

# BBOX1 下调对浸润性乳腺癌患者预后的影响及肿瘤免疫相关性分析

张红英<sup>1</sup>, 侯令密<sup>1,2,3</sup>, 杨建平<sup>1</sup>, 唐林红<sup>1</sup>, 李娜<sup>1</sup>, 贾捷登<sup>1</sup>

(1. 南充市第五人民医院·西华师范大学附属医院甲状腺乳腺外科; 川北医学院附属医院, 2. 乳腺癌生物靶向研究室, 3. 甲状腺乳腺外科, 四川南充 637000)

**【摘要】目的:** 探讨  $\gamma$  丁酰甜菜碱羟化酶基因 (BBOX1) 下调对浸润性乳腺癌患者预后的影响及肿瘤免疫相关性。**方法:** 通过 TCGA 数据及 GTEx 数据库探究 BBOX1 在乳腺癌中的表达情况, BcGenExMiner v 4.5 数据库和免疫组化方法分析 BBOX1 表达水平与病理学特征的关系。Kaplan-Meier Plotter 数据库预测 BBOX1 在乳腺癌中的预后作用, cancerSEA 数据库评估 BBOX1 在乳腺癌单细胞中的功能。Metascape 数据库分析 GO 富集和 KEGG 信号通路。TISIDB 数据库分析乳腺癌内肿瘤趋化因子及肿瘤免疫学细胞浸润相关性。**结果:** BBOX1 在乳腺癌中高表达, 且表达水平与肿瘤免疫微环境形成有关。预后分析显示, BBOX1 高表达提示更差的无病生存期 (RFS) 和总生存期 (OS)。单细胞功能分析显示, BBOX1 表达在乳腺癌中主要与血管生成、DNA 修复、上皮间质转化、侵袭、分化及干细胞特性相关。**结论:** 乳腺癌组织中 BBOX1 异常高表达, 且预示乳腺癌不良预后, 并与乳腺癌肿瘤免疫微环境的形成存在一定相关性。

**【关键词】** 乳腺癌;  $\gamma$  丁酰甜菜碱羟化酶; 肿瘤免疫

**【中图分类号】** R737.9; R446 **【文献标志码】** A

## Effect of down-regulation of BBOX1 on prognosis of patients with invasive breast cancer and correlation analysis of tumor immunity

ZHANG Hong-ying<sup>1</sup>, HOU Ling-mi<sup>1,2,3</sup>, YANG Jian-ping<sup>1</sup>, TANG Lin-hong<sup>1</sup>, LI Na<sup>1</sup>, JIA Jie-deng<sup>1</sup>

(1. Department of Thyroid and Breast Surgery, Nanchong Fifth People's Hospital, Affiliated Hospital of China West Normal University; 2. Breast Cancer Biotargeting Laboratory; 3. Department of Thyroid and Breast Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

**【Abstract】Objective:** To explore the effect of down-regulation of  $\gamma$ -butyrobetaine hydroxylase 1 (BBOX1) of patients with invasive breast cancer and correlation analysis of tumor immunity. **Methods:** The expression of BBOX1 in breast cancer was explored by TCGA and GTEx database. And the relationship between the expression of BBOX1 and pathological features was analyzed by BcGenExMinerv4.5 database and immunohistochemical methods. Kaplan-MeierPlotter database predicted the prognostic role of BBOX1 in breast cancer, and cancerSEA database evaluated the function of BBOX1 in breast cancer single cells. The Metascape database was used for GO enrichment and KEGG signaling pathway analysis. The TISIDB database was used to analyse of tumor chemotactic factors and tumor immunological cell infiltration related to breast cancer. **Results:** BBOX1 was highly expressed in breast cancer and its expression level was related to the formation of tumor immune microenvironment. Prognostic analysis showed that high expression of BBOX1 indicates worse recurrence free survival (RFS) and overall survival (OS). Single cell functional analysis revealed that BBOX1 expression was mainly related to angiogenesis, DNA repair, epithelial mesenchymal transformation, invasion, differentiation and stem cell characteristics in breast cancer. **Conclusion:** The abnormally high expression of BBOX1 in breast cancer indicates a poor prognosis and has a certain correlation with the formation of tumor immune microenvironment in breast cancer.

**【Key words】** Breast cancer;  $\gamma$ -butyrobetaine hydroxylase 1; Tumor immunity

乳腺癌是全球发病率排列第二的恶性肿瘤,也是女性恶性肿瘤相关死亡的最常见原因<sup>[1-2]</sup>。由于乳腺癌本身具有极高的异质性,针对不同类型乳腺癌的治疗方式也大相径庭<sup>[3]</sup>。随着基因芯片的高

速发展,在基因测序上有大量潜在未被发掘的信息,这也为生物信息学的快速发展提供了条件。生物信息学用于寻找乳腺癌诊疗新靶点的作用也逐渐得到临床医生相关学者的重视<sup>[4]</sup>。 $\gamma$  丁酰甜菜碱羟化酶

基因(BBOX1),也称为 $\gamma$ 氨基丁酸-N-乙酰转移酶基因,是编码一种脱氨酸转移酶的基因。BBOX1在多种生物体中都起着重要作用,其编码的酶在将 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)转化为多巴(一种神经递质)的过程中发挥作用<sup>[5]</sup>,对于神经系统的正常功能至关重要;参与谷氨酸代谢途径,与肿瘤细胞的能量代谢和生长相关,异常表达或突变可能通过影响神经递质合成来影响肿瘤细胞的生长和转移能力<sup>[6]</sup>。BBOX1被多项研究<sup>[7-9]</sup>证实,在胃癌、结肠直肠癌及宫颈癌等多种恶性肿瘤的发生发展中发挥重要作用,但其在乳腺癌中的作用研究甚少。本研究旨在通过生物信息学手段联合免疫组化探讨BBOX1在乳腺癌中的表达及其临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年12月至2021年12月南充市第五人民医院就诊并接受手术治疗的80例乳腺癌患者为研究对象,其中Luminal A型26例,Luminal B型31例;HER-2过表达型12例,三阴性乳腺癌11例。乳腺癌及癌旁组织(癌旁组织取自乳腺癌组织周围5 cm处组织)相关标本委托医院病理科,由病理科高年资技术员制成石蜡组织切片。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者知情同意。纳入标准:(1)术后病理诊断为浸润性乳腺癌;(2)手术前未接受化疗、放疗等治疗;(3)患者未合并由其它恶性肿瘤。排除标准:(1)处于妊娠期患者;(2)男性;(3)判断存疑的病理亚型;(4)不完整的病历资料;(5)拒绝参与本项研究的患者。

### 1.2 方法

1.2.1 TCGA数据库的获取 UCSC数据库(University of California, Santa Cruz database)是由美国加州大学圣克鲁兹分校开发和维护的一个在线基因组数据库<sup>[10]</sup>。它提供了来自各种生物物种的基因组序列、注释信息、基因表达数据等,为生物学研究者和生命科学领域的其他专业人士提供了一个重要的资源平台。UCSC数据库作为一个综合性的生物信息资源平台,具有多项重要功能,包括:(1)基因组浏览器:通过在线浏览器可以查看各种物种的基因组序列、注释信息、变异位点等;(2)BLAT搜索:提供快速的本地比对工具,可以帮助用户在大规模基因组中快速定位感兴趣的基因或序列;(3)基因表达数据:整合来自多个公共数据库的大量RNA-seq和microarray数据,方便用户进行差异表达分析;(4)比较基因组学工具:提供多种比较基因组学分析工具,帮助用户研究不同物种之间的遗传关系和进化过程。从UCSC数据库([https://genome.ucsc.](https://genome.ucsc.edu/)

[edu/](https://genome.ucsc.edu/))下载TCGA数据库中1 212例浸润性乳腺癌患者的BBOX1的RNA-seq数据以及生存数据。由于TCGA内正常乳腺组织量少,并从GTEx数据集中抽取90例正常乳腺组织的RNA-seq数据作为对照组。Kaplan-meier Plotter数据库<sup>[11]</sup>是基于来源于GEO、EGA和TCGA等数据库的芯片和RNA-seq数据构建的,评估了54 675个基因在21种癌症中对于生存率的影响,其中乳腺癌(6 234例)、卵巢癌(2 190例)、肺癌(3 452例)和胃癌(1 440例)的数据是最全面的。Kaplan-Meier Plotter数据库用于BBOX1基因对乳腺癌患者预后生存分析的影响。Metascape<sup>[10]</sup>集成了40多个生物信息数据库,通过一键快速分析的简洁界面让生物学者能够轻松获得全面的数据解析。其不仅在内容上包含了生物通路富集分析,蛋白质相互作用网络结构分析以及丰富的基因注释功能,而且将结果以生物学家容易理解的高质量的图表语言加以呈现。MetaScape数据库用于BBOX1共表达基因的GO富集和KEGG信号通路分析。临床生信之家数据库<sup>[11]</sup>是国内双一流高校浙江大学开发的综合型数据库,目前已收录多达40种疾病类型数据,整合了CCLE和Pognosis等数据库,本研究引用该数据库用于对乳腺癌预后分析及效能检测。TISIDB(an integrated repository portal for tumor-immune system interactions)是一个肿瘤免疫分析的数据库。首先,该数据库整合了肿瘤免疫学相关五大类数据资源PubMed数据库的文献挖掘结果;用于检测肿瘤细胞对T细胞介导的杀伤的耐药性和敏感性的高通量筛选数据(CRISPR-Cas9、shRNA和RNAi等);接受免疫治疗的患者队列的外显子组和RNA测序数据集;TCGA的30种癌症的基因组学、转录组学和临床数据;多个公共数据库注释信息(UniProt、GO、DrugBank等)。其次,还将这五大类资源划分为了10个方向,分别是:功能、文献、高通量筛选、免疫疗法、肿瘤浸润淋巴细胞、免疫调节剂、趋化因子、亚型、临床及药物。本研究中采用该数据库用于乳腺癌内肿瘤趋化因子及肿瘤免疫学细胞浸润相关性分析。

1.2.2 免疫组化染色及结果判读 通过徕卡石蜡切片机,将组织标本切为6  $\mu$ m的石蜡组织切片。于65  $^{\circ}$ C烤箱中烤片60 min。烤片后通过二甲苯脱蜡,梯度酒精水化。采用柠檬酸钠溶液(pH=7.45)高温煮沸做抗原修复,Triton X-100对切片进透化,3%过氧化氢浸泡破坏组织上的内源性过氧化物酶。一抗孵育操作:在玻片上画上阻水圈,滴加50  $\mu$ L一抗复盖组织,4  $^{\circ}$ C过夜。次日滴加50  $\mu$ L二抗复盖组,保湿盒中,室温20 min。作DAB显色、苏木素复

染、中性树脂封片。制成的切片由两名经验丰富的病理科医生单独读片。结果判读采用半定量评分标准,于高倍镜下随机选取 10 个视野进行细胞核阳性细胞计数,单个计数视野不少于 50 个细胞。评分标准:(1)染色程度:无染色(0 分),淡黄色(1 分),棕黄色(2 分),黄褐色(3 分);(2)阳性细胞数计数: $\leq 5\%$ (0 分), $6\% \sim 25\%$ (1 分), $26\% \sim 50\%$ (2 分), $51\% \sim 74\%$ (3 分), $\geq 75\%$ (4 分)。依据上述两项积分乘积进行判定:0 分记为(-),即阴性;1~4 分记为(+),即弱阳性;5~8 分记为(++),即阳性; $> 8$  分记为(+++),即强阳性。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行处理与分析,结果在 GraphPad Prism 7.0 中进行可视化。计量资料符合正态分布且方差齐性,以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较行单因素方差分析;不服从正态分布的计量资料比较行非参数检验;生存分析采用 Kaplan-Meier 法分析,并行 Log-rank 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TCGA 数据库中 BBOX1 在多种恶性肿瘤及乳腺癌中的表达比较

R 语言软件对 TCGA 及 GTEx 下载的数据分析结果显示,与正常组织相比 BBOX1 在膀胱癌、乳腺癌、食管癌等多种恶性肿瘤中的表达水平上调( $P < 0.05$ ),而在肾嫌色细胞癌、肾乳头状细胞癌、肝癌等多种恶性肿瘤中表达水平下调( $P < 0.05$ )。TCGA 数据库中 111 例配对的乳腺癌组织中 BBOX1 表达高于癌旁组织( $P < 0.05$ )。UALCAL 数据库中的 CPTAC 数据库模块分析结果显示,乳腺癌组织中 BBOX1 蛋白表达水平高于正常乳腺组织  $P < 0.05$ 。HPA 数据库中免疫组织化学染色结果显示,BBOX1 在乳腺癌组织中表现为(+++)。Kaplan-Meier Plotter 数据库中,BBOX1 高表达的乳腺癌患者的无病生存期和总生存期均小于 BBOX1 低表达乳腺癌患者( $P < 0.05$ )。见图 1。

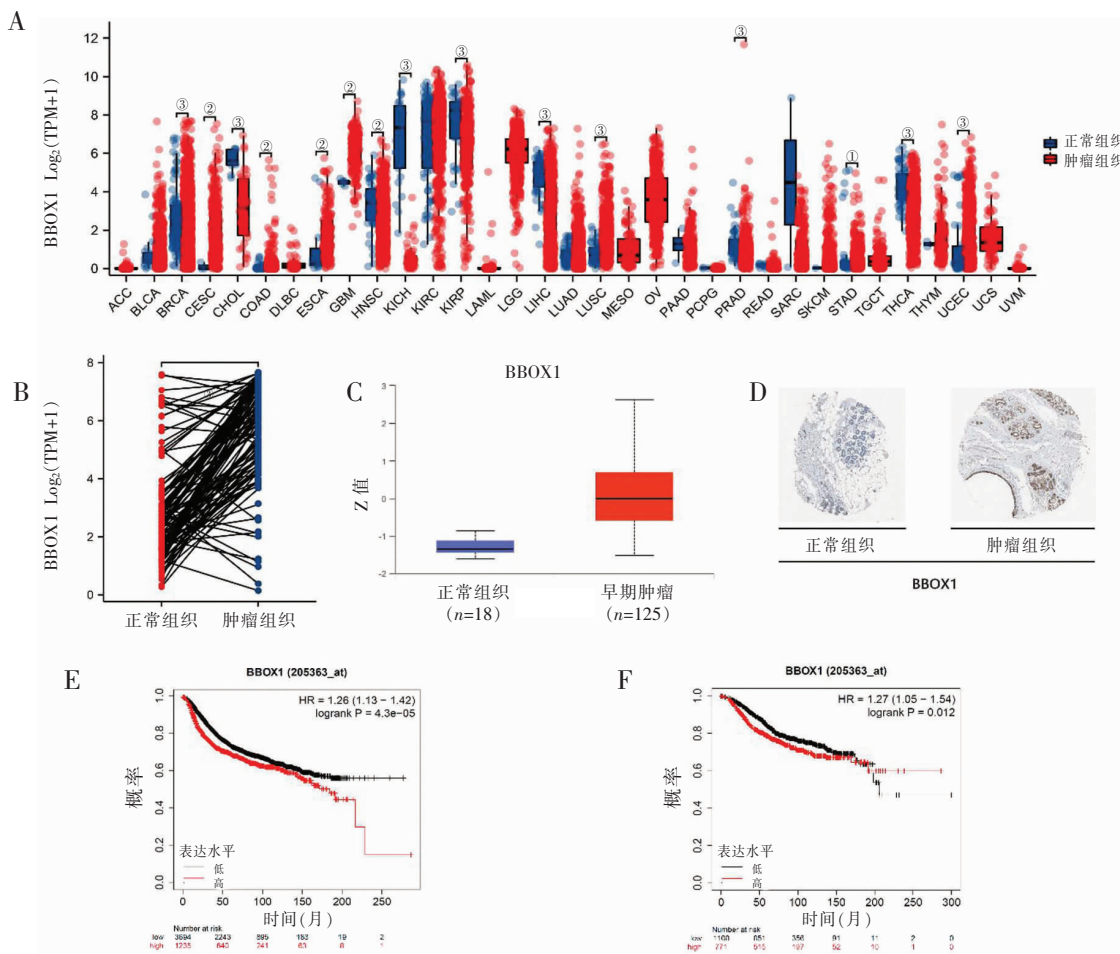


图 1 TCGA 数据库中 BBOX1 在多种恶性肿瘤及乳腺癌中的表达比较

A. BBOX1 在泛癌中的表达情况;B. TCGA 数据库中配对的乳腺癌组织中 BBOX1 表达情况;C. UALCAL 数据库中的 CPTAC 数据库模块中 BBOX1 蛋白表达情况;D. HPA 数据库中乳腺癌组织的 BBOX1 免疫组织化学染色;E. Kaplan-Meier Plotter 数据库中 BBOX1 表达水平对无病生存期的影响;F. Kaplan-Meier Plotter 数据库中 BBOX1 表达水平对总生存期的影响。① $P < 0.05$ ;② $P < 0.01$ ;③ $P < 0.001$ 。

## 2.2 80 例乳腺癌患者临床标本中 BBOX1 表达水平比较

80 例配对的乳腺癌组织及癌旁组织的免疫组织化学染色半定量结果显示,乳腺癌组织中 BBOX1

表达水平高于癌旁组织 ( $t = 5.215, df = 78, P < 0.001$ );生存分析结果显示,BBOX1 高表达的乳腺癌患者的无病生存期低于 BBOX1 低表达的乳腺癌患者 ( $P = 0.002, HR = 1.67$ )。见图 2。

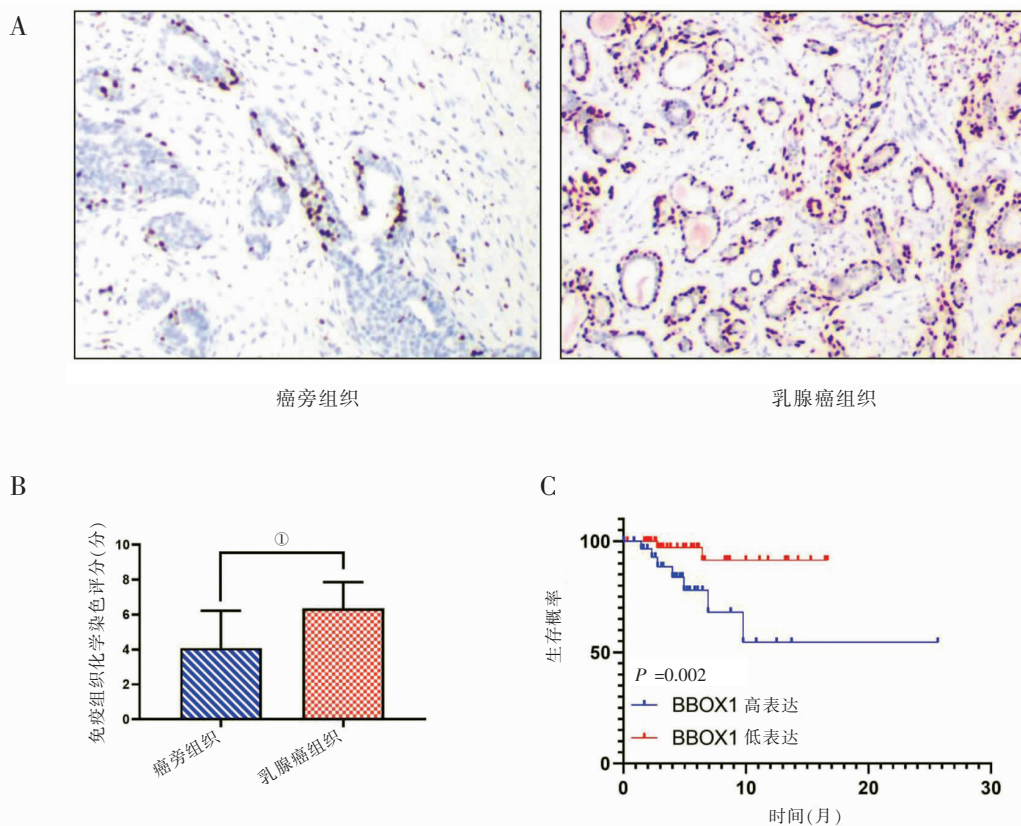


图 2 80 例乳腺癌患者临床标本中 BBOX1 表达水平比较

A. 乳腺癌组织及配对的癌旁组织的免疫组织化学染色;B. 免疫组织化学染色评分;C. BBOX1 高表达及低表达的生存分析。① $P < 0.01$ 。

## 2.3 BBOX1 在乳腺癌中的共表达基因

采用 R 语言包整理由 TCGA 数据库下载的乳腺癌基因表达矩阵,提取与 BBOX1 表达,且相关性 $\geq 0.4$ 的排列前 35 位的基因,结果由 R 语言中完成可视化热图。并将这最关键的 35 个基因导入 Metascape 数据库,GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析结果显示,主要富集的细胞功能为 Formation of the cornified envelope, NABA matrix associated, Interleukin-20 family signaling, NABA ECM Affiliated, Antimicrobial peptides, Vitamin B12 metabolism, chloride transmembrane transport 和 Pre implantation embryo。关键基因在 PI3K-Akt signaling pathway, developmental process, cellular process, response to immunity。见图 3。

## 2.4 BBOX1 单基因细胞功能

CancerSEA 数据库的单细胞功能分析结果显示,在乳腺癌单个细胞中 BBOX1 与多种细胞功能状态相关,其中与分化、血管生成、炎症、转移干细胞特征正相关 ( $P < 0.05$ );与 DNA 修复、细胞周期负相关 ( $P < 0.05$ )。对 BBOX1 基因与乳腺癌细胞功能

状态进一步相关性分析显示,BBOX1 基因的表达水平与分化 (0.431)、血管生成 (0.372)、炎症 (0.285)、DNA 修复 (-0.382)、细胞周期 (-0.393) 相关(图 4B)。见图 4。

## 2.5 BBOX1 与乳腺癌肿瘤免疫的相关性

TISIDB 数据库用于乳腺癌内肿瘤趋化因子及肿瘤免疫学细胞浸润相关性分析。肿瘤内趋化因子与 BBOX1 表达的相关性分析显示,BBOX1 在乳腺癌内的表达与 CX3CL1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CCL13、CCL15 均呈正相关关系 ( $P < 0.05$ );BBOX1 表达水平与乳腺癌内肿瘤免疫细胞浸润的相关性分析显示,BBOX1 与活化的 CD8<sup>+</sup> 性 T 细胞浸润水平负相关 ( $P < 0.05$ ),而与 Treg 细胞及肿瘤相关巨噬细胞正相关 ( $P < 0.05$ ),进一步肿瘤相关巨噬细胞的关键分子标志物,结果显示,BBOX1 与 IL-6 及 IL-10 表达水平正相关 ( $P < 0.05$ )。见图 5。

## 2.6 BBOX1 表达水平对乳腺癌患者预后的影响及预测效能

通过临床生信之家数据库,根据 BBOX1 中位表

达水平,将乳腺癌患者分为 BBOX1 高表达组和 BBOX1 低表达组。相关分析结果显示,随着 BBOX1 表达水平的升高,乳腺癌患者的死亡风险也升高。构建的 Kaplan-Meier 曲线也显示,BBOX1 高表达患

者的总生存期更短。受试者工作特征 (ROC) 曲线分析显示,BBOX1 对乳腺癌患者术后第 1 年、第 3 年、第 5 年生存预测曲线下面积 (AUC) 分别为 0.837、0.713、0.543。见图 6。

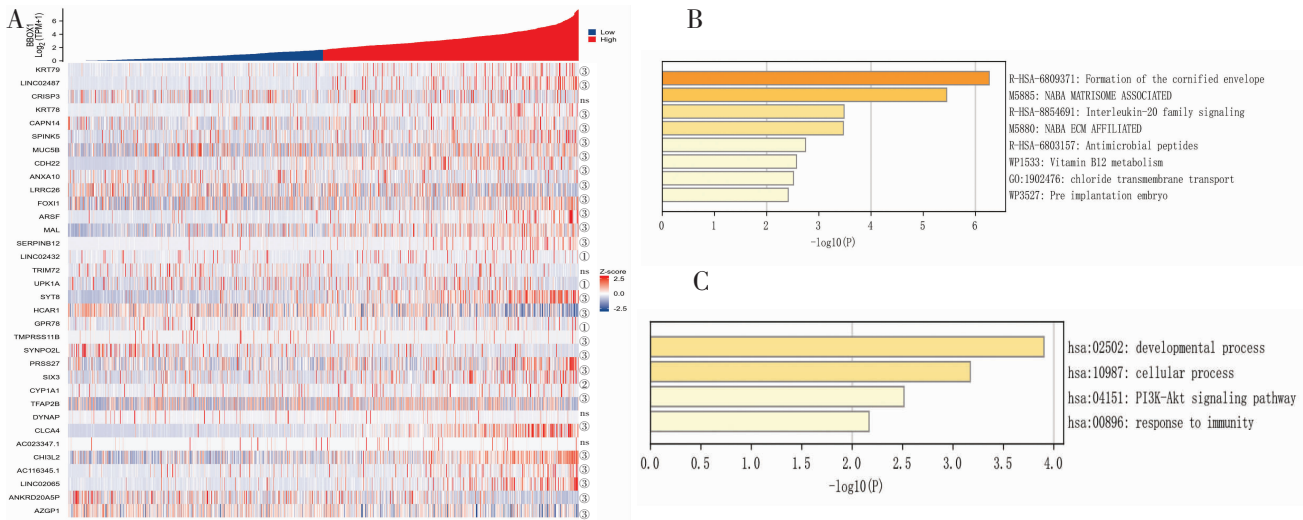


图 3 BBOX1 在乳腺癌中的共表达基因

A. 与 BBOX1 共表达的 35 个关键基因;B. 35 个共表达基因的 GO 功能富集;C. 35 个共表达基因 KEGG 信号通路富集分析。ns $P>0.05$ ;  
① $P<0.05$ ;② $P<0.01$ ;③ $P<0.001$ 。

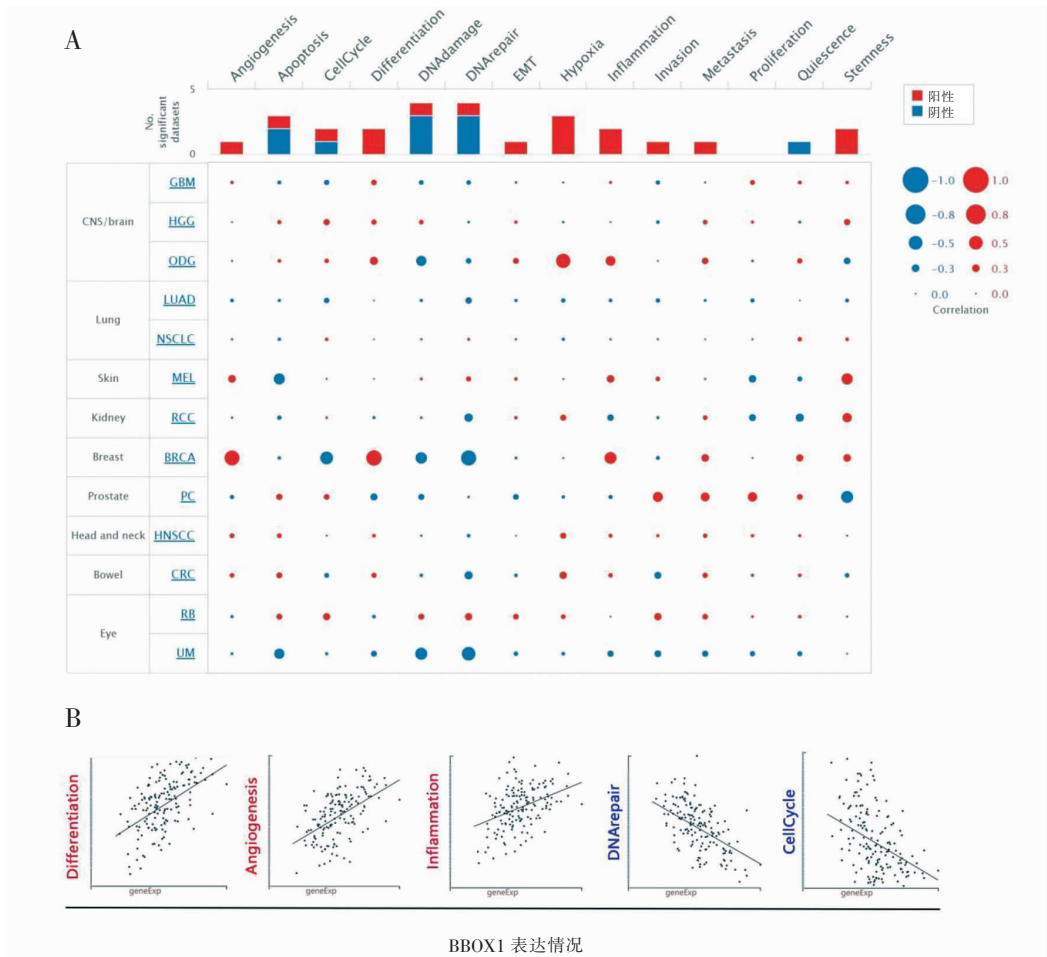


图 4 BBOX1 单基因细胞功能

A. 乳腺癌单个细胞中 BBOX1 与多种细胞功能状态;B. BBOX1 基因与乳腺癌细胞功能状态的相关性分析。

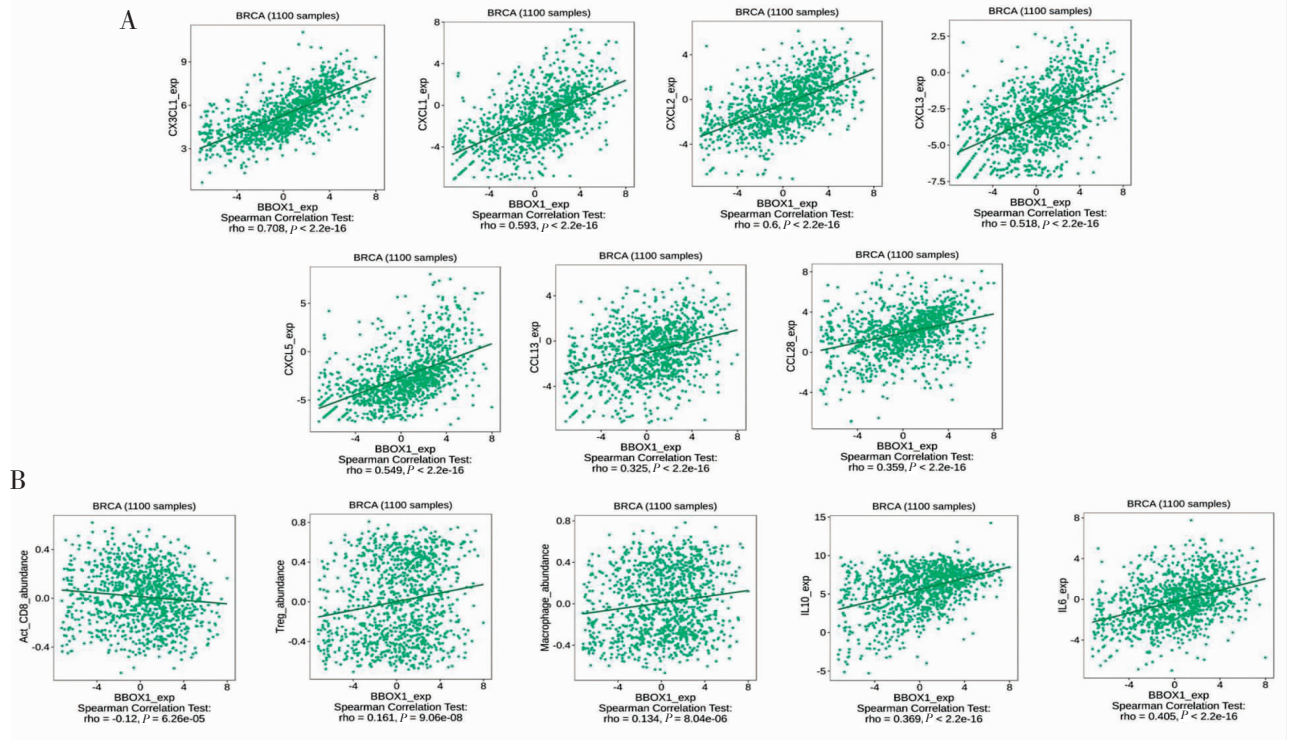


图5 BBOX1 与乳腺癌肿瘤免疫的相关性

A. 乳腺癌中 BBOX1 与趋化因子的相关性; B. 乳腺癌中 BBOX1 表达水平与免疫淋巴细胞浸润水平及其相关趋化因子的相关性。

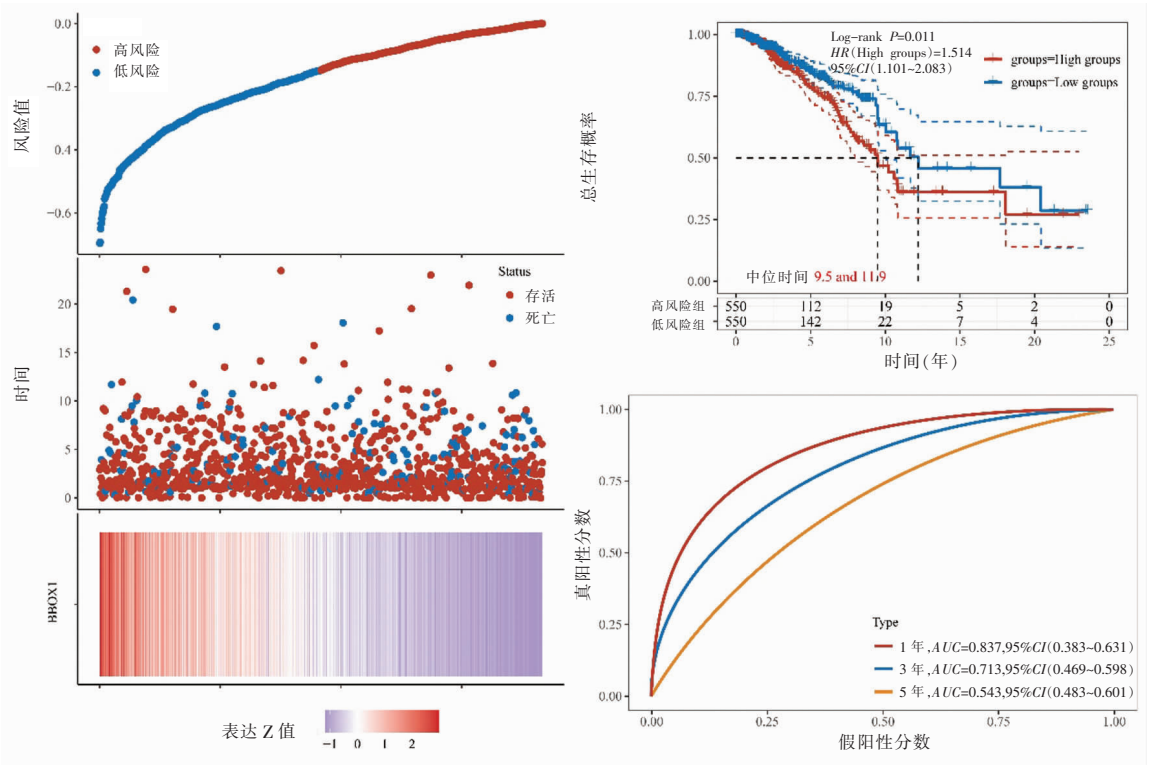


图6 BBOX1 表达水平对乳腺癌患者预后的影响及预测效能

### 3 讨论

作为女性癌症相关死亡主要原因的乳腺癌,明确发生发展机制已是目前亟须解决的问题<sup>[12]</sup>。对于早期乳腺癌,通过以手术治疗为主联合辅助化疗、内分泌治疗、靶向治疗后,可改善多数患者预

后<sup>[13-14]</sup>,但部分患者仍出现局部或远处转移。现代研究发现乳腺癌由于本身具有高度异质性,不同分子分型的乳腺癌的治疗策略也大不相同。针对雌激素受体阳性的患者通曲妥单抗联合帕妥单抗治疗可极大提高患者的预后,而针对雌激素受体为阴性的乳腺癌患者则能采用的治疗手段较为有限<sup>[15]</sup>。

而随着乳腺癌内分泌治疗、免疫治疗、靶向治疗的深入,内分泌治疗抵抗、化疗药物及免疫治疗药物耐药等问题也逐渐暴露<sup>[16-17]</sup>。因此,在现有的研究基础上,积极寻找新的分子靶标阐明更深层的分子机制,对推动乳腺癌的诊疗技术的进步有重要意义。

本研究通过下载 TCGA 数据库及 GTEX 数据库中的样本,进行泛癌分析,结果显示,BBOX1 基因在多种恶性肿瘤中出现表达水平上调,与现有越来越多的研究报道 BBOX1 参与了多种恶性肿瘤的发生发展这一观点相符。但也发现在部分恶性肿瘤中 BBOX1 出现下调现象,提示 BBOX1 可能在不同恶性肿瘤中发挥了不同的作用。然而,针对 BBOX1 在高度异质性的乳腺癌中的作用目前尚缺乏报道。

蛋白质作为生命活动最重要的载体<sup>[18]</sup>,本研究从基因转录水平及蛋白质表达水平比较了 BBOX1 在乳腺癌组织与癌旁组织(或乳腺正常组织)的差异,结果显示,本中心乳腺癌组织中 BBOX1 表达水平高于配对的癌旁组织( $P < 0.05$ ),与 TCGA 数据库中 111 例配对的乳腺癌样本分析结果相一致。进一步随访资料显示,在本中心接受乳腺癌根治性手术切除后的患者中,BBOX1 高表达患者的无病生存期短于 BBOX1 低表达患者( $P < 0.05$ ),与 Kaplan-Meier Plotter 数据库中的分析结果相一致。Kaplan-Meier Plotter 数据库中在总生存期方面 BBOX1 低表达患者的中位生存期也长于 BBOX1 高表达患者。临床生信之家数据库通 ROC 曲线分析显示,BBOX1 预测乳腺癌术后 1、3、5 年生存状态的具有较高的准确性。提示 BBOX1 的高表达可能促进了乳腺癌的发生发展。

为进一步探究 BBOX1 在乳腺癌发生发展中的作用机制,本研究通过肿瘤大数据数据库分析。首先在 TCGA 数据库中依据 BBOX1 中位表达水平将乳腺癌患者分为高表达及低表达人群,通过 R 语言数据包寻找与 BBOX1 高度相关的共表达基因,并对 BBOX1 在内的 35 个关键差异表达基因进行 GO 功能聚类及 KEGG 信号通路富集分析。GO 功能聚类显示,Formation of the cornified envelope, NABA matrix associated, Interleukin-20 family signaling, NABA ECM Affiliated, Antimicrobial peptides, Vitamin B12 metabolism, chloride transmembrane transport 和 Pre implantation embryo 方面富集。据现有研究<sup>[19]</sup>报道显示,IL-20, NABA matrix associated 和 BABA ECM Affiliated 在乳腺癌肿瘤免疫微环境的形成方面具有重要作用。随后的 KEGG 信号通路富集结果提示 35 个关键差异表达基因在 PI3K-Akt signaling pathway, developmental process, cellular

process, response to immunity。其中 PI3K-Akt 信号通路异常激活与乳腺癌细胞的增殖、侵袭、转移、诱导获得性耐药及免疫抑制等方式,促进乳腺癌疾病的进展<sup>[20-21]</sup>。这也提示了 BBOX1 基因参与的乳腺癌肿瘤免疫抑制与 PI3K-Akt 信号通路异常激活有关。

乳腺癌单细胞功能分析结果显示,BBOX1 与乳腺癌细胞周期,DNA 修复,分化,血管生成,炎症,远处转移等多种功能存在相关性,其中 BBOX1 表达水平与血管生成正相关( $P < 0.05$ ),与细胞周期负相关( $P < 0.05$ )。在经典的肿瘤综述<sup>[22-24]</sup>中指出,肿瘤内生血管为肿瘤的迅速进展提供了充分的养料,在肿瘤的发生发展过程中起着重要作用。在结肠癌、非小细胞肺癌、肝癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中,恶性肿瘤通过缩短细胞周期加快肿瘤增殖速度从而促进肿瘤的发展已被大量研究所证实<sup>[25-26]</sup>。

趋化因子作为细胞因子的重要组成部分,在恶性肿瘤的侵袭转移、免疫逃逸、炎症等多个方面也发挥了重要作用。包括 CX3CL1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CCL13 及 CCL15 在内的几种趋化因子参与了乳腺癌的侵袭转移及免疫微环境的形成已被多项研究<sup>[27-28]</sup>所报道,本项研究结果与之相一致。为进一步探究 BBOX1 与乳腺癌内肿瘤相关免疫细胞浸润水平的相关性,TISIDB 数据库中进一步分析结果显示,BBOX1 表达水平与 CD8 阳性 T 细胞浸润水平负相关( $P < 0.05$ ),而与促进肿瘤发展的 Treg 细胞及肿瘤相关巨噬细胞的浸润水平密切相关( $P < 0.05$ )。但巨噬细胞表型定义的亚型(M1 促炎型和 M2 型抗炎症型),与肿瘤预后的关联也有着广泛的研究,在结直肠癌、胃癌、肺癌、卵巢癌食管癌、乳腺癌、胰腺癌等多种恶性肿瘤种均有大量研究报道,并证实两个亚型在预后关联上的负相关性<sup>[29]</sup>。本研究在 TISIDB 数据库中评估了 BBOX1 表达水平与 M2 型肿瘤巨噬细胞的关键分子标志物 IL-6 及其分泌的趋化因子 IL-10 的相关性,结果显示,BBOX1 与 IL-6 及 IL-10 正相关<sup>[30-33]</sup>。提示 BBOX1 可能通过排除活化的 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞进入肿瘤内,并诱导 Treg 细胞及 M2 型肿瘤巨噬细胞在乳腺癌中的聚集,从而诱导了乳腺癌内肿瘤免疫微环境的形成,但由于缺乏实验室验证,仍需在后续的研究中进一步探讨。

综上,BBOX1 在乳腺癌组织中被异常上调,且表现出与乳腺癌的不良预后相关。BBOX1 可能通过多种趋化因子改变了肿瘤内免疫淋巴细胞分布,从而参与形成肿瘤免疫微环境。

#### 参考文献

- [1] Zhou Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. Nature

- Communications,2019,10(1):1523.
- [2] Bray F,Laversanne M,Sung H,*et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA:A Cancer Journal for Clinicians*, 2024,74(3):229–263.
- [3] Asleh K,Negri GL,Spencer Miko SE,*et al.* Proteomic analysis of archival breast cancer clinical specimens identifies biological subtypes with distinct survival outcomes[J]. *Nature Communications*, 2022,13(1):896.
- [4] Guo X,Gao C,Yang DH,*et al.* Exosomal circular RNAs: a chief culprit in cancer chemotherapy resistance[J]. *Drug Resistance Updates*,2023,67:100937.
- [5] Hu J,Liu J,Zhou S,*et al.* A review on the role of gamma-butyrobetaine hydroxylase 1 antisense RNA 1 in the carcinogenesis and tumor progression[J]. *Cancer Cell International*,2023,23(1):263.
- [6] Wang J,Zhou Y,Zhang D,*et al.* CRIP1 suppresses BBOX1-mediated carnitine metabolism to promote stemness in hepatocellular carcinoma[J]. *The EMBO Journal*,2022,41(15):e120218.
- [7] Xu J,Yang B,Wang L,*et al.* LncRNA BBOX1-AS1 upregulates HOXC6 expression through miR-361-3p and HuR to drive cervical cancer progression[J]. *Cell Proliferation*,2020,53(7):e12823.
- [8] Wang Q,Li XF,Zhou YH,*et al.* Long noncoding RNA BBOX1-AS1 increased radiotherapy sensitivity in colorectal cancer by stabilizing and activating PFK1[J]. *Translational Oncology*,2023,36:101751.
- [9] Cai T,Peng B,Hu J,*et al.* Long noncoding RNA BBOX1-AS1 promotes the progression of gastric cancer by regulating the miR-361-3p/Mucin 13 signaling axis[J]. *Bioengineered*,2022,13(5):13407–13421.
- [10] Kent WJ,Sugnet CW,Furey TS,*et al.* The human genome browser at UCSC[J]. *Genome Research*,2002,12(6):996–1006.
- [11] Györfly B,Surowiak P,Budczies J,*et al.* Online survival analysis software to assess the prognostic value of biomarkers using transcriptomic data in non-small-cell lung cancer[J]. *PLoS One*,2013,8(12):e82241.
- [12] Sung H,Ferlay J,Siegel RL,*et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA:A Cancer Journal for Clinicians*, 2021,71(3):209–249.
- [13] Fillon M. The association between menopausal hormone therapy and breast cancer remains unsettled[J]. *CA:A Cancer Journal for Clinicians*,2024,74(3):210–212.
- [14] Slamon D,Lipato O,Nowecki Z,*et al.* Ribociclib plus endocrine therapy in early breast cancer[J]. *New England Journal of Medicine*,2024,390(12):1080–1091.
- [15] Song H,Tran TXM,Kim S,*et al.* Risk factors and mortality among women with interval breast cancer vs screen-detected breast cancer[J]. *JAMA Network Open*,2024,7(5):e2411927.
- [16] Ahn S,Park JH,Grimm SL,*et al.* Metabolomic rewiring promotes endocrine therapy resistance in breast cancer[J]. *Cancer Research*,2024,84(2):291–304.
- [17] Kaidar-Person O,Tramm T,Kuehn T,*et al.* Optimising of axillary therapy in breast cancer:lessons from the past to plan for a better future[J]. *La Radiologia Medica*,2024,129(2):315–327.
- [18] Nesvizhskii AI. Proteogenomics: concepts, applications and computational strategies[J]. *Nature Methods*,2014,11(11):1114–1125.
- [19] Chada S,Bocangel D,Ramesh R,*et al.* Mda-7/IL24 kills pancreatic cancer cells by inhibition of the Wnt/PI3K signaling pathways: identification of IL-20 receptor-mediated bystander activity against pancreatic cancer[J]. *Molecular Therapy*,2005,11(5):724–733.
- [20] Chang CA,Jen J,Jiang S,*et al.* Ontogeny and vulnerabilities of drug-tolerant persisters in HER2+ breast cancer[J]. *Cancer Discovery*,2022,12(4):1022–1045.
- [21] Howell SJ,Casbard A,Carucci M,*et al.* Fulvestrant plus capivasertib versus placebo after relapse or progression on an aromatase inhibitor in metastatic, oestrogen receptor-positive, HER2-negative breast cancer (FAKTION): overall survival, updated progression-free survival, and expanded biomarker analysis from a randomised, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncology*,2022,23(7):851–864.
- [22] Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions[J]. *Cancer Discovery*,2022,12(1):31–46.
- [23] Hanahan D,Weinberg RA. The hallmarks of cancer[J]. *Cell*,2000,100(1):57–70.
- [24] Hanahan D,Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*,2011,144(5):646–674.
- [25] Zhang RY,Liu ZK,Wei D,*et al.* UBE2S interacting with TRIM28 in the nucleus accelerates cell cycle by ubiquitination of p27 to promote hepatocellular carcinoma development[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*,2021,6(1):64.
- [26] Zheng R,Zhang K,Tan S,*et al.* Exosomal circLPAR1 functions in colorectal cancer diagnosis and tumorigenesis through suppressing BRD4 via METTL3-eIF3h interaction[J]. *Molecular Cancer*,2022,21(1):49.
- [27] Zhou C,He X,Tong C,*et al.* Cancer-associated adipocytes promote the invasion and metastasis in breast cancer through LIF/CXCLs positive feedback loop[J]. *International Journal of Biological Sciences*,2022,18(4):1363–1380.
- [28] Zhang W,Zhang Q,Yang N,*et al.* Crosstalk between IL-15R $\alpha$ <sup>+</sup> tumor-associated macrophages and breast cancer cells reduces CD8<sup>+</sup> T cell recruitment[J]. *Cancer Communications*,2022,42(6):536–557.
- [29] Cassetta L,Pollard JW. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*,2018,17(12):887–904.
- [30] Zhang J,Fan J,Zeng X,*et al.* Hedgehog signaling in gastrointestinal carcinogenesis and the gastrointestinal tumor microenvironment[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*,2021,11(3):609–620.
- [31] Pittet MJ,Michielin O,Migliorini D. Clinical relevance of tumour-associated macrophages[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*,2022,19(6):402–421.
- [32] Santoni M,Romagnoli E,Saladino T,*et al.* Triple negative breast cancer: Key role of Tumor-Associated Macrophages in regulating the activity of anti-PD-1/PD-L1 agents[J]. *Biochimica et Biophysica Acta Reviews on Cancer*,2018,1869(1):78–84.
- [33] Speiser DE,Ho PC,Verdeil G. Regulatory circuits of T cell function in cancer[J]. *Nature Reviews Immunology*,2016,16(10):599–611.

(收稿日期:2024-06-02

修回日期:2024-08-10)