

多发性内分泌腺瘤病 2A 型家系 RET 基因突变筛查的临床意义

丁 燕¹, 冯 俊², 应荣彪²

(1. 台州市中心医院, 浙江 台州 317000; 2. 台州市肿瘤医院, 浙江省肿瘤医院台州院区, 浙江 台州 317502)

摘要: [目的] 探讨多发性内分泌腺瘤病 2A 的临床诊治特点及 RET 原癌基因检测的意义。 [方法] 对 1 个 MEN2A 家系进行家系调查, 并提取外周血进行 RET 原癌基因测序和降钙素检测, 并绘制家系图。 [结果] 10 名家族成员均存在 RET 原癌基因第 11 外显子第 634 位点 TGC→TAC 杂合错义突变, 即 p.C634Y 突变, 其中病理确诊 MEN2A 患者 7 例, 另 3 名成员为该基因突变携带者。家系分析显示 III、IV、V 代中均有基因突变者, 并符合单基因显性遗传病的传递规律。经随访发现, 接受手术 4 例患者术后降钙素及 CEA 升高, 其中 3 例 B 超示甲状腺肿块, 1 例甲状腺残留。3 名基因突变携带者中, 2 名降钙素升高, 1 名经 B 超示双侧甲状腺小结节, 但降钙素水平正常。 [结论] 对 MEN2A 家系进行 RET 基因测序和降钙素检测, 有利于早期诊断以改善预后; 对无症状的 RET 基因突变携带者, 应根据其降钙素水平, 实施个体化的预防性甲状腺全切除或严密随访观察。

关键词: 多发性内分泌腺瘤病 2A 型; RET 原癌基因; 突变

中图分类号: R730.2 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2019)03-0234-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.03.B012

Clinical Significance of RET Proto-oncogene Screening in Family with Multiple Endocrine Neoplasia Type 2A

DING Yan¹, FENG Jun², YING Rong-biao²

(1. Taizhou Central Hospital, Taizhou 317000, China; 2. Taizhou Cancer Hospital, Taizhou Branch of Zhejiang Cancer Hospital, Taizhou 317502, China)

Abstract: [Objective] To explore the clinical significance of RET proto-oncogene screening in family with multiple endocrine neoplasia type 2A (MEN2A). [Methods] Comprehensive medical history was obtained from 23 members in a 5-generation family with MEN2A. The investigations included biochemical testing, imaging examinations and germline RET gene sequencing. [Results] The Cys(TGC)634Arg (CGC) missense mutation in exon 11 of the RET proto-oncogene were detected in 10 members of the family, among whom 7 were pathologically diagnosed as MEN2A, the other 3 were mutant gene carriers. Pedigree analysis showed that the III, IV, V generation had gene mutation in accordance with the rules of monogenic disease. During follow-up in 4 patients receiving operation, the calcitonin and CEA levels were elevated, and ultrasonography showed thyroid mass in 3 cases and thyroid remnant in 1 case. In 3 mutant gene carriers, calcitonin level was elevated in 2 cases, 1 case had normal calcitonin level and bilateral thyroid nodules in ultrasonography. [Conclusion] For the family with MEN2A, RET gene screening and determination of basal serum calcitonin are of value in early diagnosis, early treatment of MEN2A patients or in follow-up and monitoring of RET mutation carriers.

Subject words: multiple endocrine neoplasia type 2a; ret proto-oncogene; mutation

多发性内分泌腺瘤病 2 型 (multiple endocrine neoplasia syndrome type 2, MEN2), 又称 Sipple 综合征, 首先由 Sipple 于 1961 年发现^[1], 为常染色体显

性遗传病, 发病率约为 1/30 000^[2]。根据临床病理特征 MEN 2 分为三种亚型: MEN2A、家族性甲状腺髓样癌 (familial medullary thyroid carcinoma, FMTC) 和 MEN2B。其中 MEN2A 患者约占 MEN2 的 70%~80%。自 1993 年 Donis-keller 等^[3]首例报道 MEN2A 患者的 RET 基因学突变以来, 共有超过 100 个位点

通信作者: 应荣彪, 主任医师, 大学; 台州市肿瘤医院肿瘤外科, 浙江省温岭市新河新区 (317502); E-mail: yingrongbiao@163.com
收稿日期: 2018-08-16; 修回日期: 2019-01-30

突变的报告, MEN2A 突变主要集中在其中 8 个位点上。RET 原癌基因是迄今发现的惟一与 MEN2A 发病相关的基因, 检测种系水平的 RET 原癌基因突变已作为诊断 MEN2A 的重要手段。本研究回顾性分析 1 个 MEN2A 家系患者的临床诊治资料, 并对患者及其家系成员进行 RET 基因等相关分析。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1976~2013 年由台州市肿瘤医院肿瘤外科收集并临床随访的 1 个汉族 MEN2A 家系 4 代共 23 人(除外 4 例已死亡 MEN2A), 其中男性 15 人, 女性 8 人。年龄 10~65 岁。本研究经医院伦理委员会核准, 家系成员均知情同意。

1.2 RET 原癌基因突变检测方法

抽取 23 名家系成员外周血抗凝血 5 ml, DNA 提取、RET 基因的 PCR 扩增、鉴定、纯化和直接测序, 引物序列及实验步骤见文献^[4-6]。

1.3 组织病理学和临床病理分期

病理组织学分类和 TNM 分期参考文献^[7]; 免疫组化染色采用 MaxVision™ 法(美国 Maxim 公司), 操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.4 影像学检查和生化指标检测

影像学检查至少包括甲状腺、肾上腺和甲状旁腺 B 超/CT 等检查。血清降钙素、癌胚抗原(CEA)检测采用化学发光免疫分析法。

2 结果

2.1 家系调查结果

先证者(Ⅲ9), 女性, 29 岁发病(Figure 1)。1976 年因“左颈部肿块”于外院 B 超示左侧甲状腺肿块, 最大径 3.5 cm。行左侧甲状腺次全切除+左颈淋巴结清扫术, 术后病理报告: 左侧 MTC(pT2N0M0)。2013 年 2 月查 B 超示左侧甲状腺叶少量残留和右侧甲状腺未见明确结节, 颈部未见淋巴结肿大, 双侧肾上腺未见肿块; 血清降钙素 890.00ng/L(参考值男性 0~8.40ng/L, 女性 0~5.00ng/L); CEA10.06ng/ml(参考值 0~5.00ng/ml)。拒绝行预防性甲状腺切除手术, 严密随访。

先证者弟弟(Ⅲ10), 男性, 40 岁发病。1993 年因“左颈前肿块半年”入院, B 超示左侧甲状腺肿块, 最大径约 3.7cm。行左侧甲状腺腺叶切除术+左颈淋巴结清扫术。术后病理报告: 左侧 MTC(pT2N0M0)。2011 年 9 月 1 日因“体检发现双侧肾上腺肿块 10 天”入院。查 CT 检查示双侧肾上腺多发占位, 最大径右侧 5.5cm, 左侧 8.0cm; B 超示左侧甲状腺已切除, 右侧甲状腺肿块, 最大径 1.1cm, 颈部未见淋巴结肿大; 血清降钙素 635.00ng/L; CEA10.06ng/ml; CT 等检查未发现肺部、肝脏和骨骼转移。2011 年 9 月 17 日行双侧嗜铬细胞瘤切除术, 术后病理报告为双侧嗜铬细胞瘤。病人拒绝进一步行甲状腺手术。2013 年 2 月 B 超示左侧甲状腺已切除, 右侧甲状腺肿块, 最大径 1.4cm, 颈部未见淋巴结肿大, 双侧肾上腺未见肿块; 血清降钙素 714.00ng/L; CEA15.89ng/ml。病人仍拒绝行甲状腺手术(cT1N0M0), 严密随访。

先证者表弟(Ⅲ6), 男性, 45 岁发病。2002 年因“阵发性高血压 2 年”于外院查 B 超示右侧肾上腺占位, 最大径 8.0cm。行右侧嗜铬细胞瘤切除术, 术后病理报告为嗜铬细胞瘤。2012 年 4 月 2 日因“体检发现甲状腺肿块 1 周”入院。查 B 超示双侧甲状腺实质性占位, 最大径右侧 2.5cm, 左侧 0.6cm, 右侧锁骨上及颈部多发淋巴结, 左侧肾上腺占位, 最大径 3.0cm; 血清降钙素 1820.00ng/L; CEA89.83ng/ml; CT 等检查未发现肺部、肝脏和骨骼转移。2012 年 4 月 19 日行左侧嗜铬细胞瘤切除术, 术后病理报告为左侧嗜铬细胞瘤伴囊性变。2012 年 4 月 30 日行全甲状腺切除+双颈淋巴结清扫术, 术后病理报告为双侧 MTC 伴淋巴结转移(pT2N1bM0)。2013 年 2 月查 B 超示双侧甲状腺已切除, 颈部未见淋巴结肿大, 双侧肾上腺未见肿块; 血清降钙素 7.10ng/L; CEA1.69ng/ml。患者未诉有不适, 继续随访。

先证者表侄(Ⅳ1), 男性, 32 岁发病。2001 年出现阵发性高血压, 伴发作性头痛、心悸、出汗, 可自行缓解, 一直未系统诊治, 自服降压药物治疗, 血压控制不佳。2011 年 11 月 28 日因“上腹部隐痛 3 天”入院。查 B 超示发现双侧甲状腺多发占位伴部分钙化, 最大径右侧 0.8cm, 左侧 0.7cm; B 超/CT 检查示双侧肾上腺占位, 最大径左侧 4.4cm, 右侧 2.5cm; 血清降钙素 188.00ng/L; CEA6.89ng/ml; CT 等检查未发现肺部、肝脏和骨骼转移。2011 年 12 月 12 日行双侧嗜铬细胞瘤切除术。2011 年 12 月 25 日行全甲

腺切除+双颈淋巴结清扫术。术后病理报告为右侧 MTC, 左侧 PTC(pT1aN0M0)。2013 年 2 月查 B 超示双侧甲状腺已切除, 颈部未见淋巴结肿大, 双侧肾上腺未见肿块; 血清降钙素 <2.00ng/L; CEA 2.37ng/ml。患者未诉有不适, 继续随访。

先证者女儿(IV 11), 女性, 21 岁发病。1992 年因“左颈部肿块半年”入院。B 超示双侧甲状腺肿块, 最大径右侧 0.6cm; 左侧 3.1cm。行左侧甲状腺腺叶切除+左颈淋巴结清扫术。术后病理报告为左侧 MTC (pT2N0M0)。1998 年“右颈部肿块 2 月”入院。B 超示右侧甲状腺肿块, 最大径 2.4cm。行右侧甲状腺次全切除术+左颈淋巴结清扫术, 术后病理报告为右侧 MTC (pT2N0M0)。2013 年 2 月查 B 超示左侧甲状腺已切除, 右侧甲状腺肿块, 最大径 1.3cm, 双颈部未见淋巴结肿大, 双侧肾上腺未见肿块; 血清降钙素 478.00ng/L; CEA 5.94ng/ml。拒绝行残余甲状腺切除手术, 严密随访。

先证者侄子(IV 12), 男性, 29 岁发病。2002 年因“右颈部肿块 1 天”入院。B 超示双侧甲状腺肿块, 最大径右侧 2.1cm; 左侧 0.3cm。行右侧甲状腺腺叶切除术+右颈淋巴结清扫术。术后病理报告为右侧 MTC (T2N0M0)。2013 年 2 月 B 超示右侧甲状腺已切除, 左侧甲状腺不均质改变, 双颈部未见淋巴结肿大, 双侧肾上腺未见肿块; 血清降钙素 <2.00ng/L; CEA 1.78ng/ml。患者未诉有不适, 继续随访。

先证者侄子(IV 14), 男性, 24 岁发病。2002 年因“颈部肿块 3 月”入院, B 超示双侧甲状腺肿块, 最大径右侧 2.2cm; 左侧 3.0cm。行全甲状腺切除+双颈淋

巴结清扫术。术后病理报告为双侧 MTC (T2N0M0)。2013 年 2 月 B 超示右侧甲状腺已切除, 左侧残余甲状腺肿块, 最大径 1.5cm; 血清降钙素 623.00ng/L; CEA 15.20ng/ml。患者拒绝行残余甲状腺切除手术, 严密随访。

先证者侄子(IV 14)的儿子(V 5), 男性, 8 岁发病。2011 年 9 月因“RET 基因突变检测阳性”查 B 超示双侧甲状腺肿块, 右侧最大径 0.2cm, 左侧最大径 0.2cm; 血清降钙素 8.46ng/L。2013 年 2 月查 B 超示右侧甲状腺肿块, 最大径 0.2cm; 血清降钙素 4.19ng/L; CEA 12.1ng/ml。因拒绝行全甲状腺切除手术, 严密随访。

先证者表侄(IV 1)的儿子(V 1, 15 岁)和先证者侄子(IV 14)的儿子(V 4, 12 岁)RET 基因突变检测阳性, 2011 年 9 月查 B 超示双侧甲状腺均未见明确占位病变, V 1 血清降钙素 8.98 ng/L, V 4 血清降钙素 23.70 ng/L, 为 RET 基因突变携带者。2013 年 2 月查 B 超示双侧甲状腺均未见明确占位病变, V 1 血清降钙素 9.51ng/L, V 4 血清降钙素 14.50ng/L。已随访 17 个月, 均再次拒绝行预防性全甲状腺切除手术, 严密随访。

所有患者术后均接受甲状腺激素替代和/或在双侧甲状腺切除后预防性补充钙剂及维生素 D3, 甲状腺和甲状旁腺功能正常。

2.2 RET 原癌基因检测结果

23 名家系成员中共 10 例存在 RET 基因第 11 号外显子第 634 位点半胱氨酸→酪氨酸 (TGC→TAC) 杂合错义突变即 p.C634Y 突变 (Figure 2)。其中 8 例为 MEN2A 患者, 2 例 (V 1 和 V 4) 为无症状

的 p.C634Y 携带者, 其余 13 例家系成员既无 RET 基因突变, 也无 MTC 的临床表现和影像学、降钙素水平的异常。另外, 2 例患者先前经手术和病理确诊为 MTC, 因已故, RET 基因未能实施检测。RET 基因突变检测结果与临床、病理确诊病例完全相符。

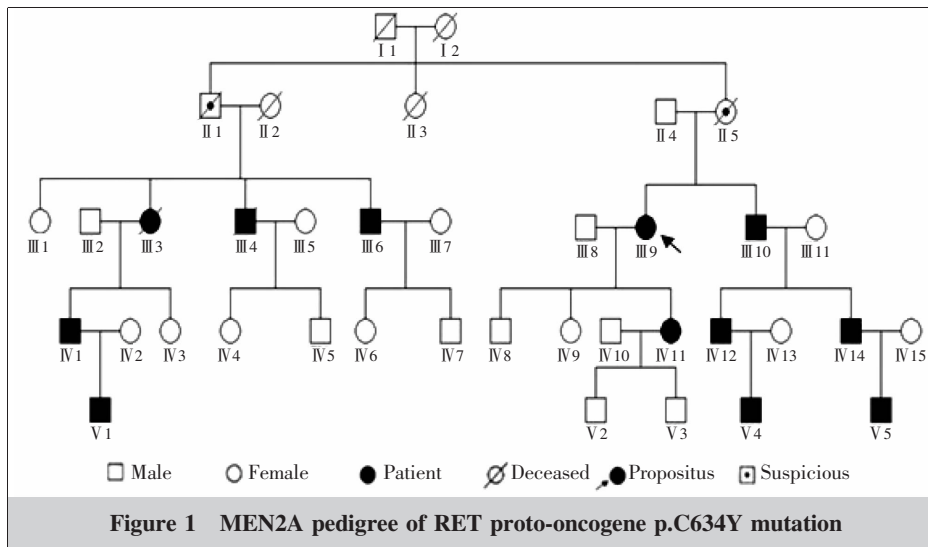
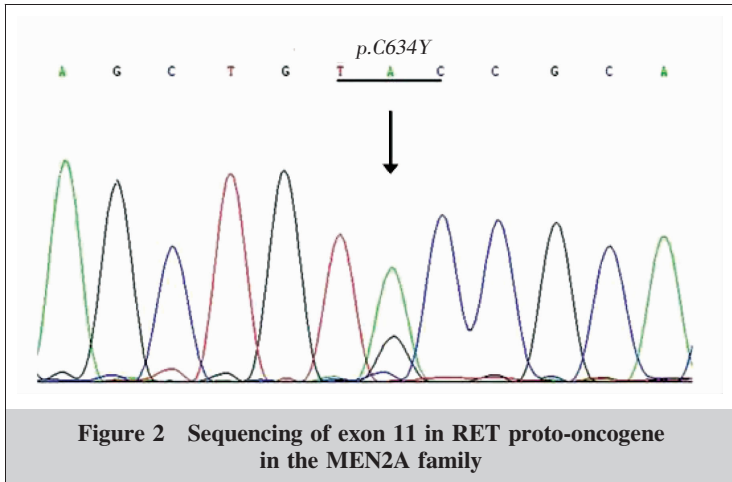


Figure 1 MEN2A pedigree of RET proto-oncogene p.C634Y mutation

3 讨论

MEN2A 是一类常染色



体显性遗传的单基因疾病，外显率几乎高达 100%，主要表现为甲状腺髓样癌(MTC)，嗜铬细胞瘤(PHEO)和甲状旁腺功能亢进症(HPT)。几乎所有的 MEN2A 均由 RET 原癌基因突变引起的，迄今为止尚未发现 RET 以外的基因突变^[8]。93%~98% MEN2A 由 RET 原癌基因第 10 号外显子 609、611、618、620 位密码子或第 11 号外显子 634 位密码子发生单个碱基替换突变，其中 87% 为 634 密码子突变，最常见类型是 C634R(TGC→CGC)，占 52%；其次为 C634Y(TGC→TAC)，占 25%^[9]。因此，在对 MEN2A 家系进行基因筛查时，可优先对这些常见外显子进行 RET 基因检测。本家系患者有 MTC 和/或肾上腺嗜铬细胞瘤，无骨骼、肌肉、神经黏膜异常症状，随访至今均未发现甲状旁腺功能亢进，RET 基因检测示 p.C634Y，为常见的 MEN2A 突变类型，临床表现和基因诊断均支持 MEN2A。

MTC 是诊断 MEN2A 的关键，主要临床表现为甲状腺无痛性肿块，多呈双侧、多中心性，血清降钙素可升高或有腹泻、四肢酸软等表现。患者就诊时大多已进展为 MTC 或伴有颈部淋巴结转移，影像学检查特别是颈部和上纵膈 B 超检查有助于诊断，如怀疑局部淋巴结已有转移和/或降钙素>400ng/L，需进一步行颈胸部、肝脏 CT 检查和 ECT 骨扫描^[10]。本组家系中 6 例甲状腺手术患者仅有 1 例(Ⅲ6)伴淋巴结转移，与文献报道不同。分析原因，伴淋巴结转移患者术前血清降钙素高达 1820.00ng/L，明显高于 400.00ng/L，而其他 5 例患者中 1 例(Ⅳ1)血清降钙素 188.00ng/L，余下 4 例限于当时医疗条件均未行术前血清降钙素测定，根据 2009 年美国甲状腺学会

(ATA)指南，推断可能无淋巴结转移患者术前血清降钙素均<400ng/L。

手术治疗 MTC 的效果对预后有着举足轻重的影响，规范的手术操作可使患者获得长期完全缓解。2009 年 ATA 将 RET 基因突变位点与 MEN2A 患病风险的关联性评估分为 4 级(ATA-A~D)^[11]：(1)随着 ATA-A→D 分级升高，MTC 发生和进展的风险逐渐升高；(2)临床上应根据 RET 基因突变检测结果(基因型)进行 MEN2A 的危险分层外科手术；(3)对 ATA-C 级 RET-C634Y 位点突变携带者，可考虑 5 岁前进行

预防性甲状腺全切除术；(4)对术前颈部 B 超提示无淋巴结转移且降钙素<400ng/L，行全甲状腺切除+双侧中央区淋巴结清扫术；若有局部淋巴结转移或降钙素>400ng/L，继续检查胸部、颈部、肝脏 CT 或 MRI 及 ECT，无远处转移或仅微小的远处转移，应行双侧甲状腺全切除术+双侧 VI 区或+至少转移侧的颈部淋巴结清扫术；若出现严重的远处转移，对影响呼吸或为解除局部疼痛可行姑息性颈部手术治疗或其他姑息治疗。本家系 2 例 MEN2A 患者(Ⅲ9，Ⅳ11)因早年对 MTC 认识不足致手术范围不足，术后存在甲状腺组织残余，而Ⅳ14 并未真正做到双侧甲状腺全切除术，推测原术中可能残留微小的甲状腺组织，术后出现代偿性增大或原术中残留着较大的甲状腺组织。近期复查血清降钙素均明显高于 150ng/L，考虑术后复发或转移^[11]。而 2 例(Ⅲ6，Ⅳ1)行规范性全甲状腺切除+双颈淋巴结清扫术患者近期血清降钙素水平均在正常范围之内。可以推断若 MTC 患者存在残余甲状腺组织，术后则很难达到完全缓解，并导致再次手术风险加大。对于存在甲状腺组织残留的 MEN2A 患者应密切监测血清降钙素水平及颈部 B 超检查，并尽早行甲状腺补充切除手术，目标为防止残余甲状腺组织引起的 MTC 复发及转移。若血清降钙素>150ng/L 则再次手术获益明显降低。

虽然大多数 MEN2A 型患者因发现颈部肿物前来就诊，但本家系中先证者表弟(Ⅲ6)及其表侄(Ⅳ1)却非因发现颈部肿块首诊，而是因发作性高血压首诊，这可能因 PHEO 所致阵发性高血压，头痛、头晕、心悸等症状引起患者重视，而甲状腺髓样癌病变虽

然发生早,但临床症状不明显,故常发现较迟,多在就诊后的检查中发现。进一步说明对 MEN2A 家系成员进行 RET 基因突变筛查和血清降钙素监测以期早期发现 MTC 的重要性。

手术切除肿瘤病灶是 MEN2A 患者治疗肾上腺嗜铬细胞瘤的首选方法,尤其必须在 MTC 手术前先行切除嗜铬细胞瘤。即使嗜铬细胞瘤无症状,也应该先处理嗜铬细胞瘤。若先行甲状腺手术,可能导致围手术期出现严重的并发症,甚至威胁生命。由于超过 50% 的嗜铬细胞瘤为双侧性,一般采用双侧肾上腺切除术或保留肾上腺皮质的肾上腺切除术,但这两种手术后肾上腺肿瘤复发率并无显著性差异,而后者能避免激素替代和 Addison 综合征危象^[12],故保留肾上腺皮质的肾上腺切除术更为可取。本家系合并 PHEO 患者均先行肾上腺嗜铬细胞瘤手术,经过术前有效降压、充分扩容,术中尽量避免挤压瘤体,手术风险得到有效控制。

对于 RET 基因突变携带者但无相关临床表现者,预防性甲状腺切除手术前应行降钙素检测,并行颈部超声检查。根据 2009 年(ATA)指南^[11],若所有甲状腺结节直径均小于 5mm,降钙素 <40ng/L,且无淋巴结转移者仅行全甲状腺切除术即可。如 V5,虽经 17 个月随访甲状腺结节无增大且血清降钙素已将至正常水平,仍需考虑行预防性全甲状腺切除术,但无需行中央区淋巴结清扫,因为降钙素 <30ng/L 时肿瘤基本局限在甲状腺包膜内而无淋巴结转移^[11,13]。对 V1 和 V4 随访,血清降钙素略高于正常水平但影像学检查仍无临床表现,依据 Elisei 等^[13]最新研究结论,V4 应行预防性全甲状腺切除术,而 V1 为谨慎考虑,我们认为应行五肽胃泌素激发试验,若降钙素 >10ng/L,则立即行预防性全甲状腺切除术。同时提示临床医生对无症状的 RET 基因突变携带者应实施个体化的处置方案,避免或减少手术并发症。

RET 基因检测对 MEN2A 诊断和治疗具有重要意义,对多个内分泌腺受累、激素水平增高的患者及有 MEN2A 阳性家族史的家族成员,应高度重视,建议其行突变基因的筛查和 DNA 序列分析,提高 MEN2A 检出率。对于基因突变携带者,应尽早行预防性手术切除,对 MEN2A 患者进行定期规律的随访,及早发现 MTC 复发,提高生活质量。

参考文献:

- [1] Eter N, Klingmüller D, Höppner W, et al. Typical ocular findings in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2b syndrome[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2001, 239(5):391-394.
- [2] Shlomo Melmed, Kenneth S Polonsky, Reed Larsen P, et al. *Williams Textbook of Endocrinology*[M]. 13thed. Orlando: W. R. Saunders Company, 2017. 1855-1916.
- [3] Donis-Keller H, Dou S, Chi D, et al. Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2A and FMTCC[J]. *Hum Mol Genet*, 1993, 2(7):851-856.
- [4] Qi XP, Chen XL, Ma JM, et al. RET proto-oncogene genetic screening of families with multiple endocrine neoplasia type 2 optimizes diagnostic and clinical management in China[J]. *Thyroid*, 2012, 22(12):1257-1265.
- [5] Qi XP, Ma JM, Du ZF, et al. RET germline mutations identified by exome sequencing in a Chinese multiple endocrine neoplasia type 2A/Familial medullary thyroid carcinoma Family[J]. *PLoS One*, 2011, 6:e20353(1-9).
- [6] Qi XP, Ying RB, Ma JM, et al. Case report: a p.C618S RET proto-oncogene germline mutation in a large Chinese pedigree with familial medullary thyroid carcinoma [J]. *Fam Cancer*, 2012, 11:131-136.
- [7] Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al. *AJCC cancer staging manual*[M]. 7th ed New York, NY: Springer, 2010. 24-27.
- [8] Machens A, Niccoli-Sire P, Hoegel J, et al. Early malignant progression of hereditary medullary thyroid cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003, 349(16):1517-1525.
- [9] Pasini B, Ceccherini I, Romeo G. RET mutations in human disease[J]. *Trends Genet*. 1996, 12(4):138-144.
- [10] Raue F, Frank-Raue K. Genotype-phenotype relationship in multiple endocrine neoplasia type 2. Implications for clinical management[J]. *Hormones (Athens)*, 2009, 8(1):23-28.
- [11] Kloos RT, Eng C, Evans DB, et al. Medullary thyroid cancer: management guidelines of the American Thyroid Association[J]. *Thyroid*, 2009, 19(6):565-612.
- [12] Okamoto T, Obara T, Ito Y, et al. Bilateral adrenalectomy with autotransplantation of adrenocortical tissue or unilateral adrenalectomy: treatment options for pheochromocytomas in multiple endocrine neoplasia type 2A [J]. *Endocr J*, 1996, 43(2):169-175.
- [13] Elisei R, Romei C, Renzini G, et al. The timing of total thyroidectomy in RET gene mutation carriers could be personalized and safely planned on the basis of serum calcitonin: 18 years experience at one single center [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(2):426-435.