

缺氧诱导因子 2 α 基因多态性与乳腺癌相关性

马建萍, 宋连川, 种生珍, 李 华, 谭丽萍

(青海省第五人民医院, 青海省肿瘤医院, 青海 西宁 810007)

摘要: [目的] 探讨缺氧诱导因子 2 α (HIF-2 α) 基因多态性与乳腺癌的关系。[方法] 研究入组 2019 年 1 月至 2022 年 1 月间在青海省肿瘤医院乳腺科就诊的 258 例乳腺癌患者和 270 名健康女性(对照组), 研究对象检测 4 个 HIF-2 α 单核苷酸多态性(rs12619696, rs13419896, rs2881504 和 rs4953354), 分析 HIF-2 α 多态性与乳腺癌易感性之间的关联。使用 Kaplan-Meier 分析分析来自癌症基因组图谱(TCGA)数据库的 1 376 个乳腺癌样本的总体生存率。[结果] 免疫组织化学染色显示, 乳腺肿瘤组织标本中的 HIF-2 α 表达高于癌旁组织标本($P < 0.05$)。TCGA 数据集分析显示, HIF-2 α 高表达乳腺癌患者的总体生存率较低表达显著性降低($P < 0.05$)。具有 CT 基因型的 HIF-2 α rs13419896 者患乳腺癌可能性是 TT 纯合子的 2.20 倍(AOR=2.20, 95%CI: 1.70~2.85, $P < 0.05$)。具有 HIF-2 α rs4953354 多态性的 C 等位基因的女性比具有 T 等位基因的女性更容易患乳腺癌(AOR=1.29, 95%CI: 1.06~1.57, $P < 0.05$)。在 rs13419896 HIF-2 α 基因型中, 具有 CT 基因型的患者较具有 TT 基因型者增加患 III~IV 期疾病(OR=1.72, 95%CI: 1.11~2.67)。[结论] HIF-2 α 基因变异与乳腺癌易感性及其在携带 HIF-2 α rs13419896 多态性女性的乳腺癌进展之间存在关联性。

关键词: 缺氧诱导因子 2 α ; 乳腺癌; 基因多态性

中图分类号: R730.261 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)12-1014-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.12.B007

Association of Hypoxia-inducible Factor 2 α Gene Polymorphisms with Breast Cancer

MA Jian-ping, SONG Lian-chuan, ZHONG Sheng-zhen, LI Hua, TAN Li-ping

(The Fifth People's Hospital of Qinghai Province, Qinghai Province Cancer Hospital, Xining 810007, China)

Abstract: [Objective] To investigate the relationship between the polymorphism of hypoxia-inducible factor 2 α (HIF-2 α) gene and breast cancer. [Methods] A total of 258 breast cancer patients and 270 healthy women (controls) were recruited from Qinghai Cancer Hospital between January 2019 and January 2022. The HIF-2 α SNPs (rs12619696, rs13419896, rs2881504 and rs4953354) were detected with qPCR method. The association between polymorphism of HIF-2 α SNPs (rs12619696, rs13419896, rs2881504 and rs4953354) and susceptibility of breast cancer was analyzed. The overall survival of 1 376 patients with breast cancer from the Cancer Genome Atlas (TCGA) database³⁰ was analyzed using Kaplan-Meier analysis. [Results] Immunohistochemical staining showed that the expression of HIF-2 α in breast cancer tumor tissue samples was higher than that in adjacent tissue samples ($P < 0.05$). TCGA dataset analysis showed that the overall survival rate of breast cancer patients with high HIF-2 α expression was significantly lower than that with low HIF-2 α expression ($P < 0.05$). Compared to TT homozygote of HIF-2 α rs13419896, the risk of developing breast cancer in subjects with CT genotype was significantly higher (AOR=2.20, 95%CI: 1.70~2.85, $P < 0.05$). Compared with T allele, the risk of breast cancer in subjects with the C allele of the HIF-2 α rs4953354 polymorphism was higher (AOR=1.29, 95%CI: 1.06~1.57, $P < 0.05$). Compare with the TT genotype of HIF-2 α rs13419896, patients with CT genotype were more likely to develop stage III~IV cancer (OR=1.72, 95%CI: 1.11~2.67). [Conclusion] There is an association between HIF-2 α gene variants and breast cancer susceptibility and HIF-2 α rs13419896 polymorphism is associated with breast cancer progression.

Subject words: hypoxia-inducible factor 2 α ; breast cancer; gene polymorphism

青海地区为我国高海拔地区, 乳腺癌在女性癌症死亡原因中排名第 6 位, 其发病率持续上升^[1]。据文献报道, 缺氧是影响肿瘤发展的关键因素之一^[2]。肿瘤局部氧缺乏与其侵袭性、转移发展速度和对治疗的抵抗相关^[3]。越来越多的证据表明, 缺氧诱导因

子(hypoxia-inducible factor, HIF)氧信号通路在高海拔人群中起着重要作用^[4]。HIF 是一种异二聚体, 由氧调节的 α 亚基同种型(HIF-1 α 、HIF-2 α 或 HIF-3 α) 组成, 其中 HIF-1 α 是公认的缺氧最关键的生物标志物。最近研究发现 HIF-2 α 通过在缺氧条件下激活多个转录程序在调节癌细胞干性中发挥重要作用^[3]。人类 EPAS1 基因位于染色体 2p21-p16 上并编码 HIF-2 的氧敏感 α 亚基, 它是慢性缺氧的关键调节剂, 调

基金项目: 青海省卫健委医药卫生科技项目指导性计划课题(2021-WJZDX-80)

通信作者: 马建萍, E-mail: mjping9865@163.com

收稿日期: 2022-08-04; **修回日期:** 2022-09-06

节参与细胞和全身对缺氧反应的大量基因,这些反应包括红细胞生成、铁稳态、肺动脉高压和重塑、血管通透性以及肺和胎盘发育^[5]。此外,HIF-2 α 局限于特定细胞类型,例如肾脏、肺、乳腺和心脏^[6]。研究表明,单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可能更好地预测个体患乳腺癌的风险并指导疾病管理^[7]。本文病例对照研究分析4个HIF-2 α SNP(rs12619696、rs13419896、rs2881504和rs4953354)和临床病理学特征在青海地区女性乳腺癌易感性中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究招募了2019年1月至2022年1月在青海省肿瘤医院乳腺科就诊的258例女性乳腺癌(病例组)和270名健康女性(对照组);所有参与者都提供一份3~5 mL血样。使用Scarff-Bloom-Richardson系统分配肿瘤等级,并使用世界卫生组织乳腺肿瘤分类标准进行病理组织学诊断,根据雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)和Ki-67状态,亚型为Luminal A(ER+和/或PR+、HER2-、Ki-67<14%),Luminal B(ER+和/或PR+、HER2+、Ki-67 $\geq$ 14%),HER2阴性(ER-、PR-、HER2+)或三阴性乳腺癌(ER-、PR-、HER2-)。从电子病历中收集临床病理学信息。在研究开始时,每位研究参与者完成一份社会人口学数据的标准化问卷。在258例乳腺癌中,获得154个乳腺癌组织标本和对应的无癌组织标本,用于免疫组织化学分析HIF-2 α 表达情况。研究参与者在进入研究时均签署知情同意书。

1.2 HIF-2 α 基因型测定

使用QIAamp DNA血液试剂盒(美国Qiagen公司)从全血样本中分离总基因组DNA。TE缓冲液(1 mM EDTA和10 mM Tris pH 7.8)用于溶解DNA,将其储存在-20℃直至定量聚合酶链式反应(qPCR)分析。选择了4个HIF-2 α SNP进行分析(rs12619696、rs13419896、rs2881504和rs4953354)。根据TaqMan SNP基因分型测定法(美国Applied Biosystems公司)

进行基因分型^[8]。在20 μ L总体积中进行qPCR,其中包含特定的Master Mix(10 μ L)、探针(0.5 μ L)和10 ng单个基因组DNA。实时PCR的反应条件为初始在95℃变性10 min,然后在95℃ 15 s和60℃ 1 min,进行40个扩增循环。

1.3 免疫组织化学检测 HIF-2 α 表达

将乳腺癌组织再水化并与3%过氧化氢一起孵育以淬灭内源性过氧化物酶活性,然后在磷酸盐缓冲液(PBS)中通过3% BSA孵育来阻断。在4℃小鼠抗人HIF-2 α 一抗(1:200稀释)孵育过夜后,组织切片经过3次PBS洗涤,然后用生物素标记的二抗染色并用ABC试剂盒(美国Vector Laboratories公司)。载玻片用色原二氨基联苯胺染色、洗涤,用Delafield苏木精复染、脱水用二甲苯处理,然后封片。两位病理学家独立对每张载玻片的染色进行评分。HIF-2 α 表达和染色强度以低表达(0、1+)和高表达(2+、3+)表示。

1.4 生物信息学分析

使用Kaplan-Meier分析和使用Bioconductor EdgeR软件包(版本3.5.1)分析来自癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库的1376例乳腺癌样本的独立队列数据的总体生存率(<https://www.r-project.org/>)。分析之前排除缺乏相关信息的患者资料,最终包括正常样本291个和肿瘤样本1085个。

1.5 统计学处理

数据均采用SPSS19.0进行分析。计量资料表示为平均值 $\pm$ 标准差,计数资料以例数表示。对SNP基因型分布进行卡方检验用于检验Hardy-Weinberg平衡;使用Mann-Whitney U检验分析不同组织中HIF-2 α 表达水平差异。由于数据是独立且正态分布的,比较健康对照和乳腺癌患者之间人口统计学特征的差异以及Bonferroni对多重比较的校正。考虑混杂变量的多元回归模型计算调整年龄后的基因型频率与乳腺癌临床病理学特征之间关联的调整优势比(adjusted odds ratio, AOR)和95%置信区间(CI)。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌患者的 HIF-2 α 表达水平

免疫组织化学染色显示,乳腺癌肿瘤组织中的

HIF-2 α 表达高于癌旁组织 ($P<0.05$) (Figure 1A~1C), 并且在 HER2+ 和三阴性乳腺癌中 HIF-2 α 染色比在 Luminal A 和 Luminal B 型标本中增强 (Figure 1D)。TCGA 数据集分析显示, 乳腺癌肿瘤组织中的 HIF-2 α 表达高于正常组织 ($P<0.05$), 并且 HIF-2 α 高表达乳腺癌患者的总体生存率较 HIF-2 α 低表达者显著性降低 ($P<0.05$) (Figure 1E~1F)。

2.2 乳腺癌患者中 HIF-2 α 基因型的分布频率

HIF-2 α 基因多态性均处于 Hardy-Weinberg 平衡 ($P>0.05$)。在乳腺癌和健康对照中, 大多数 rs12619696 SNP 为 GG 纯合子, rs13419896 SNP 为 TT 纯合子, rs2881504 SNP 为 CC 纯合子, rs4953354 SNP 为 GG 纯合子。在调整混杂因素的分析中, 具有 CT 基因型的 HIF-2 α rs13419896 患乳腺癌的可能性大约是 TT 纯合子的 2.20 倍 (AOR=2.20, 95%CI: 1.70~2.85, $P<0.05$)。此外, 具有 HIF-2 α rs4953354 多

态性的 C 等位基因的女性比 T 等位基因的女性更容易患乳腺癌 (AOR=1.29, 95%CI: 1.06~1.57, $P<0.05$) (Table 1)。与对照组相比, 具有 rs12619696、rs4953354 和 rs2881504 多态性的乳腺癌患者比例的组间差异无统计学意义。

2.3 乳腺癌患者临床病理因素与 HIF-2 α rs13419896 基因型相关性

在 rs13419896 HIF-2 α 基因型的比较中, 具有 CT 基因型的患者发生 III~IV 期疾病的可能性是具有 TT 基因型的患者的 1.72 倍 (OR=1.72, 95%CI: 1.11~2.67), 而那些具有至少一个 C 等位基因的患者更有可能发展为病理 III 级疾病 (Table 2)。

2.4 乳腺癌亚型和 HIF-2 α rs13419896 基因型相关性

在乳腺癌亚型和 rs13419896 HIF-2 α 基因型中, Luminal A 亚型患者携带 SNP rs13419896 CT 基因型的患者比 TT 基因型携带者更可能发展为 III~IV

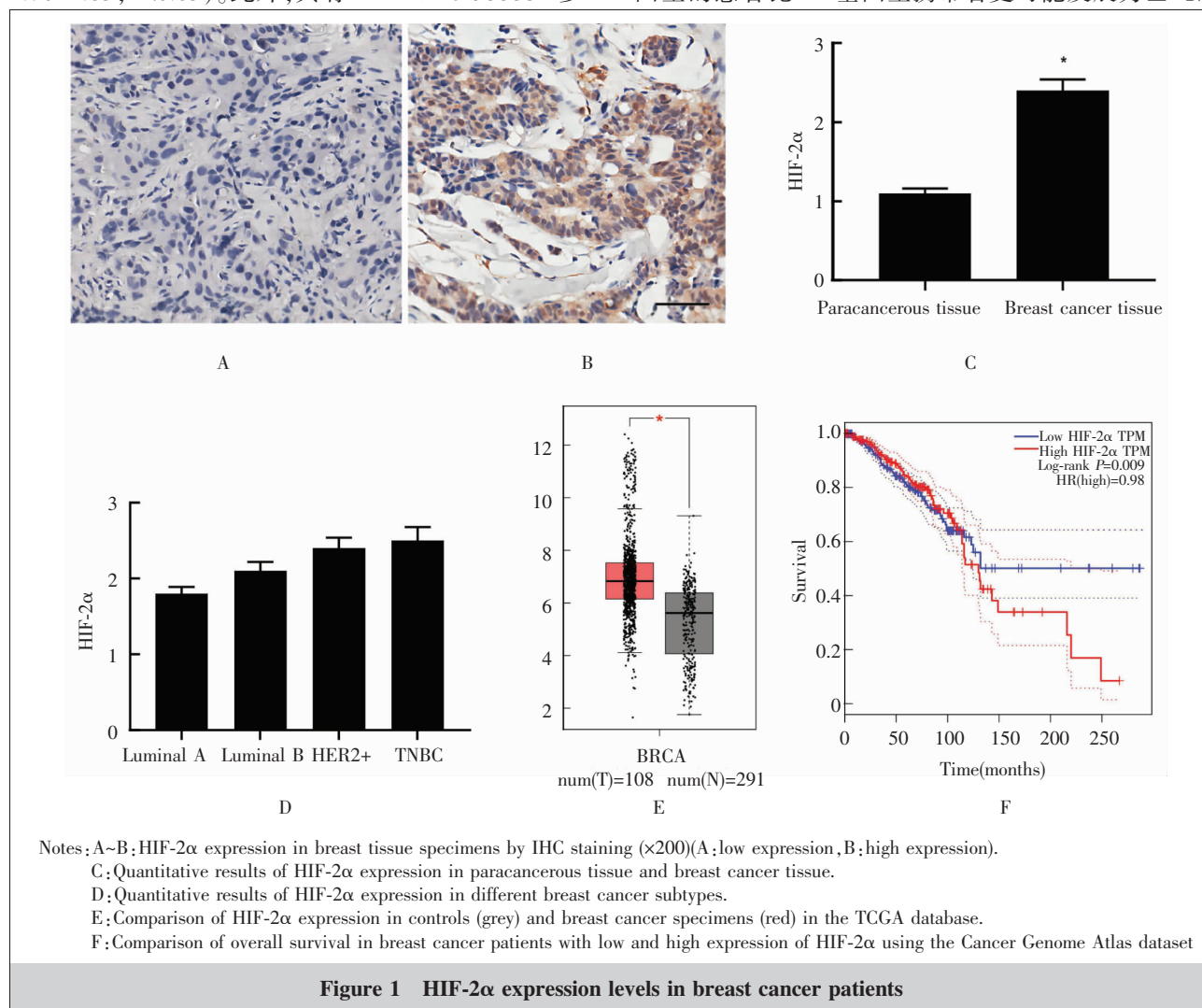


Figure 1 HIF-2 α expression levels in breast cancer patients

Table 1 Distribution of *HIF-2α* genotype in controls and breast cancer

Variable	Control group (n=270)	Breast cancer group (n=258)	OR (95%CI)	AOR (95%CI)
<i>rs12619696</i>				
GG	106	92	1.00	1.00
AG	126	130	1.18(0.91~1.54)	1.18(0.90~1.54)
AA	38	36	1.07(0.73~1.57)	1.10(0.75~1.60)
G	338	314	1.00	1.00
A	202	202	1.07(0.89~1.27)	1.08(0.90~1.29)
<i>rs13419896</i>				
TT	195	148	1.00	1.00
CT	58	93	2.11(1.64~2.72)	2.20(1.70~2.85)
CC	17	17	0.40(0.21~0.77)	0.42(0.21~0.81)
T	448	389	1.00	1.00
C	92	127	1.26(1.03~1.52)	1.29(1.06~1.57)
<i>rs2881504</i>				
CC	112	108	1.00	1.00
CG	120	102	0.89(0.68~1.16)	0.89(0.67~1.16)
GG	38	48	1.32(0.92~1.88)	1.36(0.95~1.95)
C	344	318	1.00	1.00
G	196	198	1.11(0.92~1.32)	1.18(0.93~1.33)
<i>rs4953354</i>				
GG	158	113	1.00	1.00
AG	92	138	1.00(0.77~1.29)	1.01(0.75~1.33)
AA	20	7	1.05(0.63~1.74)	1.04(0.62~1.72)
G	408	364	1.00	1.00
A	132	152	1.01(0.83~1.23)	1.01(0.82~1.23)

Note: AOR; adjusted odds ratio

Table 2 Correlation between breast cancer clinical status and *HIF-2α* *rs13419896* genotype

Feature	TT	CT	CC	CT+CC
Clinical stage				
I ~ II (n=201)	121	67	13	80
III ~ IV (n=57)	27	26	4	30
OR(95%CI)	1.00	1.72(1.11~2.67)	1.40(0.60~3.27)	1.67(1.09~2.54)
AOR(95%CI)	1.00	1.71(1.10~2.65)	1.41(0.60~3.30)	1.66(1.09~2.53)
Lymph node metastasis				
N ₀ (n=138)	82	45	11	56
N ₁ ~N ₃ (n=120)	66	48	6	54
OR(95%CI)	1.00	1.31(0.91~1.90)	0.67(0.32~1.41)	1.19(0.83~1.69)
AOR(95%CI)	1.00	1.31(0.90~1.90)	0.67(0.32~1.41)	1.18(0.83~1.68)
Distant metastasis				
M ₀ (n=250)	143	90	17	107
M ₁ (n=8)	5	3	0	3
OR(95%CI)	1.00	0.99(0.31~3.07)	3.47(0.87~13.76)	1.35(0.50~3.66)
AOR(95%CI)	1.00	0.98(0.31~3.08)	3.24(0.80~13.02)	1.33(0.48~3.63)
Pathological grade				
I ~ II (n=178)	108	62	8	70
III (n=80)	40	31	9	40
OR(95%CI)	1.00	1.31(0.88~1.95)	2.68(1.30~5.51)	1.47(1.01~2.15)
AOR(95%CI)	1.00	1.32(0.88~1.97)	2.75(1.33~5.68)	1.48(1.01~2.16)

Note: AOR; adjusted odds ratio

期疾病(OR=3.08,95%CI:1.14~8.29)和病理Ⅱ~Ⅲ级疾病(OR=3.98,95%CI:1.53~10.36)(Table 3~4)。

3 讨论

缺氧是决定许多疾病发展和严重程度的关键致病因素之一,包括炎症、传染病和癌症。研究发现,高血清 *HIF-2α* 表达水平与肺癌恶病质的发病机制有关,并且 *HIF-2α* 过度表达或上调是一些人类癌症的特征,包括口腔癌、肾细胞癌、软骨肉瘤和结肠癌^[9]。值得注意的是,*HIF-2α* 有助于促进乳腺癌的肿瘤生长、耐药性和转移^[3]。最近一项研究证明了 *HIF-2α* 对乳腺癌细胞上皮间质转化和干性的影响,这可能受环化酶相关蛋白 1 的调节有关^[10]。本研究免疫组化结果证实了乳腺癌标本中 *HIF-2α* 表达水平高于癌旁组织样本,并且 HER2+和三阴性乳腺癌疾病的组织样本中的 *HIF-2α* 表达比来自 Luminal A 和 Luminal B 型的样本更强,结合 TCGA 数据的分析显示,*HIF-2α* 高表达患者的总生存率明显较 *HIF-2α* 低表达患者差。

HIF-2α 多态性已在各种癌症中发现,包括结肠癌和肺癌^[6,11],但关于 *HIF-2α* 多态性与乳腺癌关系的数据较少。本研究调查了 *rs12619696*、*rs13419896*、*rs2881504* 和 *rs4953354* SNP 分布及其与女性乳腺癌发展的关系,结果显示,携带 CT 基因型的 *HIF-2α* *rs13419896* 多态性的女性比具有 TT 纯合子的女性更容易患乳腺癌,并且在 *rs13419896* 中携带至少一个 C 等位基因的女性与野生型 TT 纯合

Table 3 Correlation of *HIF-2α* genotype and clinical feature in breast cancer patient with Luminal A and Luminal B

Feature	Luminal A				Luminal B			
	TT	CT	CC	CT+CC	TT	CT	CC	CT+CC
Clinical stage								
I ~ II	42	19	2	21	51	29	5	67(39.6)
III ~ IV	4	6	0	6	14	11	2	16(49.1)
OR(95%CI)	1.00	3.08(1.14~8.29)	3.45(0.32~37.24)	3.11(1.17~8.21)	1.00	1.47(0.77~2.78)	1.45(0.42~4.99)	1.46(0.79~2.70)
Lymph node metastasis								
N ₀	30	14	1	15	33	17	5	22
N ₁ ~N ₃	15	11	0	11	32	22	3	25
OR(95%CI)	1.00	1.58(0.77~3.24)	0.67(0.06~6.79)	1.49(0.73~3.01)	1.00	1.36(0.78~2.39)	0.59(0.18~1.85)	1.20(0.71~2.05)
Distant metastasis								
M ₀	45	23	2	25	64	40	6	46
M ₁	0	1	0	1	0	1	1	1
OR(95%CI)	1.00	1.92(0.12~31.31)	—	1.76(0.10~28.81)	1.00	0.53(0.05~5.24)	3.256(0.31~33.60)	0.92(0.15~5.60)
Pathological grade								
I	16	3	1	4	2	11	0	11
II ~ III	29	21	1	22	53	39	7	46
OR(95%CI)	1.00	3.98(1.53~10.36)	0.56(0.07~4.22)	3.12(1.31~7.44)	1.00	1.56(0.29~8.23)	—	1.84(0.34~9.69)

Table 4 Correlation of *HIF-2α* genotype and clinical feature in breast cancer patient with HER2+ and TNBC

Feature	HER2+				TNBC			
	TT	CT	CC	CT+CC	TT	CT	CC	CT+CC
Clinical stage								
I ~ II	15	9	3	12	12	12	3	15
III ~ IV	6	5	2	7	3	4	0	4
OR(95%CI)	1.00	1.52(0.54~4.23)	1.10(0.25~5.00)	1.39(0.54~3.61)	1.00	1.57(0.42~5.42)	—	1.21(0.34~4.28)
Lymph node metastasis								
N ₀	10	6	2	8	7	9	3	12
N ₁ ~N ₃	11	8	3	11	8	7	0	7
OR(95%CI)	1.00	1.26(0.47~3.34)	1.30(0.32~5.28)	1.27(0.52~3.10)	1.00	0.77(0.28~2.09)	—	0.57(0.21~1.50)
Distant metastasis								
M ₀	21	13	4	17	14	15	2	17
M ₁	0	1	1	2	2	1	0	1
OR(95%CI)	1.00	3.36(0.29~38.97)	10.50(0.84~130.02)	5.09(0.53~47.73)	1.00	0.31(0.03~3.16)	—	0.25(0.02~2.62)
Pathological grade								
I	0	1	0	1	0	1	0	1
II ~ III	21	13	5	18	13	15	3	18
OR(95%CI)	1.00	0.62(0.03~10.33)	—	0.85(0.05~14.19)	1.00	—	—	—

子的携带者相比增加了患乳腺癌的风险。之前研究报道 SNP *rs4953354* 和 *rs13419896* 患乳腺癌疾病的风险更大^[12]。研究证据表明 *HIF-2α* 和 *HIF-2α* 多态性在乳腺癌中起关键作用, 需要在未来通过体外分子生物学研究进一步验证。

由于乳腺癌患者的预后取决于诊断时的临床病理特征, 因此随着筛查策略的改进和表观遗传策略的应用, 乳腺癌的早期诊断变得越来越可能^[13]。本研究调查了 *HIF-2α* 多态性、临床和病理标志物以及

对乳腺癌的易感性之间的可能关联, 发现携带 *rs13419896* 多态性 CT 基因型的个体更有可能发展为晚期疾病。在 *rs13419896* 处至少有一个 C 等位基因的携带者发生 III ~ IV 期疾病风险更高。同样, 在 Luminal A 型乳腺癌患者中, 具有 SNP *rs13419896* 的 CT 基因型与 III ~ IV 期疾病和病理 III 级的风险增加相关。我们的研究结果有助于提供有关 *HIF-2α* 与乳腺癌发展之间相关性的数据。

总之, 研究表明 *HIF-2α* 基因变异与乳腺癌易感

性及其在携带 *HIF-2 α* rs13419896 多态性的高海拔地区女性中的进展之间存在关联。乳腺癌患者中高水平表达 *HIF-2 α* 。因此,*HIF-2 α* 可能是乳腺癌治疗的预测标志物。

参考文献:

- [1] 周敏茹,许志华,马福昌,等. 2020 年青海省肿瘤登记地区恶性肿瘤死亡特征及 1975—2020 年变化分析[J]. 中国肿瘤,2021,30(11):834–840.
Zhou MR,Xu ZH,Ma FC,et al. Mortality characteristics of malignant tumors and changes from 1975 to 2020 in the cancer registration areas of Qinghai province in 2020 [J]. China Cancer,2021,30(11):834–840.
- [2] 马苑,付秀华,王立红. 肿瘤缺氧微环境的研究进展[J]. 癌症进展,2020,18(2):109–112,147.
Ma Y,Fu XH,Wang LH. Research progress on tumor hypoxic microenvironment[J]. Cancer Progress,2020,18(2):109–112,147.
- [3] Yan Y,He M,Zhao L,et al. A novel *HIF-2 α* targeted inhibitor suppresses hypoxia-induced breast cancer stemness via SOD2-mtROS-PDI/GPR78-UPR^{ER} axis[J]. Cell Death Differ,2022,29(9):1769–1789.
- [4] Li X,Wang M,Li S,et al. *HIF-1*-induced mitochondrial ribosome protein L52: a mechanism for breast cancer cellular adaptation and metastatic initiation in response to hypoxia[J]. Theranostics,2021,11(15):7337–7359.
- [5] Song Y,Zhang M,Lu MM,et al. EPAS1 targeting by miR-152-3p in paclitaxel-resistant breast cancer[J]. J Cancer,2020,11(19):5822–5830.
- [6] Zhen Q,Zhang Y,Gao L,et al. EPAS1 promotes peritoneal carcinomatosis of non-small-cell lung cancer by enhancing mesothelial–mesenchymal transition[J]. Strahlenther Onkol,2021,197(2):141–149.
- [7] Gao C,Zhuang J,Zhou C,et al. SNP mutation-related genes in breast cancer for monitoring and prognosis of patients: a study based on the TCGA database [J]. Cancer Med,2019,8(5):2303–2312.
- [8] Lilyquist J,Ruddy KJ,Vachon CM,et al. Common genetic variation and breast cancer risk—past,present,and future common genetic variation and breast cancer risk [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2018,27(4):380–394.
- [9] Davis L,Recktenwald M,Hutt E,et al. Targeting *HIF-2 α* in the tumor microenvironment: redefining the role of *HIF-2 α* for solid cancer therapy[J]. Cancers(Basel),2022,14(5):1259.
- [10] Yan Y,Liu F,Han L,et al. *HIF-2 α* promotes conversion to a stem cell phenotype and induces chemoresistance in breast cancer cells by activating Wnt and Notch pathways [J]. J Exp Clin Cancer Res,2018,37(1):256.
- [11] Islam F,Gopalan V,Lu CT,et al. Identification of novel mutations and functional impacts of EPAS1 in colorectal cancer[J]. Cancer Med,2021,10(16):5557–5573.
- [12] Yamanouchi K,Kuba S,Eguchi S. Hormone receptor,human epidermal growth factor receptor-2,and Ki-67 status in primary breast cancer and corresponding recurrences or synchronous axillary lymph node metastases[J]. Surg Today,2020,50(7):657–663.
- [13] Hu K,Ding P,Wu Y,et al. Global patterns and trends in the breast cancer incidence and mortality according to sociodemographic indices: an observational study based on the global burden of diseases[J]. BMJ Open,2019,9(10):e028461.