

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.01.010

· 临床研究 ·

外周血甲状腺过氧化物酶 mRNA 与甲状腺乳头状癌转移风险的研究*

蒋筠 顾丽萍 李娜 王育璠 吴艺捷[△] 彭永德

(上海交通大学附属第一人民医院内分泌代谢科 上海 200080)

摘要 目的:检测甲状腺乳头状癌(PTC)患者外周血甲状腺过氧化物酶(TPO) mRNA 的表达水平,探讨其在预测 PTC 转移风险中的诊断价值。**方法:**以术后组织病理学为诊断标准,采用巢式逆转录-聚合酶链反应方法检测 41 例 PTC 患者术前外周血 TPO mRNA 表达阳性率,并分析其与患者临床病理学特征及转移风险的关系。**结果:**41 例 PTC 患者均行全/近全甲状腺切除术联合颈部淋巴结清扫术,其中伴颈部淋巴结转移 16 例(39.0%),均无远处转移。将患者按照手术前血清 TPO mRNA 表达阳性与否分组,尽管 2 组间表达阳性率在性别、年龄、肿瘤最大径、肿瘤数目无显著差异($P>0.05$),但伴有颈部淋巴结转移患者的表达阳性率明显高于不伴转移者(68.8% vs 36.0%, $P<0.05$)。对 PTC 患者进行术后 TNM 分期与复发危险度分层,TPO mRNA 在不同术后分期的组间表达无显著差异($P>0.05$),但在中、高危组的表达阳性率明显高于低危组(68.8%、66.7% vs 31.8%, $P<0.05$)。**结论:**外周血 TPO mRNA 表达水平可能有助于预测 PTC 转移的风险,有望成为甲状腺癌分子标志物。

关键词:甲状腺乳头状癌;颈部淋巴结转移;甲状腺过氧化物酶 mRNA;外周血;分子标志物

中图分类号:R736.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)01-42-06

Study on Thyroid Peroxidase mRNA in Peripheral Blood and the Risk of Papillary Thyroid Carcinoma Metastasis*

JIANG Yun, GU Li-ping, LI Na, WANG Yu-fan, WU Yi-jie[△], PENG Yong-de

(Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Jiao Tong University Affiliated First People's Hospital, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the diagnostic value of thyroid peroxidase(TPO) mRNA in peripheral blood of papillary thyroid carcinoma (PTC) patients. **Methods:** Postoperative histopathology as the diagnostic standard, the expression of circulating TPO mRNA was measured by nested RT-PCR in PTC patients. **Results:** 41 PTC patients accepted total/subtotal thyroidectomy and cervical lymph node dissection, 16 (39.0%) had cervical lymph node metastasis, none had distant metastasis. The positive rate of TPO mRNA had no significant difference among the gender, ages, the levels of TPOAb, tumor size, the numbers of tumor in PTC patients ($P>0.05$), but had significant difference between patients with and without central lymph node metastasis (68.8% vs 36.0%, $P<0.05$). TPO mRNA expression showed no significant difference among patients of different TNM staging ($P>0.05$), but it did exhibit significantly different between low-risk patients and Intermediate/high-risk patients for recurrence (31.8% vs 68.8%, 66.7%, $P<0.05$). **Conclusions:** The expression of TPO mRNA in peripheral blood could serve as a potential molecular marker to predict PTC metastasis.

Key words: Thyroid papillary carcinoma; Cervical lymph node metastasis; Thyroid peroxidase mRNA; Peripheral blood; Molecular marker

Chinese Library Classification(CLC): R736.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)01-42-06

前言

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤,也是近年来发病率增长速度最快(每年 $>5\%$)的癌^[1],其中以甲状腺乳头状癌(PTC)为最常见的病理类型。一组涉及全球范围不同地区的调查数据显示,甲状腺癌在女性与男性患者中均呈现逐年上升的趋势,而这一显著变化主要归因于 PTC 发病率的增长^[2]。尽管

PTC 总体预后良好,死亡率远远低于其它系统的恶性肿瘤,但是颈部淋巴结转移的几率较高,可进一步导致局部复发率升高^[3]。即使是肿瘤介于 8-10 mm 的微小癌,也会发生远处转移^[4],而年龄在 45 岁以上伴有远处转移患者的 5 年生存率仅为 30% -40%。因此,临床医师仍须重视 PTC 患者的术后随访,采取必要的检测手段应用于病情的诊断与监测。

目前认为,手术前血清甲状腺球蛋白(Tg)水平对甲状腺癌

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81100616)

作者简介:蒋筠(1975-),主治医师,研究方向:自身免疫性甲状腺疾病与甲状腺肿瘤,电话:15026603769, E-mail: jiangyunhere@163.com

[△] 通讯作者:吴艺捷,主任医师, E-mail: drwuyjie@163.com

(收稿日期:2016-05-18 接受日期:2016-06-15)

的诊断价值有限,但接受甲状腺全切患者血清 Tg 水平升高常常提示转移或者复发。不过,对于未完全切除甲状腺的患者而言,残留的正常甲状腺组织仍是血清 Tg 的来源之一,加上甲状腺球蛋白抗体(TgAb)的干扰,故血清 Tg 测定在预测甲状腺癌转移与复发的敏感性和特异性均不高^[5]。近年来,国外学者尝试以逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术检测外周血单个核细胞上甲状腺组织特异性 mRNA,包括 Tg mRNA、促甲状腺素受体(TSHR)mRNA 与甲状腺过氧化物酶(TPO)mRNA,用于甲状腺癌的手术前诊断以及手术后复发、转移的评估^[6],尽管离临床应用尚有差距,但似乎已经初现端倪。其中不乏有关于 TPO mRNA 的研究,但国内相关内容则鲜有报道^[7]。因此,本研究以术后组织病理学结果为 PTC 诊断标准,采用巢式逆转录-聚合酶链反应(nested RT-PCR)方法检测 PTC 患者外周血 TPO mRNA 的表达水平,探讨其在预测 PTC 转移风险中的临床诊断价值。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

选自我院 2014 年 1 月至 2014 年 8 月初次接受甲状腺手术治疗的 41 例 PTC 患者,均行全/近全甲状腺切除术联合颈部淋巴结清扫术,经手术病理证实为 PTC,伴或不伴颈部淋巴结转移。

分组标准:(1)参照 2010 年美国癌症联合委员会(AJCC)第七版^[8]推荐的分化型甲状腺癌(DTC)术后 TNM 分类及分期标准,根据年龄(<45 岁/≥45 岁)和病理学因素(包括肿瘤最大径、有无颈部淋巴结转移及转移区域、有无远处转移),将患者分为 I 期、II 期、III 期和 IV 期。(2)参照 2012 年中华医学会甲状腺结节和 DTC 诊治指南^[9]推荐的 DTC 复发危险度分层标

准,根据手术资料、术后组织病理学结果、术后血清 Tg 水平(正常/升高)、影像学资料及甲状腺癌家族史等相关因素,将患者分为低危、中危和高危组。

1.2 资料收集

临床资料包括性别、年龄、临床表现、病程时间、既往病史、有无甲状腺癌家族史、术前甲状腺功能(FT3、FT4、TSH、Tg)及自身抗体(TPOAb、TgAb)检测结果、术后血清 Tg 水平、影像学资料等。手术病理学资料包括甲状腺手术方式、病理标本中的肿瘤最大径、单发或多发病灶、有无合并桥本甲状腺炎(Hashimotos thyroiditis, HT)、有无腺外侵犯、有无伴发颈部淋巴结转移、颈部淋巴结的转移区域等。

1.3 实验方法

1.3.1 主要试剂 血液 RNA 稳定剂、血液 RNA 提取试剂盒由北京天根生化科技公司提供,Trizol 由美国 Ambion 公司提供,反转录试剂盒由北京普洛麦格生物技术公司提供,目的基因及内参照引物均由上海生工生物合成公司提供(引物序列详见表 1),PCR 试剂盒、DL 2,000 DNA Marker 由大连宝生物工程公司提供。

1.3.2 标本采集 术前禁食 8-12 h,采用 EDTA-K2 真空采血抗凝管,于次日清晨空腹抽取静脉血 4 mL,置 4 °C 冰箱保存,2 h 内加入 3 倍体积的血液 RNA 稳定剂,上下颠倒混匀 8-10 次,室温放置 2 h 后保存于 -20 °C 冰箱。

1.3.3 外周血 RNA 抽提 参照血液 RNA 提取试剂盒说明书的步骤,对血样标本进行 RNA 提取,取得 RNA 溶液后进行浓度与纯度检测,再进行反转录或置于 -80 °C 冰箱保存备检。

1.3.4 反转录 参照反转录试剂盒说明书的步骤,将 mRNA 反转录成 cDNA(1 μg RNA/20 μL 体系),再进行 PCR 或置于 -20 °C 冰箱保存,用于后续实验。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

Primers		Sequences(5'-3')	Product length (bp)
TPO 1st round	Forward primer	GTCTCTAGCGTCTTGGAGGAAA	680
	Reverse primer	TTCTCACAAGTCATCTGGCAGT	
TPO 2nd round	Forward primer	TCTTTTCCAAACTTCCTGAGC	464
	Reverse primer	AGGTCAGAATAGCGGTCATCAT	
GAPDH	Forward primer	AGAAGGCTGGGGCTCATTG	258
	Reverse primer	AGGGCCATCCACAGTCTTC	

1.3.5 巢式 PCR 目的基因 TPO 采用巢式 PCR,内参照 GAPDH 采用单次 PCR,引物序列采用 Premier 5.0 设计,详见表 1。(1)首轮 PCR 反应体系为 50 μL,各加入 cDNA 5 μL,扩增条件:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,59 °C (GAPDH 为 57 °C) 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,36 个循环后,4 °C 保存;(2)TPO 第二轮 PCR 反应体系为 50 μL,加入首轮循环产物 3 μL,扩增条件:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,59 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,30 个循环后,4 °C 保存。

1.3.6 凝胶分析 PCR 扩增产物以 DL 2,000 DNA Marker 为标记,使用 1%琼脂糖凝胶电泳,电泳结束后将凝胶放入全自动数码凝胶成像分析仪中,观察电泳结果,TPO mRNA 表达阳

性的标本可在 464 bp 处见到 DNA 片段区,内参 DNA 片段区位于 258 bp 处,拍照并以 JPG 图片格式保存图像。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 21.0 数据统计软件对本研究的原始数据进行统计学分析。计量资料采用均值±标准差、范围或中位值表达,计数资料采用例数(百分比%)表达。不同组间的计量资料比较采用独立样本 t 检验,不同组间的计数资料比较采用 Pearson 卡方检验或 Fisher's 确切概率法。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的临床病理学特征

共纳入 PTC 患者 41 例。其中男性 8 例(19.5%),女性 33 例(80.5%),男女比例 1:4,平均年龄(46.1± 9.6)岁,无临床症状者 32 例(78.0%),病程 3 天-36 月。所有患者既往无甲状腺手术史,无甲状腺癌家族史。均予以全/近全甲状腺切除术联合颈部淋巴结清扫术,手术后组织病理学确诊为 PTC。

术前甲状腺功能结果:有 37 例检测甲状腺功能及自身抗体,其中 30 例(81.1%)甲状腺功能正常,27 例(73.0%)TgAb 水平正常(参考值 0-115 U/mL),28 例(75.7%)TPOAb 水平正常(参考值 0-34 U/mL),TSH 均值(3.00± 1.32)μU/L(参考值 0.25-4.0),Tg 均值(17.17± 8.51)ng/mL(参考值 0-20.25)。

术后组织病理学结果:(1)肿瘤最大径范围 1.0 mm-40.0 mm,平均最大径(8.7± 7.3)mm,≤ 10 mm 为 28 例(68.3%),> 10 mm 为 13 例(31.7%)。(2)单发癌灶 27 例(65.9%),多发癌灶 14 例(34.1%)。(3)合并 HT 者 13 例(31.7%)。(4)伴发颈部淋巴结转移 16 例(39.0%),其中 13 例(81.3%)转移至中央区淋巴结(N1a),3 例(18.7%)转移至颈侧区淋巴结(N1b)。(5)有 2 例(4.9%)腺外侵犯。(6)均无远处转移。

2.2 外周血 TPO mRNA 的表达

本研究所观察的 41 例 PTC 患者,均于术前采血并完成 TPO mRNA 的检测,其中 20 例患者的外周血 TPO mRNA 表达呈阳性,阳性率为 48.8%。

TPO mRNA 表达的典型电泳结果如图 1 所示:泳道 1-4 为外周血 TPO mRNA 表达的阳性结果,泳道 6 为甲状腺癌组织 TPO mRNA 表达的阳性结果(作为阳性对照),泳道 7-8 则为外

周血 TPO mRNA 表达的阴性结果。

2.3 外周血 TPO mRNA 表达与 PTC 的临床病理学特征

为评估 PTC 患者外周血 TPO mRNA 表达与其临床病理学特征的关系,现以 41 例 PTC 患者为观察对象,根据其术前 TPO mRNA 表达阳性与否分组,比较两组的性别、年龄、术前血清 TPOAb 水平(共 37 例接受检测)、有无合并 HT,以及肿瘤最大径、肿瘤数目、有无腺外侵犯、有无颈部淋巴结转移等。

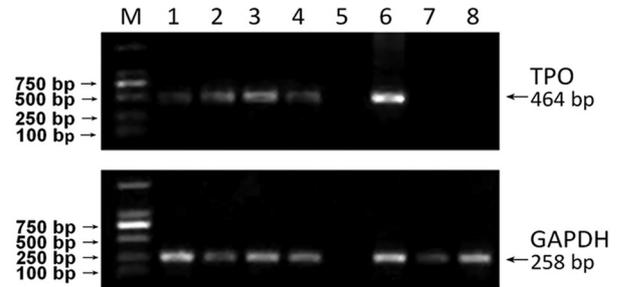


图 1 RT-PCR 方法检测外周血 TPO mRNA 表达

Fig.1 Expression of TPO mRNA in peripheral blood by RT-PCR

Note: Lanes 1-4, positive results. Lane 5, negative control. Lane 6, positive control. Lanes 7-8, negative results.

结果如表 2 所示:(1)患者的性别、年龄、术前血清 TPOAb 水平、有无合并 HT,在两组之间均无显著性差异(P>0.05)。(2)伴有颈部淋巴结转移的 PTC 患者,与不伴转移的患者相比,其术前 TPO mRNA 表达阳性率更高,差异有统计学意义(P<0.05)。而肿瘤最大径、肿瘤数目以及有无发生腺外侵犯,组间差异均无统计学意义(P>0.05)。

表 2 TPO mRNA 表达与 PTC 临床病理学特征

Table 2 TPO mRNA expression and clinicopathological characteristics of PTC

Parameters	TPO mRNA			P value
	Negative	Positive	Positive rate (%)	
Gender				
Male	4	4	50.0	1.000
Female	17	16	48.5	
Age(yr)	48.6± 7.5	43.4± 10.9		0.084
<45	6	9	60.0	0.257
≥ 45	15	11	42.3	
TPOAb levels#				
Normal	15	13	46.4	0.447
Elevated	3	6	66.7	
With HT				
×	14	14	50.0	0.819
√	7	6	46.2	
Max tumor size(mm)	6.9± 3.5	10.7± 9.5		0.107
≤ 10	17	11	39.3	0.074
> 10	4	9	69.2	
Tumor numbers				
Solitary	16	11	40.7	0.153
Multiple	5	9	64.3	
Extrathyroidal extension				

×	21	18	46.2	0.232
√	0	2	100.0	
Cervical LN metastasis				
×	16	9	36.0	0.041
√	5	11	68.8	

Note: # Among the 41 cases, 37 patients were tested the serum TPOAb levels before operation.

2.4 外周血 TPO mRNA 表达与 PTC 风险评估

为进一步评价 PTC 患者外周血 TPO mRNA 表达在其术后风险评估中的作用,现以 41 例 PTC 患者为观察对象,比较其术前 TPO mRNA 表达与术后 TNM 分期、复发危险度分层之间的关系。

2.4.1 外周血 TPO mRNA 在不同术后分期中的表达 本研究以 AJCC 第七版^[6]推荐的 DTC 术后分期系统为标准,对患者进行 TNM 分类与分期后发现: I 期为 31 例(75.6%)、III 期为 9

例(22.0%)、IV 期为 1 例(2.4%),未有符合 II 期 TNM 分类标准的患者,详见表 3。

计算不同 TNM 分类与分期的 TPO mRNA 表达阳性率,采用 Fisher's 确切概率法进行相互比较,结果如表 3 所示:(1) I 期、III 期、IV 期患者的 TPO mRNA 表达阳性率依次为 45.2%、55.6%、100%。(2) I 期、III 期、IV 期患者的 TPO mRNA 表达阳性率组间差异均无统计学意义(P>0.05)。

表 3 TPO mRNA 表达与 PTC 的 TNM 分期

Table 3 TPO mRNA expression and TNM classification of PTC

Stages [#]	Classification		Number	TPO mRNA	
	Age/yr	TNM		Positive number	(rate)
Stage I	<45	T1N0M0	31	8	3(37.5)
		T3N0M0		1	1(100)
		T1N1M0		6	5(83.3)
	≥ 45	T1N0M0		16	5(31.3)
Stage III	≥ 45	T1N1aM0	9	8	5(55.6)
		T3N1aM0		1	4(50.0)
		1		1(100)	
Stage IV	≥ 45	T2N1bM0	1	1	1(100)
		All PTC		41	20(48.8)

Note: # Used with the AJCC Cancer Staging Manual, 7th Edition.

2.4.2 外周血 TPO mRNA 在不同复发危险度分层中的表达 AJCC 推荐的 TNM 分期系统主要用于评估患者的死亡风险,但 PTC 患者大多预后良好,更应进行复发风险的评估。因此,本研究以中华医学会 2012 年颁布的甲状腺结节和 DTC 诊治指南^[5]为标准,对 41 例 PTC 进行复发危险度分层,结果显示:(1)低危组:22 例(53.7%),均无颈部淋巴结转移或远处转移,均无肿瘤侵犯血管或甲状腺周围组织。(2)中危组:16 例(39.0%),其中 15 例伴发颈部淋巴结转移,1 例手术病理在镜下发现

肿瘤侵犯周围组织。(3)高危组:3 例(7.3%),其中 2 例术后血 Tg 水平升高,1 例手术病理在肉眼下可见肿瘤侵犯周围组织。

计算这三组患者的术前外周血 TPO mRNA 表达阳性率,采用 Pearson 卡方检验进行低危组与中、高危组的组间比较,结果详见表 4:(1)低危、中危、高危组的表达阳性率依次为 31.8%、68.8%、66.7%;(2)中危、高危组患者的 TPO mRNA 表达阳性率均高于低危组患者,低危组与中高危险组之间的差异有统计学意义(P<0.05)。

表 4 TPO mRNA 表达与 PTC 复发危险度分层

Table 4 TPO mRNA expression and recurrence risk degree of PTC

Degrees [#]	Numbers	TPO mRNA		x ²	P value
		Positive number	Positive rate(%)		
Low-risk	22	7	31.8	5.467	0.019
Intermediate-risk	16	11	68.8		
High-risk	3	2	66.7		
All PTC	41	20	48.8		

Note: #Used with the Chinese Medical Association Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Carcinomas, 2012.

3 讨论

TPO 是一种由甲状腺滤泡细胞合成的血色素样蛋白,位于细胞膜顶部的滤泡腔面,也是滤泡细胞微粒体的自身抗原,与 Tg、TSHR 均属于甲状腺特异蛋白家族的成员,在碘代谢及甲状腺激素合成的过程中直接参与碘的氧化、酪氨酸的碘化及碘化酪氨酸的耦联,其抗体 TPOAb 常见于自身免疫性甲状腺疾病。根据 Kimura 等^[9]报道,TPO 基因长度为 150 kb,包含 17 个外显子,以及由不同剪接变异体组成、大小约 3 kb 的 mRNA。

以往研究显示,TPO mRNA 可表达于甲状腺增生组织,亦可表达于包括腺瘤与癌的甲状腺肿瘤组织,有报道^[10]称甲状腺腺瘤组织中的 TPO 表达水平高于甲状腺癌。Ishikawa 等近期在检测以下三种候选 mRNA 的甲状腺组织特异性研究中发现,不同于 Tg、TSHR 可低表达于包括外周血在内的多种组织,TPO 只在甲状腺、唾液腺、气管等少数组织中呈现阳性表达,故认为 TPO 具有更高的组织特异性^[11],不失为一种潜在的肿瘤标志物。

近 30 年来,随着分子生物学技术的发展,RT-PCR 被广泛应用于肿瘤患者外周血肿瘤特异性蛋白的检测^[12,13]。在甲状腺肿瘤方面,一些研究者致力于采用 RT-PCR 技术检测外周血甲状腺组织特异性 mRNA 的表达水平,来验证患者的循环血中是否存在脱落的甲状腺癌细胞及其微小转移灶^[6,14],并取得一定进展。1998 年,Tallini 等^[15]率先报道以 RT-PCR 技术检测外周血 TPO mRNA 在甲状腺疾病人群中的表达情况,结果显示甲状腺癌患者的表达阳性率显著高于良性病变者,因而提出外周血 TPO mRNA 的表达与甲状腺癌之间存在相关性。2002 年,Roddiger 等^[7]采用巢氏 RT-PCR 的方法进行外周血 TPO mRNA 检测,结果发现甲状腺良恶性结节之间的表达阳性率无显著差异,但伴有转移患者的表达阳性率明显高于不伴转移者,故认为外周血 TPO mRNA 表达可能与甲状腺癌转移相关,TPO 作为肿瘤标志物有待进一步研究。本研究中,我们同样采用巢氏 RT-PCR 方法,对 41 例 PTC 患者进行外周血 TPO mRNA 的检测,同时结合患者的临床病理学特征,做进一步的比较与分析。

3.1 外周血 TPO mRNA 与 PTC 颈部淋巴结转移的关系

尽管大多数 PTC 近似良性病程,预后较好,但仍有 20% -90% 的患者在确诊时即有颈部淋巴结转移,而颈部淋巴结转移是 PTC 复发率增高和生存率降低的危险因素^[6,17]。本次研究的 PTC 患者均为初次接受甲状腺手术治疗,微小癌(≤ 10 mm)所占比例为 68.3%(28/41),但淋巴结转移率仍达到 39.0%(16/41)。我们在研究中分析了外周血 TPO mRNA 表达与患者临床病理学特征的关系后发现:伴有颈部淋巴结转移的患者与不伴转移的患者相比,其 TPO mRNA 表达阳性的比例更高(68.8% vs 36.0%, $P < 0.05$),而其它因素均无显著差异。

回顾以往文献,早有研究者指出^[6],发生淋巴结转移患者的甲状腺癌细胞侵袭性较强,更易从组织中脱落,导致外周血的甲状腺组织特异性 mRNA 呈现高表达。在 Roddiger 等^[7]的研究中,无论是颈部淋巴结转移还是远处转移,伴有转移患者的 TPO mRNA 表达阳性率均明显高于不伴转移者,故认为外周血 TPO mRNA 表达与甲状腺癌转移之间有一定的相关性,这

与本次研究取得的结果基本一致。我们因此认为,术前外周血 TPO mRNA 的检测,可能有助于预测 PTC 患者是否伴发颈部淋巴结转移。

不过,在 Tallini 等^[15]的早期研究中,伴与不伴转移患者之间的外周血 TPO mRNA 表达阳性率未见显著差异。这可能与不同研究采用的实验方法、引物设计不同有关,而另一方面,也要考虑到甲状腺癌细胞间歇性释放入血对结果造成的影响^[18]。

3.2 外周血 TPO mRNA 在 PTC 风险评估中的作用

在甲状腺癌术后风险评估方面,TNM 分期系统可用于预测患者的死亡风险,不过 PTC 患者总体预后良好,长期生存率较高,对其进行复发危险度分层将更有意义^[5]。在本研究中,TNM I 期患者比例为 75.6%(31/41),而低危组患者比例为 53.7%(22/41),这一结果表明:多数 PTC 患者的死亡风险较小,但有将近半数的复发风险在中危或中危以上。

本研究分别对不同 TNM 分期与不同复发危险度分层患者的外周血 TPO mRNA 表达情况,进行比较后发现:不同术后分期(I 期、III 期、IV 期)的 TPO mRNA 表达无显著差异,而中、高危组的表达阳性率明显高于低危组(68.8%、66.7% vs 31.8%, $P < 0.05$)。

对于外周血 TPO mRNA 在甲状腺癌术后分期中的表达情况,以往的研究结果不尽相同。有的研究与我们一样,并未发现外周血 TPO mRNA 的表达水平与 PTC 患者的 TNM 分期之间存在相关性^[11]。还有的研究发现,III 期患者的 TPO mRNA 表达阳性率明显高于 I 期与 II 期,但该研究同时指出,由于 III 期样本量偏少的缘故,需要对结果谨慎分析^[7],而我们的研究也同样存在 II 期 -IV 期患者例数较少的问题。

目前,尚无文献报道关于不同复发危险度分层患者的外周血 TPO mRNA 表达情况。考虑到 PTC 复发风险评估的意义基于 TNM 分期,我们在本次研究中做了初步的尝试,并发现术前 TPO mRNA 的表达与术后复发风险等级(低危 / 中高危)的评估有一定的相关性,故认为检测外周血 TPO mRNA 或可用于预测 PTC 复发的风险。

值得一提的是,本研究还发现 TPOAb 水平升高或合并 HT 患者的 TPO mRNA 表达阳性率,均未明显低于 TPOAb 水平正常或未合并 HT 的患者。此结果提示 TPO mRNA 作为一种蛋白前体,与 Tg mRNA 一样,不会受其自身抗体的影响^[19,20],在评价 PTC 转移或复发方面有广泛的应用前景,若与血清 Tg 检测联合应用,则有望提高其诊断效率。

与国外研究相比,我们本次研究取得的结果有不同之处,又因收集样本与实验时间有限,因此有关于外周血 TPO mRNA 应用于甲状腺癌的诊断价值,尤其是术后随访患者的表达情况,还有待更大样本的后续研究进一步证实。

综上所述,检测外周血 TPO mRNA 表达水平可能有助于预测 PTC 患者的颈部淋巴结转移,如以术后复发危险度分层标准为参照,或可用于预测其复发的风险。本研究为外周血 TPO mRNA 有望成为一种可供临床应用的甲状腺癌分子标志物,提供了实验依据。

参考文献(References)

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30

- [2] Kilfoy BA, Zheng T, Holford TR, et al. International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973-2002[J]. *Cancer Causes Control*, 2009, 20(5): 525-531
- [3] White ML, Doherty GM. Level VI lymph node dissection for papillary thyroid cancer[J]. *Minerva Chir*, 2007, 62(5): 383-393
- [4] Roti E, Rossi R, Trasforini G, et al. Clinical and histological characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: results of a retrospective study in 243 patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(6): 2171-2178
- [5] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会外科学分会内分泌学组, 中国抗癌协会头颈肿瘤专业委员会, 中华医学会核医学分会. 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28(10): 779-797
- Chinese Society of Endocrinology, Chinese Society of General Surgery Endocrinology Group, China Anti-Cancer Association Head and Neck Tumor Professional Committee, Chinese Society of Nuclear Medicine. Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Carcinomas [J]. *Chin J Endocrinol Metab*, 2012, 28(10): 779-797
- [6] Ditkoff BA, Marvin MR, Yemul S, et al. Detection of circulating thyroid cells in peripheral blood[J]. *Surgery*, 1996, 120(6): 959-964, discussion 964-965
- [7] Roddiger SJ, Bojunga J, Klee V, et al. Detection of thyroid peroxidase mRNA in peripheral blood of patients with malignant and benign thyroid diseases[J]. *J Mol Endocrinol*, 2002, 29(3): 287-295
- [8] NCCN guidelines: Thyroid carcinoma[S]. Version 3, 2011
- [9] Kimura S, Kotani T, McBride OW, et al. Human thyroid peroxidase: Complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping and identification of two alternatively spliced mRNAs[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(16): 5555-5559
- [10] Bertaux F, Noel M, Malthiery Y, et al. Demonstration of a heterogeneous transcription pattern of thyroglobulin mRNA in human thyroid tissues[J]. *Biochem Biophys Res Com*, 1991, 178(2): 586-592
- [11] Ishikawa T, Miwa M, Uchida K. Quantitation of thyroid peroxidase mRNA in peripheral blood for early detection of thyroid papillary carcinoma[J]. *Thyroid*, 2006, 16(5): 435-442
- [12] Johnson PWM, Burchill SA, Selby PJ. The molecular detection of circulating tumour cells[J]. *Br J Cancer*, 1995, 72(2): 268-276
- [13] Ghossein RA, Bhattacharya S, Rosai J. Molecular detection of micrometastases and circulating tumor cells in solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(8): 1950-1960
- [14] 韩静静, 吴艺捷. 外周血甲状腺肿瘤标记物的研究进展[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2010, 30(3): 155-158
- Han Jing-jing, Wu Yi-jie. Recent progress of thyroid tumor markers in peripheral blood[J]. *Int J Endocrinol Metab*, 2010, 30(3): 155-158
- [15] Tallini G, Ghossein RA, Emanuel J, et al. Detection of thyroglobulin, thyroid peroxidase, and RET/PTC1 mRNA transcripts in the peripheral blood of patients with thyroid disease [J]. *J Clin Oncol*, 1998, 16(3): 1158-1166
- [16] Podnos YD, Smith D, Wagman LD, et al. The implication of lymph node metastasis on survival in patients with well-differentiated thyroid cancer[J]. *Am Surg*, 2005, 71(9): 731-734
- [17] Zaydfudim V, Feurer ID, Griffin MR, et al. The impact of lymph node involvement on survival in patients with papillary and follicular thyroid carcinoma[J]. *Surgery*, 2008, 144(6): 1070-1077
- [18] Ghossein RA, Rosai J. Polymerase chain reaction in the detection of micrometastases and circulating tumor cells [J]. *Cancer*, 1996, 78(1): 10-16
- [19] Chinnappa P, Taguba L, Arciaga R, et al. Detection of thyrotropin-receptor messenger ribonucleic acid(mRNA) and thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of patients with thyroid disease: sensitive and specific markers for thyroid cancer [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(8): 3705-3709
- [20] 范群, 匡安仁, 袁耿彪. 外周血甲状腺球蛋白 mRNA 对分化型甲状腺癌的诊断价值[J]. *中华核医学杂志*, 2008, 28(4): 267-269
- Fan Qun, Kuang An-ren, Yuan Geng-biao. Evaluation of thyroglobulin mRNA in peripheral blood of patients with differentiated thyroid carcinoma after remnant ablation [J]. *Chin J Nucl Med*, 2008, 28(4): 267-269

(上接第 61 页)

- [16] Prytuliak O M. Thiotriazolin Influence on Blood Pressure Changes in Patients with Myocardial Infarction and Concomitant Arterial Hypertension Who Underwent Remedial Treatment and Physical Rehabilitation[J]. *Galician Medical Journal*, 2015, 22(4): 1-4
- [17] He L, Zhang J, Yang Q, et al. The Incidence and Risk Factors of Acute Asymptomatic Brain Infarcts After Percutaneous Coronary Intervention in Patients with Acute Myocardial Infarction [J]. *International Journal of Gerontology*, 2014, 8(2): 70-73
- [18] Yadav A, SahnabRaheel M, Sharma G, et al. Cardiac tamponade due to cardiac rupture in myocardial infarction-a silent killer[J]. *Journal of Punjab Academy of Forensic Medicine & Toxicology*, 2015, 15(1): 30-33
- [19] Romila A, Nechita A, Tutunaru D. Enzymatic specificity of coronarian syndromes in elderly patients[J]. *Acta Medica Mediterranea*, 2015, 31(5): 1007-1011
- [20] Niu J, Ma Z. Influence of Cinepazide Maleate on Vascular Endothelial Function of Patients with Acute Myocardial Infarction [J]. *Advanced Emergency Medicine*, 2015, 4(3): 1-3