

# 安罗替尼抑制甲状腺癌进展并诱导其再分化的实验研究

徐雨彤<sup>1</sup> 吴江<sup>2</sup> 陈君<sup>1</sup> 罗波<sup>3</sup> 王峰<sup>2</sup> 张俊<sup>1</sup>

<sup>1</sup>南京中医药大学附属泰州市人民医院核医学科,泰州 225300;<sup>2</sup>南京医科大学附属南京医院核医学科,南京 210006;<sup>3</sup>中国药科大学新药安全评价研究中心,南京 211198

通信作者:王峰, Email: fengwangcn@hotmail.com;张俊, Email: dr.junzhang@njmu.edu.cn

**【摘要】** 目的 探讨安罗替尼对甲状腺癌细胞增殖、凋亡、迁移的影响,研究其诱导再分化增强摄碘能力的作用,初步评价其肿瘤治疗效果。方法 (1)应用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测细胞增殖的变化。采用克隆形成实验、细胞活性与药物毒性染色法、划痕愈合实验和凋亡原位荧光染色法分别检测不同浓度[0、1/4 半数抑制浓度( $IC_{50}$ )、1/2 $IC_{50}$ 、 $IC_{50}$ ]安罗替尼处理 24 h 的 2 种甲状腺癌细胞(CAL62 和 FTC133)克隆形成、凋亡和迁移能力。(2)用上述不同浓度安罗替尼分别处理 CAL62 和 FTC133 细胞,采用蛋白质印迹检测细胞内碘代谢相关蛋白[钠碘同向转运体(NIS)、甲状腺过氧化物酶(TPO)及促甲状腺激素受体(TSHR)]表达水平的变化。(3)细胞摄碘实验检测上述不同浓度安罗替尼处理 24 h 的甲状腺癌细胞摄碘功能的变化。(4)构建甲状腺癌荷瘤裸鼠模型,分为对照组(生理盐水)、低剂量组(1 mg/kg)、中剂量组(2 mg/kg)和高剂量组(4 mg/kg),给予荷瘤鼠不同剂量药物治疗,评价药物对肿瘤的治疗作用以及肿瘤摄碘功能的变化。采用单因素方差分析进行组间比较。结果 CAL62 和 FTC133 细胞经不同浓度安罗替尼处理后细胞存活率降低、细胞克隆形成数目减少、细胞凋亡率升高、划痕愈合率降低( $F$  值:53.75~211.90,均  $P<0.001$ )。经安罗替尼处理后,CAL62、FTC133 细胞内碘代谢相关蛋白(NIS、TPO 及 TSHR)水平明显升高( $F$  值:21.14~710.00,均  $P<0.001$ );细胞摄碘率亦明显升高( $F$  值:36.45、32.34,均  $P<0.001$ )。荷瘤裸鼠治疗实验结果显示,安罗替尼治疗组小鼠肿瘤生长受抑制,肿瘤摄碘率升高( $F$  值:74.09、38.22,均  $P<0.001$ )。结论 安罗替尼能抑制甲状腺癌增殖与生长、促进凋亡、降低细胞迁移能力并诱导甲状腺癌细胞再分化、摄碘能力增强。安罗替尼能在动物水平诱导甲状腺癌再分化,有较好的疗效。

**【关键词】** 甲状腺肿瘤;蛋白激酶抑制剂;吡啶类;肿瘤细胞,培养的;小鼠,裸;Anlotinib

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240326-00116

## Experimental study on the inhibitory effects of anlotinib on thyroid cancer progression and its induction of redifferentiation

Xu Yutong<sup>1</sup>, Wu Jiang<sup>2</sup>, Chen Jun<sup>1</sup>, Luo Bo<sup>3</sup>, Wang Feng<sup>2</sup>, Zhang Jun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Nuclear Medicine, Taizhou People's Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Taizhou 225300, China; <sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Nanjing Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China; <sup>3</sup>Center for New Drug Safety Evaluation and Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Corresponding authors: Wang Feng, Email: fengwangcn@hotmail.com; Zhang Jun, Email: dr.junzhang@njmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the effects of anlotinib on the proliferation, apoptosis, and migration of thyroid cancer cells, and investigate its role in inducing redifferentiation and enhancing iodine uptake capacity, providing a preliminary evaluation of its efficacy in tumor treatment. **Methods** (1) The cell proliferation was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay, and different concentrations (0, 1/4 half maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ), 1/2 $IC_{50}$ ,  $IC_{50}$ ) of anlotinib were used to treat CAL62 and FTC133 thyroid cancer cells for 24 h. The clonogenic formation experiment, cellular activity and drug toxicity staining, scratch healing assay, and apoptosis in situ fluorescence staining were employed to assess cell clonogenicity, apoptosis, and migration abilities. (2) CAL62 and FTC133 cells were treated with various concentrations of anlotinib, and changes in the expression levels of iodine metabolism-related proteins (sodium/iodide symporter (NIS), thyroid peroxidase (TPO), and thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR)) were detected using Western blot. (3) Iodine uptake experiments were conducted to observe changes in the iodine uptake functionality of thyroid cancer cells following treatment with different concentrations of anlotinib for 24 h. (4) The thyroid cancer xenograft nude mouse models were established and divided into control

group (physiological saline), low-dose group (1 mg/kg), medium-dose group (2 mg/kg), and high-dose group (4 mg/kg). Mice were treated with varying doses of the drug, the therapeutic effects and the changes in iodine harvesting function on tumors were evaluated. One-way analysis of variance was used for comparison among groups. **Results** Anlotinib treatment resulted in significantly reduced cell viability, decreased clonogenic formation, increased apoptosis rates, and reduced scratch healing rates in CAL62 and FTC133 cells ( $F$  values: 53.75–211.90, all  $P < 0.001$ ). After anlotinib treatment, the levels of iodine metabolism-related proteins (NIS, TPO and TSHR) significantly increased ( $F$  values: 21.14–710.00, all  $P < 0.001$ ), and iodine uptake rates in thyroid cancer cells also increased significantly ( $F$  values: 36.45, 32.34, both  $P < 0.001$ ). The nude mouse treatment experiment showed tumor growth in the anlotinib treatment group was inhibited, and tumors iodine uptake rates were increased, both were statistically significant ( $F$  values: 74.09, 38.22, both  $P < 0.001$ ). **Conclusions** Anlotinib can inhibit thyroid cancer proliferation and growth, promote apoptosis, reduce cell migration capabilities, induce thyroid cancer cells redifferentiation, and enhance iodine uptake capacity. Anlotinib can induce the redifferentiation of thyroid cancer at the animal level and has better efficacy.

**【Key words】** Thyroid neoplasms; Protein kinase inhibitors; Indoles; Tumor cells, cultured; Mice, nude; Anlotinib

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240326-00116

甲状腺癌作为常见的内分泌系统恶性肿瘤之一,在全球范围内呈现不断上升的发病趋势<sup>[1]</sup>。其中分化型甲状腺癌(differentiated thyroid cancer, DTC)最常见,大多数患者通过积极监测、手术、术后放射性碘治疗和促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone, TSH)抑制治疗预后良好,10年生存率可达90%<sup>[2]</sup>。但是少部分患者在治疗过程中出现远处转移和局部复发,在初始或治疗过程中丧失摄碘能力,成为放射性碘难治性DTC(radioactive iodine-refractory DTC, RAI-R-DTC),10年生存率不足10%<sup>[3]</sup>。研究显示,酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)对甲状腺癌具有较好的治疗作用,并可能使失分化的甲状腺癌细胞再分化后重新获得摄碘功能<sup>[4-6]</sup>。因此,应用TKI类药物诱导RAI-R-DTC再分化后再行放射性碘治疗被认为是一种新的治疗策略<sup>[7-8]</sup>。本文选择国产TKI类药物安罗替尼进行甲状腺癌治疗和再分化相关实验研究,现报道如下。

## 材料与方 法

### 一、实验材料

CAL62及FTC133甲状腺癌细胞由中国科学院干细胞库提供。4~5周龄的雌性BALB/c裸鼠均由杭州子源实验动物科技有限公司提供,共48只,体质量为20~24g,许可证号:SCXK(浙)2019-0004,于无特定病原体(specific-pathogen free, SPF)环境中饲养。动物实验经南京医科大学附属南京医院实验动物伦理委员会批准(DWSY-23153599)。

实验试剂安罗替尼由南京正大天晴药业集团股份有限公司提供。RPMI-1640、DMEM培养基和PBS购自南京凯基生物科技发展有限公司,胎牛血

清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Gibco公司,胰蛋白酶购自上海雅酶生物医药科技有限公司,BD基质胶购自美国Corning公司。鼠抗人钠碘同向转运体(sodium/iodide symporter, NIS)抗体、兔抗人内参蛋白( $\beta$ -actin)、甲状腺过氧化物酶(thyroid peroxidase, TPO)及TSH受体(TSH receptor, TSHR)抗体购自英国Abcam公司,凝胶配置试剂、电泳缓冲液及转膜液购自南京凯基生物科技发展有限公司。细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)、细胞活性染色试剂盒、Hoechst 33342染色试剂盒购自上海碧云天生物技术股份有限公司。

### 二、实验方法

1. 体外细胞培养。在37℃、体积分数5%CO<sub>2</sub>的培养条件下,用含体积分数10%FBS、1%青霉素-链霉素的RPMI-1640和DMEM完全培养液培养细胞。CAL62及FTC133甲状腺癌细胞均呈上皮细胞样形态贴壁生长。

2. CCK-8检测。细胞以5×10<sup>3</sup>个/孔的密度接种于96孔板。对照组加入100μl正常培养液,实验组分别加入100μl含不同浓度(100、500、1200、2000、2500、3000、5000、10000、20000nmol/L)安罗替尼的培养液,置培养箱继续温育24h。每孔加入10μl CCK-8溶液,用酶联免疫检测仪(美国Bio-Rad公司)于450nm波长处测量各孔光密度值。每组设6个复孔,使用GraphPad Prism 9软件计算半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。实验重复3次。

3. 克隆形成实验。细胞以1000个/孔的密度接种到6孔板中,对照组为正常培养液,实验组分别为含不同浓度安罗替尼(1/4IC<sub>50</sub>、1/2IC<sub>50</sub>、IC<sub>50</sub>)的培养液。每组3个复孔,37℃培养箱培养14d,待长

出可见的克隆即终止培养。使用质量分数 4% 多聚甲醛固定,结晶紫染色,风干后拍照并计数。实验重复 3 次。

4. 细胞活性与细胞毒性实验。细胞按  $1 \times 10^5$  个/孔接种于 24 孔板,分组和浓度同方法 3,培养 24 h。用 250  $\mu\text{l}$  的钙黄绿素-AM/碘化丙啶检测工作液 37  $^{\circ}\text{C}$  避光温育 1 h 后,荧光显微镜下观察染色效果。使用 ImageJ 软件进行定量处理。实验重复 3 次。

5. 划痕愈合实验。细胞按  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板,细胞量增殖至占每孔底面积约 80%~90% 后,使用 200  $\mu\text{l}$  标准移液器吸头尖端在每孔中间划线条以形成划痕创伤,记录此时划痕面积为  $S_{0\text{h}}$ ,分组浓度同方法 3。继续培养细胞 24 h。在光学显微镜下随机选取 3 个视野( $\times 100$ )观察拍摄划痕愈合照片,记录此时划痕面积为  $S_{24\text{h}}$ 。使用 LG-3 Scientific Frame Grabber 软件采集图像,并用 ImageJ 软件进行图像分析,计算愈合率。愈合率( $\%$ ) =  $(S_{0\text{h}} - S_{24\text{h}}) / S_{0\text{h}} \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

6. 凋亡细胞检测。采用 Hoechst33342 染色法检测凋亡。细胞接种、分组和药物处理方法同方法 4。每孔加 5  $\mu\text{l}$  AnnexinV-异硫氰酸荧光素和 10  $\mu\text{l}$  碘化丙啶染色液,荧光显微镜下观察结果,使用 ImageJ 软件进行定量处理。实验重复 3 次。

7. 蛋白质印迹(Western blot)检测。细胞接种及分组方法同方法 5。收集 6 孔培养板中各组细胞并提取其蛋白质,电泳分离后转膜封闭,分别用以下一抗进行免疫印迹实验: $\beta$ -actin(1:5 000)、TPO(1:2 000)、TSHR(1:2 000)、NIS(1:1 000),将膜洗净后加入二抗(1:5 000)温育 1 h。用增强型化学发光试剂显色,用 ImageJ 分析灰度,进行半定量比较。

8. 细胞摄碘实验。细胞接种、分组和药物处理方法同方法 4。弃培养液,每孔加入含 0.02 MBq  $\text{Na}^{125}\text{I}$  的完全培养基 500  $\mu\text{l}$ ,培养 30 min,加入胰酶消化,收集细胞至测量管。美国 PerkinElmer 公司  $\gamma$  计数器测量各管计数,并计算摄取率。摄取率 = 药物组放射剂量/标准管放射剂量  $\times 100\%$ 。实验重复 3 次。

9. 甲状腺癌裸鼠移植瘤模型及初步治疗实验。收集 CAL62 和 FTC133(含  $5 \times 10^6$  个细胞),将细胞悬液与基质胶按照 2:1 比例充分混匀,吸取 100  $\mu\text{l}$  混悬液接种于小鼠左前肢腋下。肿瘤长至合适大小(长径  $\geq 1$  cm)时,将其分为对照组(生理盐水)、低剂量组(1 mg/kg;按体质量,下同)、中剂量组(2 mg/kg)和高剂量组(4 mg/kg),每组 6 只。给药剂量依据系数折算法结合安罗替尼临床用量分为高

中低剂量组。给药方式:对照组灌胃同等体积生理盐水;实验组每天灌胃不同剂量安罗替尼,给药 2 周。给药期间隔天观察小鼠体质量情况,在第 14 天颈椎脱臼处死,完整切取各组荷瘤小鼠皮下移植瘤,称取质量,并计算抑瘤率。抑瘤率( $\%$ ) = (对照组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量)/对照组平均瘤质量  $\times 100\%$ 。

10. 甲状腺癌裸鼠移植瘤模型摄碘实验。小鼠造模及治疗分组方法同方法 9。2 周后,尾静脉注射 1.85 MBq  $\text{Na}^{125}\text{I}$  后 24 h 颈椎脱臼处死,完整切取各组荷瘤小鼠皮下移植瘤收集至测量管。 $\gamma$  计数器测量各管计数。

### 三、统计学处理

采用 GraphPad Prism 9 软件分析数据,符合正态分布的定量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义(双侧检验)。

## 结 果

1. 安罗替尼对甲状腺癌细胞增殖、克隆形成、迁移、凋亡的影响。CCK-8 实验结果显示,不同浓度安罗替尼处理 CAL62 与 FTC133 细胞后光密度值均有降低,且细胞增殖抑制效应呈药物浓度依赖性。安罗替尼对 CAL62 细胞的  $\text{IC}_{50}$  为 3 714 nmol/L,对 FTC133 细胞的  $\text{IC}_{50}$  为 2 375 nmol/L。

不同浓度安罗替尼处理后,2 种细胞克隆数目、存活率、划痕愈合率均有减少,细胞凋亡率升高,且随安罗替尼浓度升高呈浓度依赖性变化( $F$  值:53.75~211.90,均  $P < 0.001$ ;表 1)。

2. 甲状腺癌细胞内甲状腺相关蛋白的表达水平(图 1)。不同浓度安罗替尼处理后,2 种细胞的甲状腺碘代谢相关蛋白(TPO、TSHR、NIS)表达水平均有升高,且呈药物浓度依赖性变化(CAL62: $F$  值:21.14、88.08、95.99,均  $P < 0.001$ ;FTC133: $F$  值:710.00、191.00、290.60,均  $P < 0.001$ )。

3. 安罗替尼对甲状腺癌裸鼠移植瘤的抑制作用。对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组小鼠体质量情况未有明显下降。不同剂量安罗替尼治疗后移植瘤质量均明显减少;第 14 天时 CAL62 荷瘤小鼠肿瘤质量(单位:mg)分别为  $911.31 \pm 65.10$ 、 $672.40 \pm 62.48$ 、 $429.51 \pm 151.38$ 、 $250.61 \pm 54.24$ ,抑瘤率分别为  $(26.22 \pm 6.85)\%$ 、 $(52.87 \pm 16.61)\%$ 、 $(72.50 \pm 5.95)\%$ ;FTC133 荷瘤小鼠肿瘤质量(单位:mg)分别为  $446.67 \pm 79.46$ 、 $315.71 \pm 30.17$ 、 $211.25 \pm 14.47$ 、 $132.16 \pm 19.64$ ,抑

表 1 安罗替尼对甲状腺癌细胞克隆、细胞活性、迁移、凋亡的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	细胞克隆形成数(个)		细胞存活率(%)		划痕愈合率(%)		细胞凋亡率(%)	
	CAL62	FTC133	CAL62	FTC133	CAL62	FTC133	CAL62	FTC133
对照	263±28	184±4	97.02±1.67	96.18±2.42	49.75±1.42	51.68±1.88	0.98±0.23	3.38±0.81
1/4IC <sub>50</sub>	172±17	133±10	86.20±4.45	73.77±4.23	33.96±2.79	34.67±3.57	3.86±0.22	7.55±0.28
1/2IC <sub>50</sub>	115±25	76±12	68.24±2.11	63.16±1.84	25.81±3.31	15.65±1.33	8.02±1.31	10.95±1.65
IC <sub>50</sub>	46±10	24±5	52.92±3.64	49.43±5.33	8.71±1.19	6.20±1.21	18.09±1.66	23.43±0.93
F 值	53.75	185.40	112.90	84.20	157.80	211.90	146.70	207.60
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:IC<sub>50</sub>为半数抑制浓度;对照为正常培养液;各实验重复 3 次

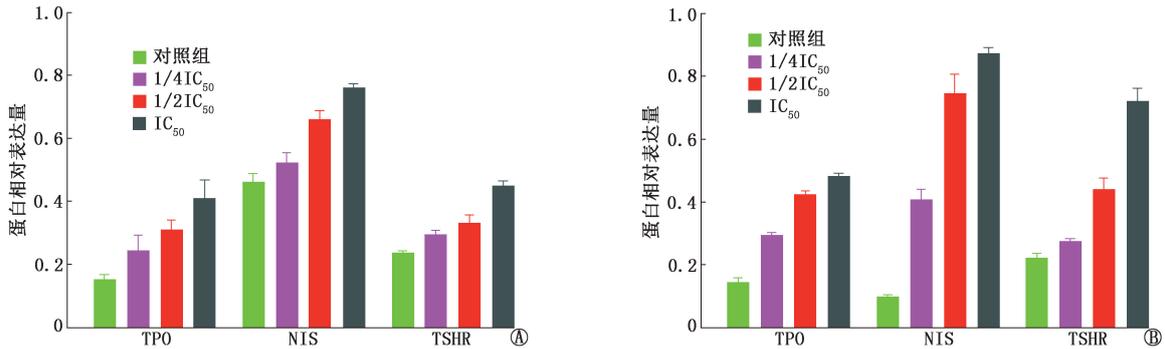


图 1 不同浓度的安罗替尼处理后的甲状腺癌细胞(A. CAL62;B. FTC133)中甲状腺相关蛋白的相对表达量。IC<sub>50</sub>为半数抑制浓度,TPO 为甲状腺过氧化物酶,NIS 为钠碘同向转运体,TSHR 为促甲状腺激素受体

率分别为(29.32±6.75)%、(52.71±3.24)%、(70.41±4.40)%,且呈药物浓度依赖性(F 值:29.25、33.43、28.43、147.80,均 P<0.001)。

4.安罗替尼对甲状腺癌细胞及裸鼠移植瘤摄碘功能的影响(表 2)。安罗替尼处理后甲状腺癌细胞及肿瘤摄碘功能均有提高,且呈药物浓度依赖性(F 值:32.34~74.09,均 P<0.001)。

表 2 安罗替尼对甲状腺癌细胞及裸鼠移植瘤摄碘功能的影响(%; $\bar{x}\pm s$ )

组别	细胞		组别	肿瘤	
	CAL62	FTC133		CAL62	FTC133
对照	3.51±0.14	7.87±1.26	对照	0.06±0.03	0.32±0.11
1/4IC <sub>50</sub>	5.43±0.15	12.14±0.32	1 mg/kg	0.19±0.06	0.61±0.08
1/2IC <sub>50</sub>	7.08±0.60	15.22±0.76	2 mg/kg	0.58±0.12	1.40±0.04
IC <sub>50</sub>	9.17±1.22	17.66±2.08	4 mg/kg	1.57±0.23	2.74±0.58
F 值	36.45	32.34	F 值	74.09	38.22
P 值	<0.001	<0.001	P 值	<0.001	<0.001

注:细胞实验对照为正常培养液,动物实验对照为生理盐水;细胞实验重复 3 次,各组小鼠数为 6 只

### 讨 论

RAIR-DTC 由于肿瘤细胞失分化,NIS 等碘代谢相关基因表达降低,摄碘功能下降或丧失,因此对<sup>131</sup>I 治疗不敏感,通常患者预后较差。其发生可能与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,

MAPK)和磷酸酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositide 3-kinase, PI3K)通路的异常激活有关。目前,常用的 TKI 类靶向药物主要作用于 MAPK 与 PI3K 通路上游的相关靶点<sup>[9-10]</sup>。因此笔者提出假设:TKI 通过抑制这些上游靶点,可能会抑制下游信号通路的异常激活,从而使肿瘤细胞再分化并获得摄碘能力。安罗替尼是国产 TKI 类药物,在治疗局部晚期或转移性 RAIR-DTC 方面显示出良好的疗效和安全性<sup>[11]</sup>。本实验旨在研究安罗替尼能否在杀伤癌细胞的同时,恢复失分化的甲状腺癌细胞中 NIS 等碘代谢相关基因的表达,从而恢复肿瘤细胞的摄碘功能。

本研究选用的 CAL62 和 FTC133 细胞株分别为未分化甲状腺癌细胞和滤泡状甲状腺癌细胞,恶性程度有所不同,摄碘能力亦有所差异。经安罗替尼处理过的甲状腺癌细胞增殖、克隆形成、迁移能力均发生了降低,细胞凋亡则显著增加,且这些变化呈现出浓度依赖性。动物实验中,安罗替尼对荷瘤裸鼠的肿瘤生长产生了抑制效果,小鼠体质量未见明显减轻。

NIS 是甲状腺细胞碘代谢的关键转运系统<sup>[12-13]</sup>,其表达的提高和恢复是失分化肿瘤细胞再次分化和重获摄碘功能的关键指标。本研究结果显示,安罗替尼处理后,甲状腺癌细胞的 NIS、TPO 及 TSHR 的蛋白水平显著升高,摄碘能力提升,且呈现

浓度依赖性;裸鼠移植瘤摄碘功能也有提高。上述实验结果初步揭示了安罗替尼促使甲状腺癌细胞再分化的机制,也证实了作者的假设:安罗替尼可能通过抑制血管内皮生长因子受体等上游靶点,进而抑制下游通路的激活,使 NIS 等碘代谢相关基因表达和细胞摄碘功能得以恢复。然而,安罗替尼间接作用于下游哪些通路和靶点仍需要进一步研究。

此外,本研究中,作为 DTC 的 FTC133 细胞,本身具备摄碘能力,安罗替尼治疗后摄碘功能得到明显增强;而 CAL62 作为一种未分化癌细胞,本身并不具备摄碘功能,在安罗替尼治疗后摄碘功能也得到部分恢复。这提示,安罗替尼联合<sup>131</sup>I 治疗不仅有可能用于分化型甲状腺癌,也有可能用于未分化癌,当然这需要进一步的研究证实。

本研究尚存在一些不足。首先,仅选用了 CAL62(未分化)和 FTC133(滤泡癌)2 种细胞株,未进行 RAI-DTC 细胞模型的验证;其次,动物水平未进行在体显像研究。将在未来的实验中进一步完善。

综上,本研究从细胞和动物水平证实,安罗替尼对甲状腺癌具有较好的治疗作用;同时,安罗替尼对甲状腺癌细胞具有再分化作用,可以提高细胞 NIS 等碘代谢蛋白的水平,恢复或提高细胞摄碘能力。本研究为安罗替尼联合<sup>131</sup>I 治疗 RAI-DTC 患者提供了实验依据。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 徐雨彤:研究实施、论文撰写;吴江、陈君、罗波:统计学分析;王峰、张俊:研究指导、论文修改、经费支持

## 参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33. DOI:10.3322/caac.21708.
- [2] 辛笛诺,杨素云.甲状腺癌患者自我报告结局评估工具的研究进展[J].现代临床护理, 2022, 21(4): 77-83. DOI:10.3969/j.issn.1671-8283.2022.04.011.  
Xin DN, Yang SY. Assessment tools for self-reported outcome by thyroid cancer patient[J]. Mod Clin Nurs, 2022, 21(4): 77-83. DOI:10.3969/j.issn.1671-8283.2022.04.011.
- [3] 中国临床肿瘤学会核医学专家委员会,中国临床肿瘤学会甲状腺癌专家委员会,中华医学会核医学分会,等.放射性碘难治性分化型甲状腺癌诊治管理指南(2024 版)[J].中华核医学与分子影像杂志, 2024, 44(6): 359-372. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240125-00034.  
Nuclear Medicine Expert Committee of Chinese Society of Clinical Oncology, Thyroid Cancer Expert Committee of Chinese Society of Clinical Oncology, Chinese Society of Nuclear Medicine, et al. Management guidelines for radioactive iodine-refractory differentia-
- ted thyroid cancer (2024 edition)[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2024, 44(6): 359-372. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240125-00034.
- [4] Lin YS, Zhang X, Wang C, et al. Long-term results of a phase II trial of Apatinib for progressive radioiodine refractory differentiated thyroid cancer [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2021, 106(8): e3027-e3036. DOI:10.1210/clinem/dgab196.
- [5] Chen J, Ji Q, Bai C, et al. Surufatinib in Chinese patients with locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer and medullary thyroid cancer: a multicenter, open-label, phase II trial [J]. Thyroid, 2020, 30(9): 1245-1253. DOI:10.1089/thy.2019.0453.
- [6] 丁颖,张立,柳宇,等.关于甲状腺癌靶向药物治疗启动时机的思考[J].中华核医学与分子影像杂志, 2023, 43(8): 504-507. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20230523-00145.  
Ding Y, Zhang L, Liu Y, et al. Thoughts on the timing of targeted therapy initiation for thyroid cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2023, 43(8): 504-507. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20230523-00145.
- [7] 钟璇,张俊.放射性碘难治性分化型甲状腺癌靶向治疗进展[J].中华转移性肿瘤杂志, 2023, 6(1): 83-88. DOI:10.3760/cma.j.cn101548-20220502-00029.  
Zhong X, Zhang J. Progress in targeted therapy for radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer[J]. Chin J Metastatic Cancer, 2023, 6(1): 83-88. DOI:10.3760/cma.j.cn101548-20220502-00029.
- [8] 汪君瑶,何紫燕,邱娴,等.甲状腺癌失分化机制与分化治疗的研究进展[J].中华核医学与分子影像杂志, 2022, 42(11): 686-691. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20220712-00223.  
Wang JY, He ZY, Qiu X, et al. Research progress in thyroid cancer: dedifferentiation mechanisms and differentiation therapies [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2022, 42(11): 686-691. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20220712-00223.
- [9] Fallahi P, Ferrari SM, Galdiero MR, et al. Molecular targets of tyrosine kinase inhibitors in thyroid cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 79: 180-196. DOI:10.1016/j.semcancer.2020.11.013.
- [10] Qin S, Li A, Yi M, et al. Recent advances on anti-angiogenesis receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy [J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 27. DOI:10.1186/s13045-019-0718-5.
- [11] 张帅,王艳.安罗替尼治疗恶性肿瘤的临床进展[J].现代肿瘤医学, 2023, 31(19): 3697-3701. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2023.19.033.  
Zhang S, Wang Y. Clinical progress of anrotinib in the treatment of malignant tumor[J]. J Mod Oncol, 2023, 31(19): 3697-3701. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2023.19.033.
- [12] Prete A, Borges de Souza P, Censi S, et al. Update on fundamental mechanisms of thyroid cancer[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11: 102. DOI:10.3389/fendo.2020.00102.
- [13] 纪雨柔,张雯雯,曲芃芃.安罗替尼抗肿瘤机制的研究进展[J].中国新药杂志, 2023, 32(9): 906-910. DOI:10.3969/j.issn.1003-3734.2023.09.007.  
Ji YR, Zhang WW, Qu PP. Research progress of anti-tumor mechanism of anlotinib[J]. Chin J New Drugs, 2023, 32(9): 906-910. DOI:10.3969/j.issn.1003-3734.2023.09.007.

(收稿日期:2024-03-26)