

BRAFV600E 基因突变与甲状腺乳头状癌中央区淋巴结转移的关系

于 婧¹, 王凤琴¹, 姚文娟¹, 吴冬梅¹, 张伟强¹, 王勤增², 庞嗣裔²

[摘要]目的:分析 BRAFV600E 基因突变与甲状腺乳头状癌(PTC)中央区淋巴结(CLN)转移的关系,探讨 CLN 转移的危险因素。方法:检测 104 例 PTC 病例 BRAFV600E 基因突变情况,分析该突变与 PTC 临床病理特征、超声特征的关系,单因素及多因素分析 CLN 转移的危险因素。结果:BRAFV600E 基因突变与肿瘤最大径、肿瘤钙化、被膜外侵犯及 CLN 转移相关($P < 0.01$),BRAFV600E 基因突变和被膜外侵犯是 CLN 转移的独立因素($P < 0.01$)。结论:BRAFV600E 基因突变可为 PTC 手术 CLN 清扫提供基因依据。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;BRAFV600E 基因突变;中央区淋巴结转移

[中图分类号] R 736.1 **[文献标志码]** A **DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.04.019

Study on the relationship between BRAFV600E mutation
and central lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma

YU Jing¹, WANG Feng-qin¹, YAO Wen-juan¹, WU Dong-mei¹, ZHANG Wei-qiang¹, WANG Qin-zeng², PANG Si-yi²

(1. Department of Pathology, Hebei Petrochina Central Hospital, Langfang Hebei 065000;

2. Department of Pathology, Langfang Municipal TCM Hospital, Langfang Hebei 065000, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the relationship between BRAFV600E mutation and central lymph node (CLN) metastasis of thyroid papillary carcinoma (PTC), and predict the risk factors of CLN metastasis. **Methods:** The BRAFV600E mutation was detected in 104 PTC cases, and the relationships between the mutation and clinicopathological, ultrasonic characteristics of PTC were analyzed. The risk factors of CLN metastasis were analyzed using single factor and multiple factors methods. **Results:** BRAFV600E mutation was associated with the maximum diameter of tumor, tumor calcification, extramembrane invasion and CLN metastasis ($P < 0.01$). The BRAFV600E mutation and extramembrane invasion were the independent factors of CLN metastasis ($P < 0.01$). **Conclusions:** BRAFV600E mutation can provide the genetic basis for CLN dissection in PTC surgery.

[Key words] papillary thyroid carcinoma; BRAFV600E mutation; central lymph node metastasis

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)发病率逐年上升,近十年我国已达到 10.16/10 万人^[1],其中央区淋巴结(central lymph node, CLN)为淋巴结转移的第 1 站,转移率 42.4%~68.2%^[2-4],目前对术前查体和/或彩超检查没有颈部可疑淋巴结转移的 cN0 病例是否进行预防性 CLN 清扫仍无合理指标和预测模型。文献报道 BRAFV600E 基因突变是 PTC 最常见的分子遗传学事件,该突变与肿瘤侵袭能力强,易淋巴结转移等不良预后相关^[5-6]。本研究通过检测 104 例 PTC 组织的 BRAFV600E 基因突变情况,分析 BRAFV600E 基因突变及临床病理特征、超声特征与 CLN 转移的关系,预测 CLN 转移的危险因素,为 PTC 手术 CLN 的清扫提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集河北中石油中心医院 2017 年 1 月至 2018 年 7 月行甲状腺切除术并 CLN 清扫,经病理确诊的 PTC 病例 104 例,均为初治病例,术前未行外照射、¹³¹I 治疗、化学治疗等其他辅助治疗;病理切片经 2 名病理医生双盲法复阅并明确诊断。记录病人年龄、性别、术前超声特征(结节回声性质、肿瘤边缘是否规则、是否有微小钙化)、手术方式(广泛淋巴结清扫/CLN 清扫)、术后病理参数(肿瘤最大径、单/多发病灶、被膜外侵犯、淋巴结转移情况)。

1.2 BRAF 基因的检测 (1)DNA 提取:存档蜡块制备 5 张厚度 8 μ m 的连续切片,首张和尾张 HE 染色并复阅切片均可见 PTC 组织,对照 HE 切片用无菌刀片刮取中间 3 张切片对应的癌组织区域,保证肿瘤细胞的量在 50% 以上。按照 QIAGEN 石蜡组织 DNA 提取试剂盒说明提取 DNA,立即进行 PCR 检测。(2)基因突变检测:按照肿瘤相关基因突变

[收稿日期] 2019-06-03 [修回日期] 2019-12-19

[作者单位] 1. 河北中石油中心医院 病理科,河北 廊坊 065000;

2. 河北省廊坊市中医医院 病理科,065000

[作者简介] 于 婧(1985-),女,硕士,主治医师。

检测(qPCR 荧光探针法)人 B-raf 试剂盒说明,采用 PCR 扩增方法,利用实时荧光 Taqman 探针法,通过荧光信号的变化,检测标本的 BRAFV600E 基因突变。每次试验必须同时进行阳性对照、阴性对照检测。

1.3 统计学方法 采用 t 检验、 χ^2 检验和多因素 logistic 回归分析。

2 结果

2.1 病人一般资料情况 纳入研究的 104 例 PTC 病人均行 CLN 清扫术,其中 cN0 病人转移率 30.30% (20/66), cN1 病人转移率 89.47% (34/38)。104 例 PTC 病人中男 35 例,女 69 例,平均年龄(42.28 ± 13.91)岁,临床病理参数见表 1。

表 1 104 例 PTC 病人临床病理参数

因素	分组	<i>n</i>	百分比/%
性别	男	35	33.7
	女	69	66.3
年龄/岁	<45	55	52.9
	≥45	49	47.1
肿瘤最大径/cm	≤1	29	27.9
	1.1~2	27	26.0
	2.1~4	33	31.7
	>4	15	14.4
肿瘤多灶性	单灶	75	72.1
	多灶	29	27.9
被膜外侵犯	是	44	42.3
	否	60	57.7
超声回声性质	高/中回声	38	36.5
	低回声	66	63.5
钙化	有	59	56.7
	无	45	43.3
边界	界清	46	44.2
	不清	58	55.8
CLN 转移	无	50	48.1
	有	54	51.9

2.2 BRAFV600E 基因突变结果及其与 PTC 临床病理特征的关系 BRAFV600E 基因在 104 例 PTC 中突变率 64.4% (67/104), BRAFV600E 基因突变(+)组年龄(41.84 ± 14.09)岁与 BRAFV600E 基因突变(-)组年龄(43.08 ± 13.72)岁差异无统计学意义($t = 0.43, P > 0.05$); BRAFV600E 基因突变(+)组肿瘤最大径(2.71 ± 1.50)cm 大于 BRAFV600E 基因突变(-)组肿瘤最大径(1.44 ± 1.44)cm($t = 4.19, P < 0.01$)。BRAFV600E 基因突变(+)与肿瘤钙化、被膜外侵犯及 CLN 转移相关($P < 0.01$),而与病人性别、肿瘤多灶性、超声回声性质、肿瘤边界等因素无关($P > 0.05$)(见表 2)。

2.3 PTC CLN 转移因素分析 104 例 PTC 病人发生 CLN 转移 54 例(51.9%),其中 cN0 病人转移率 30.30% (20/66), cN1 病人转移率 89.47% (34/38)。CLN 转移组年龄(41.87 ± 14.59)岁与无转移组年龄(42.72 ± 13.27)岁差异无统计学意义($t = 0.12, P > 0.05$), CLN 转移组肿瘤最大径(2.96 ± 1.47)cm 大于无转移组肿瘤最大径(1.50 ± 1.38)cm($t = 5.21, P < 0.01$)。单因素分析显示, BRAFV600E 基因突变、钙化、被膜外侵犯是 CLN 转移的危险因素($P < 0.05 \sim P < 0.01$),而 CLN 转移与病人性别、肿瘤多灶性、超声回声性质、肿瘤边界等因素无关($P > 0.05$)(见表 3)。多因素 logistic 回归分析表明, BRAFV600E 基因突变和被膜外侵犯是 CLN 转移的独立因素($P < 0.01$)(见表 4)。

3 讨论

Ras/Raf/MEK/ERK 通路是细胞增殖、分化中重要的信号传导通路,任何异常激活都会影响细胞的增殖,进而导致肿瘤。RAF 激酶是上述通路中重要的丝氨酸/苏氨酸激酶,包括三种蛋白亚型: ARAF、BRAF、CRAF,其中 BRAF 激酶的作用最重要,是下游 MEK 激酶强力的激活剂, BRAF 基因突变模式涵盖 65 余种,大部分位于 15 外显子的催化激酶区,即 V600E 点突变, BRAFV600E 基因突变导致的 BRAF 蛋白激酶过度表达,其通路异常激活,导致细胞增殖异常及肿瘤发生^[7]。BRAFV600E 基因突变是 PTC 最常见的分子遗传学事件,其突变率 69%~85.3%,对 PTC 的良恶性鉴别诊断具有良好的应用价值,同时可作为独立的预后因子提示不良预后^[5,8]。BRAFV600E 基因突变通过多种复杂途径影响肿瘤细胞增生外延,如抑制钠/碘共转运蛋白(NIS)的表达和放射性碘的摄取^[9],改变细胞膜整

合素受体及细胞外基质蛋白骨桥蛋白表达水平^[10] 是淋巴结转移的危险因素^[11]。
等, BRAFV600E 基因突变预示着肿瘤高侵袭潜能,

表 2 PTC BRAFV600E 基因突变与临床病理特征的关系[*n*; 构成比(%)]

分组	<i>n</i>	男	女	肿瘤多灶性		被膜外侵犯		超声回声性质		钙化		边界		CLN 转移	
				单灶	多灶	是	否	高中	低	有	无	界清	不清	有	无
BRAFV600E 基因突变(+)	67	21(31.3)	46(68.7)	48(71.6)	19(28.4)	41(61.2)	26(38.8)	38(56.7)	29(43.3)	46(68.7)	21(31.3)	36(53.7)	31(46.3)	17(25.4)	50(74.6)
BRAFV600E 基因突变(-)	37	14(37.8)	23(62.2)	27(73.0)	10(27.0)	3(8.1)	34(91.9)	28(75.7)	9(24.3)	13(35.1)	24(64.9)	22(59.5)	15(40.5)	4(10.8)	33(89.2)
χ^2	—		0.45		0.02		27.52		3.69		10.91		10.91		38.89
<i>P</i>	—		>0.05		>0.05		<0.01		>0.05		<0.01		>0.05		<0.01

表 3 PTC CLN 转移危险因素分析[*n*; 构成比(%)]

分组	<i>n</i>	男	女	肿瘤多灶性		被膜外侵犯		超声回声性质		钙化		边界		BRAFV600E 突变	
				单灶	多灶	是	否	高中	低	有	无	界清	不清	+	-
CLN 有转移	54	19(35.2)	35(64.8)	38(70.4)	16(29.6)	39(72.2)	15(27.8)	35(64.8)	19(35.2)	37(68.5)	17(31.5)	30(55.6)	24(44.4)	50(92.6)	4(7.4)
CLN 无转移	50	16(32.0)	34(68.0)	37(74.0)	13(26.0)	5(10.0)	45(90.0)	31(62.0)	19(38.0)	22(44.0)	28(56.0)	28(56.0)	22(44.0)	17(34.0)	33(66.0)
χ^2	—		0.12		0.17		41.18		0.09		6.36		0.00		38.89
<i>P</i>	—		>0.05		>0.05		<0.01		>0.05		<0.05		>0.05		<0.01

表 4 PTC CLN 转移的多因素 logistic 回归分析

自变量	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Waldχ^2</i>	<i>P</i>	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)
钙化	1.080	0.659	2.686	>0.05	2.944(0.809~10.712)
被膜外侵犯	2.770	0.673	16.940	<0.01	15.965(4.268~59.722)
BRAFV600E 突变	2.100	0.687	9.361	<0.01	8.170(2.127~31.376)

PTC 的复发与进展等不良预后往往与淋巴结转移相关,甲状腺淋巴结转移的第一站发生在中央区,因此若能及时清扫 CLN 可有效避免肿瘤进展转移。2009 版美国甲状腺协会(ATA)指南建议,对 cN0 的 T1 或 T2 期 PTC 病例可不行 CLN 清扫,同时指南还提到对早期病例行预防性的 CLN 清扫可能减少局部复发^[12]。目前临床评估术前 CLN 转移的方法并不完善,超声检查和术前及术中评估可以识别一部分明显的淋巴结转移,但敏感性较低,因此当淋巴结触诊和影像学检查均不能提示疑似淋巴结转移时,是否应行预防性 CLN 清扫仍存在争议。一些临床医生认为预防性 CLN 清扫会增加初次手术并发症的风险,如伤及喉返神经、甲状旁腺乃至颈总动脉,对于低风险 PTC 病人的长期生存没有明显的益处^[13]。然而相反的观点认为应该进行预防性 CLN 清扫,理由是区域淋巴结受累大大增加了肿瘤复发的风险,可能会导致再次手术和/或过量的放射性碘暴露^[14]。有文献报道发现 BRAFV600E 基因突变可能是 CLN 转移的危险因素,术前甲状腺细针穿刺标本能可靠检测 BRAFV600E 基因突变,因此

BRAFV600E 基因突变可以作为一种有价值的检测指标^[6,15]。本研究发现 BRAFV600E 基因突变与与肿瘤钙化、被膜外侵犯及 CLN 转移相关,且 BRAFV600E 基因突变、被膜外侵犯是 CLN 转移的独立因素($P<0.01$),故 BRAFV600E 基因突变可为 PTC 手术中 CLN 清扫提供基因依据。

然而,这种横断面研究不能完整评价 BRAFV600E 基因突变对 PTC 的长期预后影响,且本研究选用的临床病理参数有限,可能有与 CLN 转移相关的其他因素未被全面分析,将在后续研究中探讨。

[参 考 文 献]

- [1] LIU S, YANG L, YUAN Y, *et al.* Cancer incidence in Beijing, 2014[J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(1):13.
- [2] YUAN J, LI J, CHEN X, *et al.* Identification of risk factors of central lymph node metastasis and evaluation of the effect of prophylactic central neck dissection on migration of staging and risk stratification in patients with clinically node-negative papillary thyroid microcarcinoma[J]. Bull Cancer, 2017, 104(6):516.
- [3] LIANG K, HE L, DONG W, *et al.* Risk factors of central lymph node metastasis in cN0 papillary thyroid carcinoma: a study of 529 patients[J]. Med Sci Monit, 2014, 20:807.
- [4] HU DX, ZHOU J, HE W, *et al.* Risk factors of lateral lymph node metastasis in cN0 papillary thyroid carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2018, 16:30.
- [5] LIU C, CHEN T, LIU Z, *et al.* Associations between BRAF (V600E) and prognostic factors and poor outcomes in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis[J]. World J Surg Oncol,

- 2016,14:241.
- [6] SONG JY, SUN SR, DONG F, *et al.* Predictive value of BRAFV600E mutation for lymph node metastasis in papillary thyroid cancer; a meta-analysis [J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(5): 785.
- [7] BANDO N, AKAHANE T, GOTO T, *et al.* Targeted next-generation sequencing of cancer-related genes in thyroid carcinoma; a single institution's experience [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16:7278.
- [8] PARK JY, YI JW, PARK CH, *et al.* Role of BRAF and RAS mutations in extrathyroidal extension in papillary thyroid cancer [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2016, 13(2): 171.
- [9] ZHANG H, CHEN D. Synergistic inhibition of MEK/ERK and BRAF V600E with PD98059 and PLX4032 induces sodium/iodide symporter (NIS) expression and radioiodine uptake in BRAF mutated papillary thyroid cancer cells [J]. *Thyroid Res*, 2018, 11:13.
- [10] CHERNAYA G, MIKHNO N, KHABALOVA T, *et al.* The expression profile of integrin receptors and osteopontin in thyroid malignancies varies depending on the tumor progression rate and presence of BRAF V600E mutation [J]. *Surg Oncol*, 2018, 27: 702.
- [11] CHEN J, LI XL, ZHAO CK, *et al.* Conventional ultrasound, immunohistochemical factors and BRAFV600E mutation in predicting central cervical lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2018, 44:2296.
- [12] American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, COOPER DS, DOHERTY GM, *et al.* Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2009, 19(11):1167.
- [13] YOO BJ, SONG CM, JI YB, *et al.* Efficacy of central neck dissection for clinically node-negative papillary thyroid carcinoma; propensity scoring matching [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10:172.
- [14] AGCAOGLU O, SENGUN B, OZORAN E, *et al.* Should we perform routine prophylactic central neck dissection in patients with thyroid papillary microcarcinoma? [J]. *Ann Ital Chir*, 2018, 89:485.
- [15] ZHOU C, LI J, WANG Y, *et al.* Association of BRAF gene and TSHR with cervical lymph node metastasis of papillary thyroid microcarcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1):183.

(本文编辑 周洋)

[文章编号] 1000-2200(2020)04-0496-03

· 临床医学 ·

血浆脂蛋白相关磷脂 A2 水平早期预测进展性脑梗死的临床意义

杨 山

[摘要] 目的:研究血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 水平在早期预测进展性脑梗死的临床意义。**方法:**选取 40 例进展性脑梗死病人纳入观察组,另选择同期来院接受检查的 20 名健康个体作为对照组,比较分析不同康复治疗阶段 2 组血浆 Lp-PLA2 水平,并对观察组病人的神经功能缺损程度进行评价,以探究 Lp-PLA2 水平的变化与神经功能缺损程度的关联性。**结果:**进展性脑梗死病人 Lp-PLA2 水平明显高于对照组 ($P < 0.01$), Lp-PLA2 水平随着病人脑梗死时间的延长而不断降低 ($P < 0.01$)。观察组脑梗死时间越长,NIHSS 评分越低 ($P < 0.01$); NIHSS 评分与 Lp-PLA2 水平呈正相关关系 ($P < 0.01$)。**结论:**进展性脑梗死病人的血浆 Lp-PLA2 水平明显高于健康个体,且随着脑梗死时间的推移呈现出降低趋势,血浆 Lp-PLA2 水平可作为表征进展性脑梗死的一个关键危险因素。

[关键词] 脑梗死; 血浆脂蛋白磷脂酶 A2; 早期预测

[中图分类号] R 743.3

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.04.020

进展性脑梗死是急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 中常见而严重的临床亚型,占全部脑梗死的 26%~43%;该病多发于老年群体,但随着人们饮食习惯的不断变化,该病有年轻化的趋势。有统计资料^[1]显示,我国近年来进展性脑梗死病症的发病率逐年增加,生活压力加大、生活环境恶化及饮

食习惯变化等因素是诱发该病的关键因素。进展性脑梗死通常发病急切,脑梗死时病人脑组织供血受到阻碍,若不能及时有效地救治,将造成脑组织功能性受损,甚至诱发脑组织完全坏死,给脑神经造成不可逆性损伤,对病人的病情转归造成不利影响^[2]。目前临床上对于该病以“早发现,早治疗”为主要的防治理念,通过临床手段对进展性脑梗死病症进行有效预防,及早发现进展性脑梗死的征兆并采取有效治疗措施,对于病人的病情转归具有积极意义^[3]。但传统的预防工作难以发挥出理想的效果,

[收稿日期] 2019-01-04 [修回日期] 2019-08-12

[作者单位] 安徽医科大学滁州临床学院(安徽省滁州市第一人民医院)神经内科,239000

[作者简介] 杨 山(1980-),男,主治医师。