

· 论 著 ·

甲状腺癌中 BRAF、RET、MEN1、FOXE1 等基因 相关 SNP 位点的筛选及临床价值*

朱晓娥¹, 袁耿彪^{1△}, 范永增¹, 冉海涛², 郑元义², 王志刚²

(1. 重庆医科大学附属第二医院核医学科 400010; 2. 重庆医科大学超声影像学研究所 400010)

摘要:目的 分析甲状腺癌(TC)BRAF、RET、MEN1、FOXE1 等 14 个基因的 80 个 SNP 突变位点,探讨 TC 的发病机制及潜在的临床诊断、治疗和预防干预价值。方法 根据 2011 年 12 月前更新的纳入标准,纳入文献 77 篇,筛选出 14 个基因共 80 个高信息量的 SNP 位点。采集 8 例乳头状甲状腺癌(PTC)、2 例滤泡状甲状腺癌(FTC)、1 例未分化癌(pDTC),共 11 例肿瘤组织样本,分别取肿瘤组织、瘤旁组织,以及甲状腺良性肿瘤(TA)组织标本 22 例。采用 DNA 纯化试剂盒提取组织 DNA,80 个 SNP 位点采用 Sequenom Mass ARRAY 相对分子质量阵列技术进行序列分析,并采用 SPSS17.0 软件进行 χ^2 检验分析结果。结果 (1)选择 14 个基因的 80 个位点,除了 BRAF 的 rs1733832 位点在样本中未检出,其余 79 个位点在 TC、TC 瘤旁组织及 TA 中都有表达;(2)MEN1 基因的 rs669976 位点和 FOXE1 基因的 rs965513 位点的突变在 TC 和 TA 中的表达差异有统计学意义($P < 0.05$);(3)TP53 基因的 rs722494 在 TC 及 TC 瘤旁的表达差异有统计学意义($P < 0.05$);(4)80 个 SNP 位点在 PTC 中有 47.5% 的位点出现融合型,2.5% 的位点出现缺失;在 FTC 中,有 7.5% 的位点出现融合型,1.25% 的位点出现缺失。结论 TC 相关 14 个基因对 TC 的发生、发展及良恶性鉴别起到重要作用,为进一步对 TC 复发/转移、失分化的诊断、治疗、预防干预及分子靶向抑制剂的应用提供了研究的方向和潜在的临床诊断、治疗价值。

关键词:甲状腺肿瘤;多态性;单核苷酸;基因分型

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.34.002

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)34-3580-03

Selection and clinical value of 80 SNP loci from BRAF, RET, MEN1, FOXE1, etc in thyroid neoplasms*

Zhu Xiaoe¹, Yuan Gengbiao^{1△}, Fan Yongzeng¹, Ran Haitao², Zheng Yuanyi², Wang Zhigang²

(1. Department of the Nuclear Medicine, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University,

Chongqing 400010, China; 2. The Ultrasonic Imaging Institute of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract: Objective To analyze the 80 SNP loci of 14 genes about BRAF, RET, MEN1, FOXE1, etc, to study the pathogenesis and the clinical diagnosis, treatment and prevention value of these genes in the TC. **Methods** According to the criteria until December, 2011, we selected 80 high imformative SNPs loci of 14 genes from 77 PUBMEDS. We collected 11 cases of TC (8 cases of PTC, 2 cases of FTC and 1 case of pDTC) and 22 cases of TA. The DNA was extracted by DNA purification kit, the SNP loci sequence were analysed by Sequenom Mass ARRAY, the result were analysed with SPSS17.0. **Results** (1) We found the expression of 80 SNPs in the TC and TA, except rs 1733832 of BRAF. (2) There were significant difference in the expression of rs669976 of MEN1 and rs965513 of FOXE1 mutation between TC and TA ($P < 0.05$). (3) The expression of rs722494 from TP53 detected significant difference between TC and TC paraneoplastic ($P < 0.05$). (4) The incidence rate of the fusion type of 80 SNPs were 47.5%, 7.5% and 8.75% in PTC, FTC and pDTC; the incidence rate of the deletion type of 80 SNPs were 2.5% and 1.25% in PTC and FTC.

Conclusion We study the important role of 80 SNPs loci of TC in the pathogenesis, development and the identification of benign and malignant of TC. This conclusion provides future research direction and potential clinical diagnose and treatment value for TC relapse and metastasis, dedifferentiation diagnose, treatment, prevention intervention and the application of molecular targeted inhibitors.

Key words: thyroid neoplasms; polymorphism, single nucleotide; genotyping

近 20 年来,中国的甲状腺癌(TC)发病率呈上升趋势;但近几年,随着 TC 规范性诊疗指南的推广与应用,降低了 TC 的复发/转移率和病死率,提高了患者生存率,但对于部分的复发/转移或者失分化的 TC,目前仍未有特异性的诊断和治疗手段。目前,已证明有多种癌基因、抑癌基因与 TC 的发生、发展密切相关,在 TC 细胞的恶性增殖、转移、预后以及对放、化疗的拮抗起着重要作用。因此,采用快速、高效率、高通量处理 TC 相关基因的多个 SNP 位点,有助于了解不同个体基因的表达型差异,不同群体对疾病的易感性,不同病理分型对药物的耐

性以及对不同环境反应的差异^[1]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 6 月至 2011 年 11 月本院术后确诊为 TC 的患者 11 例,平均年龄(50.73±8.69)岁;其中乳头状甲状腺癌(PTC)8 例,滤泡状甲状腺癌(FTC)2 例,未分化癌(pDTC)1 例,包括 7 组同一个患者的配对 TC 及瘤旁组织,其中有 4 组 PTC,1 组 pDTC,2 组 FTC;术后病理确诊甲状腺良性肿瘤(TA)患者 22 例,年龄 23~80 岁,平均(47.61±13.42)岁,包括 18 例滤泡性甲状腺腺瘤,2 例结节性甲状腺

* 基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(81130025);国家自然科学基金中加资助项目(81110219);国家自然科学基金资助项目(30900371)。△ 通讯作者, Tel:023-63693339; E-mail: yuan_gb@126.com。

肿,1 例亚甲炎,1 例甲状腺纤维腺瘤。新鲜组织样本采取离体后 30 min 内速冻与液氮,48 h 后移入 -80°C 冰箱中保存备用。

1.2 仪器与试剂 采用美国 Promega 公司 DNA 提取试剂盒,SNP 分型检测的主要试剂来自美国 Sequenom 公司的 iPLEX Gold Reagent Kit 试剂盒,所有引物均在上海英骏生物公司合成,质谱检测及分析使用 Sequenom 公司 Mass ARRAY Analyzer Compact 系统。

1.3 方法

1.3.1 组织 DNA 提取 采用 DNA 试剂盒提取组织中的 DNA,用分光光度计定量,琼脂糖凝胶电泳质检。质检合格的 DNA 将浓度调整到 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, -20°C 储存备用。

1.3.2 引物设计 采用 Sequenom 公司 Genotyping Tools 及 Mass ARRAY Assay Design 软件设计,待测 SNP 位点的 PCR 扩增引物及单碱基延伸引物,由上海英骏生物公司合成。

1.3.3 SNP 位点筛选 根据 NCBI,OMIM 和 KEGG 网站所公布的基因和 SCI 收录和公开发表的文献及纳入标准,筛选出 14 个基因共 80 个高信息量的 SNP 位点。其中 PTC: BRAF 及 RET 2 个基因 36 个位点,FTC 的 RAS 及 PAX8-PPAR γ 2 个基因 7 个位点,pDTC 的 TP53 和 CTNNB1 2 个基因的 26 个位点,及其他 8 个相关基因的 11 个位点。

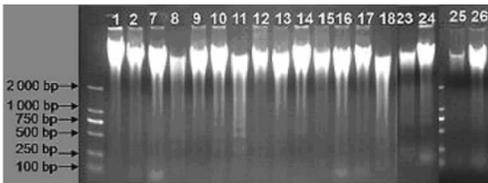
1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行 χ^2 检验分析结果,80 个 SNP 位点采用 Sequenom Mass ARRAY 相对分子质量阵列技术进行序列分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DNA 样本提取结果 质检后共计 11 例 TC 及癌旁组织,其中有 7 组配对,4 例未配对(图 1);余 22 例 TA 质检合格(图 2)。

2.2 80 个 SNP 位点在 TC 与 TA 的统计学分析 80 个 TC 相关的 SNP 位点,其中除了 BRAF 基因的 rs1733832 在所有病例中均未检出外,其余 79 个 SNP 位点在 TC 及 TA 中均有突变。统计分析结果显示,多发性内分泌瘤 1 型(MEN1)基因的 rs669976(T > C)与甲状腺转录因子 2(FOXE1)基因的 rs965513(G > A)在 TC 与 TA 间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 MEN1 基因的 rs669976 位点的飞行质谱图 rs669976 在纵轴质量为 6215 和 6220 的位置分别为等位点 T 和 C(图 3、4,横坐标为强度,纵坐标为质量);图 3 是 TC,位点 C 有离子峰,位点 T 没有峰;图 4 是 TA,正好相反,位点 C 没有峰,位点 T 出现峰。

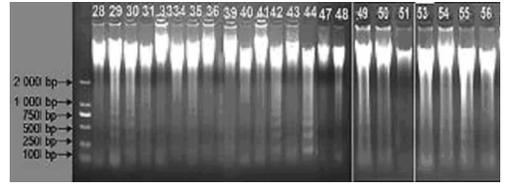


1、7、10、12、14、16、24: 配对 TC 组织;2、8、11、13、15、17、18: 配对 TC 癌旁组织;9、23、26: 未配对的 TC 组织;25: 未配对的 TC 癌旁组织。

图 1 11 例 TC 及癌旁组织 DNA 电泳

2.4 79 个位点在 7 组 TC 及癌旁组织中的结果 7 组 TC 及癌旁组织包括 4 组 PTC,其中 1 组有淋巴结转移;1 组 pDTC,2 组 FTC。79 个 SNP 位点中有 4 个位点在其中 5 组样本的癌及癌旁组织中的基因型有显著性差异(表 1)。TP53 基因的 rs722494 在 3 组 PTC,2 组 FTC 及 1 组 pDTC 的癌组织中表现为 GC 碱基融合;TP53 基因的 rs1794287 在有淋巴结转移

的 PTC 癌组织及 FTC 中表现为 C 碱基缺失;MEN1 基因的 rs607969 在有淋巴结转移的 PTC 中表现为碱基的缺失;BRAF 的 rs17623382 在有淋巴结转移的 PTC 中表现为 GT 碱基的融合。



28、44: 结节性甲状腺肿瘤组织 DNA;51: 1 例亚甲炎组织 DNA;55: 1 例甲状腺纤维腺瘤组织 DNA;其余均为滤泡状甲状腺腺瘤组织 DNA。

图 2 TA 组织 DNA 电泳

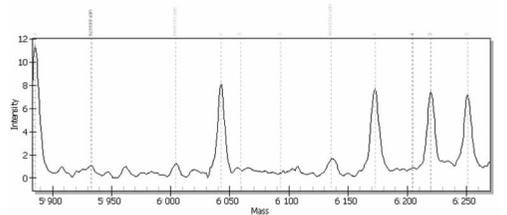


图 3 rs669976 在 TC 中的飞行质谱

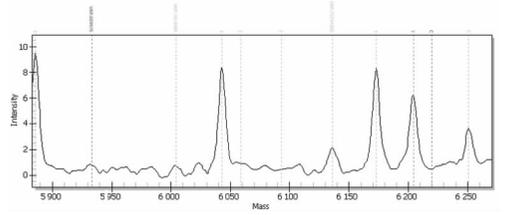


图 4 rs669976 在 TA 中的飞行质谱

表 1 7 组 TC 及癌旁组织中的 4 个 SNP 的突变情况(%)

病理类型	n	TP53		MEN1	BRAF
		rs722494	rs1794287	rs607969	rs17623382
PTC 组织	4	GC(100)	缺失(25)	C(100)	GT(25)
PTC 癌旁组织	4	G(75)	C(100)	TC(25)	T(100)
FTC 组织	2	GC(100)	缺失(50)	C(100)	T(100)
FTC 癌旁组织	2	G(100)	C(100)	C(100)	T(100)
pDTC 组织	1	GC(100)	GC(100)	C(100)	T(100)
pDTC 癌旁组织	1	G(100)	G(100)	C(100)	T(100)

表 2 80 个 SNP 位点在 11 个非配对 TC 样本中的分型比例(%)

序号	基因	SNP 个数(n)	基因型	PTC	FTC	pDTC
1	BRAF	21	杂合型	57.1	4.8	0.0
2	TP53	21	杂合型 缺失型	33.3 4.8	4.8	0.0
3	RET	15	杂合型	20.0	6.7	13.3
4	CTNNB1	5	杂合型	80.0	0.0	0.0
5	FOXE1	4	杂合型	50.0	25.0	0.0
6	MEN1	3	杂合型	66.7	33.3	0.0

续表 2 80 个 SNP 位点在 11 个非配对 TC 样本中的分型比例 (%)

序号	基因	SNP 个数(n)	基因型	PTC	FTC	pDTC
			缺失型	33.3	0.0	0.0
7	PPARG	3	杂合型	66.7	0.0	0.0
8	CDH1	2	杂合型	100.0	50.0	0.0
9	PAX8	1	杂合型	100.0	0.0	100.0
10	NKX2-1	1	杂合型	100.0	100.0	0.0
11	MIR146A	1	杂合型	100.0	0.0	100.0
12	HRAS	1	杂合型	100.0	0.0	0.0
13	NRAS	1	杂合型	100.0	100.0	100.0
14	KRASPI	1	杂合型	100.0	100.0	100.0

2.5 80 个 SNP 位点在 11 个非配对 TC 中的基因分型情况 本研究分别筛选了与 TC 相关的 80 个 SNP 位点,在 PTC 中有 47.5% 的位点出现杂合型,2.5% 的位点出现缺失;在 FTC 中,有 7.5% 的位点出现杂合型,1.25% 的位点出现缺失;在 pDTC 中有 8.75% 的位点出现杂合型,未见位点缺失。14 个基因在 PTC、FTC 和 pDTC 的分型出现率,见表 2。

3 讨论

TC 起病较隐匿,生物学特征多变,故鉴别诊断困难。随着分子生物学的发展和人类对 TC 发病机制认识的深入,基因片段诊断及治疗逐渐成为肿瘤生物学的重要组成部分^[2]。

3.1 PTC 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是生物体内重要的信号转导系统之一,MAPK 的持续磷酸化或激活对细胞转化和肿瘤的发生至关重要,可导致 PTC 细胞表型改变^[3]。BRAF 是 MARK 信号通路的关键成分,当其发生改变时可能导致肿瘤形成^[4]。RET 基因属于钙黏着蛋白,编码跨膜酪氨酸激酶受体,对细胞的增殖和分化起着转换信号调节的作用。本研究中,BRAF 基因的 21 个 SNP 位点不仅有单碱基型,还有杂合型,与文献报道该基因是 PTC 最常见的遗传突变相符,BRAF 基因的 rs17623382 在 TC 与 TA 的基因分型中差异无统计学意义($P>0.05$),可能与 TC 的病理组织分型、基因检测方法、病例数以及地域、民族等因素有关。目前,未见文献报道 BRAF 基因分型对于 PTC 浸润转移的作用。本研究表明,rs17623382 位点在有淋巴结转移的 PTC 癌旁组织中有不同的基因分型,但是否可为临床早期诊断 PTC 的转移提供依据,还有待进一步的研究。Cheung 等^[5] 研究表明,RET 基因 rs1799939 位点的多态性与耐药性有关,基因分型与 TC 形成的辐射剂量有关^[6]。本研究发现,RET 基因与 TC 的病理分型可能有关,如何将 RET 的基因分型与 TC 的形成机制及耐药性结合起来,还有待研究。

3.2 FTC 由于 FTC 的形态、结构与生物学行为的差异,易与甲状腺滤泡状腺瘤鉴别混淆。FTC 的发病机制尚不明确,目前,文献主要报道了 PPAR 信号通路在 FTC 的形成机制中的作用,主要包括了 RAS、PAX8-PPARG 等基因。RAS 基因是一种原癌基因,调控细胞外信号应答,细胞增殖、分化和凋亡过程。RAS 基因家族中包括很多亚型,热点亚型最主要在 HRAS、NRAS 及 KRAS,他们在 FTC、PTC、间变性癌和滤泡状腺瘤中的突变率也大致相同^[7]。本研究中,HRAS、NRAS、KRAS 基因的位点在 TC 和 TA 中的表达差异无统计学意义($P>0.05$),可能与所选的病例太少有关;其中 HRAS 基因的 rs12628 位点的基因分型可以为 TC 的病理分型提供一定的临

床价值,用于早期诊断和治疗。近来有研究发现,在 PAX8-PPAR γ 阳性的 FTC 中,参与细胞生长、细胞代谢、血管生长、信号传导、翻译调控等相关的基因表达上调^[8]。PAX8-PPAR γ 基因重排在 FTC 中的表达率较高,也见于小部分的 TA,这种表达上的差异可能与多种因素有关^[9]。本研究显示,rs1478、rs13073869、rs3856806 及 rs1801282 在 FTC 中表现为单基因型,而在 PTC 中有杂合型;在 TC 和 TA 中,等位位点的出现频率差异无统计学意义($P>0.05$),可能与收集的 TA 大多数为滤泡性腺瘤有关,说明 PAX8-PPAR γ 基因重排在鉴别滤泡性甲状腺肿瘤的良、恶性上,还有待进一步研究。

3.3 pDTC TP53 的突变体在不同人群的癌症中都经常发生,但并没有对基因的结合位点达成共识。有报道称,p53 基因突变可以加剧分化型 TC 向 pDTC^[10]。本实验中筛选的 TP53 基因 21 个 SNP 位点,融合突变发生率在 PTC 较高,在 FTC 较低,在 pDTC 中没有;而缺失在 PTC 和 FTC 概率一致;说明 TP53 的基因分型与 TC 的病理类型有一定的相关性,对于低分化腺癌形成机制的研究有帮助,故 TP53 抑癌基因可以作为分子诊断靶向工具。CDH1、CTNBN1 基因都属于钙粘蛋白的一种,在肿瘤细胞的侵袭和转移过程中起了一定的作用。近期文献提到了 CTNBN1 基因及其编码的钙粘蛋白与 TC 之间有着密切的关系^[11]。CDH1 基因突变导致该基因功能的缺失,影响着肿瘤的生长增殖、浸润和转移^[12]。实验证实 CTNBN1 基因的 5 个位点和 CDH1 基因的 2 个位点在 PTC 中都有碱基的杂合型,CDH1 基因在 FTC 仅有一个出现杂合,在 pDTC 均为单碱基型。说明这两种钙粘蛋白基因与 pDTC 的形成机制有关。

3.4 其他与 TC 相关的基因 FOXE1 基因的 rs1867277 是 TC 形成的易感因素之一,rs965513 与 PTC 形成的放射性环境有关。本研究中,FOXE1 基因的 rs965513 在 TC 及 TA 的基因分型差异有统计学意义($P<0.05$)。虽然文献未报道 rs1443434 在 TC 中的作用,但本研究证实了其在 PTC 中出现了融合型,说明它对于 TC 的发生、发展起到一定作用。MEN1 基因因为一种新发现的抑癌基因,它的突变和缺失,导致其编码蛋白的失活。国外文献称,MEN1 基因与遗传性 TC 的形成有一定的相关性。本研究选择 MEN1 基因的 rs607969 位点,在有淋巴结转移的一组 PTC 组织表现为碱基的缺失,而在癌旁组织中表现为碱基的杂合,是否可以用 rs607969 位点作为鉴别 PTC 浸润转移的手段,还有待于进一步研究。NKX2-1 最初被发现也是属于甲状腺转录因子的一种,其编码的蛋白质与甲状腺球蛋白的启动有关,并调节甲状腺的生长发生和基因表达,尤其是 rs944289 在 TC 的病理分型、浸润转移及放射性环境的影响中的作用。

综上所述,与 TC 相关的 SNP,既有与 TC 浸润转移相关的,也有与 TC 形成的放射性环境相关的,还有与 TC 抗肿瘤药物的耐药性相关的,采取大通量、高速、快捷的筛选 TC 相关 SNP 位点的实验技术是可行的,可以建立有效的预警系统,达到一级防预目的。

参考文献:

- [1] 朱晓娥,袁耿彪. 基因芯片技术在基因突变诊断中的应用及其前景[J]. 重庆医学,2010,39(22):3128-3131.
- [2] 袁耿彪. 甲状腺癌肿的基因突变及其在诊断治疗中应用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2009,16(3):1-5.
- [3] Syvanen AC. Accessing genetic variation:(下转第 3585 页)

表 1 CCK-8 法检测转染对人结肠癌细胞 SW480 增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	A ₄₅₀		
	24 h	48 h	72 h
空白组	0.277±0.010	0.335±0.030	0.457±0.051
空载体组	0.232±0.023	0.323±0.028	0.424±0.027
实验组	0.358±0.038	0.614±0.055	0.877±0.025
F	17.763	51.512	147.534
P	0.003	0.000	0.000

3 讨 论

肿瘤的发生、发展与所处的微环境密切相关,因此细胞外基质蛋白对肿瘤的发生、发展至关重要。新近发现一些细胞外基质蛋白如 OPN 等,在促进肿瘤细胞生长、存活、侵袭和抗凋亡等方面都发挥着重要的作用。OPN 与其受体结合后激活细胞内相应的信号通路引起相应基因表达的改变,促进肿瘤侵袭转移^[4-5]。OPN 与结肠癌侵袭转移密切相关,但 OPN 促进结肠癌侵袭转移的机制仍不明确,有待进一步研究^[6]。

本研究结果显示,重组质粒 pEGFP-N1/OPN 转染 SW480 后,OPN 基因获得很好转录,OPN 蛋白表达增高,OPN 能促进 SW480 细胞增殖,软琼脂克隆形成速度增快,数量明显增多。为研究其分子机制,Western blotting 检测 FHIT 蛋白和 Akt 蛋白在转染 OPN 后 SW480 细胞中的表达。结果显示,与空白组和空载体组相比,FHIT 蛋白在实验组中表达显著降低;而 Akt 蛋白在各组中的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。

Akt 是 PI3K 的主要下游效应分子之一,可通过调节包括核因子- κ B 在内的转录因子参与多种生命活动。研究表明,PI3K/Akt 途径的活化参与多种肿瘤的发生,抑制该通路可诱导细胞程序性死亡和抑制肿瘤的生长。有研究显示,肿瘤细胞在面临生存压力时,OPN 通过与 $\alpha v \beta 3$ 整合素结合,增强 Akt Ser473 位点的磷酸化作用,激活 PI3K/Akt 途径,拮抗生存压力,提升细胞存活能力。根据本实验结果,OPN 并没有引起 Akt 蛋白表达量增加。

FHIT 位于人类 3 号染色体短臂 3p14.2。研究表明,FHIT 在人类许多肿瘤组织或细胞系中呈现高频率异常,在许多肿瘤组织或肿瘤细胞株中,FHIT 基因呈现多发性、广泛性

的纯合性或杂合性缺失,为多种肿瘤的候选抑制基因^[7-8]。作为肿瘤抑制基因,它的缺失或失活将导致肿瘤的发展和恶性度的升高,与肿瘤的发生、发展有关。本实验结果显示,OPN 转染组 FHIT 蛋白表达降低,故推测 OPN 通过抑制 FHIT 表达而促进结肠癌细胞增殖、存活。

本研究构建真核表达载体 pEGFP-N1/OPN,转染人结肠癌细胞 SW480 细胞。结果显示 OPN 通过降低 FHIT 蛋白表达促进人结肠癌细胞 SW480 增殖存活能力,促进肿瘤发生、发展。

参考文献:

- [1] Denhardt DT, Guo X. Osteopontin: a protein with diverse functions[J]. *FASEB J*, 1993, 7(15): 1475-1482.
- [2] Coppola D, Szabo M, Boulware D. Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(1 Pt 1): 184-190.
- [3] Uhlmann ME, Georges RB, Boleij A, et al. Influence of osteopontin expression on the metastatic growth of CC531 rat colorectal carcinoma cells in rat liver[J]. *Cancer Gene Ther*, 2011, 18(11): 795-805.
- [4] Chakraborty G, Jain S, Behera R, et al. The multifaceted roles of osteopontin in cell signaling, tumor progression and angiogenesis[J]. *Curr Mol Med*, 2006, 6(8): 819-830.
- [5] Rittling SR, Chambers AF. Role of osteopontin in tumour progression[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(10): 1877-1881.
- [6] Georges R, Adwan H, Zhivkova M, et al. Regulation of osteopontin and related proteins in rat CC531 colorectal cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(2): 249-256.
- [7] Siprashrili Z, Sozzi G, Barnes LD, et al. Replacement of Fhit in cancer cells suppresses tumorigenicity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(25): 13771-13776.
- [8] 卢德成, 罗佐杰, 洗晶. 肾上腺皮质肿瘤增殖抗原和脆性组氨酸二联体表达的相关性及意义[J]. *中国综合临床*, 2008, 24(8): 753-754.

(收稿日期: 2012-06-13 修回日期: 2012-09-12)

(上接第 3582 页)

genotyping single nucleotide polymorphisms[J]. *Nat Rev Genet*, 2001, 2(12): 930-942.

- [4] Engelberg D. Stress-activated protein kinases-tumor suppressors or tumor initiators[J]. *Semin Cancer Biol*, 2004, 14(4): 271-282.
- [5] Cheung CC, Ezzat S, Freeman JL, et al. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2001, 14(4): 338-342.
- [6] Sigurdson AJ, Landa CE, Bhatti P, et al. Thyroid nodules, polymorphic variants in DNA repair and RET-related genes, and interaction with ionizing radiation exposure from nuclear tests in Kazakhstan[J]. *Radiat Res*, 2009, 171(1): 77-88.
- [7] Lang BH, Lo CY, Chan WF, et al. Staging systems for follicular thyroid carcinoma: application to 171 consecutive patients treated in a tertiary referral centre[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2007, 14(11): 29-42.

- [8] Kondo T, Ezzat S, Asa SL. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4): 292-306.
- [9] Castro P, Reboeh AP, Snares RJ, et al. PAX8-PPAR-gamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(1): 213-220.
- [10] Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, et al. PAX8-PPARG-gamma fusion oncogene in human thyroid carcinoma [corrected][J]. *Science*, 2000, 289(5483): 1357-1360.
- [11] Namba H, Yamashita S. Gene abnormalities in thyroid cancer[J]. *Nippon Rinsho*, 2007, 65(11): 1967-1972.
- [12] Tartari CJ, Donadoni C, Manieri E, et al. Dissection of the RET/ β -catenin interaction in the TPC1 thyroid cancer cell line[J]. *Am J Cancer Res*, 2011, 1(6): 716-725.

(收稿日期: 2012-06-09 修回日期: 2012-08-22)