

## 基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003204

# 细针穿刺检测 $BRAF^{V600E}$ 突变丰度与甲状腺乳头状癌临床病理特征的相关性

章双艳<sup>1</sup>, 黄 驰<sup>1</sup>, 马丙娥<sup>1</sup>, 钱 涛<sup>1</sup>, 武心萍<sup>2</sup>, 徐书杭<sup>3</sup>, 王建华<sup>1</sup>

(南京中医药大学附属中西医结合医院 1. 甲乳外科; 2. 超声科; 3. 内分泌科, 南京 210028)

**【摘要】目的:**探讨术前细针穿刺基因检测  $BRAF^{V600E}$  突变丰度与甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)临床病理特征的关系。**方法:**回顾性统计 2021 年 1 月 30 日至 2022 年 2 月 28 日就诊于南京中医药大学附属中西医结合医院的 301 例患者临床资料, 术前细针穿刺基因检测示  $BRAF^{V600E}$  突变(含突变丰度检测), 所有患者完成甲状腺癌根治术, 术后病理证实为甲状腺乳头状癌, 分析  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度与临床病理特征的关系。**结果:**纳入 301 例患者, 男 91 例, 女 210 例, 年龄 42(33~51)岁, 范围 18~69 岁。肿瘤直径>1 cm 的患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度高于肿瘤直径≤1 cm 者[29.05(18.03~37.56) vs. 18.35(6.74~29.61),  $P<0.001$ ], 颈部淋巴结转移患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度高于无颈部淋巴结转移者[24.72(8.08~34.32) vs. 18(8.68~28.54),  $P=0.040$ ]。男女分开统计, 女性颈部淋巴结转移患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度高于无颈部淋巴结转移者[25.75(9.62~34.30) vs. 17.47(7.27~26.86),  $P=0.007$ ], 男性患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度与颈部淋巴结转移无明显相关性( $P=0.654$ )。通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析  $BRAF^{V600E}$  突变丰度诊断女性 PTC 患者颈部淋巴结转移的效能, 曲线下面积(area under the curve, AUC)为 0.609(95%CI=0.532~0.686), 取截断值 25.68%。多因素分析显示, 年龄<55 岁( $OR=0.138\sim0.735$ ,  $P=0.007$ )、 $BRAF^{V600E}$  突变丰度≥25.68% ( $OR=1.271\sim4.65$ ,  $P=0.007$ )、多灶( $OR=1.282\sim4.623$ ,  $P=0.007$ )、肿瘤直径>1 cm( $OR=2.257\sim11.927$ ,  $P<0.001$ )与女性 PTC 患者颈部淋巴结转移有明显相关性( $P<0.05$ )。**结论:** $BRAF^{V600E}$  突变丰度与 PTC 患者肿瘤直径、颈部淋巴结转移明显相关。 $BRAF^{V600E}$  突变丰度≥25.68% 的女性 PTC 患者颈部淋巴结转移率明显升高。

**【关键词】**甲状腺乳头状癌; $BRAF^{V600E}$  基因;突变丰度;淋巴结转移**【中图分类号】**R736.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2022-11-24

## Correlation between the preoperative abundance of fine-needle aspiration (FNA)- $BRAF^{V600E}$ mutations and clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma

Zhang Shuangyan<sup>1</sup>, Huang Chi<sup>1</sup>, Ma Bing'e<sup>1</sup>, Qian Tao<sup>1</sup>, Wu Xinping<sup>2</sup>, Xu Shuhang<sup>3</sup>, Wang Jianhua<sup>1</sup>

(1. Department of Thyroid and Breast Surgery; 2. Department of Ultrasound; 3. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine)

**【Abstract】Objective:** To investigate the relationship between the preoperative abundance of fine-needle aspiration (FNA)- $BRAF^{V600E}$  mutations and clinicopathological features of papillary thyroid cancer (PTC). **Methods:** Retrospective analysis was performed on the clinical data of 301 patients who underwent radical thyroidectomy in Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine from January 30, 2021 to February 28, 2022. Preoperative FNA of all patients showed  $BRAF^{V600E}$  mutation. All patients underwent preoperative mutant abundance detection, and PTC was confirmed by postoperative pathology analysis. The relationship between  $BRAF^{V600E}$  mutant abundance and clinicopathological features was analyzed. **Results:** A total of 301 patients were enrolled, including 91 males and 210 females. The median age of the patients was 42(33~51) years old, ranging from 18 to 69 years old. The abundance of  $BRAF^{V600E}$  mutation in patients with tumor diameter more than 1 cm was higher than that in patients with tumor diameter no more than 1 cm [29.05 (18.03~37.56) vs. 18.35 (6.74~29.61),  $P<0.001$ ]. The abundance of  $BRAF^{V600E}$  mutation in patients with cervical lymph node metastasis was higher than that in patients without cervical lymph node metastasis [24.72 (8.08~34.32) vs. 18 (8.68~28.54),  $P=0.040$ ]. The abundance of  $BRAF^{V600E}$  mutation in female patients with cervical

作者介绍: 章双艳, Email: 313489445@qq.com,

研究方向: 甲状腺乳腺外科。

通信作者: 王建华, Email: 311w@163.com。

基金项目: 2020 年江苏省重点研发计划资助项目(编号: BE2020726);

江苏省卫健委资助项目(编号: BJ18029); 江苏省卫生健康委

委 2020 年度医学科研资助项目(编号: M2020102)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20230427.1714.014.html>

(2023-05-04)

lymph node metastasis was higher than that in patients without cervical lymph node metastasis [25.75 (9.62–34.30) vs. 17.47 (7.27–26.86),  $P=0.007$ ], but there was no statistical significance among male patients ( $P=0.654$ ). The receiver operating characteristic (ROC) curve for predicting cervical lymph node metastasis in female PTC patients was constructed with the abundance of  $BRAF^{V600E}$  mutation (AUC=0.609, 95%CI=0.532–0.686), and the cutoff value was 25.65%. Multivariate analysis showed that the following aspects had a significant correlation with cervical lymph node metastasis in female PTC patients ( $P<0.05$ ), such as less than 55 years old ( $OR=0.138-0.735$ ,  $P=0.007$ ),  $BRAF^{V600E}$  mutant abundance no less than 25.68% ( $OR=1.271-4.65$ ,  $P=0.007$ ), multifocality ( $OR=1.282-4.623$ ,  $P=0.007$ ) and tumor diameter more than 1 cm ( $OR=2.257-11.927$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusion:** The abundance of  $BRAF^{V600E}$  mutation was significantly correlated with tumor diameter and cervical lymph node metastasis in PTC patients. The rate of cervical lymph node metastasis of female PTC patients with  $BRAF^{V600E}$  mutant abundance of no less than 25.68% has been significantly increased.

**[Key words]** papillary thyroid cancer;  $BRAF^{V600E}$  gene; mutant abundance; lymph node metastasis

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤,发病率逐年升高,其中绝大多数(>90%)为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)<sup>[1-2]</sup>。PTC临床病理特征与肿瘤分期及复发危险分层相关,对于部分甲状腺乳头状癌患者,有无颈部淋巴结转移证据直接影响甲状腺癌患者是选择手术治疗还是选择主动检测<sup>[3]</sup>。

目前临床对于 PTC 术前诊断及评估颈部淋巴结有无转移主要依靠影像学检查及细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)联合基因检测,甲状腺乳头状癌最常见  $BRAF^{V600E}$  突变,其突变率可达 70% 以上<sup>[4]</sup>。但对于超声及计算机断层扫描(computed tomography, CT)未提示可疑转移征象的颈部淋巴结,目前临床尚缺乏特异性的术前检查方法<sup>[5]</sup>。南京中医药大学附属中西医结合医院自 2021 年初于穿刺细胞学及基因检测的同时,加入突变基因突变丰度检测,即检测穿刺洗脱液中突变基因的突变拷贝数占总 DNA 量的比值,将基因检测的定性指标转化为定量数据。本文将通过分析探讨  $BRAF^{V600E}$  突变丰度与甲状腺乳头状癌临床病理特征的关系,为临床决策提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

本研究为回顾性研究,通过南京中医药大学附属中西医结合医院伦理委员会审核批准(2022-LWKYZ-031),研究过程严格遵守《赫尔辛基宣言》。选取 2021 年 1 月 30 日至 2022 年 2 月 28 日于南京中医药大学附属中西医结合医院甲乳外科住院治疗,术前完善穿刺病理并行  $BRAF^{V600E}$  基因检测,术后病理证实为甲状腺乳头状癌的患者临床资料。所有患者均行甲状腺癌根治术,手术范围至少为单侧腺叶及峡部切除加同侧中央区淋巴结清扫。纳入标准:①术前穿刺基因检测明确  $BRAF^{V600E}$  基因突变,且行突变丰度检查,甲状腺穿刺由

2 位经验丰富的医生在超声引导下进行,  $BRAF^{V600E}$  基因检测由同一家检验公司完成;②术后石蜡病理确诊为甲状腺乳头状癌。排除标准:①合并其他基因突变;②有甲状腺手术既往史的患者;③合并其他系统恶性肿瘤出现颈部淋巴结转移者。

### 1.2 检测方法

**1.2.1 超声引导下 FNA 检测** 患者平卧,取颈部过伸位,充分暴露颈前区。先行超声检查明确结节位置,常规消毒后于超声引导下,取一次性 10 mL 注射器 4 个,穿刺甲状腺结节,见针尖达到结节中央后,利用负压吸引反复抽吸,每个注射器抽吸 1 次,共 4 次,取少量组织液喷涂至载玻片,行细胞学检查,并予生理盐水冲洗针腔制成细针穿刺物洗脱液,行  $BRAF$  基因检测。

**1.2.2  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度检测**  $BRAF^{V600E}$  基因检测采取第二代测序的方法。所有样本外送南京金域医学检验所,由研究所研究员进行基因检测。取新鲜穿刺样本,按照人类  $BRAF^{V600E}$  基因突变检测试剂盒(厦门艾德生物公司,荧光 PCR 法)操作说明,提取 DNA 样本,进行 DNA 样本质检,构建基因组文库,利用基因芯片获取基因组文库中  $BRAF$  外显子,第二代测序获取  $BRAF$  基因 DNA 序列,并对测序结果进行判读和突变丰度计算。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。计数资料采用例数和百分率表示;符合正态分布的资料采用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,不符合正态分布的计量资料采用  $M_d(P_{25}, P_{75})$  表示。采用非参数秩和检验比较性别、年龄、灶数、肿瘤直径、是否侵犯包膜、有无颈部淋巴结转移与  $BRAF^{V600E}$  突变丰度的相关性。采用秩和检验分析影响患者颈部淋巴结转移的危险因素,有统计学意义的因素纳入二元 logistic 回归分析,分析影响 PTC 患者颈部淋巴结转移的独立危险因素。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

共计 301 例患者纳入本研究,年龄 42 (33~51) 岁,范围 18~69 岁(表 1)。

表 1 301 例 PTC 患者的一般资料 (n, %)

指标	例数
性别	
男	91(30.2)
女	210(69.8)
年龄/岁	
<55	250(83.1)
≥55	51(16.9)
灶数	
单灶	182(60.5)
多灶	119(39.5)
肿瘤直径/cm	
≤1	225(74.8)
>1	76(25.2)
包膜	
未侵犯	188(62.5)
侵犯	113(37.5)
颈部淋巴结转移	
无	121(40.2)
有	180(59.8)
中央区转移	
无	128(42.5)
有	173(57.5)
侧颈区转移	
无	239(79.4)
有	62(20.6)

2.2 PTC 患者  $BRAF^{V600E}$  突变丰度与临床病理特征的关系

纳入的 301 例 PTC 患者中,  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度为 21.01% (8.52%, 32.51%)。单因素分析显示, 不同性别、年龄、灶数、包膜侵犯/未侵犯的患者之间  $BRAF^{V600E}$  突变丰度差异无统计学意义 (均  $P>0.05$ ); 肿瘤直径 >1 cm 的患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度大于直径 ≤1 cm 者, 有颈部淋巴结转移的患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度大于无颈部淋巴结转移者, 差异有统计学意义 (均  $P<0.05$ ), 见表 2。

210 例女性 PTC 患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度为 21.05% (8.31%, 31.65%)。单因素分析显示, 不同年龄、灶数、包膜侵犯/未侵犯的患者之间  $BRAF^{V600E}$  突变丰度差异无统计学意义 (均  $P>0.05$ ); 肿瘤直径 >1 cm 的患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度大于直径 ≤1 cm 者, 有颈部淋巴结转移的患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度大于无颈部淋巴结转移者, 差异有统计学意义 (均  $P<0.05$ ), 见表 3。

纳入的 91 例男性 PTC 患者中,  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度为 20.59% (9.39%, 39.44%)。单因素分析显示, 不同年龄、灶数、包膜侵犯/未侵犯、颈部淋巴结转移/未转移的患者之间  $BRAF^{V600E}$  突变丰度差异无统计学意义 (均  $P>0.05$ ); 肿瘤直径 >1 cm 的患者  $BRAF^{V600E}$  基因突变丰度大于直径 ≤1 cm 者, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 见表 4。

表 2 不同临床病理特征下 PTC 患者  $BRAF^{V600E}$  突变丰度比较

[n, %; $M_d(P_{25}, P_{75})$ ]				
临床病理特征	例数	突变丰度/%	Z 值	P 值
性别			-0.319	0.749
男	91(30.2)	20.59(9.39, 34.44)		
女	210(69.8)	21.05(8.31, 31.65)		
年龄/岁			-0.123	0.902
<55	250(83.1)	20.91(7.95, 32.61)		
≥55	51(16.9)	22.40(9.52, 31.77)		
灶数			-1.114	0.265
单灶	182(60.5)	20.69(7.22, 31.66)		
多灶	119(39.5)	21.42(9.61, 33.36)		
肿瘤直径/cm			-4.213	<0.001
≤1	225(74.8)	18.35(6.74, 29.61)		
>1	76(25.2)	29.05(18.03, 37.56)		
包膜			-0.578	0.563
未侵犯	188(62.5)	20.80(8.84, 31.65)		
侵犯	113(37.5)	21.36(7.45, 35.44)		
颈部淋巴结转移			-2.054	0.040
无	121(40.2)	18.00(8.68, 28.54)		
有	180(59.8)	24.72(8.08, 34.32)		
中央区转移			-1.725	0.084
无	128(42.5)	18.59(8.77, 29.18)		
有	173(57.5)	24.20(7.76, 34.39)		
侧颈区转移			-2.449	0.014
无	239(79.4)	19.78(6.92, 31.38)		
有	62(20.6)	26.00(16.94, 34.51)		

2.3  $BRAF^{V600E}$  突变丰度与 PTC 患者颈部淋巴结转移的相关性分析

上述研究结果显示,  $BRAF^{V600E}$  突变丰度与 PTC 患者颈部淋巴结转移有关。女性 PTC 患者  $BRAF^{V600E}$  突变丰度与颈部淋巴结转移有关, 男性患者无明显相关性。

通过受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析  $BRAF^{V600E}$  突变丰度诊断女性 PTC 患者颈部淋巴结转移的效能 (图 1), 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.609 (95% CI=0.532~0.686),  $BRAF^{V600E}$  突变丰度截断值为 25.68%, 敏感度为 50.40%, 特异度为 73.10%。据此将  $BRAF^{V600E}$  突变丰度分为大于等于 25.68% 组及小于 25.68% 组。分析女性 PTC 患者颈部淋巴结转移的影响因素。单因素分析显示, 女性患者颈部淋巴结转移与患者年龄、 $BRAF^{V600E}$  突变丰度、灶数、肿瘤直径、有无侵犯包膜有关, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。将年龄、 $BRAF^{V600E}$  突变丰度、灶数、肿瘤直径、有无侵犯包膜纳入二元 logistic 回归分析。变量赋值为: 年龄 <55 岁赋值 0, 年龄 ≥55 岁赋值 1;  $BRAF^{V600E}$  突变丰度 <25.68% 赋值 0,  $BRAF^{V600E}$  突变丰度 ≥25.68% 赋值 1; 单灶赋值 0, 多灶赋值 1; 肿瘤直径 ≤1 cm 赋值 0, 肿瘤直径 >1 cm 赋值 1; 无包膜侵犯赋值 0, 有包膜侵犯赋值 1。统计结果显示, 年龄 <55 岁、 $BRAF^{V600E}$  突变丰度 ≥25.68%、多灶、肿瘤直径 >1 cm 与女性 PTC 患者颈部淋巴结转移明显相关 (表 5)。

表3 女性PTC患者不同临床病理特征下  $BRAF^{V600E}$  突变丰度比较

[n, %; $M_d(P_{25}, P_{75})$ ]				
临床病理特征	例数	突变丰度/%	Z 值	P 值
年龄/岁			-0.542	0.588
<55	171(81.4)	21.01(7.83, 31.65)		
≥55	39(18.6)	22.40(9.88, 31.77)		
灶数			-0.605	0.545
单灶	123(58.6)	20.81(8.42, 30.98)		
多灶	87(41.4)	21.09(7.96, 32.61)		
肿瘤直径/cm			-3.731	<0.001
≤1	155(73.8)	17.62(6.71, 29.24)		
>1	55(26.2)	28.45(18.32, 37.06)		
包膜			-1.056	0.291
未侵犯	131(62.4)	20.08(7.96, 29.95)		
侵犯	79(37.6)	21.98(8.82, 34.44)		
颈部淋巴结转移			-2.71	0.007
无	93(44.3)	17.47(7.27, 26.86)		
有	117(55.7)	25.75(9.62, 34.30)		
中央区			-2.292	0.022
无	98(46.7)	18.18(7.91, 27.90)		
有	112(53.3)	25.59(8.59, 34.32)		
侧颈区			-1.564	0.118
无	171(81.4)	19.94(7.33, 30.95)		
有	39(18.6)	24.20(16.60, 33.70)		

表4 男性PTC患者不同临床病理特征下  $BRAF^{V600E}$  突变丰度比较

[n, %; $M_d(P_{25}, P_{75})$ ]				
临床病理特征	例数	突变丰度/%	Z 值	P 值
年龄/岁			-0.604	0.546
<55	79(86.8)	20.59(9.75, 34.44)		
≥55	12(13.2)	20.25(2.63, 33.40)		
灶数			-1.039	0.299
单灶	59(64.8)	20.54(5.03, 34.08)		
多灶	32(35.2)	24.91(11.90, 35.18)		
肿瘤直径/cm			-2.006	0.045
≤1	70(76.9)	18.86(8.58, 31.93)		
>1	21(23.1)	34.08(11.04, 39.82)		
包膜			-0.345	0.730
未侵犯	57(62.6)	23.33(10.29, 33.13)		
侵犯	34(37.4)	17.33(4.59, 37.76)		
颈部淋巴结转移			-0.443	0.658
无	28(30.8)	20.82(12.41, 34.19)		
有	63(69.2)	20.59(5.36, 34.44)		
中央区			-0.393	0.695
无	30(33.0)	20.82(11.31, 34.20)		
有	61(67.0)	20.59(5.53, 34.58)		
侧颈区			-2.009	0.045
无	68(74.7)	18.34(5.44, 32.80)		
有	23(25.3)	29.44(17.05, 36.28)		

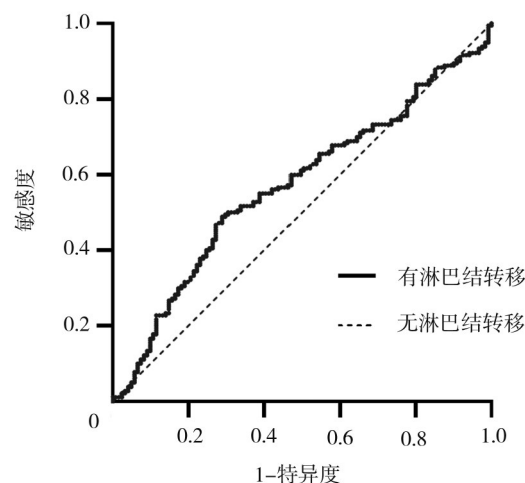
图1  $BRAF^{V600E}$  突变丰度诊断女性PTC患者颈部淋巴结转移的 ROC 曲线

表5 女性PTC患者颈部淋巴结转移影响因素的多因素 Cox 回归分析

变量	OR(95%CI)	P
年龄	0.318(0.138~0.735)	0.007
$BRAF^{V600E}$ 突变丰度	2.432(1.271~4.650)	0.007
灶数	2.434(1.282~4.623)	0.007
肿瘤直径	5.188(2.257~11.927)	<0.001
包膜侵犯	1.710(0.895~3.267)	0.104

### 3 讨论

甲状腺乳头状癌是最常见的分化型甲状腺癌,预后较好,但仍有部分患者因肿瘤复发转移而影响预后<sup>[6]</sup>。PTC 复发危险度分层与其临床病理特征相关。2021 年 CSCO 指南提出,分化型甲状腺癌预后分期与发病年龄、肿瘤直径、肿瘤外侵、颈部淋巴结转移及远处转移等相关<sup>[5]</sup>。PTC 颈部淋巴结转移率较高,为 50%~80% 不等<sup>[7]</sup>,最常见的是中央区淋巴结转移,术前预测其淋巴结有无转移可影响患者是否手术以及医生对手术方式的决策。指南推荐,对于无颈部淋巴结转移且无远处转移证据的部分甲状腺乳头状微小癌患者可以采取主动监测的方式<sup>[5]</sup>。临床随访过程中发现存在颈部淋巴结转移证据时再行手术治疗<sup>[8]</sup>。有临床研究发现,cN0 的 PTC 患者术后被证实发生颈部淋巴结转移的概率为 12%~65%<sup>[9]</sup>。本次统计的患者中,cN0 的 PTC 患者为 196 例,术后石蜡病理证实颈部淋巴结转移者 94 例,淋巴结转移率为 47.96%,与既往研究一致。对于此类患者是否采取主动监测仍然存在争议,因此



分析影响 PTC 颈部淋巴结转移的危险因素至关重要。

目前,临床对于甲状腺癌颈部淋巴结转移的术前评估多采用超声、CT 及 FNA 检查<sup>[10-11]</sup>。研究证实,甲状腺乳头状癌最常见的是 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变,其突变率可达 70% 以上<sup>[4]</sup>;FNA 联合 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因检测可以提高甲状腺癌及颈部转移淋巴结的诊断效能<sup>[12]</sup>,现已广泛应用于临床。

*BRAF*<sup>V600E</sup> 是一种丝氨酸苏氨酸激酶,属 RAF 蛋白家族,而 *BRAF*<sup>V600E</sup> 位点突变在甲状腺癌中最多见,可引起第 600 位谷氨酸取代缬氨酸的错义突变,导致 MAPK 通路激活,而此通路与细胞的生长、增殖、凋亡、分化等密切相关<sup>[13-16]</sup>。关于 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因突变与甲状腺乳头状癌的颈部淋巴结转移及预后的相关性已有大量研究。Xing MZ<sup>[14]</sup> 研究发现,PTC 合并 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变者颈部淋巴结转移及腺外侵犯风险更高,且其复发率明显高于 *BRAF*<sup>V600E</sup> 未突变患者。但也有学者研究发现,合并 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变的 PTC 患者颈部淋巴结转移发生率更低<sup>[17]</sup>。朱长雨等<sup>[18]</sup> 分析 290 例行手术治疗的 PTC 患者,发现 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因未突变组肿瘤侵犯包膜比例高于突变组。之所以出现截然相反的观点,可能与基因检测为定性检测而非定量检测有关,即可能与基因检测的具体突变丰度有关。

突变丰度是体现肿瘤异质性的一个重要指标,是检测穿刺洗脱液中突变基因的突变拷贝数占总 DNA 量的比值,突变丰度愈高,肿瘤细胞所占比值愈高。2019 年发表的《第二代测序技术在癌症精准医学中的应用》<sup>[19]</sup> 提出应当进行肿瘤基因突变丰度检测,可以预测药物的敏感性、发现药物耐药性、评估疾病进展等,目前临床上多用于肿瘤靶向治疗的相关研究<sup>[20-21]</sup>,而关于其与甲状腺临床病理特征的相关性研究报道较少。

通过对 301 例甲状腺乳头状癌患者的临床病理资料分析发现,*BRAF*<sup>V600E</sup> 基因突变丰度与肿瘤直径、颈部淋巴结转移及侧颈区淋巴结转移有关。进一步分析发现,女性患者颈部淋巴结转移率为 55.7%,男性为 69.23%,男性颈部淋巴结转移率明显高于女性。性别分组统计结果显示,男性患者 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度与总体颈部淋巴结转移及中央区淋巴结转移无明显相关性,与侧颈区淋巴结转移有相关性,而女性患者 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度与总体颈部淋巴结转移及中央区淋巴结转移相关,与侧颈区淋巴结转移无明显相关性。进一步分析影响女性 PTC 患者颈部淋巴结转移的危险因素,制作预测女

性 PTC 患者颈部淋巴结转移的 ROC 曲线,最终取截断值 25.68%。回归分析结果显示,年龄 <55 岁、*BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度 ≥25.68%、多灶、肿瘤直径 >1 cm 与女性 PTC 患者颈部淋巴结转移明显相关。

本研究通过回顾性分析发现,颈部淋巴结转移患者 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度高于无转移患者。本研究亦存在以下不足:术前穿刺样本可能由于结节大小、位置等原因而影响其准确率,也可能会影响突变基因的突变丰度,造成检测结果与实际结果可能存在误差<sup>[22]</sup>。统计结果显示,男性患者 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度与颈部淋巴结总体转移率无明显相关性,但与颈侧区淋巴结转移相关。本次统计结果显示男性侧颈区淋巴结转移率为 25.27%,其转移率高于女性患者的 18.57%,其原因可能为男性甲状腺癌患者肿瘤侵袭性较强,更容易出现淋巴结转移<sup>[23]</sup>。本研究所取诊断女性 PTC 患者颈部淋巴结转移的 ROC 曲线截断值所对应的敏感度、特异度、AUC 均较小,可能与 PTC 淋巴结转移影响因素较多有关,本次分析未纳入甲状腺结节超声特征、CT 特征等其他参数,故对于 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度预测 PTC 患者颈部淋巴结转移的相关研究有待进一步深入。

综上所述,本文通过分析 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因突变丰度与 PTC 患者临床病理特征的关系,发现 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因突变丰度与颈部淋巴结转移有关,这一现象在女性患者中尤为明显,故临床对于可疑恶性结节行 FNA 细胞学检查及基因检测时,可以辅以基因突变丰度检查,将基因突变的指标进行量化评估,当女性患者 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度小于 25.68% 时,后续治疗可更倾向于主动检测的手段;而当 *BRAF*<sup>V600E</sup> 突变丰度大于等于 25.68% 时,应加强对颈部淋巴结的综合评估。若选择手术治疗,在手术过程中要注重淋巴结清扫的彻底性。

## 参 考 文 献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] 王龙龙, 李红强, 裴群刚, 等. 甲状腺癌 21 980 例患者临床病理特征与发病趋势分析[J]. 中华医学杂志, 2020, 100(14): 1072-1076. Wang LL, Li HQ, Chang QG, et al. Clinical pathology and incidence trend of thyroid cancer based on 21 980 cases[J]. Natl Med J China, 2020, 100(14): 1072-1076.
- [3] 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2013, 33(2): 96-115. Guidelines for diagnosis and treatment of thyroid nodules and differentiated thyroid cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 33(2):

96–115.

[4] Rashid FA, Munkhdelger J, Fukuoka J, et al. Prevalence of *BRAF*<sup>V600E</sup> mutation in Asian series of papillary thyroid carcinoma—a contemporary systematic review[J]. *Gland Surg*, 2020, 9(5): 1878–1900.

[5] 赫捷, 李进, 程颖, 等. 中国临床肿瘤学会(CSCO)分化型甲状腺癌诊疗指南 2021[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2021, 34(12): 1164–1201.

He J, Li J, Chen Y, et al. Guidelines of Chinese society of clinical oncology (CSCO) differentiated thyroid cancer[J]. *J Cancer Control Treat*, 2021, 34(12): 1164–1201.

[6] Laha D, Nilubol N, Boufraqueh M. New therapies for advanced thyroid cancer[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 82.

[7] Lin B, Ma HQ, Ma MG, et al. The incidence and survival analysis for anaplastic thyroid cancer: a SEER database analysis[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(9): 5888–5896.

[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.

Gao M, Ge MH, Ji QH, et al. China expert consensus on diagnosis and treatment of thyroid micropapillary carcinoma (2016 edition)[J]. *Chin J Clin Oncol*, 2016, 43(10): 405–411.

[9] 于昊, 王强, 查斯洛, 等. 5 mm 及以下 cN0 甲状腺乳头状微小癌中央区淋巴结转移规律及危险因素分析[J]. *第二军医大学学报*, 2018, 39(1): 101–104.

Yu H, Wang Q, Zha SL, et al. Patterns and risk factors of central lymph node metastasis in cN0 papillary thyroid microcarcinoma with tumor maximum diameter of 5 mm or below[J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2018, 39(1): 101–104.

[10] 潘勤, 黄勇, 汪汉华, 等. CT 征象联合临床病理特征对甲状腺微小乳头状癌中央区淋巴结转移的预测价值[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2022, 29(6): 738–742.

Pan M, Huang Y, Wang HH, et al. Prediction of lymph node metastasis in central group of thyroid papillary microcarcinoma by CT signs combined with clinicopathological features[J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2022, 29(6): 738–742.

[11] 闫雪, 段宇龙, 徐建林, 等. 甲状腺乳头状癌彩超血流参数及临床病理与颈部淋巴结转移的关系[J]. *实用癌症杂志*, 2021, 36(11): 1795–1798.

Yan X, Duan YL, Xu JL, et al. Relationship between blood flow parameters of color Doppler ultrasound, clinicopathology and cervical lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma[J]. *Pract J Cancer*, 2021, 36(11): 1795–1798.

[12] 江晶晶, 王建华, 丁文波, 等. FNAC 联合 *BRAF*<sup>V600E</sup> 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.

Jiang JJ, Wang JH, Ding WB, et al. Diagnostic significance of fine needle aspiration cytology combined with *BRAF*<sup>V600E</sup> gene detection in cervical lymph node metastasis of thyroid cancer[J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2018, 25(9): 1083–1086.

[13] 罗定远, 欧阳能太. 甲状腺癌分子诊断的现状与展望[J]. *临床外科杂志*, 2020, 28(3): 285–288.

Luo DY, Ouyang NT. The status and trends of molecular diagnosis in

thyroid cancer[J]. *J Clin Surg*, 2020, 28(3): 285–288.

[14] Xing MZ. Genetic-guided risk assessment and management of thyroid cancer[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019, 48(1): 109–124.

[15] Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, et al. Kinase-dead *BRAF* and oncogenic *RAS* cooperate to drive tumor progression through *CRAF* [J]. *Cell*, 2010, 140(2): 209–221.

[16] Moulana FI, Priyani AAH, de Silva MVC, et al. *BRAF*–oncogene–induced senescence and the role of thyroid–stimulating hormone signaling in the progression of papillary thyroid carcinoma[J]. *Horm Cancer*, 2018, 9(1): 1–11.

[17] Givens DJ, Buchmann LO, Agarwal AM, et al. *BRAF*<sup>V600E</sup> does not predict aggressive features of pediatric papillary thyroid carcinoma[J]. *Laryngoscope*, 2014, 124(9): E389–E393.

[18] 朱长雨, 顾梅, 党受涛, 等. 甲状腺乳头状癌临床病理学特征与 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因突变相关性研究[J]. *中国实用外科杂志*, 2019, 39(3): 237–239.

Zhu CY, Gu M, Dang ST, et al. Correlation between clinicopathological features and *BRAF*<sup>V600E</sup> gene mutation in papillary thyroid carcinoma[J]. *Chin J Pract Surg*, 2019, 39(3): 237–239.

[19] Zhang XC, Liang ZY, Wang SY, et al. Application of next-generation sequencing technology to precision medicine in cancer: joint consensus of the Tumor Biomarker Committee of the Chinese Society of Clinical Oncology[J]. *Cancer Biol Med*, 2019, 16(1): 189–204.

[20] 邵岚, 王文娟, 石志永, 等. EGFR T790M 突变丰度对奥希替尼治疗晚期非小细胞肺癌疗效的影响[J]. *肿瘤学杂志*, 2020, 26(7): 575–581.

Shao L, Wang WX, Shi ZY, et al. Relationship between abundance of EGFR T790M mutation and efficacy of osimertinib in treatment of advanced non-small cell lung cancer patients[J]. *J Chin Oncol*, 2020, 26(7): 575–581.

[21] 徐含烟, 赖茜茜, 苏珊珊, 等. 晚期肺癌患者血浆表皮生长因子受体突变丰度与表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂疗效的相关性研究[J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(1): 49–55.

Xu HY, Lai QQ, Su SS, et al. Plasma relative abundance of epidermal growth factor receptor mutations predicts clinical response to epidermal growth factor receptor–tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced lung adenocarcinoma[J]. *Chin J Intern Med*, 2019, 58(1): 49–55.

[22] 骆鹏飞, 穆夏黎, 焦大海, 等. 甲状腺结节细针穿刺细胞学检查标本充分性的影响因素[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(24): 1913–1916.

Luo PF, Mu XL, Jiao DH, et al. Influencing factors of adequacy of fine needle aspiration cytological examination specimens for thyroid nodules[J]. *Natl Med J China*, 2020, 100(24): 1913–1916.

[23] 贺青卿, 于芳, 范子义, 等. 单中心 2038 例甲状腺癌 20 年随访及危险因素分析[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2022, 16(1): 18–22.

He QQ, Yu F, Fan ZY, et al. Risk factor analysis of 20-year follow-up of 2038 cases of thyroid cancer: a single center study[J]. *Chin J Endocr Surg*, 2022, 16(1): 18–22.

(责任编辑: 冉明会)