

## BIỂU HIỆN CỦA *GADD45B* LIÊN QUAN ĐẾN NGUY CƠ DI CĂN VÀO XƯƠNG Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ VÚ

Nguyễn Thành Đạt<sup>1</sup>, Trần Quỳnh Hoa<sup>2</sup>,  
Nguyễn Đình Trường<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Nam<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Tân Tạo

<sup>2</sup>Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

<sup>3</sup>Khoa Y, Đại học Quốc gia TP.HCM

\*Email: nmnam@medvnu.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/5/2021; Ngày chấp nhận đăng: 18/6/2021

### TÓM TẮT

Ung thư vú di căn xương là một căn bệnh nan y. Khoảng 80% bệnh nhân ung thư vú giai đoạn cuối sẽ di căn xương và bệnh nhân chỉ sống được khoảng 2-3 năm sau khi được chẩn đoán di căn xương. Hiện nay, chưa có liệu pháp điều trị hữu hiệu cho căn bệnh này. Để có liệu pháp điều trị hiệu quả cần phải xác định các mục tiêu điều trị mới. Vì thế, việc tìm ra các chỉ thị sinh học để dự đoán chính xác và tiên lượng sớm nguy cơ ung thư vú di căn vào xương là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng các phương pháp tin sinh học để phân tích biểu hiện của gene *GADD45B* và mối tương quan của chúng với ung thư vú di căn xương. Kết quả cho thấy, mức biểu hiện của *GADD45B* có sự tương quan với nguy cơ và thời gian di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Nhóm bệnh nhân ung thư vú có mức biểu hiện *GADD45B* cao có nguy cơ di căn vào xương cao và thời gian sống không di căn vào xương ngắn. *GADD45B* là một chỉ thị sinh học độc lập cho việc tiên lượng nguy cơ ung thư vú di căn vào xương. Biểu hiện tăng cao của *GADD45B* tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư vú. *GADD45B* có thể là một mục tiêu trị liệu tiềm năng đối với bệnh nhân ung thư vú di căn xương. *GADD45B* như một chỉ thị sinh học có giá trị giúp cải thiện hiệu quả việc chẩn đoán và tiên lượng trong thời đại y học chính xác.

*Từ khóa:* *GADD45B*, chẩn đoán, tiên lượng, ung thư vú, di căn xương, chỉ thị sinh học.

### 1. GIỚI THIỆU

Ung thư vú đã vượt qua ung thư phổi để trở thành loại ung thư được chẩn đoán phổ biến nhất và là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do ung thư ở phụ nữ trên toàn thế giới. Trong năm 2020, ước tính có khoảng 2,3 triệu ca được chẩn đoán mới, chiếm khoảng 11,7% tổng số các ca ung thư [1]. Tuy nhiên, nguyên nhân chính gây tử vong ở các bệnh nhân ung thư vú thường không phải do các khối u nguyên phát mà chủ yếu là do các tế bào ung thư di căn đến các bộ phận khác trong cơ thể [2]. Xương là một trong những điểm đến lý tưởng mà các tế bào ung thư vú thường di căn đến [3]. Hơn 80% bệnh nhân ung thư vú giai đoạn cuối phát hiện khối u di căn đến xương [4]. Khi tế bào ung thư vú di căn đến xương có thể dẫn đến hàng loạt các vấn đề về xương như: các cơn đau dữ dội do dây thần kinh bị chèn ép, gãy xương bệnh lý và tăng canxi huyết [5]. Các liệu pháp điều trị hiện nay mang lại hiệu quả rất hạn chế một khi khối u di căn đến xương [6]. Để điều trị hiệu quả cần tìm ra các mục tiêu điều trị mới để phát triển các chiến lược điều trị. Do đó, việc tìm kiếm các chỉ thị sinh học có khả năng hỗ trợ tiên lượng sớm nguy cơ di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú là cần thiết và có ý nghĩa lâm sàng.

Hiện nay, một vài liệu pháp đích được sử dụng trong việc điều trị các biến chứng ác tính trên xương. Bisphosphonates (zoledronic acid, pamidronate, ibandronate, alendronate, ...) và denosumab được xem là có hiệu quả cho việc điều trị ung thư di căn xương để làm giảm các vấn đề liên quan đến xương [7]. Bisphosphonates ngăn cản sự gắn kết của các tế bào hủy xương với xương và phát sinh quá trình chết tế bào của các tế bào hủy xương (osteoclasts) [8], trong khi denosumab thuộc loại kháng thể đơn dòng người IgG2 có thể trực tiếp ngăn chặn sự tương tác RANK/RANKL [9] và đã được chứng minh là có hiệu quả vượt trội hơn zoledronic acid trong việc ngăn ngừa các vấn đề liên quan đến xương [10]. Hơn nữa, một thử nghiệm giai đoạn 3 gần đây kết hợp atezolizumab (một chất ức chế phối tử chết tế bào được lập trình-1 PD-L1) với nab-paclitaxel cho thấy thời gian sống sót không có tiến triển bệnh kéo dài đáng kể ở bệnh nhân ung thư vú ba âm tính di căn [11]. Các tác nhân nhắm mục tiêu khác cũng đang được nghiên cứu và một số đang trong quá trình thử nghiệm lâm sàng trên những bệnh nhân ung thư di căn xương [12]. Tuy nhiên, những liệu pháp này còn bộc lộ nhiều hạn chế. Mặc dù bisphosphonates là một phương pháp điều trị được FDA chấp thuận cho ung thư vú di căn xương, nó đã được chứng minh là không ngăn chặn sự phát triển của di căn xương ở những bệnh nhân không có di căn và cũng không kéo dài thời gian sống sót của bệnh nhân [13]. Mặt khác, nó còn gây ra một số tác dụng phụ như chứng hoại tử xương hàm và độc tính trên thận. Tác dụng của denosumab đối với sự sống còn và tái phát hiện vẫn đang được nghiên cứu. Bên cạnh đó, có một sự thật là khoảng 30-50% bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp này vẫn phát triển sự di căn xương mới và biến chứng xương [14]. Do đó, việc tìm ra những chỉ thị sinh học để chẩn đoán sớm những bệnh nhân có nguy cơ cao di căn xương và xác định các phân tử mục tiêu mới để phát triển thuốc có vai trò quan trọng trong chiến lược điều trị cho từng bệnh nhân ung thư vú di căn vào xương.

Gene *GADD45B* (Growth arrest and DNA damage-inducible beta), một thành viên của một nhóm gene *GADD45*, có mức độ phiên mã tăng lên trong các điều kiện căng thẳng hoặc tiếp xúc với các tác nhân gây tổn hại DNA. *GADD45B* đã được chứng minh là có liên quan đến việc điều hòa chu kỳ tế bào, sửa chữa tổn thương DNA, quá trình lão hóa và apoptosis thông qua p38/JNK, ROS - *GADD45B* - p38 [15]. Tuy nhiên, cho đến nay việc nghiên cứu về vai trò của nó trong sự hình thành và phát triển của các loại ung thư vẫn còn hạn chế. Cụ thể, vai trò và mối tương quan giữa biểu hiện của *GADD45B* với nguy cơ di căn vào xương của tế bào ung thư vú vẫn chưa được đề cập đến. Tần suất cao của ung thư biểu mô vú xảy ra ở phụ nữ, tỷ lệ di căn vào xương cao ở những bệnh nhân này và việc thiếu các phương pháp điều trị hiệu quả khiến vấn đề này trở thành một chủ đề cần được chú ý và nghiên cứu. Nghiên cứu này nhằm khám phá mối tương quan giữa mức độ biểu hiện của gene *GADD45B* với nguy cơ di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Thông qua nghiên cứu, nhóm tác giả phát hiện ra rằng nhóm bệnh nhân ung thư vú di căn vào xương có mức biểu hiện gene *GADD45B* cao hơn đáng kể nhóm bệnh nhân ung thư vú không di căn xương. Ngoài ra, chúng tôi cũng chứng minh được *GADD45B* là một dấu ấn phân tử cho việc chẩn đoán và tiên lượng sớm về nguy cơ di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Các bệnh nhân và hồ sơ biểu hiện gene

Hồ sơ biểu hiện gene cùng với thông tin lâm sàng của bệnh nhân ung thư vú được trích xuất từ cơ sở dữ liệu National Center for Biotechnology Information Gene Expression Omnibus database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) và ArrayExpress (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>). Tiêu chuẩn cho việc sàng lọc dữ liệu trong nghiên cứu là dữ liệu phải có thông tin về thời gian di căn vào xương của các bệnh nhân và một số thông tin lâm sàng khác (tuổi; mức biểu hiện của ER, PR, HER2; kích thước khối u; độ; v.v.).  $\log_2$  được sử dụng để chuẩn hóa dữ liệu

thô. Hai tập dữ liệu GSE2603 [16] và E-MTAB-365 [17] đủ tiêu chuẩn được chọn trong nghiên cứu này. Những bệnh nhân thiếu thông tin về di căn vào xương được loại bỏ khỏi hai tập dữ liệu trên. Đầu dò 207574\_s\_at của gene *GADD45B* được sử dụng làm đầu dò chuẩn cho cả hai tập dữ liệu.

## **2.2. Phân tích mức biểu hiện mRNA của *GADD45B* giữa hai nhóm khối u vú di căn xương và không di căn**

Có tất cả 390 bệnh nhân được chọn từ hai tập dữ liệu để quan sát mức biểu hiện mRNA của *GADD45B* giữa mô ung thư vú không di căn xương và mô ung thư vú có di căn xương (82 bệnh nhân ở GSE2603 và 308 bệnh nhân ở E-MTAB-365). Dữ liệu thô được chuẩn hóa bằng phần mềm Cluster 3.0 trước khi đem phân tích vẽ biểu đồ hộp.

## **2.3. Biểu hiện gene *GADD45B* và mối tương quan của nó với sự di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú**

Các bệnh nhân trong hai tập dữ liệu được chia thành hai nhóm dựa vào mức độ biểu hiện mRNA của gene *GADD45B*. Bệnh nhân được chia vào nhóm biểu hiện cao (hay thấp) tùy thuộc vào mức độ biểu hiện mRNA của gene *GADD45B* ở bệnh nhân đó cao hơn (hay thấp hơn) giá trị trung vị của tất cả các bệnh nhân trên từng bộ dữ liệu. Sau đó, phương pháp Kaplan-Meier được sử dụng để so sánh sự sống còn giữa hai nhóm bệnh nhân này. Mô hình hồi quy tỷ lệ Cox đơn biến và kiểm nghiệm Chi bình phương được dùng để đánh giá mối tương quan giữa biểu hiện của gene *GADD45B* với sự di căn vào xương ở những bệnh nhân ung thư vú.

## **2.4. Mối tương quan của gene *GADD45B* với các đặc điểm bệnh học lâm sàng khác**

Ở từng đặc điểm bệnh học lâm sàng, hai nhóm bệnh nhân tiếp tục được sử dụng để phân tích tỷ lệ sống còn bằng đường cong Kaplan-Meier. Các kiểm định Chi bình phương và log-rank được sử dụng để đánh giá rủi ro di căn vào xương. Phân tích hồi quy tỷ lệ Cox đa biến được thực hiện để đánh giá các yếu tố tiên lượng độc lập liên quan đến sự di căn và thời gian di căn vào xương. Trong đó, các đồng biến được phân tích gồm: tình trạng ER, PR, HER2 và mức biểu hiện của gene *GADD45B*, v.v.

## **2.5. Phân tích sự tương tác và mối quan hệ của *GADD45B* với các gene và protein khác**

Tương tác giữa gene *GADD45B* và các gene khác được khám phá dựa trên cơ sở dữ liệu GeneMANIA (<https://genemania.org/>) [18]. Các gene được tìm kiếm dựa trên một tập hợp dữ liệu liên kết chức năng lớn bao gồm tương tác protein và di truyền, các con đường truyền tín hiệu, sự đồng biểu hiện, sự đồng bản địa hóa và sự tương đồng về miền protein. Các thông số phân tích được cài đặt theo các chỉ số mặc định.

Phân tích mạng lưới tương tác protein-protein được dự đoán dựa trên cơ sở dữ liệu Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins (STRING) v11.0 (<http://www.stringdb.org/>) [19]. Sự tương tác giữa các protein được hình thành dựa trên thông tin từ nhiều nguồn, bao gồm dữ liệu thực nghiệm, phương pháp dự đoán tính toán với độ tin cậy cao.

## **2.6. Phương pháp thống kê**

Dữ liệu thô được xử lý để chuẩn hóa bằng phần mềm Cluster 3.0. Các đường cong Kaplan-Meier, biểu đồ hộp, kiểm định Chi bình phương và log-rank được thực hiện bằng cách sử dụng ngôn ngữ lập trình R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)) để đánh giá giá trị tiên lượng của *GADD45B*. Kiểm định tổng hạng Wilcoxon [20] được sử dụng để so sánh hai nhóm dữ liệu

mô ung thư vú và mô ung thư vú có di căn xương và được biểu thị dưới dạng biểu đồ hộp. Trong tất cả các phân tích thống kê, giá trị  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

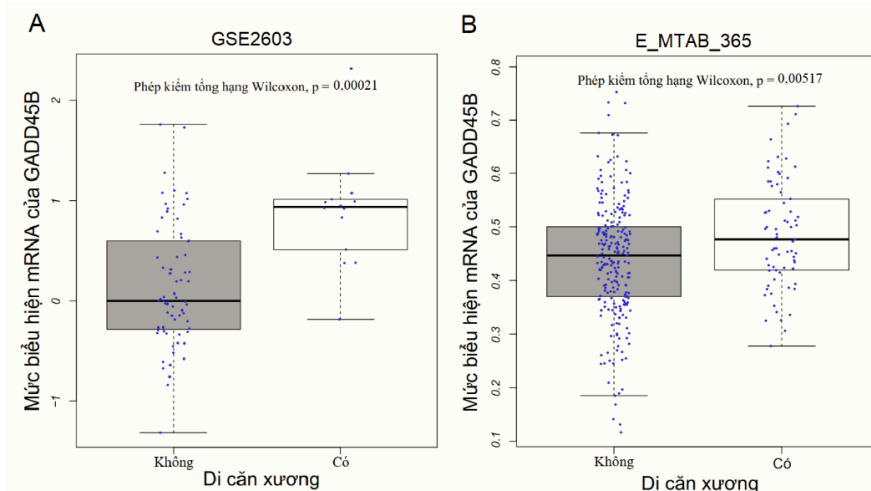
### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. GADD45B biểu hiện cao trong các mẫu mô ung thư vú di căn xương

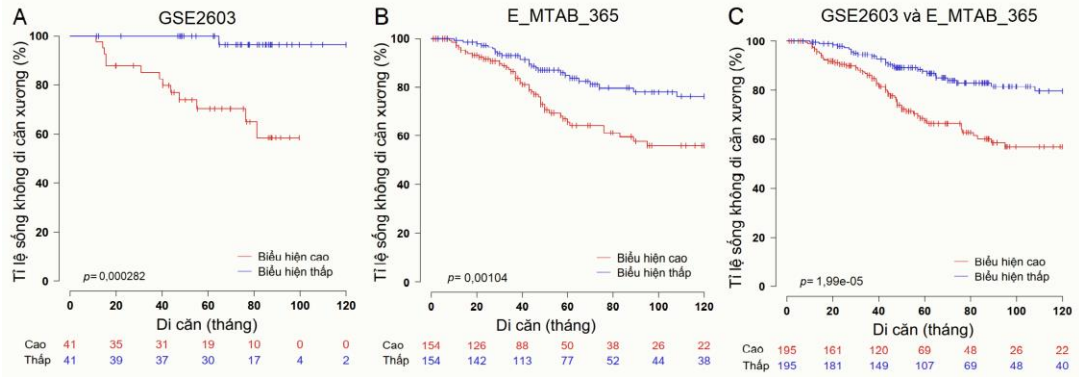
Để xác định xem liệu có sự khác biệt về mức độ biểu hiện của gene *GADD45B* giữa mô ung thư vú và mô ung thư vú di căn xương hay không, mức độ biểu hiện mRNA của *GADD45B* ở 390 mẫu từ hai bộ dữ liệu GSE2603 và E-MTAB-365 đã được sử dụng để phân tích trên từng tập dữ liệu. Kết quả cho thấy mức độ biểu hiện mRNA của *GADD45B* ở nhóm ung thư vú di căn xương cao hơn đáng kể so với nhóm ung thư vú không di căn xương (Hình 1A, 1B). Giá trị  $p$  dựa vào kiểm định tổng hạng Wilcoxon lần lượt là  $p = 0,00021$  ở GSE2603 và  $p = 0,00517$  ở E-MTAB-365. Những kết quả này chỉ ra rằng mức độ biểu hiện mRNA của *GADD45B* trong các mô khối u của bệnh nhân ung thư vú di căn xương cao hơn so với những biểu hiện đó trong các mô khối u của bệnh nhân không di căn xương.

#### 3.2. Biểu hiện cao của gene *GADD45B* liên quan tới sự di căn vào xương và thời gian di căn vào xương ngắn hơn trên bệnh nhân ung thư vú

Để khám phá xem mức độ biểu hiện của gene *GADD45B* có liên quan tới sự di căn vào xương hay không, phân tích sống còn bằng đường cong Kaplan Meier được thực hiện trên hai nhóm bệnh nhân ung thư vú có biểu hiện *GADD45B* cao hoặc thấp (mức độ biểu hiện cao hay thấp dựa trên giá trị trung vị của mức độ biểu hiện mRNA của gene *GADD45B*). Kết quả cho thấy biểu hiện của gene *GADD45B* có mối liên quan với sự di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Nhóm bệnh nhân có biểu hiện gene *GADD45B* cao có thời gian di căn vào xương ngắn hơn và nguy cơ di căn vào xương cao hơn trong cả hai tập dữ liệu GSE2603 ( $p = 0,000282$ , Hình 2A) và E-MTAB-365 ( $p = 0,00104$ , Hình 2B) so với nhóm bệnh nhân biểu hiện thấp gene này. Hơn nữa, phân tích trên 390 bệnh nhân kết hợp từ hai tập dữ liệu cũng nhận được kết quả tương tự, với giá trị  $p = 1,99 \times 10^{-5}$  (Hình 2C). Từ các kết quả phân tích trên cho thấy biểu hiện của gene *GADD45B* có liên quan tới nguy cơ và thời gian di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú.



Hình 1. Mức độ biểu hiện của *GADD45B* tăng đáng kể ở những khối u vú di căn xương so với các khối u vú không di căn. Biểu đồ hộp của mức độ biểu hiện mRNA ở *GADD45B* giữa u vú di căn xương và u vú không di căn ở tập dữ liệu GSE2603 (A) và E\_MTAB\_365 (B).



Hình 2. Biểu hiện cao bất thường của gene *GADD45B* có liên quan tới tiên lượng xấu trong di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Đường cong sống còn Kaplan Meier của sự di căn vào xương dựa vào mức độ biểu hiện của *GADD45B* ở bệnh nhân ung thư vú trên tập dữ liệu GSE2603 (A), E\_MTAB\_365 (B) và trên cả hai tập dữ liệu (C). Giá trị p được tính dựa vào kiểm định log-rank.

### 3.3. Mối tương quan của gene *GADD45B* với các đặc điểm bệnh học lâm sàng khác

Kết quả phân tích hồi quy tỷ lệ Cox đơn biến ở tập dữ liệu GSE2603 (Bảng 1) cho thấy mức độ biểu hiện của gene *GADD45B* không liên quan với tuổi, kích thước khối u, tình trạng các hormone ER, HER2 cũng như chữ ký gene của van't Veer trên các bệnh nhân ung thư vú ( $p > 0,05$ ). Trình trạng hormone PR có giá trị  $p$  nằm ở đường biên có ý nghĩa ( $p = 0,048$ ). Tuy nhiên, biểu hiện của gene *GADD45B* không thể hiện mối quan hệ có ý nghĩa với trình trạng hormone PR ở tập dữ liệu E-MTAB-365 ( $p > 0,05$ ). Kết quả phân tích ở tập dữ liệu E-MTAB-365 (Bảng 2) thể hiện biểu hiện của gene *GADD45B* có mối quan hệ ý nghĩa với hệ thống phân giai đoạn ung thư TNM ( $p = 0,005$ ), hệ thống phân loại theo CIT ( $p = 0,0015$ ). Đáng chú ý rằng biểu hiện gene *GADD45B* có mối tương quan có ý nghĩa với sự di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú ở cả hai tập dữ liệu ( $p = 0,002$  và  $p = 0,0125$  tương ứng trên tập dữ liệu GSE2603 và E-MTAB-365). Hơn nữa, sự biểu hiện của gene *GADD45B* có thể phân bệnh nhân ung thư vú có ER+ và HER2- thành những nhóm nhỏ có nguy cơ và thời gian di căn vào xương khác biệt có ý nghĩa ở cả hai tập dữ liệu (Hình 3). Tuy nhiên, gene này không phân tách thành công các bệnh nhân ở nhóm ER-, PR+, PR- và HER2+ ở đồng thời cả hai tập dữ liệu phân tích (Dữ liệu không được hiển thị).

Bảng 1. Các đặc điểm bệnh học lâm sàng của bệnh nhân ung thư vú trong hai nhóm biểu hiện của gene *GADD45B* ở tập dữ liệu GSE2603.

Biến số	Tổng	<i>GADD45B</i> cao	<i>GADD45B</i> thấp	$p$ ( $\chi^2$ test)
Số bệnh nhân (%)	82	41 (50)	41 (50)	
Tuổi	$\leq 54,5$	41 (50)	21 (25,6)	1
	$>54,5$	41 (50)	20 (24,4)	
ER	Âm	36 (43,9)	14 (17,1)	0,112
	Dương	46 (56,1)	27 (32,9)	
PR	Âm	46 (56,1)	18 (22)	0,048
	Dương	36 (43,9)	23 (28)	
HER2	Âm	68 (89,4)	34 (44,7)	1
	Dương	8 (10,6)	4 (5,3)	

Biểu hiện của GADD45B liên quan đến nguy cơ di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú

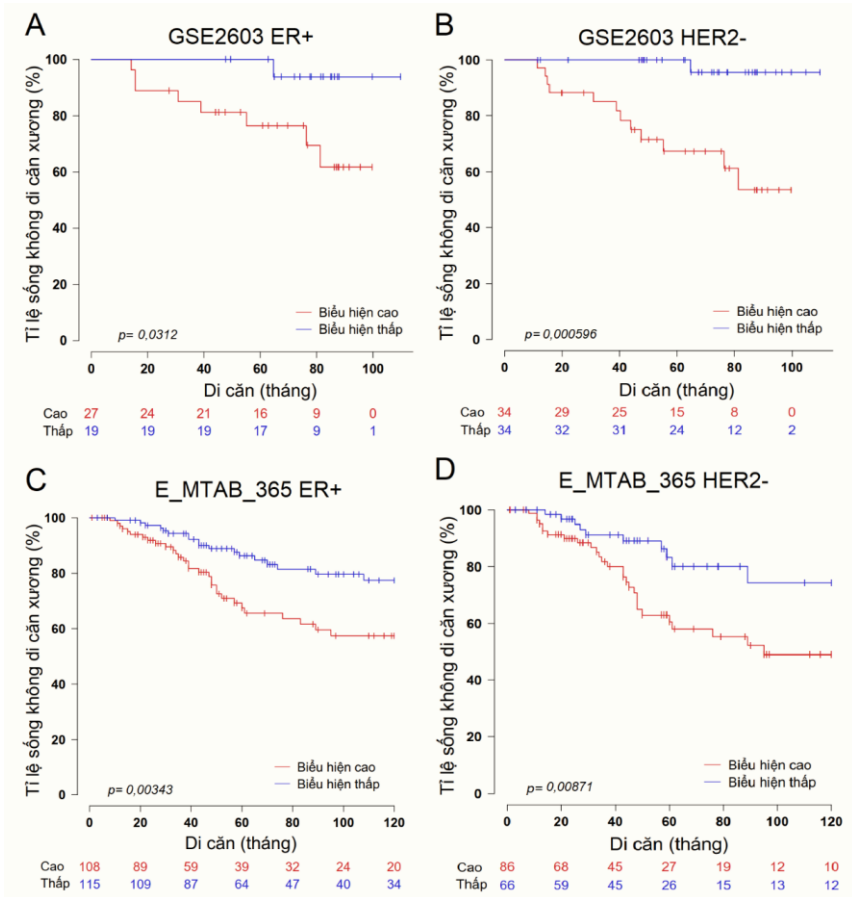
van't Veer signature	Xấu	45 (54,9)	20 (24,4)	25 (30,5)	0,377
	Tốt	37 (45,1)	21 (25,6)	16 (19,5)	
Kích thước khối u	To	38 (46,3)	21 (25,6)	17 (20,7)	0,525
	Nhỏ	44 (53,7)	20 (24,4)	24 (29,3)	
Di căn xương	Không	68 (82,9)	28 (34,1)	40 (48,8)	0,002
	Có	14 (17,1)	13 (15,9)	1 (1,2)	

Ghi chú: ER: Estrogen receptor; PR: Progesterone receptor; HER2: human epidermal growth factor receptor 2.

**Bảng 2.** Các đặc điểm bệnh học lâm sàng của bệnh nhân ung thư vú trong hai nhóm biểu hiện của gene *GADD45B* ở tập dữ liệu E\_MTAB\_365.

Biến số		Tổng	<i>GADD45B</i> cao	<i>GADD45B</i> thấp	p ( $\chi^2$ test)
Số bệnh nhân (%)		308	154	154	
Tuổi	<= 58	153 (49,6)	74 (24,0)	79 (25,6)	0,6522
	>58	155 (50,4)	80 (26,0)	75 (24,4)	
ER	Âm	74 (24,9)	41 (13,8)	33 (11,1)	0,3603
	Dương	223 (75,1)	108 (36,4)	115 (38,7)	
PR	Âm	127 (42,8)	64 (21,6)	63 (21,2)	1
	Dương	170 (57,2)	85 (28,6)	85 (28,6)	
HER2	Âm	152 (81,3)	86 (46,0)	66 (35,3)	0,8521
	Dương	35 (18,7)	21 (11,2)	14 (7,5)	
Độ	1	16 (5,2)	8 (2,6)	8 (2,6)	1
	2	163 (54)	82 (27,2)	81 (26,8)	
	3	123 (40,7)	61 (20,2)	62 (20,5)	
Tình trạng gene <i>TP53</i>	Bình thường	48 (48,5)	26 (26,3)	22 (22,2)	0,6857
	Đột biến	51 (51,5)	30 (30,3)	21 (21,2)	
Giai đoạn TNM	N0	133 (44,2)	53 (17,6)	80 (26,6)	0,005
	N1	168 (55,8)	96 (31,9)	72 (23,9)	
Phân loại theo CIT	basL	36 (11,7)	13 (4,2)	23 (7,5)	0,0015
	mApo	27 (8,8)	18 (5,9)	9 (2,9)	
	lumC	44 (14,3)	27 (8,8)	17 (5,5)	
	lumB	76 (24,7)	35 (11,4)	41 (13,3)	
	lumA	70 (22,7)	24 (7,8)	46 (14,9)	
	normL	55 (17,8)	37 (12,0)	18 (5,8)	
Di căn xương	Không	239 (77,6)	110 (35,7)	129 (41,9)	0,0125
	Có	69 (22,4)	44 (14,3)	25 (8,1)	

Ghi chú: ER: Estrogen receptor; PR: Progesterone receptor; HER2: Human epidermal growth factor receptor 2.

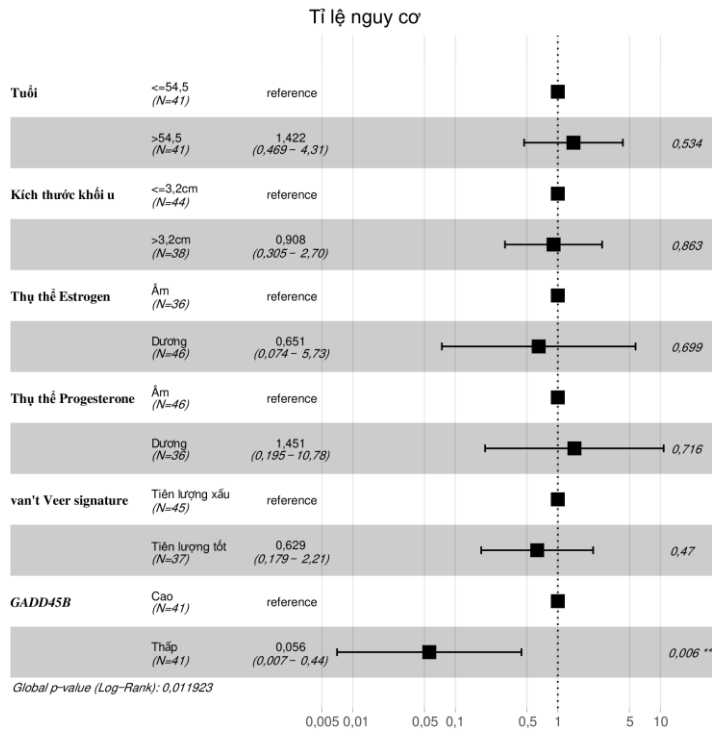


Hình 3. Mối tương quan giữa biểu hiện của gene *GADD45B* với sự di căn vào xương và các đặc điểm bệnh học lâm sàng khác ở bệnh nhân ung thư vú. Đường cong sống còn Kaplan Meier của sự di căn vào xương dựa vào mức độ biểu hiện của *GADD45B* ở bệnh nhân ung thư vú có ER+ (A), HER2- (B) trong tập dữ liệu GSE2603 và ER+ (C), HER2- (D) trong tập dữ liệu E\_MTAB\_365. Giá trị p được tính dựa vào kiểm định log-rank.

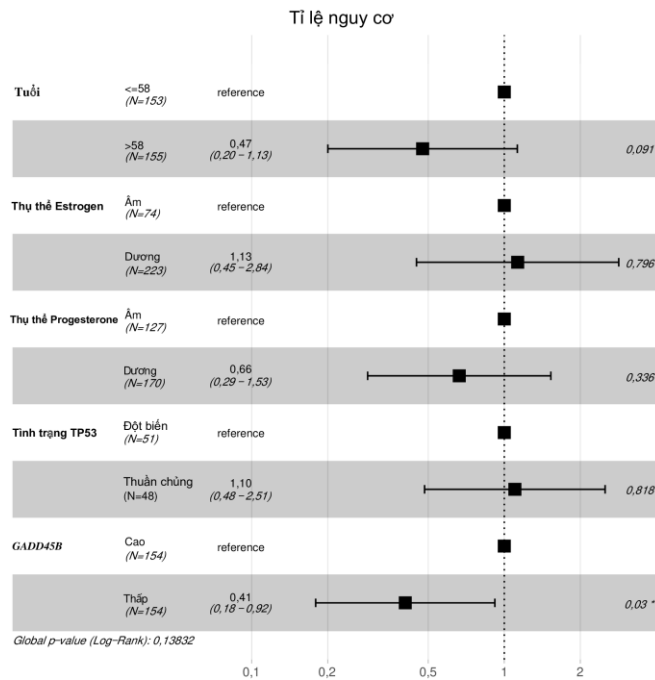
### 3.4. Gene *GADD45B* có tiềm năng là một chỉ thị chẩn đoán độc lập nguy cơ di căn vào xương trên bệnh nhân ung thư vú

Phân tích hồi quy tỷ lệ Cox đa biến được thực hiện để xác định liệu gene *GADD45B* có phải là một chỉ thị chẩn đoán độc lập nguy cơ ung thư vú di căn vào xương hay không. Các đồng biến được phân tích ở tập dữ liệu GSE2603 bao gồm: tuổi, kích thước khối u, tình trạng ER, PR, chữ ký gene của van't Veer cùng với mức biểu hiện của gene *GADD45B* và ở tập dữ liệu E-MTAB-365 bao gồm: tuổi, tình trạng ER, PR, TP53 cùng với mức biểu hiện của gene *GADD45B* được đưa vào mô hình để đánh giá các yếu tố liên quan đến khả năng tiên lượng độc lập của gene *GADD45B*. Kết quả phân tích cho thấy các yếu tố tuổi, kích thước khối u, tình trạng ER, PR, TP53 và chữ ký gene của van't Veer không có ý nghĩa thống kê trong mô hình hồi quy tỷ lệ Cox đa biến (Hình 4 và 5). Trong khi mức độ biểu hiện của *GADD45B* trong phân tích có giá trị *p* nhỏ đáng kể ( $p = 0,006$  ở GSE2603 và  $p = 0,03$  ở E-MTAB-365). Điều này chứng tỏ rằng gene *GADD45B* là một chỉ thị sinh học độc lập có tiềm năng cho việc chẩn đoán nguy cơ ung thư vú di căn vào xương.

Biểu hiện của GADD45B liên quan đến nguy cơ di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú



Hình 4. Phân tích hồi quy tỷ lệ Cox đa biến mức biểu hiện của gene GADD45B cùng với các thông tin lâm sàng khác ở tập dữ liệu GSE2603. N là số bệnh nhân trong từng nhóm. Giá trị tỷ lệ nguy cơ trong ngoặc là giá trị trong ngưỡng 95%. Reference là nhóm được dùng trong đối chiếu. Giá trị p được tính dựa vào kiểm định log-rank.

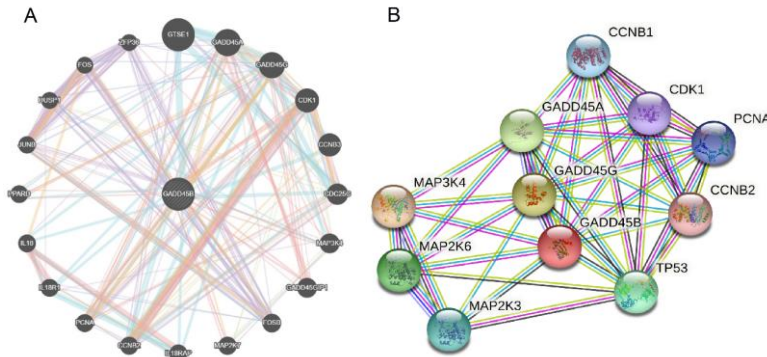


Hình 5. Phân tích hồi quy tỷ lệ Cox đa biến mức biểu hiện của gene GADD45B cùng với các thông tin lâm sàng khác ở tập dữ liệu E-MTAB-365. N là số bệnh nhân trong từng nhóm. Giá trị tỷ lệ nguy cơ trong ngoặc là giá trị trong ngưỡng 95%. Reference là nhóm được dùng trong đối chiếu. Giá trị p được tính dựa vào kiểm định log-rank.



### 3.5. Sự tương tác và mối quan hệ của *GADD45B* với các gene và protein khác

Gene *GADD45B* có sự tương tác và mối quan hệ với 20 gene khác (Hình 6). Trong đó, *GADD45B* có mối tương tác gần với các gene *GTSE1*, *GADD45A*, *GADD45G*, *CDK1* và *CCNB3* (Hình 6A). Về mặt tương tác protein, *GADD45B* có sự tương tác với 10 protein khác, bao gồm *GADD45A*, *GADD45G*, *CCNB1*, *CDK1*, *PCNA*, *CCNB2*, *TP53*, *MAP3K4*, *MAP2K6* và *MAP2K3* (Hình 6B).



Hình 6. Tương tác của *GADD45B* với các gene và protein khác; (A) Tương tác của *GADD45B* với các gene khác được phân tích trên cơ sở dữ liệu GeneMania; (B) Tương tác của protein *GADD45B* với các protein khác được phân tích trên cơ sở dữ liệu String.

## 4. THẢO LUẬN

Xương là điểm đến đầu tiên và thường xuyên nhất, chiếm khoảng 80% các trường hợp ung thư vú di căn [21]. Hóa trị liệu đang là một trong những phương pháp điều trị ung thư phổ biến nhằm ngăn chặn tế bào ung thư phát triển và di căn sang các bộ phận khác trên cơ thể người bệnh. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu thể hiện rằng liệu pháp hóa trị có nhiều tác dụng phụ cấp tính và lâu dài làm ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng cuộc sống của bệnh nhân [22, 23]. Các chỉ thị chẩn đoán di căn được sử dụng hiện tại như kích thước khối u nguyên phát, sự di căn vào hạch lympho, phân độ mô học, giai đoạn và tình trạng thụ thể ER và PR dự đoán kém nguy cơ di căn ở bệnh nhân [2]. Vì không thể dự đoán chính xác nguy cơ phát triển di căn ở từng bệnh nhân, nhiều bệnh nhân trải qua hóa trị không cần thiết và gánh chịu các tác dụng phụ độc hại từ liệu pháp này. Hiện nay, chưa có liệu pháp điều trị hiệu quả để ngăn sự di căn vào xương của các tế bào ung thư vú. Do đó, việc tìm ra các chỉ thị đích mới để chẩn đoán sớm nguy cơ ung thư vú di căn vào xương sẽ mở ra liệu pháp điều trị hiệu quả.

Việc chẩn đoán nguy cơ di căn một cách chính xác có thể dựa vào hồ sơ biểu hiện gene của các bệnh nhân bởi vì tiềm năng di căn của tế bào ung thư là một đặc tính di truyền đã được mã hóa trong các khối u nguyên phát [24, 25]. Vì thế, chúng ta có thể sử dụng thông tin biểu hiện gene của tế bào khối u nguyên phát để nghiên cứu và tìm kiếm các chỉ thị mới cho việc tiên lượng sớm sự di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Nghiên cứu này cho thấy gene *GADD45B* có mối tương quan có ý nghĩa với nguy cơ và thời gian di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. *GADD45B* cũng được đề xuất là một chỉ thị sinh học độc lập có tiềm năng cho việc chẩn đoán và tiên lượng về nguy cơ ung thư vú di căn vào xương. Kết quả này sẽ hỗ trợ cho việc xác định chính xác những bệnh nhân có nguy cơ cao để trải qua hóa trị bổ trợ thích hợp và giúp những bệnh nhân có nguy cơ thấp không phải gánh chịu những tác dụng phụ của liệu pháp hoá trị. Hơn nữa, *GADD45B* có tiềm năng để trở thành một đích mới cho việc khám phá và thiết kế các phương pháp điều trị can thiệp mục tiêu nhằm ngăn ngừa quá trình di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Điều này sẽ cho phép các bác sĩ trị liệu

điều chỉnh các chiến lược điều trị tối ưu cho từng bệnh nhân và là việc làm hết sức có ý nghĩa trong thời đại y học chính xác.

GADD45B có vai trò điều hòa sự tăng sinh của tế bào, kiểm soát trạm G2/M, quá trình apoptosis, các phản hồi của tế bào đối với tổn thương DNA và các phản ứng miễn dịch chống khối u [26, 27]. Những nghiên cứu gần đây về vai trò của GADD45B trong sự hình thành và phát triển của các loại ung thư khác nhau đã chỉ ra rằng GADD45B có thể có khả năng thúc đẩy hoặc ngăn chặn sự tiến triển của khối u tùy thuộc vào loại tế bào ung thư thông qua các con đường truyền tín hiệu khác nhau. Ví dụ, GADD45B hoạt động như một chất ức chế sự phát triển của bệnh bạch cầu mạn tính dòng tủy (CML) do gene gây ung thư BCR-ABL [28]. Vai trò ức chế khối u của GADD45B cũng được ghi nhận ở các khối u tuyến yên tiết gonadotropin với biểu hiện của nó ngăn chặn sự tăng sinh, tồn tại và hình thành khối u [29]. Một nghiên cứu trên mô hình chuột cho thấy việc bất hoạt RAS endoprotease (RCE1) thúc đẩy bệnh bạch cầu dòng tủy bằng cách giảm biểu hiện GADD45B [30]. Vai trò chống khối u của GADD45B cũng được củng cố bởi một báo cáo gần đây rằng matrine, một alkaloid tự nhiên, có khả năng ức chế sự tiến triển của ung thư tuyến tiền liệt bằng cách thúc đẩy sự biểu hiện của GADD45B [31]. Ngược lại, GADD45B có thể hoạt động sinh ung và tiên lượng khả năng sống sót kém trong nhiều loại ung thư như ung thư biểu mô đại trực tràng, ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú và ung thư buồng trứng. Biểu hiện của GADD45B trong các mô ung thư đại thực tràng (CRC) cao hơn đáng kể so với các mô không ung thư lân cận (ANCT) cả về mức độ mRNA và protein [32]. Vì thế, GADD45B đã được xem là một dấu ấn sinh học tiên lượng độc lập trong ung thư đại thực tràng giai đoạn II [33]. Sự gia tăng biểu hiện của *GADD45B* còn là một dấu hiệu tiên lượng về thời gian sống không bệnh ngắn hơn ở bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến giáp nhú được điều trị bằng phương pháp phẫu thuật cắt toàn bộ tuyến giáp và liệu pháp phóng xạ [34]. Một nghiên cứu mới đây trên ung thư buồng trứng cho thấy rằng sự biểu hiện quá mức của *GADD45B* thúc đẩy nhu động của tế bào ung thư buồng trứng thông qua chuyển đổi biểu mô-trung mô (EMT) và có liên quan đến di căn [35].

Ở nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy rằng sự biểu hiện quá mức của *GADD45B* thể hiện thời gian di căn vào xương ngắn hơn và nguy cơ di căn vào xương cao hơn và có liên quan đáng kể với hệ thống phân giai đoạn ung thư TNM và hệ thống phân loại theo CIT. Vì thế, *GADD45B* có khả năng là một yếu tố thúc đẩy sự di căn vào xương của các tế bào ung thư vú. Mặc dù những biểu hiện trái ngược nhau của *GADD45B* ở các loại ung thư khác nhau đã được ghi nhận, biểu hiện quá mức của *GADD45B* được cho là biểu hiện của bệnh ác tính xâm lấn và cho thấy khả năng sống sót kém của bệnh nhân ở 13 trong số 15 bệnh ung thư thể rắn có tỷ lệ tử vong hàng đầu. Một nghiên cứu về vai trò của *GADD45B* trong ung thư đại thực tràng được công bố bởi Wang và cộng sự đã cho rằng *GADD45B* có thể trải qua đột biến và mất các chức năng như một gene ức chế khối u, và do đó thúc đẩy quá trình sinh ung và tiến triển của khối u. Hơn nữa, nghiên cứu gần đây của Daniela và cộng sự đã phát hiện rằng sự ức chế *GADD45B* trong các tế bào tủy đã khôi phục sự hoạt hóa của các đại thực bào phân ly tiền viêm (TAM) và sự thâm nhiễm miễn dịch, do đó làm giảm sự phát sinh ung thư [36]. Những điều này có thể một phần giải thích kết quả nghịch lý giữa chức năng như gene ức chế khối u của *GADD45B* với vai trò của nó như một yếu tố thúc đẩy sự tiến triển trong nhiều loại ung thư. Ngoài ra, nghiên cứu của chúng tôi đã kiểm chứng ảnh hưởng của *GADD45B* đến tiên lượng ung thư vú di căn xương dựa vào những bộ dữ liệu thuần tập với độ tin cậy cao được trích xuất từ ArrayExpress và GEO. Do đó, chúng tôi cho rằng biểu hiện cao bất thường của *GADD45B* có thể liên quan đến sự tiến triển di căn vào xương và nó thể hiện tiềm năng có thể được sử dụng như một chỉ thị tiên lượng trong tương lai. Tuy nhiên, những nghiên cứu xa hơn là cần thiết để xác định cơ chế cơ bản đằng sau sự rối loạn biểu hiện của *GADD45B* và ảnh hưởng của nó đến rủi ro di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú.

Phân tích tương tác của *GADD45B* với các gene và protein khác được khám phá dựa trên một tập hợp dữ liệu liên kết chức năng lớn. Dựa vào thông tin tương tác vật lý và di truyền, *GADD45B* được dự đoán là có tương tác với *GADD45A*, *GADD45GIP1*, *MAP3K4*, *CDK1* và *FOSB*. *GADD45B* được cho là có tương tác với *GTSE1*, *CDK1*, *MAP3K4*, *CCNB3*, *CDC25C*, *IL18*, *IL18R1*, *IL18RAP* dựa trên dữ liệu về các con đường tín hiệu trong tế bào. Trong phân tích, *GADD45B* thể hiện sự đồng biểu hiện với *GADD45A*, *GADD45G*, *ZFP36*, *FOSB* và đồng bản địa hóa với *GADD45G* và *FOSB*. *GADD45B* còn có sự tương đồng về miền protein với *GADD45A* và *GADD45G*. Một số gene và protein tương tác với *GADD45B* đã được xác nhận có liên quan đến nhiều loại ung thư khác nhau. Chẳng hạn, biểu hiện cao của *GTSE1* thúc đẩy sự phát triển của tế bào ung thư vú bằng cách kích hoạt con đường *AKT* và liên quan đến sự tiến triển di căn bằng cách điều hòa con đường chuyển tiếp biểu mô-trung mô (EMT) [37]. *GTSE1* cũng thúc đẩy sự tăng sinh tế bào ung thư tuyến tiền liệt thông qua con đường tín hiệu *SP1/FOXM1* trong khi việc im lặng của gene *GTSE1* có thể ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư cả *in vitro* và *in vivo* [38]. Ngoài ra, sự biểu hiện quá mức của *GTSE1* còn thúc đẩy sự di chuyển và xâm lấn bằng cách điều chỉnh chuyển tiếp biểu mô sang trung mô (EMT) trong ung thư biểu mô tế bào gan [39] và bất hoạt *GTSE1* ức chế sự tăng sinh và xâm lấn của tế bào ung thư do ức chế sự phosphoryl hóa *AKT* cùng với giảm điều hòa các protein liên quan đến chu trình tế bào [40]. *CDK1* có liên quan đến sự tăng sinh trong ung thư buồng trứng biểu mô bằng cách ngăn chặn pha G2/M [41] và việc ức chế biểu hiện của *CDK1* làm giảm sự phát triển của các khối u buồng trứng [42]. Hơn nữa, *CDK1*, *CCNB1* và *CCNB2* đã được chứng minh là các dấu ấn sinh học tiềm năng và liên quan đến sự thâm nhập tế bào miễn dịch trong ung thư biểu mô tế bào gan [43, 44]. *CCNB1* còn là một dấu ấn sinh học tiên lượng cho ung thư vú ER+ và biểu hiện của nó có thể hỗ trợ việc theo dõi hiệu quả của liệu pháp hormone cùng với định hướng các liệu pháp cá nhân hóa [45]. *caPCNA* là một dạng đồng phân của gene kháng nguyên nhân tế bào tăng sinh (*PCNA*) đã được xác minh có liên quan đến sự phát triển của các tế bào biểu mô ung thư vú trong môi trường nuôi cấy và các mô khối u vú. Điều này khiến nó trở thành một dấu ấn sinh học tiềm năng và kháng thể đặc hiệu *caPCNA* có thể đóng vai trò như một chất phát hiện bệnh u vú ác tính một cách hiệu quả [46]. Nhiều tài liệu cũng ghi nhận về đột biến sai lệch trong gene *TP53* là một sự kiện khởi phát trong quá trình sinh ung thư và thúc đẩy sự xâm lấn, di căn ở tuyến vú và một số bệnh ung thư khác [47-49]. Thêm vào đó, *GADD45B* còn liên quan đến nhiều protein trên đường dẫn truyền tín hiệu *MAPK*. Ở ung thư thực quản, *GADD45B* được cho là protein mục tiêu của *p53* và có thể làm tăng mức độ phosphoryl hóa của *MAP2K3*, lần lượt kích hoạt *p38* và *p53* [50]. *MAP2K6* và *MAP3K4* cũng đã được báo cáo rằng có liên quan đến các loại ung thư. Cụ thể là, *MAP2K6* có liên quan đến khả năng kháng bức xạ và biểu hiện tăng cao của nó dự đoán tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư biểu mô vòm họng [51] trong khi *MAP3K4* là một chất ức chế khối u trong ung thư đường mật trong gan (iCCA) và việc giảm biểu hiện của nó dẫn đến tăng trưởng xâm lấn và chuyển đổi biểu mô-trung mô [52]. Từ các thông tin trên, chúng ta có thể thấy rằng *GADD45B* tương tác với nhiều gene và protein đã được xác minh là có liên quan đến nhiều loại ung thư. Tuy nhiên, cơ chế tương tác của *GADD45B* với các protein này vẫn còn chưa được khám phá. Hiểu được cách thức mà *GADD45B* tương tác với mạng lưới các protein khác và các cơ chế phân tử tế bào liên quan đến di căn xương sẽ là điều cần thiết trong tương lai để phát triển các liệu pháp điều trị và ngăn ngừa di căn vào xương không chỉ cho bệnh nhân ung thư vú mà còn trên những bệnh nhân bị các loại ung thư khác. Và chúng tôi tin rằng những thách thức này sẽ cung cấp những con đường nghiên cứu mới lạ sẽ được khám phá trong những năm tới.

## 5. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, *GADD45B* đã được chứng minh là có mối tương quan với nguy cơ và thời gian di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú dựa vào các tập dữ liệu có độ tin cậy cao. Cụ thể, những nhóm bệnh nhân có biểu hiện gene *GADD45B* cao có nguy cơ di căn vào xương cao hơn và thời gian di căn ngắn hơn đáng kể so với những nhóm bệnh nhân có biểu hiện thấp gene này. *GADD45B* có tiềm năng là một chỉ thị sinh học độc lập trong việc hỗ trợ chẩn đoán nguy cơ di căn vào xương ở bệnh nhân ung thư vú. Điều này cũng thể hiện rằng *GADD45B* có thể trở thành một đích mới tiềm năng để phát triển các liệu pháp phòng ngừa và điều trị hiệu quả ung thư vú di căn vào xương trong thời đại y học cá nhân hóa.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ Đại học Tân Tạo trong đề tài mã số TTU.RS.21.305.006.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. - Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **71** (3) (2021) 209-249.
2. Weigelt B., Peterse J.L., Van't Veer L.J. - Breast cancer metastasis: Markers and mode, *Nature Reviews Cancer* **5** (8) (2005) 591-602.
3. Zhu W., Holmes B., Glazer R.I., Zhang L.G. - 3D printed nanocomposite matrix for the study of breast cancer bone metastasis, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* **12** (1) (2016) 69-79.
4. Kozlow W., Guise T.A. - Breast cancer metastasis to bone: Mechanisms of osteolysis and implications for therapy, *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* **10** (2) (2005) 169-180.
5. Akhtari M., Mansuri J., Newman K.A., Guise T. M., Seth P. - Biology of breast cancer bone metastasis, *Cancer Biol Ther* **7** (1) (2008) 3-9.
6. Weidle U.H., Birzele F., Kollmorgen G., Rügner R. - Molecular mechanisms of bone metastasis, *Cancer Genomics and Proteomics* **13** (1) (2016) 1-12.
7. Li B.T., Wong M.H., Pavlakis N. - Treatment and Prevention of Bone Metastases from Breast Cancer: A Comprehensive Review of Evidence for Clinical Practice, *J Clin Med* **3** (1) (2014) 1-24.
8. Michaelson M.D., Smith M.R. - Bisphosphonates for treatment and prevention of bone metastases, *J Clin Oncol* **23** (32) (2005) 8219-8224.
9. Lipton A. - Denosumab in breast cancer, *Curr Oncol Rep* **13** (1) (2011) 1-4.
10. Stopeck A.T., Lipton A., Body J.J., Steger G.G., Tonkin K., Boer R.H.D., Lichinitser M., Fujiwara Y., Yardley D.A., Viniogra A., Fan M., Jiang Q., Braun A. - Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: A randomized, double-blind study, *J Clin Oncol* **28** (35) (2010) 5132-5139.
11. Kang C., Syed Y.Y. - Atezolizumab (in Combination with Nab-Paclitaxel): A Review in Advanced Triple-Negative Breast Cancer, *Drugs* **80** (6) (2020) 601-607.
12. Clément-Demange L., Clézardin P. - Emerging therapies in bone metastasis, *Current opinion in pharmacology* **22** (2015) 79-86.

13. Erdogan B., Cicin I. - Medical treatment of breast cancer bone metastasis: From bisphosphonates to targeted drugs, *Asian Pacific J Cancer Prev* **15** (4) (2014) 1503-1510.
14. Weilbaecher K.N., Guise T.A., McCauley L.K. - Cancer to bone: A fatal attraction, *Nat Rev Canc* **11** (6) (2011) 411-425.
15. Liebermann D.A., Hoffman B. - GADD45 in stress signaling, *J Mol Signa* **3** (1) (2008) 1-8.
16. Minn A.J., Gupta G.P., Siegel P.M., Bos P.D., Shu W., Giri D.D., Viale A., Olshen A.B., Gerald W.D., Massagué J. - Genes that mediate breast cancer metastasis to lung, *Nature* **436** (7050) (2005) 518-524.
17. Rème T., Hose D., Theillet C., Klein B. - Modeling risk stratification in human cancer, *Bioinformatics* **29** (9) (2013) 1149-1157.
18. Zuberi K., Franz M., Rodriguez H., Montojo J., Lopes C.T., Bader G.D., Morris Q. - GeneMANIA prediction server 2013 update, *Nucleic Acids Research* **41** (2013) W115-W122.
19. Szklarczyk D., Gable A.L., Lyon D., Junge A., Wyder S., Huerta-Cepas J., Simonovic M., Doncheva N.T., Morris J.H., Bork P., Jensen L.D., Mering C.V. - STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets, *Nucleic Acids Research* **47** (2019) D607-D613.
20. Rosner B., Glynn R.J., Lee M.L.T. - The Wilcoxon signed rank test for paired comparisons of clustered data, *Biometrics* **62** (1) (2006) 185-192.
21. Parkes A., Clifton K., Al-Awadhi A., Oke O., Warneke C.L., Litton J.K., Hortobagyi G.N. - Characterization of bone only metastasis patients with respect to tumor subtypes, *NPJ Breast Cancer* **4** (1) (2018) 1-7.
22. Bonadonna G., Valagussa P. - Dose-Response Effect of Adjuvant Chemotherapy in Breast Cancer, *New England Journal of Medicine* **304** (1) (1981) 10-15.
23. Azim H.A., Azambuja E.D., Colozza M., Bines J., Piccart M. J. - Long-term toxic effects of adjuvant chemotherapy in breast cancer, *Ann Oncol* **22** (9) (2011) 1939-1947.
24. Ramaswamy S., Ross K.N., Lander E.S., Golub T.R. - A molecular signature of metastasis in primary solid tumors, *Nat Genet* **33** (1) (2003) 49-54.
25. Weigelt B., Glas A.M., Wessels F.L.A., Witteveen A.T., Peterse J.L., Veer L.J.V. - Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **100** (26) (2003) (15901-15905).
26. Ju S., Zhu Y., Liu L., Dai S., Li C., Chen E., He Y., Zhang X., Lu B. - Gadd45b and Gadd45g are important for anti-tumor immune responses, *Eur. J. Immunol* **39** (11) (2009) 3010-3018.
27. Vairapandi M., Azam N., Balliet A.G., Hoffman B., Liebermann D.A. - Characterization of MyD118, Gadd45, and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) interacting domains. PCNA impedes MyD118 and Gadd45-mediated negative growth control, *J Biol Chem* **275** (22) (2000) 16810-16819.
28. Sha X., Hoffman B., Liebermann D.A. - Loss of Gadd45b accelerates BCR-ABL-driven CML, *Oncotarget* **9** (70) (2018) 33360-33367.
29. Michaelis K.A., Knox A.J., Xu M., Kiseljak-Vassiliades K., Edwards M.G., Geraci M., Kleinschmidt-DeMasters B.K., Lillehei K.O., Wierman M.E. - Identification of growth arrest and DNA-damage- inducible gene  $\beta$  (GADD45 $\beta$ ) as a

- novel tumor suppressor in pituitary gonadotrope tumors, *Endocrinology* **152** (10) (2011) 3603–3613.
30. Karlsson C., Akula M.K., Staffas A., Cisowski J., Sayin V.I., Ibrahim M.X., Lindahl P., Bergo M.O. - Knockout of the RAS endoprotease RCE1 accelerates myeloid leukemia by downregulating GADD45b, *Leukemia* **35** (2) (2021) 606-609.
  31. Huang H., Wang Q., Du T., Lin C., Lai Y., Zhu D., Wu W., Ma X., Li Q. - Matrine inhibits the progression of prostate cancer by promoting expression of GADD45B, *The Prostate* **78** (5) (2018) 327-335.
  32. Wang L., Xiao X., Li D., Chi Y., Wei P., Wang Y., Ni S., Tan C., Zhou X., Du X. - Abnormal expression of GADD45B in human colorectal carcinoma, *Journal of translational medicine* **10** (1) (2012) 1-10.
  33. Zhao Z., Gao Y., Guan X., Liu Z., Jiang Z., Liu X., Lin H., Yang M., Li C., Yang R., Zou S., Wang X. - GADD45B as a prognostic and predictive biomarker in stage II colorectal cancer, *Genes* **9** (7) (2018) 361.
  34. Barros-Filho M.C., Mello J.B.H., Marchi F.A., Pinto C.A.L., da Silva I.C., Damasceno P.K.F., Soares M.B.P., Kowalski L.P., Rogatto S.R. - GADD45B Transcript Is a Prognostic Marker in Papillary Thyroid Carcinoma Patients Treated With Total Thyroidectomy and Radioiodine Therapy, *Front Endocrinol* **11** (2020) 269.
  35. Gong L., Cai L., Li G., Cai J., Yi X. - GADD45B facilitates metastasis of ovarian cancer through epithelial–mesenchymal transition, *Onco Targets Ther* **14** (2021) 255-269
  36. Verzella D., Bennett J., Fischietti M., Thotakura A. K., Recordati C., Pasqualini F., Capece D., Vecchiotti D., D’Andrea D., Francesco B.D., Maglie M.D., Begalli F., Tornatore L., Papa S., Lawrence T., Forbes S.J., Sica A., Alesse E., Zazzeroni F., Franzoso G. - GADD45 $\beta$  Loss Ablates Innate Immunosuppression in Cancer, *Cancer Res* **78** (5) (2018) 1275-1292.
  37. Lin F., Xie Y., Zhang X., Huang T., Xu H., Mei Y., Liang H., Hu H., Lin S., Luo F., Lang Y., Peng L., Qian C., Huang B. - GTSE1 is involved in breast cancer progression in p53 mutation-dependent manner, *J Exp Clin Cancer Res* **38** (1) (2019) 1-16.
  38. Lai W., Zhu W., Li X., Han Y., Wang Y., Leng Q., Li M., Wen X. - GTSE1 promotes prostate cancer cell proliferation via the SP1/FOXM1 signaling pathway, *Lab. Investig* **101** (5) (2021) 554-563.
  39. Wu X., Wang H., Lian Y., Chen L., Gu L., Wang J., Huang Y., Deng M., Gao Z., Huang Y. - GTSE1 promotes cell migration and invasion by regulating EMT in hepatocellular carcinoma and is associated with poor prognosis, *Sci Rep* **7** (1) (2017) 1-12.
  40. Guo L., Zhang S., Zhang B., Chen W., Li X., Zhang W., Zhou C., Zhang J., Ye Q. - Silencing GTSE-1 expression inhibits proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma cell, *Cell Biol Toxicol* **32** (4) (2016) 263–274.
  41. Xi Q., Huang M., Wang Y., Zhong J., Liu R., Xu J., Jiang L., Wang J., Fang Z., Yang S. - The expression of CDK1 is associated with proliferation and can be a prognostic factor in epithelial ovarian cancer, *Tumor Biol* **36** (7) (2015) 4939–4948.
  42. Yang W., Cho H., Shin H. Y., Chung J. Y., Kang E. S., Lee E. J., Kim, J. H. - Accumulation of cytoplasmic Cdk1 is associated with cancer growth and survival rate in epithelial ovarian cancer, *Oncotarget* **7** (31) (2016) 49481–49497.

43. Zou Y., Ruan S., Jin L., Chen J., Han H., Zhang Y., Jian Z., Lin Y., Shi N., Jin H. - CDK1, CCNB1, and CCNB2 are prognostic biomarkers and correlated with immune infiltration in hepatocellular carcinoma, *Med Sci Monit* **26** (2020) e925289.
44. Li R., Jiang X., Zhang Y., Wang S., Chen X., Yu X., Ma J., Huang X. - Cyclin B2 Overexpression in Human Hepatocellular Carcinoma is Associated with Poor Prognosis, *Arch Med Res* **50** (1) (2019) 10-17.
45. Ding K., Li W., Zou Z., Zou X., Wang C. - CCNB1 is a prognostic biomarker for ER+ breast cancer, *Med Hypotheses* **83** (3) (2014) 359–364.
46. Malkas L.H., Herbert B.S., Abdel-Aziz W., Dobrolecki L.E., Liu Y., Agarwal B., Hoelz D., Badve S., Schnaper L., Arnold R.J., Mechref Y., Novotny M.V., Loehrer P., Goulet R.J., Hickey R.J. - A cancer-associated PCNA expressed in breast cancer has implications as a potential biomarker, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103** (51) (2006) 19472-19477.
47. Børresen-Dale A.L. - TP53 and breast cancer, *Hum Mutat* **21** (3) (2003) 292–300.
48. Petitjean A., Achatz M.I.W., Børresen-Dale A.L., Hainaut P., Olivier M. - TP53 mutations in human cancers: Functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes, *Oncogene* **26** (15) (2007) 2157-2165.
49. Muller P.A.J., Vousden K.H. - P53 mutations in cancer, *Nat Cell Biol.* **15** (1) (2013) 2-8.
50. Han S., Wang Y., Ma J., Wang Z., Wang H.M.D., Yuan Q. - Sulforaphene inhibits esophageal cancer progression via suppressing SCD and CDH3 expression, and activating the GADD45B-MAP2K3-p38-p53 feedback loop, *Cell Death & Disease* **11** (8) (2020) 1-13.
51. Li Z., Li N., Shen L. - MAP2K6 is associated with radiation resistance and adverse prognosis for locally advanced nasopharyngeal carcinoma patients, *Cancer Manag Res* **10** (2018) 6905–6912.
52. Yang L.X., Gao Q., Shi J.Y., Wang Z.C., Zhang Y., Gao P.T., Wang X.Y., Shi Y.H., Ke A.W., Shi G.M., Cai J.B., Liu W.R., Duan M., Zhao Y.J., Ji Y., Gao D.M., Zhu K., Zhou J., Qiu S.J., Cao Y., Tang Q.Q., Fan J. - Mitogen-activated protein kinase kinase 4 deficiency in intrahepatic cholangiocarcinoma leads to invasive growth and epithelial-mesenchymal transition, *Hepatology* **62** (6) (2015) 1804–1816.

## ABSTRACT

### GADD45B EXPRESSION IS ASSOCIATED WITH RISK OF BONE METASTASIS IN BREAST CANCER PATIENTS

Thanh Dat Nguyen<sup>1</sup>, Quynh Hoa Tran<sup>2</sup>,

Dinh Truong Nguyen<sup>1</sup>, Minh Nam Nguyen<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> *School of Biotechnology, Tan Tao University*

<sup>2</sup> *Ho Chi Minh City University of Food Industry*

<sup>3</sup> *School of Medicine, Vietnam National University Ho Chi Minh City*

\*Email: nmnam@medvnu.edu.vn

Bone metastatic breast cancer is an incurable disease. Approximately 80% of patients with advanced breast cancer develop bone metastasis, and these patients' life expectancy is limited to 2-3 years following diagnosis of bone metastasis. Currently, there is no effective therapy for this condition because of lacking therapeutic targets. Therefore, identifying

biomarkers that can be used to diagnose early and prognose of bone metastatic breast cancer is necessary. In this study, we used bioinformatics tools to analyse the expression of *GADD45B* and its correlation with bone metastasis breast cancer. Our results showed that *GADD45B* expression correlates with the risk and duration of bone metastasis of breast cancer. Breast cancer patients with high expression levels of *GADD45B* had a high risk of bone metastasis and poor bone metastasis-free survival outcomes. *GADD45B* is an independent biomarker to predict bone metastasis of breast cancer. Elevated expression of *GADD45B* predicts a poor prognosis in breast cancer patients. *GADD45B* could be a potential therapeutic target for patients with bone metastatic breast cancer. Taken together, the current results show that *GADD45B* is a valuable biomarker for improving diagnostic efficiency and prognosis in the age of precision medicine.

*Keywords:* *GADD45B*, diagnosis, prognosis, breast cancer, bone metastasis, biomarker.