

主要分布在线粒体。Bcl - 2/Bax 的比值决定了细胞的增殖和凋亡的作用,Bcl - 2/Bax 的比值升高降低凋亡率,相反 Bcl - 2/Bax 的比值的降低,会促使线粒体脂质膜离子通道的形成,使细胞色素 C 从线粒体释出,激活 caspase 家族激酶,从而引发凋亡。本研究发现 ZGDHu - 1 作用后,CD4⁺ CD25⁺ Tregs Bcl - 2 明显下降,而 Bax 一直没有变化,导致 Bcl - 2/Bax 比值下降,同时反映线粒体膜通透性与结构改变的线粒体膜蛋白 APO2.7 的表达明显增加,由此推测 ZGDHu - 1 作用后可能通过 Bcl - 2、Bax 等凋亡调控基因作用于线粒体,使其结构改变,膜通透性增加,从而诱导 CD4⁺ CD25⁺ Tregs 凋亡,但详细的作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- 1 Wolf AM, Wolf D, Steurer M, *et al.* Increase in regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. Clin Cancer Res,2003,9(2): 606 - 612
- 2 Schaefer C, Gkim G, Albers A, *et al.* Characteristics of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell in the peripheral circulations of patients with head and neck cancer. Br J Cancer, 2005,92(5):913 - 920
- 3 Liyange UK, Moore TT, Joo HG, *et al.* Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. Immunology, 2002, 169(5):2756 - 2761
- 4 Sasada T, Kimuia, Yoshida Y, *et al.* CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: Possible involvement of regulatory T cells in disease progression. Cancer, 2003,98(5):1089 - 1099
- 5 Orsini E, Guarini A, Chiaretti S, *et al.* The circulating dendritic cell compartment in patients with chronic lymphocytic leukemia is severely defective and unable to stimulate an effective T - cell response. Canc-

- er Res. 2003,63(8):4497 - 4506
- 6 Motoyoshi Y,Kaminoda K,Saitoh O, *et al.* Different mechanisms for anti - tumor effects of low and high - dose cyclophosphamide. Oncol Rep,2006,16(1):141 - 146
- 7 胡惟孝,杨忠愚,周茂,等. 新型抗癌药 3,6 - 二甲基 - 1,4 - 二氢 - S - 四嗪 - 1,4 - 二甲基酰胺类化合物及其制造方法. 中国发明专利,申请号 ZL98121915.2,证书号第 159831 号
- 8 周永列,吕亚萍,胡惟孝,等. 四嗪二甲酰胺抑制肝癌细胞株 HepG2 并诱导细胞凋亡的研究. 中国药理学通报,2006,22(6): 754 - 759
- 9 周永列,吕亚萍,胡惟孝,等. 四嗪二甲酰胺诱导白血病细胞株 SHI - 1 凋亡及其分子机制研究. 中国实验血液学杂志,2007,15(3):483 - 489
- 10 周永列,吕亚萍,胡惟孝,等. 四嗪二甲酰胺对肺癌细胞株 A549 的体内外作用. 药学报,2007,42(1):26 - 43
- 11 周永列,吕亚萍,胡惟孝,等. 四嗪二甲酰胺体外抑制 HL - 60 细胞增殖诱导凋亡分化作用研究. 中华血液学杂志,2006,27(11):770 - 773
- 12 Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. NAT Immunol, 2005, 6(4): 331 - 337
- 13 Liu WH,Putnam AL,Zhou XY,*et al.* CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4 + Treg cells. J Exp Med,2006,203(7):1701 - 1711
- 14 Hartigan - O' Connor DJ,Poon C,Sinclair E, *et al.* Human CD4 + regulatory T cells express lower levels of the IL - 7 receptor alpha chain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells. J Immunol Methods, 2007, 319(1 - 2): 41 - 52
- 15 Giannopoulos K,Schmitt M,Kowal M,*et al.* Characterization of regulatory T cells in patients with B - cell chronic lymphocytic leukemia. Oncology Rep,2008,20(3):677 - 682

(收稿:2010 - 10 - 14)

PTEN 异常表达及甲基化与 PTC 的关系

钱光煜 梁 勇 杨林军 周 健 王旭林

摘 要 **目的** 探讨 PTEN 异常表达及其基因启动子区异常甲基化与甲状腺乳头状癌发生、发展及转移的关系。**方法** 采用免疫组化、western - blot、甲基化特异性 PCR(MSP)分析正常甲状腺与甲状腺乳头状癌组织中 PTEN 蛋白表达差异及 PTEN 基因启动子区甲基化情况。**结果** 与正常甲状腺组织相比,甲状腺乳头状癌组织中 PTEN 蛋白表达明显下调($P < 0.01$),同时笔者发现 PTEN 基因蛋白的下调与肿瘤的淋巴结转移状况呈负相关($P < 0.005$),且甲状腺乳头状癌组织中 PTEN 基因启动子区甲基

基金项目:国家“863”计划重点项目(2006AA02090406B)

作者单位:318000 温州医学院第一临床学院

通讯作者:梁勇,电子信箱:liangy@yahoo.cn

化程度显著增高。结论 PTEN 蛋白低表达是甲状腺乳头状癌的发生、转移的重要原因之一,其低表达与基因启动子区过度甲基化有关。

关键词 甲状腺癌 PTEN 基因 甲基化

Protein Expression and Promoter Methylation of the PTEN Gene in Papillary Thyroid Carcinoma. Qian Guangyu, Liang Yong, Yang Lin-jun, Zhou Jian, Wang Xulin. First Clinical College, Wenzhou Medical College, Zhejiang 318000, China

Abstract Objective To investigate the protein expression and promoter Methylation of PTEN gene in papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue and its biological significants. **Methods** Methylation - specific PCR, immunohistochemical and western - blot were used to analyze the promoter Methylation and protein expression differences of PTEN gene in tissues of papillary thyroid carcinoma and normal thyroid. **Results** Compared with normal thyroid tissue, the PTEN protein was significantly reduced ($P < 0.01$) in papillary thyroid cancer, while the reduction of PTEN protein was negatively correlated with tumor stage ($P < 0.005$) and promoter methylation of PTEN was more common. **Conclusion** Promoter hypermethylation of PTEN in papillary thyroid carcinoma causes decreased expression of PTEN, which may be one of major reason for the metastasis in papillary thyroid carcinoma.

Key words PTEN; Thyroid carcinoma; Methylation

甲状腺癌是最常见的内分泌肿瘤。有统计表明,近年来,全球甲状腺癌发病率呈明显上升趋势,其发病率已是 10 年前的 3 倍多,沿海国家及地区是慢性甲状腺炎与甲状腺癌的高发地区^[1]。分化型甲状腺癌占有甲状腺癌的 90%,包括乳头状癌(PTC)、滤泡状癌(FTC)、甲状腺髓样癌(MTC),甲状腺未分化癌(ATC)较少见。在美国,每年确诊的分化型甲状腺癌约为 23500 例,年发病率逐渐增加,且以甲状腺乳头状癌为主^[2]。我国调查结果也显示,尤其是加碘盐的普及之后,我国沿海地区甲状腺癌的发病率在明显增加^[3]。而且,甲状腺癌发生的具体原因及机制至今不明。因此,目前对甲状腺癌发病机制及防治的研究日益迫切。

甲状腺癌的发生发展涉及到多种癌基因的活化、抑癌基因的失活或突变、细胞周期紊乱等多种生物学改变,PTEN 基因即第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10)在多种肿瘤中存在失活现象,其失活的原因包括突变、缺失和 5' CpG 岛异常甲基化等。本研究用免疫组织化学、Western - blot 及甲基化特异性 PCR 方法检测我院近 2 年手术切除并经病理证实的甲状腺乳头状癌及甲状腺正常组织的 PTEN 基因的表达及启动子区甲基化情况,探讨 PTEN 蛋白下调的遗传分子生物学机制及其与甲状腺癌生物学行为的关系和临床意义。

材料与方法

1. 组织标本:20 例甲状腺乳头状癌及 20 例正常甲状腺组织标本取自于浙江省台州市立医院肿瘤科 2008 ~ 2009 年随机选择且均经病理证实的病例,年龄在 23 ~ 68 岁之间,平均

年龄 42 岁。其中男性患者 6 例,女性患者 34 例;20 例乳头状癌中出现淋巴结转移的患者 15 例,无淋巴结转移的 5 例。所取标本体积 5mm × 5mm × 5mm 左右,一半经 10% 多聚甲醛固定后常规病理切片,切片厚度 5μm,另一半 - 80℃ 冰箱放置作 western - blot 及 MSP。

2. 免疫组织化学染色:采用 PV - 6001/6002 二步法免疫组化方法检测相应抗体抗原。浓缩型兔抗人 PTEN 蛋白多克隆抗体购于美国 Abcam 公司, PV - 6001/6002 二步法免疫组化方法检测试剂购自温州长风生物技术有限公司。所有实验操作均按照实验说明书严格进行。用已知阳性的乳腺癌切片作为阳性对照, PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

结果判定,以细胞内出现棕黄色颗粒为阳性细胞,按其占同类计数细胞的百分比计算 PTEN 蛋白染色结果。PTEN 阳性染色主要定位于细胞质及细胞核中,染色为棕黄色细颗粒状,细胞膜几乎不着色。随机选择 5 个高倍视野计数阳性细胞数,至少计数 100 个细胞,以确定每个视野的阳性率,取其平均值作为该例的阳性率,阳性细胞比例评定标准: < 10% 计为染色(-), 10% ~ 30% 为(+), 30% ~ 70% 为(++), > 70% 计(+++)。弱阳性例数、中度阳性例数和强阳性例数之和作为阳性总数。

3. western - blot:取正常组及甲状腺乳头状癌组甲状腺组织,用强 SDS 裂解液(江苏碧云天生物技术公司),其中按体积比 1:100 加入 PMSF(江苏碧云天生物技术公司)裂解各组中甲状腺组织,提取总蛋白,BCA 法(普利莱基因技术有限公司)测定蛋白浓度,每组取等量 100μg 的蛋白,在 12% 的 SDS - 聚丙烯酰胺凝胶上电泳分离细胞总蛋白,目的蛋白转移到 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉(国产)室温封闭 1h。一抗(多克隆兔抗人 PTEN, Abcam)) 孵育 4℃ 过夜,一抗稀释度为 1:1000,再用二抗(辣根酶标记鼠抗兔 IgG, 1:1000, 北京中山生物技术公司)孵育室温 1.5h,最后用 TBST 缓冲液洗膜 10min 3 次,用 ECL(江苏碧云天生物技术公司)显影。Gelpro32 软件测定条带 IOD 值,以 PTEN 目的条带

与 GAPDH 内参条带的 IOD 值之比分别作为 PTEN 蛋白的相对表达量。

4. MSP:组织总 DNA 提取采用组织基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANGEN BIOTECH),操作步骤按说明书,紫外分光光度计测定总 DNA 含量和纯度 ($1.8 < A_{260}/A_{280} < 2.0$),琼脂糖凝胶电泳检测基因完整性。总 DNA 亚硫酸氢盐修饰采用 EZ DNA Methylation – Gold Kit™ (ZYMO TESEARCH),操作严格按照试剂盒说明书进行。MSP 法扩增 PTEN 基因,引物设计参照 PTEN 基因序列 (Genbank accession number AF067844),并参考 Song Liu 等^[4],由上海生物有限公司合成。PTEN 基因甲基化引物上游序列:5′ – GGCGGCGGTGCGCGTTC – 3′;下游序列:5′ – GACTCCCCGAAAACGCTAC – 3′,扩增片段长度为 71bp;非甲基化引物上游序列:5′ – GTGTTGGTGAGGTAGTTGTTT – 3′;下游序列:5′ – ACCACTTAACCTAAACCACAACCA – 3′,扩增片段长度为 162bp。PCR 反应体系为 TIANGEN 公司的 2 × Taq PCR MasterMix,具体反应条件:于 94℃ 3min 预变性后开始 30 个循环,94℃ 30s,64 (58)℃ 1min,72℃ 45s,最后于 72℃ 延伸 7min。PCR 反应产物经 1.6% 琼脂糖凝胶电泳,电压 80V,时间 40min,后再用凝胶成像系统观察条带。

结果判定,甲基化引物扩增片段长度约为 71bp;非甲基化引物扩增片段长度为 162bp。①甲基化引物扩增阳性,非甲基化引物扩增阴性,即为该基因完全甲基化;甲基化引物和非甲基化引物扩增都有阳性条带为该基因部分甲基化,但仍计为甲基化阳性;②如甲基化引物扩增阴性,必须在非甲基化引物扩增阳性的情况下才可判断为该基因甲基化阴性。

5. 统计分析:采用 SPSS13.0 统计软件对数据进行统计学处理,各指标之间相关因素的差异性比较采用 χ^2 检验,各指标间的相关性研究采用 Wilcoxon 秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

结 果

PTEN 蛋白主要定位于细胞核及细胞质,表现为棕色颗粒。正常对照组 PTEN 蛋白表达高于甲状腺乳头状癌组 ($\chi^2 = 10.08, P < 0.01$) (表 1)。PTEN 蛋白表达程度在肿瘤大小以及患者年龄中无显著性差异 ($\chi_1^2 = 2.08, P_1 > 0.05$; $\chi_2^2 = 0.10, P_2 > 0.05$) (表 2),即 PTEN 蛋白表达水平与患者年龄及肿瘤大小无统计学关系。PTEN 蛋白在有淋巴结转移组的表达水平明显低于无淋巴结转移组 ($\chi_3^2 = 5.14, 0.01 < P_3 < 0.05$) (表 2),且随表达量呈负相关 ($T_3 = 88.5, P < 0.005$) (表 2)。

PTEN 蛋白条带约为 50kD, GAPDH 蛋白条带为 36kDa。结果提示,甲状腺乳头状癌相比正常甲状腺组织,PTEN 蛋白显著下调。两者差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 3)。这从蛋白半定量水平上进一步

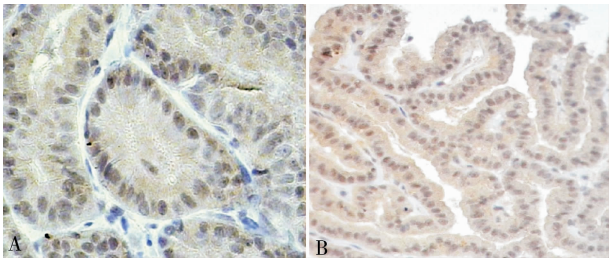


图 1 正常甲状腺及 PTC 组织 PTEN 蛋白免疫组化结果
A. 正常 SP × 400; B. PTC SP × 400

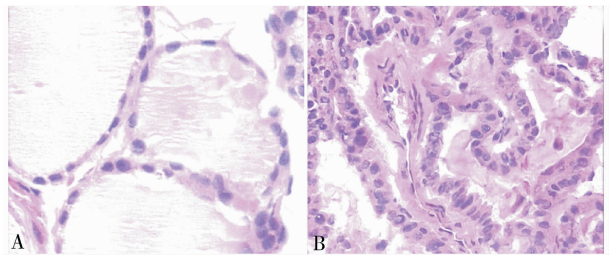


图 2 正常甲状腺及 PTC 组织 HE 染色
A. 正常 HE × 400; B. PTC HE × 400

表 1 PTEN 蛋白在不同甲状腺组织中的表达状况

组别	n	PTEN 蛋白表达水平				阳性率 (%)	P
		-	+	++	+++		
乳头状癌	20	8	6	4	2	60	<0.01
正常腺体	20	0	1	7	12	100	
合计	40	8		32		80	

表 2 PTEN 蛋白表达与临床因素的关系

临床因素	n	PTEN 蛋白表达水平				阳性率 (%)	P
		-	+	++	+++		
肿瘤大小 (cm)							
<2	14	5	4	4	1	64.3	>0.05
>2	6	3	2	0	1	50	
患者年龄 (岁)							
<45	8	3	2	2	1	62.5	>0.05
>45	12	5	4	2	1	58.3	
淋巴结转移							
是	15	8	6	1	0	46.7	<0.05
否	5	0	0	3	2	100	

$\chi_1^2 = 2.08; \chi_2^2 = 0.10; \chi_3^2 = 5.14; T_3 = 88.5, P < 0.005$ (淋巴结转移相关性)

步证实 PTEN 蛋白在甲状腺乳头状癌中低表达,这和本实验中免疫组化的实验结果相符。

从图 4 可以看出,甲基化引物扩增片段长度约为 71bp;非甲基化引物扩增片段长度为 162bp。甲状腺乳头状癌组织中 PTEN 基因启动子区 5′ CpG 岛甲基化的发生率显著高于正常甲状腺组织。

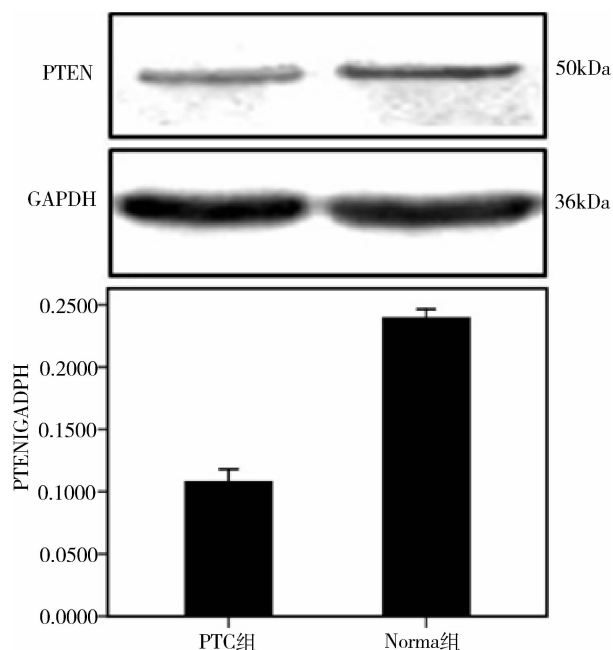


图3 正常甲状腺与甲状腺乳头状癌组织 PTEN 蛋白 western blot 图

Gelpro32 软件测定条带 IOD 值,以 PTEN 目的条带与 GAPDH 内参条带的 IOD 值之比分别作为 PTEN 蛋白的相对表达量。与正常组织比较, $P < 0.05$

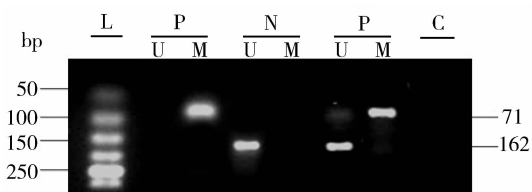


图4 甲状腺乳头状癌组织与正常组织中 PTEN 基因启动子区 5' CpG 岛甲基化状态

L. DNA 相对分子质量标准; P. 甲状腺乳头状癌组织; N. 正常甲状腺组织; U. 非甲基化产物; M. 甲基化产物; C. 阴性对照

讨 论

PTEN 基因位于 10q23.3, 含有 9 个外显子和 8 个内含子, 全长 200kb, 编码的蛋白由 403 个氨基酸残基组成。PTEN 蛋白具有蛋白磷酸酶和脂质磷酸酶活性, 能使某些磷脂或蛋白激酶相应位点去磷酸化, 抑制细胞周期的运行, 介导细胞凋亡, 并调控细胞的黏附、迁移和分化。是人类发现的第一个有磷酸酶活性的抑癌基因。研究显示, PTEN 参与多种细胞间信号转导, 形成复杂的细胞间信号调节网络, 目前研究较多的有以下几个信号转导途径: PI_3K/Akt 途径、MAPK/ERK 途径、FAK 途径, 其中 PI_3K/Akt 途径是目前研究最多且与抑癌作用最密切一条通路^[5,6]。

研究证实, PTEN 基因失表达在人大肠癌、胶质瘤、子宫内膜癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、星形细胞瘤、卵巢癌、胃癌等肿瘤中均有报道。但关于在甲状腺乳头状癌的发生发展中是否有 PTEN 表达水平的改变鲜有报道, 且其参与甲状腺癌发生发展 PTEN 基因失表达的表观遗传的分子机制未见报道。本实验通过免疫组织化学方法研究了 PTEN 基因在甲状腺癌及正常甲状腺组织中的表达情况, 结果显示, 正常甲状腺组织中 PTEN 蛋白表达明显高于甲状腺乳头状癌组织, 提示 PTEN 表达水平降低与甲状腺癌的发生密切相关。我们还发现伴随淋巴结转移的病例组 PTEN 表达水平显著低于无淋巴结转移组, 且甲状腺癌的分期愈高, PTEN 表达水平愈低。有学者对包括不同类型甲状腺癌的混成病例组进行过初步研究^[7], 也得出了相似结论, 提示 PTEN 基因在各类甲状腺癌中的分子机制类似。PIP₃ 是一种细胞膜上具有磷酸酶作用的靶分子。在磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI_3K) 作用下, PIP₂ 获得一个磷酸基团后生成 PIP₃, PIP₃ 在调节细胞生长、分化、凋亡、新陈代谢等信号转换途径中起重要作用。PIP₃ 可激活信号转导途径中的一系列激酶, 包括 Akt (PKB)^[8]。 PI_3K/Akt 是重要的细胞信号通路, 能够激活生存信号, 使细胞表现为不死性, 且能控制正常血管发展和肿瘤血管生成^[9]。而 PTEN 蛋白具有磷酸酶作用, 能使 PIP₃ 脱磷酸并使 PIP₂ 向 PIP₃ 的转化发生逆转, 从而拮抗 PI_3K/Akt 通路, 继发了 Akt 活化下调。从本实验 (表 1、图 1) 可以看出, 甲状腺癌组织中 PTEN 蛋白下调, 导致细胞 PI_3K/Akt 通路活化, 特异性诱导细胞周期抑制因子 p21、p27 和 p57 生成作用减弱, 同时上调 cyclinD1 的总水平和核定位, 而 cyclinD1 增加能使细胞周期过快从 G₁ 期进入 S 期, 细胞增生加速; 甲状腺癌组织中 PTEN 蛋白下调也能使得前凋亡分子例如 Fas 和 bim 的活化下调, 进而使抗凋亡分子如 bcl-2 家族成员 Bad 与性连锁的凋亡抑制子 (XIAP) 活化, 甲状腺组织细胞凋亡受阻。甲状腺细胞过度增殖、凋亡受阻, 最终导致癌变。甲状腺乳头状癌的一个重要临床特点是早期发生区域淋巴结转移, 这可能与 PTEN 蛋白下调有关。局灶黏附激酶 (FAK) 能介导细胞持续性迁移, 而 PTEN 蛋白降低能使得其去磷酸化 FAK 的作用减弱, 导致肿瘤细胞黏附、铺展和迁移。另外 PTEN 失表达能使缺氧诱导转录因子 -1 (HIF-1) 不稳定, 该因子可促使血管内皮生长因子 (VEGF) 转录。因此, 当 PTEN 缺失时, 新陈代谢的增加合并血

管生成可能促进肿瘤细胞生长和转移。本实验还以 Western-blot 方法从蛋白半定量水平上证实 PTEN 蛋白在甲状腺乳头状癌中低表达,这为 PTEN 基因在甲状腺乳头状癌中的表达情况提供了进一步的证据。

为进一步分析 PTEN 基因表达下调的表观遗传学机制,本实验对 PTEN 基因的启动子甲基化进行了研究。众所周知,PTEN 基因低表达的原因主要包括 PTEN 基因突变、缺失和 5'CpG 岛异常甲基化。关于 PTEN 基因在甲状腺癌中发生突变、缺失、移位等报告甚少。而 Al-varez 等^[10]用 MSP 法检测了 7 例滤泡癌中检出 6 例甲基化,Xing M^[11]也有类似报道。提示 PTEN 基因启动子甲基化在甲状腺癌尤其是甲状腺滤泡癌的发生过程中起着较大作用。Ajay Goel、刘嵩、赵英芳^[12-14]在结直肠癌、胃癌、乳腺癌中也有类似报道。PTEN 基因启动子区 5'CpG 岛过度甲基化导致转录抑制,进而导致其表达产物 PTEN 蛋白的减少甚至缺失。

所谓 DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶(Dnmt)的作用下,以 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基供体,将甲基基团转移到胞嘧啶和鸟嘌呤(CpG)二核苷酸的胞嘧啶中 5 位碳原子上。多种基因的启动子区和第一外显子富含 CpG,而 CpG 相对集中的区域称之为 CpG 岛。生理情况下,CpG 岛多为非甲基化状态,大部分散在的 CpG 二核苷酸则为甲基化状态。细胞分裂复制的 DNA 子链必须进行适当地甲基化修饰,否则其遗传性不稳定、易变异,其染色体脆性增加、易断裂。而过度甲基化,尤其是基因启动子或其附近区域的 DNA 甲基化将直接阻碍转录因子与启动子结合,从而使基因不能转录或转录水平降低。通过对 DNA 甲基化模式的研究,人们发现肿瘤细胞中存在异常的 DNA 甲基化状态:基因组整体甲基化水平降低,导致遗传不稳定性增加;组织特异性基因的启动子区域出现从头甲基化;癌基因多为不充分甲基化,导致重新开放或异常表达;抑癌基因多为过度甲基化,从而表达受抑制。本实验结果显示,5 例甲状腺乳头状癌标本中 4 例出现甲基化,提示与正常甲状腺组织相比,其存在过度甲基化现象(具体统计学分析及异常甲基化与甲状腺乳头状癌早期出现淋巴结转移是否有关有待进一步实验)。PTEN 基因由于其启动子区甲基化过度,导致其转录、表达下调,促使 PTEN 在甲状腺乳头状癌形成过程中抑制细胞增生、转移,促使凋亡的作用减少,最终导致甲状腺乳头状癌发生及淋巴结转移。

综上所述,PTEN 蛋白低表达是甲状腺乳头状癌的发生、转移的重要分子机制之一,其低表达与基因启动子区过度甲基化有关。因此认为,PTEN 作为一个新发现的抑癌基因,在甲状腺癌的发生、发展中有重要的作用,可以作为判断甲状腺癌病程和预后的重要参考指标及潜在标志物。目前,国内外正在应用 DNMT 抑制剂尝试研究逆转基因过度甲基化,但在临床应用尚需进一步研究。

参考文献

- How J,Tabah R. Explaining the increasing incidence of differentiated thyroid cancer[J]. Canadian Medical Association Journal,2007,177(11):1383-1384
- Hegedus L. Clinical practice. The thyroid nodule[J]. New England Journal of Medicine,2004,351(17):1764-1771
- 关海霞,单忠艳,米小铁,等. 普遍食盐碘化前后甲状腺癌发病率变化的 11 年病理资料分析[J]. 中国医科大学学报,2006,35(3):284-285
- Liu S,Yu J P,Fu P,et al. Relationship between promoter Methylation and mRNA expression of PTEN gene and gastric carcinoma[J]. Chinese-German Journal of Clinical Oncology,2008,7(10):580-583
- Guigon CJ,Zhao L,Willingham MC,et al. PTEN deficiency accelerates tumour progression in a mouse model of thyroid cancer[J]. Oncogene,2009,28:509-517
- Hou P,Liu D X,Shan S,et al. Genetic Alterations and Their Relationship in the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Pathway in Thyroid Cancer[J]. Clin Cancer Res,2007,13(4):1161-1170
- 李茂竹,马琴,林明臻,等. PTEN 基因在甲状腺癌组织中的表达及其意义[J]. 中国普通外科杂志,2007,16(1):85-86
- Meuillet EJ,Mahadevan D,Berggeren M,et al. Thioredoxi-1 binds to the C2 domain of PTEN inhibiting PTEN: lipid phosphatase activity and membrane binding a mechanism for the functional loss of PTEN's tumor suppressor activity. Arch Biochem Biophys,2004,429(2):123-133
- Hamada K,Sasaki T,Koni PA,et al. The PTEN/PI3K pathway governs normal vascular development and tumor angiogenesis[J]. Genes Dev,2005,19(17):2054-2065
- Alvarez-Nunez F,Bussaglia E,Mauricio D,et al. PTEN promoter methylation in sporadic thyroid carcinomas. Thyroid,2006,16(1):17-23
- Xing M. Gene Methylation in thyroid tumorigenesis[J]. Endocrinology,2007,148(3):948-953
- Goel A,Arnold CN,Niedzwiecki D,et al. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers[J]. Cancer Res,2004,64(9):3014-3021
- 刘嵩,于皆平,付萍. PTEN 基因甲基化及其表达异常与胃癌的关系[J]. 中国肿瘤临床,2007,34(24):1383-1386
- 赵英芳,沈淑萍,蒋剑英,等. 乳腺癌及癌旁组织中 PTEN 基因 5'CpG 岛甲基化状态研究[J]. 包头医学院学报,2009,25(5):3-5

(收稿:2010-10-31)