

# 促性腺激素释放激素受体在乳腺癌组织中的表达及其临床意义

陈玲<sup>1</sup> 何菁<sup>1</sup> 孟东<sup>1</sup> 孙春雷<sup>1</sup> 时伟锋<sup>1</sup> 齐晓薇<sup>2</sup> 金琳芳<sup>2</sup> 徐闻欢<sup>3</sup> 周士福<sup>1</sup>

**【摘要】 目的** 探讨促性腺激素释放激素受体(GnRH-R)在乳腺癌组织中的表达及其与患者临床病理特征的相关性。**方法** 收集了2008年1月至2010年12月江南大学附属医院保存的104例浸润性乳腺导管癌患者的手术切除标本进行回顾性分析。应用免疫组织化学SP法观察乳腺癌组织中GnRH-R的表达,研究GnRH-R与乳腺癌患者临床病理特征之间的关系,并采用 $\chi^2$ 检验进行统计分析。**结果** 乳腺癌组织中GnRH-R的阳性表达率为66.3%(69/104)。GnRH-R的阳性表达率在luminal A型、luminal B型、HER-2过表达型、三阴性乳腺癌患者中分别为5/11、61.4%(27/44)、8/16、87.9%(29/33),差异有统计学意义( $\chi^2=11.407, P<0.050$ )。两两比较显示,GnRH-R在三阴性乳腺癌的阳性表达率高于luminal A型( $\chi^2=8.455, P<0.008$ )和HER-2过表达型( $\chi^2=8.361, P<0.008$ )。乳腺癌组织中GnRH-R的阳性表达率在不同年龄、组织学分级、淋巴结转移状态及临床分期的患者中,差异没有统计学意义( $\chi^2=0.506, P=0.477$ ;  $\chi^2=0.007, P=0.936$ ;  $\chi^2=2.158, P=0.340$ ;  $\chi^2=0.007, P=0.936$ )。**结论** GnRH-R在三阴性乳腺癌组织中呈高表达,可能为三阴性乳腺癌患者的治疗提供参考。

**【关键词】** 乳腺肿瘤; 分子分型; 受体, GnRH

**【中图法分类号】** R737.9 **【文献标志码】** A

**Expression of gonadotropin releasing hormone receptor in breast cancer tissue and its clinical significance** Chen Ling<sup>1</sup>, He Jing<sup>1</sup>, Meng Dong<sup>1</sup>, Sun Chunlei<sup>1</sup>, Shi Weifeng<sup>1</sup>, Qi Xiaowei<sup>2</sup>, Jin Linfang<sup>2</sup>, Xu Wenhuan<sup>3</sup>, Zhou Shifu<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of General Surgery, <sup>2</sup>Department of Pathology, <sup>3</sup>Department of Medical Oncology, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214062, China

Corresponding author: Zhou Shifu, Email:13511646870@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of gonadotropin releasing hormone receptor (GnRH-R) in breast cancer tissue and its correlation with patients' clinicopathological characteristics. **Methods** We collected surgically resected specimens from 104 cases of invasive ductal breast cancer in the Affiliated Hospital of Jiangnan University from December 2010 to January 2008 for a retrospective study. The expression of GnRH-R in breast cancer tissue was detected by immunohistochemical SP method. The correlation between GnRH-R expression and patients' clinicopathological characteristics was analyzed using  $\chi^2$  test. **Results** The positive rate of GnRH-R in invasive breast cancer tissue was 66.3% (69/104). With regards to different molecular subgroups, the positive rate of GnRH-R was 5/11 in luminal A subtype, 61.4% (27/44) in luminal B subtype, 8/16 in HER-2 overexpression subtype and 87.9% (29/33) in triple negative subtype, indicating a significant difference( $\chi^2=11.407, P<0.050$ ). The pairwise comparison showed that the positive expression rate of GnRH-R in triple negative subtype was significantly higher than that in luminal A subtype ( $\chi^2=8.455, P<0.008$ ) or HER-2 overexpression subtype( $\chi^2=8.361, P<0.008$ ) respectively. The positive rates of GnRH-R in breast cancer tissues presented no significant difference in patients with different ages, histological grade, lymph node metastasis and clinical stages ( $\chi^2=0.506, P=0.477$ ;  $\chi^2=0.007, P=0.936$ ;  $\chi^2=2.158, P=0.340$ ;  $\chi^2=0.007, P=0.936$ ). **Conclusion** GnRH-R is highly expressed in triple negative

breast cancer tissue, which may provide references for the treatment of triple negative breast cancer.

【Key words】 Breast neoplasms; Molecular typing; Receptors, GnRH

乳腺癌是一种具有异质性的肿瘤,根据不同标志物的表达,可分为多种分子分型,具有不同的临床生物学特性。目前,乳腺癌的个体化治疗策略主要是通过评估激素受体(ER、PR)状态和 HER-2 的表达情况而决定。但是,对于三阴性乳腺癌这样一类治疗手段有限、恶性程度较高的肿瘤,寻找合适的治疗靶点始终是临床医师关注的焦点。

促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)是下丘脑释放的十肽激素,能特异性结合促性腺激素释放激素受体(gonadotropin releasing hormone receptor, GnRH-R)。GnRH-R 主要分布于垂体,在人体的多种恶性肿瘤中也有表达,如激素依赖相关的肿瘤(前列腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌等)或与激素依赖无关的肿瘤(黑色素瘤、胶质瘤、肺癌、胰腺癌等)。即使肿瘤已经逃脱激素依赖(如去势抵抗性前列腺癌),也能表达 GnRH-R<sup>[1]</sup>。除了调控人类生殖功能外,GnRH-R 也在肿瘤的发生、发展中发挥关键作用。GnRH-R 是 GnRH 激动剂(通过使受体脱敏)和拮抗剂(通过阻断受体)治疗激素依赖性疾病包括激素依赖性肿瘤的靶点,这些受体被耦合到一个 G(ai)-介导的细胞内信号转导通路<sup>[2]</sup>。GnRH 激动剂可以诱导 GnRH-R 活化,后者具有较强的抗增殖、抗转移和抗血管生成活性。GnRH 拮抗剂也能介导直接的抗肿瘤作用,既在垂体水平拮抗 GnRH-R,亦能在肿瘤中作为 GnRH-R 的激动剂<sup>[3]</sup>。

基于一系列的实验观察,肿瘤组织来源的 GnRH-R 在相关肿瘤中可作为新的候选因子,通过应用现有的 GnRH 类似物,在肿瘤靶向治疗中发挥作用。本研究主要通过观察乳腺癌组织中 GnRH-R 的表达及其与乳腺癌患者临床病理特征的相关性,为临床治疗提供参考。

## 资料与方法

### 一、一般资料

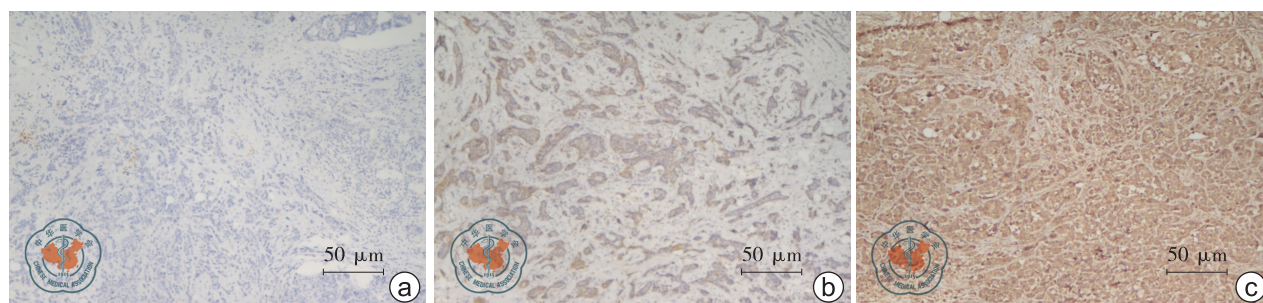
收集江南大学附属医院病理科保存的 2008 年 1 月至 2010 年 12 月的乳腺癌手术切除标本 104 例进行回顾性研究,均为病理诊断证实的浸润性导管癌,其中 luminal A 型占 10.6% (11/104), luminal B 型占 42.3% (44/104), HER-2 过表达型占 15.4% (16/104), 三阴性占 31.7% (33/104)。患者年龄 24.0~80.0 岁,平均年龄为(52.8±10.5)岁。所有乳腺癌患者术前均未接受放化疗或内分泌治疗。本研究经江南大学附属医院医学伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

### 二、实验方法

所有标本均经 10% 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,4 μm 厚连续切片。一抗是兔抗人多克隆抗体 GnRH-R 购自英国 Abcam 公司,孵育浓度 1:200,二抗为辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG, DAB 染色剂及免疫组织化学 SP 染色试剂盒购自北京中杉金桥生物科技有限公司。采用免疫组织化学 SP 法检测乳腺癌组织中 GnRH-R 的表达情况。

### 三、结果判定

GnRH-R 主要在乳腺癌的细胞膜和细胞质中表达,当上述部位出现明显棕黄色颗粒为阳性(图 1)。按标本中阳性细胞数量的百分比及染色强弱来判断。染色强度:不染色为 0 分,轻度染色为 1 分,中度染色为 2 分,强度染色为 3 分。阳性细胞百分比:无细胞染色为 0 分,≤25% 的细胞染色为 1 分,26%~49% 的细胞染色为 2 分,≥50% 的细胞染色为 3 分。两者积分之和:0~1 分为(-),2 分为(+),3~4 分为(++),5~6 分为(+++) [4]。(-)为阴性组,(+)~



注:a 图为 GnRH-R(-),b 图为 GnRH-R(+),c 图为 GnRH-R(+++),GnRH-R 为促性腺激素释放激素受体

图 1 GnRH-R 在浸润性乳腺导管癌中的表达(SP ×40)

(+++ )为阳性组。

按照 ER、PR、HER-2 及 Ki67 表达情况将本组乳腺癌病例分为以下分子分型: luminal A 型(ER 阳性、PR 阳性、HER-2 阴性、Ki67 < 14%); luminal B 型(HER-2 阴性型, ER 阳性、HER-2 阴性、Ki67 ≥ 14% 或 PR 阴性; HER-2 阳性型, ER 阳性、HER-2 阳性, 无论 Ki67 及 PR 表达水平如何); HER-2 过表达型(ER 阴性、PR 阴性、HER-2 阳性); 三阴性乳腺癌(ER、PR、HER-2 均阴性)<sup>[5]</sup>。

#### 四、统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对实验结果进行分析, 采用  $\chi^2$  检验分析 GnRH-R 表达与乳腺癌患者临床病理特征之间的关系, 检验水平  $\alpha$  为 0.050。两两比较采用  $\chi^2$  分割法, 检验水平调整为  $\alpha' = 0.050/6 \approx 0.008$ 。

## 结 果

### 一、GnRH-R 在乳腺癌组织中的表达

在 104 例乳腺浸润性导管癌中, GnRH-R 表达阳性的有 69 例, 占 66.3%, 阴性的有 35 例, 占 33.7%。

### 二、GnRH-R 表达与乳腺癌患者临床病理特征之间的关系

104 例乳腺癌组织中 GnRH-R 表达与不同年龄、组织学分级、淋巴结转移数目、分子分型及临床分期之间的关系见表 1。乳腺癌组织中 GnRH-R 的阳性表达率在不同年龄、组织学分级、淋巴结转移状态及临床分期的患者中, 差异均没有统计学意义 ( $\chi^2 = 0.506, P = 0.477$ ;  $\chi^2 = 0.007, P = 0.936$ ;  $\chi^2 = 2.158, P = 0.340$ ;  $\chi^2 = 2.813, P = 0.093$ )。GnRH-R 的阳性表达率在 luminal A 型、luminal B 型、HER-2 过表达型、三阴性乳腺癌患者中分别为 5/11、61.4% (27/44)、8/16、87.9% (29/33), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 11.407, P = 0.010$ )。两两比较显示, GnRH-R 在三阴性乳腺癌的阳性表达率高于 luminal A 型和 HER-2 过表达型 ( $\chi^2 = 8.455, 8.361, P$  均 < 0.008)。

## 讨 论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 在美国每 3 例癌症中就有 1 例是乳腺癌, 病死率仅次于肺癌<sup>[6]</sup>。2015 年, 美国癌症学会公布的统计数据显示, 美国乳腺癌每年新发病例约 231 840 例, 而死亡病例

表 1 104 例浸润性乳腺癌组织中 GnRH-R 表达与临床病理特征之间的关系

临床病理特征	例数	CnRH-R 表达( 例)		χ <sup>2</sup> 值	P 值
		阳性	阴性		
年龄( 岁)					
≤45	31	19	12	0. 506	0. 477
>45	73	50	23		
组织学分级					
1、2 级	44	29	15	0. 007	0. 936
3 级	60	40	20		
淋巴结转移					
0 枚	62	38	24	2. 158	0. 340
1 ~ 3 枚	27	19	8		
≥4 枚	15	12	3		
分子分型					
luminal A	11	5	6	11. 407	0. 010
luminal B	44	27	17		
HER-2 过表达	16	8	8		
三阴性	33	29 <sup>a, b</sup>	4		
临床分期					
I 、II	86	54	32	2. 813	0. 093
III 、IV	18	15	3		

<sup>a</sup> 与 luminal A 型比较,  $\chi^2 = 8.455, P < 0.008$ ; <sup>b</sup> 与 HER-2 过表达型比较,  $\chi^2 = 8.361, P < 0.008$

则达到 40 290 例<sup>[6]</sup>。中国乳腺癌的发病率呈明显上升趋势, 特别在经济相对发达的城市, 已接近西方乳腺癌高发国家的水平; 乳腺癌是 45 岁以下女性最常见的癌症死因, 其次是肺癌<sup>[7]</sup>。虽然有效的个体化治疗已用于治疗激素受体或 HER-2 阳性乳腺癌, 但是化疗仍是三阴性乳腺癌系统治疗的主要方式。

根据配体介导的受体选择性信号理论, GnRH-R 在不同细胞中可能有不同的构象, 与 GnRH 类似物相互作用表现出不同的活性, 参与不同的细胞内信号转导通路<sup>[8]</sup>。这些类似物主要包括 GnRH 激动剂和拮抗剂、偶联 GnRH 类似物的细胞毒性化合物(如多柔比星)或营养性化合物(如姜黄素)、纳米分子包裹的抗癌化合物等<sup>[3]</sup>。骨转移是进展期乳腺癌的常见表现, 而三阴性乳腺癌侵袭性更强, 预后更差。GnRH-R 在激素非依赖性的肿瘤中表达, 无论是在体外和体内(接种到裸鼠), 它们的活化导致癌细胞增殖和转移活性的降低, 因此 GnRH 类似物具有抗肿瘤活性。GnRH-R 已被证明亦可在雄激素非依赖性的前列腺癌及非激素相关肿瘤(如黑色素瘤)中表达, GnRH 类似物在这些肿瘤中也有一定的临床应用<sup>[3,9]</sup>。体外实验证实, GnRH 类似物与亲骨的乳腺癌细胞的侵袭性存在时间依赖和剂量依赖关



系,体内实验亦证实,GnRH 类似物显著降低三阴性乳腺癌细胞的侵袭性,并且显著抑制裸鼠体内乳腺癌细胞的生长<sup>[10]</sup>。GnRH 类似物很可能在表达 GnRH-R 的三阴性乳腺癌中发挥有效的治疗作用<sup>[9, 11]</sup>。关于三阴性乳腺癌裸鼠移植瘤模型的临床前研究表明,GnRH 类似物与生长抑制有关,能减少癌细胞转移和诱导细胞凋亡<sup>[9-12]</sup>。POEMS 试验证实,在入组的绝经前期、50 岁以下并且 TNM 分期均为 I 期到 III<sub>A</sub> 期的激素受体阴性乳腺癌患者中应用 GnRH 类似物可以预防卵巢功能早衰,并且意外发现 GnRH 类似物在这些乳腺癌患者中亦可能起到治疗作用;应用戈舍瑞林的激素受体阴性乳腺癌患者,其 DFS 和 OS 有所提高;ER 阴性乳腺癌患者中联合应用化疗和 GnRH 激动剂是安全的<sup>[13]</sup>。

本研究中,66.3% (69/104) 的浸润性乳腺癌表达 GnRH-R,其中,约 87.9% 的三阴性乳腺癌表达该受体(29/33),提示该受体有潜力作为治疗靶点应用于临床。文献报道,乳腺癌组织中 GnRH 及 GnRH-R 的表达量相较于癌旁组织中更多,该特征往往提示恶性程度较高,肿瘤侵袭性更强,预后较差<sup>[14-15]</sup>。本研究还观察了高危患者(淋巴结转移数目多、组织学分级高等)的乳腺癌组织中 GnRH-R 的表达,但差异并没有统计学意义。目前对 GnRH-R 在乳腺癌中的研究方兴未艾,对于治疗手段缺乏、预后相对较差的三阴性乳腺癌,可以应用现有的 GnRH 类似物,逐步开展针对 GnRH-R 的靶向治疗,为三阴性乳腺癌患者的治疗提供参考。

### 参 考 文 献

- [1] Cheung LW, Wong AS. Gonadotropin-releasing hormone: GnRH receptor signaling in extrapituitary tissues [J]. FEBS J, 2008, 275 (22): 5479-5495.
- [2] Aguilar-Rojas A, Huerta-Reyes M. Human gonadotropin-releasing hormone receptor-activated cellular functions and signaling pathways in extra-pituitary tissues and cancer cells (review) [J]. Oncol Rep, 2009, 22(5): 981-990.
- [3] Limonta P, Montagnani Marelli M, Mai S, et al. GnRH receptors in cancer: from cell biology to novel targeted therapeutic strategies [J]. Endocr Rev, 2012, 33(5): 784-811.
- [4] 李敏,吴小华,徐翠清,等. GnRH I, GnRH II 及其受体在人卵巢恶性上皮性肿瘤细胞中的表达及意义 [J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(24): 2281-2283.
- [5] Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013 [J]. Ann Oncol, 2013, 24(9): 2206-2223.
- [6] DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, et al. Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 31-42.
- [7] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [8] Conn PM, Crowley WF Jr. Gonadotropin-releasing hormone and its analogs [J]. Annu Rev Med, 1994, 45: 391-405.
- [9] Schubert A, Hawighorst T, Emons G, et al. Agonists and antagonists of GnRH- I and -II reduce metastasis formation by triple-negative human breast cancer cells in vivo [J]. Breast Cancer Res Treat, 2011, 130(3): 783-790.
- [10] Buchholz S, Seitz S, Schally AV, et al. Triple-negative breast cancers express receptors for luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) and respond to LHRH antagonist cetrorelix with growth inhibition [J]. Int J Oncol, 2009, 35(4): 789-796.
- [11] Grundker C, Fost C, Fister S, et al. Gonadotropin-releasing hormone type II antagonist induces apoptosis in MCF-7 and triple-negative MDA-MB-231 human breast cancer cells in vitro and in vivo [J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(4): R49.
- [12] Emons G, Muller V, Ortmann O, et al. Effects of LHRH-analogues on mitogenic signal transduction in cancer cells [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 1998, 65(1-6): 199-206.
- [13] Moore HC, Unger JM, Phillips KA, et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy [J]. N Engl J Med, 2015, 372(10): 923-932.
- [14] Schally AV, Nagy A. Chemotherapy targeted to cancers through tumoral hormone receptors [J]. Trends Endocrinol Metab, 2004, 15(7): 300-310.
- [15] Harrison GS, Wierman ME, Nett TM, et al. Gonadotropin-releasing hormone and its receptor in normal and malignant cells [J]. Endocr Relat Cancer, 2004, 11(4): 725-748.

(收稿日期:2016-08-08)

(本文编辑:刘军兰)

陈玲,何菁,孟东,等.促性腺激素释放激素受体在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J/CD].中华乳腺病杂志(电子版),2017,11(2):74-77.