

甲状腺乳头状癌常规超声特征及相关因素与 BRAFV600E 基因突变的相关性

吕阳¹ 何秀丽¹ 杨芳² 郭玲玲¹ 祁明¹ 张洁¹ 王欢³

[摘要] 目的:探讨甲状腺乳头状癌(PTC)的常规超声特征及相关因素与 BRAFV600E 基因突变的相关性。方法:选取 2019 年 10 月—2021 年 3 月经锦州医科大学附属第一医院手术病理证实的 208 例 PTC 患者共 266 个结节,术后均采用实时荧光 PCR 定量技术行 BRAFV600E 基因检测,根据基因检测结果分为基因突变阳性组和阴性组,收集患者的常规超声特征及临床资料,分析其与 BRAFV600E 基因突变的相关性。结果:266 个样本中,188 例(70.7%)发生基因突变。单因素分析结果显示:两组患者年龄、结节边缘、与被膜分界、微钙化、颈部异常淋巴结等指标差异有统计学意义($P < 0.05$)。Logistic 多因素回归分析结果显示:年龄、结节边缘、颈部异常淋巴结为 PTC 患者 BRAFV600E 基因突变的独立影响因素($P < 0.05$)。ROC 曲线显示:当年龄取值为 46.5 岁时,约登指数为最大值。结论:PTC 患者 BRAFV600E 基因突变与年龄 ≤ 46.5 岁、结节边缘不光整、颈部存在异常淋巴结存在相关性,上述特征可以用来评估 BRAFV600E 基因突变情况,对临床诊疗及预后评估有一定的指导意义。

[关键词] 甲状腺肿瘤;乳头状癌;BRAFV600E 基因;超声特征

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2021.10.013

[中图分类号] R736.1 **[文献标志码]** A

Correlation of conventional ultrasound features and related factors with BRAFV600E gene mutation in papillary thyroid carcinoma

LV Yang¹ HE Xiuli¹ YANG Fang² GUO Lingling¹
QI Ming¹ ZHANG Jie¹ WANG Huan³

(¹Department of Ultrasound, First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, 121000, China; ²Department of Ultrasound, Anshan Central Hospital; ³Department of Thyroid Surgery, First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University)

Corresponding author: HE Xiuli, E-mail: hexiuli69737@sina.com

Abstract Objective: To investigate the correlation of conventional ultrasound features and related factors with BRAFV600E gene mutation in papillary thyroid carcinoma(PTC). **Methods:** A total of 266 nodules in 208 patients with PTC confirmed by operation and pathology in First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University from October 2019 to March 2021 were selected. BRAFV600E gene was detected by real-time fluorescence PCR quantitative technique after operation. According to the results of gene detection, the patients were divided into gene mutation positive group and gene mutation negative group. The routine ultrasound features and clinical data of the patients were collected, and the correlation with BRAFV600E gene mutation was analyzed. **Results:** Among the 266 samples, 188 cases(70.7%) had gene mutation. Univariate analysis showed that there were significant differences in age, nodular edge, capsule boundary, microcalcification and abnormal cervical lymph nodes between the two groups($P < 0.05$). The results of Logistic multivariate regression analysis showed that age, nodular margin and abnormal cervical lymph nodes were independent influencing factors of BRAFV600E gene mutation in patients with PTC. ROC curve showed that when the age was 46.5 years old, the Youden index was the highest. **Conclusion:** BRAFV600E gene mutation is associated with age ≤ 46.5 years old, uneven edge of nodules and abnormal lymph nodes in neck in patients with PTC. The above characteristics can be used to evaluate BRAFV600E gene mutation and have certain guiding significance for clinical diagnosis, treatment and prognosis.

Key words thyroid neoplasms; papillary carcinoma; BRAFV600E gene; ultrasonographic features

随着高频超声的普及,甲状腺结节检出率明显提高,研究表明 19%~68% 的普通人群可探及甲状腺结节,其中甲状腺癌占 7%~15%^[1],甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是甲

状腺癌中最常见的病理类型,超过 80% 的 PTC 患者会发生 BRAFV600E 基因突变^[2-3],BRAFV600E 基因作为 PTC 的特异性分子标志物,具有较高的阳性预测值,最高可达 100%^[4-5]。尽管超声是甲状腺疾病的首选影像学手段,但在良恶性结节的鉴别中仍存在一定的局限性,确诊依然依靠病理结果,2015 年,美国甲状腺学会(American Thyroid Association, ATA)指南^[6]推荐对最大径 > 1 cm 的

¹锦州医科大学附属第一医院超声科(辽宁锦州,121000)

²鞍山市中心医院超声科

³锦州医科大学附属第一医院甲状腺外科

通信作者:何秀丽, E-mail: hexiuli69737@sina.com

甲状腺结节采用超声引导下细针穿刺抽吸活检(ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy, US-FNAB)。目前对于可疑甲状腺结节的评估,临床上常采用 FNAB 联合 BRAFV600E 基因诊断,但结果存在假阴性、穿刺不满意等情况^[7-8],且为有创检查,能否利用超声的无创性检查评估甲状腺结节的分子表达情况,对于甲状腺结节的诊断、预后评估具有一定的指导意义。本研究旨在研究 PTC 的常规超声特征及相关因素与 BRAFV600E 基因突变的相关性,从而提高 PTC 的诊断率,优化诊治方案。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 10 月—2021 年 3 月经我院手术病理证实的 208 例 PTC 患者共 266 个结节为研究对象,男性患者中结节 62 个(23.31%),女性患者中结节 204 个(76.69%);年龄 21~69 岁,平均(45±11)岁。术后均采用实时荧光 PCR 定量技术行 BRAFV600E 基因检测,根据基因检测结果分为基因突变阳性组和阴性组。纳入标准:①超声资料及临床资料保存完整;②术后病理证实为 PTC;③术后标本进行 BRAFV600E 基因检测;④初治患者,术前未进行射频消融等甲状腺相关治疗。排除标准:①资料不全或不配合相关检查;②超声图像或病理结果存在争议且不能做出明确结果;③曾进行射频消融、其他甲状腺手术等治疗;④合并其他恶性肿瘤。

1.2 研究方法

1.2.1 超声检查 选用 GE LOGIQ E9 彩色多普勒超声诊断仪 5~12 MHz 高频线阵探头,由两名经验丰富的甲状腺超声诊断医师根据 2020 年中华医学会超声医学分会浅表器官和血管学组制定的 C-TIRADS 系统^[9]对甲状腺结节特征进行回顾性统计记录,对结果存在争议的甲状腺结节则由上级超声诊断医师经过协商后明确最终诊断,记录的超声特征包括结节的数目(1 个、≥2 个)、最大径线、回声性质(极低回声、低回声、等回声)、结构性质(实性、囊实性)、结节边缘(光整、毛刺、成角、分叶,其中将毛刺、成角和分叶合并为不光整)、与被膜分界(清晰、不清)、结节形态(纵横比>1、纵横比<1)、局灶性强回声(微钙化、粗钙化、无钙化,其中将粗钙化和无钙化合并为无微钙化)、颈部异常淋巴结(有、无),并记录患者年龄及性别相关因素指标。

1.2.2 病理检查 266 个甲状腺结节标本均经 10% 甲醛溶液固定、脱水、石蜡包埋、切片(4 μm)、苏木精-伊红染色,由两名经验丰富的病理科医师阅片明确诊断。

1.2.3 基因检测 使用石蜡组织 DNA 提取盒(厦门艾德生物医药科技股份有限公司)提取 DNA,将提取后的 DNA 采用实时荧光 PCR 定量

技术检测基因突变情况,严格按照 BRAF 基因突变检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技股份有限公司)操作说明,将混合后的 DNA 样本放入实时 PCR 仪中检测,根据 FAM 信号扩增曲线及 Ct 值判读基因突变结果,由两名经验丰富的病理诊断医师完成基因检测及结果判读。

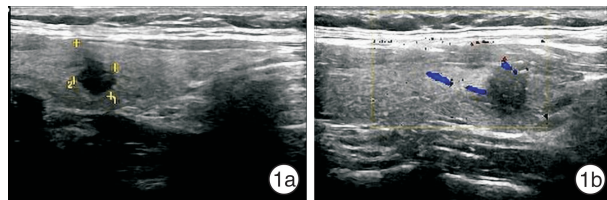
1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计学软件进行数据分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用例数或百分率表示,对超声特征及相关因素进行单因素分析,成组资料间计数资料比较采用 *t* 检验,成组资料间计量资料比较采用 χ^2 检验,对单因素结果中有意义的研究因素采用 Logistic 回归模型进行多因素分析,绘制 ROC 曲线,以约登指数(敏感度+特异度-1)最大值确定诊断截点,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素分析

266 例 PTC 组织样本中 188 例(70.7%)发生基因突变(图 1),78 例未发生基因突变,阳性组与阴性组中研究因素进行比较显示 BRAFV600E 基因突变与年龄、结节边缘、与被膜分界、微钙化及颈部异常淋巴结有相关性($P < 0.05$);而性别、结节数目、最大径线、回声性质、结构性质及结节形态与 BRAFV600E 基因突变无相关性($P > 0.05$),见表 1。



1a:1 例 35 岁女性患者甲状腺结节纵切面显示结节边界尚清晰,边缘成角,伴有颈部异常淋巴结;1b:1 例男性 30 岁患者甲状腺结节纵切面显示结节边界尚清晰,边缘呈毛刺,伴有颈部异常淋巴结。

图 1 发生 BRAFV600E 基因突变的 PTC 患者的超声图像

2.2 多因素分析

对单因素分析中筛选出来的有统计学意义的自变量进行 Logistic 多因素回归分析,分析结果显示年龄、结节边缘、颈部异常淋巴结为 BRAFV600E 基因突变的危险因素,见表 2。

2.3 ROC 曲线

绘制年龄的 ROC 曲线,约登指数最大值时年龄取值为 46.5 岁,曲线下面积(AUC)为 0.766(95%CI:0.703~0.829),敏感度及特异度分别为 79.5%和 35.1%(图 2)。

表 1 PTC 患者超声特征及相关因素与 BRAFV600E 基因突变分析

研究因素	阳性组 (n=188)	阴性组 (n=78)	χ^2/t	P	研究因素	阳性组 (n=188)	阴性组 (n=78)	χ^2/t	P
年龄/岁	41±10	51±9	7.316	<0.01	结节边缘				
性别					不光整	183(75.3)	60(24.7)	29.094	<0.01
男	48(77.4)	14(22.6)	1.773	>0.05	光整	5(21.7)	18(78.3)		
女	140(68.6)	64(31.4)					与被膜分界		
结节数目/个					不清	111(78.2)	31(21.8)	8.251	<0.01
1	108(69.2)	48(30.8)	0.381	>0.05	清晰	77(62.1)	47(37.9)		
≥2	80(72.7)	30(27.3)					结节形态(纵横比)		
最大径线/mm	9.3±6.1	9.3±4.5	0.028	>0.05	>1	141(73.4)	51(26.6)	2.538	>0.05
回声性质					<1	47(63.5)	27(36.5)		
极低回声	36(80.0)	9(20.0)	2.598	>0.05	微钙化				
低回声	135(68.2)	63(31.8)			有	89(79.5)	23(20.5)	7.208	<0.01
等回声	17(73.9)	6(26.1)			无	99(64.3)	55(35.7)		
结构性质					颈部异常淋巴结				
实性	180(70.3)	76(29.7)	0.414	>0.05	有	100(83.3)	20(16.7)	16.899	<0.01
囊实性	8(80.0)	2(20.0)			无	88(60.3)	58(39.7)		

表 2 多因素 Logistic 回归分析 BRAFV600E 基因突变的危险因素

研究因素	回归系数(β)	标准误	Wald	P	OR	95%CI
年龄	1.051	0.342	9.431	<0.01	2.859	1.462~5.591
结节边缘	2.182	0.561	15.133	<0.01	8.862	2.952~26.601
与被膜分界	0.308	0.307	1.009	>0.05	1.361	0.746~2.484
微钙化	0.554	0.319	3.002	>0.05	1.739	0.930~3.253
颈部异常淋巴结	0.911	0.323	7.951	<0.01	2.487	1.320~4.685

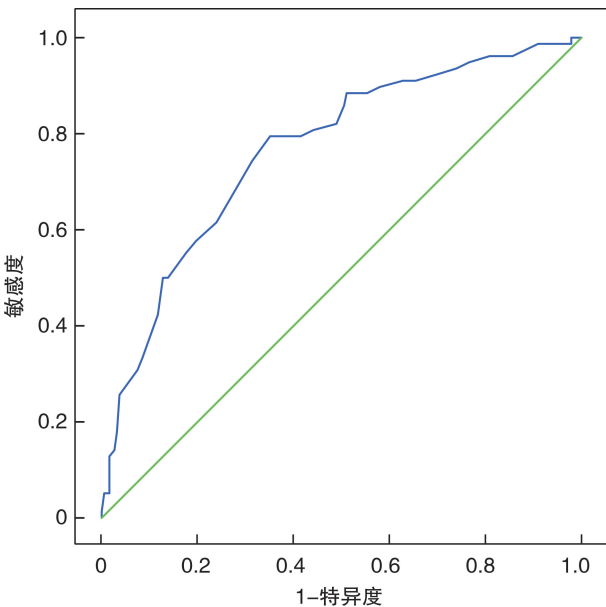


图 2 年龄的 ROC 曲线

3 讨论

随着分子生物学的发展,越来越多的甲状腺相关基因(主要包括 BRAF、RAS 和 TERT 等基因)逐渐被人们关注,其中 BRAFV600E 基因在 PTC 中突变率最高,本研究中 BRAFV600E 基因突变率

为 70.7%,相对较高,有研究显示,BRAFV600E 基因在所有年龄组 PTC 中的突变率为 36%~83%^[10]。Yan 等^[11]进行的一项大样本研究中,BRAFV600E 基因突变率高达 83.7%。王成晨等^[12]对 391 例 PTC 患者根治术后进行 BRAFV600E 基因检测,显示突变率为 73.9%,上述结果与本研究接近。

近年来,由于新技术的发展和运用,甲状腺癌的诊断水平逐步提高,甲状腺癌的发病率在全球统计范围内呈现快速上升趋势。Zhang 等^[13]认为年龄大是 PTC 患者 BRAFV600E 基因突变的危险因素,这与本研究结论不同,本研究认为年龄≤46.5 岁的中青年人群更易发生基因突变,研究结果的差异可能与不同地区、不同人种间分布存在差异有关,若要得到进一步证实,还需增大样本量,尽可能多地区综合研究。本研究 PTC 患者中女性患者共 204 个结节,占总样本量的 76.7%,占比相对较高,提示 PTC 患者中女性为好发人群。2018 年全球癌症数据^[14]显示甲状腺癌发病率占 3.1%,位居第九,且女性发病率远高于男性,约为男性的 3 倍,在中国尤其是女性甲状腺癌的急剧上升与其他国家的观察结果一致。

BRAFV600E 基因与 PTC 超声声像图特征之

间的关系已有部分学者研究,但结果存在较大争议,Chen 等^[15]提出多灶性和纵横比是甲状腺微小乳头状癌 BRAFV600E 基因突变的危险因素,甲状腺微小乳头状癌为直径 ≤ 1 cm 的 PTC,在本研究中未得到证实,王国涛等^[16]也提出结节形态(纵横比)为 BRAFV600E 基因突变的独立预测因素,但本研究通过多因素分析结果显示结节边缘不光整为 BRAFV600E 基因突变的独立危险因素,而与结节形态无关,单云云等^[17]也提出结节边缘不光整与 BRAFV600E 基因突变存在一定相关性,结论与本研究结果一致。由于研究中得出的结论未对边缘不光整中的某一特征(毛刺、成角、分叶)进行具体分析,因此不能确定与 BRAFV600E 基因突变有统计学意义的具体是哪一特征,以后还需对边缘不光整超声特征做进一步统计分析,而产生差异性的原因可能与标本和检测方法以及医师的诊断经验和主观因素有关。

对于颈部存在异常淋巴结能否预测 BRAFV600E 基因突变,目前国内外已有多名学者从分析超声特征及病理特征与 BRAFV600E 基因突变的相关性中得出相关结论,认为当颈部出现异常淋巴结时更容易发生 BRAFV600E 基因突变^[15,17]。王国涛等^[16]对中央区及颈侧区淋巴结转移分析统计后表明,仅中央区淋巴结转移与 BRAFV600E 基因突变有统计学意义。本研究通过对 208 例患者共 266 个结节进行单因素及多因素分析,结果显示颈部存在异常淋巴结为 BRAFV600E 基因突变的独立危险因素,但未对异常淋巴结进行中央区及侧颈区分区统计,且当样本结节为多发时,颈部存在异常淋巴结无法确定具体由哪一个结节引起,导致研究存在一定的局限性,之后的研究将对中央区淋巴结及侧颈区淋巴结分别统计并对单发结节与颈部淋巴结之间的关系做出统计。

Zhang 等^[13]提出微钙化是 PTC 患者 BRAFV600E 基因突变的危险因素,而郭荣荣等^[18]提出 BRAFV600E 基因突变和病灶与被膜分界不清有关,本研究通过单因素分析结果显示微钙化及与被膜分界不清与 BRAFV600E 基因突变存在一定的相关性,但在多因素统计结果中显示上述因素不能作为 BRAFV600E 基因突变的独立危险因素来预测基因突变情况,能否通过上述特征有效判断 BRAFV600E 基因突变,还需进一步证实。然而对于 BRAFV600E 基因与 PTC 超声声像图特征之间的关系也有学者认为超声特征与 BRAFV600E 基因突变无相关性,可以看出 BRAFV600E 基因突变与超声特征相关性的研究结论各有不同。由于本研究纳入的研究因素有限,仍不能对 BRAFV600E 基因突变的危险因素作出全面的表述,今后还需增

加研究因素并进行更深入的探讨。

综上所述,本研究认为年龄 ≤ 46.5 岁、结节边缘不光整、颈部存在异常淋巴结特征的患者更容易发生 BRAFV600E 基因突变,上述特征可以用来预测 BRAFV600E 基因突变情况,对临床诊疗及预后评估有一定的指导意义。

参考文献

- [1] Durante C, Grani G, Lamartina L, et al. The Diagnosis and Management of Thyroid Nodules: A Review[J]. JAMA, 2018, 319(9):914-924.
- [2] Huang M, Yan C, Wei H, et al. Clinicopathological characteristics and prognosis of thyroid cancer in northwest China: A population-based retrospective study of 2490 patients[J]. Thorac Cancer, 2018, 9(11):1453-1460.
- [3] Abdullah MI, Junit SM, Ng KL, et al. Papillary Thyroid Cancer: Genetic Alterations and Molecular Biomarker Investigations[J]. Int J Med Sci, 2019, 16(3):450-460.
- [4] Collet JF, Lacave R, Hugonin S, et al. BRAF V600E detection in cytological thyroid samples: A key component of the decision tree for surgical treatment of papillary thyroid carcinoma[J]. Head Neck, 2016, 38(7):1017-1021.
- [5] Jinih M, Foley N, Osho O, et al. BRAFV600E mutation as a predictor of thyroid malignancy in indeterminate nodules: A systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Surg Oncol, 2017, 43(7):1219-1227.
- [6] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer[J]. Thyroid, 2016, 26(1):1-133.
- [7] Jat MA. Comparison of surgeon-performed ultrasound-guided fine needle aspiration cytology with histopathological diagnosis of thyroid nodules[J]. Pak J Med Sci, 2019, 35(4):1003-1007.
- [8] 王丽蓉, 陈路增, 高莹, 等. 超声引导下甲状腺结节粗针穿刺活检与细针抽吸取材满意率比较[J]. 中国超声医学杂志, 2017, 33(3):199-202.
- [9] 中华医学会超声医学分会浅表器官和血管学组, 中国甲状腺与乳腺超声人工智能联盟. 2020 甲状腺结节超声恶性危险分层中国指南: C-TIRADS[J]. 中华超声影像学杂志, 2021, 30(3):185-200.
- [10] Kure S, Ishino K, Kudo M, et al. Incidence of BRAF V600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma: a single-institution experience[J]. J Int Med Res, 2019, 47(11):5560-5572.
- [11] Yan C, Huang M, Li X, et al. Relationship between BRAF V600E and clinical features in papillary thyroid carcinoma[J]. Endocr Connect, 2019, 8(7):988-996.

鼻黏膜瓣在鼻咽癌放疗后鼻咽颅底骨质裸露修复中的应用*

李峰¹ 蔡泽虹¹ 许卫华¹ 周慧¹ 麦颖达¹ 刘晓瑜¹ 潘文芳¹ 章诗富¹

[摘要] 目的:观察鼻黏膜瓣在鼻咽癌放疗后鼻咽颅底骨质裸露修复中的效果,为鼻黏膜瓣在放疗后颅底骨质裸露中的修复提供依据。方法:回顾性分析 8 例行鼻内镜下鼻黏膜瓣修复鼻咽颅底骨质缺损或裸露的患者资料,术后随访黏膜瓣存活情况、骨质缺损或裸露处黏膜上皮化情况,以及患者主要临床症状改善和并发症情况。结果:除 1 例患者术后出现较严重的黏膜瓣坏死、骨质裸露,余 7 例患者黏膜瓣存活且鼻咽部黏膜上皮恢复良好。术后大部分患者头痛、鼻臭等临床症状较术前改善。结论:鼻黏膜瓣是一种安全和微创的自体材料,具有较好的生物相容性,在修复放疗后鼻咽颅底骨质缺损或裸露中具有良好的应用前景,值得临床推广。

[关键词] 鼻咽肿瘤;鼻黏膜瓣;修复外科手术

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2021.10.014

[中图分类号] R739.63 **[文献标志码]** A

Clinical application of nasal mucosa flap in the repair of nasopharyngeal skull base bone exposure after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma

LI Feng CAI Zehong XU Weihua ZHOU Hui MAI Yingda LIU Xiaoyu
PAN Wenfang ZHANG Shifu

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Guangzhou, 524001, China)

Corresponding author: ZHANG Shifu, E-mail: zhshifu@gdmu.edu.cn

Abstract Objective: To observe the effect of nasal mucosa flap in the repair of nasopharyngeal skull base bone exposure after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma, and to provide a basis for the repair with nasal mucosa flap in skull base bone exposure after radiotherapy. **Methods:** The clinical data of 8 patients who underwent nasal endoscopic surgery were analyzed retrospectively. The survival of mucosal flap, the mucosal epithelialization of bone defect or exposed site, the improvement of main clinical symptoms and complications were followed up after operation. **Results:** Severe mucosal flap necrosis and bone exposure occurred in 1 case after operation, in the other 7 cases, the mucosal flap survived and the mucosal epithelium of nasopharynx recovered well. After operation, most of the patients' clinical symptoms such as headache and nasal odor were improved compared with those before operation. **Conclusion:** Nasal mucosal flap is a safe and minimally invasive autogenous material with good biocompatibility. It has a good application prospect in repairing bone defect or exposure of nasopharyngeal skull base after radiotherapy and is worth popularizing in clinic.

Key words nasopharyngeal neoplasms; nasal mucosal flap; reconstructive surgical procedures

*基金项目:广东省社会发展项目(No:21101k01101)

¹广东医科大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科(广州,524001)

通信作者:章诗富,E-mail:zhshifu@gdmu.edu.cn

[12] 王成晨,向大鹏,李志宇. 甲状腺乳头状癌相关基因突变与其临床病理特征的关系[J]. 实用肿瘤杂志, 2019,34(3):239-244.

[13] Zhang Q, Liu BJ, Ren WW, et al. Association between BRAF V600E Mutation and Ultrasound Features in Papillary Thyroid Carcinoma Patients with and without Hashimoto's Thyroiditis[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4899.

[14] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[15] Chen B, Zhang Z, Wang K, et al. Association of BRAFV600E mutation with ultrasonographic features

and clinicopathologic characteristics of papillary thyroid microcarcinoma: A retrospective study of 116 cases[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2019, 73(4): 545-552.

[16] 王国涛,黎燕,梁瑾瑜,等. 甲状腺乳头状癌 BRAF V600E 基因突变与临床及超声特征的相关性研究[J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(4): 376-379.

[17] 单云云,彭梅,张新书,等. 甲状腺乳头状癌中 BRAF^{V600E} 基因突变与超声声像图的相关性研究[J]. 中国超声医学杂志, 2017, 33(10): 868-870.

[18] 郭荣荣,郭江红,兰慧娟,等. 甲状腺癌超声特征与 BRAF V600E 基因突变相关性分析[J]. 肿瘤研究与临床, 2020, 32(9): 622-627.

(收稿日期:2021-07-17)