

·论 著·

URG11在甲状腺乳头状癌组织中的表达及临床意义

权明明 陈珍珍

[摘要] 目的 研究上调基因(URG)11及其蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的表达及临床意义。方法 采用实时定量PCR分别检测甲状腺乳头状癌组织和结节性甲状腺肿组织的URG11基因的表达情况;采用免疫组织化学法分别检测甲状腺乳头状癌组织和结节性甲状腺肿组织中的URG11蛋白的表达情况;分析URG11蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的表达和患者的性别、年龄、淋巴结有无转移、临床分期的关系。结果 实时定量PCR结果显示URG11基因在甲状腺乳头状癌组织高表达,相对于结节性甲状腺肿组织,相对表达量为 2.36 ± 0.03 ,差异有统计学意义($t=2.21, P<0.05$);免疫组织化学法结果显示URG11蛋白在甲状腺乳头状癌组织中的阳性率为71.43%,在结节性甲状腺肿组织中的阳性率为24.00%,差异有统计学意义($\chi^2=11.85, P<0.05$);甲状腺乳头状癌组织中URG11蛋白的表达与患者的年龄、性别、淋巴结转移均不相关(χ^2 分别=0.44、1.57、0.93, P 均 >0.05),与患者的临床分期相关($\chi^2=4.46, P<0.05$)。结论 甲状腺乳头状癌中URG11在基因和蛋白水平均呈高表达,提示URG11在甲状腺乳头状癌中可能起癌基因作用,为甲状腺乳头状癌的早期诊断提供分子生物学依据。

[关键词] 甲状腺乳头状癌; 上调基因11; 上调基因11蛋白; 癌基因

Expression and clinical significance of URG11 in papillary thyroid carcinoma tissues QUAN Mingming, CHEN Zhenzhen. Department of Surgical Oncology, Taizhou Center hospital, Taizhou 318000, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of URG11 gene and its protein in papillary thyroid carcinoma. **Methods** The expression of URG11 gene in papillary thyroid carcinoma tissues and nodular goiter tissues were detected by RT-PCR, and the expression of URG11 protein in papillary thyroid carcinoma tissues and nodular goiter tissues were detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of URG11 protein in papillary thyroid carcinoma tissues and patients' gender, age, lymph node metastasis and clinical stage were analyzed. **Results** RT-PCR results showed that URG11 gene was expressed highly in papillary thyroid carcinoma tissues, compared with nodular goiter tissues, the relative expression level was 2.36 ± 0.03 , the difference was statistically significant ($t=2.21, P<0.05$). Immunohistochemical results showed that the positive rate of URG11 protein in papillary thyroid carcinoma tissues was 71.43%, and the positive rate in nodular goiter tissues was 24.00%, the difference was statistically significant ($\chi^2=11.85, P<0.05$). The expression of URG11 protein in papillary thyroid carcinoma tissues was not correlated with age, gender and lymph node metastasis of the patients ($\chi^2=0.44, 1.57, 0.93, P>0.05$), but correlated with the clinical stage of patients ($\chi^2=4.46, P<0.05$). **Conclusion** URG11 is highly expressed in papillary thyroid carcinoma at gene and protein levels. It suggested that URG11 may play an oncogene role in papillary thyroid carcinoma, which provided molecular biological basis for early diagnosis of papillary thyroid carcinoma.

[Key words] papillary thyroid carcinoma; up-regulated gene 11; up-regulated gene 11 protein; oncogene

甲状腺乳头状癌是最常见的内分泌系统恶性

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.001.005

基金项目:台州市科技局项目(20ywa26)

作者单位:318000 浙江台州,台州市中心医院(台州学院附属医院)肿瘤外科(权明明),超声科(陈珍珍)

肿瘤,其发病率在全球呈逐年增高趋势^[1-3]。我国甲状腺癌发病率同样呈逐年增高趋势,其沿海发病率高于内地地区,东部发达地区发病率高于中西部经济落后地区,城市发病率高于农村发病率^[3]。对于甲状腺乳头状癌其具体发病机制仍没有明确。上

调基因(up-regulated gene,URG)11是一种最近发现的癌基因,URG11基因在甲状腺乳头状癌中的研究鲜有报道。本次研究就URG11基因及蛋白在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义展开研究。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般材料

1.1.1 组织标本 选择2020年1月至2020年11月期间在台州市中心医院(台州学院附属医院)手术切取的甲状腺乳头状癌组织标本28例及结节性甲状腺组织标本25例。甲状腺乳头状癌组织标本入组标准:术前均未行化疗、放疗、内分泌治疗;病理结果为乳头状癌;结节性甲状腺组织标本入组标准:术后病理结果为结节性甲状腺肿。标本取材时体积约5 mm×5 mm×5 mm,将手术切取的标本一分为二,一份放置于-80℃冰箱保存,一份浸泡于福尔马林液体中组织固定。所有标本的病理结果均经我院2名病理科医生判读。

1.1.2 试剂及实验仪器 RT-PCR由ABI公司生产,SteponePCR仪、二步法免疫组化检测试剂盒均由北京中杉金桥生物科技有限公司生产,URG11基因引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成,TrizolRNA提取试剂购自Invitrogen公司;QuantiTect第一链合成试剂盒购自天根生物科技有限公司,RealMaster-Mix(SYBRGreen)试剂盒由天根生物科技有限公司提供;URG11抗体购自cell cell signaling公司。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR 取保存于-80℃冰箱中的甲状腺乳头状癌组织和结节性甲状腺肿组织,剪刀剪碎,并使用RNA提取试剂盒提取所有组织的RNA,并鉴定RNA的完整性和纯度。设计URG11引物,按照试剂合成说明书依次反转录cDNA。采用SYBR Green荧光染料,参照试剂盒说明完成RT-PCR,PCR反应条件为:预变性90℃ 1.0 min,90℃ 10 s、60℃ 30 s、62℃ 30 s 40个循环;最后95℃ 15 s、60℃ 1 min,95℃ 15 s收集荧光信号,进行熔解曲线分析,反应结束由系统自动计算相对定量结果。

1.2.2 免疫组化 取浸泡于福尔马林液体中的甲状腺乳头状癌组织及结节性甲状腺肿组织标本,行脱水、固定、石蜡包埋,并切取5 μm的切片,按照免疫组织化学法步骤染色,采用半定量的方法进行判读。①按切片中细胞显色深浅评分,0分为无着色;1分细胞染色呈浅黄色;2分细胞染色呈棕黄褐色。

②按切片中阳性细胞比例评分,每例随机观察5个视野,每个视野100个细胞,计数500个细胞中染色阳性细胞数。1分:显色细胞占≤10%;2分:显色细胞占11%~50%;3分:显色细胞占51%~75%;4分:>75%的细胞着色。计算每例细胞染色积分,即染色强度和染色阳性百分比乘积,按照积分分值分为阴性表达(0~3分)和阳性表达(4~8分)。

1.3 统计学方法 采用SPSS 19.0软件进行统计学处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实时定量PCR结果 URG11基因在甲状腺乳头状癌组织和结节性甲状腺肿组织中均有表达,相对于结节性甲状腺肿组织,URG11基因在甲状腺乳头状癌组织中的相对表达量为 2.36 ± 0.03 ,两组比较,差异有统计学意义($t = 2.21, P < 0.05$)。

2.2 免疫组织化学法检测结果 URG11蛋白在甲状腺乳头状癌组织和结节性甲状腺肿组织中均有阳性表达,分别为71.43%(20/18)、24.00%(6/25),且在甲状腺乳头状癌组织中阳性表达率明显高于在结节性甲状腺肿组织中阳性表达率,差异有统计学意义($\chi^2 = 11.85, P < 0.05$)。

2.3 甲状腺乳头状癌组织中URG11蛋白表达与临床参数关系见表1

表1 甲状腺乳头状癌组织中URG11蛋白表达与临床参数关系

组别	<i>n</i>	阳性/例	阴性/例	阳性率/%
年龄				
≥55岁	20	15	5	75.00
<55岁	8	5	3	62.50
性别				
男	5	3	2	60.00
女	23	17	3	73.91
淋巴结转移				
有	21	16	5	76.19
无	7	4	3	57.14
临床分期				
I+II期	26	19	7	73.08
III+IV期	2	1	1	50.00

由表1可见,甲状腺乳头状癌组织中URG11蛋白的表达与患者的年龄、性别、淋巴结转移均不相关(χ^2 分别=0.44、1.57、0.93, P 均>0.05),与患者的

临床分期相关($\chi^2=4.46, P<0.05$)。

3 讨论

甲状腺癌是一种起源于甲状腺滤泡上皮或滤泡旁上皮细胞的恶性肿瘤,其中以甲状腺乳头状癌最为常见。近年来,全球范围内甲状腺癌的发病率增长迅速^[4,5]。甲状腺乳头状癌的发生是一个对步骤、多基因突变的过程,对于甲状腺癌的早期诊断、治疗及预后判断极其重要。

URG11基因是新近发现的一种癌基因,片段全长3074 bp,URG11基因位于人类染色体11号上,它有一个开放的阅读框,主要在细胞核表达,参与细胞的增殖、信号转导。其最早在乙肝病毒感染肝炎导致肝癌的机制中被发现。如该基因在肝细胞过度表达可诱发肝癌甚至导致侵袭、转移。谢华红等^[6]通过对肝癌的研究发现,URG11在肝癌及肝细胞组织均有表达,但在肝癌中的表达率明显高于肝细胞组织。随着肝癌细胞的恶性行为增加,URG11的表达也逐步上升。潘斌等^[7]对前列腺癌组织的研究发现,URG11在前列腺癌中的表达率明显高于前列腺正常组织,并通过前列腺癌细胞通过小RNA干扰URG11基因,前列腺癌细胞的迁移、增殖、侵袭能力明显降低。Liu等^[8]通过对肺癌的研究发现,URG11在肺癌细胞中表达明显增高,通过对肺癌细胞中的URG11基因进行基因沉默,发现URG11的表达明显下降,导致肺癌细胞的增殖、侵袭、迁移能力均下降。Peng等^[9]通过对胰腺细胞癌研究进一步发现,URG11在胰腺癌细胞中高表达,URG11在胰腺癌的高表达与胰腺癌的预后高度相关,这种相关可能是通过上皮间质转化改变实现的。Du等^[10]对胃癌细胞的研究发现,URG11在胃癌旁的表达相对于胃癌细胞明显下降,通过对胃癌细胞中的URG11基因进行抑制,胃癌细胞的增殖能力明显下降,迁移能力受到抑制。Sun等^[11]通过研究发现URG11可以促进前列腺癌细胞的增殖,同时进一步研究发现URG11基因和Wnt/ β 信号通路及cyclin D1和c-Myc相关。

在本次研究中通过实时定量荧光PCR发现,URG11基因在甲状腺乳头状癌组织和结节性甲状腺肿组织中均有表达,差异有统计学意义($P<0.05$)。免疫组化研究发现,URG11蛋白在结节性甲状腺肿组织和甲状腺乳头状癌组织中均有表达,且在甲状腺乳头状癌组织中阳性表达率明显高于结节性甲状腺肿组织中阳性表达率,差异有统计学意

义($P<0.05$),提示URG11基因和蛋白在甲状腺乳头状癌组织中呈高表达,这与肝癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、肺癌等研究结果一致。本次研究结果还显示,URG11蛋白的表达与甲状腺乳头状癌患者的年龄、性别、淋巴结转移均无明显相关,只与患者的临床分期有关,这可能因样本量过少有关,拟下一步扩大样本量,进一步分析与甲状腺乳头状癌的临床病理参数相关性,并从细胞层面使用siRNA进行干扰上调和下调URG11基因,通过小鼠实验模拟人甲状腺乳头状癌模型,进行URG11基因上下通路的基因表达情况。Zhang等^[12]研究发现,在前列腺增生组织中,沉默URG11基因可抑制前列腺增生细胞的上皮间质转化,且是通过RhoA/ROCK1信号通路实现的,这提示URG11基因和上皮间质转化相关。孟涛等^[13]研究发现用URG11短发夹RNA重组慢病毒感染细胞,URG11短发夹RNA重组慢病毒感染MG63细胞后,URG11表达下降,细胞存活率、侵袭和迁移数量降低,细胞凋亡率升高,E-cadherin、Cleaved Caspase-9、Cleaved Caspase G-蛋白表达水平升高,而Vimentin、MMPG-9和MMP-2蛋白表达水平降低。这一研究提示URG11基因和上皮间质转化相关。已有多项研究证实甲状腺癌中某些癌基因被沉默,可以抑制甲状腺癌上皮间质转化^[14,15]。后期将进一步研究URG11基因在甲状腺乳头状癌的表达与上皮间质转换是否相关,为甲状腺乳头状癌的早期诊断、预后判断提供分子生物学依据。

参考文献

- 1 Roman BR, Morris LG, Davies L. The thyroid cancer epidemic, 2017 perspective[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2017, 24(5): 332-336.
- 2 Lim H, Devesa SS, Sosa JA, et al. Trends in thyroid cancer incidence and mortality in the United States, 1974-2013[J]. JAMA, 2017, 317(13): 1338-1348.
- 3 肖海鹏, 洪渝彬, 喻爽. 甲状腺癌流行趋势及其影响因素[J]. 内科理论与实践, 2013, 5(6): 353-386.
- 4 欧阳, 谢婉莹, 秦春宏. 甲状腺癌的流行病学特征及其危险因素[J]. 实用医药杂志, 2015, 32(4): 312-315.
- 5 王昌言, 赵晓海, 王松志, 等. 乐清市甲状腺癌流行病学调查分析[J]. 现代实用医学, 2019, 31(11): 1497-1498.
- 6 谢华红, 刘杰. URG11在肝癌组织表达增强并促进肝癌细胞生长[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(11): 1523-1527.

(下转第21页)

- 者的临床效果[J].中国医药,2021,16(7):1052-1056.
- 5 汪艳,沈翠芬,夏森林,等.大量输血治疗方案对严重多发伤患者凝血功能的影响[J].全科医学临床与教育,2017,15(6):670-672.
 - 6 王君,白颖,周宁.创伤性凝血病发生的危险因素及其对多发创伤患者预后的影响[J].临床急诊杂志,2018,19(2):113-116.
 - 7 文科,林哲洵,韩溟.急性创伤性凝血病:分子机制及诊疗进展[J].创伤外科杂志,2018,20(1):72-76.
 - 8 刘双岭,孔菲,刘刚,等.脑出血后脑损伤病理机制的研究进展[J].医学综述,2020,26(14):2807-2813.
 - 9 江珊,俞晓飞.基于脑出血后小胶质细胞极化及细胞自噬活动探讨中医药干预发挥的抗损伤-促修复双重作用机制的研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2020,22(2):346-352.
 - 10 马宏宇,敖杨坤,李嵩,等.小胶质细胞在脑出血中的作用研究进展[J].中国脑血管病杂志,2020,17(2):92-97.
 - 11 徐鹏翔,李强,许琼冠,等.类表皮生长因子域7促进颅脑损伤模型大鼠脑微循环的修复与重建[J].中国组织工程研究,2019,23(35):5619-5625.
 - 12 陈静,童新元.凝血因子、抗凝血酶、PLG、vWF及凝血象检测结果与TEG常用参数间的相关性研究[J].临床输血与检验,2021,23(3):345-349.
 - 13 檀飞,彭晨,毛俊超,等.护理团队主导模式在救治骨科急性创伤性凝血病中的应用[J].广西医学,2020,42(23):3129-3132.
 - 14 林青伟,宋景春,曾庆波,等.严重创伤患者不同时相凝血功能紊乱的临床特征[J].解放军医学杂志,2019,44(12):1030-1034.
 - 15 李泽荣,李伟,朱深政,等.急性创伤性凝血病患者CRP、APC及D-D水平及意义[J].中国急救复苏与灾害医学2020,15(7):824-827.

(收稿日期 2021-01-13)

(本文编辑 高金莲)

(上接第17页)

- 7 潘斌,邓志海,洪余德,等.URG11在前列腺癌组织中的表达及临床意义[J].中华实验外科杂志,2014,31(12):2661-2663.
- 8 Liu ZL, Wu J, Wang LX, et al. Knockdown of upregulated gene 11 (URG11) inhibits proliferation, invasion, and β -catenin expression in non-small cell lung cancer cells [J]. Oncol Res, 2016, 24(3):197-204.
- 9 Peng W, Zhang J, Liu J. URG11 predicts poor prognosis of pancreatic cancer by enhancing epithelial-mesenchymal transition-driven invasion[J]. Med Oncol, 2014, 31(7):64.
- 10 Du U, Xa L, Sun S. URG11 promotes gastric cancer growth and invasion by activation of beta-catenin signaling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(3):621-635.
- 11 Sun C, Zhang G, Cheng S, et al. URG11 promotes proliferation and induced apoptosis of LNCaP cells[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(5):2075-2085.
- 12 Zhang G, Zhu F, Han G, et al. Silencing of URG11 expression inhibits the proliferation and epithelial-mesenchymal transition in benign prostatic hyperplasia cells via the RhoA/ROCK1 pathway[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1):391-398.
- 13 孟涛,李玉霞,李卫华,等.shRNA干扰URG11表达对骨肉瘤细胞恶性表型影响[J].青岛大学学报(医学版),2019,55(6):634-638.
- 14 张芬,余建琴,张怀念.KRAS基因沉默介导MAPK1/MAPK3信号通路对乳头状甲状腺癌上皮间质转化的分子机制研究[J].中国肿瘤外科杂志,2020,12(5):473-479.
- 15 Zhao YL, Yuan BQ, Shen GS. Mechanism of RET gene mediated EGFR signaling pathway on epithelial mesenchymal transition, proliferation and apoptosis of papillary thyroid carcinoma cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(15):8036-8047.

(收稿日期 2021-05-12)

(本文编辑 葛芳君)