

MAPK1 与 NRAS 基因多态性与云南汉族人群宫颈 上皮内瘤变的相关性

牛志鑫¹⁾, 汤丽华²⁾, 史磊¹⁾, 洪超¹⁾, 姚宇峰¹⁾, 严志凌^{2,3)}

(1) 中国医学科学院 & 北京协和医学院医学生物学研究所, 云南昆明 650118; 2) 元谋县第一人民医院妇科, 云南元谋 651300; 3) 昆明医科大学第三附属医院妇科, 云南昆明 650118)

[摘要] 目的 探讨在云南汉族人群中 NRAS 基因与 MAPK1 基因 rs14804 和 rs9340 多态性位点与宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)易感性的相关性。方法 随机选取 2017 年 5 月至 2019 年 10 月昆明医科大学第三附属医院 416 例 CIN 患者和 983 例健康对照个体, 通过 TaqMan 探针法对 NRAS 基因与 MAPK1 基因的 SNPs 位点(rs14804 和 rs9340)进行基因分型, 分析 2 个 SNPs 位点与云南汉族人群 CIN 发生风险的相关性。结果 MAPK1 基因的 SNP 位点 rs9340 等位基因($P=0.008$)和基因型($P=0.002$)在 CIN 组与对照组的分布频率差异具有统计学意义, 等位基因 A 可能与更高的 CIN 发生风险相关($OR=1.28$, $95\%CI 1.07 \sim 1.54$), 尤其是低年龄组(≤ 50 岁)人群的 CIN 风险相关($OR=1.35$, $95\%CI 1.09 \sim 1.67$)。结论 MAPK1 基因的 SNP 位点 rs9340 可能与云南汉族人群 CIN 发生风险具有相关性。

[关键词] 宫颈上皮内瘤变; MAPK1; NRAS; 单核苷酸多态性; 相关性; 云南汉族人群

[中图分类号] R711.74 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)05-0008-08

Correlation of MAPK1 and NRAS Gene Polymorphisms with Cervical Intraepithelial Neoplasia in Yunnan Han Population

NIU Zhixin¹⁾, TANG Lihua²⁾, SHI Lei¹⁾, HONG Chao¹⁾, YAO Yufeng¹⁾, YAN Zhiling^{2,3)}

(1) Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Kunming Yunnan 650118; 2) Dept. of Gynecology, The 1st People's Hospital of Yuanmou County, Yuanmou Yunnan 651300; 3) Dept. of Gynecology, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118, China)

[Abstract] **Objective** NRAS and MAPK1 genes are important regulators of the Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathway, and their functions and expression levels have been associated with a variety of human tumors. This study aims to investigate the correlation between the rs14804 and rs9340 polymorphic loci of NRAS and MAPK1 genes and the susceptibility to cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in Yunnan Han population. **Methods** 1399 persons of the population were enrolled in the current study, with 416 as the CIN patient group and 983 as the healthy control group. The SNPs loci (rs14804 and rs9340) in the NRAS gene and the MAPK1 gene were genotyped using the TaqMan assays, and the correlation between the two SNPs loci and the risk of CIN was analyzed. **Results** The difference in the frequency of distribution of SNP locus rs9340 allele ($P=0.008$) and genotype ($P=0.002$) of MAPK1 gene in the CIN group versus the control group was statistically significant, and allele A may be associated with a higher risk of developing CIN ($OR=1.28$, $95\%CI 1.07 \sim 1.54$), especially for people in the

[收稿日期] 2024-01-16

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82103190); 云南省基础研究计划基金资助项目(202201AY070001-139, 202201AU070163)

[作者简介] 牛志鑫(1994~), 女, 河北张家口人, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤的免疫遗传学研究工作。

[通信作者] 严志凌, E-mail: yanzhiling2021@126.com

lower age group (≤ 50 years) of CIN risk ($OR = 1.35$, $95\%CI 1.09 \sim 1.67$). **Conclusion** rs9340 in the *MAPK1* gene might be correlated with the risk of CIN in the Chinese Han population in Yunnan.

[**Key words**] Cervical intraepithelial neoplasia; *MAPK1*; *NRAS*; Single nucleotide polymorphism; Correlation; Yunnan Han population

国际癌症研究机构(international agency for research on cancer, IARC)数据显示, 2020年全世界宫颈癌(cervix cancer, CC)有604 127例新增病例和341 831例死亡病例, 是全球女性死亡的主要原因之一^[1]。宫颈癌发生是1个连续进展的过程, 往往需要经历宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)这一阶段, 该阶段包括宫颈不典型增生和宫颈原位癌2种类型^[2]。99%以上的宫颈癌都与高危型人乳头瘤病毒(high risk-human papilloma virus, HR-HPV)的持续感染有关, 有10%~15%的HR-HPV持续感染, 会导致CIN的发生, 并可能最终进展为CC^[3]。然而, 并不是所有感染HR-HPV的人群都会进展为CC, 约有85%~90%的HR-HPV感染可以在人体内自发清除。除了HR-HPV的持续感染外, 宿主遗传特征也会对CIN和CC发生发展产生影响^[4-5], 尤其是促癌基因和抑癌基因中的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)^[6]。

Ras/Raf/MEK/ERK级联反应又称Ras-MAPK信号通路, 是机体中调节正常细胞增殖分化的关键信号通路。这一途径始于膜结合RAS GTP酶(HRAS, KRAS或NRAS), 当其被细胞外生长因子蛋白激活时, 结合胞内分子GTP。RAS-GTP复合物激活1种称为RAF的蛋白激酶, 触发信号级联, 导致另1种激酶MAPK的激活^[7]。RAS-MAPK通路胞内信号网络的异常激活是多种癌症和疾病的重要原因, 例如: 乳腺癌、结直肠癌、头颈部鳞状细胞癌和RAS信号通路相关综合征(Rasopathes)的发育综合征等^[8-12]。研究发现, *NRAS*与*MAPK1*作为RAS-MAPK通路的重要调控分子, 其表达水平及功能的异常可能会影响肿瘤的发生发展^[13-14]。*RAS*基因家族是肿瘤细胞中突变率最高的基因, *NRAS*基因突变在多类肿瘤发生中均有报道^[15-17]。同时研究发现, *MAPK1*基因突变可能会改变*MAPK1*的功能及相关信号通路的调控, 从而影响肿瘤的进展^[8, 18]。2014年Nature中首次报道了宫颈鳞癌中存在*MAPK1*突变^[19]。研究发现, 位于*NRAS*和*MAPK1*基因3'非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)的突变可能会通过影响微小RNA(microRNA, miRNA)对基

因表达的调控作用而影响*NRAS*和*MAPK1*基因的表达, 最终影响肿瘤的发生发展^[20]。因此, 本研究选取了分别位于*NRAS*和*MAPK1*基因3'UTR区域的2个SNPs位点rs14804和rs9340, 研究其与云南汉族人群CIN的相关性。

1 材料与方法

1.1 样本来源与分组

本研究经昆明医科大学第三附属医院伦理委员会批准(KYCS2021193)。随机选取2017年5月至2019年10月昆明医科大学第三附属医院被诊断为CIN的416例患者作为CIN组, 并选取同期在该医院健康体检的983名妇女作为对照组。其中CIN组和对对照组中围绝经期人数分别为102例和265例; 非围绝经期人数分别为314例和718例。CIN的诊断标准遵循国家卫健委发布的《中国宫颈癌规范诊疗质量控制指标(2022版)》^[21]、《宫颈癌及癌前病变规范化诊疗指南(试行)》^[22]和国际妇产科联盟宫颈癌临床分期标准(FIGO 2018)^[23]。研究对象的排除标准: (1)术前已接受放疗等抗癌治疗的患者; (2)患有其他恶性肿瘤, 或合并心血管疾病、糖尿病、肝炎、肾病等疾病的患者; (3)资料不全者。年龄分层的标准遵循《中国绝经管理及绝经激素治疗指南(2023版)》^[24], 把人群按围绝经期的平均年龄50岁划分高年龄组(>50岁)与低年龄组(≤ 50 岁)。所有参加者均无近亲关系, 并签署知情同意书。

1.2 外周血基因组DNA获取

采集研究对象空腹静脉血5 mL, 使用QIAamp DNA Blood Mini Kit(德国QIAGEN公司, 货号51106)试剂盒提取基因组DNA。使用多功能酶标仪Varioskan LUX3020(美国ThermoFisher Scientific公司)测定DNA的浓度和纯度, 样品于 -80°C 冰箱保存备用。

1.3 SNPs位点基因分型

采用TaqMan探针基因分型技术对rs9340和rs14804进行基因分型。基因分型的探针、引物(TaqMan assay)以及基因分型试剂(Master mix)均购自美国ABI公司。其中SNPs位点rs9340的TaqMan

assay ID 为 C_7626904_10; SNPs 位点 rs14804 的 TaqMan assay ID 为 C_8701397_10。使用 Roche LightCycler®480 II 荧光定量 PCR 仪进行基因分型 PCR 反应, 反应体系为 5 μ L, 包含 2.5 μ L Master Mix、0.125 μ L 引物和探针 (FAM 和 VIC) 混合物、1.375 μ L ddH₂O 和 1 μ L 基因组 DNA; PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火延伸 30 s, 重复 40 个循环。使用 Roche LightCycler®480 软件获得原始基因分型数据。基因分型 PCR 反应设阴性对照, 使用 1 μ L ddH₂O 代替基因组 DNA。

1.4 生物信息学分析

使用 miRNA SNP 数据库 (<https://guolab.wchscu.cn/miRNASNP/>) 分析 SNPs 位点的基因突变对 miRNA 互补性和结合能力的影响。

1.5 统计学处理

数据采用 SPSS 27.0 软件进行统计分析。用独立样本 *t* 检验来比较 CIN 组和对照组之间的年龄差异, 计量资料满足正态分布时以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 计数资料以例数或率表示, 各 SNP

等位基因和基因型在 2 组间分布频率的差异采用逻辑回归分析, 并将年龄作为校正因素。各组纳入样本的群体代表性采用 Hardy-Weinberg (HWE) 遗传平衡检验进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义, 多重比较采用 Bofferroni 校正, 校正后统计结果以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象特征

本研究共纳入 1399 名研究对象。研究对象的一般临床特征, 见表 1。CIN 组和对照组的平均年龄分别为 (45.00 \pm 9.55) 岁和 (45.77 \pm 8.87) 岁。CIN 组和对照组的总体年龄差异无统计学意义 ($P = 0.148$), 不同临床分期的 CIN 组 (CIN2 组和 CIN3 组) 与对照组比较, 年龄差异无统计学意义 ($P = 0.903$ 和 0.132), 但高年龄组 ($P = 0.00048$) 和低年龄组 ($P = 0.006$) 与对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 选取病例的临床特征 [($\bar{x} \pm s$), 岁]

Tab. 1 The clinical characteristics of the subjects enrolled in this study [($\bar{x} \pm s$), years old]

分组	临床分期/年龄分层	<i>n</i>	年龄分布	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	高龄组	314	56.21 \pm 3.85		
	低龄组	718	41.91 \pm 6.86		
	总计	961	45.77 \pm 8.87		
CIN组	CIN2	51	45.59 \pm 10.13	-1.535	0.903
	CIN3	365	44.92 \pm 9.48	-2.923	0.137
	高龄组	102	58.09 \pm 6.09	-3.523	0.00048*
	低龄组	265	40.75 \pm 5.92	-2.771	0.006*
	总计	416	45.00 \pm 9.55	-1.446	0.148

* $P < 0.05$ 。

2.2 2 个 SNPs 位点等位基因与基因型频率分布比较

NRAS 基因中的 rs14804 基因型和 *MAPK1* 基因中的 rs9340 基因型在各组中的分布均符合 HWE ($P > 0.05$), 表明本研究纳入的样本具有群体代表性。

采用逻辑回归分析 rs9340 和 rs14804 位点等位基因和基因型在 CIN 组和对照组间分布频率的差异, 并将年龄作为校正因素, 结果发现 *MAPK1* 基因中 rs9340 位点的等位基因 ($P = 0.008$) 和基因型 ($P = 0.002$) 在 2 组间分布频率的差异具有统计学意义 ($P < 0.025$)。而 *NRAS* 基因中的

rs14804 位点基因型和等位基因频率分布在 2 组人群中差异无统计学意义 ($P > 0.025$), 该结果表明 *MAPK1* 中 rs9340 位点可能与 CIN 的发生风险相关, 其等位基因 A 可能与较高的 CIN 发生风险相关 ($OR = 1.28$, 95% *CI* 1.07 ~ 1.54), 见表 2。

2.3 rs9340 位点与不同年龄组人群 CIN 易感性的相关性分析

为进一步分析 *MAPK1* 基因中的 rs9340 位点在不同年龄阶段与 CIN 风险的相关性, 将纳入样本按年龄大小分为高年龄组 (> 50 岁) 与低年龄组 (≤ 50 岁), 并分析各年龄组中 rs9340 与 CIN 发生风险的相关性, 见表 3。结果显示, 在高年龄

表 2 2 个 SNPs 位点在 CIN 和对照组间等位基因和基因型分布比较 [n(%)]

Tab. 2 The comparison of allelic and genotypic distribution of the two SNPs between CIN and control groups [n(%)]

SNPs	等位基因/基因型	对照组	CIN组	χ^2	P	OR(95%CI)
rs14804	A	49(2.50)	22(2.64)	0.055	0.815	1.06(0.64 ~ 1.77)
	G	1917(97.50)	810(97.36)			
	A/A	0(0.00)	1(0.24)	2.382	0.304	
	A/G	49(4.98)	20(4.81)			
	G/G	934(95.02)	395(94.95)			
		HWE, P	0.423	0.177		
rs9340	A	456(23.19)	232(27.88)	6.936	0.008*	1.28(1.07 ~ 1.54)
	G	1510(76.81)	600(72.12)			
	A/A	55(5.60)	22(5.29)	12.568	0.002*	
	A/G	346(35.20)	188(45.19)			
	G/G	582(59.20)	206(49.52)			
		HWE, P	0.705	0.012		

*P < 0.025(统计学结果经Bonferroni校正, n = 2)。

表 3 高龄组和低龄组中 rs9340 位点与 CIN 的相关性分析 [n(%)]

Tab. 3 The association of rs9340 with CIN in different age groups [n(%)]

年龄分层	等位基因/基因型	对照组	CIN组	χ^2	P	OR(95%CI)
高年龄组	A	131(24.72)	55(26.96)	0.108	0.743	1.07(0.73 ~ 1.55)
	G	399(75.28)	149(73.04)			
	A/A	17(6.42)	4(3.92)	0.814	0.367	0.42(0.13 ~ 1.38)
	A/G	97(36.60)	47(46.08)	2.046	0.212	0.58(0.18 ~ 1.88)
	G/G	151(56.98)	51(50.00)	3.102	0.153	
低年龄组	A	325(22.63)	177(28.18)	7.4	0.007*	1.35(1.09 ~ 1.67)
	G	1111(77.37)	451(71.82)			
	A/A	38(5.29)	18(5.73)	10.37	0.001*	1.59(1.19 ~ 2.08)
	A/G	249(34.69)	141(44.90)	0.898	0.343	1.33(0.74 ~ 2.38)
	G/G	431(60.02)	155(49.37)	10.453	0.005	

*P < 0.05。

组中, rs9340 位点 CIN 的等位基因和基因型 ($P = 0.743$) 在对照组和 CIN 组间分布频率的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 该结果表明 rs9340 可能与高年龄组人群 CIN 的发生风险无相关性。而在低年龄组中, 该位点等位基因 ($P = 0.007$) 和基因型 ($P = 0.001$) 在 CIN 和对照组中分布频率的差异具有统计学意义。该结果表明等位基因 A 是低年龄组 CIN 的风险性因素 ($OR = 1.35$, $95\%CI 1.09 \sim 1.67$), 基因型 AA 与 GG 相比可能是 CIN 发生的风险性因素 ($OR = 1.59$, $95\%CI 1.19 \sim 2.08$)。

2.4 rs9340 位点多态性与 CIN 分期的相关性

为探讨 rs9340 位点与 CIN 进展的相关性, 对 rs9340 在不同 CIN 分期患者中分布频率的差异进行分析, 结果显示, 该位点等位基因和基因型在不同 CIN 分期患者中分布频率的差异无统计学意

义 ($P > 0.05$), 见表 4。该结果表明 rs9340 可能与 CIN 分期的进展无相关性。

2.5 rs9340 位点对所在区域 miRNA 互补结合能力的影响

由于 rs9340 位点位于 MAPK1 基因的 3'UTR 区域, 可能会影响 miRNA 与 MAPK1 的相互作用。因此, 本研究通过 miRNA SNP 数据库 (<https://guolab.wchscu.cn/miRNASNP/>) 预测 SNP 位点 rs9340 对所在区域的 miRNA 互补性和结合能力的影响, 见表 5。结果显示, rs9340 位点突变可能导致其所在区域失去与 hsa-miR-210-3p 的互补结合能力, 但获得了与 hsa-miR-153-3p 与 hsa-miR-448 2 个 miRNA 的互补结合的能力, 见图 1。该结果表明, rs9340 位点的多态性可能会影响 miRNA 对 MAPK1 基因表达的调控, 从而在 CIN 的发生过程

表 4 rs9340 位点与 CIN 分期进展的相关性 [n(%)]

Tab. 4 Correlation of rs9340 locus polymorphism with different CIN stages [n(%)]

等位基因此/基因型	CIN2组	CIN3组	χ^2	P	OR(95%CI)
A	22(21.57)	210(28.77)	2.323	0.127	0.68(0.41 ~ 1.12)
G	80(78.43)	520(71.23)			
A/A	1(1.96)	21(5.75)	1.515	0.218	0.28(0.04 ~ 2.14)
A/G	20(39.22)	168(46.03)	1.381	0.24	0.70(0.38 ~ 1.27)
G/G	30(58.82)	176(48.22)	0 ^b		

^b该项为参照项,因此设置为0。

表 5 rs9340 位点对 MAPK1 基因 3'UTR 区域 miRNA 互补结合的影响

Tab. 5 The effect of rs9340 on miRNA binding to the 3'UTR of MAPK1

miRNA(miR)	靶基因新增/失去	位点起始位置	位点终止位置	在宫颈癌中发挥的作用
hsa-miR-153-3p	新增	21 761 059	21 761 065	circ_0005576/miR-153-3p/KIF20A通路驱动宫颈癌的增殖、迁移和侵袭 ^[25]
hsa-miR-448	新增	21 761 059	21 761 066	参与miRNA介导的转录后基因沉默
hsa-miR-210-3p	失去	21 761 057	21 761 064	宫颈癌组织中的miRNA-210-3p水平高于正常宫颈组织和CIN组织 ^[26]

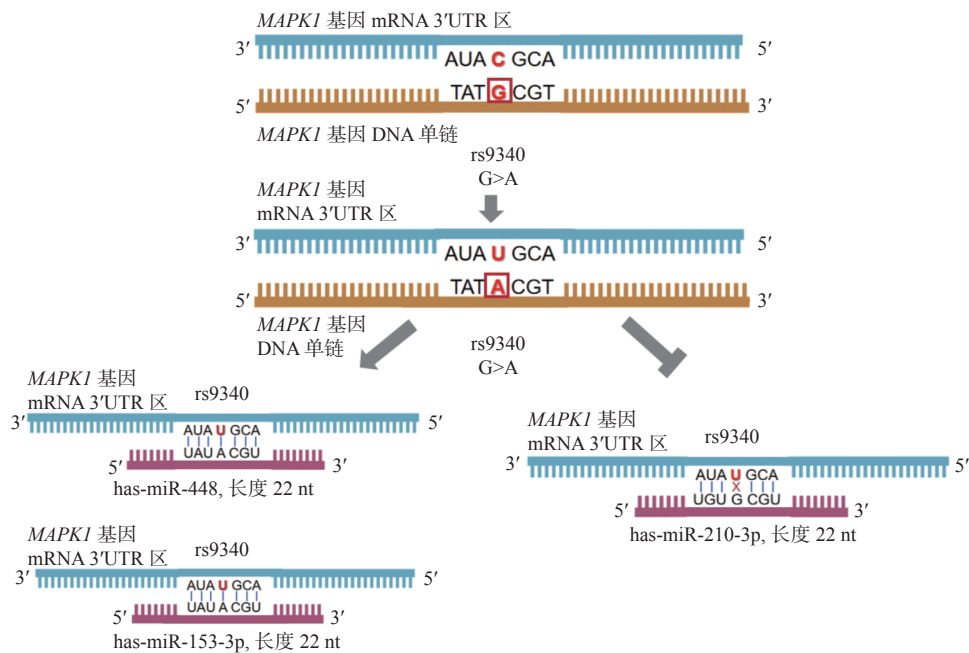


图 1 rs9340 位点导致所在区域互补结合的 miRNA 发生改变

Fig. 1 The rs9340 causes the different miRNA binding pattern

中发挥作用。

3 讨论

RAS 基因家族有 3 个成员, 即 HRAS、KRAS 和 NRAS, 分别位于人类染色体 11、12 和 1 号的短臂上, 其编码产物 P21 蛋白是 MAPK 通路中非常重要的信号因子^[27], 在许多肿瘤的发展中起着关键作用, 如肺癌^[28]、胰腺癌^[29] 和结肠直肠癌^[30]。

NRAS 的致癌突变已经在人类胰腺、肺和皮肤肿瘤中检测到^[31], 并与多种肿瘤的预后有关^[32-33]。而关于 NRAS 基因中 SNPs 位点的研究也发现了其与多种人类疾病的相关性^[34-36]。但对于 rs14804 位点与恶性疾病的相关性报道较少, Jin 等^[37] 的研究结果显示 NRAS 基因中的 rs14804 位点与甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 没有相关性。Insodaite 等^[20] 报道了 NRAS 基因中的 rs14804 基因型 CC 与喉部鳞状细胞癌

(laryngealsquamouscellcarcinoma, LSCC) 风险降低相关, 该位点等位基因 T 则与肿瘤晚期和淋巴结转移具有相关性。然而在本研究中, *NRAS* 基因中的 rs14804 与 CIN 的发生不具有相关性, 表明此位点与 CIN 进展无关。造成研究结果差异的原因可能有以下几点: (1) rs14804 可能在不同的癌症中发挥不同的作用; (2) 不同研究中纳入的遗传背景人群不同; (3) 不同研究的样本量不同, 这可能会影响关联研究的可靠性。鉴于 *NRAS* 基因中的 rs14804 同样位于基因的 3'UTR 区域, 该区域可能参与 *NRAS* 基因表达的调控, 因此, 未来仍需要在更多疾病类型(包括宫颈癌)中纳入更大样本量研究该位点在疾病中发挥的作用。

有丝分裂原激活蛋白激酶 1(MAPK1) 是 1 种 41kD 的分泌蛋白, 作为 1 种丝氨酸/苏氨酸激酶, 在 MAPK/ERK 级联反应中起重要作用, 参与多种人类肿瘤的发生与发展^[38-41]。研究显示 *MAPK1* 基因中的多态性与多种人类疾病具有相关性^[42-46], 因此, 位于 *MAPK1* 基因中的 SNPs 位点可能会通过影响 *MAPK1* 的表达或功能与疾病发生风险相关。而 rs9340 位于 *MAPK1* 基因的 3'UTR 区域, 可能会通过影响相关 miRNA 对 *MAPK1* 基因表达的调控, 从而与疾病发生相关^[20, 47]。Insodaite 等^[20] 的研究结果显示, *MAPK1* 基因 rs9340 的 SNP 与 LSCC 的远端转移相关。同样, 本研究结果也显示, rs9340 与云南汉族人群 CIN 发生风险相关。说明 *MAPK1* 基因可能与早期的宫颈癌癌前病变具有相关性。本研究预测了 rs9340 的基因突变对 miRNA 与 *MAPK1* 基因相互作用的影响, 发现 rs9340 位点突变能够使其与 2 个 miRNA 靶基因位点 hsa-miR-153-3p 与 hsa-miR-448 相结合, 同时对 hsa-miR-210-3p 失去结合能力。以上 miRNA 位点通过与 mRNA 的 3'UTR 结合, 影响其稳定性和翻译, 执行转录后调控功能, 从而影响宫颈癌早期病变的进展。这表明 rs9340 位点可能是通过影响 miRNA 对 *MAPK1* 基因的表达而进一步影响 CIN 的发生与进展。因此, 未来有必要继续开展更大规模的相关性研究进一步确认 rs9340 在疾病(包括宫颈癌)中发挥的作用, 并开展功能研究来阐明机体的分子机制。

综上所述, 本研究结果显示 *MAPK1* 基因中的 rs9340 位点可能与 CIN 的发生相关, 该位点等位基因 A 可能是 CIN 发生的风险因素, 基因型 AA 是 50 岁以下女性发生 CIN 的风险因素。该结果表明肿瘤相关信号通路基因中的 SNP 位点可能

在疾病的发生发展中发挥重要作用, 这给未来寻找疾病诊断和治疗的易感基因及分子靶标提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] Bruni L A G, Serrano B, Mena M, et al. Human papillomavirus and related diseases in the world [R]. Barcelona, Spain, 2023: ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre), Summary Report 22 October 2021.
- [2] 冯明月, 闫萍. 宫颈上皮内瘤变诊治现状 [J]. 河北医科大学学报, 2020, 41(4): 480-483.
- [3] Schiffman M, Castle P E, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer [J]. Lancet (London, England), 2007, 370(9590): 890-907.
- [4] Chen D, Cui T, Ek W E, et al. Analysis of the genetic architecture of susceptibility to cervical cancer indicates that common SNPs explain a large proportion of the heritability [J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(9): 992-998.
- [5] Vink J M, Van Kemenade F J, Meijer C J, et al. Cervix smear abnormalities: Linking pathology data in female twins, their mothers and sisters [J]. *European Journal of Human Genetics : EJHG*, 2011, 19(1): 108-111.
- [6] Zhang X, Zhang L, Tian C, et al. Genetic variants and risk of cervical cancer: Epidemiological evidence, meta-analysis and research review [J]. *BJOG*, 2014, 121(6): 664-674.
- [7] Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth [J]. *Nature*, 2010, 464(7287): 431-435.
- [8] Yuan J, Dong X, Yap J, et al. The MAPK and AMPK signalings: Interplay and implication in targeted cancer therapy [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2020, 13(1): 113.
- [9] Xie G, Zhu A, Gu X. Mitogen-activated protein kinase inhibition-induced modulation of epidermal growth factor receptor signaling in human head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Head & Neck*, 2021, 43(6): 1721-1729.
- [10] Zhou G, Yang J, Song P. Correlation of ERK/MAPK signaling pathway with proliferation and apoptosis of colon cancer cells [J]. *Oncology Letters*, 2019, 17(2): 2266-2270.

- [11] Bartholomeusz C, Gonzalez-Angulo A M, Liu P, et al. High ERK protein expression levels correlate with shorter survival in triple-negative breast cancer patients[J]. *The Oncologist*, 2012, 17(6): 766-774.
- [12] Rauen K A. Defining RASopathy[J]. *Dis Model Mech*, 2022, 15(2): dmm049344.
- [13] Yan Y, Gao Z, Han H, et al. NRAS expression is associated with prognosis and tumor immune microenvironment in lung adenocarcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2022, 148(3): 565-575.
- [14] Wang Y, Guo Z, Tian Y, et al. MAPK1 promotes the metastasis and invasion of gastric cancer as a bidirectional transcription factor[J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1): 959.
- [15] Harada G, Yang S R, Cocco E, et al. Rare molecular subtypes of lung cancer[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2023, 20(4): 229-249.
- [16] Ciconas J, Tamosaitis L, Kvederaviciute K, et al. KRAS, NRAS and BRAF mutations in colorectal cancer and melanoma[J]. *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 2017, 34(2): 26.
- [17] Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, et al. The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort[J]. *Br J Dermatol*, 2013, 169(5): 1049-1055.
- [18] Emrick M A, Hoofnagle A N, Miller A S, et al. Constitutive activation of extracellular signal-regulated kinase 2 by synergistic point mutations[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(49): 46469-46479.
- [19] Ojesina A I, Lichtenstein L, Freeman S S, et al. Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas[J]. *Nature*, 2014, 506(7488): 371-375.
- [20] Insodaite R, Smalinskiene A, Liutkevicius V, et al. Associations of polymorphisms localized in the 3'UTR regions of the KRAS, NRAS, MAPK1 genes with laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Genes*, 2021, 12(11): 1679.
- [21] 国家癌症中心, 国家肿瘤质控中心宫颈癌质控专家委员会. 中国宫颈癌规范诊疗质量控制指标(2022版)[J]. *中华肿瘤杂志*, 2022, 44(7): 615-622.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 宫颈癌及癌前病变规范化诊疗指南(试行)[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2013, 5(8): 40-49.
- [23] Bhatla N, Aoki D, Sharma D N, et al. Cancer of the cervix uteri[J]. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2018, 143(S2): 22-36.
- [24] 中华医学会妇产科学分会绝经学组. 中国绝经管理与绝经激素治疗指南 2023 版 [J]. *中华妇产科杂志*, 2023, 58(1): 4-21.
- [25] Ma H, Tian T, Liu X, et al. Upregulated circ_0005576 facilitates cervical cancer progression via the miR-153/KIF20A axis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019(10): 109311.
- [26] Shao M X, Qu A Z, Wang Y Q, et al. Expression level of miRNA-210-3p in cervical cancer and its prognostic potential[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(12): 6583-6588.
- [27] Bos J L. The ras gene family and human carcinogenesis[J]. *Mutation Research*, 1988, 195(3): 255-271.
- [28] Guin S, Theodorescu D. The RAS-RAL axis in cancer: Evidence for mutation-specific selectivity in non-small cell lung cancer[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2015, 36(3): 291-297.
- [29] Lanfredini S, Thapa A, O'Neill E. RAS in pancreatic cancer[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2019, 47(4): 961-972.
- [30] Afrăsănie V A, Marinca M V, Alexa-Stratulat T, et al. KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer - practical implications for the clinician[J]. *Radiology and Oncology*, 2019, 53(3): 265-274.
- [31] Li S, Balmain A, Counter C M. A model for RAS mutation patterns in cancers: Finding the sweet spot[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2018, 18(12): 767-777.
- [32] Jakob J A, Bassett R L J r, Ng C S, et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma[J]. *Cancer*, 2012, 118(16): 4014-4023.
- [33] Schirripa M, Cremolini C, Loupakis F, et al. Role of NRAS mutations as prognostic and predictive markers in metastatic colorectal cancer[J]. *International Journal of Cancer*, 2015, 136(1): 83-90.
- [34] Murphy B M, Terrell E M, Chirasani V R, et al. Enhanced BRAF engagement by NRAS mutants capable of promoting melanoma initiation[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3153.
- [35] Fu W, Zhuo Z, Hua R X, et al. Association of KRAS and NRAS gene polymorphisms with Wilms tumor risk: A four-center case-control study[J]. *Ageing*, 2019, 11(5): 1551-1563.

- [36] Alessandro L, Low K E, Abushelaibi A, et al. Identification of NRAS diagnostic biomarkers and drug targets for endometrial cancer—an integrated in silico approach[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(22): 14285.
- [37] Jin M, Li Z, Sun Y, et al. Association analysis between the interaction of RAS family genes mutations and papillary thyroid carcinoma in the Han Chinese population[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2021, 18(2): 441–447.
- [38] Li S, Ma Y M, Zheng P S, et al. GDF15 promotes the proliferation of cervical cancer cells by phosphorylating AKT1 and Erk1/2 through the receptor ErbB2 [J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 2018, 37(1): 80.
- [39] Yan Z, Ohuchida K, Fei S, et al. Inhibition of ERK1/2 in cancer-associated pancreatic stellate cells suppresses cancer-stromal interaction and metastasis [J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 2019, 38(1): 221.
- [40] Deng R, Zhang H L, Huang J H, et al. MAPK1/3 kinase-dependent ULK1 degradation attenuates mitophagy and promotes breast cancer bone metastasis[J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 3011–3029.
- [41] Wills C, Watts K, Maughan T S, et al. Germline variation in RASAL2 may predict survival in patients with RAS-activated colorectal cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2023, 62(6): 332–341.
- [42] Campbell J D, Alexandrov A, Kim J, et al. Distinct patterns of somatic genome alterations in lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(6): 607–616.
- [43] Santos M, Lima L, Carvalho S, et al. The impact of BDNF, NTRK2, NGFR, CREB1, GSK3B, AKT, MAPK1, MTOR, PTEN, ARC, and SYN1 genetic polymorphisms in antidepressant treatment response phenotypes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(7): 6758.
- [44] Zhu Y, Yang T, Duan J, et al. MALAT1/miR-15b-5p/MAPK1 mediates endothelial progenitor cells autophagy and affects coronary atherosclerotic heart disease via mTOR signaling pathway[J]. *Aging*, 2019, 11(4): 1089–1109.
- [45] Guney G, Taşkın M I, Sener N, et al. The role of ERK-1 and ERK-2 gene polymorphisms in PCOS pathogenesis [J]. *Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E*, 2022, 20(1): 95.
- [46] Wei H, Ke H L, Lin J, et al. MicroRNA target site polymorphisms in the VHL-HIF1 α pathway predict renal cell carcinoma risk[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2014, 53(1): 1–7.
- [47] Guo N, Zhang N, Yan L, et al. Correlation between genetic polymorphisms within the MAPK1/HIF-1/HO-1 signaling pathway and risk or prognosis of perimenopausal coronary artery disease[J]. *Clinical Cardiology*, 2017, 40(8): 597–604.