DOI:10.16016/j.2097-0927.202401005

GLIS3 蛋白在三阴性乳腺癌中的表达及其对患者预后的影响

李晨浩[1,3],刘月平[2],李春晓[3,4,5],崔国忠[1],黄徐晨[3,4,5],张 乙[3,4,5],张国宇[3,4,5],耿翠芝[3,4,5] 061000 河北 沧州,沧州市中心医院甲乳外二科[1];050000 石家庄,河北医科大学第四医院:病理科[2],乳腺中心[3],河北省乳腺癌分子医学重点实验室[4],河北省肿瘤预防和精准诊疗重点实验室[5]

[摘要] **目的** 观察 GLIS3 蛋白在三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer,TNBC)组织中的表达水平,分析其与三阴性乳腺癌患者预后的关系。**方法** 运用生物信息学方法分析基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus,GEO)中 GLIS3 的表达水平;根据 DNA 芯片数据,采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 GLIS3 的表达对患者生存率的影响。通过整群随机抽样法选取 2014 年 1-12 月在河北医科大学第四医院乳腺中心就诊并经病理确诊为 TNBC 的患者 125 例。纳入组织标本完好、病历资料完备以及随访资料完全的 53 例患者。通过免疫组化染色分析 GLIS3 在 TNBC 以及癌旁乳腺组织中的表达,同时分析 GLIS3 蛋白在乳腺癌组织中的表达与乳腺癌患者的年龄、月经周期、肿瘤大小、临床阶段、组织学评级、病理种类、腋窝淋巴结转移、脉管瘤栓、TP53、Ki-67 等临床病理学参数之间的联系。利用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 GLIS3 对三阴性乳腺癌患者的无病生存期和总生存期的影响。利用 Cox 回归模型分析影响三阴性乳腺癌患者预后的风险因素。**结果** GSE76275 数据库解析结果发现,GLIS3 在 TNBC 中的表达高于癌旁组织($P<0.05$)。与癌旁乳腺组织比较,TNBC 组织中 GLIS3 蛋白表达明显升高($P<0.05$)。在肿瘤分期较高、体积较大的患者中 GLIS3 的表达显著升高($P<0.05$)。Cox 回归模型的单因素分析发现,三阴性乳腺癌患者的无病生存期与其淋巴结转移、TNM 分期以及 GLIS3 的表达量相关($P<0.05$);单因素和多因素分析结果均显示,三阴性乳腺癌患者的总生存期与 TNM 分期相关($P<0.05$)。GLIS3 高表达的患者,无病生存期明显低于 GLIS3 低表达的患者($P<0.05$),而总生存期与 GLIS3 低表达的患者差异无统计学意义。**结论** GLIS3 蛋白在 TNBC 组织中高表达,肿瘤大小和 TNM 分期与 GLIS3 的高表达有关,GLIS3 蛋白高表达提示患者预后不良、无病生存率低。

[关键词] 三阴性乳腺癌;GLIS3;生存率;预后

[中图法分类号] R394.3;R730.7;R737.9 [文献标志码] A

Expression of GLIS3 protein in triple negative breast cancer and its influence on prognosis of patients

LI Chenhao[1,3], LIU Yueping[2], LI Chunxiao[3,4,5], CUI Guozhong[1], HUANG Xuchen[3,4,5], ZHANG Yi[3,4,5], ZHANG Guoyu[3,4,5], GENG Cuizhi[3,4,5] [1]Second Department of Thyroid and Breast Surgery, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei Province, 061000; [2]Department of Pathology, [3]Diagnostic and Therapeutic Center for Breast Diseases, [4]Hebei Provincial Key Laboratory of Molecular Medicine of Breast Cancer, [5]Hebei Provincial Key Laboratory of Tumor Prevention and Precise Diagnosis and Treatment, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei Province, 050000, China

[**Abstract**] **Objective** To observe the expression of GLIS3 in triple negative breast cancer (TNBC) and analyze its relationship with the prognosis of TNBC patients. **Methods** Bioinformatic analysis was

[基金项目] 河北省自然科学基金(H2020206199)

[通信作者] 耿翠芝,E-mail:gengcuizhisci@163.com

2097-0927/Copyright © 2024,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

applied to analyze the expression level of GLIS3 in Gene Expression Omnibus (GEO). Kaplan-Meier survival curve was plotted to evaluate the impact of GLIS3 expression on the survival rate of patients based on DNA chip data. A total of 125 patients pathologically diagnosed as TNBC in the Fourth Hospital of Hebei Medical University from January to December 2014 were enrolled by cluster random sampling. Among them, 53 patients had complete tissue specimens, medical records and follow-up data. Immunohistochemical assay was used to detect the expression of GLIS3 in TNBC and adjacent tissues to tumors, while the relationships between GLIS3 protein expression in breast cancer tissues and clinicopathological parameters such as age, menstrual status, tumor size, clinical stage, histological grade, pathological type, axillary lymph node metastasis, vascular tumor thrombus, and expression of TP53 and Ki-67 were analyzed. Kaplan-Meier survival curve was plotted to analyze the effect of GLIS3 on the overall and disease-free survival of TNBC patients. Cox regression model was established to identify the risk factors impacting the prognosis of the patients. **Results** Analysis of GEO data showed that the expression of GLIS3 in TNBC was significantly higher than that in paracancer tissues ($P<0.05$). The expression of GLIS3 was notably higher in the TNBC tissue than the adjacent tissue to tumor ($P<0.05$). A marked augmentation of GLIS3 expression was observed in both the advanced and larger-sized tumors ($P<0.05$). Univariate analysis of Cox regression model revealed that lymph node metastasis, TNM stage and GLIS3 expression were all related to disease-free survival of TNBC patients ($P<0.05$). Univariate and multivariate analyses displayed that TNM stage was related to the overall survival of TNBC patients ($P<0.05$). The patients with high expression of GLIS3 had significant shorter disease-free survival time than those with low expression ($P<0.05$), but had no statistical difference in overall survival ($P>0.05$). **Conclusion** GLIS3 protein is highly expressed in TNBC tissues, and tumor size and TNM stage are correlated with its high expression. The high expression of GLIS3 suggests that the patients have poor prognosis and low disease-free survival rate.

[**Key words**] triple negative breast cancer; GLIS3; survival rate; prognosis

Supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (H2020206199). Corresponding author: GENG Cuizhi, E-mail: gengcuizhisci@163.com

乳腺癌(breast cancer,BC)是女性中最常见的癌症类型,是全球女性癌症死亡的主要原因[1]。三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer,TNBC)在所有乳腺癌中的病死率较高。TNBC 的主要特征是激素受体(ER/PR)和 HER2 表达缺乏,约占所有乳腺癌的 15%[2]。TNBC 可进一步基于肿瘤基因表达谱的微阵列数据,分为不同的亚型,即基底样亚型(BL1、BL2)、间充质(mesenchyme,M)和间充质干细胞样(mesenchymalstem-like,MSL)亚型、免疫调节亚型(immunomodulatory,IM)和内腔雄激素受体(lumial androgen receptor,LAR)亚型等[3]。TNBC 的复发率在前 3 年最高,同时伴有远处转移,预后差,死亡风险高,严重影响患者的身心健康[4]。目前,TNBC 诊断主要基于乳房 X 线检查、免疫组化染色和放射成像等手段[5]。TNBC 的治疗选择更是有限的,TNBC 对激素治疗不敏感,并且缺乏特异性的药物靶点,一些常见的化疗药物又显示出有限的疗效[6-7]。因此,迫切需要开发针对 TNBC 新的治疗手段[8]。

*GLIS*3 基因属于 GLI 转录因子家族,主要起转录激活作用[9]。GLIS3 在多种肿瘤中高表达,包括胶质母细胞瘤、室管膜瘤、肾细胞癌、结直肠癌和黑色素瘤[10]。GLIS3 在黑色素瘤中的高表达加速细胞的侵袭和迁移[11]。下调 GLIS3 表达可抑制体外培养的黑色素瘤细胞侵袭和在鸡移植模型中的黑色素瘤迁移[12]。这些研究说明 GLIS3 的表达水平升高有利于肿瘤细胞的生长、扩散以及转移。此外,研究表明,GLIS3 在人乳腺癌组织中的相对表达比正常乳腺组织高 4 倍,且 GLIS3 高表达可能促进 TNBC 的发生发展[13]。因此,本研究将重点探讨 GLIS3 在 TNBC 中的表达水平,分析其与患者临床病理特征之间的关系以及对患者预后的影响,为深入研究 GLIS3 在 TNBC 中发挥何种作用及其机制,并能否作为针对 TNBC 治疗新靶点奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 1-12 月就诊于河北医科大学第四医

院并经病理诊断为三阴性乳腺癌的患者,经过患者本人及其家属知情同意,收集患者术后的乳腺癌组织样本125例。纳入标准:①年龄>18岁;②经病理诊断为三阴性乳腺癌;③病理资料齐全;④未经过相关抗肿瘤治疗。排除标准:①合并有其他部位恶性肿瘤;②检查前接受过其他相关治疗。最终纳入病历资料完整、随访资料齐全、组织标本完整的患者53例,并获取其肿瘤组织(TNBC组)及对应的癌旁组织(乳腺肿瘤旁2 cm以内的乳腺组织,对照组)。按照国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control,UICC)第8版乳腺癌TNM分类及分期标准,有临床分期Ⅰ期12例,Ⅱ期32例,Ⅲ期9例;按照WHO制定的病理分类方案,有浸润性导管癌35例,乳腺髓样癌10例,乳腺化生性癌3例,其他类型癌5例;腋窝淋巴无转移33例,1~3个淋巴结转移13例,≥4个淋巴结转移7例;年龄≤55岁35例,年龄>55岁18例;根据月经状况,绝经前27例,围绝经5例,绝经后21例;根据肿瘤大小,T1共20例,T2共32例,T3共1例;根据脉管瘤栓,有13例,无36例,未知4例;Ki-67≤30%共9例,>30%共44例;TP53阳性30例,阴性23例;随访结果显示,复发转移2例,死亡7例,未复发转移44例。本研究获得河北医科大学第四医院伦理委员会的批准(2020KY144)。

1.2 生物信息学分析

本研究应用生物信息学方法分析GLIS3与TNBC的关系。从基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus,GEO)中下载GSE76275数据集(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE76275),获得198例三阴型乳腺癌及67例癌旁组织的RNAseq数据。使用在线网站(http://bcgenex.ico.unicancer.fr/BC-GEM/GEM-requete.php)分析GLIS3的表达对患者生存率的影响,使用“分析”栏的“预后”模块,利用DNA芯片数据,选择bc-GenExMiner v5.0在线数据库进行分析,患者总例数为372例,根据GLIS3表达水平的中位数将患者分为高、低表达组,采用Kaplan-Meier生存曲线分析GLIS3的表达对患者生存率的影响。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组化染色分析GLIS3在TNBC、癌旁乳腺组织中的表达 将福尔马林固定后的组织样本进行石蜡包埋。样品切成5 μm薄片置于载玻片,60 ℃温箱中2 h烘干。切片脱蜡至水,抗原修复液对切片进行抗原修复。然后用3%的过氧化氢孵育组织切片,并用10%正常山羊血清(北京索莱宝科技有限公司)封闭。将载玻片与GLIS3抗体(1∶100,英国Biorbyt公司)在4 ℃下孵育过夜,然后在37 ℃下添加HRP标记的山羊抗兔抗体(1∶500,美国赛默飞世尔公司)1 h。添加DAB(福州迈新试剂公司)底物溶液显色,使用苏木精(北京索莱宝科技有限公司)进行复染。用显微镜(日本奥林巴斯公司)对所有切片进行观察和拍照,并对图像进行分析。

1.3.2 免疫组化结果判定标准 利用Image pro-Plus软件分别计算阳性细胞数和细胞总数,再计算阳性细胞数和细胞总数比值得出阳性率,计算出GLIS3的表达情况。在镜下选取每张TNBC组病理切片的3个视野,对每个视野分别进行染色强度评分(0分:阴性,1分:弱,2分:中,3分:强,4分:明显)和阳性细胞率的定量计算,并对选取所有切片的最终评分进行排序,选取中位数,高于中位数即视为GLIS3高表达,低于或等于中位数即视为GLIS3低表达,用于研究GLIS3表达水平与临床病理参数的关系。

1.4 随访

采取电话随访、门诊复查及住院情况相结合的综合随访方式。随访间隔:第1~2年为每3个月1次,第3~5年为每6个月1次,5年后每年1次。随访终点为2023年1月31日。无病生存期(disease-free survival,DFS)为手术后至患者出现复发、转移或随访终点的时间;总生存期(overall survival,OS)为病理确诊为乳腺癌至患者死亡或随访终点的时间。

1.5 统计学分析

使用R 4.2.2软件进行统计分析,图片使用软件包“ggplot2”呈现,在GSE76275数据集中,乳腺癌及癌旁组织的显著性分析采用Wilcoxon检验。Kaplan-Meier生存曲线分析对三阴性乳腺癌患者的无病生存期、总生存期可能有影响的危险因素。免疫组化数据以百分比表示,使用χ^2检验分析GLIS3表达与临床病理特征的关系,应用Cox回归模型分析影响三阴性乳腺癌患者预后的可能危险因素。通过Kaplan-Meier方法分析GLIS3表达与三阴性乳腺癌患者无病生存期、总生存期的关系,并通过Log-rank计算生存率。$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 生物信息学分析 GLIS3 在三阴性乳腺癌中的表达水平及其患者的生存情况

通过 GSE76275 数据集,获得 198 例三阴性乳腺癌组织(TNBC 组)及 67 例癌旁组织(Normal 组)中 GLIS3 的表达情况。结果显示,GLIS3 在 TNBC 组的表达水平高于 Normal 组($P<0.05$,图 1)。另外,根据 DNA 芯片数据,通过 Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,GLIS3 低表达患者的无远处转移生存期(distant metastasis free survival, DMFS)较高表达患者更好,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 2)。

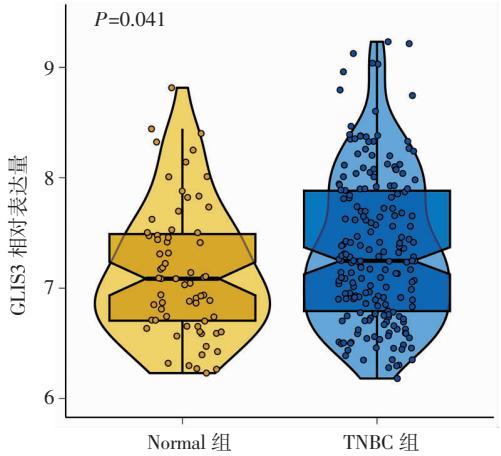


图 1 GLIS3 在 TNBC 及癌旁组织中的表达水平

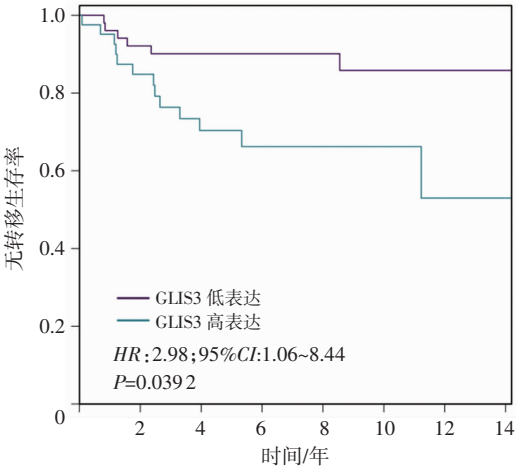


图 2 Kaplan-Meier 生存曲线分析 GLIS3 高、低表达组患者的生存率

2.2 GLIS3 在三阴性乳腺癌及癌旁乳腺组织中的表达

按照免疫组化结果计算 GLIS3 的阳性率,TNBC 组为 98.00%,显著高于对照组癌旁乳腺组织的 5.07%($P<0.01$)。免疫组化染色结果显示,与对照组比较,TNBC 组可见大量的 GLIS3 染色,GLIS3 蛋白高表达,见图 3。

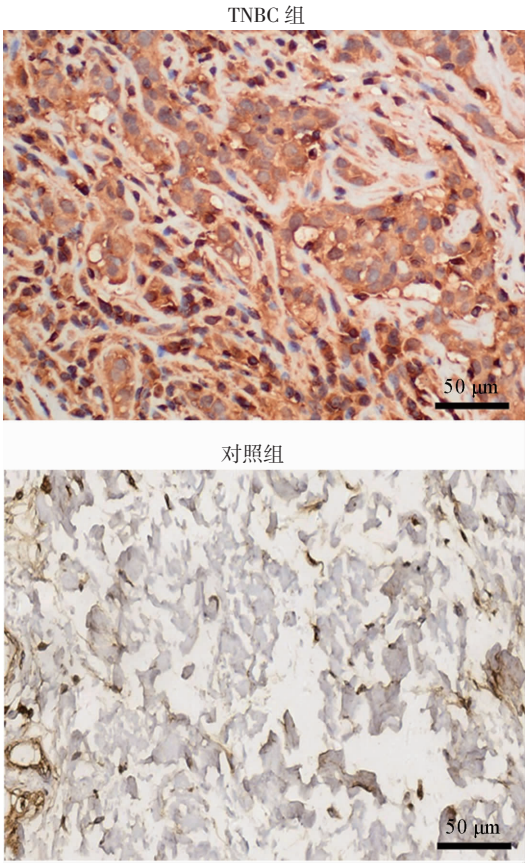


图 3 免疫组化染色观察 TNBC 组织中 GLIS3 的表达

2.3 GLIS3 表达水平与临床病理参数的关系

在肿瘤分期较高和肿瘤长径较大的患者中,GLIS3 的表达量显著增高($P<0.05$,表 1);而在年龄、月经状态、有无淋巴结转移、病理类型、有无脉管瘤栓、Ki-67、TP53、预后这些指标中,GLIS3 表达量与其无明显相关性($P>0.05$,表 1)。

2.4 GLIS3 的表达水平与 TNBC 预后的关系

利用 Kaplan-Meier 法分析 GLIS3 的表达量与三阴性乳腺癌患者的无病生存期的联系。结果显示,GLIS3 高表达患者的无病生存期较低表达患者明显缩短($P<0.05$,图 4)。GLIS3 高表达的患者总生存期与低表达的患者差异无统计学意义(图 5)。

2.5 GLIS3 的表达水平及临床病理参数与 DFS、OS 相关指标的分析

单因素分析结果显示,有无淋巴及转移、TNM 分期、GLIS3 的表达水平均与三阴性乳腺癌患者的无病生存期相关($P<0.05$);多因素分析结果显示,有无淋巴结转移、TNM 分期及 GLIS3 的表达水平与三阴性乳腺癌患者的无病生存期无相关性(表 2)。此外,单因素和多因素分析结果均显示,TNM 分期与三阴性乳腺癌患者的总生存期相关($P<0.05$,表 3)。

表 1 TNBC 患者中 GLIS3 表达水平与临床病理特征间的关系[例(%)]

病理特征	*n*	GLIS3 高表达	GLIS3 低表达	*P*
年龄/岁				
≤55	35(66.0)	15(65.2)	20(66.7)	1.000
>55	18(34.0)	8(34.8)	10(33.3)	
月经状态				
绝经前	27(50.9)	12(52.2)	15(50.0)	0.528
围绝经期	5(9.5)	1(4.3)	4(13.3)	
绝经后	21(39.6)	10(43.5)	11(36.7)	
肿瘤长径/cm				
≤2	20(37.7)	4(17.4)	16(53.3)	0.019
<2~5	32(60.4)	18(78.3)	14(46.7)	
>5	1(1.9)	1(4.3)	0(0.0)	
淋巴结转移/个				
0	33(62.3)	13(56.6)	20(66.7)	0.275
1~3	13(24.5)	5(21.7)	8(26.6)	
≥4	7(13.2)	5(21.7)	2(6.7)	
TNM 分期				
Ⅰ	12(22.6)	1(4.3)	11(36.7)	0.014
Ⅱ	32(60.4)	16(69.6)	16(53.3)	
Ⅲ	9(17.0)	6(26.1)	3(10.0)	
病理类型				
浸润性导管癌	35(66.0)	14(60.9)	21(70.0)	0.795
髓样癌	10(18.9)	5(21.7)	5(16.6)	
化生型癌	3(5.7)	1(4.3)	2(6.7)	
其他	5(9.4)	3(13.1)	2(6.7)	
脉管瘤栓				
iv(+)	13(24.5)	6(26.1)	7(23.3)	0.925
iv(−)	36(67.9)	15(65.2)	21(70.0)	
未知	4(7.6)	2(8.7)	2(6.7)	
Ki-67				
≤30%	9(17.0)	1(4.3)	8(26.7)	0.076
>30%	44(83.0)	22(95.7)	22(73.3)	
TP53				
阳性	30(56.6)	12(52.2)	18(60.0)	0.772
阴性	23(43.4)	11(47.8)	12(40.0)	
远处转移				
有	9(17.0)	7(30.4)	2(6.7)	0.055
无	44(83.0)	16(69.6)	28(93.3)	

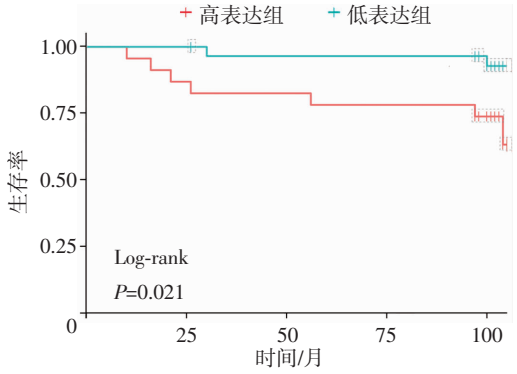


图 4 GLIS3 表达水平对患者无病生存期的影响

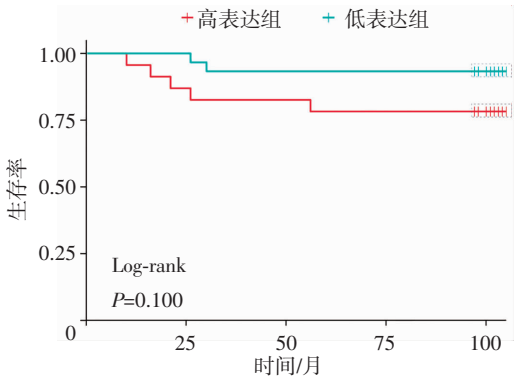


图 5 GLIS3 表达水平对患者总生存期的影响

3 讨论

三阴性乳腺癌是一种特殊的侵袭性乳腺癌亚型,主要特征为雌激素受体、孕酮受体和 HER2 受体不表达[14]。尽管目前有外科手术、放化疗、靶向药物等治疗方法,但 TNBC 的病死率仍未得到明显改善,且预后较差。随着癌症治疗的个体化精准化发展,探寻有关 TNBC 预后的相关基因,开发更为可靠和精准的靶向生物监测指标已经成为新的热点。GLIS3 是 Krüppel 样锌指转录因子 GLIS 亚家族成员之一,在肿瘤发生发展过程中起关键驱动作用。肿瘤细胞内 GLIS3 普遍高表达,而下调表达后有助于改善肿瘤细胞的恶性生物

表 2 Cox 回归模型分析影响三阴性乳腺癌无病生存期的因素

病理特征	例数	单因素分析			多因素分析		
		HR	95%*CI*	*P* 值	*HR*	95%*CI*	*P*
肿瘤长径/cm(>2/≤2)	33/20	0.697	0.19~2.60	0.592			
淋巴结转移(≥1/0)	20/33	4.190	1.04~16.90	0.044	3.214	0.70~14.87	0.135
TNM 分期(Ⅲ/Ⅰ、Ⅱ)	9/44	6.050	1.59~23.00	0.008	2.539	0.57~11.30	0.221
组织学类型(nonIDC/IDC)	18/35	1.010	0.25~4.06	0.986			
Ki-67(>30%/≤30%)	44/9	1.820	0.23~14.60	0.573			
TP53(+/−)	30/23	0.898	0.24~3.35	0.873			
GLIS3 表达(高/低)	23/30	5.270	1.09~25.40	0.038	4.279	0.83~21.99	0.082

表 3 Cox 回归模型分析影响三阴性乳腺癌总生存期的因素

病理特征	例数	单因素分析			多因素分析		
		HR	95%*CI*	*P*	*HR*	95%*CI*	*P*
肿瘤长径/cm(>2/≤2)	33/20	0.448	0.10~2.00	0.293			
淋巴结转移(≥1/0)	20/33	4.730	0.92~24.40	0.063			
TNM 分期(Ⅲ/Ⅰ、Ⅱ)	9/44	8.250	1.84~37.00	0.006	0.160	0.03~0.78	0.023
组织学类型(nonIDC/IDC)	18/35	0.756	0.15~3.90	0.738			
TP53(+/−)	30/23	0.274	0.05~1.41	0.122			
远处转移(有/无)	2/51	21.300	0.00~1.80×10^{9}	0.743			
GLIS3 表达(高/低)	23/30	3.610	0.70~18.60	0.125	0.522	0.09~2.98	0.465

学行为[11-12,15-16]。例如,GLIS3 通过调节 TGF-β1/TGFβR1/Smad1/5 通路促进胃腺癌细胞的恶性表型[17];同样,circGLIS3 通过抑制 miR-1343-3p 和调节波形蛋白磷酸化促进胃癌进展[18];GLIS3 还参与非玻璃样小梁状甲状腺腺瘤的发展[19-20]。

本研究首先通过 GSE76275 数据集筛选 TNBC 的癌及癌旁组织中 GLIS3 的表达差异,随后对 TNBC 临床患者样本进行免疫组化染色分析,结果均显示 GLIS3 在 TNBC 癌组织中呈现高表达状态。并且,TNBC 患者的病理参数分析结果显示,肿瘤分期较高和肿瘤较大患者 GLIS3 的表达水平显著升高。肿瘤大小是重要的预后因素,当肿瘤较大时,可能意味着肿瘤细胞的活跃生长和较高的恶性程度,往往会导致更快的病情进展和较差的疗效。肿瘤分期也是影响患者生存质量的关键因素,高分期的肿瘤往往提示治疗效果不佳,患者的生存期可能会缩短。因而,GLIS3 在 TNBC 中的表达水平增高可能严重影响患者的预后以及生活质量。这些结果均提示 GLIS3 是一种潜在的 TNBC 诊断和预后预测的生物标志物。研究已证实 GLIS3 高表达出现在多种肿瘤类型中,包括胶质母细胞瘤、室管膜瘤、导管乳腺癌、肾细胞癌、结直肠癌和黑色素瘤等,并且也和肿瘤长径、质地、转移率等具有相关性[21-22]。本研究采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果显示,5 年内 GLIS3 高表达患者的无病生存率已降低,随后逐年的可随访患者也少于 GLIS3 低表达的患者。应用 Cox 回归模型对患者无病生存期进行分析,长期随访分析结果显示虽然 GLIS3 的表达对 TNBC 的总生存期无明显,但明显影响了三阴性乳腺癌患者的无病生存期,GLIS3 高表达的 TNBC 患者无病生存期明显缩短。无病生存期是一个重要的临床指标,常用于评估根治术或放化疗后的辅助治疗效果,判断肿瘤复发的风险[23]。本研究结果还显示有无淋巴结转移和 TNM 分期也与无病生存期有相关性,提示 GLIS3 的表达水平可能通过影响有无淋巴结转移和分期情况进而影响 TNBC 的病情发展。有研究报道,TNBC 的肿瘤异质性导致其对传统治疗或新的靶向治疗的反应效果不同,通常也会影响患者的无病生存期[24]。本研究结果显示,GLIS3 的表达水平主要影响 TNBC 患者在接受治疗后的反应效果和受益时间,GLIS3 高表达的患者治疗后受益时间明显缩短。并且,王瑞等[25]的研究显示,GLIS3 在胃癌组织中表达明显上调,并且 GLIS3 高表达患者的预后较低表达患者更差,可作为胃癌诊断的预后标志物,与本研究结果相符。提示 GLIS3 可以作为影响 TNBC 患者无病生存期的重要因素。

研究证实 NF-κB 信号转导通路与肿瘤的发病过程密切相关[26-27]。在 TNBC 的发生发展过程中也存在 NF-κB 信号通路的异常活化,进而调控下游的促癌靶基因异常表达,促进 TNBC 的发生发展、转移侵袭和化疗抵抗[28]。因此,我们推测 GLIS3 造成 TNBC 患者的预后不良的机制可能与调节 NF−κB 信号通路的激活有关,在后续研究中将进一步深入探究 GLIS3 高表达与 TNBC 癌症组织内 NF-κB 信号通路活化情况的相关性。

本研究尚有一定局限性:由于完全符合纳入标准的患者基数较小,后续的随访时间较长且受到部分随访患者配合的影响,限制了本研究中可用于回归性分析的最终病例样本数量。

综上所述,本研究通过生物信息学分析,证实 GLIS3 在三阴性乳腺癌患者中高表达,并且影响患者的无病生存率。本研究结合 TNBC 患者的临床病理参数分析明确肿瘤分期和肿瘤大小与 GLIS3 表达水平相关,且淋巴结转移、TNM 分期、GLIS3 的表达可能影响三阴性乳腺癌患者的预后。本研究为 GLIS3 在三阴性

乳腺癌中的作用提供了初步证据,也将在后续研究中进一步解析 GLIS3 在三阴性乳腺癌中的作用机制以及寻求新的生物治疗靶点。

作者贡献声明 李晨浩参与实验设计、实验实施及撰写论文;刘月平、李春晓、崔国忠参与实验评估;黄徐晨、张乙、张国宇参与实验实施;耿翠芝参与实验设计及论文审校

参考文献:

[1] NIK-ZAINAL S, DAVIES H, STAAF J, *et al*. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences[J]. Nature, 2016, 534(7605): 47-54. DOI: 10.1038/nature17676.

[2] XIA C F, DONG X S, LI H, *et al*. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends and determinants [J]. Chin Med J(Engl), 2022, 135(5): 584-590. DOI: 10.1097/CM9.0000000000002108.

[3] VAGIA E, MAHALINGAM D, CRISTOFANILLI M. The landscape of targeted therapies in TNBC[J]. Cancers, 2020, 12(4): 916. DOI: 10.3390/cancers12040916.

[4] 董文磊, 程巧, 甘露. $T_2N_0M_0$ 三阴性乳腺癌患者复发的危险因素及不同局部治疗方案对预后的影响[J]. 肿瘤学杂志, 2023, 29(3): 198-202. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.03.B005.
DONG W L, CHENG Q, GAN L. Risk factors of recurrence and prognosis in patients of $T_2N_0M_0$ tride-negative breast cancer undergoing different therapeutic modalities[J]. J Chin Oncol, 2023, 29(3): 198-202. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.03.B005.

[5] 张正品, 裴斐, 金建芳, 等. 超声诊断在三阴性乳腺癌诊断中的临床意义[J]. 长治医学院学报, 2023, 37(1): 36-39. DOI: 10.3969/j.issn.1006-0588.2023.01.009.
ZHANG Z P, PEI F, JIN J F, *et al*. Clinical significance of ultrasound in the diagnosis of triple-negative breast cancer [J]. J Changzhi Med Coll, 2023, 37(1): 36-39. DOI: 10.3969/j.issn.1006-0588.2023.01.009.

[6] WON K A, SPRUCK C. Triple-negative breast cancer therapy: current and future perspectives (Review)[J]. Int J Oncol, 2020, 57(6): 1245-1261. DOI: 10.3892/ijo.2020.5135.

[7] 史超, 张香梅, 刘运江. 三阴性乳腺癌免疫及靶向治疗研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2023, 50(7): 710-716. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2023.22.1426.
SHI C, ZHANG X M, LIU Y J. Research progress on immunization and targeted therapy for triple-negative breast cancer[J]. Cancer Res Prev Treat, 2023, 50(7): 710-716. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2023.22.1426.

[8] 阎红, 支欣. 三阴性乳腺癌治疗有新策略[N]. 健康报, 2023-06-21(6).
YAN H, ZHI X. New treatment strategy for triple negative breast cancer[N]. Health News, 2023-06-21(6).

[9] PINTO K, CHETTY R. Gene of the month: *GLIS*1-3[J]. J Clin Pathol, 2020, 73(9): 527-530. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206859.

[10] YUSENKO M V, KOVACS G. Identifying CD82 (KAI1) as a marker for human chromophobe renal cell carcinoma[J]. Histopathology, 2009, 55(6): 687-695. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2009.03449.x.

[11] LUKASHOVA-V ZANGEN I, KNEITZ S, MONORANU C M, *et al*. Ependymoma gene expression profiles associated with histological subtype, proliferation and patient survival[J]. Acta Neuropathol, 2007, 113(3): 325-337. DOI: 10.1007/s00401-006-0190-5.

[12] JAYACHANDRAN A, PRITHVIRAJ P, LO P H, *et al*. Identifying and targeting determinants of melanoma cellular invasion[J]. Oncotarget, 2016, 7(27): 41186-41202. DOI: 10.18632/oncotarget.9227.

[13] RAMI F, BARADARAN A, KAHNAMOOI M M, *et al*. Alteration of *GLIS*3 gene expression pattern in patients with breast cancer[J]. Adv Biomed Res, 2016, 5: 44. DOI: 10.4103/2277-9175.178803.

[14] ZAGAMI P, CAREY L A. Triple negative breast cancer: pitfalls and progress[J]. NPJ Breast Cancer, 2022, 8(1): 95. DOI: 10.1038/s41523-022-00468-0.

[15] LICHTI-KAISER K, ZERUTH G, KANG H S, *et al*. Gli-similar proteins: their mechanisms of action, physiological functions and roles in disease[J]. Vitam Horm, 2012, 88: 141-171. DOI: 10.1016/B978-0-12-394622-5.00007-9.

[16] JETTEN A M. Emerging roles of GLI-similar Krüppel-like zinc finger transcription factors in leukemia and other cancers [J]. Trends Cancer, 2019, 5(9): 547-557. DOI: 10.1016/j.trecan.2019.07.005.

[17] ZHANG Y, WANG B, SONG H, *et al*. GLIS3, a novel prognostic indicator of gastric adenocarcinoma, contributes to the malignant biological behaviors of tumor cells *via* modulating TGF-β1/TGFβR1/Smad1/5 signaling pathway [J]. Cytokine, 2023, 170: 156342. DOI: 10.1016/j.cyto.2023.156342.

[18] ZHANG Y X, WANG X F, LIU W W, *et al*. CircGLIS3 promotes gastric cancer progression by regulating the miR-1343-3p/PGK1 pathway and inhibiting vimentin phosphorylation[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 251. DOI: 10.1186/s12967-023-04625-2.

[19] HIROKAWA M, MATSUSE M, MITSUTAKE N, *et al*. Non-hyalinizing trabecular thyroid adenoma: a novel thyroid

tumor with diagnostic pitfalls of hyalinizing trabecular adenoma and medullary thyroid carcinoma[J]. Diagn Pathol, 2023, 18(1): 74. DOI: 10.1186/s13000-023-01361-5.

[20] MAHJABIN F, GONSALVES C, DREW P A, *et al*. Understanding and overcoming the pitfalls in cytopathological diagnosis of hyalinizing trabecular tumor of thyroid[J]. Int J Surg Pathol, 2024, 32(1): 91-96. DOI: 10.1177/10668969231166295.

[21] AL-TEMAIMI R A, TAN T Z, MARAFIE M J, *et al*. Identification of 42 genes linked to stage Ⅱ colorectal cancer metastatic relapse[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(5): 598. DOI: 10.3390/ijms17050598.

[22] KUMARI M, KRISHNAMURTHY P T, PINDUPROLU S K S S, *et al*. DR-5 and DLL-4 MAb functionalized SLNs of gamma-secretase inhibitors- an approach for TNBC treatment[J]. Adv Pharm Bull, 2021, 11(4): 618-623. DOI: 10.34172/apb.2021.070.

[23] 徐博文, 畅建平, 魏志成, 等. 影响胆囊癌病人R0切除术后远期疗效的危险因素及治疗策略分析[J]. 中国实用外科杂志, 2023, 43(11): 1258-1266. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2023.11.14.
XU B W, CHANG J P, WEI Z C, *et al*. Analysis of prognostic factors and treatment strategies affecting long-term efficacy of R0 resection in patients with gallbladder cancer[J]. Chin J Pract Surg, 2023, 43(11): 1258-1266. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2023.11.14.

[24] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

[25] 王瑞, 马腾达, 屈才浩, 等. 基于生物信息学分析GLIS3在胃癌中表达与免疫浸润的临床意义[J]. 重庆医学, 2022, 51(17): 3003-3009, 3015. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2022.17.027.
WANG R, MA T D, QU C H, *et al*. Clinical significance of GLIS3 expression and immune infiltration in gastric cancer based on bioinformatics analysis[J]. Chongqing Med, 2022, 51(17): 3003-3009, 3015. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2022.17.027.

[26] PERKINS N D. The diverse and complex roles of NF-κB subunits in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(2): 121-132. DOI: 10.1038/nrc3204.

[27] XU L, HAZARD F K, ZMOOS A F, *et al*. Genomic analysis of fibrolamellar hepatocellular carcinoma[J]. Hum Mol Genet, 2015, 24(1): 50-63. DOI: 10.1093/hmg/ddu418.

[28] DIDONATO J A, MERCURIO F, KARIN M. NF-κB and the link between inflammation and cancer[J]. Immunol Rev, 2012, 246(1): 379-400. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2012.01099.

(**收稿**:2024-01-03;**修回**:2024-04-04)

(编辑 汪勤俭)