

## 临床细胞生物学

## DcR3在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义

赖永锋<sup>1</sup> 邢 萍<sup>1</sup> 徐锦叶<sup>1</sup> 权明明<sup>2</sup> 金晓燕<sup>2</sup> 杨晶晶<sup>2,3</sup> 张 强<sup>2</sup> 梁 勇<sup>2,3\*</sup><sup>1</sup>温州医科大学第一临床学院, 温州 325000; <sup>2</sup>台州学院附属市立医院肿瘤外科, 台州 318000;<sup>3</sup>台州学院医学院, 台州 318000)

**摘要** 应用RT-PCR、Western blot、免疫组化分别检测甲状腺乳头状癌组织与癌旁正常甲状腺组织标本中DcR3 mRNA及蛋白的表达情况, 探讨DcR3在甲状腺乳头状癌组织中的表达及临床意义。RT-PCR检测显示, 甲状腺乳头状癌中DcR3 mRNA的表达明显高于正常甲状腺组织( $P<0.05$ ); Western blot提示, DcR3蛋白在甲状腺乳头状癌中表达比正常甲状腺组织高( $P<0.05$ ); 免疫组化显示, DcR3蛋白在甲状腺乳头状癌中高表达( $P<0.05$ )。DcR3 mRNA及蛋白质在甲状腺乳头状癌及正常甲状腺组织间的表达差异有统计学意义( $P<0.05$ )。DcR3基因及蛋白在甲状腺乳头状癌中高表达, 提示DcR3可能促进了甲状腺乳头状癌的发生发展。

**关键词** 甲状腺乳头状癌; DcR3; 肿瘤坏死因子受体

## The Clinical Significance of DcR3 Expression in Papillary Thyroid Carcinoma

Lai Yongfeng<sup>1</sup>, Xing Ping<sup>1</sup>, Xu Jinye<sup>1</sup>, Quan Mingming<sup>2</sup>, Jin Xiaoyan<sup>2</sup>, Yang Jingjin<sup>2,3</sup>, Zhang Qiang<sup>2</sup>, Liang Yong<sup>2,3\*</sup><sup>1</sup>The First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China; <sup>2</sup>Department of oncologic surgery, the Affiliated Municipal Hospital, Taizhou University, Taizhou 318000, China; <sup>3</sup>Medical School, Taizhou University, Taizhou 318000, China)

**Abstract** To explore the expression of DcR3 and its clinical significance in papillary thyroid carcinoma, the expression of DcR3 mRNA in papillary thyroid carcinoma ( $n=50$ ) and adjacent normal thyroid tissue ( $n=50$ ) was detected by RT-PCR, and DcR3 protein was detected by Western blot and immunohistochemistry. RT-PCR result showed that the expression of DcR3 mRNA in papillary thyroid carcinoma tissue was higher than normal thyroid tissue ( $P<0.05$ ); Western blot and immunohistochemistry (IHC) results showed DcR3 protein expressed higher in papillary thyroid carcinoma ( $P<0.05$ ). DcR3 overexpressed both in mRNA and protein level in papillary thyroid carcinoma, it suggests that DcR3 may promote the formation and progress of papillary thyroid carcinoma.

**Key words** papillary thyroid carcinoma; DcR3; tumor necrosis factor receptor

甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤, 包括乳头状癌、滤泡状癌、髓样癌、未分化癌等几种病理类型, 其中甲状腺乳头状癌最常见, 约占80%~85%,

以女性多发, 发病率约为男性的2~4倍, 30~50岁为高发年龄<sup>[1]</sup>。据统计, 甲状腺癌的发病率呈现逐年上升的倾向<sup>[2]</sup>。虽然甲状腺乳头状癌具有生长较慢、恶

收稿日期: 2013-06-22 接受日期: 2013-09-16

国家自然科学基金(批准号: 81072209)、2012年卫生部医药卫生科技发展研究中心课题(批准号: 2012FZ013)、浙江省自然科学基金(批准号: Y2100248)和2012年浙江省医学会临床科研基金(批准号2012ZYCA-100)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0576-88665191, E-mail: liangytu@yahoo.com

Received: June 22, 2013 Accepted: September 16, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81072209), Development Center for Medical Science and Technology, Ministry of Health (Grant No.2012FZ013), the Natural Science Foundation of Zhejiang (Grant No.Y2100248), and Zhejiang Medical Association Clinical Research Foundation (Grant No.2012ZYCA-100)

\*Corresponding author. Tel: +86-576-88665191, E-mail: liangytu@yahoo.com

网络出版时间: 2013-11-22 11:03

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131122.1103.007.html>

性程度低, 预后良好等临床特征, 但淋巴及远处转移仍严重影响患者生存时间和质量。因此, 研究甲状腺乳头状癌发生发展的分子机制是非常必要的。

肿瘤的发生发展是多因素多基因共同作用的结果<sup>[3]</sup>。研究表明, 肿瘤坏死因子及其受体在肿瘤的发生发展中起了重要作用<sup>[4]</sup>。DcR3, 即诱骗受体3, 是新发现的一个肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族成员, 即TNFRSF6B, 是一种特殊的细胞凋亡抑制剂, 它能竞争性地与LIGHT及FasL等结合并抑制其介导的细胞凋亡<sup>[5-6]</sup>。研究发现, DcR3在多种肿瘤细胞中呈高表达, 并认为其作用机制可能和肿瘤细胞逃逸机体免疫系统清除有关, 从而促进肿瘤的发生发展<sup>[6-8]</sup>。我们研究了甲状腺乳头状癌中DcR3的表达情况, 旨在为甲状腺乳头状癌的临床诊断和治疗提供新证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 组织 收集台州学院附属市立医院肿瘤外科2012年2月至2013年1月间手术的甲状腺乳头状癌组织及癌旁正常甲状腺组织标本各50例。甲状腺乳头状癌组男性12例, 女性38例, 年龄25~60岁, 中位年龄41.5岁; 癌旁正常甲状腺组男性19例, 女性31例, 年龄28~61岁, 中位年龄43岁。组织标本一半于30 min内置于-80℃冰箱保存, 一半浸泡于10%的福尔马林溶液中。所有组织标本均经病理证实, 患者术前均未行放化疗。

1.1.2 试剂及仪器 DcR3引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成; T-PER组织总蛋白提取试剂购自Thermo Fisher公司; Trizol RNA提取试剂购自Invitrogen公司; Quant cDNA第一链合成试剂盒、RealMasterMix (SYBR Green)试剂盒均由天根生物科技有限公司提供; 鼠抗人DcR3单克隆抗体购自Abcam公司; 二步法免疫组化检测试剂盒由北京中杉金桥生物科技有限公司提供; DAB显色试剂盒购自天根生物科

技有限公司; Real-time PCR为ABI公司Stepone PCR仪; 垂直电泳槽及转膜槽为北京六一仪器厂产品。

### 1.2 方法

1.2.1 Real-time PCR 取-80℃保存的甲状腺乳头状癌及癌旁正常甲状腺组织标本各50例, 每例标本约50 mg, 采用Trizol试剂提取样本组织中的总RNA, 用紫外分光光度计测定RNA的浓度和纯度Ratio值, 要求 $D_{260/280}=1.8\sim 2.0$ , 并在1%琼脂糖凝胶电泳中显示出清晰的28S和18S两条rRNA带, 证明提取的RNA完整。cDNA合成(20 μL反应体系): 取2 μg RNA, 加2 μL 10×RT mix(终浓度为1×), 2 μL dNTP混合液(终浓度为0.25 mmol/L each dNTP), 2 μL oligo-dT15(终浓度为1 μmol/L), 1 μL Quant Reverse Transcriptase, 加RNasefree ddH<sub>2</sub>O至20 μL, 于37℃孵育60 min。采用SYBR Green荧光染料, 参照试剂盒说明完成Real-time PCR, 对DcR3及GAPDH进行PCR, 并重复2次。PCR反应条件为: 预变性95℃ 2 min; 95℃ 15 s, 65℃ 30 s(退火温度见表1)、68℃ 60 s, 40个循环; 最后95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s收集荧光信号, 进行熔解曲线分析。反应结束后由系统自动计算相对定量结果。引物序列见表1。

1.2.2 Western blot 取-80℃保存的甲状腺乳头状癌及癌旁正常甲状腺组织标本各50例, 每例30~50 mg加入500 μL T-PER组织总蛋白提取液(含1% PMSF)中, 在冰上充分碾磨, 10 000 r/min离心5 min, 吸取上清液。BCA法检测蛋白浓度, 取60 μg总蛋白进行电泳。SDS-PAGE凝胶的分离胶浓度为10%, 浓缩胶浓度为5%, 蛋白分离后, 湿转法将胶上的蛋白转移至硝酸纤维素膜上, 用5%脱脂奶粉封闭1.5 h, 加鼠抗人DcR3(1:300)和GAPDH(1:1 000), 4℃孵育过夜。二抗为用HRP标记的羊抗鼠IgG抗体(1:5 000), 室温孵育1.5 h, ECL显色, X射线盒压片曝光显影, 计算机软件处理分析结果。

1.2.3 免疫组织化学 取甲醛浸泡的甲状腺乳头状癌组织及癌旁正常组织标本各50例, 石蜡包埋, 冰

表1 DcR3和GAPDH基因引物序列

Table 1 The primer sequences of DcR3 and GAPDH

基因	上游序列	下游序列	产物长度	退火温度
Genes	Forward primer sequence	Reverse primer sequence	Product size	Tm
DcR3	5'-TTC TGC TTG GAG CAC GCA TCG-3'	5'-ACG CAG CTT CAG CTG CAA GG-3'	401 bp	60℃
GAPDH	5'-ATG GCC TTC CGT GTC CCC ACT G-3'	5'-TGA GTG TGG CAG GGA CTC CCC A-3'	398 bp	65℃

冻后连续2  $\mu\text{m}$ 切片, 脱蜡, PBS洗涤3 min $\times$ 2次, 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 滴加在切片上, 室温静置10 min, PBS洗5 min $\times$ 3次, 0.01 mol/L枸橼酸钠缓冲溶液(pH6.0)至95  $^\circ\text{C}$ 左右煮沸10~15 min, 冷却, 滴加10%山羊血清封闭10 min, 甩干, 滴加DcR3抗体(1:50) 4  $^\circ\text{C}$ 过夜, 37  $^\circ\text{C}$ 复温45 min, PBS洗5 min $\times$ 3次, 滴加二抗(HRP标记的山羊抗鼠IgG抗体) 37  $^\circ\text{C}$  1.5 h, PBS洗5 min $\times$ 3次, DAB显色5 min, 自来水冲洗10 min, 苏木精复染30 s, 自来水冲洗10~15 min, 脱水, 透明, 封片, 镜检。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件, 采用独立样本 $t$ 检验及 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

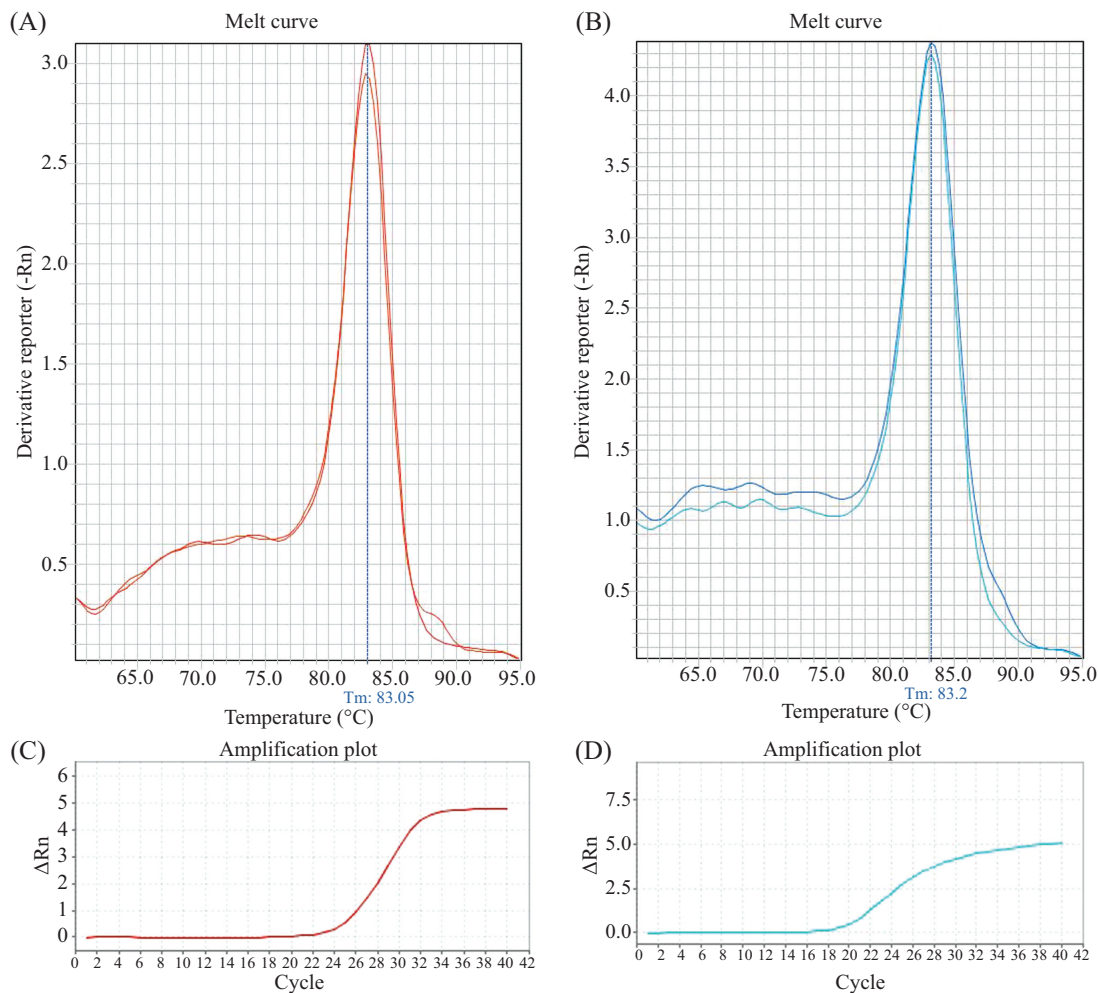
## 2 结果

### 2.1 甲状腺乳头状癌及癌旁正常组织中DcR3

#### mRNA的表达情况

2.1.1 实时荧光定量PCR体系确定 由目的基因DcR3与内参基因GAPDH的扩增曲线及熔解曲线(图1)可见, DcR3与GAPDH的PCR扩增效率恒定, 均已达到平台期; 相应阈值循环数(Ct)稳定, 重现性好; 其熔解曲线均为单峰特异, 峰值分别为83.05  $^\circ\text{C}$ 、83.20  $^\circ\text{C}$ , 引物的特异性好且无引物二聚体产生。故使用该体系对目的基因DcR3进行定量。

2.1.2 甲状腺乳头状癌及癌旁正常组织中DcR3 mRNA的表达 结果以采用相对定量方法 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算, DcR3 mRNA在甲状腺乳头状癌及正常甲状腺组织中均有表达(图2), 在甲状腺乳头状癌中表达明显增高, DcR3 mRNA在甲状腺乳头状癌中的表达为正常甲状腺组织的 $2.0583 \pm 0.1215$ , 采用独立样本 $t$ 检验分析, 具有统计学差异( $P < 0.05$ )。



A: DcR3熔解曲线; B: GAPDH熔解曲线; C: DcR3扩增曲线; D: GAPDH扩增曲线。

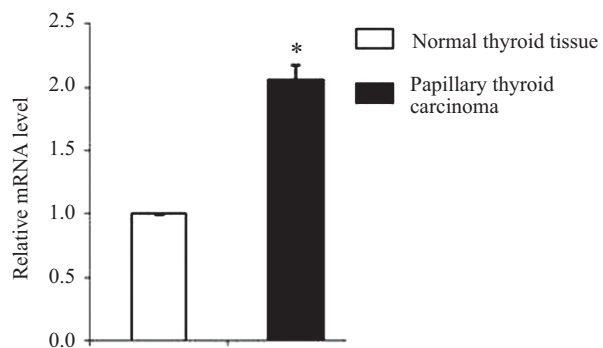
A: DcR3 melting curves; B: GAPDH melting curves; C: DcR3 amplification curves; D: GAPDH amplification curves.

图1 DcR3与内参GAPDH的熔解曲线及扩增曲线

Fig.1 Melting and amplification curves of DcR3 and GAPDH

## 2.2 甲状腺乳头状癌及癌旁正常组织中DcR3蛋白的表达情况

2.2.1 Western blot结果 Western blot结果(图3)显示, DcR3蛋白在甲状腺乳头状癌中相对表达量是 $1.5527 \pm 0.2102$ , 在正常甲状腺组织中蛋白质相对表达量是 $0.5431 \pm 0.1074$ , 甲状腺乳头状癌中的DcR3蛋白表达量明显高于正常甲状腺组织, 具有显著的统计学意义( $P < 0.05$ )。

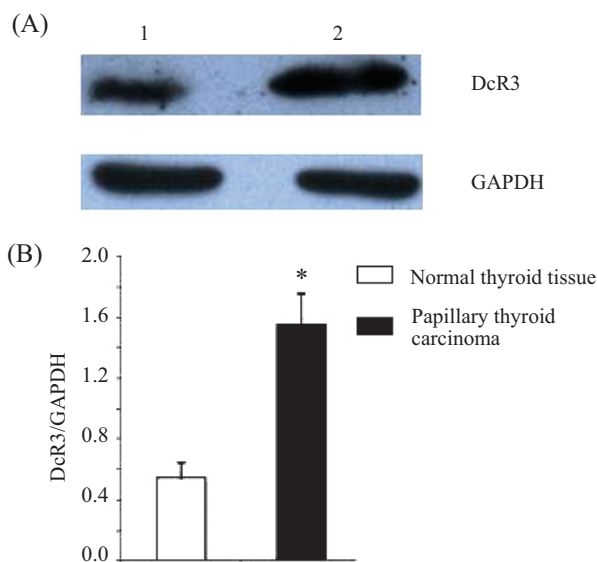


\* $P < 0.05$ .

图2 DcR3 mRNA在正常甲状腺组织及甲状腺乳头状癌中的相对表达量

Fig.2 The relative mRNA levels of DcR3 in normal thyroid tissue and in papillary thyroid carcinoma

2.2.2 免疫组化结果 免疫组化结果判定标准: DcR3以胞浆或胞核出现棕黄色颗粒为阳性(图4)。

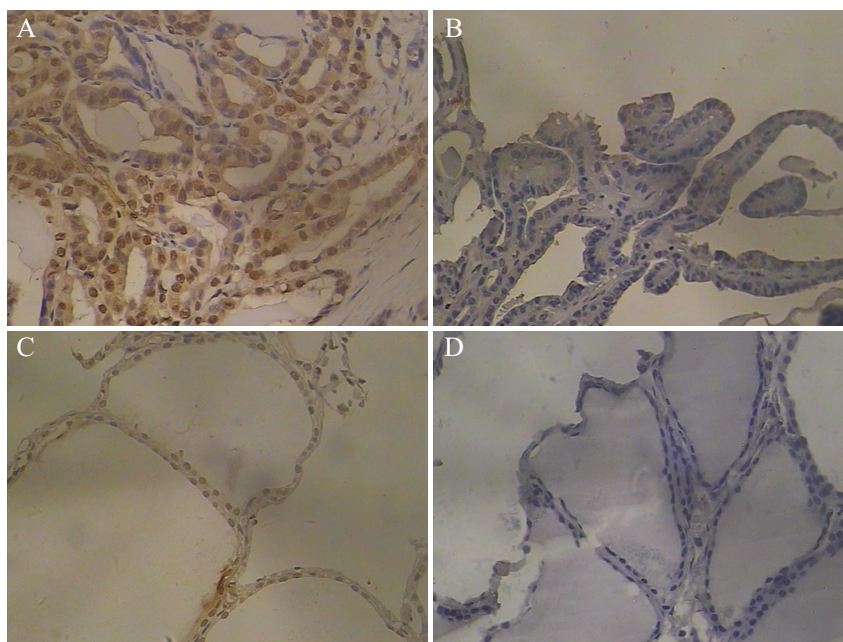


1: 正常甲状腺组织; 2: 甲状腺乳头状癌。\* $P < 0.05$ 。

1: normal thyroid; 2: papillary thyroid carcinoma. \* $P < 0.05$ .

图3 Western blot检测DcR3蛋白在正常甲状腺组织及甲状腺乳头状癌中的表达

Fig.3 Expression of DcR3 in normal thyroid tissue and papillary thyroid carcinoma determined by Western blot



A: DcR3在甲状腺乳头状癌组织中的表达; B: 甲状腺乳头状癌的阴性对照; C: DcR3在正常甲状腺组织中的表达; D: 正常甲状腺组织的阴性对照。  
A: DcR3 expression in the human papillary thyroid carcinoma; B: negative control of the human papillary thyroid carcinoma; C: DcR3 expression in the normal thyroid tissues; D: negative control of the normal thyroid tissues.

图4 免疫组化检测DcR3在甲状腺乳头状癌及正常甲状腺组织中的表达(400×)

Fig.4 The expression of DcR3 in the human papillary carcinoma thyroid and normal thyroid tissues determined by immunohistochemistry (400×)

表2 DcR3在甲状腺乳头状癌及正常甲状腺组织中的表达

组别	阳性	阴性	$\chi^2$	P值
Groups	Positive	Negative	$\chi^2$	P value
Papillary thyroid carcinoma tissue	24	26		
Normal thyroid tissue	11	39	7.43	<0.01

表3 DcR3蛋白的表达与甲状腺乳头状癌临床病理特征的关系

变量	例数	阳性	阴性	$\chi^2$	P值
Variables	n	Positive	Negative	$\chi^2$	P value
Gender					
Male	12	7	5	0.68	0.411
Female	38	17	21		
Age(year)					
<45	32	18	14	2.42	0.119
≥45	18	6	12		
Tumor diameter					
≤2 cm	40	21	19	0.85	0.357
>2 cm	10	3	7		
Lymphatic metastasis					
Y	17	9	8	0.25	0.615
N	33	15	18		
Stages					
I+II	40	21	19	0.85	0.357
III+IV	10	3	7		

参照Carcangiu等<sup>[9]</sup>等半定量评分方法, 根据阳性细胞着色强度和阳性细胞数量计分, 阳性着色强度按无色、淡棕色、棕黄色和棕褐色分别记为0、1、2、3分; 再在高倍镜下(40×)对每张切片随机选取5个高倍镜视野, 计数500个细胞/视野, 共计2 500个, 阳性细胞数按<5%、5%~35%、36%~70%和>70%分别记为0、1、2、3分。取两项评分的乘积进行综合评分, ≤1分为阴性、2~3分为弱阳性、4~5分为中度阳性、≥6分为强阳性。本实验中阴性和弱阳性作为阴性表达标准, 中度阳性和强阳性作为阳性表达标准。实验结果(表2)显示, 甲状腺乳头状癌中DcR3的阳性率为48%, 正常甲状腺组织的阳性率为22%, 甲状腺乳头状癌阳性表达率明显高于正常甲状腺组织,  $P<0.05$ , 差异有统计学意义。同时, 我们还分析了甲状腺乳头状癌中DcR3蛋白的表达与临床病理特征的关系(表3), 结果显示, DcR3蛋白的表达水平与患者性别、年龄、肿瘤大小、有无淋巴结转移及病理分期均无相关性, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 3 讨论

近年来, 有关甲状腺乳头状癌相关的分子机制如肿瘤细胞增殖分化、细胞凋亡、信号转导、侵袭转移等诸方面研究均取得了许多新的进展。有研究发现, 甲状腺乳头状癌中Notch1、2明显下调, 提示这条与发育、增殖密切相关的信号通路受到抑制, 并和PI3K/AKT通路异常激活有着明确的串话关系<sup>[10-12]</sup>; 钱光煜等<sup>[13]</sup>研究发现, 甲状腺乳头状癌中PTEN下调。这些研究表明, 甲状腺乳头状癌与细胞增殖及凋亡关系密切。

肿瘤坏死因子及其受体在细胞凋亡中扮演重要的角色。肿瘤坏死因子受体主要包括TNFR1、TNFR2、LTβR、CD27、CD30、CD40、FAS (CD95)、OX40 (CD134)、4-1BB (CD137)、DR3、DR4、DR5、DR6、RANK、OPG、HveA、TACI、BCMA、NGFR、AITR、Troy、EDAR、XEDAR、DcR1、DcR2、DcR3等26种<sup>[4]</sup>, 其中DcR3是较晚发现的TNF受体超家族成员之一。1998年, Pitti等<sup>[5]</sup>在搜索已表

达基因序列数据库(EST)时发现的一组与肿瘤坏死因子受体基因超家族成员有同源性的EST。通过重叠序列,从人胚胎肺中分离出一条新的全长cDNA,并把此cDNA编码的蛋白称为DcR3<sup>[5]</sup>。DcR3由*TNFRSF6B*基因编码,位于人类染色体20q13.3,其cDNA共编码300个氨基酸多肽,其氨基末端包含了4个串联的富含半胱氨酸的保守序列,是一种可溶性表面分泌蛋白,无跨膜序列,相对分子量约35 kDa<sup>[5-6]</sup>。研究发现,凋亡在肿瘤的发生发展中起了至关重要的作用<sup>[14-15]</sup>。DcR3在肿瘤细胞的凋亡和增殖中起着重要的调节作用<sup>[4,6]</sup>。一方面,DcR3通过与肿瘤坏死因子受体Fas竞争结合其配体FasL来抑制Fas/FasL介导的免疫细胞毒作用<sup>[3-4,16]</sup>;另一方面,DcR3可与LIGHT结合,抑制其与HEVM、LTβR结合,从而抑制由LIGHT介导的细胞凋亡,导致肿瘤细胞逃避免疫<sup>[4,16]</sup>;同时,DcR3还可抑制TRAIL结合其受体DR4、DR5、DcR1、DcR2,来抑制TRAIL导致的细胞凋亡<sup>[6,13]</sup>;DcR3被认为是内皮生长抑制剂(VEGI)的受体,竞争性结合VEGI,促进肿瘤血管的生成,进而引起肿瘤的转移<sup>[4,6-7,16-17]</sup>;DcR3抑制树突状细胞的增殖与活化,促使其凋亡<sup>[18-19]</sup>。此外,DcR3可通过活化PKC、PI3K、FAK、Src激酶等细胞信号分子引起肌动蛋白的重组,增强单核细胞和THP-1细胞的黏附,从而引起肿瘤的发生发展<sup>[6,20-21]</sup>;DcR3还可通过整合素、Rank-1等途径来抑制细胞凋亡<sup>[21-22]</sup>。

研究表明,DcR3在胃癌、大肠癌、肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、肾细胞癌、喉癌、食管癌、鼻咽癌、神经胶质瘤、垂体瘤、淋巴瘤等组织中均呈现过度表达;在乳腺癌、大肠癌、肝癌、胰腺癌等细胞株同样高表达;同时,在多种肿瘤患者血清中DcR3水平较正常者高;Connor等<sup>[23]</sup>还在卵巢癌患者的腹水中发现高水平的DcR3;在血液系统恶性肿瘤如多发性骨髓瘤患者DcR3也较明显的升高<sup>[24]</sup>。而DcR3在甲状腺乳头状癌中的研究尚无报道。本实验研究DcR3在甲状腺乳头状癌中的表达情况。RT-PCR显示,甲状腺乳头状癌DcR3 mRNA的表达为正常甲状腺组织组的2.058 3±0.121 5,提示甲状腺乳头状癌组织中DcR3表达明显升高;Western blot显示,DcR3蛋白在甲状腺乳头状癌中蛋白质的相对表达是1.552 7±0.210 2,明显高于正常甲状腺组的0.543 1±0.107 4;免疫组化提示甲状腺乳头状癌中DcR3蛋白质表达率48%,正常甲状腺组织的表达率为22%;说

明甲状腺乳头状癌中的DcR3蛋白表达高于正常甲状腺组织,经统计学分析,其差异均有显著的统计学意义( $P<0.05$ )。本实验结果显示,在甲状腺乳头状癌中,DcR3在基因和蛋白质水平均表现为上调。这与DcR3在胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、胰腺癌等肿瘤中高表达的结果是一致的。DcR3在甲状腺乳头状癌中的高表达揭示DcR3可能在甲状腺乳头状癌发生发展中起了促进作用。

综上所述,DcR3可抑制细胞凋亡并可能在甲状腺乳头状癌的发生发展中起了重要作用。提示DcR3蛋白可能做为甲状腺乳头状癌诊断的潜在分子标记物,我们后续还将从细胞株层面及抑制DcR3等手段来进一步探讨其在甲状腺乳头状癌发生发展中的作用机制,为更好地诊断和治疗甲状腺乳头状癌提供理论依据。

### 参考文献 (References)

- 1 LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: An update. *Mod Pathol* 2011; 24 Suppl 2: S1-9.
- 2 刘玉琴, 张书全, 陈万青, 陈莉莉, 张思维, 张小栋, 等. 中国2003-2007年甲状腺癌发病死亡现状及流行趋势分析. *中华流行病学杂志(Liu Yuqin, Zhang Shuquan, Chen Wanqing, Chen Lili, Zhang Siwei, Zhang Xiaodong, et al. Trend of incidence and mortality on thyroid cancer in China during 2003-2007. Chinese Journal of Epidemiology)* 2012; 33(10): 1044-8.
- 3 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
- 4 Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor super families: Integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104(4): 487-501.
- 5 Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA, Roy M, Kischkel FC, Dowd P, et al. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 1998; 396(6712): 699-703.
- 6 Ge Z, Sanders AJ, Ye L, Jiang WG. Aberrant expression and function of death receptor-3 and death decoy receptor-3 in human cancer. *Exp Ther Med* 2011; 2 (2): 167-72.
- 7 Lin WW, Hsieh SL. Decoy receptor 3: A pleiotropic immunomodulator and biomarker for inflammatory diseases, autoimmune diseases and cancer. *Biochem Pharmacol* 2011; 81(7): 838-47.
- 8 Tai SK, Chang HC, Lan KL, Lee CT, Yang CY, Chen NJ, et al. Decoy receptor 3 enhances tumor progression via induction of tumor-associated macrophages. *J Immunol* 2012; 188(5): 2464-71.
- 9 Carcangiu ML, Chambers JT, Voynick IM, Pirro M, Schwartz PE. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part I: Clinical and histologic correlations. *Am J Clin Pathol* 1990; 94 (3): 247-54.
- 10 杨晶金, 姚军, 沈峰清, 陈佳玉, 杨林军, 张强, 等. Notch-1信号通路 with 甲状腺乳头状癌的关系. *中国细胞生物学学报(Yang Jingjin, Yao Jun, Shen Fengqing, Chen Jiayu, Yang Linjun, Zhang Qiang, et al. The relationship of Notch-1 signaling pathway with*

- human papillary Carcinoma of thyroid. *Chinese Journal of Cell Biology* 2012; 34(2): 120-6.
- 11 金晓燕, 权明明, 杨林军, 杨晶金, 王依满, 沈峰清, 等. Notch-2 在甲状腺乳头状癌中的表达. *中国中西医结合外科杂志*(Jin Xiaoyan, Quan Mingming, Yang Linjun, Yang Jingjin, Wang Yiman, Shen Fengqing, *et al.* Expression of Notch-2 mRNA and protein in papillary thyroid cancers. *Chinese Journal of Surgery of Integrated Traditional and Western Medicine*) 2012; 18(6): 557-61.
- 12 于世鹏, 伊鹏飞, 孙琳, 王娜. 甲状腺乳头状癌PI3K/Akt信号转导通路mRNA和蛋白表达及其生物学意义的探讨. *中华肿瘤防治杂志*(Yu Shipeng, Yi Pengfei, Sun Lin, Wang Na. Expression and biologically significant of PI3K/Akt signal transduction pathway in papillary thyroid carcinoma. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*) 2012; 19(13): 993-5.
- 13 钱光煜, 梁勇, 杨林军, 周健, 王旭林. PTEN异常表达及甲基化与PTC的关系. *医学研究杂志*(Qian Guangyu, Liang Yong, Yang Linjun, Zhou Jian, Wang Xulin. Protein expression and promoter methylation of the PTEN gene in papillary thyroid carcinoma. *Journal of Medical Research*) 2011; 40(3): 39-43.
- 14 Sankari SL, Masthan KM, Babu NA, Bhattacharjee T, Elumalai M. Apoptosis in cancer—an update. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(10): 4873-8.
- 15 Ouyang L, Shi Z, Zhao S, Wang FT, Zhou TT, Liu B, *et al.* Programmed cell death pathways in cancer: A review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif* 2012; 45(6): 487-98.
- 16 Hehlhans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: Players, rules and the games. *Immunology* 2005; 115(1): 1-20.
- 17 Bamias G, Evangelou K, Vergou T, Tsimaratou K, Kaltsa G, Antoniou C, *et al.* Upregulation and nuclear localization of TNF-like cytokine 1A (TL1A) and its receptors DR3 and DcR3 in psoriatic skin lesions. *Exp Dermatol* 2011; 20(9): 725-31.
- 18 You RI, Chang YC, Chen PM, Wang WS, Hsu TL, Yang CY, *et al.* Apoptosis of dendritic cells induced by decoy receptor 3 (DcR3). *Blood* 2008; 111(3): 1480-8.
- 19 Wang YL, Chou FC, Sung HH, Fan PL, Hsueh CW, Lin WC, *et al.* Decoy receptor 3 protects non-obese diabetic mice from autoimmune diabetes by regulating dendritic cell maturation and function. *Mol Immunol* 2010; 47(16): 2552-62.
- 20 Hsu MJ, Lin WW, Tsao WC, Chang YC, Hsu TL, Chiu AW, *et al.* Enhanced adhesion of monocytes via reverse signaling triggered by decoy receptor 3. *Exp Cell Res* 2004; 292(2): 241-51.
- 21 Tateishi K, Miura Y, Hayashi S, Takahashi M, Kurosaka M. DcR3 protects THP-1 macrophages from apoptosis by increasing integrin alpha4. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 389(4): 593-8.
- 22 Han B, Wu J. DcR3 protects islet beta cells from apoptosis through modulating Adcyap1 and Bank1 expression. *J Immunol* 2009; 183(12): 8157-66.
- 23 Connor JP, Felder M. Ascites from epithelial ovarian cancer contain high levels of functional decoy receptor 3 (DcR3) and is associated with platinum resistance. *Gynecol Oncol* 2008; 111(2): 330-5.
- 24 Colucci S, Brunetti G, Mori G, Oranger A, Centonze M, Mori C, *et al.* Soluble decoy receptor 3 modulates the survival and formation of osteoclasts from multiple myeloma bone disease patients. *Leukemia* 2009; 23(11): 2139-46.