

Développement de la glande mammaire : rôle des cellules basales myoépithéliales

par Marisa M. Faraldo, Ilaria Taddei-De la Hossieraye, Jérôme Teulière, Marie-Ange Deugnier, Mejdî Moumen, Jean-Paul Thiery & Marina A. Glukhova

Institut Curie, CNRS UMR 144, 26, rue d'Ulm, 75248, Paris Cedex 05

Correspondance : Marina.Glukhova@curie.fr

Reçu le 30 janvier 2006

RÉSUMÉ

L'épithélium mammaire est organisé en bicouche et comprend une couche de cellules luminales sécrétoires et une couche de cellules basales myoépithéliales. Pour analyser les fonctions spécifiques de ces deux compartiments cellulaires dans la morphogénèse mammaire, nous avons utilisé des souris génétiquement modifiées portant des transgènes ou des allèles conditionnels dont l'expression ou l'ablation sont ciblées dans le compartiment basal ou luminal. Les cellules basales sont localisées à proximité du stroma mammaire et interagissent directement avec la matrice extracellulaire (membrane basale) tout au long du développement de la glande. À l'inverse, les cellules luminales sécrétoires ont des contacts limités avec la membrane basale pendant les stades initiaux du développement postnatal et sont exposées à la matrice extracellulaire tardivement à la fin de la gestation et au cours de la lactation. De façon logique, nous avons trouvé que la perturbation de la fonction de l'intégrine $\beta 1$ dans la couche luminaire de l'épithélium mammaire n'interfère pas avec la morphogé-

nèse jusqu'à la fin de la gestation mais conduit à un défaut de lactation et de différenciation des cellules sécrétoires. Au contraire, l'ablation spécifique de l'intégrine $\beta 1$ dans les cellules basales mammaires résulte en un phénotype plus précoce caractérisé par une ramification désorganisée chez le jeune animal vierge et un blocage complet du développement lobuloalvéolaire. Par ailleurs, l'activation constitutive de la signalisation par la β -caténine spécifiquement dans les cellules basales myoépithéliales conduit à une accélération de la différenciation des cellules sécrétoires durant la gestation, à une involution précoce, une angiogenèse augmentée et au développement de tumeurs mammaires. Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que les cellules basales épithéliales mammaires peuvent affecter la croissance et la différenciation des cellules luminales sécrétoires, ont un impact sur les relations entre l'épithélium et le stroma, et donc jouent un rôle important dans les processus de morphogénèse et différenciation mammaires.

SUMMARY Mammary gland development: role of basal myoepithelial cells

Mammary epithelium is organized as a bilayer with a layer of luminal secretory cells and a layer of basal myoepithelial cells. To dissect the specific functions of these two major compartments of the mammary epithelium in mammary morphogenesis we have used genetically modified mice carrying transgenes or conditional alleles whose expression or ablation were cell-type specific. Basal cells are located in close proximity to mammary stroma and directly interact with the extracellular matrix (basement membrane) during all their lifespan. On the contrary, luminal secretory cells during early stages of the postnatal mammary development have only limited contacts with basement membrane and become expo-

sed to the extracellular matrix only during late developmental stages at the end of pregnancy and in lactation. Consistently perturbation of $\beta 1$ -integrin function specifically in the luminal layer of the mammary epithelium, did not interfere with mammary morphogenesis until the second part of pregnancy but led to impaired secretory differentiation and lactation. On the contrary, ablation of $\beta 1$ -integrin gene in the basal mammary epithelial cells resulted in a more precocious phenotype: disorganized branching in young virgin animals and a complete arrest of lobuloalveolar development. Further, a constitutive activation of β -catenin signaling due to expression of N-terminally truncated (stabilized) β -catenin specifically

in basal myoepithelial cells resulted in accelerated differentiation of luminal secretory cells in pregnancy, precocious postlactational involution, increased angiogenesis and development of mammary tumors. Altogether these data suggest that basal

mammary epithelial cells can affect growth and differentiation of luminal secretory cells, have an impact on the epithelium-stroma relationships and, thereby, play an important role in the process of mammary morphogenesis and differentiation.

INTRODUCTION

Le développement de la glande mammaire est essentiellement postnatal. A la naissance, chez la souris, le rudiment mammaire comprend un canal primaire bien formé et quelques ramifications secondaires. La glande mammaire reste quiescente jusqu'au début de la puberté (4-5 semaines), puis les canaux mammaires s'allongent et se ramifient intensivement, envahissant progressivement tout le stroma adipeux qui entoure la glande (Fig. 1A). Chez la souris vierge adulte (8-9 semaines), l'épithélium mammaire est pseudo-stratifié et organisé en bicouche : une couche de cellules luminales sécrétrices, et une assise de cellules basales myoépithéliales (Fig. 1B). Les cellules basales sont des cellules myoépithéliales, caractérisées par l'expression simultanée de protéines basales spécifiques des épithéliums stratifiés, et de protéines contractiles du muscle lisse (Deugnier *et al.*, 2002a).

Le développement lobulo-alvéolaire commence à la gestation quand les nombreux bourgeons latéraux nouvellement formés donnent naissance aux alvéoles, le futur tissu sécrétoire. Après la mise bas, au début de la lactation, les cellules luminales se différencient complètement et commencent à sécréter le lait. Les cellules myoépithéliales alvéolaires sont elles aussi complètement différenciées au moment de la lactation, et forment un réseau discontinu autour de l'épithélium alvéolaire. La contraction des cellules myoépithéliales en réponse au stimulus de succion conduit à l'expulsion du lait des alvéoles vers les canaux. Lorsque la lactation cesse, les cellules épithéliales mammaires subissent une apoptose massive, et la glande mammaire régresse vers un état de développement similaire à celui de la souris vierge adulte. Toutes ces étapes de développement requièrent le fonctionnement coordonné de nombreuses voies de signalisation intracellulaire.

Les signaux qui induisent les processus morphogénétiques et la différenciation des cellules luminales et myoépithéliales dans la glande mammaire sont transmis par les hormones circulantes (comme les œstrogènes et la progestérone), par des facteurs de croissance solubles produits par l'épithélium ou les cellules stromales (comme les Wnts), et par la matrice extracellulaire (la membrane basale) qui enrobe l'épithélium. De plus, les interactions directes entre cellules luminales et cellules myoépithéliales sont des régulateurs potentiels des comportements cellulaires.

Différentes données expérimentales suggèrent l'existence, dans l'épithélium mammaire adulte, de cellules multipotentes capables d'autorenouvellement, et de progéniteurs à potentialité restreinte (Smalley & Ashworth, 2003 ; Woodward *et al.*, 2005). En accord avec cette

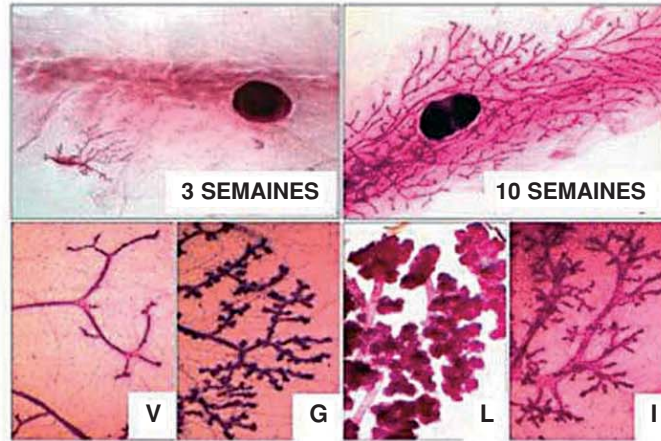
hypothèse, deux travaux très récents rapportent la caractérisation d'une population de cellules épithéliales mammaires qui sont capables, à l'état clonal, de donner naissance à la glande entière après transplantation *in vivo* dans le coussin adipeux mammaire de souris hôtes dépourvu d'épithélium endogène (Shackleton *et al.*, 2006 ; Stingl *et al.*, 2006). De façon notable, les marqueurs de surface ayant servi à isoler les cellules progénitrices de l'épithélium mammaire incluent des intégrines, principaux récepteurs de la matrice extracellulaire.

Notre équipe étudie les mécanismes moléculaires du développement mammaire postnatal en utilisant la glande mammaire de souris comme modèle. Nous nous intéressons particulièrement à l'analyse du rôle des interactions matricielles et de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine dans le contrôle de la morphogénèse mammaire et nous décrivons ici les résultats obtenus par notre groupe. Dans l'épithélium mammaire, les cellules basales, à l'inverse des cellules luminales, sont au contact direct de la membrane basale, et cette situation laisse penser qu'elles jouent un rôle important dans les interactions des cellules luminales avec l'environnement. Ces cellules étant restées pratiquement ignorées jusque récemment, notre équipe se focalise surtout sur l'analyse du rôle des cellules basales mammaires dans le processus complexe du développement mammaire.

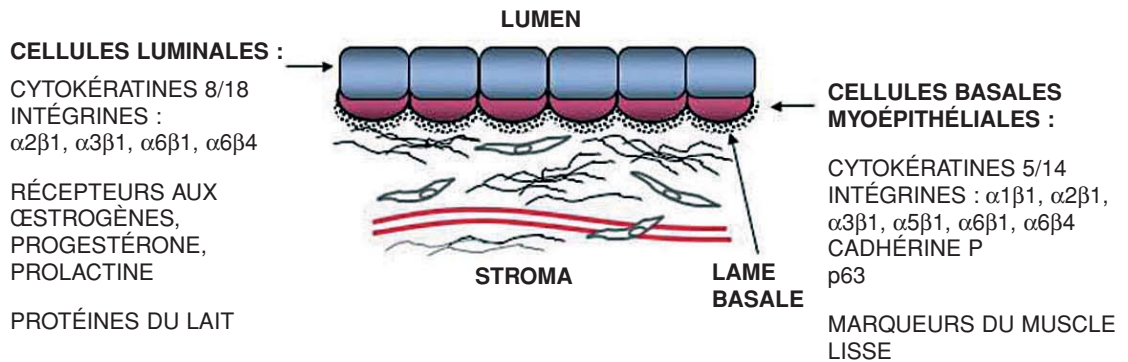
RÔLE DES INTÉGRINES β 1 DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA GLANDE MAMMAIRE

Différentes molécules adhésives participent à l'organisation de la bicouche épithéliale dont les intégrines qui sont les principaux récepteurs cellulaires à la matrice extracellulaire. Parmi les intégrines, celles de type β 1 sont les plus abondantes dans l'épithélium mammaire au cours du développement. Les intégrines forment des connections transmembranaires avec le cytosquelette et jouent un rôle très important dans le contrôle de la survie, de la croissance, de la motilité et de la différenciation cellulaires (Hynes, 2000). Plusieurs études menées *in vitro* ont suggéré que les interactions entre cellule et matrice extra-cellulaire participent au contrôle de la croissance et de la différenciation des cellules épithéliales mammaires (Streuli *et al.* 1995 ; Muschler *et al.*, 1999 ; Gilmore *et al.*, 2000). La première démonstration du rôle des intégrines β 1 dans le développement mammaire *in vivo*, a été obtenue par notre groupe (Faraldo *et al.*, 1998, 2001, 2002), à l'aide de souris transgéniques exprimant une forme dominante négative de la chaîne β 1

A



B



C

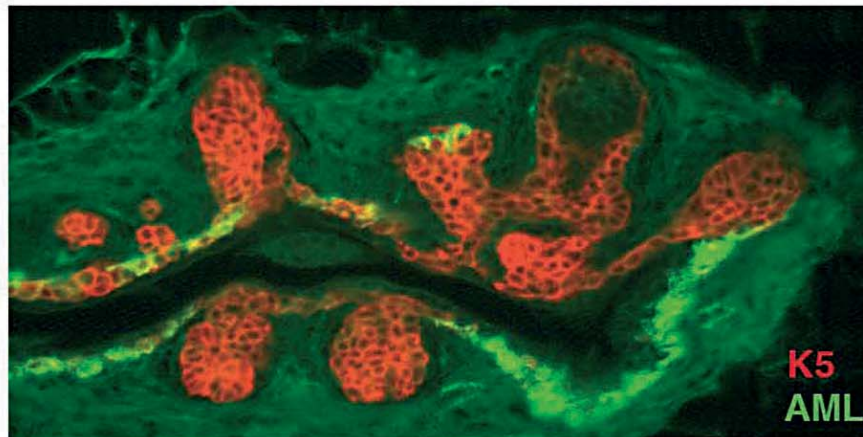


FIG. 1.

A. Développement postnatal de la glande mammaire. Coloration *in toto*. En haut : glandes de souris vierges âgées de 3 et 10 semaines. En bas : Fragments de glandes de souris prélevées chez une femelle vierge âgée de 10 semaines (V), chez des femelles à 14 jours de gestation (G), 3 jours de lactation (L) et une semaine d'involution (I).

B. Organisation de la bicouche épithéliale mammaire. L'épithélium mammaire est pseudo-stratifié et organisé en bicouche : une couche de cellules luminales sécrétrices, et une assise de cellules basales myoépithéliales.

C. Hyperplasie d'origine basale dans les glandes mammaires K5- Δ N57- β cat. Immunomarquage de la kératine 5 (K5, rouge) et de l'actine de muscle lisse (AML, vert) sur des tumeurs basales en stade précoce.

des intégrines dans les cellules luminales sous contrôle du promoteur MMTV (*Mouse Mammary Tumor Virus*). Bien que la plupart des femelles transgéniques soient capables d'allaiter, à migestation et au début de la lactation, les glandes transgéniques sont sous-développées, le taux de prolifération des cellules épithéliales est diminué tandis que l'apoptose augmente. L'analyse des voies de signalisation intracellulaires responsables de ces défauts de développement a montré, pour la première fois *in vivo*, que la perturbation de la fonction des intégrines $\beta 1$ affecte l'activation de Shc et Akt et conduit à l'inhibition de MAP-kinases, ERK et JNK (Faraldo *et al.*, 2001).

Au début de la lactation, la quantité de transcrits des protéines du lait est réduite de façon significative dans les glandes transgéniques, indiquant un défaut de différenciation. Durant l'involution, l'épithélium sécrétoire des glandes transgéniques subit une dédifférenciation précoce accompagnée d'une inactivation de STAT5, un facteur de transcription essentiel pour l'expression des protéines du lait, et d'une augmentation de l'expression de NF κ B, un régulateur négatif de la signalisation par STAT5 (Faraldo *et al.*, 2002). L'ensemble de ces résultats a permis de préciser les mécanismes par lesquels l'adhérence cellulaire *via* les intégrines contrôle *in vivo* la croissance et la différenciation de la glande mammaire.

Récemment le groupe de W. Muller a obtenu des souris mutantes présentant une inactivation conditionnelle du gène de la chaîne $\beta 1$ des intégrines dans les cellules luminales mammaires (White *et al.*, 2004), et a observé que l'induction et la croissance des tumeurs mammaires requièrent les intégrines $\beta 1$. Deux autres groupes ont rapporté que l'inactivation du gène codant pour la chaîne $\beta 1$ des intégrines durant la lactation conduit à une diminution de la prolifération des cellules épithéliales et affecte leur différenciation (Li *et al.*, 2005; Naylor *et al.*, 2005). Aucun mutant dépourvu d'intégrines $\beta 1$ dans la couche basale de l'épithélium mammaire n'a été décrit à ce jour.

Notre groupe examine à l'heure actuelle les effets de l'ablation de l'intégrine $\beta 1$ séparément dans les deux compartiments de l'épithélium mammaire sur le développement mammaire et la différenciation de l'épithélium mammaire. Notre approche expérimentale se fonde sur le système cre/loxP et permet l'inactivation conditionnelle du gène de l'intégrine $\beta 1$ séparément dans chacune des deux couches de l'épithélium mammaire. L'expression de la recombinase Cre a été ciblée dans les cellules luminales ou les cellules basales par les promoteurs spécifiques MMTV ou K5 (kératine 5), respectivement.

Nos données préliminaires montrent que l'ablation du gène de l'intégrine $\beta 1$ dans les cellules luminales mammaires, conduit à une diminution de la prolifération cellulaire, une augmentation du taux d'apoptose et un défaut d'activation de facteur de transcription essentiel pour le développement mammaire STAT5 dans les cellules épithéliales luminales en lactation. Nous avons constaté que vers la fin de la gestation, l'épithélium mammaire dépourvu d'intégrine $\beta 1$ est progressivement éliminé, et substitué par

des cellules échappant à l'ablation et continuant à exprimer $\beta 1$ (Taddei-De La Hosseraye *et al.*, manuscrit en préparation). Très probablement, les cellules épithéliales mammaires dépourvues d'intégrine $\beta 1$ ne peuvent pas répondre à la prolactine, puisque des données précédentes obtenues *in vitro* montrent que la fonction du récepteur de la prolactine exige la présence de l'intégrine $\beta 1$ (Faraldo *et al.*, 2002).

En raison de leur contact direct avec la membrane basale, les cellules basales myoépithéliales sont particulièrement riches en intégrines. De façon logique, l'ablation de l'intégrine $\beta 1$ dans la couche basale de l'épithélium mammaire conduit à un phénotype sévère. Nous avons observé une perturbation importante du patron de ramification chez la souris vierge et une absence de développement lobulo-alvéolaire chez les femelles gestantes (Taddei-De La Hosseraye *et al.*, résultats non publiés). À l'aide de techniques de transplantation sériée (De Ome *et al.*, 1959), nous testons à l'heure actuelle si l'ablation de l'intégrine $\beta 1$ dans les couches basale et luminale de l'épithélium mammaire affecte les populations de cellules souches et progénitrices.

RÔLE DE LA VOIE DE SIGNALISATION Wnt/ β -CATÉLINE DANS LE CONTRÔLE DE LA DIFFÉRENCIATION DES CELLULES BASALES MAMMAIRES

Au cours du développement mammaire chez la Souris, plusieurs glycoprotéines secrétées de la famille des Wnts sont exprimées de manière régulée dans l'épithélium et le stroma (Gavin & Mac Mahon, 1992; Bühler *et al.*, 1993; Weber-Hall *et al.*, 1994; Lane & Leder, 1997). La voie de signalisation Wnt est impliquée dans de nombreux processus de développement et de tumorigénèse (Polakis, 2000). Ces signaux sont transduits *via* la β -caténine, une protéine multifonctionnelle qui participe également à la formation des jonctions adhérentes des cellules épithéliales.

Dans les jonctions, la β -caténine relie la partie cytoplasmique des cadhérines à l' α -caténine et aux microfilaments d'actine. Dans le cytoplasme, la β -caténine est constitutivement dégradée par l'intermédiaire d'un complexe impliquant les protéines APC, axin et GSK3 β . La GSK3 β phosphoryle des résidus Ser et Thr dans une région très conservée de la partie N-terminale de la β -caténine. Ces résidus phosphorylés sont ensuite ubiquitinylés et la β -caténine cytoplasmique est dégradée par la voie du protéasome. Cependant, un signal déclenché par une glycoprotéine de la famille Wnt aboutit à l'inhibition de ce complexe et stabilise la β -caténine cytoplasmique : elle est alors capable d'entrer dans le noyau et d'interagir avec des facteurs de transcription de la famille TCF/LEF (T-Cell Factor/Lymphoid Enhancer Factor) pour activer la transcription de gènes cibles. La perte de la partie N-terminale de la β -caténine conduit à sa stabilisation, et si cette forme mutée est exprimée dans les cellules, elle s'accumule dans le noyau où elle induit

l'activation constitutive de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine.

Pour perturber la voie de signalisation de Wnt/ β -caténine dans les cellules basales mammaires *in vivo*, nous avons généré des lignées de souris transgéniques exprimant dans ces cellules la β -caténine tronquée dans sa partie N-terminale et, par conséquent, non dégradable. Le promoteur de la kératine 5, actif dans le myoépithélium mammaire et les cellules basales des épithéliums stratifiés, a été utilisé pour cibler l'expression de la protéine transgénique (lignée K5- Δ N57- β cat).

Les glandes mammaires des souris transgéniques ont été analysées à tous les stades du développement post-natal (Teulière *et al.*, 2005). Nous avons observé une ramification latérale de la glande mammaire plus précoce au cours de la gestation chez les souris K5- Δ N57- β cat. Ce phénotype est associé à une augmentation précoce de la prolifération luminale canalaire et une forte diminution de l'apoptose. D'autre part, une perturbation de l'involution de la glande qui intervient après le sevrage est détectée; les glandes des souris K5- Δ N57- β cat subissent une involution plus rapide que les glandes témoins, en corrélation avec une plus forte apoptose des cellules basales et lumineales.

Les résultats obtenus après l'analyse moléculaire des glandes mammaires transgéniques peuvent expliquer les perturbations décrites. Ainsi, pendant la gestation, l'expression de c-myc et cycline D1, deux importants régulateurs positifs du cycle cellulaire, cibles de la voie Wnt/ β -caténine, est augmentée dans les glandes transgéniques par rapport aux contrôles. Par ailleurs, pendant l'involution, le taux de transcrits pour les métalloprotéases (MMP2, MMP3 et MT1-MMP) est augmenté en même temps que celui de leur inhibiteur (TIMP-1) diminue. Ce déséquilibre pourrait donner lieu à une dégradation précoce de la matrice extracellulaire induisant l'apoptose des cellules mammaires et accélérant le processus d'involution.

Enfin, l'apparition des tumeurs mammaires a été observée chez 60 % des femelles transgéniques nullipares âgées de 12-16 mois. Ces tumeurs sont particulièrement intéressantes car elles proviennent d'une hyperplasie de la couche basale mammaire. Les signes les plus précoces de tumorigenèse correspondent à des proliférations focales de cellules basales non différenciées, positives pour la kératine 5 et négatives pour l'actine du muscle lisse (Fig. 1C). La β -caténine transgénique est accumulée dans les noyaux des cellules tumorales. Chez les femelles transgéniques multipares (ayant eu deux ou trois portées), les tumeurs apparaissent plus précocement (9 mois) et évoluent très rapidement vers des carcinomes invasifs de type basal.

En utilisant des "microarrays" comprenant 96 gènes, nous avons révélé que l'expression des marqueurs de cellules endothéliales et de plusieurs molécules connues pour intervenir dans le contrôle de l'angiogenèse est régulée positivement dans les glandes mammaires K5- Δ N57- β cat. Ces données, confirmées par RT-PCR en temps réel, suggèrent que les glandes mammaires K5- Δ N57- β cat présentent une augmentation de l'angioge-

nèse. Nous formulons par conséquent l'hypothèse que les cellules basales myoépithéliales participent au contrôle de l'angiogenèse mammaire et avons commencé à analyser le rôle de cette population dans l'induction de la formation des capillaires.

En résumé, nous avons pu mettre en évidence que la perturbation du fonctionnement normal des cellules basales myoépithéliales induit un phénotype au niveau des cellules lumineales, ce qui démontre le rôle régulateur des cellules basales myoépithéliales sur les cellules lumineales et sur l'homéostasie de la glande. Par ailleurs, l'apparition d'hyperplasies basales indifférenciées peut être interprétée comme l'amplification et la stabilisation d'une population normalement transitoire de progéniteurs mammaires de type basal (Teulière *et al.*, 2005). Ces résultats suggèrent que la couche basale pourrait contenir des cellules progénitrices non différenciées capables d'initier des tumeurs mammaires. D'autres données obtenues par notre groupe sur des lignées de cellules épithéliales mammaires ainsi que celles, plus récentes, rapportées pour la glande mammaire murine indiquent l'existence de cellules souches et progénitrices de type basal (Deugnier *et al.*, 2002b; Shackleton *et al.*, 2006; Stingl *et al.*, 2006). Enfin, l'ensemble de nos études suggèrent que les cellules myoépithéliales jouent un rôle important dans le contrôle des interactions cellulaires avec la matrice et dans le dialogue entre l'épithélium mammaire et le stroma.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Comme mentionné précédemment, les cellules épithéliales mammaires lumineales ont un contact limité avec la membrane basale et le tissu connectif environnant tandis que les cellules basales myoépithéliales sont exposées, tout au long de leur durée de vie, aux signaux morphogénétiques et inducteurs de différenciation provenant de la matrice extracellulaire sous-jacente et du stroma de la glande. L'organisation du tissu mammaire permet de supposer que les cellules basales myoépithéliales jouent un rôle actif dans la croissance et la différenciation de la glande et transmettent des signaux entre le stroma et les cellules lumineales.

En plus de leur localisation particulière, les cellules basales myoépithéliales expriment de nombreuses molécules impliquées dans le contrôle de la morphogenèse de la glande et d'autres tissus. Ces molécules incluent des récepteurs aux facteurs de croissance, des MMPs, différents inhibiteurs des protéases, et des protéines telles que p63, l'épimorphine, la neogénine et EphB4 qui toutes ont été identifiées récemment dans la couche basale de l'épithélium mammaire. On dispose encore de peu de données concernant le rôle joué par ces protéines et leurs voies de signalisation intracellulaires dans le développement de la glande. Leur analyse approfondie fournira certainement de nouveaux éléments sur les mécanismes cellulaires et moléculaires de morphogenèse des tissus épithéliaux.

Jusqu'à une date récente, les cellules basales myoépithéliales, la seconde population cellulaire majeure de l'épithélium mammaire, n'étaient pas considérées comme des éléments importants susceptibles de jouer un rôle dans les événements morphogénétiques de la glande en développement. L'analyse récente de souris mutantes présentant des modifications d'expression génique ciblées dans les cellules myoépithéliales a montré que ces cellules pouvaient influencer la prolifération, la survie et la différenciation des cellules luminales et participer activement à la morphogenèse de la glande. Différents mécanismes cellulaires et moléculaires peuvent être à l'origine des phénotypes observés, notamment une dérégulation de la balance d'expression des MMPs et de leurs inhibiteurs conduisant à des changements de la composition et de l'organisation de la matrice extracellulaire, une production de facteurs de croissance affectant la croissance et la différenciation des cellules stromales ainsi qu'une signalisation directe entre cellules myoépithéliales et luminales. La poursuite de ces études est nécessaire pour mieux comprendre la place des cellules myoépithéliales dans le processus complexe de la morphogenèse mammaire.

BIBLIOGRAPHIE

- Buhler T. A., Dale T. C., Kieback C., Humphreys R. C. & Rosen J. M., Localization and quantification of Wnt-2 gene expression in mouse mammary development. *Dev. Biol.*, 1993, 155, 87-96.
- De Ome K. B., Faulkin L. J. Jr., Bern H. A. & Blair P. B., Development of mammary tumors from hyperplastic alveolar nodules transplanted into gland-free mammary fat pads of female C3H mice. *Cancer Res.*, 1959, 19, 515-520.
- Deugnier M. A., Teulière J., Faraldo M. M., Thiery J. P. & Glukhova M. A., The importance of being a myoepithelial cell. *Breast Cancer Res.*, 2002a, 4, 224-230.
- Deugnier M. A., Faraldo M. M., Janji B., Rousselle P., Thiery J. P. & Glukhova M. A., EGF controls the *in vivo* developmental potential of a mammary epithelial cell line possessing progenitor properties. *J. Cell. Biol.*, 2002b, 159, 453-463.
- Faraldo M. M., Deugnier M. A., Lukashev M., Thiery J. P. & Glukhova M. A., Perturbation of $\beta 1$ integrin function alters the development of murine mammary gland. *EMBO J.*, 1998, 17, 2139-2147.
- Faraldo M. M., Deugnier M. A., Thiery J. P. & Glukhova M. A., Growth defects induced by perturbation of $\beta 1$ -integrin function in the mammary gland epithelium result from a lack of MAPK activation *via* the Shc and Akt pathways. *EMBO Rep.*, 2001, 5, 431-437.
- Faraldo M. M., Deugnier M. A., Tlouzeau S., Thiery J. P. & Glukhova M. A., Perturbation of $\beta 1$ -integrin function in involuting mammary gland results in premature dedifferentiation of secretory epithelial cells. *Mol. Biol. Cell*, 2002, 10, 3521-3531.
- Gavin B. J. & McMahon A. P., Differential regulation of the Wnt gene family during pregnancy and lactation suggests a role in postnatal development of the mammary gland. *Mol. Cell. Biol.*, 1992, 12, 2418-2423.
- Gilmore A. P., Metcalfe A. D., Romer L. H. & Streuli C. H., Integrin-mediated survival signals regulate the apoptotic function of Bax through its conformation and subcellular localization. *J. Cell. Biol.*, 2000, 149, 431-446.
- Hynes R. O., Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 2002, 110, 673-687.
- Lane T. F. & Leder P., Wnt-10b directs hypermorphic development and transformation in mammary glands of male and female mice. *Oncogene*, 1997, 15, 2133-2144.
- Li N., Zhang Y., Naylor M. J., Schatzmann F., Maurer F., Wintermantel T., Schuetz G., Mueller U., Streuli C.H. & Hynes N. E., $\beta 1$ integrins regulate mammary gland proliferation and maintain the integrity of mammary alveoli. *EMBO J.*, 2005, 24, 1942-1953.
- Muschler J., Lochter A., Roskelley C. D., Yurchenco P. & Bissell M. J., Division of labor among the $\alpha 6 \beta 4$ integrin, $\beta 1$ integrins, and an E3 laminin receptor to signal morphogenesis and β -casein expression in mammary epithelial cells. *Mol. Biol. Cell*, 1999, 9, 2817-2828.
- Naylor M. J., Li N., Cheung J., Lowe E. T., Lambert E., Marlow R., Wang P., Schatzmann F., Wintermantel T., Schuetz G., Clarke A. R., Mueller U., Hynes N. E. & Streuli C. H., Ablation of $\beta 1$ integrin in mammary epithelium reveals a key role for integrin in glandular morphogenesis and differentiation. *J. Cell. Biol.*, 2005, 171, 717-728.
- Polakis P., Wnt signaling and cancer. *Genes & Dev.*, 2000, 14, 1837-1851.
- Shackleton M., Vaillant F., Simpson K. J., Stingl J., Smyth G. K., Asselin-Labat M. L., Wu L., Lindeman G. J. & Visvader J. E., Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature*, 2006, 439, 84-88.
- Smalley M. & Ashworth A., Stem cells and breast cancer: a field in transit. *Nat. Rev. Cancer*, 2003, 3, 832-844.
- Stingl J., Eirew P., Ricketson I., Shackleton M., Vaillant F., Choi D., Li H. I. & Eaves C. J., Purification and unique properties of mammary epithelial stem cells. *Nature*, 2006, 439, 993-997.
- Streuli C. H., Schmidhauser C., Bailey N., Yurchenco P., Skubitz A. P., Roskelley C. & Bissell M. J., Laminin mediates tissue-specific gene expression in mammary epithelia. *J. Cell. Biol.*, 1995, 3, 591-603.
- Teulière J., Faraldo M. M., Deugnier M. A., Shtutman M., Ben-Ze'ev A., Thiery J. P. & Glukhova M. A., Targeted activation of β -catenin signaling in basal mammary epithelial cells affects mammary development and leads to hyperplasia. *Development*, 2005, 132, 267-277.
- Weber-Hall S. J., Phippard D. J., Niemeyer C. C. & Dale T. C., Developmental and hormonal regulation of Wnt gene expression in the mouse mammary gland. *Differentiation*, 1994, 57, 205-214.
- White D. E., Kurpios N. A., Zuo D., Hassell J. A., Blaess S., Mueller U. & Muller W. J., Targeted disruption of $\beta 1$ -integrin in a transgenic mouse model of human breast cancer reveals an essential role in mammary tumor induction. *Cancer Cell*, 2004, 6, 159-170.
- Woodward W. A., Chen M. S., Behbod F. & Rosen J. M., On mammary stem cells. *J. Cell. Sci.*, 2005, 118, 3585-3594.