

甲状腺癌相关基因突变和表观遗传学研究进展

郑维晖 龚巍巍 陆凤 俞敏

315211 宁波大学医学院(郑维晖); 310051 杭州,浙江省疾病预防控制中心(龚巍巍、陆凤、俞敏)

通信作者:俞敏, Email:myu@cdc.zj.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.11.028

【摘要】 甲状腺癌的分子发病机制也是一个多基因参与、多个步骤的癌变过程。随着分子生物学诊断技术的不断发展,在甲状腺癌组织中发现多种相关基因突变和表观遗传学现象。了解甲状腺癌的最新基因突变和表观遗传学研究进展,有助于甲状腺癌的早期诊断、防治和靶向药物研发。

【关键词】 甲状腺癌; 基因突变; 表观遗传学

基金项目: 国家卫生和计划生育委员会科研基金-浙江省医药卫生重大科技计划(WKJ-ZJ-1506)

Progress in research of thyroid carcinoma related gene mutation and epigenetics Zheng Weihui, Gong Weiwei, Lu Feng, Yu Min

School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China (Zheng WH); Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China (Gong WW, Lu F, Yu M)

Corresponding author: Yu Min, Email: myu@cdc.zj.cn

【Abstract】 Thyroid cancer is one of the most common endocrine malignant tumors, and its molecular pathogenesis is also a process of multiple genes involved in many steps of carcinogenesis. With the development of molecular biology technology, a variety of related gene mutations and epigenetic phenomena have been found in thyroid cancer tissues. It is helpful to understand the latest progress in the research of the gene mutation and epigenetics of thyroid cancer for its early diagnosis, prevention and the development of targeted drugs.

【Key words】 Thyroid carcinoma; Gene mutation; Epigenetics

Fund program: National Health and Family Planning Commission Foundation-Zhejiang Priority Medical Science and Technology Program (WKJ-ZJ-1506)

甲状腺癌是最为常见的内分泌恶性肿瘤之一,近年来伴随着分子生物学诊断技术的不断发展其发病率呈上升趋势^[1-2]。甲状腺癌根据组织学特点可以分为滤泡细胞癌和滤泡旁细胞癌,其中大部分甲状腺癌来源于甲状腺滤泡上皮细胞,包括乳头状甲状腺癌(papillary thyroid cancer, PTC)、滤泡状甲状腺癌(follicular thyroid cancer, FTC)、未分化型甲状腺癌(anaplastic thyroid cancer, ATC)和低分化型甲状腺癌(poorly differentiated thyroid cancer, PDTc),而PTC和FTC可以定义为分化型甲状腺癌;滤泡旁细胞癌指的是来自C细胞的恶性肿瘤,甲状腺髓样癌(medullary thyroid cancer, MTC)起源于滤泡旁细胞。甲状腺癌分子发病机制包括信号传导通路的异常活化、基因突变、基因扩增、基因易位和表观遗传学的改变等多个方面,是一个多个基因参与、多个步骤的癌变过程。而基因突变和表观遗传学改变是甲状腺癌发生的两个重要危险因素,对甲状腺癌的发生、发展及预后产生重要影响。

随着分子生物学诊断技术的不断发展和对甲状腺癌发

病机制认识的深入,甲状腺癌的相关基因和表观遗传学研究逐渐成为其诊断过程中重要的依据。因此,了解甲状腺癌的最新基因研究进展,有助于提高甲状腺癌的诊断检测技术,为甲状腺癌的治疗提供一个新方向。目前被普遍认可与甲状腺癌发生、发展或预后有关的基因如RET、BRAF、RAS和p53已有报道。为此本文综述上述相关基因突变和表观遗传学研究进展。

1. 原癌基因:

(1)BRAF:为RET和RAS的下游蛋白激酶,属于丝氨酸-苏氨酸激酶,是细胞增生、分化及凋亡的重要调节因子,在MAPK(mitogen-associated protein kinase)信号通路中发挥重要作用。BRAF基因突变主要是基因第15外显子上第1799位核苷酸T→A的转换,导致蛋白质产物中600位的缬氨酸被谷氨酸替代,从而使BRAF活化^[3]。目前研究认为甲状腺癌中BRAF基因突变率为29%~83%。Galuppini等^[4]对185例PTC患者进行平均55个月的术后随访,用FNAB(fine-needle aspiration biopsy)检测,发现BRAF V600E突变率为62%,且

认为*BRAF*突变与甲状腺癌的复发无关($P=0.296$)。Xing等^[5]对2 099例PTC患者进行3年的随访调查,发现*BRAF V600E*基因突变阳性率为48.5%,Kaplan-Meier(K-M)生存分析揭示*BRAF V600E*突变与预后不良有关。刘超等^[6]对43例PTC患者采用RNA核酸印迹法,发现*BRAF*突变率为53.4%。金纯等^[7]检测了40例PTC患者,采用PCR测序发现*BRAF*突变率为55%,分析认为*BRAF*基因突变与术后复发有关($P<0.05$)。黄美玲等^[8]有类似的报道,荟萃分析显示*BRAF V600E*与PTC淋巴结转移呈正相关($P<0.05$),且认为*BRAF V600E*突变显著提高了PTC患者淋巴结转移的发生概率。茹晓婷等^[9]检测229例DTC患者,用PCR测序发现*BRAF*突变率为62%,而*BRAF V600E*突变与DTC患者的淋巴结转移及复发危险度无关($P>0.05$),与Xing等^[5,10]的研究结论相反。Li等^[11]的荟萃分析结果显示,*BRAF V600E*突变与甲状腺微小乳头状癌的侵袭性临床病理学特征有关,可作为其预后的分子标志物之一。对于*BRAF*基因是否可作为临床预后不良的判断存在较大争议,可能与种族、研究样本量和检测方法等因素差异有关,可联合*TERT*和*p53*等基因进行检测。

(2)*RET*:是甲状腺癌相关的原癌基因。位于染色体10q11.21,由21个外显子组成,编码1个跨膜的酪氨酸激酶受体,主要作为信号传导通路作用,调节肠道神经系统祖细胞的存活、生长、增殖、分化、迁移^[12]。*RET*基因重排在甲状腺癌发生发展中起到重要的作用。*RET*基因重排方式主要有3种,分别为*RET*原癌基因与同一染色体的*H4*及*ELE1*基因重排产生*RET/PTC1*型癌基因、*RET/PTC3*型癌基因,与17号染色体的*RIA*基因重排产生了*RET/PTC2*型癌基因,其中以*RET/PTC1*型发生频率最高,其次是*RET/PTC3*型,*RET/PTC2*型最少见。*RET*基因重排常见于PTC,可能成为肿瘤分子标志物之一^[13]。除*RET*基因重排外,*RET*的基因突变也与甲状腺癌、MEN2A(multiple endocrine neoplasia type 2A)和MEN2B(multiple endocrine neoplasia type 2B)密切相关。研究发现*RET*基因突变可能导致家族性甲状腺髓样癌,且与MTC较低的外显率有关^[14-15]。甲状腺癌中*RET*基因相关的一个重要因素是核辐射,如切尔诺贝利核辐射污染地区的儿童*RET*基因重排率高达51.3%^[16],厄尔尼诺核污染地区的儿童*RET*基因重排率也高达60%~70%,均高于其他国家和地区,这可能与环境因素和遗传背景有关。Kjellman等^[17]调查61例欧洲PTC患者,采用PCR测序法检测DNA,发现*RET*基因表达与预后无相关性,与国内报道结论一致^[18]。

(3)*RAS*:是一种原癌基因。*RAS*基因家族与人类肿瘤相关的功能性基因分别为*HRAS*、*KRAS*和*NRAS*,最常见的是*NRAS*。*RAS*原癌基因被激活后就成为有致癌活性的癌基因,激活方式主要有3种:基因的点突变、基因大量表达以及基因的插入及转位,最常见的是点突变;常见的突变位点是12、13和61密码子,新发现的突变位点在第31位密码子^[19]。Kakarmath等^[20]在101例美国高分化型甲状腺癌患者中发现*RAS*基因的阳性表达率为28%,且以女性居多。Zou等^[21]对88例亚洲PTC患者进行12年的队列研究,发现*RAS*基因突

变率为6%($P<0.01$),发现突变位点在第65密码子,并认为*KRAS S65N*可以激活MAPK,而MAPK通路的不恰当激活可能导致肿瘤的发生,K-M生存分析显示*RAS*基因突变的患者可能会预后不良且生存率较低($\chi^2=18.2, P<0.05$)。*RET*重排和*BRAF*或*RAS*基因突变具有互相排他性。Liu等^[22]采用MSP(methylmion specific PCR)和PCR检测101例甲状腺癌患者,发现*RASALI*突变率为6%,而其中*RAS*启动子高甲基化的发生率远高于*RAS*突变率,两者之间存在互相排他性,提示*RAS*高甲基化可能会抑制*RAS*基因表达($P=0.02$)。Goutas等^[23]对希腊55例散发PTC和44例散发MTC患者进行队列研究,发现*KRAS*在PTC和MTC中突变率分别为54.5%和40.9%,*RAS*突变与远处转移和临床病理学特征无关($P>0.05$),与国内学者周睿瑜和罗以^[24]的研究结论不一致。可能与研究对象的种族、地区和样本量等不同有关,但目前大部分研究仍认为*RAS*突变是一种很有发展前景的肿瘤诊断标志物。

(4)*IG20*:位于人体第11号染色体短臂11位,可以产生6种不同的具有独特功能的蛋白质亚型,即KIA0358、IG20pa、MADD、IG20-SV4、DENN-SV和IG20-SV2^[25]。在FTC和ATC中,与正常组织细胞相比,*IG20*基因呈明显过度表达,主要是MADD和DENN-SV。在甲状腺癌细胞中,pMADD(phosphorylated MADD)是一个重要的TRAIL(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)抵抗因子,下调*IG20*基因可导致TRAIL抵抗因子对TRAIL更加敏感^[26]。*IG20*基因在甲状腺癌中的促增殖功能提示*IG20*有望成为治疗甲状腺癌的靶点。

2. 抑癌基因:

(1)*p53*基因:位于17q31,含有11个外显子,编码一条由393个氨基酸组成的控制细胞增殖的核内磷酸化蛋白。*p53*基因突变主要发生于PDTC和ATC。Shin等^[27]用PCR检测66例韩国PTC患者,发现*p53*基因过度表达阳性率高达78.8%,其中淋巴转移的PTC中*p53*过度表达比例较高。而Pita等^[28]对27例PDTC和ATC患者采用RT-PCR检测,发现大部分基因突变是*p53*,ATC中*p53*基因突变阳性率为42%,PDTC中*p53*基因突变阳性率为27%,两者差异无统计学意义($P=0.368$)。提示*p53*基因的失活是ATC和PDTC进展中重要的事件,*p53*基因突变可能促使DTC向PDTC和ATC转化,在甲状腺癌发展中起关键作用。Akeno等^[29]证明了Rb(retinoblastoma tumor suppressor protein)与*p53*基因共同对MTC的侵袭有抑制作用,而Rb和*p53*在MTC中的转移机制尚不明确。Morita等^[30]调查了68例日本PTC患者,采用IHC(immunohistochemistry)检测法,结果认为*p53*阳性表达与临床分型和淋巴结转移有关($P<0.05$),结论与国内研究一致^[31]。*p53*与甲状腺癌的发展、转移和侵袭等有关,对甲状腺癌的诊断和预后具有重要的意义。

(2)*PTEN*基因:是近年来新发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因,介导细胞凋亡,在细胞的生长、分化、凋亡、迁移和黏附等方面起着重要的作用。研究发现*PTEN*基因与甲

状腺癌、Cowden syndrome 和乳腺癌等存在关联^[32-34]。*PTEN* 基因及下游 PI3K 通路的活化是甲状腺癌恶性程度增加的一个重要因素,*PTEN* 使 PIP3 去磷酸化拮抗 PI3K/AKT 通路,使 AKT 活化下调,而 PIP3 又可以激活其下游的信号分子,如 PDKS、AKT/PKB 等,但 AKT 在其中起关键作用。李仕亮等^[35] 采用 PCR 及 DNA 测序法检测 70 例 I ~ III 期 PTC 患者,结果显示 *PTEN* 阴性率为 78.6%,*PTEN* 低表达与肿瘤淋巴结转移和临床分期有关($P < 0.05$)。刘志春和赵亮^[36] 采用 RT-PCR 和免疫组织化学 SP 法检测 40 例甲状腺癌患者,结果 *PTEN* 蛋白表达阳性率在甲状腺癌组织中明显低于其在相应癌旁组织中的表达阳性率(35% : 60%, $P < 0.05$)。Nagy 等^[37] 有相似的报告,采用 PCR 检测 259 例 DTC 患者,结果显示 *PTEN* 基因突变阳性率为 4.8%。提示 *PTEN* 基因突变与甲状腺癌的发生相关。Beg 等^[38] 利用 FISH (fluorescence in situ hybridization) 法对 1 040 例亚洲 PTC 患者进行队列研究,结果显示 *PTEN* 蛋白失活率为 24.5%,*PTEN* 基因缺失为 4.8%,两者之间并无关联($P > 0.05$),而在 PTC 中 *PTEN* 蛋白失活可能是由于启动子甲基化。*PTEN* 基因低表达的原因主要是 *PTEN* 基因突变、缺失和启动子甲基化,关于 *PTEN* 基因在甲状腺癌中的突变、缺失研究较少,而启动子甲基化是目前 *PTEN* 基因研究中的一个热点,通过对 *PTEN* 基因甲基化的深入研究有助于甲状腺癌的临床应用指导。

(3) *p16* 基因:定位于染色体的 9p21,是细胞周期负调控因子,主要作用是抑制细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (CDK4) 的活性。CDK4 是细胞周期的正调节因子,与细胞周期素 D1 (cyclin D1) 结合形成 cyclin D1-CDK4 复合物,该复合物使 Rb 蛋白磷酸化,解除了对 DNA 合成的抑制,从而抑制细胞增殖。近年来研究发现在甲状腺癌中,*p16* 基因启动子区的 CpG 岛甲基化是 *p16* 基因失活的主要原因。Mohammadi-asl 等^[39] 研究了伊朗 25 例甲状腺癌和 25 例良性肿瘤,用 PCR 检测结果显示在甲状腺癌中 *p16* 基因甲基化率明显高于良性肿瘤(27.2% : 3.6%),其差异有统计学意义($P < 0.004$),揭示了 *p16* 基因启动子甲基化在 PTC 发病机制中发挥着重要作用。Wang 等^[40] 用 MSP 法检测分析了 74 例中国 PTC 病例组和 21 例正常对照组,结果显示 PTC 患者中 *p16* 基因 CpG 岛甲基化率为 27%,而对照组未发现 *p16* 甲基化,两者差异有统计学意义($P < 0.05$),且 *p16* 基因的甲基化与患者的年龄、性别、肿瘤大小、组织学亚型和肿瘤复发无显著关联($P > 0.05$),但与甲状腺癌的浸润和转移有关。有研究显示饮食中摄入过多或者过少的碘将降低 *p16* 基因的表达促进甲状腺癌的发展^[41]。Temiz 等^[42] 对亚洲人群进行研究,采用 IHC 检测法检测了 30 例滤泡性腺瘤、16 例滤泡性甲状腺癌和 20 例腺瘤结节患者,提示 *p16* 在滤泡状良性肿瘤向恶性转化过程中起着重要作用。

3. 其他基因: *HER* (human epidermal growth factor receptor)-2/*neu* 基因是一个原癌基因,研究发现在 PTC 中 *HER-2* 基因存在过度表达^[43],但 *neu* 基因与甲状腺癌的相关性有待进一步研究。*C-MET* 作为一个原癌基因,在 PTC 中存

在过度表达,*C-MET* 抑制剂对甲状腺癌细胞具有靶向作用^[44]。*Maspin* 是一个丝氨酸蛋白抑制剂,被称为肿瘤抑制蛋白,有研究认为 *Maspin* 与甲状腺癌的预后有关^[45],*Maspin* 启动子甲基化可能是 *Maspin* 肿瘤抑制失活的机制。Lewy 等^[46] 认为 *PTTG* (pituitary tumor transforming gene) 在甲状腺癌细胞中存在过度表达,*PTTG* 磷酸化可能成为一种新的降低甲状腺癌中 *PTTG* 表达的方法。有研究发现 *RASSF1A* 基因甲基化与 PTC 有关联($P < 0.05$),可作为 PTC 早期诊断的肿瘤分子标志物之一^[47]。Shou 等^[48] 的荟萃分析结果也证明 *RASSF1A* 启动子甲基化与甲状腺癌发病风险有关。*P27* 作为抑癌基因之一,其在 PTC 中的低表达可能与 PTC 的发展有关^[49]。*EMMPRIN* (extracellular matrix metalloproteinase inducer) 在 PTC 中存在基因过度表达,进一步研究有利于正确评价 PTC 的预后^[50]。

4. 展望:甲状腺癌中原癌基因和抑癌基因的相互作用或独立作用对甲状腺癌的发生、发展产生影响,如 *BRAF* 和 *RAS* 点突变、*RET* 基因重排三者的阳性表达率可作为甲状腺癌分子标志物,*p53* 基因突变可能促使 DTC 向 PDTC 和 ATC 转化且与甲状腺癌发展、转移、侵袭和预后有关,*IG20* 基因在甲状腺癌中的促增殖功能,*PTEN* 启动子甲基化导致抑癌基因 *THEN* 基因低表达,进而使甲状腺癌恶性程度增加或通过使 PI3K/AKT 的信号转导通路持续激活促进甲状腺癌发生,*p16* 启动子区的 CpG 岛甲基化导致良性甲状腺肿瘤向恶性转化,*Maspin* 启动子甲基化可能是肿瘤抑制失活的原因。然而,目前对甲状腺癌基因仍有诸多不明确,如 *BRAF* 是否可作为临床预后不良的判断依据,*PTEN* 的脂质磷酸酶与蛋白磷酸酶活性是如何协同发挥作用的,基于原癌基因或抑癌基因调控因子的药物靶点的人体研究仍处于起步阶段等。甲状腺癌相关基因突变和表观遗传学的研究尚处于研究阶段,亟需更多的循证医学研究和流行病学调查结合临床试验,使这些基因和肿瘤标志物真正成为临床的应用工具,为临床诊断和治疗服务。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors [J]. J Cancer Epidemiol, 2013, 2013: 965212. DOI: 10.1155/2013/965212.
- [2] Stewart BW, Wild CP. World cancer report 2014 [M]. Lyon: IARC Press, 2014: 738-750.
- [3] Pinchot SN, Sippel RS, Chen H. Multi-targeted approach in the treatment of thyroid cancer [J]. Ther Clin Risk Manag, 2008, 4 (5): 935-947.
- [4] Galuppini F, Pennelli G, Vianello F, et al. *BRAF* analysis before surgery for papillary thyroid carcinoma: correlation with clinicopathological features and prognosis in a single-institution prospective experience [J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54 (9): 1531-1539. DOI: 10.1515/cclm-2015-0218.
- [5] Xing MZ, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between

- BRAF V600E* mutation and recurrence of papillary thyroid cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33 (1) : 42–50. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.8253.
- [6] 刘超,戴璇璇,周毅力,等. 甲状腺乳头状癌 mir-221 表达与 *BRAF* 突变的相关性研究[J]. *中国肿瘤*, 2012, 21(4) : 298–302. Liu C, Dai XX, Zhou YL, et al. Correlation between mir-221 expression and *BRAF* mutation in papillary thyroid cancer [J]. *China Cancer*, 2012, 21(4) : 298–302.
- [7] 金纯,邹章勇,程溥,等. 甲状腺癌复发与 *BRAF* 基因突变的关系探讨[J]. *山东医药*, 2013, 53(34) : 16–17. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2013.34.006. Jin C, Zou ZY, Cheng F, et al. Relationship between the *BRAF* mutation and thyroid carcinoma recurrence [J]. *Shandong Med J*, 2013, 53(34) : 16–17. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2013.34.006.
- [8] 黄美玲,李永平,凌瑞. *BRAF V600E* 基因突变与乳头状甲状腺癌淋巴结转移相关性的 Meta 分析[J]. *中国肿瘤*, 2017, 26(2) : 145–151. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.02.A014. Huang ML, Li YP, Ling R. A Meta-analysis on the correlation between *BRAF V600E* gene mutation and lymph nodes metastasis in papillary thyroid carcinoma [J]. *China Cancer*, 2017, 26(2) : 145–151. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.02.A014.
- [9] 茹晓婷,刘勤江,周海红,等. 分化型甲状腺癌 *BRAF V600E* 和 *TERT* 启动子突变及其临床意义[J]. *肿瘤*, 2016, 36(12) : 1362–1368. DOI: 10.3781/j.issn.1000-7431.2016.33.574. Ru XT, Liu QJ, Zhou HH, et al. *BRAF V600E* and *TERT* promoter mutation in differentiated thyroid carcinoma and its clinical significance [J]. *Tumor*, 2016, 36(12) : 1362–1368. DOI: 10.3781/j.issn.1000-7431.2016.33.574.
- [10] Xing MZ, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between *BRAF V600E* mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer [J]. *JAMA*, 2013, 309 (14) : 1493–1501. DOI: 10.1001/jama.2013.3190.
- [11] Li F, Chen GQ, Sheng CJ, et al. *BRAF V600E* mutation in papillary thyroid microcarcinoma: a Meta-analysis [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2015, 22 (2) : 159–168. DOI: 10.1530/ERC-14-0531.
- [12] Hedayati M, Yeganeh MZ, Sheikholeslami S, et al. Diversity of mutations in the *RET* proto-oncogene and its oncogenic mechanism in medullary thyroid cancer [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2016, 53(4) : 217–227. DOI: 10.3109/10408363.2015.1129529.
- [13] Jargin SV. *RET/PTC3* Rearrangement in papillary thyroid carcinoma: possible marker of tumor progression [J]. *Ann Surg*, 2016. DOI: 10.1097/SLA.0000000000002031.
- [14] Martins-Costa MC, Cunha LL, Lindsey SC, et al. M918V *RET* mutation causes familial medullary thyroid carcinoma: study of 8 affected kindreds [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23 (12) : 909–920. DOI: 10.1530/ERC-16-0141.
- [15] Xu JY, Grubbs EG, Waguespack SG, et al. Medullary thyroid carcinoma associated with germline *RET^{K669V}* mutation [J]. *Thyroid*, 2016, 26(12) : 1744–1751. DOI: 10.1089/thy.2016.0374.
- [16] Thomas GA, Bunnell H, Cook HA, et al. High prevalence of *RET/PTC* rearrangements in Ukrainian and Belarussian post-chenobyl thyroid papillary carcinomas: a strong correlation between *RET/PTC3* and the solid-follicular variant [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84 (11) : 4232–4238. DOI: 10.1210/jcem.84.11.6129.
- [17] Kjellman P, Learoyd DL, Messina M, et al. Expression of the *RET* proto-oncogene in papillary thyroid carcinoma and its correlation with clinical outcome [J]. *Br J Surg*, 2001, 88 (4) : 557–563. DOI: 10.1046/j.1365-2168.2001.01734.x.
- [18] 周睿,王伟斌,王海勇,等. *RET/PTC*、*p53* 及 *BRAF* 在甲状腺乳头状癌中的表达及意义 [J]. *浙江医学*, 2010, 32(6) : 942–944. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2785.2010.06.069. Zhou R, Wang WB, Wang HY, et al. Expression and significance of *RET/PTC*, *p53* and *BRAF* in papillary thyroid carcinoma [J]. *Zhejiang Med J*, 2010, 32 (6) : 942–944. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2785.2010.06.069.
- [19] 吴远昊,张守鹏. *RAS* 基因突变在甲状腺癌中的研究进展 [J]. *中国医学工程*, 2012, 20(8) : 185–186. Wu YH, Zhang SP. Research progress of *RAS* gene mutation in thyroid carcinoma [J]. *China Med Eng*, 2012, 20(8) : 185–186.
- [20] Kakarmath S, Heller HT, Alexander CA, et al. Clinical, sonographic, and pathologic characteristics of *RAS*-positive versus *BRAF*-positive thyroid carcinoma [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(12) : 4938–4944. DOI: 10.1210/jc.2016-2620.
- [21] Zou MJ, Baitei EY, Alzahrani AS, et al. Concomitant *RAS*, *RET/PTC*, or *BRAF* mutations in advanced stage of papillary thyroid carcinoma [J]. *Thyroid*, 2014, 24(8) : 1256–1266. DOI: 10.1089/thy.2013.0610.
- [22] Liu DX, Yang CF, Bojdani E, et al. Identification of *RASAL1* as a major tumor suppressor gene in thyroid cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(21) : 1617–1627. DOI: 10.1093/jnci/djt249.
- [23] Goutas N, Vlachodimitropoulos D, Bouka M, et al. *BRAF* and *K-RAS* mutation in a Greek papillary and medullary thyroid carcinoma cohort [J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(1A) : 305–308.
- [24] 周睿瑜,罗以. *BRAF V600E* 和 *RAS* 基因突变与甲状腺癌远处转移及预后关系的研究进展 [J]. *肿瘤药学*, 2016, 6(3) : 178–181. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2016.03.04. Zhou RY, Luo Y. Research progress on the relationships of *BRAF V600E* and *RAS* gene mutation with distant metastasis and prognosis of thyroid carcinoma [J]. *Anti-Tumor Pharm*, 2016, 6 (3) : 178–181. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2016.03.04.
- [25] Li LC, Wang Y, Carr R, et al. *IG20/MADD* plays a critical role in glucose-induced insulin secretion [J]. *Diabetes*, 2014, 63 (5) : 1612–1623. DOI: 10.2337/db13-0707.
- [26] Li LC, Jayarama S, Pilli T, et al. Down-modulation of expression, or dephosphorylation, of *IG20/MADD* in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-resistant thyroid cancer cells makes them susceptible to treatment with this ligand [J]. *Thyroid*, 2013, 23(1) : 70–78. DOI: 10.1089/thy.2012.0155.
- [27] Shin MK, Kim JW, Min SK, et al. Associations of the *BRAF (V600E)* mutation and *p53* protein expression with clinicopathological features of papillary thyroid carcinomas patients [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(3) : 1882–1888. DOI: 10.3892/ol.2015.3401.

- [28] Pita JM, Figueiredo IF, Moura MM, et al. Cell cycle deregulation and *TP53* and *RAS* mutations are major events in poorly differentiated and undifferentiated thyroid carcinomas [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99 (3) : E497-507. DOI: 10.1210/jc.2013-1512.
- [29] Akeno N, Miller AL, Ma X, et al. *p53* suppresses carcinoma progression by inhibiting mTOR pathway activation [J]. *Oncogen*, 2015, 34(5) : 589-599. DOI: 10.1038/onc.2013.589.
- [30] Morita N, Ikeda Y, Takami H. Clinical significance of *p53* protein expression in papillary thyroid carcinoma [J]. *World J Surg*, 2008, 32 (12) : 2617-2622. DOI: 10.1007/s00268-008-9756-9.
- [31] 尹凤媛, 焦淑贤, 迟晓云. 甲状腺乳头状癌患者血液 *p53* 基因表达及与淋巴结转移、临床分期的关系 [J]. *山东医药*, 2011, 51 (27) : 25-26. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2011.27.014.
Yin FY, Jiao SX, Chi XY. Expression of serum *p53* gene and its correlation with lymphatic metastasis and clinical stages in patients with thyroid papillary carcinoma [J]. *Shandong Med J*, 2011, 51 (27) : 25-26. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2011.27.014.
- [32] Kechagioglou P, Papi RM, Provatopoulou X, et al. Tumor suppressor *PTEN* in breast cancer: heterozygosity, mutations and protein expression [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(3) : 1387-1400.
- [33] Champa D, Cristofano AD. Modeling anaplastic thyroid carcinoma in the mouse [J]. *Horm Cancer*, 2015, 6(1) : 37-44. DOI: 10.1007/s12672-014-0208-8.
- [34] Shon W, Wolz M, Sukov WR, et al. Phosphatase and tensin homologue status in sporadic and Cowden syndrome-associated trichilemmomas: evaluation of immunohistochemistry and fluorescence *in situ* hybridization [J]. *Br J Dermatol*, 2014, 170 (5) : 1201-1204. DOI: 10.1111/bjd.12827.
- [35] 李仕亮, 孙纷纷, 邵国安, 等. 甲状腺癌中 *PTEN* 蛋白表达与 *BRAF*^{V600E} 突变的相关性研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(6) : 871-875. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.06.009.
Li SL, Sun FF, Shao GA, et al. Correlation between *PTEN* protein expression and *BRAF*^{V600E} mutations in thyroid carcinoma [J]. *Mod Oncol*, 2017, 25(6) : 871-875. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.06.009.
- [36] 刘志春, 赵亮. *PTEN* 和 *Ki-67* 在甲状腺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2016(11) : 1348-1352. DOI: 10.7507/1007-9424.20160345.
Liu ZC, Zhao L. Expressions of *PTEN* and *Ki-67* in primary thyroid cancer tissues and its clinical significances [J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2016(11) : 1348-1352. DOI: 10.7507/1007-9424.20160345.
- [37] Nagy R, Ganapathi S, Comeras I, et al. Frequency of germline *PTEN* mutations in differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2011, 21(5) : 505-510. DOI: 10.1089/thy.2010.0365.
- [38] Beg S, Siraj AK, Jehan Z, et al. *PTEN* loss is associated with follicular variant of middle eastern papillary thyroid carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(12) : 1938-1943. DOI: 10.1038/bjc.2015.169.
- [39] Mohammadi-asl J, Larijani B, Khorgami Z, et al. Qualitative and quantitative promoter hypermethylation patterns of the *p16*, *TSHR*, *RASSF1A* and *RARβ2* genes in papillary thyroid carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2011, 28 (4) : 1123-1128. DOI: 10.1007/s12032-010-9587-z.
- [40] Wang P, Pei RG, Lu ZM, et al. Methylation of *p16* CpG islands correlated with metastasis and aggressiveness in papillary thyroid carcinoma [J]. *J Chin Med Assoc*, 2013, 76(3) : 135-139. DOI: 10.1016/j.jcma.2012.11.007.
- [41] Sun RM, Wang JD, Li XJ, et al. Effect of iodine intake on p14ARF and p16INK4a expression in thyroid papillary carcinoma in rats [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21 : 2288-2293. DOI: 10.12659/MSM.893486.
- [42] Temiz P, Akkaş G, Neşe N, et al. Determination-of apoptosis and cell cycle modulators (*p16*, *p21*, *p27*, *p53*, *BCL-2*, *Bax*, *BCL-xL*, and *cyclin D1*) in thyroid follicular carcinoma, follicular adenoma, and adenomatous nodules via a tissue microarray method [J]. *Turkish J Med Sci*, 2015, 45 (4) : 865-871. DOI: 10.3906/sag-1406-48.
- [43] Fourati A, El Amine O, Ben Ayoub W, et al. Expression profile of biomarkers altered in papillary and anaplastic thyroid carcinoma: contribution of Tunisian patients [J]. *Bull Cancer*, 2017, 104 : 433-441. DOI: 10.1016/j.bulcan.2016.12.001.
- [44] Zhou Y, Zhao CH, Gery S, et al. Off-target effects of c-MET inhibitors on thyroid cancer cells [J]. *Mol Cancer Therap*, 2014, 13(1) : 134-143. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0187.
- [45] Berardi R, Morgese F, Onofri A, et al. Role of maspin in cancer [J]. *Clin Translat Med*, 2013, 2 : 8. DOI: 10.1186/2001-1326-2-8.
- [46] Lewy GD, Ryan GA, Read ML, et al. Regulation of pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression and phosphorylation in thyroid cells [J]. *Endocrinology*, 2013, 154(11) : 4408-4422. DOI: 10.1210/en.2012-2156.
- [47] Kunstman JW, Korah R, Healy JM, et al. Quantitative assessment of *RASSF1A* methylation as a putative molecular marker in papillary thyroid carcinoma [J]. *Surgery*, 2013, 154 (6) : 1255-1262. DOI: 10.1016/j.surg.2013.06.025.
- [48] Shou FY, Xu F, Li G, et al. *RASSF1A* promoter methylation is associated with increased risk of thyroid cancer: a Meta-analysis [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10 : 247-257. DOI: 10.2147/OTT.S124417.
- [49] Do SI, Kim DH, Yang JH, et al. Decreased expression of *p27* is associated with malignant transformation and extrathyroidal extension in papillary thyroid carcinoma [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(3) : 3359-3364. DOI: 10.1007/s13277-015-4163-y.
- [50] Tang T, Zhang DL. Study on extracellular matrix metalloproteinase inducer and human epidermal growth factor receptor-2 protein expression in papillary thyroid carcinoma using a quantum dot-based immunofluorescence technique [J]. *Exp Therap Med*, 2015, 9(4) : 1331-1335. DOI: 10.3892/etm.2015.2287.

(收稿日期: 2017-03-27)

(本文编辑: 张林东)