

· 临床研究 ·

常规超声及实时剪切波弹性成像超声表现与甲状腺乳头状癌 BRAF 基因突变的关系探讨

杭菁 袁涛 叶新华 李奥 李阳

摘要 **目的** 探讨常规超声及实时剪切波弹性成像(SWE)超声表现与甲状腺乳头状癌(PTC) BRAF V600E 基因突变之间的关系。**方法** 将73个经手术及病理证实的PTC结节根据BRAF基因检测结果分为突变组(67个)和野生组(6个),比较两组常规超声图像特征及SWE参数的差异。以病理结果为金标准,选取差异有统计学意义的指标绘制诊断野生型及突变型PTC结节的受试者工作特征曲线,并计算其曲线下面积(AUC)、最佳截断值及诊断效能。**结果** 突变组与野生组的PTC结节在形态、纵横比、边缘、回声类型、钙化及血流情况比较,差异均无统计学意义。突变组PTC结节的杨氏模量最大值($E_{\max}$)为 (82.3 ± 43.5) kPa,野生组为 (42.1 ± 15.6) kPa,差异有统计学意义($P < 0.05$)。以病理结果为金标准, $E_{\max}$ 诊断野生型及突变型PTC结节的AUC为0.858,以 $E_{\max} \geq 40.8$ kPa为截断值,其诊断敏感性、特异性分别为92.5%、66.7%。**结论** 实时SWE测值 $E_{\max}$ 与PTC患者中BRAF基因突变型具有一定的关系, $E_{\max} \geq 40.8$ kPa的结节BRAF V600E突变率更高。

关键词 弹性成像;剪切波;实时;杨氏模量;结节;甲状腺;BRAF基因

[中图分类号] R445.1; R736.1

[文献标识码] A

The relationship between conventional ultrasonography and shear wave elastography with BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma

HANG Jing, YUAN Tao, YE Xinhua, LI Ao, LI Yang

Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

ABSTRACT **Objective** To evaluate the relationship between conventional ultrasound and shear wave elastography in diagnosing papillary thyroid carcinoma (PTC) with BRAF mutation. **Methods** A total of 73 PTC nodules confirmed by surgery and pathology were divided into the mutant group ($n=67$) and the wild group ($n=6$) according to the results of BRAF mutation test results. The difference of conventional ultrasound image and SWE parameters were compared. Pathological results was used as the gold standard, subjects with statistically significant indicators were selected to draw the subject working characteristic curve for the diagnosis of wild-type and mutant PTC nodules, and the area under the curve (AUC), the optimal cut-off value and the diagnostic efficiency were calculated. **Results** The PTC nodules in the mutant group and the wild group showed no significant difference in morphology, aspect ratio, margin, echo type, calcification and blood flow type. The maximum young's modulus value of PTC nodules in the mutant group was (82.3 ± 43.5) kPa and that in the wild group was (42.1 ± 15.6) kPa, there was significant difference ($P < 0.05$). AUC of the maximum Young's modulus value was 0.858, taken 40.8 kPa as cutoff value, the sensitivity was 92.5% and specificity was 66.7%, respectively. **Conclusion** There is a certain relationship between real-time SWE measured $E_{\max}$ and BRAF gene mutation in PTC patients. PTC nodules with maximum Young's modulus ≥ 40.8 kPa is more likely to get BRAF gene mutation.

KEY WORDS Elastography, shear wave, real-time; Young's modulus; Nodule, thyroid; BRAF gene

近年来甲状腺癌的发病率增长迅速^[1],超声是术前无创判断甲状腺结节性质的主要手段。超声弹性成像对甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)及其伴发的颈部淋巴结转移具有较好的诊断价

值^[2]。研究^[3-4]认为PTC的主要原因是特异性的肿瘤相关基因及通路异常引起甲状腺滤泡细胞恶变,其中最为特征性的遗传学事件是有丝分裂活化蛋白激酶(mimgen activated protein kinase, MAPK)信号通路的激

活,导致细胞的异常增值和肿瘤发生。鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1(BRAF)基因是 MAPK 通道中最强激活剂,BRAF V600E 基因突变是 PTC 中最常见的基因突变类型,其与 PTC 的高侵袭性及复发有一定的关系^[3-4]。本研究旨在探讨常规超声及实时剪切波弹性成像(shear wave elastography,SWE)超声表现与 PTC BRAF 基因突变之间的关系。

资料与方法

一、研究对象

选取 2017 年 1~12 月我院甲状腺结节手术确诊为 PTC,并对标本进行 BRAF 基因检测的患者 73 例(共 73 个结节),其中男 17 例,女 56 例,年龄 21~71 岁,平均(43±12)岁。按 BRAF 检测结果分为 BRAF 突变组(67 个)和 BRAF 野生组(6 个)。入组病例术前取得完整常规超声及 SWE 检查资料,所有患者手术前告知 BRAF 基因检测并签署知情同意书。

患者纳入标准:①年龄>18 周岁;②结节最大径>5 mm;③结节内部结构为实性或实性为主(实性为主定义为软组织成分占总体积的 50% 以上);④结节中心距离皮肤表层<25 mm。排除标准:有颈部手术史、颈部放射线照射史、¹³¹I 治疗史、颈部穿刺活检史。本研究经我院医学伦理委员会批准,患者均知情同意。

二、仪器与方法

1. 仪器:使用法国声科 Aixplorer 彩色多普勒超声诊断仪,L4-15 线阵探头,频率 4~15 MHz;配备 SWE 技术。

2. 超声检查:患者取仰卧位,充分暴露颈部,先行常规超声检查,然后选取甲状腺长轴显示病灶,轻置探头,切换到 SWE 模式使二维图像与 SWE 图像双幅并列显示,调节取样框至合适大小,选择感兴趣区尽量包括整个结节,在感兴趣区内放置取样框,尽量包括整个病灶且病灶占感兴趣区>80%。所有患者的 SWE 弹性彩色图像的标尺均统一设定为 100 kPa(推荐范围 100~180 kPa),以显示病灶内软硬分布信息最佳为准。嘱患者屏住呼吸,静置 3 s,待图像稳定后定帧,存图。将所有常规超声及 SWE 图像存盘,以备进一步测量分析。

3. 图像分析:由一名高年资主治医师在不知道病理结果的情况下进行图像分析。包括常规超声图像中的结节形态、纵横比、边缘、回声类型、钙化及血流分布的情况,并进行 TI-RADS 分类^[5]。测量以下 SWE 参数:结节平均杨氏模量值(E_{mean})、最大杨氏模量值(E_{max})、E_{max} 值的标准差(SD),以及结节与相同层面的颈前肌弹性测值比值(E_{ratio})。每组数据测量 3 次取平均值。

4. 病理学诊断:由同一具有 5 年工作经验以上的病理科医师在不知道超声 TI-RADS 分类结果的情况下进行病理学诊断。

5. BRAF 基因检测:手术病例术中取新鲜肿瘤标本,送至我院病理科基因诊断室,提取肿瘤组织的基因组 DNA(提取试剂使用厦门艾德生物医药科技股份有限公司的核酸提取试剂,型号:FFPE DNA,货号:ADx-FF01),荧光 PCR 法扩增 BRAF 基因外显子(扩增方法:ADx-ARMS 方法^[6],扩增试剂使用厦门艾德生物医药科技股份有限公司的人类 BRAF 基因 V600E 突变检测试剂盒,货号:ADx-BR01),所得结果依据说明书分析,最后统计得出 BRAF 基因 V600E 突变情况。

三、统计学处理

应用 SPSS 19.0 和 Medcalc 10.3.0.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行独立样本 *t* 检验;计数资料行 χ^2 检验。以病理结果为金标准,选取差异有统计学意义的指标绘制诊断野生型及突变型 PTC 结节的受试者工作特征(ROC)曲线,计算其曲线下面积(AUC)、最佳截断值及相应的诊断效能。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、常规超声检查结果

突变组及野生组的 PTC 结节在形态、纵横比、边缘、回声类型、钙化及血流情况方面比较,差异均无统计学意义。见表 1。

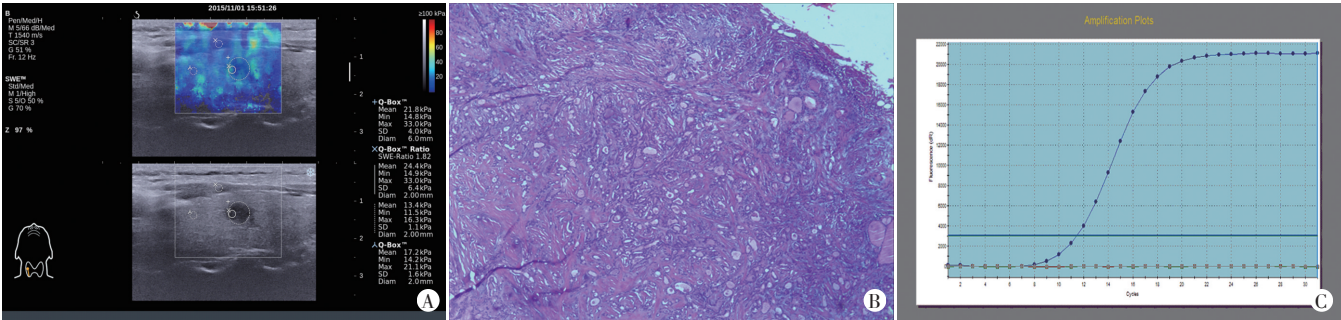
二、SWE 检查结果

野生组 6 个结节多表现为蓝色为主的弹性硬度图像(图 1);突变组 67 个结节多表现为红橙相间彩色混

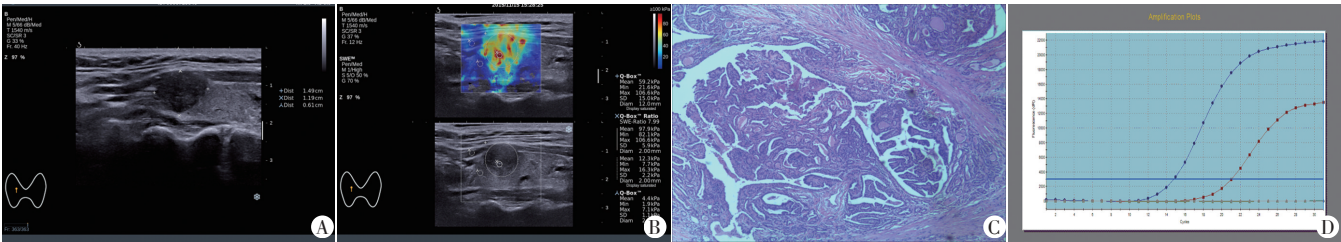
表 1 两组 PTC 结节常规超声表现

基因类型	形态			纵横比		边缘		回声类型			钙化			血流情况		
	椭圆形	类圆形	不规则形	≥1	<1	光整	不光整	混合回声	低回声	高回声	无钙化	微钙化	粗大钙化	无血流	周边血流	异常增多的血流
野生型	2	0	4	0	6	2	4	0	6	0	0	6	0	3	0	3
突变型	13	11	43	16	51	20	47	5	61	1	21	44	2	26	7	34
<i>P</i> 值	0.470			0.231		0.863		0.746			0.082			0.384		

杂的弹性硬度图像(图2)。两组结节的杨氏模量测值见表2。两组PTC结节 Emax 比较差异有统计学意义($P<0.05$),其余各参数比较差异均无统计学意义。



A: SWE示相对均一的蓝色为主的弹性图像, Emax为33.0 kPa; B: 病理图(HE染色, $\times 40$); C: BRAF检测图
图1 野生型PTC结节的SWE图、病理图和BRAF检测图



A: 常规超声图; B: SWE示红橙相间的弹性图像, Emax为106.6 kPa; C: 病理图(HE染色, $\times 40$); D: BRAF检测图
图2 突变型PTC结节的常规超声图、SWE图、病理图和BRAF检测图

表2 两组结节杨氏模量值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	Emean(kPa)	Emax(kPa)	Eratio
野生组	27.5 $\pm$ 12.5	42.1 $\pm$ 15.6	3.61 $\pm$ 1.10
突变组	33.0 $\pm$ 12.9	82.3 $\pm$ 43.5	3.67 $\pm$ 2.33
P值	0.313	0.028	0.954

Emean: 平均杨氏模量值; Emax: 最大杨氏模量值; Eratio: 结节与相同层面的颈前肌弹性测值比值

讨论

随着超声技术的发展和普及使用,越来越多的PTC特别是甲状腺微小癌被检出,使得甲状腺癌成为了全球发病率增长最快的实体恶性肿瘤之一。虽然PTC整体预后良好,恶性程度较低,但仍有部分高侵袭性的PTC结节会发生淋巴结转移、甲状腺包膜外侵犯、甲状腺周围组织浸润甚至远处转移等情况。目前研究^[7]认为BRAF突变型的PTC肿瘤侵袭性更强,较易发生甲状腺外侵犯、淋巴结转移,预后相对野生型PTC差。如何早期发现高侵袭性的PTC结节是临床亟需解决的难题之一,本研究旨在探讨PTC常规超声及SWE超声表现与BRAF基因突变之间的关系,以寻求早期无创发现高侵袭性PTC结节的超声方法。

PTC常规超声图像具有特征性表现,其准确率和

三、ROC曲线分析

以病理结果为金标准,Emax诊断野生型及突变型PTC结节的AUC为0.858,以Emax $\geq$ 40.8 kPa为截断值,其诊断敏感性、特异性分别为92.5%、66.7%。

特异性均较高,灰阶图像中的极低回声、边界模糊、边缘不规则、纵横比 >1 及结节内微钙化均被认为是诊断PTC的典型恶性征象。关于BRAF突变型的PTC,国外有少数文献^[8]报道了其于二维超声图像之间的关系,但目前尚未达成一致认可的意见,有学者^[8-9]认为具有二维超声恶性征象越多的结节与BRAF突变呈正相关。本研究中73个PTC结节中有67个的BRAF基因检测结果为突变型,约占91.8%,与Adeniran等^[10]报道PTC BRAF基因检查有超过75%为突变型的结果相一致,但较近期Kim等^[11]报道在经典型PTC及PTC起源的未分化癌中约占29%~84%的结果高。其原因可能与本研究入组病例均为手术患者,淋巴结转移及甲状腺被膜外侵犯者比例高有关。本研究中,73个PTC中有56个发生中央区淋巴结转移(占76.7%),被膜外侵犯49个(占67.1%),均较研究^[11]的入组病例(中央区淋巴结转移占68.2%,被膜外侵犯占55.2%)高,但是否支持BRAF突变型PTC更易发生中央区淋巴结转移发现及被膜外侵犯的结论仍需更大样本数据的补充。而后在比较BRAF突变型和野生型PTC的常规超声图像特征发现,两组形态、纵横比、边缘、回声类型、钙化及血流分布情况比较,差异均无统计学意义,与以往

研究^[11]结果一致,故本研究认为常规超声检查的甲状腺单个恶性征象不能作为预测PTC BRAF基因突变型的依据。

在对甲状腺结节性质的研究^[12]中,应用SWE测得甲状腺结节的E_{max}和E_{mean}在良恶性病变中比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),即恶性甲状腺结节的杨氏模量值高于良性甲状腺结节。罗志艳等^[13]报道了应用压力式弹性成像所测弹性评分与BRAF突变有相关性,但应用SWE技术测值是否与BRAF基因结果相关的研究目前尚未见报道。本研究将SWE技术与PTCBRAF基因相关联,分析73个PTC结节的SWE弹性图像,发现野生型PTC结节E_{max}为(42.1±15.6)kPa,突变型PTC结节E_{max}为(82.3±43.5)kPa,差异有统计学意义($P<0.05$)。提示E_{max}这一参数跟PTC BRAF类型有关,即BRAF突变型的PTC结节可测得较大的E_{max}值。以病理结果为金标准,绘制E_{max}诊断野生型及突变型PTC结节的AUC为0.858, E_{max}≥40.8 kPa的PTC结节中发生BRAF突变的几率更高。

综上所述,实时SWE测值E_{max}与PTC患者中BRAF基因突变型具有一定的关系, E_{max}≥40.8 kPa的结节BRAF V600E基因突变率更高。本研究不足之处在于样本量少,且均为手术患者,造成入组病例TNM分期效率的偏倚。

参考文献

- [1] Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, et al. A National Cancer Data Base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S[J]. Cancer, 1998, 83(12):2638-2648.
- [2] Lyschik A, Higashi T, Asato R, et al. Thyroid gland tumor diagnosis at US elastography[J]. Radiology, 2005, 237(1):202-211.
- [3] Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, et al. High prevalence of BRAF mutation in thyroid cancer: genetic evidence four constructive activation of the RET / PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma[J]. Cancer Res, 2003, 63(7):1454-1457.
- [4] Caronia LM, Phay JE, Shah MH. Role of BRAF in thyroid oncogenesis [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(24):7511-7517.
- [5] Kwak JY, Han KH, Yoon JH, et al. Thyroid imaging reporting and data system for US features of nodules: a step in establishing better stratification of cancer risk[J]. Radiology, 2011, 260(3):892-899.
- [6] 段秀梅, 滕永亮, 佟玲玲, 等. 直接测序法与 ARMS法检测甲状腺乳头状微小癌组织中 BRAF 基因突变的比较[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(11):1514-1516.
- [7] Kebebew E, Weng J, Bauer J, et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer[J]. Ann Surg, 2007, 246(3):466-470.
- [8] Seo JY, Kim EK, Beak JH, et al. Can ultrasound be as a surrogate marker for diagnosing a papillary thyroid cancer? Comparison with BRAF mutation analysis[J]. Yonsei Med J, 2014, 55(4):871-878.
- [9] Kabaker AS, Tublin ME, Nikiforov YE, et al. Suspicious ultrasound characteristics predict BRAF V600E-positive papillary thyroid carcinoma[J]. Thyroid, 2012, 22(6):585-589.
- [10] Adeniran AJ, Zhu Z, Gandhi M, et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas [J]. Am J Surg Pathol, 2006, 30(2):216-222.
- [11] Kim MH, Bae JS, Lim DJ, et al. Quantification of BRAF V600E alleles predicts papillary thyroid cancer progression[J]. Endocr Relat Cancer, 2014, 21(6):891-902.
- [12] Park AY, Son EJ, Han K, et al. Shear wave elastography of thyroid nodules for the prediction of malignancy in a large-scale study [J]. Eur J Radiol, 2015, 84(3):407-412.
- [13] 罗志艳, 洪玉蓉, 闻卿, 等. 甲状腺乳头状癌 BRAF V600E 突变与其超声特征的相关性研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2016, 25(9):785-789.

(收稿日期:2018-04-13)

超声及影像学专业常用术语中英文对照

CDFI (color Doppler flow imaging) —— 彩色多普勒血流成像
CT (computed tomography) —— 计算机断层成像
CTA —— CT血管造影
PET (positron emission tomography) —— 正电子发射计算机断层显像
DSA (digital subtraction angiography) —— 数字减影血管造影技术
MRI (magnetic resonance imaging) —— 磁共振成像
MRA (magnetic resonance angiography) —— 磁共振血管造影
今后本刊将在文中直接使用以上专业术语的英文缩写,不再注明英文全称。

临床超声医学杂志编辑部