

常规超声特征及 BRAFV600E 基因突变与甲状腺乳头状癌中央区淋巴结转移的相关性

张洁¹ 冯艳红¹ 何秀丽¹ 柏沁汶¹ 吕阳¹ 孙可敏² 祁明¹

[摘要] **目的:**探讨甲状腺乳头状癌(PTC)中央区淋巴结转移(CLNM)与原发性灶常规超声特征及 BRAFV600E 基因突变的相关性。**方法:**收集 2019 年 10 月—2021 年 6 月经锦州医科大学附属第一医院手术病理确定为 PTC 并行中央区淋巴结清扫术的 300 例患者,根据中央区淋巴结是否发生转移分为转移组与非转移组,通过对两组患者原发病灶的常规超声特征及 BRAFV600E 基因检测结果分析确定其相关性。**结果:**300 例 PTC 患者中,120 例(40%)发生 CLNM。单因素分析结果显示:性别、最大径线、病灶数、边界、形态、纵横比、靠近被膜、钙化及 BRAFV600E 基因突变的组间差异有统计学意义($P < 0.05$);Logistic 多因素回归分析结果显示:性别、最大径线、纵横比、靠近被膜、微钙化及 BRAFV600E 为 PTC 患者 CLNM 的危险因素($P < 0.05$)。ROC 曲线显示:当最大径为 8.5 mm 时,约登指数为最大值。**结论:**当 PTC 患者出现男性、最大径 ≥ 8.5 mm、纵横比 ≥ 1 、微钙化、病灶靠近被膜及 BRAFV600E(+)的危险因素时,应高度重视,尽早行预防性中央区淋巴结清扫。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;BRAFV600E 基因;淋巴结转移;超声特征

DOI:10.13201/j.issn.2096-7993.2022.03.006

[中图分类号] R736.1 **[文献标志码]** A

Correlation between conventional ultrasound features and BRAFV600E gene mutation and central lymph node metastasis in thyroid papillary carcinoma

ZHANG Jie¹ FENG Yanhong¹ HE Xiuli¹ BAI Qinwen¹ LV Yang¹
SUN Kemin² QI Ming¹

(¹Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, 121000, China; ² Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Nanchang University)

Corresponding author: FENG Yanhong, E-mail: 13704067100@163.com

Abstract Objective: To investigate whether central lymph node metastasis(CLNM) in the central region of thyroid papillary carcinoma (PTC) is related to conventional ultrasound features of the primary lesion and BRAFV600E gene mutation. **Methods:** A total of 300 patients with PTC confirmed by surgical pathology and central lymph node dissection in the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University from October 2019 to June 2021 were collected. The subjects were divided into the metastatic group and the non-metastatic group according to whether CLNM occurred. The correlation was determined by analyzing the conventional ultrasound characteristics and BRAFV600E gene test results of the two groups of patients. **Results:** Among 300 PTC patients, 120(40%) had CLNM. Univariate analysis showed that there were statistically significant differences between groups in gender, nodule maximum diameter line, number of lesions, boundaries, morphology, aspect ratio, proximity to the membrane, calcification and BRAFV600E gene mutation($P < 0.05$). Logistic multivariate

¹锦州医科大学附属第一医院超声科(辽宁锦州,121000)

²南昌大学第一附属医院超声科

通信作者:冯艳红,E-mail:13704067100@163.com

- [8] 郭亿莲,孙一帆,张丽娟,等.中耳共振频率测试在儿童分泌性中耳炎诊断中的意义[J].广东医学,2012,33(16):2452-2454.
- [9] Kim SY, Han JJ, Oh SH, et al. Differentiating among conductive hearing loss conditions with wideband tympanometry[J]. Auris Nasus Larynx, 2019, 46(1): 43-49.
- [10] Voss SE, Horton NJ, Woodbury RR, et al. Sources of variability in reflectance measurements on normal cadaver ears[J]. Ear Hear, 2008, 29(4): 651-665.
- [11] Merchant GR, Al-Salim S, Tempero RM, et al. Improving the Differential Diagnosis of Otitis Media With Effusion Using Wideband Acoustic Immittance[J]. Ear Hear, 2021, 42(5): 1183-1194.
- [12] Feeney MP, Grant IL, Marrayott LP. Wideband energy reflectance measurements in adults with middle-ear disorders[J]. J Speech Lang Hear Res, 2003, 46(4): 901-911.
- [13] 盛海斌,周嵌,李海峰,等.低龄儿童分泌性中耳炎宽频声导抗特点及临床意义[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2021,56(6):579-585.

(收稿日期:2021-10-17)

regression analysis showed that gender, maximum diameter line, aspect ratio, proximity to the membrane, microcalcification and BRAFV600E were the risk factors for CLNM in PTC patients ($P < 0.05$). ROC curve showed that when the maximum diameter was 8.5 mm, the Youden index was the maximum. **Conclusion:** When the risk factors of male, maximum diameter ≥ 8.5 mm, aspect ratio ≥ 1 , microcalcification, proximity to capsule and BRAFV600E(+) appear in PTC patients, high attention should be paid to preventive CLN dissection as soon as possible.

Key words papillary thyroid carcinoma; BRAFV600E genes; lymph node metastasis; sonographic features

甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤,患病率逐年上升,其中甲状腺乳头状癌(PTC)是分化型甲状腺恶性肿瘤中最常见的组织学类型。PTC的一个关键特征是它能够侵入淋巴等邻近结构,大约10%的患者在最初表现时可能出现淋巴结转移^[1]。而中央区是淋巴结转移的第一站也是最早和最易发生转移的路径,转移率为42.4%~68.2%^[2-4]。有研究指出,存在中央区淋巴结转移(central lymph node metastasis, CLNM)的PTC患者死亡率要高于未发生转移者,同时前者的局部复发率也远高于后者^[5]。Song等^[6]研究发现,在PTC患者中,中央区淋巴结复发率占总复发率的80%。故早期发现并预防清扫中央区淋巴结尤为重要。然而由于中央区淋巴结包含喉前、气管前和气管旁淋巴结,受气管和食管阻碍,CLNM超声检查不易查出,增加了诊断的难度。但是,有多项研究证实,PTC患者CLNM与BRAFV600E基因突变有密切关系,BRAFV600E基因突变是PTC最常见的分子遗传学改变,与肿瘤侵袭能力强和淋巴结转移等不良预后密切相关^[7]。本研究旨在确定BRAFV600E基因及常规超声特征与CLNM是否具有相关性,从而为临床确定治疗方式提供可靠依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2019年10月—2021年6月在锦州医科大学附属第一医院经手术病理确定为PTC并行预防性中央区淋巴结清扫术及术前均行BRAFV600E基因分子检测的患者300例,其中男69例,女231例;年龄21~69岁。纳入标准:①术前在本院行常规超声检查;②术前行BRAFV600E基因检测;③术中行颈部中央区淋巴结清扫术;④术后病理证实为PTC。排除标准:①其他恶性肿瘤继发颈部CLNM者;②有头颈部放疗史;③资料不完善、未能确诊为PTC或是未行中央区淋巴结清扫术者。

1.2 研究方法

1.2.1 超声检查 术前超声检查使用GE Logiq E7、GE Logiq E9超声诊断仪,选择浅表器官模式下频率为5~13 MHz的线阵探头,嘱患者平卧位,头后仰,充分暴露颈前区,然后对甲状腺腺体进行整体常规扫查,对目标病灶行多切面探查并记录超声图像特征,包括结节大小(最大径线)、位置(上极、中极、下极、峡部)、是否靠近被膜、边界(是否清

晰)、形态(是否规则)、纵横比(≥ 1 或 < 1)、内回声情况(极低回声、低回声、等回声等)、是否伴钙化以及钙化形态(砂砾样钙化、粗钙化等)、是否合并桥本病。

1.2.2 基因检测 在患者了解并签署知情同意书的前提下,对纳入研究的300例患者术前行超声引导下细针穿刺活检,用C7型吸引活检针对目标病灶进行细胞学取样,并进行BRAFV600E基因检测;按照肿瘤相关基因突变检测人B-raf试剂盒说明,采取PCR扩增的方法,利用实时荧光Taqman探针法,通过观察荧光信号的变化,检测BRAFV600E基因是否发生突变。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0统计学软件,首先对上述超声特征及BRAFV600E基因进行单因素分析筛选出具有统计学意义的危险因素;连续性变量(如年龄、最大径线)用独立样本 t 检验,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料(如病灶数、性别等)用卡方检验,结果用百分比表示;然后将筛选出的危险因素进行多因素Logistic回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;最后对有统计学意义的计量危险因素绘制ROC曲线,确定诊断截点。

2 结果

2.1 单因素分析

300例患者中,120例(40%)发生CLNM(图1、2),转移组与非转移组的性别、最大径线、病灶数、边界、形态、纵横比、靠近被膜、钙化及BRAFV600E基因突变的组间差异有统计学意义($P < 0.05$),而年龄、结节位置、内回声以及是否合并桥本病差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

2.2 多因素分析

对有统计学意义的上述危险因素进行Logistic多因素回归分析(表2):性别、最大径线、纵横比、微钙化、靠近被膜及BRAFV600E为CLNM的危险因素($P < 0.05$)。

2.3 ROC曲线

绘制结节最大径线的ROC曲线,最大径线的诊断截点为8.5 mm,当最大径为8.5 mm时,约登指数为最大值(0.331),曲线下面积(AUC)为0.691(95%CI 0.629~0.753),敏感度及特异度分别为62.5%和70.6%(图3)。

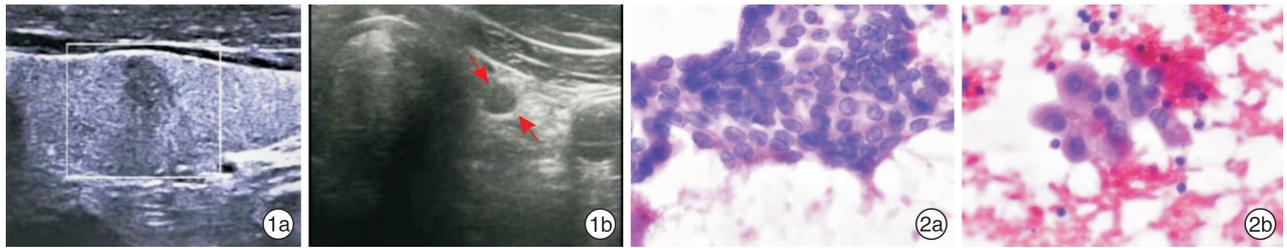


图 1 发生 CLNM 的 PTC 患者超声图像 1a: 34 岁男性患者二维超声检查示甲状腺左叶低回声实性结节, 大小 0.8 cm×0.7 cm, 形态欠规则, 边界不清, 纵横比>1, 靠近前方包膜, 结节内见微小钙化; 1b: 横切面所示中央区异常淋巴结回声(箭头所示); 图 2 发生 CLNM 的 PTC 患者病理图片(苏木精-伊红染色×400) 2a: 病理提示为 PTC, BRAFV600E(+); 2b: 病理提示为中央区淋巴结转移癌。

表 1 300 例 PTC 患者常规超声特征及 BRAFV600E 基因突变与 CLNM 的单因素分析

研究因素	转移组 (n=120)	非转移组 (n=180)	χ^2/t	P 值	研究因素	转移组 (n=120)	非转移组 (n=180)	χ^2/t	P 值
年龄/岁	44±12	47±10	1.865	>0.05	纵横比			4.504	<0.05
性别			10.192	<0.01	≥1	90(44.1)	114(55.9)		
男	39(56.5)	30(43.5)			<1	30(31.2)	66(68.8)		
女	81(35.1)	150(64.9)			钙化			43.637	<0.01
结节数目			10.133	<0.01	无钙化	33(23.9)	105(76.1)		
单发	69(33.8)	135(66.2)			微钙化	64(53.3)	56(46.7)		
多发	51(53.1)	45(46.9)			粗钙化	10(34.5)	19(65.5)		
最大径线/mm	11.4±7.9	7.5±4.3	4.922	<0.01	微-粗钙化	13(100.0)	0(0.0)		
内回声			6.623	>0.05	位置			1.753	>0.05
极低回声	7(46.7)	8(53.3)			上极	26(35.1)	48(64.9)		
低回声	102(38.5)	163(61.5)			中极	37(38.5)	59(61.5)		
等回声	7(43.8)	9(56.2)			下极	46(44.7)	57(55.3)		
强弱不均	4(100.0)	0(0.0)			峡部	11(40.7)	16(59.3)		
边界			6.001	<0.05	合并桥本病			3.172	>0.05
清	25(29.1)	61(70.9)			是	17(54.8)	14(45.2)		
不清	95(44.4)	119(55.6)			否	103(38.3)	166(61.7)		
形态			4.792	<0.05	BRAFV600E			15.137	<0.01
规整	26(30.2)	60(69.8)			阳性	97(47.5)	107(52.5)		
不规整	94(43.9)	120(56.1)			阴性	23(24.0)	73(76.0)		
靠近被膜			46.808	<0.01					
是	76(63.9)	43(36.1)							
否	44(24.3)	137(75.7)							

表 2 多因素 Logistic 回归分析 CLNM 的危险因素

研究因素	回归系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值	95%CI
性别	0.766	0.352	4.742	<0.05	2.152	1.080~4.289
最大径线	0.086	0.033	6.874	<0.01	0.918	0.861~0.979
病灶数	0.515	0.328	2.467	>0.05	0.597	0.314~1.136
边界	0.194	0.351	0.307	>0.05	0.823	0.414~1.637
形态	0.033	0.359	0.008	>0.05	1.034	0.511~2.090
纵横比	0.822	0.350	5.517	<0.05	2.275	1.146~4.515
靠近被膜	1.508	0.310	23.617	<0.01	4.518	2.459~8.301
BRAFV600E	0.794	0.340	5.445	<0.05	2.212	1.135~4.308
微钙化	1.099	0.325	11.440	<0.01	0.333	0.176~0.630

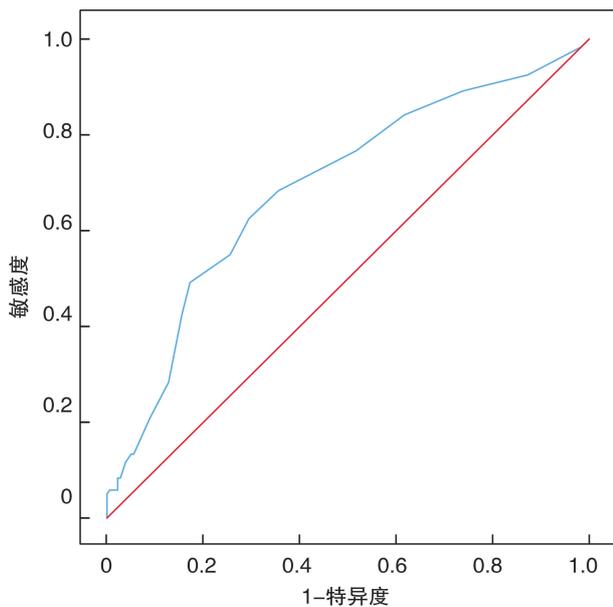


图3 结节最大径线的 ROC 曲线

3 讨论

CLNM 对 PTC 患者的死亡率及复发率有重要影响,对发生 CLNM 的 PTC 患者尽早采取合理的治疗方案至关重要。既往,临床诊断有无 CLNM 主要通过手术病理检查,该方法虽然准确,但这种侵入式有创检查对患者身体损伤比较大,不宜反复检查确诊。循证医学研究表明^[8], BRAFV600E 突变与 PTC 患者的 CLNM 呈明显正相关,其诊断敏感度高达 81.5%。另有研究证实应用超声检查对 PTC 的诊断及评估具有较高的临床价值^[9],且高频超声作为甲状腺疾病的首选检查方法,操作过程无创、无辐射且方便快捷,并可提供 PTC 原发病灶的多种超声特征。

BRAFV600E 基因突变是 PTC 特有的遗传学改变,其编码的 RAS/RAF/MEK/细胞外调节蛋白激酶是参与调节细胞生长、增殖的关键成分, BRAFV600E 基因突变可显著提高 PTC 患者 CLNM 的发生率^[8,10]。然而, BRAFV600E 基因突变对诊断 PTC 患者 CLNM 是否同样存在特异性?有学者研究认为该基因与 PTC 患者颈部淋巴结的转移无相关性^[11]。而本研究结果显示发生基因突变的转移率(47.5%)大于未发生基因突变的转移率(24.0%),且 $P < 0.05$,即 BRAFV600E 基因突变是 CLNM 的危险因素。

Shu 等^[12]认为性别为 PTC 患者 CLNM 的独立预测因素,男性转移率远高于女性,而本研究也同样显示男性的转移率(56.5%)高于女性(35.1%),这与男性的基础代谢率高于女性有关。很多研究都指出,肿块大小是影响转移的重要危险

因素,原发灶直径能够在一定程度上反映 PTC 的浸润侵袭能力,肿瘤最大径越大,向周围侵犯转移的风险越大。詹玲等^[13]认为直径 > 10 mm 是 PTC 患者发生 CLNM 的危险因素;而王欢等^[14]认为肿瘤直径 ≥ 6.5 mm 更易发生 CLNM。本研究通过 ROC 曲线得出,当病灶的最大径线 ≥ 8.5 mm 时,中央区淋巴结的转移率会增加。造成这种诊断截点差异的原因应该与样本容量有关,各研究纳入的病例数不同,得到的诊断截点也不相同。

当前国内外学者一致认为,钙化是超声诊断甲状腺癌恶性程度的特异性指标^[15],恶性结节由于肿瘤细胞生长速度过快,导致结节内纤维组织及血管过度增生形成钙盐沉积进而出现钙化。而在本研究中,单因素分析也证实钙化具有统计学意义,但是继续对钙化进行分类(粗钙化、微钙化或是微-粗钙化),最终得出只有当结节伴有微钙化时,中央区淋巴结的转移率显著增加,而伴有粗大钙化并无统计学意义。粗钙化一般提示为良性结节,这可能是因为粗钙化是发生了营养不良性纤维结缔组织增生引发的,故不具有恶性转移侵袭倾向。另外,庄玲玲^[5]提出钙化在结节内的位置(中央型、周围型、混合型)也是评估 PTC 淋巴结转移的危险因素,这也是本研究以后需要进一步分析完善的内容。

以往的研究中,很多学者往往忽视了将病灶是否靠近被膜列为观察指标。有研究报道,PTC 原发病灶位置与颈淋巴结跳跃式转移有关,可影响颈淋巴结转移率^[16]。傅迎霞等^[17]研究认为当病灶接触被膜时,应高度怀疑 PTC 颈区淋巴结转移。本研究得出两组间靠近被膜的转移率(63.9%)远高于未靠近被膜(24.3%),差异有统计学意义($P < 0.01$)。PTC 恶性度增加时癌细胞分裂越来越快,侵袭力越来越强,会向被膜外侵袭,故更易侵犯淋巴结。

结节纵横比 ≥ 1 是 TI-RADS 系统中评估结节恶性程度的指标之一,对于纵横比 ≥ 1 的结节,其前后径大于上下径或左右径。有学者从病理学角度分析,可能是 PTC 早期,癌细胞在不同方向分裂状态不同,其前后方向生长的癌细胞比其他方向处于相对静止状态的癌细胞更活跃,故更易向前、向后侵袭中央区淋巴结。本研究也证实纵横比 ≥ 1 的 PTC 患者中央区淋巴结的转移率更高。

关于年龄问题的研究,有学者认为年龄 > 45 岁为高危因素,宜行淋巴结清扫术。而罗杰等^[18]则认为青壮年更易发生淋巴结转移。而本研究结果显示转移组与非转移组的年龄因素无统计学意义($P > 0.05$)。年长者可能因为免疫功能低下而

发生转移,而年轻者代谢旺盛,肿瘤细胞增殖较快,亦可能侵犯淋巴。因此年龄问题是不是 CLNM 的危险因素以及年龄诊断截点的确定,还需进一步求证。

关于边界、形态以及内回声因素,有研究认为形态不规则、边界模糊、结节呈低回声与淋巴结转移有关,而本研究分析均得出 $P > 0.05$,并无统计学意义。PTC 表现为低回声与其肿瘤细胞丰富以及间质成分相对较少有关,与淋巴结转移并无相关。而不同时期的病灶随着病程的发展其边界表现也不同,再者,医生对边界及形态的评估也具有主观意识,而结节回声高低的判断也受超声仪器的影响,故结节边界模糊和形态不规则并不能作为可靠的评估指标。

综上所述,本研究认为当患者为男性、最大径线 $> 8.5 \text{ mm}$ 、纵横比 ≥ 1 、病灶靠近被膜、伴有微钙化以及 BRAFV600E(+)时,更易发生 CLNM,上述特征可以用来预测 CLNM 情况,对临床早期诊断、制定最佳治疗方案以及评估预后有一定的指导意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Erickson LA, Chen B. Papillary Thyroid Carcinoma BRAF Immunopositivity[J]. Mayo Clin Proc, 2021, 96(1):267-268.
- [2] Yuan J, Li J, Chen X, et al. Identification of risk factors of central lymph node metastasis and evaluation of the effect of prophylactic central neck dissection on migration of staging and risk stratification in patients with clinically node-negative papillary thyroid microcarcinoma[J]. Bull Cancer, 2017, 104(6):516-523.
- [3] 李云雪,王刚,孙备,等. 甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的处理态度和诊疗现状[J]. 实用肿瘤学杂志, 2020, 34(6):530-534.
- [4] Hu D, Zhou J, He W, et al. Risk factors of lateral lymph node metastasis in cN0 papillary thyroid carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2018, 16(1):30.
- [5] 庄玲玲. 声像图所示甲状腺恶性结节钙化特点与组织病理类型分析[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35(8):1271-1273.
- [6] Song L, Zhou J, Chen W, et al. Lymph node metastasis between the sternocleidomastoid and sternohyoid muscle in papillary thyroid carcinoma patients: A prospective study at multiple centers[J]. Asian J Surg, 2021, 44(8):1043-1049.
- [7] Zong S, Wang J, Wang Y, et al. Retrospective analysis of BRAFV600E gene mutation in 179 patients with papillary thyroid carcinoma [J]. J Modern Oncol, 2017, 25(13):2052-2054.
- [8] 江晶晶, 王建华, 丁文波, 等. FNAC 联合 BRAFV600E 基因检测对甲状腺癌颈部淋巴结转移的诊断价值[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2018, 25(9):1083-1086.
- [9] Kim BY, Choi N, Kim SW, et al. Randomized trial of prophylactic ipsilateral central lymph node dissection in patients with clinically node negative papillary thyroid microcarcinoma[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2020, 277(2):569-576.
- [10] 孙可敏, 何秀丽, 郭玲玲. 甲状腺微小乳头状癌临床及超声特征与中央区淋巴结转移的危险因素[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2021, 35(3):260-263.
- [11] 兰雨, 宋青, 金壮, 等. 常规超声特征及 BRAFV600E 基因突变与甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的相关性[J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(9):747-752.
- [12] Shu X, Tang L, Hu D, et al. Prediction Model of Pathologic Central Lymph Node Negativity in cN0 Papillary Thyroid Carcinoma [J]. Front Oncol, 2021, 11:727984.
- [13] 詹玲, 孙圣荣. BRAF^{V600E} 基因突变与甲状腺乳头状癌腺外侵犯的相关性[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2021, 28(9):1159-1164.
- [14] 王欢, 柴芳, 林本瑞, 等. 合并桥本甲状腺炎的甲状腺乳头状癌中央区淋巴结转移的危险因素[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(7):1396-1399.
- [15] 李建聪, 梁荣华, 吴堂珍. 甲状腺钙化病灶在鉴别甲状腺良恶性结节中的作用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(35):15-16.
- [16] 陈名正, 符尚宏, 王雪峰, 等. 单发乳头状甲状腺癌患者侧颈淋巴结转移风险影响因素及与术前超声关系[J]. 临床军医杂志, 2021, 49(2):151-152.
- [17] 傅迎霞, 张羽, 朱红, 等. 甲状腺乳头状癌颈侧区淋巴结转移的危险因素及影像诊断价值评估[J]. 医学影像学杂志, 2021, 31(8):1287-1292.
- [18] 罗杰, 耿成义, 罗斌. 单侧甲状腺乳头状癌颈部中央区淋巴结转移的临床特点及影响因素[J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(9):704-707.

(收稿日期:2021-10-27)