·临床研究·

KRAS、*NRAS* 高频突变基因在高低位直肠癌中的分布差异及临床意义

叶繁斌，陈雨薇，周璐青

【摘要】目的　探讨克尔斯滕鼠肉瘤病毒癌基因同源物（*KRAS*）与神经母细胞瘤鼠肉瘤病毒癌基因同源物（*NRAS*）基因突变在不同解剖部位直肠癌中的分布差异及其临床意义。**方法**　回顾性收集 2018 年 10 月至 2020 年 10 月丽水市人民医院收治的直肠癌患者 164 例，根据肿瘤下缘距肛缘距离分为高位组（n=88）与低位组（n=76）。收集其临床资料及随访数据，荧光 PCR 法检测肿瘤组织中 *KRAS*、*NRAS* 基因突变状态，Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，Log-rank 检验两组预后差异，Cox 比例风险回归模型筛选预后独立影响因素。**结果**　164 例患者中，55 例（33.54%）存在 *KRAS* 突变，15 例（9.15%）存在 *NRAS* 突变，其中 2 例（1.22%）同时存在 *KRAS* 及 *NRAS* 突变（均为低位组）。低位组 *KRAS* 突变率（47.37%，36/76）显著高于高位组（21.59%，19/88）（χ^2=12.16，P < 0.05）；两组 *NRAS* 突变率差异无统计学意义（χ^2=0.33，P > 0.05）。*KRAS* 突变与肿瘤部位（低位）、分化程度（中低分化）、N 分期（N1 ～ N2）及 TNM 分期（III ～ IV 期）显著相关（均 P < 0.05）；*NRAS* 突变与各项临床病理特征均无显著关联（均 P > 0.05）。164 例患者中位随访 36 个月（18 ～ 60 个月），共发生复发转移 32 例（19.51%），死亡 52 例（31.71%）；低位组复发转移 19 例（25.00%），死亡 28 例（36.84%），高位组复发转移 13 例（14.77%），死亡 24 例（27.27%），两组复发率、死亡率差异均无统计学意义（均 P > 0.05）。*KRAS* 突变中位总生存期（OS）显著短于野生型（Log-rank χ^2=16.89，P < 0.05），*NRAS* 突变型与野生型 OS 无显著差异（P > 0.05）。Cox 分析结果显示，*KRAS* 突变（*HR*=1.987）、TNM 分期（*HR*=2.153）为影响直肠癌患者生存的独立危险因素（均 P < 0.05）。**结论**　*KRAS* 突变在低位直肠癌中显著富集，且与肿瘤的分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期密切相关。*NRAS* 突变在高、低位组间分布无差异，且与患者临床病理特征及预后无显著关联。

【关键词】　直肠癌；基因突变；克尔斯滕鼠肉瘤病毒癌基因同源物；神经母细胞瘤鼠肉瘤病毒癌基因同源物
DOI:10.3969/j.issn.1671-0800.2026.02.007
【中图分类号】　R735.35　**【文献标志码】**　A　**【文章编号】**　1671-0800(2026)02-0139-04

直肠癌作为全球高发消化道恶性肿瘤，发病率与死亡率持续攀升，严重威胁人类健康[1]。肿瘤解剖部位与直肠癌临床诊疗策略、预后密切相关，高位与低位直肠癌在手术方式、放化疗敏感性及生存结局上存在显著差异，但其分子机制层面的调控差异尚未完全明晰[2]。克尔斯滕鼠肉瘤病毒癌基因同源物（*KRAS*）与神经母细胞瘤鼠肉瘤病毒癌基因同源物（*NRAS*）基因同属三磷酸鸟苷酶 *RAS* 基因家族，是细胞增殖、凋亡及分化信号通路的核心调控因子，其激活突变可导致信号通路异常持续激活，促进肿瘤发生发展[3-5]。目前，*RAS* 基因突变状态已成为结直肠癌靶向治疗筛选、疗效预测及预后评估的重要分子标志物[6-7]。然而，现有研究多聚焦于结直肠癌整体人群的 *RAS* 基因变异特征，针对不同解剖部位直肠癌中 *KRAS*、*NRAS* 基因突变分布差异的系统性分析较为匮乏。基于此，本研究将检测 164 例直肠癌患者肿瘤组织 *KRAS*、*NRAS* 基因突变状态，并分析其与患者临床病理特征、预后的关联性，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　收集 2018 年 10 月至 2020 年 10 月丽水市人民医院收治的直肠癌患者 164 例，分为高位直肠癌（肿瘤下缘位于腹膜返折及以上，即距肛缘≥7 cm，n=88）、低位直肠癌（肿瘤下缘位于腹膜返折以下，即距肛缘＜ 7 cm，n=76）。纳入标准：（1）术后病理明确诊断为直肠癌[8]；（2）术前未接受新辅助放化疗；（3）术前通过电子结肠镜、盆腔 MRI 测量肿

作者单位：323000 丽水，丽水市人民医院
通信作者：叶繁斌，Email：1320813927@qq.com

瘤下缘距肛缘距离，确认肿瘤位置；(4)病理资料及随访记录完整。排除标准：(1) 转移性/复发性直肠癌；(2)合并其他恶性肿瘤；(3)遗传性结直肠癌综合征；(4)肿瘤组织标本质量不达标；(5)病理类型为黏液腺癌、印戒细胞癌等非普通腺癌；(6)严重肝肾功能不全、凝血功能障碍。两组一般资料差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)，见表 1。本研究获得丽水市人民医院科研伦理委员会批准，所有患者均签署书面知情同意书。

1.2　方法

1.2.1　基因突变检测　收集患者术后新鲜肿瘤组织标本(≥50 mg)，经甲醛固定、石蜡包埋后，确认肿瘤细胞含量＞ 30%。采用 QIAamp DNA FFPE Tissue Kit(Qiagen 公司)提取基因组 DNA，NanoDrop 2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific 公司)检测 DNA 浓度和纯度(A260/A280 比值介于 1.8 ～ 2.0)。荧光 PCR 法，检测位点包括：*KRAS* 的 2 号外显子 12 密码子、13 密码子；*NRAS* 的 2 号外显子 12 密码子、13 密码子、3 号外显子 61 密码子。结果判读：阳性对照 Ct≤35、阴性对照 Ct ＞ 38、空白对照无 Ct 值，实验有效；样本目标位点 Ct≤38 判定为突变阳性，Ct ＞ 38 或无 Ct 值判定为野生型；所有样本均做复孔，结果不一致时重新检测。

1.2.2　资料收集　通过医院病案系统提取信息：基线资料(性别、年龄)；肿瘤特征(肿瘤直径、分化程度、T 分期、N 分期、TNM 总分期、血管侵犯、神经侵犯)；随访资料(术后复发转移时间/死亡时间)，随访截止 2025 年 6 月 30 日。定义总生存期(OS)为手术日期至死亡或末次随访的时间。

1.3　统计方法　SPSS 25.0 软件行统计分析。符合正态分布计量资料以均数±标准差表示，行 t 检验；计数资料采用 χ^2 或 *Fisher* 检验。Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，Log-rank 检验比较组间差异。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　*KRAS*、*NRAS* 基因突变情况　164 例患者中，55 例(33.54%)存在 *KRAS* 突变，15 例(9.15%)存在 *NRAS* 突变，其中 2 例 (1.22%) 同时存在 *KRAS* 及 *NRAS* 突变(均为低位组)。低位组 *KRAS* 突变率(47.37%，36/76)显著高于高位组 (21.59%，19/88) ($P < 0.05$)；两组 *NRAS* 突变率差异无统计学意义($P > 0.05$)，见表 2。

2.2　*KRAS*、*NRAS* 突变与临床病理特征的关联性　*KRAS* 在低位肿瘤中的突变率高于高位肿瘤，中低分化中的突变率高于高分化，N1 ～ N2 分期中的突变率高于 N0 分期，III ～ IV 期突变率高于 I ～ II 期(均 $P < 0.05$)。*NRAS* 突变与各项临床病理特征均无统计学意义(均 $P > 0.05$)，见表 3。

2.3　*KRAS*、*NRAS* 突变与预后的关系　164 例患者中位随访 36 个月 (18 ～ 60 个月)，复发转移 32 例 (19.51%)，死亡 52 例(31.71%)；低位组复发转移 19 例(25.00%)、死亡 28 例(36.84%)，高位组复发转移 13 例(14.77%)、死亡 24 例(27.27%)，两组复发率、死亡率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。*KRAS* 突变型患者中位 OS (42 个月) 显著短于野生型 (未达到，即 50%以上患者存活超过 60 个月)(Log-rank χ^2=16.89，$P < 0.05$)，见图 1。*NRAS* 突变型与野生型的 OS 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3　讨论

本研究结果显示，*KRAS* 突变在低位直肠癌中显著富集，且与肿瘤分化程度、淋巴结转移、TNM 分期及预后密切相关。

表 1　两组一般临床病理特征比较　例(%)

指标		高位组(n=88)	低位组(n=76)	χ^2 值	P 值
性别	男	47(53.41)	44(57.89)	0.33	＞0.05
	女	41(46.59)	32(42.11)		
年龄	＜ 55 岁	52(59.09)	42(55.26)	0.24	＞0.05
	≥55 岁	36(40.91)	34(44.74)		
肿瘤直径	＜ 5 cm	26(29.55)	25(32.89)	0.21	＞0.05
	≥5 cm	62(70.45)	51(67.11)		
分化程度	高分化	10(11.36)	12(15.79)	0.69	＞0.05
	中低分化	78(88.64)	64(84.21)		
T 分期	T1 ～ T2	26(29.55)	19(25.00)	0.42	＞0.05
	T3 ～ T4	62(70.45)	57(75.00)		
N 分期	N0	60(68.18)	48(63.16)	0.46	＞0.05
	N1 ～ N2	28(31.82)	28(36.84)		
TNM 分期	I ～ II	52(59.09)	41(53.95)	0.44	＞0.05
	III ～ IV	36(40.91)	35(46.05)		
血管侵犯	是	14(15.91)	13(17.11)	0.04	＞0.05
	否	74(84.09)	63(82.89)		
神经侵犯	是	13(14.77)	12(15.79)	0.03	＞0.05
	否	75(85.23)	64(84.21)		

表 2　*KRAS*、*NRAS* 基因突变情况　例(%)

基因突变类型	总例数(*n*=164)	高位组(*n*=88)	低位组(*n*=76)	χ^2 值	*P* 值
KRAS　突变型	55(33.54)	19(21.59)	36(47.37)	12.16	＜0.05
野生型	109(66.46)	69(78.41)	40(52.63)		
KRAS 12 密码子	46(83.64)	16(84.21)	30(83.33)	0.01	＞0.05
KRAS 13 密码子	9(16.36)	3(15.79)	6(16.67)		
NRAS　突变型	15(9.15)	7(7.95)	8(10.53)	0.33	＞0.05
野生型	149(90.85)	81(92.05)	68(89.47)		
NRAS 2 号外显子(12/13 密码子)	8(53.33)	4(57.14)	4(50.00)	0.08	＞0.05
NRAS 3 号外显子(61 密码子)	7(46.67)	3(42.86)	4(50.00)		
KRAS/*NRAS* 共突变	2(1.22)	0(0.00)	2(1.22)	2.34	＞0.05

表 3　*KRAS*、*NRAS* 突变与临床病理特征的关系　例(%)

指标		*KRAS*				*NRAS*			
		突变型(*n*=55)	野生型(*n*=109)	χ^2 值	*P* 值	突变型(*n*=15)	野生型(*n*=149)	χ^2 值	*P* 值
性别	男	26(47.27)	65(59.63)	2.26	＞0.05	9(60.00)	82(55.03)	0.14	＞0.05
	女	29(52.73)	44(40.37)			6(40.00)	67(44.97)		
年龄	＜55 岁	28(50.91)	66(60.55)	1.39	＞0.05	6(40.00)	88(59.06)	2.02	＞0.05
	≥55 岁	27(49.09)	43(39.45)			9(60.00)	61(40.94)		
肿瘤直径	＜5 cm	20(36.36)	31(28.44)	1.07	＞0.05	4(26.67)	47(31.54)	0.15	＞0.05
	≥5 cm	35(63.64)	78(71.56)			11(73.33)	102(68.46)		
肿瘤部位	高位	19(34.55)	69(63.30)	12.16	＜0.05	7(46.67)	81(54.36)	0.33	＞0.05
	低位	36(65.45)	40(36.70)			8(53.33)	68(45.64)		
分化程度	高分化	3(5.45)	19(17.43)	4.51	＜0.05	2(13.33)	20(13.42)	0.01	＞0.05
	中低分化	52(94.55)	90(82.57)			13(86.67)	129(86.58)		
T 分期	T1 ～ T2	14(25.45)	31(28.44)	0.16	＞0.05	5(33.33)	40(26.85)	0.29	＞0.05
	T3 ～ T4	41(74.55)	78(71.56)			10(66.67)	109(73.15)		
N 分期	N0	25(45.45)	83(76.15)	15.31	＜0.05	9(60.00)	99(66.44)	0.25	＞0.05
	N1 ～ N2	30(54.55)	26(23.85)			6(40.00)	50(33.56)		
TNM 分期	I ～ II	22(40.00)	71(65.14)	9.41	＜0.05	6(40.00)	87(58.39)	1.88	＞0.05
	III ～ IV	33(60.00)	38(34.86)			9(60.00)	62(41.61)		
血管侵犯	是	10(18.18)	17(15.60)	0.18	＞0.05	3(20.00)	24(16.11)	0.15	＞0.05
	否	45(81.82)	92(84.40)			12(80.00)	125(83.89)		
神经侵犯	是	12(21.82)	13(11.93)	2.77	＞0.05	4(26.67)	21(14.09)	1.67	＞0.05
	否	43(78.18)	96(88.07)			11(73.33)	128(85.91)		

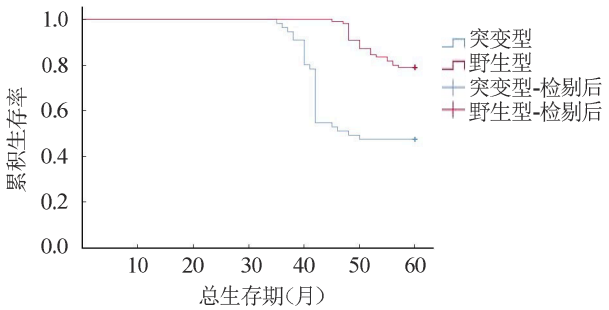


图 1　*KRAS* 突变型与野生型患者生存率分析

高位与低位直肠在胚胎起源、血供、淋巴引流及微环境等方面存在差异，可能导致其分子生物学特征有所不同。本研究提示 *KRAS* 突变在低位直肠癌中更为常见，与部分国际研究趋势一致[9]。低位直肠癌更易侵犯周围组织、早期发生淋巴结转移，其侵袭性生物学行为可能与特定驱动基因突变有关[10-12]。*KRAS* 作为 RAS/MAPK 信号通路的关键分子，其突变导致 GTP 酶活性丧失，信号持续激活，进而促进细胞增殖、抑制凋亡，参与肿瘤进展[13]。本研究中 *KRAS* 突变与中低分化、N1 ～ N2 分期、III ～ IV 期显著相关，进一步支持其在直肠癌恶性进展中的推动作用。

预后方面，*KRAS* 突变型患者中位总生存期显著短于野生型患者(42 个月 *vs* 未达到)，且在多因素分析中具有较高风险比(*HR*=2.153)，提示 *KRAS* 突变是影响患者长期生存的独立预测因子。这一结果

提示 *KRAS* 突变在结直肠癌预后评估中的临床价值，也为个体化辅助治疗策略的制定提供了依据。尤其对于低位直肠癌患者，若检测出*KRAS*突变，应视为高危人群，需加强术后监测并考虑更积极的综合治疗。*NRAS* 突变在本研究中总体发生率较低（9.15%），且未显示与肿瘤部位、病理特征或预后的显著相关性。尽管与*KRAS*同属*RAS*家族，但其在结直肠癌中的突变频率较低，生物学行为及临床意义可能存在差异[14]。本研究结果提示，在非选择性直肠癌人群中，*NRAS*突变的预后价值有限，其在特定亚型或治疗背景下的作用仍需进一步探索。

此外，本研究发现 2 例*KRAS*/*NRAS*共突变患者均位于低位组，虽因例数过少无法进行统计推断，但也提示*RAS*通路异常激活在部分侵袭性肿瘤中可能存在协同作用，值得扩大样本量或开展多中心研究予以验证。本研究因样本量相对有限（仅为 164 例）加上基因检测仅覆盖*KRAS*/*NRAS*部分热点密码子，未来可扩大研究规模，开展多基因 panel 检测，以揭示信号通路异常在高低位直肠癌中的异质性。

综上所述，*KRAS* 突变在低位直肠癌中显著富集，且与肿瘤的分化程度、淋巴结转移及 TNM 分期密切相关。*NRAS* 突变在高、低位组间分布无差异，且与患者临床病理特征及预后未见显著关联。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　叶繁斌：实验操作，论文撰写；叶繁斌，陈雨薇：数据整理；周璐青：研究指导，论文修改

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] Liu C, Wu Y P, Liu H, et al. Robotic versus laparoscopic total mesorectal excision for mid-low rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy: A systematic review and meta-analysis of oncological, perioperative, and survival-related outcomes[J]. J Robot Surg, 2025, 19(1): 570.

[3] Saharti S. *KRAS*/*NRAS*/*BRAF* mutation rate in Saudi academic hospital patients with colorectal cancer[J]. Cureus, 2022, 14(4): e24392.

[4] Lian S Y, Tan L X, Liu X Z, et al. *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* signatures, and MMR status in colorectal cancer patients in North China[J]. Medicine, 2023, 102(9): e33115.

[5] Holderfield M, Lee B J, Jiang J J, et al. Concurrent inhibition of oncogenic and wild-type RAS-GTP for cancer therapy[J]. Nature, 2024, 629(8013): 919-926.

[6] Udagawa S, Ooki A, Shinozaki E, et al. Circulating tumor DNA: The dawn of a new era in the optimization of chemotherapeutic strategies for metastatic colo-rectal cancer focusing on RAS mutation[J]. Cancers, 2023, 15(5): 1473.

[7] Orlandi E, Romboli A, Citterio C, et al. Prognostic impact of ras mutation on surgical strategy in rectal cancer patients undergoing neoadjuvant treatment[J]. Anticancer Res, 2023, 43(5): 2015-2024.

[8] 中华医学会肿瘤学分会早诊早治学组. 中国结直肠癌早诊早治专家共识(2023 版)[J].中华普通外科学文献电子版,2024,18(1): 1-13.

[9] Radanova M, Mihaylova G, Stoyanov G S, et al. *KRAS* mutation status in Bulgarian patients with advanced and metastatic colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(16): 12753.

[10] 中华护理学会外科护理专业委员会,李虹彦,孙佳男,等.直肠癌术后患者低位前切除综合征管理的专家共识 [J]. 中华护理杂志,2025,60(11):1285-1288.

[11] Tan S F, Gao Q Q, Cui Y P, et al. Oncologic outcomes of watch-and-wait strategy or surgery for low to intermediate rectal cancer in clinical complete remission after adjuvant chemotherapy: A systematic review and meta-analysis[J]. Int J Colorectal Dis, 2023, 38(1): 246.

[12] Tutino R, Bonomi A, Zingaretti C C, et al. Locally advanced mid/low rectal cancer with synchronous resectable liver metastases: Systematic review of the available strategies and outcome[J]. Updates Surg, 2024, 76(2): 345-361.

[13] Wlodarczyk A, Treda C, Pacholczyk M, et al. First molecules to reactivate RAS^{G12V} GTPase activity[J]. BMC Cancer, 2025, 25(1): 182.

[14] 杨楠,何乐,李振堵,等.结直肠癌不同转移部位的 *KRAS*、*NRAS*、*BRAF*、*PIK3CA* 基因突变特点及其与预后的关系[J].医学研究杂志,2025,54(1):48-53,115.

收稿日期：2025-10-27

（本文编辑：吴迪汉）