

· 临床研究 ·

超声弹性成像联合多基因检测对细胞学结果不确定 甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值

施丽丹 强旭钊

摘 要 **目的** 探讨超声弹性成像联合多基因检测在细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性鉴别诊断中的价值。**方法** 选取 124 例经病理证实为细胞学结果不确定的甲状腺结节患者, 共计甲状腺结节 136 个(Bethesda Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ类), 其中恶性结节 91 个, 良性结节 45 个, 均行超声弹性成像检查和多基因检测, 分析两种方法检查结果与病理结果的一致性; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析超声弹性成像、多基因检测及两者联合对细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的鉴别诊断效能。**结果** 超声弹性成像准确检出 71 个甲状腺恶性结节和 26 个甲状腺良性结节, 多基因检测准确检出 78 个甲状腺恶性结节和 33 个甲状腺良性结节, 两种方法联合准确检出 87 个甲状腺恶性结节和 40 个甲状腺良性结节。124 例甲状腺结节患者多基因检测结果与病理结果的一致性 $Kappa$ 值为 0.587 ($P < 0.05$), 超声弹性成像检查结果与病理结果的一致性 $Kappa$ 值为 0.356 ($P < 0.001$), 两种方法联合与病理结果的一致性 $Kappa$ 值为 0.850 ($P < 0.001$)。ROC 曲线分析显示, 超声弹性成像、多基因检测及两者联合鉴别诊断细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的 AUC 分别为 0.651、0.804、0.896。多基因检测的 AUC 与超声弹性成像和两者联合比较, 差异均有统计学意义 ($Z=2.907, 2.190, P=0.002, 0.028$); 超声弹性成像的 AUC 与两者联合比较差异有统计学意义 ($Z=5.046, P < 0.001$)。**结论** 超声弹性成像联合多基因检测在细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的鉴别诊断中具有较好的临床应用价值。

关键词 超声弹性成像; 多基因检测; 细胞学结果不确定; 甲状腺结节, 良恶性

[中图法分类号] R445.1; R736.1

[文献标识码] A

Differential diagnostic value of ultrasound elastography combined with polygenic detection in benign and malignant thyroid nodules with uncertain cytology results

SHI Lidan, QIANG Xuzhao

Department of Endocrinology, Ningde Municipal Hospital of Ningde Normal University, Fujian 352100, China

ABSTRACT **Objective** To explore the value of ultrasound elastography combined with polygenic detection in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules with uncertain cytology results. **Methods** A total of 124 patients with thyroid nodules were selected as the research subjects. There were 136 thyroid nodules with uncertain cytological results (Bethesda Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ) confirmed by pathological results, including 91 malignant nodules and 45 benign nodules. All patients underwent polygenic testing and ultrasound elastography. The consistency of the two methods with the pathological results was analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the value of polygenic detection, ultrasound elastography, and combination of the two in the differential diagnosis of thyroid nodules with uncertain cytology results. **Results** There were 71 malignant thyroid nodules and 26 benign thyroid nodules correctly detected by ultrasonic elastography, 78 malignant thyroid nodules and 33 benign thyroid nodules correctly detected by polygene detection, 87 malignant thyroid nodules and 40 benign thyroid nodules correctly detected by two method combined. After polygene detection in 124 patients with thyroid nodules, the results were in good agreement with the pathological results ($Kappa=0.587, P < 0.05$), ultrasound elastography showed that the results were in poor agreement with the pathological results ($Kappa=0.356, P < 0.001$), the combined

examination of the two methods showed that the results were in good agreement with the pathological results ($Kappa=0.850, P<0.001$). ROC curve analysis showed that the area under the curve were 0.804, 0.651, and 0.896, respectively. The difference of AUC was statistically significant when compared polygene detection with ultrasound elastography and the combination of the two ($Z=2.907, 2.190, P=0.002, 0.028$). There was significant difference between the AUC of ultrasound elastography and the combination of the two ($Z=5.046, P<0.001$). **Conclusion** Ultrasound elastography combined with polygene detection has good clinical value in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules with uncertain cytological results.

KEY WORDS Ultrasound elastography; Polygenic detection; Uncertain cytological diagnosis; Thyroid nodules, benign and malignant

文献^[1-2]报道,甲状腺恶性结节发生率约占所有甲状腺结节的 1%~5%,且有 20%~30% 的结节细针穿刺细胞学检查无法确定性诊断,及时准确地对甲状腺结节良恶性进行鉴别诊断有助于为临床治疗提供指导。超声弹性成像是临床鉴别良恶性肿瘤的常用方法,已广泛用于乳腺、肝脏及甲状腺良恶性病变的诊断。研究^[3]表明,超声弹性成像虽然能为甲状腺结节良恶性的鉴别诊断提供重要参考,但也具有较高的漏误诊率。近年来,临床对甲状腺癌基因的研究^[4]发现其存在基因突变情况,故提出采用多基因检测方法鉴别诊断甲状腺结节良恶性。但基因突变和融合是一个较为漫长的过程,发病早期很可能无法检出,且良性结节也存在基因突变和融合的可能,从而影响诊断准确率。基于此,本研究旨在探讨超声弹性成像联合多基因检测在细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性鉴别诊断中的价值。

资料与方法

一、研究对象

选取 2019 年 5 月至 2020 年 6 月我院收治的 124 例细胞学结果不确定甲状腺结节患者,男 45 例,女 79 例,年龄 24~68 岁,平均 (45.21 ± 3.52) 岁;单发结节 112 例,多发结节 12 例,共计 136 个结节,结节最大径 6.0~46.0 mm,平均 (26.32 ± 5.85) mm;其中 Bethesda III 类 29 个,IV 类 48 个,V 类 59 个;91 个恶性结节,包括微小乳头状癌 24 个,经典型乳头状癌 58 个,滤泡变异型乳头状癌 9 个;45 个良性结节,包括甲状腺滤泡状腺瘤 18 个,结节性甲状腺肿 12 个,乳头状增生 15 个。纳入标准:①甲状腺结节最大径 >5.0 mm;②均经病理结果证实,细胞学病理结果为 Bethesda III、IV、V 类;③临床资料完整;④均为首次接受甲状腺结节手术治疗。排除标准:①单纯囊性甲状腺结节;②细胞学病理结果为 Bethesda I、II、VI 类;③合并其他恶性肿瘤。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. 超声弹性成像检查:使用迈瑞 Resona 7 彩色多普勒超声诊断仪, L11-3U 线阵探头,频率 5.6~10.0 MHz。患者取仰卧位,充分暴露颈后,先行二维超声观察结节大小、形态、回声、边界、实质背景回声、钙化等情况,保存图像;然后切换至超声弹性成像模式,感兴趣区设置需大于病灶并包括病灶周围部分正常组织,探头置于病变部位微小振动 1~2 次/s,获得稳定图像后保留纵向和横向的弹性成像图。参考周超等^[5]提出的改良 5 分法对病灶进行弹性成像评分:1 分,病灶均为绿色;2 分,病灶核心为蓝色,周边为绿色;3 分,病变区域绿色和蓝色占比相等;4 分,病灶基本为蓝色或内部夹杂绿色,绿色少量;5 分,病灶均为蓝色;本研究将 4~5 分判定为恶性,1~3 分判定为良性。以上操作均由同一具有 10 年工作经验的超声医师完成。

2. 多基因检测:采用二代测序方法进行多基因检测。患者取仰卧位,充分暴露颈后,消毒、铺巾,于超声引导下进行穿刺,多发结节穿刺目标为超声提示最可疑结节,将 22 G 一次性 PTC 穿刺针送至目标结节中心,拔除针芯,向不同方向提插 5~6 次后取出穿刺针,将提取的标本放入细胞保存液中待检,获取组织 RNA 和 DNA 后对其进行质检,建立测序文库,采用 Life Technology™(美国)的 S5 测序仪进行检测,包括 DNA 突变和 RNA 融合。恶性判定标准^[6]:①具有恶性特征性点突变;②具有基因融合;③非特异性突变。良性判定标准:①无突变及融合;②具有良性特征点突变;③非特异性突变频率 $<30\%$ 。

3. 两种方法联合诊断标准:两种方法检查结果均为良性判为良性;两种方法中任一种检查结果为恶性判定恶性。

三、统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计软件,计数资料以频数或率表

示,采用 χ^2 检验。采用四格表分析两种方法检查结果与病理结果的一致性,计算 *Kappa* 值。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析超声弹性成像、多基因检测及两者联合对细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值,曲线下面积(AUC)比较行 *Z* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、超声弹性成像、多基因检测单独及联合检查结果

超声弹性成像、多基因检测单独及联合检查结果见表 1。

1. 超声弹性成像准确检出 71 个甲状腺恶性结节,弹性成像评分 4 分者 28 个,5 分者 43 个;检出 26 个甲状腺良性结节,弹性成像评分 1 分者 6 个,2 分者 8 个,3 分者 12 个。见图 1。超声弹性成像诊断甲状腺结节良恶性的敏感性 78.02%,特异性 57.78%。

表 1 超声弹性成像、多基因检测单独及联合诊断甲状腺结节良恶性情况

方法	病理结果		合计
	恶性	良性	
超声弹性成像			
恶性	71	19	90
良性	20	26	46
多基因检测			
恶性	78	12	90
良性	13	33	46
两项联合			
恶性	87	5	92
良性	4	40	44
合计	91	45	136

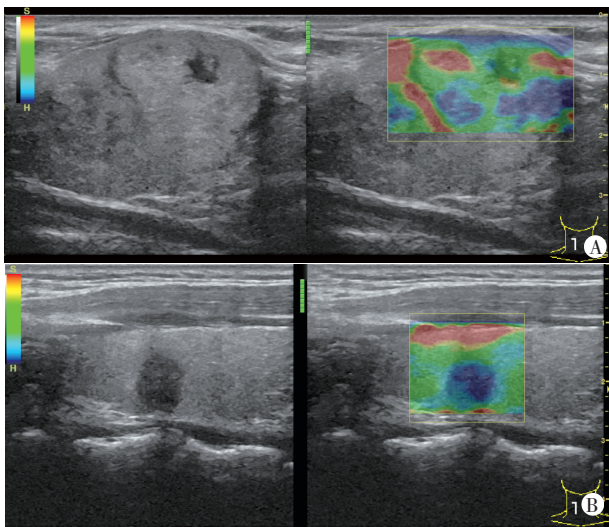


图 1 细胞学结果不确定甲状腺恶性结节的超声弹性成像图

2. 多基因检测准确检出 78 个甲状腺恶性结节,其中 BRAF^{V600E} 点突变 49 个、NRAS 点突变 13 个、KRAS 点突变 8 个、CCDC6/RET 融合 4 个、STRN/SLK 融合 2 个、ETV6/NTRK3 融合和 PAX8/PPARG 融合各 1 个;检出 33 个甲状腺良性结节,EZH1 者 13 个、SPOP 和 ZHF148 各 10 个。多基因检测诊断甲状腺结节良恶性的敏感性 85.71%,特异性 73.33%。

3. 超声弹性成像联合多基因检测准确检出 87 个甲状腺恶性结节和 40 个甲状腺良性结节,诊断敏感性 95.60%,特异性 88.89%。

二、一致性分析

124 例甲状腺结节患者多基因检测结果与病理结果的一致性 *Kappa* 值为 0.587($P<0.05$),超声弹性成像检查结果与病理结果的一致性 *Kappa* 值为 0.356($P<0.001$),两种方法联合与病理结果的一致性 *Kappa* 值为 0.850($P<0.001$)。见表 1。

三、ROC 曲线分析

ROC 曲线分析显示,超声弹性成像、多基因检测及两者联合鉴别诊断细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的 AUC 分别为 0.651(95% 可信区间 0.571~0.730)、0.804(95% 可信区间 0.738~0.869)、0.896(95% 可信区间 0.845~0.947)。多基因检测的 AUC 与超声弹性成像和两者联合比较,差异均有统计学意义($Z=2.907, 2.190, P=0.002, 0.028$);超声弹性成像的 AUC 与两者联合比较差异有统计学意义($Z=5.046, P<0.001$)。见图 2。

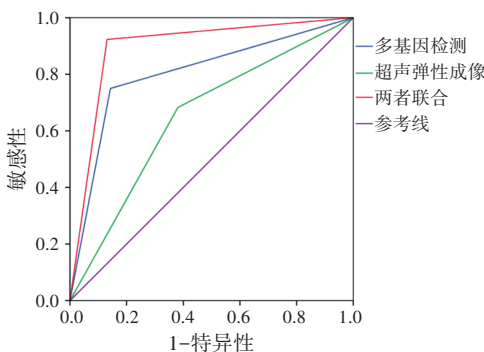


图 2 超声弹性成像、多基因检测及两者联合诊断细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的 ROC 曲线图

讨 论

超声引导下细针穿刺细胞学检查是目前临床鉴别诊断甲状腺结节良恶性的常用方法,但仍有部分结节的性质无法明确诊断,临床称其为细胞学结果不确定的甲状腺结节^[7]。根据 Bethesda 分类可将此类细胞

学结果不确定的结节分为 3 种^[8]:①Ⅲ类,指性质未明确的细胞非典型病变或滤泡性病变;②Ⅳ类,指滤泡性肿瘤或可疑滤泡性肿瘤;③Ⅴ类,指可疑恶性肿瘤。研究^[9]表明,上述 3 类结节恶性几率约为 3.00%~99.00%,术前如何准确诊断 Bethesda Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ类甲状腺结节一直是临床研究的重点。

超声弹性成像是通过在外力压迫下使组织发生形变来量化组织弹性^[10]。组织弹性取决于细胞、细胞膜、血管外基质、微血管等结构,而肿瘤、炎症能通过改变组织成分和结构增加实质硬度^[11]。本研究超声弹性成像准确检出甲状腺恶性结节 71 个,良性结节 26 个;恶性结节中弹性成像评分 4 分者 28 个,5 分者 43 个;良性结节中弹性成像评分 1 分者 6 个,2 分者 8 个,3 分者 12 个,其与病理结果的一致性差($Kappa=0.356$)。表明超声弹性成像检查结果存在假阳性和假阴性情况(假阳性 19 个、假阴性 20 个)。分析原因可能与组织受力不均有关,当颈部皮肤表面凹凸不平或伴有大面积瘢痕或黑斑等时,探头加压易出现受力不均匀的情况,从而导致假阴性,一定程度上影响诊断准确率^[12]。另外,受炎症因子的影响,组织成分及其结构也会发生改变,如引起纤维化或钙化等,也可能误诊为恶性结节,导致假阳性事件^[13]。

近年来,随着临床对甲状腺癌发病机制的进一步研究发现,甲状腺恶性结节患者存在基因突变情况,如国内应用较多的 BRAF^{V600E} 点突变检测,为甲状腺乳头状癌常见基因变异类型,多见于 Bethesda Ⅵ类结节^[14]。针对该基因分析发现,其在细胞学结果不确定甲状腺结节中存在相对较少,本研究共检出 BRAF^{V600E} 点突变共 49 个,但不能排除其他基因突变情况。因此,本研究建议行多基因检测对此类甲状腺结节良恶性进行鉴别诊断,结果显示除 BRAF^{V600E} 点突变外,还检出 NRAS 点突变 13 个, KRAS 点突变 8 个, ETV6/NTRK3 点突变 1 个, CCDC6/RET 融合 4 个, STRN/SLK 融合 2 个, PAX8/PPARG 融合 1 个;提示上述基因突变或融合能为临床诊断甲状腺恶性结节提供重要参考。但多基因检测同样也存在假阳性和假阴性情况(假阳性 12 个,假阴性 13 个),因此本研究进一步探讨超声弹性成像与多基因检测联合应用的价值。

本研究 ROC 曲线分析显示,超声弹性成像、多基因检测及两者联合应用鉴别诊断细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的 AUC 分别为 0.651、0.804、0.896;联合应用的 AUC(0.896)高于两种方法单独应用,差异

均有统计学意义(均 $P<0.05$),提示两者联合有利于进一步提高诊断效能,降低假阳性和假阴性的情况。分析原因为两种方法联合诊断克服了单一检查方法各自的不足。

综上所述,超声弹性成像联合多基因检测在细胞学结果不确定甲状腺结节良恶性的鉴别诊断中具有较好的临床应用价值。但本研究为回顾性研究,纳入对象可能存在选择偏差,今后需行多中心大样本前瞻性研究进一步证实。

参考文献

- [1] 吴文瑛,王晓岩,赵丽,等.常规超声和弹性成像及细针穿刺细胞学活检对甲状腺微小癌的诊断价值[J].河北医学,2019,25(3):627-630.
- [2] Adhami M, Michail P, Rao A, et al. Anti-thyroid antibodies and TSH as potential markers of thyroid carcinoma and aggressive behavior in patients with indeterminate fine-needle aspiration cytology[J]. World J Surg, 2020, 44(2):363-370.
- [3] 张艳,罗渝昆,杨明,等.助力式弹性成像与声触诊组织成像和定量法对甲状腺良恶性结节诊断价值的比较[J].中国医学科学院学报,2019,41(3):383-387.
- [4] Qichang W, Jinming S, Lu L, et al. Comparison of 18F-FDG-PET and 18F-FDG-PET/CT for the diagnostic performance in thyroid nodules with indeterminate cytology: a Meta-analysis[J]. Medicine, 2020, 99(22):e20446.
- [5] 周超,徐新艳,沈波,等.实时弹性成像联合超声造影对甲状腺 TI-RADS 4 类结节良恶性诊断价值的研究[J].肿瘤影像学,2018,27(6):493-498.
- [6] 宋轹韬,徐国辉,朱艳丽,等.多基因检测在细胞学不确定的甲状腺结节良恶性诊断中的价值[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,54(10):764-768.
- [7] 贾红飞,牛宁宁,张学娜.超声弹性成像技术联合血清 uPA 检测对甲状腺结节良恶性鉴别诊断的价值分析[J].中华地方病学杂志,2020,39(7):516-520.
- [8] Ngo HT, Nguyen TPX, Vu TH, et al. Impact of molecular testing on the management of indeterminate thyroid nodules among western and sian countries: a systematic review and Meta-analysis[J]. Endocr Pathol, 2021, 32(2):269-279.
- [9] 季沁,周一帆,陈莱,等.弹性成像联合 ACR-TIRADS 诊断甲状腺结节良恶性的临床价值研究[J].诊断学理论与实践,2019,18(3):307-312.
- [10] 宋林科,周琦,徐鑫利.超声造影联合超声弹性成像对桥本甲状腺炎患者甲状腺结节良恶性的诊断价值[J].陕西医学杂志,2020,49(11):1472-1475.
- [11] Piccardo A, Puntoni M, Dezzana M, et al. Indeterminate thyroid nodules. The role of 18F-FDG PET/CT in the "era" of ultrasonography risk stratification systems and new thyroid cytology

classifications[J].Endocrine,2020,69(3):553-561.

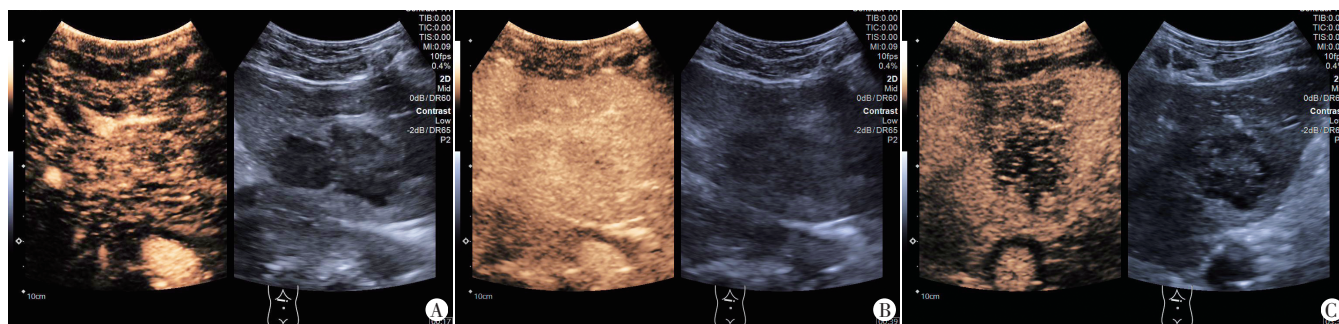
- [12] Zafereo M, McIver B, Vargas-Salas S, et al. A thyroid genetic classifier correctly predicts benign nodules with indeterminate cytology: two independent, multicenter, prospective validation trials [J].Thyroid,2020,30(5):704-712.
- [13] 刘丽,杨美玉,匡莉,等.常规超声成像与超声弹性成像诊断甲状

腺结节良恶性的对比研究[J].安徽医药,2018,22(4):656-659.

- [14] Qiu Y, Xing Z, Liu J, et al. Diagnostic reliability of elastography in thyroid nodules reported as indeterminate at prior fine-needle aspiration cytology (FNAC): a systematic review and Bayesian Meta-analysis[J].Eur Radiol,2020,30(12):6624-6634.

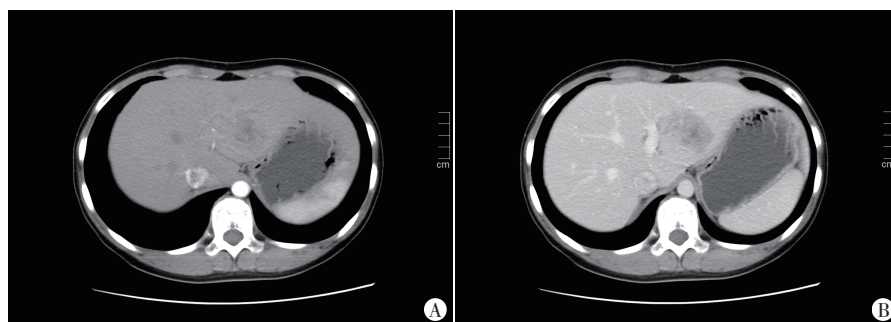
(收稿日期:2022-03-15)

(上接第666页)



A:造影剂注入17 s,动脉相早期病灶呈快速团状高增强;B:造影剂注入39 s,门脉相自病灶中心开始不均匀缓慢廓清;C:造影剂注入3 min,延迟相病灶呈极低增强

图1 肝脏原发恶性黑色素瘤伴转移超声造影图



A:动脉期病灶周围肝实质见轻度片状强化;B:平衡期病灶边缘见包膜样强化

图2 肝脏原发恶性黑色素瘤伴转移增强CT图

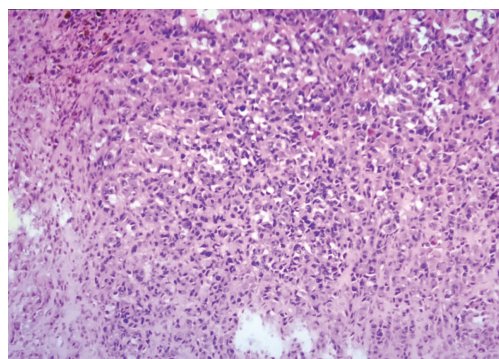


图4 肝脏原发恶性黑色素瘤病理图(HE染色,×100)

变无明显差异。韩海林等^[1]分析15例肝脏原发恶性黑色素瘤患者增强CT检查结果,发现该病可见不均匀强化,偶可见静脉呈受压改变。肝脏恶性肿瘤超声造影特征为始增时间、达峰时间及减退时间均较短,峰值强度较高^[3],呈“快进快出”模式。本例患儿符合肝脏恶性肿瘤超声造影典型表现,根据超声造影和增强CT检查结果考虑恶性病变可能性大,最终确诊仍依靠

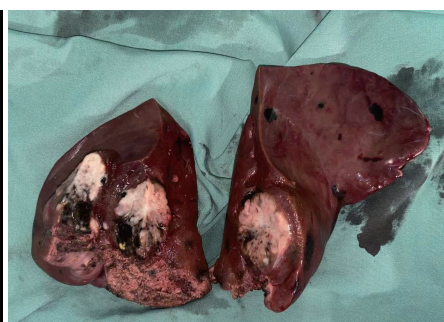


图3 肝脏原发恶性黑色素瘤大体图示标本质地呈鱼肉样,色黄白,间杂黑色病变

免疫组化检查。肝脏恶性黑色素瘤需与肝母细胞瘤、肝细胞癌、横纹肌肉瘤、肝脏内胚瘤等鉴别诊断。本例患儿甲胎蛋白值正常且年龄较大,故排除肝母细胞瘤和原发性肝细胞癌;横纹肌肉瘤好发于5岁以下,诊断主要依靠病理检查。

总之,超声造影可清晰显示病灶微血管及低速血流情况,动态观察病变各时相血流灌注和廓清特点,准确显示恶性病灶的浸润区域,为临床诊断提供参考依据。

参考文献

- [1] 韩海林,杨茂梧,袁振国.肝脏原发性恶性黑色素瘤15例临床及影像学特征分析[J].山东医药,2015,55(33):35-37.
- [2] Gong L, Li YH, Zhao JY, et al. Primary malignant melanoma of the liver: a case report [J]. World J Gastroenterology, 2008, 14(31): 4968-4971.
- [3] 范剑锋.常规超声及超声造影在肝脏良恶性肿瘤鉴别诊断中的应用价值[J].中国中西医结合影像学杂志,2019,17(6): 646-648.

(收稿日期:2022-03-22)