

BRD4通过SHH信号通路诱导甲状腺癌 细胞增殖、侵袭与迁移

冀凯伦¹, 刘琪², 牟作峰², 马晓东², 李国楼²

1. 潍坊医学院临床学院, 山东 潍坊 261053 ;

2. 潍坊市中医院乳腺甲状腺外科, 山东 潍坊 261041

[摘要] **背景与目的:** 甲状腺癌是目前发病率最高的内分泌系统恶性肿瘤之一, 目前的综合治疗手段虽然效果较好, 但是部分患者在随后的治疗中会出现继发性摄碘率下降, ¹³¹I治疗效果差, 从而导致复发及远处转移。近年来的研究发现, 溴样结构域蛋白4(double bromodomain-containing protein 4, BRD4)可促进多种恶性肿瘤的进展, 因此本研究旨在探究BRD4在甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)细胞中的作用, 寻找治疗甲状腺癌的特异性靶点。**方法:** 应用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)检测PTC组织和癌周组织中BRD4的表达差异, 应用siBRD4干扰基因转染PTC细胞株TPC-1, 应用蛋白[质]印迹法(Western blot)检验沉默效果, 通过MTT实验、平板克隆实验、Transwell小室侵袭与迁移实验检验沉默BRD4前后PTC细胞株TPC-1活力、增殖、迁移及侵袭等生物学行为的变化。进一步应用Western blot及RTFQ-PCR检测钠碘转运体(sodium iodide symporter, NIS)基因及蛋白的表达变化, 以及SHH信号通路下游基因SHH、GLI1表达变化情况。**结果:** BRD4在PTC组织中表达明显增高($P < 0.05$); 在体外实验中BRD4沉默后PTC细胞株TPC-1的细胞活力、增殖、迁移与侵袭能力下降。此外, BRD4沉默后NIS基因及蛋白表达增高, SHH信号通路下游基因SHH、GLI1表达降低($P < 0.05$)。**结论:** BRD4通过上调SHH信号通路相关基因促进PTC细胞的侵袭与迁移, 沉默BRD4可以促进NIS的表达, BRD4有望成为治疗甲状腺癌的新靶点。

[关键词] 甲状腺癌; 溴样结构域蛋白4; SHH信号通路; 钠碘转运体基因

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2017.11.004

中图分类号: R736.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2017)11-0860-07

BRD4 induces proliferation, invasion and migration of thyroid cancer cells via SHH signaling pathway JI Kailun¹, LIU Qi², MU Zuofeng², MA Xiaodong², LI Guolou² (1. Clinical College of Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China; 2. Department of Breast and Thyroid Surgery, the Traditional Chinese Medicine Hospital of Weifang, Weifang 261041, Shandong Province, China)

Correspondence to: LI Guolou E-mail: guolouli@sina.com

[Abstract] **Background and purpose:** Thyroid cancer is the endocrine malignant tumor with the highest incidence. Although comprehensive treatment has gotten considerable effect, some patients have low iodine uptake and poor ¹³¹I therapeutic effect in the subsequent treatment which causes recurrence and distant metastasis. Recent studies have found that double bromodomain-containing protein 4 (BRD4) plays a key role in promoting the progression of some malignant tumors. Therefore, we aimed to investigate the effect of BRD4 in papillary thyroid cancer (PTC), and search for the specific target of thyroid cancer. **Methods:** Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR) was used to examine the BRD4 expression in PTC tissue and para-cancerous tissue. PTC cell line TPC-1 was transfected with the siBRD4. And then the silence efficiency was examined by Western blot. The effects of BRD4 on cell viability, proliferation, migration and invasion were examined by MTT assay, colony formation assay and

transwell assay. Besides, Western blot and RTFQ-PCR were used to examine the expression of sodium iodide symporter (NIS) and the downstream gene SHH and GLI1 of SHH signaling pathway. **Results:** BRD4 was overexpressed in PTC tissue ($P<0.05$). *In vitro* experiment showed that the viability, proliferation, invasion and migration of BRD4-silencing cells were decreased. Besides, the mRNA and protein expression levels of NIS were up-regulated while the downstream gene of SHH signaling pathway SHH and GLI1 were down-regulated ($P<0.05$). **Conclusion:** BRD4 would promote the invasion and migration of papillary thyroid cancer cells via up-regulating the genes of SHH signaling pathway. Silencing BRD4 can promote the expression of NIS. BRD4 may be a new target for the treatment of thyroid cancer.

[**Key words**] Thyroid cancer; Double bromodomain-containing protein 4; SHH signaling pathway; Sodium iodide symporter gene

甲状腺癌是目前最常见的内分泌系统恶性肿瘤之一,近40年来其发病率逐年增高,在美国以每年3%的比例增长^[1],其中甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)是最常见的类型,目前针对PTC的治疗,主要以甲状腺癌根治切除术联合¹³¹I放射治疗以及甲状腺素内分泌治疗为主^[2]。虽然PTC患者预后较好,但是一部分患者在随后的治疗中会出现继发性摄碘率下降、¹³¹I抵抗等,因此研究PTC的发生、发展机制,寻找治疗的特异性靶标对PTC患者的疗效和预后起关键作用。近年来有研究发现,表观遗传修饰可作为一种新的治疗方法,例如针对溴样结构域蛋白4(double bromodomain-containing protein 4, BRD4)的研究发现,其作为溴结构域和超末端结构(bromodomain and extraterminal domain, BET)家族中的一员,在肝癌、白血病、乳腺癌、胰腺癌及恶性黑素瘤的发生、发展中发挥了关键性的作用^[3-8],但关于BRD4在甲状腺癌中的作用仍不清楚,因此本实验旨在探究BRD4在PTC细胞中的作用。

1 材料和方法

1.1 临床资料

选取潍坊市中医院乳腺甲状腺外科2015年10月—2016年10月行甲状腺癌根治术,术后病理确诊为PTC的患者标本80例,每例标本包括癌组织和癌旁组织(距肿瘤1~2 cm并经病理证实的非癌组织)。

1.2 主要试剂及细胞株

人PTC细胞株TPC-1购自赛百慷(上海)生物技术股份有限公司,DMEM、胎牛血清购自美

国Solarbio公司,MTT试剂盒由上海碧云天生物技术有限公司供应,培养细胞/细菌总RNA提取试剂盒(离心柱型)及动物组织总RNA提取试剂盒(离心柱型)由天根生化科技(北京)有限公司提供,兔抗人BRD4、SHH、GLI1、钠碘转运体(sodium iodide symporter, NIS)单克隆抗体及鼠抗兔IgG二抗均购自美国Abcam公司, β -actin单克隆抗体购自上海碧云天生物技术有限公司,BRD4、SHH、GLI1、NIS及GAPDH引物购自上海吉玛制药技术有限公司,cDNA逆转录采用北京康为世纪生物科技有限公司提供的PrimeScript逆转录试剂盒,实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)采用SYBR Premix Ex TaqTM II试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及转染

人PTC细胞株TPC-1在37℃、CO₂体积分数为5%的培养箱中培养,培养基为含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素的DMEM培养基。所有的实验细胞均处于对数生长期。转染前24 h将状态良好的TPC-1细胞接种于6孔细胞培养板中,每孔接种 2×10^5 个细胞,按LipofectamineTM2000转染试剂说明书进行转染,转染6 h后检测转染效率。实验分为实验组(转染siBRD4)和对照组(转染sicontrol)。

1.3.2 RTFQ-PCR检测

人PTC组织RNA及每组细胞的总RNA分别通过动物组织总RNA提取试剂盒(离心柱型)、培养细胞/细菌总RNA提取试剂盒(离心柱型)提取,提取步骤按说明书进行。依照北京康为世纪生物科技有限公司提供

的反转录试剂盒说明进行反转录, 反应条件: 42 °C温育15 min, 85 °C温育5 min。BRD4 顺义链: 5'-GCACAATCAAGTCTAAACTGGAG-3', 反义链 5'-TCATGGTCAGGAGGTTGTAC-3'; 内参GAPDH顺义链: 5'-GTCATCAATGGAAATCCCATCA-3', 反义链: 5'-CCAGTGGACTCCACGACGTAC-3'; SHH顺义链: 5'-GCGACCGCAGCAAGTACG-3', 反义链 5'-AGTGGATATGTGCCTTGGACTC-3'; GLI1顺义链: 5'-TAAAGCCTTCAGCAATGCCAGTG-3', 反义链: 5'-CAGCCAGGGAGTTACATACATACG-3'; NIS顺义链: 5'-GACAAACCTCTGAGGACAGGG-3', 反义链 5'-ATACTGGGGACGGTTGAAGC-3'。

1.3.3 蛋白 [质] 印迹法(Western blot)检测

应用细胞裂解液裂解细胞, 15 000×g振荡离心15 min后提取细胞总蛋白。采用BCA试剂盒测定总蛋白浓度, 将等量蛋白(30 μg)加入缓冲液, 煮沸变性。然后在10%SDS-PAGE上电泳分离, 转至PVDF膜, 5%脱脂奶粉封闭1 h后加入一抗置于4 °C冰箱温育过夜(BRD4 1 : 500, β-actin 1 : 1 000)。采用TBST洗膜30 min, 二抗 1 : 1 000温育2 h, 免疫印迹化学发光检测。

1.3.4 MTT法细胞活力检测

采用MTT法连续动态观察沉默BRD4前后PTC细胞株TPC-1细胞活性情况。调整细胞密度为 5×10^4 个/mL, 以每孔100 μL的体积接种96孔板, 分实验组与对照组。待细胞贴壁生长后, 分别在0、24、48和72 h时间点, 向每孔中加入10 μL MTT溶液, 培养箱中温育4 h后测定各组的吸光度(D)值, 绘制两组细胞的活性曲线, 比较活性变化。

1.3.5 平板克隆实验

分别将转染有siBRD4或sicontrol的TPC-1细胞种植于35 mm培养皿上300个/孔, 每3天换液, 培养10 d后, 克隆细胞用0.1%结晶紫溶液染色, 照相后计数。

1.3.6 Transwell小室细胞迁移实验

取处于对数生长期的siBRD4细胞及sicontrol细胞制成单细胞悬液, 24孔板中每孔加入含

10%胎牛血清的完全培养基600 μL, Transwell小室中加入含细胞的无血清培养基共约200 μL, 含细胞 4×10^4 个, 培养24 h后, 95%甲醇固定, 0.1%结晶紫溶液染色, 显微镜下取10个视野, 观察计算平均数。

1.3.7 Transwell小室细胞侵袭实验

用无血清的培养基将Matrigel胶稀释(胶和培养基的比例为1 : 8), 每孔50 μL平铺于Transwell小室的上室膜上, 细胞培养箱中温育1 h, 待Matrigel胶固定。后续步骤同Transwell小室细胞迁移实验步骤, 观察计算穿膜细胞数。

1.4 统计学处理

所有试验独立进行3次, 应用SPSS 17.0统计学软件对数据进行分析, 数值的记录方法为 $\bar{x} \pm s$, 两组计量资料采用两独立样本t检验方法进行统计, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 BRD4在人PTC组织中过表达

为了研究BRD4在PTC组织中的表达情况, 本实验应用RTFQ-PCR测定80对人PTC组织及癌旁组织中BRD4的表达情况。结果显示, 在PTC组织中, BRD4的表达明显高于癌旁组织($P < 0.05$, 图1)。

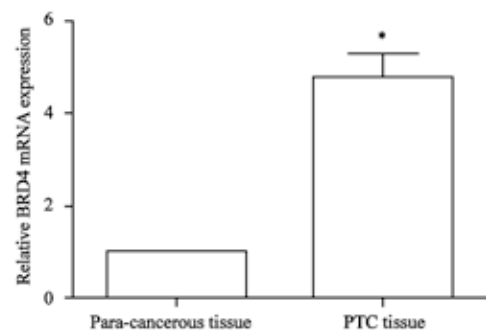


图1 BRD4在PTC组织中过表达

Fig. 1 Relative expression level of BRD4 mRNA is over-expressed in PTC tissue

*: $P < 0.05$, compared with para-cancerous tissue

2.2 沉默BRD4后PTC细胞株TPC-1细胞的生长增殖能力增加

首先应用siBRD4干扰基因转染PTC细胞株

TPC-1, 应用Western blot检验沉默效果(图2)。随后以MTT实验连续动态观察PTC细胞株TPC-1在转染siBRD4和sicontrol后, 观察0、24、48和72 h时PTC细胞株的细胞活性情况。测定各组细胞的 D 值, 绘制细胞的生长活性曲线。结果显示, PTC细胞株TPC-1在BRD4沉默后, 细胞生长活性明显减弱, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示沉默BRD4有抑制TPC-1细胞增殖的作用(图3)。

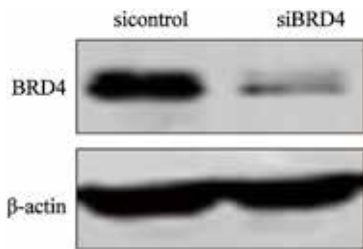


图2 Western blot检测TPC-1细胞中BRD4沉默效率
Fig. 2 The silence efficiency of BRD4 in TPC-1 cells was examined by Western blot

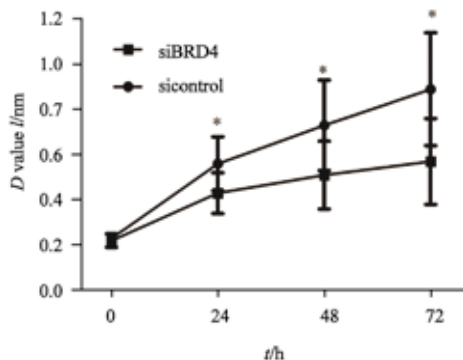


图3 沉默BRD4使TPC-1细胞活性降低
Fig. 3 BRD4 silencing markedly inhibited the viability of TPC-1 cells

*: $P < 0.05$, compared with sicontrol group

2.3 沉默BRD4后PTC细胞株TPC-1克隆形成能力降低

通过平板克隆实验, 结果显示, 转染siBRD4的PTC细胞株TPC-1形成的克隆数明显低于转染sicontrol的细胞株, 形成的克隆数之间差异有统计学意义($P < 0.05$, 图4)。

2.4 沉默BRD4后PTC细胞株TPC-1迁移与侵袭能力降低

Transwell小室实验结果显示, 转染siBRD4的PTC细胞株TPC-1的迁移与侵袭能力明显低于转染sicontrol的细胞株, 细胞的迁移数目之间差异有统计学意义($P < 0.05$, 图5、6)。

2.5 Western blot及RTFQ-PCR检测BRD4沉默后PTC细胞株TPC-1中NIS基因及蛋白与SHH信号通路相关基因与蛋白的表达变化

应用Western blot检测沉默BRD4的PTC细胞株TPC-1中NIS蛋白及SHH信号通路下游靶基因SHH、GLI1的蛋白表达变化, 并应用RTFQ-PCR检测其mRNA表达变化。结果显示, 在TPC-1中, 沉默BRD4后NIS基因及蛋白表达增高, 而SHH信号通路的下游靶基因SHH、GLI1的蛋白及mRNA表达降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图7、8)。

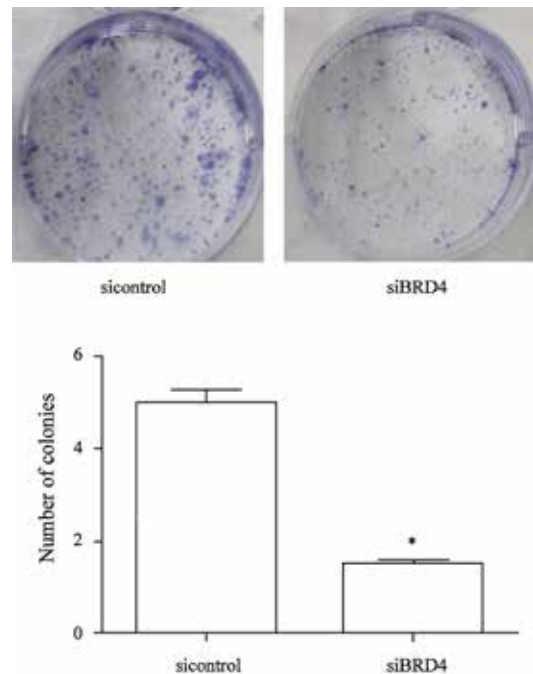


图4 沉默BRD4降低了TPC-1细胞克隆形成能力
Fig. 4 BRD4 silencing reduced the colony-forming efficiency of TPC-1 cells

*: $P < 0.05$, compared with sicontrol group

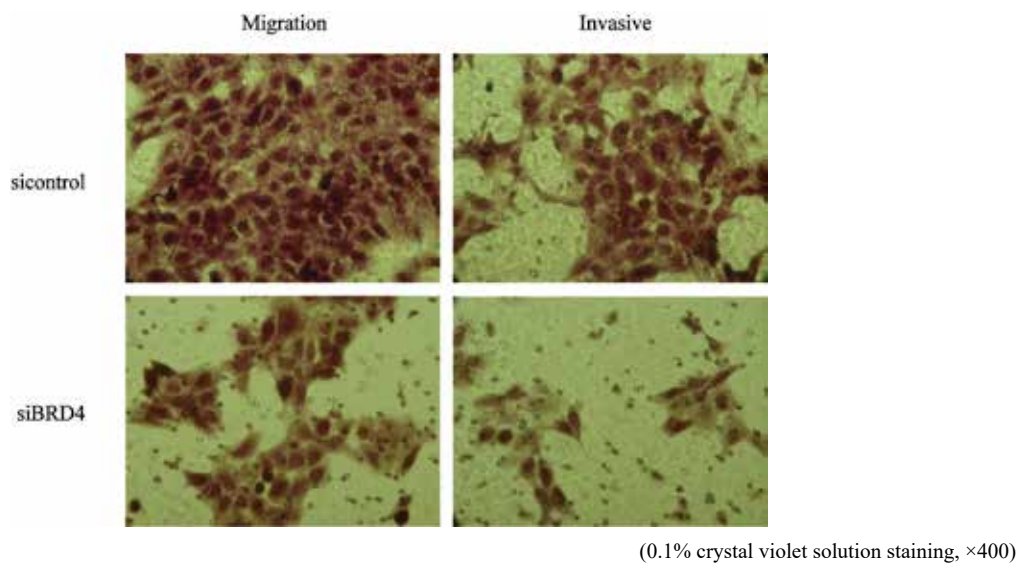


图 5 沉默BRD4使TPC-1细胞的迁移与侵袭能力降低

Fig. 5 BRD4 silencing reduced the ability of migrating and invading of TPC-1

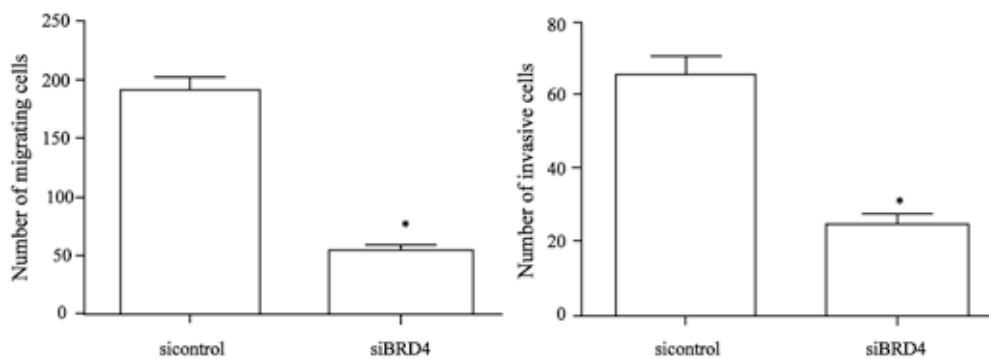


图 6 下室中穿膜细胞数

Fig.6 Quantization of migrating and invading of TPC-1 cells in the lower chamber

*: $P < 0.05$, compared with sicontrol group

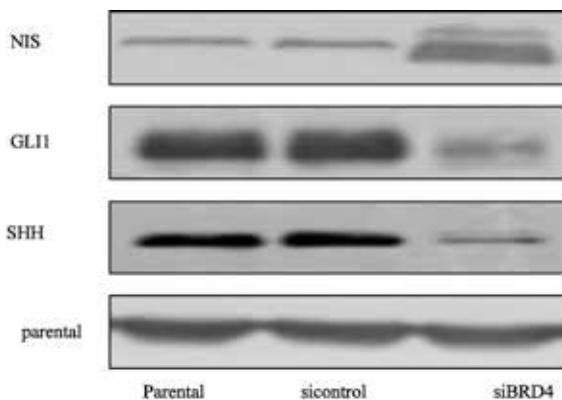


图 7 BRD4沉默后, TPC-1细胞中GLI1、SHH蛋白表达降低但NIS蛋白表达增高

Fig. 7 Expression levels of SHH and GLI1 protein were downregulated but the NIS protein was upregulated in BRD4-silencing TPC-1 cells

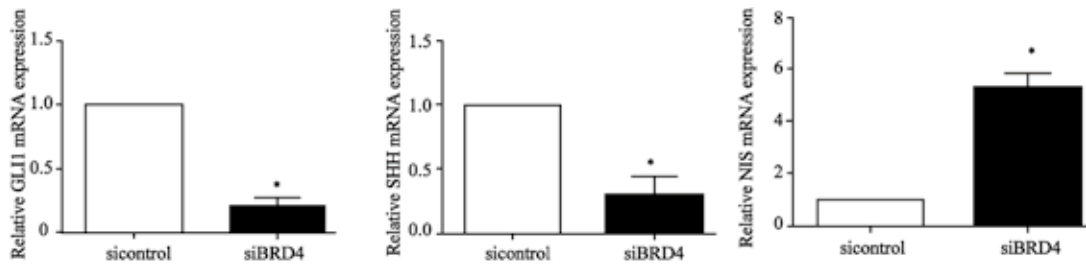


图8 BRD4沉默后, TPC-1细胞GLI1、SHH mRNA表达降低, NIS mRNA表达增高

Fig. 8 Expression levels of SHH and GLI1 mRNA were downregulated but the NIS mRNA was upregulated in BRD4-silencing TPC-1 cells

*: $P < 0.05$, compared with sicontrol group

3 讨论

甲状腺癌作为目前最常见的内分泌系统恶性肿瘤之一, 在所有癌症中居第9位^[9]。有研究表明, 基因突变在恶性肿瘤的发生、发展中发挥了重要作用, 除了过去几十年在甲状腺癌中已被证实的经典的基因突变, 例如*BRAF V600E*、*RET*、*PAX8/PPAR γ* 、*p53*及*RAS*等^[10], 最近的研究着重于表观遗传修饰的作用, 如组蛋白修饰因子在分化型甲状腺癌中的突变^[11-13], 可作为一种新的癌症治疗手段。

已有研究提示, 抑制BRD4表达可以有效抑制乳腺癌、鼻咽癌及子宫内膜癌等多种恶性肿瘤的发展^[14-18], 但关于BRD4在甲状腺癌中的具体作用机制并不清楚。为了探索BRD4在甲状腺癌中的作用, 本研究首先以PTC患者为研究对象, 检测PTC组织中BRD4的表达, 结果显示, BRD4在PTC组织中高表达, 表明BRD4在PTC的发展过程中可能发挥了致癌的作用。为了进一步验证BRD4的作用机制, 本研究应用siRNA沉默技术抑制PTC细胞株TPC-1中BRD4的表达, 通过MTT、Transwell侵袭小室及平板克隆实验证实, 沉默BRD4后PTC细胞株TPC-1的细胞活力、增殖、侵袭及迁移能力减弱, 表明BRD4在调节PTC细胞生物学行为中发挥了重要的作用。此外, 针对SHH信号通路的研究发现, 其在肝癌、胰腺癌及甲状腺癌中被激活后, 可促进肿瘤的增殖、转移与侵袭^[4,7,19-22]。已有研究证实, 在肝癌和胰腺癌中, BRD4可

通过调控SHH信号通路相关基因促进肿瘤进展^[4,7], 但关于在甲状腺癌中BRD4与SHH信号通路的关系暂无报道, 因此, 在此基础上, 沉默BRD4后进一步检测SHH信号通路下游相关靶基因及蛋白的表达变化, 结果显示, 在PTC细胞株TPC-1中沉默BRD4后, SHH信号通路下游相关靶基因*SHH*、*GLI1*及其蛋白的表达明显降低, 表明在PTC细胞中BRD4可能通过上调SHH信号通路相关基因促进其增殖、侵袭与转移。

此外, 多项研究已经证实, NIS是一种分布在甲状腺滤泡细胞基底膜上的糖化膜蛋白, 其在碘的摄取过程中发挥了重要作用, 目前已被广泛用于诊断甲状腺癌及分化型甲状腺癌的放射性碘治疗^[23-24]。Caillou等^[25]的前期研究发现, ¹³¹I在甲状腺癌组织中的摄取量与NIS的表达呈正相关。并且Min等^[26]研究报道, NIS蛋白的表达水平可以预测分化型甲状腺癌¹³¹I的摄取能力及¹³¹I疗效评价。因此为了进一步研究在PTC细胞株TPC-1中, 沉默BRD4后是否影响NIS的表达, 本研究中应用Western blot及RTFQ-PCR检测在PTC细胞株TPC-1中, 沉默BRD4前后*NIS*基因及蛋白的表达变化, 结果表明, *NIS* mRNA及蛋白均表达增高。进而推测沉默BRD4可能会通过增加NIS的表达, 增强PTC细胞的摄碘能力, 从而提高¹³¹I治疗的疗效, 但关于沉默BRD4后对PTC细胞摄碘能力的具体影响及其机制有待进一步研究。

综上所述, 本研究证明了BRD4在PTC组织中异常表达, 以及BRD4对PTC细胞生物学行为

影响的机制, 并且进一步证实了通过抑制BRD4的表达可增强*NIS*基因的表达, 为下一步研究BRD4沉默联合¹³¹I对PTC患者的治疗提供了理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] LIM H, DEVESA S S, SOSA J A, et al. Trends in thyroid cancer incidence and mortality in the United States, 1974–2013 [J] . *JAMA*, 2017, 317(13): 1338–1348.
- [2] HAUGEN B R, ALEXANDER E K, BIBLE K C, 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.
- [3] 全营营, 丁文评, 张 莲, 等. 溴结构域蛋白4在肿瘤中的研究进展 [J] . *癌症进展*, 2015, (1): 44–49.
- [4] WANG Y H, SUI X M, SUI Y N, et al. BRD4 induces cell migration and invasion in HCC cells through MMP-2 and MMP-9 activation mediated by the Sonic hedgehog signaling pathway [J] . *Oncol Lett*, 2015, 10(4): 2227–2232.
- [5] 马 莎, 陈 翀, 朱俊峰, 等. BRD4拮抗剂GSK525762A抗普通型急性B淋巴细胞白血病的体外研究 [J] . *中华血液学杂志*, 2015, 36(7): 563–569.
- [6] ANDRIEU G, TRAN A H, STRISSEL K J, et al. BRD4 regulates breast cancer dissemination through Jagged1/Notch1 signaling [J] . *Cancer Res*, 2016, 76(22): 6555–6567.
- [7] WANG Y H, SUI Y N, YAN K, et al. BRD4 promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell proliferation and enhances gemcitabine resistance [J] . *Oncol Rep*, 2015, 33(4): 1699–1706.
- [8] SEGURA M F, FONTANALS-CIRERA B, GAZIEL-SOVRAN A, et al. BRD4 sustains melanoma proliferation and represents a new target for epigenetic therapy [J] . *Cancer Res*, 2013, 73(20): 6264–6276.
- [9] NGUYEN Q T, LEE E J, HUANG M G, et al. Diagnosis and treatment of patients with thyroid cancer [J] . *Am Health Drug Benefits*, 2015, 8(1): 30–40.
- [10] OMUR O, BARAN Y. An update on molecular biology of thyroid cancers [J] . *Crit Rev Oncol Hematol*, 2014, 90(3): 233–252.
- [11] KONDO T, ASA S L, EZZAT S. Epigenetic dysregulation in thyroid neoplasia [J] . *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2008, 37(2): 389–400.
- [12] JANG S, YU X M, ODORICO S, et al. Novel analogs targeting histone deacetylase suppress aggressive thyroid cancer cell growth and induce re-differentiation [J] . *Cancer Gene Ther*, 2015, 22(8): 410–416.
- [13] KONDO T, NAKAZAWA T, MA D, et al. Epigenetic silencing of TTF-1/NKX2-1 through DNA hypermethylation and histone H3 modulation in thyroid carcinomas [J] . *Lab Invest*, 2009, 89(7): 791–799.
- [14] 陈玉丽, 朱勤伟, 隋晓梅, 等. BRD4沉默联合吉西他滨为治疗三阴性乳腺癌提供新的治疗方案 [J] . *中国癌症杂志*, 2016, 26(9): 750–755.
- [15] 刘 忠, 杨 飞, 程 吉, 等. BRD4抑制剂对鼻咽癌CNE-2细胞增殖、凋亡和侵袭的影响 [J] . *临床肿瘤学杂志*, 2015, 20(6): 501–505.
- [16] QIU H, LI J, CLARK L H, et al. JQ1 suppresses tumor growth via PTEN/PI3K/AKT pathway in endometrial cancer [J] . *Oncotarget*, 2016, 7(41): 66809–66821.
- [17] ABDEL-MAGID A F. Inhibitors of BRD4 as potential cancer therapy [J] . *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(8): 728–729.
- [18] RODRIGUEZ R M, HUIDOBRO C, URDINGUIO R G, et al. Aberrant epigenetic regulation of bromodomain BRD4 in human colon cancer [J] . *J Mol Med (Berl)*, 2012, 90(5): 587–595.
- [19] DONG W, CUI J, TIAN X, et al. Aberrant sonic hedgehog signaling pathway and STAT3 activation in papillary thyroid cancer [J] . *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(7): 1786–1793.
- [20] XU X, DING H, RAO G, et al. Activation of the Sonic Hedgehog pathway in thyroid neoplasms and its potential role in tumor cell proliferation [J] . *Endocr Relat cancer*, 2012, 19(2): 167–179.
- [21] BOHINC B, MICHELOTTI G, DIEHL A M. Hedgehog signaling in human medullary thyroid carcinoma: a novel signaling pathway [J] . *Thyroid*, 2013, 23(9): 1119–1126.
- [22] HEIDEN K B, WILLIAMSON A J, DOSCAS M E, et al. The sonic hedgehog signaling pathway maintains the cancer stem cell self-renewal of anaplastic thyroid cancer by inducing snail expression [J] . *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(11): 2178–2187.
- [23] PORTULANO C, PARODER-BELENITSKY M, CARRASCO N. The Na⁺/I⁻ symporter (NIS): mechanism and medical impact [J] . *Endocr Rev*, 2014, 35(1): 106–149.
- [24] DARROUZET E, LINDENTHAL S, MARCELLIN D, et al. The sodium/iodide symporter: state of the art of its molecular characterization [J] . *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1838(1 Pt B): 244–253.
- [25] CAILLOU B, TROALEN F, BAUDIN E, et al. Na⁺/I⁻ symporter distribution in human thyroid tissues: an immunohistochemical study [J] . *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83(11): 4102–4106.
- [26] MIN J J, CHUNG J K, LEE Y J, et al. Relationship between expression of the sodium/iodide symporter and ¹³¹I uptake in recurrent lesions of differentiated thyroid carcinoma [J] . *Eur J Nucl Med*, 2001, 28(5): 639–645.

(收稿日期: 2017-06-13 修回日期: 2017-08-15)