doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.20.032

乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 的表达及与临床病理特征和预后的关系 *

李会芳[1] 侯永强[1] 王明军[1] 陈 涛[2] 刘金彪[1△]

（1 河南科技大学第一附属医院 / 河南科技大学临床医学院普外三科 河南 洛阳 471003；
2 郑州人民医院 / 河南中医药大学人民医院普外科 河南 郑州 450003）

摘要 目的：探讨乳腺癌组织叉头框蛋白 P3(FOXP3)、高迁移率族蛋白 A2(HMGA2)、大鼠肉瘤蛋白活化因子 2(RASAL2)的表达及其与临床病理特征和预后的关系。**方法：**选取 2014 年 6 月至 2015 年 6 月期间我院收治的 102 例乳腺癌患者作为研究对象。检测乳腺癌组织以及癌旁组织中 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达，分析 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达与临床病理参数的相关性。Kaplan-Meier 生存曲线分析不同 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达患者总生存率的差异。Cox 比例风险回归模型分析乳腺癌患者预后的影响因素。**结果：**与癌旁组织相比，乳腺癌组织中 FOXP3、HMGA2 阳性表达率升高，而 RASAL2 阳性表达率降低(P<0.05)。FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达均与 TNM 分期和淋巴结转移相关（P<0.05）。FOXP3、HMGA2 阳性患者的生存率明显低于 FOXP3、HMGA2 阴性患者，RASAL2 阳性患者的生存率明显高于 RASAL2 阴性患者(P<0.05)。TNM 分期Ⅲ期、FOXP3 阳性表达、HMGA2 阳性表达是影响乳腺癌患者预后的危险因素(P<0.05)，而 RASAL2 阳性表达是乳腺癌患者预后的保护因素(P<0.05)。**结论：**乳腺癌组织中 FOXP3 和 HMGA2 阳性表达率升高，而 RASAL2 阳性表达率降低，FOXP3 和 HMGA2 阳性表达以及 RASAL2 阴性表达与乳腺癌患者 TNM 分期、淋巴结转移相关，并且是患者预后不良的影响因素。

关键词：乳腺癌；叉头框蛋白 P3；高迁移率族蛋白 A2；大鼠肉瘤蛋白活化因子 2；预后；病理特征；因素

中图分类号：R737.9 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2021)20-3959-06

The Expression of FOXP3, HMGA2 and RASAL2 in Breast Cancer Tissues and Their Relationship with Clinicopathological Features and Prognosis*

LI Hui-fang[1], HOU Yong-qiang[1], WANG Ming-jun[1], CHEN Tao[2], LIU Jin-biao[1△]

(1 Third Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Henan University of science and technology/School of Clinical Medicine, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan, 471003, China; 2 Department of General Surgery, Zhengzhou People's Hospital/People's Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, 450003, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of forkhead box P3 (FOXP3), high mobility group protein A2 (HMGA2) and ras protein activator like 2 (RASAL2) in breast cancer tissues and their relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods:** 102 cases of breast cancer patients who were treated in our hospital from June 2014 to June 2015 were selected as the research objects. The expressions of FOXP3, HMGA2 and RASAL2 in breast cancer tissues and adjacent tissues were detected. The correlation of expressions of FOXP3, HMGA2 and RASAL2 with clinicopathological parameters was analyzed. Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the difference of the overall survival rate of patients with different expressions of FOXP3, HMGA2 and RASAL2. Cox proportional hazard regression analysis of prognostic factors in breast cancer patients. **Results:** Compared with adjacent tissues, the positive expression rates of FOXP3 and HMGA2 in breast cancer tissues were increased, while the positive expression rate of RASAL2 was decreased (P<0.05). The expressions of FOXP3, HMGA2 and RASAL2 were all correlated with TNM stage and lymph node metastasis (P<0.05). The survival rate of FOXP3 and HMGA2 positive patients were significantly lower than those of FOXP3 and HMGA2 negative patients, and the survival rate of RASAL2 positive patients was significantly higher than that of RASAL2 negative patients (P<0.05). TNM stage Ⅲ, FOXP3 positive expression, HMGA2 positive expression were the risk factor affecting the prognosis of breast cancer patients (P<0.05), the positive expression of RASAL2 was a protective factor for the prognosis of breast cancer patients (P<0.05). **Conclusion:** The positive expression rates of FOXP3 and HMGA2 in breast cancer tissues are increased, while the positive expression rates of RASAL2 is decreased. The positive expression of FOXP3 and HMGA2 and the negative expression of RASAL2 were correlated with TNM stage and lymph node metastasis in breast cancer patients, and are the influencing factors for poor prognosis of the patients.

Key words: Breast cancer; Forkhead box P3; High mobility group protein A2; Ras protein activator like 2; Prognosis; Pathological

* 基金项目：河南省医学科技攻关计划项目(201504015)

作者简介：李会芳(1992-)，女，硕士，住院医师，从事甲状腺及乳腺肿瘤方面的研究，E-mail：lihuifangfang09@163.com

△ 通讯作者：刘金彪(1963-)，男，硕士，副主任医师，从事甲状腺及乳腺疾病方面的研究，E-mail：liujinbiao2021@163.com

（收稿日期：2020-12-28 接受日期：2021-01-24）

features; Factors

Chinese Library Classification(CLC): R737.9 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2021)20-3959-06

前言

乳腺癌的死亡率和发病率较高,是女性恶性肿瘤患者死亡的主要因素[1]。TNM 分期是目前判定乳腺癌患者预后的主要方法,但是存在较大的局限性[2,3]。肿瘤标志物具有较高的临床应用价值，在肿瘤的诊疗以及患者预后判定中已显示其重要性，也是目前的肿瘤研究热点之一[4],因此寻找乳腺癌预后标志物有助于改善乳腺癌患者的预后[5]。叉头框蛋白 P3(forkhead box P3,FOXP3)是 FOX 蛋白家族成员,也是一种转录因子蛋白,参与基因转录调控,在胚胎发育、免疫调节以及肿瘤发生发展中均起到重要作用,已有研究报道显示在宫颈癌[6]和结直肠癌[7]等肿瘤的增殖和转移中起到调节作用。高迁移率族蛋白 A2(high mobility group protein A2, HMGA2) 属于高迁移率蛋白家族成员,同样是一种转录因子蛋白,参与基因转录调控,在乳腺癌细胞中表达异常,参与调节乳腺癌细胞的增殖、侵袭和转移等过程 [8,9]。大鼠肉瘤蛋白活化因子 2 (ras protein activator like 2, RASAL2)属于 RasGAP 蛋白家族成员,具有 Ras GTPase 激活蛋白功能,能够将 Ras 蛋白从活化状态转化成抑制状态,抑制肿瘤进展，在乳腺癌细胞的增殖和迁移中起到一定抑制作用[10,11]。本研究通过探究乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达情况,以此分析三项指标表达情况与乳腺癌患者预后和病理参数的关联性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

资料概况:研究对象选择为 2014 年 6 月至 2015 年 6 月期间我院诊治的 102 例乳腺癌患者,乳腺癌患者均实施乳腺癌根治手术治疗,手术结束后必要时辅之以化疗和放疗。患者年龄 32-77 岁,平均年龄为(57.29± 17.08)岁,包括 TNM 分期Ⅰ期 20 例,TNM 分期Ⅱ期 51 例,TNM 分期Ⅲ期 31 例。肿瘤大小:<3 cm 为 56 例,≥ 3 cm 为 46 例。浸润深度:T1 为 16 例,T2 为 13 例,T3 为 37 例,T4 为 36 例。分化程度低、中、高分别为 20 例、67 例和 15 例。发生脉管浸润 23 例,无脉管浸润 79 例。25 例发生神经浸润,77 例无神经浸润。37 例发生淋巴结转移,65 例无淋巴结转移。纳入标准:(1) 经过我院伦理委员会审核批准;(2) 临床资料完整;(3) 在入院之前未接受过放化疗治疗;(4)经病理学诊断确诊为乳腺癌;(5)女性,年龄大于 18 岁,无精神疾病病史;(6)患者及其家属知情同意。排除标准:(1)患者肝肾功能异常者;(2)不符合乳腺癌根治术的适应证;(3)合并其它类型肿瘤者;(4)有全身性感染性疾病;(5)有自身免疫性疾病;(6)妊娠期、哺乳期女性。

1.2 仪器和试剂信息

仪器：生物组织包埋机（上海珂淮仪器有限公司，型号：YD-6L),倒置生物显微镜(美国赛默飞世尔科技有限公司,型号:EVOS M7000)。试剂:Anti-Foxp3 抗体（货号 ab215206),Anti-HMGA2 抗体(货号 ab207301),Anti-RASAL2 抗体(货号 ab216127）均购自 Acam 生物科技有限公司，二氨基联苯胺(DAB)(江苏苏克科技股份有限公司，货号:SK9985)，苏木精(苏州亚科科技股份有限公司,货号:S0032)。

1.3 免疫组织化法染色及染色结果评估

测定操作:收集手术中切除的乳腺癌组织及距离病灶区域<3 cm 的癌旁组织,将组织置于 4%中性甲醛溶液中,室温处理 24 h,中性甲醛用量以将组织完全浸没为宜。24 h 后将组织取出，分别置于 70%乙醇、80%乙醇、90%乙醇和 100%乙醇中处理 30 min，使组织逐级脱水。二甲苯中处理 30 min 使组织透明。于生物组织包埋机中添加液体石蜡,组织置于石蜡中处理 3h 将组织包埋,将包埋后组织切片成 2 μm 薄片。石蜡切片脱蜡复水后进行抗原修复，将石蜡切片置于 EDTA 修复液当中，加热至沸腾，持续 3 min。冷却后将石蜡切片取出并用磷酸盐(PBS)缓冲液冲洗 3 次,5 min/ 次。将一抗稀释液滴加至石蜡切片上,室温孵育 20 min,使用 PBS 缓冲液冲洗 3 次,5 min/ 次。滴加抗兔的二抗溶液于石蜡切片上，室温孵育 20 min，使用 PBS 缓冲液冲洗 3 次,5 min/ 次。滴加 100 μL 的 DAB 显色剂进行染色，孵育 10 min 后于显微镜下观察染色结果。结果评估：根据阳性细胞所占比例进行评分，其中 0-5%为 0 分,6%-24%为 1 分,25%-49%为 2 分,50%-74%为 3 分,75%-100%为 4 分。根据染色强度将其分为 0(无染色)、1(淡黄色)、2(棕黄色)和 3(棕褐色)分共 4 个等级,最终评分则为两项评分的乘积,其中最终评分 0-4 分则为阴性,而 5-12 分则为阳性[12]。

1.4 随访

随访方式以门诊复查和电话咨询为主,随访 5 年,前 2 年的随访间隔时间为 3 个月，其后随访间隔时间调整为 6 个月。本次研究的末次随访日期为 2020 年 6 月。

1.5 统计学分析

统计软件使用 SPSS23.0。计量数据检验符合正态分布以 MEAN± SD 表示。采用校正 t 检验或成组 t 检验对两组之间的显著性进行分析,统计值以 t 表示。计数资料以率或具体例数来表示,采用卡方检验分析两组间显著性,统计值以 x^2 表示。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，组间生存率比较采用 Logrank 检验。Cox 比例风险回归法结合逐步后退法分析预后影响因素,P<0.05 则差异显著。

2 结果

2.1 乳腺癌组织中 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达

FOXP3 蛋白以及 RASAL2 蛋白主要分布在细胞核中,而 HMGA2 主要分布于细胞胞浆中,染色结果呈棕色。102 例乳腺癌组织中 FOXP3 阳性 59 例(57.84%),阴性 43 例(42.16%)。102 例癌旁组织中 FOXP3 阳性 5 例 (4.90%)，阴性 97 例(95.10%),乳腺癌组织中 FOXP3 阳性表达率高于癌旁组织,差异具有统计学意义(x^2=6.391,P<0.001)(图 1 A 和 B)。102 例乳腺癌组织中 HMGA2 阳性 66 例 (64.71%)，阴性 36 例(35.29%)。102 例癌旁组织中 HMGA2 阳性 9 例(8.82%),阴性

93 例(91.18%),乳腺癌组织中 HMGA2 阳性表达率高于癌旁组织，差异具有统计学意义（x^2=68.506,P<0.001)(图 1 C 和 D)。102 例乳腺癌组织中 RASAL2 阳性 47 例(46.08%),阴性 55 例（53.92%)。102 例癌旁组织中 RASAL2 阳性 75 例(73.53%),阴性 27 例(26.47%),乳腺癌组织中 RASAL2 阳性表达率低于癌旁组织，差异具有统计学意义(x^2=15.987,P<0.001)(图 1 E 和 F)。

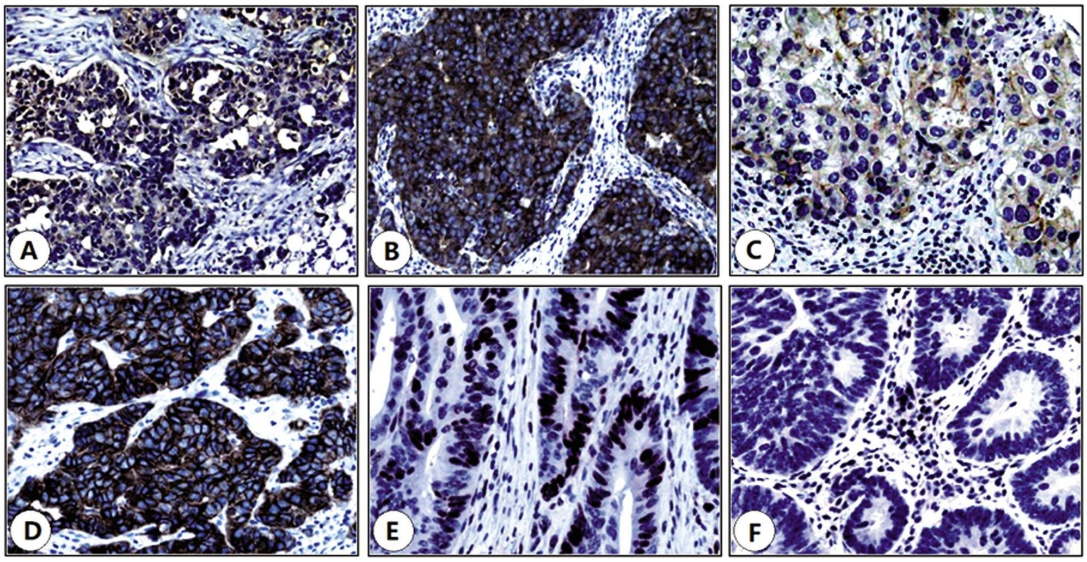

图 1 乳腺癌组织中 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达(免疫组化结果,× 400)

Fig.1 Expressions of FOXP3, HMGA2 and RASAL2 in breast cancer tissues (immunohistochemical results,× 400)

Note :(A) FOXP3 was expressed in paracancer tissues; (B) FOXP3 was expressed in breast cancer tissues; (C) HMGA2 was expressed in paracancer tissues; (D) HMGA2 was expressed in breast cancer tissues; (E) RASAL2 was expressed in paracancer tissues; (F) RASAL2 was expressed in breast cancer tissues.

2.2 乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达与临床病理参数的关系

乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达均与 TNM 分期和淋巴结转移相关(P<0.05),而与患者年龄、肿瘤组织大小、肿瘤细胞浸润深度、肿瘤脉管浸润、肿瘤神经浸润和肿瘤分化程度无关(P>0.05)。见表 1。

表 1 乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达与临床病理参数的关系

Table 1 Relationship between FOXP3, HMGA2 and RASAL2 expression and clinicopathological parameters in breast cancer tissues

Clinicopathological parameters	n	FOXP3 expression		x^2	P	HMGA2 expression		x^2	P	RASAL2 expression		x^2	P
		Positive	Negative			Positive	Negative			Positive	Negative		
Age(years)				0.549	0.459			1.054	0.304			0.223	0.637
<60	67	37	30			41	26			32	35		
≥ 60	35	22	13			25	10			15	20		
Tumor size (cm)				0.929	0.335			0.265	0.607			0.769	0.381
<3	56	30	26			35	21						
≥ 3	46	29	17			31	15			19	27		
Infiltrating depth(n)				0.622	0.430			0.657	0.418			0.520	0.471
T1～T2	29	15	14			17	12			15	14		
T3～T4	73	44	29			49	24			32	41		
TNM stage (n)				22.806	0.000			12.494	0.020			18.891	0.000
Ⅰ	20	4	16			8	12			15	5		
Ⅱ	51	28	23			31	20			27	24		
Ⅲ	31	27	4			27	4			5	26		

Differentiated degree(n)				0.099	0.952			0.034	0.983			1.262	0.532
Poorly differentiated	20	11	9			13	7			7	13		
Moderately differentiated	67	39	28			43	24			33	34		
High differentiated	15	9	6			10	5			7	8		
Vascular invasion(n)				0.112	0.738			0.307	0.579			0.081	0.776
No	79	45	34			50	29			37	42		
Yes	23	14	9			16	7			10	13		
Nerve infiltration(n)				0.515	0.473			0.772	0.380			0.058	0.810
No	77	43	34			48	29			36	41		
Yes	25	16	9			18	7			11	41		
Lymph node metastasis(n)				23.396	0.000			12.061	0.001			24.782	0.000
No	65	26	39			34	31			42	23		
Yes	37	33	4			32	5			5	32		

2.3 乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达与患者预后的关系

本次随访失访 5 例，剩余 97 例完成随访，其中 42 例生存，55 例死亡。FOXP3 阴性患者的 5 年总生存率为 58.5%(24/41)，明显高于阳性患者的 32.1%(18 /56)，差异有统计学意义(Log-rank=8.671，P=0.003)(图 2A)。HMGA2 阴性患者的 5 年总生存率为 70.6%(24/34)，明显高于阳性患者的 28.6%(18 /63)，差异有统计学意义(Log-rank=19.852，P=0.000)(图 2B)。RASAL2 阴性患者的 5 年总生存率为 26.9%(14/52)，明显低于阳性患者的 62.2%(28/45)，差异有统计学意义(Log-rank=15.152，P=0.000)(图 2C)。

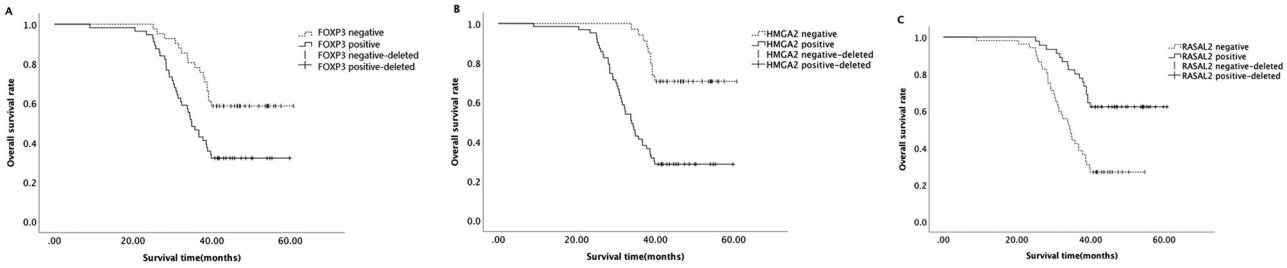

图 2 乳腺癌组织 FOXP3、HMGA2、RASAL2 表达与患者预后的关系

Fig.2 Relationship between FOXP3, HMGA2 and RASAL2 expression and prognosis in breast cancer

Note :(A) survival curves of FOXP3 negative and FOXP3 positive patients; (B) survival curves of HMGA2 negative and positive patients; (C) survival curves of RASAL2 negative and positive patients.

2.4 影响乳腺癌患者预后的 Cox 比例风险回归模型分析

回归设计：建立 Cox 比例风险回归模型，应变量选择乳腺癌患者预后，其中 0= 生存，1= 死亡，以表 1 中 P<0.10 的指标 / 因素为自变量。所有自变量均进行两分类转化：连续数值指标参考两组总均值及中值进行分段(分层)，多层级资料按数据特征适当合并层级，赋值见表 2。选择逐步后退法进行回归分析，设定 $\alpha_{剔除}$=0.10，$\alpha_{入选}$=0.05。结果显示 TNM 分期Ⅲ期、FOXP3 阳性表达、HMGA2 阳性表达是影响乳腺癌患者预后的危险因素(P<0.05)，而 RASAL2 阳性表达是乳腺癌患者预后的保护因素(P<0.05)。见表 3。

3 讨论

2018 年全球乳腺癌新发病例数约为 209 万，占恶性肿瘤新发病例数的 11.6%，而乳腺癌的死亡病例约为 63 万，占恶性肿瘤死亡病例数的 6.6%，近年来乳腺癌的发病率和死亡率逐年增长，严重影响人们的生命健康[13]。乳腺癌患者的预后较差，并且复发率较高，是女性死亡的重要因素[14,15]。目前关于乳腺癌的发病机制仍然缺乏了解，已有的研究报道显示肿瘤免疫逃逸、肠道微生物菌群失调、基因转录调控异常以及抑癌基因失活等因素均会引起乳腺癌的发生，其中基因转录调控异常和抑癌基因失活在乳腺癌诊断和治疗中的临床价值得到广泛关

注[16,17]。寻求与乳腺癌发生发展密切相关的转录因子和抑癌基因并将其应用于乳腺癌的诊断和治疗是今后乳腺癌研究的重要方向。

表 2 变量赋值

Table 2 Variable assignment

Factors		Assignment instructions
Dependent variable	Living status	1=death，0=survival
Independent variables	TNM stage	1=Ⅲ，0=Ⅰ～Ⅱ
	FOXP3 expression in cancer tissues	1=positive，0=negative
	HMGA2 expression in cancer tissues	1=positive，0=negative
	RASAL2 expression in cancer tissues	1=positive，0=negative
	Lymph node metastasis	1=Yes，0=No

表 3 影响乳腺癌患者预后的 Cox 比例风险回归模型分析

Table 3 Cox proportional hazards regression model analysis of prognosis of breast cancer patients

Factors	Regression coefficient	Standard error	Wald x^2	P	RR	OR 95% confidence interval
TNM stage Ⅲ	0.711	0.234	9.256	0.002	2.036	1.288～3.219
FOXP3 positive expression	0.392	0.177	4.933	0.026	1.480	1.047～2.092
HMGA2 positive expression	1.298	0.290	20.042	0.000	3.662	2.075～6.464
RASAL2 positive expression	-1.133	0.322	12.389	0.000	0.322	0.171～0.605

FOXP3 和 HMGA2 作为转录因子蛋白，能够参与一系列基因的转录，进而促进肿瘤的发生发展[18,19]。已有研究报道显示 FOXP3 能够上调 WNT 信号通路中 GSK3 和 PKC 的转录，从而激活 WNT 信号通路，并促进肺癌进展[20]。前列腺癌中的研究显示 HMGA2 能够促进 ERK 和 MKP-1 的转录表达，从而激活 MAPK 信号通路，促进前列腺癌的增殖和迁移[21]。本研究发现乳腺癌组织中 FOXP3 和 HMGA2 表达升高，分析其原因可能是由于 FOXP3 和 HMGA2 的表达受到微小 RNA（microRNA）分子的调节，当抑制 FOXP3 和 HMGA2 表达的 microRNA 表达降低，会引起 FOXP3 和 HMGA2 表达升高。有研究报道显示，microRNA-125b 能够结合 FOXP3 的信使 RNA 并诱导其降解，microRNA-125b 表达降低能够使 FOXP3 表达升高[22]。结直肠癌中的研究显示 microRNA-204-3p 抑制 HMGA2 转录并抑制其表达，从而抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭和转移等过程[23]。进一步研究结果显示，FOXP3 和 HMGA2 阳性表达与乳腺癌的恶性程度和不良预后密切相关。分析其原因可能是由于 FOXP3 和 HMGA2 在乳腺癌当中主要起到促癌基因的作用，通过促进乳腺癌细胞增殖、侵袭和转移等功能，促进乳腺癌的进展。已有研究报道显示，FOXP3 能够与 KAT2B 蛋白结合并调控 microRNA-200c、microRNA-141 的表达，从而促进乳腺癌细胞转移[24]。胶质瘤的研究中显示 HMGA2 能够激活 AKT 信号通路，进而促进胶质瘤细胞的增殖和迁移功能[25]。

RASAL2 作为抑癌基因，在多数肿瘤当中呈现低表达，并且具有抑制肿瘤增殖、侵袭和迁移等功能[26,27]。本研究发现在乳腺癌组织中 RASAL2 表达降低，分析其原因可能是由于 RASAL2 表达也受到 microRNA 的调控，microRNA 能够调节 RASAL2 基因转录，进而引起 RASAL2 表达水平异常。结直肠癌的研究中显示 RASAL2 是 microRNA-876-5p 的靶基因，microRNA-876-5p 通过调节 RASAL2 表达来抑制结直肠癌细胞的增殖和侵袭 [28]。进一步研究发现 RASAL2 阳性表达患者的 TNM 分期下降以及淋巴结转移减少，并且患者的生存率升高，实验结果表明 RASAL2 阳性表达与乳腺癌的恶性程度和预后密切相关。分析其原因可能是由于 RASAL2 作为抑癌基因，能够抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移功能。既往研究表明，在乳腺癌当中 RASAL2 能够促进细胞发生细胞自噬，从而抑制乳腺癌细胞增殖 [29]，同时在 Luminal B 型乳腺癌中的研究显示 RASAL2 能够抑制 RAS 信号通路的活化，进而抑制乳腺癌的发生发展[30]。

综上所述，乳腺癌组织中 FOXP3、HMGA2 和 RASAL2 表达均与乳腺癌 TNM 分期、淋巴结转移相关，其中 FOXP3 和 HMGA2 阳性表达是乳腺癌患者预后的危险因素，而 RASAL2 阳性表达则是其保护因素。FOXP3、HMGA2、RASAL2 在乳腺癌的诊断和治疗中具有一定临床意义。

参 考 文 献（References）

[1] Budny A, Starosławska E, Budny B, et al. Epidemiology and diagnosis of breast cancer[J]. Pol Merkur Lekarski, 2019, 46(275): 195-204

[2] 唐林，陈巍魏，管晓翔. AJCC 第 8 版乳腺癌分期系统更新的解读[J]. 临床肿瘤学杂志, 2017, 22(11): 1038-1040

[3] Li J, Chen Z, Su K, et al. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(7): 8500-8505

[4] Duffy MJ. Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value?[J]. Clin Chem, 2006, 52(3): 345-351

[5] Tirada N, Aujero M, Khorjekar G, et al. Breast Cancer Tissue Markers，Genomic Profiling，and Other Prognostic Factors: A Primer for Radiologists[J]. Radiographics, 2018, 38(7): 1902-1920

[6] Liang Y, Lü W, Zhang X, et al. Tumor-infiltrating CD8+ and FOXP3+ lymphocytes before and after neoadjuvant chemotherapy in cervical cancer[J]. Diagn Pathol, 2018, 13(1): 93

[7] Sun X, Feng Z, Wang Y, et al. Expression of Foxp3 and its prognostic significance in colorectal cancer [J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2017, 30(2): 201-206

[8] Sgarra R, Pegoraro S, Ros G, et al. High Mobility Group A (HMGA) proteins：Molecular instigators of breast cancer onset and progression [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2018, 1869(2): 216-229

[9] Zhao W, Geng D, Li S, et al. LncRNA HOTAIR influences cell growth，migration，invasion，and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer[J]. Cancer Med, 2018, 7(3): 842-855

[10] 王昭昕, 李淑琴, 王培顺, 等. 乳腺癌组织中 RASAL2 的表达变化及意义[J].山东医药, 2018, 58(9): 66-68

[11] Yan M, Li X, Tong D, et al. miR-136 suppresses tumor invasion and metastasis by targeting RASAL2 in triple-negative breast cancer[J]. Oncol Rep, 2016, 36(1): 65-71

[12] 王璐. 不同方式进行的 EDTA 抗原热修复对免疫组化结果的影响[J].诊断病理学杂志,2017, 24(2): 143-144

[13] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424

[14] 陈力, 孔祥溢, 方仪, 等. 外周血中常见血液学参数对乳腺癌预后评估价值的研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(23): 4582-4585

[15] Waks AG, Winer EP. Breast Cancer Treatment: A Review[J]. JAMA, 2019, 321(3): 288-300

[16] Guo X, Xiao H, Guo S, et al. Identification of breast cancer mechanism based on weighted gene coexpression network analysis[J]. Cancer Gene Ther, 2017, 24(8): 333-341

[17] Chen J, Douglass J, Prasath V, et al. The microbiome and breast cancer: a review[J]. Breast Cancer Res Treat, 2019, 178(3): 493-496

[18] Wu L, Yi B, Wei S, et al. Loss of FOXP3 and TSC1 Accelerates Prostate Cancer Progression through Synergistic Transcriptional and Posttranslational Regulation of c-MYC [J]. Cancer Res, 2019, 79(7): 1413-1425

[19] Gao X, Dai M, Li Q, et al. HMGA2 regulates lung cancer proliferation and metastasis[J]. Thorac Cancer, 2017, 8(5): 501-510

[20] Yang S, Liu Y, Li MY, et al. FOXP3 promotes tumor growth and metastasis by activating Wnt/β-catenin signaling pathway and EMT in non-small cell lung cancer[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 124

[21] Hawsawi O, Henderson V, Burton LJ, et al. High mobility group A2 (HMGA2) promotes EMT via MAPK pathway in prostate cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 504(1): 196-202

[22] Wang S, Wu J, Ren J, et al. MicroRNA-125b Interacts with Foxp3 to Induce Autophagy in Thyroid Cancer [J]. Mol Ther, 2018, 26(9): 2295-2303

[23] Xi X, Teng M, Zhang L, et al. MicroRNA-204-3p represses colon cancer cells proliferation, migration, and invasion by targeting HMGA2[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(2): 1330-1338

[24] Zhang G, Zhang W, Li B, et al. MicroRNA-200c and microRNA- 141 are regulated by a FOXP3-KAT2B axis and associated with tumor metastasis in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2017, 19(1): 73

[25] Ni W, Xia Y, Bi Y, et al. FoxD2-AS1 promotes glioma progression by regulating miR-185-5P/HMGA2 axis and PI3K/AKT signaling pathway[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(5): 1427-1439

[26] Hui K, Gao Y, Huang J, et al. RASAL2, a RAS GTPase-activating protein，inhibits stemness and epithelial-mesenchymal transition via MAPK/SOX2 pathway in bladder cancer [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(2): 2600

[27] Pan Y, Tong JHM, Lung RWM, et al. RASAL2 promotes tumor progression through LATS2/YAP1 axis of hippo signaling pathway in colorectal cancer[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 102

[28] Ren L, Zhang Z, Feng Y, et al. MicroRNA-876-5p represses the cell proliferation and invasion of colorectal cancer through suppressing YAP signalling via targeting RASAL2[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47(5): 867-876

[29] Wang X, Yin X, Yang Y. Rasal2 suppresses breast cancer cell proliferation modulated by secretory autophagy [J]. Mol Cell Biochem, 2019, 462(1-2): 115-122

[30] Sears R, Gray JW. Epigenomic Inactivation of RasGAPs Activates RAS Signaling in a Subset of Luminal B Breast Cancers [J]. Cancer Discov, 2017, 7(2): 131-133

（上接第 3920 页）

[33] Koidou VP, Cavalli N, Hagi-Pavli E, et al. Expression of inflammatory biomarkers and growth factors in gingival crevicular fluid at different healing intervals following non-surgical periodontal treatment: A systematic review[J]. J Periodontal Res, 2020, 55(6): 801-809

[34] Yamamoto M, Prieto D, Maurer G, et al. Soluble Neuropilin-1 in gingival crevicular fluid from periodontitis patients: An exploratory cross-sectional study[J]. Biol Res, 2021, 11(1): 84-87

[35] Keles S, Anik A, Cevik O, et al. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-18 and tumor necrosis factor-alpha in type 1 diabetic children with gingivitis[J]. Clin Oral Investig, 2020, 24(10): 3623-3631

[36] Ye D, Gajendra S, Lawyer G, et al. Inflammatory biomarkers and growth factors in saliva and gingival crevicular fluid of e-cigarette users, cigarette smokers, and dual smokers: A pilot study [J]. J Periodontol, 2020, 91(10): 1274-1283