

· 临床研究 ·

趋化因子水平变化在预测分化型甲状腺癌病情进展中的价值

蒋雯 宋影春 罗琼 佟君羽 郁霞青 吕中伟 李丹

同济大学附属第十人民医院核医学科, 上海 200072

通信作者: 李丹, Email: plumredlinda@163.com

【摘要】目的 探讨趋化因子在分化型甲状腺癌(DTC)患者血清中的表达水平与 DTC 进展间的关系。**方法** 回顾性收集 2017 年 1 月至 2017 年 4 月间同济大学附属第十人民医院核医学科的 76 例 DTC 术后患者(男 25 例、女 51 例, 中位年龄 39 岁)外周血血样, 检测其中 40 种趋化因子水平。以不同方式对患者进行分组:(1)按照是否发生转移, 分为非转移组($n=13$)和转移组($n=63$);(2)按照 DTC 失分化程度, 分为未转移组($n=13$)、仅淋巴结转移组($n=48$)、高度恶性组($n=11$)和碘难治性 DTC(RAIR-DTC)伴远处转移组($n=4$);(3)按照患者近 2 年随访 ^{131}I 治疗次数, 分为单次治疗组($n=51$)与多次治疗组($n=25$)。比较各组间趋化因子的水平差异;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析评价有差异的趋化因子水平预测 DTC 转移及行多次 ^{131}I 治疗的效能。采用两独立样本 t 检验、Mann-Whitney U 检验、单因素方差分析等分析数据。**结果** 与非转移组相比, 转移组中嗜酸性粒细胞趋化因子 3 [Eotaxin-3; (25.94 ± 6.05) 与 (21.76 ± 5.71) ng/L]、 γ -干扰素[IFN- γ ; (116.04 ± 28.98) 和 (98.71 ± 26.18) ng/L]、巨噬细胞衍生趋化因子[MDC; (1468.08 ± 401.74) 和 (1082.94 ± 423.30) ng/L]及胸腺表达趋化因子[TECK; ($505.22(419.80, 563.36)$) 和 ($402.89(347.43, 442.97)$) ng/L]的表达降低(t 值: $2.376, 2.131, 3.007, U=215.000$, 均 $P<0.05$)。采用 IFN- γ +MDC+TECK 预测甲状腺癌转移的 ROC 曲线下面积为 0.844 (95% CI: $0.755\sim0.932, P<0.001$), 灵敏度为 79.37%(50/63)。未转移组、仅淋巴结转移组、高度恶性组和 RAIR-DTC 伴远处转移组间仅 MDC 的差异有统计学意义[(1468.08 ± 401.74)、(1121.59 ± 454.20)、(976.07 ± 281.04) 和 (922.68 ± 342.41) ng/L; $F=3.564, P<0.05$], 且随失分化程度增加 MDC 水平逐渐降低。与单次治疗组相比, 多次治疗组中仅白介素(IL)-8 的水平升高 [$28.20(23.22, 32.51)$ 与 $30.51(26.98, 35.57)$ ng/L; $U=801.000, P<0.05$]; IL-8 预测行多次 ^{131}I 治疗的 ROC 曲线下面积为 0.648 (95% CI: $0.523\sim0.773, P<0.05$), 灵敏度达 100%(25/25)。**结论** 在 DTC 中, IFN- γ 、MDC 及 TECK 水平降低可能是预测肿瘤发生转移的潜在标志; MDC 很可能是 DTC 失分化的潜在分子靶标, 其表达降低可能预示肿瘤失分化的恶性程度增加; IL-8 或可用于预测患者是否需行多次 ^{131}I 治疗。

【关键词】 甲状腺肿瘤; 趋化因子类; 肿瘤转移; 放射疗法; 碘放射性同位素; 预测

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20190729-00150

Value of chemokines levels in predicting the progression of differentiated thyroid carcinoma

Jiang Wen, Song Yingchun, Luo Qiong, Tong Junyu, Yu Xiaqing, Lyu Zhongwei, Li Dan

Department of Nuclear Medicine, Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China

Corresponding author: Li Dan, Email: plumredlinda@163.com

【Abstract】Objective To investigate the relationship between the expression levels of chemokines in serum of patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC) and the progression of DTC. **Methods** From January to April in 2017, blood samples of 76 patients (25 males, 51 females, median age: 39 years) with DTC after surgery in Nuclear Medicine Department of Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University were collected retrospectively for detecting the expression levels of 40 chemokines. Patients were divided into different groups according to (1) with or without metastasis: the non-metastasis group ($n=13$) and the metastasis group ($n=63$); (2) degree of gradual dedifferentiation: without metastasis group ($n=13$), lymph node metastasis group ($n=48$), highly malignant group ($n=11$) and radioactive iodine refractory (RAIR) with distant metastasis group ($n=4$); (3) frequency of ^{131}I treatment in follow-up for nearly 2 years: single treatment group ($n=51$) and multiple treatment group ($n=25$). Differences in chemokine levels among groups were compared. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to evaluate the predictive value of differential chemokines' levels on DTC metastasis and multiple ^{131}I treatment. Independent-

sample *t* test, Mann-Whitney *U* test and one-way analysis of variance were used to analyze the data. **Results** Compared with the non-metastatic group, the expression levels of Eotaxin-3 ((25.94 ± 6.05) vs (21.76 ± 5.71) ng/L), interferon- γ (IFN- γ ; (116.04 ± 28.98) vs (98.71 ± 26.18) ng/L), macrophage-derived chemokine (MDC; (1468.08 ± 401.74) vs (1082.94 ± 423.30) ng/L) and thymus expressd chemokine (TECK; ($505.22(419.80, 563.36)$) vs $402.89(347.43, 442.97)$ ng/L) in metastatic group were decreased, and the differences were statistically significant (*t* values: 2.376, 2.131, 3.007, *U*=215.000, all *P*<0.05). The area under the ROC curve of IFN- γ +MDC+TECK for predicting DTC metastasis was 0.844 (95% CI: 0.755–0.932, *P*<0.001), and the sensitivity was 79.37% (50/63). Only the differences of MDC among without metastasis group, lymph node metastasis group, highly malignant group and RAIR with distant metastasis group were significant ((1468.08 ± 401.74), (1121.59 ± 454.20), (976.07 ± 281.04), (922.68 ± 342.41) ng/L; *F*=3.564, *P*<0.05), and the expression was gradually decreased with the degree of dedifferentiation. Only IL-8 was significantly increased in the multiple treatment group compared with the single treatment group ($28.20(23.22, 32.51)$ vs $30.51(26.98, 35.57)$ ng/L; *U*=801.000, *P*<0.05). The area under the ROC curve of IL-8 for predicting multiple ^{131}I treatment was 0.648 (95% CI: 0.523–0.773, *P*<0.05), and the sensitivity was 100% (25/25). **Conclusions** Decreased expression of IFN- γ , MDC and TECK may be potential markers for predicting metastasis in DTC. MDC is likely to be a potential molecular target for detecting the dedifferentiation degree of DTC, decreased expression of which may indicate the increased malignancy of tumor. IL-8 may be used to predict whether patients need multiple ^{131}I treatments.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Chemotactic factors; Neoplasm metastasis; Radiotherapy; Iodine radioisotopes; Forecasting

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190729-00150

研究显示,2015 年我国甲状腺癌发病率约为 14.60/10 万,居恶性肿瘤发病率第 7 位^[1-2]。甲状腺癌起源于甲状腺滤泡上皮细胞,按分化程度可分为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)、甲状腺滤泡状癌、甲状腺髓样癌和甲状腺未分化癌,其中前两者合称分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC)。DTC 侵袭性较低且肿瘤进展缓慢,经手术、 ^{131}I 治疗和促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)抑制治疗后患者生存可明显改善;但部分患者在 ^{131}I 治疗过程中发生失分化,肿瘤恶性程度和侵袭力增加,易发生转移和复发,且对放疗、化疗等均不敏感,预后很差^[3]。此外,约有 1/3 远处转移的 DTC 患者逐渐进展为碘难治性 DTC(radioactive iodine refractory DTC, RAIR-DTC)。据报道,RAIR-DTC 患者的 5 年生存率<50%,10 年生存率不足 10%,其诊断及治疗是临床医师的一大难题^[3]。因此,迫切需要探索 DTC 失分化的相关分子标志物,以便预测肿瘤转移甚至发生 RAIR 的情况。

趋化因子是一类能够诱导细胞定向运动的低相对分子质量蛋白质,可分为 4 类,即 CC、CXC、C 和 CX3C 趋化因子^[4]。趋化因子通过与细胞表面表达的 G 蛋白偶联受体结合趋引靶细胞迁移,从而参与炎性反应、自身免疫疾病及肿瘤等生理病理过程,并在肿瘤血管生成、侵袭、转移等过程中起着重要作用^[5]。因此,其可能为预测及干预肿瘤发生、血管生成、侵袭和远处转移等提供新的研究思路。目前关于趋化因子与 DTC 关系的研究较少^[6]。本研究

拟检测 DTC 恶性程度增加后患者血清中趋化因子水平的变化,以探讨趋化因子水平与 DTC 失分化严重程度间的关系,从而为 DTC 的术前良恶性诊断以及预测 DTC 的转移情况提供有效方法。

资料与方法

1. 患者资料。本研究符合《赫尔辛基宣言》的原则。回顾性收集 2017 年 1 月至 2017 年 4 月收住于同济大学附属第十人民医院核医学科行甲状腺癌 ^{131}I 治疗的 76 例术后 DTC 患者,其中男 25 例、女 51 例,中位年龄 39(范围 10~73)岁。术后病理:甲状腺乳头状癌 67 例,甲状腺滤泡状癌 9 例;未见转移病灶者 13 例;仅淋巴结出现转移病灶者 48 例;肿瘤高度恶性者 15 例(包含侵袭周围组织者 5 例,转移至肺、纵隔、骨骼和肾者分别为 4、2、2、2 例),其中 4 例经随访明确发生 RAIR(^{131}I 全身显像示转移灶不摄碘)。

根据 2015 年美国甲状腺学会(American Thyroid Association, ATA)指南,RAIR 标准为:病灶从不摄碘;或病灶在 ^{131}I 治疗过程中逐渐丧失摄碘能力;或病灶部分摄碘,部分不摄碘;或 ^{131}I 治疗有效,但病灶仍进展^[7]。

经过近 2 年随访,所有患者中行≥2 次 ^{131}I 治疗者 25 例。所有患者均排除高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病、脑血管意外、糖尿病、肺结核和其他系统肿瘤,并除外近 6 个月内有其他手术史者。

2. 趋化因子水平测定。(1)获得研究样本患者的知情同意。

(2)取患者术前清晨空腹外周血 2 份,1 份抗凝

血用于提取外周血细胞总 RNA; 另 1 份外周血 $600 \times g$ 离心 15 min, 收集血清, -80°C 冰箱保存备用。

(3) 按照试剂盒操作手册处理样本, 简述如下: 向标准品瓶中, 加入 781 μl 标准缓冲液和 250 μl 标准稀释液, 然后对标准品进行不同浓度的稀释。76 个血清样本于冰上操作, 解冻后 $600 \times g$ 离心 15 min, 取 20 μl 样本, 加入 60 μl 样品稀释缓冲液, 稀释均匀后取 50 μl 加入 96 孔检测板中。

(4) 采用人多因子检测试剂盒(171-AK99MR2 Bio-Plex Pro Human Chemokine Assays)及上海华盈生物医药科技有限公司提供的液相微珠悬浮式蛋白芯片[Bio-Plex 悬液芯片技术, Bio-Plex Magpix System (Bio-Rad)]进行检测(具体操作方法见说明书)。使用 Bio-Rad 推荐的 5 参数模式对标准品得到的荧光检测值中的偏离点自动进行校正, 对有效点进行拟合, 得到标准曲线, 用于检测各趋化因子的表达浓度(ng/L)。

(5) 检测趋化因子水平。在 1 块 96 孔板上检测 40 种趋化因子, 包括生长相关癌基因(growth-related oncogene, Gro)- α 、Gro- β 、上皮中性粒细胞活化肽 78(epithelial neutrophil activation peptide 78, ENA-78)、粒细胞趋化蛋白 2(granulocyte chemotactic protein 2, GCP-2)、干扰素诱导单核因子(monokine induced by gamma interferon, MIG)、干扰素诱导蛋白 10(interferon induced protein 10, IP-10)、干扰素诱导 T 细胞趋化物(interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant, I-TAC)、基质细胞衍生因子 1 $\alpha+\beta$ (stromal cell-derived factor 1 $\alpha+\beta$, SDF-1 $\alpha+\beta$)、B 细胞趋化因子 1(B-cell-attracting chemokine-1, BCA-1)、趋化因子配体 16(C-X-C motif chemokine ligand 16, CXCL16)、Fractalkine、I-309、巨噬细胞炎性蛋白(macrophage inflammatory protein, MIP)-1 α 、MIP-1 β 、MIP-3 α 、MIP-3 β 、单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein, MCP)-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4、嗜酸性粒细胞趋化因子(Eotaxin)、Eotaxin-2、Eotaxin-3、胸腺活化调节趋化因子(thymus activation regulated chemokine, TARC)、次级淋巴组织趋化因子(6Ckine)、巨噬细胞衍生趋化因子(macrophage-derived chemokine, MDC)、髓样祖细胞抑制因子 1(myeloid progenitor inhibitory factor-1, MPIF-1)、胸腺表达趋化因子(thymus expressed chemokine, TECK)、皮肤 T 细胞虏获趋化因子(cutaneous T cell-attracting chemokine, CTACK)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating

factor, GM-CSF)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-16、巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)。每种趋化因子的水平根据标准曲线进行计算。

3. 患者样本分组。(1) 按照患者是否发生转移分为非转移组($n=13$)和转移组($n=63$); (2) 根据 DTC 失分化的定义(即在其自然发生发展过程中或 ^{131}I 治疗后出现肿瘤摄碘能力明显降低或丧失, 表现为甲状腺癌细胞侵袭性增强, 转移速度加快), 按照 DTC 逐渐失分化程度分为未转移组($n=13$)、仅淋巴结转移组($n=48$)、高度恶性组($n=11$)和 RAIR-DTC 伴远处转移组($n=4$); (3) 按照近 2 年随访结果患者行 ^{131}I 治疗次数分为单次治疗组($n=51$)和多次治疗组($n=25$)。

4. 统计学处理。采用 IBM SPSS 20.0 软件进行统计分析, 符合正态分布的定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布的定量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。2 组间数据比较采用两独立样本 t 检验或 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 秩和检验。另外用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线检验潜在分子标志物对 DTC 转移及行多次 ^{131}I 治疗的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 非转移组与转移组间趋化因子水平的比较。与 DTC 非转移组相比, 转移组中 Eotaxin-3、IFN- γ 、MDC 及 TECK 的水平降低:(25.94 ± 6.05) 和 (21.76 ± 5.71) ng/L 、(116.04 ± 28.98) 和 (98.71 ± 26.18) ng/L 、(1468.08 ± 401.74) 和 (1082.94 ± 423.30) ng/L 及 $505.22(419.80, 563.36)$ 和 $402.89(347.43, 442.97)$ ng/L (t 值: $2.376, 2.131, 3.007, U=215.000$, 均 $P<0.05$); 余指标间差异均无统计学意义(U 值: $206.000 \sim 401.000$, t 值: $-0.466 \sim 1.988$, 均 $P>0.05$)。

2. 不同失分化程度 DTC 间趋化因子水平的比较。在未转移组、仅淋巴结转移组、高度恶性组和 RAIR-DTC 伴远处转移组间, 仅 MDC 水平的差异有统计学意义:(1468.08 ± 401.74)、(1121.59 ± 454.20)、(976.07 ± 281.04) 和 (922.68 ± 342.41) ng/L , 且按照失分化程度增加水平逐渐降低($F=3.564, P<0.05$); 余指标间差异均无统计学意义(H 值: $0.132 \sim 7.394$, F 值: $0.279 \sim 2.433$, 均 $P>0.05$)。

3. 单次治疗组与多次治疗组间趋化因子水平的比较。多次治疗组的 IL-8 水平为 30.51(26.98, 35.57) ng/L, 高于单次治疗组 28.20(23.22, 32.51) ng/L, 差异有统计学意义($U=801.000, P<0.05$); 余指标间差异均无统计学意义(t 值: -1.387~1.888, U 值: 461.000~808.500, 均 $P>0.05$)。

4. ROC 曲线分析趋化因子水平对 DTC 转移及行多次¹³¹I 治疗的诊断效能。各趋化因子组合对预测 DTC 转移具有一定价值, 其中 Eotaxin-3+IFN-γ+MDC+TECK 联合预测 DTC 发生转移的曲线下面积(area under curve, AUC) 为 0.834(95% CI: 0.740~0.928, $P<0.001$), 灵敏度和特异性分别为 68.25%(43/63) 和 12/13, 阳性预测值和阴性预测值分别为 97.73% (43/44) 和 37.50% (12/32), 准确性为 72.37% (55/76); 相较而言, IFN-γ+MDC+TECK 联合预测 DTC 发生转移的 AUC 为 0.844 (95% CI: 0.755~0.932, $P<0.001$), 灵敏度和特异性分别为 79.37% (50/63) 和 11/13, 阳性预测值和阴性预测值分别为 96.15% (50/52) 和 45.83% (11/24), 准确性为 80.26% (61/76)。IL-8 预测行多次¹³¹I 治疗的 AUC 为 0.648 (95% CI: 0.523~0.773, $P<0.05$), 最佳阈值为 22.99 ng/L, 灵敏度和特异性分别为 100% (25/25) 和 25.49% (13/51), 阳性预测值和阴性预测值分别为 39.68% (25/63) 和 13/13, 准确性为 50.00% (38/76)。

讨 论

DTC 占甲状腺癌的 90%, 是一种恶性程度较低的肿瘤, 大多数患者行甲状腺切除术及¹³¹I 清除残留甲状腺组织后, 可存活 10 年以上; 然而, 仍有约 5%~10% 的 DTC 在¹³¹I 治疗过程中发生失分化现象, 肿瘤恶性程度显著增加, 这是甲状腺癌致死的主要原因^[8]。甲状腺癌的转移是一个复杂的过程, 涉及侵袭、血管生成、器官特异性归巢等; 其中, 以甲状腺乳头状癌发生淋巴结转移和远处转移最为常见。有学者研究发现, 趋化因子在甲状腺乳头状癌及相关自身免疫性甲状腺炎中发挥着重要作用^[9~10]。因此, 深入研究趋化因子在 DTC 中的水平变化和作用机制, 对评估其在 DTC 分化程度、转移程度和治疗预后等方面的价值, 以及监测癌症发生发展情况和提高 DTC 的精确诊疗水平具有重要意义。

Eotaxin-3 也称为 C-C 基序趋化因子配体 26(C-C motif chemokine ligand 26, CCL26), 又称为巨噬细胞炎性蛋白 (macrophage inflammatory protein 4-al-

pha), 其高表达能够促进肿瘤细胞的生长和转移能力; 高表达 Eotaxin-3 能够增强前列腺癌细胞的侵袭潜能; 上调 Eotaxin-3 可能促进肝细胞性肝癌的发生发展; Eotaxin-3 的高表达也可能与食管鳞状细胞癌的发生、发展相关, 导致患者 5 年生存率下降, 这可能为食管鳞状细胞癌的预后判断提供依据^[11~13]。然而, Eotaxin-3 在甲状腺癌中的研究少有报道, 本研究显示, Eotaxin-3 在转移组中水平下降, 这与其他肿瘤研究报道并不一致, 相关机制尚不清楚, 这可能是研究趋化因子在甲状腺癌转移中作用机制的一个突破口。

IFN-γ 是典型的促炎性细胞因子。在甲状腺肿瘤微环境中, IFN-γ 主要由 Th1 细胞分泌产生。Th1/Th2 平衡漂移说是近年来甲状腺癌研究中的热点, Th1 类细胞分泌的细胞因子, 在肿瘤免疫中起抗肿瘤作用, 而 Th2 类细胞分泌的免疫因子, 在肿瘤免疫中起抑制肿瘤免疫应答作用; 当 Th1/Th2 失衡, Th1 向 Th2 漂移时, 肿瘤细胞能够逃逸免疫系统的攻击而继续生长^[14]。研究发现, 甲状腺癌与良性甲状腺肿瘤患者 Th1 细胞分泌的 IFN-γ 明显低于正常对照组^[15], 这与本研究结果一致。但也有学者认为 IFN-γ 更易诱导 PTC 细胞发生上皮间质转化和恶性进展^[16~17]。另有研究报道, 相较于未患桥本甲状腺炎的甲状腺乳头状癌患者, 合并桥本甲状腺炎的甲状腺乳头状癌患者会产生更高浓度的 IFN-γ^[10]。上述研究均提示, IFN-γ 在甲状腺肿瘤微环境中可能存在不同的促肿瘤或抗肿瘤作用。

TECK 即 C-C 基序趋化因子受体 9 (C-C motif chemokine receptor 9, CCR9), 又称胸腺表达趋化因子, 是 CCR9 的唯一配体, 主要表达于人胸腺和小肠上皮中, 调节胸腺细胞发育和迁移^[18]。CCL25 可作为重要的介质因子, 其与 CCR9 结合后将内皮细胞、肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAMs)、肿瘤相关白细胞等募集到肿瘤微环境中, 介导肿瘤细胞归巢, 如 CCL25 诱导的肠道归巢 T 细胞可影响肠道对感染和癌症的免疫, 发挥抗肿瘤作用^[19~20]。另有研究显示, CCL25 参与了 T 细胞急性淋巴细胞白血病、乳腺癌和卵巢癌等恶性肿瘤的侵袭和转移过程, 这可能与 CCL25 结合 CCR9 后激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinases, PI3K)/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶 (protein-serine-threonine kinase, Akt) 信号通路并上调 PI3KP85/AktSer473/糖原合成酶激酶-3β (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β) Ser9/叉头蛋白 O1 (forkhead

box, FKHR) Thr24 的磷酸化水平的机制有关^[21-24]。本研究中 TECK 在甲状腺癌转移组中水平明显降低,提示其可能在甲状腺癌肿瘤微环境中发挥着肿瘤免疫的作用。

MDC(即 CCL22)是一种由 M2 型巨噬细胞分泌的趋化因子。Wang 等^[25]发现 TAMs 可以产生大量趋化因子、淋巴管生长因子和蛋白酶等介质促进肿瘤细胞的侵袭和转移。其研究显示,恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)中 TAMs 分泌的转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)通过 c-FOS 基因来诱导 CCL22 表达,CCL22 通过募集调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)使其分泌 IL-8,而高表达的 IL-8 又上调了 TGF- β 的表达,并进一步介导了 CCL22 的产生,从而形成了 MPE 中的免疫抑制性肿瘤微环境。阻断这一通路中的几个靶点,尤其是抑制 CCL22 或 IL-8 的表达,可能成为肿瘤免疫抑制治疗的新机制。但本研究中转移组 MDC 水平不升反降,在按失分化程度的分组中亦是随失分化程度的增加而降低,其机制尚需进一步研究。

本研究 ROC 曲线分析显示,IFN- γ +MDC+TECK 联合预测 DTC 发生转移的 AUC 最大(0.844),且具有较好的阳性预测值(96.15%),准确性达 80.26%,这提示 3 种趋化因子联合诊断或可用于实时监测 DTC 转移情况。本研究中,DTC 恶性程度越高,IFN- γ 、MDC 及 TECK 的水平越低,且 MDC 水平随甲状腺癌失分化程度的加重而逐渐降低($P<0.05$),提示 MDC 可能是监测 DTC 失分化的潜在分子靶标,且 MDC 水平降低可能预示着肿瘤失分化程度增加,这为监测甲状腺癌的失分化和提高患者生存预后提供了新的靶点和研究方向。然而,与前列腺癌、乳腺癌或卵巢癌等肿瘤中高表达 IFN- γ 、MDC 及 TECK 相反,本研究中转移组的 IFN- γ 、MDC 及 TECK 水平均低于非转移组(均 $P<0.05$),且 MDC 随着肿瘤失分化加重而降低。此外,虽然在不同失分化程度 DTC 组间 IFN- γ 与 TECK 的水平差异无统计学意义,但也有随失分化程度加重而降低的趋势。目前国内外文献关于 IFN- γ 、MDC 及 TECK 与甲状腺癌间作用机制的报道甚少,分析本研究结果可能与 TNM 分期、病灶摄碘能力、V-raf 鼠肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1 (V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)^{V600E}基因突变等因素有关,有待进一步探索^[26]。值得一提的是,本研究在随后的近 2 年内,观察了入组患者行¹³¹I 治疗的情况,发现多次治疗的患者 IL-8 水平高于单次治疗预后良好的

患者。ROC 曲线分析显示,采用 IL-8 预测行¹³¹I 多次治疗的 AUC 为 0.648,诊断阈值为 22.99 ng/L,灵敏度和阴性预测值均达 100%,提示 IL-8 可能能够准确鉴别出需要行多次¹³¹I 治疗的患者,但这一结果还需扩大样本量以及研究 IL-8 在 DTC 中的相关分子机制来验证。

本研究也存在一定的局限性,如样本量少、肿瘤失分化程度无法明确分层导致不能精确分组、缺乏相关趋化因子在甲状腺癌发生发展中的作用机制研究,这可能会对研究结果有一定影响等。目前,关于趋化因子在甲状腺癌侵袭、转移及 RAIR 过程中的分子机制尚未阐明,仍需继续深入研究,从而为开发特异性靶向药物及消除肿瘤提供精准的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors [J]. J Cancer Epidemiol, 2013, 2013: 965212. DOI: 10.1155/2013/965212.
- [2] 孙可欣, 郑荣寿, 张思维, 等. 2015 年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 中国肿瘤, 2019, 28(1): 1-11. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.01.A001.
Sun KX, Zheng RS, Zhang SW, et al. Report of cancer incidence and mortality in different areas of China, 2015 [J]. China Cancer, 2019, 28(1): 1-11. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.01.A001.
- [3] 赵丹, 梁军, 林岩松. 难治性分化型甲状腺癌¹³¹I 诊治进展 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2013, 33(6): 505-509. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.06.030.
Zhao D, Liang J, Lin YS. Progress in diagnosis and treatment of radioactive iodine-refractory differentiated thyroid carcinomas [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 33(6): 505-509. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.06.030.
- [4] Griffith JW, Sokol CL, Luster AD. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity [J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32: 659-702. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120145.
- [5] Yapa S, Mulla O, Green V, et al. The role of chemokines in thyroid carcinoma [J]. Thyroid, 2017, 27(11): 1347-1359. DOI: 10.1089/thy.2016.0660.
- [6] Borroni EM, Savino B, Bonecchi R, et al. Chemokines sound the alarm: the role of atypical chemokine in inflammation and cancer [J]. Semin Immunol, 2018, 38: 63-71. DOI: 10.1016/j.smim.2018.10.005.
- [7] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer [J]. Thyroid, 2016, 26(1): 1-133. DOI: 10.1089/thy.2015.0020.
- [8] Jia M, Guo Y, Lu X. USP33 is a biomarker of disease recurrence in papillary thyroid carcinoma [J]. Cell Physiol Biochem, 2018,

- 45(5): 2044-2053. DOI:10.1159/000488041.
- [9] Fallahi P, Ferrari SM, Piaggi S, et al. The paramount role of cytokines and chemokines in papillary thyroid cancer: a review and experimental results [J]. Immunol Res, 2018, 66(6): 710-722. DOI:10.1007/s12026-018-9056-x.
- [10] Zivancevic-Simonovic S, Mihaljevic O, Majstorovic I, et al. Cytokine production in patients with papillary thyroid cancer and associated autoimmune Hashimoto thyroiditis [J]. Cancer Immunol Immunother, 2015, 64(8): 1011-1019. DOI:10.1007/s00262-015-1705-5.
- [11] Ishida Y, Kido A, Akahane M, et al. Mesenchymal stem cells upregulate the invasive potential of prostate cancer cells via the eotaxin-3/CCR3 axis [J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(9): 1297-1302. DOI:10.1016/j.prp.2018.06.012.
- [12] Lin ZY, Chuang YH, Chuang WL. Cancer-associated fibroblasts up-regulate CCL2, CCL26, IL6 and LOXL2 genes related to promotion of cancer progression in hepatocellular carcinoma cells [J]. Biomed Pharmacother, 2012, 66(7): 525-529. DOI:10.1016/j.bioph.2012.02.001.
- [13] 杨小冬, 乔俊静, 秦艳茹. 食管鳞状细胞癌组织中 CCL26 的表达及其临床意义 [J]. 中国癌症杂志, 2015, (1): 13-18. DOI:10.3969/j.issn.1007-3939.2015.01.003.
- Yang XD, Qiao JJ, Qin YR. Expression of CCL26 in esophageal squamous cell carcinoma tissues and its clinical significance [J]. China Oncol, 2015, (1): 13-18. DOI:10.3969/j.issn.1007-3939.2015.01.003.
- [14] Zhang Y, Zhang Y, Gu W, et al. Th1/Th2 cell's function in immune system [J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 841: 45-65. DOI:10.1007/978-94-017-9487-9_3.
- [15] 赵纪维. 甲状腺肿瘤患者手术前后细胞因子 IFN-γ、IL-4、IL-10、IL-17 变化研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- Zhao JW. Study on the change of cytokines IFN-γ, IL-4, IL-10 and IL-17 in preoperative and postoperative patients with thyroid neoplasms [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2015.
- [16] 吕男男, 高芸, 单忠艳. IFN-γ 通过诱导上皮间质转化增强人乳头状甲状腺癌细胞株的侵袭转移能力 [J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(6): 947-951. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2019.06.010.
- Lyu NN, Gao Y, Shan ZY. IFN-γ facilitates malignant progression in PTC cell line by inducing EMT [J]. J Mod Oncol, 2019, 27(6): 947-951. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2019.06.010.
- [17] Lv N, Gao Y, Guan H, et al. Inflammatory mediators, tumor necrosis factor-α and interferon-γ, induce EMT in human PTC cell lines [J]. Oncol Lett, 2015, 10(4): 2591-2597. DOI:10.3892/ol.2015.3518.
- [18] Lee HS, Kim HR, Lee EH, et al. Characterization of CCR9 expression and thymus-expressed chemokine responsiveness of the murine thymus, spleen and mesenteric lymph node [J]. Immunobiology, 2012, 217(4): 402-411. DOI:10.1016/j.imbio.2011.10.014.
- [19] Lazennec G, Richmond A. Chemokines and chemokine receptors: new insights into cancer-related inflammation [J]. Trends Mol Med, 2010, 16(3): 133-144. DOI:10.1016/j.molmed.2010.01.003.
- [20] Fu H, Jangani M, Parmar A, et al. A subset of CCL25-induced gut-homing T cells affects intestinal immunity to infection and cancer [J]. Front Immunol, 2019, 10: 271. DOI:10.3389/fimmu.2019.00271.
- [21] Zhang Z, Sun T, Chen Y, et al. CCL25/CCR9 signal promotes migration and invasion in hepatocellular and breast cancer cell lines [J]. DNA Cell Biol, 2016, 35(7): 348-357. DOI:10.1089/dna.2015.3104.
- [22] Singh R, Stockard CR, Grizzle WE, et al. Expression and histopathological correlation of CCR9 and CCL25 in ovarian cancer [J]. Int J Oncol, 2011, 39(2): 373-381. DOI:10.3892/ijo.2011.1059.
- [23] Johnson-Holiday C, Singh R, Johnson E, et al. CCL25 mediates migration, invasion and matrix metalloproteinase expression by breast cancer cells in a CCR9-dependent fashion [J]. Int J Oncol, 2011, 38(5): 1279-1285. DOI:10.3892/ijo.2011.953.
- [24] Deng X, Tu Z, Xiong M, et al. Wnt5a and CCL25 promote adult T-cell acute lymphoblastic leukemia cell migration, invasion and metastasis [J]. Oncotarget, 2017, 8(24): 39033-39047. DOI:10.18632/oncotarget.16559.
- [25] Wang D, Yang L, Yue D, et al. Macrophage-derived CCL22 promotes an immunosuppressive tumor microenvironment via IL-8 in malignant pleural effusion [J]. Cancer Lett, 2019, 452: 244-253. DOI:10.1016/j.canlet.2019.03.040.
- [26] 郭彦君, 王叙馥, 王国强, 等. 分化型甲状腺癌术后¹³¹I 清灶疗效及影响因素分析 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2017, 37(11): 705-709. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.007.
- Guo YJ, Wang XF, Wang GQ, et al. Efficacy and influential factors of post-resection 131 I therapy on metastases from differentiated thyroid carcinoma [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2017, 37(11): 705-709. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.007.

(收稿日期: 2019-07-29)