

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.11.001

· 专家论坛 ·

## 基于质谱的高通量蛋白质组学技术对甲状腺癌精准诊疗的推动

梁楠, 冉冰冰, 孙辉(吉林大学 中日联谊医院 甲状腺外科, 吉林省外科转化医学重点实验室, 吉林省甲状腺疾病防治工程实验室, 吉林 长春 130033)



**孙辉** 教授、博士研究生导师, 国务院特殊津贴专家。现任吉林大学中日联谊医院甲状腺外科主任、吉林大学中日联谊医院教育教学委员会主任, 中国医师协会、中国抗癌协会、中国研究型医院学会甲状腺专业委员会副主任委员, 吉林省医师协会甲状腺疾病专业委员会主任委员, 中国医师协会甲状腺专科医师全国培训基地、吉林省外科转化医学重点实验室和吉林省甲状腺疾病防治重点实验室主任。主要从事甲状腺(旁)腺、乳腺疾病的规范化诊疗、科学研究及专科医师培训工作, 主持和参与国家自然科学基金项目3项、主持省部级研究课题19项。主编学术专著10余部, 执笔撰写《甲状腺专科临床指南》3部; 发表学术论文300余篇, 其中SCI收录论文70余篇; 获国家专利授权6项, 获吉林省科学技术进步奖5项、吉林省科技成果奖2项、吉林省自然科学成果奖2项。

**[摘要]** 甲状腺癌是常见的内分泌恶性肿瘤, 发病率逐年增加。深入了解甲状腺癌发生发展机制对提高诊断准确性、进行精准风险分层和实现个性化治疗至关重要。近年来, 随着质谱相关技术的不断发展, 基于不同标本类型(细胞、组织、血清和尿液)的多种蛋白质组学分析方法已被广泛应用于甲状腺癌的研究中, 从阐明发病机制、诊断分型、预测预后和靶向治疗等方面积极地推动了甲状腺癌精准诊疗的发展。

**[关键词]** 甲状腺癌; 质谱; 蛋白质组学; 生物标志物; 精准诊疗

**[中图分类号]** R730.2; R398.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)11-1199-07

## The promotion of precise diagnosis and treatment of thyroid cancer by mass spectrometry-based high throughput proteomics technologies

LIANG Nan, RAN Bingbing, SUN Hui (Department of Thyroid Surgery, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Jilin Provincial Key Laboratory of Surgical Translational Medicine, Jilin Provincial Engineering Laboratory of Thyroid Disease Prevention and Control, Changchun 130033, Jilin, China)

**[Abstract]** Thyroid cancer is a common endocrine malignant tumor, and its incidence is increasing year by year. Understanding the pathogenesis of thyroid cancer is essential for improving the accuracy of diagnosis, precise risk stratification, and the realization of personalized treatment. Recently, with the consistent development of mass spectrometry-related technologies, a variety of proteomics analysis methods based on different specimen types (cells, tissues, serum and urine) have been widely used in the research of thyroid cancer, thereby actively promote the development of precision diagnosis and treatment of thyroid cancer through elucidating the pathogenesis, diagnostic classification, prognosis prediction and targeted therapy etc.

**[Key words]** thyroid cancer; mass spectrometry; proteomics; biomarker; precise diagnosis and treatment

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(11): 1199-1205. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.11.001]

甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤, 近年来, 全球甲状腺癌发病率呈显著上升趋势。2019年美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南指出, 甲状腺癌发病人数较20年前增加了4.99倍, 近十年来, 女性发病率每年增加7.3%, 男性每年增加6.2%<sup>[1]</sup>。基于目前的诊疗手段, 甲状腺癌患者生存预后状况已有较大改善, 但临床上仍面临着部分病例发现不及时、诊断不确切、难治性甲状腺癌的治疗效果不佳等问题。近几年来, 基于质谱(mass

spectrometry, MS)的高通量和高精度的蛋白质组

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No.81702651); 吉林省直属卫生专项基金(No.2018SCZ007)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81702651), and the Special Health Project Directly from Jilin Province (No.2018SCZ007)

**[作者简介]** 梁楠(1987-), 女, 博士, 主要从事甲状腺及甲状旁腺相关疾病的临床与基础方面的研究, E-mail: liangnan2006@jlu.edu.cn

**[通信作者]** 孙辉(SUN Hui, corresponding author), E-mail: s\_h@jlu.edu.cn

学技术飞速发展,促使蛋白质组学在肿瘤研究中广泛应用<sup>[2-3]</sup>。本文对基于MS的蛋白质组学技术在甲状腺癌的发病机制、诊断分型、治疗和预后等方面的研究进展进行综述,旨在为推动甲状腺癌精准诊疗的发展提供新的思路和依据。

### 1 推动甲状腺癌精准诊疗的蛋白质组学分析技术

蛋白质组学是以MS技术为基础,以蛋白质为研究对象,整体系统分析细胞、组织、器官或生物体内蛋白质组成及其变化的学科<sup>[4]</sup>。近年来,随着MS技术的不断改进,蛋白质组学分析技术在肿瘤研究中得到了广泛应用。目前,应用于肿瘤蛋白质组学分析的方法主要包括液相色谱-串联质谱技术(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)、细胞培养条件下稳定同位素标记氨基酸技术(stable-isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC)、同位素亲和标签技术(isotope-coded affinity tag, ICAT)、同位素标记相对和绝对定量技术(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)和串联质谱标签技术(tandem mass tag, TMT)等。

除此之外,新近研发的基质辅助激光解吸电离MS成像技术(matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging, MALDI-MSI)在帮助研究人员探索甲状腺癌的蛋白质谱方面极具潜力<sup>[5]</sup>。MALDI-MSI通过结合MS技术与成像技术对组织中生物分子进行原位分析,同时提供分子的空间分布信息。由于该技术具有对样品处理要求低、操作简便快速、高通量和高灵敏度等优点,引起学者们的广泛关注<sup>[6]</sup>。尤其在甲状腺癌研究领域, MALDI-MSI表现出较大优势。一方面,经MALDI-MSI处理的甲醛固定石蜡包埋组织(formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE)标本可用性增加<sup>[7]</sup>;另一方面, MALDI-MSI可用于分析更具挑战性的细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)标本,同时增加FNA洗脱液标本检测的可行性<sup>[8-10]</sup>。已有研究<sup>[11]</sup>借助MALDI-MSI技术揭示了同一患者甲状腺癌原发肿瘤与区域转移淋巴结表型的异质性。随着该技术的不断发展, MALDI-MSI可能成为探索甲状腺癌诊治新方案的较为理想的方法。

### 2 应用于甲状腺癌蛋白质组学研究的主要标本类型

目前用于甲状腺癌蛋白质组学研究的生物标本类型主要包括FNA标本、肿瘤组织标本、血液标本和

尿液标本等,各种标本优缺点如表1所示。

作为临床上常用的检测标本, FNA标本易操作、低成本、创伤小,但有时无法获得足够的肿瘤细胞,常难以明确诊断<sup>[12]</sup>。肿瘤组织内蛋白质丰度高,因此,新鲜/冰冻组织(fresh/frozen, FF)和FFPE是学者们比较青睐的标本类型<sup>[7,13]</sup>。但创伤大、成本高、标本采集误差大是组织标本的缺点。相比较,血液或尿液等生物体液标本创伤小/无创、成本低、易获取、应用广泛,已有学者在血液<sup>[14]</sup>和尿液<sup>[15]</sup>中发现甲状腺癌特异性标志物。

不同标本类型具有各自优缺点,针对不同研究目的,选取合适的标本类型对蛋白质组学分析技术至关重要。常用的蛋白质组学技术如ICAT、iTRAQ/TMT、非标记(label-free)定量可分析各种类型的标本,如组织、体液、细胞培养物、亚细胞器等。SILAC是标记定量蛋白质组学技术的重要组成部分,其准确性好、重复度高,但仅适用于细胞标本。另外,大规模标本尤其是血液标本的蛋白质组学分析,可采用数据非依赖性质谱(data-independent acquisition mass spectrometry, DIA)采集方法进行研究。近年来, MALDI-MSI在甲状腺癌研究领域表现出较大优势,可对组织标本和更具挑战性的FNA标本进行处理分析<sup>[8-10]</sup>。随着蛋白质组学技术的不断发展,基于不同标本类型的广泛研究必将促进甲状腺癌的微创/无创诊断和精准治疗。

表1 用于甲状腺癌蛋白质组学研究的标本类型的优缺点

标本类型	优点	缺点
FNA	①创伤小 ②较易操作 ③成本低	①细胞数目少 ②受血液蛋白质影响大 ③标本采集误差大
组织	①可直接比较分析 ②肿瘤相关蛋白丰度较高	①创伤大 ②成本高 ③标本采集误差大
血液	①创伤小 ②成本低 ③相对精确 ④可短时间内重复检测	①成分复杂 ②个体差异 ③储存运输困难
尿液	①无创伤 ②大容量 ③成本低	①蛋白质浓度低 ②个体差异 ③易被稀释 ④蛋白质浓度受多种因素影响

### 3 基于MS的高通量蛋白质组学技术在甲状腺癌精准诊疗中的应用

#### 3.1 阐明甲状腺癌的发病机制

甲状腺癌的发生发展是多因素、多阶段、多水平

的复杂过程,具体机制尚不明确。目前研究多集中于基因水平,BRAF、RAS、RET、TERT等基因突变和多种微小RNA(microRNA,miR)如miR-146b、miR-221和miR-222等均与甲状腺癌的发生发展密切相关<sup>[16-18]</sup>。但基因水平的改变并不代表最终执行功能的蛋白质表达水平的改变,因此,通过基于MS的高通量蛋白质组学技术探索甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer,PTC)、甲状腺滤泡癌(follicular thyroid cancer,FTC)、甲状腺髓样癌(medullary thyroid cancer,MTC)等不同类型甲状腺癌的发生发展机制,将为揭示甲状腺癌发病机制提供新思路,推动甲状腺癌诊治向精准医疗方向发展。

3.1.1 PTC 研究<sup>[19]</sup>发现,PTC组织中丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase,PC)表达上调,PC通过持续激活三羧酸循环进而促进肿瘤细胞增殖,提示三羧酸循环异常可能是PTC的诱导因素。基于蛋白基因组学分析,KRISHNAN等<sup>[20]</sup>发现,TFG(TRK fused gene)-RET的过表达导致E3泛素连接酶HUWE1(HECT,UBA,WWE domain containing 1)表达上调,从而介导PTC发生。

PTC极易发生淋巴结转移(Lymph node metastases,LNM),影响患者生存预后,但其发生机制尚未阐明。XIONG等<sup>[21]</sup>采用TMT和LC-MS/MS技术比较发生和未发生LNM的PTC组织发现,LNM可能与细胞外基质形成、三羧酸循环、清道夫受体配体结合摄取有关。基于iTRAQ和LC-MS/MS技术,JIN等<sup>[22]</sup>揭示肝癌衍生生长因子(hepatoma-derived growth factor,HDGF)和高迁移率蛋白I-C(high mobility group isoform I-C,HMGI-C)可能与甲状腺微小乳头状癌(papillary thyroid microcarcinoma,PTMC)发生LNM密切相关。

3.1.2 FTC MARTINEZ-AGUILAR等<sup>[13]</sup>通过比较甲状腺滤泡性腺瘤(follicular adenoma,FA)和FTC组织差异表达蛋白(differentially expressed protein,DEP)发现,只有转化生长因子 $\beta$ 诱导蛋白(transforming growth factor- $\beta$ -induced protein,TGFBIp)在FTC组织中表达显著增高,其可能在FA向FTC进展的过程中起到重要作用。另有研究<sup>[23]</sup>对比分析了PTC、FTC和甲状腺未分化癌(anaplastic thyroid cancer,ATC)细胞系的蛋白组学差异情况,发现TSG101蛋白通过调控肿瘤抗失巢凋亡进而促进癌细胞转移。

3.1.3 MTC SMITH等<sup>[24]</sup>通过MALDI-MSI分析发现,MTC癌灶内发生淀粉样蛋白沉积,降钙素(calcitonin,Ctn)和载脂蛋白(apolipoprotein E,APOE)参与该过程。进一步通过纳米液相色谱电喷雾电离串联质谱(nano-liquid chromatography electrospray ionization

tandem mass spectrometry,nLC-ESI-MS/MS)技术证实,moesin,veriscan和lumican三种蛋白可能参与MTC的发生发展过程。

### 3.2 探寻甲状腺癌精准诊断的蛋白质标志物

早期诊断对于甲状腺癌的治疗和预后至关重要。目前甲状腺癌的诊断主要依靠超声检查和细针穿刺活检(fine needle aspiration biopsy, FNAB),而这两项技术对医生经验和能力要求较高。现有研究<sup>[25-27]</sup>发现的蛋白质水平诊断标志物,如HBME-1、galectin-3、CK19和CD56等,它们的敏感度和特异度并不是很高。因此,筛查敏感性、特异性更好的甲状腺癌肿瘤标志物对于术前判断甲状腺肿瘤的良恶性、精确区分不同亚型及指导制定最佳治疗方案具有重要意义。

基于目前的诊疗手段,精确判断甲状腺肿瘤的良恶性并不是很难,但缺少客观的分子检测指标。为了探寻找样创伤性更小、特异度更高、检测更便捷的诊断性标志物,LU等<sup>[28]</sup>基于MALDI-TOF-MS技术对PTC患者和健康人的血清蛋白质组进行表征,发现纤维蛋白原 $\alpha$ (fibrinogen alpha chain)和补体C4A/B(complement C4A/B)可能是潜在的PTC诊断性分子标志物。有研究<sup>[14]</sup>也发现,PTC患者血清中补体C3增加、载脂蛋白A4(apolipoprotein A4,APOA4)减少,提示这两种蛋白质可能是早期诊断PTC的潜在标志物。另外,JAYAPALAN等<sup>[15]</sup>在尿液标本中发现,骨桥蛋白(osteopontin)和凝溶胶蛋白(gelsolin)可以区分PTC与良性病变。在血清和尿液标本中找到可靠的良恶性诊断标志物将会有助于开展甲状腺癌的早期无创筛查诊断。

精准区分亚型以鉴别出恶性程度更高、更具侵袭性的甲状腺癌也是临床上的迫切需要。滤泡型甲状腺乳头状癌(follicular variant papillary thyroid carcinoma,FV-PTC)曾一度引起热议。UCAL等<sup>[29]</sup>通过比较蛋白质组学分析发现,与良性结节相比,FV-PTC中IQ基序GTP酶激活蛋白(IQ motif containing GTPase activating protein,IQGAP)水平显著升高,并且IQGAP1亚型在经典型甲状腺乳头状癌(classic papillary thyroid carcinoma,CV-PTC)中高表达,而IQGAP2亚型在FV-PTC病变中高表达,这提示IQGAP有助于区分FV-PTC和CV-PTC。同时,SUCLG2(succinyl-CoA ligase [GDP-forming] subunit beta)蛋白在区分FA与FTC时的敏感度为75%、特异度为82%<sup>[30]</sup>。基于DIA技术,LI等<sup>[31]</sup>发现,血液中补体因子H相关蛋白1(complement factor H-related protein 1,CFHR1)在区分MTC和PTC时表现出良好的诊断性能( $P<0.001$ ),灵敏度和特异度可分别达到100.0%和85.1%。通过检测蛋白质标志物



区分甲状腺癌的病理亚型,将有效弥补严重依赖诊断医生经验的缺陷,有利于更准确分型,以指导个体化治疗方案。

单一标志物诊断效能通常十分有限,越来越多的学者提出,多种蛋白质标志物组合诊断效能更高。CIREGIA等<sup>[32]</sup>基于nLC-ESI-MS/MS技术研究了超过200例甲状腺癌患者FNA标本,发现联合烯醇化酶1(enolase 1, ENO1)、蛋白DJ-1、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、膜联蛋白A1(annexin A1, ANXA1)、鳞状上皮热激蛋白53(又称cornulin, CRNN)等5种标志物对甲状腺癌的诊断效能最佳,其敏感度为83.2%、特异度为78.9%。此外,蛋白质ANXA1和CRNN在区分良恶性滤泡性病变时显示出较好效能。另有研究<sup>[33]</sup>发现,ENO1、磷酸丙糖异构酶(triose phosphate isomerase, TPI)、组织蛋白酶D(cathepsin D, CTSD)、膜联蛋白A2(annexin A2, ANXA2)、CPNE1(copine 1)、丝切蛋白1(cofilin1, CFL1)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、热激蛋白27(heat shock protein 27, HSP27)等8种标志物的组合可用于诊断PTC,并且除ANXA2外的其余7个标志物组合还可用于FTC的诊断。多种标志物组合的诊断效能和适用范围受检测标本的影响较大,探索发现广泛适用且诊断效能较高的标志物组合还需进一步深入研究。

### 3.3 寻找预测甲状腺癌预后的蛋白质标志物

转移和复发是甲状腺癌患者死亡的主要原因,预测预后标志物对于降低复发风险、指导选择治疗方案以及延长患者生存期至关重要。ZHAN等<sup>[34]</sup>采用TMT方法分析不同LNM程度(N0, N1a, N1b)的PTC组织标本,与癌旁组织相比,层粘连蛋白 $\gamma$ 2(laminin subunit gamma-2, LAMC2)和肌球蛋白I G(myosin I G, MYO I G)在肿瘤组织中呈高表达,且两者与肿瘤体积增大、LNM、AJCC高级别分期、BRAF突变、预后不良等因素呈正相关,提示其可能是预测PTC转移和不良预后的潜在标志物。CHEON等<sup>[35]</sup>和WU等<sup>[36]</sup>也证实, S100钙结合蛋白A4(S100 calcium-binding protein A4, S100A4)、集聚蛋白(agrins, AGRN)和CTSC与PTC的LNM和较差预后密切相关。另外,在PTC患者血清外泌体中,整合素(integrin)相关蛋白可能参与PTC发生LNM和侵袭性增强的变化过程<sup>[37]</sup>。针对PTMC, LIN等<sup>[38]</sup>发现,与非转移性PTMC患者相比,干扰素刺激基因15蛋白(IFN-stimulated gene 15 protein, ISG15)在发生LNM的PTMC患者中显著增加,其可能是预测LNM的潜在生物标志物。

MTC患者的预后生存率可表现出很大差异,

新标志物的发现有助于制定患者的个体化管理方案,如随访时间、淋巴结清扫范围等。基于LC-MS/MS技术, ZHAN等<sup>[39]</sup>对比分析了散发型甲状腺髓样癌(sporadic medullary thyroid cancer, SMTC)组织和正常甲状腺组织的蛋白质谱差异,发现纤维连接蛋白1(fibronectin 1, FN1)和核糖体蛋白S6激酶A3(ribosomal protein S6 kinase A3, RPS6KA3)在SMTC组织中显著高表达,并且FN1水平与肿瘤分级、LNM程度、AJCC分期呈负相关,提示FN1低表达是SMTC患者无进展生存的独立不良预后因素。

目前研究表明,多种蛋白质可能与甲状腺癌患者的早期诊断及生存预后相关(表2)。基于高效蛋白质组学分析技术,研究者们从不同类型生物标本中筛选出新的蛋白质标志物,对甲状腺癌患者的个体化诊治具有重要的潜在应用价值。

### 3.4 探索针对难治性甲状腺癌的新治疗靶点

作为恶性程度最高的甲状腺癌,ATC侵袭性强、进展快、预后差且易发生耐药,亟待开发新的治疗手段<sup>[40]</sup>。目前,针对ATC有效的作用靶点仍处于探索阶段。ORLANDELLA等<sup>[41]</sup>对ATC细胞系进行蛋白质组学分析发现,miR-650通过抑制丝氨酸/苏氨酸磷酸酶PPP2CA(serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform)表达进而促进ATC细胞活性。hsa-miR-139-5p可通过调控选择性剪接因子HNRNPF表达进而促进ATC细胞的迁移和增殖<sup>[42]</sup>。这些结果表明,PPP2CA和HNRNPF可能是干扰ATC细胞增殖潜在的蛋白靶点。

GALDIERO等<sup>[43]</sup>基于SILAC技术揭示,在ATC细胞中沉默凋亡抑制因子BCL2相关抗凋亡基因3(BCL2-associated athanogene 3, BAG3)的蛋白质表达谱后,致癌蛋白小窝蛋白-1(caveolin-1, CAV1)和肿瘤抑制蛋白纤溶酶原激活剂抑制物-2(plasminogen activator inhibitor type-2, PAI-2)成为BAG3促肿瘤活性的新靶点,这为研发ATC分子靶向治疗药物提供了新的方向。

另外,通过蛋白质组学技术还发现,从草本植物中提取的厚朴酚和吴茱萸碱可通过诱导细胞骨架蛋白质折叠和转录控制等过程的失调进而导致ATC细胞毒性<sup>[44-45]</sup>。化疗是ATC治疗的主要方式之一,目前,ATC已对许多一线化疗药物显示出耐药特征。基于MS的蛋白质组学研究揭示mTOR、MEK和Src/FAK在达沙替尼耐药性产生过程中发挥重要作用,同时抑制这三个位点对抑制细胞生长和存活效果最理想<sup>[46]</sup>。以上研究都为开发ATC新的治疗药物奠定了基础。

表2 基于蛋白质组学研究发现的甲状腺癌诊断及预后标志物

肿瘤类型	标本类型	标本例数	标志物名称	标志物作用	参考文献
PTC	血清	T=34, N=20	APOA4、C3	鉴别诊断	[14]
PTC	尿液	T=19, N=10	Osteopontin、Gelsolin	鉴别诊断	[15]
PTC	血清	T=70, N=30	Fibrinogen a、C4A/B	鉴别诊断	[28]
CV-PTC, FV-PTC	FF	T=12, N=6	IQGAP1、IQGAP2	鉴别诊断	[29]
FTC	FFPE	T=10, N=10	SUCLG2	鉴别诊断	[30]
PTC, MTC, FTC	血清	T=29, N=25	CFHR1	鉴别诊断	[31]
PTC, MTC, FTC	FNA	T=70, N=142	ENO1、DJ1、SOD、ANXA1、CRNN	鉴别诊断	[32]
PTC	FF	T=48, N=48	LAMC2、MYO1G	预测预后	[34]
PTC	FFPE	T=55, N=55	S100A4	预测预后	[35]
PTC	FNA	T=7, N=7	AGRN、CTSC	预测预后	[36]
PTMC	FNA	LNM=60, Without LNM=60	ISG15	预测预后	[38]
SMTC	FF	T=3, N=3	FN1、RPS6KA3	预测预后	[39]

T: 肿瘤样本; N: 对照样本

虽然大部分分化型甲状腺癌预后良好, 但仍有小部分会复发或发生远处转移, 严重影响患者预后。针对此类病例, MORAES 等<sup>[47]</sup> 基于 LC-MS/MS 技术分析发现, 磷酸化的 Abl 相互作用蛋白 3 (Abl-interactor member 3, ABI3) 可以促进 FTC 细胞生长、侵袭、迁移和肿瘤生长, 并且 ABI3 的非磷酸化形式可能具有抑癌作用。另有研究对 PTC 的 B-CAP 细胞系进行非标记定量蛋白质组学检测发现, PDZ 和 LIM 结构域结合蛋白 5 (PDZ and LIM domain 5, PDLIM5) 通过调控 Ras-ERK 信号通路抑制 PTC 细胞的迁移、侵袭和增殖, 提示 PDLIM5 可能是难治性 PTC 的治疗靶点<sup>[48]</sup>。

#### 4 结 语

目前, 虽然基于 MS 的蛋白质组学研究在甲状腺癌的发病机制、诊断、治疗和预后等方面取得了一定的成果, 但仍处于探索阶段。蛋白质组学技术的稳定性、可重复性、适用度还有待进一步提高。不同的研究鉴定出的蛋白质种类、数量不尽相同, 在甲状腺癌中的作用机制尚不十分清楚, 因此离将其用于临床实践仍有很长的距离。尽管蛋白质组学在甲状腺癌研究中还存在以上诸多困难和挑战, 但是随着 MS 技术的发展、研究方法的成熟, 学者们将会致力于筛选可用于早期诊断、分型以及预后的分子标志物, 为开发生物治疗药物提供新的靶点和思路。

#### [参 考 文 献]

- [1] NETWORK N C C. NCCN clinical practice guidelines in oncology-thyroid carcinoma version 2. 2019[EB/OL]. (2019-11-09)[2020-02-10]. [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/thyroid.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/thyroid.pdf).
- [2] AEBERSOLD R, MANN M. Mass-spectrometric exploration of

proteome structure and function[J]. *Nature*, 2016, 537(7620): 347-355. DOI:10.1038/nature19949.

- [3] SRIVASTAVA A, CREEK D J. Discovery and validation of clinical biomarkers of cancer: a review combining metabolomics and proteomics[J]. *Proteomics*, 2019, 19(10): 1700448. DOI: 10.1002/pmic.201700448.
- [4] KHALILPOUR A, KILIC T, KHALILPOUR S, et al. Proteomic-based biomarker discovery for development of next generation diagnostics[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 101(2): 475-491. DOI:10.1007/s00253-016-8029-z.
- [5] PIGA I, CASANO S, SMITH A, et al. Update on: proteome analysis in thyroid pathology-part II: overview of technical and clinical enhancement of proteomic investigation of the thyroid lesions[J]. *Expert Rev Proteom*, 2018, 15(11): 937-948. DOI:10.1080/14789450.2018.1532793.
- [6] SCHÖNE C, HÖFLER H, WALCH A. MALDI imaging mass spectrometry in cancer research: combining proteomic profiling and histological evaluation[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(6): 539-545. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2013.01.018.
- [7] GALLI M, PAGNI F, DE SIO G, et al. Proteomic profiles of thyroid tumors by mass spectrometry-imaging on tissue microarrays[J]. *BBA-Proteins Proteom*, 2017, 1865(7): 817-827. DOI: 10.1016/j.bbapap.2016.11.020.
- [8] PIGA I, CAPITOLI G, DENTI V, et al. The management of haemoglobin interference for the MALDI-MSI proteomics analysis of thyroid fine needle aspiration biopsies[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(20): 5007-5012. DOI:10.1007/s00216-019-01908-w.
- [9] CAPITOLI G, PIGA I, GALIMBERTI S, et al. MALDI-MSI as a complementary diagnostic tool in cytopathology: a pilot study for the characterization of thyroid nodules[J]. *Cancers*, 2019, 11(9): 1377. DOI:10.3390/cancers11091377.
- [10] PIGA I, CAPITOLI G, TETTAMANTI S, et al. Feasibility study for the MALDI-MSI analysis of thyroid fine needle aspiration biopsies: evaluating the morphological and proteomic stability over time[J/OL]. *Proteomics Clin Appl*, 2019, 13(1): e1700170[2020-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30411853/>. DOI: 10.1002/prca.201700170.

- [11] GAWIN M, KURCZYK A, STOBIECKA E, et al. Molecular heterogeneity of papillary thyroid cancer: comparison of primary tumors and synchronous metastases in regional lymph nodes by mass spectrometry imaging[J]. *Endocr Pathol*, 2019, 30(4): 250-261. DOI:10.1007/s12022-019-09593-2.
- [12] POLYZOS S A, ANASTASILAKIS A D. Clinical complications following thyroid fine-needle biopsy: a systematic review[J]. *Clin Endocrinol*, 2009, 71(2): 157-165. DOI:10.1111/j.1365-2265.2009.03522.x.
- [13] MARTÍNEZ-AGUILAR J, CLIFTON-BLIGH R, MOLLOY M P. Proteomics of thyroid tumours provides new insights into their molecular composition and changes associated with malignancy[J]. *Sci Rep*, 6(1): 23660. DOI:10.1038/srep23660.
- [14] FARROKHI YEKTA R, AREFI OSKOUIE A, REZAEI TAVIRANI M, et al. Decreased apolipoprotein A4 and increased complement component 3 as potential markers for papillary thyroid carcinoma: a proteomic study[J]. *Int J Biol Markers*, 2018, 33(4): 455-462. DOI:10.1177/1724600818787752.
- [15] JAYAPALAN J J, LEE C S, LEE C C, et al. iTRAQ analysis of urinary proteins: Potential use of gelsolin and osteopontin to distinguish benign thyroid goiter from papillary thyroid carcinoma [J/OL]. *Clin Biochem*, 2018, 53: 127-131 [2020-09-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000991201731192X?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2018.01.008.
- [16] ABDULLAH M I, JUNIT S M, NG K L, et al. Papillary thyroid cancer: genetic alterations and molecular biomarker investigations [J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(3): 450-460. DOI:10.7150/ijms.29935.
- [17] LIU R, XING M. TERT promoter mutations in thyroid cancer[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(3): R143-R155. DOI:10.1530/erc-15-0533.
- [18] GÓMEZ-PÉREZ A M, CORNEJO PAREJA I M, GARCÍA ALEMÁN J, et al. New molecular biomarkers in differentiated thyroid carcinoma: Impact of miR-146, miR-221 and miR-222 levels in the evolution of the disease[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2019, 91(1): 187-194. DOI:10.1111/cen.13972.
- [19] STRICKAERT A, CORBET C, SPINETTE S A, et al. Reprogramming of energy metabolism: increased expression and roles of pyruvate carboxylase in papillary thyroid cancer[J]. *Thyroid*, 2019, 29(6): 845-857. DOI:10.1089/thy.2018.0435.
- [20] KRISHNAN A, BERTHELET J, RENAUD E, et al. Proteogenomics analysis unveils a TFG-RET gene fusion and druggable targets in papillary thyroid carcinomas[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11: 2056 [2020-09-15]. <https://www.nature.com/articles/s41467-020-15955-w>. DOI:10.1038/s41467-020-15955-w.
- [21] XIONG Q, ZHAN S, ZHANG N, et al. Protein profiling of papillary thyroid carcinoma with and without lymph node metastasis: A proteomic study [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2016, 9(3): 3057-3069.
- [22] JIN S, BAO W, YANG Y T, et al. Proteomic analysis of the papillary thyroid microcarcinoma[J]. *Ann D'endocrinologie*, 2019, 80(5/6): 293-300. DOI:10.1016/j.ando.2019.01.003.
- [23] SAHARAT K, LIRDPRAPAMONGKOL K, CHOKCHAICHAM-NANKIT D, et al. Tumor susceptibility gene 101 mediates anoikis resistance of metastatic thyroid cancer cells[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2018, 15(6): 473-483. DOI:10.21873/cgp.20106.
- [24] SMITH A, GALLI M, PIGA I, et al. Molecular signatures of medullary thyroid carcinoma by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging[J]. *J Proteom*, 2019, 191: 114-123. DOI:10.1016/j.jprot.2018.03.021.
- [25] CHEN Y J, ZHAO R M, ZHAO Q, et al. Diagnostic significance of elevated expression of HBME-1 in papillary thyroid carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7): 8715-8720. DOI:10.1007/s13277-015-4169-5.
- [26] YILMAZ E, KARSIDAG T, TATAR C, et al. Serum Galectin-3: diagnostic value for papillary thyroid carcinoma[J]. *Turkish J Surg*, 2015, 31(4): 192-196. DOI:10.5152/ucd.2015.2928.
- [27] DUNĐEROVIĆ D, LIPKOVSKI J M, BORIČIĆ I, et al. Defining the value of CD56, CK19, Galectin 3 and HBME-1 in diagnosis of follicular cell derived lesions of thyroid with systematic review of literature[J/OL]. *Diagn Pathol*, 2015, 10: 196 [2020-02-20]. <https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13000-015-0428-4>. DOI:10.1186/s13000-015-0428-4.
- [28] LU Z L, CHEN Y J, JING X Y, et al. Detection and identification of serum peptides biomarker in papillary thyroid cancer[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1581-1587[2020-02-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29549708/>. DOI:10.12659/msm.907768.
- [29] UCAL Y, ERAVCI M, TOKAT F, et al. Proteomic analysis reveals differential protein expression in variants of papillary thyroid carcinoma[J/OL]. *EuPA Open Proteom*, 2017, 17: 1-6[2020-02-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29900122/>. DOI:10.1016/j.euprot.2017.09.001.
- [30] LAI X, UMBRICHT C B, FISHER K, et al. Identification of novel biomarker and therapeutic target candidates for diagnosis and treatment of follicular carcinoma[J/OL]. *J Proteomics*, 2017, 166: 59-67 [2020-02-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28709933/>. DOI:10.1016/j.jprot.2017.07.003.
- [31] LI D D, WU J, LIU Z J, et al. Novel circulating protein biomarkers for thyroid cancer determined through data-independent acquisition mass spectrometry[J/OL]. *Peer J*, 2020, 8: e9507[2020-09-13]. <https://peerj.com/articles/9507/>. DOI:10.7717/peerj.9507.
- [32] CIREGIA F, GIUSTI L, MOLINARO A, et al. Proteomic analysis of fine-needle aspiration in differential diagnosis of thyroid nodules [J/OL]. *Transl Res*, 2016, 176: 81-94[2020-09-15]. <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27172385/>. DOI:10.1016/j.trsl.2016.04.004.
- [33] PARICHAARTANAKUL N M, SAHARAT K, CHOKCHAICHAM-NANKIT D, et al. Unveiling a novel biomarker panel for diagnosis and classification of well-differentiated thyroid carcinomas[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(4): 2286-2296. DOI:10.3892/or.2016.4567.
- [34] ZHAN S, WANG T, WANG M, et al. In-depth proteomics analysis to identify biomarkers of papillary thyroid cancer patients older than 45 years with different degrees of lymph node metastases [J/OL]. *Proteomics Clin Appl*, 2019, 13(5): e1900030[2020-09-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31148369/>. DOI:10.1002/prca.201900030.
- [35] CHEON M G, SON Y W, LEE J H, et al. Mts1 up-regulation is associated with aggressive pathological features in thyroid cancer [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2019, 16(5): 369-376. DOI:10.21873/cgp.20142.
- [36] WU C C, LIN J D, CHEN J T, et al. Integrated analysis of fine-needle-aspiration cystic fluid proteome, cancer cell secretome, and

- public transcriptome datasets for papillary thyroid cancer biomarker discovery[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(15): 12079-12100. DOI:10.18632/oncotarget.23951.
- [37] LUO D, ZHAN S, XIA W, et al. Proteomics study of serum exosomes from papillary thyroid cancer patients[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2018, 25(10): 879-891. DOI:10.1530/erc-17-0547.
- [38] LIN P, YAO Z, SUN Y, et al. Deciphering novel biomarkers of lymph node metastasis of thyroid papillary microcarcinoma using proteomic analysis of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy samples[J/OL]. *J Proteomics*, 2019, 204: 103414 [2020-09-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31195151/>. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.103414.
- [39] ZHAN S H, LI J M, WANG T X, et al. Quantitative proteomics analysis of sporadic medullary thyroid cancer reveals FN1 as a potential novel candidate prognostic biomarker[J]. *Oncol*, 2018, 23(12): 1415-1425. DOI:10.1634/theoncologist.2017-0399.
- [40] SAINI S, TULLA K, MAKER A V, et al. Therapeutic advances in anaplastic thyroid cancer: a current perspective[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 154 [2020-09-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30352606/>. DOI:10.1186/s12943-018-0903-0.
- [41] ORLANDELLA F M, MARINIELLO R M, IERVOLINO P L C, et al. miR-650 promotes motility of anaplastic thyroid cancer cells by targeting PPP2CA[J]. *Endocrine*, 2019, 65(3): 582-594. DOI: 10.1007/s12020-019-01910-3.
- [42] MONTERO-CONDE C, GRAÑA-CASTRO O, MARTÍN-SERRANO G, et al. Hsa-miR-139-5p is a prognostic thyroid cancer marker involved in HNRNPF-mediated alternative splicing[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(2): 521-530. DOI:10.1002/ijc.32622.
- [43] GALDIERO F, BELLO A M, SPINA A, et al. Identification of BAG3 target proteins in anaplastic thyroid cancer cells by proteomic analysis[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(8): 8016-8026. DOI: 10.18632/oncotarget.23858.
- [44] YU H I, CHOU H C, SU Y C, et al. Proteomic analysis of evodiamine-induced cytotoxicity in thyroid cancer cells[J/OL]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 160: 344-350 [2020-09-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708518306460?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.08.008.
- [45] CHOU H C, LU C H, SU Y C, et al. Proteomic analysis of honokiol-induced cytotoxicity in thyroid cancer cells[J/OL]. *Life Sci*, 2018, 207: 184-204 [2020-09-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320518303436?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.06.002.
- [46] MISHALL K M, BEADNELL T C, KUENZI B M, et al. Sustained activation of the AKT/mTOR and MAP kinase pathways mediate resistance to the Src inhibitor, dasatinib, in thyroid cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(61): 103014-103031. DOI:10.18632/oncotarget.20488.
- [47] MORAES L, ZANCHIN N I T, CERUTTI J M. ABI3, a component of the WAVE2 complex, is potentially regulated by PI3K/AKT pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40): 67769-67781. DOI:10.18632/oncotarget.18840.
- [48] WEI X, ZHANG Y, YU S, et al. PDLIM5 identified by label-free quantitative proteomics as a potential novel biomarker of papillary thyroid carcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499(2): 338-344. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.03.159.

[收稿日期] 2020-10-27

[修回日期] 2020-11-10

[本文编辑] 黄静怡