DOI:10.16016/j.1000-5404.202104047

低氧诱导因子-1α基因多态性与口腔鳞癌的相关性研究

李丽华[1],李思玉[1],李俊雄[1],王玉娇[1],邱 亚[2] 637000 南充,川北医学院附属医院:口腔科[1],医学研究中心[2]

[摘要] **目的** 探讨低氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)基因多态性与口腔鳞癌患者发病的相关性及临床意义。**方法** 采用病例对照研究,选择 HIF-1α rs11549467、rs1951795、rs2301113、rs966824、rs2057482 5 个位点作为 tagSNP,采用 iMLDR 多重 PCR 技术,对川北医学院附属医院 84 例口腔鳞状细胞癌患者和 137 例健康对照的外周血进行基因分型,收集纳入对象的临床资料和生活习惯资料,比较两组基因型分布、等位基因频率,Logistic 回归分析评估发病风险。**结果** 基因位点基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($P>0.05$),选择的样本具有群体代表性;多因素 Logistic 回归校正后,rs966824 与口腔鳞癌发病相关(隐性模型,$OR=10.464$,95%CI:1.117~98.058,$P=0.04$;加性模型,$OR=1.873$,95%CI:1.077~3.256,$P=0.026$);多个基因型位点共同作用下,rs1951795 可能是口腔鳞癌发病的保护因素(加性模型,$OR=0.219$,95%CI:0.057~0.841,$P=0.027$;显性模型,$OR=0.192$,95%CI:0.040~0.924,$P=0.039$);Logistic 回归分析表明年龄($P<0.05$)和饮酒($P<0.05$)是口腔鳞癌发病的危险因素。**结论** HIF-1α rs966824、rs1951795 基因多态性可能与口腔鳞状细胞癌发病有关联。

[关键词] 口腔鳞状细胞癌;低氧诱导因子-1α;基因多态性
[中图法分类号] R394.3;R730.23;R739.85 [文献标志码] A

Correlation between gene polymorphism of HIF-1α and oral squamous cell carcinoma

LI Lihua[1], LI Siyu[1], LI Junxiong[1], WANG Yujiao[1], QIU Ya[2] [1]Department of Stomatology, [2]Medical Research Center, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan Province, 637000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the correlation and clinical significance of hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α) gene polymorphism with occurrence of oral squamous cell carcinoma. **Methods** A case-control study was performed on 84 patients of oral squamous cell carcinoma and 137 healthy individuals from our hospital. Their clinical data, living habits and other information were collected. The peripheral blood samples were harvested for genotyping with 5 sites of HIF-1α (rs11549467, rs1951795, rs2301113, rs966824, and rs2057482 site) as tagSNP. iMLDR multiple PCR technology was employed for genotype distribution and allele frequency. Logistic regression analysis was adopted to assess the risk of oral squamous cell carcinoma. **Results** The frequency distribution of gene loci was consistent with Hardy-Weinberg equilibrium law ($P>0.05$), and the selected samples were representative of the population. After the multivariate logistic regression correction, rs966824 was associated with the incidence of oral squamous cell carcinoma (recessive model, $OR=10.464$, 95%CI: 1.117~98.058, $P=0.04$; additive model: $OR=1.873$, 95%CI: 1.077~3.256, $P=0.026$). Under the interaction of multiple genotypes, rs1951795 gene may be a protective factor for the incidence of the tumor (additive model: $OR=0.219$, 95%CI: 0.057~0.841, $P=0.027$; dominant model: $OR=0.192$, 95%CI: 0.040~0.924, $P=0.039$). Logistic regression analysis showed that age ($P<0.05$) and alcohol consumption ($P<0.05$) were risk factors for the disease.

[基金项目] 四川省教育厅项目(15zb0199);南充市市校科技合作战略项目(19SXHZ0078)
[通信作者] 邱 亚,E-mail:qiuya20080701@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 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/)

Conclusion Gene polymorphism of HIF-1α rs966824 and rs1951795 may be associated with the incidence of oral squamous cell carcinoma.

[**Key words**] oral squamous cell carcinoma; hypoxia-inducible factor-1α; genetic polymorphism

Supported by the Project of Sichuan Provincial Department of Education (15zb0199) and the Strategic Project of Science and Technology Cooperation of Government and Schools in Nanchong (19SXHZ0078). Corresponding author: QIU Ya, E-mail: qiuya20080701@163.com

口腔癌中90%为鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC),占所有恶性肿瘤的2%~3%。有数据统计显示2018年口腔鳞癌全球新增病例数大于30万例,在恶性肿瘤中发病率位于第19位,病死率位于第15位[1]。探寻口腔癌发病的高危因素并且加以预防是防治的有效措施。低氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)由SEMENZA等[2]发现,它是肿瘤对缺氧直接作出反应的一个关键性因子,在肿瘤生长控制方面起重要作用。近年来,国内外大量研究表明:HIF-1α基因多态性影响肿瘤发生、转移、治疗和预后,有望成为新型肿瘤标志物及治疗靶点。目前,中国台湾[3]和西班牙[4]学者的研究都发现HIF-1α基因G1790A多态性与口腔癌发生呈正相关,中国大陆尚未见同类研究,由于OSCC与种族有关[5],遗传研究需要在不同种族间进行,而台湾人口具有民族多样性,但该研究没有说明研究样本的种族特异性,所以有必要在中国大陆汉族人群中进行OSCC发病风险因素的研究。

本研究采用tag SNPs方法,探讨HIF-1α基因多态性与口腔鳞癌发病风险相关性,以期为相关的临床治疗提供基础研究依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2015年6月1日至2016年12月31日在川北医学院附属医院口腔科就诊的口腔癌患者。病例组84例,纳入标准:①经临床和病理确诊为OSCC的患者;②年龄、性别不限;③汉族人群;④签署研究同意书。对照组137例,纳入标准:①川北医学院附属医院体检中心的健康体检者;②年龄、性别与实验组相匹配;③汉族人群;④签署研究同意书。排除标准(病例组和对照组):①伴有可能的口腔癌前病变,如白斑、扁平苔藓、红斑、口腔黏膜下纤维性变;②伴有可能的其他肿瘤或肿瘤病史者。本研究经过本医院伦理委员会审批[2021ER(A)048],同时,研究对象均在知情同意的前提下完成调查。

1.2 流行病学调查

采用统一编制的调查表,设计表格,由经过统一培训的调查员进行面对面调查,获得研究对象的生活习惯资料。内容包括:①一般资料,年龄、性别、民族、文化程度、婚姻状况、身高、体质量、居住地等;②吸烟史,是否吸烟、开始吸烟年龄、吸烟类型、日均吸烟量、是否戒烟及戒烟年限等;③饮酒史,是否饮酒、饮酒年限、饮酒类型、饮酒频率、饮酒量、饮酒度数、是否戒酒及戒酒年限等;④饮茶,是否饮茶、饮茶年限、饮茶类型、饮茶量、饮茶的浓度及热度;⑤膳食习惯,饮食口味喜好、食用食物种类及频率、食物烹调方式、腌腊食品摄入量、火锅摄入量等;⑥口腔卫生,刷牙频率、目前牙齿个数、有无假牙、假牙材质、是否定期检查等;⑦既往史,是否患高血压、糖尿病、复发性口腔溃疡、口腔白斑等;⑧肿瘤家族史:家庭人员状况、一级亲属是否患癌及部位、诊断年龄等。

1.3 主要试剂和仪器

主要包括:DNA提取试剂盒、TaqDNA聚合酶引物、PCR引物、限制性内切酶、琼脂糖、DL 2000 DNA Marker(TaKaRa公司,日本),溴化乙啶(大连宝生物工程有限公司)。离心机(Eppendorf公司,德国),实时荧光定量PCR扩增仪(ABI公司,美国),紫外凝胶成像系统(Bio-Rad公司,美国),电泳仪(北京六一仪器厂)。

1.4 样本采集

在获取知情同意后,分别采集病例组和对照组对象EDTA抗凝的外周静脉血2 mL,采用Qiagen QIAamp DNA Blood Mini Kit提取血液基因组DNA,DNA浓度:50 ng/μL,$D(260)/D(280)$范围在1.7~2.0。

1.5 tagSNPs的选择

应用美国国立生物技术信息中心(NCBI)Gene和SNP数据库、国际人类基因组单体型图计划数据库(Hapmap)和haploview 4.1软件,按照以下原则筛选tag SNPs。

分析包括基因调控区在内的核苷酸序列范围内的SNPs,利用连锁不平衡法,设定SNPs较小等位基因频率(MAF)>0.05,LD测量值r^2>0.8,选取tagSNPs。

着重错义SNPs(non-synonymous SNPs),并纳入已经研究的功能SNPs,见表1。

表 1 选取的 tag SNPs

tag SNPs	基因	染色体	MAF
rs1951795	HIF-1α	chr14	0.244
rs2301113	HIF-1α	chr14	0.363
rs2057482 功能 SNP	HIF-1α	chr14	0.044
rs966824	HIF-1α	chr14	0.216
rs11549467 (G1790A)功能 SNP	HIF-1α	chr14	0.062

MAF 值来自 Hapmap 数据库

1.6 SNPs 基因型的检测

1.6.1 DNA 样本制备 采集研究对象血液样本,枸橼酸钠抗凝,使用血液基因组 DNA 提取试剂盒(TIANamp Blood,DP318-02,北京 TIANGEN)按说明操作。

1.6.2 基因型分析 使用 iMLDR 进行 SNPs 基因分型。设计合成 PCR 反应引物和连接反应探针(表 2、3),PCR 反应条件:1 μL GC-I buffer (TaKaRa 公司,日本), 3.0 mmol/L Mg^{2+}, 0.3 mmmol/L dNTP, 1 U HotStar Taq Polymerase (Qiagen 公司), 1 μL genomic DNA (5~10 ng/μL), 1 μL Multiplex-PCR primer mix. 95 ℃ 2 min,94 ℃ 20 s,65 ℃ 40 s,72 ℃ 1.5 min,11 个循环(每个循环降低 0.5 ℃),然后 94 ℃ 20 s, 59 ℃ 30 s, 72 ℃ 1.5 min,72 ℃ 2 min,4 ℃共 24 次循环。连接 PCR 反应包括 1 μL 10×ligation buffer, 0.25 μL Tag DNA ligase,0.4 μL 5'ligation primer (1 μmol/L), 0.4 μL 3'ligation primer (2 μmol/L),2 μL 纯化 PCR 产物,连接 PCR 反应条件:94 ℃ 1 min,56 ℃ 4 min,共 38 个循环。选择 20%样本测序验证。

表 2 HIF-1α 基因多态性检测的引物

引物	引物序列(5′→3′)	退火温度/℃
rs11549467F	GCTGAAGACACAGAAGCAAAGAACC	64.77
rs11549467R	GGCAGTGGTAGTGGTGGCATT	64.43
rs1951795F	CCATGTCCTTTGTGTCCAGAATCTC	65.19
rs1951795R	TGTGGCCTAAGCCATCAACGAT	65.96
rs2057482F	CTGGGGCAATCAATGGATGAAA	66.14
rs2057482R	TGAGCTGTCTGTGATCCAGCATTA	64.29
rs2301113F	TTTCTACTCCCACCCCCGACA	65.99
rs2301113R	TTGGTAATTCACATCCCACAATGG	64.78
rs966824F	TCCAAGTCTGCAGTCAGGACACC	66.12
rs966824R	CTCCTTTGCTGCCAGTGAGCTA	64.16

1.7 统计学分析

使用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用两独立样本 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,非参数检验采用 Wilcoxon-Mann-Whitney 秩和检验;采用优势比(*OR*)及其 95%可信区间(95%*CI*)表示率的相关度;$\alpha=0.05$ 为检验水准。比较组间基因型和等位基因的分布及 Hardy-Weinberg 定律检验采用拟合优度 χ^2 检验;单因素分析、多元 Logistic 回归分析用以调整各环境因素的影响;用 SHEsis 软件对基因型进行单倍体型分析。

2 结果

2.1 一般情况

口腔癌病例组共 84 例,年龄(64.74±11.35)岁;对照组共 137 例,年龄(62.39±12.16)岁。病例组与对照组年龄和性别比较差异均无统计学意义($Z=-1.883$, $P=0.06$;$\chi^2=0.206$, $P=0.650$),具有可比性。

表 3 HIF-1α 基因多态性检测的引物探针

探针	目标基因	探针序列(5′→3′)	退火温度/℃
rs11549467RG	G	GACTTGCGCTTTCAGGGCTAGC	69.47
rs11549467RA	A	GACTTGCGCTTTCAGGGCTGGT	67.06
rs11549467RP		GGAACTGCTTTCTAATGRTGACAACT	63.04
rs1951795RC	C	CTGAGTCATGGTTAAGCGTTGAAGAACTG	67.58
rs1951795RA	A	CTGAGTCATGGTTAAGCGTTGAAGAACTT	66.38
rs1951795RP		TTTTGAACCACTGAAATAAGTCAACTTAAATT	63.35
rs2057482RC	C	TAGATGTAGAAAATATAAATAGACTGCTTTAGGAAG	60.10
rs2057482RT	T	TAGATGTAGAAAATATAAATAGACTGCTTTAGGGAA	60.32
rs2057482RP		TGAGCCACCAGTGTCCAAAAA	63.86
rs2301113RC	C	CCTTTGAACTGAGAAGGCACACTCATG	69.15
rs2301113RA	A	CCTTTGAACTGAGAAGGCACACTCGTT	67.82
rs2301113RP		TGGTGACTGAGCTACCTAAAAATCTCA	63.52
rs966824RC	C	GCCTTTTTCAAGAAAATGGTGACG	68.45
rs966824RT	T	GCCTTTTTCAAGAAAATGGTGACA	67.16
rs966824RP	P	CAATAACTTCCTTAAATTCTGACTATGGTTTCC	64.87

2.2 哈温平衡检验

基因位点基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($P>0.05$),选择的样本具有群体代表性。

2.3 HIF-1α 基因多态性与口腔鳞癌发病相关性的分析

应用多元 Logistic 回归分析,校正年龄、性别、吸烟、饮酒、腌腊食品摄入、食用火锅等因素后,对各个多态性位点的显性模型、隐性模型、加性模型、等位基因模型等遗传模型进行分析,发现在隐性和相加遗传模式下,rs966824 与口腔鳞癌发病相关(隐性模型,$OR=10.464$,95%CI:1.117~98.058,$P=0.04$;加性模型,$OR=1.873$,95%CI:1.077~3.256,$P=0.026$),其余 SNP 位点与口腔鳞癌发病风险未见明显相关(表 4);rs1951795 位点(加性模型,$OR=0.219$,95%CI:0.057~0.841,$P=0.027$;显性模型,$OR=0.192$,95%CI:0.040~0.924,$P=0.039$)数据结果显示:与单个基因型位点分析结果相比较,多个基因型位点共同分析时 rs1951795 基因多态性可能是与口腔鳞癌发病的保护因素(表 5、6)。另外,Logistic 回归分析发现年龄和饮酒是口腔鳞癌发病的危险因素($P<0.05$,表 5、6)。

表 4 多因素 Logistics 回归分析 HIF-1α 基因多态性与 OSCC 的关联性

多态性位点	OR(95%CI)	P 值
rs966824		
加性'CC'对比'TT'	1.873(1.077~3.256)	0.026
显性'CC'对比'TT+CT'	1.849(0.991~3.452)	0.053
隐性'CC+CT'对比'TT'	10.464(1.117~98.058)	0.040
等位	1.476(0.907~2.403)	0.117
rs11549467		
加性'GG'对比'AA'	1.090(0.480~2.477)	0.836
显性'GG'对比'AA+AG'	1.108(0.408~3.009)	0.841
隐性'GG+AG'对比'AA'	1.165(0.101~13.433)	0.903
等位	1.051(0.445~2.485)	0.909
rs1951795		
加性'CC'对比'AA'	1.127(0.663~1.914)	0.659
显性'CC'对比'AA+CA'	1.185(0.655~2.145)	0.574
隐性'CC+CA'对比'AA'	0.824(0.134~5.075)	0.834
等位	1.029(0.647~1.638)	0.903
rs2057482		
加性'CC'对比'TT'	1.252(0.691~2.269)	0.459
显性'CC'对比'TT+CT'	1.315(0.692~2.500)	0.404
隐性'CC+CT'对比'TT'	0.840(0.066~10.626)	0.893
等位	1.071(0.627~1.831)	0.802
rs2301113		
加性'AA'对比'CC'	0.872(0.547~1.389)	0.563
显性'AA'对比'CC+CA'	0.883(0.489~1.596)	0.681
隐性'AA+CA'对比'CC'	0.735(0.254~2.130)	0.571
等位	0.818(0.543~1.233)	0.337

表 5 加性模型多因素 Logistics 回归分析

危险因素	回归系数	回归系数标准误	OR(95%CI)	P 值
性别	−0.577	0.391	0.561(0.261~1.208)	0.140
年龄	0.044	0.017	1.045(1.010~1.081)	<0.011
吸烟	0.003	0.408	1.003(0.451~2.231)	0.995
饮酒	1.773	0.423	5.891(2.571~13.497)	<0.001
腌腊制品	0.438	0.380	1.550(0.736~3.263)	0.249
火锅	0.180	0.368	1.197(0.582~2.463)	0.625
rs966824	1.899	0.648	6.676(1.874~23.788)	0.003
rs11549467	0.430	0.440	1.538(0.649~3.640)	0.328
rs1951795	−1.520	0.687	0.219(0.057~0.841)	0.027
rs2057482	0.269	0.543	1.308(0.451~3.791)	0.621
rs2301113	−0.221	0.303	0.802(0.442~1.453)	0.466

表 6 显性模型多因素 Logistics 回归分析

危险因素	回归系数	回归系数标准误	OR(95%CI)	P 值
性别	−0.567	0.387	0.567(0.266~1.211)	0.143
年龄	0.046	0.017	1.047(1.012~1.083)	0.008
吸烟	−0.061	0.408	0.940(0.423~2.093)	0.880
饮酒	1.780	0.424	5.932(2.585~13.612)	<0.001
腌腊食品	0.458	0.377	1.581(0.754~3.312)	0.225
火锅	0.192	0.368	1.211(0.589~2.491)	0.603
rs2057482	0.289	0.570	1.335(0.437~4.078)	0.612
rs2301113	−0.246	0.374	0.782(0.376~1.627)	0.510
rs11549467	0.573	0.552	1.774(0.601~5.239)	0.299
rs966824	2.029	0.772	7.603(1.673~34.541)	0.009
rs1951795	−1.649	0.801	0.192(0.040~0.924)	0.039

2.4 基因型和等位基因分布比较

HIF-1α 各个受检 SNP 位点基因型和等位基因在病例组和对照组的分布情况见表 7,各个位点基因型差异无统计学意义。

3 讨论

OSCC 90%发生于 45 岁以上,研究表明:口腔鳞癌早期时 5 年生存率约为 82%,而晚期生存率仅为 20%[6],近年来,OSCC 的发病率和病死率呈上升趋势。OSCC 的形成涉及遗传因素、环境危险因素及其交互作用,它的发生、发展是基因受诱导突变及细胞周期被干扰调控后作用于免疫系统的一个动态协同过程。缺氧是肿瘤生成和生长的重要环境调节剂,HIF-1α 是一种氧敏感转录因子,介导 200 多个靶基因的转录,这些基因在缺氧条件下协调肿瘤的增殖和进展,

表 7 两组 HIF-1α 基因型及等位基因频率分布[例(%)]

位点	组别	基因型			P 值	等位基因		P 值	P_{hwe} 值
		WW	WM	MM		W	M		
rs11549467		GG	GA	AA	0.91	G	A	0.90	
	病例组	76(90.48)	7(8.33)	1(1.19)		159(94.64)	9(5.36)		0.66
	对照组	125(91.24)	10(7.30)	2(1.46)		260(94.89)	14(5.11)		0.69
rs1951795		CC	CA	AA	0.96	C	A	0.90	
	病例组	49(58.33)	33(39.29)	2(2.38)		131(77.98)	37(22.02)		0.19
	对照组	82(59.85)	51(37.23)	4(2.92)		215(78.47)	59(21.53)		0.58
rs2057482		CC	CT	TT	0.89	C	T	0.80	
	病例组	59(70.24)	24(28.57)	1(1.19)		142(84.52)	26(15.48)		0.40
	对照组	99(72.26)	36(26.28)	2(1.46)		234(85.40)	40(14.60)		0.53
rs2301113		AA	CA	CC	0.59	A	C	0.34	
	病例组	38(45.24)	40(47.62)	6(7.14)		116(69.05)	52(30.95)		0.30
	对照组	53(38.69)	71(51.82)	13(9.49)		177(64.60)	97(35.40)		0.12
rs966824		CC	CT	TT	0.06	C	T	0.12	
	病例组	52(61.90)	27(32.14)	5(5.95)		131(77.98)	37(22.02)		0.67
	对照组	94(68.61)	42(30.66)	1(0.73)		230(83.94)	44(16.06)		0.11

WW:纯合野生型;WM:杂合型;MM:纯合突变型;W:野生型基因;M:突变型基因;P_{hwe} 值:哈温平衡检验 P 值

包括致癌、细胞增殖、DNA 突变、侵袭、转移等。HIF-1α 在癌细胞中通过肿瘤抑制因子如希佩尔林道肿瘤抑制蛋白(von-Hippel-Lindau tumor suppressor protein, pVHL)或人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)功能的丧失和癌基因功能的增加而被激活,通过上调葡萄糖转运蛋白、葡萄糖摄取和己糖激酶,促进糖酵解,从而促进有氧糖酵解,达到为癌细胞供能的目的[7]。在多种人类癌症,如结肠、乳腺、胃、胰腺、前列腺以及头颈部癌症中,均发现 HIF-1α 基因过度表达[8]。HIF-1α 的高表达可能通过影响癌胚抗原相关细胞黏附分子 1(carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1, CEACAM1)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的水平,促进肿瘤组织新血管的生成,从而推进口腔癌的发生、发展[9]。印度学者对过往研究总结得出:HIF-1α 表达增加的口腔上皮增生性病变发生恶性转化的风险更高,表明 HIF-1α 与口腔鳞癌的发生有密切相关性[10]。并且有研究表明在携带多态性杂合子的头颈鳞状细胞癌患者中,HIF-1α 表达更显著[11]。

遗传的多态性在很多癌症的研究中被认为起重要作用,HIF-1α 基因多态性在癌症作用方面尤其受到关注。国内学者评估了 2020 年 4 月之前发表的病例对照研究中 HIF-1α 所有已鉴定的 SNP(rs11549465, rs11549467 和 rs2057482)与癌症总风险之间的关联,发现 rs11549465 和 rs11549467 的变异基因型与总体癌症风险显著增加有关,而 rs2057482 的变异 T 等位基因显示总体癌症风险显著降低[12]。HIF-1α 基因的功能多态性可以通过增加基因组不稳定性,特别是在腺癌中,大大影响肺癌的发生。XU 等[13]研究总结发现 HIF-1α 基因 rs11549465 和 rs11549467 与亚洲人肺癌易感性存在一定关联。国内 WANG 等[14]通过病例对照研究证明 HIF-1α SNP rs2057482 是胰腺癌的发病风险和不良预后的重要遗传变异,这为口腔癌的遗传研究提供了思路。HIF-1α 基因多态性可能是 OSCC 的易感因素。已有研究证明:在口腔鳞癌发生、发展过程中,IL-8(rs4073)、MMP-1(rs2071230、rs470558)和 MMP-13(rs2252070)与环境因素的联合作用是一种危险因素[15]。临床有研究表明:HIF-1α 在正常口腔黏膜中几乎不表达,在口腔鳞状细胞癌中表达明显增强,口腔鳞癌中 HIF-1α 表达与年龄和性别及肿瘤的大小无相关关系,但与肿瘤的病理分级、临床分期及淋巴结的转移呈显著正相关关系[16],提示 HIF-1α 的过度表达在口腔鳞癌的发生、发展及预后过程中发挥了重要作用。

本研究结果表明:HIF-1α 中 rs966824 基因型与口腔鳞癌的发生有一定的相关性,说明 rs966824 基因多态性在口腔鳞癌的进展中是危险因素。在国内已发表的文献中,有研究 RBTF 报告 rs966824 与急性高原病[17]及慢性阻塞性肺疾病[18]遗传易感性之间的关系,结果显示都无明显的关联性,目前 HIF-1α rs966824 基因多态性与口腔癌之间关系尚不清楚。本

研究虽然样本量有限,然而根据统计学校正结果,我们有理由相信 rs966824 基因多态性与口腔鳞癌的发展有着密切联系。

本研究结果显示:单个位点条件下分析 rs1951795 基因多态性与口腔癌的发生在统计学上无明显相关性,然而在年龄、饮酒等生活因素及其他基因位点的多因素共同作用下,rs1951795 基因多态性与口腔鳞癌的发生产生了相关性,其可能是与口腔鳞癌发病相关的保护因素。由于口腔癌的发生、发展并不是由单个危险因素引起的,CHEN 等[19]认为基因与基因间和基因与环境间的交互作用会促进口腔癌的发生、发展,所以该结果可能是遗传因素等交互作用导致的变化。波兰学者发现 HIF-1α 中 rs1951795 对类风湿因子及红细胞沉降率有一定的影响,认为 rs1951795 基因多态性与类风湿关节炎的进展有一定的关联性[20]。后续可以进一步探究 rs1951795 多态性在交互作用下成为保护因素的条件。

rs966824、rs1951795 位点与 HIF-1α 高表达其间关系及常氧条件下 SNP 位点促进 HIF-1α 激活的具体机制尚未探明,但 FU 等[21]的研究结果证实:C1772T 和 G1790A 两位点的突变基因型与野生型比较,常氧和低氧条件下突变基因型均能显著提高 HIF-1α 对下游基因的转录激活能力,HIF-1α 蛋白的表达量亦增多。西班牙学者 MUÑOZ-GUERRA 等[4]进一步研究发现 HIF-1α C1773T、G1790A 位点多态性导致 P582S 和 A588T 氨基酸发生变化,这些受影响的氨基酸位于氧依赖降解域内,非常接近脯氨酸 564(P564)和脯氨酸 402(P402),从而增加 HIF-1α 蛋白的稳定性,并影响 HIF-1α 基因的表达,而增强 HIF-1α 基因的转录活性,推断 rs966824、rs1951795 多态性与 HIF-1α 高表达可能关联,未来或许可以进一步探究两个位点致氨基酸的改变与 HIF-1α 表达的关系。

另外,本研究还发现川东北地区人群口腔鳞癌易感性与该地区较特色的生活习惯,包括经常食用腌腊食品和火锅等并无明显的统计学相关性,说明腌腊食品和火锅可能对口腔鳞癌的易感无明显影响;年龄和饮酒两个因素与口腔鳞癌发生有明显联系,均是口腔鳞癌发生的高危因素,这符合大多数现有研究的结论,有助于指导临床上口腔癌的早期预防。

本研究虽然主要分析了 HIF-1α 多个基因型、等位基因与口腔鳞癌发生、发展的关系,明确了口腔鳞癌与 HIF-1α 基因位点多态性的关联性,然而本研究结果并未发现 G1790A SNP 与口腔癌易感有明显的相关性,这与中国台湾[3]和西班牙[4]的研究结果不同,可能是由于实验样本量选择相对较少,使用探索性方法进行检验,未来需要开展更多病例对照研究来得出更真实可靠的结论。对于以后的相关研究,基因和基因以及基因和环境的相互作用也应成为重点研究方向,需要针对 HIF-1α rs966824 及 rs1951795 基因位点进一步扩大样本才能验证它们在口腔鳞癌中的作用,探究 rs966824 是否能够作为早期预防口腔鳞癌发生的标志物,完善对 HIF-1α 基因多态性在口腔鳞癌易感性方面的认识,为口腔癌症领域的精准医疗和个性化预防提供一定的理论和临床依据。

综上所述,口腔鳞状细胞癌中 HIF-1α 基因多态性与口腔癌的发生可能有相关性,检测其多态性对癌症的早期发现和预防有一定意义。

参考文献:

[1] 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. DOI:10.3322/caac.21492.

[2] SEMENZA G. Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1[J]. Biochem Pharmacol, 2002, 64(5/6): 993-998. DOI:10.1016/s0006-2952(02)01168-1.

[3] SHIEH T M, CHANG K W, TU H F, *et al*. Association between the polymorphisms in exon 12 of hypoxia-inducible factor-1alpha and the clinicopathological features of oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2010, 46(9): e47-e53. DOI:10.1016/j.oraloncology.2010.04.009.

[4] MUÑOZ-GUERRA M F, FERNÁNDEZ-CONTRERAS M E, MORENO A L, *et al*. Polymorphisms in the hypoxia inducible factor 1-alpha and the impact on the prognosis of early stages of oral cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(8): 2351-2358. DOI:10.1245/s10434-009-0503-8.

[5] 王东苗, 吴煜农. 谷胱甘肽 S 转移酶 T1 基因多态性与口腔癌易感性的 meta 分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2010, 30(10): 1413-1416, 1429.
WANG D M, WU Y N. Association between GSTT1 gene polymorphisms and risk of oral cancer: a meta analysis[J]. Acta Univ Med Nanjing, 2010, 30(10): 1413-1416, 1429.

[6] ARORA R, BHARTI V, GAUR P, *et al*. Operculina turpethum extract inhibits growth and proliferation by inhibiting NF-κB, COX-2 and cyclin D1 and induces apoptosis by up regulating P53 in oral cancer cells[J]. Arch Oral Biol, 2017, 80: 1-9. DOI:10.1016/j.archoralbio.2017.03.015.

[7] GHONEUM A, ABDULFATTAH A Y, WARREN B O, *et al*. Redox homeostasis and metabolism in cancer: a complex

mechanism and potential targeted therapeutics[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9): E3100. DOI:10.3390/ijms21093100.

[8] PENG X F, GAO H, XU R, *et al*. The interplay between HIF-1α and noncoding RNAs in cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 27. DOI:10.1186/s13046-020-1535-y.

[9] 雷雨广, 张伟丽, 陈超, 等. siRNA 敲减缺氧诱导因子 1α 表达对口腔鳞癌细胞活力及癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(10): 1736-1741.
LEI Y G, ZHANG W L, CHEN C, *et al*. Effect of hypoxia-inducible factor-1α knockdown by siRNA on viability and CEACAM1 expression in oral squamous cell carcinoma[J]. Chin J Pathophysiol, 2018, 34(10): 1736-1741.

[10] PATEL N R, JAIN L, MAHAJAN A M, *et al*. An immunohistochemical study of HIF-1 alpha in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma[J]. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg, 2019,71(4):435-441. DOI:10.1007/s12070-019-01597-y.

[11] 吴婷, 张忠提. 缺氧诱导因子-1α 多态性与头颈癌风险关系的 meta 分析[C]//2020 年中华口腔医学会老年口腔医学专业委员会第十五次全国老年口腔医学学术年会论文集, 2020: 57-58.
WU T, ZHANG Z T. Relationship of hypoxia-inducible factor-1α polymorphism with head and neck cancer risk: a meta-analysis [C]//Proceedings of the 15th National Annual Conference of Geriatric Stomatology (2020) of Geriatric Stomatology Professional Committee of Chinese Stomatology Association. 2020:57-58.

[12] LIU Y C, ZHU X Q, ZHOU X Y, *et al*. Different polymorphisms in HIF-1α may exhibit different effects on cancer risk in Asians: evidence from nearly forty thousand participants[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(21): 21329-21343. DOI:10.18632/aging.103871.

[13] XU S G, YING K J. Association between HIF-1α gene polymorphisms and lung cancer: A meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(24): e20610. DOI:10.1097/md.0000000000020610.

[14] WANG X C, REN H, ZHAO T S, *et al*. Single nucleotide polymorphism in the microRNA-199a binding site of HIF1α gene is associated with pancreatic ductal adenocarcinoma risk and worse clinical outcomes[J]. Oncotarget, 2016, 7(12): 13717-13729. DOI:10.18632/oncotarget.7263.

[15] DE MATOS F R, SANTOS E M, SANTOS H B P, *et al*. Association of polymorphisms in IL-8, MMP-1 and MMP-13 with the risk and prognosis of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. Arch Oral Biol, 2019, 108: 104547. DOI:10.1016/j.archoralbio.2019.104547.

[16] 陈凤强, 刘正武, 于大海, 等. 缺氧诱导因子-1α 在人与小鼠口腔癌形成过程中的表达分析[J]. 微创医学, 2020,15(3):283-287. DOI:10.11864/j.issn.1673.2020.03.03.
CHEN F Q, LIU Z W, YU D H, *et al*. Expression analysis of hypoxia inducible factor-1α in the formation of oral cancer in humans and mice[J]. J Minim Invasive Med, 2020, 15(3):283-287. DOI:10.11864/j.issn.1673.2020.03.03.

[17] 申阳. 急进高原人群急性高原病与高原头痛的个体易感性研究[D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学, 2020.
SHEN Y. The study of individual susceptibility to acute mountain sickness and high altitude headache in subjects rapidly entering high altitude [D]. Chongqing: Army Medical University, 2020.

[18] 杨花. 海南汉族、黎族人群基因多态性与慢性阻塞性肺疾病遗传易感性的关联研究[D]. 西安: 西北大学, 2015.
YANG H. Relationship between gene polymorphism and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Hainan Han and Li populations[D]. Xi'an: Northwest University, 2015.

[19] CHEN M K, CHIOU H L, SU S C, *et al*. The association between hypoxia inducible factor-1alpha gene polymorphisms and increased susceptibility to oral cancer[J]. Oral Oncol, 2009, 45(12): e222-e226. DOI:10.1016/j.oraloncology.2009.07.015.

[20] PARADOWSKA-GORYCKA A, STYPINSKA B, PAWLIK A, *et al*. HIF-1A gene polymorphisms and its protein level in patients with rheumatoid arthritis: a case-control study[J]. Inflamm Res, 2018, 67(5): 423-433. DOI:10.1007/s00011-018-1134-y.

[21] FU X S, CHOI E, BUBLEY G J, *et al*. Identification of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) polymorphism as a mutation in prostate cancer that prevents normoxia-induced degradation[J]. Prostate, 2005,63(3):215-221. DOI:10.1002/pros.20190.

(**收稿**:2021-04-08;**修回**:2021-05-21)

(编辑 张 维)