

한국인 위암 발병과 H-RAS 유전자 다형성의 연관성 연구

차의과학대학교 의생명대학 의생명과학과, 아주대학교 의과대학 소화기내과학교실*

송희진 · 편정아 · 이광재* · 조성원* · 박규범

Study on Association between an H-RAS Gene Polymorphism and Gastric Cancer Development

Hee Jin Song, B.S., Jung A Pyun, M.S., Kwang Jae Lee, M.D., Ph.D.*,
Sung Won Cho, M.D., Ph.D.*, and Kyu Bum Kwack, Ph.D.

Department of Biomedical Science, College of Life Science, CHA University, Seongnam, Department of Gastroenterology,
Genomic Research Center for Gastroenterology, Ajou University School of Medicine*, Suwon, Korea

Background/Aims: Oncogenic RAS gene mutations have been frequently observed in many tumor types, and their associations with various cancers were reported. This study was conducted to evaluate the association between H-RAS T81C polymorphism and gastric cancer development. **Methods:** H-RAS T81C polymorphism was genotyped in 321 chronic gastritis (ChG) and 151 gastric cancer (GC) patients using GoldenGate[®] Assay kit. Logistic regression analysis adjusted for age and gender was performed to identify the differences of genotype and allele distributions between the each group. **Results:** All ChG and GC patients were in Hardy-Weinberg equilibrium. When the frequencies of H-RAS T81C genotype in each group were compared, the homozygous type of major allele TT was more frequent in GC group (62.9%) than ChG group (57.3%), while the frequencies of heterozygous type TC and homozygous type of minor allele CC were higher in ChG group than GC group (39.3% vs. 33.8%, 3.4% vs. 3.3%, respectively). In the results of logistic regression analyses adjusted for age and gender, the odds ratios were 0.845 (0.604-1.182), 0.799 (0.556-1.147), 0.741 (0.493-1.114) and 1.094 (0.366-3.270) for allele, codominant, dominant and recessive models, respectively. However, significant difference was not observed between two groups in any models. **Conclusions:** H-RAS T81C polymorphism was not associated with gastric cancer development in a Korean population. (**Korean J Gastroenterol 2010;56:78-82**)

Key Words: Stomach neoplasm; Polymorphism, Genetic; H-RAS gene

접수: 2010년 4월 2일, 승인: 2010년 6월 16일
연락처: 박규범, 463-836, 성남시 분당구 야탑동 222번지
차의과학대학교 의생명대학 의생명과학과
Tel: (031) 725-8376, Fax: (031) 725-8350
E-mail: kbkwack@cha.ac.kr

* 본 연구는 보건복지부(A010383)와 교육과학기술부의 대학중점연구소 지원연구사업(2009-0093821)으로 수행된 연구임.

Correspondence to: Kyu Bum Kwack, M.D.
Department of Biomedical Science, College of Life Science,
CHA University, 222, Yatap-dong, Bundang-gu, Seongnam
463-836, Korea
Tel: +82-31-725-8376, Fax: +82-31-725-8350
E-mail: kbkwack@cha.ac.kr

서 론

위암(gastric cancer)은 전세계에서 네 번째로 많이 발생하고 두 번째로 높은 사망률을 나타내며 발생률 및 사망률이 한국과 일본에서 특히 높다.¹ 위암 발생은 식이 섭취와 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 감염² 등의 환경적인 요인과 유전적 요인의 복합적인 영향을 받는 것으로 보고되었다. 위암과 관련된 유전적 요인은 암억제유전자,³ 암유전자,⁴ DNA 수선 유전자,⁵ 그리고 면역시스템에 작용하는 여러 유전자들의 변이가⁶ 알려져 있다. 그러나 위암의 정확한 발암 기전은 여전히 명확하지 않다.

RAS 유전자 돌연변이는 인체에서 흔히 발견할 수 있는 악성돌연변이 중의 하나로 H-RAS, N-RAS, K-RAS의 3가지 유전자로 나뉘어지며, 구조와 기능이 유사하다. 이러한 RAS 유전자의 돌연변이는 거의 대부분 codon 12, 13, 61에서 일어난다. 이들은 각각 서로 다른 암종에 관여하는 것으로 생각되며 모두 p21^{ras} 단백을 부호화한다. 이 p21^{ras} 단백질은 GTPase 기능에 의해 비활성화되지만, RAS 유전자에 돌연변이가 일어나면 종양유전자가 활성화되어 p21^{ras} 단백질 내의 GTPase 기능이 감소하게 되어 세포 성장을 촉진한다.^{7,8} RAS 유전자는 인간의 위장관 암, 폐암, 유방암 등의 발생과 진행에 주로 관계한다고 밝혀졌으며, 1982년에 Taparowsky 등⁹은 T81C (rs12628) 단일염기다형성과 인간의 여러 암종의 연관성을 보고한 바 있다. 그러나 H-RAS T81C 단일염기다형성에 대한 연구는 충분히 이루어 지지 않았으며 특히, 위암과의 연관성에 관한 연구는 많지 않고 그 결과도 아직 논란의 여지가 있다.

저자들은 한국인에서 위암과 H-RAS T81C 다형성과의 연관성을 확인하기 위해 위암환자와 만성 위염환자의 H-RAS T81C 다형성의 빈도를 비교·분석하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

이번 연구는 아주대학교 병원으로부터 위암 환자 151명 및 만성 위염 환자 321명의 혈액을 제공받아 이루어졌으며, 아주대학교의 임상시험 윤리위원회의 승인을 받아 시행하였다(AJIRB-GN2-07-152). 평균나이는 위암 환자군이 57.8±11.7세, 만성 위염 환자군이 55.2±7.2세였으며, 위암 환자군은 남성이 99명(65.6%), 여성이 52명(34.4%)이었고 만성 위염 환자군은 남성이 158명(49.2%), 여성이 163명(50.8%)이었다. 모든 연구 대상은 *H. pylori*에 양성이었다(Table 1).

2. 혈액에서 DNA 추출

장형 위암 환자와 만성 위염 환자들로부터 5 mL의 혈액을 채취하여 다음과 같은 방법으로 genomic DNA (gDNA)를 정제하였다. 준비된 혈액을 15 mL 시험관에 담고 적혈구 용해 완충액을 10 mL 첨가하여 5분간 두었다가 실온에서 4,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액을 버린 후, 동일량의 세포 용해 완충액(Intron Biotechnology Inc., Seungnam, Korea)을 첨가하였다. 백혈구가 잘 분해되도록 잘 섞고 실온에서 12시간 둔 후, RNA 분해효소를 1 mL 당 5 U를 첨가하고 다시 37°C에서 1시간, 실온에서 5분 두었다. 총 용량의 1/3만큼 단백질 침전 용액(Intron Biotechnology Inc.)을 첨가한 후, 실온에서 1,300 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 시험관에 옮겼다. 동일량의 이소프로판올을 첨가하고 단백질 침전물이 보일 때까지 섞은 후, 실온에서 1,300 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 80%에탄올을 1 mL 넣은 후, 실온에서 1,300 rpm으로 10분간 원심분리를 3회 수행한 후 상층액을 버리고, 실온에서 30분간 건조시켰다. 침전물에 1×TE용액을 첨가하여 50 ng/μL의 농도로 조정된 후에 유전자형을 분석할 때까지 -20°C에 보관하였다.

3. H-RAS 단일염기다형성 유전자형 분석

250 ng의 gDNA를 사용하였고 GoldenGate[®] Assay kit (Illumina Inc., San Diego, CA, USA)를 이용하여 유전자형을 분석하였다. 이는 대립유전자-특이적 프라이머 연장반응(allele-specific primer extension)을 통해 이루어진다.¹⁰ 단일염기다형의 대립형질은 Cy3와 Cy5의 형광 강도로 구분하였으며 BeadArray Reader (Illumina, Inc.)를 이용하여 형광 신호를 분

Table 1. Clinicopathological Characteristics of the Subjects

Characteristic	Chronic gastritis (n=321)	Gastric cancer (n=151)	p-value*
Gender			
Male	158 (49.2%)	99 (65.6%)	0.0009
Female	163 (50.8%)	52 (34.4%)	
Age (years)			
Mean±SD	55.2±7.2	57.8±11.7	<0.0001
Range	27-76	28-90	
Lauren's classification			
Intestinal	-	115 (76.2%)	
Diffuse	-	18 (11.9%)	
Mixed	-	7 (4.6%)	
Unclassified	-	11 (7.3%)	

SD, standard deviation.

* Calculated by χ^2 -tests.

Table 2. Genotype and Allele Frequencies of the H-RAS T81C Polymorphism for Gastric Cancer and Chronic Gastritis Patients

	Chronic gastritis (%)	Gastric cancer (%)
Genotype		
TT	184 (57.3)	95 (62.9)
TC	126 (39.3)	51 (33.8)
CC	11 (3.4)	5 (3.3)
Allele		
T	494 (77.0)	241 (79.8)
C	148 (23.1)	61 (20.2)

석하였고, 이미지 파일의 신호의 강도를 BeadStudio III software (Illumina, Inc.)로 측정하여 단일염기다형성의 유전자형을 결정하였다.

4. 통계학적 분석

실험에 사용된 만성 위염 환자군과 위암 환자군의 선별과 유전형의 결정에 오류가 없는지 검사하기 위하여 하디와인버그평형 검정을 χ^2 테스트로 수행하였다. 질병과 단일염기다형성의 연관성은 만성 위염 환자군과 위암 환자군의 대립인자형 빈도와 유전자형 빈도를 산출하여 평가하였으며 유전자형 및 대립인자형 분포의 차이는 나이와 성별을 보정한 로지스틱 회귀분석으로 결정하였다. 분석 모형은 공우성 (AA vs. AB vs. BB), 우성(AA vs. AB plus BB), 열성(AA plus AB vs. BB)모형으로 분류하였으며 모든 분석은 SAS (version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC, USA)를 사용하여 수행하였다.

결 과

1. H-RAS T81C 다형성과 위암의 연관성 분석

만성 위염 환자군(p=0.06) 및 위암 환자군(p=0.56)은 하디와인버그평형 상태에 있는 것을 확인하였다. 만성 위염 환자군과 위암 환자군의 H-RAS 유전자형 빈도의 차이를 관찰하기 위해 나이와 성별을 보정하여 로지스틱 회귀분석을 수행한 결과, 위암 환자군에서 다수 대립인자의 동형 유전자형인 TT는 95명(62.9%), 이형 유전자형인 TC는 51명(33.8%), 소수 대립인자의 동형 유전자형인 CC는 5명(3.3%)인 반면에, 만성 위염 환자군에서는 TT는 184명(57.3%), TC는 126명(39.3%), CC가 11명(3.4%)이었다. 즉 TT는 만성 위염 환자군보다 위암 환자군에서 높은 빈도를 보였고, 이형 유전자형인 TC (39.3%)와 소수 대립인자의 동형 유전자형인 CC (3.4%)는 위암 환자군에 비해 위염 환자군에서 높은 빈도를

Table 3. Logistic Regression Analyses for Association between the H-RAS T81C Polymorphism and Gastric Cancer

Model	Odds ratio	Confidence interval	p-value*
Allele	0.845	0.604-1.182	0.325
Co-dominant	0.799	0.556-1.147	0.224
Dominant	0.741	0.493-1.114	0.150
Recessive	1.094	0.366-3.270	0.873

* Calculated by logistic regression analyses adjusted for age and gender.

보였다(Table 2). 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과, 대립인자형(T vs. C)의 교차비(odds ratio)는 0.845 (0.604-1.182), 공우성(TT vs. TC vs. CC)의 교차비는 0.799 (0.556-1.147), 우성(TT vs. TC plus CC)의 교차비는 0.741 (0.493-1.114), 열성(TT plus TC vs. CC)의 교차비는 1.094 (0.366-3.270)였다. 그러나 대립인자형(p=0.325), 공우성(p=0.224), 우성(p=0.150) 및 열성(p=0.873)의 모든 모형에서 만성 위염 환자군과 위암 환자군 사이에 유의한 차이는 없었다(Table 3).

고 찰

RAS 유전자는 분자적 변환을 통해 세포 증식과 분화를 조절하는 과정에 작용하고, 위암에서 과발현하여 세포증식을 촉진한다고 알려져 있다.^{11,12} RAS 유전자는 미소 부수체(minisatellite) 다형성과 돌연변이에 의해 분자적 변이가 일어나는 것으로 밝혀졌지만, 단일염기다형성에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다.¹³

K-RAS는 대부분 췌장암, 결장직장암, 비소세포 폐암에서 발현되는 것으로 보고되었다.¹⁴ K-RAS의 돌연변이는 산발성 결장직장암의 15-68%에서 발견되며,¹⁵ K-RAS의 돌연변이의 암화 기여도는 비슷한 유전배경을 지닌 세포주에서도 일정하지 않고 세포 내 유전인자의 발현 환경에 따라서 다면적 가능성을 보였다.¹⁶ 그러나 위암에서는 K-RAS 돌연변이가 드물게 관찰된다.¹¹

H-RAS는 선편평상피암종, 방광암, 신장암에서 발현된다고 알려졌고 H-RAS 돌연변이는 주로 방광암에서 발견되었는데¹⁷⁻²¹ 위암에서도 발현이 증가한다고 보고한 바 있다.²² H-RAS 돌연변이가 일어날 때에는 codon¹²의 두 번째 염기가 가장 민감하다고 한다.²³ H-RAS의 D 인트론은 IDX라는 엑손을 추가로 가지고 있는데,²⁴ H-RAS 81은 IDX 포함물을 조절하는 H-RAS의 D2 인트론의 또 다른 단일염기다형성을 나타내 주는 표지자 역할을 할 수도 있다.²⁵ 또한 감상선암에서 H-RAS T81C 다형성의 존재가 H-RAS mRNA의 과발현, 과량의 p21 이성질체 및 높은 비율로 존재하는 DNA 합

성기 단계의 종양세포와 연관성이 있으며, H-RAS T81C 다형성이 활성화된 p21 이성질체의 과발현을 통해 이배수체를 유도할 것이라고 하였다.²⁶ H-RAS T81C 단일염기다형성 분포는 다양한 인종에서 유전적으로 다르게 나타나는 것으로 관찰되며,²⁷ H-RAS 81CC 동형 유전자형을 가진 경우에 방광암²⁸과 구강암의 위험성이 2배 높다는 보고도 있었다.²⁹ 뿐만 아니라 H-RAS 81TC와 81CC 유전자형의 조합은 중국인에서 위암과 관련이 있다는 보고가 있었다.⁴ 또한 TC와 CC 유전자형의 조합과 TT 유전자형을 비교·분석한 결과, TC와 CC 유전자형의 조합을 가진 경우에 위암의 위험도가 3.65배로 높았다. 반면 동일한 연구에서 H-RAS T81C 다형성과 대장암 및 직장암과의 연관성은 확인되지 않았다. 이는 H-RAS T81C 다형성이 위암 발생에 작용하는 강한 유전적 요인임을 제시하였다.

이번 연구는 한국인에서 위암과 H-RAS T81C 유전자 다형성의 연관성을 알아보기 위해 위암 환자군과 만성 위염 환자군에서 유전자형을 분석하였으며, 위암 환자군과 만성 위염 환자군에서의 H-RAS T81C 유전자 다형성의 유전자형 및 대립인자형 분포에서 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 이는 앞서 보고된 Zhang 등⁴의 중국인 위암을 대상으로 한 연구 결과와 대조되는 결과이다.

이번 연구에서는 한국인의 위암 연구에 보다 적합한 표본 선정을 위해 *H. pylori*에 감염된 환자만을 모집하여 연구에 이용하였다. 이는 강한 환경적 요인인 *H. pylori* 감염에 대한 영향을 제어한 상태에서 위암의 발생에 영향을 미치는 유전적 요인을 찾아내는데 효과적일 것이라고 생각했기 때문이다. 또한 한국인의 20세 이상의 성인 90%가 *H. pylori*에 감염되어 있으므로 *H. pylori* 양성 만성 위염 환자군이 *H. pylori* 음성인 건강한 정상군보다 위암 환자군에 대한 대조군으로서 더욱 적합할 것이다. 이번 연구에 포함된 위암 환자군에는 대부분의 장형 위암이 포함되어었는데(76.2%, Table 1). 장형 위암의 경우 미만형 위암에 비해 *H. pylori*의 영향을 더 많이 받는 것으로 보고되어 감염률이 높은 한국인의 위암과 밀접한 관련이 있다.¹ 이러한 표본 선정의 차이가 중국인 위암의 H-RAS T81C 유전자 다형성 연구 결과와 본 연구에서의 결과의 차이에 영향을 미칠 수 있을 것이다. H-RAS T81C 유전자 다형성과 여러 암과의 연관성이 보고되고 있지만, 이것이 암을 발생시키는데 관여하는 정확한 기전은 아직 밝혀지지 않았다. 또한 실제로 T81C 다형성은 아미노산의 변화를 일으키지 않기 때문에 단백질 구조에 영향을 미치지 않으며, 위암에서 H-RAS가 과발현된다는 보고²²가 있으나 T81C 다형성과 위 조직에서 H-RAS 발현량 증가 연관성에 대한 보고는 없었다. Zhang 등⁴의 보고에서는 T81C 다형성이 다른 기능적인 변이와 연관비평형 관계에 있을 수 있다고 언급하였으나 좀 더 체계적인 연구가 필요

할 것이며, T81C 다형성과 위암을 포함한 여러 암종과의 연관성을 뒷받침하기 위해서는 명확한 기전을 밝혀내기 위한 연구가 매우 중요할 것이다.

이번 연구에서 H-RAS T81C 유전자 다형성과 한국인 위암환자와의 연관성을 관찰할 수 없었으므로, 한국인의 위암 발생에 H-RAS T81C 유전자 다형성은 별로 중요하게 작용하지 않는 것으로 보인다.

요 약

목적: H-RAS T81C 다형성은 여러 암종의 발생과 연관성이 있음이 보고되었으며 특히 중국인에서 위암의 발생과 유의한 연관성이 보고되었다. 이번 연구는 한국인의 위암과 H-RAS T81C 다형성의 연관성을 알아보기 위하여 위암 환자군과 만성 위염 환자군의 빈도 분포를 비교·분석하였다.

대상 및 방법: G-DEX™ blood genomic DNA purification kits를 이용하여 위암 환자 151명, 만성 위염 환자 321명 혈액으로부터 gDNA를 정제한 후, Picogreen dsDNA 정량시약을 이용하여 정량하였다. H-RAS 단일염기다형성 유전자형은 GoldenGate® Assay kit을 사용하여 분석하였고 유전자형 및 대립인자형 분포의 차이는 나이와 성별을 보정한 로지스틱 회귀분석으로 분석하였다. **결과:** 만성 위염 환자군과 위암 환자군의 H-RAS T81C 유전자형 빈도의 차이를 관찰한 결과, 다수 대립인자의 동형 유전자형인 TT는 만성 위염 환자군(57.3%)에 비하여 위암 환자군(62.9%)에서 높은 빈도를 보였고, 이형 유전자형인 TC와 소수 대립인자의 동형 유전자형인 CC는 위암 환자군에 비해 만성 위염 환자군에서 높은 빈도를 보였다(각각 39.3% vs. 33.8%, 3.4% vs. 3.3%). 그러나 대립인자형, 공우성, 우성 및 열성의 모든 모형에서 로지스틱 회귀분석을 하였을 때, 두 그룹 사이에서 유의한 차이는 없었다. **결론:** 이번 연구에서는 H-RAS T81C 다형성과 한국인 위암환자와의 연관성을 확인할 수 없어 H-RAS T81C 다형성이 한국인 위암 발생에 중요하지 않을 것으로 생각한다.

색인단어: 위암, 유전자 다형성, H-RAS

참고문헌

1. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006;12:354-362.
2. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. N Engl J Med 1995;333:32-41.
3. De Feo E, Persiani R, La Greca A, et al. A case-control study on the effect of p53 and p73 gene polymorphisms on

- gastric cancer risk and progression. *Mutat Res* 2009;675:60-65.
4. Zhang Y, Jin M, Liu B, et al. Association between H-RAS T81C genetic polymorphism and gastrointestinal cancer risk: a population based case-control study in China. *BMC Cancer* 2008;8:256.
 5. Hussain SK, Mu LN, Cai L, et al. Genetic variation in immune regulation and DNA repair pathways and stomach cancer in China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2304-2309.
 6. Shibata T, Tahara T, Hirata I, Arisawa T. Genetic polymorphism of interleukin-17A and -17F genes in gastric carcinogenesis. *Hum Immunol* 2009;70:547-551.
 7. Malumbres M, Pellicer A. RAS pathways to cell cycle control and cell transformation. *Front Biosci* 1998;3:d887-d912.
 8. Barbacid M. Ras genes. *Annu Rev Biochem* 1987;56:779-827.
 9. Taparowsky E, Suard Y, Fasano O, Shimizu K, Goldfarb M, Wigler M. Activation of the T24 bladder carcinoma transforming gene is linked to a single amino acid change. *Nature* 1982;300:762-765.
 10. Hyten DL, Song Q, Choi IY, et al. High-throughput genotyping with the GoldenGate assay in the complex genome of soybean. *Theor Appl Genet* 2008;116:945-952.
 11. Yoo J, Park SY, Robinson RA, Kang SJ, Ahn WS, Kang CS. Ras gene mutations and expression of Ras signal transduction mediators in gastric adenocarcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:1096-1100.
 12. Crespo P, León J. Ras proteins in the control of the cell cycle and cell differentiation. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:1613-1636.
 13. Langdon JA, Armour JA. Evolution and population genetics of the H-ras minisatellite and cancer predisposition. *Hum Mol Genet* 2003;12:891-900.
 14. Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003;3:11-22.
 15. Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Sato Y, Niitsu Y. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol* 2006;41:185-192.
 16. Keller JW, Franklin JL, Graves-Deal R, Friedman DB, Whitwell CW, Coffey RJ. Oncogenic KRAS provides a uniquely powerful and variable oncogenic contribution among RAS family members in the colonic epithelium. *J Cell Physiol* 2007;210:740-749.
 17. Kiaris H, Spandidos DA, Jones AS, Vaughan ED, Field JK. Mutations, expression and genomic instability of the H-ras proto-oncogene in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Br J Cancer* 1995;72:123-128.
 18. Fujita J, Kraus MH, Onoue H, et al. Activated H-ras oncogenes in human kidney tumors. *Cancer Res* 1988;48:5251-5255.
 19. Fitzgerald JM, Ramchurren N, Rieger K, et al. Identification of H-ras mutations in urine sediments complements cytology in the detection of bladder tumors. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:129-133.
 20. Czerniak B, Cohen GL, Etkind P, et al. Concurrent mutations of coding and regulatory sequences of the Ha-ras gene in urinary bladder carcinomas. *Hum Pathol* 1992;23:1199-1204.
 21. Zhu D, Xing D, Shen X, Liu J. A method to quantitatively detect H-ras point mutation based on electrochemiluminescence. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;324:964-969.
 22. Ohuchi N, Hand PH, Merlo G, et al. Enhanced expression of c-Ha-ras p21 in human stomach adenocarcinomas defined by immunoassays using monoclonal antibodies and in situ hybridization. *Cancer Res* 1987;47:1413-1420.
 23. Bohle RM, Brettreich S, Repp R, Borkhardt A, Kosmehl H, Alt-mannsberger HM. Single somatic ras gene point mutation in soft tissue malignant fibrous histiocytomas. *Am J Pathol* 1996;148:731-738.
 24. Cohen JB, Broz SD, Levinson AD. Expression of the H-ras proto-oncogene is controlled by alternative splicing. *Cell* 1989;58:461-472.
 25. Guil S, Gattoni R, Carrascal M, Abián J, Stévenin J, Bach-Elias M. Roles of hnRNP A1, SR proteins, and p68 helicase in c-H-ras alternative splicing regulation. *Mol Cell Biol* 2003;23:2927-2941.
 26. Castro P, Soares P, Gusmão L, Seruca R, Sobrinho-Simões M. H-RAS 81 polymorphism is significantly associated with aneuploidy in follicular tumors of the thyroid. *Oncogene* 2006;25:4620-4627.
 27. Sugimura H, Caporaso NE, Modali RV, et al. Association of rare alleles of the Harvey ras protooncogene locus with lung cancer. *Cancer Res* 1990;50:1857-1862.
 28. Johne A, Roots I, Brockmüller J. A single nucleotide polymorphism in the human H-ras proto-oncogene determines the risk of urinary bladder cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:68-70.
 29. Sathyan KM, Nalinakumari KR, Abraham T, Kannan S. Influence of single nucleotide polymorphisms in H-Ras and cyclin D1 genes on oral cancer susceptibility. *Oral Oncol* 2006;42:607-613.