

Prolactine et risque de cancer du sein

V. GOFFIN ¹*, P. TOURAINE ²
(Paris)

Résumé

L'hyperprolactinémie reste à ce jour la seule pathologie unanimement reconnue pour être liée à la prolactine (PRL). Pourtant, depuis près de 50 ans, de très nombreuses publications scientifiques ont suggéré l'action pro-tumorale de cette hormone dans le contexte du cancer du sein, même s'il faut reconnaître que c'est essentiellement à la lumière de modèles expérimentaux que cela a été proposé. En bon accord avec ces modèles, des études épidémiologiques de haut niveau menées plus récemment ont renforcé cette hypothèse en proposant que la PRL constitue un facteur de risque du cancer du sein, notamment chez la femme post-ménopausée. Ces observations n'ont cependant pas encore franchi le cap d'une quelconque application clinique ou thérapeutique, soulignant la difficulté d'appréhender son rôle exact dans la pathologie humaine. De manière assez troublante, des études récentes tendent à défendre un modèle alternatif, suggérant que la PRL pourrait, dans certains cas, avoir au contraire une action bénéfique sur le cancer

- 1 - Inserm U845 - Centre de recherche croissance et signalisation - Équipe physiopathologie des hormones PRL/GH - Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité - Faculté de médecine - Site Necker - 156 rue de Vaugirard - 75014 Paris
2 - AP-HP - Hôpitaux universitaires Pitié-Salpêtrière-Charles Foix - Université Pierre et Marie Curie - Paris 6 - Boulevard de l'Hôpital - 75013 Paris

* Correspondance : vincent.goffin@inserm.fr

du sein en maintenant son caractère différencié, ce qui favoriserait la réponse de la tumeur à la thérapie anti-estrogénique. Dans ce contexte particulièrement complexe, il faut espérer que les nouvelles approches thérapeutiques anti-PRL qui se développent dans divers laboratoires dépasseront le stade des essais précliniques pour apporter, enfin, des réponses plus claires quant au rôle réel de la PRL dans le cancer du sein.

Mots clés : prolactine, Stat5, autocrine, prolifération, différenciation, antagonistes

Déclaration publique d'intérêt

Les auteurs déclarent sur l'honneur n'avoir aucun conflit d'intérêt.

I. CONTEXTE

La prolactine (PRL) cultive le paradoxe. Alors que cette hormone hypophysaire s'est vu attribuer quelque 300 fonctions biologiques chez les vertébrés [1], cette pléiotropie fonctionnelle n'a quasiment aucune répercussion en physiopathologie humaine, où notre compréhension de son rôle reste cantonnée à la lactogénèse. Plus troublant encore, alors que les techniques de séquençage à haut débit identifient tous les jours de nouvelles mutations ou polymorphismes corrélés à diverses pathologies, nous ne disposons aujourd'hui d'aucun modèle humain de maladie génétique résultant de mutations des gènes de la PRL ou de son récepteur (PRLR) pour mieux appréhender l'importance réelle de ses fonctions « annexes ». Dans ce contexte, l'hyperprolactinémie est, et reste à ce jour, la seule pathologie unanimement reconnue pour être liée à cette hormone. Il s'agit cependant d'une pathologie liée à des dysfonctionnements affectant les mécanismes régulant la production hypophysaire de PRL, et non la PRL elle-même.

L'action reconnue de la PRL sur la lactation, mais aussi sur le développement de la glande mammaire, a de longue date conduit la communauté scientifique à s'interroger sur son rôle dans les pathologies mammaires humaines, avec une attention toute particulière pour le cancer du sein. Comme ce sera décrit plus loin, ces études aussi

fournies soient-elles n'ont pas encore permis d'arriver à un consensus totalement satisfaisant, de sorte que la relation PRL-cancer du sein demeure encore assez mal comprise, pour ne pas dire controversée.

Dans cet article, après un bref rappel sur l'importance de la PRL dans la physiologie mammaire, nous nous attarderons plus longuement sur le contexte du cancer du sein, en présentant les deux principales hypothèses actuellement en vigueur à la lumière de leurs arguments respectifs, obtenus sur des modèles expérimentaux ou lors d'études cliniques. Étant donné la littérature abondante sur le sujet, cette revue ne se veut nullement exhaustive.

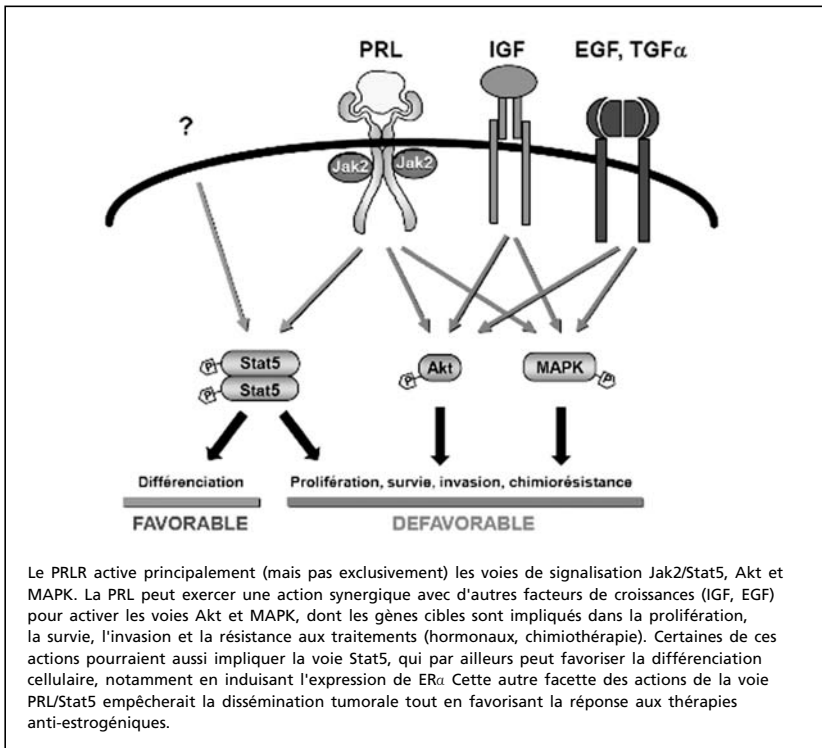
II. PROLACTINE ET PHYSIOLOGIE MAMMAIRE

L'essentiel de nos connaissances sur le rôle de la PRL dans la physiologie mammaire vient de l'étude de modèles murins. Notamment, l'étude de souris invalidées pour le gène de la PRL (souris « PRL KO ») ou de son récepteur (souris « PRLR KO ») a permis de décrypter « par défaut » les actions de la PRL dans le développement et la différenciation mammaire [2, 3]. Par la suite, ces modèles se sont également avérés des outils précieux pour étudier le rôle promoteur de la signalisation de la PRL dans la tumorigenèse mammaire, comme nous le verrons plus loin.

La régulation endocrinienne de la lactation fait intervenir de nombreuses hormones. Chez la souris, la PRL est indispensable à différentes étapes du développement de la glande mammaire, à savoir la croissance et la différenciation de la glande, puis l'induction et l'entretien de la sécrétion lactée [4-6]. Chez la femme, pendant la période de croissance mammaire qui débute à la puberté, la PRL est indispensable pour assurer une croissance des canaux alvéolaires. Cette action se fait en association avec les estrogènes, la progestérone et les corticoïdes. Par la suite, la PRL est nécessaire au développement lobulo-alvéolaire qui a lieu au terme de la grossesse. La lactogenèse, ou initiation de la sécrétion lactée, correspond à la différenciation finale des cellules de la glande mammaire et nécessite l'association de la PRL, des glucocorticoïdes, de l'insuline et des hormones thyroïdiennes. La PRL participe enfin au maintien de la sécrétion lactée. Au niveau de la cellule mammaire, la PRL stimule la biosynthèse des « protéines du lait », comme les caséines et la lactalbumine, des lipides et des glucides du lait [5].

Les jeunes souris femelles hétérozygotes ne possédant qu'un seul allèle du PRLR ne peuvent allaiter correctement, indiquant qu'un certain seuil d'expression du PRLR est nécessaire au développement fonctionnel de la glande mammaire et à une lactation effective [2]. Ceci suggère que la prolifération des cellules épithéliales pendant la gestation et la période post-partum est directement dépendante de la quantité, et en corollaire du niveau d'activation du PRLR [2]. La fonction lactotrope, historiquement reconnue pour la PRL, a été confirmée non seulement par les modèles d'inactivation des gènes de la PRL et du PRLR, mais également par celles de Stat5, maillon essentiel dans la transmission du signal intracellulaire par le PRLR (Figure 1) [7].

Figure 1 - Principales voies de signalisation du PRLR dans le sein (modifié d'après Carver et al., 2009)



III. PROLACTINE ET TUMORIGÈNE MAMMAIRE

Autant le rôle de la PRL sur le développement de la glande mammaire et la lactation est bien compris, autant son implication dans la tumorigenèse mammaire reste l'objet de grands débats. En effet, si les données chez le rongeur sont assez concluantes, elles restent plus controversées chez l'homme. Dans la suite de ce chapitre, nous souhaitons évoquer deux hypothèses qui ne sont pas nécessairement mutuellement exclusives, même s'il apparaît aujourd'hui quelque peu difficile de les réconcilier.

III.1. Hypothèse 1 : la PRL, un facteur de risque ?

III.1.a. Modèles cellulaires

In vitro, l'activité proliférative de la PRL a clairement été démontrée en utilisant diverses lignées cellulaires tumorales dérivant de cellules épithéliales de glande mammaire humaine ou de rongeur [8-10]. Cette propriété implique diverses cascades de signalisation, dont la voie canonique Jak2/Stat5 ainsi que les voies MAPK ou PI-3K/Akt [10-12] (Figure 1). De manière intéressante la PRL affecte également la prolifération d'autres types cellulaires humains, comme par exemple les lignées tumorales prostatiques [13] ou lymphocytaires [14], soulignant ainsi son potentiel prolifératif sur divers tissus [15]. Ces données *in vitro* ont été en partie confirmées *in vivo*, notamment dans des modèles de xénogreffes de cellules tumorales prostatiques ou mammaires chez des souris immunodéficientes traitées à la PRL [16, 17].

Les études *in vitro* sont le plus souvent réalisées en stimulant les cellules avec de la PRL exogène, supposée mimer l'action endocrine de la PRL circulante *in vivo*. Néanmoins, dans certains cas, les voies de signalisation du PRLR peuvent être induites de manière cellule-autonome : en effet, de nombreux tissus non hypophysaires ont été décrits comme produisant de la PRL. Parmi ceux-ci, on peut citer la glande mammaire, la prostate, la peau, ou encore le placenta [18, 19]. La quantité de PRL produite dans ces tissus (ou lignées cellulaires modèles) est cependant beaucoup plus faible que dans l'hypophyse, tissu sécréteur de PRL par excellence, et n'est souvent détectable qu'au niveau de son ARN messager. De plus, l'expression extra-hypophysaire de PRL apparaît plus fréquente dans les tissus humains que dans les tissus animaux, ce qui limite considérablement les modèles expérimentaux

disponibles pour mieux appréhender l'impact fonctionnel de cette PRL locale et sa pertinence réelle en physiopathologie humaine.

Diverses publications ont décrit la synthèse et/ou la sécrétion de PRL dans différents modèles de cellules épithéliales mammaires : lignées cellulaires normales, tumorales, ou cultures primaires [20-23]. Plus récemment, l'étude d'explants mammaires humains sains, ainsi que des lignées cellulaires qui en furent dérivées, a permis de proposer que l'origine majeure de PRL dans le tissu mammaire soit en fait le compartiment adipocytaire plutôt que glandulaire [24, 25]. Au sein de la glande mammaire, l'épithélium pourrait donc être soumis aux effets de la PRL locale, par un mécanisme autocrine et/ou paracrine. Ces effets impliquent probablement une action mitogène, comme cela a pu être démontré dans des tumeurs mammaires chez le rat [23]. La notion que la PRL produite localement puisse agir comme un agent mitotique dans le tissu humain a été proposée à la lumière d'expériences sur des lignées cellulaires tumorales mammaires cultivées sans PRL, mais dont la prolifération a pu être fortement diminuée en ajoutant au milieu de culture des anticorps bloquants dirigés contre la PRL (produite par les cellules elles-mêmes), ou des antagonistes du PRLR [20, 22, 26, 27]. Ces observations ont ensuite été confirmées en inhibant l'expression du gène PRL dans des cellules tumorales mammaires MCF-7 en culture, ce qui réduit également leur prolifération [28]. A contrario, des cellules tumorales mammaires MDA-MB-435 surexprimant expérimentalement la PRL prolifèrent plus vite que les cellules parentales, tant *in vitro* que lorsqu'elles sont xénogreffées chez des souris immunodéficientes [29]. Sur le plan moléculaire, il a été rapporté que les effets de la PRL autocrine implique, outre la prolifération, une surexpression de molécules anti-apoptotiques telles que Bcl-2 [29, 30]. Ces données suggèrent que la PRL produite localement pourrait contribuer efficacement à la carcinogenèse en augmentant prolifération et survie cellulaire.

La régulation transcriptionnelle du gène PRL dans le tissu mammaire (et dans les tissus extra-hypophysaires en général) est très mal connue. Dans la mesure où l'expression de PRL augmente lorsque des explants mammaires sont mis en culture [24], il a été proposé qu'*in vivo* le gène PRL soit principalement régulé par des stimuli répressifs ; ce n'est pas sans rappeler le contexte hypophysaire, où l'expression du gène PRL est également sous le contrôle répresseur de la dopamine. Parmi les stimuli actifs au niveau mammaire, la progestérone exercerait une régulation négative sur le compartiment glandulaire d'explants mammaires, mais serait sans effet sur le compartiment adipocytaire [24]. Sur ce dernier, l'insuline a été proposée comme l'un des régulateurs négatifs potentiels [25]. Les mécanismes de signalisation et

d'activation transcriptionnelle en aval de ces facteurs circulants restent à identifier. Une étude très récente menée chez la souris a montré que la voie Akt régulait positivement l'expression mammaire de PRL durant la gestation [31]. Malgré le caractère très fouillé de cette étude, ce sont cette fois les mécanismes en amont de la voie Akt qui n'ont pas été identifiés.

Chez l'homme, au contraire de l'animal, le gène de la PRL contient deux promoteurs distincts : le promoteur proximal qui régule la synthèse de la protéine dans l'hypophyse et répond à la régulation dopaminergique, et le promoteur distal, situé en amont du promoteur proximal, qui régulerait préférentiellement l'expression du gène PRL dans les sites extra-hypophysaires [18, 32]. Même si cette dichotomie dans l'usage des promoteurs a pu être prise en défaut dans certaines lignées cellulaires mammaires ou prostatiques, où l'activité du promoteur proximal a pu être démontrée [33, 34], elle pourrait néanmoins expliquer pourquoi l'expression extra-hypophysaire du gène PRL est plus fréquemment observée dans l'espèce humaine, dans la mesure où le gène PRL des espèces inférieures ne contient qu'un seul promoteur. Ainsi, quelques études utilisant le promoteur distal de la PRL pour réguler l'expression de transgènes chez la souris ont-elles permis de démontrer l'activité transcriptionnelle de ce promoteur dans des tissus extra-hypophysaires où le gène endogène de la PRL n'apparaissait pas transcrit [32, 35]. Si l'on a souvent postulé que ce promoteur extra-hypophysaire ne répondait pas à la dopamine, un rapport récent tend à suggérer le contraire [36]. Quoi qu'il en soit, même si cette PRL locale reste très difficile à appréhender, notamment à cause de la difficulté de sa mise en évidence au niveau protéique *ex vivo* et à notre incompréhension de sa régulation, la boucle autocrine/paracrine de la PRL constitue aujourd'hui une nouvelle cible thérapeutique potentielle en oncologie, notamment dans le cancer du sein (voir plus loin).

III.1.b. Modèles animaux

Il y a plus de 30 ans que l'implication de la PRL dans la tumorigenèse est admise chez les rongeurs [37]. Chez le rat, il existe une corrélation directe entre le taux de PRL et la sensibilité de différentes souches de rat aux carcinogènes exogènes [38]. Il a aussi été démontré que la croissance de tumeurs spontanées ou induites par le DMBA (7, 12-diméthyl-benz[a]-anthracène) et/ou le NMU (N-nitrométhylurea), deux agents hautement carcinogènes, était stimulée si les animaux étaient conjointement traités par la PRL, alors que la bromocriptine, analogue dopaminergique qui diminue les taux de PRL circulante, a l'effet inverse [37].

Les modèles de souris génétiquement modifiées développés depuis ces études pionnières ont apporté des arguments supplémentaires allant dans le même sens. Par exemple, le croisement de souris PRL KO ou PRLR KO avec des modèles développant des tumeurs mammaires génétiquement induites conduit à une augmentation du délai d'apparition de ces tumeurs [39-41]. A contrario, des souris transgéniques surexprimant la PRL de manière systémique développent spontanément des adénocarcinomes mammaires entre 11 et 15 mois [42]. Des données très similaires ont été obtenues concernant la manipulation génétique de l'expression de Stat5, puisque sa surexpression induit des tumeurs mammaires [43] tandis que son invalidation retarde leur apparition [44]. Ces observations suggèrent que la voie PRL/Stat5 puisse agir comme initiateur et/ou promoteur dans le développement tumoral *in vivo*.

Suite aux travaux ayant mis en lumière l'importance potentielle de la boucle autocrine/paracrine dans des modèles *in vitro* (voir plus haut), plusieurs modèles animaux génétiquement modifiés ont été développés ces dernières années pour mieux caractériser l'impact fonctionnel de ce mécanisme *in vivo*. Une surexpression permanente du transgène PRL dans la glande mammaire de souris vierge conduit à l'apparition de carcinomes mammaires chez des animaux âgés de 15-16 mois [45], suggérant que la boucle autocrine-paracrine présente le même pouvoir oncogénique que la PRL endocrine [42]. D'autres modèles surexprimant dans la glande mammaire vierge un mutant de PRLR constitutivement activé [46], ou surexprimant la PRL dans la glande mammaire différenciée (c'est-à-dire en gestation/lactation) [47] conduisent quant à eux à des tumeurs bénignes. Ces modèles suggèrent que la PRL produite localement pourrait avoir des effets physiopathologiques distincts selon le stade de différenciation de la glande mammaire. D'autres modèles combinant la manipulation de gènes de la voie PRL à ceux d'autres (onco)gènes ont été générés [41]. Sans rentrer dans le détail de ces études nombreuses et souvent complexes, elles convergent vers les conclusions suivantes : i) sur le plan physiopathologique, la PRL est suffisante pour induire des tumeurs mammaires chez la souris, après cependant un temps de latence assez élevé ; ii) la PRL coopère avec d'autres voies (potentiellement) oncogéniques et le plus souvent potentialise leur action pro-tumorale (exemple : estradiol, EGF/TGF α , IGF-1) ; iii) sur le plan cellulaire, une prolifération augmentée plutôt qu'une altération de l'apoptose semble être un trait majeur ; iv) sur le plan moléculaire, la cascade de signalisation Jak2/Stat5 est manifestement très importante dans les actions pro-tumorales intrinsèques de la PRL, sans toutefois négliger la participation des autres voies (ERK1/2 et Akt), notamment dans les dialogues moléculaires avec les voies de

signalisation d'autres stimuli ; et enfin v) les carcinomes mammaires induits par la PRL présentent des phénotypes différents au sein d'un même génotype quant à leurs caractéristiques histopathologiques, l'expression des récepteurs hormonaux (estradiol/progestérone) et les voies de signalisation activées [41, 48, 49].

III.1.c. Chez l'homme

Comme décrit ci-dessus, les données concernant l'implication de la PRL dans la tumorigénèse mammaire sont très convaincantes chez le rongeur. La situation est beaucoup moins claire chez l'homme.

Un premier argument en faveur de l'implication de la PRL dans le cancer du sein serait l'association d'altérations génétiques (mutations, polymorphismes) de la PRL ou de son récepteur avec la pathologie. Quelques études se sont penchées sur cette question et ont effectivement proposé une association possible avec certains SNP (*single nucleotide polymorphism*) du gène PRLR, localisés très majoritairement dans des régions non codantes [50-52]. Il faut cependant souligner que ce type d'analyses, aussi bien menées soient-elles, ne fournit aucune base fonctionnelle aux associations proposées ; leur pertinence réelle reste donc à démontrer. À ce jour, seuls deux variants fonctionnels gain-de-fonction du PRLR ont été identifiés, dénommés PRLR-I76V et PRLR-I146L [53, 54]. Il s'agit de substitutions faux-sens dans le domaine extracellulaire du récepteur, c'est-à-dire le domaine liant l'hormone. Dans des modèles cellulaires reconstitués, ces substitutions confèrent au PRLR une activité de signalisation basale, certes inférieure à celle induite par la PRL mais néanmoins significativement plus élevée par rapport au PRLR sauvage non stimulé. Le PRLR-I146L s'avère potentiellement le plus intéressant des deux SNP. D'une part son activité basale est plus élevée que celle du PRLR-I76V, d'autre part son association avec une pathologie mammaire bénigne a été proposée, suggérant l'impact potentiel de ce variant en pathologie humaine [53]. Allant dans le même sens, une étude pionnière l'avait proposé comme potentiellement associé au cancer du sein, sans néanmoins que la taille de la cohorte ne permette d'atteindre une valeur statistique de cette hypothèse [55]. Une étude en cours au laboratoire vise à déterminer la fréquence du PRLR-I146L dans diverses pathologies mammaires bénignes et malignes, par comparaison à la population générale, afin d'éclaircir son rôle éventuel dans les pathologies mammaires.

Un second argument pour impliquer la PRL dans le cancer du sein chez la femme serait d'observer une augmentation du risque à long terme de développer cette pathologie chez des femmes hyperprolac-tinémiques non normalisées par un traitement dopaminergique. Le

problème est que, dans la majorité des cas, ces patientes sont traitées soit par bromocriptine ou par chirurgie hypophysaire, et quand elles ne le sont pas, reçoivent éventuellement un traitement hormonal séquentiel dont l'action sur le sein pourrait interférer avec les résultats obtenus. C'est pourquoi il n'existe à notre connaissance aucune étude pouvant soutenir, sur la base de données précises, l'association entre ces deux pathologies. Dans une étude récente impliquant près de 1 000 patientes hyperprolactinémiques en grande majorité normalisées, aucune augmentation du risque de cancer du sein n'a été retrouvée par comparaison à près de 10 000 sujet contrôles [56].

Un troisième argument serait de corrélérer les taux circulants de PRL (en dehors du contexte de l'hyperprolactinémie) avec la pathologie. En 1999, la première étude épidémiologique d'envergure a été publiée pour évaluer si les taux circulants de PRL étaient un facteur de risque du cancer du sein [57]. Menée dans le cadre de la *Nurse Health Study* (30 000 femmes), l'étude initiale portait sur 306 cas de cancer du sein diagnostiqués sur 5 années de suivi. Les auteurs ont proposé que les femmes présentant un taux de PRL dans le quartile supérieur de la normale avaient un risque de développer un cancer du sein significativement supérieur (2 fois) comparativement aux femmes ayant un taux de PRL dans le quartile inférieur. Cette étude s'est poursuivie depuis, avec des publications régulières au fur et à mesure de l'augmentation du nombre de cancers du sein diagnostiqués au sein de la cohorte. La dernière publication en date [58] conclut à un risque relatif (RR) de 1,20 (95 % CI ; 1,03-1,40 ; n = 2 468 cas *versus* 4 021 contrôles) si l'on compare les quartiles inférieur *versus* supérieur, et ce lorsque la prolactinémie a été mesurée moins de 10 ans avant le diagnostic de la maladie (il n'y a pas d'association pour les mesures faites au-delà de 10 ans). En accord avec les études initiales, même si les chiffres de risque relatif se sont quelque peu affinés (à la baisse), l'association positive a été largement confirmée et s'avère plus forte pour les tumeurs exprimant le récepteur des estrogènes (tumeurs ER+ : RR = 1,28) pour les femmes post-ménopausées (RR = 1,37), et parmi celles-ci, pour les cancers ER+ (RR = 1,52) ou métastatiques (RR = 1,63). La PRL commence donc aujourd'hui à être admise comme un facteur de risque du cancer du sein, indépendant de l'estradiol.

Ces données supportant que la PRL circulante soit un facteur de risque du cancer du sein s'accordent pourtant assez mal avec les résultats des quelques anciennes études cliniques au cours desquelles des patientes atteintes de cancer du sein n'avaient montré aucune amélioration apparente quant à la progression tumorale et la survie à long terme suite à un traitement par des analogues dopaminergiques

(bromocriptine), et ce malgré un abaissement avéré des taux circulants de PRL (pour revue, [59, 60]). Bien avant les publications de l'équipe de Hankinson, ces résultats décevants avaient donc conduit une bonne partie de la communauté scientifique et médicale à considérer que la PRL ne jouait aucun rôle majeur dans le cancer du sein. Cependant, comme nous l'avons vu plus haut, la PRL pourrait agir sur les tumeurs mammaires autrement que par voie endocrine, puisqu'elle est aussi exprimée dans la glande elle-même. Or, cette PRL produite localement en quantité infime reste sans doute majoritairement dans le tissu mammaire et, de ce fait, est supposée contribuer de manière infime (ou nulle) aux taux circulants accessibles aux études épidémiologiques. De plus, à l'exception d'un seul rapport expérimental, il n'y a pas d'argument en faveur de sa régulation négative par les drogues dopaminergiques (voir plus haut). Si l'implication de la PRL locale dans la tumorigenèse mammaire correspond à une quelconque réalité dans le cancer du sein « *in vivo* », cela pourrait constituer une explication plausible quant à l'échec des agonistes dopaminergiques dans le cas de traitements de cancers du sein [18, 59-61].

Existe-t-il des arguments en faveur d'une telle hypothèse ? Le premier vient de publications suggérant que la boucle autocrine-paracrine de la PRL serait amplifiée dans le tissu mammaire tumoral (comparativement au tissu sain adjacent) par l'augmentation de l'expression de ses acteurs, à savoir la PRL [62] et/ou son récepteur [63-67]. Le second argument vient d'une étude récente indiquant que l'expression locale de PRL, quantifiée par immunohistochimie, est corrélée à divers paramètres défavorables de la tumeur (stade, grade, métastases) et, en corollaire, à une moindre survie des patientes [68]. Ces observations se devront d'être confirmées avant que la PRL locale puisse être définitivement validée comme un mécanisme contribuant de manière significative à la progression du cancer du sein. Les nouvelles stratégies thérapeutiques pourront, nous l'espérons, y contribuer.

En effet, la mise en lumière des différents mécanismes d'action potentiels de la PRL (endocrine, paracrine, autocrine) a conduit à repenser les stratégies thérapeutiques visant à cibler ce système hormonal dans le cancer du sein (ou d'autres cancers d'ailleurs). En effet, plutôt que de chercher à inhiber l'expression extra-hypophysaire du gène de la PRL dont on ignore tout ou presque de la régulation transcriptionnelle, des stratégies innovantes visant à empêcher l'activation de son récepteur, quelle que soit l'origine tissulaire de l'hormone, ont récemment vu le jour. Ainsi, diverses équipes se sont lancées dans le développement de molécules visant à bloquer le PRLR

en conformation inactive, que ce soit par le biais de ligands agissant comme antagonistes compétitifs de la PRL [69] ou, très récemment, d'anticorps monoclonaux neutralisants dirigés contre le PRLR [70]. Ces deux types de molécules ont démontré leurs capacités d'inhibition du signal PRL dans de nombreux modèles précliniques [15, 71, 72]. Parmi les effets intéressants qui ont été observés et qui pourraient constituer une piste à retenir dans le cadre d'applications thérapeutiques futures, citons la capacité des antagonistes du PRLR à potentialiser *in vitro* l'effet de certains agents cytotoxiques utilisés en chimiothérapie (doxorubicin, paclitaxel), en accord avec les publications décrivant l'effet protecteur de la PRL autocrine envers ceux-ci [73, 74]. Ces observations, ainsi que l'existence de dialogues moléculaires entre la signalisation du PRLR et celle d'autres facteurs de croissance, plaident en faveur d'approches thérapeutiques combinées [49].

III.2. Hypothèse 2 : la prolactine, un facteur de bon pronostic ?

Dans la glande mammaire, les effets de la voie PRLR/Stat5 sur la prolifération/survie sont indissociables de ses effets sur la différenciation cellulaire [7]. Comme mentionné plus haut, l'absence d'un des acteurs de cette voie (PRL, PRLR, Stat5) empêche tout développement de la glande mammaire. Il y a en réalité deux gènes distincts codant pour les protéines appelées « Stat5 » au sens générique : il s'agit de Stat5A et Stat5B, qui diffèrent essentiellement dans leurs parties C-terminales. Bien que partiellement redondantes d'un point de vue fonctionnel, ces deux protéines présentent malgré tout des spécificités quant à leur distribution et leurs propriétés intrinsèques. Dans la glande mammaire, Stat5A est prépondérant et l'inactivation de son gène conduit à l'absence de développement de la glande mammaire lors de la gestation, empêchant toute lactation. Par contre, Stat5B est proportionnellement plus abondant dans le foie et le muscle, et l'inactivation de ce gène, sans effet majeur sur la glande mammaire, a par contre des conséquences sur la croissance corporelle, en bon accord avec le nanisme observé chez les patients porteurs de mutations de Stat5B [75].

Stat5A est donc un facteur essentiel pour la différenciation de la cellule épithéliale mammaire en cellule sécrétoire ; c'est d'ailleurs le facteur de transcription prépondérant dans l'activation transcriptionnelle des gènes codant pour les protéines du lait. Des travaux de recherche récents menés sur des lignées tumorales mammaires *in vitro* suggèrent

que l'activation de Stat5¹ pourrait avoir un rôle analogue dans le cancer du sein en maintenant les cellules dans un état différencié. La première publication allant dans ce sens date de 2005 et proposa que Stat5 soit en réalité un facteur suppresseur de tumeurs mammaires de par son action inhibitrice de l'invasion et de la progression métastatique mises en évidence dans des modèles cellulaires. Un des mécanismes proposé suggère que l'activation de la voie Stat5 activée par la PRL induise l'expression de la E-cadhérine, protéine de surface favorisant l'adhésion homotypique des cellules épithéliales [76]. Sur le plan cellulaire, l'activation de la voie PRL/Stat5 s'opposerait ainsi au phénomène de transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), c'est-à-dire la dédifférenciation des cellules cancéreuses, élément considéré comme favorisant leur capacité d'invasion [77]. Cette théorie a été soutenue par un autre groupe d'investigateurs, qui a quant à lui utilisé des cellules tumorales mammaires MDA-MB-231 présentant intrinsèquement un phénotype très mésenchymateux et invasif. Ces cellules n'exprimant pas le PRLR, celui-ci y a été réintroduit expérimentalement afin de permettre la reconstitution de la voie de signalisation PRLR/Stat5, avec pour conséquence de supprimer les capacités d'invasion et le phénotype mésenchymateux des cellules [78]. L'expérience inverse consistant à inhiber la PRL autocrine dans des cellules tumorales mammaires différenciées (T47D) a conduit à un phénotype plus mésenchymateux et une augmentation des propriétés d'invasion [78]. L'hypothèse émise par ces auteurs est donc que dans ces modèles expérimentaux de cancer du sein, la PRL aurait principalement une action de type suppresseur d'invasion et de métastases.

Cette hypothèse apparaît en bonne corrélation avec certaines observations faites chez l'homme au cours des dernières années. En effet, dès 2004, une publication comparant du tissu mammaire normal à des tumeurs mammaires localisées, localement invasives ou métastatiques, avait montré que l'activation de Stat5 était graduellement perdue au cours de la progression du cancer. De manière relativement inattendue étant donné les publications défendant un rôle pro-tumoral de la voie PRL/Stat5, cette activation de Stat5 s'avérait donc un facteur de bon pronostic, corrélé à un maintien de l'état de différenciation de la tumeur [79]. La moindre expression de Stat5 dans des carcinomes invasifs comparativement à des types histologiques bien différenciés a

1. Il est à noter que la plupart des anticorps dirigés contre Stat5, qu'il s'agisse des formes phosphorylées (actives) ou non, reconnaissent aussi bien Stat5A que Stat5B, dès lors le terme générique Stat5 est utilisé lorsque l'isoforme n'a pas été clairement identifiée à l'aide d'anticorps spécifiquement dirigés contre l'une ou l'autre.

ensuite été confirmée par d'autres investigateurs [80, 81]. Des études ultérieures ont permis de conforter et affiner cette hypothèse initialement controversée. Utilisant plusieurs cohortes distinctes et une méthodologie d'imagerie de pointe pour quantifier les marquages immunohistochimiques, le groupe de Rui a démontré que la perte de Stat5 nucléaire phosphorylé, c'est-à-dire la forme activée, i) était un marqueur pronostique indépendant du cancer du sein non invasif, ii) était aussi un facteur prédictif de l'échec des thérapies anti-estrogéniques [82], et iii) résultait d'une perte d'expression (et d'activation) spécifiquement liée à Stat5A et non Stat5B [83], en bon accord avec le rôle prépondérant de Stat5A dans la glande mammaire [7].

Pour conclure ce chapitre, il est important de noter que ces travaux qui se sont focalisés sur l'activation de Stat5 dans le cancer du sein n'ont pas permis d'identifier les facteurs déclencheurs en amont de cette voie. Certes la PRL est-elle la principale hormone activant Stat5 dans le tissu mammaire, mais d'autres hormones, cytokines ou facteurs de croissance (hormone de croissance, l'érythropoïétine, l'interleukine-6, le facteur de croissance épidermique) peuvent également l'activer. Indirectement, ces travaux suggèrent néanmoins, sans toutefois le démontrer formellement, que l'activation de la voie PRL/PRLR/Stat5 puisse contribuer à une évolution favorable des cancers du sein localisés. En corollaire, ils posent clairement la question de l'effet potentiellement néfaste que pourraient avoir des stratégies thérapeutiques (anticorps, antagonistes) visant à inhiber la signalisation PRLR dans le contexte de cancers du sein différenciés.

CONCLUSION

Le rôle de la PRL dans le cancer du sein demeure plus que jamais difficile à appréhender. De nombreuses questions restent posées, à plusieurs niveaux. Par exemple :

- jusqu'à quel point les enseignements des modèles animaux sont-ils extrapolables au contexte clinique ?
- la signalisation PRL activée dans le cancer du sein implique-t-elle plutôt l'hormone circulante ou l'hormone locale ? Ou les deux ? Ou l'une ou/puis l'autre selon les caractéristiques intrinsèques ou la progression du cancer ?
- la propriété de la PRL majoritairement mise à contribution dans le cancer du sein est-elle son action proliférative supposée

favoriser l'initiation/promotion de la tumeur, ou au contraire son action différenciative supposée prévenir la dissémination métastatique ? Ou un savant mélange des deux dont le curseur serait le degré d'activation de Stat5 ?

- comment est régulée la balance de cette dualité de fonction de Stat5 au regard des autres cascades de signalisation activées par le PRLR (MAPK, Akt) et des dialogues de celles-ci avec les voies de signalisation d'autres facteurs connus pour favoriser la progression tumorale mammaire (estradiol, EGF, IGF-1) (Figure 1) ?

Si l'on tente de réconcilier les deux hypothèses présentées succinctement dans cet article, on peut suggérer que la voie d'activation PRL/Jak2/Stat5 jouerait donc un double rôle dans la tumorigenèse mammaire : d'une part (ou dans un premier temps ?) elle pourrait avoir une action défavorable en agissant positivement sur l'initiation/promotion des tumeurs, hypothèse largement supportée par tous les modèles expérimentaux, et d'autre part (ou dans un second temps ?) elle pourrait avoir une action favorable en maintenant les cellules tumorales dans un état (relativement) différencié prévenant les capacités d'invasion, hypothèse plutôt soutenue par les récentes observations chez l'homme. Il faut mentionner que cette dualité fonctionnelle de Stat5 trouve écho dans bien d'autres tissus [84]. Pour le sein, c'est peut-être l'équilibre entre ces deux effets qui est important, ce qui voudrait dire que toute dérégulation de l'activation de Stat5, qu'elle soit positive ou négative, pourrait avoir des effets pro-tumoraux en agissant à des stades différents du développement tumoral, rendant délicat une intervention thérapeutique visant à inhiber cette voie. Comme déjà mentionné plus haut, il serait donc souhaitable que des essais cliniques impliquant les nouveaux inhibiteurs de la signalisation PRLR soient pensés de manière pertinente afin de prendre en compte cette dualité de fonction, et qu'ils soient menés avec une envergure suffisante (nombre de patientes, différents types moléculaires/stades de cancers, etc.) afin de clarifier définitivement les actions a priori contradictoires de la PRL dans cette pathologie.

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr Jacques-Emmanuel Guidotti pour la relecture critique de ce manuscrit.

Bibliographie

- [1] Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA. Prolactin and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in prolactin receptor knockout mice. *Endocr Rev* 1998;19:225-268.
- [2] Ormandy CJ, Camus A, Barra J *et al.* Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse. *Genes Dev* 1997;11:167-178.
- [3] Horseman ND, Zhao W, Montecino-Rodriguez E *et al.* Defective mammapoiesis, but normal hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene. *EMBO J* 1997;16:6926-6935.
- [4] Ormandy CJ, Binart N, Kelly PA. Mammary gland development in prolactin receptor knockout mice. *J Mammary Gland Biol Neopl* 1997;2:355-364.
- [5] Neville MC, McFadden TB, Forsyth I. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002;7:49-66.
- [6] Hennighausen L, Robinson GW. Information networks in the mammary gland. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:715-725.
- [7] Hennighausen L, Robinson GW. Interpretation of cytokine signaling through the transcription factors STAT5A and STAT5B. *Genes Dev* 2008;22:711-721.
- [8] Vonderhaar BK. Prolactin involvement in breast cancer. *Endocrine-related cancer* 1999;6:389-404.
- [9] Goffin V, Touraine P, Pichard C, Bernichtein S, Kelly PA. Should prolactin be reconsidered as a therapeutic target in human breast cancer? *Mol Cell Endocrinol* 1999;151:79-87.
- [10] Llovera M, Touraine P, Kelly PA, Goffin V. Involvement of prolactin in breast cancer: redefining the molecular targets. *Exp Gerontol* 2000;35:41-51.
- [11] Brockman JL, Schroeder MD, Schuler LA. PRL activates the cyclin D1 promoter via the Jak2/Stat pathway. *Mol Endocrinol* 2002;16:774-784.
- [12] Gutzman JH, Rugowski DE, Schroeder MD, Watters JJ, Schuler LA. Multiple Kinase Cascades Mediate Prolactin Signals to Activating Protein-1 in Breast Cancer Cells. *Mol Endocrinol* Dec;18(12):3064-75.
- [13] Janssen T, Darro F, Petein M *et al.* *In vitro* characterization of prolactin-induced effects on proliferation in the neoplastic LNCaP, DU145, and PC3 models of the human prostate. *Cancer* 1996;77:144-149.
- [14] Shiu RP, Elsholtz HP, Tanaka T *et al.* Receptor-mediated mitogenic action of prolactin in a rat lymphoma cell line. *Endocrinology* 1983;113:159-165.
- [15] Goffin V, Bernichtein S, Touraine P, Kelly PA. Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. *Endocr Rev* 2005;26:400-422.
- [16] Xu X, Kreye E, Kuo CB, Walker AM. A molecular mimic of phosphorylated prolactin markedly reduced tumor incidence and size when du145 human prostate cancer cells were grown in nude mice. *Cancer Res* 2001;61:6098-6104.
- [17] Chen NY, Holle L, Li W, Peirce SK, Beck MT, Chen WY. *In vivo* studies of the anti-tumor effects of a human prolactin antagonist, hPRL-G129R. *Int J Oncol* 2002;20:813-818.
- [18] Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL, Steinmetz RW. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects. *Endocr Rev* 1996;17:639-669.
- [19] Ramot Y, Biro T, Tiede S *et al.* Prolactin-a novel neuroendocrine regulator of human keratin expression *in situ*. *FASEB J* 2010;24:1768-1779.
- [20] Clevenger CV, Chang WP, Ngo W, Pasha TM, Montone KT, Tomaszewski JE. Expression of prolactin and prolactin receptor in human breast carcinoma. *Am J Pathol* 1995;146:695-705.
- [21] Clevenger CV, Plank TL. Prolactin as an autocrine/paracrine factor in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neopl* 1997;2:59-68.
- [22] Ginsburg E, Vonderhaar BK. Prolactin synthesis and secretion by human breast cancer cells. *Cancer Res* 1995;55:2591-2595.
- [23] Mershon J, Sall W, Mitchner N, Ben-Jonathan N. Prolactin is a local growth factor in rat mammary tumors. *Endocrinology* 1995;136:3619-3623.

- [24] Zinger M, McFarland M, Ben Jonathan N. Prolactin expression and secretion by human breast glandular and adipose tissue explants. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:689-696.
- [25] Hugo ER, Borcharding DC, Gersin KS, Loftus J, Ben Jonathan N. Prolactin release by adipose explants, primary adipocytes, and LS14 adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:4006-4012.
- [26] Llovera M, Pichard C, Bernichtein S *et al.* Human prolactin (hPRL) antagonists inhibit hPRL-activated signaling pathways involved in breast cancer cell proliferation. *Oncogene* 2000;19:4695-4705.
- [27] Chen WY, Ramamoorthy P, Chen N, Sticca R, Wagner TE. A human prolactin antagonist, hPRL-G129R, inhibits breast cancer cell proliferation through induction of apoptosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:3583-3593.
- [28] Schroeder MD, Symowicz J, Schuler LA. PRL modulates cell cycle regulators in mammary tumor epithelial cells. *Mol Endocrinol* 2002;16:45-57.
- [29] Liby K, Neltner B, Mohamet L, Menchen L, Ben Jonathan N. Prolactin overexpression by MDA-MB-435 human breast cancer cells accelerates tumor growth. *Breast Cancer Res Treat* 2003;79:241-252.
- [30] Peirce SK, Chen WY. Human prolactin and its antagonist, hPRL-G129R, regulate bax and bcl-2 gene expression in human breast cancer cells and transgenic mice. *Oncogene* 2004;23:1248-1255.
- [31] Chen CC, Stairs DB, Boxer RB *et al.* Autocrine prolactin induced by the Pten-Akt pathway is required for lactation initiation and provides a direct link between the Akt and Stat5 pathways. *Genes Dev* 2012;26:2154-2168.
- [32] Christensen HR, Murawsky MK, Horseman ND, Willson TA, Gregerson KA. Completely humanizing prolactin rescues infertility in prolactin knockout mice and leads to human prolactin expression in extrapituitary mouse tissues. *Endocrinology* 2013 Sep 12. [Epub ahead of print].
- [33] Shaw-Bruha CM, Pirruccello SJ, Shull JD. Expression of the prolactin gene in normal and neoplastic human breast tissues and human mammary cell lines: promoter usage and alternative mRNA splicing. *Breast Cancer Res Treat* 1997;44:243-253.
- [34] Dagvadorj A, Collins S, Jomain JB *et al.* Autocrine prolactin promotes prostate cancer cell growth via Janus kinase-2-signal transducer and activator of transcription-5a/b signaling pathway. *Endocrinology* 2007;148:3089-3101.
- [35] Semprini S, Friedrichsen S, Harper CV *et al.* Real-time visualization of human prolactin alternate promoter usage *in vivo* using a double-transgenic rat model. *Mol Endocrinol* 2009; 23:529-538.
- [36] Borcharding DC, Hugo ER, Idelman G *et al.* Dopamine receptors in human adipocytes: expression and functions. *PLoS ONE* 2011;6: e25537.
- [37] Welsch CW, Nagasawa H. Prolactin and murine mammary tumorigenesis: a review. *Cancer Res* 1977;37:951-963.
- [38] Boyns AR, Buchan R, Cole EN, Forrest AP, Griffiths K. Basal prolactin blood levels in three strains of rat with differing incidence of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced mammary tumours. *Eur J Cancer* 1973;9:169-171.
- [39] Vomachka AJ, Pratt SL, Lockfefer JA, Horseman ND. Prolactin gene-disruption arrests mammary gland development and retards T-antigen-induced tumor growth. *Oncogene* 2000;19:1077-1084.
- [40] Oakes SR, Robertson FG, Kench JG *et al.* Loss of mammary epithelial prolactin receptor delays tumor formation by reducing cell proliferation in low-grade preinvasive lesions. *Oncogene* 2007;26:543-553.
- [41] Arendt LM, Schuler LA. Transgenic models to study actions of prolactin in mammary neoplasia. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2008;13:29-40.
- [42] Wennbo H, Gebre-Medhin M, Gritli-Linde A, Ohlsson C, Isaksson OG, Tornell J. Activation of the prolactin receptor but not the growth hormone receptor is important for induction of mammary tumors in transgenic mice. *J Clin Invest* 1997;100:2744-2751.
- [43] Iavnilovitch E, Cardiff RD, Groner B, Barash I. Deregulation of Stat5 expression and activation causes mammary tumors in transgenic mice. *Int J Cancer* 2004;112:607-619.
- [44] Ren S, Cai HR, Li M, Furth PA. Loss of Stat5a delays mammary cancer progression in a mouse model. *Oncogene* 2002;21:4335-4339.
- [45] Rose-Hellekant TA, Arendt LM, Schroeder MD, Gilchrist K, Sandgren EP, Schuler LA. Prolactin induces ERalpha-positive and ERalpha-negative mammary cancer in

- transgenic mice. *Oncogene* 2003;22:4664-4674.
- [46] Gourdou I, Paly J, Hue-Beauvais C, Pesseme L, Clark J, Djiane J. Expression by transgenesis of a constitutively active mutant form of the prolactin receptor induces premature abnormal development of the mouse mammary gland and lactation failure. *Biol Reprod* 2004;70:718-728.
- [47] Manhes C, Kayser C, Bertheau P *et al.* Local over-expression of prolactin in differentiating mouse mammary gland induces functional defects and benign lesions, but no carcinoma. *J Endocrinol* 2006;190:271-285.
- [48] Arendt LM, Rugowski DE, Grafwallner-Huseth TA, Garcia-Barchino MJ, Rui H, Schuler LA. Prolactin-induced mouse mammary carcinomas model estrogen resistant luminal breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011;13:R11.
- [49] Carver KC, Arendt LM, Schuler LA. Complex prolactin crosstalk in breast cancer: new therapeutic implications. *Mol Cell Endocrinol* 2009;307:1-7.
- [50] Vaclavicek A, Hemminki K, Bartram CR *et al.* Association of prolactin and its receptor gene regions with familial breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1513-1519.
- [51] Lee SA, Haiman CA, Burt NP *et al.* A comprehensive analysis of common genetic variation in prolactin (PRL) and PRL receptor (PRLR) genes in relation to plasma prolactin levels and breast cancer risk: the multiethnic cohort. *BMC Med Genet* 2007;8:72.
- [52] Mong FY, Kuo YL, Liu CW, Liu WS, Chang LC. Association of gene polymorphisms in prolactin and its receptor with breast cancer risk in Taiwanese women. *Mol Biol Rep* 2011;38:4629-4636.
- [53] Bogorad RL, Courtillot C, Mestayer C *et al.* Identification of a gain-of-function mutation of the prolactin receptor in women with benign breast tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:14533-14538.
- [54] Courtillot C, chakhtoura Z, Bogorad R *et al.* Characterization of two constitutively active prolactin receptor variants in a cohort of 95 women with multiple breast fibroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:271-279.
- [55] Canbay E, Degerli N, Gulluoglu BM, Kaya H, Sen M, Bardakci F. Could prolactin receptor gene polymorphism play a role in pathogenesis of breast carcinoma? *Curr Med Res Opin* 2004;20:533-540.
- [56] Berinder K, Akre O, Granath F, Hulting AL. Cancer risk in hyperprolactinemia patients: a population-based cohort study. *Eur J Endocrinol* 2011;165:209-215.
- [57] Hankinson SE, Willett WC, Michaud DS *et al.* Plasma prolactin levels and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:629-634.
- [58] Tworoger SS, Eliassen AH, Zhang X *et al.* A 20-year prospective study of plasma prolactin as a risk marker of breast cancer development. *Cancer Res* 2013;73:4810-4819.
- [59] Clevenger CV, Furth PA, Hankinson SE, Schuler LA. The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocr Rev* 2003;24:1-27.
- [60] Vonderhaar BK. Prolactin: the forgotten hormone of human breast cancer. *Pharmacol Ther* 1998;79:169-178.
- [61] Ben Jonathan N, Lapensee CR, Lapensee EW. What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocr Rev* 2008;29:1-41.
- [62] McHale K, Tomaszewski JE, Puthiyaveetil R, Livolsi VA, Clevenger CV. Altered expression of prolactin receptor-associated signaling proteins in human breast carcinoma. *Mod Pathol* 2008;21:565-571.
- [63] Reynolds C, Montone KT, Powell CM, Tomaszewski JE, Clevenger CV. Expression of prolactin and its receptor in human breast carcinoma. *Endocrinology* 1997;138:5555-5560.
- [64] Ormandy CJ, Hall RE, Manning DL *et al.* Coexpression and cross-regulation of the prolactin receptor and sex steroid hormone receptors in breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3692-3699.
- [65] Touraine P, Martini JF, Zafrani B *et al.* Increased expression of prolactin receptor gene assessed by quantitative polymerase chain reaction in human breast tumors *versus* normal breast tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:667-674.
- [66] Gill S, Peston D, Vonderhaar BK, Shousha S. Expression of prolactin receptors in normal, benign, and malignant breast tissue: an immunohistological study. *J Clin Pathol* 2001;54:956-960.
- [67] Meng J, Tsai-Morris CH, Dufau ML. Human prolactin receptor variants in breast cancer: low ratio of short forms to the long-form human prolactin receptor associated with mammary carcinoma. *Cancer Res* 2004;64:5677-5682.

- [68] Wu ZS, Yang K, Wan Y *et al.* Tumor expression of human growth hormone and human prolactin predict a worse survival outcome in patients with mammary or endometrial carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:E1619-E1629.
- [69] Bernichtein S, Kayser C, Dillner K *et al.* Development of pure prolactin receptor antagonists. *J Biol Chem* 2003;278:35988-35999.
- [70] Damiano JS, Rendahl KG, Karim C *et al.* Neutralization of prolactin receptor function by monoclonal antibody LFA102, a novel potential therapeutic for the treatment of breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2013;12:295-305.
- [71] Damiano JS, Wasserman E. Molecular pathways: blockade of the PRLR signaling pathway as a novel antihormonal approach for the treatment of breast and prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:1644-1650.
- [72] Goffin V, Hoang DT, Bogorad RL, Nevalainen MT. Prolactin regulation of the prostate gland: a female player in a male game. *Nat Rev Urol* 2011;8:597-607.
- [73] Howell SJ, Anderson E, Hunter T, Farnie G, Clarke RB. Prolactin receptor antagonism reduces the clonogenic capacity of breast cancer cells and potentiates doxorubicin and paclitaxel cytotoxicity. *Breast Cancer Res* 2008;10:R68.
- [74] Lapensee E, Ben Jonathan N. Novel roles of prolactin and estrogens in breast cancer: resistance to chemotherapy. *Endocr Relat Cancer* 2010;
- [75] Kofoed EM, Hwa V, Little B *et al.* Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. *N Engl J Med* 2003;349:1139-1147.
- [76] Sultan AS, Xie J, LeBaron MJ, Ealley EL, Nevalainen MT, Rui H. Stat5 promotes homotypic adhesion and inhibits invasive characteristics of human breast cancer cells. *Oncogene* 2005;24:746-760.
- [77] Sultan AS, Brim H, Sherif ZA. Co-overexpression of Janus kinase 2 and signal transducer and activator of transcription 5a promotes differentiation of mammary cancer cells through reversal of epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Sci* 2008;99:272-279.
- [78] Nouhi Z, Chughtai N, Hartley S, Cocolakis E, Lebrun JJ, Ali S. Defining the role of prolactin as an invasion suppressor hormone in breast cancer cells. *Cancer Res* 2006;66:1824-1832.
- [79] Nevalainen MT, Xie J, Torhorst J *et al.* Signal transducer and activator of transcription-5 activation and breast cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2004;22:2053-2060.
- [80] Strauss BL, Brathauer GL, Tavassoli FA. STAT 5a expression in the breast is maintained in secretory carcinoma, in contrast to other histologic types. *Hum Pathol* 2006;37:586-592.
- [81] Brathauer GL, Strauss BL, Tavassoli FA. STAT 5a expression in various lesions of the breast. *Virchows Arch* 2006;448:165-171.
- [82] Peck AR, Witkiewicz AK, Liu C *et al.* Loss of nuclear localized and tyrosine phosphorylated Stat5 in breast cancer predicts poor clinical outcome and increased risk of antiestrogen therapy failure. *J Clin Oncol* 2011;29:2448-2458.
- [83] Peck AR, Witkiewicz AK, Liu C *et al.* Low levels of Stat5a protein in breast cancer are associated with tumor progression and unfavorable clinical outcomes. *Breast Cancer Res* 2012;14:R130.
- [84] Ferbeyre G, Moriggl R. The role of Stat5 transcription factors as tumor suppressors or oncogenes. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815:104-114.

