

• 论 著 •

外泌体 miRNA 应用于甲状腺乳头状癌诊断的研究*

周亚萍^{1,2}, 李 翔³, 赵红梅¹, 王 芳⁴, 张天一^{1,2}, 李 娜^{2,5}, 黄梦君^{2,5}, 伏建峰^{2△}

1. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832000; 2. 新疆军区总医院临床检验诊断中心, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 新疆生产建设兵团第十三师哈密红星医院检验科, 新疆哈密 839000; 4. 新疆军区总医院普外科, 新疆乌鲁木齐 830000; 5. 新疆医科大学研究生院, 新疆乌鲁木齐 830000

摘 要:目的 观察外泌体 miRNA 在甲状腺乳头状癌(PTC)患者血清中的表达变化,进而评估其诊断效能。**方法** 以新疆军区总医院收治的 6 例 PTC 患者为 PTC 组,同期 6 例体检健康者为对照组,对血清标本分离收获的外泌体 miRNA 进行高通量测序,进而行生物信息学分析。**结果** 通过高通量测序分析,在 PTC 组血清外泌体中共检测到 47 个差异表达 miRNA,其中 miRNA-1289、miRNA-519b-5p、miRNA-122-3p 等 15 个 miRNA 的差异表达倍数 $|\log_2(\text{FoldChange})| > 2$,与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$),可能是诊断 PTC 的潜在生物标志物。进一步的 GO 分析和 KEGG 分析显示,差异 miRNA 的靶基因被聚集到 30 个信号通路,含 MAPK、PI3K/Akt、Ras 等与肿瘤发生、发展相关的信号通路。**结论** 在血清外泌体 miRNA 中探寻到一组有利于 PTC 诊断的生物标志物。

关键词: 甲状腺乳头状癌; 外泌体; miRNA; 高通量测序; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.11.004

中图法分类号:R736.1

文章编号:1673-4130(2022)11-1295-05

文献标志码:A

Study on application of exosomal miRNA in diagnosis of papillary thyroid carcinoma*

ZHOU Yaping^{1,2}, LI Xiang³, ZHAO Hongmei¹, WANG Fang⁴, ZHANG Tianyi^{1,2},
LI Na^{2,5}, HUANG Mengjun^{2,5}, FU Jianfeng^{2△}

1. Medical College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Clinical Laboratory Diagnosis Center, General Hospital of Xinjiang Military Region, Urumqi, Xinjiang 830000, China;

3. Department of Clinical Laboratory, Hami Red Star Hospital, Thirteenth Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Hami, Xinjiang 839000, China; 4. Department of General Surgery, General Hospital of Xinjiang Military Region, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 5. Graduate School of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China

Abstract: **Objective** To observe the expression change of exosomal miRNA in the serum of the patients with papillary thyroid carcinoma(PTC), and then to evaluate its diagnostic efficiency. **Methods** Six patients with PTC admitted and treated in the General Hospital of Xinjiang Military Region were selected as the PTC group, and contemporaneous 6 healthy subjects undergoing physical examination served as the control group. The exosomal miRNAs isolated and harvested from serum samples conducted the high-throughput sequencing. Then the bioinformatics analysis was performed. **Results** Through high-throughput sequencing analysis, a total of 47 differentially expressed miRNAs were detected in serum exosomes of the PTC group, in which 15 differential expression folds $|\log_2(\text{FoldChange})| > 2$ such as miRNA-1289, miRNA-519b-5p and miRNA-122-3p, and the difference with the control group had statistical significance($P < 0.05$), which could be the potential biomarker for PTC diagnosis. Further GO analysis and KEGG analysis showed that the target genes of differential miRNAs were clustered into 30 signal pathways, including MAPK, PI3K/Akt, Ras and other signal pathways related to tumorigenesis and development. **Conclusion** In serum exosomal miRNA, a set of biomarkers conducive to the diagnosis of PTC are found.

Key words: papillary thyroid carcinoma; exosome; miRNA; high-throughput sequencing; diagnosis

* 基金项目:全军后勤科研计划面上项目(CLJ19J028)。

作者简介:周亚萍,女,技师,主要从事临床分子生物学诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: dxpjf@163.com。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220414.1607.002.html\(2022-04-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20220414.1607.002.html(2022-04-17))

根据 WHO 发布的 2020 年全球癌症数据,全世界女性人群中新发甲状腺癌达 45 万例^[1]。国内相关数据显示,2020 年我国甲状腺癌发病率高达 8.49%,在女性人群新发肿瘤中位列第四,其中,乳头状癌占所有病理类型的 85%^[2]。目前,临床上应用最广、准确率最高的诊断甲状腺结节的方法是超声引导下细针穿刺细胞学检查(FNAC)。通过术前 FNAC,仍有约 20%的甲状腺结节性质无法确定,加上患者对于侵入性的有创检查方法接受度普遍较低。因此,传统的诊断方法有明显的限制,制约着甲状腺癌的临床诊断效能。有研究表明,外泌体 miRNA 可作为多种肿瘤早期诊断、治疗效果监测及预后分析的生物标志物,如乳腺癌、胃癌、膀胱癌等^[3-5]。近期有文献报道,外泌体 miRNA 在甲状腺乳头状癌(PTC)患者血清、血浆中的表达水平可发生显著性变化,提示其可能是 PTC 诊疗过程中潜在的理想生物标志物^[6-7]。基于以上认知和 PTC 的临床诊断现状,本研究依托高通量测序技术和生物信息分析平台,全面分析 PTC 患者血清外泌体 miRNA 图谱,以期获得有利于 PTC 诊断的外泌体 miRNA 生物标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1 月 1 日至 3 月 31 日新疆军区总医院普外科收治的 PTC 患者 6 例(年龄 29~40 岁,中位年龄 33 岁)作为 PTC 组,选取体检健康者 6 例(年龄 26~35 岁,中位年龄 29 岁)作为对照组。入组的 PTC 患者均经过病理活检确认,并且在标本采集前均未进行手术治疗、放疗、化疗和药物治疗。对照组按照 PTC 组患者的性别、年龄 1:1 匹配,均未患有其他甲状腺疾病及恶性肿瘤,甲状腺功能无明显异常。本研究通过新疆军区总医院伦理委员会审查,入组研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 超速离心机 CP80WX 购自日本 Himac 公司;低速离心机 TDZ5-WS 购自湖南湘仪有限公司;超低温冰箱 Forma 900 series 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;透射电子显微镜 G2 spititi 购自美国 FEI 公司;纳米粒度电位仪 Zetasizer Ultra 购自英国 Malvern 公司;垂直电泳槽-1658004 购自美国 BIO-RAD 公司;Agilent 2200 TapeStation 系统购自美国 Agilent 公司;测序平台 HiSeq 2500 购自美国 Illumina 公司;普通碳支持膜 BZ11022A 购自北京中镜科仪技术有限公司;miRNA 分离提取试剂盒 R4163 购自广州 Magen 生物公司;CD63 抗体、TSG101 抗体购自美国 Affinity 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 无添加剂的外周全血标本采集后 10 min 内移至 4℃冰箱静置 3~4 h;20℃2 000×g 离心 10 min,收集淡黄色上清液,然后 4℃10 000×g 离心 10 min,尽可能清除细胞碎片,保证血清的质量。将血清按照 500 μL 每管分装至 EP 管,置于-80℃

冰箱冻存。

1.3.2 血清外泌体提取 按照金标准差速超高速离心法从血清中提取纯化外泌体囊泡:于超净工作台中取 2 mL 血清和 10 mL PBS 溶液至 15 mL 离心管,4℃300×g 离心 10 min,上层上清液转移至新的 15 mL 离心管;然后 4℃2 000×g 离心 10 min,收集上清液于 10 mL 离心管,4℃12 000×g 离心 30 min,吸取上清液至新的 10 mL 离心管;4℃120 000×g 离心 70 min,收获下层透明沉淀,并用 100 μL PBS 溶液进行重悬,将收获的外泌体置于-80℃储存。

1.3.3 血清外泌体鉴定

1.3.3.1 透射电子显微镜法 将收获的血清外泌体取出后置于冰盒上,吸取 15 μL 外泌体于铜网上静置 60 s,用滤纸吸干多余的液体,然后加入 15 μL 2%醋酸双氧铀染色液,室温下染色 1 min,再用滤纸反复吸去多余液体,将负染后的外泌体置于灯下烤 10 min,最后通过电镜观察囊泡并拍照。

1.3.3.2 外泌体粒径分析 将提取的血清外泌体稀释于 1 mL PBS 溶液中,将其缓慢注入样品池,通过纳米粒度电位仪对外泌体的纳米粒子进行跟踪分析,计算外泌体的颗粒浓度和尺寸分布曲线。

1.3.3.3 蛋白印迹分析 通过添加苯甲基磺酰氟(PMSF)及蛋白酶抑制剂(Cocktail)的放射免疫沉淀分析(RIPA)方法提取总蛋白,之后行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,切除浓缩胶后将蛋白转移至 NC 膜。抗 CD63、抗 TSG101 抗体和二抗用封闭液按比例稀释,NC 膜与稀释抗体室温条件下孵育 60 min;然后将超灵敏 ECL 发光液和稳定液按 1:1 体积混合,滴加到 NC 膜上,最后在凝胶成像系统上曝光拍照。

1.3.4 RNA 提取 根据 miRNA 分离提取试剂盒的说明书从外泌体标本中提取总 RNA,将收获的 RNA 样品分装至 EP 管,-80℃储存备用。

1.3.5 文库制备和 RNA 测序 用 8 μL 的 RNA 样品建立 RNA 测序文库。向提取的 RNA 片段样品加入 3'接头、反转录引物和 5'接头,反转录生成互补单链 cDNA,之后行 PCR 反应,以丰富目标基因片段;通过 Qubit 荧光计定量仪和 Agilent 2200 TapeStation 系统,对 RNA 进行质量控制;质检合格的样品上机 HiSeq 测序仪,完成全基因组测序过程。

1.3.6 生物信息学分析 通过 DESeq2 软件行生物信息分析,首先对上机得到的初始数据过滤筛选:去除读数两端的接头、片段长度<17 nt 的读数等,以获取高质量的洁净数据;然后将洁净数据与参考基因组进行对比,进而获取全基因组读数分布图谱,对洁净数据进行 ncRNA 分类注释。以 $P<0.05$ 且表达倍数 $|\log_2(\text{FoldChange})|>1$ 为差异表达显著界定标准,分析 miRNA 的特征并计算其具体的表达量^[5-6]。最后预测差异显著 miRNA 的靶基因,并对目标基因

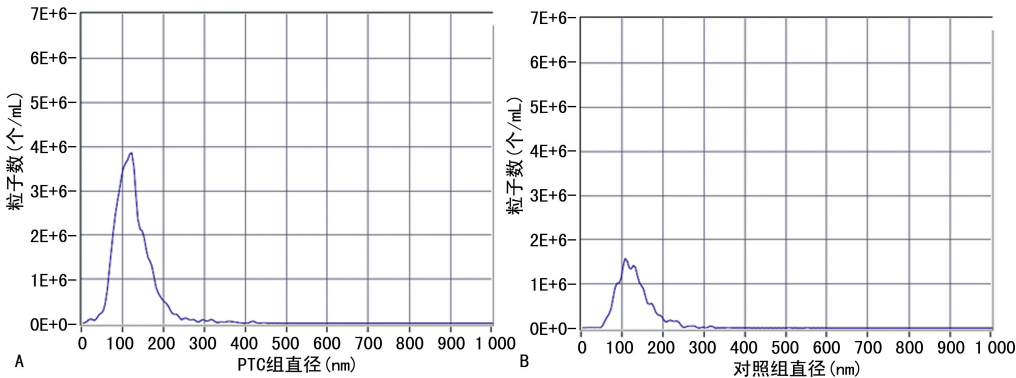
行基因功能 GO 分析和 KEGG 分析。

1.4 统计学处理 通过 R 语言软件包对血清标本中的差异表达外泌体 miRNA 进行特征分析和表达量计算,采用泊松分布、Fisher 精确检验、似然比检验鉴定差异表达的 miRNA。

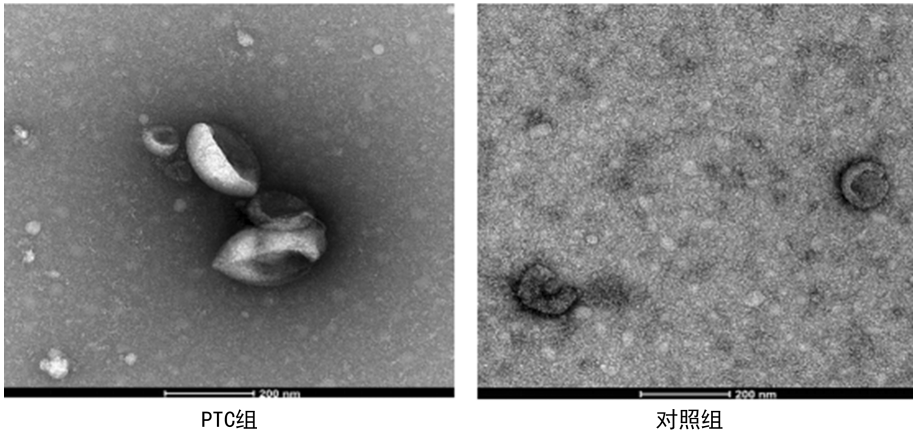
2 结 果

2.1 血清外泌体分离和鉴定 采用粒径分析仪、透射电子显微镜和蛋白印迹技术鉴定获得的血清外泌体,以确保所提取外泌体的质量:粒径分析结果显示,

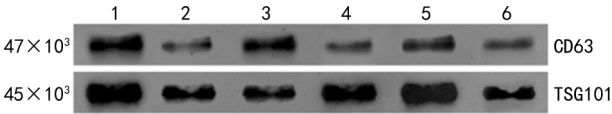
研究体系的粒子分散程度适宜,追踪结果可信,PTC 组和对照组样品颗粒的峰面积占比分别为 97.9%、98.0%,粒径主峰分别为 114.8 nm 和 112.0 nm,见图 1;外泌体负染后经透射电镜观察,粒径 20~200 nm 外泌体显示典型双层膜结构,见图 2;蛋白印迹试验进一步确证外泌体的生物标记物,PTC 组和对照组血清外泌体均具有显著可检测的 CD63 和 TSG101,见图 3。



注:A 为 PTC 组外泌体粒径分析;B 为对照组外泌体粒径分析。
图 1 血清外泌体粒径分析图



注:白色实线为 200 nm 刻度条。
图 2 血清外泌体电子透射显微镜观察结果图



注:1~3 为 PTC 组,4~6 为对照组。
图 3 血清外泌体特异性标记蛋白 CD63 和 TSG101

2.2 RNA 测序数据特征 结果显示,血清外泌体标本中共产生约 8.88 千万个原始测序读数,去掉原始数据中多余的接头序列、含有过多低质量碱基和污染部分,得到约 7.99 千万个洁净读数用于进一步分析。测序数据质量控制分析显示,Q20 的平均值为 97.01%,Q30 的平均值为 94.00%,GC 百分比平均值为 52.66%。进而将质控分析后的洁净读数与 miRNA/rRNA/tRNA/snRNA/snoRNA 权威数据库

进行比对注释,结果表明 miRNA 约占 20.02%,其他类型 RNA 约占 79.98%。

2.3 血清外泌体 miRNA 的表达特征 经 RNA 鉴定、测序数据特征分析,共获得 795 个 miRNA,依托 DEGSeq 软件完善 miRNA 生物信息特征分析,并计算其标准表达量。结果显示,以对照组为参照,共有 47 个外泌体 miRNA 在 PTC 组血清的表达中呈现出明显差异($P < 0.05$),其差异表达倍数 $|\log_2(\text{Fold-Change})| > 1$ 且 $P < 0.05$,30 个 miRNA 表达显著上调,17 个 miRNA 表达显著下调。其中 15 个 miRNA 差异表达倍数 $|\log_2(\text{FoldChange})| > 2$ 且 $P < 0.05$: miRNA-1289、miRNA-519b-5p、miRNA-519a-5p、miRNA-522-5p、miRNA-518e-5p、miRNA-519c-5p、

miRNA-523-5p、miRNA-124-3p、miRNA-6729-5p、miRNA-487a-5p 在 PTC 患者血清外泌体中表达显著上调;而 miRNA-122-3p、miRNA-4669、miRNA-3680-3p、miRNA-455-3p、miRNA-3179 在 PTC 患者血清外泌体中表达则显著下调,有可能是 PTC 诊断的生物标志物。

2.4 差异 miRNA 的靶基因 采用 TargetScan、miRDB、miRarBase、miRwalk 4 款软件分析预测差异外泌体 miRNA ($|\log_2(\text{FoldChange})| > 1$ 且 $P < 0.05$) 的靶基因。结果显示,靶基因数目范围为 20~1 643,中位数为 415。进一步对差异显著的外泌体 miRNA 目标基因行 KEGG 分析,以期了解其具体的生物学作用。结果表明,所预测的目标基因被聚集于 30 条信号路径中,其中 MAPK 信号通路、Ras 信号通路和 PI3K/Akt 信号通路等多条通路与恶性肿瘤关系密切。

采用 GO 功能注释,为候选靶基因提供功能注释,以认识候选靶基因的潜在生物性能。结果显示,差异外泌体 miRNA 的靶基因富集于细胞形态和代谢调控、生物合成调控、蛋白信号转导等过程。依据靶基因预测结果,绘制了基因调控网络图,结果显示 miRNA-511-5p、miRNA-543、miRNA-1290、miRNA-16-2-3p、miRNA-193b-5p、miRNA-625-3p、miRNA-455-5p、miRNA-654-3p、miRNA-4669 的靶基因可以通过共同基因相互连接,靶基因富集的信号通路相互串联,以达到传递生物信号、调节生理生化过程等目的,也可能是 PTC 重要的致病机制。

3 讨论

理想的肿瘤生物标记物应具有灵敏度高、特异性强、方便获取、创伤性小,患者接受度高等优点。根据《甲状腺癌诊疗规范(2018 年版)》,癌胚抗原(CEA)、甲状腺球蛋白(Tg)诊断甲状腺癌时特异度较低,临床上一般用于甲状腺肿瘤切除术后的病情监测和甲状腺髓样癌的治疗效果评价^[8]。目前,临床诊疗过程中尚无明确的能用于 PTC 诊断的特异性生物标记物。游离 DNA 用于多种疾病诊断是近年来体液活检研究的一个热点,其可准确评估非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体(EGFR)的突变状态,但是该方法不适用于 PTC,因为 PTC 患者的游离 DNA 突变率和检出率都极低^[9]。此外,循环体液中的 RNA 分子性质不稳定,容易被核酸酶水解,限制了游离 RNA 分子作为肿瘤生物标记物的应用^[10]。基于以上临床应用和研究现状,无创、有效、可控的生物标志物应用于甲状腺结节性质的诊断和鉴别诊断一直是临床检验诊断学关注的焦点。

高通量测序是目前常用的一种筛选方法,与基于聚合酶链反应的分析方法或基于杂交原理的检测方法相比具有明显的技术优势。首先,二代测序技术可以识别外泌体囊泡中低丰度的 miRNA,进而提供一

个更加完整的外泌体 miRNA 表达图谱。其次,高通量测序技术可以快速、高效、全方位地分析外泌体 miRNA 表达水平,加之其可以独立于目前已有的参考数据库,从而利于识别既往未发现的 miRNA。

外泌体囊泡具有细胞类型特异性、稳定性、可获得性等特点^[11]。囊泡独特的双层膜结构,对其运载物质发挥持续保护作用,其衍生的 miRNA 以高度稳定的形式在体液中循环,目前有研究分析了膀胱癌、胶质瘤、乳腺癌的外泌体 miRNA 表达谱,但 PTC 血清外泌体 miRNA 的文献报道较少。PAN 等^[6]通过二代测序,发现了一组以 miRNA-5189-3p 为代表的差异表达 miRNA,可能是判断甲状腺结节性质的候选标志物。同时有研究表明,miRNA-21 在 PTC 患者血浆外泌体中过度表达,有助于 PTC 和滤泡性甲状腺癌的鉴别^[12]。此外,有学者证实,与正常甲状腺滤泡细胞相比,PTC 细胞衍生的外泌体富含 miRNA-146b 和 miRNA-222,可用于 PTC 的长期监测^[13]。上述研究表明,PTC 与外泌体 miRNA 的相关研究尚处于初期阶段,研究的层次、深度和力度有待进一步加深。因此,本研究基于外泌体内容物 miRNA 开展,以期获得新型 PTC 诊断生物标志物。

本研究表明,相对于对照组,PTC 组的外泌体 miRNA 具有独特的表达特点,据此拓展研究的深度和层次,寻求可用于 PTC 诊断的分子标记。研究中筛选到的多个差异表达外泌体 miRNA 与文献研究结果一致,如 miRNA-124-3p、miRNA-455-3p、miRNA-625-3p、let-7b-3p 等。有学者通过 miRNA 芯片方法证实,血清中表达明显上调的 miRNA-124-3p 可能是 PTC 诊断的候选标志物^[14]。体外细胞转染实验表明 miRNA-625-3p 通过增强星形胶质细胞基因 1(AEG-1)表达,靶向激活下游的 JNK 信号路径,从而促进甲状腺癌的发生、增殖、迁移和侵袭^[15]。本研究结果与既往研究取得了较好的一致性,对筛查有助于 PTC 诊断的外泌体 miRNA 奠定了一定的研究基础。

本研究还获得了一些新的 PTC 相关差异表达 miRNA,如 miRNA-1290、miRNA-323a-3p、miRNA-543 等,虽然未见这些 miRNA 与 PTC 关系的相关文献,但是在其他疾病中时有报道。如外泌体 miRNA-1290 可介导 NKD1 促进胃癌细胞的增殖和侵袭^[16]。miRNA-323a-3p 可调节靶基因 UHMK1 表达促进结肠癌进展^[17]。因此,这些 miRNA 在 PTC 中的作用机制值得进一步探索。

肿瘤细胞源性的外泌体 miRNA 可以在细胞间穿梭,以达到信息交流和遗传物质交换的目的。外泌体携带运输的 miRNA 还可以运输至远处器官、组织,从而参与肿瘤的发展进程。因此,外泌体 miRNA 可根据其不同的靶基因发挥癌基因致癌或者抑癌作用。本研究结果显示,差异表达 miRNA 靶基因富集的多条信号途径与恶性肿瘤联系紧密,其中包括经典的

MAPK 信号路径,该信号通路通过一系列蛋白激酶将生物信号有效传递至细胞核,控制细胞生长周期、分化、炎症等基本生理生化过程,是甲状腺肿瘤发生的重要激活通路^[18]。而差异 miRNA 靶基因富集的 PI3K/Akt 通路则可调节癌细胞的存活状态和增殖进程,在癌细胞发生黏附、迁徙、毛细血管生成等过程发挥至关重要的作用^[19]。因此,外泌体 miRNA 涉及的多种信号通路之间存在相互连接作用,为 PTC 靶向精确治疗提供了新的方向。

受限于多方面因素的制约,本研究具有一定局限性。虽然在血清外泌体中发现了一组具有 PTC 诊断应用前景的 miRNA,但是尚未在更大的队列分析中做进一步的研究。在下一步的工作中,本课题组将在更大的队列样本中对候选的差异 miRNA 进行 PTC 诊断效能评估。此外,外泌体 miRNA 的表达丰度是否受肿瘤大小、分期、淋巴结转移的影响,也将是随后研究的一个关注点。

综上所述,本研究检测、分析了 PTC 患者和健康对照者间的血清外泌体 miRNA 表达特征,经筛选获得了一组有利于 PTC 诊断的潜在血清生物标志物,可为新型 PTC 诊断生物标志物的获取提供参考和借鉴。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 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.
- [2] 曹毛毛, 陈万青. GLOBOCAN 2020 全球癌症统计数据解读[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(3): 63-69.
- [3] YUE S, YE X, ZHOU T, et al. PGRN(-/-) TAMs-derived exosomes inhibit breast cancer cell invasion and migration and its mechanism exploration[J]. Life Sci, 2021, 264: 118687.
- [4] LIU J, WU S, ZHENG X, et al. Immune suppressed tumor microenvironment by exosomes derived from gastric cancer cells via modulating immune functions[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 14749.
- [5] HILTBRUNNER S, MINTS M, ELDH M, et al. Urinary exosomes from bladder cancer patients show a residual cancer phenotype despite complete pathological downstaging[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 5960.
- [6] PAN Q, ZHAO J, LI M, et al. Exosomal miRNAs are potential diagnostic biomarkers between malignant and benign thyroid nodules based on next-generation sequencing[J]. Carcinogenesis, 2020, 41(1): 18-24.
- [7] DAI D, TAN Y, GUO L, et al. Identification of exosomal miRNA biomarkers for diagnosis of papillary thyroid cancer by small RNA sequencing[J]. Eur J Endocrinol, 2020, 182(1): 111-121.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 甲状腺癌诊疗规范: 2018 年版[J/CD]. 中华普通外科学文献(电子版), 2019, 13(1): 1-15.
- [9] DOUILLARD J Y, OSTOROS G, COBO M, et al. First-line gefitinib in Caucasian EGFR mutation-positive NSCLC patients: a phase-IV, open-label, single-arm study[J]. Br J Cancer, 2014, 110(1): 55-62.
- [10] DOUILLARD J Y, OSTOROS G, COBO M, et al. Gefitinib treatment in EGFR mutated caucasian NSCLC: circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(9): 1345-1353.
- [11] OUAHABI O E, SALIM H, PERO-GASCON R, et al. A simple method for the analysis of extracellular vesicles enriched for exosomes from human serum by capillary electrophoresis with ultraviolet diode array detection[J]. J Chromatogr A, 2021, 1635: 461752.
- [12] SAMSONOV R, BURDAKOV V, SHTAM T, et al. Plasma exosomal miR-21 and miR-181a differentiates follicular from papillary thyroid cancer[J]. Tumour Biol, 2016, 37(9): 12011-12021.
- [13] LEE J C, ZHAO J T, GUNDARA J, et al. Papillary thyroid cancer-derived exosomes contain miRNA-146b and miRNA-222[J]. J Surg Res, 2015, 196(1): 39-48.
- [14] YU S, LIU X, ZHANG Y, et al. Circulating microRNA124-3p, microRNA9-3p and microRNA196b-5p may be potential signatures for differential diagnosis of thyroid nodules[J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 84165-84177.
- [15] FANG L, KONG D, XU W. MicroRNA-625-3p promotes the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells by up-regulating astrocyte elevated gene 1[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102: 203-211.
- [16] HUANG J, SHEN M, YAN M, et al. Exosome-mediated transfer of miR-1290 promotes cell proliferation and invasion in gastric cancer via NKD1[J]. Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai), 2019, 51(9): 900-907.
- [17] XU X H, SONG W, LI J H, et al. Long non-coding RNA EBLN3P regulates UHMK1 Expression by sponging miR-323a-3p and promotes colorectal cancer progression[J]. Front Med(Lausanne), 2021, 8: 651600.
- [18] ASL E R, AMINI M, NAJAFI S, et al. Interplay between MAPK/ERK signaling pathway and microRNAs: a crucial mechanism regulating cancer cell metabolism and tumor progression[J]. Life Sci, 2021, 278: 119499.
- [19] WANG N, LI Y, WEI J, et al. TBX1 functions as a tumor suppressor in thyroid cancer through inhibiting the activities of the PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways[J]. Thyroid, 2019, 29(3): 378-394.