

BRAF^{V600E} 突变与不同复发风险的甲状腺乳头状癌患者术后转移的关系

贾祯¹ 闫瑞红² 张长明² 翟红彦² 杨天正² 周振虎²

¹山东第一医科大学、山东省医学科学院医学影像学院研究生处,泰安 271000;²山东第一医科大学、山东省医学科学院附属聊城市人民医院核医学科 252000

通信作者:周振虎, Email: zhouzhenhu06@163.com

【摘要】 目的 探讨 V-raf 鼠类肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1 (BRAF)^{V600E} 突变与不同复发风险的甲状腺乳头状癌 (PTC) 患者发生术后转移的关系。方法 回顾性分析 2014 年 3 月至 2017 年 9 月于聊城市人民医院核医学科行¹³¹I 治疗且已行 BRAF^{V600E} 突变检测的 134 例 PTC 术后患者,其中男 45 例、女 89 例,年龄 16~72 岁。将患者手术时的复发风险分为低危、中危及高危 3 层;术后随访时根据有无转移将每层患者分为未转移组、颈部淋巴结转移组及肺转移组。比较各组患者发生 BRAF^{V600E} 突变情况,采用 χ^2 检验分析数据。结果 134 例 PTC 患者的 BRAF^{V600E} 突变率为 55.22% (74/134)。低危患者 (46 例) 各转移组突变率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.39, P > 0.05$)。中危患者 (47 例) 颈部淋巴结转移组基因突变率 (16/19) 明显高于肺转移组 (3/8) 和未转移组 (25.00%, 5/20; χ^2 值: 5.89 和 13.75, 均 $P < 0.05$), 但后 2 组基因突变率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.44, P > 0.05$)。高危患者 (41 例) 颈部淋巴结转移组基因突变率 (85.00%, 17/20) 高于肺转移组 (5/13) 和未转移组 (1/8; χ^2 值: 7.68 和 13.08, 均 $P < 0.01$), 但后 2 组基因突变率差异亦无统计学意义 ($\chi^2 = 1.64, P > 0.05$)。结论 BRAF^{V600E} 突变与 PTC 术后中危、高危患者颈部淋巴结转移密切相关, 但不会明显增加低危患者颈部淋巴结转移及各危险层患者肺转移的发生概率。

【关键词】 甲状腺肿瘤; 肿瘤复发, 局部; 肿瘤转移; 原癌基因蛋白质 B-raf; 突变

基金项目: 2015 年度山东省医药卫生科技发展计划 (2015WS0380)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.11.004

Relationship between BRAF^{V600E} mutation and metastasis after thyroidectomy in papillary thyroid carcinoma with different recurrence risk stratification

Jia Zhen¹, Yan Ruihong², Zhang Changming², Zhai Hongyan², Yang Tianzheng², Zhou Zhenhu²

¹Graduate Department, School of Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Taian 271000, China; ²Department of Nuclear Medicine, the People's Hospital of Liaocheng, the Affiliated Hospital of Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Liaocheng 252000, China

Corresponding author: Zhou Zhenhu, Email: zhouzhenhu06@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between V-raf murine sarcoma viral oncogene homologue B1 (BRAF)^{V600E} mutation and metastasis after thyroidectomy in papillary thyroid carcinoma (PTC) with different recurrence risk stratification. **Methods** From March 2014 to September 2017, 134 PTC patients (45 males, 89 females; age: 16–72 years) who underwent ¹³¹I treatment in the Department of Nuclear Medicine of Liaocheng People's Hospital and had undergone BRAF^{V600E} mutation detection were retrospectively analyzed. The recurrence risk during surgery was divided into 3 levels: low-, medium- and high-risk. Each recurrence risk group was divided into 3 subgroups according to the postoperative follow-up results: non-metastasis group, cervical lymph node metastasis group and pulmonary metastasis group. BRAF^{V600E} mutation rates in different groups were compared (χ^2 test). **Results** The BRAF^{V600E} mutation rate was 55.22% (74/134) in 134 PTC patients. The mutation rates were not significantly different in the 3 metastasis subgroups for low-risk patients ($n = 46; \chi^2 = 2.39, P > 0.05$). In medium-risk patients ($n = 47$), the mutation rate in neck lymph node metastasis group (16/19) was higher than that in pulmonary metastasis group (3/8) and non-metastasis group (25.00%, 5/20; χ^2 values: 5.89 and 13.75, both $P < 0.05$), while there was no difference between pulmonary metastasis group and non-metastasis group ($\chi^2 = 0.44, P > 0.05$). In high risk patients ($n = 41$), the mutation rate in neck lymph node metastasis group (85.00%, 17/20) was higher than that in the pulmonary metastasis group (5/13) and non-metastasis group (1/8; χ^2 values: 7.68 and 13.08, both $P < 0.01$), while there was no difference between pulmonary metastasis group

and non-metastasis group ($\chi^2 = 1.64, P > 0.05$). **Conclusion** The BRAF^{V600E} mutation is closely related to neck lymph node metastasis after operation in middle- and high-risk patients with PTC, but it does not significantly increase the probabilities of neck lymph node metastasis in low-risk patients and pulmonary metastasis in low-, medium- and high-risk patients.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Neoplasms recurrence, local; Neoplasm metastasis; Proto-oncogene protein B-raf; Mutation

Fund program: 2015 Shandong Province Medical and Health Science and Technology Development Plan (2015WS0380)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.11.004

甲状腺癌是内分泌系统中最常见的恶性肿瘤,发病率呈上升趋势,也是目前发病率上升最快的实体恶性肿瘤^[1]。行外科手术切除、¹³¹I 治疗及促甲状腺激素抑制治疗的综合疗法后,大多数分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC)患者预后良好,但仍有 5%~10% 的患者复发,10%~15% 的患者发生远处转移^[2]。研究显示,甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)的 V-raf 鼠类肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1(V-raf murine sarcoma viral oncogene homologue B1, BRAF^{V600E})突变发生率为 29%~83%^[3]。本研究对 134 例不同复发风险的 PTC 患者 BRAF^{V600E} 突变情况进行了分析,探讨 BRAF^{V600E} 突变在 PTC 患者术后转移中的意义,以期早期评估患者术后复发风险。

资料与方法

1. 一般资料。本研究符合《赫尔辛基宣言》的原则。回顾性分析 2014 年 3 月至 2017 年 9 月于聊城市人民医院核医学科行¹³¹I 治疗且已行 BRAF^{V600E} 突变检测的 134 例 PTC 术后患者,其中男 45 例、女 89 例,年龄 16~72(43.5±11.3) 岁。

纳入标准:(1)病理证实为 PTC;(2)手术方式为甲状腺癌改良根治术;(3)术后行 BRAF^{V600E} 突变检测。排除标准:(1)临床资料不完整;(2)PTC 合并其他病理类型;(3)PTC 合并桥本甲状腺炎。

2. 患者复发风险分层及¹³¹I 治疗。所有患者均行甲状腺癌改良根治术及¹³¹I 治疗。根据《¹³¹I 治疗分化型甲状腺癌指南(2014 版)》将患者手术时的复发风险分为低危、中危及高危 3 层^[4],无甲状腺外(喉、气管、食管、喉返神经、横纹肌等)明显侵犯及远处转移者¹³¹I 治疗剂量为 1 110 MBq,伴甲状腺外明显侵犯及远处转移的中、高危患者依据病情给予适当¹³¹I 治疗剂量(3 700~7 400 MBq)。

3. 术后随访。术后随访时间为 17~81 个月,中位 52 个月。据有无转移将每层患者分为未转移组、颈部淋巴结转移组及肺转移组。¹³¹I 治疗后 6 个月行首次治疗后评估,后每 6 个月行连续动态评估,并据

评估结果调整甲状腺素剂量^[5]。患者病理类型均经术后病理证实,颈部淋巴结转移经穿刺细胞学检查证实,肺转移经胸部 CT 及¹³¹I 显像结果证实。

4. 标本采集及检测。手术切除后标本经 4%(体积分数)中性甲醛溶液固定,常规石蜡包埋。固定后行 HE 染色,所有石蜡组织以 4 μm 重新切片,采用瑞士 Roche 公司 Ventana 全自动行免疫组织化学染色。小鼠抗人 BRAF^{V600E} 单克隆抗体(VE1,工作液)购自北京中杉金桥生物技术有限公司,阳性对照为已知突变的结肠癌,以磷酸盐缓冲液替代一抗作为阴性对照。

5. 结果判定。采用双盲评分法判定免疫组织化学结果,由 2 位病理科医师共同诊断。BRAF^{V600E} 蛋白阳性定位于胞质,在排除非特异性染色的前提下,光学显微镜下胞质出现清晰棕黄色染色的细胞为阳性细胞,在 200 倍视野下应用抽签法选取 5 个视野(每个视野观察不少于 200 个细胞),按着色强度及阳性细胞所占百分比进行结果判定:无着色计为 0 分,浅黄色计为 1 分,棕黄色计为 3 分。按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分:阳性细胞数 ≤ 5% 计为 0 分,阳性细胞 6%~25% 计为 1 分,26%~50% 计为 2 分,51%~75% 计为 3 分,≥ 75% 计为 4 分。取 2 项评分乘积作为总积分:0~4 分为低表达,定义为阴性;5~12 分为高表达,定义为阳性。

6. 统计学处理。采用 IBM SPSS 25.0 软件处理数据,计数数据采用例数或百分比表示。采用 χ^2 检验比较不同复发风险分层患者不同转移亚组间的 BRAF^{V600E} 突变情况。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

134 例 PTC 患者中,低危 46 例(未转移 36 例、颈部淋巴结转移 10 例)、中危 47 例(未转移 20 例、颈部淋巴结转移 19 例、肺转移 8 例)、高危 41 例(未转移 8 例、颈部淋巴结转移 20 例、肺转移 13 例)。

共 72 例 PTC 患者发生 BRAF^{V600E} 突变,突变率为 55.22%(74/134)。低危组中,颈部淋巴结转移者 BRAF^{V600E} 突变率(8/10)较未转移者(52.78%, 19/

36)高,但差异无统计学意义($\chi^2 = 2.39, P > 0.05$)。中危组中,颈部淋巴结转移者基因突变率(16/19)高于未转移者(25.00%, 5/20)和肺转移者(3/8; χ^2 值:13.75、5.89, 均 $P < 0.05$),但后两者差异无统计学意义($\chi^2 = 0.44, P > 0.05$)。高危组中,颈部淋巴结转移者基因突变率(85.00%, 17/20)高于未转移者(1/8)和肺转移者(5/13; χ^2 值:13.08、7.68, 均 $P < 0.01$),而后两者差异无统计学意义($\chi^2 = 1.64, P > 0.05$)。

讨 论

DTC 侵袭性较低,其肿瘤死亡风险为 0.5/10 万^[6],但不同病理类型及分期 DTC 的复发率不同,美国甲状腺学会根据病灶大小、病理亚型、包膜及血管侵犯程度、淋巴结转移、远处转移、¹³¹I 治疗后全身显像等权重因素将患者复发风险分为低危、中危、高危 3 层^[7]。Tuttle 等^[8]根据上述风险分层采用甲状腺球蛋白及影像学方法(如超声、核医学等)进行评估随访(中位随访 7 年),结果显示低危、中危、高危 DTC 患者的复发率分别为 3.00%、18.00% 和 66.00%。近年来,学者们在 PTC 细胞中检测到发生率较高的 BRAF^{V600E} 突变,因此就基因突变事件与 PTC 的发生和发展展开了研究^[9]。有研究报道 BRAF^{V600E} 突变与 PTC 细胞增殖、甲状腺外浸润、淋巴结转移和晚期表现相关^[10],其发病机制为 BRAF^{V600E} 突变诱导 BRAF 激酶的活化,引起丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)信号转导通路的持续激活和活化,导致细胞无限分裂、增殖失控和肿瘤形成^[11]。

本研究 PTC 患者 BRAF^{V600E} 突变率为 55.22%,与文献报道的 29%~83% 相符^[3]。中危及高危颈部淋巴结转移患者 BRAF^{V600E} 突变率明显高于其他 2 组,但肺转移者基因突变率与未转移者无明显差异。这表明, BRAF^{V600E} 突变与颈部淋巴结转移密切相关,其可明显增加 PTC 颈部淋巴结转移的发生概率,但与肺转移密切相关。有研究显示 BRAF^{V600E} 突变与 PTC 淋巴结转移呈正相关^[12]; Ito 等^[13] 报道 BRAF^{V600E} 突变与远处转移间没有关联,但在有远处转移的死亡患者中, BRAF^{V600E} 突变的比例要高一些。杨珂等^[14] 报道远处转移 PTC 患者的 BRAF^{V600E} 突变率低于 PTC 患者的整体突变率, BRAF^{V600E} 突变并不是远处转移的危险因素。本研究结果与上述研究相符。Kebebew 等^[15] 对 314 例甲状腺癌术后患者进行了 6 年随访,发现 BRAF^{V600E} 突变与颈淋巴结

转移、远处转移密切相关,这与本研究结果并不完全符合,可能与选择的研究对象不同有关。本研究低危患者中,颈部淋巴结转移者 BRAF^{V600E} 突变率与未转移者无明显不同。分析其原因:低危组 36 例未转移者中,19 例发生基因突变,其中 6 例单发病灶及 8 例多发病灶者的甲状腺被膜均未受到侵犯,余 1 例单发病灶及 4 例多发病灶侵及甲状腺被膜,但未发生血管及神经侵犯,周围淋巴结也未发生转移,说明 BRAF^{V600E} 突变不能作为独立的危险因素来预测低危复发风险患者的术后复发风险。

本研究中,46 例低危复发风险的患者随访有 10 例发生颈部淋巴结转移;47 例中危患者随访有 19 例发生颈部淋巴结转移,8 例出现肺转移。这表明随着时间的延长,甲状腺癌灶的生物学行为会发生变化。因此,应动态实时评估评估患者病情,进而做出客观评价。

虽然 BRAF^{V600E} 突变在 PTC 术后发生转移的患者中发生率较高,但仅依靠 BRAF^{V600E} 突变这一分子学特征还不能完全评价 PTC 术后患者的复发风险,需结合其他的病理学特征进行实时观察,才能对患者的病情作出客观评估。本研究样本量较小,仍需扩大样本量进一步观察分析。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Dillon LW, Lehman CE, Wang YH. The role of fragile sites in sporadic papillary thyroid carcinoma[J]. J Thyroid Res, 2012, 2012; 927683. DOI:10.1155/2012/927683.
- [2] Xing M. BRAF V600E mutation and papillary thyroid cancer[J]. JAMA, 2013, 310(5): 535. DOI:10.1001/jama.2013.8592.
- [3] Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications[J]. Endocr Rev, 2007, 28(7): 742-762. DOI:10.1210/er.2007-0007.
- [4] 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.
- [5] 胡厚洋, 梁军, 张腾, 等. 基于 2009 版美国甲状腺协会指南及 2014 版中国指南的分化型甲状腺癌术后复发风险分层软件的应用比较[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(4): 271-273. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.04.010. Hu HY, Liang J, Zhang T, et al. Performance comparison of intelligent recurrence-risk stratification software based on 2009 American Thyroid Association guidelines and 2014 Chinese guidelines for ¹³¹I therapy of differentiated thyroid carcinoma[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(4): 271-273. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.04.010.

- [6] National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Thyroid Cancer[DB/OL]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US), 2019 [2019-03-01]. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/thyro.html>.
- [7] 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.
- [8] Tuttle RM, Tala H, Shah J, et al. Estimating risk of recurrence in differentiated thyroid cancer after total thyroidectomy and radioactive iodine remnant ablation; using response to therapy variables to modify the initial risk estimates predicted by the new American Thyroid Association staging system[J]. Thyroid, 2010, 20(12): 1341-1349. DOI:10.1089/thy.2010.0178.
- [9] Lee WS, Palmer BJ, Garcia A, et al. BRAF mutation in papillary thyroid cancer; a cost-utility analysis of preoperative testing[J]. Surgery, 2014, 156(6): 1569-1577. DOI:10.1016/j.surg.2014.08.051.
- [10] Kiseljak-Vassiliades K, Xing M. Association of cigarette smoking with aberrant methylation of the tumor suppressor gene RAR β 2 in papillary thyroid cancer[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2011, 2: 99. DOI:10.3389/fendo.2011.00099.
- [11] Hall RD, Kudchadkar RR. BRAF mutations: signaling, epidemiology, and clinical experience in multiple malignancies[J]. Cancer Control, 2014, 21(3): 221-230. DOI:10.1177/107327481402100307.
- [12] Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(1): 42-50. DOI:10.1200/JCO.2014.56.8253.
- [13] Ito Y, Yoshida H, Kihara M, et al. BRAF^{V600E} mutation analysis in papillary thyroid carcinoma: is it useful for all patients? [J]. World J Surg, 2014, 38(3): 679-687. DOI:10.1007/s00268-013-2223-2.
- [14] 杨珂, 梁智勇, 孟超, 等. 甲状腺乳头状癌 BRAF^{V600E} 基因突变与远处转移灶摄碘能力的相关性研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2014, 34(4): 287-291. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.04.005.
- Yang K, Liang ZY, Meng C, et al. Relationship between BRAF^{V600E} mutation and radioactive iodine uptake in distant metastases from papillary thyroid cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(4): 287-291. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.04.005.
- [15] Kebebew E, Weng J, Bauer J, et al. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer[J]. Ann Surg, 2007, 246(3): 466-470. DOI:10.1097/SLA.0b013e318148563d.

(收稿日期:2019-05-28)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

2019 年本刊可直接用缩写的常用词汇

ATP(adenosine-triphosphate), 三磷酸腺苷

CI(confidence interval), 可信区间

CT(computed tomography), 计算机体层摄影术

CV(coefficient of variation), 变异系数

DNA(deoxyribonucleic acid), 脱氧核糖核酸

HAV(hepatitis A virus), 甲型肝炎病毒

Hb(hemoglobin), 血红蛋白

HBsAg(hepatitis B surface antigen), 乙型肝炎表面抗原

HBV(hepatitis B virus), 乙型肝炎病毒

HCV(hepatitis C virus), 丙型肝炎病毒

MRI(magnetic resonance imaging), 磁共振成像

PCR(polymerase chain reaction), 聚合酶链反应

PET(positron emission tomography), 正电子发射体层摄影术

PLT(platelet count), 血小板计数

RBC(red blood cells), 红细胞

RNA(ribonucleic acid), 核糖核酸

SPECT(single photon emission computed tomography), 单光子发射计算机体层摄影术

WBC(white blood cells), 白细胞

WHO(World Health Organization), 世界卫生组织

本刊编辑部