

· 临床医学 ·

## 细针穿刺活检联合 BRAF-V600E 基因检测对甲状腺可疑恶性结节的诊断价值

杨振冬<sup>1</sup>, 杨 恒<sup>1</sup>, 黄红梅<sup>1</sup>, 叶新华<sup>2</sup>, 李 静<sup>3</sup>

<sup>1</sup>连云港市第二人民医院超声诊断科, 江苏 连云港 222000; <sup>2</sup>南京医科大学第一附属医院超声诊断科, 江苏 南京 210029; <sup>3</sup>连云港市妇幼保健院超声诊断科, 江苏 连云港 222000

**[摘要]** 目的:探讨细针穿刺活检(fine needle aspiration biopsy, FNAB)联合 BRAF-V600E 基因检测对甲状腺可疑恶性结节良恶性的鉴别诊断价值。方法:回顾性分析经外科手术获得常规病理结果的 101 个甲状腺结节,术前超声诊断为可疑恶性结节,并同时行 FNAB 及 BRAF-V600E 基因检测,以术后常规病理结果为金标准,评价两种不同方法单独和联合运用对甲状腺可疑恶性结节的诊断价值。结果:获得术后病理结果的 100 例患者 101 个甲状腺可疑恶性结节中,良性 21 例,恶性 80 例。BRAF-V600E 基因突变型结节 75 个,其中 FNAB 诊断阳性结节 70 个,阴性结节 5 个。BRAF-V600E 基因野生型结节 26 个,其中 FNAB 诊断阳性结节 9 个,阴性结节 17 个。FNAB 对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度及特异度分别为 93.70%、80.95%, BRAF-V600E 基因检测对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度及特异度分别为 92.50%、95.24%, FNAB 联合 BRAF-V600E 基因检测对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度及特异度分别为 98.59%、100.00%。结论:FNAB 联合 BRAF-V600E 基因检测能够提高对甲状腺可疑恶性结节良恶性鉴别诊断效能,尤其对甲状腺乳头状癌特异性更高,值得临床推广应用。

**[关键词]** 细针穿刺活检;甲状腺结节;BRAF-V600E 基因检测

**[中图分类号]** R736.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2021)10-1533-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20211021

甲状腺是人体重要的内分泌腺,其分泌的甲状腺素对机体生长发育以及神经系统活动等都具有非常重要的作用,是维持机体内环境稳定的重要激素之一。甲状腺疾病在内分泌疾病中发病率最高,也是内分泌腺中最易发生肿瘤的组织<sup>[1]</sup>。细针穿刺活检(fine needle aspiration biopsy, FNAB)技术因操作简便,损伤极小,准确度高等优点成为目前临床上最常用的甲状腺活检方式之一,但受取材过少,活检技术的局限性等原因,仍然会有一些结节无法明确诊断。近年来,随着基因检测技术的不断提高,一些研究者发现 BRAF-V600E 基因位点检测对诊断甲状腺恶性肿瘤,尤其对乳头状癌诊断特异度极高<sup>[2]</sup>。本研究通过回顾性分析探讨 FNAB 以及 BRAF-V600E 基因检测两种方法单独及联合应用在甲状腺可疑恶性结节鉴别诊断中的价值。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

回顾性分析 2017 年 10 月—2019 年 5 月在南京医科大学第一附属医院与连云港市第二人民医院行

甲状腺结节外科手术切除的患者 100 例,共计 101 个结节,其中男 26 例,女 75 例,年龄 14~79 岁,平均(49.07±14.46)岁。术前甲状腺超声检查均提示为可疑恶性结节,同时进行 FNAB 及 BRAF-V600E 基因检测,所有研究对象的超声检查及 FNAB 均由高年资主治医师以上人员完成。纳入标准:参照 2017 年 4 月美国放射学会(American College of Radiology, ACR)制定的甲状腺影像报告和数据库系统(thyroid imaging reporting and data system, TI-RADS),选取 4 级及以上结节,主要恶性征象包括:①实性极低回声;②不规则边界(毛刺状或锯齿状);③点状强回声;④高大于宽;⑤甲状腺外侵犯。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 常规彩色多普勒超声

采用 GE LOGIQ9、SIEMENS ACUSON S3000、PHILIPS EPIQ7 等多普勒超声诊断仪进行常规彩色多普勒超声检查。患者一般取仰卧位,颈部置于垫枕上充分暴露颈前区,常规探查患者甲状腺结节情况,包括结节大小、位置、形态、内部结构、有无钙化

以及血流情况等,依据2017年4月ACR制定的TI-RADS分类指南对结节进行判定。

### 1.2.2 FNAB术

患者常规取仰卧位,肩部放置垫枕充分暴露颈前区,根据甲状腺结节位置,患者头部后仰或偏向健侧使颈部肌肉呈紧张状态保持甲状腺位置相对固定,1人操作超声仪器根据甲状腺结节位置选取最佳进针路径,1人用一次性细针无菌注射器在超声实时监视下穿入甲状腺病灶内,在保证针尖位于病灶内的同时反复提拉注射器,促使细胞组织进入针头或注射器内,如此重复操作,取材3~4次。

### 1.2.3 FNAB细胞学诊断标准

根据Bethesda报告分类标准, FNAB细胞学诊断结果分为:恶性、可疑恶性、良性、意义不明确的细胞非典型病变以及不满意共计5类。统计诊断效能时本研究将FNAB细胞学诊断结果分为阳性(包括可疑恶性、恶性)和阴性(包括良性、意义不明确的细胞非典型性病变及不满意)两大类。

### 1.2.4 BRAF-V600E基因检测

FNAB标本经聚合酶链式反应扩增后,进行基因突变检测,采用试剂盒提取DNA。突变型为恶性结节,野生型为良性结节。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计学分析,诊断结果的对比是针对同一样本采用不同方法的对比,采用配对卡方检验。以术后常规病理结果作为甲状腺结节良恶性判定的金标准,分别将FNAB结果、BRAF-V600E基因检测结果及二者联合检测结果与金标准进行对比,计数资料采用 $\chi^2$ 检验,使用灵敏度、特异度及受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估各检测方法对甲状腺结节的诊断能力。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 FNAB细胞学诊断及BRAF-V600E基因检测结果

获得术后病理结果的101个甲状腺可疑恶性结节中,恶性80例,良性21例。101个结节中75个检测到BRAF-V600E基因突变,其中74个为甲状腺乳头状癌,1个为不典型结节性甲状腺肿,26个未检测到BRAF-V600E基因突变,其中5个甲状腺乳头状癌,9个结节性甲状腺肿,3个甲状腺腺瘤样增生,2个甲状腺滤泡性腺瘤,6个慢性淋巴性甲状腺炎,1个髓样癌, FNAB、BRAF-V600E检验所得的结果与术后病理结果都呈现显著性差异(表1)。

表1 FNAB细胞学诊断和BRAF-V600E基因检测与术后常规病理结果比较 [n(%)]

结果	术后常规病理结果		P值
	恶性	良性	
FNAB细胞学诊断			<0.001
阳性	75(93.8)	4(19.0)	
阴性	5(6.2)	17(81.0)	
BRAF-V600E基因检测			<0.001
突变型	74(92.5)	1(4.8)	
野生型	6(7.5)	20(95.2)	

75个BRAF-V600E基因突变结节中, FNAB诊断70个为阳性,5个为阴性,26个BRAF-V600E基因未突变结节中, FNAB诊断9个为阳性,17个为阴性, FNAB联合BRAF-V600E基因检测所得的结果与术后病理结果无显著性差异(表2)。

### 2.2 FNAB和BRAF-V600E诊断效果分析

FNAB对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度、特异度分别是93.70%、80.95%, BRAF-V600E基因检测对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度、特异度分别是92.50%、95.24%, FNAB联合BRAF-V600E基因检测对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度、特异度分别是98.59%、100.00%。FNAB、BRAF-V600E及NAB联合BRAF-V600E基因检测3种方法的ROC曲线下面积(area under curve, AUC)分别为0.874、0.939、0.964。其中联合检测下的AUC最大,诊断效果最好(图1)。

表2 不同BRAF-V600E基因型FNAB细胞学诊断结果与术后常规病理结果比较 [n(%)]

FNAB诊断结果	BRAF-V600E突变型术后常规病理结果		BRAF-V600E野生型术后常规病理结果		P值
	恶性	良性	恶性	良性	
	阳性	70(94.6)	0(0)	5(66.7)	
阴性	4(5.4)	1(100.0)	1(33.3)	16(75.0)	0.164

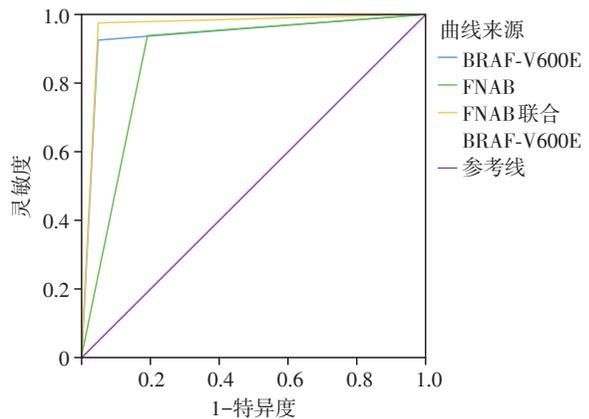


图1 不同检测方法诊断效果的ROC曲线

### 3 讨 论

为弥补甲状腺粗针穿刺活检创伤较大,并发症多,操作相对复杂等缺点,20世纪60年代北欧研究人员开始尝试进行甲状腺的FNAB术,由于该技术对结节要求较宽松,操作简便,创伤极小,准确率高,逐渐被各国学者广泛接受,成为目前临床上鉴别甲状腺良恶性结节最常用的手段之一<sup>[3-4]</sup>。本研究中, FNAB对甲状腺可疑恶性结节的灵敏度、特异度、准确度分别是93.70%、80.95%、91.09%,与国内外大多数学者报道相符合<sup>[5-7]</sup>。尽管FNAB对甲状腺可疑恶性结节具有较高的诊断效能,但也有其不足之处,最主要的不足就是容易得出不明确的诊断。细针穿刺在减少患者创伤和不适的同时,也因针头较细无法获得组织条而只能得到细胞,这就限制了FNAB诊断的可靠性。如果穿刺吸取物中病变组织细胞数量不足、血液成分较多等均可造成无法明确诊断,或得出假阴性及假阳性结果<sup>[8]</sup>。本研究FNAB细胞学诊断结果中,假阳性4例,均误诊为甲状腺乳头状癌,误诊原因可能为细胞学特征存在重叠现象、标本变性或病理医师经验不足等。假阴性5例,其中漏诊4例甲状腺乳头状癌,1例恶性滤泡性肿瘤,漏诊原因可能为取材过少,变性细胞数量不足、染色过程不规范以及部分肿块特殊性质,如滤泡性肿瘤的良恶性仅靠肿瘤是否侵犯包膜或血管来诊断,这种情况很难通过穿刺活检来判断其良恶性<sup>[9-10]</sup>。

为了弥补FNAB的不足,研究者们一直致力于寻求另一种检测方式来联合辅助诊断。近年来,随着各类癌基因水平研究的不断提高,一些从事甲状腺癌相关基因研究的学者发现,不同基因突变或重排可能导致不同类型的甲状腺恶性肿瘤,其中BRAF-V600E基因突变与甲状腺乳头状癌的发生密切相关<sup>[11]</sup>, BRAF-V600E基因突变是甲状腺乳头状癌发展过程中的启动因子,突变发生在1799位点上。相关文献显示BRAF-V600E基因突变对于甲状腺乳头状癌是一个准确度极高的分子标志物,其检出率可达83%<sup>[12-14]</sup>。本研究75例BRAF-V600E基因突变结节中,甲状腺乳头状癌74例,检出率高达98%,也有文献报道通过BRAF-V600E基因突变诊断甲状腺乳头状癌特异度为100%<sup>[15]</sup>。但由于其整体突变率仅为74.26%(75/101),单独应用也不能很好地满足临床需求。所以目前多数专家共识建议有条件的医院联合应用此两项诊断技术,提高甲

腺病变诊断效能。

通过BRAF-V600E基因检测可以很大程度上降低FNAB假阴性结节漏诊率,而甲状腺FNAB则可以弥补BRAF-V600E基因检测突变率低的不足, FNAB联合BRAF-V600E基因检测可以明显提高对甲状腺可疑恶性结节的诊断效能,值得临床推广应用。

#### [参考文献]

- [1] 中华医学会内分泌学分会.《中国甲状腺疾病诊治指南》编写组. 中国甲状腺疾病诊治指南——甲状腺疾病的实验室及辅助检查[J]. 中华内科杂志,2007,46(8):697-702
- [2] 鲁柯兵. 超声引导下细针穿刺细胞学联合 BRAFV600E 基因检测在甲状腺乳头状癌诊断中的应用价值[J]. 临床超声医学杂志,2019,21(3):215-217
- [3] 方达,马雯婷,徐露,等. 超声引导下细针穿刺在不同大小甲状腺结节中的鉴别诊断[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(12):1806-1809
- [4] CORDES M, SCHMIDKONZ C, HORSTRUP K, et al. Fine-needle aspiration biopsies of thyroid nodules[J]. Nuklearmedizin, 2018, 57(6):211-215
- [5] 杨振冬,叶新华. 甲状腺细针穿刺在 TI-RADS3、4类结节良恶性鉴别诊断中的应用及其临床符合度分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(10):1384-1387
- [6] XU X, MA X, ZHANG X, et al. Detection of BRAF V600E mutation in fine-needle aspiration fluid of papillary thyroid carcinoma by droplet digital PCR[J]. Clin Chim Acta, 2019, 491:91-96
- [7] 罗志京,薛恩生,俞丽云,等. 超声引导下细针穿刺细胞学检查联合 BRAFV600E 基因检测对甲状腺良恶性结节的诊断价值[J]. 中华超声影像学杂志,2018,27(6):500-504
- [8] BROWN C, MANGANO W, THOMPSON S, et al. Factors predicting thyroid malignancy in fine needle aspiration biopsy specimens classified as atypia of uncertain significance/follicular lesion of uncertain significance [J]. Am Surg, 2018, 84(7):1207-1213
- [9] 章美武,张燕,范晓翔,等. 甲状腺细针穿刺细胞学联合 BRAF 基因检测的诊断价值[J]. 介入放射学杂志, 2017, 26(7):622-626
- [10] 张余春,王昆,马向华. 甲状腺结节术前基因诊断的研究进展[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2018, 38(10):1472-1476
- [11] 张博茗,林元强,隋国庆,等. 细针穿刺细胞学联合 BRAFV600E 基因突变检测在甲状腺结节诊断中的价

(下转第1541页)

- [7] 蔡靖,朱元昌,吴彤华,等.深圳地区无精子症和少精子症患者的分子和细胞遗传学分析[J].中国优生与遗传杂志,2015,23(7):128-131
- [8] 曹颖,王亚男,臧伟伟,等.洛阳地区415例男性不育患者染色体核型及Y染色体微缺失分析[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(6):676-678
- [9] 高佃军,陈韵,高逸文,等.伴及不伴精索静脉曲张的无精子、严重少精子症患者Y染色体微缺失对比研究[J].中华男科学杂志,2016,22(4):325-329
- [10] 韩瑞钰,马婧,周敬华,等.河北地区2373例遗传咨询患者遗传检测结果回顾性分析[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(8):64-67
- [11] 宋旭梅,王贵杰,随瑞芝,等.男性生育异常与染色体多态相关性分析[J].生殖医学杂志,2020,28(5):457-461
- [12] 刘敬,韩婷婷,孟祥黔,等.1号染色体平衡异位及其断裂点位置与人精液质量的相关性分析[J].癌变.畸变.突变,2020,32(5):391-394
- [13] MUNNÉ S, ESCUDEROT, SANDALINAS M, et al. Gamete segregation in female carriers of Robertsonian translocations [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 90(4): 303-308
- [14] 冯亮,姜丽民,袁海燕.罗伯逊易位携带者引起生殖异常的临床分析[J].中国妇幼保健,2016,31(17):3577-3578
- [15] 蔡志明.Y染色体及其微缺失与男性不育:过去、现在与将来[J].中华男科学杂志,2010,16(5):387-394
- [16] ROSSER Z H, BALARESQUE P, JOBLING M A. Gene conversion between the X chromosome and the male-specific region of the Y chromosome at a translocation hotspot [J]. *Am J Hum Genet*, 2009, 85(1): 130-134
- [17] 吴畏,周作民,林敏,等.Y染色体微缺失患者与无精子或严重少弱精子症患者ICSI治疗结局比较[J].中华男科学杂志,2011,17(9):771-774
- [18] 史轶超,崔英霞,魏莉,等.不育男性无精子症因子微缺失的分子与临床特征:5年研究回顾[J].中华男科学杂志,2010,16(4):314-319
- [19] 朱晓斌,郭安亮,曹小蓉,等.改良多重聚合酶链反应检测Y染色体AZF微缺失[J].中华男科学杂志,2006,12(3):199-201
- [20] 刘兴章,刘晃,郑立新,等.46,XX男性性反转综合征遗传学诊断及临床分析[J].中国男科学杂志,2019,33(2):55-57
- [21] 张兰雪,赵向宇,李琳.SRY阴性46,XX男性性反转综合征研究进展[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(1):125-127
- [22] KRAUSZ C, HOEFSLOOT L, SIMONI M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013 [J]. *Andrology*, 2014, 14(2): 5-19
- [23] RIVES N. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis, patient approach and genetic counseling [J]. *Ann Endocrinol*, 2014, 75(2): 112-114
- [24] CHEN S, WANG G, ZHENG X, et al. Whole-exome sequencing of a large Chinese azoospermia and severe oligospermia cohort identifies novel infertility causative variants and genes [J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(14): 2451-2459
- [25] THIRUMAVALAVAN N, GABRIELSEN J S, LAMB D J. Where are we going with gene screening for male infertility? [J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(5): 842-850
- [26] 杨晓玉,刘贵华,安森.男性生殖相关基因检测专家共识[J].中华男科学杂志,2020,26(9):844-851

[收稿日期] 2020-11-25

(上接第1535页)

- 值[J].肿瘤影像学,2015,24(4):259-263
- [12] 王超君,秦勇,程颢,等.超声造影联合 BRAF V600E 基因在甲状腺细针穿刺意义不明确类型结节中的应用[J].中华超声影像学杂志,2019,28(1):49-54
- [13] 蔡赞,陈欢欢,王知笑,等. Bethesda 细胞病理报告系统在甲状腺细针穿刺中的应用[J].南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(12):1718-1721
- [14] ESPIRITU G A M, MALANA J T, DUMASIS A J G V, et al. High preponderance of BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma among filipinos: a clinicopathologic study [J]. *J Glob Oncol*, 2019, 5: 1-6
- [15] 汝琦,王清,王丽华,等.甲状腺影像报告及数据系统与 BRAF V600E 基因突变检测在甲状腺结节良恶性诊断中的应用[J].中国超声医学杂志,2018,34(5):388-391

[收稿日期] 2020-12-24