

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.011

· 临床研究 ·

分化型甲状腺癌分子诊断标志物的研究

马宁,王朝杰,周云(郑州大学人民医院肿瘤内科,河南郑州450003)

[摘要] **目的:**观察分化型甲状腺癌(differentiated thyroid cancer, DTC)和良性甲状腺疾病的不同蛋白分子表型,从而确定能准确诊断甲状腺癌分子标志物。**方法:**采用免疫组织化学的方法,对含有100个良性甲状腺病变和99个恶性DTC的组织芯片样本进行染色,检测了57种可以作为分子标志的蛋白。使用列联表和Mann-Whitney U(MU)检验来确定分子标志染色与肿瘤病理特征(DTC和良性疾病)之间的相关性,同时使用随机森林分类器算法来确定有用/重要的分子标志。**结果:**在多重检验校正后,发现57个诊断标志物中35个与DTC有显著相关性。与良性甲状腺癌疾病相比,在DTC中有8个标志物表达下调而有27个标志物上调($P < 0.05$)。在DTC诊断中最显著的标志物为Galectin-3、细胞角蛋白19、血管表皮生长因子、雄激素受体、p16、Aurora-A与HBME-1。使用DTC分子标志芯片,通过随机森林分类器算法对肿瘤良恶性进行诊断的预计灵敏度为87.9%、特异性为94.0%、准确性为91.0%。**结论:**研究甲状腺癌分子表型在甲状腺疾病中的诊断具有重要的临床意义。

[关键词] 甲状腺癌;分子标志;组织芯片

[中图分类号] R736.1; R730.43

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)06-0740-07

Study on molecular diagnostic markers of differentiated thyroid tumors

Ma Ning, Wang Chaojie, Zhou Yun(Department of Oncology, People's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To identify molecular markers for accurate diagnosis of thyroid cancer the molecular phenotypes of varied proteiemark were evaluated in differentiated thyroid cancer (DTC) and benign thyroid lesions. **Methods:** Tissue microarrays containing 100 benign and 99 malignant thyroid lesions were stained for a panel of 57 molecular markers. Correlation between the marker staining and tumor pathology (DTC versus benign tumor) were determined using contingency table and Mann-Whitney U (MU) tests. A Random Forests classifier algorithm was also utilized to identify meaningful important molecular classifiers. **Results:** Of the 57 diagnostic markers evaluated, 35 (61%) were significantly associated with a DTC diagnosis after multiple testing correction. Among them, 8 markers were downregulated and 27 ones upregulated in DTC, when compared with benign thyroid tumor. The most significant markers for DTC diagnosis were Galectin-3, Cytokeratin 19, Vascular Endothelial Growth Factor, Androgen Receptor, p16, Aurora-A, and HBME-1. Using the entire molecular marker panel, a Random Forests algorithm was able to classify a neoplasm as DTC or benign tumor with an estimated sensitivity of 87.9%, specificity of 94.0%, and accuracy of 91.0%. **Conclusion:** Evaluating the DTC and benign thyroid tumor molecular phenotypes has allowed us to identify a diagnostic marker panel, which may help differentiate DTC with benign tumors and improve patient selection for thyroid surgery.

[Key words] thyroid cancer; molecular markers; tissue microarray

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(6): 740-746]

甲状腺结节是一种常见疾病,在5%的普通人群中可通过触诊检查到甲状腺结节。细针穿刺活检(fine needle aspiration biopsy, FNAB)是目前临床上一种重要的甲状腺结节的初步诊断检查方法。Gharib等^[1]观察了在Mayo诊所进行甲状腺FNAB的超过18 000例患者,报道平均灵敏度为73%、特异性为82%、总体准确性为85%。然而有10%~

15%的患者不能通过FNAB进行准确诊断,细胞病

[作者简介] 马宁(1979-),女,河南省郑州市人,主治医师,硕士,主要从事肿瘤的综合治疗, E-mail: maningzz126@126.com

[通信作者] 马宁(Ma Ning, corresponding author), E-mail: maning-zz126@126.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20151216.1252.016.html>

理学家将这些样本定义为“未确诊”或者“疑似”样本。未确诊的甲状腺 FNAB 样本包括组织活检结果显示为“滤泡性肿瘤”(follicular neoplasm, FN)以及“Hurthle 细胞肿瘤”(Hurthle cell neoplasm, HN)的样本,还有同时出现良性或恶性滤泡状甲状腺病变的细胞形态特征的样本^[2-3]。尽管在最后的病理诊断中只有少数甲状腺病变患者最终诊断为肿瘤,但为了防止肿瘤患者的漏诊,多数医院还是要对未确诊 FNAB 患者进行诊断性甲状腺手术,给患者带来不必要的痛苦。因此运用现代分子诊断方法辅助细胞病理学诊断,提高 FNAB 诊断的准确性,将成为甲状腺结节性疾病诊治的重要进步。本研究利用组织微点阵(tissue microarray, TMA)染色分析甲状腺癌和良性甲状腺病变的分子表型,从而筛选可用于诊断甲状腺癌的分子标志,提高临床诊断准确性。

1 材料与方法

1.1 研究材料

从郑州大学附属人民医院甲状腺手术患者数据库中选取 2012 年 1 月至 2014 年 12 月收治的 199 例患者,包含 100 例良性甲状腺病变患者(TMA1)和 99 例恶性甲状腺病变患者(TMA2),其中恶性甲状腺病变患者包括 90 例乳头状癌(papillary carcinomas, PTC)患者、6 例滤泡状癌(follicular carcinoma, FTC)患者和 3 例 Hurthle 细胞癌(hurthle cell carcinoma, HCC)患者。所有患者的基本资料见表 1。尽管在最后的病理诊断中只有少数甲状腺病变患者最终诊断为肿瘤,但为了防止肿瘤患者的漏诊,本研究获得我院伦理委员会的批准,患者或家属均签署了知情同意书。

1.2 主要仪器与试剂

Leica2145 切片仪购自德国徕卡公司,病理组织自动包埋机(BMJ-III型)购自常州市中威电子仪器厂, BX 光学显微镜购自日本奥林巴斯公司;半乳糖凝集素 3(Galectin-3)、细胞角蛋白 19(cytokeratin 19, CK19)、VEGF、极光激酶 A(Aurora-A), P16、AR、HBME-1(hector battifora mesothelial-1)等免疫组化染色试剂盒购自中生物技术有限公司。

1.3 TMA 制备

首先使用甲状腺肿瘤病理标本(石蜡组织)构建组 TMA,主要步骤包括:(1)核对甲状腺肿瘤病理标本的诊断;(2)选择目标组织并进行标志;(3)制作阵列蜡块,组织片直径 1.5 mm;(4)使用 Leica 显微镜用薄片切片器从 TMA 块上连续切割得到 4 μ m 薄片,并将其放到粘合剂涂覆的载玻片上进行免疫

组化染色。共制作 2 个 TMA,分别包含 100 个良性甲状腺病变样本和 99 个恶性病变样本。

表 1 全部试验队列的基本情况($N=199$)
Tab.1 Clinical and pathologic characteristics of entire study cohort($N=199$)

Item	<i>n</i>
Gender	
Male	51
Female	148
Age (t/a)	
<45	95
≥ 45	104
Benign lesion	
Follicular adenoma	26
Goiter	54
Hashimoto's thyroiditis	3
Hurthle cell adenoma	10
Hyperplastic nodule	4
Chronic lymphocytic thyroiditis	3
Malignant lesions	
PTC	90
FTC	6
HCC	3

1.4 免疫组化染色

根据免疫组化试剂盒的操作说明将所有抗体调整到最佳使用条件,配制稀释液,进行抗原修复方法和染色,每次均使用适当的阳性和阴性对照。

1.5 免疫组化染色评价

由两名病理学家(不知道临床数据)来观察 TMA 的染色情况,从而评估分子标志的表达。评分体系为强:3 分,中等:2 分,弱:1 分,0:无染色。对已知的 57 种甲状腺肿瘤标志物进行染色^[4,5]。将所有得分记录在标准化 TMA 患者图谱上,对应于每个 TMA 样品,并且使用 TMA-deconvoluter 软件对所有数据进行处理。将处理后的数据录入主数据库,该数据库包含所有的临床和患者数据,并进行统计学分析。

1.6 相关性分析

使用列联表统计分析组织学诊断结果(良性或恶性)与分子标志表达之间的显著相关性。其中“TMA1”中,将标志得分分为阴性(得分=0)、阳性

(得分 ≥ 1)。TMA2 中,标志得分分为阴性/弱(得分 = 0/1)或中度/强(得分 ≥ 2)。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 或中位数表示。使用 Pearson χ^2 检验比较 FNABs 诊断良性或恶性肿瘤及未诊断甲状腺结节随机森林算法的准确度,使用 Benjamini-Hochberg(BH)相关性检验来校正多重检验的 P 值。检验水准 $\alpha = 0.05$ (双侧)。

2 结果

2.1 典型免疫组化染色

与良性甲状腺病变相比,甲状腺乳头状腺瘤组织芯片免疫组化染色后分子标志蛋白 AR、极光激酶 A、CK19、半乳糖凝集素-3、HBME-1 和 P16 表达提高,而 VEGF 表达降低,见图 1。

2.2 标志物与诊断的相关性

在对多重检验相关性进行校正后,总共发现 35 个标志物表现出与肿瘤诊断有明显相关性(表 2)。使用随机森林算法能很好地利用分子标志得分将患者分到正确的诊断组,100 例良性患者中有 6 例,99 例恶性患者中有 12 例出现诊断错误,其诊断的灵敏度为 87.9%(87/99),特异性为 94.0%(94/100),总体准确度为 91.0% [(94 + 87) / 199]。分类性能见图 2 和图 3,这两个图在层次聚类热图中将良性(浅绿色条)和恶性(深绿色条)患者很好地分开。多维尺度(multidimensional scaling, MDS)图也能根据随机森林近似测量将良性和恶性很好地分开。

使用层次类聚方法分析通过 MU 检验得到的全部 35 个显著标志,并绘制一个标志表达的热图(图 2)。根据标志的表达水平评估患者的甲状腺疾病是良性还是恶性。颜色指示根据评分系统得到的标志的得分值(0 ~ 4)。横轴列出了所有的标记,纵轴显示良性样本为浅绿色条带,恶性样本为深绿色条带。黄色条带指示标记上调,橙色条带指示标记下调。良性和恶性样本得到分离,但只有样本包含差别很大的标志(由 RF 变量的重要性来确定)时,分离效果最好。

使用简单层次类聚的方法分析 7 个差异最显著的标志物并绘制出标记表达的热图(图 3),根据标志物表达水平评估患者和标记,颜色指示根据评分体系得到的标记得分值(0 ~ 3),横轴列出了显著标记。在没有信息不足的标记影响的情况下,分层类聚能将良性样本(浅绿色条带)和恶性样本(深绿色条带)分开,橙色条带指示标记下调。有显著差异

的 7 个标志物的病理染色情况见图 1。

表 2 癌症患者的临床病理特征

Tab.2 Clinical and pathologic characteristics of cancer patients

Item	n
Gender	
Male	26
Female	73
Age (t/a)	
<45	46
≥45	53
Family history of thyroid tumor	
No	94
Yes	4
Unknown	1
History of radiotherapy for head and neck	
No	98
Yes	0
Thyroid tumor metastasis	
No	60
Yes	39
Tumor size (cm)	
<2	42
2 ~4	42
>4	15
Blood vessel invasion	
No	83
Yes	16
Multiple tumor	
No	63
Yes	36
Tumor radical resection	
No	2
Yes	97
Lymph node metastasis	
No	69
Yes	30
Distant metastasis	
No	96
Yes	3
AMES risk group	
Low risk	68
High risk	28
Unknown	3
MACIS	
Median (range)	5.02 (3.4 ~9.04)

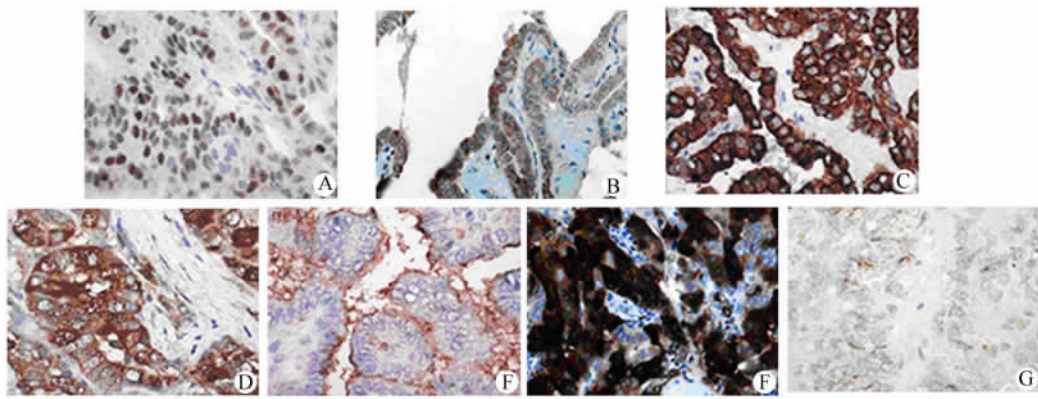


图1 样品组织免疫组化染色(×400)

Fig. 1 Immunohistochemistry staining of sample tissues(×400)

A: AR; B: Aurora-A; C: CK19; D: Galectin-3; E: HBME-1; F: P16; G: VEGF

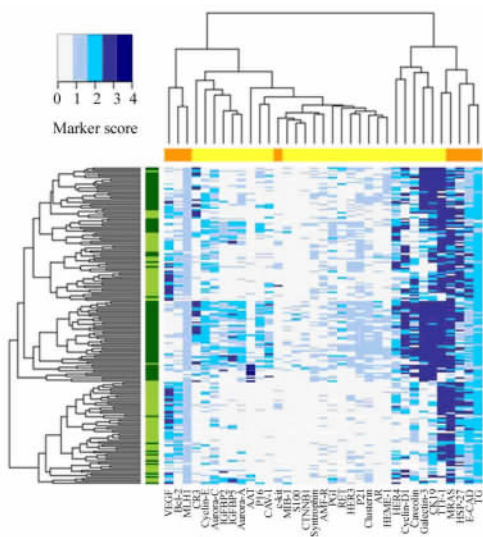


图2 全部 35 个显著标志物的层次类聚分析

Fig. 2 Hierarchical clustering of all 35 significant markers

2.3 分子标志物诊断平台的选择

这 35 个标志物的变量在甲状腺良性肿瘤与癌中的差别见表 3。为了评估相关标志物诊断模式的准确性,由于时间及经费的原因,仅对差异最大的前 7 个和前 3 个变量组合的标志平台的诊断性能进行了评估。其中最佳的诊断标志物(Gini 变量重要性值为 5 分或更高)为半乳糖凝集素 3、CK19、VEGF、极光激酶 A, P16、AR、和 HBME-1(表 2)。同时使用这 7 个标志物时,诊断的灵敏度为 86.9%、特异性为 93.0%、整体准确性为 89.9%,有 7 例良性和 13 例恶性患者分类错误。当仅使用前 3

个标志物(半乳糖凝集素 3,CK19 与 VEGF)时,灵敏度为 84.8%、特异性为 92.0%、总体准确性为 88.4%,其中有 8 例良性和 15 例恶性患者分类错误。因此,排在前面的标志物,尤其是前 3 位的标志物主要决定分类的总体性能。结合分析的结果提示前 7 个标志物中 2 个或 3 个标志物结合得到的诊断效能接近于全部标志物的诊断效能(表 4)。

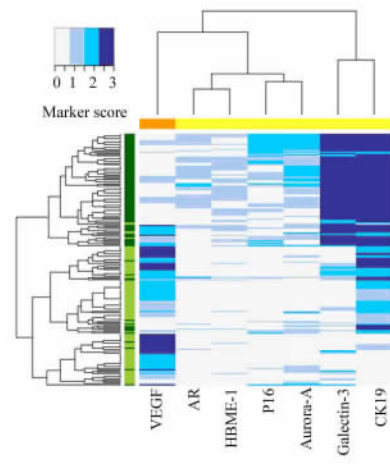


图3 7 个有显著差异标志物的层次类聚

Fig. 3 Hierarchical clustering of seven most significant markers

2.4 细胞学诊断结果

细胞学诊断是诊断的金标准,共有 199 例可检查的 FNAB 样本(15 例患者的样本缺失)。对整体队列进行细胞学诊断结果如下:63 例恶性,30 例良性,80 例未确诊,另有 26 例资料不足。根据组织学诊断,按表 4 中的标志将患者准确地分到不同

FNAB 诊断组(肿瘤, 良性病变, 未确诊)。根据 FNAB 诊断分类的准确度, 利用 RF 分类方法可将 87.5% 的未确诊的 FNAB 样本(80 例中的 70 例)准

确分类, 而信息充足的 FNAB 样本中准确分类的患者为 95.7%(93 例中的 89 例)。

表 3 35 种不同分子标志物与肿瘤的相关性分析
Tab.3 Correlation analysis between 35 different molecular markers and tumor

Mark	Benign	Malignant	MU <i>P</i> value	Statistical test	Direction
	Average score range	Average score range		Var. Imp.	
Galectin-3	59.9	140.5	0	15.3	Up
CK19	62.1	138.3	0	12.9	Down
VEGF	131.4	68.3	0	6.5	Down
Aurora-A	68.3	125.2	0	4.9	Up
P16	74.3	125.2	0	5.2	Up
AR	76.2	124.0	0	4.9	Up
HBME-1	76.0	124.3	0	5.1	Up
Bcl-2	123.1	72.9	0	2.3	Down
Cyclin-D1	68.4	115.4	0	2.6	Up
CAV-1	78.7	120.3	0	2.5	Up
Cyclin-E	77.5	119.9	0	1.8	Up
E-CAD	120.8	79.0	0	3.1	Down
Clusterin	81.0	118.0	0	1.0	Up
CR3	78.8	115.0	0	2.5	Up
IGFBP5	79.4	114.3	0	1.5	Up
P21	82.6	114.3	0	0.5	Up
IGFBP2	82.9	111.5	0	1.2	Up
CTNNB1	91.0	109.1	0.0001	0.2	Up
HER4	82.8	115.0	0.0001	1.6	Up
TG	106.5	88.5	0.0001	1.5	Down
MIB-1	87.4	103.9	0.0003	1.0	Up
Caveolin	80.1	109.3	0.0004	2.3	Up
Aurora-C	80.0	107.1	0.0006	1.2	Up
S100	90.5	102.9	0.0006	0.2	Up
MRAS	109.2	86.9	0.0008	1.2	Down
c-kit	105.6	91.1	0.0026	0.7	Down
HER3	83.6	105.7	0.0026	0.6	Up
RET	80.2	99.7	0.0026	0.5	Up
AMF-R	88.8	106.4	0.0112	0.7	Up
MLH1	103.0	96.0	0.0139	1.3	Down
AAT	90.1	101.4	0.0257	0.9	Up
TTF-1	89.7	103.6	0.0316	1.0	Up
PGI	83.9	99.9	0.0322	1.0	Up
HSP-27	101.1	83.7	0.0332	1.4	Down
Syntrophin	90.5	104.5	0.0358	0.6	Up

表 4 不同标志物组合在甲状腺癌诊断中的价值分析(%)
 Tab. 4 Analysis of value of the different markers combinations
 in the diagnosis of thyroid carcinoma(%)

Sign expression	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Accuracy
Galectin-3 (+)	86.9	87.0	86.9	87.0	86.9
CK19 (+)	94.9	54.0	67.1	91.5	74.4
VEGF (-)	82.8	70.0	73.2	80.5	76.4
Aurora-A (+)	75.3	79.6	77.8	77.2	77.5
P16 (+)	55.1	95.0	91.5	68.3	75.3
AR (+)	50.5	98.0	96.2	66.7	74.4
HBME-1 (+)	53.5	95.0	91.4	67.4	74.4
2 signs (CK19/VEGF)	88.9	92.0	91.7	89.3	90.5
3 signs (Galectin-3/P16/AR)	86.9	94.0	93.5	87.9	90.5
3 signs (Galectin-3/P16/HBME-1)	85.9	95.0	94.4	87.2	90.5
3 signs (Galectin-3/CK19/VEGF)	84.8	92.0	91.3	86.0	88.4
35 signs	87.9	94.0	93.5	88.7	91.0

PPV: Positive predictive value; NPV: Negative predictive value

3 讨论

甲状腺病变分子标志物的种类包括 DNA、RNA 与蛋白质。但在现有的临床试验条件下,免疫组化和免疫细胞化学能在蛋白水平快速确定有差异的分子标志,因此通过免疫组化评估甲状腺分子标志的方法具备实用价值。

半乳糖凝集素 3 是单一敏感且特异的甲状腺诊断的分子标志物^[6-7]。近期,一个多中心试验^[8-10]报道了 1 009 例甲状腺癌样本中均有半乳糖凝集素 3 的表达,灵敏度为 99%,特异度为 98%,准确度为 99%,因此半乳糖凝集素 3 能作为甲状腺癌诊断的标志,这和本研究一致。甲状腺肿瘤低分子量 CK19 表达升高有助于肿瘤诊断,有报道^[1]指出,在良性病变中出现 CK19 也会在病灶区出现弱的染色以及弥散染色,本研究也发现,CK19 比其他诊断标志有更高的灵敏度。VEGF 在肿瘤新生血管生成中起重要作用,因此一般不用做甲状腺癌的特异度的诊断标志。本研究发现,VEGF 在良性和恶性甲状腺肿瘤中的表达水平不同,检测结果依具体的甲状腺肿瘤研究队列而异。Lewy-Trenda^[11]等提出,使用免疫组化技术检测 VEGF 表达时,40% 的 PTC、44% 的 FTC、50% 的 FA 及 12% 的甲状腺肿中均能检出 VEGF 的表达。极光激酶 A 是极光激酶家族的一个

成员,主要与分裂细胞的中心体有关。有研究^[12-13]报道 PTC 中极光激酶 A 蛋白表达水平显著高于同一患者的正常对照组织,在 PTC、FTC 和甲状腺未分化癌细胞系中极光激酶 A 蛋白水平提高。P16 是一种周期蛋白依赖性激酶抑制剂,Barroeta 等^[14]观察到 1.9% 的良性患者和 45.9% 的肿瘤有 P16 的表达 ($P = 0.0001$)。本研究也发现,P16 表达提高和 P16 基因改变与 DTC 患者疗效不佳的临床病理学变量有关。AR 是一种核受体转录因子。Rossi^[15]等检测了甲状腺肿瘤中 AR RNA 和蛋白的含量,在 50% 的正常甲状腺样本、100% 的甲状腺肿及 50% 的肿瘤甲状腺新鲜组织中能通过免疫组化检测到 AR,这和本研究结论一致。HBME-1 抗体主要存在于间质瘤细胞,Miettinen 等^[16]在 463 例甲状腺肿瘤队列中评估 HBME-1 的表达,发现在所有的 PTC 和所有的 FTC 中 HBME-1 均高表达,并且在甲状腺肿和乳头状增生患者中没有反应性和病灶染色。

综上所述,尽管本研究评估的 57 个分子标志物中有 35 个(61%)能区分良性甲状腺病变和 DTC。但使用单个标志物的进行诊断时会产生很大的异质性。总之,本研究使用了评估甲状腺癌诊断标志有许多优势^[17-19]的 TMA 方法,评估了 57 个分子标志,通过比较良性和恶性甲状腺肿瘤的免疫组化表型,鉴定出一些有意义的分子标志物。

[参 考 文 献]

- [1] Gharib H, Papini E. Thyroid nodules: clinical importance, assessment, and treatment [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2007, 36(3): 707-735.
- [2] Hahn SY, Shin JH, Han BK, et al. Ultrasonography-guided core needle biopsy for the thyroid nodule: does the procedure hold any benefit for the diagnosis when fine-needle aspiration cytology analysis shows inconclusive results? [J]. *Br J Radiol*, 2013, 86(1025): 20130007.
- [3] Mathur A, Weng J, Moses W, et al. A prospective study evaluating the accuracy of using combined clinical factors and candidate diagnostic markers to refine the accuracy of thyroid fine needle aspiration biopsy [J]. *Surgery*, 2010, 148(6): 1170-1176.
- [4] Kim MI, Alexander EK. Diagnostic use of molecular markers in the evaluation of thyroid nodules [J]. *Endocr Pract*, 2012, 18(5): 796-802.
- [5] Corrias A, Mussa A. Thyroid nodules in pediatrics: which ones can be left alone, which ones must be investigated, when and how [J]. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2013, 5(Suppl 1): 57-69.
- [6] Cui W, Lu X, Zheng S, et al. The use of a combination of Ki-67, Galectin-3, and PTTG can distinguish the benign and malignant thyroid tumor [J]. *Clin Lab*, 2012, 58(5/6): 419-426.
- [7] Syro LV, Rotondo F, Ramirez A, et al. Progress in the diagnosis and classification of pituitary adenomas [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2015, 6: 97. DOI:10.3389/fendo.2015.00097.
- [8] Paunovic I, Isic T, Havelka M, et al. Combined immunohistochemistry for thyroid peroxidase, galectin-3, CK19 and HBME-1 in differential diagnosis of thyroid tumors [J]. *APMIS*, 2012, 120(5): 368-379.
- [9] 赵欣, 杨志杰. 甲状腺癌肿瘤标志物研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 21(2): 4191-4194.
- [10] 吴艺捷. 甲状腺癌分子标志物研究进展 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(5): 565-568.
- [11] Lewy-Trenda I, Janczukowicz J, Wierchniewska-Lawska A. Practical application of proliferation markers' (MIB-1, PCNA, Ag-NOR) expression analysis for differential diagnostics of nodular thyroid lesions [J]. *Wiad Lek*, 2006, 59(1/2): 32-37.
- [12] Ulisse S, Baldini E, Sorrenti S, et al. In papillary thyroid carcinoma BRAFV600E is associated with increased expression of the urokinase plasminogen activator and its cognate receptor, but not with disease-free interval [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012, 77(5): 780-786.
- [13] Denaro N, Nigro CL, Russi EG, et al. The role of chemotherapy and latest emerging target therapies in anaplastic thyroid cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2013, 9: 1231-1241. DOI: 10.2147/OTT.S46545
- [14] Barroeta JE, Farkas T. Merkel cell carcinoma and chronic lymphocytic leukemia (collision tumor) of the arm: a diagnosis by fine-needle aspiration biopsy [J]. *Diagn Cytopathol*, 2007, 35(5): 293-295.
- [15] Rossi M, Buratto M, Bruni S, et al. Role of ultrasonographic/clinical profile, cytology, and BRAF V600E mutation evaluation in thyroid nodule screening for malignancy: a prospective study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(7): 2354-2361.
- [16] Miettinen M, Franssila KO. Variable expression of keratins and nearly uniform lack of thyroid transcription factor 1 in thyroid anaplastic carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2000, 31(9): 1139-1145.
- [17] Ezra DG, Krell J, Rose GE, et al. Transcriptome-level microarray expression profiling implicates IGF-1 and Wnt signalling dysregulation in the pathogenesis of thyroid-associated orbitopathy [J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(7): 608-613.
- [18] 张学良, 王华. 甲状腺癌肿瘤标志物及相关基因研究进展 [J]. *交通医学*, 2008, 22(2): 132-136.
- [19] Mizoshiri N, Shirai T, Terauchi R, et al. Metastasis of differentiated thyroid cancer in the subchondral bone of the femoral head: a case report [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16(1): 286. DOI:10.1186/s12891-015-0748-2

[收稿日期] 2015 - 06 - 18 [修回日期] 2015 - 10 - 12

[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》免收审稿费的通知

《中国肿瘤生物治疗杂志》本着竭诚为广大作者和读者服务的宗旨,加大力度努力宣传我国肿瘤生物治疗领域的科技成果,以推动我国肿瘤防治事业的发展,本刊从 2015 年 10 月开始取消稿件审理费用,欢迎肿瘤生物治疗领域基础和临床研究工作积极踊跃投稿。

凡已寄出稿件审理费的作者,请到原汇款邮局办理“退回汇款”手续费,邮局可把审稿费如数退回作者。

(本刊编辑部)