

细针穿刺标本中葡萄糖转运体1基因检测在诊断甲状腺癌中的价值

吴亚¹, 曹星月¹, 邓红艳², 杭菁², 王剑翔², 李霄³, 姚青³, 沈美萍⁴, 武晓泓^{1*}

¹南京医科大学第一附属医院内分泌科, ²超声科, ³病理科, ⁴普外科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨葡萄糖转运体1(glucose transporter 1, GLUT1)基因检测在术前鉴别甲状腺良性恶性结节中的价值。方法:采用RT-qPCR检测112例甲状腺结节(42例良性,70例恶性)和52例结节周边正常甲状腺细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)标本中GLUT1 mRNA的表达量,然后采用免疫组织化学方法检测术后病理组织中GLUT1蛋白的表达情况。构建受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价GLUT1基因对甲状腺癌的诊断价值。结果:甲状腺结节FNA标本中可以检测出GLUT1 mRNA的表达,且其与术后免疫组化GLUT1蛋白的表达水平相一致。PCR结果表明GLUT1基因在良性结节与正常甲状腺细胞之间的表达水平无显著性差异($P > 0.05$)。与良性结节相比,甲状腺癌中GLUT1基因表达水平显著增高($P < 0.001$)。GLUT1基因诊断甲状腺癌的敏感性、特异性及ROC曲线下面积(AUC)分别为62.9%、92.9%和0.797。甲状腺癌中GLUT1基因表达与年龄、性别、肿瘤大小、结节数目、BRAF^{V600E}突变和淋巴结转移均未见明显相关性($P > 0.05$),但与AJCC分期显著相关($P < 0.001$)。结论:GLUT1基因检测对甲状腺癌的诊断具有较高的特异性,可作为术前鉴别甲状腺良恶性病变的重要参考指标。

[关键词] 甲状腺结节;细针穿刺;葡萄糖转运体1;BRAF^{V600E}

[中图分类号] R736.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)08-1107-06

doi:10.7655/NYDXBNS20180818

Glucose transporter 1 gene of fine needle aspiration specimen in the diagnosis of thyroid cancer

Wu Ya¹, Cao Xingyue¹, Deng Hongyan², Hang Jing², Wang Jianxiang², Li Xiao³, Yao Qing³, Shen Meiping⁴, Wu Xiaohong^{1*}

¹Department of Endocrinology, ²Department of Ultrasound, ³Department of Pathology, ⁴Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** The aim of the study was to investigate the diagnostic value of glucose transporter 1 (GLUT1) gene expression in differentiating malignant thyroid nodules from benign ones. **Methods:** Reverse transcription Quantitative Real-time PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of GLUT1 mRNA in 112 thyroid nodules (42 benign nodules and 70 malignant ones) and 52 peripheral normal thyroid cells of fine needle aspiration (FNA) specimens. Furthermore, immunohistochemistry (IHC) was used to detect the expression of GLUT1 protein in postoperative thyroid nodule tissues. Receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to evaluate the diagnostic performance of GLUT1 gene in diagnosing thyroid carcinoma. **Results:** The expression of GLUT1 mRNA can be detected in FNA specimens, and it was in line with the expression of GLUT1 protein in IHC. PCR results showed that there was no significant difference in the expression of GLUT1 mRNA between benign nodules and normal thyroid cells ($P > 0.05$). Compared to benign nodules, the expression of GLUT1 mRNA in thyroid cancer increased significantly ($P < 0.001$). The sensitivity, specificity and area under the curve (AUC) of GLUT1 gene in the diagnosis of thyroid cancer were 62.9%, 92.9% and 0.797, respectively. The expression of GLUT1 gene in thyroid cancer was not correlated with sex, age, tumor size, number of nodules, BRAF^{V600E} mutation or lymph node metastasis ($P > 0.05$), but significantly correlated with AJCC staging ($P < 0.001$). **Conclusion:** GLUT1 gene detection had high specificity in diagnosing thyroid cancer, making it an important reference for the preoperatively differentiation of benign and malignant lesions.

[Key words] thyroid nodule; fine needle aspiration; glucose transporter 1; BRAF^{V600E}

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(08):1107-1112]

[基金项目] 江苏省兴卫工程医学重点人才项目(RC2011068)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: drxhwu@njmu.edu.cn

甲状腺结节是内分泌科常见的疾病,随着现代超声技术的提高,其检出率高达19%~68%^[1]。判断其良恶性是指导临床下一步治疗的关键。目前,细针穿刺细胞(fine-needle aspiration, FNA)检查是术前鉴别甲状腺良恶性结节的金标准。Bethesda甲状腺细胞病理报告系统(Bethesda system for reporting thyroid cytopathology, BSRTC)是近来国际上比较公认的甲状腺细胞病理学诊断指南。然而,当BSRTC结果提示I、Ⅲ、Ⅳ或V类时,结节的性质仍不能明确诊断,上述结节分别占2%~16%、2%~18%、2%~25%和1%~6%^[1]。针对上述问题,较多学者着眼于寻找合适的分子标志物辅助诊断。多项研究通过免疫组化、Western blot及RT-PCR证明葡萄糖转运体1(glucose transporter 1, GLUT1)在人甲状腺癌术后组织及甲状腺癌细胞系中的表达量明显高于良性甲状腺结节^[2-4]。然而, GLUT1基因在甲状腺结节术前FNA标本中的表达及其在术前预测甲状腺癌风险方面的价值尚未见报道。本研究通过检测FNA标本中GLUT1基因mRNA的表达,比较GLUT1基因在良恶性甲状腺结节中的表达差异及其与临床特征的相关性,并进一步分析GLUT1基因在BSRTC I、Ⅲ、Ⅳ及V类结节中鉴别良恶性结节的价值,进而探究GLUT1基因在术前预测甲状腺癌中的作用。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2016年1月—2017年12月在南京医科大学第一附属医院超声诊断科行FNA检查的甲状腺结节。收集所有病例的一般临床资料(包括患者年龄、性别、结节最大径、结节数目和手术结节的AJCC分期^[5])、FNA病理结果及BRAF^{V600E}突变结果。入选标准:①实性结节;②直径≥5 mm的结节;③甲状腺影像报告和数据系统(thyroid imaging reporting and data system, TIRADS)3级及以上的结节。排除标准:①样本mRNA浓度或纯度不达标的结节;②细胞学结果为BSRTC II类,随访1年及以上,但三维超声提示任何一个维度的最大径增加超过20%且尚未手术的结节;③细胞学结果为BSRTC I、Ⅲ、Ⅳ、V或Ⅵ类且未手术的结节。最终,110例患者共112个结节满足标准。手术者以术后组织病理学结果作为判断良恶性的标准。细胞学结果为BSRTC II类的结节经超声随访1年,直径未见明显增大者视为良性结节。另外,选取在本单位手术的术后标

本16例采用免疫组化检测GLUT1蛋白的表达。本研究经医院伦理委员会审批通过(2012-SR-057)。

1.2 方法

1.2.1 FNA与细胞学诊断

穿刺方法与本课题组之前的研究一致^[6]。穿刺标本部分用于膜式液基薄层细胞学检测,部分置于500 μL TRIzol中用于RNA的提取,剩余样本置于180 μL细胞裂解液中,用于BRAF^{V600E}基因突变检测。另外,再单独穿刺结节周边正常甲状腺细胞(距甲状腺结节≥10 mm)置于500 μL TRIzol中。检查前均获得患者本人知情同意并签署知情同意书。所有FNA结果由1位经验丰富的病理科医生根据BSRTC^[7]进行诊断,结果分为6大类,分别是I类(取材不能诊断或不满意)、II类(良性)、III类(不确定)、IV类(滤泡性肿瘤/可疑滤泡性肿瘤)、V类(可疑恶性)和VI类(恶性)。

1.2.2 DNA提取及BRAF^{V600E}基因突变检测

DNA提取采用FFPE样品DNA分离试剂盒(离心柱型,南京艾德公司),方法同本课题组之前的研究^[6]。用Nanodrop[®]ND-2000分光光度计检测DNA浓度和纯度,DNA纯度要求OD260/OD280在1.8~2.0之间。BRAF^{V600E}检测:按照人类BRAF基因V600E突变检测试剂盒(南京艾德公司)说明书进行操作。ABI7900实时荧光定量PCR仪进行扩增,反应条件为:预变性(95 ℃ 5 min);15个循环退火(95 ℃ 25 s, 64 ℃ 20 s, 72 ℃ 20 s);31个循环延伸(93 ℃ 25 s, 60 ℃ 35 s, 72 ℃ 20 s)。若样本CT值<28时为阳性(突变型),否则为阴性(野生型)。

1.2.3 mRNA提取和RT-qPCR扩增

根据试剂说明书用TRIzol(Invitrogen公司,美国)提取甲状腺结节FNA标本中总RNA, Nanodrop[®]ND-2000分光光度计检测mRNA的浓度和纯度,然后再用5×Prime Script[®] RT Master Mix试剂盒(TaKaRa公司,日本)将mRNA逆转录为cDNA。在StepOnePlus荧光定量PCR仪(ABI,美国)上进行qPCR扩增,以SYBR[®] Premix Ex Taq[™](TaKaRa公司,日本)为反应体系,以β-Actin为内参。引物设计如下:GLUT1上游引物5'-GGCCAAGAGTGTGCTA-AAGAA-3',下游引物5'-ACAGCGTTGATGCCAGACAG-3';β-Actin上游引物5'-CATGTACGTTGC-TATCCAGGC-3',下游引物5'-CTCCTTAATGTCAC-GCACGAT-3'。反应条件如下:95 ℃ 20 s 预变性;95 ℃ 5 s, 60 ℃ 31 s, 40个循环。所有样本均重复3次。在PCR仪上进行扩增,得到CT值,再采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$

法对基因进行相对定量分析。

1.2.4 免疫组织化学法检测 GLUT1 蛋白的表达

取甲状腺结节术后石蜡包埋组织进行连续 4 μm 切片。人 GLUT1 抗体是兔源性抗体(福州迈新生物公司, RAB-0526)。常规脱蜡, 柠檬酸进行抗原修复, 1% Triton X-100 促使细胞通透, 3% 过氧化氢消除内源性过氧化物酶, 用山羊血清封闭后, 滴加一抗 4 °C 湿盒中孵育过夜, 再加入二抗, 37 °C 避光孵育 30 min。滴加 DAB 显色液, 在显微镜下控制显色, 最后用 Harris 苏木素染核 5 min, 酒精梯度脱水, 中性树胶封片后在显微镜下观察并采集图片。结果判定: 棕黄色颗粒表示免疫组化阳性信号。根据 Remmele 等^[8]报道, 免疫染色评分=染色强度×染色阳性细胞比例, 染色强度分为 0~3 分: 无, 弱, 中, 强; 染色阳性肿瘤细胞比例分为 0~4 分: 0%, <10%, 11%~50%, 51%~80%, >80%。最终免疫组化的结果分为: 阴性-(0 分), 弱阳性+(1~3 分), 中等阳性++(4~8 分), 强阳性+++ (9~12 分)。

1.3 统计学方法

数据经 SPSS 23.0 分析处理, 定量资料结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较用方差分析和 LSD-*t* 检验。定性资料用 χ^2 检验, 相关性分析用 Spearman 等级相关。采用 MedCalc 15.2.2 构建受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线, 选择 GLUT1 mRNA 相对表达量诊断甲状腺癌的截断值, 并计算敏感性、特异性及曲线下面积(area under the curve, AUC)。 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特点

本研究入选 110 例共 112 个结节, 研究人群和结节的一般临床资料见表 1。恶性结节共 70 例, 良性结节共 42 例及与之匹配的部分结节周边正常甲状腺细胞 52 例。恶性患者的年龄明显小于良性患者($P < 0.01$)。性别、结节数目及 BRAF^{V600E} 突变在良恶性结节之间的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。所有结节中, 86 例手术切除, 病理结果为乳头状癌 70 例, 结节性甲状腺肿 15 例和滤泡性腺瘤 1 例。细胞学结果为 BSRTC I 类结节共 5 例(均为良性), BSRTC II 类结节共 28 例(均为良性), BSRTC III 类结节共 13 例(8 例良性, 5 例恶性), BSRTC IV 类结节 1 例(良性), BSRTC V 类结节共 15 例(均为恶性)和 BSRTC VI 类结节共 50 例(均为恶性)。

表 1 研究人群及结节的临床资料

Table 1 Clinal features of the study population and nodules

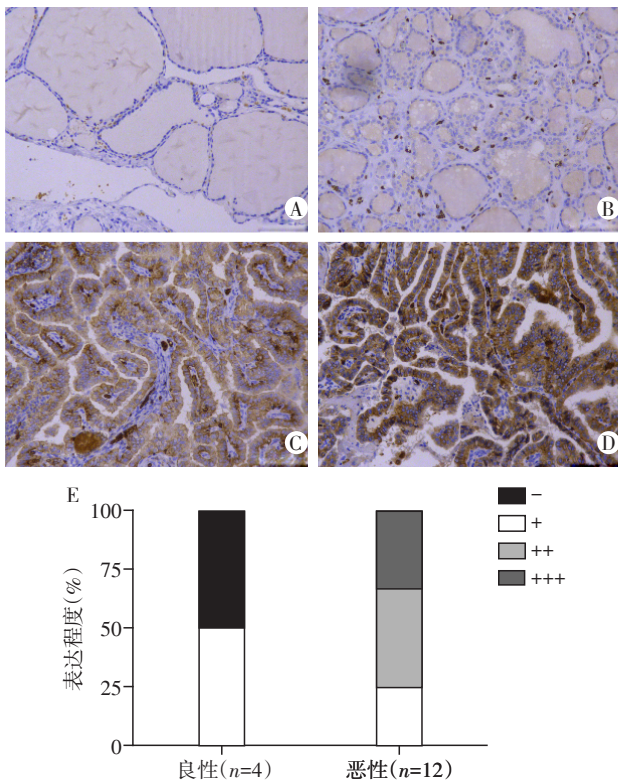
指标	良性(n=42)	恶性(n=70)	P 值
性别[n(%)]			<0.001
男	1(2.4)	21(30.0)	
女	41(97.6)	49(70.0)	
年龄(岁)	48.12 ± 10.96	40.66 ± 13.06	<0.01
结节最大径 d(mm)	20.96 ± 11.28	17.89 ± 13.42	>0.05
甲状腺功能			
FT ₃ (pmol/L)	4.34 ± 0.79	4.55 ± 0.77	>0.05
FT ₄ (pmol/L)	16.14 ± 4.04	16.56 ± 2.79	>0.05
TSH(mIU/L)	1.90 ± 1.40	2.35 ± 1.38	>0.05
结节数目[n(%)]			<0.05
单发	21(50.0)	21(30.0)	
多发	21(50.0)	49(70.0)	
BRAF ^{V600E} [n(%)]			<0.001
野生型	42(100.0)	11(15.7)	
突变型	0(0.0)	59(84.3)	

2.2 FNAC 标本中 GLUT1 基因的表达水平与术后免疫组化 GLUT1 蛋白表达的相关性分析

选取以上 FNAC 检测后行手术切除的部分患者甲状腺结节术后病理组织石蜡切片标本 16 例(4 例结节性甲状腺肿, 12 例甲状腺乳头状癌), 运用免疫组化检测 GLUT1 蛋白的表达。免疫组化结果提示 GLUT1 蛋白在正常甲状腺组织呈阴性表达, 结节性甲状腺肿呈阴性或弱阳性表达, 甲状腺癌中呈阳性表达(图 1A~D)。良性结节及甲状腺癌中 GLUT1 蛋白表达程度见图 1E。此外, GLUT1 蛋白表达与术前 FNAC 标本中 mRNA 表达水平呈正相关($P < 0.001$, 图 2)。

2.3 GLUT1 基因在良性结节、甲状腺癌及结节周边正常甲状腺细胞中的 mRNA 表达水平

GLUT1 基因在正常甲状腺细胞、良性结节和甲状腺癌之间 mRNA 相对表达水平的差异具有统计学意义。与正常细胞及良性结节相比, 甲状腺癌中 GLUT1 基因的表达均显著增高($P < 0.001$)。甲状腺癌中 GLUT1 mRNA 的相对表达量是良性结节的 1.94 倍。而 GLUT1 基因在良性结节组和正常甲状腺细胞组之间的表达无明显差异(图 3A)。此外, 构建 ROC 曲线, 选择 Youden 指数最大值($Y_{max}=2.34$)作为鉴别良恶性结节的截断值, 此时的敏感性、特异性及 AUC (95% CI) 分别为 62.9%, 92.9% 和 0.797 (0.711~0.867, 图 3B)。GLUT1 基因在甲状腺癌中的表达与年龄、性别、肿瘤大小、结节数目、BRAF^{V600E}、



A: 正常甲状腺组织($\times 200$); B: 结节性甲状腺肿($\times 200$); C: 无淋巴结转移的甲状腺癌($\times 200$); D: 有淋巴结转移的甲状腺癌($\times 200$); E: GLUT1 蛋白在良性结节和甲状腺癌中的表达程度。

图1 甲状腺组织中 GLUT1 蛋白的表达

Figure 1 The expression of GLUT1 protein in thyroid tissues

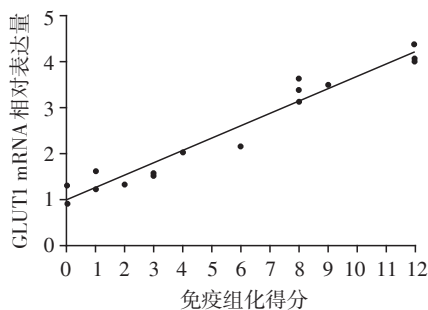


图2 术后免疫组化 GLUT1 蛋白表达与术前 FNA 标本 GLUT1 mRNA 表达的相关性

Figure 2 Correlation between the expression of immunohistochemical GLUT1 protein and the relative expression of GLUT1 mRNA in FNA specimens

淋巴结转移均无显著相关性($P > 0.05$),而与肿瘤的 AJCC 分期明显相关($P < 0.001$),即 GLUT1 基因的表达随 AJCC 分期的增高而增加(表 2)。进一步探究 GLUT1 基因在 BSRTC I、III、IV 及 V 类结节中诊断甲状腺癌的价值。结果发现 GLUT1 基因在恶性结节中的表达显著高于良性结节,其诊断甲状腺癌

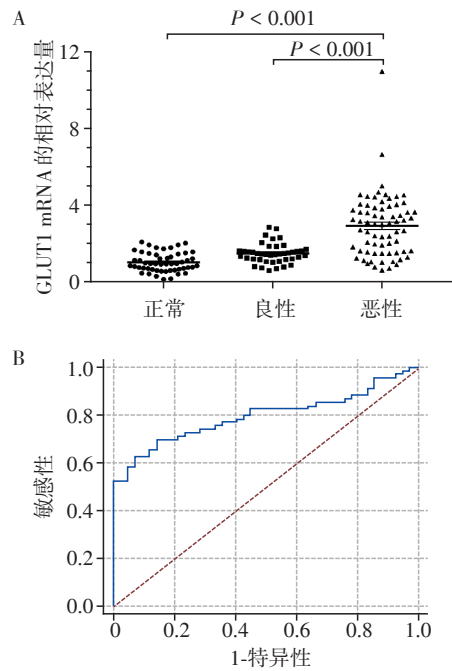


图3 GLUT1 基因在正常甲状腺细胞、良性甲状腺结节及甲状腺癌中的相对表达量(A)及诊断甲状腺癌的 ROC 曲线(B)

Figure 3 Relative expression of GLUT1 in normal thyroid cells, benign nodules and thyroid cancers (A) and receiver operating characteristic (ROC) curve of GLUT1 gene in diagnosing thyroid cancer (B)

的敏感性、特异性及 AUC (95% CI) 分别为 75.0%、85.7% 和 0.857 (0.694~0.953, 图 4)。

3 讨论

与正常组织细胞不同,肿瘤细胞即使在氧气充足的条件下,其糖酵解依然异常活跃,葡萄糖经过一系列酶促反应生成丙酮酸,进而产生乳酸及能量,该过程叫作有氧糖酵解,也称为“瓦博格效应 (Warburg Effect)”^[9]。由于糖酵解产效率远不及有氧氧化,因此恶性肿瘤细胞必然需要摄取大量葡萄糖进入细胞内,从而满足肿瘤细胞生长的高代谢需求。而细胞摄取葡萄糖主要依赖于细胞膜上的 GLUT1。越来越多的研究显示, GLUT1 在甲状腺癌中的表达水平也明显上调^[3-4]。

在本研究中,采用 RT-qPCR 技术检测甲状腺结节 FNA 标本中 GLUT1 mRNA 的表达情况,并且发现其与术后免疫组化 GLUT1 蛋白表达水平相一致。PCR 结果显示甲状腺癌中 GLUT1 的表达量明显高于正常甲状腺组及良性结节组,而 GLUT1 的表达在良性结节与正常甲状腺细胞之间无明显差异,这与

表2 甲状腺癌中 GLUT1 基因表达水平与临床或病理特征的关系

Table 2 The relationship between GLUT1 mRNA relative expression of thyroid carcinoma and clinical or pathological features

临床或病理特征	甲状腺癌数目	mRNA 相对表达量	P 值
年龄			>0.05
<55 岁	56	2.72 ± 1.29	
≥55 岁	14	3.88 ± 2.38	
肿瘤大小			>0.05
d≤20 mm	56	2.96 ± 1.60	
20 mm<d≤40 mm	8	3.29 ± 1.97	
d>40 mm	6	2.48 ± 1.41	
性别			>0.05
男	21	3.03 ± 1.40	
女	49	2.92 ± 1.72	
结节数目			>0.05
单发	21	2.71 ± 1.11	
多发	49	3.06 ± 1.80	
BRAF ^{V600E}			>0.05
野生型	11	2.73 ± 1.16	
突变型	59	2.99 ± 1.70	
淋巴结转移			>0.05
未转移	46	2.81 ± 1.81	
转移	24	3.22 ± 1.16	
AJCC 分期			<0.001
I 期	60	2.69 ± 1.27	
II 期	6	3.70 ± 1.37	
III/IV 期	4	5.84 ± 3.44 [#]	

与 AJCC I 期相比, *P < 0.001; 与 AJCC II 期相比, *P < 0.05。

Matsuzu 等^[2]采用 RT-PCR 检测甲状腺结节术后标本 GLUT1 mRNA 表达水平相一致,也与甲状腺结节术后标本免疫组化及 Western blot 中 GLUT1 蛋白表达情况相一致^[3-4]。而 Chandan 等^[10]运用免疫组化检测术前 FNA 标本中 GLUT1 的表达,发现 GLUT1 蛋白在甲状腺癌 FNA 标本中表达均呈阴性,其原因可能是术前 FNA 标本过少而免疫组化的灵敏度较低以至不能检测出微量蛋白表达,而本研究中采用的 qPCR 的灵敏度显著高于免疫组化。

有研究发现 KRAS 或 BRAF^{V600E} 突变可通过上调 GLUT1 的表达量,进而提高甲状腺癌对葡萄糖的摄取率。因此, GLUT1 过表达被认为是癌细胞代谢特征的调节器^[11]。Durante 等^[12]研究发现与 BRAF^{V600E} 野生型甲状腺癌相比, BRAF^{V600E} 突变型甲状腺癌中的 GLUT1 mRNA 表达显著增加。而本研究中并未

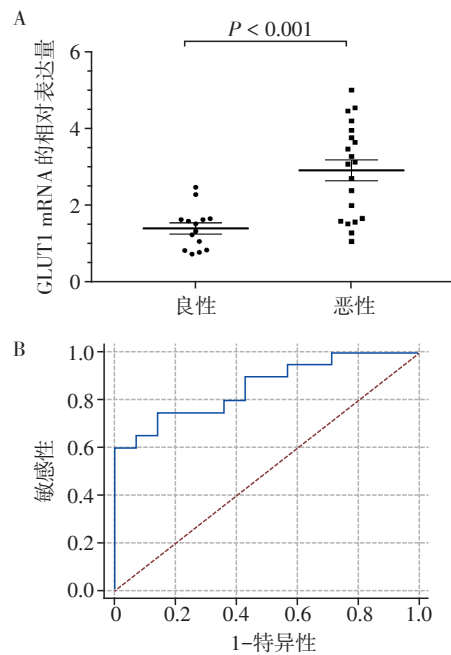


图4 GLUT1 基因在 BSRTC I + III + IV + V 类结节中鉴别良恶性病变的价值

Figure 4 The value of GLUT1 gene in diagnosing malignancy in BSRTC I, III, IV and V nodules

发现 BRAF^{V600E} 突变型甲状腺癌的 GLUT1 表达比 BRAF^{V600E} 野生型甲状腺癌高,这可能受研究人群差异及本中心较高的 BRAF^{V600E} 突变率的影响。关于 GLUT1 基因表达是否与淋巴结转移具有相关性,其中有一研究提示 GLUT1 基因在有淋巴结转移组中的表达水平稍高于没有淋巴结转移组,而组间差异没有统计学意义^[2]。在本研究中也未发现 GLUT1 表达水平与淋巴结转移的相关性。Jozwiak 等^[3]发现 GLUT1 表达与甲状腺癌的临床分期密切相关,临床分期越高, GLUT1 基因的表达越高。本研究也提示临床分期高的 GLUT1 基因的表达量比分期低的表达量高。研究还进一步分析了 GLUT1 在 BSRTC I、III、IV 及 V 类结节中鉴别良恶性结节的作用,结果发现 GLUT1 在该类结节中仍具有一定诊断价值,这提示 GLUT1 基因可作为术前 FNA 检测的辅助诊断方法。然而多项研究表明 GLUT1 表达与甲状腺癌的分化程度密切相关, GLUT1 在甲状腺低分化癌或未分化癌中的表达最高^[13-14],其表达越高表明甲状腺癌的增殖能力越强^[11]。另外,有研究显示与 GLUT1 阴性表达的甲状腺乳头状癌患者相比, GLUT1 阳性表达的甲状腺乳头状癌患者的生存时间要低^[15]。值得注意的是,并不是所有甲状腺癌中 GLUT1 的表达都会增高, GLUT1 的表达还受到肿瘤微环境的影响,可能在肿瘤坏死区周边或缺氧区的

表达最高^[16],即 GLUT1 阴性表达不能完全排除甲状腺癌的可能。

本研究尚存在一定局限性。首先,选取的样本是超声提示恶性可能需要进行穿刺来明确诊断的结节,整体恶性率偏高。再者部分 BSRTC II 类结节并未手术,是通过超声随访评估其良恶性,可能会导致部分甲状腺癌被漏诊。另外,本研究纳入的甲状腺癌主要是乳头状癌,可以扩大样本进一步研究 GLUT1 基因在不同类型甲状腺癌中的表达量,进而分析不同类型甲状腺癌的诊断截断值。

综上所述,本研究通过对 GLUT1 基因在甲状腺结节 FNA 标本中的定量分析表明, GLUT1 基因对甲状腺癌的诊断具有较高的敏感性及特异性,为甲状腺结节术前良恶性鉴别提供新的辅助诊断方法。

[参考文献]

- [1] 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
- [2] Matsuzaki K, Segade F, Matsuzaki U, et al. Differential expression of glucose transporters in normal and pathologic thyroid tissue [J]. *Thyroid*, 2004, 14(10): 806-812
- [3] Jozwiak P, Krzeslak A, Pomorski L, et al. Expression of hypoxia-related glucose transporters GLUT1 and GLUT3 in benign, malignant and non-neoplastic thyroid lesions [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(3): 601-606
- [4] Yasuda M, Ogane N, Hayashi H, et al. Glucose transporter -1 expression in the thyroid gland: clinicopathological significance for papillary carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2005, 14(6): 1499-1504
- [5] Tuttle RM, Haugen B, Perrier ND. Updated American Joint Committee on cancer/tumor-node-metastasis staging system for differentiated and anaplastic thyroid cancer (eighth edition): what changed and why? [J]. *Thyroid*, 2017, 27(6): 751-756
- [6] Zhang YZ, Xu T, Cui D, et al. Value of TIRADS, BSRTC and FNA - BRAF^{V600E} mutation analysis in differentiating high-risk thyroid nodules [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16927
- [7] Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology [J]. *Thyroid*, 2009, 19(11): 1159-1165
- [8] Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER - ICA) in breast cancer tissue [J]. *Pathologe*, 1987, 8(3): 138-140
- [9] Ngo DC, Ververis K, Tortorella SM, et al. Introduction to the molecular basis of cancer metabolism and the Warburg effect [J]. *Mol Biol Rep*, 2015, 42(4): 819-823
- [10] Chandan VS, Faquin WC, Wilbur DC, et al. The role of immunolocalization of CD57 and GLUT-1 in cell blocks in fine-needle aspiration diagnosis of papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer*, 2006, 108(5): 331-336
- [11] Grabellus F, Worm K, Schmid KW, et al. The BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma is associated with glucose transporter 1 overexpression [J]. *Thyroid*, 2012, 22(4): 377-382
- [12] Durante C, Puxeddu E, Ferretti E, et al. BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(7): 2840-2843
- [13] Grabellus F, Nagarajah J, Bockisch A, et al. Glucose transporter 1 expression, tumor proliferation, and iodine/glucose uptake in thyroid cancer with emphasis on poorly differentiated thyroid carcinoma [J]. *Clin Nucl Med*, 2012, 37(2): 121-127
- [14] Kim S, Chung JK, Min HS, et al. Expression patterns of glucose transporter-1 gene and thyroid specific genes in human papillary thyroid carcinoma [J]. *Nucl Med Mol Imaging*, 2014, 48(2): 91-97
- [15] Nahm JH, Kim HM, Koo JS. Glycolysis-related protein expression in thyroid cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(3): 1010428317695922
- [16] Mori Y, Tsukinoki K, Yasuda M, et al. Glucose transporter type 1 expression are associated with poor prognosis in patients with salivary gland tumors [J]. *Oral Oncol*, 2007, 43(6): 563-569

[收稿日期] 2018-01-31