· 临床研究 ·

$BRAF^{V600E}$ 突变检测在 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类甲状腺结节中的诊断价值

管文燕　郑金榆　聂岭　杨军　崔晓宾　苗淑莹
南京大学医学院附属鼓楼医院病理科，南京　210008
通信作者：苗淑莹，Email：msying0126@163.com

【摘要】　目的　探讨 B-Raf 原癌基因丝/苏氨酸蛋白激酶(BRAF)^{V600E}突变检测在 Bethesda 甲状腺细胞病理学报告系统(BSRTC)Ⅰ、Ⅲ类结节良恶性诊断中的价值。**方法**　回顾性收集 2019 年 1 月至 2020 年 12 月间共 263 例患者(男 79 例、女 184 例，中位年龄 46 岁)的 264 个结节，均在南京大学医学院附属鼓楼医院行 $BRAF^{V600E}$突变检测和细针穿刺细胞学检查(FNAC)，并实施甲状腺结节切除术，其中 12 例患者的 13 个结节有重复穿刺样本，51 个结节用术后切除标本进行甲状腺癌多基因检测验证。以术后组织病理结果为“金标准”，同时比较术后多基因检测结果、重复穿刺样本 $BRAF^{V600E}$突变检测结果，分析 $BRAF^{V600E}$突变检测的诊断效能。**结果**　264 个结节中 230 个为甲状腺乳头状癌(PTC)，34 个为良性结节；BSRTC Ⅰ类(未诊断)、Ⅲ类(滤泡性病变)结节数分别为 58、206 个。$BRAF^{V600E}$突变检测在 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节中的诊断灵敏度分别为 77.1%(37/48)、78.0%(142/182)，特异性为 9/10、91.7%(22/24)，阳性预测值为 97.4%(37/38)、98.6%(142/144)，阴性预测值为 45.0%(9/20)、35.5%(22/62)，准确性为 79.3%(46/58)、79.6%(164/206)。51 个术前 $BRAF^{V600E}$为野生型但术后病理证实为 PTC 的结节经术后多基因检测验证，手术前后 $BRAF^{V600E}$突变检测的一致性达 90.2%(46/51)；通过重复穿刺样本的检测结果分析，$BRAF^{V600E}$突变检测的诊断一致性为 11/13。**结论**　对于无法准确判断良恶性的 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节，$BRAF^{V600E}$突变检测是有效的辅助诊断手段。

【关键词】　甲状腺结节；原癌基因蛋白质 B-raf；突变；活组织检查，细针
DOI：10.3760/cma.j.cn321828-20221102-00331

Diagnostic value of $BRAF^{V600E}$ mutation detection in BSRTC categories Ⅰ and Ⅲ thyroid nodules

Guan Wenyan, Zheng Jingyu, Nie Ling, Yang Jun, Cui Xiaobin, Miao Shuying
Department of Pathology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China
Corresponding author: Miao Shuyin, Email: msying0126@163.com

【Abstract】　Objective　To evaluate the value of B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase (BRAF)^{V600E} mutation detection in the differentiating malignant from benign with Bethesda system for reporting thyroid cytopathology (BSRTC) categories Ⅰ and Ⅲ nodules. **Methods**　From January 2019 to December 2020, a total of 264 nodules from 263 patients (79 males, 184 females; median age 46 years) were retrospectively enrolled and all patients underwent $BRAF^{V600E}$ mutation detection, fine-needle aspiration cytology (FNAC) and thyroid nodulectomy in the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School. Thirteen nodules of 12 patients had repeat aspirate samples and 51 nodules were examined with multiple genes assay in formalin fixed paraffin embedded tissues. Taken the postoperative histopathological results as the gold standard, the diagnostic efficiency of $BRAF^{V600E}$ mutation was analyzed by comparing the results of multiple genes assay and $BRAF^{V600E}$ mutation detection of repeated puncture samples. **Results**　Of 264 nodules, 230 were malignant (papillary thyroid cancer (PTC)) and 34 were benign, with BSRTC categories Ⅰ (nondiagnostic) and Ⅲ (follicular lesion) nodules of 58 and 206. The sensitivities of $BRAF^{V600E}$ mutation detection in BSRTC categories Ⅰ and Ⅲ nodules were 77.1%(37/48) and 78.0%(142/182), the specificities were 9/10 and 91.7%(22/24), the positive predictive values were 97.4%(37/38) and 98.6%(142/144), the negative predictive values were 45.0%(9/20) and 35.5%(22/62), and the accuracy rates were 79.3%(46/58) and 79.6%(164/206). The diagnostic concordance of $BRAF^{V600E}$ mutation detection was 90.2%(46/51) in the preoperative and postoperative samples of 51 nodules with preoperative $BRAF^{V600E}$ wild type but postoperative pathology confirmed as PTC and was 11/13 in repeat puncture samples. **Conclusion**　$BRAF^{V600E}$ mutation detection is an effective diagnostic method for BSRTC categories Ⅰ and Ⅲ nodules.

【Key words】　Thyroid nodule; Proto-oncogene proteins B-raf; Mutation; Biopsy, fine-needle
DOI：10.3760/cma.j.cn321828-20221102-00331

目前,甲状腺癌发病率在全球范围内增长迅速[1-2],甲状腺结节在人群中检出率为 20%~76%,多数为良性结节,恶性肿瘤约占 7%~15%[3]。甲状腺结节高风险患者需进行细针穿刺细胞学检查(fine-needle aspiration cytology, FNAC),根据 Bethesda 甲状腺细胞病理学报告系统(Bethesda system for reporting thyroid cytopathology, BSRTC)进一步分类诊断。然而, FNAC 的准确性为 62%~85%[4],仍有 20%~30% 的结节无法准确定性,其中 6%~60%有恶性风险[5]。另外,在 FNAC 上皮细胞量不足的情况下,也可能导致标本无法诊断。

B-Raf 原癌基因丝/苏氨酸蛋白激酶(B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase, BRAF)^{V600E} 突变是甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)较特异的生物标志物,突变率为 53.0%~80.6%[6-9],是 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节明确诊断的有前景的生物标志物。然而,BRAF^{V600E} 突变在鉴定 BSRTC 不确定结节良恶性的价值仍存在争议[10-11],其对 BSRTC Ⅰ类结节是否有辅助诊断价值鲜有报道。本研究以手术组织病理为“金标准”,探讨 BRAF^{V600E}突变检测对 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节的诊断性能,并通过术前术后样本、重复穿刺样本评价 BRAF^{V600E}突变检测的一致性及诊断准确性。

资料与方法

1.研究对象。回顾性收集 2019 年 1 月至 2020 年 12 月间因甲状腺结节至南京鼓楼医院就诊并行超声引导下 FNAC 的连续病例,共 5 710 例患者 5 808 个结节,选取 FNAC 结果为 BSRTC Ⅰ类[未诊断;946 个(16.3%)]、Ⅲ类[滤泡性病变;749 个(12.9%)]共 1 695 个结节作为潜在观察对象。纳入标准:(1)初治甲状腺结节患者、初次 FNAC;(2) FNAC 同时进行 BRAF^{V600E}突变检测;(3)后续行甲状腺切除术并取得明确手术病理结果。排除标准:术后病理组织学证实为淋巴瘤的结节。最终入组 263 例患者(共 264 个结节),男 79 例、女 184 例,中位年龄 46 岁(范围:24~76 岁),其中 12 例患者的 13 个结节在随访期(至 2021 年 12 月)有重复穿刺的各项检查结果。所有患者在检查前获得患者本人知情同意,本研究符合《赫尔辛基宣言》的原则。

2. FNAC 及 BSRTC 分类。对甲状腺可疑病灶进行超声穿刺定位,选择合适穿刺平面用穿刺针按预定针道进入结节吸取组织,涂于 2 张细胞玻片用于 FNAC,针头剩余组织置于 180 μl 组织裂解液(上海睿璟生物科技有限公司)中进行基因分析。基于 BSRTC,将所有结节的细胞学诊断结果分为 6 类:未诊断(BSRTC Ⅰ类)、良性病变(BSRTC Ⅱ类)、滤泡性病变(BSRTC Ⅲ类)、滤泡性肿瘤(BSRTC Ⅳ类)、可疑恶性(BSRTC Ⅴ类)、恶性(BSRTC Ⅵ类)。

3.基因突变检测。使用商品化试剂盒提取 DNA。BRAF^{V600E}突变检测采用基于实时荧光定量 PCR 扩增技术的试剂盒。对于手术组织病理确诊为癌但术前结节未检测到 BRAF^{V600E}突变的病例,应用甲状腺癌相关 8 基因检测试剂盒对手术后癌灶的石蜡包埋组织(formalin fixed paraffin embedded, FFPE)样本提取 DNA 和 RNA(上海睿璟生物科技有限公司),通过实时荧光定量 PCR 扩增技术检测 8 种基因的 12 个位点,包含点突变[BRAF^{V600E}、端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT) C228T、TERT C250T、大鼠肉瘤型三磷酸鸟苷酶家族(rat sarcoma type GTPase family, RAS)的 KRAS G12C、KRAS G12V、KRAS Q61R、HRAS Q61R、NRAS Q61R]和融合突变[线圈结构域 6(coiled-coil domain containing 6, CCDC6)-原癌基因 RET(proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor Ret, RET)(E1-E12)、CCDC6-RET(E8-E12)、配对盒 8(paired box 8, PAX8)-过氧化物酶体增殖物激活受体 γ(peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARγ)、ETS (E-twenty six)变体转录因子 6(ETS variant transcription factor 6, ETV6)-神经营养因子受体酪氨酸激酶 3(neurotrophic receptor tyrosine kinase 3, NTRK3)]。上述试剂盒均为上海睿璟生物科技有限公司产品;实时荧光定量 PCR 技术均采用 qRT-PCR 仪 ABI7500(美国 ThermoFisher Scientific 公司)。

4.统计学处理。使用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计分析和制图。符合正态分布的定量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,定性资料以频数(百分比)表示,2 组间率的比较采用 χ^2 检验。以手术组织病理结果为“金标准”,计算 BRAF^{V600E}突变检测的灵敏度、特异性、阳性预测值(positive predictive value, PPV)、阴性预测值(negative predictive value, NPV)和准确性。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结　　果

1.临床特征。根据手术组织病理学结果,入组的 264 个结节中 230 个为 PTC(170 个经典型、35 个滤泡亚型、17个弥漫硬化型、7个高细胞型、1个柱

状型),其中 77.8%(179/230)观察到 $BRAF^{V600E}$ 突变;34 个为良性结节(结节性甲状腺肿 10 个、甲状腺腺瘤 23 个、桥本甲状腺炎 1 个)。2 组的临床基本特征见表 1,相比于良性结节组,PTC 组的年龄较低($t=2.90$,$P=0.004$)、更偏向多灶($\chi^2=2.21$,$P=0.028$)。BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节数分别为 58、206 个,两者的 $BRAF^{V600E}$ 突变率[65.5%(38/58)和 69.9%(144/206);$\chi^2=0.63$,$P=0.526$]和恶性(PTC)率[82.8%(48/58)和 88.3%(182/206);$\chi^2=1.12$,$P=0.263$]差异均无统计学意义。

2. $BRAF^{V600E}$ 突变检测在 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节中的诊断价值。在 182 个检测为 $BRAF^{V600E}$ 突变型的结节中,有 179 个结节经手术组织病理学证实为 PTC,其余 3 个为良性结节(2 个结节性甲状腺肿和 1 个桥本甲状腺炎)。在 82 个检测为 $BRAF^{V600E}$ 野生型的结节中,51 个经手术组织病理学证实为 PTC,31 个为良性结节(23 个甲状腺腺瘤和 8 个结节性甲状腺肿)。$BRAF^{V600E}$ 突变检测在 BSRTC Ⅰ类结节中的灵敏度、特异性、PPV、NPV 和准确性分别为 77.1%(37/48)、9/10、97.4%(37/38)、45.0%(9/20)和 79.3%(46/58);在 BSRTC Ⅲ类结节中分别为 78.0%(142/182)、91.7%(22/24)、98.6%(142/144)、35.5%(22/62)和 79.6%(164/206)。$BRAF^{V600E}$ 突变检测在 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节中的诊断准确性达到 79.5%(210/264)。

用甲状腺癌相关 8 基因检测 51 个术前 $BRAF^{V600E}$ 为野生型但术后病理证实为 PTC 的结节所对应术后癌灶 FFPE 样本,其中 9.8%(5/51)检测到 $BRAF^{V600E}$ 突变;33.3%(17/51)检测到除 $BRAF^{V600E}$ 以外的其他突变,包括融合突变 CCDC6-RET(E1-E12)(25.5%,13/51)、ETV6-NTRK3(5.9%,3/51)和点突变 KRAS G12V(1.9%,1/51);56.9%(29/51)未检测到相关突变。术前术后基因检测结果一致性达 90.2%(46/51)。

3.重复穿刺样本中 $BRAF^{V600E}$ 突变检测的一致性。12 例患者 13 个结节有重复穿刺的 BSRTC 分类和 $BRAF^{V600E}$ 突变检测结果,具体见表 2。有 11 个结节 2 次穿刺 $BRAF^{V600E}$ 突变检测结果一致,其中 9 个均为 $BRAF^{V600E}$ 突变,手术病理为 PTC;1 个为 $BRAF^{V600E}$ 野生型,手术病理为 PTC,但术后 8 基因检测为 CCDC6-RET(E1-E12)融合突变;1 个为 $BRAF^{V600E}$ 野生型,手术病理为良性。2 个穿刺不一致的结节首次穿刺 $BRAF^{V600E}$ 野生型,再次穿刺后均为 $BRAF^{V600E}$ 突变型,手术病理为 PTC。重复穿刺样

表 1　良性结节组与甲状腺乳头状癌(PTC)组临床基本特征比较

组别	结节数(个)	男/女(个)	年龄(岁;$\bar{x}\pm s$)	结节最大径(cm;$\bar{x}\pm s$)	多灶性(个)	
					单灶	多灶
PTC 组	230	74/156	44.5±0.8	1.293±0.789	170	60
良性结节组	34	6/28	51.4±2.5	2.743±1.339	31	3
检验值		1.72	2.90[a]	8.99[a]	2.21	
P 值		0.086	0.004	<0.001	0.028	

注:[a]为 t 值,余为 χ^2 值

表 2　13 个甲状腺结节的重复穿刺样本 $BRAF^{V600E}$ 突变检测、BSRTC 分类与手术病理结果

编号	$BRAF^{V600E}$ 突变检测		BSRTC 分类		手术病理
	第 1 次穿刺	第 2 次穿刺	第 1 次穿刺	第 2 次穿刺	
1	突变型	突变型	Ⅰ类	Ⅵ类	PTC
2	突变型	突变型	Ⅰ类	Ⅵ类	PTC
3	突变型	突变型	Ⅰ类	Ⅵ类	PTC
4	突变型	突变型	Ⅲ类	Ⅲ类	PTC
5	突变型	突变型	Ⅲ类	Ⅲ类	PTC
6	突变型	突变型	Ⅲ类	Ⅴ类	PTC
7	突变型	突变型	Ⅲ类	Ⅴ类	PTC
8	突变型	突变型	Ⅲ类	Ⅵ类	PTC
9	突变型	突变型	Ⅲ类	Ⅵ类	PTC
10	野生型	野生型	Ⅲ类	Ⅲ类	PTC
11	野生型	野生型	Ⅰ类	Ⅲ类	良性
12	野生型	突变型	Ⅰ类	Ⅲ类	PTC
13	野生型	突变型	Ⅲ类	Ⅴ类	PTC

注:BRAF 为 B-Raf 原癌基因丝/苏氨酸蛋白激酶,BSRTC 为 Bethesda 甲状腺细胞病理学报告系统

本 $BRAF^{V600E}$ 突变检测的一致性为 11/13，准确性为 10/13。

讨　论

近年来，甲状腺结节发病率不断攀升，2020 年发病率在所有癌症中排名第 9[1]，我国 2019 年新增甲状腺癌 39 080 例[2]。然而，即使是应用鉴别良恶性最有效、最准确的术前诊断技术——FNAC，也仍然会有无法诊断、无法准确定性的结节。本研究队列收集期间，5 808 个结节中诊断为 BSRTC Ⅰ类结节占 16.3%（946/5 808），这可能与穿刺医师技术及囊液标本有关；诊断为 BSRTC Ⅲ类结节占 12.9%（749/5 808），与文献报道的 1.8%～23.6%一致[12]。面对真实临床工作中近 30%无法鉴别的结节以及这些结节的恶性风险，迫切需要适当的辅助诊断方法来进一步区分这些结节的良恶性，以减少患者重复穿刺和手术性诊断的发生。

目前，分子标志物被逐步推荐用于甲状腺结节辅助诊断[13]。本研究中，在 77.8%（179/230）的 PTC 中观察到 $BRAF^{V600E}$ 突变，与之前报道的中国人群中 76.5% 的发生率一致[14-15]。本研究中，$BRAF^{V600E}$ 突变检测在 BSRTC Ⅰ类结节中的灵敏度为 77.1%（37/48），高于文献报道的 67.7%，特异性为 9/10，低于文献的 99.4%[15]，这可能与本研究中手术为良性的 BSRTC Ⅰ类结节例数较少导致对特异性低估有关；其在 BSRTC Ⅲ类结节中的特异性（91.7%，22/24）与之前 Meta 分析[10]中观察到的相似，而灵敏度（78.0%，142/182）高于 Meta 分析中的 40.0%，这可能归因于 Meta 分析包含了不同的 $BRAF^{V600E}$ 检测方法以及甲状腺癌的其他类型（如甲状腺滤泡状癌），而 $BRAF^{V600E}$ 检测对于甲状腺滤泡状癌不具有诊断能力。值得注意的是，一般无法诊断的 BSRTC Ⅰ类结节推荐的临床处理是重复 FNAC，本研究中 58 个 BSRTC Ⅰ类结节均可满足 $BRAF^{V600E}$ 突变检测要求，依据基因检测即可提供诊断而避免重复 FNAC。本研究分析结果表明，在无法准确定性的 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节，$BRAF^{V600E}$ 突变检测可以提供准确性达 79.5%（210/264）的诊断结果，在初次 FNAC 同时进行 $BRAF^{V600E}$ 突变检测可以避免患者重复穿刺或手术性诊断的必要。

为了深入探讨 $BRAF^{V600E}$ 突变检测的诊断性能，本研究对 $BRAF^{V600E}$ 为野生型但术后证实为 PTC 的 51 个结节的术后癌灶 FFPE 样本进行甲状腺癌相关 8 基因检测，结果示 5 个结节检测到 $BRAF^{V600E}$ 突变，推测术前穿刺的假阴性结果可能是由于术前穿刺取材不足或本身肿瘤细胞 $BRAF^{V600E}$ 突变丰度低导致；17 个结节检测到除 $BRAF^{V600E}$ 外的其他突变，以 CCDC6-RET（E1-E12）融合突变为主，符合文献报道[7,16]；29 个结节未检测甲状腺癌相关 8 基因突变。上述结果表明，FNAC $BRAF^{V600E}$ 突变检测假阴性的主要原因是该肿瘤本身基因变异特点导致，即 $BRAF^{V600E}$ 突变并不是针对甲状腺癌完全特异的标志物，提示单纯检测 $BRAF^{V600E}$ 突变虽然可以筛检大部分恶性结节，但引用多基因检测可以进一步提高“确定诊断”的比例。

本研究通过重复穿刺样本评价 $BRAF^{V600E}$ 突变检测的诊断一致性为 11/13。3 个结节初次诊断为 BSRTC Ⅰ类，重复诊断均为 BSRTC Ⅵ类；但这 3 个因为取材不满意导致无法诊断的结节，$BRAF^{V600E}$ 突变检测均可以稳定检出，表明 $BRAF^{V600E}$ 突变检测相较于 FNAC，对细胞含量要求低、灵敏度高。受限于队列中仅有 13 个结节有重复穿刺的检测结果，上述结论还需较多样本的验证。

本研究仍存在一些局限性。首先，本研究筛选的是经过手术切除的病例，主要考虑术后病理才是诊断的“金标准”，但这也不可避免存在选择偏倚，因此可能造成对 NPV 的低估；其次，$BRAF^{V600E}$ 突变率在经典型 PTC 和高细胞变异 PTC 中远高于滤泡变异 PTC[17]，本研究中的大多数 PTC 为经典型，这可能对 $BRAF^{V600E}$ 突变检测的诊断效能分析产生影响；第三，在术前术后基因检测结果诊断一致性评价中，针对性分析了 $BRAF^{V600E}$ 突变状态与术后病理诊断不一致的 51 个结节，未对相一致病例进行术后基因验证，可能会造成术前术后基因检测结果一致性比例的低估。

综上所述，本研究表明 $BRAF^{V600E}$ 突变检测是 BSRTC Ⅰ、Ⅲ类结节良恶性诊断的有效辅助工具。另外，鉴于目前 $BRAF^{V600E}$ 突变尚不是针对甲状腺癌完全特异的标志物，结合本研究中 8 基因检测的数据，本研究探索性提出甲状腺结节穿刺活组织检查中分子标志物应用的一种新思路，即初次 FNAC 同时进行 $BRAF^{V600E}$ 突变检测；对于初次 FNAC 未检测到 $BRAF^{V600E}$ 突变的 BSRTC Ⅲ类结节，或可考虑重复 FNAC 时选择多基因突变检测，扩大基因筛选的范围，以提高甲状腺癌诊断的灵敏度和特异性；而因取材不足或不满意的 BSRTC Ⅰ类结节，重复 FNAC 是否需要多基因检测，尚需研究证实。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 管文燕、郑金榆、聂岭:研究实施、论文撰写;杨军、崔晓宾:研究指导;苗淑莹:数据整理、统计分析

参 考 文 献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.

[2] Cheng F, Xiao J, Shao C, et al. Burden of thyroid cancer from 1990 to 2019 and projections of incidence and mortality until 2039 in China: findings from global burden of disease study[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 738213. DOI:10.3389/fendo.2021.738213.

[3] 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.

[4] Wang CC, Friedman L, Kennedy GC, et al. A large multicenter correlation study of thyroid nodule cytopathology and histopathology [J]. Thyroid, 2011, 21(3): 243-251. DOI:10.1089/thy.2010.0243.

[5] Livhits MJ, Zhu CY, Kuo EJ, et al. Effectiveness of molecular testing techniques for diagnosis of indeterminate thyroid nodules: a randomized clinical trial[J]. JAMA Oncol, 2021, 7(1): 70-77. DOI:10.1001/jamaoncol.2020.5935.

[6] Jung CK, Im SY, Kang YJ, et al. Mutational patterns and novel mutations of the BRAF gene in a large cohort of Korean patients with papillary thyroid carcinoma[J]. Thyroid, 2012, 22(8): 791-797. DOI:10.1089/thy.2011.0123.

[7] Moore MD, Panjwani S, Gray KD, et al. The role of molecular diagnostic testing in the management of thyroid nodules[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2017, 17(6): 567-576. DOI: 10.1080/14737159.2017.1321987.

[8] Xing M. Genetic-guided risk assessment and management of thyroid cancer[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2019, 48(1): 109-124. DOI:10.1016/j.ecl.2018.11.007.

[9] 宋娟娟,慕转转,鲁涛,等. ^{131}I 辅助治疗对 BRAF^{V600E}突变型非远处转移性甲状腺乳头状癌患者疗效的初步探讨[J].中华核医学与分子影像杂志, 2021, 41(4): 212-217. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210202-00026.
Song JJ, Mu ZZ, Lu T, et al. Preliminary study of ^{131}I adjuvant therapy in BRAF^{V600E} mutant patients with non-distant metastatic papillary thyroid cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2021, 41(4): 212-217. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210202-00026.

[10] Jinih 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[J]. Eur J Surg Oncol, 2017, 43(7): 1219-1227. DOI:10.1016/j.ejso.2016.11.003.

[11] Kowalska A, Kowalik A, Pałyga I, et al. The usefulness of determining the presence of BRAF^{V600E} mutation in fine-needle aspiration cytology in indeterminate cytological results[J]. Endokrynol Pol, 2016, 67(1): 41-47. DOI:10.5603/EP.2016.0006.

[12] Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, et al. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a meta-analysis[J]. Acta Cytol, 2012, 56(4): 333-339. DOI:10.1159/000339959.

[13] 张杰,刘媛超,谭建.甲状腺结节细针穿刺分子标志物的研究进展[J].中国肿瘤临床, 2018, 45(16): 868-872. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2018.16.561.
Zhang J, Liu YC, Tan J. Progress on molecular markers of fine needle aspiration biopsy of thyroid nodules[J]. Chin J Clin Oncol, 2018, 45(16): 868-872. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2018.16.561.

[14] Liu S, Gao A, Zhang B, et al. Assessment of molecular testing in fine-needle aspiration biopsy samples: an experience in a Chinese population[J]. Exp Mol Pathol, 2014, 97(2): 292-297. DOI:10.1016/j.yexmp.2014.08.005.

[15] Wu Y, Xu T, Cao X, et al. BRAF^{V600E} *vs*. TIRADS in predicting papillary thyroid cancers in Bethesda system Ⅰ, Ⅲ, and Ⅴ nodules[J]. Cancer Biol Med, 2019, 16(1): 131-138. DOI:10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0291.

[16] Hu J, Yuan IJ, Mirshahidi S, et al. Thyroid carcinoma: phenotypic features, underlying biology and potential relevance for targeting therapy[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1950. DOI:10.3390/ijms22041950.

[17] Acquaviva G, Visani M, Repaci A, et al. Molecular pathology of thyroid tumours of follicular cells: a review of genetic alterations and their clinicopathological relevance[J]. Histopathology, 2018, 72(1): 6-31. DOI:10.1111/his.13380.

(收稿日期:2022-11-02)