

## Correlations of clinical, multi-modal ultrasonic and pathological features of papillary thyroid carcinoma with BRAF V600E mutation

SUN Xin, ZHANG Wei\*, CHENG Linggang, GUANG Yang, ZHANG Yukang

(Department of Ultrasound, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the correlations of clinical, multi-modal ultrasonic and pathological features of papillary thyroid carcinoma (PTC) with BRAF V600E mutation. **Methods** Patients with clinically suspected malignant thyroid lesions were prospectively collected. After the results of pathology and gene test were obtained, PTC patients were divided into BRAF V600E mutation (+) (mutant group) and BRAF V600E mutation (-) (wild-type group) according to BRAF V600E gene test. Univariate analysis and multivariate logistic regression were used to compare clinical, conventional ultrasound, contrast-enhanced ultrasound (CEUS) and pathological manifestations between groups, so as to screen the independent risk factors of PTC BRAF V600E gene mutation. **Results** A total of 116 PTC patients (116 lesions) were enrolled, including 77 in mutant group and 39 in wild-type group. Statistical differences of thyroid peroxidase antibody (TPO-Ab) level, lesion size, orientation, margin and microcalcification observed on conventional ultrasound, changes of lesion size and the mean transit time (MTT) shown on CEUS, as well as of extramembranous invasion, cervical central lymph node metastasis, complicated with benign nodules shown by pathology were found between groups (all  $P < 0.05$ ). TPO-Ab level, lesion orientation and changes of lesion size after enhancement shown by multi-modal ultrasound, and pathological cervical central lymph node metastasis were all independent predictive factors for PTC BRAF V600E gene mutation ( $OR = 0.175, 3.868, 5.769, 6.943$ , all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Patients' TPO-Ab level, lesion orientation, changes of lesion size after enhancement shown by multi-modal ultrasound and pathological cervical central lymph node metastasis were all independently associated with PTC BRAF V600E gene mutation.

**[Keywords]** carcinoma, papillary; thyroid neoplasms; ultrasonography; BRAF V600E gene; prospective studies

DOI:10.13929/j.issn.1003-3289.2024.05.021

## 甲状腺乳头状癌临床、多模态超声及病理学特征与 BRAF V600E 突变的相关性

孙鑫, 张巍\*, 程令刚, 广 畅, 张雨康

(首都医科大学附属北京天坛医院超声科, 北京 100070)

**[摘要]** **目的** 观察甲状腺乳头状癌(PTC)临床、多模态超声及病理学特征与 BRAF V600E 突变的相关性。**方法** 前瞻性收集临床疑诊甲状腺恶性病变患者, 获取病理学及基因检测结果后, 根据 BRAF V600E 基因检测结果将 PTC 分为 BRAF V600E 突变(+)(突变组)和 BRAF V600E 突变(-)(野生型组); 以单因素分析及多因素 logistic 回归分析组间临床、常规超声、超声造影(CEUS)及病理学表现, 筛选 PTC BRAF V600E 基因突变的独立预测因素。**结果** 共纳入 116 例 PTC 患者(116 个病灶), 包括突变组 77 例、野生型组 39 例。组间甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)水平, 常规超声所示

**[第一作者]** 孙鑫(1995—), 女, 湖南长沙人, 硕士, 医师。研究方向: 浅表器官超声诊断学。E-mail: 604303131@qq.com

**[通信作者]** 张巍, 首都医科大学附属北京天坛医院超声科, 100070。E-mail: ultrazw@sina.com

**[收稿日期]** 2024-01-08 **[修回日期]** 2024-02-27

病灶大小、方位、边缘、微钙化, CEUS 显示增强后病灶大小变化、平均通过时间(MTT), 以及病理学显示被膜外侵犯、颈部中央区淋巴结转移及合并良性结节占比差异均有统计学意义( $P$  均 $<0.05$ ); 其中, TPO-Ab、多模态超声所示病灶方位及增强后病灶大小变化、病理学颈部中央区淋巴结转移均为 PTC BRAF V600E 基因突变的独立预测因素( $OR=0.175, 3.868, 5.769, 6.943, P$  均 $<0.05$ )。结论 患者 TPO-Ab 水平, 多模态超声所示病灶方位、增强后病灶大小变化及病理学显示颈部中央区淋巴结转移均与 PTC BRAF V600E 基因突变独立相关。

[关键词] 癌, 乳头状; 甲状腺肿瘤; 超声检查; BRAF V600E 基因; 前瞻性研究

[中图分类号] R736.1; R445.1 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2024)05-0730-05

甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见甲状腺恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 预后多较好, 但少数可出现复发、转移甚至死亡<sup>[2]</sup>。BRAF V600E 基因突变见于 28%~83% PTC, 为其常见基因突变类型, 与预后不良相关<sup>[3-4]</sup>。本研究观察 PTC 临床、多模态超声及病理学特征与其 BRAF V600E 基因突变的相关性。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 前瞻性收集 2023 年 4 月—2023 年 8 月于首都医科大学附属北京天坛医院临床疑诊甲状腺恶性病变患者。纳入标准: ①术前接受常规超声、超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)、超声引导下细针穿刺活检(ultrasound-guided fine needle aspiration, US-FNA)及穿刺洗脱液 BRAF V600E 基因检测, 超声显示为单发 PTC, 且 BRAF V600E 基因检测结果明确; ②手术病理与 US-FNA 结果均为 PTC; ③临床及影像学资料完整。排除标准: ①既往甲状腺手术史; ②合并甲状腺其他恶性肿瘤。本研究经院伦理委员会批准(KY2020-007-02); 检查前患者均知情同意。

1.2 仪器与方法 由 1 名具有 15 年以上超声诊断经验的主任医师采用 Canon Aplio i900 彩色多普勒超声诊断仪、频率 4~18 MHz 的 L4-18 线阵探头行甲状腺超声检查。嘱患者仰卧、充分暴露颈前区, 先以二维超声连续扫查甲状腺, 再以多切面观察甲状腺可疑病灶, 记录其常规超声表现, 包括位置、大小、成分、方位、声晕、回声、边缘、局灶性强回声、甲状腺背景等及 CDFI 所见。根据 Rago 分型对甲状腺结节血流进行半定量分型: I 型, 无血流; II 型, 结节内部无或少量血流信号, 周边可见血流信号; III 型, 结节内部血流信号丰富, 周边有或无血流信号。切换造影模式行 CEUS, 连续观察至少 90 s 并留存动态图像, 记录病灶增强方式、水平、分布, 以及增强后病灶边界、大小变化和被膜连续性。分别以病灶及非肿瘤甲状腺组织为 ROI, 获取 CEUS 时间-强度曲线, 设备自动计算得出达峰时间

(time to peak, TTP)、峰值强度(peak intensity, PI)、平均通过时间(mean transit time, MTT)及时间-强度曲线下面积(area under the curve, AUC)。

1.3 US-FNA 及 BRAF V600E 基因检测 嘱患者仰卧, 常规局部消毒、麻醉后, 于超声引导下以日本八光一次性吸引活检针(23G×50 mm)刺入疑病灶, 于其内以多角度反复进行提插及抽吸, 获取足量穿刺液后进行涂片、固定, 将涂片及洗脱液送交 BRAF V600E 基因突变检测; 记录检测结果, 以 Ct 值 $<28$  为 BRAF V600E 突变(+)(突变组), Ct 值 $\geq 28$  为 BRAF V600E 突变(-)(野生型组)。

1.4 收集资料 记录术前甲状腺功能, 包括促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)、甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulin antibodies, Tg-Ab)和甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPO-Ab)等, 以及术后病理所见病灶数目、被膜外侵犯、有无颈部中央区淋巴结转移、是否合并桥本甲状腺炎及是否合并良性结节等。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 27.0 统计分析软件。以  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法比较计数资料。以  $\bar{x} \pm s$  表示正态分布计量资料, 行独立样本  $t$  检验; 以中位数(上下四分位数)表示非正态分布计量资料, 行 Mann-Whitney U 检验。针对单因素分析有统计学意义的参数行多因素 logistic 回归分析, 筛选 PTC BRAF V600E 基因突变的独立影响因素。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

共 116 例患者、116 个 PTC 病灶纳入研究, 男 30 例、女 86 例, 年龄 19~72 岁、平均(43.3±11.7)岁; 包括突变组 77 例、野生型组 39 例。

2.1 单因素分析 组间患者 TPO-Ab, 常规超声所示病灶大小、方位、边缘、微钙化, CEUS 所示增强后病灶大小变化、MTT, 病理所见被膜外侵犯、颈部中央区淋巴结转移及合并良性结节占比差异均有统计学意义

( $P$  均  $< 0.05$ ); 组间其余特征差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1、图。

2.2 多因素 logistic 回归分析 TPO-Ab 水平, 超声所示病灶方位、增强后结节大小变化及病理见颈部中央区淋巴结转移均为 PTC BRAF V600E 基因突变的

独立预测因素 ( $P$  均  $< 0.05$ , 表 2)。

### 3 讨论

近年来, 分子标志物已成为辅助诊断恶性肿瘤及预测预后的重要指标。BRAF V600E 基因突变可致丝裂原活化蛋白激酶通路异常激活, 与细胞生长、增殖、

表 1 77 例突变型及 39 例野生型 PTC 患者临床资料、病灶多模态超声表现及病理所见

组别	性别(例)		年龄(岁)	TSH 异常(例)		Tg 异常(例)		TG-Ab 异常(例)		TPO-Ab 异常(例)	
	男	女		是	否	是	否	是	否	是	否
突变组 ( $n=77$ )	23	54	44.1±13.0	11	66	20	57	16	61	24	53
野生型组 ( $n=39$ )	7	32	41.9±8.7	3	36	7	32	3	36	5	34
$\chi^2/t/Z$ 值	1.919		0.945	0.530		0.934		3.237		4.648	
$P$ 值	0.166		0.347	0.467		0.334		0.072		0.031	

组别	常规超声表现(个)											
	病灶位置				病灶大小		病灶成分		病灶方位		低回声晕	
	峡部	上部	中部	下部	$\leq 0.5$ cm	$> 0.5$ cm	囊实性	实性	水平位	垂直位	有	无
突变型组 ( $n=77$ )	4	29	22	22	15	62	0	77	38	39	10	67
野生型组 ( $n=39$ )	1	12	14	12	15	24	1	38	27	12	7	32
$\chi^2/t/Z$ 值	1.181				4.864		-		4.153		0.510	
$P$ 值	0.761				0.027		0.336*		0.042		0.475	

组别	常规超声表现											
	实性成分回声(个)			边缘(个)		微钙化(个)		甲状腺背景(例)		血流 Rago 分型(个)		
	高回声或等回声	低回声	极低回声	光整或欠清晰	不规则	有	无	正常	弥漫性病变	I 型	II 型	III 型
突变型组 ( $n=77$ )	1	65	11	4	73	60	17	50	27	26	40	11
野生型组 ( $n=39$ )	2	26	11	8	31	23	16	27	12	10	25	4
$\chi^2/t/Z$ 值	5.161			5.002		4.566		0.214		1.558		
$P$ 值	0.085			0.025		0.033		0.644		0.459		

组别	CEUS 表现(个)												
	增强方式		增强程度			强度分布		增强后病灶边界		增强后病灶大小变化		增强后被膜连续性	
	向心性	非向心性	高增强	等增强	低增强	均匀	不均匀	清晰	不清晰	增大	不变	连续	中断
突变型组 ( $n=77$ )	36	41	4	10	63	2	75	1	76	47	30	49	28
野生型组 ( $n=39$ )	18	21	1	4	34	2	37	3	36	15	24	22	17
$\chi^2/t/Z$ 值	0.004		0.522			0.028		1.548		5.304		0.569	
$P$ 值	0.951		0.770			0.867		0.213		0.021		0.451	

组别	CEUS 表现											
	TTP(s)		PI			MTT(s)		AUC				
突变型组 ( $n=77$ )	1.02(0.57, 2.28)		3.60(2.65, 5.10)			7.50(6.15, 10.70)		1.00(0.60, 1.60)				
野生型组 ( $n=39$ )	1.69(0.48, 3.24)		3.80(3.10, 4.60)			6.10(4.80, 8.90)		0.80(0.50, 1.90)				
$\chi^2/t/Z$ 值	1.213		0.281			2.511		0.138				
$P$ 值	0.225		0.779			0.012		0.891				

组别	病理结果(例)									
	病灶数量		被膜外侵犯		颈部中央区淋巴结转移		合并桥本甲状腺炎		合并良性结节	
	单灶	多灶	有	无	有	无	有	无	有	无
突变型组 ( $n=77$ )	61	16	30	47	42	35	29	48	15	62
野生型组 ( $n=39$ )	29	10	8	31	13	26	15	24	2	37
$\chi^2/t/Z$ 值	0.352		4.000		4.672		0.007		4.264	
$P$ 值	0.553		0.046		0.031		0.933		0.039	

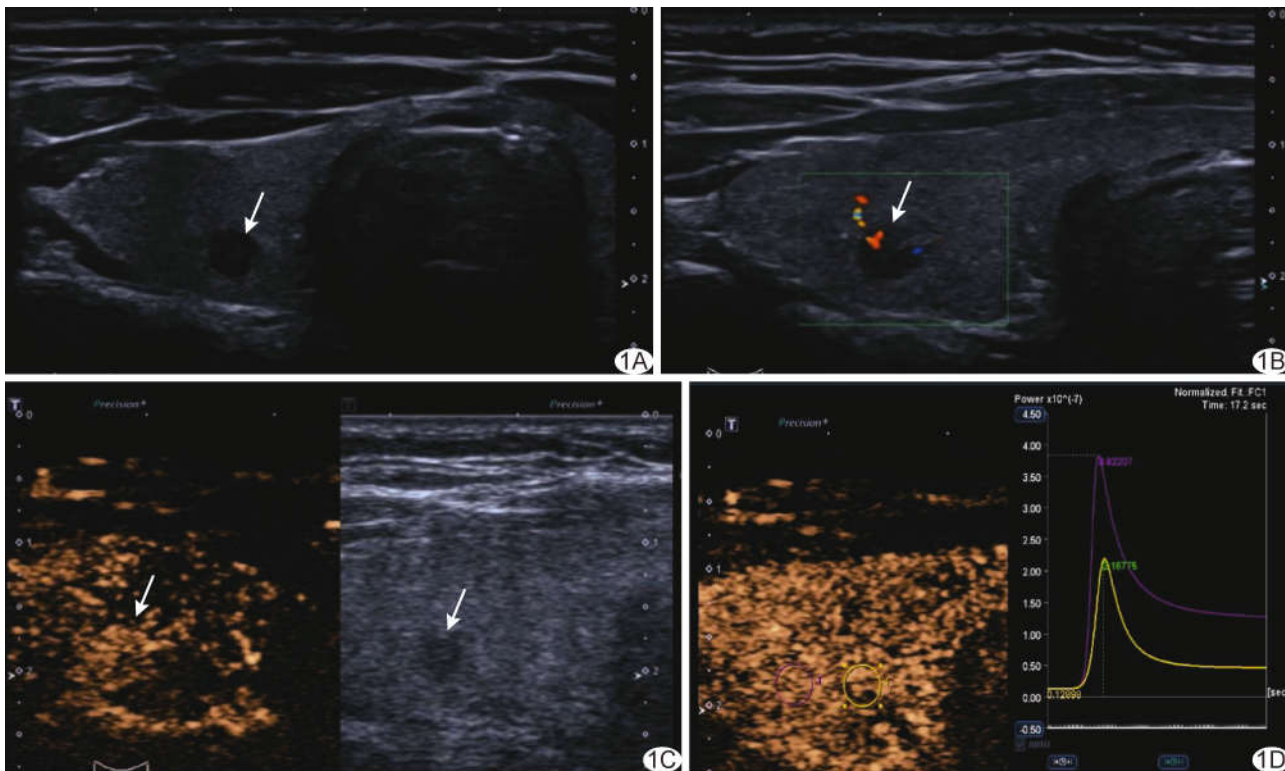


图 1 突变型组患者,女,19 岁,甲状腺右叶 PTC A~C. 二维超声图(A)示甲状腺右叶上部 0.5 cm×0.4 cm×0.5 cm 实性极低回声结节,呈垂直位,边缘不规则,无低回声晕,内未见明显强回声,甲状腺背景正常;CDFI(B)示病灶内见少量血流信号(Rago III 型);CEUS(C)表现为非向心性、不均匀高增强,增强后病灶边界不清、范围增大、被膜连续;D. 病灶 CEUS 时间-强度曲线(紫色代表病灶,黄色代表腺体),其 TTP 为 3.82 s,PI 3.4,MTT 11.2 s,AUC 2.1 (箭示病灶)

表 2 多因素 logistic 回归分析 PTC BRAF V600E 基因突变的独立预测因素

变量	OR 值(95%CI)	P 值
TPO-Ab 水平	0.175(0.046,0.669)	0.011
病灶方位	3.868(1.147,13.037)	0.029
增强后病灶大小变化	5.769(1.873,17.771)	0.002
颈部中央区淋巴结转移	6.943(1.759,27.400)	0.006

凋亡及分化密切相关<sup>[5-6]</sup>。PTC 的 BRAF V600E 基因突变发生率具有地区和种族差异<sup>[7-8]</sup>,本组 116 例 PTC 的 BRAF V600E 基因突变率达 66.38% (77/116)。

已有研究<sup>[7-8]</sup>对 PTC 临床、超声及病理学特征与 BRAF V600E 基因突变的相关性存在较大争议。本研究结果显示,患者 TPO-Ab 水平、超声所示病灶方位、增强后结节大小变化及病理见颈部中央区淋巴结转移均为 PTC BRAF V600E 基因突变的独立预测因素。既往研究<sup>[9]</sup>认为 BRAF V600E 基因突变更常见于未合并桥本甲状腺炎的 PTC 患者;本组患者 TPO-Ab 与 PTC BRAF V600E 基因突变显著相关,但与合并桥本甲状腺炎与否无明显相关,可能与流行病学因

素及纳入病例不同有关。桥本甲状腺炎和 BRAF V600E 基因突变可能在 PTC 发生、发展中各有其独立机制,有待进一步研究。

KHADRA 等<sup>[10]</sup>以边缘不规则、钙化、低回声、被膜外侵犯及颈部淋巴结转移等超声特征联合诊断 PTC BRAF V600E 基因突变的准确率高达 93.2%。本研究结果显示,常规超声所示病灶方位为 PTC BRAF V600E 基因突变的独立危险因素,与王国涛等<sup>[11]</sup>的结果相符,可能因评估标准不同而与其他研究<sup>[11]</sup>结果有所差异。CEUS 可反映甲状腺结节血流灌注<sup>[12]</sup>。既往研究<sup>[13-14]</sup>报道,病灶 CEUS 呈低增强、向心性增强方式及增强后增大均为 PTC BRAF V600E 基因突变的相关危险因素。陈蕾等<sup>[15]</sup>认为可根据常规超声及 CEUS 显示肿瘤与被膜接触 $\geq 25\%$ 、被膜连续性中断及 BRAF V600E 基因突变预测 PTC 被膜外侵犯。本研究结果亦显示增强后病灶增大为 PTC BRAF V600E 基因突变的独立危险因素,可能与其呈侵袭性生长相关。

CELİK 等<sup>[16]</sup>提出病理见淋巴结转移与 PTC BRAF V600E 基因突变无明显相关;而 KOMBAC

等<sup>[17]</sup>认为包膜不完整或缺失、淋巴结转移等均与 PTC BRAF V600E 基因突变相关。本研究中,病理显示颈部中央区淋巴结转移与 PTC BRAF V600E 基因突变显著相关。各研究结果不尽一致的原因可能与不同医疗中心治疗 PTC 的方案不同有关,如行预防性颈部淋巴结清扫时更易发现淋巴结转移。

综上所述,患者 TPO-Ab 水平、多模态超声所示病灶方位及 CEUS 增强后病灶增大、病理学见颈部中央区淋巴结转移均与 PTC BRAF V600E 基因突变独立相关;分析上述因素有助于术前判断 PTC 侵袭性、合理制定治疗计划及患者预后。但本研究为单中心观察,且未涉及其他基因,有待扩大样本进一步分析。

利益冲突:全体作者声明无利益冲突。

作者贡献:孙鑫研究设计和实施、查阅文献、数据和统计分析、撰写文章;张巍指导、研究设计、图像分析、审阅文章;程令刚、广旻和张雨康修改文章。

#### [参考文献]

- [1] 曹皎皎,陈小敏,贾红靖,等.联合应用临床、超声和病理特征判断甲状腺乳头状癌 Delphian 淋巴结转移[J].中国介入影像与治疗学,2023,20(11):675-679.
- [2] LONDERO S C, KROGDAHL A, BASTHOLT L, et al. Papillary thyroid carcinoma in Denmark, 1996-2008: Outcome and evaluation of established prognostic scoring systems in a prospective national cohort[J]. *Thyroid*, 2015,25(1):78-84.
- [3] BRIGANTE G, CRAPARO A, PIGNATTI E, et al. Real-life use of BRAF-V600E mutation analysis in thyroid nodule fine needle aspiration: Consequences on clinical decision-making[J]. *Endocrine*, 2021,73(3):625-632.
- [4] ROBB R, YANG L, SHEN C, et al. Inhibiting BRAF oncogene-mediated radioresistance effectively radiosensitizes BRAF-mutant thyroid cancer cells by constraining DNA double-strand break repair[J]. *Clin Cancer Res*, 2019,25(15):4749-4760.
- [5] XING M. Genetic-guided risk assessment and management of thyroid cancer[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019,48(1):109-124.
- [6] MOULANA F I, PRIYANI A A H, DASSANAYAKE R S, et al. BRAF-oncogene-induced senescence and the role of thyroid-stimulating hormone signaling in the progression of papillary thyroid carcinoma[J]. *Horm Cancer*, 2018,9(1):1-11.
- [7] KAABOUCH M, CHAHDI H, AZOUZI N, et al. BRAF hot spot mutation in thyroid carcinomas: First moroccan experience from a single-institution retrospective study[J]. *Afr Health Sci*, 2020,20(4):1849-1856.
- [8] RASHID F A, MUNKHDELGER J, FUKUOKA J, et al. Prevalence of BRAF V600E mutation in Asian series of papillary thyroid carcinoma: A contemporary systematic review[J]. *Gland Surg*, 2020,9(5):1878-1900.
- [9] KIM W W, HA T K, BAE S K. Clinical implications of the BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma and chronic lymphocytic thyroiditis[J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2018,47(1):4.
- [10] KHADRA H, DENIWAR A, MOHSIN K, et al. Can suspicious ultrasound features predict BRAF V600E status in papillary thyroid cancer [J]. *Eur Thyroid J*, 2018, 7 (4): 205-210.
- [11] 王国涛,黎燕,梁瑾瑜,等.甲状腺乳头状癌 BRAF V600E 基因突变与临床及超声特征的相关性研究[J].中国超声医学杂志,2021,37(4):376-379.
- [12] 朱天彤,庄连婷,马孝芬,等.常规超声联合超声造影鉴别诊断甲状腺恶性与炎性病灶[J].中国医学影像技术,2021,37(12):1789-1793.
- [13] LIU Y, HE L, YIN G, et al. Association analysis and the clinical significance of BRAF gene mutations and ultrasound features in papillary thyroid carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019,18(3):2995-3002.
- [14] LIN Z M, YAN C X, SONG Y, et al. The features of contrast enhanced ultrasound and BRAF V600E in papillary thyroid carcinoma[J]. *J Thorac Dis*, 2019,11(12):5071-5078.
- [15] 陈蕾,陈路增,刘晶华,等.超声造影及 BRAF 基因突变诊断甲状腺乳头状癌被膜外侵犯[J].中国医学影像技术,2020,36(1):50-54.
- [16] CELIK M, BULBUL B Y, AYTURK S, et al. The relation between BRAF V600E mutation and clinicopathological characteristics of papillary thyroid cancer [J]. *Med Glas (Zenica)*, 2020,17(1):30-34.
- [17] KOMBAK F E, OZKAN N, UGURLU M U, et al. BRAF V600E immunohistochemistry in papillary thyroid carcinomas: Relationship between clinical and morphological parameters[J]. *Turk Patoloji Derg*, 2019,35(2):83-91.