

临床细胞生物学

甲状腺乳头状癌 *BRAF* 基因突变检测及临床价值张茂杰¹ 赵代伟² 叶晖^{2*}¹贵州医科大学, 贵州 550001; ²贵州医科大学附属医院甲状腺外科, 贵州 550001

摘要 该研究旨在探讨甲状腺乳头状癌患者中 *BRAF* 基因突变的情况, 并分析其临床价值。选取2018年1月至2019年3月我院收治的 *BRAF* 基因检测患者813例, 对甲状腺乳头状癌 *BRAF* 基因突变进行检测。经研究证实, 在T3指标及T4指标方面, 组4和组3间存在统计学差异 ($P<0.05$); 在TSH指标方面, 组1和组2间存在统计学差异 ($P<0.05$); 在TGAb、TPOAb指标方面, 各组间均存在统计学意义 ($P<0.05$); 中央区转移阴性与阳性率低于非中央区转移 ($P<0.05$); 颈侧区转移 *BRAF* 基因阴性及阳性发生率高于非颈侧区转移阴性及阳性发生率, 颈侧区转移阴性及阳性发生率高于非中央区阴性及阳性发生率 ($P<0.05$); 有无中央转移患者年龄有统计学意义 ($P<0.05$)。结果表明, 甲状腺乳头状癌合并 *BRAF* V600E 基因突变与TSH、TGAb、TPOAb有明显关联, *BRAF* V600E 基因阳性患者中肿瘤更易发生侵犯。

关键词 甲状腺乳头状癌; *BRAF* 基因; 突变; 检测; 临床价值

Detection and Clinical Value of *BRAF* Gene Mutation in Papillary Thyroid CarcinomaZHANG Maojie¹, ZHAO Daiwei², YE Hui^{2*}¹Guizhou Medical University, Guizhou 550001, China;²Department of Thyroid Surgery, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guizhou 550001, China)

Abstract The purpose of this study is to investigate the mutation of *BRAF* gene in patients with papillary thyroid carcinoma and analyze its clinical value. From January 2018 to March 2019, 813 patients in our hospital were selected for *BRAF* gene mutation detection. In terms of T3 index and T4 index, there was statistical difference between group 4 and group 3 ($P<0.05$); in terms of TSH index, there was statistical difference between group 1 and group 2 ($P<0.05$); in terms of TGAb and TPOAb indexes, there was statistical significance between each group ($P<0.05$); the negative and positive rates of central area transfer were lower than those of non-central area transfer ($P<0.05$); The incidences of negative and positive *BRAF* gene in cervical metastasis were higher than those in non-cervical metastasis, and the incidences of negative and positive *BRAF* gene in cervical metastasis were higher than those in non-central metastasis ($P<0.05$). The results show that the mutation of *BRAF* V600E gene in papillary thyroid carcinoma is significantly related to TSH, TGAb and TPOAb, and the tumor is more likely to be invaded in *BRAF* V600E gene positive patients.

Keywords papillary thyroid carcinoma; *BRAF* gene; mutation; detection; clinical value

收稿日期: 2020-03-13 接受日期: 2020-04-28

贵州省科技合作计划项目(批准号: 黔科合LH字 (2015) 7412号)资助的课题

*通讯作者. Tel: 13511909916, E-mail: 1442619877@qq.com

Received: March 13, 2020 Accepted: April 28, 2020

This work was supported by the Science and Technology Cooperation Project of Guizhou Province (Grant No. QianKeHe LH (2015) 7412)

*Corresponding author. Tel: +86-13511909916, E-mail: 1442619877@qq.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5271>

甲状腺癌是一种临床常见疾病,而乳头状癌是甲状腺癌的常见病理类型^[1-2]。由滤泡上皮细胞起源的甲状腺癌按照病理分型可分为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)、甲状腺滤泡状癌(follicular thyroid cancer, FTC)和甲状腺未分化癌(anaplastic thyroid cancer, ATC)。甲状腺癌的发生与B-Raf原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase, *BRAF*)基因突变具有明显相关性,甲状腺癌前期症状比较隐匿,患者伴有甲状腺疼痛和肿大等临床症状^[3-5]。随着病情进一步发展及恶化,压痛现象会变得越来越显著,并对患者身体健康产生十分不利的影响^[6]。近年来,相关临床研究者已开始将研究重点及研究目光投入到基因方面,从基因学角度来对甲状腺的具体发生机制进行阐述,希望可以为甲状腺癌患者挖掘出更新的治疗靶点。越来越多的学者开始报道甲状腺癌的发生机制跟基因学方面的变化之间存在关系,尤其是*BRAF*基因的突变,逐渐成为临床的热点及重点。通过检测*BRAF* V600E基因突变,预测PTC患者及PTC合并桥本(氏)甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)患者的临床特征及远期预后^[7]。本研究对*BRAF*基因突变的PTC患者的临床资料进行回顾分析,旨在探究*BRAF*基因突变的PTC患者并发HT时患者*BRAF*基因的表达情况,对比相关指标临床特点,为患者临床治疗提供更加有效的理论依据,改善患者的临床症状,提高其治疗效率。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2019年3月期间贵州医科大学附属医院甲状腺外科收治的进行*BRAF*基因检测的患者813例,经术后病理证实其中有782例PTC患者,在术前检测患者的促甲状腺素受体抗体(thyroid stimulat-

ing receptor antibody, TRAb)水平,在术后对*BRAF*基因突变进行检查。依据病理结果,将患者分别分为PTC合并HT组(561例)、PTC不合并HT组(221例)。根据*BRAF*基因的表达情况,将*BRAF*基因阳性表达的患者分为实验组:*BRAF*基因阳性表达的单纯PTC患者457例(组1);*BRAF*基因阳性表达的PTC合并HT患者170例(组2)。将*BRAF*基因阴性表达的患者分为对照组:*BRAF*基因阴性表达的单纯PTC患者104例(组3);*BRAF*基因阴性表达的PTC合并HT患者51例(组4)。组1,男119例,女338例,平均年龄为(43.2±11.2)岁;组2,男28例,女142例,平均年龄为(44.4±23.9)岁;组3,男21例,女83例,平均年龄为(42.9±12.0)岁;组4,男5例,女46例,平均年龄为(41.0±12.1)岁。纳入标准^[8]: (1)纳入没有甲状腺相关药物服用史及甲状腺病史的患者; (2)纳入没有TRAb阳性史的患者; (3)纳入经高频彩超及术前触诊,确诊为单侧甲状腺肿物的患者。排除标准^[9]: (1)排除临床数据不完善或不愿参与本研究的患者; (2)排除伴有心绞痛或急性心肌梗死的患者; (3)排除凝血功能异常的患者。各组患者的一般资料无显著统计学差异($P>0.05$),资料具有可比性(表1)。患者同意参与本研究,且本研究得到了本院伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取 将各石蜡切片切成厚约8 μm的切片,每1~2片放入离心管,经DNA脱蜡及消化后,采用QINGEN石蜡组织DNA提取盒(货号: 56404, 厦门艾德生物科技有限公司)提取DNA。

1.2.2 DNA突变基因检测 采用qRT-PCR法来检测基因突变是否为阳性,取提取后的DNA样本,按照人类*BRAF*基因V600E突变检测试剂盒(厦门艾德生物科技有限公司, 荧光PCR法)的操作说明,将洗脱液及盒内各试剂加入PCR反应管内,之后将PCR反应管放入实时PCR仪器(厂家: Roter Gene RG, 型号: RG-6000)。设置相应程序后启动PCR仪开始扩

表1 一般资料
Table 1 The general information

变量 Variable	组1 Group 1	组2 Group 2	组3 Group 3	组4 Group 4	Z/F	P
Number of cases	457	170	104	51	/	/
Gender						
Male	119	28	21	5	1.152	>0.05
Female	338	142	83	46		
Average age	43.2±11.2	44.4±23.9	42.9±12.0	41.0±12.1	0.461	>0.05

增,于第三阶段60℃时收集FAM和HEX(或VIC)信号^[10]。试剂盒中PCR反应混合液内含有内控序列,为人类DNA均含有的基本序列,其荧光标记在qRT-PCR中反应为HEX信号;混合液内还含有双环探针,可以与突变靶序列特异性结合,其荧光标记在qRT-PCR中反应为FAM信号,即目标DNA序列的信号。进行qRT-PCR,并保存文件。按照试剂盒说明书对收集到的信号进行分析,判断样本中基因突变是否为阳性^[11-12]。PCR反应条件:94℃ 5 min; 94℃ 45 s, 56℃ 45 s, 72℃ 45 s, 35个循环; 72℃ 10 min。引物的合成:设计并合成以下PCR引物用来扩增*BRAF*外显子15。第一次PCR用到的引物为*BRAF*-Rw(5'-TGA CTT TCT AGT AAC TCA GC-3')和*BRAF*-Fw(5'-ATA GAA ATT AGA TCT CTT ACC-3'),第二次PCR用到的引物为*BRAF*-R(5'-TCA TAA TGT TGC TCT GAT AGG A-3')和*BRAF*-F(5'-GCC CAA AAA TTT AAT CAG TGCA-3')。PCR产物由华大基因进行纯化并测序,测序使用的引物为*BRAF*-R或*BRAF*-F。

1.3 观察指标

(1)对PTC、PTC合并HT两种疾病类型中的*BRAF*基因表达情况进行探究。(2)在不同疾病类型及*BRAF*基因表达患者中,对年龄、三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T3)、血清总甲状腺素(total thyroxine, T4)、甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、TRAb、甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulin antibody, TGAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、性别、左侧是否多发、右侧是否多发、峡部是否多发、左大小、峡部大小、右大小各临床指标进行研究。(3)分析淋巴结转移与*BRAF*基因检测的关系,对中央区转移阴性及阳性单纯癌症(cancer, CA)和CA+桥本发生率进行计算。(4)对PTC合并HT、PCT不合并HT患者颈侧区转移率与*BRAF*基因表达进行计算,对颈侧区转移阴性及阳性单

纯CA和CA+桥本发生率进行计算。(5)研究甲状腺癌预后的相关影响因素,包括年龄、T3、T4、PTH、TSH、TRAb、TGAb、TPOAb、性别、病灶各部分是否单发及各部分大小等。(6)研究甲状腺癌患者发生颈侧转移的相关影响因素,包括年龄、T3、T4、TSH、TGAb、TRAb、TPOAb、PTH、有无桥本、*BRAF*基因、性别等对甲状腺癌发生颈侧转移所产生的影响^[13]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 17.0软件进行数据分析,进行 χ^2 检验以计数,进行*t*检验以计量。数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基本情况

*BRAF*基因阳性率在合并桥本PTC患者当中的阳性表达率为18.5%,*BRAF*基因阳性率在非桥本PTC患者当中的阳性表达率为23.1%,两组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2)。

2.2 不同疾病类型及*BRAF*基因表达患者各个临床指标

两两比较时,组3和组4 T3指标差异有统计学意义($P < 0.05$),组3和组4 T4指标差异具有统计学意义,组1和组2 TSH指标差异存在统计学意义, TGAb、TPOAb指标在各组间均存在统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

2.3 淋巴结转移与*BRAF*基因检测关系

中央区转移阴性转移率为33.0%、36.0%,阳性转移率为39.9%、38.3%;而非中央区转移阴性转移率为67.0%、64.0%,阳性转移率为60.1%、61.7%。因此,中央区转移阴性与阳性率均显著低于非中央区转移阴性与阳性率($P < 0.05$)(表4)。

2.4 PTC合并、不合并患者颈侧区转移率与*BRAF*基因表达

颈侧区转移*BRAF*基因阴性发生率为70.0%、60.0%,阳性发生率为70.7%、65.6%;而非颈侧区转

表2 合并桥本与非桥本PTC患者中*BRAF*基因阳性率的比较

Table 2 Comparison of *BRAF* gene positive rates in PTC patients with HT and without HT

疾病类型 Type of disease	<i>BRAF</i> 基因表达 <i>BRAF</i> gene expression		χ^2	<i>P</i>
	阴性 Negative	阳性 Positive		
PTC	104	457	2.06	0.152
PTC with HT	51	170		

表3 不同疾病类型及*BRAF*基因表达情况的患者的各个临床指标

Table 3 Clinical indicators of patients with different disease types and *BRAF* gene expression

变量 Variable	阳性 Positive		阴性 Negative		t/χ^2	P
	单纯PTC(组1, $n=457$) Pure PTC (Group 1, $n=457$)	PTC合并HT(组2, $n=170$) PTC with HT (Group 2, $n=170$)	单纯PTC(组3, $n=104$) (Group 3, $n=104$)	PTC合并HT(组4, $n=51$) PTC with HT (Group 4, $n=51$)		
Age	43.2±11.2	44.4±23.9	42.9±12.0	41.0±12.1	0.681	>0.05
T3	1.8±0.4	1.7±0.5	1.9±0.4	1.8±0.4	5.703	<0.05
T4	104.5±20.1	99.9±18.3	104.0±19.0	101.0±26.0	1.985	>0.05
PTH	42.1±2.8	41.2±3.6	52.6±0.6	35.9±0.4	1.624	>0.05
TSH	2.4±1.8	3.0±2.0	2.5±0.7	1.9±0.6	9.247	<0.05
TRAb	0.3±0.1	0.3±0.2	0.3±0.1	0.2±0.1	0.658	>0.05
TGAb	10.0±0.6	41.3±2.3	11.2±0.2	95.4±0.1	16.527	<0.05
TPOAb	11.9±8.3	41.2±5.3	11.9±0.2	53.8±2.8	16.586	<0.05
Gender					11.946	<0.05
Male	119 (26.0%)	28 (16.5%)	21 (20.2%)	5 (9.8%)		
Female	338 (74.0%)	142 (83.5%)	83 (79.8%)	46 (90.2%)		
Is it frequent on the left?					0.603	>0.05
no	240 (90.9%)	91 (89.2%)	52 (92.9%)	28 (90.3%)		
Yes	24 (9.1%)	11 (10.8%)	4 (7.1%)	3 (9.7%)		
Is it frequent on the right?					1.774	>0.05
No	209 (77.4%)	76 (71.7%)	46 (90.2%)	21 (77.8%)		
Yes	61 (22.6%)	30 (28.3%)	5 (9.8%)	6 (22.2%)		
Is the isthmus frequent?					1.652	>0.05
No	6 (13.3%)	1 (5.9%)	0	0		
Yes	39 (86.7%)	16 (94.1%)	11 (100.0%)	2 (100.0%)		
Left size					1.312	>0.05
≥1 cm	27 (14.0%)	13 (12.7%)	10 (17.9%)	3 (9.7%)		
<1 cm	227 (86.0%)	89 (87.3%)	46 (82.1%)	28 (90.3%)		
Isthmus size					1.607	>0.05
<1 cm	41	15	11	2		
≥1 cm	5	2	0	0		
Right size					3.956	>0.05
<1 cm	213	81	46	22		
≥1 cm	55	24	5	5		

移阴性发生率为30.0%、40.0%, 阳性发生率为29.3%、34.4%。因此, 颈侧区转移阴性及阳性发生率均显著高于非中央区阴性及阳性发生率($P<0.05$)(表5)。

2.5 甲状腺癌预后影响单因素

与无中央转移患者比较, 有中央区转移甲状腺癌患者的年龄有统计学意义($P<0.05$), 在无中央转移组和中央转移组之间, PTH、T3、T4、TRAb、TSH、TGAb及TPOAb指标没有统计学意义($P>0.05$)。与

女性比较, 男性中央区转移率升高, 具有明显差异($P<0.05$)。 *BRAF*基因组与桥本组之间, PTH、T3、T4、TRAb、TSH、TGAb及TPOAb指标没有统计学意义($P>0.05$)(表6)。

2.6 甲状腺癌患者颈侧转移影响单因素

研究结果提示, 影响甲状腺癌患者发生颈侧转移的相关单因素包括年龄、T3、T4、TSH、TGAb、TRAb、TPOAb、PTH、有无桥本、*BRAF*

表4 中央区淋巴结转移与*BRAF*基因检测的关系Table 4 Relationship between lymph node metastasis and *BRAF* gene detection

中央区转移 Central district transfer	阴性 Negative		阳性 Positive		χ^2	<i>P</i>
	单纯CA(<i>n</i> =100) Simple CA (<i>n</i> =100)	CA+桥本(<i>n</i> =10) CA+HT (<i>n</i> =10)	单纯CA(<i>n</i> =58) Simple CA (<i>n</i> =58)	CA+桥本(<i>n</i> =32) CA+HT (<i>n</i> =32)		
Yes	33 (33.0%)	18 (36.0%)	175 (39.9%)	64 (38.3%)	5.421	<0.05
No	67 (67.0%)	32 (64.0%)	264 (60.1%)	103 (61.7%)	5.632	<0.05
χ^2	5.638	5.158	6.325	5.891	/	/
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	/	/

表5 PTC合并、不合并患者中的颈侧区转移率与*BRAF*基因表达情况Table 5 Cervical lateral metastasis rate and *BRAF* gene expression in patients with and without PTC

颈侧区转移 Cervical metastasis	阴性 Negative		阳性 Positive		χ^2	<i>P</i>
	单纯CA(<i>n</i> =20) Simple CA (<i>n</i> =20)	CA+桥本(<i>n</i> =10) CA+HT (<i>n</i> =10)	单纯CA(<i>n</i> =58) Simple CA (<i>n</i> =58)	CA+桥本(<i>n</i> =32) CA+HT (<i>n</i> =32)		
Yes	14 (70.0%)	6 (60.0%)	41 (70.7%)	21 (65.6%)	4.625	<0.05
no	6 (30.0%)	4 (40.0%)	17 (29.3%)	11 (34.4%)	5.217	<0.05
χ^2	1.824	1.825	5.968	5.415	/	/
<i>P</i>	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	/	/

基因、性别, 组间差异存在统计学意义($P<0.05$) (表7)。

3 讨论

在多基因高通量的检测方面, 新一代基因测序技术发挥重要作用, 在有效检查过程中也会出现较多基因事件。*BRAF*基因突变可诱导肿瘤细胞的分化与增殖, 为甲状腺中常见的遗传学事件, 并且在PTC中具有较高发生率, 高达30%~80%, PTC占有甲状腺癌的80%~90%^[14-15]。所以对PTC的*BRAF*基因突变情况进行检测, 可促进对甲状腺肿瘤发生及发展机制的进一步探究, 为患者临床治疗提供更有效理论依据, 对患者预后具有非常重要的作用。但是, 当前*BRAF*基因突变跟PTC病理特征之间的关系仍存在争议^[16-17]。所以, 探究有效检测*BRAF*基因突变的方法是当前工作的重点, 本研究对PTC进行*BRAF*基因突变检测, 希望探究其临床价值。

*BRAF*蛋白在甲状腺肿瘤中的表达情况及其与*BRAF*基因突变的相关性, 尚鲜有研究报道。PTC发病机制较多, 涉及多个异常基因, 报道显示, *BRAF*基因突变发生率较高, 且与不同检测方法和不同地

区人群具有相关性^[18]。研究结果显示, 尽管*BRAF*基因阳性率在不同类型的患者之间的差异无统计学意义, 但PTC合并HT组的阳性率为81.5%, PTC组阳性率为76.9%, PTC合并HT组的阳性率更高。两两比较时, 组3和组4 T3指标差异有统计学意义, 组3和组4 T4指标差异具有统计学意义, 组1和组2 TSH指标存在统计学意义, TGAb、TPOAb指标在各组间均存在统计学意义。结果表明, 不同类型患者*BRAF*基因阳性率不同。基因数量在高危患者中会增加, 说明PTC的侵袭性与多个基因突变具有相关性, 复发风险不同, 突变个数也会存在明显不同。本研究同时发现, *BRAF*与肿瘤大小存在相关性, 肿瘤直径越大, *BRAF*基因突变发生率越高。研究表明, *BRAF*突变阴性患者的肿瘤直径大于突变阳性患者的肿瘤直径。并且随着体积不断增加, 预后效果变得越来越差。KIM等^[19]对PTC进行统计研究发现, PTC患者的颈部淋巴转移明显升高。通过对不同分型的PTC患者的临床资料进行分析发现, 影响PTC转移和复发的独立因素为颈部淋巴结转移和*BRAF*基因突变。本研究的结果表明, *BRAF*基因突变患者具有更高的颈部中央区淋巴结转移发生率, 说明颈

表6 甲状腺癌预后影响单因素

Table 6 Single factors affecting the prognosis of thyroid cancer

变量	中央区转移		t/χ^2	P
Variable	Central district transfer			
	是($n=83$)	否($n=35$)		
	Yes ($n=83$)	No ($n=35$)		
Age	39.9±11.7	45.4±16.6	4.98	<0.05
T3	2.1±0.6	1.6±0.9	1.42	>0.05
T4	104.6±2.6	101.2±3.2	1.33	>0.05
TSH	2.4±3.4	2.7±1.6	0.76	>0.05
TGAb	14.9±2.5	14.8±3.2	0.32	>0.05
TRAb	2.9±1.8	2.7±0.1	0.70	>0.05
TPOAb	13.1±2.1	13.9±1.8	0.01	>0.05
PTH	40.9±1.6	42.9±1.1	1.00	>0.05
With or without HT			0.09	>0.05
Yes	83 (37.6%)	138 (64.2%)		
No	210 (38.7%)	332 (61.3%)		
BRAF gene			1.50	>0.05
Positive	239 (39.4%)	367 (60.6%)		
Negative	51 (34.0%)	99 (66.0%)		
Gender			5.67	<0.05
Male	77 (47.0%)	87 (53.0%)		
Female	212 (36.7%)	366 (63.3%)		
Is it frequent on the left?			8.62	<0.05
Yes	26 (61.9%)	16 (38.1%)		
No	156 (38.5%)	249 (61.5%)		
Is it frequent on the right?			19.23	<0.001
Yes	59 (60.2%)	39 (39.8%)		
No	121 (35.5%)	220 (64.5%)		
Is the isthmus frequent?				>0.05
Yes	3 (42.9%)	4 (57.1%)		
No	27 (37.5%)	45 (62.5%)		
Left size			7.46	<0.05
<1 cm	146	237		
≥1 cm	36	28		
Right size			19.79	<0.001
<1 cm	126	225		
≥1 cm	53	323		
Isthmus size				>0.05
<1 cm	27	46		
≥1 cm	3	4		

部淋巴结转移受*BRAF*基因突变的影响, 两者具有明显相关性^[20]。

本文研究结果显示, 中央区转移阴性与阳性率低于非中央区转移, 表明中央区转移与非中央区转移阴性及阳性率存在明显区别。此外, 颈侧区转移*BRAF*基因阴性及阳性发生率高于非颈侧区转移阴性及阳性发生率; 与无中央转移患者比

较, 有中央区转移甲状腺患者的年龄有统计学意义。结果表明, 颈侧区与非颈侧区的阴性与阳性率存在明显区别, 年龄具有明显差异。另外, 年龄、T3、T4、TSH、TGAb、TRAb、TPOAb、PTH、有无桥本、*BRAF*基因、性别是影响甲状腺癌患者颈侧转移的单因素, *BRAF*在甲状腺肿瘤中的表达及其与*BRAF*的相关性尚鲜有研究报道。年龄、

表7 甲状腺癌患者颈侧转移影响单因素

Table 7 Single factors influencing the cervical metastasis in patients with thyroid cancer

因素 Factor	颈侧转移 Cervical metastasis		t/χ^2	P
	是 Yes	否 No		
Age	38.4±13.9	45.2±11.5	-2.613	<0.05
T3	2 (1.83, 2.00)	2 (1.82, 2.00)	-0.564	>0.05
T4	106.9±4.6	118.2±2.8	1.844	>0.05
TSH	2.9±1.3	1.8±0.7	1.912	>0.05
TGAb	14.8±2.6	27.5±2.1	2.184	<0.05
TRAb	0.29±0.3	0.1±0.1	-1.443	>0.05
TPOAb	15.8±1.3	29.7±2.3	1.215	>0.05
PTH	38.1±1.2	45.9±1.5	1.267	>0.05
With or without HT			0.431	>0.05
Yes	28	15		
No	56	23		
<i>BRAF</i> gene			0.056	>0.05
Positive	62	28		
Negative	20	10		
Gender			2.085	>0.05
Male	22	5		
Female	61	30		

T3、TRAb与颈侧转移呈现负相关关系,随着上述指标降低,颈侧转移发生率会发生一定程度改变。与PTC组相比,PTC合并HT组具有非常低的阳性率,预后更好。PTC患者*BRAF*基因点突变阳性者可能具有更强的侵袭性,且更易出现颈淋巴结转移,而伴颈淋巴结转移和甲状腺包膜外浸润者复发率相对较高。RIESCO-EIZAGUIRXE等研究证实,PTC患者*BRAF*基因突变者具有更高的早期复发率(32%),此研究还报道,*BRAF*基因突变者钠碘转运体表达水平较低,且较少位于细胞膜上,使细胞摄I能力减弱,对I放射治疗敏感性降低甚至无效,因此临床上对于*BRAF*基因突变阳性的PTC患者,应采取更加彻底的手术方式和更大剂量的I放射治疗,同时术后应采取密切的随访监测手段,以减少PTC的复发和死亡几率。希望根据PTC *BRAF*基因突变检测结果,制定合理治疗方案,改善患者预后,提高治疗效果。PTC可采用放射性碘和手术切除治疗,对于对放射性碘和手术不耐受的患者,应通过其他方法进行治疗。因为基因的一系列变化,会激活MAPK激酶途径,在肿瘤发生与发展过程中意义重大,因此需对激酶途径进行抑制,为患者临床治疗提供更加有效的方法。当前,基因突变检测在一些恶性肿瘤的动

物实验和离体细胞中得到广泛应用,效果理想。

甲状腺癌的治疗有手术切除、放射性碘治疗等,有些身体条件无法耐受手术或对放射性碘治疗不敏感的患者,需要新的治疗手段来救治。由于一系列基因改变(包括*BRAF*变异)能够激活MAPK激酶途径,在甲状腺肿瘤的发生发展过程中发挥至关重要的作用,所以抑制这条激酶途径或许能为甲状腺癌提供一种新的治疗方法。最近通过MAPK激酶抑制剂来对某些恶性肿瘤进行治疗的相关离体细胞和动物实验已取得可喜的成果。

综上所述,PTC合并发生*BRAF* V600E基因突变跟年龄、T3、T4、TSH、TGAb、TRAb、TPOAb、PTH、有无桥本、*BRAF*基因、性别之间存在明显的关系,且*BRAF* V600E基因突变阳性的PTC患者其肿瘤更易发生侵犯。

参考文献 (References)

- [1] 赵莹,王鸿雁,王春宝,等. *BRAF* V600E突变与甲状腺乳头状癌临床病理相关性研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志 (ZHAO Y, WANG H Y, WANG C B, et al. Analysis of clinicopathological characteristics of papillary thyroid carcinoma and *BRAF* V600E gene mutation [J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery), 2018, 32(19): 31-5.

- [2] SPINELLI C, TOGNETTI F, STRAMBI S, et al. Cervical lymph node metastases of papillary thyroid carcinoma, in the central and lateral compartments, in children and adolescents: predictive factors [J]. *World J Surg*, 2018, 42(8): 1-10.
- [3] 崔文霞, 朱有志, 郑珂, 等. 甲状腺乳头状癌 BRAFV600E 基因突变与蛋白表达的临床研究 [J]. *中华实验外科杂志* (CUI W X, ZHU Y Z, ZHENG K, et al. The clinical research of BRAFV600E gene mutation and protein expression in papillary thyroid carcinoma [J]. *Chin J Exp Surg*), 2018, 35(3): 522-4.
- [4] ZHANG X, GUO M, YANG J, et al. Increased expression of GARP in papillary thyroid carcinoma [J]. *Endocr Pathol*, 2019, 30(1): 1-7.
- [5] 赵焕, 郭会芹, 张智慧, 等. BRAFV600E 基因及蛋白检测细针穿刺标本对辅助细胞学诊断甲状腺乳头状癌的价值 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志* (ZHAO H, GUO H Q, ZHANG Z H, et al. Value of the detection of BRAFV600E gene mutation and protein expression in auxiliary cytological diagnosis of papillary thyroid carcinoma [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*), 2019, 54(1): 18-22.
- [6] 李斌, 冯联忠, 王胤达, 等. 甲状腺乳头状癌组织 V-raf 鼠类肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1V600E 突变与尿碘浓度的关系 [J]. *中华实验外科杂志* (LI B, FENG L Z, WANG Y D, et al. V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 V600E mutation and urinary iodine concentration in papillary thyroid carcinoma [J]. *Chin J Exp Surg*), 2017, 34(8): 1384-7.
- [7] 杨玲玲, 何凯, 顾华敏, 等. CK34βE12、Galectin-3 在 PTC 中的诊断作用及与 BRAF~(V600E) 关系的研究 [J]. *中国现代医生* (YANG L L, HE K, GU H M, et al. Diagnosis of CK34β E12 and Galectin-3 in PTC and its relationship with BRAF~(V600E) [J]. *Modern Chinese Doctor*), 2019, 57(30): 35-42.
- [8] 张玲娜, 符鸿俊, 李玉晶, 等. 不同亚型甲状腺乳头状癌鼠类肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1 基因 V600E 突变研究 [J]. *中华实验外科杂志* (ZHANG L N, FU H J, LI Y J, et al. V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 V600E mutations in different subtypes of papillary thyroid carcinoma and the association with pathological features [J]. *Chin J Exp Surg*), 2017, 34(12): 2201-3.
- [9] 程若川, 杨婷婷. 2016 版中国甲状腺微小乳头状癌诊断与治疗专家共识解读 [J]. *中国实用内科杂志* (CHENG R C, YANG T T. Interpretation of the 2016 version of the consensus of Chinese experts on the diagnosis and treatment of thyroid micropapillary carcinoma [J]. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine*, 2019, 39(4): 351-357.
- [10] JEON M J, KIM W G, KWON H, et al. Clinical outcomes after delayed thyroid surgery in patients with papillary thyroid microcarcinoma [J]. *Eur J Endocrinol*, 2017, 177(1): 25-31.
- [11] 张竞之, 邓波, 江小梨, 等. BRAF 在 10-姜酚抗黑色素瘤中作用的分子模拟及实验研究 [J]. *中国病理生理杂志* (ZHANG J Z, DENG B, JIANG X L, et al. Molecular simulation and experimental study on role of BRAF in anti-melanoma effect of 10-gingerol [J]. *Chin J Pathophys*), 2018, 34(12): 62-7.
- [12] OISHI N, KONDO T, NAKAZAWA T, et al. Frequent BRAF V600E and absence of TERT promoter mutations characterize sporadic pediatric papillary thyroid carcinomas in Japan [J]. *Endocr Pathol*, 2017, 28(2): 1-9.
- [13] 王亚健, 姜瑞瑞, 刘海静, 等. 靶向二代测序检测结肠癌肠镜活检标本的可行性分析 [J]. *中华病理学杂志* (WANG Y J, JIANG R R, LIU H J, et al. Feasibility of amplicon-based targeted next-generation sequencing of colorectal cancer in endoscopic biopsies [J]. *Chin J Pathol*), 2018, 47(7): 499-504.
- [14] 冯勤, 李忠武, 刘卉, 等. 免疫组化检测 63 例原发甲状腺癌中 BRAF~(V600E) 突变及其价值研究 [J]. *中国实用内科杂志* (FENG Q, LI Z W, LIU H, et al. Immunohistochemical detection of BRAF~(V600E) mutations in 63 cases of primary thyroid cancer and its value [J]. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine*), 2018, 38(12): 78-80.
- [15] CARVALHO M S, ROSARIO P W, MOURAO G F, et al. Chronic lymphocytic thyroiditis does not influence the risk of recurrence in patients with papillary thyroid carcinoma and excellent response to initial therapy [J]. *Endocrine*, 2017, 55(3): 954-8.
- [16] 于璐, 贾海燕, 杨慧慧, 等. 细针穿刺细胞学联合 BRAFV600E 基因突变检测在老年甲状腺结节患者中的诊断价值 [J]. *中华老年医学杂志* (YU L, JIA H Y, YANG H H, et al. Diagnostic value of fine-needle aspiration biopsy combined with BRAFV600E gene mutation detection in elderly patients with thyroid nodules [J]. *Chin J Geriatr*), 2019, 38(1): 59-62.
- [17] RODRIGUEZ N F, GOMEZ M C, GAGO T A, et al. Abstract 5505: TERT promoter mutations in primary papillary thyroid carcinomas and matched local/distant metastases [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13 Supplement2): 5505.
- [18] 崔秀杰, 赵海鸥, 苏鹏, 等. 筛状囊性甲状腺乳头状癌临床病理及分子生物学特征 [J]. *中华病理学杂志* (CUI X J, ZHAO H O, SU P, et al. Clinicopathologic and molecular features of cribriform morular variant of papillary thyroid carcinoma [J]. *Chin J Pathol*), 2018, 47(5): 354-9.
- [19] ELMAGEED Z Y A, SHOLL A B, TSUMAGARI K, et al. Immunohistochemistry as an accurate tool for evaluating BRAF-V600E mutation in 130 samples of papillary thyroid cancer [J]. *Surgery*, 2017, 161(4): 1122-8.
- [20] 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* (LUO Z J, XUE E S, YU L Y, et al. The value of ultrasound-guided fine needle aspiration combined with detection of BRAF V 600E in diagnosis of benign and malignant thyroid nodules [J]. *Chin J Ultrasonogr*), 2018, 27(6): 500-4.