

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.06.005

肿瘤防治专题

# 甲状腺乳头状癌组织中 miR-338-3p、PLCD3 表达及其与病理参数、上皮-间质转化、预后的关系

柯贤锋, 李强, 向辉, 崔仪, 雷珍珍



基金项目: 陕西省卫生健康委卫生健康科研项目(2018C006)

作者单位: 726000 陕西省商洛市中心医院乳甲外科

通信作者: 李强, E-mail: 1399587986@qq.com

**【摘要】目的** 探讨甲状腺乳头状癌(PTC)组织中微小核糖核酸-338-3p(miR-338-3p)、磷脂酶 Cδ-3(PLCD3)表达及与病理参数、上皮-间质转化(EMT)、预后的关系。**方法** 选取 2016 年 1 月—2020 年 12 月商洛市中心医院乳甲外科收治接受手术切除的 PTC 患者 152 例,取其癌组织及对应癌旁组织,采用实时荧光定量聚合酶链式反应检测 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达,免疫组织化学法检测 EMT 相关蛋白[N-钙黏蛋白(N-Cad)、E-钙黏蛋白(E-Cad)、波形蛋白(VIM)];分析 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达与 PTC 病理参数的关系;通过 Targetscan 数据库预测 miR-338-3p 与 PLCD3 的结合位点,采用 Pearson 法和二列相关性分析 miR-338-3p 与 PLCD3 mRNA 及二者与 EMT 相关蛋白在 PTC 组织中表达的相关性;根据 PTC 组织 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达均值分为高/低 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达组,通过 Kaplan-Meier 法绘制高/低 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达 PTC 患者无病生存率(DFS)生存曲线;通过 Cox 回归分析 PTC 患者 DFS 的影响因素。**结果** 与癌旁组织比较,PTC 组织 miR-338-3p 和 E-Cad 蛋白阳性表达率降低,PLCD3 mRNA 和 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达率升高( $t/\chi^2/P = 32.875 / < 0.001, 15.575 / < 0.001, 37.351 / < 0.001, 21.984 / < 0.001, 16.604 / < 0.001$ ); miR-338-3p 与 PLCD3 mRNA 在 PTC 组织中表达呈负相关( $r/P = -0.712 / < 0.001$ )。PTC 组织中 miR-338-3p 与 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达呈负相关,与 E-Cad 蛋白阳性表达呈正相关( $r/P = -0.642 / < 0.001, -0.617 / < 0.001, 0.622 / < 0.001$ );PTC 组织中 PLCD3 mRNA 与 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达呈正相关,与 E-Cad 蛋白阳性表达呈负相关( $r/P = 0.657 / < 0.001, 0.624 / < 0.001, -0.632 / < 0.001$ )。不同 TNM 分期、淋巴结转移的 PTC 组织 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达差异有统计学意义( $F/t/P = 30.778 / < 0.001, 3.430 / 0.001$ )。miR-338-3p 高表达组 3 年 DFS 高于低表达组,PLCD3 mRNA 高表达组 3 年 DFS 低于低表达组( $\chi^2/P = 15.615 / < 0.001, 16.088 / < 0.001$ )。TNM 分期Ⅲ期、淋巴结转移、PLCD3 mRNA  $\geq 1.83$  为 PTC 患者 DFS 的独立危险因素[ $HR(95\% CI) = 3.127(1.361 \sim 7.604), 2.546(1.115 \sim 5.817), 2.854(1.178 \sim 6.919)$ ], miR-338-3p  $\geq 0.57$  为独立保护因素[ $HR(95\% CI) = 0.306(0.116 \sim 0.804)$ ]。**结论** PTC 组织中 miR-338-3p 低表达和 PLCD3 mRNA 高表达,与 TNM 分期、淋巴结转移、EMT 和预后有关,可能成为 PTC 诊治新靶点。

**【关键词】** 甲状腺乳头状癌;微小核糖核酸-338-3p;磷脂酶 Cδ-3;病理参数;上皮-间质转化;预后**【中图分类号】** R736.1 **【文献标识码】** A

## Expression of miR-338-3p and PLCD3 in papillary thyroid carcinoma tissues and association with pathological parameters, epithelial-mesenchymal transition and prognosis

Ke Xianfeng, Li Qiang, Xiang Hui, Cui Yi, Lei Zhenzhen.  
Department of Breast and Thyroid Surgery, Shangluo Central Hospital, Shaanxi Province, Shangluo 726000, China

Funding program: Health Research Project of Shaanxi Provincial Health Commission (2018C006)

Corresponding author: Li Qiang, E-mail: 1399587986@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of micro ribonucleic acid-338-3p (miR-338-3p) and phospholipase C delta-3 (PLCD3) in papillary thyroid carcinoma (PTC) tissues and their relationship with pathological parameters, epithelial-mesenchymal transition (EMT) and prognosis. **Methods** 152 cases of PTC patients admitted to the Breast and Thyroid Surgery Department of Shangluo Central Hospital who underwent surgical resection from January 2016 to December 2020 were selected, and real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect the expression of miR-338-3p and PLCD3 mRNA in cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues, and immunohistochemistry was used to detect the expression of EMT-associated proteins [N-calmodulin (N-Cad), E-calmodulin (E-Cad), and vimentin (VIM)]. The relationship between miR-338-3p, PLCD3 mRNA expression and pathological parameters of PTC were ana-

lyzed. The binding sites of miR-338-3p and PLCD3 were predicted by Targetscan database, and the correlation between miR-338-3p and PLCD3 mRNA and the expression of both with EMT-related proteins in PTC tissues was analyzed by Pearson's method and dichotomous correlation. PTC tissues were divided into high/low miR-338-3p, PLCD3 mRNA expression groups according to the mean values of miR-338-3p, PLCD3 mRNA expression, and the survival curves of disease-free survival (DFS) of PTC patients with high/low miR-338-3p, PLCD3 mRNA expression were plotted by Kaplan-Meier method. Factors of DFS in PTC patients were analyzed by Cox regression. **Results** Compared with para-cancerous tissues, miR-338-3p expression and E-Cad protein positive expression rate were decreased in PTC tissues, and PLCD3 mRNA expression and N-Cad and VIM protein positive expression rate were increased ( $t\chi^2/P=32.875/<0.001$ ,  $15.575/<0.001$ ,  $37.351/<0.001$ ,  $21.984/<0.001$ ,  $16.604/<0.001$ ). miR-338-3p was negatively correlated with PLCD3 mRNA expression in PTC tissues ( $r/P=-0.712/<0.001$ ). miR-338-3p was negatively correlated with the positive expression rate of N-Cad and VIM proteins, and positively correlated with that of E-Cad proteins in PTC tissues ( $r/P=-0.642/<0.001$ ,  $-0.617/<0.001$ ,  $0.622/<0.001$ ); PLCD3 mRNA was negatively correlated with N-Cad in PTC tissues, VIM protein positive expression rate was positively correlated with E-Cad protein positive expression rate ( $r/P=0.657/<0.001$ ,  $0.624/<0.001$ ,  $-0.632/<0.001$ ). Comparison of miR-338-3p and PLCD3 mRNA expression in PTC tissues with different TNM stages and lymph node metastasis showed differences ( $F/t/P=30.778/<0.001$ ,  $3.430/0.001$ ). 3-year DFS was higher in the miR-338-3p high-expression group than that in the miR-338-3p low-expression group, and 3-year DFS was lower in the PLCD3 mRNA high-expression group than that in the PLCD3 mRNA low-expression group ( $\chi^2/P=15.615/<0.001$ ,  $16.088/<0.001$ ). TNM stage III, lymph node metastasis, and PLCD3 mRNA  $\geq 1.83$  were independent risk factors for DFS in PTC patients, and miR-338-3p  $\geq 0.57$  was an independent protective factor [ $HR(95\% CI)=3.127(1.361-7.604)$ ,  $2.546(1.115-5.817)$ ,  $2.854(1.178-6.919)$ ,  $0.306(0.116-0.804)$ ]. **Conclusion** Low expression of miR-338-3p and high expression of PLCD3 mRNA in PTC tissues are associated with TNM staging, lymph node metastasis, EMT and prognosis, and may become a new target for PTC diagnosis and treatment.

**【Key words】** Papillary thyroid carcinoma; Micro ribonucleic acid-338-3p; Phospholipase C delta 3; Pathological parameters; Epithelial-mesenchymal transition; Prognosis

甲状腺癌位于全球癌症发病率第 9 位,2020 年全球死亡人数超过 4 万例<sup>[1]</sup>。甲状腺癌中 80%~85% 为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC),虽然预后较好,但治疗后复发/转移风险较高<sup>[2-3]</sup>。上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transformation, EMT)是 PTC 进展的重要机制,故寻找与 PTC 患者 EMT 相关的影响因素对促进其诊治很有必要<sup>[4]</sup>。研究表明,微小核糖核酸(micro ribonucleic acid, miRNA)能通过调控 EMT 等机制参与 PTC 的发生发展<sup>[5]</sup>。miR-338-3p 是甲状腺癌的差异表达基因<sup>[6]</sup>,另有研究指出,miR-338-3p 与胃癌 EMT 和预后有关<sup>[7-8]</sup>。磷脂酶 C $\delta$ -3(phospholipase C delta 3, PLCD3)是一种参与细胞信号转导和细胞生理功能调节的酶,也是甲状腺癌的差异表达基因<sup>[9]</sup>。研究指出,PLCD3 与胃癌 EMT 及预后有关<sup>[10]</sup>。但关于 PTC 组织中 miR-338-3p、PLCD3 表达及与病理参数、EMT 和预后的关系尚不清楚,本研究对其进行分析,现报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性选取 2016 年 1 月—2020 年 12 月商洛市中心医院乳甲外科收治手术切除的 PTC 患者 152 例,术后病理检查确诊为 PTC,术中收集部分癌组织及对应癌旁组织(距离癌组织超过 2 cm),部分

用液氮冷冻保存,部分用福尔马林固定。152 例患者中,女 112 例,男 40 例,年龄 22~78 岁, $\geq 55$  岁 33 例, $< 55$  岁 119 例;病理类型:微小乳头状癌 88 例,其他 64 例;肿瘤最大径: $\geq 2$  cm 71 例, $< 2$  cm 81 例;BRAF-V600E 突变 59 例;TNM 分期<sup>[11]</sup>:I 期 38 例,II 期 52 例,III 期 62 例;淋巴结转移 68 例。本研究经过医院伦理委员会审核通过(2022D052),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①年龄 18 岁以上;②初次诊断 PTC;③接受姑息性或根治性切除。(2)排除标准:①合并严重心、肝、肾功能损害;②其他甲状腺癌类型;③合并其他部位恶性肿瘤;④资料不全、不能接受随访;⑤合并严重感染;⑥妊娠及哺乳期妇女;⑦自身免疫性疾病患者;⑧不能耐受手术。

## 1.3 观测指标与方法

1.3.1 实时荧光定量聚合酶链式反应检测 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达:取部分液氮冷冻 PTC 组织及对应癌旁组织用 Trizol 法(试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司,编号:R401-01)提取总 RNA,紫外分光光度计(梅特勒托利多国际有限公司,型号:UV5)鉴定 RNA 纯度和浓度合成后,用 Takara 法(试剂盒购自上海必宝生物科技有限公司,型号:R001A)

逆转录为互补 DNA。按照 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> 试剂盒 (上海善然生物科技有限公司, 型号: RR820A) 说明书, 以互补 DNA 为模板构建反应体系 20 μl [模板 DNA 1 μl、SYBR Green Master Mix (No Rox) 10 μl、上游引物 1 μl、下游引物 1 μl、无菌超纯水 7 μl], 反应条件: 95 °C 10 min 1 次, 97 °C 10 s、60 °C 10 s、70 °C 30 s, 共计 40 次。miR-338-3p 上游引物: 5'-GCCGAGTC-CAGCATCAGTGATT-3', 下游引物: 5'-GTGCAGGGTC-CGAGGT-3'; U6 上游引物: 5'-CTCGCTTCGGCAGCA-CA-3', 下游引物: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; PLCD3 上游引物: 5'-GAACAGCTTTGTCAGGCACA-3', 下游引物: 5'-TTGAGTCCATCTCGTAGCC-3'; GAPDH 上游引物: 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3', 下游引物: 5'-GGATCTCGCTCCTGGAAGATG-3'。软件读取 miR-338-3p (内参 U6) 和 PLCD3 (内参 GAPDH) 波段 Ct 值后, 通过 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达量。

1.3.2 免疫组织化学法检测 EMT 相关蛋白表达: 取部分福尔马林固定 PTC 组织及对应癌旁组织, 常规进行石蜡包埋、切片、脱蜡、水化处理, 然后使用 pH 6.0 柠檬酸钠缓冲液进行高压热修复, 并在室温自然冷却。切片放置于 3% 过氧化氢避光 15 min, 随后用磷酸盐缓冲液洗涤 3 次以阻断非特异性反应。隔夜后, 滴加 N-钙黏蛋白 (N-cadherin, N-Cad) (1: 100)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin, E-Cad) (1: 100)、波形蛋白 (vimentin, VIM) (1: 100) (购自武汉三鹰生物技术有限公司, 编号: 22018-1-AP、20874-1-AP、10366-1-AP) 一抗到切片上。隔夜后再滴加辣根过氧化物酶标记的二抗, 然后再用磷酸盐缓冲液洗涤 3 次。最后, 用二氨基联苯胺显色, 进行苏木精复染, 乙醇梯度脱水, 最后用中性树脂封片。光学显微镜 (深圳华普通用科技有限公司, 型号 Axioscope 5) 观察显色程度, 根据染色强度和阳性细胞数计算免疫组化评分: 染色强度分为无染色、淡黄色、棕黄色、棕褐色, 分别计 0 ~ 3 分; 阳性细胞数分为 ≤ 5%、6% ~ 25%、26% ~ 50%、51% ~ 75%、≥ 76%, 分别计 0 ~ 4 分。免疫组化评分为染色强度乘以阳性细胞率, 总分 ≥ 4 分表示阳性。

1.3.3 结合位点预测: 通过 Targetscan 数据库 [https://www.targetscan.org/vert\\_72/](https://www.targetscan.org/vert_72/) 预测 miR-338-3p 与 PLCD3 的结合位点。

1.3.4 随访预后情况: PTC 患者术后进行为期 3 年的电话或门诊随访 (6 个月 1 次), 随访截至 2023 年 12 月, 记录患者复发/转移和死亡情况, 统计 3 年无病生存期 (disease free survival, DFS)。根据 PTC 组织 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达均值分为高/低 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达组。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 28.0 统计学软件处理分析数据。计数资料以频数和率 (%) 表示, 2 组比较行  $\chi^2$  检验; 符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 2 组比较行配对或独立 *t* 检验, 多组比较行单因素方差分析; Pearson 法和二列相关性分析 miR-338-3p 与 PLCD3 mRNA 及二者与 EMT 相关蛋白在 PTC 组织中表达的相关性; Kaplan-Meier 法绘制高/低 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达 PTC 患者 DFS 生存曲线, 组间生存率采用 Log-rank 检验; Cox 回归分析 PTC 患者 DFS 的影响因素。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 及 EMT 相关蛋白在 PTC 组织和癌旁组织中表达比较 与癌旁组织比较, PTC 组织 miR-338-3p 表达和 E-Cad 蛋白阳性表达率降低, PLCD3 mRNA 表达和 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达率升高 (P < 0.01), 见表 1。

2.2 miR-338-3p 与 PLCD3 mRNA 在 PTC 组织中表达的相关性 经 Targetscan 数据库预测, miR-338-3p 与 PLCD3 的 3' 非翻译端 373-379 处存在结合位点, 见图 1。Pearson 相关分析显示: miR-338-3p 与 PLCD3 mRNA 在 PTC 组织中表达呈负相关 ( $r = -0.712, P < 0.001$ )。

2.3 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 与 EMT 相关蛋白表达的相关性 二列相关性分析显示, PTC 癌组织中 miR-338-3p 与 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达率呈负相关, 与 E-Cad 蛋白阳性表达率呈正相关 ( $r = -0.642、-0.617、0.622, P$  均 < 0.001); PLCD3 mRNA 与 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达率呈正相关, 与 E-Cad 蛋白阳性表达率呈负相关 ( $r = 0.657、0.624、-0.632, P$  均 < 0.001)。

表 1 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 及 EMT 相关蛋白在 PTC 组织和癌旁组织中表达比较

Tab. 1 Comparison of expression of miR-338-3p, PLCD3 mRNA and EMT related proteins in PTC tissue and adjacent cancer tissues

组别	例数	miR-338-3p ( $\bar{x} \pm s$ )	PLCD3 mRNA ( $\bar{x} \pm s$ )	N-Cad [例 (%)]	E-Cad [例 (%)]	VIM [例 (%)]
癌旁组织	152	1.00 ± 0.14	1.11 ± 0.16	85 (55.92)	114 (75.00)	27 (17.76)
癌组织	152	0.57 ± 0.08	1.83 ± 0.20	123 (80.92)	81 (53.29)	59 (38.82)
$\chi^2$ 值		32.875	37.351	21.984	15.575	16.604
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001



图 1 miR-338-3p 与 PLCD3 的结合位点图  
**Fig. 1** Binding site map of miR-338-3p with PLCD3

2.4 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达在不同临床/病理中的差异比较 PTC 组织 miR-338-3p 在 TNM I ~ III 期依次降低, 而 PLCD3 mRNA 水平则依次升高; miR-338-3p 在有淋巴结转移者中降低, PLCD3 mRNA 在有淋巴结转移者中升高 ( $P$  均  $< 0.01$ ); miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达在其他不同临床/病理中的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

2.5 高/低 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达 PTC 患者 DFS 比较 随访 3 年无失访病例, PTC 患者 152 例中死亡 7 例, 复发/转移 28 例, 3 年 DFS 为 76.97% (117/152)。miR-338-3p 高表达组 ( $\geq 0.57$ , 75 例) 和 miR-338-3p 低表达组 ( $< 0.57$ , 77 例) 的 3 年 DFS 分别为 90.67% (68/75)、63.64% (49/77); PLCD3 mRNA 高表达组 ( $\geq 1.83$ , 73 例) 和 PLCD3 mRNA 低表达组 ( $< 1.83$ , 79 例) 3 年 DFS 分别为 63.01% (46/73)、89.87% (71/79)。miR-338-3p 高表达组 3 年 DFS 高于 miR-338-3p 低表达组 ( $\text{Log-rank } \chi^2 = 15.615, P < 0.001$ ); PLCD3 mRNA 高表达组 3 年 DFS 低于 PLCD3 mRNA 低表达组 ( $\text{Log-rank } \chi^2 = 16.088, P < 0.001$ ), Kaplan-Meier 生存曲线见图 2。

2.6 多因素 Cox 回归分析 PTC 患者 DFS 的独立危险因素 以 PTC 患者 DFS 为因变量 (赋值: 是“1”; 否

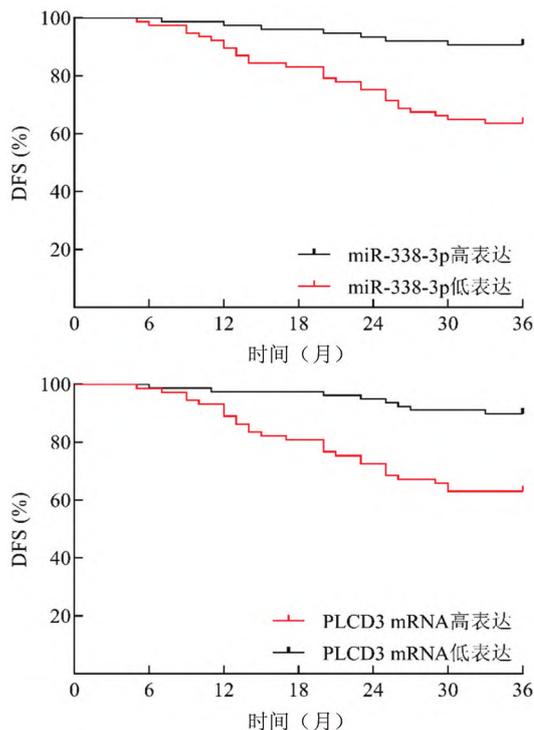


图 2 高/低 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达 PTC 患者 Kaplan-Meier 生存曲线

**Fig. 2** Kaplan-Meier survival curve of PTC patients with high/low miR-338-3p, PLCD3 mRNA expression

为“0”), 以上述结果中  $P < 0.05$  项目为自变量进行多因素 Cox 回归分析, 结果显示: TNM 分期 III 期 (赋值: III 期 / I ~ II 期 = 1/0)、淋巴结转移 (赋值: 有/无 = 1/0)、PLCD3 mRNA (赋值:  $\geq 1.83 / < 1.83 = 1/0$ )  $\geq 1.83$  为 PTC 患者 DFS 的独立危险因素, miR-338-3p (赋值:  $\geq 0.57 / < 0.57 = 1/0$ )  $\geq 0.57$  为独立保护因素

表 2 miR-338-3p、PLCD3 mRNA 表达在不同临床/病理中的差异比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

**Tab. 2** Comparison of differences in miR-338-3p, PLCD3 mRNA expression in different clinical/pathological settings

项目	例数	miR-338-3p	t/F 值	P 值	PLCD3 mRNA	t/F 值	P 值
性别	男	40	0.56 ± 0.07	0.388	1.85 ± 0.19	0.541	0.589
	女	112	0.57 ± 0.08				
年龄	≥55 岁	33	0.58 ± 0.08	1.076	1.80 ± 0.16	0.943	0.347
	<55 岁	119	0.56 ± 0.08				
病理类型	微小乳头状癌	88	0.56 ± 0.08	0.703	1.84 ± 0.20	0.693	0.489
	其他	64	0.57 ± 0.08				
肿瘤最大径	≥2 cm	71	0.56 ± 0.07	1.891	1.86 ± 0.20	1.831	0.069
	<2 cm	81	0.58 ± 0.08				
BRAF-V600E 突变	是	59	0.56 ± 0.07	1.530	1.83 ± 0.21	1.522	0.130
	否	93	0.58 ± 0.08				
TNM 分期	I 期	38	0.63 ± 0.07	27.915	1.67 ± 0.15	30.778	<0.001
	II 期	52	0.57 ± 0.07				
	III 期	62	0.53 ± 0.06				
淋巴结转移	有	68	0.54 ± 0.07	3.508	1.89 ± 0.19	3.430	0.001
	无	84	0.59 ± 0.08				

( $P < 0.05$ ), 见表 3。

表 3 多因素 Cox 回归分析 PTC 患者 DFS 的独立危险因素

Tab. 3 Multivariate Cox regression analysis of independent risk factors for DFS in PTC patients

变量	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
TNM 分期 III 期	1.168	0.439	7.084	0.008	3.127	1.361 ~ 7.604
淋巴结转移	0.935	0.422	4.916	0.027	2.546	1.115 ~ 5.817
miR-338-3p 高	-1.184	0.493	5.770	0.016	0.306	0.116 ~ 0.804
PLCD3 mRNA 高	1.049	0.452	5.390	0.020	2.854	1.178 ~ 6.919

### 3 讨论

PTC 是一种起源于甲状腺的具有乳头状生长模式的分化型甲状腺癌,通常表现为甲状腺肿块、颈部肿块或淋巴结肿大,发病可能与放射线暴露、遗传基因突变、甲状腺疾病史、饮食因素以及年龄等有关<sup>[12]</sup>。手术是 PTC 的有效治疗策略,PTC 的恶性程度远低于甲状腺未分化癌、分化癌等类型,大多数早中期患者术后可获得良好预后,但 PTC 较强的淋巴结和血行转移倾向仍然危及患者生命安全;且针对晚期 PTC,即使近年来靶向药物取得较大进展,患者总体预后仍然较差<sup>[13-14]</sup>。

EMT 是指上皮细胞失去极性和细胞间连接,获得间质细胞特征以增强细胞侵袭性和转移能力的一种细胞生物学过程,在多种恶性肿瘤过程中,异常激活的 EMT 能增强癌细胞侵袭和转移特性,与肿瘤发展、恶化、复发、耐药、预后等密切相关<sup>[4]</sup>。N-Cad、E-Cad、VIM 是 EMT 过程中的重要分子,其中 N-Cad 能介导细胞—细胞间黏附,通过增强细胞间解耦促进 EMT; E-Cad 能抑制上皮细胞运动性以维持细胞结构,其降低或丢失能促进 EMT; VIM 参与细胞骨架调节,通过增强细胞弹性、强度、拉伸性等促进 EMT<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示,PTC 组织 N-Cad、VIM 蛋白阳性表达率升高, E-Cad 蛋白阳性表达率降低,说明 PTC 存在显著的 EMT。寻找与 PTC 发生过程中 EMT 相关的机制,对寻找新的治疗靶点和改善患者预后意义重大。

miRNA 是一类小的非编码 RNA 分子,可通过靶向调节 mRNA 翻译或降解来影响基因表达,从而通过 EMT、免疫、糖酵解等多种机制影响 PTC 相关过程<sup>[5]</sup>。miR-338-3p 是位于人染色体 17q25.3 上的一种 miRNA,与多种恶性肿瘤相关。王乾等<sup>[17]</sup> 研究报道,miR-338-3p 在膀胱癌中低表达,上调 miR-338-3p 能靶向抑制 Y 染色体性别决定区盒转录因子 4 表达,通过下调 N-Cad、VIM 蛋白表达和上调 E-Cad 蛋白表达,抑制膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭。宗振峰等<sup>[18]</sup> 研究报道,miR-338-3p 在非小细胞肺癌中低表达,过表达 miR-338-3p 能靶向下调结肠直肠癌转移相关基因 1 来阻

断丝裂原细胞外激酶/细胞外信号调节激酶,抑制非小细胞肺癌细胞增殖和 EMT。宋泓杉等<sup>[19]</sup> 研究报道,结肠直肠癌组织中 miR-338-3p 低表达与患者累积生存率降低有关。提示 miR-338-3p 在多种恶性肿瘤中发挥抑癌作用,并影响 EMT 和预后。有实验指出,上调 miR-338-3p 表达能抑制 PTC 细胞增殖、迁移和侵袭和促进凋亡<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,PTC 组织 miR-338-3p 低表达,与 TNM 分期、淋巴结转移和 EMT 有关,且 miR-338-3p 高表达患者 3 年 DFS 更高,是 PTC 患者 DFS 的独立保护因素,说明 miR-338-3p 低表达与 PTC 患者不良参数、EMT 和预后不良密切相关。分析原因,miR-338-3p 能靶向下调 Y 染色体性别决定区盒转录因子 4 表达,阻断其介导的上皮—间充质转化过程,通过抑制 EMT 降低 PTC 细胞侵袭和转移能力,进而改善预后<sup>[19]</sup>;同时,miR-338-3p 能靶向下调沉默调节蛋白 6,增加 E-Cad 表达和减少 N-Cad、VIM 表达,从而抑制 PTC 细胞恶性进展和 EMT,改善患者预后<sup>[21]</sup>。

PLCD3 是人染色体 17q21.31 上的蛋白编码基因,由水解磷脂酰肌醇生成二酰基甘油和肌醇 1,4,5-三磷酸的酶组成,能通过调节细胞信号传导、细胞黏附、细胞内外电荷分布等多种功能参与恶性肿瘤过程<sup>[22]</sup>。PLCD3 在食管鳞状细胞癌中高表达,能激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/p21 信号通路,促进食管鳞状细胞癌细胞增殖、迁移和侵袭<sup>[22]</sup>。Yu 等<sup>[10]</sup> 研究报道,PLCD3 在胃癌中高表达,能激活 Janus 激酶 2/信号传导及转录激活蛋白 3 信号,促进胃癌细胞周期进展和 EMT。Zhou 等<sup>[23]</sup> 研究报道,胰腺导管腺癌组织 PLCD3 mRNA 高表达患者与总生存期降低密切相关。提示 PLCD3 在多种恶性肿瘤中发挥着促癌作用,并影响 EMT 和预后。有实验指出<sup>[24]</sup>,下调 PLCD3 表达能抑制甲状腺癌细胞增殖、迁移、侵袭和促进凋亡。本研究结果显示,PTC 组织 PLCD3 mRNA 高表达,与 TNM 分期、淋巴结转移和 EMT 有关,且 PLCD3 mRNA 高表达患者 3 年 DFS 更低,是 PTC 患者 DFS 的独立危险因素,说明 PLCD3 mRNA 高表达与 PTC 患者不良参数、EMT 和预后改善密切相关,其原因可能与 PLCD3 能激活河马/Yes 相关蛋白信号有关。PLCD3 能上调 Yes 相关蛋白激活河马/Yes 相关蛋白信号通路,通过细胞间连接、细胞骨架以及其他信号通路促进 PTC 细胞恶性进展和 EMT,进而影响患者预后<sup>[25-26]</sup>。本研究通过在线数据库预测发现,miR-338-3p 与 PLCD3 存在结合位点,且 miR-338-3p 与 PLCD3 在 PTC 组织中表达呈负相关。Dou 等<sup>[24]</sup> 也报道,上调 miR-338-3p 能靶向抑制 PLCD3,抑制甲状腺癌细胞恶性进展和 EMT。说明 miR-338-3p 与 PLCD3 可能共同参与 PTC 过程。

综上所述,PTC 癌组织中 miR-338-3p 低表达和 PLCD3 mRNA 高表达与不良病理参数、EMT 和预后相关,且 miR-338-3p 与 PLCD3 可能共同参与 PTC 发生过程。但本研究受限于样本量较少和随访时间短,可能影响结果的可靠性。

**利益冲突:**所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明**

柯贤锋:设计研究方案,实施研究过程,分析数据,论文撰写;李强:设计研究方案,实施研究过程,分析数据,论文撰写及审核;向辉:实施研究过程,采集数据,进行统计学分析;崔仪、雷珍珍:实施研究过程,采集数据

**参考文献**

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] 中国抗癌协会甲状腺癌专业委员会. 中国抗癌协会甲状腺癌整合诊治指南(2022 精简版)[J]. *中国肿瘤临床*, 2023, 50(7):325-330. DOI:10.12354/j.issn.1000-8179.2023.20221410.
- [3] 蔡卉珠,黄泽浩,黄樱城,等. 甲状腺乳头状癌侧颈淋巴结转移的诊疗现状[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2023, 58(4):398-402. DOI:10.3760/cma.j.cn115330-20221018-00617.
- [4] Fedele M, Sgarra R, Battista S, et al. The epithelial-mesenchymal transition at the crossroads between metabolism and tumor progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2):800. DOI:10.3390/ijms23020800.
- [5] 张廷华,胡友元. MiRNA 在甲状腺癌中的研究进展[J]. *生命的化学*, 2022, 42(12):2231-2236. DOI:10.13488/j.smhx.20220531.
- [6] 王文静,王晓菲,刘利英,等. miR-338-3p 在恶性肿瘤中的表达异常及其表观遗传组蛋白的修饰位点[J]. *西安交通大学学报:医学版*, 2019, 40(5):706-710, 721. DOI:10.7652/jdyxb201905008.
- [7] Lu H, Zhang Q, Sun Y, et al. LINC00689 induces gastric cancer progression via modulating the miR-338-3p/HOXA3 axis[J]. *J Gene Med*, 2020, 22(12):e3275. DOI:10.1002/jgm.3275.
- [8] 白如雪,许颖颖,刘芳,等. 胃癌组织中 miR-338-3p、PTP1B 的表达观察及患者预后影响因素分析[J]. *山东医药*, 2021, 61(24):20-24. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2021.24.005.
- [9] Armanious H, Adam B, Meunier D, et al. Digital gene expression analysis might aid in the diagnosis of thyroid cancer[J]. *Curr Oncol*, 2020, 27(2):e93-e99. DOI:10.3747/co.27.5533.
- [10] Yu Y, Baral S, Sun Q, et al. PLCD3 inhibits apoptosis and promotes proliferation, invasion and migration in gastric cancer[J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1):26. DOI:10.1007/s12672-024-00881-w.
- [11] Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al. *AJCC cancer staging manual* [M]. 8th ed. New York:Springer, 2017.
- [12] 杨香山,程绍梅,肖瑞雪,等. Snail、N-cadherin 在甲状腺乳头状癌中表达上调及其临床意义[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, 22(2):181-185. DOI:10.7507/1007-9424.20150050.
- [13] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 甲状腺癌诊疗指南(2022 年版)[J]. *中国实用外科杂志*, 2022, 42(12):1343-1357, 1363. DOI:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2022.

- 12.02.
- [14] 中国抗癌协会甲状腺癌专业委员会,中国抗癌协会头颈肿瘤专业委员会,中华医学会肿瘤学分会甲状腺肿瘤专业委员会. 晚期甲状腺癌靶向药物应用中国专家共识(2022 年版)[J]. *中华普通外科杂志*, 2022, 37(12):881-889. DOI:10.3760/cma.j.cn113855-20220731-00483.
- [15] 刘扬,王金佩,黄国友,等. 肿瘤上皮-间质转化(EMT)的生物力学特性研究进展[J]. *西南民族大学学报:自然科学版*, 2020, 46(6):571-577. DOI:10.11920/xnmdzk.2020.06.004.
- [16] Ang HL, Mohan CD, Shanmugam MK, et al. Mechanism of epithelial-mesenchymal transition in cancer and its regulation by natural compounds[J]. *Med Res Rev*, 2023, 43(4):1141-1200. DOI:10.1002/med.21948.
- [17] 王乾,沈伟,孙宾,等. Circ\_0058063 通过 miR-338-3p 靶向 SOX4 调控膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(21):3939-3945. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2023.21.007.
- [18] 宗振峰,唐国杰,国玉. miR-338-3p 靶向 MACC1 调节 MEK/ERK 信号通路抑制非小细胞肺癌的增殖和 EMT[J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(11):1723-1728. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2022.11.019.
- [19] 宋泓杉,张鹏,张佃良,等. circ ASAP1 在结直肠癌中的表达水平及临床意义[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(10):1340-1344. DOI:10.3969/j.issn.1672-3619.2022.10.004.
- [20] Luo Q, Guo F, Fu Q, et al. hsa\_circ\_0001018 promotes papillary thyroid cancer by facilitating cell survival, invasion, G1/S cell cycle progression, and repressing cell apoptosis via crosstalk with miR-338-3p and SOX4[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 2(24):591-609. DOI:10.1016/j.omtn.2021.02.023.
- [21] 李涛,李佳,潘婧,等. miR-338-3p 对甲状腺乳头状癌细胞系 TPC-1 增殖、侵袭、迁移和上皮-间质转化的调控作用[J]. *检验医学*, 2022, 37(6):583-589. DOI:10.3969/j.issn.1673-8640.2022.06.016.
- [22] Wang M, Gao M, Chen Y, et al. PLCD3 promotes malignant cell behaviors in esophageal squamous cell carcinoma via the PI3K/AKT/P21 signaling[J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1):921. DOI:10.1186/s12885-023-11409-w.
- [23] Zhou X, Liao X, Wang X, et al. Noteworthy prognostic value of phospholipase C delta genes in early stage pancreatic ductal adenocarcinoma patients after pancreaticoduodenectomy and potential molecular mechanisms[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(3):859-871. DOI:10.1002/cam4.2699.
- [24] Dou XL, Xia FD, Li XY. Circ\_0003747 promotes thyroid cancer progression by sponging miR-338-3p to upregulate PLCD3 expression[J]. *Epigenetics*, 2023, 18(1):2210339. DOI:10.1080/15592294.2023.2210339.
- [25] Akrida I, Bravou V, Papadaki H. The deadly cross-talk between Hippo pathway and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(10):10065-10076. DOI:10.1007/s11033-022-07590-z.
- [26] Lin L, Wen J, Lin B, et al. Phospholipase C Delta 3 inhibits apoptosis and promotes proliferation, migration, and invasion of thyroid cancer cells via Hippo pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2021, 53(4):481-491. DOI:10.1093/abbs/gmab016.

(收稿日期:2024-03-06)