

浸润性滤泡亚型甲状腺乳头状癌患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素分析

李磊^{1,2} 战介芝² 李慧² 王瑞清² 赵诚¹

(1 青岛大学附属医院超声科, 山东 青岛 266003; 2 青岛市第八人民医院超声科)

[摘要] 目的 探究浸润性滤泡亚型甲状腺乳头状癌(infiltrative follicular papillary thyroid carcinoma, IF-PTC)患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素。方法 选择 2019 年 8 月—2023 年 7 月于我院手术治疗的 IF-PTC 患者 134 例,根据 *BRAF* 基因 V600E 突变情况分为突变组和非突变组。收集并比较两组患者的年龄、性别及是否合并桥本氏甲状腺炎,同时收集肿瘤病灶的数量、大小、边界、钙化、回声以及被膜侵犯、颈部淋巴结转移情况等指标,采用多因素 logistic 回归模型分析 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素。结果 本研究中 *BRAF* 基因 V600E 突变患者构成比为 67.16%。单因素分析结果显示,两组患者的年龄、病灶数量和被膜侵犯患者构成比差异显著($\chi^2=7.937\sim 8.874, P<0.05$)。多因素 logistic 回归模型分析显示,年龄 ≥ 55 岁、肿瘤多灶和被膜侵犯均为 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的独立危险因素($P<0.05$)。结论 年龄 ≥ 55 岁、肿瘤多灶和被膜侵犯是 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的独立危险因素。

[关键词] 甲状腺癌, 乳头状; 原癌基因蛋白质 B-raf; 突变; 危险因素

[中图分类号] R736.1; R394

[文献标志码] A

Risk factors analysis for *BRAF* gene V600E mutation in patients with infiltrative follicular papillary thyroid carcinoma LI Lei, ZHAN Jiezh, LI Hui, WANG Ruiqing, ZHAO Cheng (Department of Ultrasound, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the risk factors for *BRAF* gene V600E mutation in patients with infiltrative follicular papillary thyroid carcinoma (IF-PTC). **Methods** A total of 134 patients with IF-PTC who underwent surgical treatment in our hospital from August 2019 to July 2023 were enrolled, and according to the presence or absence of *BRAF* gene V600E mutation, they were divided into mutation group and non-mutation group. The two groups were compared in terms of age, sex, and comorbidity with Hashimoto's thyroiditis, and related indicators were collected, including the number, size, margin, calcification, echo, capsule invasion, and cervical lymph node metastasis of tumor lesions. The multivariate logistic regression model was used to investigate the risk factors for *BRAF* gene V600E mutation in the patients with IF-PTC. **Results** In this study, the patients with *BRAF* gene V600E mutation accounted for 67.16%. The univariate analysis showed that there were significant differences between the two groups in age, the number of lesions, and the constituent ratio of patients with capsule invasion ($\chi^2=7.937-8.874, P<0.05$). The multivariate logistic regression analysis showed that age ≥ 55 years, multifocal tumor, and capsular invasion were independent risk factors for *BRAF* gene V600E mutation in IF-PTC patients ($P<0.05$). **Conclusion** Age ≥ 55 years, multifocal tumor, and capsular invasion are independent risk factors for *BRAF* gene V600E mutations in IF-PTC patients.

[KEY WORDS] Thyroid cancer, papillary; Proto-oncogene proteins B-raf; Mutation; Risk factors

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤,其发病率在过去数十年内始终处于上升趋势^[1-2]。甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)占甲状腺癌的 85%~90%,是甲状腺癌中最为常见的类型^[3]。PTC 患者一般预后较好,10 年生存率超过 90%。基因改变在 PTC 的发生发展中起着重要作用,其中 *BRAF* 基因突变是最常见的一种,其他常见的致癌基因改变包括 *RAS* 基因突变、*RET* 基因重排等^[4]。*BRAF* 基因定位于人类 7 号染色体上(7q34),其错义点突变常位于基因激酶结构域中的

第 11 和 15 个外显子,其中第 15 个外显子中单个碱基的错义突变(T1799A),可以导致蛋白质翻译过程中第 600 位密码子对应的缬氨酸被替换为谷氨酸(V600E)。T1799A 突变在所有的 *BRAF* 基因突变中占比超过了 80%^[5]。PTC 患者中 *BRAF* 基因 V600E 突变现象较常见,该突变已经成为 PTC 辅助诊断的重要指标之一^[6]。2017 年世界卫生组织(WHO)在第 4 版内分泌肿瘤分类^[7]中将 PTC 分为 14 种亚型,其中最常见的是经典型和滤泡亚型(FV-PTC)。FV-PTC 可以分为包裹性和浸润性两种,其中浸润性 FV-PTC 中 *BRAF* 基因 V600E 突变率高达 62.5%^[8]。2022 年 WHO 第 5 版内分泌肿瘤分类^[9]中,FV-PTC 被进一步定义为包裹型浸润性乳

[收稿日期] 2024-05-27; **[修订日期]** 2024-07-12

[基金项目] 山东省自然科学基金面上项目(ZR2021MH403)

[通讯作者] 赵诚, Email: zhaochqd@hotmail.com

头状癌滤泡型(IEFV-PTC)和浸润性滤泡亚型 PTC (IF-PTC)两种类型。目前国内对于 IF-PTC *BRAF* 基因 V600E 突变与患者临床及超声特征相关性的研究较少。本研究通过探讨 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的临床及超声相关危险因素,旨在为该病的临床诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2019 年 8 月—2023 年 7 月于我院行甲状腺手术且术后病理证实为 IF-PTC 的患者 134 例,其中男 27 例,女 107 例,年龄 18~74 岁。患者纳入标准:①依据 2022 年 WHO 第 5 版内分泌肿瘤分类病理诊断标准^[9]确诊为 IF-PTC 者;②术前行甲状腺超声检查者;③临床病例资料完整者;④行术中病理检查者。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②有头颈部放射治疗史者;③年龄<18 岁者。

收集患者的年龄、性别、组织样本 *BRAF* 基因 V600E 免疫组化染色结果,依据基因突变结果将患者分为突变组和非突变组。同时,根据 2017 年美国放射学会发布的甲状腺影像报告和数据系统(TI-RADS)分级标准^[10],记录患者术前甲状腺超声检查结果,包括病灶的数量、大小、边界、钙化、回声、被膜侵犯、颈部淋巴结转移(所有淋巴结转移均得到病理学证实),以及合并桥本氏甲状腺炎(HT)等情况。上述甲状腺超声检查结果的记录由一名具有 5 年以上工作经验的超声科医师进行,如有疑问请另一名上级医师协助确认。

1.2 统计学处理

使用 SPSS 27.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以例(率)表示,组间比较采用卡方检验;对单因素分析中有显著差异的指标进行多因素 logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较

本研究共纳入 IF-PTC 患者 134 例,其中突变组 90 例,非突变组 44 例,*BRAF* 基因 V600E 突变患者构成比为 67.16%。单因素分析结果显示,两组患者的年龄、病灶数量和被膜侵犯患者构成比差异显著($\chi^2 = 7.937 \sim 8.874, P < 0.05$)。见表 1。

2.2 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素 logistic 回归分析

将 *BRAF* 基因 V600E 突变作为因变量,单因

素分析结果中 $P < 0.05$ 的指标作为自变量,进行多因素 logistic 回归分析。将各变量赋值,*BRAF* 基因 V600E 突变 = 1 而未突变 = 0,年龄 ≥ 55 岁 = 1 而年龄 < 55 岁 = 0,多灶 = 1 而单灶 = 0,侵犯被膜 = 1 而未侵犯被膜 = 0。多因素 logistic 分析结果显示,年龄 ≥ 55 岁、肿瘤多灶和被膜侵犯均为 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组患者一般资料比较[例(%)]

指标	突变组 (n=90)	非突变组 (n=44)	χ^2 /校正 χ^2	P
年龄				
≥ 55 岁	35(38.89)	6(13.64)	8.874	0.003
< 55 岁	55(61.11)	38(86.36)		
性别				
女性	72(80.00)	35(79.55)	0.004	0.999
男性	18(20.00)	9(20.45)		
病灶大小				
< 1 cm	41(45.56)	13(29.55)	3.149	0.076
≥ 1 cm	49(54.44)	31(70.45)		
病灶边界				
清晰	15(16.67)	11(25.00)	1.312	0.252
不清	75(83.33)	33(75.00)		
钙化灶				
有	69(76.67)	32(72.73)	0.247	0.619
无	21(23.33)	12(27.27)		
病灶数量				
多灶	30(33.33)	4(9.09)	9.172	0.003
单灶	60(66.67)	40(90.91)		
被膜侵犯				
有	52(57.78)	14(31.82)	7.968	0.005
无	38(42.22)	30(68.18)		
病灶回声				
低回声	84(93.33)	41(93.18)	0.112	0.738
混合回声	6(6.67)	3(6.82)		
颈部淋巴结转移				
有	25(27.78)	15(34.09)	0.562	0.453
无	65(72.22)	29(65.91)		
合并 HT				
是	18(20.00)	13(29.55)	1.514	0.218
否	72(80.00)	31(70.45)		

表 2 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变危险因素的
多因素 logistic 回归分析

变量	B	SE	Wald χ^2	P	OR(95%CI)
年龄 ≥ 55 岁	1.557	0.533	8.526	0.004	4.743(1.668~13.484)
肿瘤多灶	1.361	0.611	4.963	0.026	3.901(1.178~12.921)
被膜侵犯	1.822	0.462	15.565	< 0.001	6.184(2.501~15.289)

3 讨论

BRAF 基因 V600E 突变是 PTC 中最常见的基因突变类型,不同亚型 PTC 的突变率有所差异^[6],

并具有不同的超声和病理学特点,复发和预后也有所不同。*BRAF* 基因 V600E 突变与 PTC 患者的临床特征密切相关^[11]。PTC 初发年龄是该病患者生存率的独立预测因素之一,2018 年美国癌症联合委员会(AJCC)公布了第 8 版甲状腺癌 TNM 分期标准^[12],其中将 55 岁作为特定疾病高死亡风险年龄阈值。有研究表明,≤25 岁、26~35 岁、36~45 岁、46~55 岁以及 ≥55 岁的 PTC 患者的 *BRAF* 基因 V600E 突变率分别为 68%、75%、80%、82% 以及 88%^[13]。本研究结果显示 ≥55 岁是 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素之一,与上述研究结果相符。

IF-PTC 作为 PTC 的分型,于 2022 年第一次被定义^[9],现阶段国内外尚缺乏其相关超声特征的报道。但 PTC 超声特征与 *BRAF* 基因 V600E 突变的相关性目前存在一定争议。有学者指出 *BRAF* 基因 V600E 突变与甲状腺肿瘤边界是否清晰、回声性质以及有无钙化灶均有关^[14],亦有研究发现 *BRAF* 基因 V600E 突变与甲状腺肿瘤的边界及钙化灶情况无关^[15]。本研究中两组患者 IF-PTC 结节的边界是否清晰、回声性质及有无钙化灶等指标均无显著差异。有研究指出 PTC 患者肿瘤病灶数量与 *BRAF* 基因 V600E 突变密切相关^[16]。本研究结果显示,*BRAF* 基因 V600E 突变组的多灶患者构成比显著高于非突变组,且肿瘤多灶是该基因突变的危险因素之一。因此,对 *BRAF* 基因 V600E 突变检测阳性的 IF-PTC 患者,行超声检查时应该更加严谨,以防漏诊病灶。甲状腺被膜侵犯被认为是 PTC 发生淋巴结转移和肿瘤复发的危险因素之一^[17]。有研究对于 186 例 PTC 患者的 *BRAF* 基因 V600E 突变与肿瘤被膜侵犯关系进行分析,发现基因突变者被膜侵犯率为 22.4%,未发生突变者被膜侵犯率为 10.2%,提示 *BRAF* 基因 V600E 突变患者肿瘤更易侵犯被膜^[18]。本研究结果显示,被膜侵犯是 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素,印证了既往研究结果。第 8 版 AJCC 甲状腺癌 TNM 分期标准^[12]指出,肿瘤大小和颈部淋巴结转移情况是评价 PTC 患者肿瘤临床分期的标准之一。有研究指出 *BRAF* 基因 V600E 突变的 PTC 患者肿瘤直径更大、淋巴结转移趋势更明显,在肿瘤直径 2.0~4.0 cm 的患者中,*BRAF* 基因 V600E 突变可能提示淋巴结转移,而在肿瘤直径 0.5~1.0 cm 的患者中,*BRAF* 基因 V600E 突变与淋巴结转移无相关性^[19]。然而,本研究结果表明 *BRAF* 基因 V600E

突变与肿瘤大小及颈部淋巴结转移无关,分析原因可能是 *BRAF* 基因 V600E 突变多发生于 PTC 早期阶段,相对于颈部淋巴结转移出现时间更早^[20]。本研究中部分 *BRAF* 基因突变患者处于疾病早期,未发生颈部淋巴结转移,使结果产生了统计学偏差。HT 是一种可能导致甲状腺功能下降的自身免疫性疾病,研究显示 HT 患者更容易合并 PTC^[21]。HT 在 PTC 的进展中像一把“双刃剑”,既增加了 PTC 患病风险,但同时也被视为阻止 PTC 进展的保护因素。PTC 合并 HT 患者的 *BRAF* 基因 V600E 突变率、淋巴结转移率及肿瘤复发率均较低^[22]。本研究结果显示 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变与 HT 无关。目前 HT 在 IF-PTC 发展过程中的相关影响机制尚不明了,其与 IF-PTC 患者基因突变的关系仍需更加深入的研究。

本研究的局限性在于样本量较少,且为单中心研究,因此后续需进行大样本的多中心研究,并且对患者进行术后随访追踪,以进一步探讨 *BRAF* 基因 V600E 突变与 IF-PTC 患者超声特征以及预后之间的关系。

综上所述,年龄 ≥55 岁、肿瘤多灶和被膜侵犯是 IF-PTC 患者 *BRAF* 基因 V600E 突变的危险因素。在临床中,对于存在 *BRAF* 基因 V600E 突变的 IF-PTC 患者,进行超声检查时需要更加关注肿瘤灶数量及被膜侵犯情况,以免对病情的评估产生偏差。

伦理批准和知情同意:本研究涉及的所有试验均已通过青岛大学附属医院医学伦理委员会的审核批准(文件号 QYFYWZLL28873)。所有试验过程均遵照《人体医学研究的伦理准则》的条例进行。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

作者声明:赵诚、李磊参与了研究设计;李磊、战介芝、李慧、王瑞清、赵诚参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] MIRANDA-FILHO A, LORTET-TIEULENT J, BRAY F, et al. Thyroid cancer incidence trends by histology in 25 countries: A population-based study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021,9(4):225-234.
- [2] PIZZATO M, LI M M, VIGNAT J, et al. The epidemiological landscape of thyroid cancer worldwide: GLOBOCAN estimates for incidence and mortality rates in 2020[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2022,10(4):264-272.
- [3] GE J S, WANG J, WANG H, et al. The *BRAF* V600E mutation is a predictor of the effect of radioiodine therapy in papillary thyroid cancer[J]. *J Cancer*, 2020,11(4):932-939.

- [4] LI M, JIA H T, QIAN Q Q, et al. Genomic characterization of high-recurrence risk papillary thyroid carcinoma in a southern Chinese population[J]. *Diagn Pathol*, 2020,15(1):49.
- [5] DAVIES H, BIGNELL G R, COX C, et al. Mutations of the *BRAF* gene in human cancer[J]. *Nature*, 2002,417(6892):949-954.
- [6] CZARNIECKA A, OCZKO-WOJCIECHOWSKA M, BARCZYŃSKI M. *BRAF* V600E mutation in prognostication of papillary thyroid cancer (PTC) recurrence [J]. *Gland Surg*, 2016,5(5):495-505.
- [7] LAM A K. Update on adrenal tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of endocrine tumours [J]. *Endocr Pathol*, 2017,28(3):213-227.
- [8] SOHN S Y, LEE J J, LEE J H. Molecular profile and clinicopathologic features of follicular variant papillary thyroid carcinoma[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020,26(2):927-936.
- [9] BASOLO F, MACEROLA E, POMA A M, et al. The 5th edition of WHO classification of tumors of endocrine organs; Changes in the diagnosis of follicular-derived thyroid carcinoma [J]. *Endocrine*, 2023,80(3):470-476.
- [10] SHAYGANFAR A, HASHEMI P, ESFAHANI M M, et al. Prediction of thyroid nodule malignancy using thyroid imaging reporting and data system (TIRADS) and nodule size[J]. *Clin Imaging*, 2020,60(2):222-227.
- [11] CHAKRABORTY A, NARKAR A, MUKHOPADHYAYA R, et al. *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid carcinoma; Significant association with node metastases and extra thyroidal invasion[J]. *Endocr Pathol*, 2012,23(2):83-93.
- [12] LAMARTINA L, GRANIG, ARVAT E, et al. 8th edition of the AJCC/TNM staging system of thyroid cancer; What to expect (ITCO#2)[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2018,25(3):L7-L11.
- [13] 王培顺,李淑琴,王岩,等. *BRAF* 突变与甲状腺乳头状癌临床病理学特征关系研究[J]. *岭南现代临床外科*, 2022,8(2):134-137,142.
- [14] KABAHER A S, TUBLIN M E, NIKIFOROV Y E, et al. Suspicious ultrasound characteristics predict *BRAF* V600E-positive papillary thyroid carcinoma [J]. *Thyroid*, 2012,22(6):585-589.
- [15] LI Q, YUAN J J, WANG Y, et al. Association between the *BRAF* V600E mutation and ultrasound features of the thyroid in thyroid papillary carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2017,14(2):1439-1444.
- [16] 李小妹,李想,王利利,等. *BRAF* V600E 基因突变与 PTC 患者病灶数目及碘摄入量的相关性分析[J]. *生物医学工程与临床*, 2022,8(6):761-766.
- [17] JIANG L H, YIN K X, WEN Q L, et al. Predictive risk-scoring model for central lymph node metastasis and predictors of recurrence in papillary thyroid carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2020,10(1):710.
- [18] TABRIZ N, GRONE J, USLAR V, et al. *BRAF* V600E mutation correlates with aggressive clinico-pathological features but does not influence tumor recurrence in papillary thyroid carcinoma-10-year single-center results[J]. *Gland Surg*, 2020,9(6):1902-1913.
- [19] KIM S K, LEE J H, WOO J W, et al. *BRAF* V600E mutation; Differential impact on central lymph node metastasis by tumor size in papillary thyroid carcinoma [J]. *Head Neck*, 2016,38(Suppl 1):E1203-E1209.
- [20] YU L Y, MA L Z, TU Q F, et al. Clinical significance of *BRAF* V600E mutation in 154 patients with thyroid nodules [J]. *Oncol Lett*, 2015,9(6):2633-2638.
- [21] ZENG R, ZHAO M, NIU H, et al. Relationship between Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinoma in children and adolescents [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018,22(22):7778-7787.
- [22] XU J Y, DING K, MU L, et al. Hashimoto's thyroiditis: A "double-edged sword" in thyroid carcinoma [J]. *Front Endocrinol*, 2022,13:801925. (本文编辑 范睿心 厉建强)

(上接第 323 页)

- [18] YANG X H, SUN F, GAO Y Y, et al. Histone acetyltransferase CSRP2BP promotes the epithelial-mesenchymal transition and metastasis of cervical cancer cells by activating N-cadherin[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023,42(1):268.
- [19] WANG W L, CHEN H, GAO W J, et al. Girdin interaction with vimentin induces EMT and promotes the growth and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2020,44(2):637-649.
- [20] ZHOU Y M, LIN F R, WAN T, et al. ZEB1 enhances Warburg effect to facilitate tumorigenesis and metastasis of HCC by transcriptionally activating PFKM[J]. *Theranostics*, 2021,11(12):5926-5938.
- [21] PEREZ-OQUENDO M, GIBBONS D L. Regulation of ZEB1 function and molecular associations in tumor progression and metastasis[J]. *Cancers*, 2022,14(8):1864.
- [22] BAO Z, ZENG W, ZHANG D, et al. SNAIL induces EMT and lung metastasis of tumours secreting CXCL2 to promote the invasion of M2-type immunosuppressed macrophages in colorectal cancer[J]. *Int J Biol Sci*, 2022,18(7):2867-2881.
- [23] MONDAL S, ADHIKARI N, BANERJEE S, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview[J]. *Eur J Med Chem*, 2020,194:112260.
- [24] PAN S G, HU Y, HU M J, et al. Platelet-derived PDGF promotes the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma by upregulating MMP2/MMP9 expression and inducing EMT via the p38/MAPK signalling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2020,12(7):3577-3595.
- [25] CHEN J H, YUAN W Z, WU L, et al. PDGF-D promotes cell growth, aggressiveness, angiogenesis and EMT transformation of colorectal cancer by activation of Notch1/Twist1 pathway [J]. *Oncotarget*, 2017,8(6):9961-9973. (本文编辑 耿波)