**Återapportering Postdokstipendium Tegger Stiftelsen**

Min postdokvistelse (4 år, 2010-2013) har tillbringats i Mammary Stem Cell Group vid King’s College London, Storbritannien. De första två åren (2010-2011) delfinansierades av Tegger Stiftelsen (tillsammans med Vetenskapsrådet).

**Bakgrund**

Det övergripande syftet med det projekt jag sökte stipendium för var att studera effekter av inhibering av Notchsignalering på bröstcancertillväxt och mer specifikt vad som händer med stamcellspopulationen i tumörer vid Notchinhibering. Målet var också att försöka förstå vilken roll Notchsignalering har i utveckling av normal bröstvävnad och dess medverkan i uppkomst av bröstcancer. För att nå det syftet ville vi använda en matematisk modell för bröstcancercelltillväxt som skulle göra det möjligt att förutsäga hur en tumör svarar på olika stimuli, såsom hämning av Notchsignalvägen. Anledningen till att fokusera på Notchsignalering var dess tidigare visade roll i reglering av stamcellspoolen i olika vävnader och dess föreslagna påverkan på cancerstamceller. Gammasecretasehämmare (GSI) riktade mot Notchsignalvägen utvärderas för närvarande i kliniska fas II prövningar i leukemi och bröstcancer som cancerstamcellsriktad terapi med oklara resultat så här långt.

**Resultat**

Vi etablerade en första matematisk modell för bröstcancertillväxt som inkluderade cellhierarkin i tumörer, där vi kunde förutspå effekten av olika stimuli, såsom hämning av Notchsignalvägen. Men när vi testade förutsägelser från den matematiska modellen experimentellt överensstämde resultaten endast delvis med modellen.

Vi ville därför studera uttryck och funktioner av Notchsignalvägen in normal bröstvävnad och i bröstcancer mer i detalj. Vi karakteriserade uttrycket av proteiner i Notchsignalvägen i normal bröstvävnad samt i xenografter och cellinjer från brösttumörer med hjälp av immunohistokemi. De finns fyra olika Notchreceptorer (Notch1-4) och vi upptäckte distinkta färgningsmönster för enskilda Notchreceptorer i normal bröstvävnad, vilket tyder på att de kan ha olika funktioner och/eller att de uttrycks vid olika stadier under vävnadutvecklingen. Intressant nog var höga nivåer av Notch2 specifikt uttryckt i den ALDH-positiva stamcellspopulationen. Våra data från dubbelfärgning med markörer för cellproliferation och cellarrest, tillsammans med data från funktionella in vitro studier där vi använde primära bröstepitelceller visar att Notch2 har en roll i att hålla stamceller i ett vilotillstånd i normal bröstvävnad. Detta är i kontrast till bland annat Notch4 som tidigare har visats driva expansion av stamceller i bröstvävnad.

När vi studerade effekterna av Notchinhibering med GSI (som inhiberar alla Notchreceptorer) på både generell celltillväxt och mer specifikt på stamcellsfraktionen i olika bröstcancercellinjer märkte vi att olika cellinjer gav olika respons, vilket indikerar att det relativa uttrycket av individuella Notchreceptorer kan ha betydelse för hur en cellinje, men också en tumör, svarar på behandling. Detta stöddes ytterligare av data när vi tystade uttrycket av individuella Notchreceptorer med hjälp av sh/siRNA.

Vi analyserade ett material med 114 brösttumörer för uttryck av Notch2 och markörer för cellproliferation och cellarrest med hjälp av immunohistokemi. Överlevnadsanalyser visade att patienter med högt Notch2 uttryck hade signifikant sämre överlevnad jämfört med patienter med lägre Notch2 nivåer, vilket ytterligare stödjer vår hypotes att Notch2 kan vara anrikat i cancerstamceller.

Våra experimentella resultat tyder på att hur en brösttumör svarar på behandling med Notchinhibitorer beror på det relativa uttrycket och aktiviteten hos de fyra Notchreceptorerna. Därför är det viktigt att ytterligare studera funktionen av individuella Notchreceptorerna i mer detalj för att på så sätt bättre kunna förutsäga hur en specifik tumör kommer att svara på behandling riktad mot Notchsignalvägen.

**Publikationer/Manuskript**

*Publicerade artiklar*

Marlow R, **Honeth G**, Lombardi S, Cariati M, Hessey S, Pipili A, Mariotti V, Buchupalli B, Foster K, Bonnet D, GrigoriadisA, Rameshwar P, Purushotham A, Tutt A, Dontu G. A Novel Model of Dormancy for Bone Metastatic Breast Cancer Cells. *Cancer Research 2013, [Epub ahead of print].*

*Inskickade manuskript*

**Honeth G**, Lombardi S, Ginestier C, Hur MH, Marlow R, Buchupalli B, Shinomiya I, Ramalingam V, Purushotham A, Pinder S, Dontu G. Aldehyde dehydrogenase and estrogen receptor define a cellular hierarchy of differentiation in the normal human mammary epithelium. *Submitted 2013.*

Lombardi S, Ginestier C, **Honeth G**, Shinomiya I, Marlow R, Buchupalli B, Gazinska P, Brown J, Catchpole S, Barkan A, Liu S, Purushotham A, Wicha MS Burchell J, Pinder S, Dontu G. Growth hormone is secreted by normal breast epithelium upon progesterone stimulation and increases proliferation of stem/progenitor cells. *Submitted 2013.*

*Manuskript under preparation*

**Honeth G** *et al*. Involvement of Notch2 in Proliferation/Quiescence of Normal and Malignant Mammary Stem Cells.

**Honeth G** *et al*. Expression Patterns and Anatomical Localization of Stem Cell Markers in the Normal Breast.

*Abstract presenterade vid internationella forskningskonferenser*

**Honeth G**, Marlow R, Shinomiya I, Lombardi S, Buchupalli B, Dontu G. A Role of Notch2 in Quiescence of Mammary Stem/Progenitor Cells (Late Breaking Abstract), *AACR Annual Meeting 2012, Chicago*.

Lombardi S, Ginestier C, **Honeth G**, Shinomiya I, Marlow R, Buchupalli B, Gazinska P, Brown J, Purushotham A, Wicha M, Pinder S, Dontu G. Growth Hormone Signaling in Mammary Stem and Progenitor Cells (Late Breaking Abstract), *AACR Annual Meeting 2012, Chicago*.

Marlow R, Cariati M, **Honeth G**, Buchupalli B, Lombardi S, Foster K, Bonnet D, Purushotham A, Tutt A, Dontu G. Modeling the Breast Cancer Metastatic Niche (Late Breaking Abstract), *AACR Annual Meeting 2012, Chicago*.