

来。经过反复试验,在兼顾 DMSO 环境下使用 1.52 mg/mL 的抑制作用较为有效。另外,要避免 2 次离心造成酶活性下降,尤其在 DMSO 环境中 2 次离心后酶活性影响更甚。

反应体系中粗酶蛋白属于水溶性物质,而非那雄胺以及其他受试药物则易溶于有机相,难溶于水相。体系中的酶和酶的抑制物的溶解性质是相背离的,因此,本研究在反应系统中创新性的加入 DMSO 来弥合,两者“背离”的问题。经过反复实验,在 DMSO 环境下同时兼顾粗酶活性,最后 DMSO 添加量为总反应体积的 21%,这是一个比较好的平衡点。根据 LOFTSSDN 等^[4]提供的文献资料,非那雄胺在纯水水中的溶解度按照雅尔考斯基方程计算的结果是 10 $\mu\text{mol/L}$ 。结合本文,非那雄胺在 0.32 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时没有抑制作用,可能是非那雄胺在反应体系中处于过饱和溶液的状态,0.32 $\mu\text{mol/L}$ 则进入了过饱和溶液的“不稳定区”,药物被迅速析出晶体,造成溶解量大幅减少。

通过 3 组数据估算筛选体系中非那雄胺对粗酶的半抑制浓度 (IC_{50})。实验重复 3 次,利用空白组、非那雄胺组反应前后睾酮峰面积差值,通过 SPSS 软件拟合曲线的方式来估算半抑制浓度,最终 2 次曲线模型拟合效果好,并通过曲线估算筛选体系中非那雄胺的半抑制浓度为 0.304 $\mu\text{mol/L}$ 。有报道^[5],通过体外筛选实验获得非那雄胺的半抑制为 212 nmol/L,考虑因实验方法的不同导致的

偏差。另外,本研究中的羊毛甾醇和环阿屯醇则拟合计算失败,可能是抑制效能不够的原因。

本研究筛选的羊毛甾醇和环阿屯醇 2 个甾醇类化合物,从抑制曲线得出羊毛甾醇的抑制作用与非那雄胺相似度较高,虽然整体效能不如人工合成的非那雄胺,考虑羊毛甾醇为天然存在的甾醇类化合物,不管在水相还是有机相中的溶解度均不如非那雄胺。

综上,羊毛甾醇在体外具有较好的 5 α 还原酶抑制效果,羊毛甾醇或许可以成为新型的 5 α 还原酶抑制物。

参考文献

- [1] 郑瑞蓉, 欧阳倩兮, 刘子瑶. 天然 5 α -还原酶抑制剂用于改善良性前列腺增生的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49 (4): 858-867.
- [2] 崔心禹, 崔心禹, 夏琛, 等. 油茶叶提取物的 5 α -还原酶抑制活性及化学成分分析 [J]. 食品工业科技, 2021, 42 (19): 97-105.
- [3] 李慕春, 张显文, 王苗. 12 种植物的提取物对 5 α -还原酶的抑制活性研究 [J]. 中南药学, 2017, 15 (11): 1536-1540.
- [4] LOFTSSON T, HREINSDOTTIR D. Determination of aqueous solubility by heating and equilibration: a technical note [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2006, 7 (1): 29-32.
- [5] ZHANG R W, ZHANG X Q. Inhibitory activities of some traditional Chinese herbs against testosterone 5 α -reductase and effects of cacumen platycladi on hair re-growth in testosterone-treated mice [J]. J Ethnopharmacol, 2016 (177): 1-9.

• 基础研究 •

miR-149-3p 通过调控 NIS 促进甲状腺乳头状癌增殖和迁移

谢文竣 李华水 林 强

【摘要】 目的 探讨 miR-149 通过调控钠/碘共同转运体 (Sodium/Iodide Symporter, NIS) 调控甲状腺乳头状癌 (Papillary Thyroid Carcinoma, PTC) 细胞增殖和迁移能力。**方法** 对选取的 GSE113629 转录组数据进行数据处理, 筛选其中表达差异较为明显且在 PTC 组织中表达明显增高的 MicroRNA (miRNA) 作为研究分子。通过在线数据库预测目标 miRNA 的下游靶基因, 随后检测调控目标 miRNA 表达后靶基因变化情况并观察靶基因水平改变对甲状腺癌细胞生物学行为的影响。**结果** 在 GSE112629 数据集中, 研究发现 miR-149-3p 在 PTC 组织中高表达。通过对 miR-149-3p 预测靶基因进行维恩分析, 我们发现 NIS 是 miR-149-3p 的重要靶基因。通过分析 GEPIA 和 UALCAN 数据库, 我们发现 NIS 在 PTC 样本中

基金项目: 福建省卫生健康委青年科研基金 (2020QNA007)

作者单位: 福建省立医院甲状腺瘤外科, 福州 350001

通信作者: 李华水, Email: wuxingli83@163.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.04.028

明显低表达, 同时发现 PTC 的淋巴结转移率越高、分期级别越高则 NIS 表达量越低, 并且 NIS 表达量与患者无病生存期 (Disease-Free Survival, DFS) 呈正相关。在多种 PTC 细胞系中 miR-149-3p 表达水平均高于正常甲状腺细胞系, 抑制 PTC 细胞内 miR-149-3p 表达后细胞内 NIS 表达水平明显升高。当敲低 miR-149-3p 时, 细胞的增殖活性和迁移能力受到明显抑制。**结论** PTC 中 miR-149-3p 高表达, 并且 miR-149-3p 能够通过抑制 NIS 表达明显增强 PTC 的增殖活性和迁移能力。

【关键词】 甲状腺肿瘤; miR-149-3p; NIS; 增殖活性; 迁移

【中图分类号】 R736.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)04-0094-06

甲状腺癌 (Thyroid Carcinoma, THCA) 是最常见的内分泌系统恶性肿瘤, 约占上皮性恶性肿瘤的 1%^[1]。基因突变和环境因素在 THCA 的发生发展中起重要作用^[2]。miRNA 是在真核生物中发现的一类内源性的, 长约 20~25 个核苷酸的非编码小 RNA, 已有研究发现, miRNA 在多种肿瘤内异常表达^[3], 并且有研究揭示, miR-149 在多种肿瘤的增殖和凋亡中发挥双重作用^[4], 但是 miR-149 对 THCA 的影响仍未被阐明。本研究旨在分析 THCA 中 miRNA 的表达差异, 特别是 miR-149-3p 在 THCA 中的表达情况, 随后通过生物信息学工具 TargetScan 和 miRDB 以及体外实验我们将进一步探索 miR-149-3p 与 NIS 的相互作用, 以评估其在 THCA 发展中的潜在角色。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析及预测 对选取的 GEO 数据库 GSE113629^[5] 数据集中的 miRNA 数据进行处理, 检测在 THCA 样本和正常甲状腺组织样本中的差异表达 miRNA, 进一步挑选出在 THCA 中表达明显增高的 miRNA 作为目标基因。通过 Targetscan 和 miRDB 预测数据库来预测 miRNA 的下游靶基因, 随后通过 GEPIA 和 UALCAN 数据库进一步验证靶基因在 THCA 样本和正常甲状腺组织样本中的表达差异, 并分析靶基因在不同 THCA 类型中的表达差异, 以及其与淋巴结转移、临床病理分期和预后的相关性。

1.2 材料与细胞 正常甲状腺滤泡上皮细胞 Nthy, 甲状腺乳头状癌细胞株 TPC-1, BCPAP, KTC-1 和 K1 均购于 ATCC 细胞库。所有细胞均在 RPMI-1640 培养基中培养, 并添加青霉素 G (100 U/mL)、链霉素 (100 mg/mL) 和 10% 胎牛血清。将所有细胞系置于 37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。NIS 抗体购自 Abcam 公司 (ab242007), GAPDH 抗体购自博士德生物公司 (BA2913)。miR-149-3p Mimic、Mimic NC、Inhibitor 及 Control Inhibitor 由广州锐博生物公司合成。

1.3 细胞中总 RNA/miRNA 的提取 使用 Trizol

法提取细胞总 RNA, 在六孔板每孔中加入 600 μ L Trizol 试剂, 置于冰上, 然后将 200 μ L 氯仿加入 Trizol 中充分震荡约 60 秒, 静置 3 min; 将混合液放入 4℃ 离心机中, 12 000 r/min, 15 min, 移液枪小心吸取上清于干净 EP 管中, 并加入等体积的异丙醇, 摇匀后静置 10 min; 随后 12 000 r/min, 10 min, 弃去上清, 加入 1 mL 的 75% 乙醇轻轻混匀, 静置 1 min; 最后 7 500 r/min, 5 min, 充分吸净上清, 放入生物安全柜中, 将 EP 管盖打开, 风干至透明, 加入适量无酶水溶解 RNA。随后检测 RNA 浓度并根据逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。miRNA 使用 miRNA 提取试剂盒 (19331ES50) 进行提取。

1.4 实时荧光定量 PCR 根据试剂盒说明书配制逆转录反应体系, 记录上机数据并进行统计, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析结果 [ΔCt 值 = (Ct 目的基因 - Ct 管家基因)]。本实验所用到的引物均由上海生工生物公司负责序列的合成。

1.5 Western blot 法检测蛋白表达 待细胞密度达到培养皿的 80%~90% 时, 弃去原培养液, 使用 PBS 将残余的培养基清洗干净, 随后加入含 1% PMSF 的 RIPA 蛋白裂解液, 置于冰上裂解 30 min 后转至离心管内, 以 4℃ 12 000 r/min 离心 15 min, 吸取上清并检测浓度。将 4×Loading Buffer 添加到蛋白溶液中, 100℃ 加热 5 min。SDS-PAGE 凝胶电泳采用 10% 分离胶、5% 浓缩胶。每个上样孔中均加入 30 μ g 蛋白样品, 80 V 电泳, 观察染料到达分离胶时, 调整电压为 120 V 继续电泳, 观察溴酚蓝到达合适位置时, 终止电泳。随后裁剪合适大小的 PVDF 膜, 先放在甲醇溶液中活化后转移至转膜缓冲液中浸泡备用。设置 300 mA 恒流、冰上转膜 70 min。把 PVDF 膜置于 5% 脱脂牛奶内, 于室温下孵育 1~2 h。将 PVDF 膜放入相应的一抗溶液中, 4℃ 冰箱孵育过夜。次日将 PVDF 膜浸泡于相应二抗, 37℃ 孵育 2 h, 按照 ECL 方法显色。将 GAPDH 设置为参照, 分析条带的灰度值, 以灰度值计算蛋白相对表达水平。

1.6 CCK-8 法检测细胞增殖活性 将培养至对数

生长期的细胞按 $5 \times 10^3/\text{mL}$ 的密度接种到 96 孔板中, 每孔 $200 \mu\text{L}$, 每组细胞设置至少 3 个副孔, 待细胞贴壁且生长状态良好时, 再分别培养 0 h, 24 h, 48 h, 72 h 和 96 h, 吸弃培养孔中原来的培养基, 按照 CCK-8 溶液: 不含血清培养基 = 1 : 10 的比例在每孔中加入 $110 \mu\text{L}$ CCK-8 工作液, 继续温箱孵育 2 h。随后在避光条件下将 96 孔板取出, 立即用酶标仪测定每孔在 450 nm 处的 OD 值, 以 OD 值表示细胞增殖活性。

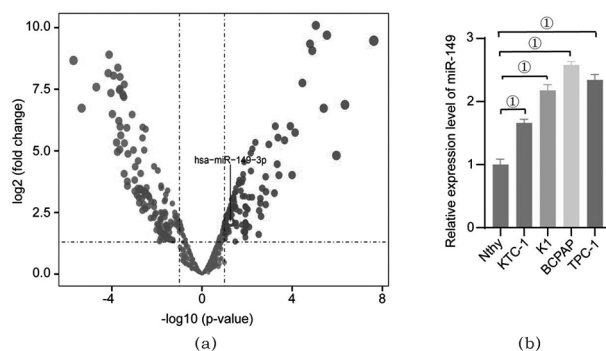
1.7 Transwell 实验检测细胞迁移能力 肿瘤细胞用无血清细胞培养液制备成单细胞悬浮液 (细胞密度 $1 \times 10^5/\text{mL}$)。每个检测样品吸取 0.2 mL 至 Transwell 小室上室内, 下室内添加有血清的培养液 0.5 mL, 置于培养箱内孵育 24 h。将小室取出后, 用 PBS 洗净, 再用 4% 多聚甲醛固定液固定 15~30 min, 随后用 1% 结晶紫染液染色 15~30 min, 用自来水洗净小室并充分晾干后, 随机选择 3 个光镜视野, 统计细胞迁移数量。

1.8 统计学分析 所有数据均采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析, 组间均数的比较采用 *t* 检验统计, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 miR-149-3p 在 PTC 中明显高表达 对选取的 GEO 数据库 GSE113629 数据集中 PTC 样本和正常组织样本中 miRNA 表达水平进行分析, 我们发现 miR-149-3p 在 PTC 中的表达水平明显高于正常甲状腺组织 (图 1a)。同时, qRT-PCR 实验结果表明, miR-149-3p 在 PTC 细胞系 TPC-1, BCPAP, KTC-1, K1 中表达水平均明显高于正常甲状腺细胞 (图 1b)。这些结果提示 miR-149-3p 在 THCA 中可能是一个重要的促癌基因。

2.2 NIS 是 miR-149-3p 下游靶基因 通过 TargetScan 和 miRDB 数据库预测 miR-149-3p 的下游靶基因, 我们发现与甲状腺癌细胞摄碘率密切相关的 NIS 可能是其靶基因之一 (图 2a)。随后通过 GEPIA 和 UALCAN 数据库分析发现, NIS 在 THCA 样本和正常甲状腺组织样本中存在表达差异, NIS 在 THCA 样本中明显低表达 (图 2b), 并且在预后不良的 PTC 分型如高柱状分型中, NIS 表达量明显低于预后较好的经典型 (图 2c)。随后我们进一步分析 NIS 表达水平与淋巴结转移、临床病理分期和预后的相关性, 并发现在甲状腺癌中 NIS 表达量越低则淋巴结转移率越高、分期级别越高 (图 2d, 2e), 并且 NIS 表达量越低患者的 DFS



注: ① $P < 0.001$ 。(a) 差异表达 miRNA 火山图; (b) miR-149-3p 在甲状腺正常细胞系和甲状腺乳头状癌细胞系中的表达水平。

图 1 甲状腺乳头状癌和甲状腺正常组织间差异表达的 miRNA

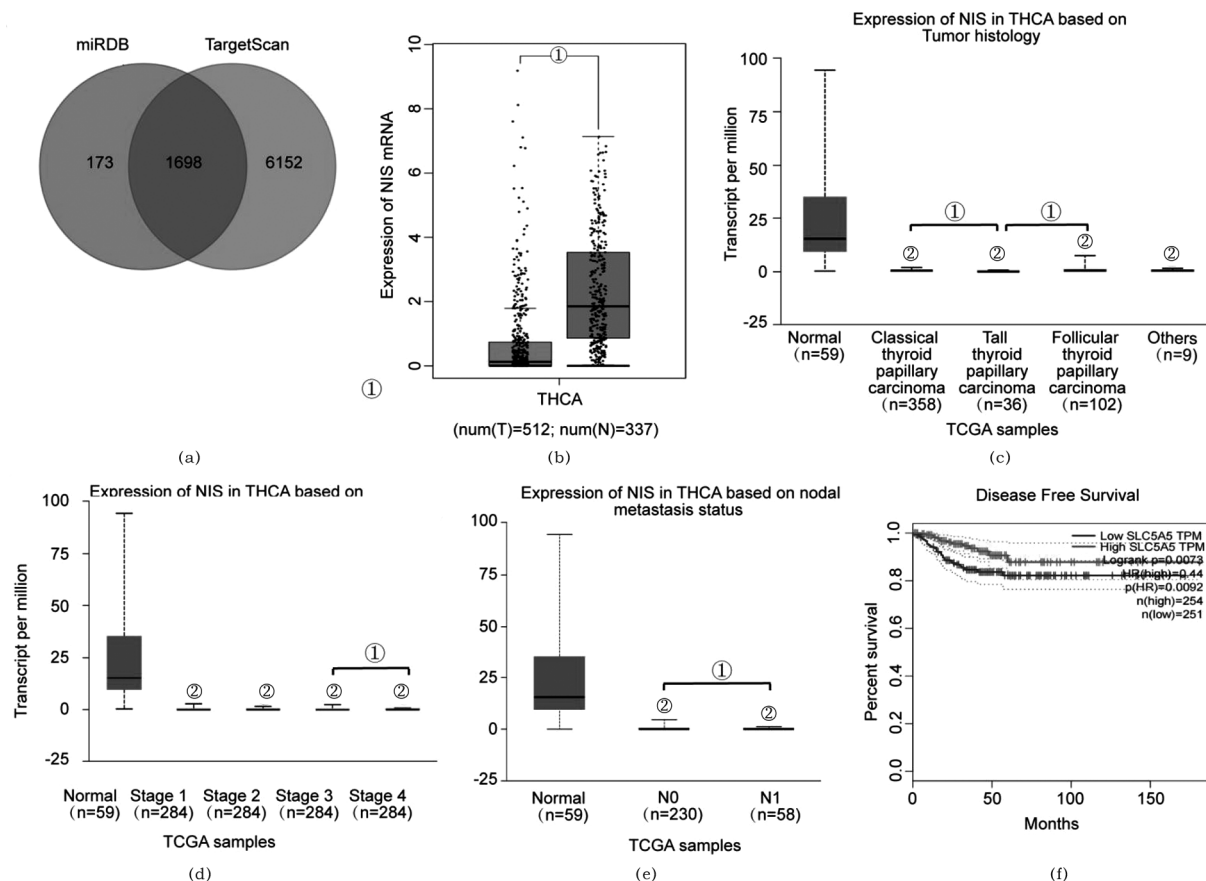
越短 (图 2f)。由此我们推测 miR-149-3p/NIS 信号通路可能与甲状腺癌发生发展和侵袭转移能力密切相关。

2.3 miR-149-3p 与其下游靶基因 NIS 的相关性验证 在成功构建敲低和过表达 miR-149-3p 的 PTC 细胞系后 (图 3a), 通过 qRT-PCR 及 Western blot 实验发现, 在敲低 miR-149-3p 时, NIS 的 mRNA 和蛋白表达水平明显增高 (图 3b, 3c); 而在过表达 miR-149-3p 时, NIS 的 mRNA 和蛋白表达水平则明显下降 (图 3b, 3c), 这再次验证了 NIS 是 miR-149-3p 的潜在靶基因, 并且两者的表达呈现负相关。

2.4 miR-149-3p 对甲状腺癌细胞增殖活性的影响

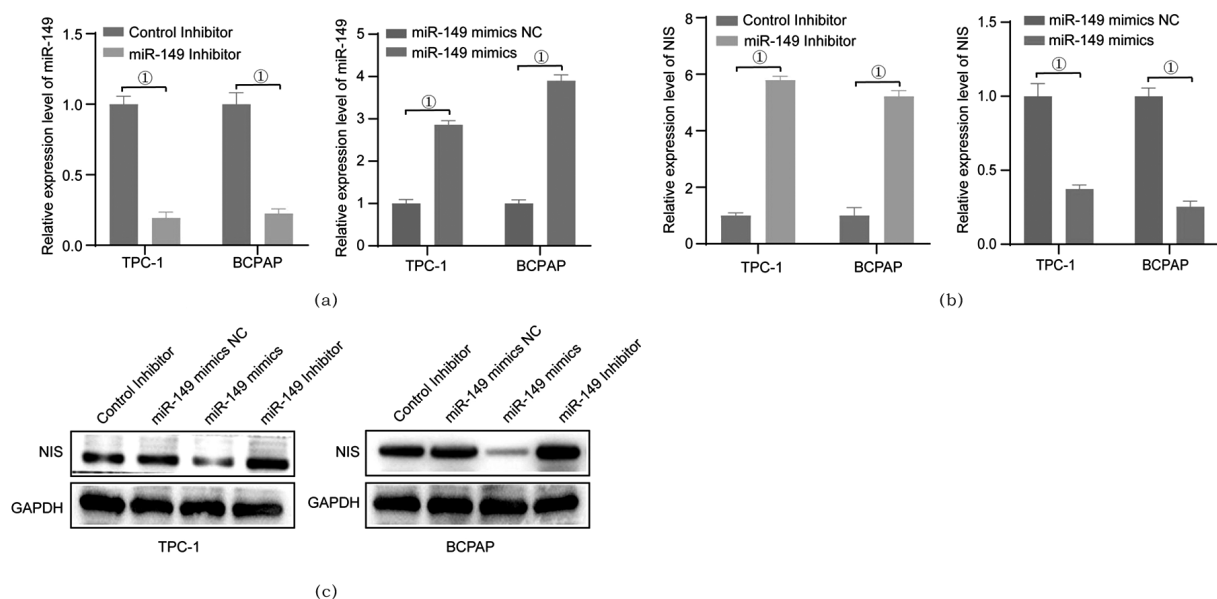
在成功构建敲低 miR-149-3p 的 PTC 细胞系后, 与对照组 (Control Inhibitor 组) 相比, miR-149-3p Inhibitor 组细胞的增殖活性明显降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 4)。在成功构建过表达 miR-149-3p 的 PTC 细胞系后, 与对照组 (miR149-3p mimics NC) 相比, miR-149-3p mimics 组细胞的增殖活性明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 4)。这提示 miR-149-3p 对 THCA 细胞的生长和增殖具有明显影响, miR-149-3p 可能通过抑制 NIS 表达从而促进甲状腺癌细胞的增殖活性。

2.5 miR-149-3p 对 PTC 细胞迁移的影响 Transwell 实验结果表明: 在 TPC-1 细胞系中与对照组 (Control Inhibitor 组) 相比 [(501.00 ± 10.15) 个], miR-149-3p Inhibitor 组细胞的迁移数目明显减少 [(395.33 ± 12.22) 个], 两组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 5 见封四); 与对照组



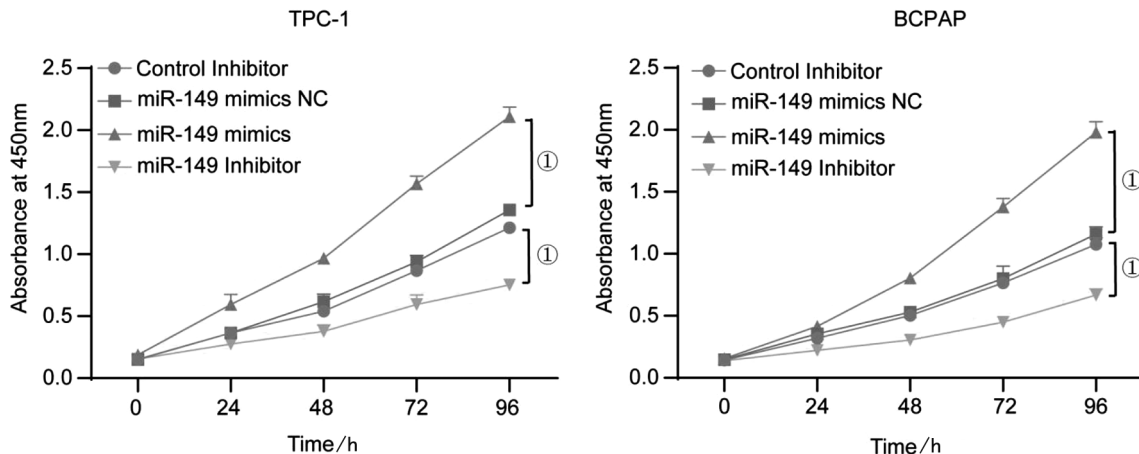
注：(a) 通过 miRDB 和 TargetScan 数据库预测出 miR-149-3p 的下游靶基因；(b) NIS 在甲状腺癌组织中低表达；(c) NIS 在不良预后的 PTC 分型中低表达；(d) NIS 在高分期的甲状腺癌中低表达；(e) NIS 在淋巴结转移的甲状腺癌中低表达；(f) NIS 表达水平与甲状腺癌预后呈正相关。① $P < 0.05$, ② $P < 0.001$ 。

图 2 miR-149-3p 与 NIS 存在靶向关系



注：(a) 构建 miR-149-3p 敲低及过表达细胞系；(b) miR-149-3p 影响 NIS mRNA 表达水平；(c) miR-149-3p 影响 NIS 蛋白表达水平。① $P < 0.001$ 。

图 3 miR-149-3p 对 NIS 表达的影响



注：① $P < 0.001$ 。

图 4 miR-149-3p 对甲状腺乳头状癌细胞增殖能力的影响

(miR149-3p mimics NC) [504.67 ± 11.06 个] 相比, miR-149-3p mimics 组细胞的迁移数目 [631.00 ± 13.45 个] 明显增多, 两组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 5)。在 BCPAP 细胞系中, 与对照组 (Control Inhibitor 组) 相比 [461.00 ± 9.00 个], miR-149-3p Inhibitor 组细胞的迁移数目明显减少 [376.00 ± 10.54 个], 两组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 5 见封四); 与对照组 (miR149-3p mimics NC) 相比 [471.67 ± 11.06 个], miR-149-3p mimics 组细胞的迁移数目明显增多 [528.00 ± 9.17 个], 两组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 5)。上述结果提示 miR-149-3p 可能通过抑制 NIS 表达促进 PTC 细胞的迁移能力。

3 讨论

近年来, 甲状腺癌的发病率逐年增高, 其中分化型甲状腺癌 (differentiated thyroid carcinoma, DTC) 的发病率占绝大多数^[6], 手术治疗是 DTC 的主要治疗手段, 而对于术中有病灶残留或术后有复发转移患者,¹³¹I 治疗是重要的治疗手段^[7]。转移、复发和¹³¹I 治疗无效, 往往是 THCA 患者死亡的主要原因。目前, THCA 的发病机制尚不清楚, 因此, 深入研究 THCA 的发生、发展机制, 有助于提高患者的预后。

在肿瘤的发生发展过程中, miRNA 能够通过靶向基因转录产物互补配对而在转录水平上对靶基因的表达水平进行负向调控, 导致 mRNA 降解或转录抑制, 从而发挥促癌或抑癌作用^[3,8]。已有研究报道, miR-187、let-7、miR-146、miR-222 等多种 miRNA 在 THCA 内异常表达, 并且与 THCA

的发生发展密切相关^[9-11], 有研究报道, miR-149 在多种肿瘤发生发展过程中起着重要作用。miR-149 主要参与肿瘤生长所必需的 Toll 样受体信号通路、T 细胞和 B 细胞受体信号通路、局灶性粘附通路、血管平滑肌收缩通路和溶酶体通路^[4]。在黑色素细胞瘤中, 高表达 miR-149 可通过靶向作用于肿瘤中 GSK3 α 从而提高 Mcl-1 表达量, 并进一步促进细胞的化疗抵抗能力^[12]。在急性淋巴细胞白血病细胞中, miR-149 表达量升高可通过靶向调控 JunB 表达从而提高肿瘤细胞的增殖能力和降低其凋亡水平^[13]; 也有学者发现, 高表达 miR-149 可以通过影响 FOXM1 表达从而抑制结肠癌细胞的侵袭转移能力^[14], 以及 miR-149 可通过靶向调控 TGF- β 2 从而抑制口腔鳞状细胞癌增殖转移及化疗抵抗能力^[15]。但是对于 miR-149 在 THCA 中的表达及其作用还不明确。通过生物信息学分析我们发现在 THCA 中 miR-149-3p 高表达, 并且在 PTC 细胞系中 miR-149-3p 表达水平也明显高于正常甲状腺细胞。随后我们通过生物信息学和体外实验发现 NIS 是 miR-149-3p 的重要靶基因。

NIS 属于 Na⁺ 溶质同向转运蛋白, 位于滤泡细胞基底侧膜上的 NIS 以 Na⁺ K⁺-ATP 酶产生的 Na⁺ 电化梯度作为驱动力, 将两个 Na⁺ 和一个 I⁻ 同向转入细胞内, 在滤泡细胞顶端, 形成含有碘化酪氨酸残基的甲状腺球蛋白, 经过溶酶体蛋白水解酶的作用, 分解为甲状腺激素, 释放到血液中^[16]。目前研究发现, 甲状腺癌细胞中 NIS 表达和膜定位较正常甲状腺组织明显减少, 并且其对碘的摄取能力也明显降低^[17], 特别是在碘难治性甲状腺癌细胞中, NIS 的表达量和膜定位量进一步减少, 这是

造成¹³¹I 治疗效果差的一个重要原因^[18], 这部分病人预后较差, 5 年生存率<50%, 10 年生存率<10%^[19]。此外提高 NIS 表达水平可以通过调节 AMPK/mTOR 通路对甲状腺癌细胞增殖、凋亡和自噬产生^[20]。由此可见通过干预 miR-149-3p/NIS 信号通路可以明显影响甲状腺癌发生发展和对碘的摄取能力。随后我们研究发现通过抑制 miR-149-3p 表达水平 NIS 表达水平明显升高后甲状腺乳头状癌细胞的增殖能力明显降低, 同时侵袭转移能力明显降低。这与我们通过生物信息学分析得出的结果是一致的。

综上所述, 通过生物信息学分析和体外实验我们发现 miR-149-3p 在甲状腺癌中表达升高可以通过抑制 NIS 表达水平提高甲状腺乳头状癌细胞的增殖和迁移能力。该研究为揭示 miR-149-3p 促甲状腺癌发生发展的机制, 为今后诊断和治疗甲状腺癌提供有力的理论基础。

参考文献

- [1] SALAMANCA-FERNÁNDEZ E, RODRIGUEZ-BARRANTO M, CHANG-CHAN YL, et al. Thyroid cancer epidemiology in South Spain: a population-based time trend study [J]. *Endocrine*, 2018, 62 (2): 423-431.
- [2] DCRUZ A K, VAISH R, VAIDYA A, et al. Molecular markers in well-differentiated thyroid cancer [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2018, 275 (6): 1375-1384.
- [3] LI D, WANG Q, LI N, ZHANG S. miR-205 targets YAP1 and inhibits proliferation and invasion in thyroid cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18 (2): 1674-1681.
- [4] HE Y, YU D, ZHU L, ZHONG S, et al. miR-149 in human cancer: a systemic review [J]. *J Cancer*, 2018, 9 (2): 375-388.
- [5] XIA F, WANG W, JIANG B, et al. DNA methylation-mediated silencing of miR-204 is a potential prognostic marker for papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 1249-1262.
- [6] BAO P P, ZHENG Y, WU C X, et al. Cancer incidence in urban Shanghai, 1973-2010: an updated trend and age-period-cohort effects [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 284.
- [7] SISSON J C, FREITAS J, MCDOUGALL I R, et al. Radiation safety in the treatment of patients with thyroid diseases by radioiodine ¹³¹I: practice recommendations of the American Thyroid Association [J]. *Thyroid*, 2011, 21 (4): 335-346.
- [8] DETTMER M S, PERREN A, MOCH H, et al. MicroRNA profile of poorly differentiated thyroid carcinomas: new diagnostic and prognostic insights [J]. *J Mol Endocrinol*, 2014, 52 (2): 181-189.
- [9] DAMANAKIS A I, ECKHARDT S, WUNDERLICH A, et al. MicroRNAs let7 expression in thyroid cancer: correlation with their deputed targets HMGA2 and SLC5A5 [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142 (6): 1213-1220.
- [10] LEE Y S, LIM Y S, LEE J C, et al. Differential expression levels of plasma-derived miR-146b and miR-155 in papillary thyroid cancer [J]. *Oral Oncol*, 2015, 51 (1): 77-83.
- [11] HAN P A, KIM H S, CHO S, et al. Association of BRAF V600E mutation and MicroRNA expression with central lymph node metastases in papillary thyroid cancer: a prospective study from four endocrine surgery centers [J]. *Thyroid*, 2016, 26 (4): 532-542.
- [12] MAURER U, CHARVET C, WAGMAN A S, et al. Glycogen synthase kinase-3 regulates mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis by destabilization of MCL-1 [J]. *Mol Cell*, 2006, 21 (6): 749-760.
- [13] FAN S J, LI H B, CUI G, et al. miRNA-149 * promotes cell proliferation and suppresses apoptosis by mediating JunB in T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leuk Res*, 2016, 41: 62-70.
- [14] XU K, LIU X, MAO X, et al. MicroRNA-149 suppresses colorectal cancer cell migration and invasion by directly targeting forkhead box transcription factor FOXM1 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35 (2): 499-515.
- [15] LUO K, HE J, YU D, et al. MiR-149-5p regulates cisplatin chemosensitivity, cell growth, and metastasis of oral squamous cell carcinoma cells by targeting TGFβ2 [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12 (10): 3728-3739.
- [16] DOHÁN O, DE LA V A, PARODER V, et al. The sodium/iodide Symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance [J]. *Endocr Rev*, 2003, 24 (1): 48-77.
- [17] SANTHANAM P, SOLNES L B, ROWE S P. Molecular imaging of advanced thyroid cancer: iodinated radiotracers and beyond [J]. *Med Oncol*, 2017, 34 (12): 189.
- [18] SPITZWEG C, BIBLE K C, HOFBAUER L C, et al. Advanced radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer: the sodium iodide symporter and other emerging therapeutic targets [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014, 2 (10): 830-842.
- [19] ANDERSON R T, LINNEHAN J E, TONGBRAM V, et al. Clinical, safety, and economic evidence in radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer: a systematic literature review [J]. *Thyroid*, 2013, 23 (4): 392-407.
- [20] JIA L, CHEN Y, CHEN F, et al. Small activating RNA-activated NIS gene promotes ¹³¹I uptake and inhibits thyroid cancer via AMPK/mTOR pathway [J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 229: 153735.

miR-149-3p 通过调控 NIS 促进甲状腺乳头状癌增殖和迁移

(详见正文第 94 页)

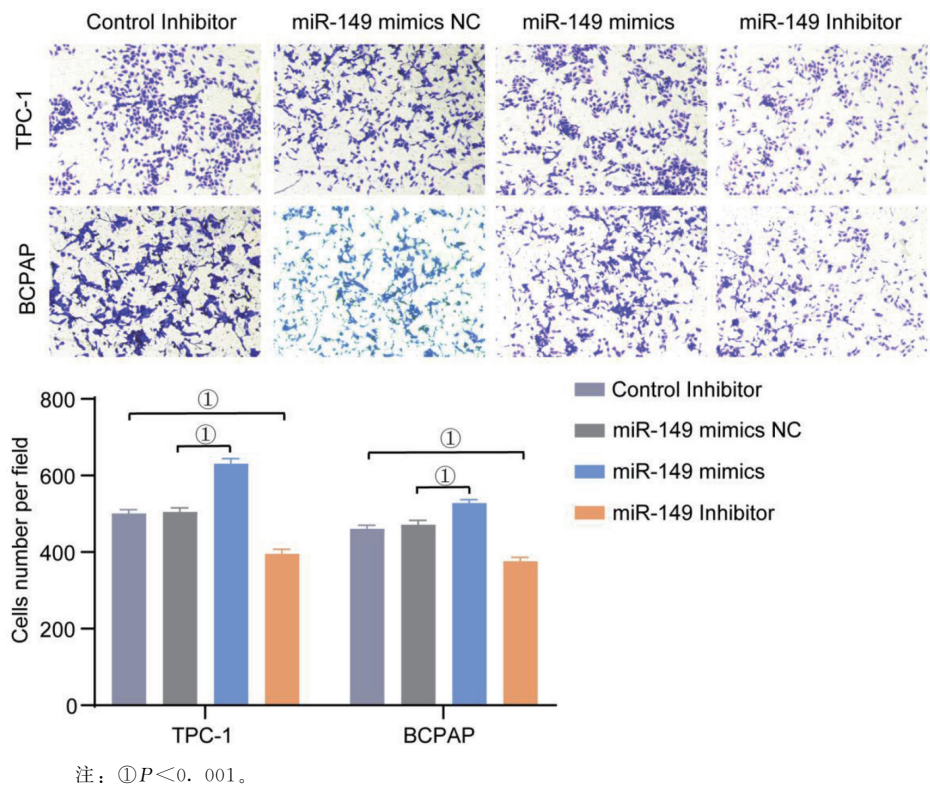
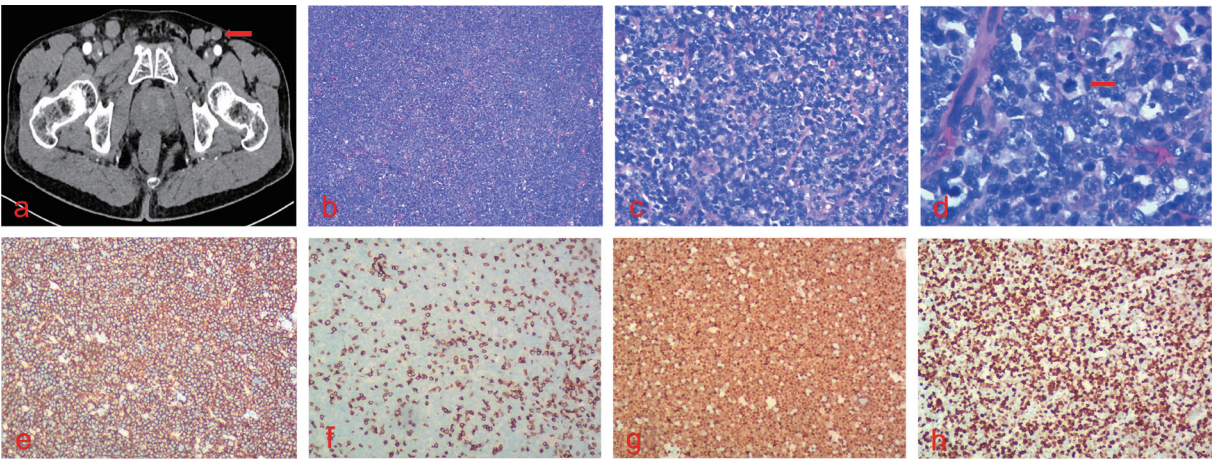


图 5 miR-149-3p 对甲状腺乳头状癌细胞迁移能力的影响

母细胞样套细胞淋巴瘤 1 例

(详见正文第 179 页)



注：a 腹部 CT 示双侧腹股沟区见多发软组织结节、团块影，部分融合成团，部分边界欠清；b 常规石蜡切片中，淋巴结结构破坏，可见异形的淋巴样细胞弥漫浸润；c 肿瘤细胞中等大小，缺乏套区生长方式；d 肿瘤细胞核呈椭圆形，染色质细腻，核仁大多不明显，核分裂易见；e 肿瘤细胞 CD20 弥漫强阳性（Elivision 法）；f 肿瘤细胞 CD3 阴性（Elivision 法）；g 肿瘤细胞 CyclinD1 弥漫强阳性（Elivision 法）；h 肿瘤细胞 Ki-67 约 90% 阳性。

图 1 母细胞样套细胞淋巴瘤的腹部 CT、石蜡切片、HE 染色及免疫组化染色