

超声引导下细针抽吸细胞学检查联合 BRAF^{V600E} 基因检测诊断甲状腺微小乳头状癌的价值

胡加银 陈潇 何霖 程伟 杜鹏 吴林容 樊俊 张哲 李陶

摘要 目的 探讨超声引导下细针抽吸细胞学检查(FNAC)联合 BRAF^{V600E} 基因检测对甲状腺微小乳头状癌(PTMC)的术前诊断价值。**方法** 选取我院经手术病理确诊的 PTMC 患者 126 例,共计 126 个结节,按结节二维超声所测最大径分为 ≤5 mm 组 31 个,5~10 mm 组 95 个,比较两组 FNAC、BRAF^{V600E} 基因检测诊断结果,分析二者联合诊断价值。**结果** 5~10 mm 组 FNAC 的诊断准确率(86.32%)明显高于 ≤5 mm 组(58.06%),两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);5~10 mm 组与 ≤5 mm 组 BRAF^{V600E} 基因突变率分别为 92.63%、90.32%,两组比较差异无统计学意义;FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测诊断 ≤5 mm 组、5~10 mm 组的准确率分别为 93.54%、97.78%,均明显高于单独 FNAC 诊断,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测可提高 PTMC 术前诊断准确率,且对 5~10 mm PTMC 诊断准确率更高。

关键词 超声引导;细针穿刺;细针抽吸细胞学检查;甲状腺微小乳头状癌;BRAF^{V600E} 基因
[中图分类号]R445.1;R736.1 [文献标识码]A

Value of ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology combined with BRAF^{V600E} gene detection in the diagnosis of papillary thyroid microcarcinoma

HU Jiayin, CHEN Xiao, HE Lin, CHEN Wei, DU Peng, WU Linrong, FAN Jun, ZHANG Zhe, LI Tao
Department of Ultrasound, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China

ABSTRACT Objective To investigate the value of preoperative ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology (FNAC) combined with BRAF^{V600E} gene detection in the diagnosis of papillary thyroid microcarcinoma (PTMC). **Methods** A total of 126 nodules were selected from 126 patients with PTMC diagnosed by surgery and pathology in our hospital. According to the nodule maximum diameter measured by two-dimensional ultrasound, there were 31 nodules in the ≤5 mm group and 95 nodules in the 5~10 mm group. The results of FNAC and BRAF^{V600E} gene detection were compared between the two groups. The value of FNAC combined with BRAF^{V600E} gene detection in the diagnosis of PTMC was analyzed. **Results** The diagnostic accuracy of FNAC in the 5~10 mm group (86.32%) was significantly higher than that in the ≤5 mm group (58.06%), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The BRAF^{V600E} gene mutation rate in 5~10 mm group (92.63%) was higher than that in the ≤5 mm group (90.32%), and the difference was not statistically significant. The diagnostic accuracy of FNAC combined with BRAF^{V600E} gene detection in the ≤5 mm group and 5~10 mm group were 93.54% and 97.78%, respectively, which were significantly higher than that of FNAC, and the differences were statistically significant (both $P < 0.05$). **Conclusion** FNAC combined with BRAF^{V600E} gene detection can improve the diagnostic accuracy of PTMC, and the diagnostic accuracy of 5~10 mm PTMC is higher.

KEY WORDS Ultrasound-guided; Fine needle aspiration; Fine needle aspiration cytology; Papillary thyroid microcarcinoma; BRAF^{V600E} gene

甲状腺微小乳头状癌(papillary thyroid microcarcinoma, PTMC)是指肿瘤术后病理测量最大径≤10 mm的甲状腺乳头状癌^[1]。随着医疗水平提高及健康意识的增强,越来越多的无症

甲状腺结节被发现,甲状腺癌发病率呈较快增长,2014年WHO公布的全球癌症报告指出,甲状腺癌新发病例中超过50%为PTMC^[2]。美国临床内分泌医师协会(AACE)^[3]提出甲

基金项目:重庆市技术创新与应用示范社会民生类一般项目(cstc2018jcsx-msybX0018);重庆市课题(CSTC2015YFPT-gcjsyjzx0175)

作者单位:400042 重庆市,陆军军医大学大坪医院超声科(胡加银、陈潇、何霖、程伟、杜鹏、吴林容、李陶),乳腺甲状腺外科(樊俊、张哲)

通讯作者:李陶,Email:taoli39@163.com

甲状腺结节的处理意见以超声引导下细针抽吸细胞学检查 (fine needle aspiration cytology, FNAC) 结果为依据, 是术前鉴别甲状腺良恶性结节敏感性和特异性最高的方法, 但由于细胞病理学诊断的局限性, 如穿刺标本数量较少、染色不佳、细胞过于重叠、血细胞及杂质成分过多, 均可能导致穿刺假阴性、意义不能明确或可疑恶性, 仍有 10%~40% 难以确定其性质, 临床处理相对困难。PTMC 细针抽吸直径标准目前存在争议, FNAC 对不同大小分层结节的诊断效能不同。本研究通过回顾性分析我院经手术证实的 126 例 PTMC 患者的资料, 同时根据 PTMC 大小进行分组, 旨在探讨 FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测对其术前诊断价值。

资料与方法

一、临床资料

选取 2018 年 5 月至 2019 年 10 月我院经手术病理确诊的 PTMC 患者 126 例, 其中单发结节患者 71 例, 多发结节患者 55 例, 多发结节患者选取二维超声恶性风险最高者作为 FNAC 目标结节, 共计 126 个结节, 依据二维超声所测最大径分为 ≤5 mm 组 31 例 (31 个), 男 9 例, 女 22 例, 年龄 21~64 岁, 中位年龄 40.1 岁; 5~10 mm 组 95 例 (95 个), 男 26 例, 女 69 例, 年龄 23~65 岁, 中位年龄 42.2 岁, 纳入标准: ①患者首次行甲状腺手术; ②结节二维超声最大径 ≤10 mm; ③临床资料完整。排除 PTMC 以外的其他微小癌或临床资料不全者。本研究经我院医学伦理委员会批准, 所有患者均知情同意。

二、仪器与方法

1. 超声引导下 FNAC: 使用 GE Logiq E 9 彩色多普勒超声诊断仪, ML6-15 探头, 频率 6~15 MHz。常规超声观察目标结节位置、内部及周边血流情况, 选择最优穿刺路径, 使用 2% 利多

卡因进行局部麻醉后, 用 22 G×5 cm 穿刺针 (日本八光) 在超声可视下刺入结节内, 退出针芯, 反复提拉及旋切约 10 次。每个结节常规穿刺 3 次, 穿刺液实时涂片 3~4 张并迅速用 95% 无水酒精进行固定。FNAC 病理结果遵循 2007 年美国国家癌症研究所推出的 Bethesda 系统^[4], 分为 6 种不同恶性风险类别诊断, 其中 V 类 (可疑恶性) 及 VI 类 (恶性) 为甲状腺癌。

2. 基因突变检测: 按照人类 BRAF 基因 V600 突变检测试剂盒说明书进行检测。将细针抽吸穿刺获取物中的条形物或固体成分迅速挑入基因检测液, 使用北京泛生子基因公司专利“一步法”技术进行建库, Life 测序平台 Intorrent/S5 进行测序。将 BRAF^{V600E} 突变定义为阳性突变。

3. FNAC、BRAF^{V600E} 联合诊断标准: FNAC 诊断为 V 类 (可疑恶性) 及 VI 类 (恶性) 或 BRAF^{V600E} 基因检测突变两项中任意一项或者两项同时为阳性诊断为恶性。

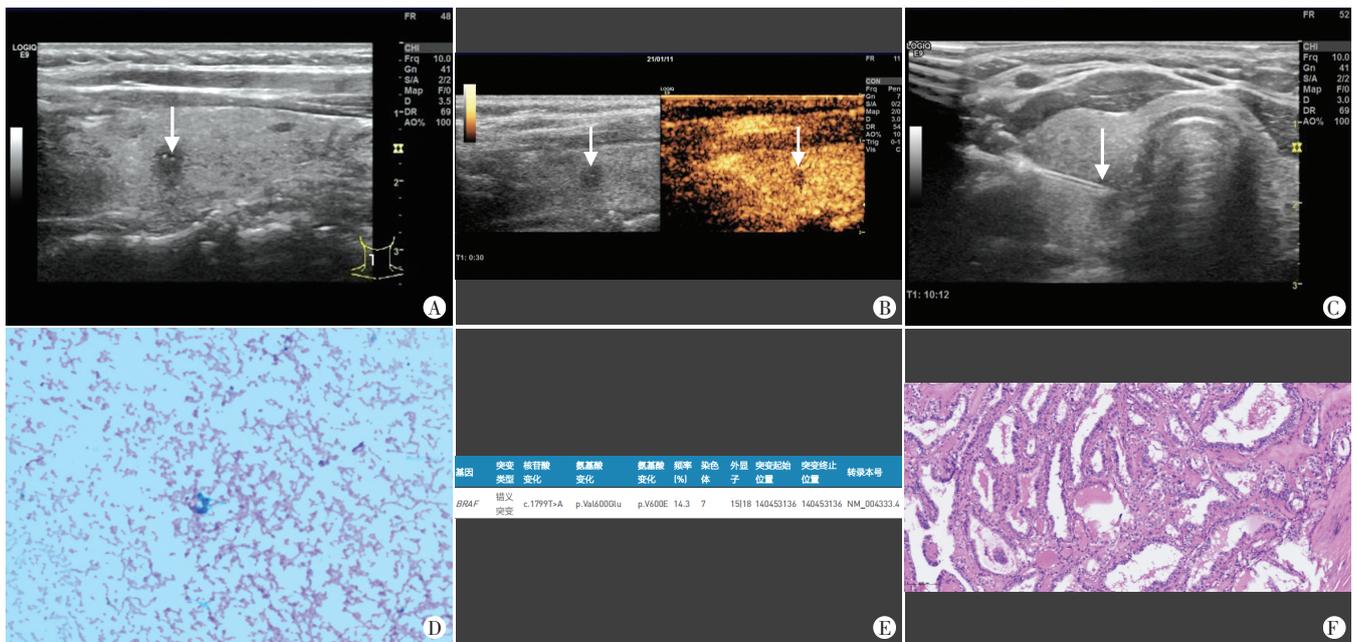
三、统计学处理

应用 SPSS 21.0 统计软件, 计数资料以例或率表示, 组间比较行 χ^2 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

结果

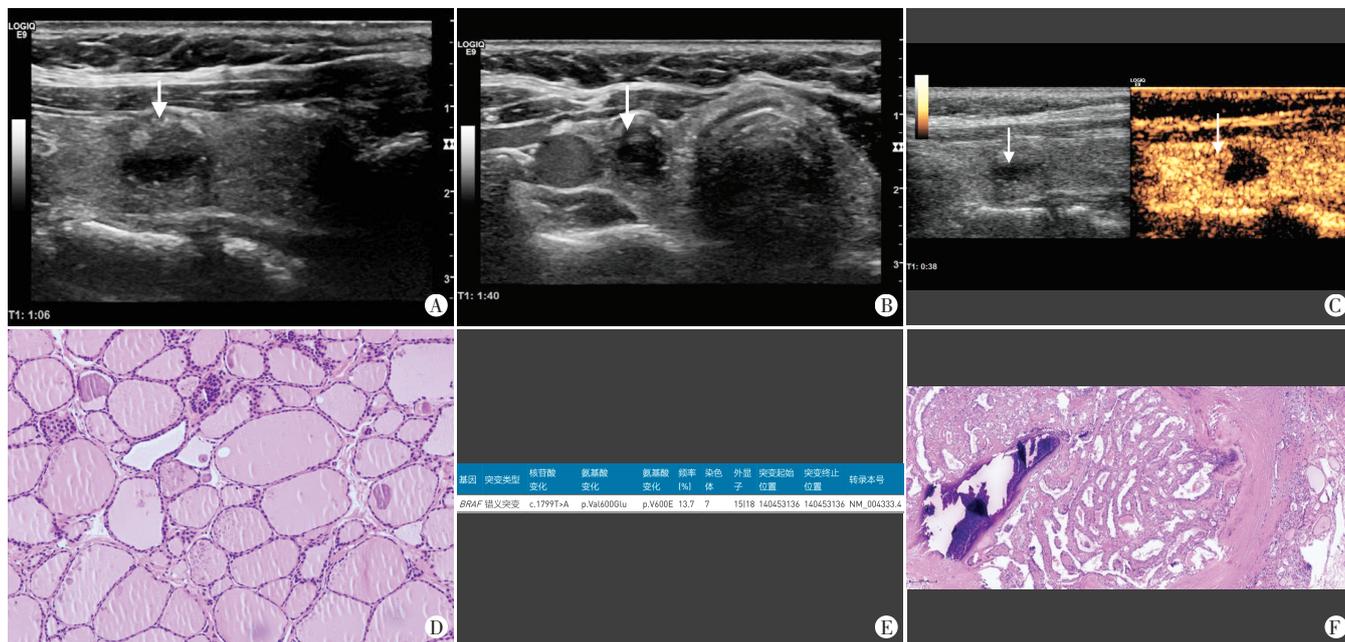
一、两组 FNAC 诊断准确率及基因突变率比较

126 个 PTMC 中, FNAC 结果中阳性 100 个 (79.37%); 不确定结节及误诊结节 26 个 (20.63%), 包括意义不明确 11 个, 标本不满意 11 个, 误诊为良性 4 个 (3.17%)。其中, ≤5 mm 组 31 个, 术前 FNAC 准确诊断 18 个; 5~10 mm 组 95 个, 术前 FNAC 准确诊断 82 个, 5~10 mm 组 FNAC 诊断准确率 (86.32%) 明显高于 ≤5 mm 组 (58.06%), 两组比较差异有统计学意义 (P<0.05)。≤5 mm 组与 5~10 mm 组 BRAF^{V600E} 基因突变率分别为 90.32%、92.63%, 两组比较差异无统计学意义。见图 1、2。



A: 甲状腺右侧叶低回声结节纵切面二维超声图 (箭头示), 结节大小约 4.8 mm×6.5 mm×5.5 mm; B: 超声造影示该低回声结节动脉相呈不均匀低增强 (箭头示); C: 超声引导下 FNAC 声像图 (箭头示穿刺针); D: FNAC 病理图示无法诊断 (HE 染色, ×200); E: 结节细针抽吸提取物基因检测示 BRAF^{V600E} 错义突变; F: 术后病理图 (HE 染色, ×200)

图 1 PTMC 患者 (女, 43 岁) 声像图、FNAC 病理图、基因检测结果及术后病理图



A、B: 甲状腺右侧叶囊实性结节纵切面(A)、横切面(B)二维超声图(箭头示结节实性区域);C: 超声造影示该囊实性结节边缘实性部分动脉相呈等增强(箭头示);D: FNAC病理图示意不明确病变(HE染色, ×100);E: 结节细针抽吸提取物基因检测示 BRAF^{V600E} 错义突变;F: 术后病理图(HE染色, ×200)

图2 囊实性PTMC患者(女, 38岁)声像图、FNAC病理图、基因检测结果及术后病理图

二、FNAC单独及联合 BRAF^{V600E} 对 PTMC 诊断结果比较

126 个 PTMC 中, FNAC 联合 BRAF^{V600E} 准确诊断 122 个 (96.83%), 均明显高于单独 FNAC 或 BRAF^{V600E} 诊断准确率 (均 $P < 0.05$); FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测诊断 ≤ 5 mm 组、5~10 mm 组的准确率分别为 93.54%、97.78%, 均明显高于 FNAC 单独诊断, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

讨 论

一、FNAC 在 PTMC 中的诊断价值

近年来, 随着 PTMC 发病率和检出率明显增高, 其诊治受到越来越多的关注。虽然近年甲状腺癌发病率急剧增加, 但其相关死亡率却无显著变化^[5], PTMC 过度诊断及过度治疗问题引起医学界广泛讨论。越来越多的观点支持对低危 PTMC (FNAC 提示非高侵袭性的未紧邻气管或喉返神经的 PTMC, 且无颈部淋巴结转移和全身转移证据) 采用积极监测的处置策略, 而非传统的手术切除^[6-7]。对于患者自身诊疗意愿强烈的高危 PTMC, FNAC 因其安全、微创、方便、经济等优点成为目前国内外公认的甲状腺肿瘤微创诊断方法。但对于 PTMC 行穿刺活检的直径标准并未统一, 2016 年《甲状腺微小乳头状癌诊断与治疗专家共识》^[8] 推荐对直径 > 5 mm 的 PTMC 可行 FNAC, 建议在超声引导下进行。穿刺活检未能明确诊断的 Bethesda I 类及 III、IV 类患者必要时可于 3 个月后重复穿刺活检。以往文献^[9-11] 显示, ≤ 5 mm 组甲状腺结节 FNAC 诊断准确率为 74%~96%, 明显高于本研究 FNAC 诊断准确率 (58.06%), 分析原因可能为本研究纳入 ≤ 5 mm 组结节直径较小 (平均直径 3.8 mm) 及数量较少, 可能存在选择偏倚。本研究显示, ≤ 5 mm 组 FNAC 诊

断准确率 (58.06%) 明显低于 5~10 mm 组 (86.31%), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 表明结节越小, 诊断准确率越低。建议行 FNAC 前, 应根据患者需求、穿刺前超声评估及穿刺医师穿刺水平决定是否行细针穿刺, 尽量选择结节最大径 > 5 mm 结节进行穿刺。

二、基因检测可有效弥补 FNAC 的不足

由于 FNAC 易受结节小、钙化严重、囊实性结节实性成分少等诸多因素影响, 导致穿刺假阴性、意义不明确的情况较多。2015 年美国甲状腺协会 (ATA) 指南^[2] 推荐对可疑恶性的甲状腺结节受检者进行分子检测。2016 年 AACE 发布的《甲状腺结节诊断和管理的临床实践指南》^[3] 进一步提出经 FNAC 仍不能确定良恶性的甲状腺结节, 建议使用分子标志物进行辅助诊断。BRAF 基因突变是甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 最常见的分子标志物, BRAF 基因突变中的 98% 为 V600E 突变^[12], 研究^[13-14] 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; 且其联合 FNAC 可将活检准确率从 70.0% 提高到 85.3%, 而本研究中 FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因突变检测后 PTMC 术前诊断准确率从 79.37% 提高到 96.83%, 且 FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测诊断 ≤ 5 mm 组、5~10 mm 组的准确率分别为 93.54%、97.78%, 均明显高于 FNAC 单独诊断, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。提示 BRAF^{V600E} 基因检测可以作为这类结节术前的一种重要分子标志物, 有效弥补 FNAC 因穿刺标本量少、染色不佳、细胞过于重叠、血细胞及杂质成分过多导致病理结果出现较多假阴性及假阳性等诊断不足, 为指导临床选择最佳的治疗方案提供重要依据。本研究中 ≤ 5 mm 组及 5~10 mm 组

结节基因突变率分别为 90.32% 及 92.63%, 显著高于以往文献^[15-16]结果, 分析原因为本研究纳入病例均经 FNAC 及 BRAF^{V600E} 突变检测联合诊断, 较多 BRAF^{V600E} 基因检测为阳性病例选择了手术治疗, 而检测为阴性者因未采取积极措施被排除^[17]。

本研究中共 26 个 PTMC 术前 FNAC 未准确诊断, 分析原因为: ①其中 18 个结节偏小, 最大径 0.3~0.9 cm, 精确定位较难, 穿刺提取的有效细胞量不足, 对 FNAC 结果判读影响较大; ②5 个结节内部及边缘可见粗大钙化, 结节内部钙化严重, 穿刺获取的有效细胞量少, FNAC 诊断困难; ③3 个结节为囊实性结节, 结节实性回声呈偏心性分布, 实性部分较少导致穿刺标本中获取有效细胞量不足, 导致 FNAC 判读困难。在实际工作中细针抽吸穿刺液中条状物会影响涂片质量, 通常被舍弃, 本研究发现这些条形组织样本含有大量 DNA, 即使细胞学上细胞数量有限或无诊断意义, 但足以进行基因突变测试。本研究在 FNAC 诊断基础上联合 BRAF^{V600E} 基因检测, 提示其中 22 个结节发生基因突变。可见, FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测能显著提高结节的诊断准确率, 避免重复穿刺给患者带来的创伤, 同时也为临床决策提供了更多信息。

综上所述, FNAC 联合 BRAF^{V600E} 基因检测可提高 PTMC 的诊断准确率, 且对 5~10 mm PTMC 的诊断准确率更高。但本研究为回顾性分析, 且样本量较小, 可能存在选择性偏倚问题, 需今后更多研究的进一步探讨。

参考文献

- [1] Xu D, Lv X, Wang S, et al. Risk factors for predicting central lymphnode metastasis in papillary thyroid microcarcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(9):6199-6205.
- [2] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2016 (1): 1-133.
- [3] Gharib H, Papini E, Garber JR, et al. American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Associazione Medici Endocrinologi Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Management of Thyroid Nodules—2016 UPDATE [J]. *Endocr Pract*, 2016, 22(5):622-639.
- [4] Cibas ES, Ali SZ. NCI Thyroid FNA State of the Science Conference. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology [J]. *Am J Clin Pathol*, 2009, 132(5):658-665.
- [5] Li M, Dal Maso L, Vaccarella S. Global trends in thyroid cancer incidence and the impact of overdiagnosis [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(6):468-470.
- [6] Vaccarella S, Franceschi S, Bray F, et al. Worldwide thyroid-cancer epidemic? The increasing impact of overdiagnosis [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(7):614-617.
- [7] Zhou J, Yin L, Wei X, et al. 2020 Chinese guidelines for ultrasound malignancy risk stratification of thyroid nodules: the C-TIRADS [J]. *Endocrine*, 2020, 70(2):256-279.
- [8] 高明, 葛明华, 嵇庆海, 等. 甲状腺微小乳头状癌诊断与治疗中国专家共识(2016版) [J]. *中国肿瘤临床*, 2016, 43(10):405-411.
- [9] 周伟, 倪晓枫, 叶廷军, 等. 超声引导下小于 5 mm 甲状腺结节细针穿刺细胞学检查与超声评估的应用价值 [J]. *中国超声医学杂志*, 2014, 30(1):7-10.
- [10] 倪晓枫, 詹维伟, 宋琳琳, 等. 超声引导下细针穿刺抽吸活检诊断甲状腺结节 [J]. *中国介入影像与治疗学*, 2013, 10(8):461-464.
- [11] 袁华芳, 蒋天安, 赵齐羽, 等. 超声引导下细针穿刺细胞学检查对长径≤5 mm 甲状腺微小癌的诊断价值 [J]. *中国微创外科杂志*, 2016, 16(2):151-153.
- [12] Agrawal N, Akbani R, Ally A, et al. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma [J]. *Cell*, 2014, 159(3):676-690.
- [13] 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.
- [14] Zhao H, Zhang ZH, Zhou B, et al. Detection of BRAF c.1799T>A (p. V600E) mutation using residual routine fine-needle aspiration specimens of papillary thyroid carcinoma [J]. *Diagn Cytopathol*, 2015, 43(10):786-790.
- [15] Chen Y, Sadow PM, Suh H, et al. BRAF^{V600E} is correlated with recurrence of papillary thyroid microcarcinoma: a systematic review, multi-institutional primary data analysis, and Meta-analysis [J]. *Thyroid*, 2016, 26(2):248-255.
- [16] 章美武, 张燕, 范晓翔, 等. BRAF 基因突变与甲状腺微小乳头状癌生物学特性的关系 [J]. *数理医药学杂志*, 2018, 31(7):951-954.
- [17] 禹乐, 朱启淦, 温路生, 等. BRAF^{V600E} 基因突变与甲状腺微小乳头状癌临床病理特征的相关性 [J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(9):1214-1217.

(收稿日期: 2021-03-27)

免收稿件处理费的通知

为鼓励作者投稿, 简便投稿手续, 经我刊编委会讨论通过, 本刊免收文章稿件处理费。

本刊编辑部