·综述·

甲状腺癌基因诊断与基因治疗的研究进展

1.北京大学医学部 （北京 100191）
2.北京大学深圳医院甲乳外科 （广东 深圳 518036）
孙 凤[1] 韦 伟[2]

【关键词】甲状腺癌; 基因诊断; 基因治疗
【中图分类号】R736.1
【文献标识码】A
DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2016.01.021

甲状腺癌(thyroid carcinoma，TC)是内分泌系统中最常见的恶性肿瘤之一，约占全身恶性肿瘤的3%。近三十年来，甲状腺癌以6.2%的年增长速度递增，成为当前增长速度最快的恶性肿瘤[1]。其中分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma，DTC)占大多数，根据组织学突变不同又分为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma，PTC)和甲状腺滤泡状癌(follicular thyroid carcinoma，FTC)，另有来源于甲状腺滤泡旁细胞的甲状腺髓样癌(medullary thyroid carcinoma，MTC)。未分化型甲状腺癌(anaplastic thyroid carcinoma，ATC)则一般起源于分化型中的一些发生去分化的细胞。大多数分化型甲状腺癌恶性度低，预后良好。未分化型甲状腺癌不仅预后较差，而且由于基因突变而导致侵袭性显著升高。

在甲状腺癌的发生、发展过程中，多种癌基因与抑癌基因参与其中。甲状腺癌相关基因改变包括：BRAF突变、RET/PTC重排、PAX8/PPARγ重排、TP53突变等。这些基因突变也许可用来诊断疾病，或是预测预后，甚至作为潜在的治疗靶点。本文对目前研究较多且与甲状腺癌关系较为密切的基因诊断及基因治疗的研究进展作一综述。

1 甲状腺癌相关基因诊断

1.1 BRAF基因突变 BRAF基因位于7号染色体，由783个氨基酸组成，在RAF基因突变亚型(ARAF、BRAF、CRAF)中最常见，发生率为35%～69%。目前发现与人类肿瘤相关的BRAF基因突变约65种[2-4]，其中BRAFV600E(T1799A点突变)是甲状腺癌最常见的基因突变。BRAFV600E突变后导致所表达蛋白质中第600位的缬氨酸(V)转换为谷氨酸(E)，使MAPK 通路持续活化，最终导致细胞持续分裂、增殖、肿瘤形成。研究发现在各型甲状腺中BRAFV600E与PTC的侵袭行为和不良预后密切相关[5,6]。Xing等[7,8]研究发现，BRAFV600E基因突变还与PTC临床病理特征密切相关，如患者年龄、肿瘤直径、多中心发生、甲状腺外浸润、淋巴结转移和肿瘤分期等。提示BRAFV600E基因突变对预后评估有重要意义[9,10]。研究已证实BRAFV600E 突变可作为进展性疾病的独立危险因素，并可增加疾病特异死亡率风险[8,11]。我国学者还发现BRAFV600E基因突变与PTC中央区淋巴结转移有关[12]。

另外，在Zatelli等[13]的研究中发现BRAF V600E联合FNAB检测能提高PTC的诊断敏感度。因此，可将BRAFV600E作为PTC诊断治疗、预测预后和预测肿瘤复发的标记，尤其术前测试BRAFV600E对预测和指导外科手术切除范围发挥重要作用。

近期研究还发现BRAFV600E基因突变可导致甲状腺激素合成及碘代谢相关基因的表达下降[14]，提示BRAFV600E基因突变与PTC转移灶摄碘率降低有相关性，预示着未来对BRAFV600E基因突变的逆转将成为PTC治疗一个重要方向。

作者简介：孙 凤，女，北京大学医学部2013级研究生，专业为外科学，主要研究方向：甲状腺早期诊断及治疗。
通讯作者：韦 伟

1.2 RET/PTC基因重排 RET基因位于人10号染色体10q11．2区，编码膜酪氨酸激酶受体蛋白，经重排后的基因称RET/PTC癌基因。目前对RET与甲状腺癌关系研究比较透彻，RET/PTC重排是染色体易位或臂内倒位致RET基因的3’端和被结合基因的5’端之间产生重排，引起酪氨酸蛋白激酶功能区持续的激活，使通路下游信号持续开放，导致细胞发生恶性转化[15,16]。RET/PTC基因重排较常见的甲状腺癌基因改变，其中以RET/PTC1、RET/PTC3最多见。相关研究显示儿童散发性甲状腺癌病例中RET/PTC重排发生率约45%，高于成人[17]；而在辐射后的甲状腺乳头状癌中重排率远高于散发性的病例，可达60%～70%[18]。因此，RET/PTC重排与儿童及辐射诱导的PTC有关。虽然RET/PTC在早期甲状腺癌发生的作用尚未阐明，但已有研究证实RET/PTC在早期甲状腺癌中有较高的表达水平，因此深入研究RET/PTC将对早期甲状腺癌的诊断具有很高价值。目前RET/PTC重排基因检测辅助FNAB的应用是临床预测PTC的重要指标。另外，研究发现RET/PTC重排除不仅见于PTC，还可见于部分甲状腺良性病变，如桥本氏甲状腺炎、小梁性腺瘤等。

1.3 PAX8-PPARγ融合基因 PAX8/PPARγ重排是发生在染色体2和3，t(23)(q13；P25)之间的易位，导致编码甲状腺配对域转录因子的PAX8和PPARγ基因相融合[19]。PAX8/PPARγ基因融合后可显著增加PAX8/PPARγ嵌合蛋白的表达水平，但削弱了PPARγ的抑瘤活性[20]。研究表明约30%～40%的常规型FTC和约5%的嗜酸细胞癌中存在PAX8/PPARγ表达[21]。而在PTC中，仅滤泡亚型中出现PAX8/PPARγ重排，阳性率约为37%，该基因重排还出现于在约10%FA(滤泡型腺瘤)中[22]。可见，PAX8/PPARγ对FTC与FA的鉴别诊断具有一定的意义。临床资料显示，在甲状腺肿瘤中，PAX8/PPARγ重排与甲状腺癌临床病理特征有密切关系，如年轻、瘤体较小、伴癌巢样生长结构、容易的侵犯血管等[21]。因此，研究者认为PAX8/PPARγ基因可作为FTC最重要的易感基因，其检测试验的临床应用不仅有助于对FTC和FA的诊断，还可为FTC的预后和治疗提供可靠的依据。

1.4 P53基因 P53抑癌基因位于人17号染色体短臂上，产物由393个氨基酸组成的蛋白质。P53蛋白能有效维持细胞正常生长、分化，抑制细胞恶性增殖。人P53基因主要分野生型(wp53)和突变型两类，野生型P53发挥抑癌功能，而突变型P53具有促进肿瘤发生、发展作用。在甲状腺肿瘤发生过程中，高分化的肿瘤组织P53表达弱，而未分化或低分化的肿瘤组织P53较高表达，表明突变型P53与甲状腺肿瘤预后相关[23]。Morita等[24]研究发现P53蛋白在原发性PTC中高表达，并与肿瘤直径及淋巴结转移有明显相关性，表明P53基因突变可能参与了PTC的发生、发展，并与PTC的进展、侵袭和转移有关。同时，研究发现野生型P53基因可增强肿瘤细胞对放疗的敏感性，从而给对放疗不敏感的甲状腺癌患者带来希望。目前，相关基因靶向药物已初步应用于甲状腺癌的治疗研究，并显示出良好的治疗前景。

1.5 多基因联合检测 随着越来越多的基因检测技术深入研究，许多单独的基因检测表现出特异性高、灵敏度差、且在癌组织中经常缺失的特性，而研究显示对多个基因进行联合检测比单一基因检测能够显著提高诊断率。如术前使用FNAB联合检测BRAF、P27、Cyclin D1基因的表达情况来评估PTC患者是肿瘤扩散和淋巴结转移风险性。这种方法不仅提高了PTC的诊断率，并可进一步为手术治疗提供依据及可为晚期的PTC患者提供新的治疗方法。同时，对于BRAF突变患者，P27表达过低以及Cyclin D1表达增高时可以加大手术范围，减少术后复发的几率。这样必然为PTC的治疗及预后的判断提供了有效的手段，给更多的PTC患者带来新的治疗希望。

然而，甲状腺癌的诊断和预测预后需要综合考虑多个基因，不能孤立于单一的指标，对FNAB活检组织进行多个基因标记的基因谱联合检测，可以帮助我们更早地诊断疾病，更合理地选择治疗方案、评价疗效和评估预后，进而完善个体化治疗方案提高患者的生存质量。

2 甲状腺癌相关基因治疗

2.1 针对BRAF靶向药物 目前针对BRAF靶向药物主要有两类：一类是广谱的RAF激酶抑制剂，对RAF各亚型(ARAF，BRAF和CRAF)、部分激酶如KIT、血管内皮生长因子受体(VEGFR)等均有抑制。其代表为索拉菲尼(sorafenib)、RAF-265、XL-281等。这类抑制剂具有广谱的抗肿瘤及抗血管生成作用。在索拉菲尼对局部晚期或发生转移的难治型TC患者III期临床试验

中，试验组(207名患者)口服索拉非尼400mg/次、每天两次，对照组(210名患者)口服同剂量的安慰剂，结果表明试验组中位生存期10.8个月，对照组中位生存期5.8个月[25]。2013年，索拉菲尼通过了FDA认可用于治疗发生转移的DTC患者，目前常见的不良反应有腹泻、高血压和皮疹。

另一类是BRAF抑制剂，对BRAF尤其是BRAFV600E有很高的抑制活性，代表为威罗菲尼(vemurafenib, PLX-4032)和达拉菲尼(dabrafenib)。目前威罗菲尼单疗法应用于BRAFV600E突变阳性的甲状腺癌的II期临床试验正在进行(NCT01286753)，在I期耐受性临床试验中，对3例V600E基因突变的甲状腺癌患者给予威罗菲尼治疗后表现出部分缓解(PR)，3名受试者CT上观察到的肿瘤范围缩小，表明了威罗菲尼对甲状腺癌治疗有很好前景。其常见的副反应有脱发、皮疹、光过敏和关节痛等。

2.2 针对RET靶向药物 针对RET的靶向药物包括：凡得他尼(vandetanib)、卡博替尼(cabozantinib)、AMG-706(Motesanib)、索拉非尼(sorafenib)、等。其中凡得他尼是多靶点酪氨酸激酶抑制剂，可通过抑制RET、EGFR、VEGFR等酪氨酸激酶而抑制肿瘤的生长、转移[26]。目前，凡得他尼用于治疗MTC、PTC及FTC的大量III期临床试验正在进行，其常见不良反应有腹泻，高血压，皮疹等[27]。卡博替尼对RET有强烈抑制作用，2012年11月，卡博替尼通过了FDA认可主要用于治疗进展伴转移的MTC患者，而其用于DTC的治疗尚处于临床试验中。

2.3 针对PPARγ靶向药物—PPARγ激动剂 PPARγ(过氧化物酶体增殖物激活受体γ)激动剂通过结合和激活PPARγ而起治疗作用，主要包括非甾体类抗炎药物，氨基酸衍生物，多不饱和脂肪酸，花生酸和噻唑烷二酮类药物等。PPARγ可作为抑癌基因，通过上调酶的活性来调节细胞周期，尤其是激活PPARγ使P21蛋白表达上调，导致细胞在G0-G1期被阻滞，从而抑制肿瘤增殖。目前罗格列酮用于ATC的治疗，主要通过增加甲状腺特异性分化表达，诱导组织细胞向上皮-间充质转化，从而控制ATC的生长和扩散。

然而，目前大多数针对标记基因的靶向药物仍处于临床研究中，尚需要大量临床试验的证实。

3 结 论

综上所述，随着分子生物学的研究进展，越来越多的甲状腺癌相关基因包括RAS突变、P27基因、Survivin基因、Kiss-1肿瘤转移抑制基因、EG-1基因、C-met基因、erBb-2基因、PTEN基因、TRK(NTRKI)基因重排、以及视网膜母细胞瘤RB基因等被发现，这对未来甲状腺疾病的治疗提供了潜在的研究价值。因此，未来通过FNAB 活检组织进行多基因谱联合检测，必将对甲状腺疾病的诊疗、预后起指导意义，为早期甲状腺癌的诊断提供可靠信息。同时随着甲状腺癌相关基因靶向治疗的发展迅速，基因治疗药物应用前景更加广阔，不仅为甲状腺癌的治疗开辟了新的方向，而且为难治型甲状腺癌和晚期患者带来新的希望。

参考文献

[1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009[J]. CA Cancer J Clin,2009,59(4):225-249.

[2] Roskoski R J. RAF protein-serine/threonine kinases: structure and regulation[J]. Biochem Biophys Res Commun,2010,399(3):313-317.

[3] Cantwell-Dorris E R, O'Leary J J, Sheils O M. BRAFV600E: implications for carcinogenesis and molecular therapy[J]. Mol Cancer Ther,2011,10(3):385-394.

[4] Pritchard A L, Hayward N K. Molecular pathways: mitogen-activated protein kinase pathway mutations and drug resistance[J]. Clin Cancer Res,2013,19(9):2301-2309.

[5] Smith R A, Salajegheh A, Weinstein S, et al. Correlation between BRAF mutation and the clinicopathological parameters in papillary thyroid carcinoma with particular reference to follicular variant[J]. Hum Pathol,2011,42(4):500-506.

[6] Xing M, Alzahrani A S, Carson K A, et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer[J]. JAMA,2013,309(14):1493-1501.

[7] Xing M, Alzahrani A S, Carson K A, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer[J]. J Clin Oncol,2015,33(1):42-50.

[8] Kim T H, Park Y J, Lim J A, et al. The association of the BRAF(V600E) mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: a meta-analysis[J]. Cancer,2012,118(7):1764-1773.

[9] Xing M, Westra W H, Tufano R P, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab,2005,90(12):6373-6379.

[10]Xing M, Alzahrani A S, Carson K A, et al. Association between

BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer[J]. J Clin Oncol,2015,33(1):42-50.

[11]Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications[J]. Endocr Rev,2007,28(7):742-762.

[12]石臣磊, 秦华东, 丁超, 等. 鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B1 V600 E基因突变与甲状腺乳头状癌中央区淋巴结转移的关系[J]. 中华肿瘤杂志,2015(2):123-127.

[13]Zatelli M C, Trasforini G, Leoni S, et al. BRAF V600E mutation analysis increases diagnostic accuracy for papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies[J]. Eur J Endocrinol,2009,161(3):467-473.

[14]Barollo S, Pennelli G, Vianello F, et al. BRAF in primary and recurrent papillary thyroid cancers: the relationship with (131)I and 2-[(18)F]fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake ability[J]. Eur J Endocrinol,2010,163(4):659-663.

[15]王波, 赵文新. ret/PTC3基因重排在甲状腺癌中的作用机制及其研究进展[J]. 中华实验外科杂志,2013,30(10):2241-2242.

[16]苗素生, 孙冀, 裴荣, 等. RET与VEGF-C在甲状腺乳头状癌中表达的研究[J]. 实用肿瘤学杂志,2010,24(4):373-377.

[17]Fenton C L, Lukes Y, Nicholson D, et al. The ret/PTC mutations are common in sporadic papillary thyroid carcinoma of children and young adults[J]. J Clin Endocrinol Metab,2000,85(3):1170-1175.

[18]Nikiforov Y E. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors[J]. Endocr Pathol,2002,13(1):3-16.

[19]Kroll T G, Sarraf P, Pecciarini L, et al. PAX8-PPARgamma1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma [corrected][J]. Science,2000,289(5483):1357-1360.

[20]Wang Y, Hou P, Yu H, et al. High prevalence and mutual exclusivity of genetic alterations in the phosphatidylinositol-3-kinase/akt pathway in thyroid tumors[J]. J Clin Endocrinol Metab,2007,92(6):2387-2390.

[21]French C A, Alexander E K, Cibas E S, et al. Genetic and biological subgroups of low-stage follicular thyroid cancer[J]. Am J Pathol,2003,162(4):1053-1060.

[22]Castro P, Rebocho A P, Soares R J, et al. PAX8-PPARgamma rearrangement is frequently detected in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma[J]. J Clin Endocrinol Metab,2006,91(1):213-220.

[23]Nemeth J, Nemeth Z, Tatrai P, et al. High expression of claudin-1 protein in papillary thyroid tumor and its regional lymph node metastasis[J]. Pathol Oncol Res,2010,16(1):19-27.

[24]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.

[25]Brose M S, Nutting C M, Sherman S I, et al. Rationale and design of decision: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase III trial evaluating the efficacy and safety of sorafenib in patients with locally advanced or metastatic radioactive iodine (RAI)-refractory, differentiated thyroid cancer[J]. BMC Cancer,2011,11:349.

[26]Herbst R S, Heymach J V, O'Reilly M S, et al. Vandetanib (ZD6474): an orally available receptor tyrosine kinase inhibitor that selectively targets pathways critical for tumor growth and angiogenesis[J]. Expert Opin Investig Drugs,2007,16(2):239-249.

[27]Sherman S I. Early clinical studies of novel therapies for thyroid cancers[J]. Endocrinol Metab Clin North Am,2008,37(2):511-524.

【收稿日期】2016-01-18

更正说明

刊登于本刊2015年（第22卷）第5期（总第112期）文章：“鼻咽癌患者血清CYFRA 21-1定量检测及其临床意义”，作者单位更正为“1.广西医科大学附属肿瘤医院；2.四川自贡市富顺县人民医院外一科”。

特此更正

罕少疾病杂志社