

## KRAS 基因 3' UTR 多态性与云南汉族人群宫颈癌及 宫颈上皮内瘤变的相关性

郭妮<sup>1)</sup>, 张承<sup>2)</sup>, 洪超<sup>1)</sup>, 刘伟鹏<sup>1)</sup>, 姚宇峰<sup>1)</sup>, 严志凌<sup>2,3)</sup>

(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) 镇雄县人民医院  
妇科, 云南镇雄 657200; 3) 昆明医科大学第三附属医院妇科, 云南昆明 650118)

**[摘要]** 目的 探究 KRAS 基因中 3'UTR 区域的 rs712 和 rs7973450 位点与云南汉族人群宫颈癌 (cervical cancer, CC) 和宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 的相关性。方法 共纳入 CIN 患者 461 例、CC 患者 961 例及其健康对照 983 例, 采用 TaqMan 探针法进行基因分型检测, 并分析 2 个 SNP 位点与 CIN 及 CC 的相关性。结果 rs7973450 位点的 A 等位基因可能是 CIN ( $P=0.004$ ,  $OR=0.651$ ,  $95\%CI 0.487 \sim 0.871$ ) 与 CC ( $P=7.00 \times 10^{-4}$ ,  $OR=0.667$ ,  $95\%CI 0.529 \sim 0.844$ ) 发生的保护性因素。rs712 位点在 CIN 组、CC 组和对照组间等位基因和基因型分布频率的差异无统计学意义 ( $P>0.017$ ); 单倍型分析的结果显示, 单倍型 rs712A-rs7973450G 与更高的 CIN ( $P=4.00 \times 10^{-4}$ ,  $OR=1.714$ ,  $95\%CI 1.269 \sim 2.314$ ) 和 CC ( $P=3.84 \times 10^{-5}$ ,  $OR=1.667$ ,  $95\%CI 1.305 \sim 2.131$ ) 发生风险相关; 单倍型 rs712A-rs7973450A 则与更低的 CC 发生风险相关 ( $P=0.012$ ,  $OR=0.790$ ,  $95\%CI 0.658 \sim 0.950$ )。结论 位于 KRAS 基因 3'UTR 区域的 SNP 位点 rs7973450 的 A 等位基因可能是云南汉族人群 CIN 和 CC 发生的保护性因素。

**[关键词]** KRAS 基因; 单核苷酸多态性; 宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变; 云南汉族人群相关性

**[中图分类号]** R735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)02-0014-09

## Correlation of KRAS Gene 3' UTR Polymorphisms with Cervical Cancer and Cervical Intraepithelial Neoplasia in Chinese Han Population in Yunnan Province

GUO Ni<sup>1)</sup>, ZHANG Cheng<sup>2)</sup>, HONG Chao<sup>1)</sup>, LIU Weipeng<sup>1)</sup>, YAO Yufeng<sup>1)</sup>, YAN Zhiling<sup>2,3)</sup>

(1) Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Kunming Yunnan 650118; 2) Dept. of Gynecology, The People's Hospital of Zhenxiong County, Kunming Yunnan 657200; 3) Dept. of Gynecology, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the correlation between rs712 and rs7973450 located at the 3'UTR region of the KRAS gene and the risk of cervical cancer (CC) and cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in Chinese Han population in Yunnan province. **Methods** A total of 2405 individuals (461 subjects with CIN, 961 subjects with CC and 983 healthy controls) were enrolled. The SNPs were genotyped used TaqMan assay and the correlation of these SNPs with CIN and CC was analyzed. **Results** The A allele of rs7973450 might be a protective factor for the occurrence of CIN ( $P=0.004$ ,  $OR=0.651$ ,  $95\%CI 0.487 \sim 0.871$ ) and CC ( $P=7.00 \times 10^{-4}$ ,  $OR=0.667$ ,  $95\%CI 0.529 \sim 0.844$ ). There was no significant difference in allelic and genotypic distribution of rs712 among CIN,

**[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项目 (202201AY070001-139; 202201AU070163)

**[作者简介]** 郭妮 (1996~), 女, 云南保山人, 在读硕士研究生, 主要从事感染性疾病及肿瘤的免疫遗传学研究工作。

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

CC and Control groups ( $P > 0.017$ ). The haplotype assay showed that rs712A-rs7973450G was associated with increased risk of CIN ( $P = 4.00 \times 10^{-4}$ ;  $OR = 1.714$ , 95%  $CI$  1.269 ~ 2.314) and CC ( $P = 3.84 \times 10^{-5}$ ,  $OR = 1.667$ , 95%  $CI$  1.305 ~ 2.131). While haplotype rs712A-rs7973450A was associated with a lower risk of CC ( $P = 0.012$ ,  $OR = 0.790$ , 95%  $CI$  0.658 ~ 0.950). **Conclusion** The A allele of rs7973450 in 3'UTR of *KRAS* gene might be the protective factor for the occurrence of CIN and CC in a Chinese Han population in Yunnan province.

[**Key words**] *KRAS*; Single nucleotide polymorphism; Cervical cancer; Cervical intraepithelial neoplasia; Han population in Yunnan

宫颈癌是全球范围内尤其是发展中国家和地区女性最常见的癌症之一<sup>[1]</sup>。2016年,我国宫颈癌新发病例数超过11万,发病率在我国女性恶性肿瘤中居第2位<sup>[2]</sup>。研究发现,高危型人乳头瘤病毒(high risk human papilloma virus, HR-HPV)的持续感染是宫颈癌(cervical cancer, CC)发生的必要因素<sup>[3]</sup>。持续感染HR-HPV可能会导致宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)的发生,并最终可能进展为CC<sup>[4]</sup>。但并非所有感染HR-HPV的女性最终都会进展为宫颈癌,近年来的研究发现,遗传因素可能会影响CIN和CC的个体易感性差异,尤其是基因组中的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs),其与宫颈癌的遗传易感性的相关性已成为一个研究热点<sup>[5-7]</sup>。

*KRAS*基因是最常见的突变致癌基因,超过80%的胰腺癌和超过30%的结直肠癌、胆管癌和肺腺癌携带*KRAS*基因的激活突变<sup>[8]</sup>。研究表明,位于*KRAS*基因3'非翻译区(3'UTR)上的SNP位点与某些癌症风险和生存率相关,例如结直肠癌、胃癌、乳腺癌等<sup>[9-11]</sup>。而3'UTR区域是微小RNA(microRNA, miRNA)参与*KRAS*基因表达调控的靶向序列,位于该区域的SNP可能会通过影响miRNA对*KRAS*基因表达的调控从而影响疾病的发生及进展<sup>[12-13]</sup>。

本研究选取*KRAS*基因中3'UTR区域上的2个SNP位点(rs712和rs7973450),研究其与云南汉族人群CIN和CC的相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本来源与分组

本研究经云南省肿瘤医院伦理委员会审查批准(审查编号:KYCS2021193)。在遵循“知情同意”的原则下,随机选取在云南省肿瘤医院被诊断为宫颈上皮内瘤变的患者416例作为CIN组以及被诊断为宫颈癌的患者961例作为CC组,同

时,随机挑选同期参加体检的健康女性983例作为该组对照组。纳入标准:(1)CIN和CC诊断符合国家卫生健康委《中国宫颈癌规范诊疗质量控制指标(2022版)》<sup>[14]</sup>、国际妇产科联盟宫颈癌临床分期标准(FIGO 2018)<sup>[15]</sup>和WHO《宫颈癌前病变筛查和治疗指南(2021)》<sup>[16]</sup>中对子宫颈癌及癌前病变的相关诊断、临床分类与分期标准;(2)尚未进行放疗、化疗、免疫检查点抑制剂和靶向药物治疗;排除标准:(1)未取得完整临床资料;(2)合并其他恶性肿瘤患者;(3)合并心血管疾病等慢性疾病患者。

### 1.2 主要试剂和仪器

DNA提取试剂盒QIAamp DNA Blood Kits(德国QIAGEN,货号5110651106);SNP位点rs712(Assay ID: C\_189219680\_10)和rs7973450(Assay ID: C\_189571552\_10)的基因分型探针TaqMan® SNP Genotyping Assays(美国Applied Biosystems);基因分型试剂盒QuantiNova™ Probe PCR Kit(德国QIAGEN,货号208252);多功能酶标仪Varioskan LUX3020(美国Thermo Fisher Scientific);实时荧光定量PCR仪LightCycler® 480 II(瑞士Roche)。

### 1.3 全血中基因组DNA提取

采集研究对象空腹静脉血,使用试剂盒法从研究对象抗凝全血中分离基因组DNA,并用分光光度计对核酸样品进行浓度和纯度测定,样品保存于-80℃冰箱。

### 1.4 SNP基因分型

SNP位点基因分型检测的PCR反应于384孔板中进行,PCR反应体系为5μL: 2×Probe PCR Master Mix 2.5μL, 40×TaqMan® SNP Genotyping Assays 0.2μL,模板DNA(15ng/μL)1μL,无菌无酶水1.3μL。罗氏LightCycler®480 PCR仪反应程序设置如下:95℃预变性2min,95℃变性5s,60℃退火延伸30s,扩增40个循环。使用LightCycler®480软件对基因分型原始数据进行分析。分型实验设阴性对照,采用无菌无酶水代替模板DNA进行PCR反应。

## 1.5 统计学处理

使用 IBM SPSS Statistics 26.0 软件对数据进行统计学分析。单因素方差分析(One-way ANOVA)用于分析 CC、CIN 病例组与对照组间年龄分布差异,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。采用哈迪-温伯格平衡检验(hardy-weinberg equilibrium, HWE)分析纳入样本的人群代表性,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。使用 SHEsis 软件分析 SNP 间的连锁不平衡关系, 并构建单倍型。等位基因、基因型及构建的单倍型与 CIN 和 CC 发病风险的相关性采用卡方检验进行分析, 对于多个样本间的两

两比较, 采用 Bonferroni 法对显著性水平阈值进行校正,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 研究对象分组及样本均衡性

本研究共纳入研究对象 2360 例, 包括 CIN 患者(CIN 组)416 例, CC 患者(CC 组)961 例及健康对照(对照组)983 例。各组间(CIN、CC 和对照组)的年龄差异无统计学意义( $P = 0.074$ ,  $F = 2.605$ ), 见表 1。

表 1 研究对象分组及均衡性检验  $[(\bar{x} \pm s)/n(\%)]$

Tab. 1 Grouping of study subjects  $[(\bar{x} \pm s)/n(\%)]$

资料特征	CIN组	CC组	对照组	F	P
人数(n)	416	961	983	-	-
年龄分布(岁)	45.00 ± 9.55	46.25 ± 9.81	45.77 ± 8.87	2.605	0.074
临床分期					
CIN2	51(12.3)	-	-	-	-
CIN3	365(87.7)	-	-	-	-
I	-	624(64.9)	-	-	-
II	-	270(29.1)	-	-	-
III ~ IV	-	67(7.0)	-	-	-
病理类型					
SCC	-	799(83.1)	-	-	-
AC	-	162(16.9)	-	-	-

### 2.2 KRAS 基因 3'UTR 区域的 2 个 SNP 位点与 CIN 和 CC 的相关性

KRAS 基因 3'UTR 区域的 2 个 SNP 位点(rs712、rs7973450)的各基因型频率在对照组中的分布符合 HWE( $P > 0.05$ ), 表明本研究纳入样本具有群体代表性。多组比较分析结果显示, rs7973450 位点在 CIN、CC 和对照 3 组间的等位基因( $P = 0.001$ )和基因型频率( $P = 0.005$ )分布差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); rs712 等位基因及其基因型在 CIN、CC 和对照 3 组间的分布频率差异无统计学意义(Bonferroni 校正,  $P > 0.017$ ), 说明 rs712 可能与 CIN 和 CC 的发生风险无相关性, 统计分析结果见表 2。进一步对 rs7973450 位点在 CIN 组与对照组、CC 组和对照组的等位基因和基因型频率分布差异进行两两比较, 结果显示, rs7973450 的 A 等位基因可能是 CIN( $P = 0.004$ ,  $OR = 0.651$ ,  $95\%CI 0.487 \sim 0.871$ )和 CC( $P = 7.00 \times$

$10^{-4}$ ,  $OR = 0.667$ ,  $95\%CI 0.529 \sim 0.844$ )发生的保护性因素, 见表 3。

### 2.3 KRAS 基因 3'UTR 区域的 2 个 SNP 位点与 CC 不同病理类型和不同临床分期的相关性

进一步研究了 KRAS 基因 3'UTR 区域的 2 个 SNP 位点在 CC 不同病理类型(SCC 和 AC)中的分布特征。在多组比较分析中, rs7973450 在各组间的等位基因及基因型分布频率差异具有统计学意义( $P = 7.51 \times 10^{-5}$ ), 但未观察到 rs712 位点的等位基因及基因型分布频率差异(Bonferroni 校正,  $P > 0.017$ ), 见表 4。两两比较结果显示, rs7973450 位点在 SCC 和对照组间( $P = 0.004$  和  $0.013$ )、AC 和对照组间( $P = 0.002$  和  $2.00 \times 10^{-4}$ )的等位基因和基因型分布频率差异均具有统计学意义。该位点 A 等位基因可能是 SCC( $OR = 0.698$ ,  $95\%CI 0.546 \sim 0.894$ )和 AC( $OR = 0.545$ ,  $95\%CI 0.370 \sim 0.801$ )的保护性因素, 见表 5。

表 2 KRAS 基因 2 个 SNP 位点在 CIN 组、CC 组和对照组间等位基因和基因型频率分布 [n(%)]

Tab. 2 The allelic and genotypic frequency distribution of the SNPs in KRAS gene among the CIN, CC and control groups [n(%)]

SNPs	等位基因/基因型	对照组	CIN组	CC组	$\chi^2$	P	HWE <sup>a</sup> , P
rs712	A	405(20.6)	181(21.8)	412(21.4)	0.633	0.729	0.469
	C	1561(79.4)	651(78.2)	1510(78.6)			
	A/A	38(3.9)	24(5.8)	46(4.8)	2.726	0.605	
	A/C	329(33.4)	133(32.0)	320(33.3)			
	C/C	616(62.7)	259(62.3)	595(61.9)			
rs7973450	A	1837(93.4)	751(90.3)	1739(90.5)	13.782	0.001*	0.093
	G	129(6.6)	81(9.7)	183(9.5)			
	A/A	855(87.0)	337(81.0)	783(81.4)	14.89	0.005*	
	A/G	127(12.9)	77(18.5)	173(18.0)			
	G/G	1(0.1)	2(0.5)	5(0.6)			

\*P < 0.017(Bonferroni校正, n = 3)。

表 3 rs7973450 在 CIN 组、CC 组和对照组间等位基因和基因型频率的两两比较 [n(%)]

Tab. 3 Pairwise comparison of allele and genotype frequencies of rs7973450 among CIN group, CC group, and control group [n(%)]

等位基因/基因型	A	G	A/A	A/G	G/G
对照组	1837(93.4)	129(6.6)	855(87.0)	127(12.9)	1(0.1)
CIN组	751(90.3)	81(9.7)	337(81.0)	77(18.5)	2(0.5)
CC组	1739(90.5)	183(9.5)	783(81.4)	173(18.0)	5(0.6)
CIN vs 对照组	$\chi^2$	8.484		9.444	
	P	0.004*		0.009*	
	OR(95%CI)	0.651(0.487 ~ 0.871)			
CC vs 对照组	$\chi^2$	11.535		12.637	
	P	$7.00 \times 10^{-4}$ *		0.002*	
	OR(95%CI)	0.667(0.529 ~ 0.844)			
CC vs CIN	$\chi^2$	0.031		0.058	
	P	0.861		0.971	
	OR(95%CI)	1.024(0.778 ~ 1.350)			

对 KRAS 基因 3'UTR 区域的 2 个 SNP 位点与宫颈癌不同临床分期的相关性分析结果显示, rs7973450 位点在各组间的等位基因频率分布差异具有统计学意义(P = 0.007), 见表 6。进一步进行组间两两比较, 结果可见, 该位点等位基因在 I 期组与对照组间的分布频率差异具有统计学意义(P = 0.004), 但在 II 期组与对照组、III ~ IV 期组与对照组各组间的分布频率的差异无统计学意

义(Bonferroni 校正, P > 0.008), 见表 7 (其余组间的分布差异分析未显示)。以上结果表明, rs7973450 位点可能与 CC 的临床分期具有相关性, 该位点等位基因 A 可能是宫颈癌 I 期的保护性因素(P = 0.004, OR = 0.698, 95%CI 0.528 ~ 0.890)。

连锁不平衡分析结果显示, KRAS 基因 3' UTR 区域的 2 个 SNP 位点 rs712 和 rs7973450 存在强连锁(D' > 0.8)。进一步构建 rs712-

表 4 *KRAS* 基因中 2 个 SNP 在不同病理类型 CC 病例组和对照组间等位基因和基因型分布情况 [n(%)]Tab. 4 The allelic and genotypic distribution of two SNPs in *KRAS* gene among different pathological types of CC case and control groups [n(%)]

SNPs	等位基因/基因型	对照组	SCC组	AC组	$\chi^2$	<i>P</i>
rs712	A	405(20.6)	342(21.4)	70(21.6)	0.416	0.812
	C	1561(79.4)	1256(78.6)	254(78.4)		
	A/A	38(3.9)	35(4.4)	11(6.8)		
	A/C	329(33.4)	272(34.0)	48(29.6)		
	C/C	616(62.7)	492(61.6)	103(63.6)		
rs7973450	A	1837(93.4)	1452(90.9)	287(88.6)	13.438	0.001*
	G	129(6.6)	146(9.1)	37(11.4)		
	A/A	855(87.0)	655(82.0)	128(79.0)		
	A/G	127(12.9)	142(17.8)	31(19.1)		
	G/G	1(0.1)	2(0.2)	3(1.9)		

\* $P < 0.017$ (Bonferroni校正,  $n = 3$ )。

表 5 rs7973450 在 SCC 组、AC 组和对照组间等位基因和基因型频率的两两比较 [n(%)]

Tab. 5 Pairwise comparison of allele and genotype frequencies of rs7973450 among SCC group, AC group, and control group [n(%)]

等位基因/基因型	A	G	A/A	A/G	G/G
对照组	1837(93.4)	129(6.6)	855(87.0)	127(12.9)	1(0.1)
SCC	1452(90.9)	146(9.1)	655(82.0)	142(17.8)	2(0.2)
AC	287(88.6)	37(11.4)	128(79.0)	31(19.1)	3(1.9)
SCC vs 对照组	$\chi^2$	8.207		8.754	
	<i>P</i>	0.004*		0.013*	
	<i>OR</i> (95% <i>CI</i> )	0.698(0.546 ~ 0.894)			
AC vs 对照组	$\chi^2$	9.764		17.117	
	<i>P</i>	0.002*		$2.00 \times 10^{-4}$ *	
	<i>OR</i> (95% <i>CI</i> )	0.545(0.370 ~ 0.801)			
SCC vs AC	$\chi^2$	1.630		6.924	
	<i>P</i>	0.202		0.031	
	<i>OR</i> (95% <i>CI</i> )	1.282(0.875 ~ 1.879)			

rs7973450 单倍型, 对于分布频率大于 3% 的单倍型进行组间分布差异研究。结果显示, rs712A-rs7973450G 这一单倍型在 CIN 组 ( $P = 4.00 \times 10^{-4}$ ) 和对照组、CC 组和对照组间 ( $P = 3.84 \times 10^{-5}$ ) 的频率分布差异均具有统计学意义, 该单倍型可能与更高的 CIN ( $OR = 1.714$ , 95%*CI* 1.269 ~ 2.314) 和 CC ( $OR = 1.667$ , 95%*CI* 1.305 ~ 2.131) 发生风险相关; 而单倍型 rs712A-rs7973450A 可能是 CC 发生的保护性因素 ( $P = 0.012$ ,  $OR = 0.790$ , 95%*CI* 0.658 ~ 0.950), 但该单倍型与 CIN 发生

风险无相关性 ( $P = 0.064$ )。另外, 单倍型 rs712C-rs7973450A 在各组间的分布频率的差异无统计学意义 ( $P = 0.539$  和 0.582), 见表 8。

#### 2.4 *KRAS* 基因 2 个 SNP 位点的连锁不平衡与单倍型构建

连锁不平衡分析结果显示, *KRAS* 基因 3' UTR 区域的两个 SNP 位点 rs712 和 rs7973450 存在强连锁 ( $D' > 0.8$ )。进一步构建 rs712-rs7973450 单倍型, 对于分布频率大于 3% 的单倍型进行组间分布差异研究。结果显示, rs712A-

表6 KRAS基因中2个SNP在不同临床分期CC病例组和对照组间等位基因和基因型分布情况 [n(%)]

Tab. 6 The allelic and genotypic distribution of two SNPs in KRAS gene among different clinical stages of CC case and control groups [n(%)]

SNPs	等位基因/基因型	对照组	I期	II期	III~IV期	$\chi^2$	P
rs712	A	405(20.6)	276(22.1)	105(19.4)	31(23.1)	2.279	0.517
	C	1561(79.4)	972(77.9)	435(80.6)	103(76.9)		
	A/A	38(3.9)	33(5.3)	9(3.3)	4(6.0)	3.445	0.751
	A/C	329(33.4)	210(33.6)	87(32.2)	23(34.3)		
	C/C	616(62.7)	381(61.1)	174(64.5)	40(59.7)		
rs7973450	A	1837(93.4)	1132(90.7)	488(90.4)	119(88.8)	12.140	0.007*
	G	129(6.6)	116(9.3)	52(9.6)	15(11.2)		
	A/A	855(87.0)	510(81.7)	220(81.5)	53(79.1)	16.066	0.013
	A/G	127(12.9)	112(18.0)	48(17.8)	13(19.4)		
	G/G	1(0.1)	2(0.3)	2(0.7)	1(1.5)		

\* $P < 0.008$  (Bonferroni校正,  $n = 6$ )。

表7 rs7973450在不同临床分期CC病例组和对照组间等位基因分布频率的两两比较 [n(%)]

Tab. 7 Pairwise comparison of allele distribution frequencies of rs7973450 among different clinical stages of CC case groups and control group [n(%)]

	等位基因/基因型	A	G
	对照组	1837(93.4)	129(6.6)
	I期	1132(90.7)	116(9.3)
	II期	488(90.4)	52(9.6)
	III~IV期	119(88.8)	15(11.2)
I期 vs 对照组	$\chi^2$		8.099
	P		0.004*
	OR(95%CI)		0.685(0.528 ~ 0.890)
II期 vs 对照组	$\chi^2$		5.951
	P		0.015
	OR(95%CI)		0.659(0.470 ~ 0.923)
III~IV期 vs 对照组	$\chi^2$		4.215
	P		0.040
	OR(95%CI)		0.557(0.316 ~ 0.981)

rs7973450G这一单倍型在CIN组( $P = 4.00 \times 10^{-4}$ )和对照组、CC组和对照组间( $P = 3.84 \times 10^{-5}$ )的频率分布差异均具有统计学意义,该单倍型可能与更高的CIN( $OR = 1.714$ ,  $95\%CI 1.269 \sim 2.314$ )和CC( $OR = 1.667$ ,  $95\%CI 1.305 \sim 2.131$ )发生风险相关;而单倍型rs712A-rs7973450A可能是CC发生的保护性因素( $P = 0.012$ ,  $OR = 0.790$ ,  $95\%CI 0.658 \sim 0.950$ ),但该单倍型与CIN发生风险无相关性( $P = 0.064$ )。另外,单倍型rs712C-rs7973450A在各组间的分布频率的差异无统计学意义( $P = 0.539$ 和 $0.582$ ),见表8。

### 3 讨论

KRAS属于RAS基因家族,该基因编码一种小GTP酶(small GTPase),可作为一种“分子开关”调节下游MAPK和PI3K等信号通路的激活,调控细胞的生存、增殖与迁移<sup>[17]</sup>。近年来研究显示,KRAS基因突变与多种肿瘤发生相关,而80%以上的KRAS突变发生在其第12、13和61号密码子中,大多为编码区的错义突变,这些突变造成KRAS功能的改变,使下游信号通路被持

表 8 *KRAS* 基因 2 个 SNP 位点在 CIN 组、CC 组和对照组间的单倍型分析 [ $n(\%)$ ]  
 Tab. 8 Haplotype analysis of two SNP in *KRAS* gene among CIN, CC and control groups [ $n(\%)$ ]

位点	rs712-	rs7973450	
基因型	A/A	A/G	C/A
对照组	292.67(14.9)	112.33(5.7)	1544.3(78.6)
CIN组	102.31(12.3)	78.69(9.5)	648.7(78.0)
CC组	234.71(12.2)	177.29(9.2)	1504.30(78.3)
	$D'$	0.886	
	$r^2$	0.241	
CIN vs 对照组	$OR(95\%CI)$	0.796(0.625 ~ 1.014)	1.714(1.269 ~ 2.314)
	$P$	0.064	$4 \times 10^{-4*}$
	$D'$	0.910	
	$r^2$	0.272	
CC vs 对照组	$OR(95\%CI)$	0.790(0.658 ~ 0.950)	1.667(1.305 ~ 2.131)
	$P$	0.012*	$3.84 \times 10^{-5*}$
			0.958(0.821 ~ 1.117)

续激活,引起细胞的增殖、凋亡异常,从而导致肿瘤的发生<sup>[18-21]</sup>。而位于 *KRAS* 基因调控区域(例如 3'UTR 区域)的基因变异可能会通过影响 *KRAS* 基因的表达调控,导致 *KRAS* 基因相关的信号通路调控异常,从而与肿瘤发生风险相关<sup>[22-23]</sup>。本研究选取了位于 *KRAS* 基因 3'UTR 区域的 2 个 SNPs 位点(rs712 和 rs7973450),分析其与云南汉族人群 CIN 和 CC 发生风险的相关性,发现 rs797-3450(A>G)与 CIN 和 CC 发生风险相关。

近年来,miRNA 作为一种转录后调节因子,已成为肿瘤相关研究的一个热点。miRNA 可通过与靶基因的 3'UTR 区域序列互补结合来调节基因表达,发挥癌基因或抑癌基因作用<sup>[24-25]</sup>。*let-7* 是被广泛研究的 miRNA 家族,在多种肿瘤中发挥作用<sup>[26]</sup>。研究发现,*KRAS* 基因 mRNA 的 3'UTR 区域有 10 个 *let-7* 互补结合位点(*let-7* complementary binding sites, LCS),因此,*KRAS* 基因 3'UTR 区域的 SNPs 位点可能会对 *let-7* 对 *KRAS* 基因的表达调控产生影响<sup>[27]</sup>。本研究选取的 rs712 就位于 *let-7* 基因的 LCS1 内,在中国和墨西哥人群中的研究都显示 rs712(T>G)与结直肠癌的发生发展相关,且等位基因 T 被认为是肿瘤进展相关的风险因素<sup>[28-29]</sup>。在胃癌和乳腺癌的研究中同样发现该位点的 T 等位基因与更高的患病风险相关<sup>[30]</sup>。Lena J Chin 等<sup>[31]</sup>在针对 *KRAS* 基因 3'UTR 区域的 SNPs 与 NSCLC 的相关性研究中发现 rs712 与 NSCLC 的风险无相关性,这与本研究中该位点在

宫颈癌中的结果是一致的。以上研究结果显示,在不同研究中对 rs712 的分析结果不一致,可能是由于 rs712 在不同疾病中发挥的作用不一致,或各研究纳入的人群遗传背景以及样本量的差异造成的。

本研究发现 *KRAS* 基因 3'UTR 区域的另一个 SNP 位点 rs7973450 与云南汉族人群 CIN、CC 发生风险相关,该位点的 A 等位基因可能与更高的 CIN 和 CC 发生风险相关。Fu 等<sup>[32]</sup>研究发现 rs79-73450(A>G)与肾母细胞瘤的发生风险无相关性,Qian 等<sup>[33]</sup>的研究也报道了该位点与中国南方汉族人群神经胶质瘤的发生风险无相关性,而 Lin 等<sup>[34]</sup>的研究发现该位点的 GG 基因型可以增加神经母细胞瘤的发病风险。目前针对该位点的研究仍较少,且不同研究结果并不一致,这可能是由于不同的疾病类型、纳入人群的遗传背景以及样本量大小的差异造成的。鉴于本研究发现的该位点与云南汉族人群 CIN 和 CC 发生风险相关性,未来应该在更大的样本量和不同人群中研究该位点与 CIN 和 CC 之间的关联,并且可以通过功能研究进一步阐明该位点与 CIN 和 CC 发生风险相关的机制。

本研究结果显示,位于 *KRAS* 基因 3'UTR 区域的 rs712 和 rs7973450 之间存在强连锁关系,且 2 个 SNP 构建的单倍型 rs712A-rs7973450G 与更高的 CIN 和 CC 发生风险相关。Ruta Insodaite 等<sup>[35]</sup>也观察到该单倍型与喉鳞状细胞癌 LSCC 患者的

阳性淋巴结状态相关, 这提示单倍型 rs712A-rs79-73450G 可作为一种候选的肿瘤易感性的分子标记进行进一步的研究。

综上所述, 本研究发现位于 *KRAS* 基因 3'UTR 的 SNP 位点 rs7973450 及其相关的单倍型可能与云南汉族人群 CIN 和 CC 的发病风险相关。该位点位于 *KRAS* 基因 3'UTR 区域, 因此, 该位点及其相关的单倍型可能是通过影响 *KRAS* 基因相关 miRNA 与 *KRAS* 基因 mRNA 的相互作用来影响 *KRAS* 基因的表达及功能, 从而在 CIN 与 CC 的疾病进展中发挥作用, 但具体机制仍需进一步的功能研究来阐明。

### [参考文献]

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Zheng R, Zhang S, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. *Journal of the National Cancer Center*, 2022, 2(1): 1-9.
- [3] Crosbie E J, Einstein M H, Franceschi S, et al. Human papillomavirus and cervical cancer[J]. *Lancet*, 2013, 382(9895): 889-899.
- [4] Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application[J]. *Nature reviews Cancer*, 2002, 2(5): 342-350.
- [5] Bowden S J, Bodinier B, Kalliala I, et al. Genetic variation in cervical preinvasive and invasive disease: A genome-wide association study[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(4): 548-557.
- [6] Chen B, Yi C, Wang J, et al. A comprehensive study of CD44 rs 187115 variant and cancer risk in a central Chinese population[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 12949-12957.
- [7] Wang F, Shan S, Huo Y, et al. MiR-155-5p inhibits PDK1 and promotes autophagy via the mTOR pathway in cervical cancer[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 99: 91-99.
- [8] Huang L, Guo Z, Wang F, et al. KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 386.
- [9] Wang D, Liu Q, Ren Y, et al. Association analysis of miRNA-related genetic polymorphisms in miR-143/145 and KRAS with colorectal cancer susceptibility and survival [J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(4): BSR20204136.
- [10] Paranjape T, Heneghan H, Lindner R, et al. A 3' untranslated region KRAS variant and triple-negative breast cancer: a case-control and genetic analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(4): 377-386.
- [11] Li Z H, Pan X M, Han B W, et al. A let-7 binding site polymorphism rs712 in the KRAS 3' UTR is associated with an increased risk of gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(5): 3159-3163.
- [12] Hussien B M, Hidayat H J, Salihi A, et al. MicroRNA: A signature for cancer progression[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138: 111528.
- [13] Kim M, Slack F J. MicroRNA-mediated regulation of KRAS in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 84.
- [14] 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): 615-22.
- [15] Bhatla N, Aoki D, Sharma D N, et al. Cancer of the cervix uteri[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2018, 143(S2): 22-36.
- [16] WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention [M]. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [17] Simanshu D K, Nissley D V, McCormick F. RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease[J]. *Cell*, 2017, 170(1): 17-33.
- [18] Zhu G, Pei L, Xia H, et al. Role of oncogenic KRAS in the prognosis, diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2021, 20(1): 143.
- [19] Li Z, Chen Y, Wang D, et al. Detection of KRAS mutations and their associations with clinicopathological features and survival in Chinese colorectal cancer patients[J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(4): 1589-1598.
- [20] Fernández-Medarde A, Santos E. Ras in cancer and developmental diseases[J]. *Genes Cancer*, 2011, 2(3): 344-358.
- [21] Hu H, Cheng R, Wang Y, et al. Oncogenic KRAS signaling drives evasion of innate immune surveillance in lung adenocarcinoma by activating CD47 [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(2): e153470.
- [22] Kumar M S, Swanton C. KRAS 3' UTR variants and stratification of breast-cancer risk[J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(4): 318-319.

- [23] Nelson H H, Christensen B C, Plaza S L, et al. KRAS mutation, KRAS-LCS6 polymorphism, and non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2010, 69(1): 51-3.
- [24] Ibrahim H, Lim Y C. KRAS -associated microRNAs in colorectal cancer[J] 2020, 14(2): 454.
- [25] Liu H, Huang J, Peng J, et al. Upregulation of the inwardly rectifying potassium channel Kir2.1 ( KCNJ2) modulates multidrug resistance of small-cell lung cancer under the regulation of miR-7 and the Ras/MAPK pathway[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 59.
- [26] Johnson S M, Grosshans H, Shingara J, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family[J]. *Cell*, 2005, 120(5): 635-647.
- [27] Ahmed E A, Rajendran P, Scherthan H. The microRNA-202 as a Diagnostic Biomarker and a Potential Tumor Suppressor [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 5870.
- [28] Gallegos-Arreola M P, Zúñiga-González G M, Gómez-Mariscal K, et al. Association of rs712 polymorphism in a let-7 microRNA-binding site of KRAS gene with colorectal cancer in a Mexican population[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2019, 22(3): 324-327.
- [29] Jiang Q H, Peng H X, Zhang Y, et al. rs712 polymorphism within let-7 microRNA-binding site might be involved in the initiation and progression of colorectal cancer in Chinese population[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2015, 8: 3041-3045.
- [30] Huang X, Yang Y, Guo Y, et al. Association of a let-7 KRAS rs712 polymorphism with the risk of breast cancer[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 16913-16920.
- [31] Chin L J, Ratner E, Leng S, et al. A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk[J]. *Cancer Research*, 2008, 68(20): 8535-8540.
- [32] 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]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(5): 1551-1563.
- [33] Guan Q, Yuan L, Lin A, et al. KRAS gene polymorphisms are associated with the risk of glioma: A two-center case-control study[J]. *Transl Pediatr*, 2021, 10(3): 579-586.
- [34] Lin A, Hua R X, Tang J, et al. KRAS rs7973450 A>G increases neuroblastoma risk in Chinese children: A four-center case-control study[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 7289-7295.
- [35] 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.