·论著·

miR-146a-5p、SMAD4在甲状腺滤泡癌组织中表达变化和对FTC-238细胞系增殖迁移侵袭影响及靶向关系

黄睿，刘红春，王昌敏
新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心，乌鲁木齐 830001

摘要：目的 通过观察甲状腺滤泡癌（FTC）组织中miR-146a-5p、SMAD4的表达变化及对细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响，分析miR-146a-5p与SMAD4之间的靶向关系，以探讨miR-146a-5p是否通过靶向SMAD4促进FTC增殖、迁移、侵袭。**方法** 收集FTC组织标本30例份，非肿瘤甲状腺或距离肿瘤边缘>2 cm癌旁组织30例份，采用RT-qPCR法检测FTC组织及癌旁组织中miR-146a-5p、SMAD4 mRNA。将FTC-238细胞系分为miR-146a-5p mimics组和阴性对照（miR - NC组）分别转染miR-146a-5p mimics（使细胞过表达miR-146a-5p）及miR-NC。采用CCK8法观察两组培养12、24、48 h时的细胞增殖能力，划痕实验观察两组细胞迁移能力，Transwell小室实验观察两组细胞侵袭能力。分别采用RT-qPCR及免疫印迹法检测两组细胞中SMAD4 mRNA及蛋白。双荧光素酶报告基因实验验证miR-146a-5p与SMAD4的靶向关系。**结果** 与癌旁组织相比，FTC组织中miR-146a-5p相对表达量降低（P <0. 05）；SMAD4 mRNA相对表达量升高（P <0. 05）。与miR-NC组相比，各个时间点miR-146a-5p mimics组细胞OD值降低（P 均< 0. 05）；与miR-NC组相比，miR-146a-5p mimics组细胞迁移、侵袭数目减少（P 均< 0. 05）。与miR-NC组相比，miR-146a-5p mimics组SMAD4 mRNA及蛋白相对表达量降低（P 均 <0. 05）。miR-146a-5p与SMAD4存在靶向关系。**结论** FTC组织中miR-146a-5p表达降低、SMAD4表达升高；miR-146a-5p过表达可抑制FTC-238细胞系增殖、迁移、侵袭；miR-146a-5p与SMAD4之间存在靶向关系。miR-146a-5p可能通过靶向抑制SMAD4促进FTC癌细胞的增殖、迁移、侵袭。

关键词：微小RNA-146a-5p；SMAD同源物4；细胞增殖；细胞侵袭；细胞转移；甲状腺滤泡癌
doi：10. 3969/j. issn. 1002-266X. 2024. 27. 001
中图分类号：R736. 1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1002-266X（2024）27-0001-05

Expression changes of miR-146a-5p and SMAD4 in thyroid follicular carcinoma tissues, their effects on proliferation, migration, and invasion of FTC-238 cells, and verification of the targeted relationship

HUANG Rui, LIU Hongchun, WANG Changmin
Clinical Laboratory Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, *China*

Abstract: Objective To analyze the targeted relationship between miR-146a-5p and SMAD4 by observing the expression changes of microRNA-146a-5p (miR-146a-5p) and SMAD4 homolog 4 (SMAD4) in follicular thyroid carcinoma (FTC) tissues and their effects on cell proliferation migration and invasion abilities, in order to explore whether miR-146a-5p promotes invasion and metastasis of FTC by targeting SMAD4. **Methods** We collected 30 samples of FTC tissues and 30 samples of non-tumor thyroid tissues or tissues adjacent to the tumor margin (>2 cm) from patients with FTC. We used RT-qPCR to detect miR-146a-5p and SMAD4 mRNA in the FTC tissues and adjacent tissues. The FTC-238 cells were divided into the miR-146a-5p mimics group and the negative control (miR-NC group), which were transfected with miR-146a-5p mimics (to overexpress miR-146a-5p in the cells) and miR-NC, respectively. CCK-8 was used to observe the cell proliferation abilities of the two groups at 12, 24, and 48 h of culture. The scratch test was used to observe the migration abilities of the two groups, and the Transwell chamber experiment was used to observe the invasion abilities of the two groups. RT-qPCR and Western blotting were used to detect SMAD4 mRNA and protein in the two groups, respectively. The dual luciferase reporter gene experiment was used to verify the targeted relationship between miR-146a-5p and SMAD4. **Results** The relative expression level of miR-146a-5p in FTC tissues was lower than that in the adjacent tissues

基金项目：新疆维吾尔自治区自然科学基金项目（2023D01C59）。
第一作者简介：黄睿（1980-），男，副主任技师，主要研究方向为免疫学相关机制。E-mail：896574700@qq. com
通信作者简介：王昌敏（1968-），女，主任技师，主要研究方向为分子生物学相关机制。E-mail：wcm224@126. com

中国知网 https://www.cnki.net

($P<0.05$). The relative expression level of SMAD4 mRNA in FTC tissues was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The OD value at each time point in the miR-146a-5p mimics group was lower than that in the miR-NC group (all $P<0.05$). The number of migration and invasive cells after transfection in the miR-NC group was larger than that in the miR-146a mimics group ($P<0.05$). The relative expression levels of SMAD4 mRNA and protein in the miR-146a-5p mimics group were lower than those in the miR-NC group (both $P<0.05$). There was a targeted relationship between miR-146a-5p and SMAD4. **Conclusion** In FTC tissues, the expression of miR-146a-5p decreases while the expression of SMAD4 increases. Overexpression of miR-146a-5p can inhibit the proliferation, migration, and invasion of the FTC-238 cells. There is a targeted relationship between miR-146a-5p and SMAD4. MiR-146a-5p may promote the proliferation, invasion, and migration of FTC cells by targetedly inhibiting SMAD4.

Key words: microRNA-146a-5p; SMAD homolog 4; cell proliferation; cell invasion; cell metastasis; thyroid follicular carcinoma

甲状腺滤泡癌(FTC)是一种罕见的内分泌恶性肿瘤,起源于甲状腺滤泡上皮细胞,占甲状腺癌的75%~85%,其发病率呈逐年上升趋势[1]。尽管FTC的总体预后较好,但部分患者仍会出现复发和转移,导致治疗失败和不良预后。因此,深入研究FTC的侵袭转移机制,寻找有效的治疗靶点,对于提高FTC患者的生存率和生活质量具有重要意义[2]。近年,microRNA(miRNA)在肿瘤发生、发展和转移中的作用日益受到关注[3],miRNA是一类长度为20~22核苷酸的非编码RNA,通过靶向调控基因表达,影响多种生物学过程,在多种疾病的发生发展中起到重要调控作用。已有研究[4-5]表明,miR-146a-5p在多种类型肿瘤中表达异常,并参与肿瘤的侵袭和转移过程。有文献报道miR-146a-5p在甲状腺癌中异常表达,然而,其在FTC中的表达变化及作用尚不清楚。miR-146a-5p可能通过调控下游蛋白发挥作用,SMAD4是潜在的靶蛋白,也是TGF-β通路的信号转导分子,但miR-146a-5p与SMAD4之间是否存在靶向关系仍未可知。SMAD4的失活或缺失已在多种肿瘤中被发现,并与肿瘤的发生和发展密切相关[6]。SMAD4与FTC的关系少见报道。研究时间2023年1月—2024年5月,本研究通过观察甲状腺滤泡癌组织中miR-146a-5p、SMAD4 mRNA的表达变化,以及过表达miR-146a-5p的人FTC细胞系FTC-238增殖、迁移、侵袭能力的变化,并验证miR-146a-5p与SMAD4是否存在靶向关系,以探讨miR-146a-5p是否通过靶向SMAD4促进FTC癌细胞的增殖、迁移、侵袭。

1 材料与方法

1.1 组织、细胞、试剂、仪器 收集2019年1月—2022年12月新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心FTC标本30例份,非肿瘤甲状腺或距离肿瘤边缘>2 cm癌旁组织30例份。FTC-238(货号:BES-2385HC)购自上海博尔森生物科技有限公司。DMEM培养基及胎牛血清购自上海齐源生物科技有限公司;TRIzol、反转录试剂盒由上海联迈生物工程有限公司提供;兔抗小鼠β-actin抗体、兔抗小鼠SMAD4抗体购自上海语纯生物科技有限公司;miR-146a-5p mimics、阴性对照mimics-NC以及引物均由上海华雅思创生物科技有限公司提供;CCK-8试剂盒由北京博奥森(Bioss)生物技术有限公司提供;结晶紫购自上海碧云天生物技术有限公司;ROS试剂盒由北京索莱宝(Solarbio)科技有限公司提供;Erastin来源于美国MedChemexpress生物科技公司;RT-PCR试剂盒由南京博研生物科技有限公司提供。BPN-50CH培养箱购自上海灯晟仪器制造有限公司;XSP-BM-2CE生物光学显微镜购自青岛明博环保科技有限公司;QuantiFast SYBR Green PCR Kit实时荧光定量PCR7由深圳子科生物科技有限公司提供;96孔细胞培养板购自江苏晶创生物科技有限公司;优云谱YP-96A酶标仪购自山东宏科量子科技有限公司。

1.2 FTC癌组织及癌旁组织miR-146a-5p、SMAD4 mRNA检测 采用RT-qPCR法。按照RNA提取试剂盒及反转录试剂盒说明书进行cDNA文库构建,通过RT-qPCR技术检测FTC组织与癌旁组织中miR-146a-5p、SMAD4 mRNA,实验步骤按试剂盒说明书进行。PCR反应条件:95 ℃ 15 min,1个循环;94 ℃ 15 s,55 ℃ 30 s,70 ℃ 30 s,完成40个循环。引物序列:GAPDH上游:5′-AGGAATTCCCAGTAAGTGCG-3′,下游:5′-GCCTCACTAAACCATCCAA-3′;miR-146a-5p上游:5′-GGGTGAGAACTGAATTCCA-3′,下游:5′-CAGT-GCGTGGTGGAGT-3′;SMAD4上游:5′-CAGC-CATC-GTTGTCCACT-3′,下游:5′-GGTGGGGTGCT-GTATGTC-3′。结果以荧光定量分析仪进行判定,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因相对表达量。

1.3 FTC-238细胞系分组及miR-146a-5p mimics转

中国知网 https://www.cnki.net

染　将FTC-238细胞系分为miR-146a-5p mimics组和阴性对照组(miR-NC组)。将miR-146a-5p mimics转染到miR-146a-5p mimics组细胞中,将miR-NC转染到miR-NC组细胞中,37 ℃、5%CO_2的培养箱中培养48 h。培养完成后通过RT- qPCR检测是否转染成功。判定标准:与miR-NC组相比,miR-146a-5p mimics组miR-146a-5p相对表达量显著升高,则说明转染成功。

1.4　各组细胞增殖能力观察　采用CCK8法。取上述转染成功的各组细胞,加入96孔细胞培养板中,100 μL细胞悬液对应1个孔,每孔所含细胞数为300个,在5% CO_2培养箱中培养。培养温度设置为37 ℃,分别培养12、24、48 h,在每个时间点培养结束后,取20 μL混合液加入各培养孔,轻轻摇晃细胞培养板,确保混合液能够与培养液混合均匀。然后在37 ℃ CO_2环境下进行培养,培养6 h后,将混合液吸出,并加入正常的培养基,在同等培养环境下培养24 h。然后在每个孔中加入CCK8 10 μL,37 ℃培养6 h后,采用酶标仪检测各孔450 nm波长的OD值。

1.5　各组细胞迁移、侵袭能力观察　采用细胞划痕实验观察各组细胞迁移能力:将上述各组FTC-238细胞消化为单细胞悬液,浓度1×10^6/mL。取适量细胞悬液接种于6孔培养板中,在6孔培养板背面使用马克笔间隔均匀地绘制横线,使用200 μL移液枪吸取细胞悬液,使枪头垂直于6孔板背后的横线进行划痕操作。划痕完成后,更换为无血清培养基,将培养板置于细胞培养箱中继续培养。在0 h和24 h时,于显微镜下对细胞进行拍照,统计视野中的细胞数目。

采用Transwell小室法观察各组细胞侵袭能力:从培养皿中收获经过处理的上述两组细胞,并用无血清培养基清洗两次以去除残留的培养基和生长因子。将各组细胞样品重新悬浮在无血清培养基中,并调整细胞浓度至适合的浓度。不同分组的细胞样品添加到Transwell小室的顶部,并确保所有细胞都贴附在小室的上膜上。将适量的培养基和生长因子添加到Transwell小室的底部。将Transwell小室放入培养箱中培养48 h。将Transwell小室取出,并弃去培养基。擦去上室未穿膜细胞,使用结晶紫染色剂对迁移到小室底部的细胞进行染色。在显微镜下观察染色后的细胞,并计数迁移到小室底部的细胞数量。

1.6　各组细胞中SMAD4蛋白及mRNA的检测　采用免疫印迹法。取上述两组细胞,分别将各组细胞与裂解液混合离心取上清。用BCA法测蛋白浓度后 - 80 ℃保存。取蛋白样品电泳后转至PVDF膜。转膜后封闭,4 ℃孵育一抗过夜,室温孵育二抗1 h。洗膜显色,用凝胶图象处理系统拍照并分析目标带的分子量和光密度值,结果以SMAD4光密度值/GAPDH光密度值比值表示。采用RT- qPCR法检测SMAD4 mRNA,步骤同1.2。

1.7　miR-146a-5p与SMAD4之间的靶向关系验证　采用双荧光素酶报告基因实验。将FTC-238细胞分为miR-146a-5p+wt组、NC+wt组、miR-146a-5p+mut组、NC+mut组,miR-146a-5p+wt组转染miR-146a-5p mimics与野生型(wt)质粒,NC+wt组转染阴性对照mimics-NC与野生型质粒,miR-146a-5p+mut组转染miR-146a-5p mimics与突变型(mut)质粒,NC+mut组转染阴性对照mimics-NC与突变型质粒,在细胞达70%~80%汇合度时进行转染,转染24 h后收集各组细胞并裂解细胞。使用双荧光素酶检测试剂盒检测各组Renilla荧光素酶和萤火虫荧光素酶的活性,计算两者的比值。

1.8　统计学方法　采用SPSS25.0统计软件。符合正态分布的计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,比较采用t检验或方差分析,进一步组间比较采用LSD-t法;若不符合正态分布,则以$M(P_{25},P_{75})$表示,比较采用Mann-Whitney U检验;计数资料以频次或百分比表示,比较采用χ^2检验或Fisher精确检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　FTC癌组织及癌旁组织miR-146a-5p、SMAD4 mRNA相对表达量比较　FTC癌组织中miR-146a-5p相对表达量为0.10 ± 0.12,癌旁组织中为1.00 ± 0.00,FTC癌组织中miR-146a-5p相对表达量低于癌旁组织($P < 0.05$)。FTC癌组织中SMAD4 mRNA相对表达量为0.34 ± 0.12、癌旁组织中为0.06 ± 0.01,FTC癌组织中SMAD4 mRNA相对表达量高于癌旁组织(t分别为12.395、13.842,P均< 0.05)。

2.2　各组细胞增殖能力比较　miR-146a-5p mimics组培养12、24、48 h OD值分别为0.14 ± 0.04、0.62 ± 0.15、0.82 ± 0.25,miR-NC组分别为0.22 ± 0.06、0.79 ± 0.14、1.02 ± 0.16,miR-146a-5p mimics组各个时间点的OD值均低于miR-NC组(t分别为1.923、1.791、1.372,P均< 0.05)。

2.3　各组细胞迁移、侵袭能力比较　miR-NC组的细胞迁移数目为(59.52 ± 3.27)个/视野,miR-146a mimics组的细胞迁移数目为(28.62 ± 2.42)个/视野,miR-NC组细胞迁移数目高于miR-146a mimics

中国知网　https://www.cnki.net

组(t=13.143,P<0.05)。

2.4 各组细胞中SMAD4蛋白及mRNA比较 miR-146a-5p mimics组、miR-NC组SMAD4 mRNA相对表达量分别为1.0±0.1、2.0±0.2,蛋白相对表达量分别为0.28±0.01、0.49±0.01,与miR-NC组相比,miR-146a-5p mimics组SMAD4 mRNA及蛋白相对表达量升高(t分别为28.68、69.57,P均<0.05)。SMAD4免疫印迹结果见图1。

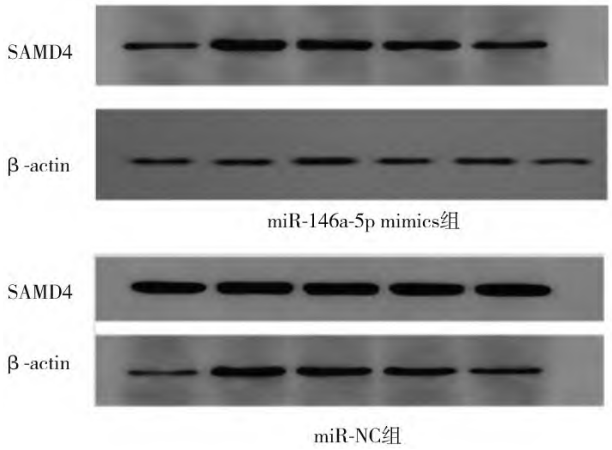

图1 各组SMAD4蛋白表达情况(免疫印迹法)

2.5 miR-146a-5p与SMAD4之间的靶向关系 miR-146a-5p+wt组荧光强度比值为0.72±0.13,NC+wt组为1.21±0.24,miR-146a-5p+wt组荧光强度比值低于NC+wt组(t=3.114,P<0.05)。miR-146a-5p+mut组荧光强度比值为1.25±0.16,NC+mut组为1.29±0.21,miR-146a-5p+mut组荧光强度比值与NC+mut组相比差异无统计学意义(t=0.261,P>0.05)。

3 讨论

FTC的发病率在全球范围内呈上升趋势。据统计,近年来FTC的发病率以每年2%的速度递增,尤其是在女性和年轻人中更为常见。流行病学研究[7]显示,FTC的发病可能与多种因素有关,包括遗传、环境、生活习惯、辐射暴露等。FTC的临床表现通常包括颈部肿胀、吞咽困难、呼吸困难、声音改变等。此外,还可能伴有其他症状,如疲劳、消瘦、发热等。这些症状可能会因人而异,取决于肿瘤的大小、位置以及扩散情况。相关研究[8]表明,FTC具有侵袭和转移的能力,这是其恶性行为的重要表现。侵袭是指肿瘤突破基底膜,进入周围组织结构的能力;而转移则是指肿瘤细胞通过血液循环或淋巴系统,转移到身体的其他部位,这些行为都严重影响了肿瘤的治疗效果和患者的生存期。目前,关于FTC侵袭转移的研究主要集中在探索相关的分子机制上。已经发现的一些关键分子包括上皮细胞—间质转化(EMT)相关基因、细胞外基质降解相关酶类等。这些分子在肿瘤细胞的迁移、黏附、增殖过程中都发挥了重要作用[9-10]。此外,还发现了一些与侵袭转移相关的信号通路,如PI3K/Akt/mTOR通路、MAPK通路等。这些通路在肿瘤细胞的生长、分化、迁移过程中都起到了关键作用。

近年来,越来越多的研究[11]表明miR-146a-5p与FTC的发生和发展密切相关。有研究[12]表明,miR-146a-5p的表达水平与FTC的侵袭性和淋巴结转移呈负相关。进一步的研究[13]发现,miR-146a-5p可以抑制FTC细胞的增殖、迁移和侵袭,并通过调节相关信号通路来抑制肿瘤进展。miR-146a-5p可以直接靶向作用于一些与FTC侵袭转移相关的基因,如EGFR、MET、NF-κB等。这些基因在FTC细胞的增殖、迁移、侵袭和血管生成中起着关键作用[14-15]。miR-146a-5p通过直接抑制这些基因的表达,从而抑制FTC细胞的恶性行为[16-18]。研究[19]表明,SMAD4基因的缺失或突变与FTC的侵袭性和远处转移密切相关。在FTC中,SMAD4基因的缺失或突变会导致肿瘤细胞失去对其生长和转移的控制,这种基因的异常表达还会影响肿瘤细胞与周围环境的相互作用,使肿瘤更容易侵袭和转移[20]。

本研究结果显示miR-146a-5p在FTC组织中的表达水平低于癌旁组织,提示miR-146a-5p在FTC的发生中有一定的参与作用。转染试验结果显示与miR-NC组相比,miR-146a-5p mimics组的miR-146a-5p相对表达量较高。且细胞活力会随着培养时间的延长而降低,结果表明过表达miR-146a-5p对FTC-238细胞系增殖起到抑制作用。本实验结果显示,miR-146a-5p可以与SMAD4的mRNA结合,抑制其表达,进而抑制FTC-238细胞系的增殖。miR-146a-5p mimics在转录后水平上过度表达,从而对细胞功能产生重要影响。因此,推测miR-146a-5p在转染过程中的相对高表达可能对细胞生命活动产生广泛影响。miR-146a-5p过表达后的FTC-238细胞迁移侵袭数目低于转染miR-NC的FTC-238。说明过表达miR-146a-5p显著抑制了miR-146a-5p细胞迁移侵袭。本研究研究结果显示,FTC组织中SMAD4高表达,提示它可能参与了FTC的发生。与miR-NC组相比,miR-146a-5p mimica组SMAD4基因及蛋白表达均上调,说明miR-146a-5p与SMAD4的mRNA结合,可以抑制SMAD4的降解,导致SMAD4的积累和表达水平的提高。此外,SMAD4的上调可能与

中国知网 https://www.cnki.net

miR-146a-5p的免疫调节功能有关。双荧光素酶报告基因结果显示miR-146a-5p-mimics+wt组荧光强度比值低于miR-146a-5p -mimics NC+wt组，表明miR-146a-5p与SMAD4存在靶向关系。

综上所述，miR-146a-5p可能通过靶向SMAD4促进FTC癌细胞的增殖、迁移、侵袭。本研究分析了miR-146a-5p对FTC侵袭转移的影响，对其与SMAD4的靶向关系进行了研究，但关于miR-146a-5p靶基因的研究尚不充分，仍需进一步探讨。

参考文献：

[1] 王冰，郗洪庆，万政，等. 单中心9662例甲状腺癌流行病学特征及临床病理特征分析[J]. 中华内分泌外科杂志，2021，15(4)：342-347.

[2] 杜静海，郭欣. BTg-3对甲状腺滤泡癌细胞增殖、侵袭和迁移及WNT/β-catenin信号通路的影响[J]. 吉林大学学报(医学版)，2020，46(6)：1234-1240.

[3] 云耀峰，梁润，郝灵芳，等. 不同病理类型及分期甲状腺癌中miR-221miR-222miR-197和miR-346的表达研究[J]. 西部医学，2018，30(12)：1801-1804.

[4] 苏钢，洪娟，许继炜，等. 桥本甲状腺炎患者外周血miR-454、miR-146a-5p水平及意义探讨[J]. 国际内分泌代谢杂志，2022，42(3)：174-178.

[5] 陈霖霖，李正东，金从稳，等. 甲状腺乳头状癌患者血清miR-21、miR-221、miR-146a-5p水平变化及其与临床特征的关系[J]. 山东医药，2021，61(13)：21-24.

[6] 程维刚，刘九洲，张海鸽，等. 甲状腺癌中微小RNA-146b-5p表达上调通过靶向Smad4促进癌细胞增殖[J]. 中华实验外科杂志，2022，39(2)：257-260.

[7] FARAHATI J，MÄDER U，GILMAN E，et al. Changing trends of incidence and prognosis of thyroid carcinoma[J]. Nuklearmedizin，2019，58(2)：86-92.

[8] GLOMSKI K，NOSÉ V，FAQUIN W C，et al. Metastatic follicular thyroid carcinoma and the primary thyroid gross examination：institutional review of cases from 1990 to 2015 [J]. Endocr Pathol，2017，28(2)：177-185.

[9] AKBULUT D，KUZ E D，KURSUN N，et al. Capsular invasion matters also in "papillary patterned" tumors：a study on 121 cases of encapsulated conventional variant of papillary thyroid carcinoma[J]. Endocr Pathol，2021，32(3)：357-367.

[10] DAI Y，MIAO Y，ZHU Q，et al. Expression of long non-coding RNA H19 predicts distant metastasis in minimally invasive follicular thyroid carcinoma [J]. Bioengineered，2019，10 (1)：383-389.

[11] 夏少华，胥然，李树华，等. miR-146a-5p和LIN52在甲状腺癌中表达水平及与化疗敏感性和预后的关系[J]. 河北医药，2019，41(4)：498-502.

[12] 赖盛联，毛敏，黄林. CEACAM6、miR-146b、S100A6在甲状腺癌中的表达及意义分析[J]. 河北医科大学学报，2023，44(5)：531-535.

[13] SHEIKHOLESLAMI S，SHABANI N，SHIVAEE S，et al. Overexpression of mir-129-1，miR-146b，mir-183，and mir-197 in follicular thyroid carcinoma and adenoma tissues [J]. Mol Cell Probes，2020，51(13)：101-105.

[14] JAHANBANI I，AL-ABDALLAH A，ALI R H，et al. Discriminatory miRNAs for the management of papillary thyroid carcinoma and noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features[J]. Thyroid，2018，28(3)：319-327.

[15] BORRELLI N，DENARO M，UGOLINI C，et al. miRNA expression profiling of ′noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features′ compared with adenomas and infiltrative follicular variants of papillary thyroid carcinomas[J]. Mod Pathol，2017，30(1)：39-51.

[16] 周伟清，沈卫星，庄一心. 甲状腺癌组织中miR-146a-5p、LIN52 mRNA的表达变化及意义[J]. 山东医药，2019，59(28)：21-24.

[17] 刘楠楠，于春艳，王丹，等. Smad4蛋白在良恶性甲状腺病变组织中的表达及意义[J]. 中国老年学杂志，2017，37(5)：1077-1078.

[18] 马楠，徐蓉，苏鹏程. miRNA-224-5p通过TGF-β/Smad4信号通路调控甲状腺乳头状癌细胞凋亡[J]. 中华临床医师杂志(电子版)，2018，12(11)：609-613.

[19] 郑艳，张茜，孙菲. 敲低S100A1通过降低WNT/β-catenin信号活性抑制甲状腺癌SW579细胞增殖[J]. 临床输血与检验，2021，23(2)：146-152.

[20] 冯铎，徐菲，刘尧，等. β-连环素蛋白预测分化型甲状腺癌转移的价值[J]. 中国肿瘤外科杂志，2021，13(3)：296-300.

(收稿日期：2024-05-10)

中国知网 https://www.cnki.net