

BRAF 基因突变辅助甲状腺结节诊断为甲状腺乳头状癌的价值研究进展



唐恋莎^{1,2}, 何文博², 刘枫¹

1. 四川大学华西医院甲状腺外科(成都 610041)

2. 四川大学华西临床医学院(成都 610041)

【摘要】 目的 总结 BRAF 基因突变辅助甲状腺结节诊断为甲状腺乳头状癌(PTC)的价值研究进展。方法 收集近年来国内外有关 BRAF 基因突变及其联合细针穿刺细胞学检查(FNAC)诊断甲状腺良恶性结节、PTC 的相关文献并作综述。结果 BRAF 基因突变是 PTC 遗传分子中最常见的基因突变类型, BRAF 基因检测联合 FNAC 可以提高甲状腺良恶性结节特别是 PTC 诊断的准确性, 但 BRAF 基因突变检测阴性也并不能排除 PTC 的可能, BRAF 基因突变检测对鉴别甲状腺结节良恶性仍存在一定的争议。结论 BRAF 基因突变检测在不同类别的甲状腺结节中诊断价值不同, 在其突变发生率较高类别的甲状腺结节(可疑的恶性肿瘤、意义不明确的细胞非典型性病变或滤泡性病变结节)中具有较高的诊断价值, 而在突变发生率极低类别的甲状腺结节中很大程度上会出现假阴性, 尽管如此, BRAF 基因检测还是有望成为提高 PTC 诊断率的高特异性诊断分子标志物。

【关键词】 BRAF 基因突变; 甲状腺结节; 甲状腺乳头状癌; 辅助诊断

Research advance on value of BRAF gene mutation assisted diagnosis of thyroid papillary carcinoma in thyroid nodule

TANG Liansha^{1,2}, HE Wenbo², LIU Feng¹

1. Department of Thyroid Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, P. R. China

2. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, P. R. China

Corresponding author: LIU Feng, Email: liufenghxr@163.com

【Abstract】 Objective To investigate research advance on the value of B-type RAF kinase (BRAF) gene mutation assisted diagnosis of papillary thyroid cancer (PTC) in thyroid nodule. **Method** The recent literatures on the BRAF gene mutation and its combination with fine needle aspiration cytology (FNAC) in the diagnosis of benign and malignant thyroid nodules and PTC were collected and reviewed. **Results** The BRAF^{V600E} gene mutation was the most common type of gene mutation in the genetic molecule of PTC. The combination of the FNAC and BRAF gene mutation detection could improve the diagnostic value of the benign and malignant thyroid nodules, especially the diagnostic accuracy of PTC. However, the negative detection of BRAF gene mutation did not rule out the possibility of PTC. It still remained controversial that the detection of BRAF gene mutation could differentiate between the benign and malignant thyroid nodules. **Conclusions** BRAF gene mutation detection has different diagnostic values in different types of thyroid nodules. It has considerable diagnostic value in thyroid nodules with high BRAF mutation incidence (suspicious for malignancy, undetermined significance or follicular lesion of undetermined significance nodules) while presents false negative result in thyroid nodule with very low mutation incidence category to a large extent. BRAF gene detection might become a specific diagnostic molecular marker to promote diagnosis accuracy of PTC.

【Keywords】 BRAF gene mutation; thyroid nodule; thyroid papillary cancer; assisted diagnosis

甲状腺结节是迄今为止最常见的内分泌疾病。大约 5% 的女性和 1% 的男性有可触到的甲状

腺结节, 当年龄达到 60 岁时约有 50% 的人至少有 1 枚甲状腺结节; 而在针对其他疾病进行颈部彩超、计算机断层扫描或磁共振成像检查时报告的“甲状腺偶发瘤”的患病率高达 70%, 在这些甲状腺结节中, 良性占大半, 预后良好, 终身不需手术,

DOI: 10.7507/1007-9424.201902069

通信作者: 刘枫, Email: liufenghxr@163.com

但有 7% ~ 15% 为甲状腺癌^[1]。甲状腺癌中最常见的类型是甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid cancer, PTC), 占 80% ~ 90%^[2-3]。细针穿刺细胞学检查 (fine needle aspiration cytology, FNAC) 是术前鉴别甲状腺结节良恶性的金标准, 但其检查结果中有 10% ~ 30% 的甲状腺结节由于受多灶、大小、细胞病理学家的经验、恶性肿瘤细胞形态特征的混杂、取材不足等多种因素的影响而仍不能确定其良恶性性质, 在不确定性结节的术后病理结果中发现仅 20% ~ 25% 为甲状腺癌, 而其余的 75% ~ 80% 患者有可能接受了不必要的甲状腺手术^[4-6]。因此, 目前需要敏感性更高的检测手段来提高甲状腺良恶性结节诊断的精确性, 从而避免良性结节患者接受过度治疗^[7-11]。目前有大量 FNAC 联合 BRAF 基因突变应用于 PTC 的术前诊断和预后评估的研究^[12-16], 但对其作为常规检测用于术前诊断 PTC 存在一定的争议, 特别是对于鉴别不确定性质的良恶性结节的诊断价值有不同的观点^[4, 17]。笔者现将针对 BRAF 基因突变对良恶性结节及 PTC 的诊断相关研究进展进行总结分析。

1 BRAF^{V600E} 基因突变与 PTC

BRAF 基因又称鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B1, 属于 RAF 基因家族, 位于人染色体 7q34, 长约 190 kb, 是 RET 和 RAS 的下游信号分子, 其编码的 BRAF 蛋白是 RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK 信号通路的关键要素, 也是 MAPK 信号通路中最强的激活因子, 该信号通路具有调节细胞的生长、增殖和凋亡的重要作用, 其激活后可能导致肿瘤的发生^[5]。目前发现的 BRAF 基因突变类型已经超过 40 种, 最为常见的是位于第 15 外显子 T1799A 位点的 V600E 变异, 占全部突变的 90%, 因而又将 BRAF^{V600E} 基因突变称为 BRAF 基因突变。

随着对甲状腺癌分子机制的深入研究发现, BRAF 基因突变是促使 PTC 形成与进展的重要分子改变, 是迄今为止研究中比较明确的 PTC 形成的主要原因^[18]。现有研究^[19]表明, BRAF 基因突变仅发生于 PTC 和 PTC 起源的未分化甲状腺癌, 而在甲状腺滤泡癌、甲状腺髓样癌及甲状腺良性病变 (腺瘤、增生等) 中均未发现有该基因突变。在不同国家、不同研究^[18-22]的报道中, BRAF^{V600E} 基因在 PTC 中的突变率不同, 突变率范围为 29% ~ 90%, 其中高达 90% 的突变率是最近韩国的一项研究^[22]采用免疫组织化学法检测 PTC 的 BRAF 基因突变报道的, 多数的研究报道 BRAF 基因突变率为

40% ~ 50%, 其突变率范围之所以较大, 有学者^[19-22]推测其可能与种族差异、环境因素、特定人群的遗传倾向、区域差异、疾病的不同阶段、基因检测手段、测序方法的不同、样本大小、组织获取等的差异有关。

2 BRAF 基因突变辅助诊断甲状腺结节为 PTC 的特异性

BRAF 基因突变在 PTC 中具有较高的突变率, 即使是微小的 PTC 也能通过分子学检出 BRAF 基因突变^[6]; 且 BRAF 基因突变仅见于 PTC 或 PTC 起源的未分化甲状腺癌, 而良性病变组织、正常甲状腺组织中不存在这一基因突变, 因此其具有非常高的特异性^[19]。Collet 等^[23]对 97 例 FNAC 诊断为 PTC 的甲状腺结节行 BRAF 基因突变检测, 发现 BRAF 基因突变诊断 PTC 的特异性和阳性预测值为 100%。有 2 篇 meta 分析^[4, 15]结果同样显示 BRAF 基因突变检测对甲状腺结节诊断 PTC 的特异性接近 100%。同时也有研究^[24-25]证明, 几乎所有 BRAF 基因突变阳性的甲状腺结节经甲状腺切除术后病理诊断均为 PTC。因此, 如果甲状腺结节 FNAC 的检查结果为不典型或难以确诊但 BRAF 基因突变检测为阳性者几乎就可以确诊为 PTC^[26]。由此可见, BRAF 基因突变可作为辅助诊断 PTC 的指标, 对 PTC 的诊断具有高度的特异性, 对甲状腺结节恶性肿瘤有非常高的阳性预测价值^[27-28]。

3 BRAF 基因突变对不明确性质甲状腺结节辅助诊断为 PTC 的敏感性

现有研究中 PTC 的 BRAF 基因突变率浮动范围非常大, 为 29% ~ 90%, BRAF 基因突变检测诊断 PTC 的敏感性为 0.09 ~ 0.60^[4, 14-15, 17], 不如特异性高, 对于 BRAF 基因突变检测用于不确定性质甲状腺结节术前辅助诊断 PTC 的诊断价值存在一定争议^[29]。Jia 等^[4]纳入 16 项研究 1 131 例不明确性质甲状腺结节的 meta 分析显示, BRAF 基因突变检测对不明确性质甲状腺结节辅助诊断 PTC 的敏感度为 0.60 [95% CI (0.556, 0.634)], 特异性为 0.99 [95% CI (0.976, 0.997)], 认为 BRAF 基因突变具有辅助诊断价值; 而 Trimboli 等^[17]纳入 8 项研究的 meta 分析显示, 在 1 361 例不明确性质的甲状腺结节中 BRAF 基因突变仅 43 例, 阳性率极低, 认为 BRAF 基因突变的诊断价值非常有限。这两项研究产生相左结论的原因可能有以下几点: ① 研究包括的病例数量有限; ② 没有对不确定性质结节的类别

进行系统地分层；③ 不同类别的不确定性结节中 BRAF 基因突变的突变率及敏感性不同。

目前采用国际公认的 Bethesda 甲状腺细胞病理学报告系统^[30]将不确定性结节分为 6 个类别，分别是：① 标本无法诊断或不满意；② 良性；③ 意义不明的细胞非典型性病变或滤泡性病变 (AUS/FLUS)；④ 滤泡性肿瘤或可疑的滤泡性肿瘤 (FN/SFN)；⑤ 可疑的恶性肿瘤 (SMC)；⑥ 恶性。不同类别的结节中恶性肿瘤发病率在 SMC、AUS/FLUS、FN/SFN 中分别为 60%~75%、7%~48%、15%~30%^[30]。Su 等^[14]纳入了 88 项研究进行 meta 分析，对不同类别结节进行了系统分层，其 meta 分析结果证实了不同类别结节 SMC、AUS/FLUS、FN/SFN 中 BRAF 基因突变率各不相同 (分别为 43.2%、13.77%、4.43%)，而这些结节中 BRAF 基因突变诊断 PTC 的敏感性高低顺序 (分别为 59.4%、40.1%、19.5%) 与其基因突变率顺序一致；Jin 等^[15]纳入 32 项研究包括 3 150 例不确定性结节的 meta 分析结果显示，在 SMC、AUS/FLUS、FN/SFN 结节中 BRAF 基因诊断 PTC 的敏感性分别为 0.58、0.21、0.09。通过对目前的研究分析来看，BRAF 基因突变在不同类别的结节中有不同突变率及敏感性，在 SMC、AUS/FLUS 结节中呈现较高的敏感性是因为其较高的 BRAF 基因突变率，而高敏感性也与其恶性肿瘤发病率基本相符；在 FN/SFN 结节中的低敏感性、低突变率均低于其恶性肿瘤发病率，这可能是 BRAF 基因突变用于鉴别甲状腺结节良恶性性质以及 PTC 术前辅助诊断有效性评估存在一定争议的原因。

4 BRAF 基因突变阴性对不明确性质甲状腺结节辅助诊断良恶性及 PTC 的分析

文献报道在 FN/SFN 结节中，BRAF 基因突变阴性发生率约为 70%^[31]，在 PTC 中 BRAF 基因突变的假阴性率约为 18%^[32]。我们对 FN/SFN 结节和 PTC 中对 BRAF 基因突变的阴性率进行分析。

在 FN/SFN 结节中 BRAF 基因突变出现较高的阴性可能是因为 FN/SFN 结节主要由多种组成成分 (滤泡细胞变异 PTC，滤泡性甲状腺癌，腺瘤样增生和滤泡性腺瘤) 组成。对滤泡细胞变异 PTC 和滤泡性甲状腺癌的遗传分子学研究^[33-34]表明，它们的 BRAF 基因突变率非常低，相反 RAS 突变率较高，RAS 突变在滤泡性甲状腺癌中最高 (45%)，在滤泡细胞变异 PTC 中为 26%~45%，滤泡性腺瘤中较低 (30%)，故 FN/SFN 结节中 BRAF 基因的低

突变率、RAS 高突变率可能是其假阴性结果的主要来源。最近，An 等^[35]报道，在相当多的 BRAF 基因突变阴性的不确定性结节中发现有 RAS61 基因突变，单一 RAS 突变分析不明确性质甲状腺结节就具有较高的敏感性 (93.3%) 和特异性 (75.0%)，采用 RAS 突变和 BRAF 突变联合分析可提高不确定性结节 60%~70% 的诊断率，而当与 FNAC 结合时，RAS61 突变分析在 AUS/FLUS 或 FN/SFN 结节中对滤泡细胞变异 PTC 具有高度预测性，但 RAS 突变在良性滤泡性腺瘤中也有突变，因此也存在假阳性的可能。

对于 PTC 中出现的假阴性来说，PTC 中除 BRAF 基因突变和 RAS 基因突变外，还包括 RET-PTC、PI3K、PTEN、PAX8-PPAR γ 重排等遗传分子突变^[36]，这些多种遗传分子突变可能是 PTC 中 BRAF 基因突变出现阴性的原因。而测试其他遗传分子 RET-PTC、PAX8-PPAR γ 等改变也可能有助于改善对不明确性质的甲状腺结节的良恶性及 PTC 的诊断^[33,36]。

但迄今为止，还未发现用于诊断不明确性质的甲状腺结节的兼顾敏感性和特异性的分子标志物^[31,36]。最近，Brown 等^[37]研究表明，对怀疑是恶性肿瘤但没有测出基因突变结节的 FNAC 上清液进行 BRAF 基因突变检测，可以将 PTC 诊断率提高 9%。因此，对于不明确性质的甲状腺结节的诊断检测还有待进一步研究。

5 小结与展望

BRAF 基因突变在甲状腺结节的发生及发展中发挥着重要作用。在 FNAC 的基础上，增加 BRAF 基因突变检测将有助于提高甲状腺恶性结节特别是 PTC 的确诊率，对其诊断具有高度的特异性。尽管 BRAF 基因检测用于诊断 PTC 的敏感性不如特异性高并有一定的假阴性，但其敏感性与其 BRAF 基因突变发生率基本一致。在不确定性结节的结节中，BRAF 基因突变检测在其突变发生率高的结节 (SMC、AUS/FLUS 结节) 中具有较高的诊断价值，而在突变发生率极低的 FN/SFN 结节中很大程度上会出现假阴性。综合来看，BRAF 基因检测有望成为提高甲状腺结节诊断为 PTC 的诊断率的高特异性的诊断分子标志物。

重要声明

利益冲突声明：本文全体作者阅读并理解了《中国普外基础与临床杂志》的政策声明，我们没有相互竞争的利益。

作者贡献声明：唐恋莎起草论文初稿，何文博协助起草

论文初稿,刘枫修改指导论文并对文章的知识性内容作批评性审阅。

参考文献

- Paschou SA, Vryonidou A, Goulis DG. Thyroid nodules: a guide to assessment, treatment and follow-up. *Maturitas*, 2017, 96: 1-9.
- Brito JP, Al Nofal A, Montori VM, *et al.* The impact of subclinical disease and mechanism of detection on the rise in thyroid cancer incidence: A population-based study in Olmsted County, Minnesota during 1935 through 2012. *Thyroid*, 2015, 25(9): 999-1007.
- Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(3): 184-199.
- Jia Y, Yu Y, Li X, *et al.* Diagnostic value of B-RAF^{V600E} in difficult-to-diagnose thyroid nodules using fine-needle aspiration: systematic review and meta-analysis. *Diagn Cytopathol*, 2014, 42(1): 94-101.
- Tang KT, Lee CH. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: pathogenic role and clinical implications. *J Chin Med Assoc*, 2010, 73(3): 113-128.
- Zhong LC, Lu F, Ma F, *et al.* Ultrasound-guided fine-needle aspiration of thyroid nodules: does the size limit its efficiency? *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3): 3155-3159.
- Cha YJ, Pyo JY, Hong S, *et al.* Thyroid fine-needle aspiration cytology practice in Korea. *J Pathol Transl Med*, 2017, 51(6): 521-527.
- 于波洋, 杨盼, 马步云, 等. 甲状腺乳头状癌 BRAF 基因表达及侵袭性研究. *中国普外基础与临床杂志*, 2015, 22(7): 795-798.
- 田文, 姚京. 甲状腺结节的临床评估. *中国普外基础与临床杂志*, 2014, 21(9): 1066-1069.
- Fuller MY, Mody D, Hull A, *et al.* Next-generation sequencing identifies gene mutations that are predictive of malignancy in residual needle rinses collected from fine-needle aspirations of thyroid nodules. *Arch Pathol Lab Med*, 2018, 142(2): 178-183.
- Decaussin-Petrucci M, Descotes F, Depaepae L, *et al.* Molecular testing of BRAF, RAS and TERT on thyroid FNAs with indeterminate cytology improves diagnostic accuracy. *Cytopathology*, 2017, 28(6): 482-487.
- Wang Z, Chen JQ, Liu JL, *et al.* Clinical impact of BRAF mutation on the diagnosis and prognosis of papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Invest*, 2016, 46(2): 146-157.
- Fraser S, Go C, Aniss A, *et al.* BRAF^{V600E} mutation is associated with decreased disease-free survival in papillary thyroid cancer. *World J Surg*, 2016, 40(7): 1618-1624.
- Su X, Jiang X, Xu X, *et al.* Diagnostic value of BRAF^{V600E} mutation analysis in fine-needle aspiration of thyroid nodules: a meta-analysis. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 2495-2509.
- Jin M, Foley N, Osho O, *et al.* BRAF^{V600E} mutation as a predictor of thyroid malignancy in indeterminate nodules: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*, 2017, 43(7): 1219-1227.
- 杨敬, 严淑萍, 龚艳萍, 等. BRAF^{V600E} 基因突变与中国甲状腺乳头状癌患者临床病理学特征间关系的 Meta 分析. *华西医学*, 2016, 31(3): 467-479.
- Trimboli P, Treglia G, Condorelli E, *et al.* BRAF-mutated carcinomas among thyroid nodules with prior indeterminate FNA report: a systematic review and meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2016, 84(3): 315-320.
- Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, *et al.* Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer. *JAMA*, 2013, 309(14): 1493-1501.
- Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications. *Endocr Rev*, 2007, 28(7): 742-762.
- Lee SE, Hwang TS, Choi YL, *et al.* Molecular profiling of papillary thyroid carcinoma in Korea with a high prevalence of BRAF thyroid, 2017, 27(6): 802-810.
- Chen D, Qi W, Zhang P, *et al.* Investigation of BRAF V600E detection approaches in papillary thyroid carcinoma. *Pathol Res Pract*, 2018, 214(2): 303-307.
- Kim JK, Seong CY, Bae IE, *et al.* Comparison of immunohistochemistry and direct sequencing methods for identification of the BRAF^{V600E} mutation in papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25(6): 1775-1781.
- Collet JF, Lacave R, Hugonin S, *et al.* BRAF V600E detection in cytological thyroid samples: A key component of the decision tree for surgical treatment of papillary thyroid carcinoma. *Head Neck*, 2016, 38(7): 1017-1021.
- Zhang B, Liu S, Zhang Z, *et al.* Analysis of BRAF^{V600E} mutation and DNA methylation improves the diagnostics of thyroid fine needle aspiration biopsies. *Diagn Pathol*, 2014, 9: 45.
- Krane JF, Cibas ES, Alexander EK, *et al.* Molecular analysis of residual ThinPrep material from thyroid FNAs increases diagnostic sensitivity. *Cancer Cytopathol*, 2015, 123(6): 356-361.
- Hassel LA, Gillies EM, Dunn ST. Cytologic and molecular diagnosis of thyroid cancers: is it time for routine reflex testing? *Cancer Cytopathol*, 2012, 120(1): 7-17.
- Pongsapich W, Chongkolwatana C, Pongvarin N, *et al.* BRAF mutation in cytologically indeterminate thyroid nodules: after reclassification of a variant thyroid carcinoma. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 1465-1473.
- 章美武, 张燕, 范晓翔, 等. 甲状腺细针穿刺细胞学联合 BRAF 基因检测的诊断价值. *介入放射学杂志*, 2017, 26(7): 622-626.
- Kim DS, Kim DW, Heo YJ, *et al.* Utility of including BRAF mutation analysis with ultrasonographic and cytological diagnoses in ultrasonography-guided fine-needle aspiration of thyroid nodules. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0202687.
- Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid*, 2017, 27(11): 1341-1346.
- Nikiforov YE, Otori NP, Hodak SP, *et al.* Impact of mutational testing on the diagnosis and management of patients with cytologically indeterminate thyroid nodules: a prospective analysis of 1056 FNA samples. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(11): 3390-3397.
- Paek SH, Kim BS, Kang KH, *et al.* False-negative BRAF V600E mutation results on fine-needle aspiration cytology of papillary thyroid carcinoma. *World J Surg Oncol*, 2017, 15(1): 202.
- de Koster EJ, de Geus-Oei LF, Dekkers OM, *et al.* Diagnostic utility of molecular and imaging biomarkers in cytological indeterminate thyroid nodules. *Endocr Rev*, 2018, 39(2): 154-191.
- Park JY, Kim WY, Hwang TS, *et al.* BRAF and RAS mutations in follicular variants of papillary thyroid carcinoma. *Endocr Pathol*, 2013, 24(2): 69-76.
- An JH, Song KH, Kim SK, *et al.* RAS mutations in indeterminate thyroid nodules are predictive of the follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2015, 82(5): 760-766.
- Nikiforov YE. Role of molecular markers in thyroid nodule management: then and now. *Endocr Pract*, 2017, 23(8): 979-988.
- Brown AE, Lim KS, Corpus G, *et al.* Detection of BRAF mutation in the cytocentrifugation supernatant fluid from fine-needle aspiration of thyroid lesions may enhance the diagnostic yield. *Cytojournal*, 2017, 14: 4.

收稿日期: 2019-02-27 修回日期: 2019-05-13

本文编辑: 李缨来/蒲素清