

· 临床研究 ·

不同分期乳腺癌中 RANKL 和 RANK 表达变化规律研究

张帆 姜军 杨新华

【摘要】 目的 探讨 RANKL 和 RANK 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其与临床病理因素的关系。**方法** 采用免疫组化法检测 83 例乳腺癌组织中 RANKL 和 RANK 蛋白的表达,分析 RANKL 和 RANK 蛋白表达与病理类型、肿瘤大小和腋窝淋巴结转移情况之间的关系。**结果** RANK 蛋白阳性表达率为 100% (83/83),不同分期及病理类型的乳腺癌组织均表达 RANK。RANKL 蛋白阳性表达率为 25.30% (21/83),其阳性表达与病理类型和肿瘤大小无关,但在不同淋巴结转移情况的病例间阳性表达差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),随腋窝淋巴结转移数目的增加,RANKL 蛋白阳性表达下降。**结论** 乳腺癌组织普遍表达 RANK 蛋白。RANKL 蛋白在乳腺癌组织中的表达与淋巴结转移情况相关,与病理类型及肿瘤大小无关。

【关键词】 乳腺癌;NF- κ B 受体活化因子配体;NF- κ B 受体活化因子

【中图法分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A

Study of RANKL and RANK protein expression in breast cancer ZHANG Fan, JIANG Jun, YANG Xin-hua. Breast Disease Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

【Abstract】 Objective To explore the expressions of RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) and RANK (receptor activator of NF- κ B) proteins in breast cancer and the relationship with clinicopathologic characteristics. **Methods** RANKL and RANK proteins were tested by immunohistochemistry in 83 cases of breast cancer. The correlations between RANKL and RANK protein expression and tumor type, tumor size and lymph node status were examined. **Results** The positive expression rate of RANK protein was 100% in breast cancer patients. The positive expression rate of RANKL protein was 25.30% in breast cancer patients. The expression of RANKL protein was found correlated with lymph node status, but was independent of tumor type and tumor size. The positive expression rate of RANK protein decreased with increase of metastatic lymph nodes. **Conclusions** In breast cancer, the expression of RANK

protein is prevalent. The expression of RANKL protein is associated with lymph node status.

【Key words】 Breast carcinoma; Receptor activator of NF- κ B ligand; Receptor activator of NF- κ B

NF- κ B 受体活化因子配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)是 NF- κ B 受体活化因子(receptor activator of NF- κ B, RANK)的唯一功能性配体。目前公认其在乳腺发育中起重要作用,并与乳腺癌骨转移密切相关。但乳腺癌组织自身是否存在 RANKL 和 RANK 蛋白表达,其表达是否参与乳腺癌发生和发展,目前尚有争议。本文通过对本院近期手术治疗的 83 例乳腺癌病例癌组织 RANKL 和 RANK 蛋白表达情况进行研究,旨在探讨乳腺癌中 RANKL 和 RANK 蛋白表达情况及其与临床病理因素的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集本院 2005 年 1 月至 2006 年 6 月间部分乳腺癌手术病例 83 例,患者均为女性,年龄 29 ~ 77 岁,平均年龄 48 岁。肿瘤最大径 0.5 ~ 12 cm,平均 4.4 cm,其中最大径 ≤ 2 cm 者 19 例, > 5 cm 者 17 例,介于两者之间者 47 例。所有病例均行乳腺癌根治、改良根治或肿瘤局部扩大切除加腋窝淋巴结清扫。术后病理证实无腋窝淋巴结转移者 40 例,腋窝淋巴结转移 1 ~ 3 枚者 22 例, ≥ 4 枚者 21 例。病理类型为:浸润性导管癌 62 例,浸润性小叶癌 16 例,导管内癌和髓样癌各 2 例,腺鳞癌 1 例。

1.2 实验方法

患者石蜡组织块切片厚 4 μ m,采用 SP 法标记 RANKL 和 RANK(一抗购自 Santa 公司,SP 试剂盒购自基因公司),DAB 显色。实验步骤严格按说明书进行。

1.3 评定标准

RANKL 与 RANK 阳性染色定位于癌细胞胞膜,为棕黄色。阳性细胞占癌细胞比例 $\geq 10\%$ 为阳性。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件,计数资料行 χ^2 检验,检验结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RANK 蛋白在乳腺癌组织中的表达情况

RANK 蛋白在所检测的 83 例乳腺癌组织中阳性表达率为 100%,不同分期及病理类型的乳腺癌组织均表达 RANK。

2.2 RANKL 蛋白表达与病理类型、肿瘤大小和腋窝淋巴结转移情况的关系

本组 83 例病例中,RANKL 阳性表达 21 例,阳性率为 25.30%。其阳性表达

与病理类型和肿瘤大小无关,但在不同淋巴结转移情况的病例间阳性表达差异有统计学意义($P < 0.05$),且随腋窝淋巴结转移数目的增加,RANKL 蛋白阳性表达下降(表 1)。

表 1 RANKL 蛋白表达与病理类型、肿瘤大小和腋窝淋巴结转移情况的关系

相关因素		RANKL 表达情况		χ^2 值	P 值
		阳性	阴性		
病理类型	浸润性导管癌	15	47	0.159	0.690
	其他病理类型	6	15		
肿瘤大小/cm	≤ 2	4	15	1.169	0.557
	2 ~ 5	11	36		
	> 5	6	11		
腋窝淋巴结转移/枚	0	15	25	6.505	0.039
	1 ~ 3	4	18		
	≥ 4	2	19		

3 讨论

人类 RANKL 是一个由 13q14 基因序列编码的肿瘤坏死因子超家族成员,属于 II 类跨膜蛋白。已证实 RANKL 主要存在于成骨细胞、骨髓基质细胞、树突状细胞和 T 淋巴细胞中,在骨组织中高表达^[1]。人类 RANK 编码序列定位于 18q22.1,是肿瘤坏死因子受体超家族成员,属于 I 类跨膜蛋白。自 1997 年发现 RANKL/RANK 以来,其一直是研究的热点。

RANKL/RANK 信号途径与乳腺发育密切相关。相关研究显示:RANKL 和(或)RANK 基因缺陷小鼠在妊娠期将发生乳腺小叶-腺泡发育障碍,不能分泌乳汁^[2]。与小鼠乳腺上皮始终存在 RANK 表达不同,小鼠乳腺上皮仅在妊娠哺乳期受泌乳素刺激才表达 RANKL,此时 RANKL 通过自分泌或旁分泌方式作用于乳腺上皮细胞,诱导其增殖并抑制其凋亡,进而形成分泌型乳腺小叶-腺泡。但目前尚不清楚 RANKL/RANK 信号途径是否同样对乳腺癌细胞的生长具有调控作用,从而参与乳腺癌发生、发展。近期有学者发现 58 例乳腺癌组织均有 RANK 表达,而 RANKL 则在 62% 不伴转移的乳腺癌组织和 31% 伴转移的乳腺癌组织中表达^[3]。本研究同样证实了 RANK 在乳腺癌组织中普遍表达。本研究发现乳腺癌组织 RANKL 蛋白阳性表达随腋窝淋巴结转移数目增加而下降,提示 RANKL/RANK 信号途径可能与乳腺癌淋巴结转移有关。

乳腺癌最容易远处转移到骨,70% 以上的进展期乳腺癌会发生骨转移,远超过其他远处部位转移。骨转移可引起的骨折、截瘫、高血钙、疼痛等,不仅严重影响患者生活质量,而且是导致患者死亡重要原因。近年来的研究表明^[4]:肿瘤细胞与骨微环境的相互作用是乳腺癌骨转移形成的基础;在乳腺癌骨转移发生过程

中,受骨中的大量生长因子刺激,肿瘤细胞分泌甲状旁腺相关蛋白,刺激成骨细胞 RANKL 表达升高,并与破骨细胞前体 RANK 结合,刺激破骨细胞成熟活化,活化破骨细胞吸收骨质引起骨破坏。此过程中,RANKL/RANK 相互作用引起破骨细胞活化是骨转移形成的关键。但骨转移中的乳腺癌细胞是否存在 RANKL 和 RANK 表达,从而参与调控破骨细胞活化,并进一步影响骨转移形成,目前尚不清楚。Bhatia 等^[3]发现:在乳腺癌骨转移灶的肿瘤组织普遍表达 RANK 的同时,常缺乏 RANKL 表达;并认为骨转移中肿瘤细胞通过 RANK 与成骨细胞 RANKL 的相互作用,可能促进了乳腺癌骨转移形成。

在癌细胞转移过程中,靶器官的趋化作用至关重要。有研究表明:在裸鼠转移模型中,增强骨组织对癌细胞的趋化作用能显著增加乳腺癌骨转移发生率^[5]。2003 年的一项研究首次证实 RANKL/RANK 信号途径除上述功能外,还具有趋化作用。该研究发现:RANKL 能趋化 RANK 阳性破骨细胞^[6]。次年另一项对单核细胞的研究再次证实了 RANKL/RANK 的趋化作用^[7]。本研究发现乳腺癌组织普遍表达 RANK 蛋白,结合骨组织高表达 RANKL,提示骨组织高表达 RANKL 对癌细胞的趋化可能使循环中的乳腺癌细胞被特异性趋化到骨组织,从而导致乳腺癌特异性骨转移发生。而近期的一项关于黑色素瘤的动物实验发现:骨组织通过表达的 RANKL 对 RANK 阳性黑色素瘤细胞的趋化促进了黑色素瘤骨转移形成^[8]。以上结果也从侧面印证了 RANKL/RANK 信号途径的趋化作用可能与乳腺癌骨转移有关,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] Bharti A C, Aggarwal B B. Ranking the role of RANK ligand in apoptosis. *Apoptosis*, 2004, 9: 677 - 690.
- [2] Kim N S, Kim H J, Koo B K, *et al.* Receptor activator of NF-kappaB ligand regulates the proliferation of mammary epithelial cells *via* Id2. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 1002 - 1013.
- [3] Bhatia P, Sanders M M, Hansen M F. Expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB is inversely correlated with metastatic phenotype in breast carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 162 - 165.
- [4] Saito H, Tsunenari T, Onuma E, *et al.* Humanized monoclonal antibody against parathyroid hormone-related protein suppresses osteolytic bone metastasis of human breast cancer cells derived from MDA-MB-231. *Anticancer Research*, 2005, 25: 3817 - 3823.
- [5] Kang Y, Siegel P M, Shu W, *et al.* A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell*, 2003, 3: 537 - 549.
- [6] Henriksen K, Karsdal M, Delaisse J M, *et al.* RANKL and vascular endothelial growth factor (VEGF) induce osteoclast chemotaxis through an ERK1/2-dependent mechanism. *J Biol Chem*, 2003, 278: 4745 - 4753.
- [7] Mosseimer B A, Kaneider N C, Feistritz C, *et al.* Expression and function of RANK in human monocyte chemotaxis. *Arthritis Rheum*, 2004, 50: 2309 - 2316.
- [8] Jones D H, Nakashima T, Sanchez O H, *et al.* Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature*, 2006, 440: 692 - 696.

(收稿日期:2006-11-08)

(本文编辑:周艳)