

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.030

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.030>

甲状腺结节细针穿刺基因检测进展

顾艳婷^{1,2} 综述 胡兵¹, 白文坤¹ 审校

(1. 上海交通大学附属第六人民医院超声医学科, 上海超声医学研究所, 上海 200233;

2. 云南省保山市人民医院超声科, 云南 保山 678000)

[摘要] 部分甲状腺结节进行甲状腺细针穿刺后仍然不能明确诊断, 如何提高甲状腺癌的诊断率成为当下甲状腺疾病研究热点。研究发现, 多种基因参与甲状腺癌的发生、发展, 在细针穿刺的基础上, 这些基因检测可作为补充检查帮助识别甲状腺癌。但是不同的基因针对不同分型的甲状腺癌有不同的临床结局, 且单独的基因检测应用具有有限的诊疗价值, 需要联合检测才能更好地进行鉴别诊断。

[关键词] 甲状腺结节; 甲状腺癌; 细针穿刺活检; 基因检测

Advances of gene detection in thyroid nodule fine needle aspiration biopsy

GU Yanting^{1,2}, HU Bing¹, BAI Wenkun¹

(1. Department of Ultrasound in Medicine, Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai Institute of Ultrasound in Medicine, Shanghai 200233; 2. Department of Ultrasound, Baoshan People's Hospital, Baoshan Yunnan 678000, China)

Abstract Some thyroid nodules remain undiagnosed after fine needle aspiration biopsy. How to improve the diagnosis rate of thyroid cancer has become a hot research topic in thyroid disease. Previous studies have found that multiple genes were involved in the occurrence and development of thyroid cancer. On the basis of fine needle aspiration biopsy, these genetic tests could be used as supplementary tests to help identify thyroid cancer. However, different genes had different clinical outcomes for different types of thyroid cancer, and the application of individual gene detection had limited diagnostic and therapeutic value. Therefore, joint detection by the fine needle aspiration biopsy and the genetic tests is required to make a better differential diagnosis.

Keywords thyroid nodules; thyroid cancer; fine needle aspiration biopsy; genetic tests

近年来甲状腺疾病占比在内分泌系统疾病中呈上升趋势, 随着人们保健意识的提高, 甲状腺结节的检出率也随之增高。甲状腺结节存在于5%的非碘缺乏地区人群中, 约有50%~70%的人在超

声检查中被偶然发现, 在这些被检出的甲状腺结节中, 甲状腺癌的发生率约为7%~15%^[1], 主要分为分化型甲状腺癌如甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)和甲状腺滤泡癌(follicular

收稿日期 (Date of reception): 2020-04-29

通信作者 (Corresponding author): 白文坤, Email: doctor505@hotmail.com

thyroid carcinoma, FTC), 低分化甲状腺癌(poorly differentiated thyroid carcinoma, PDTC)如髓样癌和未分化甲状腺癌(anaplastic thyroid carcinoma, ATC)^[2]。如何从发现的甲状腺结节中准确、高效、安全地甄别出恶性结节成为当下甲状腺疾病研究热点。甲状腺结节的评估需要多种方法来进行恶性程度的危险分层, 包括临床触诊、影像学评估、病理穿刺等。甲状腺结节细针穿刺活检(fine needle aspiration biopsy, FNAB)被认为是术前判断甲状腺结节良恶性首选的微创诊断方法, 但受到操作医生手法、取材质量以及病理医生诊断经验等影响, 仍有一部分FNAB病理结果存在一定的假阴性和假阳性, 约有25%的结节不能被确诊^[3]。研究^[1-3]发现: 多种基因如*BRAF*、*RAS*、*RET*、*PAX8/PPAR γ* 、端粒酶反转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)启动子、*PS3*等参与甲状腺癌的发生、发展, 将这些基因检测作为补充检查应用在术前FNAB细胞学标本中帮助识别甲状腺癌以及甲状腺癌术后预后监测等方面得到越来越多的认可。本文就甲状腺结节细针穿刺基因检测进展展开综述。

1 *BRAF* 基因

*RAF*基因是*RET/PTC-RAS-RAF-MEK/ERK-MAPK*信号转导通路中的一个重要分子, 位于7号染色体上, 能促使甲状腺细胞增殖, 从而导致甲状腺癌的发生。*BRAF*基因属于*RAF*基因家族的一员, 是激活*MEK/ERK-MAPK*信号转导通路能力最强的激活物。大部分*BRAF*基因突变形式表现为*BRAF V600E*点突变, 这种突变使表达产物的蛋白序列产生改变, 由于*BRAF V600E*基因还具有较高的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性, 导致参与*MEK/ERK*信号转导的*BRAF*基因持续性活跃, 促进了肿瘤的侵袭和转移^[4]。

*PTC*是最常见的一种甲状腺癌。研究^[5-6]发现, *BRAF*基因突变仅出现在*PTC*和*PTC*起源的未分化癌当中, 在其他的甲状腺恶性病理类型和良性疾病中并没有被发现, *PTC*中*BRAF V600E*位点突变率29%~83%。甲状腺癌腺外浸润、高*TNM*分期、淋巴结转移、复发率高、生存率低等临床病理学特征均与该基因突变有关, 即使在早期*PTC*中, *BRAF V600E*基因突变与患者的淋巴结转移也有密切联系^[7-8]。甚至有荟萃分析^[9]表示, *BRAF V600E*基因突变可使*PTC*患者淋巴结转移率增高。无论癌结节大小, 即使是直径小于

0.5 cm的甲状腺结节, 只要检测发现*BRAF V600E*基因突变, 都要高度重视其侵袭性^[10]。不仅如此, *BRAF*基因突变还可使*PTC*细胞去分化, 导致与碘化甲状腺浓度有关的甲状腺基因表达缺失, 造成放射性碘(¹³¹I)消融治疗失败^[11]。这些侵袭性肿瘤行为加速了*PTC*进展, 从而加重与*PTC*相关的死亡风险, 提示*BRAF*基因突变或许是甲状腺癌的早期事件, 对*PTC*患者的预后和治疗有重要意义。也有研究证实, 单独比较*TNM*分期, *BRAF V600E*基因突变并不是显著因素, 它不影响肿瘤大小、首次复发时淋巴结的阳性数量以及晚期的疾病分期, 在*BRAF V600E*基因阳性的*PTC*中已知有侵袭性淋巴结行为的不到10%~15%^[12]。应用*BRAF V600E*基因检测并不能增加*PTC*的阳性结果, FNAB联合*BRAF V600E*基因检测试验的阳性结果也不会增加*PTC*的侵袭性^[13]。针对存在的争议, *BRAF*基因突变相关检测与*PTC*患者的关系需要更进一步研究。

2 *RAS* 基因

*RAS*基因是一种原癌基因, 被激活以后就变成有致癌活性的癌基因。*RAS*基因点突变是被激活最常见的方式, *RAS*基因突变也被认为是对甲状腺癌的发展起重要作用的基因之一。*RAS*基因突变几乎在人类所有甲状腺肿瘤中均有发现, *RAS*基因的突变发生在30%~45%的*FTC*, 30%~45%的滤泡变异亚型甲状腺乳头状癌(follicular variant of papillary thyroid carcinoma, FVPTC), 20%~40%的*PDTC*, 10%~20%的*ATC*和极少数的*PTC*中, 还有20%~25%的良性甲状腺滤泡状腺瘤(follicular thyroid adenoma, FTA)也发生*RAS*基因突变^[14], 造成了*RAS*基因检测的假阳性率增加。单独的*RAS*突变很可能与甲状腺癌有限的侵袭性有关, *RAS*基因编码*RAS*蛋白(p21), p21抑制由化疗药物或辐射引起的DNA损伤中的细胞凋亡, 其功能缺失会导致细胞异常增殖和凋亡失控, *RAS*基因突变时, p21被持续活化, 进一步促进*MAPK*信号通路持续激活, 最终导致潜在的肿瘤形成和促进恶性转化^[15-17], 进而影响一部分甲状腺癌使用化疗药物以及¹³¹I消融的治疗效果, 使该部分患者产生较差的预后。但*RAS*基因突变本身具有低诊断敏感性和特异度^[18], 单独使用时, 由于其在不同类型甲状腺癌临床结局中的不确定作用, 尚不清楚如何恰当地使用他们来协助甲状腺癌的治疗。将*RAS*基因突变应用于甲状腺癌诊断的一个有效策略是将*RAS*基因

突变与其他分子标志物,特别是遗传标志物联合应用。

3 TERT 启动子

TERT启动子的表达已经被证实可以促进细胞生长和肿瘤发生。TERT启动子在肿瘤进展过程中呈细胞克隆性扩增,与晚期甲状腺癌的侵袭性密切相关,特别是远处转移、疾病III/IV期、肿瘤复发和病死率^[19]。

*BRAF*基因突变和TERT启动子与PTC的高危临床病理特征具有相关性。PTC复发率高于单独突变或者二者单独突变的总和,患者生存曲线显示*BRAF*基因突变或TERT启动子单独存在时有适度下降,但有两个共存突变时则急剧下降^[20-21]。共存的TERT启动子和*RAS*基因突变也可能在甲状腺癌的发生中发挥协同作用,促进甲状腺癌的侵袭性和不良的临床结局^[20]。共存的基因突变结果区别于单独基因突变的致癌变化,这提示联合基因检测或许比单独检测更加有助于评价甲状腺结节的恶性程度及其临床结局。联合基因检测时甲状腺癌中TERT启动子的存在可以帮助临床更好地评估随访肿瘤远处转移的风险。在FNAB结果阴性但不能排除恶性的甲状腺结节中,当只发现*RAS*基因突变时,预后良好即成为合理的推测,除非临床表明有其他症状,此类结节可以进行非手术治疗以及长时间随访。当同时出现*BRAF*基因突变和TERT启动子或者*RAS*基因突变和TERT启动子的共存组合时则需要考虑采取更积极的治疗方式。

4 P53 基因

*P53*基因是一个关键的肿瘤抑制因子,它被认为是人类癌症中改变最频繁的基因,*P53*基因失活将诱导细胞凋亡和复制增殖过程失去控制,或同时引起其他抑癌基因失活及原癌基因激活,从而引发肿瘤^[22]。迄今为止,导致PDTC发生的最佳基因改变之一是*P53*抑癌基因的丢失,*P53*基因突变在ATC中也十分常见(为50%~80%)^[23],由于ATC与PDTC的恶性程度较高,发展较快,这些证据提示*P53*基因突变或许是甲状腺癌发生的晚期事件,*P53*基因变异状态可能是多种甲状腺癌治疗反应和患者预后的可靠预测因子。

单纯血清*P53*抗体(*P53*-Abs)不能作为PTC诊断的可靠生物标志物,但FNAB联合检测血清

P53-Abs和*BRAF*基因突变有助于优化手术治疗和PTC临床预后预测^[24]。目前看来,联合基因检测很有必要。

5 PAX8/PPAR γ 基因重排

*PAX8*基因通过编码甲状腺滤泡细胞和组织特异性基因在甲状腺滤泡细胞中的表达所需的转录因子来干预甲状腺滤泡细胞的生长和分化。*PAX8/PPAR γ* 基因重排是染色体遗传异位的结果,这种融合导致*PAX8/PPAR γ* 融合蛋白质表达显著增加,抑制PPAR的抑癌基因活性,在FTC患者中具有高度特异性(约30%~35%),且同一肿瘤中*PAX8/PPAR γ* 基因重排和*RAS*基因突变很少重叠^[25],那么将*PAX8/PPAR γ* 基因重排作为诊断标志用于鉴别FTA和FTC,可以弥补单独使用*RAS*基因检测鉴别二者存在假阳性的缺点。也有研究^[26]表明:*PAX8/PPAR γ* 基因重排特征性的病理特征为血管浸润,结果提示*PAX8/PPAR γ* 融合基因检测或许是FTC在没有局部扩散和转移的情况下判断其恶性程度的可靠病理指标,特别是FNAB结果为低度恶性的结节,也可以依据基因检测结果进一步评估恶性程度,为临床干预提供证据。

6 RET 基因

*RET*基因位于常染色体10q11,是一种受体酪氨酸激酶。当10号染色体的*H4*基因与*RET*基因融合发生突变后形成*RET/PTC*基因,其表达合成的蛋白延长*RET*基因合成的受体激活时长,下游信号将这一指令进行传导,导致甲状腺细胞中MAPK信号的慢性刺激和恶性转化^[27],进一步证明PTC与*RET*基因的活化表达有着重要联系。但也有研究^[28]结果指出,*RET/PTC*基因重排在PTC的FNAB中发生率仅为5%~35%。另外,*RET*基因突变在遗传性MTC和散发性MTC患者中分别占95%和65%,在散发性MTC患者中有*RET*基因突变的10年生存率为56%,而没有*RET*基因突变的10年生存率为87%^[29]。目前来看*RET*基因检测不适用于单独筛查PTC, FNAB得出病理结果后再使用*RET*基因检测有助于预测MTC患者的预后以及远处转移情况。

对于微小甲状腺乳头状癌(thyroid papillary microcarcinomas, mPTCs)来说,虽然mPTCs大部分预后良好、生长缓慢,但其一部分(约35%)表现出积极的局部复发、淋巴结转移和罕见的远处转移^[30],由于其肿瘤直径 ≤ 1.0 cm并不能常

规进行FNAB。研究^[31]发现:在mPTCs术前和术后, *BRAF V600E*基因检测都可以用于预测早期的淋巴结转移, *BRAF*基因突变和TERT启动子的联合检测也同样可以用于mPTCs的风险评估。而FVPTC由于其滤泡性生长模式, 且不完全具有典型乳头状癌核的特征^[32], 虽不能轻易通过FNAB来识别, 但却具有较高的RAS基因突变率。若可以通过基因检测为这些FNAB不能进行识别的甲状腺结节提供更清晰的危险分层, 这对于更好地为其制订治疗方案和减少过度治疗具有重要意义。

当然, 理想状态下基因检测的阳性预测值和阴性预测值应至少与恶性或良性细胞学相似^[33], 超声上表现高度可疑的结节或FNAB细胞标本结果已经证实的恶性肿瘤, 从经济学角度或者实际临床实践来看, 使用这些基因检测无助于进一步分类此类结节。

综上, 多种组织分型的甲状腺癌与*BRAF*基因、TERT启动子、RAS基因、P53基因、PAX8/PPAR γ 基因重排、RET基因等分子序列改变有密切联系。在FNAB的基础上, 增加相关基因检测有助于鉴别甲状腺结节的良恶性, 为甲状腺癌提供新的诊断工具和预后标志物, 为其后续的个性化诊疗、评估是否需要预防性切除甲状腺以及基因治疗方面提供更多依据。但这些基因检测单独应用诊疗价值有限, 部分需要联合检测才能更好地进行诊断鉴别, 因此在怎样针对性的进行基因检测选择、基因检测临床应用的远期结果影响因素以及如何确定未来适合的监测人群方面还有待长期观察以及进一步研究。

参考文献

- Wong R, Farrell SG, Grossmann M. Thyroid nodules: diagnosis and management[J]. Med J Aust, 2018, 209(2): 92-98.
- Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(3): 184-199.
- Werga P, Wallin G, Skoog L, et al. Expanding role of fine-needle aspiration cytology in thyroid diagnosis and management[J]. World J Surg, 2000, 24(8): 907-912.
- Smith N, Nucera C. Personalized therapy in patients with anaplastic thyroid cancer: targeting genetic and epigenetic alterations[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(1): 35-42.
- Jiang J, Huang L, Zhang H, et al. Contrast-enhanced sonography of thyroid nodules[J]. J Clin Ultrasound, 2015, 43(3): 153-156.
- Ma X, Zhang B, Ling W, et al. Contrast-enhanced sonography for the identification of benign and malignant thyroid nodules: systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Ultrasound, 2016, 44(4): 199-209.
- Patel D, Kitahara CM, Park Y, et al. Thyroid cancer and nonsteroidal anti-inflammatory drug use: a pooled analysis of patients older than 40 years of age[J]. Thyroid, 2015, 25(12): 1355-1362.
- Tufano RP, Teixeira GV, Bishop J, et al. BRAF mutation in papillary thyroid cancer and its value in tailoring initial treatment: a systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2012, 91(5): 274-286.
- 黄美玲, 李永平, 凌瑞. BRAFV600E基因突变与乳头状甲状腺癌淋巴结转移相关性的Meta分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(2): 145-151.
HUANG Meiling, LI Yongping, LING Rui. A meta-analysis on the correlation between BRAFV600E gene mutation and lymph nodes metastasis in papillary thyroid carcinoma[J]. China Cancer, 2017, 26(2): 145-151.
- 苏静君, 曾婵娟, 范春磊, 等. BRAF V600E基因突变检测对甲状腺微小癌的诊断价值[J]. 中国卫生标准管理, 2018, 9(23): 44-47.
SU Jingjun, ZENG Chanjuan, FAN Chunlei, et al. The diagnostic value of mutation detection of BRAF V600E gene in thyroid microcarcinoma[J]. China Health Standard Management 2018, 9(23): 44-47.
- Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer[J]. JAMA, 2013, 309(14): 1493-1501.
- George JR, Henderson YC, Williams MD, et al. Association of TERT promoter mutation, but not BRAF mutation, with increased mortality in PTC[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(12): E1550-1559.
- 张颖, 罗淦昆, 张艳, 等. 超声引导下细针穿刺细胞学检查联合 BRAFV600E检测与甲状腺乳头状癌侵袭性病理特征的相关性[J]. 中国医学科学院学报, 2019, 41(4): 517-523.
ZHANG Ying, LUO Yukun, ZHANG Yan, et al. Correlation between ultrasound-guided fine-needle aspiration combined with BRAFV600E detection and invasive pathological features of papillary thyroid cancer[J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2019, 41(4): 517-523.
- Yoo SK, Lee S, Kim SJ, et al. Comprehensive analysis of the transcriptional and mutational landscape of follicular and papillary thyroid cancers[J]. PLoS Genet, 2016, 12(8): e1006239.
- Pedroza-Torres A, Campos-Parra AD, Millan-Catalan O, et al. MicroRNA-125 modulates radioresistance through targeting p21 in cervical cancer[J]. Oncol Rep, 2018, 39(3): 1532-1540.
- Stojanovic-Rundic S, Jankovic R, Micev M, et al. p21 does, but p53 does not predict pathological response to preoperative chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer[J]. J BUON, 2017, 22(6): 1463-1470.
- Duman BB, Kara OI, Uguz A, et al. Evaluation of PTEN, PI3K, MTOR, and KRAS expression and their clinical and prognostic relevance to

- differentiated thyroid carcinoma[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2014, 18(4): 234-240.
18. Xing M. Clinical utility of RAS mutations in thyroid cancer: a blurred picture now emerging clearer[J]. *BMC Med*, 2016, 14: 12.
 19. de Biase D, Gandolfi G, Ragazzi M, et al. TERT promoter mutations in papillary thyroid microcarcinomas[J]. *Thyroid*, 2015, 25(9): 1013-1019.
 20. Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(3): R143-R155.
 21. Xing M, Liu R, Liu X, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(25): 2718-2726.
 22. Levine AJ, Oren M. The first 30 years of p53: growing ever more complex[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(10): 749-758.
 23. Quiros RM, Ding HG, Gattuso P, et al. Evidence that one subset of anaplastic thyroid carcinomas are derived from papillary carcinomas due to BRAF and p53 mutations[J]. *Cancer*, 2005, 103(11): 2261-2268.
 24. Fu QF, Pan PT, Zhou L, et al. Clinical significance of preoperative detection of serum p53 antibodies and BRAFV600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(11): 21327-21334.
 25. French CA, Alexander EK, Cibas ES, et al. Genetic and biological subgroups of low-stage follicular thyroid cancer[J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(4): 1053-1060.
 26. Omur O, Baran Y. An update on molecular biology of thyroid cancers[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2014, 90(3): 233-252.
 27. 谢英娜. 甲状腺乳头状癌中ret癌基因的表达[J]. *中国医药指南*, 2017, 15(5): 22-23.
XIE Yingna. Expression of ret oncogene in papillary thyroid carcinoma[J]. *Guide of China Medicine*, 2017, 15(5): 22-23.
 28. Suh I, Kebebew E. The biology of thyroid oncogenesis[J]. *Cancer Treat Res*, 2010, 153: 3-21.
 29. Sherman SI, Clary DO, et al. Correlative analyses of RET and RAS mutations in a phase 3 trial of cabozantinib in patients with progressive, metastatic medullary thyroid cancer[J]. *Cancer*, 2016, 122(24): 3856-3864.
 30. Wartofsky L. Should patients with papillary microcarcinoma undergo radioiodine ablation?[J]. *Endocrine*, 2013, 44(2): 278-279.
 31. 刘鹏杰, 唐铭, 邓智勇, 等. BRAFV600E基因突变与甲状腺微小乳头状癌淋巴结转移的相关性研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(4): 552-556.
LIU Pengjie, TANG Ming, DENG Zhiyong, et al. The study of correlation between papillary thyroid microcarcinoma lymph node metastasis and BRAFV600E mutation[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2019, 27(4): 552-556.
 32. Ohta M, Ookoshi T, Naiki H, et al. HBME-1 and CD15 immunocytochemistry in the follicular variant of thyroid papillary carcinoma[J]. *Pathol Int*, 2015, 65(3): 119-125.
 33. Nabhan F, Ringel MD. Thyroid nodules and cancer management guidelines: comparisons and controversies[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2017, 24(2): R13-R26.

本文引用: 顾艳婷, 胡兵, 白文坤. 甲状腺结节细针穿刺基因检测进展[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(2): 444-448. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.030

Cite this article as: GU Yanting, HU Bing, BAI Wenkun. Advances of gene detection in thyroid nodule fine needle aspiration biopsy[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(2): 444-448. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.030