

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220404

• 短篇论著 •

甲状腺乳头状癌特异性肿瘤标志物的临床应用

滕伟强, 陈梦婕, 韩 换, 高颖娜, 张才云, 郑宏良, 朱乘婧*

海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨细胞角蛋白19(CK19)、半乳糖凝集素3(Gal-3)、p53、拓扑异构酶II(Toxo II)、Ki-67、细胞周期蛋白D1(CCND1)、人骨髓内皮细胞标志物1(HBME-1)、B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶V600E突变型(BRAF^{V600E}) 在甲状腺乳头状癌(PTC)病理诊断中的临床应用价值。**方法** 选取100例PTC和40例甲状腺良性病变标本,采用免疫组织化学染色EnVision法检测CK19、Gal-3、p53、Toxo II、Ki-67、CCND1和HBME-1在组织中的表达情况,通过荧光PCR检测BRAF^{V600E}在组织中的表达情况。**结果** PTC组织中CK19、Gal-3、Toxo II、CCND1、HBME-1和BRAF^{V600E}阳性表达率[97.0%(97/100)、98.0%(98/100)、56.0%(56/100)、95.0%(95/100)、66.0%(66/100)、75.0%(75/100)]高于甲状腺良性组织[45.0%(18/40)、20.0%(8/40)、15.0%(6/40)、55.0%(22/40)、25.0%(10/40)、12.5%(5/40)],差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。8种标志物单独用于PTC的诊断时,CK19、Gal-3的灵敏度最高(97.0%、98.0%),Gal-3的准确度最高(92.9%);3种标志物联合应用并以其中任意2种阳性作为阳性判断标准时,CK19、Gal-3、HBME-1组合检测PTC的准确度最高(96.4%),其次为BRAF^{V600E}、CK19、Gal-3组合(91.4%)。**结论** CK19、Gal-3、Toxo II、CCND1、HBME-1、BRAF^{V600E}是诊断PTC的重要标志物,这些标志物联合应用有助于对形态不典型PTC与甲状腺良性病变进行鉴别。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;细胞角蛋白19;半乳糖凝集素3;B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶;p53;拓扑异构酶II;Ki-67;细胞周期蛋白D1;人骨髓内皮细胞标志物1

[中图分类号] R 736.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-1338(2022)10-1206-05

Clinical application of specific tumor markers for papillary thyroid carcinoma

TENG Wei-qiang, CHEN Meng-jie, HAN Huan, GAO Ying-na, ZHANG Cai-yun, ZHENG Hong-liang, ZHU Cheng-jing*

Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical application of cytokeratin 19 (CK19), galectin-3 (Gal-3), p53, topoisomerase II (Toxo II), Ki-67, cyclin D1 (CCND1), human bone marrow endothelial marker 1 (HBME-1), and B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase V600E mutant type (BRAF^{V600E}) in the pathological diagnosis of papillary thyroid carcinoma (PTC). **Methods** A total of 100 PTC and 40 benign thyroid lesions were selected. The expression of CK19, Gal-3, p53, Toxo II, Ki-67, CCND1 and HBME-1 in tissues was detected by immunohistochemistry EnVision method, and the expression of BRAF^{V600E} was detected by fluorescence polymerase chain reaction. **Results** The positive expression rates of CK19, Gal-3, Toxo II, CCND1, HBME-1 and BRAF^{V600E} in PTC tissues (97.0% [97/100], 98.0% [98/100], 56.0% [56/100], 95.0% [95/100], 66.0% [66/100] and 75.0% [75/100]) were significantly higher than those in benign thyroid tissues (45.0% [18/40], 20.0% [8/40], 15.0% [6/40], 55.0% [22/40], 25.0% [10/40] and 12.5% [5/40]), and the differences were statistically significant (all $P < 0.01$). CK19 and Gal-3 had the highest sensitivity (97.0% and 98.0%, respectively) and Gal-3 had the highest accuracy (92.9%) when the 8 markers were used alone for the diagnosis of PTC. Taking any 2 being positive of a 3 combination as the positive criterion, the combined application of CK19, Gal-3 and HBME-1 as diagnostic criteria for PTC had the highest accuracy of 96.4%. The combination of BRAF^{V600E}, CK19 and Gal-3 showed high accuracy as well (91.4%). **Conclusion** CK19, Gal-3, Toxo II, CCND1, HBME-1 and BRAF^{V600E} are important markers for the diagnosis of PTC, and the combined application of these markers can help to distinguish the abnormal PTC from benign thyroid lesions.

[Key words] papillary thyroid carcinoma; cytokeratin 19; galectin-3; B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase; p53; topoisomerase II; Ki-67; cyclin D1; human bone marrow endothelial marker 1

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(10): 1206-1210]

[收稿日期] 2022-05-11 [接受日期] 2022-09-02

[基金项目] 国家自然科学基金(81970868, 81972537, 81200734)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81970868, 81972537, 81200734).

[作者简介] 滕伟强, 硕士, 主治医师。E-mail: 369313602@qq.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31162019, E-mail: zhuzhuxaz@163.com

甲状腺癌是一种全球高发的疾病,其发病率随着年龄的增长而上升^[1-2]。近年来我国甲状腺癌发病率呈逐步升高的趋势,据统计,北京市东城区2001—2011年甲状腺癌发病率由2.69/10万上升至14.29/10万,增长431.23%;标化发病率从1.69/10万上升至9.33/10万,增长452.07%^[2]。甲状腺癌按组织学类型可分为乳头状癌、滤泡状癌、髓样癌、未分化癌等。乳头状癌及滤泡状癌又称为分化型甲状腺癌,发病率约为90%,是最常见的甲状腺癌,通常预后较好,但也有部分分化型甲状腺癌患者早期即出现局部器官侵犯、淋巴结或远处器官转移,严重影响预后,即使是预后最好的甲状腺微小乳头状癌也有15%~20%的概率出现复发或远处转移^[3-4]。

目前临床上首选B超及超声引导下细针穿刺以明确甲状腺肿瘤性质^[4]。显微镜下甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)组织呈现典型的细胞核毛玻璃样改变伴随核重叠、核内假包涵体等改变,但这些病理改变也见于结节性甲状腺肿、甲状腺滤泡性腺瘤等良性病变^[3,5]。分子标志物是早期肿瘤筛查的重要手段,近年有部分标志物被用于早期PTC与甲状腺良性病变的鉴别诊断,但目前尚缺乏针对PTC的特异性标志物,且不同标志物的灵敏度、特异度及准确度还存在一定争议。本研究通过比较细胞角蛋白19(cytokeratin 19, CK19)、半乳糖凝集素3(galectin-3, Gal-3)、p53、拓扑异构酶II(topoisomerase II, Topo II)、Ki-67、细胞周期蛋白D1(cyclin D1, CCND1)、人骨髓内皮细胞标志物1(human bone marrow endothelial marker 1, HBME-1)和B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶V600E突变型(B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase V600E mutant type; BRAF^{V600E})8种分子标志物在PTC和甲状腺良性病变中的表达差异,探讨它们在PTC诊断及鉴别诊断中的临床应用价值。

1 材料和方法

1.1 标本来源 选取海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院2016—2020年手术切除的甲状腺标本140例,并收集患者相关资料。纳入标准:

(1)未接受过化学治疗等其他治疗;(2)无其他严重疾病者。病理诊断参照2004年WHO内分泌器官肿瘤分类标准^[6],所有切片均由2位高年资病理医师复片确诊。140例患者中,男28例、女

112例,年龄(45±5)岁。其中PTC 100例,男20例、女80例;甲状腺良性病变40例,男8例、女32例,包括甲状腺腺瘤8例、结节性甲状腺乳头状增生18例、结节性甲状腺肿伴腺瘤样增生4例、桥本甲状腺炎10例。

1.2 免疫组织化学染色检测CK19、Gal-3、p53、Topo II、Ki-67、CCND1和HBME-1的表达 所有组织标本均经4%中性缓冲甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,连续切片,厚度4 μm。免疫组织化学染色采用EnVision两步法,DAB显色,苏木精复染。用已知阳性切片作阳性对照,PBS代替一抗作阴性对照。免疫组织化学染色所用一抗均为即用型鼠抗人单克隆抗体,其中CK19、Gal-3、HBME-1、Ki-67、Topo II抗体均购于北京中杉金桥生物技术有限公司,CCND1抗体(clone SP4)、p53(clone Do-7)抗体为美国Zymed Laboratories公司产品;二抗EnVison™羊抗兔或羊抗鼠IgG均为美国GenTech公司产品。

CK19染色以细胞质出现棕黄色颗粒为阳性表达,Gal-3染色以细胞质或细胞核出现棕黄色颗粒为阳性表达,HBME-1和Ki-67染色以细胞膜出现棕黄色颗粒为阳性表达,CCND1、p53、Topo II以细胞核出现棕黄色颗粒为阳性表达。光镜下随机观察10个高倍镜视野,以阳性细胞占比≥10%判定为表达阳性,阳性细胞占比<10%为阴性^[7]。

1.3 荧光PCR检测BRAF^{V600E}的表达 标本核酸提取所需试剂及DNA提取试剂盒购自恺硕生物科技(厦门)股份有限公司,BRAF^{V600E}荧光PCR检测试剂盒购自厦门艾德生物医药科技股份有限公司。严格按照说明书提取样本中DNA,经荧光PCR法扩增B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase; BRAF)基因15号外显子片段,分为突变型和野生型,突变型为BRAF^{V600E}阳性,野生型为BRAF^{V600E}阴性。

1.4 统计学处理 采用SPSS 20.0软件分析数据。计数资料以例数和百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 PTC与甲状腺良性肿瘤组织中各标志物的表达 免疫组织化学染色结果显示,PTC组织中CK19、Gal-3、CCND1、Topo II和HBME-1阳性

表达率高于甲状腺良性组织,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, 图1、表1); 荧光PCR检测结果显示,

PTC组织中 BRAF^{V600E} 阳性表达率高于甲状腺良性组织,差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 表1)。

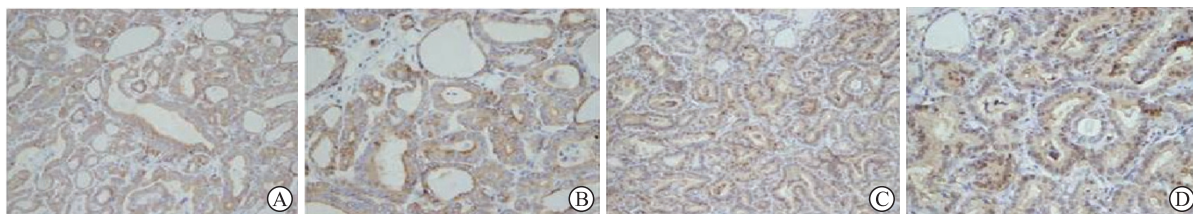


图1 PTC 相关标志物免疫组织化学染色结果

A: PTC 细胞质CK19 阳性表达(200×); B: PTC 细胞质CK19 阳性表达(400×); C: PTC 细胞核和细胞质Gal-3 阳性表达(200×); D: PTC 细胞核和细胞质Gal-3 阳性表达(400×). PTC: 甲状腺乳头状癌; CK19: 细胞角蛋白19; Gal-3: 半乳糖凝集素3.

表1 不同标志物在 PTC 和甲状腺良性病变组织中的表达

标志物	PTC N=100		甲状腺良性病变 N=40		χ^2 值	P 值
	阳性	阴性	阳性	阴性		
CK19	97 (97.0)	3 (3.0)	18 (45.0)	22 (55.0)	52.67	<0.01
Gal-3	98 (98.0)	2 (2.0)	8 (20.0)	32 (80.0)	94.53	<0.01
p53	7 (7.0)	93 (93.0)	2 (5.0)	38 (95.0)	0.00	0.96
Topo II	56 (56.0)	44 (44.0)	6 (15.0)	34 (85.0)	19.47	<0.01
Ki-67	93 (93.0)	7 (7.0)	32 (80.0)	8 (20.0)	3.78	0.05
CCND1	95 (95.0)	5 (5.0)	22 (55.0)	18 (45.0)	33.30	<0.01
HBME-1	66 (66.0)	34 (34.0)	10 (25.0)	30 (75.0)	19.35	<0.01
BRAF ^{V600E}	75 (75.0)	25 (25.0)	5 (12.5)	35 (87.5)	45.57	<0.01

PTC: 甲状腺乳头状癌; CK19: 细胞角蛋白19; Gal-3: 半乳糖凝集素3; Topo II: 拓扑异构酶 II; CCND1: 细胞周期蛋白D1; HBME-1: 人骨髓内皮细胞标志物1; BRAF^{V600E}: B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶V600E突变型。

2.2 各标志物单独及联合检测诊断 PTC 的价值 由表2可见, 8种标志物单独用于 PTC 的诊断时, CK19、Gal-3 的灵敏度最高 (97.0%、98.0%), Gal-3 的准确度最高 (92.9%)。任选3种标志物, 以3种皆阳性为阳性判断标准时, 各组合准确度均不足 90%,

其中 CK19、Gal-3、HBME-1 组合准确度最高, 达 87.1%; 以任3种标志物中的2种阳性作为阳性判断标准时, CK19、Gal-3、HBME-1 组合检测 PTC 的准确度最高 (96.4%), 其次为 BRAF^{V600E}、CK19、Gal-3 组合 (91.4%)。

表2 不同标志物单独检测对 PTC 的诊断价值

标志物	灵敏度	特异度	准确度	阳性预测值	阴性预测值
CK19	97.0	55.0	85.0	84.3	88.0
Gal-3	98.0	80.0	92.9	92.5	94.1
P53	7.0	95.0	32.1	77.8	29.0
Topo II	56.0	85.0	64.3	90.3	43.6
Ki-67	93.0	20.0	72.1	74.4	53.3
CCND1	95.0	45.0	80.7	81.2	78.3
HBME-1	66.0	75.0	68.6	86.8	46.9
BRAF ^{V600E}	75.0	87.5	78.6	93.8	58.3

PTC: 甲状腺乳头状癌; CK19: 细胞角蛋白19; Gal-3: 半乳糖凝集素3; Topo II: 拓扑异构酶 II; CCND1: 细胞周期蛋白D1; HBME-1: 人骨髓内皮细胞标志物1; BRAF^{V600E}: B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶V600E突变型。

3 讨论

有效的肿瘤标志物检测是早期发现病变的可靠手段。尽管近年来许多学者开展了甲状腺癌免

疫标志物的相关研究, 但目前用于检测的标志物种类繁多, 尚缺乏针对甲状腺癌的特异性标志物, 多种标志物联合检测甲状腺癌的相关研究也非常有限。本研究对8种分子标志物鉴别 PTC 和甲状

腺良性病变的效果进行分析,结果显示CK19、Gal-3、Topo II、CCND1、HBME-1和BRAF^{V600E}在PTC中的表达高于甲状腺良性病变,其中CK19、Gal-3诊断PTC的灵敏度最高(分别为97.0%、98.0%),Gal-3的准确度最高(92.9%)。

CK19是一种低分子量细胞角蛋白,常见于正常上皮细胞和各种上皮来源的肿瘤,尤其是单层上皮和间皮。有研究认为CK19是针对PTC的可靠标志物,但大量文献也表明CK19单独用于诊断PTC时虽具有较高灵敏度,特异度却不高^[4,8-9]。本研究结果与此类似,在140例标本中,CK19诊断PTC的灵敏度高达97.0%,但特异度只有55.0%,尽管如此,CK19仍然显示了良好的准确度(85.0%)和阴性预测值(88.0%)。位嘉等^[10]甚至发现CK19的阴性预测值可达到100%,因此也有学者提出可将CK19阴性作为PTC的排除指标^[9,11]。

Gal-3属于β半乳糖苷凝集素家族成员,能够结合于细胞表面,调节细胞黏附,在细胞凋亡和恶性转化方面均有重要作用^[12]。研究表明,Gal-3在不同性质甲状腺病变中表达不同,在PTC中表达高于甲状腺滤泡状癌,在甲状腺腺瘤或结节性甲状腺肿中表达极低,可以作为早期鉴别甲状腺肿瘤良恶性的客观指标^[9,13-14]。本研究显示Gal-3诊断PTC的灵敏度(98.0%)、阳性预测值(92.5%)、阴性预测值(94.1%)和准确度(92.9%)均是8种标志物中最高的,并且特异度也达到80.0%。由于Gal-3与肿瘤淋巴结转移密切相关,Gal-3阳性还可作为PTC预后的评估指标,提示早期进行淋巴结清扫的必要性^[15]。

HBME-1也被用于甲状腺恶性肿瘤的诊断。位嘉等^[10]发现PTC组织中HBME-1的阳性表达率可达79.2%,显著高于甲状腺良性病变(9.8%),且特异度高达90%,可单独应用作为诊断PTC的标志物。与此不同,本研究结果显示HBME-1仅表达在66.0%的PTC组织中,且其诊断PTC的灵敏度和准确度也不高(66.0%、68.6%),具体原因有待进一步分析。值得指出的是,CK19、Gal-3、HBME-1联合应用能大大提高PTC诊断的准确度(96.4%),提示CK19、Gal-3、HBME-1联合应用有助于对形态不典型PTC与甲状腺良性病变进行鉴别^[15-17]。

BRAF属于色氨酸/丝氨酸激酶Raf家族,

BRAF的V600E位点突变是多种肿瘤发生的相关因素。研究显示亚洲PTC人群BRAF突变率甚至超过80%,而良性结节中罕见BRAF突变,且假阳性率低^[18-19]。本研究发现BRAF^{V600E}作为独立指标对PTC进行判断时,显示了较高的灵敏度(75.0%)、特异度(87.5%)及准确度(78.6%),虽然其灵敏度和准确度低于CK19和Gal-3,但仍显示了良好的阳性预测值(93.8%)。此外,BRAF^{V600E}、CK19、Gal-3联合应用可大大提高诊断PTC的准确率(91.4%)。既往研究发现N0期PTC患者仍有高达36.1%的隐性淋巴结转移率,与这部分患者出现BRAF的V600E位点突变密切相关^[20-22],故而认为BRAF^{V600E}阳性提示肿瘤具有较高的侵袭力。结合本研究结果可以认为,BRAF^{V600E}是早期诊断甲状腺恶性结节的有力证据,除可作为独立检测指标对早期PTC进行筛查,还可以联合其他标志物对可疑甲状腺恶性肿瘤患者进行早期评估,以提高诊断准确度,为准确选择适宜的手术方案提供依据。

Topo II通常表达在细胞增殖的S、G₂和M期,是参与细胞周期调节的重要蛋白,在细胞DNA修复和复制中发挥着重要作用。研究发现Topo II在卵巢癌、胃癌等多种恶性肿瘤中均呈阳性表达,且与p53、Ki-67等具有协同作用,可通过激活MAPK通路调节细胞有丝分裂。Topo II阳性提示活跃的细胞增殖和较高的肿瘤分期,往往预示预后不佳^[23]。然而目前关于Topo II在甲状腺癌中的表达和作用的相关研究较少。本研究结果显示虽然Topo II在PTC中阳性表达率高于甲状腺良性病变,灵敏度(56.0%)和准确度(64.3%)均不高,但具有较高的特异度(85.0%)和阳性预测值(90.3%),可作为诊断PTC的参考标志物之一。

CCND1在细胞周期进程中具有重要作用,能调节多种转录因子和核受体的转录功能,从而影响细胞的分化,参与肿瘤的发生、发展。研究显示CCND1在乳腺癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌等肿瘤组织中的过表达与肿瘤侵袭力有关^[24-25]。本研究发现CCND1在PTC组织中的阳性表达率远高于甲状腺良性病变组织(分别为95.0%和55.0%),CCND1诊断PTC的灵敏度、准确度和阳性预测值较高(分别为95.0%、80.7%、81.2%),但特异度较低(45.0%),在诊断PTC时需参考其他检测指标。

综上所述,本研究结果显示CK19、Gal-3、Topo II、CCND1、HBME-1、BRAF^{V600E}均可作为PTC的分子标志物,各个标志物单独诊断PTC时,CK19、Gal-3的灵敏度最高、Gal-3的准确度最高;3种标志物联合应用并以其中任意2种阳性作为阳性判断标准时,CK19、Gal-3、HBME-1组合的准确度最高。随着对肿瘤基因的深入研究,找到与甲状腺癌发生、发展、转归相关的相关基因,有助于提高甲状腺癌早期检出率并为甲状腺癌分期及精准手术治疗提供参考。

[参考文献]

- [1] LA VECCHIA C, MALVEZZI M, BOSETTI C, GARAVELLO W, BERTUCCIO P, LEVI F, et al. Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136: 2187-2195.
- [2] 石红梅,杨雷,王宁.北京市东城区2001—2011年甲状腺癌发病趋势分析[J]. *肿瘤*, 2016, 36: 791-795.
- [3] ABOUHASHEM N S, TALAAT S M. Diagnostic utility of CK19 and CD56 in the differentiation of thyroid papillary carcinoma from its mimics[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213: 509-517.
- [4] 中华医学会内分泌学分会,中华医学会外科学分会内分泌学组,中国抗癌协会头颈肿瘤专业委员会,中华医学会核医学分会.甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28: 779-797.
- [5] 李媛,霍真,陈杰.甲状腺癌病理诊断中的若干问题[J]. *中华病理学杂志*, 2014, 43: 348-352.
- [6] DELELLIS R A, LLOYD R V, HEITZ P U. WHO classification of tumours, pathology and genetics of tumours of endocrine organs[M]. 2nd ed. Lyon: IARC Press, 2004: 57-66.
- [7] 刘颖. CK19、TPO蛋白表达在甲状腺乳头状癌病理诊断中的意义[J]. *中国医药科学*, 2015, 5: 143-144, 161.
- [8] LIU Z M, YU P, XIONG Y Q, ZENG W, LI X Y, MAIAITI Y, et al. Significance of CK19, TPO, and HBME-1 expression for diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 4369-4374.
- [9] ERDOGAN-DURMUS S, OZCAN D, YARIKKAYA E, KURT A, ARSLAN A. CD56, HBME-1 and cytokeratin 19 expressions in papillary thyroid carcinoma and nodular thyroid lesions[J/OL]. *J Res Med Sci*, 2016, 21: 49. DOI: 10.4103/1735-1995.183986.
- [10] 位嘉,赵丽华,槐英丽,张晓敬,林秋兰,王克杰,等. CK19、Galectin-3、HBME-1、TPO和CD56在甲状腺乳头状癌病理诊断中的价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2018, 25: 1445-1449.
- [11] 杨敏,王昌敏.甲状腺乳头状癌分子标志物研究进展[J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26: 1782-1785.
- [12] CHO H, KIM J Y, OH Y L. Diagnostic value of HBME-1, CK19, Galectin 3, and CD56 in the subtypes of follicular variant of papillary thyroid carcinoma[J]. *Pathol Int*, 2018, 68: 605-613.
- [13] SUMANA B S, SHASHIDHAR S, SHIVARUDRAPPA A S. Galectin-3 immunohistochemical expression in thyroid neoplasms[J/OL]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9: EC07-EC11. DOI: 10.7860/JCDR/2015/16277.6760.
- [14] GWEON H M, KIM J A, YOUK J H, HONG S W, LIM B J, YOON S O, et al. Can galectin-3 be a useful marker for conventional papillary thyroid microcarcinoma? [J]. *Diagn Cytopathol*, 2016, 44: 103-107.
- [15] TANG W W, HUANG C W, TANG C Y, XU J, WANG H J. Galectin-3 may serve as a potential marker for diagnosis and prognosis in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis[J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 455-460.
- [16] TASTEKIN E, KESKIN E, CAN N, CANBERK S, MUT A, ERDOGAN E, et al. CD56, CD57, HBME1, CK19, Galectin-3 and p63 immunohistochemical stains in differentiating diagnosis of thyroid benign/malign lesions and NIFTP[J]. *Pol J Pathol*, 2019, 70: 286-294.
- [17] 赵冀山. CK19、HBME-1、Galectin-3、TPO及CD56联合检测在甲状腺乳头状癌诊断中的意义[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015, 15: 20-21.
- [18] MAYSON S E, HAUGEN B R. Molecular diagnostic evaluation of thyroid nodules[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019, 48: 85-97.
- [19] ROMEI C, ELISEI R. A narrative review of genetic alterations in primary thyroid epithelial cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 1726. DOI: 10.3390/ijms22041726.
- [20] 张婷婷,渠宁,史荣亮,嵇庆海. BRAF V600E突变对甲状腺乳头状癌发生及预后的影响[J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27: 145-150.
- [21] 黄美玲,李永平,凌瑞. BRAF^{V600E}基因突变与乳头状甲状腺癌淋巴结转移相关性的meta分析[J]. *中国肿瘤*, 2017, 26: 145-151.
- [22] 高庆军,张伟,王南鹏,段海松,周彦,张薇,等. BRAF^{V600E}突变和cN0期甲状腺乳头状癌淋巴结转移相关性研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29: 2048-2052.
- [23] SUNDOV D, CARIC A, MRKLIC I, GUGIC D, CAPKUN V, HOFMAN I D, et al. P53, MAPK, topoisomerase II α and Ki67 immunohistochemical expression and KRAS/BRAF mutation in ovarian serous carcinomas[J/OL]. *Diagn Pathol*, 2013, 8: 21. DOI: 10.1186/1746-1596-8-21.
- [24] 张其良,曹文理,邓全军.在食管癌细胞增殖过程中蛋白酶激活受体-2(PAR-2)对细胞周期蛋白D1(cyclinD1)的调控机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2019, 35: 559-562.
- [25] 甘世新,米玉录. p27和cyclinD1与甲状腺乳头状癌颈淋巴结转移的关系[J]. *中国药物与临床*, 2010, 10: 657-658.