

miR-196a2 T>C 基因多态与宫颈癌易感性的关系研究

丁 波¹, 王美林², 张正东², 韩素萍³

(¹东南大学附属中大医院妇产科, 江苏 南京 210009; ²南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 211166; ³南京医科大学第一附属医院妇科, 江苏 南京 210036)

[摘要] 目的:探讨 miR-196a2 T>C 基因多态与江苏人群宫颈癌遗传易感性的关系。方法:选择经组织学确诊的 509 例新发宫颈癌患者作为病例组,与病例组人群不存在生物学相关的 562 例正常人群作为对照组,利用 Taqman 实时荧光定量 PCR 技术检测基因型;选择宫颈鳞状细胞癌标本 20 例,实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测各基因型 miR-196a 的表达量;Logistic 回归模型计算基因型与人群罹患宫颈癌的风险比(odds ratio, OR)及其 95%的可信区间(95%CI)。结果:携带 miR-196a2 突变纯合子 CC 个体罹患宫颈癌的风险明显高于 TT 基因型个体(OR=1.45, 95%CI: 1.04~2.09),携带 TC/CC 基因型个体增加约 33%的宫颈癌发病风险(OR = 1.33, 95%CI: 1.06~1.81);对宫颈鳞状细胞癌(cervical squamous cell carcinoma, CSCC)分析,与 TT 基因型比较,含突变纯合子 CC 个体罹患 CSCC 的风险明显升高(OR=1.49, 95%CI: 1.05~2.11),携带 TC/CC 基因型个体增加约 31%的 CSCC 发病风险(OR = 1.31, 95%CI: 1.00~1.73);RT-qPCR 显示,在宫颈鳞癌组织中 CC 及 CT/CC 基因型与 TT 基因型相比,成熟 miR-196a 的表达水平明显升高。结论:MiR-196a2 T>C 多态变异与中国江苏人群宫颈癌遗传易感性关联密切。

[关键词] miR-196a2; 多态性; 宫颈癌; 遗传易感性

[中图分类号] R711.74

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)01-085-05

doi:10.7655/NYDXBNS20160118

Polymorphism of the pre-mir-196a2 is associated with susceptibility of cervical cancer in Jiangsu population

Ding Bo¹, Wang Meilin², Zhang Zhengdong², Han Suping³

(¹Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, Nanjing 210009; ²Department of Epidemiology, NJMU, Nanjing 211166; ³Department of Gynecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210036, China)

[Abstract] **Objective:** To study the possible association between miR-196a2 gene polymorphisms and cervical cancer susceptibility among women in Jiangsu Province. **Methods:** The subjects included 509 cervical cancer cases and 562 cancer-free controls. We genotyped the functional polymorphism of miR-196a2(rs11614913) by TaqMan-Probe assay method, and used a sample of 20 cervical cancer tissues to test the expression of mature miR-196a by real-time quantitative reverse transcription. **Results:** When compared with TT genotype, the variant homozygote CC genotype were associated with increased cervical cancer risk (OR=1.45, 95%CI = 1.04~2.09) and cervical squamous cell carcinoma (CSCC) risk (OR=1.49, 95%CI = 1.05~2.11); moreover, CC genotype was associated with high miRNA levels in CSCC tissues, whereas TT genotype showed a relatively low expression in comparison to both TC/CC ($P=0.040$) and CC patients ($P=0.030$). **Conclusion:** The natural genetic variation in pre-miR-196a2 may affect the amount of mature miR-196a *in vivo*, and contribute to the susceptibility to cervical cancer.

[Key words] miR-196a2; polymorphism; cervical cancer; genetic susceptibility

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(01):085-089]

在世界范围内,宫颈癌的发病率居女性恶性肿瘤第 3 位。2012 年,全球每年宫颈癌新发病例约 53.0 万,占妇女新发癌症病例的 8%,其中超过 85%发生在发展中国家^[1]。我国每年仍约有 7.8 万妇女罹患宫

颈癌^[2],发病率以每年 2%~3%的速度增长,且我国宫颈癌的发病有逐渐年轻化的趋势^[3]。宫颈癌日益增加的发病率和病死率不仅严重威胁我国女性健康,而且给家庭、社会也带来严重的经济和心理负担。因此,宫

颈癌病因学及发病机制研究刻不容缓。

目前认为,宫颈癌由高危人乳头状瘤病毒(high-risk human papillomavirus, HR-HPV)感染引起^[4]。然而,研究发现除了 HPV 外,其他一些重要因素如遗传基因的多态性亦参与了宫颈癌的发生发展过程^[5],即人群对宫颈癌的发生存在遗传易感性。miR-196a2 是一类具有重要生物学功能的 miRNA,其多态性位点 T>C(rs11614913)位于 miR-196a2 前体结构上,该多态位点与中国汉族人群乳腺癌^[6]、结直肠癌^[7]及肝癌^[8]等的发病危险性有关。然而,miR-196a2 T>C 单核苷酸多态性与宫颈癌的发病关系目前仍知之甚少,因此本研究拟探讨 miR-196a2 T>C 基因多态性与江苏地区宫颈癌遗传易感性的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

2006 年 3 月—2010 年 12 月在南京医科大学第一附属医院、无锡市妇幼保健院、南通市肿瘤医院收治的新发宫颈癌患者共 509 例,均为无亲缘关系的江苏地区汉族人群,经组织病理学确诊,对照为相应医院定期常规体检的健康人群,根据病例的地区和年龄(± 5 岁)进行频数匹配,共 562 例。对两组被研究者进行面访调查,调查内容包括年龄、初潮、孕产次等相关信息,调查结束并知情同意后获取 3~5 mL 新鲜外周静脉血。收集南京医科大学第一附属医院 2008 年 7 月—2010 年 8 月新鲜的宫颈鳞状细胞癌标本 20 例,放入液氮保存备用。本研究得到南京医科大学医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 DNA 和 RNA 的提取

运用苯酚-氯仿法抽提 DNA,经 75%乙醇沉淀后得到 DNA,经 TE 溶解后放入-80℃保存;运用一步法 TRIzol 提取宫颈鳞癌组织的总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 浓度及纯度,RNA 产物置于-80℃保存。

1.2.2 基因分型

引物及 TaqMan 探针由美国 ABI 生物公司设计及合成,引物为 5'-CCTCGACGAAAACCGACTGA-3'(上游引物)和 5'-AGGTAGTTTCATGTTGTTGGGAT-TG-3'(下游引物)。反应在 ABI PRISM 7900HT 型荧光定量 PCR 仪上进行,实验反应体系为 5 μ L,其中 TaqMan Universal PCR Master Mix (2 \times)2.5 μ L,20 \times working stock of SNP Genotyping Assay 0.25 μ L,DNA 样本 0.6 μ L,添加无核酶双蒸水 1.65 μ L。每个样本均为双复孔,每个板子均设立阴性对照。PCR 循环条件:

95℃预变性 10 min,然后按 92℃变性 15 s,60℃退火及延伸 1 min,进行 40 个循环。

1.2.3 实验结果判读

rs11614913 位点的 2 个等位基因 T 和 C 的探针分别用 FAM 和 VIC 进行荧光标记,当等位基因为纯合子时,PCR 扩增过程仅能检测到对应的荧光,而样本为杂合子时,扩增仪能同时检测到 FAM 和 VIC 荧光。

1.2.4 荧光定量 PCR

由 ABI 生物公司设计及合成 miR-196a 和 U6 引物。miR-196a 引物:5'-CAGAAGGAATGATGCA-CAGCCAACAACA-3'(逆转录引物),5'-CGTCAGAA-GGAATGATGCACAG-3'(上游引物),5'-ACCTGCGT-AGGTAGTTTCATGT-3'(下游引物);U6 引物:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'(逆转录引物),5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'(上游引物),5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'(下游引物)。实验反应体系为 10 μ L,其中 TaqMan Universal PCR Master Mix (2 \times)5 μ L,50 \times SYBR Green I 0.2 μ L,RNA 模板 DNA 1.0 μ L,miR-196a 中 RT Primer (10 μ mol/L) 0.2 μ L,引物 0.4 μ L,加双蒸水补足体系至 10 μ L,反应条件:40℃反转录 30 min,95℃预变性 10 min,95℃变性 20 s,然后 62℃退火及 72℃延伸 30 s,进行 40 个循环。miR-196a 相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行计算, $\Delta\Delta Ct = Ct_{miR196a} - Ct_{U6}$ 。

1.3 统计学方法

采用统计软件为 SAS v.9.1.3。采用 χ^2 检验比较分类变量如产次、月经状态等在两组中的分布差异,student-t 检验比较数值型变量如年龄等的差异;采用单因素和多因素 Logistic 回归分析计算比值比(odds ratios,OR)及其 95%可信区间(confidence intervals,CI)以评估宫颈癌的相对危险度;分层分析和多元回归控制混杂因素对结果的影响;所有的统计检验均为双侧检验, $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组与对照组的一般情况比较

如表 1 所示,经统计学分析,病例组与对照组的年龄、绝经状况均无统计学意义($P = 0.489$ 和 $P = 0.582$),而病例组和对照组在初潮年龄($P < 0.001$)、初次生育年龄($P < 0.001$)及产次($P < 0.001$)有统计学差异。

2.2 miR-196a2 T>C 多态性与宫颈癌易感性的关系
如表 2 所示,miR-196a2 T>C 多态位点 TT、TC

和 CC 的基因型在病例组和对照组中的频率分别是 26.1%、52.1%、21.8% 和 32.2%、49.5%、18.3%。与 miR-196a2 野生纯合子 TT 基因型比较,携带突变纯合子 CC 个体罹患宫颈癌的风险明显升高($P=0.031$, $OR=1.45$, $95\%CI: 1.04\sim 2.09$),携带 TC/CC 基因型者增加约 33% 的宫颈癌发病风险 ($P=0.029$, $OR = 1.33$, $95\%CI: 1.06\sim 1.81$); 对宫颈鳞癌单独分析显示,与 TT 基因型比较,含突变纯合子 CC 个体罹患宫颈鳞癌的风险明显升高 ($OR=1.49$, $95\%CI: 1.05\sim 2.11$),携带 TC/CC 基因型者增加约 31% 的宫颈鳞癌发病风险 ($OR = 1.31$, $95\%CI: 1.00\sim 1.73$, 表 2)。miR-196a2 T>C 在对照组的基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡($\chi^2 = 0.043$, $P=0.836$)。

2.3 miR-196a2 T>C 与宫颈癌易感性关系的分层分析

由于 miR-196a2 T>C 的多态位点与宫颈癌发生有关,进行了分层分析,发现携带 miR-196a TC/CC 基因型增加发病风险的作用在初潮年龄 ≤ 15 岁(调整 OR 值为 1.49, $95\%CI: 1.05\sim 2.12$)、初次生育年龄 ≤ 25 岁(调整 OR 值为 1.61, $95\%CI: 1.10\sim 2.32$)、产次 ≥ 2 (调整 OR 值为 1.85, $95\%CI: 1.15\sim 2.97$),以及未绝经状态(调整 OR 值为 1.44, $95\%CI: 1.04\sim 2.11$)的女性中更为明显(表 3)。

表 1 宫颈癌病例和对照的统计学变量

Table 1 Demographic and selected variables in cervical cancer cases and controls

变量	病例组 (n=509)	对照组 (n=562)	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	46.35 \pm 8.95	45.93 \pm 9.78	0.489
初潮年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	15.48 \pm 2.37	14.51 \pm 1.55	0.001
初次生育年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	23.90 \pm 2.55	25.14 \pm 2.68	<0.001
产次[n(%)]			<0.001
0~1	271(53.3)	447(79.5)	
≥ 2	228(46.7)	115(20.5)	
绝经[n(%)]			0.582
否	343(67.4)	388(69.1)	
是	166(32.6)	174(30.9)	
肿瘤病理学分型[n(%)]			
鳞癌	482(94.6)		
腺癌	20(4.0)		
腺鳞癌	2(0.4)		
其他	5(1.0)		
临床分期[n(%)]			
CIN3	5(1.0)		
I	369(72.5)		
II	101(19.9)		
III	19(3.9)		
IV	3(0.5)		
未知	11(2.2)		

表 2 miR-196a2 T>C 基因多态性与宫颈癌易感性的关系

Table 2 miR-196a2 polymorphisms and cervical cancer

基因	宫颈癌组 (n=509)	宫颈鳞癌组 (n=482)	对照组 (n=562)	宫颈癌组 vs. 对照组		宫颈鳞癌组 vs. 对照组	
				P 值	调整 OR(95%CI) ^a	P 值	调整 OR(95%CI) ^a
基因型				0.069		0.098	
TT	133(26.1)	128(26.6)	181(32.2)		1.00(参照)		1.00(参照)
TC	265(52.1)	246(51.0)	278(49.5)	0.068	1.30(0.99~1.73)	0.122	1.25(0.96~1.65)
CC	111(21.8)	108(22.4)	103(18.3)	0.031	1.45(1.04~2.09)	0.028	1.49(1.05~2.11)
TC/CC	376(73.9)	354(73.9)	381(67.8)	0.029	1.33(1.06~1.81)	0.046	1.31(1.00~1.73)
等位基因				0.795		0.795	
T 等位基因	531(52.2)	502(52.1)	540(52.7)		1.00(参照)		1.00(参照)
C 等位基因	487(47.8)	462(47.9)	484(47.3)		1.05(0.89~1.24)		1.03(0.87~1.23)

a: 调整了年龄、初潮年龄、产次和是否绝经等因素。

2.4 miR-196a2 T>C 不同基因型 miR-196a 表达

宫颈鳞癌组织(20 例)包括 6 个 miR-196a2 TT 基因型,9 个 TC 基因型以及 5 个 CC 基因型。实时荧光定量 PCR 显示,TT、TC 和 CC 基因型宫颈鳞癌组织中成熟 miR-196a 相对表达量分别为: 1.28 ± 0.75 、 3.06 ± 2.19 、 3.35 ± 1.81 ; 与 miR-196a2 TT 基因型相比,CC 和 TC/CC 基因型组织中成熟 miR-196a 的表达量均增高 ($P=0.030$ 及 $P=0.040$); CC 基因型与 TC 基因型两组之间 miR-196a 的表达无统计学差异($P=0.807$); 线性趋势检验显示 3 组表达量

无明显的线性相关性($F=3.90$, $P=0.065$, 图 1)。

3 讨论

自 2008 年 Hu 等^[9]首次发现 miR-196a2 T>C 多态性与非小细胞肺癌预后具有显著的相关性后,miR-196a2 T>C 多态性逐渐成为单核苷酸多态性(SNPs)研究的明星,近年来多项研究报道了 miR-196a2 T>C 多态位点与各种肿瘤易感性的关系^[6-8,10-13]。

本研究在中国江苏汉族人群中探讨 miR-196a2 T>C 多态与宫颈癌遗传易感性的关系,共纳入 509

表 3 miR-196a2 T>C 基因多态性与宫颈癌易感性的分层分析
Table 3 Stratified analyses between the miR-196a2 genotypes and risk of cervical cancer

变量	病例组			对照组			P 值 ^a	调整 OR(95% CI) ^a
	总例数	TT[n(%)]	TT+CC[n(%)]	总例数	TT[n(%)]	TT+CC[n(%)]		
总计	509	133(26.1)	376(73.9)	562	181(32.2)	381(67.8)	0.029	1.33(1.06~1.81)
年龄								
≤46 岁	235	73(31.1)	162(68.9)	273	106(38.8)	167(61.2)	0.068	1.42(0.98~2.05)
>46 岁	274	60(21.9)	214(78.1)	289	75(26.0)	214(74.0)	0.260	1.26(0.87~1.85)
初潮年龄								
≤15 岁	298	74(25.6)	224(74.4)	310	102(32.9)	208(67.1)	0.028	1.49(1.05~2.12)
>15 岁	211	59(28.0)	152(72.0)	252	79(31.3)	173(68.7)	0.427	1.19(0.77~1.74)
初产年龄								
≤25 岁	284	65(24.3)	219(75.7)	296	95(32.2)	201(67.8)	0.013	1.61(1.10~2.32)
>25 岁	225	68(28.6)	157(71.4)	266	86(32.9)	186(67.1)	0.738	1.08(0.74~1.57)
产次								
0~1	281	74(26.3)	207(73.7)	447	136(30.4)	311(69.6)	0.236	1.24(0.88~1.72)
≥2	228	59(28.5)	169(71.5)	115	45(39.1)	70(60.9)	0.012	1.85(1.15~2.97)
绝经状态								
绝经前	343	81(23.6)	262(76.4)	388	119(30.1)	269(69.9)	0.033	1.44(1.04~2.11)
绝经后	166	52(31.3)	115(67.7)	174	62(35.6)	112(64.4)	0.379	1.24(0.79~1.95)

a:调整了年龄、初潮年龄、产次和是否绝经等因素。

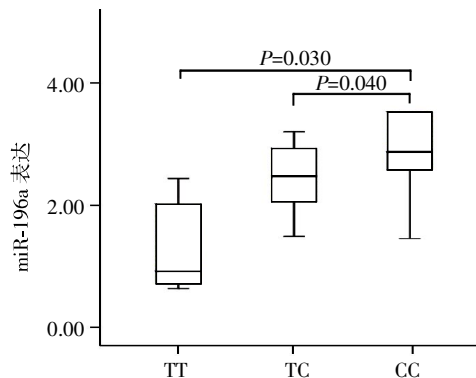


图 1 宫颈鳞癌组织中 TT、TC、CC 各基因型成熟 miR-196a 表达的比较

Figure 1 Analysis of mature miR-196a2 levels in three genotypes of 20 cervical cancer tissue specimens

例宫颈癌患者(宫颈鳞癌患者 482 例)及 562 例对照个体,采用 TaqMan-聚合酶链反应(TaqMan-PCR)方法分析基因型,结果发现与野生型纯合子 TT 比较,含突变纯合子 CC 个体罹患宫颈癌的风险明显升高(调整的 OR=1.45,95%CI=1.04~2.09);对宫颈鳞状细胞癌单独分析显示,CC 基因型较 TT 基因型增加约 49%的宫颈鳞癌(CSCC)发病风险(调整的 OR=1.49,95%CI:1.05~2.11);进一步的分层分析提示这种效应在初潮年龄≤15 岁、未绝经状态,尤其是在初次生育年龄≤25 岁及产次≥1 的女性中明显加强,可能原因是,早产和多产作为宫颈癌重要的危险因素与 miR-196a2 T>C 基因遗传变异之间存在着交互作用。然而,本研究结果与先前 Zhou 等^[14]

研究存在着较大差异,该研究选取了 226 例宫颈鳞状细胞癌和 306 例对照个体,运用限制性片段长度多态性-聚合酶链式反应(restriction fragment length polymorphism-polymerasechain reaction,RFLP-PCR)方法检测 miR-196a2 T>C 不同基因型,显示该多态位点与汉族人群宫颈鳞癌发病风险无明显相关性。分析两项研究结果差异的可能原因为:①两组研究所纳入的研究样本量大小的差异可能会导致研究结果的不同,大样本的病例对照研究能够保证研究结果的把握度;②两组人群分别来自不同地区,不同的环境因素可能导致不同的个体状态如生活方式等的差异及不同致癌物的接触;③两组研究均以医院为基础的研究,但与 Zhou 等^[14]不同的是,本组病例及对照样本来源于江苏省不同地区的多家医院,因此样本更具代表性;④Zhou 等^[14]的研究采用 RFLP-PCR 分型技术测定 miR-196a2 T>C 不同基因型,而本研究运用 TaqMan-PCR 基因分型方法,两组研究中实验方法的不同可能影响实验的准确性。

大量分子流行病学研究表明 miRNA 的单核苷酸多态性与一些肿瘤的发生相关,如乳腺癌、胃癌、肺癌、淋巴瘤等^[6-8,10-11],但目前对 miRNA 多态性发挥作用的确切机制尚不清楚。一般认为,这些 SNPs 的存在可能影响成熟 miRNAs 的结构/表达水平以及与靶位点的结合,进而影响 miRNAs 对靶基因的调控。本研究发现,在宫颈鳞癌组织中,miR-196a2 CC 基因型相对于 TT 基因型可增加成熟 miR-196a

的表达,提示在宫颈鳞癌的发生中,miR-196a2 CC 基因型可能通过增加成熟 miR-196a 而发挥重要作用。这种表达量的差异改变了 miR-196a 与下游靶基因的结合状态,同样可能在肺癌^[9,15]、乳腺癌^[16-17]的发生过程中存在;而在头颈部鳞状细胞癌,miR-196a2 T>C 多态性可引起头颈部鳞状细胞癌患者预后的差异,但并不引起成熟 miR-196a 表达的改变,其作用方式可能为 T→C 的变异导致成熟 miR-196a 结构的改变,进而影响 miRNAs 对靶基因的调控^[18]。

需要指出的是,本病例对照研究存在一些不足:HPV 感染是公认的宫颈癌的发病因素,但研究中宫颈癌患者缺乏 HPV 相关的数据资料。因为在临床中宫颈癌的患者并非常规行 HPV 检查,同时,HPV 检测价格相对比较昂贵,在城市和农村各医院还没有被广泛推广和使用,造成 HPV 值的缺失;另外,环境因素(吸烟、致癌物接触)、社会因素(教育程度、经济收入)和饮食习惯(高脂肪、饮酒)等与宫颈癌发病也相关,但本研究缺少相关的背景资料。

综上所述,本研究发现在中国江苏人群中 miR-196a2 T>C 多态性与宫颈癌的发生存在关联,在初潮年龄≤15岁、未绝经状态,尤其是初次生育年龄≤25岁,产次≥2的女性中这种风险的升高尤其显著,同时,miR-196a2 CC 基因型相对于 TC/CC 基因型可增加成熟 miR-196a 的表达。

[参考文献]

[1] Bosch FX. The path to eliminate cervical cancer in the world and the challenges of professional education. Preface[J]. Vaccine, 2012, 30(Suppl 5):xi-xii

[2] Li J, Kang LN, Qiao YL. Review of the cervical cancer disease burden in mainland China[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(5):1149-1153

[3] Shi JF, Canfell K, Lew JB, et al. The burden of cervical cancer in China: synthesis of the evidence[J]. Int J Cancer, 2012, 130(3):641-652

[4] Villa LL. Human papillomaviruses and cervical cancer[J]. Adv Cancer Res, 1997, 71:321-341

[5] Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, et al. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors[J]. Lancet, 2005, 366(9499):1784-1793

[6] Dai ZJ, Shao YP, Wang XJ, et al. Five common functional polymorphisms in microRNAs (rs2910164, rs2292832, rs11614913, rs3746444, rs895819) and the susceptibility to breast cancer: evidence from 8361 cancer cases and 8504

controls[J]. Curr Pharm Des, 2015, 21(11):1455-1463

[7] Zhan JF, Chen LH, Chen ZX, et al. A functional variant in microRNA-196a2 is associated with susceptibility of colorectal cancer in a Chinese population[J]. Arch Med Res, 2011, 42(2):144-148

[8] Qi P, Dou TH, Geng L, et al. Association of a variant in MIR 196A2 with susceptibility to hepatocellular carcinoma in male Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Hum Immunol, 2010, 71(6):621-66

[9] Hu Z, Dou TH, Geng L, et al. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival[J]. J Clin Invest, 2008, 118(7):2600-2608

[10] Xie WQ, Tan SY, Wang XF. MiR-146a rs2910164 polymorphism increases risk of gastric cancer: a meta-analysis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(41):15440-15447

[11] Li T, Niu L, Wu L, Gao X, et al. A functional polymorphism in microRNA-196a2 is associated with increased susceptibility to non-Hodgkin lymphoma[J]. Tumour Biol, 2015, 36(5):3279-3284

[12] Wang J, Wang Q, Liu H, et al. The association of miR-146a rs2910164 and miR-196a2 rs11614913 polymorphisms with cancer risk: a meta-analysis of 32 studies[J]. Mutagenesis, 2012, 27(6):779-788

[13] Ma XP, Zhang T, Peng B, et al. Association between microRNA polymorphisms and cancer risk based on the findings of 66 case-control studies[J]. PLoS One, 2013, 8(11):e79584

[14] Zhou B, Wang K, Wang Y, et al. Common genetic polymorphisms in pre-microRNAs and risk of cervical squamous cell carcinoma[J]. Mol Carcinog, 2011, 50(7):499-505

[15] Vinci S, Gelmini S, Pratesi N, et al. Genetic variants in miR-146a, miR-149, miR-196a2, miR-499 and their influence on relative expression in lung cancers[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(12):2073-2080

[16] Hoffman AE, Zheng T, Yi C, et al. microRNA miR-196a-2 and breast cancer: a genetic and epigenetic association study and functional analysis[J]. Cancer Res, 2009, 69(14):5970-5977

[17] Qi P, Wang L, Zhou B, et al. Associations of miRNA polymorphisms and expression levels with breast cancer risk in the Chinese population[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2):6289-6296

[18] Christensen BC, Avissar-Whiting M, Ouellet LG, et al. Mature microRNA sequence polymorphism in MIR196A2 is associated with risk and prognosis of head and neck cancer[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(14):3713-3720