoxifène vont permettre par leur activité anti-œstrogénique d'aller freiner la prolifération des cellules malignes œstrogéno-dépendantes qui expriment le récepteur classique des œstrogènes REa. En effet, le tamoxifène au niveau de la glande mammaire intervient plutôt comme un antagoniste suscitant le recrutement de co-répresseurs ; ce qui explique une relative bonne corrélation dans les séries cliniques de patientes post-ménopausées et recevant du tamoxifène entre l'expression tumorale de REa et l'efficacité thérapeutique.

LE RÉCEPTEUR REb

On sait aujourd'hui qu'il peut être considéré plutôt comme un gène suppresseur qui favorise l'apoptose, et que la perte de son expression est corrélée au mauvais pronostic de cancer du sein [4]. Dans certaines tumeurs, il a été mis en évidence que cette perte d'expression était liée à une modification épigénétique induite par

hyperméthylation du promoteur, conduisant à l'extinction de l'expression de ce gène. *In vitro*, il a été possible à l'aide d'inhibiteur de la DNA méthyltransférase de reverser cette extinction et de freiner ainsi la prolifération cellulaire [5].

EFFETS MEMBRANAIRES NON GÉNOMIQUES DES ŒSTROGÈNES

Bien qu'évoqué il y a plus de trente ans, c'est surtout depuis une dizaine d'années que s'est développé le concept d'effet membranaire non génomique des stéroïdes sexuels et en particulier des œstrogènes [6]. Ces effets rapides et membranaires des œstrogènes ont été mis en évidence *in vivo* et *in vitro* sur de nombreuses cellules humaines normales ou cancéreuses (Figure 1) en utilisant des œstrogènes qui ne traversent pas la membrane et en constatant des effets rapides conduisant à l'activation de différentes voies de transductions du signal [7].

Les œstrogènes peuvent ainsi stimuler en quelques minutes, voire quelques secondes la production de second messenger comme l'AMP cyclique ou la GMP cyclique, activer différentes kinases ou phosphatases ou induire un flux calcique (Figure 1). Ces effets rapides membranaires dits non génomiques des œstrogènes vont en fait de manière indirecte contribuer au final à une action génomique conduisant dans le cas du cancer du sein au contrôle de la prolifération de la survie, de l'apoptose ou de la migration des cellules malignes.

Cette contribution pourra se faire à différents niveaux. Elle impliquera généralement les facteurs de croissance et leur récepteur à tyrosine kinase, la phosphorylation du récepteur classique RE α , le recrutement de co-activateur de ces récepteurs et/ou l'induction de facteurs de transcription régulant le cycle cellulaire.

QUELLE EST LA NATURE DU RÉCEPTEUR MEMBRANAIRE DES ŒSTROGÈNES ?

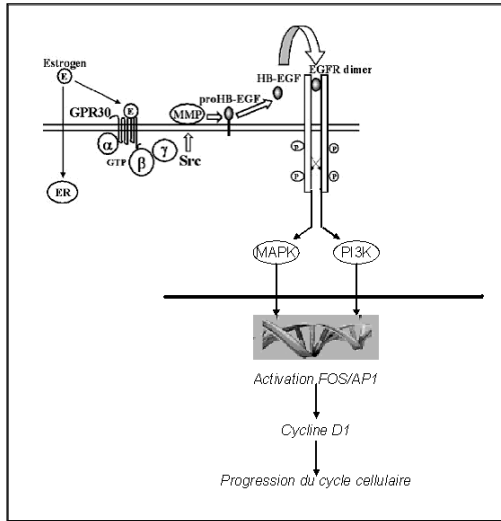
Il existe actuellement deux candidats potentiels qui agissent vraisemblablement de façon complémentaire ; le premier de ces candidats est en fait une forme tronquée de RE α qui migre dans des

régions spécialisées de la membrane, appelées cavéolées ou RAFT, spécialisées dans la transduction du signal et/ou se concentrent sur les différents acteurs [8].

Ce complexe qui va intégrer RE α implique en général un récepteur à protéine G, favorise la synthèse d'AMP cyclique, transactive le récepteur à EGF, active les MAP-Kinases ou la voie PI3-kinase et AKT. Il semble exister dans ces conditions un dialogue entre la voie classique par le récepteur nucléaire et la voie membranaire impliquant le facteur de croissance [7].

Plus récemment, il a été identifié un récepteur des œstrogènes totalement indépendant des récepteurs classiques RE α /RE β , qui est en fait un récepteur membranaire couplé aux protéines G, GPR30 qui avait été considéré jusqu'à présent comme un récepteur à protéines G orphelin. Comme tous les membres de la famille des récepteurs couplés aux protéines G, GPR30 comprend sept domaines transmembranaires. GPR30 présente une affinité particulière aux œstrogènes et à différents xéno-œstrogènes dont le tamoxifène. Il est exprimé dans de nombreuses cellules de l'organisme et surexprimé dans plusieurs cancers hormono-dépendants (endomètre, ovaires, sein). Il contribue vraisemblablement à différents mécanismes physiologiques des œstrogènes [9]. Il est particulièrement intéressant dans le cas du cancer du sein pour expliquer l'effet délétère persistant des œstrogènes en l'absence d'expression de RE α ou expliquer plusieurs états de résistance au tamoxifène. Concernant le tamoxifène, il est particulièrement intéressant de prendre en compte que celui-ci est un agoniste du GPR30. Vraisemblablement, c'est GPR30 qui est responsable de l'effet prolifératif induit par les œstrogènes par le tamoxifène dans les cellules du cancer de l'endomètre [10]. Le tamoxifène est donc un antagoniste sur les cellules mammaires pour le récepteur classique RE α et un agoniste pour GPR30 avec des conséquences importantes d'un point de vue clinique [10]. Les œstrogènes via GPR30 sont susceptibles également d'induire la synthèse d'AMP cyclique, de flux calcique [9], de mobiliser différentes voies de transduction du signal mais ils sont aussi capables via GPR30 de transactiver le récepteur EGFR via un mécanisme présenté sur la figure 2 qui illustre l'effet EGFl-like des œstrogènes déjà suggéré antérieurement [11]. Cette transactivation illustre le dialogue qui s'établit entre la voie des œstrogènes, leurs récepteurs classiques et les signaux induits par les facteurs de croissance et leurs récepteurs, en particulier EGFR et HER-2 dont on reconnaît aujourd'hui l'importance dans la physiopathologie et le traitement du cancer du sein. Cette transactivation via EGFR a bien été mise en évidence dans le cancer du sein évolutif, voire métastasé [12] et dans les résistances au tamoxifène [13, 14].

Figure 2 - Activation de la voie EGFR via le nouveau récepteur membranaire des œstrogènes GPR30, récepteur couplé aux protéines G (d'après Prossnitz et Maggiolini 2009)



LES MOLÉCULES DISPONIBLES POUR L'HORMONOTHÉRAPIE ADJUVANTE

Il existe aujourd'hui en pratique quatre types de molécules permettant de freiner l'effet promoteur des œstrogènes au cours de l'évolution d'un cancer du sein.

- a- Les analogues de la LHRH : permettent d'obtenir une castration chimique en diminuant le taux circulant des œstrogènes en mettant les ovaires au repos. Ils ne s'opposent pas à l'aromatase *in situ* des androgènes en œstrogènes. Ils sont intéressants en pré-ménopause.
- b- Les antagonistes purs des œstrogènes comme le Fulvestran agissent directement sur les récepteurs classiques par un effet inhibiteur compétitif, ils sont donc particulièrement efficaces.
- c- Les modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes : ils exercent une action tantôt antagoniste, tantôt agoniste en fonction de la cellule cible, le tamoxifène associant l'effet

antagoniste sur la cellule mammaire et des effets agonistes en particulier sur l'os. Néanmoins, certains de ces effets agonistes sont susceptibles d'entraîner des effets secondaires, voire des complications, en particulier thromboemboliques.

Le tamoxifène est de loin celui qui a été le plus utilisé et dont on a le plus de recul pour juger de son efficacité et de ses effets secondaires.

- d- Les inhibiteurs du complexe enzymatique de l'aromatase s'opposent donc à la transformation des androgènes en œstrogènes, y compris en intratumoral et vont donc être efficaces quelle que soit la voie empruntée par les œstrogènes. Ceci explique vraisemblablement que les études semblent montrer au moins une aussi grande efficacité si ce n'est dans certaines situations une supériorité par rapport au tamoxifène quant aux critères de récurrence et de survie. De part leur mécanisme d'action, ils ne devraient pas conduire aux mêmes situations de résistance.
- e- Perspectives : les agonistes d'ER β , les agonistes de GPR30, les molécules s'opposant à l'activation de la voie EGFR pourraient, en association avec les molécules précédentes, permettre une meilleure efficacité thérapeutique.

RÉSISTANCES HORMONALES

Le tamoxifène représente l'hormonothérapie adjuvante pour laquelle il existe plusieurs décennies de recul dans le cancer du sein. Il peut exister une résistance *de novo* ou une résistance acquise. Dans la résistance *de novo*, l'augmentation de l'expression et de l'activation des récepteurs des facteurs de croissance semble jouer un rôle majeur. La relation a été établie dans ce cas entre l'expression de RE α et l'expression d'EGFR ou de HER-2 dans le cancer primitif du sein avec une diminution de la sensibilité à l'hormonothérapie et un moins bon pronostic [15-17].

Les mécanismes impliqués dans la résistance acquise au tamoxifène sont plus complexes. Elle comprend plusieurs mécanismes avec des conséquences thérapeutiques différentes. Il semble que les tumeurs qui deviennent résistantes au tamoxifène ne perdent pas l'expression de RE α et que ce récepteur continue à être fonctionnel, mais il y a en fait une modification des voies de signalisation mises en

Tableau 1 - Hormonothérapie du cancer du sein

Castration	Chirurgicale Chimique : analogues de la LHRH
Modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (SERM)	Tamoxifène Raloxifène
Antagoniste pur des récepteurs d'œstrogènes	Fulvestrant
Inhibiteurs de l'aromatase	Anastrozole Exemestane Létrozole

jeu avec répression de la voie génomique classique, majoration des effets membranaires non génomiques et participation des récepteurs aux facteurs de croissance avec, en particulier, activation d'EGFR/HER-2/IGF-1R [18]. Il a été montré que dans ces tumeurs, le récepteur RE α a été transloqué du noyau vers la membrane et qu'il interagissait avec les récepteurs à tyrosine-kinase [14]. Le tamoxifène qui continue à inhiber la voie génomique classique n'empêche plus la croissance tumorale [13]. Le dialogue s'établit ainsi entre le récepteur aux œstrogènes et les voies de signalisation P38 et ERK dans les tumeurs du sein résistantes au tamoxifène [19]. Il est vraisemblable que dans ces conditions, le tamoxifène se comporte comme un agoniste [20]. L'autre mécanisme de résistance au tamoxifène et qui expliquerait l'effet agoniste de celui-ci est la surexpression par la tumeur du récepteur membranaire non classique des œstrogènes, GPR30 dont l'expression est majorée par EGF et TGF α dans les tumeurs RE α positives [16] ainsi que dans les tumeurs RE α négatives [15]. Il est à présent bien démontré que le tamoxifène est un agoniste de GPR30. Lorsque celui-ci est surexprimé et RE α faiblement exprimé, l'effet agoniste du tamoxifène vraisemblablement prédomine sur la prolifération des cellules tumorales.

Dans le cadre des relations entre l'effet membranaire des œstrogènes et la voie des récepteurs à tyrosine kinase, il est intéressant de signaler qu'il a été bien mis en évidence récemment que le gefitinib, un anticorps monoclonal dirigé contre l'EGFR, restaure l'efficacité du tamoxifène [20].

En ce qui concerne la résistance aux anti-aromatases comme le Létrozol [1], il a été suggéré que la prolifération pourrait être activée

par RE indépendamment du ligand. La dégradation du récepteur aux œstrogènes par le Fulvestrant permet de prévenir le développement d'une telle résistance (Jordan et Brodi, 2006). Des signalisations mises en jeu par les récepteurs à tyrosine kinase sont également impliquées et RE pourrait être phosphorylé par les MAP-kinases en l'absence d'œstrogènes. Les inhibiteurs d'EGFR comme le gefitinib, dans ce cas également restaurent la sensibilité des cellules tumorales mammaires au Létrozol [1].

CRITÈRES DÉCISIONNELS

Globalement, quatre types de critères décisionnels différents sont disponibles aujourd'hui pour une hormonothérapie :

1. l'expression des récepteurs et/ou de molécules de signalisation associée,
2. le statut ovarien pré ou post-ménopause,
3. les caractéristiques cliniques et paracliniques du cancer,
4. l'état des essais cliniques, en particulier leur efficacité dans différentes conditions, la récurrence, l'évolution, la dissémination métastatique ou la prévention ainsi que leur effet sur la durée de survie et leurs différents effets secondaires.

Nous nous focaliserons dans cet exposé sur le premier groupe de critères, à savoir l'expression des marqueurs et/ou acteurs moléculaires permettant de prévoir l'efficacité de l'hormonothérapie.

Tableau 2 - Critères décisionnels pour une hormonothérapie

Expression des récepteurs et de molécules apparentées Statut ovarien Paramètres cliniques et paracliniques Rapport bénéfices/effets secondaires tiré des principales études cliniques
--

L'expression du récepteur classique des œstrogènes et de la progestérone RE α et RP demeurent, de façon classique, le critère de choix pour décider d'une hormonothérapie adjuvante ; ceci est le cas dans 70 % des cas de tumeurs et l'expression du récepteur à la progestérone est alors le reflet d'un récepteur RE fonctionnel. En cas d'absence totale d'expression des récepteurs RE et RP, d'autres choix

thérapeutiques (chimiothérapie) seront envisagés. Une faible expression du récepteur RE mais avec un récepteur à la progestérone positif traduit une sensibilité probable à l'hormonothérapie. Par contre, on a vu la possibilité de résistance immédiate au tamoxifène ; on parle de résistance acquise après un temps plus ou moins prolongé de traitement [21, 22].

L'absence d'expression des récepteurs à la progestérone, une surexpression d'EGFR et/ou HER-2 [23], une expression élevée de l'activateur du plasminogène de type urokinase/inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (UPA/PAI-1) [24], les marqueurs de prolifération très élevés qui sont des facteurs prédictifs négatifs [25] en particulier, l'expression d'EGFR, connue depuis de nombreuses années comme étant facteur de résistance au tamoxifène a été bien confirmé. Dans une étude randomisée prospective récente [26], il a aussi été récemment clairement démontré que les patients HER-2+ ne répondent pas au tamoxifène [23]. L'évolution actuelle est d'identifier une véritable signature à la carte des tumeurs et d'orienter ainsi les thérapeutiques dont l'hormonothérapie dans le profil obtenu. Ainsi dans une recherche de facteurs prédictifs du traitement par tamoxifène, il a été mis en évidence le caractère prédictif de l'expression de BCL-2, MIC et TP53 [27]. Enfin, dans la mesure des antagonistes de GPR30 qui ont très récemment été synthétisés [28], il est intéressant de noter que la surexpression de GPR30 a été corrélée à la gravité du pronostic du cancer du sein [29], que GPR30 est surexprimé sous l'effet d'EGF aussi bien dans les cancers du sein REa+ [16] que REa- [15].

CONCLUSION

Aussi s'il est classique de s'appuyer pour l'hormonothérapie adjuvante, sur l'expression de REa et RP, sur le statut ovarien et sur les caractéristiques cliniques et paracliniques, il est vraisemblable que comme pour les autres thérapeutiques qui se développent aujourd'hui dans le cancer du sein, l'hormonothérapie « à la carte » s'appuiera de plus en plus sur une signature moléculaire dont l'expression de EGFR, HER-2, GPR30 et le couple UPA/PAI-1 constituent déjà des éléments importants à prendre en compte.

Bibliographie

- [1] Jordan VC, Brodie AM. Development and evolution of therapies targeted to the estrogen receptor for the treatment and prevention of breast cancer. *Steroids* 2007;72:7-25.
- [2] Jensen EV, Jacobson HI. Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Prog Hormone Res* 1962;18:387-414.
- [3] Cole MP, Jones CT, Todd ID. A new anti-oestrogenic agent in late breast cancer. An early clinical appraisal of ICI46474. *Br J Cancer* 1971;25:270-5.
- [4] Järvinen TA, Pelto-Huikko M, Holli K, Isola J. Estrogen receptor beta is coexpressed with ERalpha and PR and associated with nodal status, grade, and proliferation rate in breast cancer. *Am J Pathol* 2000;156:29-35.
- [5] Skliris GP, Munot K, Bell SM, Carder PJ, Lane S, Horgan K, Lansdown MR, Parkes AT, Hanby AM, Markham AF, Speirs V. Reduced expression of oestrogen receptor beta in invasive breast cancer and its re-expression using DNA methyl transferase inhibitors in a cell line model. *J Pathol* 2003;201:213-20.
- [6] Falkenstein E, Wehling M. Nongenomically initiated steroid actions. *Eur J Clin Invest* 2000;30:3:51-4.
- [7] Levin ER. Bidirectional signaling between the estrogen receptor and the epidermal growth factor receptor. *Mol Endocrinol* 2003;17:309-17.
- [8] Pedram A, Razandi M, Levin ER. Nature of functional estrogen receptors at the plasma membrane. *Mol Endocrinol* 2006;20:1996-2009.
- [9] Prossnitz ER, Maggiolini M. Mechanisms of estrogen signaling and gene expression via GPR30. *Mol Cell Endocrinol* 2009;308:32-8.
- [10] Vivacqua A, Bonofiglio D, Recchia AG, Musti AM, Picard D, Andò S, Maggiolini M. The G protein-coupled receptor GPR30 mediates the proliferative effects induced by 17beta-estradiol and hydroxytamoxifen in endometrial cancer cells. *Mol Endocrinol* 2006;20:631-46.
- [11] Filardo EJ. Epidermal growth factor receptor (EGFR) transactivation by estrogen via the G-protein-coupled receptor, GPR30: a novel signaling pathway with potential significance for breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002;80:231-8.
- [12] Filardo EJ, Quinn JA, Sabo E. Association of the membrane estrogen receptor, GPR30, with breast tumor metastasis and transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Steroids* 2008;73:870-3.
- [13] Massarweh S, Osborne CK, Creighton CJ, Qin L, Tsimelzon A, Huang S, Weiss H, Rimawi M, Schiff R. Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res* 2008;68:826-33.
- [14] Fan P, Wang J, Santen RJ, Yue W. Long-term treatment with tamoxifen facilitates translocation of estrogen receptor alpha out of the nucleus and enhances its interaction with EGFR in MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Res* 2007;67:1352-60.
- [15] M. Albanito L, Sisci D, Aquila S, Brunelli E, Vivacqua A, Madeo A, Lappano R, Pandey DP, Picard D, Mauro L, Andò S, Maggiolini M. G Protein-Coupled Receptor 30 Expression Induces G protein-coupled receptor 30 expression in estrogen receptor-negative breast cancer cells. *Endocrinology* 2008;149:3799-808.
- [16] Vivacqua A, Lappano R, De Marco P, Sisci D, Aquila S, De Amicis F, Fuqua SA, Andò S, Maggiolini M. G Protein-Coupled Receptor 30 Expression Is Up-Regulated by EGF and TGF{alpha} in Estrogen Receptor {alpha}-Positive Cancer Cells. *Mol Endocrinol* 2009 Nov;23(11):1815-26. Epub 2009 Sep 11.
- [17] Nicholson RI, Gee JM, Knowlden J, McClelland R, Madden TA, Barrow D, Hutcheson I. The biology of antihormone failure in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003;80:S29-34.
- [18] Chung YL, Sheu ML, Yang SC, Lin CH, Yen SH. Resistance to tamoxifen-induced apoptosis is associated with direct interaction between Her2/neu and cell membrane estrogen receptor in breast cancer. *Int J Cancer* 2002 Jan 20;97(3):306-12.
- [19] Gutierrez MC, Detre S, Johnston S, Mohsin SK, Shou J, Allred DC, Schiff R, Osborne CK, Dowsett M. Molecular changes in tamoxifen-resistant breast cancer: relationship between estrogen receptor, HER-2, and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Clin Oncol* 2005;23:2469-76.
- [20] Shou J, Massarweh S, Osborne CK,

Wakeling AE, Ali S, Weiss H, Schiff R. Mechanisms of tamoxifen resistance: increased estrogen receptor-HER2/neu cross-talk in ER/HER2-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:926-35.

[21] Punglia RS, Kuntz KM, Winer EP, Weeks JC, Burstein HJ. The impact of tumor progesterone receptor status on optimal adjuvant endocrine therapy for postmenopausal patients with early-stage breast cancer: a decision analysis. *Cancer* 2006;106:2576-82.

[22] Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, De Placido S, Osborne CK, Elledge RM. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1254-61.

[23] Dowsett M, Houghton J, Iden C, Salter J, Farndon J, A'Hern R, Sainsbury R, Baum M. Benefit from adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according oestrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER2 status. *Ann Oncol* 2006; 17:818-26.

[24] Meijer-van Gelder ME, Look MP, Peters HA, Schmitt M, Brünner N, Harbeck N, Klijn JG, Foekens JA. Urokinase-type plasminogen activator system in breast cancer: association with tamoxifen therapy in recurrent disease. *Cancer Res* 2004;64:4563-8.

[25] Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 2005(10):1569-83.

[26] Giltnane JM, Rydén L, Cregger M, Bendahl PO, Jirstrom K, Rimm DL. Quantitative measurement of epidermal growth factor receptor is a negative predictive factor for tamoxifen response in hormone receptor positive premenopausal breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:3007-14.

[27] Linke SP, Bremer TM, Herold CD, Sauter G, Diamond C. A multimarker model to predict outcome in tamoxifen-treated breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006;12:1175-83.

[28] Dennis MK, Burai R, Ramesh C, Petrie WK, Alcon SN, Nayak TK, Bologna CG, Leitao A, Brailoiu E, Deliu E, Dun NJ, Sklar LA, Hathaway HJ, Arterburn JB, Oprea TI, Prossnitz ER. In vivo effects of a GPR30 antagonist. *Nat Chem Biol* 2009;5:421-7.

[29] Filardo EJ, Graeber CT, Quinn JA, Resnick MB, Giri D, DeLellis RA, Steinhoff MM, Sabo E. Distribution of GPR30, a seven membrane-spanning estrogen receptor, in primary breast cancer and its association with clinicopathologic determinants of tumor progression. *Clin Cancer Res* 2006;12:6359-66.