

# BRAF V600E 突变与甲状腺乳头状癌 临床病理相关性研究

赵莹<sup>1△</sup> 王鸿雁<sup>1</sup> 王春宝<sup>1</sup> 牛蔓<sup>2</sup> 汪园园<sup>1</sup> 李晓锋<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:**研究 BRAF V600E 突变与甲状腺乳头状癌(PTC)临床病理特征的相关性,探讨 PTC 组织 BRAF V600E 突变检测的应用价值。**方法:**采用 qPCR 方法对 108 例 PTC 患者及 30 例对照组织进行 BRAF V600E 突变检测,回顾 PTC 突变型组和野生型组患者的临床病理资料,使用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。**结果:**对照组未检测到 BRAF V600E 突变。108 例 PTC 患者 BRAF V600E 突变率为 72.20%。突变型组患者平均年龄大于野生型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。BRAF V600E 突变与 PTC 组织亚型有关,与中央区淋巴结转移有关,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与肿瘤直径、性别、多灶性、癌灶部位、伴随疾病、颈侧区淋巴结转移、被膜侵犯及 TNM 分期无关( $P > 0.05$ )。**结论:**BRAF V600E 突变对 PTC 预后判断的价值尚待研究,相比于预后判断,对 PTC 的病理诊断价值更加显著。

**[关键词]** 甲状腺肿瘤; BRAF V600E 基因; 病理学检查

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.19.007

**[中图分类号]** R736.1 **[文献标志码]** A

## Analysis of clinicopathological characteristics of papillary thyroid carcinoma and BRAF V600E gene mutation

ZHAO Ying<sup>1</sup> WANG Hongyan<sup>1</sup> WANG Chunbao<sup>1</sup>

NIU Man<sup>2</sup> WANG Yuan yuan<sup>1</sup> LI Xiao feng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, 710061, China; <sup>2</sup>Department of Pathology, the Fourth Hospital of Xi'an)

Corresponding author: WANG Hongyan, E-mail: whycc0320@126.com

**Abstract Objective:** To study the correlation between the BRAF V600E mutation and the clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma(PTC), and to explore the application value of BRAF V600E mutation in PTC. **Method:** The BRAF V600E gene mutation was detected in 108 PTC cases and 30 control cases by qPCR. The results were statistically analyzed by using SPSS 21.0 software. **Result:** The BRAF V600E mutation was absent in the control group. The BRAF V600E mutation rate was 72.20% in 108 PTC cases. Compared with patients with wild-type, the mean age of patients with the mutant BRAF V600E was significantly older( $P < 0.05$ ). BRAF V600E mutations were associated with PTC tissue subtypes and central area lymph node metastasis( $P < 0.05$ ). BRAF V600E mutations were not correlated with tumor diameter, patient gender, multifocality, tumor site, concomitant disease, lymph node metastasis in side region of neck, capsule invasion, and TNM staging( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** The value of BRAF V600E mutation in the prognosis of PTC remains to be studied. BRAF V600E mutation is of value for pathological diagnosis of PTC.

**Key words** thyroid neoplasms; BRAF V600E gene; pathological examination

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)约占成人甲状腺恶性肿瘤的 80%以上,是世界范围内地方性甲状腺肿非流行区最常见的甲状腺上皮性恶性肿瘤。BRAF V600E 突变是 PTC 分子领域研究最为深入的基因突变类型,是近几年 PTC 研究领域最重要的进展之一。在人类恶性肿瘤中,除黑色素瘤外,PTC 中 BRAF V600E 突变频率最高(29%~83%)<sup>[1]</sup>。尽管针对 BRAF V600E

突变与 PTC 临床病理的相关性已有大量研究,但目前仍存有争议。大部分学者认为, BRAF V600E 突变与 PTC 的侵袭性病理特征及不良预后相关<sup>[2-4]</sup>。然而, Trovisco 等<sup>[5]</sup>报道 BRAF V600E 突变与 PTC 组织类型、患者年龄密切相关,但与肿瘤侵袭性无关。本研究采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)方法对 PTC 癌灶组织进行 BRAF V600E 突变检测,研究 BRAF V600E 突变与 PTC 临床病理特征的相关性,探讨 PTC 组织中 BRAF V600E 突变检测的应用价值。

<sup>1</sup> 西安交通大学第一附属医院病理科(西安,710061)

<sup>2</sup> 西安市第四医院病理科

△ 现在西安市第四医院病理科(西安,710004)

通信作者:王鸿雁, E-mail: whycc0320@126.com

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

收集西安交通大学第一附属医院 2016-01—2017-12 期间行手术切除治疗并行 BRAF V600E 突变检测的 PTC 患者,共 108 例。纳入标准:①病例以病理诊断报告系统中病理标本的接收日期为准;②术后病理确诊为 PTC;③均因甲状腺结节初次就诊并行手术治疗,手术方式为双侧甲状腺次全或全切除,同期清扫颈部中央区淋巴结和(或)颈部 II~V 区淋巴结;④术前甲状腺未行手术、放化疗及其他新的辅助治疗方式。对照组 30 例,其中正常甲状腺组织 10 例,甲状腺滤泡上皮乳头状增生 10 例,甲状腺滤泡癌 10 例。所有患者均为初次就诊并行手术治疗,患者术前未行任何放、化疗。

### 1.2 方 法

**1.2.1 一般资料获取** 在西安交通大学第一附属医院电子病例系统及病理诊断报告系统中查阅 108 例 PTC 患者的临床病理资料及随访资料。

**1.2.2 亚型分类** 依据 2017 年版内分泌肿瘤第 4 版 WHO 分类<sup>[6]</sup> 甲状腺癌部分,对 108 例 PTC 患者进行亚型分类。

**1.2.3 TNM 分期** 依据第 8 版 AJCC TNM 分期系统<sup>[7]</sup> 甲状腺癌部分,对 108 例 PTC 患者进行 TNM 分期。

**1.2.4 采用 qPCR 法检测 BRAF V600E 突变** 将 108 例 PTC 病例标本及 30 例对照组病例标本进行福尔马林固定、石蜡包埋(formalin-fixed and paraffin-embedded, FFPE),新鲜制备切片。严格按照试剂盒说明进行 DNA 提取。提取的 DNA 浓度大于 2 ng/ $\mu$ l,OD260/OD280 在 1.8~2.0 之间。依次取 5 $\mu$ l 待检 DNA 样品、阳性质控品及阴性对照,加入 PCR 反应管,盖上 PCR 反应管。快速离心反应条,离心时间 15 s,将反应管排好放入荧光 PCR 分析仪内,记录样本摆放顺序。使用 Bio-Rad CFX96 荧光 PCR 分析仪,软件循环程序设置如下:第 1 阶段:95 $^{\circ}$ C,5 min,1 个循环;第 2 阶段:95 $^{\circ}$ C,25 s,64 $^{\circ}$ C,20 s,72 $^{\circ}$ C,20 s,15 个循环;第 3 阶段:93 $^{\circ}$ C,25 s,60 $^{\circ}$ C,35 s,72 $^{\circ}$ C,20 s,31 个循环。信号收集:在第 3 阶段 60 $^{\circ}$ C 时,收集 FAM 和 VIC 信号,执行实时 PCR,对文件进行保存。FFPE 核酸提取试剂盒及人类 BRAF V600E 突变检测试剂盒(PCR 法)购自厦门艾德生物医药科技有限公司。

**1.2.5 qPCR 质控标准** 确定未选择的校准荧光参照。选择单突变检测反应管,选择阳性质控反应孔、阴性对照孔、样品反应孔,根据实际情况调整 Threshold 至扩增曲线升起拐点,获得突变(FAM)信号以及内部控制(VIC)的 Ct 值。

**1.2.6 qPCR 结果判断** 确定试验是否成功可信:待测样品的内控 VIC 信号应有明显扩增曲线,且

Ct 值应在 13~21 之间。若内控 Ct 值 $>$ 21 或 VIC 信号无明显扩增,说明加入的 DNA 含有 PCR 抑制剂,或由于加入的 DNA 数量不够,需要重新提取 DNA,或增加 DNA 用量,再次进行试验;但若 FAM 信号有明显的扩增曲线,且 Ct 值 $<$ 28,该样本无需重复检测,检测结果为 BRAF V600E 突变阳性。若内控 Ct 值 $<$ 13,说明加入的 DNA 过量,应减少 DNA 加入量再进行试验;但若 FAM 信号无明显扩增曲线或 Ct 值 $>$ 28,该样本无需重复检测,检测结果为 BRAF V600E 突变阴性。

### 1.3 统计学分析

采用 IBM SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,正态分布资料采取 2 组间非配对样本的  $t$  检验,组间率的对比采用  $\chi^2$  检验,多组间率的对比采用行 $\times$ 列表资料的  $\chi^2$  检验,若有 1/5 以上的单元格理论频数 $<$ 5,采用 Fisher 精确检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 临床病理特征

108 例 PTC 患者,男 26 例,女 82 例,男女比例为 1:3.15;年龄 24~60 岁,平均(40.31 $\pm$ 11.04)岁。其中 $\geq$ 45 岁者 59 例(54.63%), $<$ 45 岁者 49 例(45.37%)。肿瘤直径为 0.1~5.0 cm,平均(2.00 $\pm$ 1.26)cm。多灶性 PTC 35 例(32.41%),单灶性 PTC 73 例(67.59%)。癌灶部位位于甲状腺左叶 31 例(28.70%),右叶 44 例(40.74%),双叶 25 例(23.15%),其他部位为单侧叶和峡部 6 例,双侧叶和峡部 2 例。被膜侵犯 81 例(75.00%),其中包括侵犯至被膜外纤维脂肪组织 9 例。中央区淋巴结转移 44 例(40.74%),颈侧区淋巴结转移 21 例(19.44%)。108 例 PTC 患者共有 4 种亚型:经典型 83 例,滤泡型 8 例,微小型 16 例,透明细胞型 1 例。TNM 分期:I 期 88 例,II 期 12 例,III 期 6 例,IV 期 2 例。

### 2.2 PTC BRAF V600E 突变率

qPCR 法检测 108 例 PTC 组织,内控、外控样本信号均升起,说明检测体系正常。BRAF V600E 突变型患者出现明显的扩增曲线(图 1),BRAF V600E 野生型病例无扩增曲线(图 2)。108 例 PTC 中突变型 78 例,野生型 30 例,BRAF V600E 突变率为 72.2%。

### 2.3 对照组 BRAF V600E 突变

正常甲状腺组织 10 例、甲状腺滤泡上皮乳头状增生 10 例及甲状腺滤泡癌 10 例均未检测到 BRAF V600E 突变。

### 2.4 BRAF V600E 突变与 PTC 的临床病理相关性

BRAF V600E 突变型组患者平均年龄大于野生型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。BRAF V600E 突变与 PTC 组织亚型有关( $P < 0.05$ ),与

PTC 中央区淋巴结转移有关 ( $P < 0.05$ ), 与肿瘤直径、性别、多灶性、癌灶部位、伴随疾病、颈侧区淋巴结转移、被膜侵犯及 TNM 分期无关, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 3 讨论

PTC 的发生和发展是一个多基因参与、多步骤

的过程, 基因多态性、基因突变、细胞凋亡失衡均与 PTC 的发生和发展密切相关。PTC 的发生发展涉及 MAPK 通路效应物的特异性突变或基因重排<sup>[1]</sup>。这些分子学改变为活检诊断和预后判断提供了有用的辅助工具。比如与 PTC 的发生关系较密切的 Ras 是人类细胞的正常基因, 发生突变后变

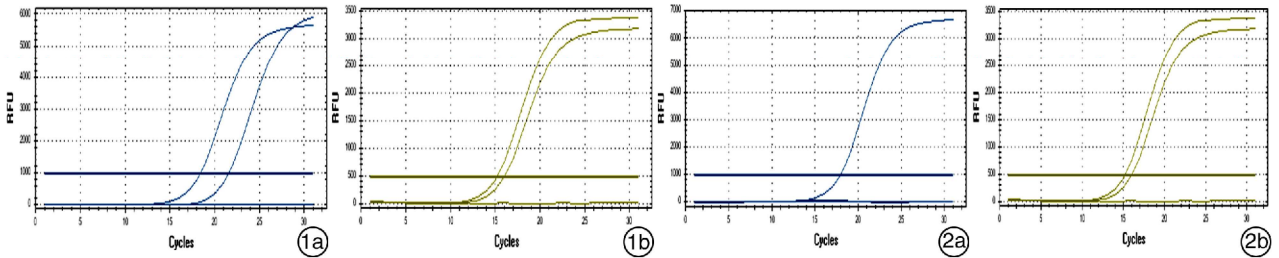


图 1 突变型病例出现明显的扩增曲线 1a: PTC 病例; 1b: 外控样本; 图 2 野生型病例无扩增曲线 2a: PTC 病例; 2b: 外控样本。

表 1 BRAF V600E 突变与 PTC 临床病理相关性

临床病理特征	总数	突变型	野生型
例数	108	78(72.2)	30(27.8)
平均年龄/岁	40.31±11.04	44.97±10.04 <sup>1)</sup>	39.53±9.06
肿瘤直径/cm	2.00±1.26	2.05±1.22	1.89±1.36
性别			
女	82	62	20
男	26	16	10
癌灶			
多灶	35	30	5
单灶	73	48	25
癌灶部位			
单叶	75	50	25
双叶及其他部位*	33	28	5
亚型			
经典型	83	60(72.29) <sup>1)</sup>	23(27.71)
微小型	16	15(93.75) <sup>1)</sup>	1(6.25)
滤泡型及透明细胞型	9	3(33.33) <sup>1)</sup>	6(66.67)
伴随疾病			
结节性甲状腺肿	19	13	6
桥本甲状腺炎	17	12	5
中央区淋巴结转移			
是	44	26 <sup>1)</sup>	18
否	64	52	12
颈侧区淋巴结转移			
是	21	12	9
否	87	66	21
被膜侵犯			
是	81	55	26
否	27	23	4
TNM 分期			
I~II 期	100	72	28
III~IV 期	8	6	2
随访		无复发	无复发

与野生型比较, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。\* 其他部位: 单侧叶和峡部, 双侧叶和峡部。

为具有促进细胞增殖,使细胞恶变的癌基因,Ras 突变与 BRAF V600E 突变相互排斥。N-ras 突变在多种肿瘤尤其是血液系统肿瘤中研究较多,但在 PTC 组织中的研究较少,有报道称其在 PTC 组织中的突变率为 14%,并与 PTC 的侵袭性病理特征有关<sup>[8]</sup>。TERT 启动子突变广泛存在于黑色素瘤、甲状腺癌、肝癌等多种组织中,在 PTC 组织中的突变率为 13%,与 PTC 的不良预后相关<sup>[9]</sup>。

BRAF 基因也称为鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1,位于人染色体 7q24 并包含 18 个外显子,是 RAF 基因家族的成员,编码蛋白质分子总长度约为 94 kD,总共 783 个属于丝氨酸,苏氨酸蛋白质激酶类的氨基酸残基,通过 RAS/RAF/MEK/ERK 级联通路传递调节信号。第 15 号外显子的 1799 位核苷酸上(T1799A)的 BRAF 基因突变最多,约占 95%,其他位点的突变比较少见。突变导致第 600 位密码子对应的谷氨酸替代了缬氨酸(V600E),即 BRAF V600E 突变。在这种不需要 RAS 激酶参与的异常情况下 RAF 系统受到持续性的激活从而串联型地引起 MAPK 系统的持续性激活。最有效激活丝裂原活化蛋白激酶通路的方式是 Braf 激酶,属于 RET 和 Ras 的下游蛋白激酶。BRAF V600E 突变激活 Braf 激酶 MEK(Erk 激酶),并向 Raf/MEK/Erk 信号通路下游传递促进细胞有丝分裂的信号,从而导致肿瘤形成。在 PTC,BRAF V600E 点突变激活 MEK1/2,诱导 ERK1/2 的高磷酸化,使其进入细胞核,触发细胞周期进展,导致 PTC 癌细胞的过度增殖,并增加乳突大小<sup>[10]</sup>。

据文献报道,BRAF V600E 在 PTC 组织中突变率达 29%~83%<sup>[11]</sup>。BRAF V600E 突变可能与种族相关的基因多态性有关,首先白种人中 PTC 患者突变率最高,其次为亚洲人<sup>[11]</sup>。BRAF V600E 突变也与患病年龄相关,之前关于成人和儿童突变率的报道显示,儿童突变率较低,为 0~20%,新近研究显示儿童患者 BRAF V600E 突变率为 68%,比之前认为的更常见<sup>[12]</sup>。本研究中,qPCR 方法检测 PTC 组织中的 BRAF V600E 突变率为 72.20%,无儿童患者,符合文献报道。

PTC 患者的特点是预后良好,5 年总生存率几乎 100%(特别是临床分期较低的病例)。因此,在 PTC 中,疾病复发风险常与预后一起进行分析,这与死亡率较高的其他类型癌症不同。但是,PTC 虽然预后很好,仍然约有 30%的患者存在复发风险,预后不良<sup>[13]</sup>。BRAF V600E 突变与 PTC 患者临床病理特征的相关性,已有学者做了大量研究。许多学者认为,BRAF V600E 突变与 PTC 的甲状腺外扩散、多灶性、被膜侵犯、淋巴结转移、较晚的 TNM 分期等侵袭性病理特征等密切相关,是预后

不佳的指标<sup>[3,4,14]</sup>。但也有学者提出质疑。Trovisco 等<sup>[5]</sup>研究发现,BRAF V600E 突变与 PTC 侵袭性病理特征无关。许多研究分析了 BRAF V600E 突变与 PTC 的复发风险及预后的关系,Czarniecka 等<sup>[15]</sup>认为 BRAF V600E 突变与 PTC 的复发风险并没有被证实。Nair 等<sup>[16]</sup>研究显示,BRAF V600E 基因突变状态对 PTC 侵袭性的预测作用并不显著。相似的结论包括一项大型回顾性研究,Henke 等<sup>[17]</sup>追踪 BRAF V600E 基因突变率为 66.9%的 508 例 PTC 患者,平均随访时间长达 9.8 年,未发现 BRAF V600E 突变与肿瘤复发和生存率存在相关性。不赞成应用 BRAF 突变分析作为 PTC 患者独立预后和预测风险因素的最主要依据是其具有高突变率。众所周知,BRAF V600E 在 PTC 组织中突变率较高,而 PTC 的持续疾病或复发风险仅与约 30%的人群有关<sup>[13]</sup>。

本研究结果显示,BRAF V600E 突变型组与野生型组平均年龄比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。BRAF V600E 突变与 PTC 组织亚型有关( $P < 0.05$ ),与 PTC 中央区淋巴结转移有关( $P < 0.05$ ),与肿瘤直径、性别、多灶性、癌灶部位、伴随疾病、颈侧区淋巴结转移、被膜侵犯及 TNM 分期无关,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。BRAF V600E 突变与 PTC 组织亚型和患者年龄相关,与 Trovisco 等<sup>[5]</sup>报道一致。PTC 最常发生中央区淋巴结转移<sup>[18-19]</sup>。BRAF V600E 突变与 PTC 中央区淋巴结转移有关,同既往大部分文献研究结果一致。但是我们的研究显示,BRAF V600E 野生型组中央区淋巴结转移率较突变组高,与既往大部分研究结果相反。出现此结果可能与本研究样本量较少有关,以后的相关研究需要扩大样本量,进一步进行分析。

目前,已有大量研究显示,BRAF V600E 突变不能做为独立因素判断 PTC 患者的预后。美国甲状腺协会(American Thyroid Association,ATA)2015 年发布的 PTC 诊治指南<sup>[20]</sup>并未推荐对分化型甲状腺癌进行 BRAF V600E 状态的常规检测以用于初始风险分层,可能由于缺乏 BRAF V600E 对复发风险的明确证据。不过,考虑到 BRAF V600E 和/或 TERT 状态对 PTC 的可能作用,ATA 指南提出了评估 PTC 的持续风险等级。虽然不能作为独立因素,但 BRAF V600E 突变可能是影响 PTC 患者预后的因素之一。BRAF V600E 突变应与其他预后因素联合分析,在其他分子和临床病理学风险因素背景下的价值不能排除。在进一步的研究中,大样本 PTC 亚型分型、长期随访和联合其他基因的研究将更有助于我们明确 BRAF V600E 突变与肿瘤恶性行为的相关性,为临床利用 BRAF V600E 突变检测来预测肿瘤恶性程

度,以及为患者预后提供更加可靠的依据。

BRAF V600E 在 PTC 组织中具有较高的突变率和特异性,相比于预后判断,其对 PTC 的病理诊断价值更加显著。本研究结果也显示,BRAF V600E 突变发生在 PTC 组织,而不发生于对照组的正常甲状腺组织、甲状腺滤泡上皮乳头状增生组织以及滤泡癌组织中。BRAF V600E 基因突变在 PTC 组织中高度特异,对 PTC 的病理诊断价值毋庸置疑<sup>[21]</sup>。病理活检工作中,对典型的 PTC 做出病理诊断并不困难,但是在形态学诊断有困难的时候,检测 BRAF V600E 基因突变对 PTC 的病理诊断具有非常重要的价值。

综上所述,BRAF V600E 突变型患者的年龄大于野生型。BRAF V600E 突变与 PTC 组织亚型及中央区淋巴结转移有关,与肿瘤直径、患者性别、多灶性、癌灶部位、伴随疾病、颈侧区淋巴结转移、被膜侵犯及 TNM 分期无关。BRAF V600E 突变对 PTC 预后判断的价值尚待研究,相比于预后判断,对 PTC 的病理诊断价值更加显著。

参考文献

[1] KONDO T, EZZAT S, ASA S L. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 292-306.

[2] XING M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications[J]. *Endocr Rev*, 2007, 28: 742-762.

[3] 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: 241-241.

[4] LIU X, YAN K, LIN X, et al. The association between BRAF (V600E) mutation and pathological features in PTC [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2014, 271: 3041-3052.

[5] TROVISCO V, SOARES P, PRETO A, et al. Type and prevalence of BRAF mutations are closely associated with papillary thyroid carcinoma histotype and patients' age but not with tumour aggressiveness [J]. *Virchows Arch*, 2005, 446: 589-595.

[6] LAM K Y. Update on Adrenal Tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of Endocrine Tumours [J]. *Endocrine Pathology*, 2017, 28(3): 213-227.

[7] TUTTLE R M, HAUGEN B, PERRIER N D. Updated American Joint Committee on Cancer/Tumor-Node-Metastasis Staging System for Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer (Eighth Edition): What Changed and Why [J]? *Thyroid*, 2017, 27: 751-756.

[8] HARA H, FULTON N, YASHIRO T, et al. N-ras mutation: an independent prognostic factor for aggressiveness of papillary thyroid carcinoma [J]. *Surgery*, 1994, 116: 1010-1016.

[9] OISHI N, KONDO T, NAKAZAWA T, et al. Fre-

quent BRAF V600E and Absence of TERT Promoter Mutations Characterize Sporadic Pediatric Papillary Thyroid Carcinomas in Japan [J]. *Endocr Pathol*, 2017, 28: 103-111.

[10] NUCERA C, PONTECORVI A. Clinical outcome, role of BRAF(V600E), and molecular pathways in papillary thyroid microcarcinoma: is it an indolent cancer or an early stage of papillary thyroid cancer [J]? *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2012, 3: 33-33.

[11] NAVARRO-LOCSIN C G, CHANG A M, DAROY M L, et al. Clinical and histopathological profile of BRAF V600E mutation in conventional papillary thyroid carcinoma in a Filipino population [J]. *Malays J Pathol*, 2016, 38: 141-148.

[12] HARDEE S, PRASAD M L, HUI P, et al. Pathologic Characteristics, Natural History, and Prognostic Implications of BRAFV600E Mutation in Pediatric Papillary Thyroid Carcinoma [J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2017, 20: 206-212.

[13] CZARNIECKA A, OCZKO-WOJCIECHOWSKA M, BARCZYNSKI M. BRAF V600E mutation in prognostication of papillary thyroid cancer (PTC) recurrence [J]. *Gland Surg*, 2016, 5: 495-505.

[14] 高庆军, 张伟, 王南鹏, 等. BRAF~(V600E)突变和 cN0 期甲状腺乳头状癌淋巴结转移相关性研究 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29(23): 2048-2052.

[15] CZARNIECKA A, KOWAL M, RUSINEK D, et al. The Risk of Relapse in Papillary Thyroid Cancer (PTC) in the Context of BRAFV600E Mutation Status and Other Prognostic Factors [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e132821.

[16] NAIR C G, BABU M, BISWAS L, et al. Lack of Association of B-type Raf Kinase V600E Mutation with High-risk Tumor Features and Adverse Outcome in Conventional and Follicular Variants of Papillary Thyroid Carcinoma [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2017, 21: 329-333.

[17] HENKE L E, PFEIFER J D, MA C, et al. BRAF mutation is not predictive of long-term outcome in papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2015, 4: 791-799.

[18] 陶久梅, 王艳, 朱姝, 等. 甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移规律及影响因素分析 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(12): 859-861.

[19] 陈征, 董汉华, 叶真. 中央区淋巴结清扫在甲状腺乳头状癌手术中的价值 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29(2): 120-122.

[20] FRANGOS S, IAKOVOU I P, MARLOWE R J, et al. Acknowledging gray areas: 2015 vs. 2009 American Thyroid Association differentiated thyroid cancer guidelines on ablating putatively low-intermediate-risk patients [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 44: 185-189.

[21] BOERNER S L, ASA S L, 王伟, 等. 甲状腺病理活检解读 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2015: 126-129.

(收稿日期: 2018-07-19)