DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2018.04.016

BRAF^{V600E} 和 TERT 启动子突变与甲状腺乳头状癌的关系*

代丽丽[1]　综述　　张国安[2]　崔　文[3△]　审校

([1] 济南大学山东省医学科学院与生命科学学院,济南 250022;
[2]济宁医学院司法鉴定中心;[3] 济宁医学院,济宁 272067)

摘　要　近几年甲状腺癌的发病率呈逐渐上升趋势,是内分泌系统最常见的恶性肿瘤。甲状腺癌根据组织学特点分为 4 种病理类型,乳头状癌是其最常见的病理类型。在甲状腺乳头状癌的发生和发展中有多种基因参与,其中 TERT 启动子突变和 BRAF^{V600E}基因突变在甲状腺乳头状癌的发生与发展中发挥着重要作用,并且可能与患者临床病理学特征和不良预后具有相关性。因此,正确全面了解 TERT 和 BRAF^{V600E}基因在甲状腺乳头状癌中的突变特点以及相互作用有助于为甲状腺乳头状癌患者的预后判断和个体化诊治提供依据,从而为靶基因治疗奠定基础。

关键词　甲状腺乳头状癌;BRAF^{V600E}突变;TERT 启动子突变

中图分类号:R736.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-9760(2018)08-290-04

The correlation between BRAF^{V600E} mutation and TERT promoter mutation with papillary thyroid carcinoma

DAI Lili[1], *ZHANG Guoan*[2], *CUI Wen*[3]

([1] *School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan – Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan* 250022, *China*; [2] *Judicial Authentication Center, Jining Medical University*; [3] *Jining Medical University, Jining* 272067, *China*)

Abstract: Thyroid carcinoma (TC) is the most common malignant tumor of the endocrine system which is rising rapidly in recent years. TC is divided into four pathological types, of which papillary carcinoma is the most common pathological type. There are numbers of genes involved in the occurrence and development of thyroid papillary carcinoma. Recently, some researchs find that the mutation of TERT promoter and BRAF^{V600E} in thyroid papillary carcinoma plays an important role, which may be associated with clinical pathologic features and poor prognosis. Therefore, comprehensive understanding the mutation characteristics and interaction of TERT promoter and BRAF^{V600E} gene in the thyroid papillary carcinoma helps to provide the basis for the judge prognosis and individualized treatment and lay the foundation for target gene therapy of papillary thyroid carcinoma.

Keywords: Thyroid papillary carcinoma; BRAF^{V600E}mutation; TERT promoter mutation

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤,近几年发病率呈高发态势[1]。乳头状癌是甲状腺癌最常见的病理类型,约占所有甲状腺癌病理类型的 85% ~90%。甲状腺癌患者中女性发病率明显高于男性,可能与雌激素水平有关[2]。虽然甲状腺乳头状癌(thyroid papillary carcinoma, PTC)分化好、恶性程度低、术后生存率较高,但仍有部分 PTC 患者术后易复发和转移[3]。PTC 是一种受多基因、多因素影响的疾病。目前甲状腺癌相关标记物很多,其中 BRAF^{V600E} 和端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)启动子突变在 PTC 的

*[基金项目]山东省高等学校科技计划(J13 LK14)
△[通信作者]崔文,E-mail:cuiwenmd@163.com

发生、发展中发挥重要作用,可以作为监测 PTC 预后不良的分子指标[4]。本文着重从 $BRAF^{V600E}$ 和 TERT 启动子突变与 PTC 临床病理学特征的相关性进行综述。

1　$BRAF^{V600E}$

1.1　BRAF 基因分子结构及其功能

RAF 基因家族包括:ARAF、BRAF、CRAF。其中 BRAF 基因又称鼠类肉瘤滤过性同源体 B1,位于人染色体 7q34,基因大小约为 190Kb。BRAF 基因含有 7 个转录区,包含 18 个外显子,是激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)能力最强的激活物。该基因编码多种蛋白质,包括相对分子质量为 94KDa、含 783 个氨基酸残基的 BRAF 蛋白。该蛋白属于丝/苏氨酸蛋白激酶,在 RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK 通路中发挥重要作用,是 MEK/ERK 最为关键的激活因子[5-6]。BRAF 蛋白含有 3 个高度保守区:调节区结构域 CR1、CR2 和激酶结构域 CR3。CR3 含有丝氨酸和苏氨酸残基,他们的磷酸化也同样改变了 BRAF 激酶活性,从而在多种生物的生长发育过程中发挥着重要作用。

1.2　$BRAF^{V600E}$ 基因突变活化通路

Davies 等[7]研究指出,在多种肿瘤中均存在 BRAF 基因突变,比如恶性黑色素瘤、结直肠癌、PTC 等。BRAF 基因突变位点大多集中在 CR3 激酶结构域的第 11、15 外显子上。第 15 外显子上 T1799A 点突变占 BRAF 基因全部突变形式的 90%左右[8]。BRAF 基因第 15 外显子的单个碱基的错义突变即第 1799 位的胸腺嘧啶被腺嘌呤替代,从而导致蛋白质产物中第 600 位的赖氨酸(V)被谷氨酸(E)替代(V600E),突变蛋白质 $BRAF^{V600E}$ 因构象改变而激活,向 MAPK 信号通路下游激酶(RAS-BRAF-MEK-ERK)传导信号,使 MAPK 信号通路持续激活,进而导致细胞异常增殖、分化,从而形成了肿瘤[9]。

1.3　$BRAF^{V600E}$ 在 PTC 中的突变情况

$BRAF^{V600E}$ 在 PTC 中的突变率为 31.3% ~ 86.1%[10]。Zhang 等[11]回顾性研究指出,$BRAF^{V600E}$ 平均突变率为 56.3%;Nasirden 等[12]采用免疫组织化学染色技术检测 $BRAF^{V600E}$ 突变蛋白 VE1 在 PTC 组织中的表达,突变率为 67.6%;Jin 等[13]采用聚合酶链反应和基因测序等技术检测 $BRAF^{V600E}$ 基因突变,其突变率为 63.7%。但 Namba 等[14]发现 $BRAF^{V600E}$ 基因突变在 PTC 细胞系中检出率明显高于相应的组织。因此,检测 BRAF 基因突变的可靠方法应为普通 PCR 后直接测序与免疫组化相结合,才能避免 BRAF 基因突变率差异,并且为患者预后和治疗提供更加可靠的理论依据。

1.4　$BRAF^{V600E}$ 与 PTC 临床病理特征的关系

$BRAF^{V600E}$ 基因突变不仅在肿瘤的发生、发展中起着重要作用,而且与 PTC 不良临床病理特征密切相关,包括肿瘤组织大小、临床分期、局部复发、远处转移等,但这种关系目前尚存在争议。George 等[15]研究证实 $BRAF^{V600E}$ 突变与 PTC 患者的临床病理特征无关。Nasirden 等[12]收集了 144 位 PTC 患者石蜡组织切片,分别采用 PCR 和免疫组化技术同样得出一致的结论。但有研究证明 $BRAF^{V600E}$ 突变与多项 PTC 患者临床病理特征有关,如 Xing 等[4]收集了 507 例 PTC 患者样本表明 $BRAF^{V600E}$ 突变患者更容易发生腺外侵犯、颈部淋巴结转移、肿瘤组织分期晚。最近有报道指出[16],$BRAF^{V600E}$ 基因突变仅与 PTC 患者年龄有关。Jin 等[13]研究发现 $BRAF^{V600E}$ 突变与 PTC 患者年龄、甲状腺腺外侵犯、肿瘤组织大小及其分期显著相关。关于 $BRAF^{V600E}$ 突变与临床病理特征的关系目前报道很不一致,对于 $BRAF^{V600E}$ 突变与年龄、性别、肿瘤分期、肿瘤大小、局部复发、远处转移之间的关系需进一步研究。

2　TERT 启动子突变

2.1　TERT 的基因结构及编码蛋白

端粒位于真核细胞线性染色体末端,是 DNA 与蛋白质的复合体,由简单的高度重复序列 CCTTCCGGG 组成。端粒会随着 DNA 的复制和细胞分裂逐渐缩短,最终导致细胞老化、凋亡。所以端粒在维持染色体的稳定性和 DNA 复制的完整性中发挥重要作用[17]。端粒酶是一种核糖核蛋白聚合酶,它以自身 RNA 上的一个片段为模板通过逆转录合成端粒的 DNA 重复序列,以延伸端粒,避免细胞因端粒的缺失所导致的细胞老化、凋亡[18]。TERT 是端粒酶的催化亚基,位于染色体 5p15.33,其启动子区域为端粒酶表达最重要的调控区域,是决定端粒酶活性的关键因素。

2.2　TERT 启动子突变活化通路

TERT 启动子区域有多种形式的突变,最常见的是 1295 228C > T 和 1295 250C > T(分别称为

C228T 和 C250T)。这两个突变位点相互排斥[13,19],都位于 TERT 启动子的核心区域,任何一个发生突变,都会使端粒酶的表达量增加,促进肿瘤的发生。分别位于 ATG 翻译起始位点上游-124bp 和-146bp。这两种突变均可形成 CCTCCCGGG 序列,该序列为 ETS/TCF 转录因子的结合位点,可导致 TERT 基因表达上调,转录活性增强。

2.3　PTC 中 TERT 启动子突变情况

TERT 启动子突变率在 PTC 中为 7.5% ~ 27%[13],TERT 在 PTC 患者中的突变率仅为 6%[12]。也有研究报道 TERT 启动子突变在 PTC 中的突变率高达 46.7%[15]。针对 TERT 启动子在 PTC 中的突变情况的报道,尚无统一数据,可能与 PTC 患者的环境因素、饮食习惯、病例数的多少有关,需要进一步研究论证。

2.4　TERT 启动子突变与 PTC 的临床预后

大量研究进行论证分析一致表明,TERT 启动子突变在具有较差临床病理指标 PTC 患者中发挥着重要作用。伴发 TERT 启动子突变的患者年龄偏大,肿瘤组织较大,分期晚,复发率和死亡率相对较高。Xing 等[4]研究发现与无 TERT 突变者相比,TERT 突变者远处转移的复发率和总复发率明显较高。不少研究指出,TERT 启动子突变与患者的年龄、肿瘤组织的大小、肿瘤的分期有关,但与颈部淋巴结转移无关[16,20]。Jin 等[13]研究发现 TERT 启动子突变与患者的年龄、肿瘤组织大小、甲状腺腺外侵犯有关。而 George 等[15]发现 TERT 启动子突变仅与患者远处复发有关。由此可见 TERT 启动子突变与 PTC 患者临床病理特征的相关性仍需进一步确定。

3　$BRAF^{V600E}$ 与 TERT 启动子联合突变与 PTC 的临床预后

有实验证明同时包含 $BRAF^{V600E}$ 和 TERT 启动子突变的甲状腺肿瘤复发率显著提高,但患者生存率与 TERT 启动子突变相关,与 $BRAF^{V600E}$ 突变无关[15]。Xing 和 Liu 等[4,19]研究发现 TERT 启动子突变和 $BRAF^{V600E}$ 突变关系紧密,TERT 启动子在 BRAF 突变型的患者中有着相对较高的突变率,当两者同时突变时,PTC 患者临床病理特征最差。Moon 等[21]也证实两种突变同时存在对 PTC 患者较差的临床病理特征产生协同作用,包括肿瘤组织大小、颈部淋巴结转移、甲状腺腺外侵犯。Vinagre 等[22]报道同时具有 TERT 启动子和 $BRAF^{V600E}$ 突变的肿瘤中,TERT mRNA 的表达水平最高,可能是 $BRAF^{V600E}$ 突变造成了 MAPK 通路异常激活,使细胞处于无限增值和分裂状态,细胞更容易出现端粒危机,更能触发 TERT 启动子突变,使端粒酶的活性增高,从而保持细胞的永生化。还有可能是 $BRAF^{V600E}$ 突变能增加 ETS 转录因子,这种转录因子刚好可以结合在 TERT 启动子突变产生的新位点上,增加了 TERT 的转录活性。但 Landa 等[23]结果显示在甲状腺乳头状癌中 TERT 启动子突变与 $BRAF^{V600E}$ 突变并不相关,此结论可能与纳入分析的病例数少有关。

4　小结与展望

目前已有的研究显示同时出现 TERT 启动子及 $BRAF^{V600E}$ 突变可能与患者的不良预后相关,但其机制尚不明确,逐渐成为甲状腺乳头状癌的研究热点,并有希望成为分子诊断标志和预后指标。总之对 TERT 启动子突变和 $BRAF^{V600E}$ 基因突变进一步深入研究,有助于人们更好地理解肿瘤发生机制,而且为肿瘤的治疗提供了一个良好途径。

参考文献:

[1] Lee YC, Shin SY, Kwon KH, et al. Incidence and clinical characteristics of prelaryngeal lymph node metastasis in papillary thyroid cancer[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2013, 270(9): 2547-2550. DOI: 10.1007/s00405-013-2471-7.

[2] Kilfoy BA, Zheng T, Holford TR, et al. International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973-2002[J]. Cancer Causes Control, 2009, 20(5): 525-531. DOI: 10.1007/s10552-008-9260-4.

[3] Perez CA, Santos ES, Arango BA, et al. Novel molecular targeted therapies for refractory thyroid cancer[J]. Head Neck, 2012, 34(5): 736-745. DOI: 10.1002/hed.21755.

[4] Xing M, Liu R, Liu X, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence[J]. J Clin Oncol, 2014, 32(25): 2718-2726. DOI: 10.1200/JCO.2014.55.5094.

[5] Xing M, Westra WH, Tufano RP, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(12): 6373-6379. DOI: 10.1210/jc.2005-0987.

[6] Cohen Y, Xing M, Mambo E, et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(8): 625-627. DOI: 10.1093/jnci/95.8.625.

[7] Millington GW. Mutations of the BRAF gene in human cancer, by Davies et al. (Nature 2002; 417: 949-54)[J]. Clin Exp Dermatol, 2013, 38(2): 222-223. DOI: 10.1111/ced.12015.

[8] Caronia LM, Phay JE, Shah MH. Role of BRAF in thyroid oncogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(24): 7511-7517. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1155.

[9] Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer[J]. Nature, 2002, 417(6892): 949-954. DOI: 10.1038/nature00766.

[10] Yang LB, Sun LY, Jiang Y, et al. The clinicopathological features of BRAF mutated papillary thyroid cancers in Chinese patients[J]. Int J Endocrinol, 2015: 642046. DOI: 10.1155/2015/642046.

[11] Zhang Q, Liu SZ, Zhang Q, et al. Meta-analyses of association between BRAF(V600E) mutation and clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(2): 763-776. DOI: 10.1159/000443032.

[12] Nasirden A, Saito T, Fukumura Y, et al. In Japanese patients with papillary thyroid carcinoma, TERT promoter mutation is associated with poor prognosis, in contrast to BRAF V600E mutation[J]. Virchows Arch, 2016, 469(6): 687-696. DOI: 10.1007/s00428-016-2027-5.

[13] Jin L, Chen E, Dong S, et al. BRAF and TERT promoter mutations in the aggressiveness of papillary thyroid carcinoma: a study of 653 patients[J]. Oncotarget, 2016, 7(14): 18346-18355. DOI: 10.18632/oncotarget.7811.

[14] Namba H, Nakashima M, Hayashi T, et al. Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(9): 4393-4397. DOI: 10.1210/jc.2003-030305.

[15] George JR, Henderson YC, Williams MD, et al. Association of TERT promoter mutation, but not BRAF mutation, with increased mortality in PTC[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(12): E1550-E1559. DOI: 10.1210/jc.2015-2690.

[16] Sun J, Zhang J, Lu J, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations in papillary thyroid carcinoma in Chinese patients[J]. PLoS ONE, 2016, 11(4): e0153319. DOI: 10.1371/journal.pone.0153319.

[17] Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond[J]. Nat Rev Genet, 2005, 6(8): 611-622. DOI: 10.1038/nrg1656.

[18] Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)n, present at the telomeres of human chromosomes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85(18): 6622-6626. DOI: 10.1073/pnas.85.18.6622.

[19] 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.

[20] Liu X, Qu S, Liu R, et al. TERT promoter mutations and their association with BRAF V600E mutation and aggressive clinicopathological characteristics of thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(6): E1130-1136. DOI: 10.1210/jc.2013-4048.

[21] Moon S, Song YS, Kim YA, et al. Effects of coexistent $BRAF^{V600E}$ and TERT promoter mutations on poor clinical outcomes in papillary thyroid cancer: a meta-analysis[J]. Thyroid, 2017, 27(5): 651-660. DOI: 10.1089/thy.2016.0350.

[22] Vinagre J, Almeida A, Pópulo H, et al. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2185. DOI: 10.1038/ncomms3185.

[23] Landa I, Ganly I, Chan TA, et al. Frequent somatic TERT promoter mutations in thyroid cancer: higher prevalence in advanced forms of the disease[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(9): E1562-E1566. DOI: 10.1210/jc.2013-2383.

(收稿日期　2017-06-12)

(本文编辑:石俊强)

欢迎投稿　欢迎订阅