

超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测 诊断甲状腺乳头状癌及评估病情的研究进展

李若暄 慈霞 王菲 周祖邦

摘要 甲状腺乳头状癌(PTC)的发病率逐年上升,超声是其主要的检查手段,但部分PTC无典型超声影像学恶性征象,以及超声引导下细针穿刺细胞学诊断(FNAC)的局限性等原因,致术前无法获得明确诊断。近年来的研究倾向于寻找PTC发生、发展的关键分子,并应用于FNAC取样标本中进行检测,以提高PTC术前诊断准确率,为病情评估提供分子学依据。本文将对超声引导下FNAC联合丝/苏氨酸特异性激酶(BRAF)V600E基因突变检测诊断PTC及评估病情的研究进展进行综述。

关键词 超声引导;细针穿刺细胞学诊断;甲状腺乳头状癌;BRAF V600E基因突变
[中图法分类号]R445.1;R736.1 [文献标识码]A

Research progress of BRAF V600E mutation detection combined with fine-needle aspiration cytology under ultrasound-guided in diagnosis and severity evaluation of papillary thyroid cancer

LI Ruoxuan, CI Xia, WANG Fei, ZHOU Zubang

Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

ABSTRACT The incidence of papillary thyroid cancer (PTC) has increased at an accelerating rate in recent years. Because of the lack of typical ultrasonic images and limitation of ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology (FNAC) in some PTC, defining preoperative diagnosis could not be acquired sometimes. As a result, researchers tend to find the key molecule about the occurrence and development of PTC, and try to combine this molecule with ultrasound guided fine-needle aspiration cytology to improve the accuracy rate of preoperative diagnosis and to offer a molecular evidence for severity evaluation of PTC. This article reviews the research progress of BRAF V600E mutation detection combined with FNAC in papillary thyroid cancer diagnosis and severity evaluation.

KEY WORDS Ultrasound-guided; Fine-needle aspiration cytology; Papillary thyroid cancer; BRAF V600E mutation

我国流行病学研究^[1]显示,2015年新发甲状腺癌发病率达90.0%,其中以甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)发病率最高。目前甲状腺结节术前诊断主要依据甲状腺超声检查和超声引导下细针穿刺细胞学诊断(fine-needle aspiration cytology, FNAC),其中FNAC是甲状腺肿瘤术前最敏感且最具特异性的诊断方式,但存在漏诊和无法明确结节性质的情况。近年来大多研究倾向于寻找甲状腺癌发生、发展的关键分子,为临床诊断与制定更合理的治疗方案提供分子学依据。其中丝/苏氨酸特异性激酶(serine-threonine protein kinase, BRAF)V600E基因突变检测技术已较为成熟,临床应用广泛。本文拟对超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测对PTC的

诊断及病情评估的研究进展进行综述。

一、PTC中BRAF V600E基因突变的相关研究

BRAF基因突变参与众多肿瘤的发生,PTC为BRAF V600E基因突变率较高的肿瘤之一,发生率约为40%~70%^[2],而在其他分化型甲状腺癌中该基因突变少见。不同PTC亚型中,BRAF V600E基因突变率亦有所不同,以高细胞亚型PTC基因突变率最高,达90%~100%,经典亚型PTC基因突变率次之,约45%~68%,滤泡亚型PTC突变率最低,仅12%~18%^[3-4]。甲状腺良性结节中不存在该基因突变^[5]。研究^[6]表明,应用BRAF V600E基因突变检测诊断PTC的特异性达99.8%,为PTC特异性较高的诊断标志物之一。目前超声引导下FNAC是诊断甲状

基金项目:甘肃省人民医院内科基金项目(17GSSY6-11)

作者单位:730000 兰州市,甘肃中医药大学(李若暄、慈霞、王菲);甘肃省人民医院超声医学科(周祖邦)

通讯作者:周祖邦,Email:zzbxjh@126.com

腺结节的金标准,临床应用广泛,但因其所取细胞量较少,且易破坏部分或大部分细胞及细胞间质等原因,仍有约15%~30%病变无法获得明确诊断^[7],致使临床过度手术的情况依然存在。BRAF V600E基因突变检测可作为超声引导下FNAC的补充检查,确定FNAC无法明确诊断的甲状腺结节的性质,弥补诊断局限性,减少不必要的手术。

二、BRAF V600E基因突变与PTC临床病理学特征相关性研究

美国癌症联合委员会将肿瘤大小、淋巴结转移情况及远处转移情况等列为肿瘤侵袭性特征。TNMⅢ期、Ⅳ期肿瘤较Ⅰ期、Ⅱ期肿瘤复发率更高、总体生存率更低^[8]。通常PTC预后良好,尤其是甲状腺微小乳头状癌,但这仅仅是对TNMⅠ期的患者而言。研究^[9]证实BRAF V00E基因突变与PTC侵袭性临床病理学特征关系密切,如甲状腺外浸润、高TNM分期、淋巴结转移、复发率高、生存率低等,但该基因突变与PTC是否发生远处转移无明确相关性。Tufano等^[10]研究表明,甲状腺外浸润通常预示着肿瘤侵犯颈部组织的风险性更高,其临床病理学特征是PTC复发与持续性存在的独立危险因素,且不同的临床手术方式和治疗方式均影响研究者对PTC淋巴结转移情况的统计。因此,在使用BRAF V600E基因突变情况作为淋巴结转移的预测指标时,需更加慎重。Xing等^[11]认为BRAF V600E基因突变可作为预测PTC复发风险的指标之一,而Bal和Ballal^[12]与Yarchoan等^[13]却对此结果表示质疑。同时,许多学者^[14-15]认为在低风险分化型PTC患者中,不论BRAF V600E基因是否发生突变,此类肿瘤复发率均相对较低。

三、超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测对PTC的诊断价值

对于具有高度可疑恶性超声征象(不规则或分叶状形态和边界、纵横比>1、低回声实性结节、内部微钙化、内部血流丰富或周边小血管伸入结节内等)、直径>5 mm的甲状腺结节均需行超声引导下FNAC检查进一步明确其性质。对于囊实混合性结节,穿刺时需避开囊性部分,取结节的实性、血流丰富和钙化区域组织送检。通过FNAC取样的组织制作细胞块,应用DNA提取试剂盒提取DNA,使用实时荧光定量聚合酶链式反应法进行BRAF V600E基因突变检测。Rossi等^[16]研究表明,对FNAC取样的标本进行BRAF基因突变检测将细胞学诊断PTC的敏感性提高了28%。对于具有典型恶性超声征象、细胞学检测无法明确诊断的甲状腺结节,可于初次超声引导下FNAC检查后6~12个月再行FNAC取样标本检测BRAF V600E基因突变情况以明确结节性质^[17]。同时,通过FNAC检测BRAF V600E基因突变情况可作为细胞学无法明确诊断的结节是否需要手术的指征之一。

但超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测有一定局限性。据研究^[18-19]统计,超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测的假阳性率0.2%~5.7%、假阴性率1.9%~5.8%,分析其原因为FNAC获取细胞量较少,进行基因检测较困难。根据Bethesda诊断系统,无法明确诊断的结节多归为第

3、4、5类,Kowalska等^[20]研究表明,超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测对细胞学诊断为第3、4类结节的敏感性较低(37.5%),对第5类结节的敏感性高(81.8%),原因为第3、4类结节多为甲状腺滤泡性肿瘤(BRAF V600E基因突变为阴性)或滤泡亚型PTC(BRAF V600E基因突变率较低),超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测对此类结节诊断均较困难。因此,当FNAC检查结果为第3、4类结节时,BRAF V600E基因突变检测结果为阴性并不能完全排除恶性肿瘤可能,Yoon等^[17]所倡导的重复FNAC联合BRAF V600E基因突变检测对此类结节不具有诊断意义,仍需对其进行常规超声检查随访,若声像图短期内发生明显变化,出现甲状腺恶性肿瘤特征等,需进行手术治疗,使用术后标本行病理检查明确诊断,制定相关治疗方案^[21]。

四、超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测评估PTC病情的价值

超声检查与超声引导下FNAC对于PTC患者是否存在颈部淋巴结转移有时评估不足,因此临床医师在行手术治疗时,多常规行预防性双侧颈部淋巴结清扫。该方法虽可清扫术前超声无法评估的隐匿性转移性淋巴结,避免术后转移和复发,但术后并发症较多,患者生存质量下降,因此对于此类患者是否需要行预防性颈部淋巴结清扫仍存在较大争议。Lee等^[22]认为超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测结果阳性与PTC患者肿瘤直径较大、男性、甲状腺外侵犯、颈部淋巴结转移及肿瘤高分期等相关,此类患者病情较重。Colanta等^[23]认为超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测结果为阳性时,患者具有较高的手术病理分期和术后复发率。但Park等^[24]并不认同上述观点,其研究结果表明BRAF V600E基因突变检测结果为阳性与PTC患者任何临床、病理及预后因素均无相关性。因此,超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测在PTC患者术前病情评估中的作用仍存在较大争议,其与PTC不良生物学特性是否相关、与何种生物学特性相关等问题均有待进一步探讨,其能否为手术范围的选择提供有力的分子学依据依然需要进一步研究。

五、结语

综上所述,超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测在提高PTC术前诊断率方面具有显著意义,但其仍有一定局限性,在术前评估PTC患者病情方面的作用仍有待探讨。BRAF V600E基因突变作为PTC重要的分子标志物之一,进一步明确该基因与PTC生物学行为的相关性,正确应用超声引导下FNAC联合BRAF V600E基因突变检测的方法,对PTC的诊断有积极意义。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Koziółek M, Bińczak-Kuleta A, Stepaniuk M, et al. Frequency

- assessment of BRAF mutation, KRas mutation, and RASSF1A methylation in nodular goitre based on fine-needle aspiration cytology specimens Ocena częstości występowania mutacji genów BRAF, KRas oraz [J]. *Endokrynol Pol*, 2015, 66(5):384-393.
- [3] Kim TH, Park YJ, Lim JA, et al. The association of the BRAF (V600E) mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: a meta-analysis [J]. *Cancer*, 2012, 118(7):1764-1773.
- [4] Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, et al. Correlation between genetic alteration and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinoma [J]. *Am J Surg Pathol*, 2006, 30(2):216-222.
- [5] Zhang B, Liu S, Zhang Z, et al. Analysis of BRAF (V600E) mutation and DNA methylation improves the diagnostics of thyroid fine needle aspiration biopsies [J]. *Diagn Pathol*, 2014, 9(1):1-9.
- [6] Fagin JA, Mitsiades N. Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2008, 22(6):955-969.
- [7] Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology [J]. *Am J Clin Pathol*, 2009, 132(5):658-665.
- [8] Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2006, 16(2):109-142.
- [9] Liu C, Chen T, Liu Z. Associations between BRAF (V600E) and prognostic factors and poor outcomes in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis [J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14(1):241.
- [10] Tufano RP, Teixeira GV, Bishop J, et al. BRAF mutation in papillary thyroid cancer and its value in tailoring initial treatment: a systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2012, 91(5):274-286.
- [11] Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(1):42-50.
- [12] Bal C, Ballal S. Is there any true association between BRAF V600E mutation and recurrence, particularly in low-risk, papillary thyroid cancer? [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(22):2481.
- [13] Yarchoan M, LiVolsi VA, Brose MS. BRAF mutation and thyroid cancer recurrence [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(22):7-8.
- [14] Vianello F, Mazzarotto R, Mian C, et al. Clinical outcome of low-risk differentiated thyroid cancer patients after radioiodine remnant ablation and recombinant human thyroid-stimulating hormone preparation [J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2012, 24(3):162-168.
- [15] Schwartz C, Bonnetain F, Dabakuyo S, et al. Impact on overall survival of radioactive iodine in low-risk differentiated thyroid cancer patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(5):1526-1535.
- [16] Rossi M, Buratto M, Bruni S, et al. Role of ultrasonographic/clinical profile, cytology, and BRAF V600E mutation evaluation in thyroid nodule screening for malignancy: a prospective study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(7):2354-2361.
- [17] Yoon JH, Kim EK, Moon HJ, et al. Is follow-up BRAF (V600E) mutation analysis helpful in the differential diagnosis of thyroid nodules with negative results on initial analysis? [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e58592.
- [18] Kwak JY, Koo H, Youk JH, et al. Value of US correlation of a thyroid nodule with initially benign cytologic results [J]. *Radiology*, 2010, 254(1):292-300.
- [19] Haberal AN, Toru S, Ozen O, et al. Diagnostic pitfalls in the evaluation of fine needle aspiration cytology of the thyroid: correlation with histopathology in 260 cases [J]. *Cytopathology*, 2009, 20(2):103-108.
- [20] Kowalska A, Kowalik A, Palyga I, et al. The usefulness of determining the presence of BRAF V600E mutation in fine-needle aspiration cytology in indeterminate cytological results [J]. *Endokrynol Pol*, 2016, 67(1):41-47.
- [21] 鲁柯兵. 超声引导下细针穿刺细胞学联合 BRAF V600E 基因检测在甲状腺乳头状癌诊断中的应用价值 [J]. *临床超声医学杂志*, 2019, 21(3):215-217.
- [22] Lee JI, Jang HW, Kim SW, et al. BRAF V600E mutation in fine-needle aspiration aspirates: Association with poorer prognostic factors in larger papillary thyroid carcinomas [J]. *Head Neck*, 2013, 35(4):548-553.
- [23] Colanta A, Lin O, Tafe L, et al. BRAF mutation analysis of fine-needle aspiration biopsies of papillary thyroid carcinoma: impact on diagnosis and prognosis [J]. *Acta Cytol*, 2011, 55(6):563-569.
- [24] Park VY, Kim EK, Moon HJ, et al. The thyroid imaging reporting and data system on US, but not the BRAF V600E mutation in fine-needle aspirates, is associated with lateral lymph node metastasis in PTC [J]. *Medicine*, 2016, 95(29):e4292.

(收稿日期:2018-08-21)