

· 临床研究 ·

伴 BRAF V600E 突变的甲状腺乳头状癌超声图像特征及其淋巴结转移风险分析

肖 庆 唐 亮 罗 鑫

摘 要 **目的** 分析 BRAF V600E 突变的甲状腺乳头状癌(PTC)患者的超声图像特征,探讨其淋巴结转移风险。**方法** 选取我院经穿刺或手术病理组织学检查确诊的 PTC 患者 417 例,分析不同病理组织学分型 PTC 的 BRAF V600E 突变阳性率、淋巴结转移率及其超声图像特征的差异;采用多因素 Logistic 回归分析 BRAF V600E 突变与不同亚型 PTC 超声图像特征的关系。**结果** 417 例 PTC 患者中共检出 BRAF V600E 突变阳性 327 例,其中经典亚型、滤泡亚型及高细胞亚型 PTC 患者中 BRAF V600E 突变阳性率分别为 73.53%、66.67% 及 86.96%,高细胞亚型 BRAF V600E 突变阳性率高于经典亚型和滤泡亚型,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。BRAF V600E 突变阳性的 PTC 患者中,经典亚型、滤泡亚型及高细胞亚型的颈部淋巴结转移率、结节钙化类型及边缘贴近被膜占比比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);各亚型 BRAF V600E 突变阳性患者颈部淋巴结转移率均高于突变阴性患者,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示,BRAF V600E 突变与经典亚型、高细胞亚型 PTC 的钙化类型均独立相关(均 $P<0.05$)。**结论** 伴 BRAF V600E 突变的亚型 PTC 患者的超声图像特征存在差异,且更易出现颈部淋巴结转移。

关键词 超声检查;基因突变;甲状腺乳头状癌;淋巴结;转移

[中图法分类号]R445.1;R736.1

[文献标识码]A

Ultrasound images of papillary thyroid carcinoma with BRAF V600E mutation: characterization and risk of lymph node metastasis

XIAO Qing, TANG Liang, LUO Xin

Department of Ultrasound Diagnosis, the Third People's Hospital of Mianyang, Sichuan 621000, China

ABSTRACT **Objective** To analyze the ultrasonographic characteristics of papillary thyroid carcinoma (PTC) patients with BRAF V600E mutation, and to explore the risk of lymph node metastasis. **Methods** A total of 417 patients with PTC who were diagnosed by biopsy or surgical histopathological examination in our hospital were selected, and the positive rate of BRAF V600E mutation, lymph node metastasis rate in different histopathological types of PTC, as well as the differences in ultrasound image characteristics were analyzed, and multivariate Logistic regression was used to analyze the relationship between V600E mutation and ultrasound image characteristics of different subtypes of PTC. **Results** Among the 417 PTC patients, 327 cases were positive for BRAF V600E mutation. The positive rates of BRAF V600E mutation were 73.53%, 66.67% and 86.96% in the classic subtype, follicular subtype and hypercellular subtype PTC patients, respectively. The positive rate of BRAF V600E mutation in hypercellular subtype was higher than that in classical subtype and follicular subtype, and the differences were statistically significant (both $P<0.05$). Among patients with BRAF V600E mutation-positive PTC, there were significant differences in the cervical lymph node metastasis rate, nodular calcification type, and margin close to the capsule in the classic subtype, follicular subtype, and hypercellular subtype (all $P<0.05$). The cervical lymph node metastasis rate of each subtype of BRAF V600E mutation-positive patients was higher than that of negative patients, and the differences were statistically significant (all $P<0.05$). Multivariate Logistic regression showed that BRAF V600E mutation was independently correlated with the calcification types of classic subtype and hypercellular subtype PTC (both $P<0.05$). **Conclusion** The ultrasonographic characteristics of different subtypes of PTC patients with BRAF V600E mutation are different, and cervical lymph node

metastasis is more likely to occur.

KEY WORDS Ultrasonography; Gene mutation; Papillary thyroid carcinoma; Lymph node; Metastasis

近年来甲状腺癌发病率呈逐年升高趋势,其中以甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)最常见^[1]。研究^[2]显示分化型甲状腺癌患者中 PTC 占 85% 以上。目前对于 PTC 的发生发展机制尚未完全明确,环境、饮食及基因突变等均可能导致 PTC 发生风险上升^[3]。研究^[4]证实 BRAF V600E 突变可用于评估 PTC 患者病情进展及临床预后,但国内针对不同病理组织学分型 PTC 癌患者 BRAF V600E 突变与超声图像特征、淋巴结转移关系的研究较少。本研究通过分析伴 BRAF V600E 突变的病理组织学分型 PTC 患者的超声图像特征,探讨 BRAF V600E 突变与淋巴结转移的关系,旨在为临床诊治提供参考。

资料与方法

一、研究对象

选取 2015 年 1 月至 2022 年 1 月我院经穿刺或手术病理组织学检查确诊的 PTC 患者 417 例。纳入标准:①顺利完成手术治疗;②术前接受甲状腺及颈部淋巴结超声检查;③经穿刺或手术病理组织学检查证实为 PTC^[5];④结节最大径 >0.5 cm;⑤临床资料完整。排除标准:①术前接受放、化疗;②局部复发或远处转移;③合并其他类型恶性肿瘤;④其他手术禁忌症;⑤患者或家属不配合检查治疗。根据 WHO 甲状腺肿瘤分类(2017 版)标准^[6]进行病理组织学分型,将受试者分为:经典亚型 102 例,男 27 例,女 75 例,年龄 22~58 岁,平均 (42.90 ± 6.07) 岁,平均结节最大径 (1.07 ± 0.33) cm;滤泡亚型 108 例,男 30 例,女 78 例,年龄 20~56 岁,平均 (43.37 ± 6.40) 岁,平均结节最大径 (1.15 ± 0.35) cm,其中合并桥本氏甲状腺炎 31 例;高细胞亚型 207 例,男 51 例,女 156 例,年龄 24~59 岁,平均 (41.67 ± 5.62) 岁,平均结节最大径 (1.27 ± 0.24) cm。各亚型 PTC 患者性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义。本研究经我院医学伦理委员会批准,患者及家属均签署知情同意书。

二、仪器与方法

1. 超声检查:使用迈瑞 Rsona 7T 彩色多普勒超声诊断仪, L14-5WU 线阵探头,频率 5~14 MHz。受检者取仰卧位,头部后仰充分暴露颈前区,行常规超声扫查并记录甲状腺结节数量、大小、边界、形态、声晕类

型、回声强度、内部结构类型、钙化类型及是否贴近被膜(即超声图像显示结节边缘与甲状腺被膜接触)等。然后扫查颈部淋巴结,观察是否发生转移。出现以下任意 1 项及以上征象即诊断为颈部淋巴结转移,具体为:①淋巴结边界不清晰,形态呈圆形或椭圆形;②淋巴结内部结构异常,出现钙化、液化或皮质局部高回声;③淋巴结周围血流丰富。

2. 图像分析:研究者判定超声图像质量是否清晰,将图像清晰者纳入分析,并根据美国放射学会发布的 TI-RADS 标准^[7]评估甲状腺结节的良恶性。具体为:1 级为良性,2 级为可能良性,3 级为低度恶性可能($\leq 5\%$),4 级为中度恶性可能($\leq 85\%$),5 级为高度恶性可能($> 85\%$)。以上操作均由两名中级及以上职称超声医师完成,意见不一时协商统一。

3. BRAF 检测:将穿刺或手术获取的组织标本使用福尔马林固定,石蜡包埋后切片,每例患者提供厚 4~5 μm 切片各 3 张,第 1 张经 HE 染色由病理医师确定肿瘤组织所在区域,于另 2 张空白切片中刮取对应肿瘤组织。刮取的组织加入二甲苯 500 μl ,室温下静置 15 min, 15 000 r/min 离心 15 min,再加入无水乙醇和丙酮,混匀后以相同转速和时间离心,交替 2 次后吸净上清液,室温洁净环境中干燥 3~4 min,最后放置于 55℃ 水浴 4~5 h 灭活。DNA 浓度采用赛默飞 Orion AquaMate 型分光光度计检测。BRAF 基因引物设计和突变检测均外送第三方实验室完成。

三、统计学处理

应用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用成组 t 检验,多组比较采用重复测量方差分析;计数资料以例或率表示,采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。采用多因素 Logistic 回归分析 BRAF V600E 突变与不同亚型 PTC 超声图像特征的关系。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、各亚型 PTC 患者 BRAF V600E 突变阳性率比较
417 例 PTC 患者共检出 BRAF V600E 突变阳性 327 例,其中经典亚型、滤泡亚型及高细胞亚型患者中 BRAF V600E 突变阳性者分别有 75 例、72 例、180 例, BRAF V600E 突变阳性率分别为 73.53% (75/102)、66.67% (72/108) 及 86.96% (180/207),高细胞亚型

BRAF V600E 突变阳性率均高于经典亚型、滤泡亚型,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

二、各亚型 PTC 患者 BRAF V600E 突变和淋巴结转移情况分析

417 例 PTC 患者中完成淋巴结清扫 360 例,经典亚型、滤泡亚型及高细胞亚型 PTC 分别有 90 例、105 例、165 例,其中发生淋巴结转移分别有 54 例、51 例、75 例。见表 1。

BRAF V600E 突变阳性的 PTC 患者中,经典亚型、滤

表 1 360 例各亚型 PTC 患者 BRAF V600E 突变和淋巴结转移情况 例

病理组织学分型	淋巴结转移		淋巴结未转移	
	BRAF V600E 突变阳性	BRAF V600E 突变阴性	BRAF V600E 突变阳性	BRAF V600E 突变阴性
经典亚型(90)	48	6	27	9
滤泡亚型(105)	36	15	33	21
高细胞亚型(165)	72	3	81	9

表 2 291 例 BRAF V600E 突变阳性的各亚型 PTC 患者超声图像特征的单因素分析 例

病理组织学分型	结节数量		回声强度				内部结构类型			边界清晰		纵横比	
	1个	≥2个	极低	低	中	高	实性	囊实性	囊性	是	否	<1	≥1
经典亚型(72)	38	34	9	48	12	3	60	9	3	39	33	33	39
滤泡亚型(63)	39	24	9	41	11	2	51	9	3	30	33	36	27
高细胞亚型(156)	104	52	6	112	33	5	127	22	7	64	92	85	71
χ²值	4.045		9.198				0.165			3.547		2.056	
P值	0.132		0.163				0.997			0.170		0.358	

病理组织学分型	形态			声晕类型			钙化类型				贴近被膜	
	类圆形	椭圆形	不规则形	不均匀	均匀	无	微钙化	粗大	环状	无	是	否
经典亚型(72)	9	27	36	45	6	21	39	21	3	9	45	27
滤泡亚型(63)	10	20	33	42	3	18	12	21	6	24	57	6
高细胞亚型(156)	20	54	82	108	9	39	63	84	3	6	135	21
χ²值	0.758		1.534				65.101				23.177	
P值	0.944		0.821				<0.01				<0.01	

讨 论

颈部超声是临床诊断甲状腺疾病的主要影像学方法之一,但因甲状腺良恶性结节的超声图像特征有一定重叠,早期难以准确鉴别^[8]。已有研究^[9]证实尽管甲状腺癌患者 5 年生存率可达 90% 以上,但部分侵袭性较高患者的预后较差。故及早筛选出预后不良的高危人群并给予针对性干预是改善 PTC 患者预后的关键。BRAF 基因突变是 PTC 患者常见基因突变类型之一,研究^[10]证实该基因突变可影响肿瘤细胞增殖、凋亡等,并与患者远期生存时间有关;其中 BRAF V600E 突变阳性者发生甲状腺外侵犯、淋巴结和/或远

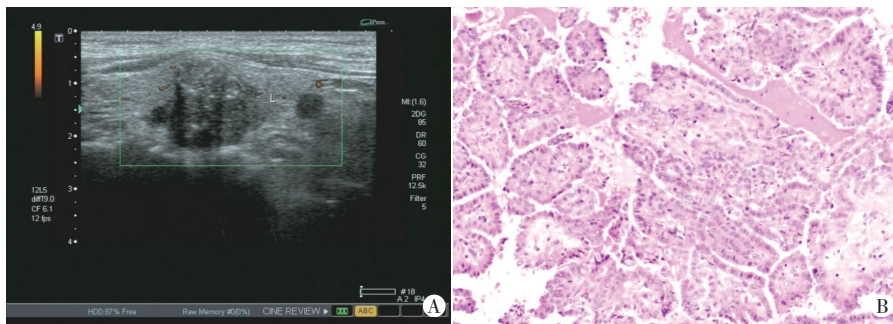
泡亚型及高细胞亚型颈部淋巴结转移率分别为 64.00%、52.17%、47.06%,各亚型颈部淋巴结转移率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且经典亚型高于高细胞亚型,差异有统计学意义($P<0.05$)。BRAF V600E 突变阴性的 PTC 患者中,经典亚型、滤泡亚型及高细胞亚型颈部淋巴结转移率分别为 40.00%、41.67%、25.00%,各亚型 BRAF V600E 突变阳性患者颈部淋巴结转移率均高于突变阴性患者,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

三、BRAF V600E 突变阳性的各亚型 PTC 患者超声图像特征的单因素分析和多因素 Logistic 回归分析

327 例 BRAF V600E 突变阳性 PTC 患者中,超声图像清晰者共 291 例。单因素分析显示,各亚型 PTC 钙化类型、贴近被膜占比比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2 和图 1~3。多因素 Logistic 回归分析显示,BRAF V600E 突变与经典亚型、高细胞亚型 PTC 的钙化类型均独立相关(均 $P<0.05$)。见表 3。

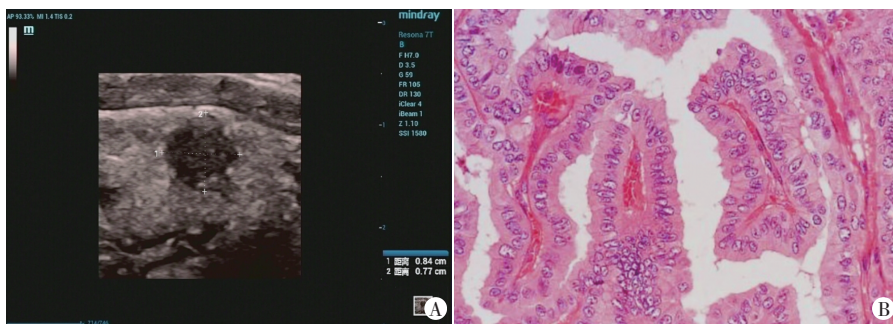
处转移风险高于突变阴性者^[11]。本研究中 BRAF V600E 突变阳性的各亚型 PTC 患者在贴近被膜占比比较,差异有统计学意义($P<0.01$),且高细胞亚型该特征占比最高,表明 BARF 基因突变可能影响肿瘤侵袭生长方式。同时本研究结果发现 BRAF V600E 突变阳性的各亚型 PTC 患者颈部淋巴结转移率比较差异有统计学意义($P<0.05$),提示 BRAF V600E 突变可能与 PTC 颈部淋巴结转移发生风险有关。

本研究中高细胞亚型 PTC 患者的 BRAF V600E 突变阳性率(86.96%)均高于经典亚型和滤泡亚型(73.53%、66.67%),差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);表明高细胞亚型 PTC 患者更易发生 BRAF V600E 突



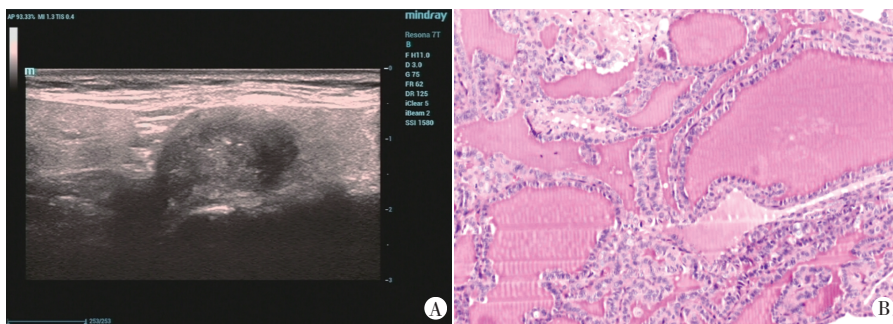
A: 超声图; B: 病理图(HE 染色, ×100)

图 1 经典亚型 PTC 超声图和病理图



A: 超声图; B: 病理图(HE 染色, ×200)

图 2 高细胞亚型 PTC 超声图和病理图



A: 超声图; B: 病理图(HE 染色, ×200)

图 3 滤泡亚型 PTC 超声图和病理图

表 3 291 例 BRAF V600E 突变阳性的各亚型 PTC 患者超声图像特征的多因素 Logistic 回归分析

变量	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR 值(95% 可信区间)	P 值
常量	-8.045	2.873	7.841	-	0.001
钙化类型					
经典亚型	-1.931	0.870	4.731	0.261(0.071~0.942)	0.030
滤泡亚型	1.802	1.522	2.171	5.712(0.771~51.562)	0.221
高细胞亚型	-1.191	0.673	4.462	0.362(0.231~0.802)	0.042
贴近被膜					
经典亚型	0.772	1.592	0.391	2.061(0.272~18.493)	0.681
滤泡亚型	3.951	3.403	1.882	0.532(0.153~3.771)	0.202
高细胞亚型	-20.162	1.631	0.000	0.000(0.000~0.000)	0.932

变,证实该类肿瘤侵袭性更强。研究^[12-13]显示,高细胞亚型 PTC 患者合并血管浸润、甲状腺外侵犯及淋巴结转移风险比例较高,导致患者远期生存率较其他亚型

明显降低,临床预后欠佳。本研究纳入的 PTC 患者中高细胞亚型占比近一半,远高于以往研究^[14]报道,分析可能与地区、种族差异性有关,同时病理组织学分型诊断标准的完善、普及及诊断经验的增加亦可能增加高细胞亚型占比。

本研究对 BRAF V600E 突变阳性的各亚型 PTC 患者的超声图像特征进行分析,结果发现各亚型患者的钙化类型比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中经典亚型的微钙化和高细胞亚型的粗大钙化占比均超过 50%。研究^[15]认为微钙化是 PTC 最常见的超声图像特征,检出率约为 40%~50%,且多见于最大径 <2 cm 和非侵袭性肿瘤中,本研究结果与其一致。粗大钙化已被证实与肿瘤生长时退行性改变、纤维组织增生及钙盐局部沉积有关^[16],而高细胞亚型 PTC 因肿瘤侵袭性强、纤维瘢痕组织增生程度重,使得钙化灶较其他类型往往更大^[17-18]。

本研究多因素 Logistic 回归分析显示, BRAF V600E 突变与经典亚型、高细胞亚型 PTC 的钙化类型均独立相关(均 $P<0.05$),即 BRAF V600E 突变阳性的经典亚型 PTC 以微钙化最常见,而高细胞亚型 PTC 则多见粗大钙化。提示超声检查时若存在结节贴近被膜、粗大钙化且 BRAF V600E 突变阳性者应考虑高细胞亚型 PTC。临床治疗过程中可通过术前超声和 BRAF 基因突变检测结果对 PTC 患者病理组织学分型进行初步判断,怀疑高细胞亚型者应采取更全面的检查和更积极的治疗以提高患者远期生存率^[19]。

综上所述,伴 BRAF V600E 突变的 PTC 患者更易出现颈部淋巴结转移,其中经典亚型 BRAF V600E 突变阳性率最高; BRAF V600E 突变与经典亚型、高细胞亚型 PTC 钙化类型相关。但本研究属

于单中心、回顾性报道,所得结果可能存在选择偏倚;且随访时间较短,缺少长期生存数据,故仍需后续更深入研究证实。

参考文献

- [1] Zhang L, Tang T, Shi JN, et al. Surgical diagnosis and treatment of chronic lymphocytic thyroiditis complicated with papillary thyroid carcinoma[J]. *Anhui Med J*, 2018, 39(9): 1085–1087.
- [2] Schwertheim S, Theurer S, Jastrow H, et al. New insights into intranuclear inclusions in thyroid carcinoma: association with autophagy and with BRAF V600E mutation[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0226199.
- [3] Guo L, Ma YQ, Yao Y, et al. Role of ultrasonographic features and quantified BRAF V600E mutation in lymph node metastasis in Chinese patients with papillary thyroid carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 75–83.
- [4] Liu Y, He L, Yin G, et al. Association analysis and the clinical significance of BRAF gene mutations and ultrasound features in papillary thyroid carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 2995–3002.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 甲状腺癌诊疗规范(2018年版)[J]. *中华普通外科学文献(电子版)*, 2019, 13(1): 1–15.
- [6] Loyd RV, Osamura RY, Kloppel G, et al. WHO classification of tumours: pathology and genetics of tumours of endocrine organs [M]. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2017: 7.
- [7] Tessler FN, Middleton WD, Grant EG, et al. ACR thyroid imaging, reporting and data system (TI-RADS): white paper of the ACR TI-RADS committee[J]. *J Am Coll Radiol*, 2017, 14(5): 587–595.
- [8] Li XJ, Mao XD, Chen GF, et al. High BRAF V600E mutation frequency in Chinese patients with papillary thyroid carcinoma increases diagnostic efficacy in cytologically indeterminate thyroid nodules[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(28): e16343.
- [9] Fulciniti F, Campanile AC, Malzone MG, et al. Impact of ultrasonographic features, cytomorphology and mutational testing on malignant and indeterminate thyroid nodules on diagnostic accuracy of fine needle cytology samples: a prospective analysis of 141 patients [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2019, 91(6): 851–859.
- [10] Ito Y, Miyauchi A, Kudo T, et al. The effectiveness of prophylactic modified neck dissection for reducing the development of lymph node recurrence of papillary thyroid carcinoma[J]. *World J Surg*, 2017, 41(9): 101–107.
- [11] Kang T, Kim DW, Shin GW, et al. Utility of preoperative ultrasonography in transferred patients with suspicious malignancy on ultrasonography-guided fine-needle aspiration cytology of thyroid nodules: a single-center retrospective study [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25(9): 6943–6949.
- [12] Rosario PW, Mourao GF, Calsolari MR. Active surveillance in adults with low-risk papillary thyroid microcarcinomas: a prospective study [J]. *Horm Metab Res*, 2019, 51(11): 703–708.
- [13] Gao L, Lin Y, Jiang Y, et al. Ultrasound characteristics of cervical lesions in patients with radioiodine refractory differentiated thyroid cancer: a strobe-compliant article [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(45): e17876.
- [14] Oler G, Ebina KN, Michaluart JR, et al. Investigation of BRAF mutation in a series of papillary thyroid carcinoma and matched lymph node metastasis reveals a new mutation in metastasis [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2005, 62(4): 509–511.
- [15] Jun JK, Hwang SY, Hong S, et al. Association of screening by thyroid ultrasonography with mortality in thyroid cancer: a case-control study using data from two national surveys [J]. *Thyroid*, 2019, 23(12): 460–468.
- [16] Lv T, Zhu C, Di Z. Risk factors stratifying malignancy of nodules in contralateral thyroid lobe in patients with pre-operative ultrasound indicated unilateral papillary thyroid carcinoma: a retrospective analysis from single centre [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2018, 88(2): 279–284.
- [17] Hahn SY, Kim TH, Ki CS, et al. Ultrasound and clinicopathological features of papillary thyroid carcinomas with BRAF and TERT promoter mutations [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(65): 108946–108957.
- [18] Chen J, Li XL, Zhao CK, et al. Conventional ultrasound, immunohistochemical factors and BRAF V600E mutation in predicting central cervical lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2018, 44(11): 2296–2306.
- [19] Chen L, Chen L, Liu J, et al. The association among quantitative contrast-enhanced ultrasonography features, thyroid imaging reporting and data system and BRAF V600E mutation status in patients with papillary thyroid microcarcinoma [J]. *Ultrasound Q*, 2019, 35(3): 228–232.

(收稿日期: 2022-05-05)