

· 短篇论著 ·

儿童及青少年甲状腺乳头状癌 BRAF^{V600E} 突变特点的初步探讨

丁献敏 王丽君 周斯 李汝平 陈恺 李强 李文亮 杨辉

郑州大学附属肿瘤医院核医学科 450008

通信作者:李文亮, Email: dingxm1980@163.com

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190712-00131

Analysis of BRAF^{V600E} mutation in children and adolescents with papillary thyroid carcinoma

Ding Xianmin, Wang Lijun, Zhou Si, Li Ruping, Chen Kai, Li Qiang, Li Wenliang, Yang Hui

Department of Nuclear Medicine, the Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China

Corresponding author: Li Wenliang, Email: dingxm1980@163.com

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20190712-00131

儿童及青少年甲状腺癌发病率近年来不断上升。与成人甲状腺癌类似,儿童及青少年甲状腺癌主要的病理组织学亚型也是甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC),但 2 种年龄患者的患病特点、淋巴结转移、治疗及预后等差异很大。美国甲状腺学会 (American Thyroid Association, ATA) 在 2015 年颁布了专门针对儿童及青少年甲状腺结节与分化型甲状腺癌 (differentiated thyroid carcinoma, DTC) 的管理指南^[1]。

V-raf 鼠肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1 (V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)^{V600E} 基因突变是乳头状癌经典 DNA 相关标志物,其对于 PTC 的诊断、预后及治疗方案的选择具有关键作用^[2],目前已被广泛应用于成人甲状腺癌的术前诊断和预后评估;但儿童及青少年 PTC 的 BRAF^{V600E} 突变研究数据有限且差异较大,突变率为 0~60%^[3],突变与该人群肿瘤临床病理特征的相关性尚不明确。本文探讨了 BRAF^{V600E} 突变在儿童及青少年 PTC 中的发生情况及其与临床病理特征的相关性,以更好地了解儿童及青少年 PTC 的发生发展及生物学行为,为 PTC 患者管理与治疗策略提供新的依据。

一、资料和方法

1. 研究对象。回顾性分析 2015 年 3 月至 2019 年 2 月在郑州大学附属肿瘤医院核医学科诊治的儿童及青少年 PTC 患者资料。纳入标准:(1)甲状腺全切术后病理诊断为 PTC;(2)行甲状腺癌原发灶或颈部淋巴结转移灶 BRAF^{V600E} 基因突变检测;(3)手术时年龄小于 18 岁;(4)术后行首次¹³¹I 治疗(治疗剂量:1.85~5.55 GBq)。排除标准:随访资料不全,合并其他恶性肿瘤或非原发性甲状腺癌。共纳入患者 36 例,其中男 15 例,女 21 例,年龄 8~18(13.5±3.0)岁。本研究符合《赫尔辛基宣言》的原则。

2. 资料收集。收集患者肿瘤最大径、病灶数、是否累及双侧腺体、腺外侵犯及美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC) TNM 分期以及¹³¹I 治疗后疗效等资料。疗效评估:按 2015 年 ATA 诊疗指南^[4],根据患者血清学及影像学检查结果分为疗效满意 (excellent response,

ER)、疗效不确切 (indeterminate response, IDR)、血清学反应欠佳 (biochemical incomplete response, BIR) 及影像学反应欠佳 (structural incomplete response, SIR); 本研究的疗效根据¹³¹I 治疗后及半年随访的检测结果综合评定。

3. BRAF^{V600E} 突变检测方法。将 PTC (33 例选自甲状腺癌原发灶,3 例为颈部淋巴结转移灶) 石蜡包埋组织块连续切取 3~6 片 (每片厚 10 μm), 放入 1.5 ml 离心管中, 根据 QIAamp 石蜡组织 DNA 提取试剂盒 (德国 QIAGEN 公司) 说明书进行 DNA 提取。采用北京雅康博生物科技有限公司人 BRAF 基因突变荧光 PCR 检测试剂盒进行荧光定量 PCR 检测,用 Stratagene Mx3000P 仪 (美国安捷伦公司) 按照以下条件进行 PCR 扩增:95 ℃ 预变性 10 min;95 ℃ 变性 15 s, 60 ℃ 退火 20 s, 72 ℃ 延伸 60 s, 共 40 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min。按管号顺序依次选择单一突变检测反应管分析,根据实际情况调节阈值至羟基荧光扩增曲线升起的拐点处,得到突变组反应值环数 (threshold cycle, Ct)。每个样品至少进行 2 次检测,以保证结果的可重复性。

4. 统计学处理。采用 IBM SPSS 24.0 软件, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验; 分类变量采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

36 例患者中,肿瘤最大径 2~4 cm 者有 24 例 (66.7%);肿瘤多灶性、累及双侧腺体及腺外浸润患者比例分别为 55.6% (20/36)、47.2% (17/36) 及 44.4% (16/36); 淋巴结转移率为 100% (36/36); 远处转移率为 36.1% (13/36), 其中 ≤ 12 岁患者远处转移率 (9/13) 明显高于 > 12 岁者 (17.4%, 4/23; $\chi^2 = 9.67$, $P = 0.002$), 远处转移灶均在肺部:¹³¹I 治疗后全身及 SPECT/CT 显像表现为双肺多发转移, 其中 1 例表现为转移灶部分摄碘; 疗效评估为 ER、IDR、BIR 和 SIR 者分别有 10 例 (27.8%)、10 例 (27.8%)、13 例 (36.1%) 和 3 例 (8.3%)。

经 BRAF^{V600E} 基因检测, 36 例中突变型 11 例, 野生型 25 例, 突变率为 30.6% (11/36)。突变组和野生组患者年龄分别为 (16.6±1.8) 岁和 (12.8±3.5) 岁 ($t = 16.427$, $P = 0.001$), ≤ 12 岁患者均无 BRAF^{V600E} 基因突变, 与 > 12 岁组差异有统计学意义 ($\chi^2 =$

8.953, $P=0.003$); 突变组均未发生远处转移; 2 组性别、肿瘤最大径、累及单/双侧腺体、腺外浸润、病灶数、T 分期、N 分期及 ^{131}I 治疗后疗效构成比差异均无统计学意义(均 $P>0.05$; 表 1)。

三、讨论

在 BRAF 基因突变中, T1977A 点突变占 90% 以上^[5], 其引起 BRAF 蛋白结构中 V600E 的氨基酸突变, 使得 BRAF 激酶发生持续性活化, 从而导致癌变。诸多研究显示, BRAF^{V600E} 突变作为甲状腺癌的主要肿瘤驱动基因之一, 与成人 PTC 的复发、淋巴结转移、甲状腺外扩张和疾病晚期等侵袭性特征明显相关^[6]。我国将 BRAF 基因突变纳入复发中危风险分层, 作为指导 DTC ^{131}I 治疗的权重因子, 以进一步降低 BRAF 突变人群的复发风险^[7]。儿童及青少年 DTC 的发病率呈上升趋势^[8], 其 BRAF^{V600E} 突变率及预后价值尚不清楚。耿江桥等^[9] 对 39 例儿童 PTC 进行了 BRAF^{V600E} 突变检测, 突变率为 30.77% (12/39); 本研究的 BRAF^{V600E} 突变率为 30.6% (11/36), 与上述研究结果相近。Gertz 等^[10] 对 13 例儿童和青少年(年龄 8~18 岁)及 64 例成年(年龄 20~83 岁)患者进行了 BRAF^{V600E} 突变检测, 发现儿童和青少年突变率为 4/13, 成人突变率为 67.2% (43/64), 两者差异有统计学意义 ($P=0.03$)。

儿童及青少年甲状腺癌常常表现出比成人更严重的疾病阶段, 据报道有 35%~83% 的患者有颈淋巴结转移, 9%~30% 的患者有肺部转移^[11]。本研究中, 36 例患者均存在区域淋巴结转移, 转移率达 100%; 远处转移率为 36.1% (13/36), 表现出更明显的侵袭性, 这可能与本组患者就诊较晚有关。研究表明, 儿童及青少年甲状腺癌 BRAF^{V600E} 突变与其病变更广泛或更具攻击性的行为无关^[3,12]; 但也有研究表明, 儿童甲状腺癌的 BRAF^{V600E} 突变与肿瘤的恶性程度呈负相关^[9]。本研究发现有/无 BRAF^{V600E} 突变的 PTC 患者在肿瘤最大径、累及单/双侧腺体、腺外浸润、病灶数、T 分期、N 分期及 ^{131}I 治疗后疗效方面的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$), 但 BRAF^{V600E} 突变患者远处转移比例明显较低 ($P=0.003$)。因此, 儿童及青少年 PTC 虽表现出更明显的侵袭性, 但 BRAF^{V600E} 基因突变相关的肿瘤并未表现出更具恶性

的生物学行为。

一些儿科研研究表明, 年龄与持续疾病或复发有关。发病年龄小于 10 岁的 PTC 似乎比发病年龄较大的 PTC 具有更高的复发率和死亡率^[13]。一项对 740 例儿童甲状腺癌进行的研究报道, 在校正其他风险因素后, 年龄越小, 复发淋巴结和肺转移的风险越大^[14]。ATA 指南指出, 为了提高对于儿童及青少年患者年龄分层的准确性, 建议将青春期前、青春期及青春期后年龄段纳入今后的研究, 以明确青春期发育对 DTC 患者发病率及生物学行为的潜在影响^[1]。Poyrazoglu 等^[12] 的研究结果表明, 与青春期儿童相比, 青春期前儿童 PTC 侧颈淋巴结受累和肺转移的发生率更高。我国青少年青春期年龄界值在 12 岁左右, 荆凡静等^[15] 分析了 32 例儿童及青少年 DTC 患者的临床资料, 认为儿童及青少年 DTC 局部和远处侵袭性强, 尤以年龄 ≤ 12 岁者为著。本研究中, 与 > 12 岁患者相比, ≤ 12 岁患者远处转移率高 ($P=0.002$); BRAF^{V600E} 突变与患者年龄相关, ≤ 12 岁患者均无 BRAF^{V600E} 突变, 考虑为儿童 PTC 更多出现基因重排, 而原癌基因点突变发生率较低, 因此儿童甲状腺癌基本不发生 BRAF^{V600E} 基因突变, 随着年龄增长, 突变呈增长趋势^[16]。但也有研究表明, BRAF^{V600E} 突变和年龄之间没有相关性^[17], 关于 BRAF^{V600E} 突变与年龄是否相关存在争议, 可能与不同地理区域病理组织学不同有关, 尚需进一步研究。

本研究是小样本量的回顾性研究, 存在一定的局限性; 另外部分病理报告的不详导致疾病侵袭性特征研究的不全面, 可能导致结果的偏差。关于儿童及青少年 PTC 的病理特征和发病机制仍需大宗病例进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Francis GL, Waguespack SG, Bauer AJ, et al. Management guidelines for children with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer[J]. Thyroid, 2015, 25(7): 716-759. DOI: 10.1089/thy.2014.0460.
- [2] Ferris RL, Baloch Z, Bernet V, et al. American Thyroid Association statement on surgical application of molecular profiling for thyroid nodules: current impact on perioperative decision making[J].

表 1 BRAF^{V600E} 突变型与野生型甲状腺乳头状癌患者的临床病理资料比较(例)

组别	例数	性别		年龄		肿瘤最大径			病灶数		累及双侧腺体				
		男	女	≤12岁	>12岁	<2 cm	2~4 cm	>4 cm	单灶	多灶	是	否			
突变型	11	6	5	0	11	1	8	2	6	5	4	7			
野生型	25	9	16	13	12	3	16	6	10	15	13	12			
χ^2 值		0.465		8.953		0.262		0.483		0.749					
P 值		0.250		0.003		0.877		0.372		0.387					
组别	例数	腺外浸润		T 分期			N 分期		M 分期		治疗效果				
		是	否	T1	T2	T3	T4	N0	N1	M0	M1	ER	IDR	SIR	BIR
突变型	11	3	8	0	2	2	7	0	11	11	0	3	5	1	2
野生型	25	13	12	1	7	4	13	0	25	12	13	7	5	12	1
χ^2 值		1.892		0.943		0.000		8.953		6.829					
P 值		0.169		0.815		>0.05		0.003		0.078					

注: BIR 为血清学反应欠佳, BRAF 为 V-raf 鼠肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1, ER 为疗效满意, IDR 为疗效不确定, SIR 为影像学反应欠佳

- Thyroid, 2015, 25(7): 760-768. DOI:10.1089/thy.2014.0502.
- [3] Henke LE, Perkins SM, Pfeifer JD, et al. BRAF V600E mutation-al status in pediatric thyroid cancer [J]. Pediatr Blood Cancer, 2014, 61(7): 1168-1172. DOI:10.1002/pbc.24935.
- [4] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: the American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer [J]. Thyroid, 2016, 26(1): 1-133. DOI:10.1089/thy.2015.0020.
- [5] Atik E, Guray M, Gunesacar R, et al. Immunohistochemical analysis of thyroid follicular neoplasms and BRAF mutation correlation [J]. Indian J Cancer, 2014, 51(1): 63-68. DOI:10.4103/0019-509X.134648.
- [6] Pelizzo MR, Dobrinja C, Casal Ide E, et al. The role of BRAF^{V600E} mutation as poor prognostic factor for the outcome of patients with intrathyroid papillary thyroid carcinoma [J]. Biomed Pharmacother, 2014, 68(4): 413-417. DOI:10.1016/j.biopha.2014.03.008.
- [7] 中华医学会核医学分会. ¹³¹I 治疗分化型甲状腺癌指南(2014 版) [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2014, 34(4): 264-278. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.04.002.
- Chinese Society of Nuclear Medicine. Clinical guidelines for ¹³¹I therapy of differentiated thyroid cancer [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(4): 264-278. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.04.002.
- [8] Bernier MO, Withrow DR, Berrington de Gonzalez A, et al. Trends in pediatric thyroid cancer incidence in the United States, 1998-2013 [J]. Cancer, 2019, 125(14): 2497-2505. DOI:10.1002/cncr.32125.
- [9] 耿江桥, 王生才, 郭永丽, 等. 儿童甲状腺乳头状瘤 BRAF 基因突变及其临床意义 [J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(3): 47-49, 59. DOI:10.3969/j.issn.2095-140X.2019.03.010.
- Geng JQ, Wang SC, Guo YL, et al. BRAF gene mutation and its clinical significance in children with thyroid papillary carcinoma [J]. Med & Pharm J Chin PLA, 2019, 31(3): 47-49, 59. DOI:10.3969/j.issn.2095-140X.2019.03.010.
- [10] Gertz RJ, Nikiforov Y, Rehrauer W, et al. Mutation in BRAF and other members of the MAPK pathway in papillary thyroid carcinoma in the pediatric population [J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140(2): 134-139. DOI:10.5858/arpa.2014-0612-OA.
- [11] Dzepin D. Surgical and pathological characteristics of papillary thyroid cancer in children and adolescents [J]. Int J Pediatr, 2012, 12589. DOI:10.1155/2012/125389.
- [12] Poyrazoglu S, Bundak R, Bas F, et al. Clinicopathological characteristics of papillary thyroid cancer in children with emphasis on pubertal status and association with BRAF^{V600E} mutation [J]. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2017, 9(3): 185-193. DOI:10.4274/jcrpe.3873.
- [13] O'Gorman CS, Hamilton J, Rachmiel M, et al. Thyroid cancer in childhood: a retrospective review of childhood course [J]. Thyroid, 2010, 20(4): 375-380. DOI:10.1089/thy.2009.0386.
- [14] Demidchik YE, Demidchik EP, Reiners C, et al. Comprehensive clinical assessment of 740 cases of surgically treated thyroid cancer in children of Belarus [J]. Ann Surg, 2006, 243(4): 525-532. DOI:10.1097/01.sla.0000205977.74806.0b.
- [15] 荆凡静, 梁智勇, 龙文, 等. 儿童及青少年分化型甲状腺癌的侵袭特征 [J]. 中国医学科学院学报, 2013, 35(1): 80-83. DOI:10.3881/j.issn.1000-503X.2013.01.015.
- Jing FJ, Liang ZY, Long W, et al. Invasive capacity of differentiated thyroid carcinoma in pediatric and adolescent patients [J]. Acta Acad Med Sin, 2013, 35(1): 80-83. DOI:10.3881/j.issn.1000-503X.2013.01.015.
- [16] 刘俊平, 郭振英, 楼江燕. 儿童及青少年分化型甲状腺癌分子生物学的研究 [J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 43(1): 19-22. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4106.2019.01.005.
- Liu JP, Guo ZY, Lou JY. Research of molecular biology of differentiated thyroid carcinoma in children and adolescents [J]. Int J Otolaryngol Head Neck Surg, 2019, 43(1): 19-22. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4106.2019.01.005.
- [17] Givens DJ, Buchmann LO, Agarwal AM, et al. BRAF V600E does not predict aggressive features of pediatric papillary thyroid carcinoma [J]. Laryngoscope, 2014, 124(9): E389-393. DOI:10.1002/lary.24668.

(收稿日期: 2019-07-12)