

· 综述 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.08.038

甲状腺癌分子诊断现状研究*

赵慧敏 综述,王翠峰[△] 审校

内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院检验科,内蒙古包头 014010

关键词:甲状腺癌; 分子诊断; 细针穿刺细胞学检查

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)08-1135-04

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤,也是近 30 年来全球范围内发病率增长最快,已翻了 3 倍的恶性肿瘤^[1]。甲状腺乳头状癌(PTC)和甲状腺滤泡状癌(FTC)起源于滤泡细胞,分别约占甲状腺恶性肿瘤的 80%和 15%,而髓样癌起源于滤泡旁的降钙素分泌细胞,仅占不到 5%^[2]。随着细针穿刺细胞学诊断技术的广泛开展和甲状腺细胞病理学 Bethesda 报告系统的应用,可以通过简单、安全的操作明确大多数甲状腺疾病的诊断,但仍有部分不典型的形态学改变难以区分其性质^[2]。因此,如何利用各种技术手段尽早识别甲状腺结节的性质,使恶性肿瘤或者临界患者能够得到早期诊断并及时进行手术治疗,是临床面临的巨大挑战。甲状腺细针穿刺细胞学检查应用于术前评估甲状腺肿瘤,使诊断意义不明确的细胞非典型性病变、可疑滤泡性肿瘤、可疑恶性肿瘤病例分别有 5%~10%、15%~30%和 50%~75%的患者确诊为恶性病变。对甲状腺细针穿刺细胞进一步进行分子标记物,如鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌基因同源体 B1(BRAF)基因、转染中重排(RET)基因/PTC 基因、大鼠肉瘤病毒(RAS)基因等分析,可以辅助细胞形态学检查,明显提高术前诊断的准确性,并且提供疾病转移、预后等信息^[3-4]。

1 BRAF 基因突变

已发现的 BRAF 基因突变多达数十种,BRAF V600E 点突变是 PTC 中最常见的基因改变,在接近半数的经典型 PTC 病例中可以检测到,而且在分化良好的滤泡状癌中较少见^[5-6]。BRAF 是一种参与细胞内丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路的丝氨酸/酪氨酸激酶,其编码基因位于染色体 7q24,当 BRAF 基因的 1799 位的碱基由 T 变成 A 致使本来编码的谷氨酸被缬氨酸所取代时,将持续性引起 BRAF 激酶的激活和 MAPK 通路的活化,使甲状腺细胞不断增殖而产生肿瘤^[5-7]。BRAF V600E 点突变可见于 60%的典型 PTC、80%的高细胞变异型及 10%的滤泡变异型 PTC 中,但在分化比较差的甲状腺癌(尤其是含有部分分化较好的乳头状癌组织的肿瘤)中也可以出

现,且在分化程度不同的组织中均可检测出,提示该突变在肿瘤发生的早期即可出现^[7]。因此,BRAF 基因突变可作为 PTC 及其相关型肿瘤的特异性较高的分子标志物。BRAF V600E 点突变还与肿瘤的分期、周围组织浸润、颈部淋巴结和远处转移等侵袭性有关,可以作为 PTC 预后评估的分子标志物^[8-9]。此外,在预测治疗效果较差和肿瘤复发、肿瘤相关死亡等不良事件方面,BRAF V600E 点突变也有重要意义^[9]。BRAF V600E 点突变阳性肿瘤的强侵袭性可能与其所致的去分化倾向,以及突变引起的钠/碘转运体和其他碘代谢相关基因功能改变有关,继而导致肿瘤对放射性碘的吸收能力下降、治疗无效。对于术前细针穿刺细胞学检查到该突变为阳性者,通过术中预防性清扫颈部淋巴结、术后增加放射性碘治疗剂量、降低促甲状腺激素抑制剂和增加随访频率等手段,或将提高其诊疗效果^[10]。

2 RET 基因

RET 基因是定位于 10q11.2 的编码酪氨酸激酶膜受体的原癌基因,其激活可导致 MAPK 等几个促使细胞增殖、分化的信号通路激活。通常 RET 蛋白在甲状腺滤泡旁 C 细胞、肾上腺髓质和交感神经节等细胞内表达,而在甲状腺滤泡细胞中不表达,因此,RET 基因突变携带患者可发生多个系统的疾病。起源于滤泡旁 C 细胞的甲状腺髓样癌(MTC)大多数为散发型,占 15%~30%的遗传性 MTC 以常染色体显性方式遗传。在高达 98%的遗传性 MTC 中存在 RET 基因的胚系突变,在 30%~70%的散发型 MTC 中检测到 RET 基因的体细胞突变^[11]。遗传性 MTC 主要有以下 3 种:合并有嗜铬细胞瘤及原发性甲状旁腺功能亢进的多发性内分泌腺瘤(MEN)2A 型,伴有嗜铬细胞瘤、多发黏膜神经瘤、肠道多发神经节瘤和马凡体型等骨骼肌发育异常的 MEN 2B 型,以及无其他腺体受累的单纯家族性 MTC。其中 MEN 2A 型中约有 80%的 RET 基因突变发生在第 10、11 外显子的突变,进而导致细胞外半胱氨酸残基改变、结构性二聚体形成,引起细胞内激酶被激活^[12];而在 MEN 2B

* 基金项目:内蒙古自治区包头市社会发展科技支撑项目(2014S2003-5-7)。

[△] 通信作者,E-mail:wangcuifeng1973@vip.sina.com。

型和散发型 MTC 中最常见的是 M918T 突变,仅影响细胞内部分酪氨酸激酶结构的改变。由于这些突变的外显率近 100%,针对携带 RET 基因突变的患者常规行预防性甲状腺切除术,手术时机则依据个体的风险评估选择,而用于检出家族性 MTC 患者和易感者的手段,也逐渐由全基因组测序或其他以 RET 突变为靶向的方法替代了传统的降钙素监测^[13]。在散发型 MTC 中,M918T RET 突变与疾病较差的预后相关,与家族性 MTC 比较,患者虽发病年龄较晚,但更易出现淋巴结转移、生存期缩短^[14]。

3 RET/PTC 重排

点突变并非是 RET 基因参与甲状腺癌发生的唯一分子学改变方式,该基因还可以通过染色体重排方式产生与其他多种基因重组的融合基因,导致编码酪氨酸激酶的 RET 基因 3' 端与多种不相关基因的 5' 端融合,异常激活甲状腺细胞膜上非受体依赖性 MAPK 通路。目前已发现多种 RET/PTC 重组类型出现在 10%~20% 的 PTC 患者中,但其中最常见的是 10 号染色体长臂臂内倒位形成的 RET/PTC1 和 RET/PTC3 重组,分别约占 RET/PTC 重组改变的 2/3 和 1/3。RET/PTC1 是因为发生 inv(10)(q11.2;q21.2) 导致 RET 基因与含卷曲螺旋结构域的蛋白质 6 基因融合,多见于典型 PTC^[15];RET/PTC3 则是由于 inv(10)(q11.2;q11) 致 RET 基因与核共激活蛋白 4 基因融合,以细胞遗传学分析难以检出该倒位,可见于约 79% 的实性亚型 PTC 患者,且该重排在有放射暴露史及散发性儿童甲状腺癌患者中频发^[16-17]。尽管 RET/PTC 重排可作为乳头状癌细胞克隆增生的标志,但是在甲状腺腺瘤、甲状腺结节、桥本氏甲状腺炎等疾病中也有出现,且该重排与术后高促甲状腺激素水平也相关^[18]。

4 RAS 基因

RAS 基因家族由分别定位于 12、11 和 1 号染色体上的 K-RAS、H-RAS 和 N-RAS 3 种成员组成,它们编码位于细胞膜内表面的 G 蛋白,参与始于细胞膜表面受体酪氨酸激酶和 G 蛋白耦联受体的 MAPK 和磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)2 个通路的信号传导。RAS 基因突变会导致 G 蛋白对鸟苷三磷酸的亲合力异常增强,持续活化并激活其下游信号通路,引起肿瘤细胞无限增殖。RAS 基因突变在起源于滤泡细胞的多种不同类型的病变中出现概率不尽相同,可见于 10%~20% 的乳头状癌,且绝大多数的组织学分类为滤泡变异型 PTC,在 40%~50% 的滤泡癌和 20%~40% 的滤泡性腺瘤中可以检测到该突变,但恶性甲状腺肿瘤较良性者突变率更高^[19]。与人类其他恶性肿瘤中常见的 RAS 基因第 12、13 位密码子突变不同,甲状腺恶性肿瘤最常出现的是 H-RAS 和 N-RAS 基因的第 61 位密码子突变^[20]。RAS

突变阳性、超声检查缺乏恶性特征、细针穿刺细胞学检查为意义不明改变的甲状腺结节,通常提示低危的滤泡状癌,其淋巴结及远处转移少见但多有双侧累及^[21]。RAS 突变阳性对于细针穿刺细胞学检查难以诊断的滤泡变异型 PTC 有重要诊断价值,其阳性预测值可达 74%~88%;部分被诊断为良性结节的具有 RAS 突变的病例,可能是假阳性结果,但也很可能为滤泡变异型 PTC 或滤泡癌的前期病变^[22]。

5 配对核基因(PAX8)/过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR γ)基因

PAX8 对甲状腺过氧化物酶、甲状腺球蛋白及促甲状腺素受体基因启动子的表达起调控作用,可促使甲状腺细胞分化;而 PPAR γ 基因不仅可调节细胞的增殖与分化,还参与细胞凋亡、肿瘤形成等。PAX8/PPAR γ 融合基因是由 2 号和 3 号染色体易位 t(2;3)(q13;p25) 形成并导致 PPAR γ 过度表达,是 FTC 中仅次于 RAS 突变的第 2 位常见的基因改变,在 30%~40% 的 FTC 患者中可检出该融合基因。PAX8/PPAR γ 融合基因阳性的患者往往发病年龄更小、肿瘤体积较小,更易发生被膜和血管浸润转移^[23]。大约有 5% 的 PTC 患者也可出现 PAX8/PPAR γ 融合基因,且其中大多数为滤泡变异型 PTC,但在 2%~13% 的滤泡型腺瘤中也检测到该基因^[24]。尽管 PAX8/PPAR γ 基因的致癌机制未阐明,其阳性并不能作为诊断 FTC 的充分证据,但可以提示病理医生更加仔细地彻底检查整个肿瘤,以免漏检血管侵犯。

6 其他基因改变

编码酪氨酸激酶受体的神经营养受体酪氨酸激酶 1(NTRK1)基因定位于 1 号染色体长臂 q21-q22,当它与 1q22-1q23 的原肌球蛋白 3 基因、1q25 的易位启动子区基因或 3q11 的转羟乙醛酶融合基因发生易位时,融合基因导致通常在甲状腺滤泡细胞不表达的 NTRK1 基因持续被激活,以 RET/PTC 类似的机制激活 MAPK 通路而引起肿瘤细胞增殖。以上基因重排可见于 5%~10% 的 PTC 患者中,与组织学亚型无特异关联,且在不同地域和人群中的发生概率差异较大^[25]。

部分家族遗传性 PTC 患者也发现了呈常染色体显性遗传的基因突变,例如表现为家族性多发性腺瘤病的腺瘤性结肠息肉病基因突变携带者患者,PTC 尤其是筛状乳头状癌的易感性明显增高^[26];以多发性内分泌肿瘤、皮肤色素沉着、内分泌功能亢进为特点的 Carney 综合征是由蛋白激酶依赖型 1 型调节亚单位 α 基因突变所致,该基因位于 17q22-24,编码蛋白激酶 A 的调节亚基,在环磷酸腺苷信号传导通路中起重要作用,也被证实与遗传性 PTC 有关。此外,定位于 1q21、2q21、8p23、1-p22、14q31 和 19p13.2 的多个基因位点也表现出与家族性 PTC 相关^[27]。

PIK3CA 基因属于 PI3K 家族,是 PI3K/张力蛋白同源的第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)/AKT 通路的重要组成部分,其突变主要发生在第 9 和第 20 外显子上。PIK3CA 基因突变可见于 6%~13% 的 FTC 病例和 5%~25% 的未分化癌,而 PTC 中罕见^[28]。定位于 10q23 的 PTEN 基因胚系突变也通过 PTEN/AKT 通路导致肿瘤发生。6%~12% 的 FTC 和 5%~20% 的未分化癌是由于 PTEN 突变、功能丧失导致 AKT 等下游信号激活而发生的。常染色体显性遗传的 Cowden 综合征患者有 10%~20% 发生甲状腺癌的风险,通常为 FTC,且良性腺瘤等甲状腺损伤的患病率也比较高,也与 PTEN 基因突变有关^[29]。PIK3CA 和 PTEN 基因突变很少同时出现于分化较好的甲状腺癌中,但二者常伴随 BRAF 或 RAS 基因突变存在,提示这两种突变是肿瘤进展到较晚期时才发生的分子学事件。AKT 也称为蛋白激酶 B,也是 PI3K/PTEN/AKT 通路的关键组分,AKT 基因突变可使其持续激活,导致对放射性碘治疗不敏感的高度恶性甲状腺癌发生,并且与肿瘤的进展相关^[30]。

肿瘤蛋白 P53 基因定位于 17 号染色体短臂,有高达 50% 的人类恶性肿瘤与此基因突变相关,也与甲状腺癌的去分化及进展有关,常提示预后不良。约 1/3 的甲状腺低分化癌和 50%~80% 的未分化癌中有 TP53 突变^[31],通常检测的是第 5 和第 8 外显子,以免免疫组织化学染色可检测到 40%~50% 的此类肿瘤所表达的 P53 蛋白。

7 小 结

在甲状腺结节病变出现 PTC 和 FTC 常见基因改变时,可以提高恶性病例的检出率,通过应用不断被发现的多种分子标志物,明显提高甲状腺癌诊断的准确性。在美国甲状腺学会最新修订的指南中也建议对术前细针穿刺细胞学检查意义不明确的病变进行基因标志物检测,如 RET/PTC、BRAF、PAX8/PPAR γ 、RAS 等突变检测。对于 FNA 已确诊为癌变的结节,分子标志物检测的诊断价值虽难以体现,但是有助于理解疾病发生的机制,选择合适的靶向治疗药物,可辅助评估预后。以有效的检测方法检出 BRAF 基因突变的非典型病变对 PTC 诊断有较高的特异度,且提示肿瘤侵袭性较强,RET/PTC 克隆性重排也为 PTC 诊断提供了有力的证据。目前已出现 BRAF V600E 基因的抑制剂,可有效治疗 PTC 和未分化癌。某些突变阳性对甲状腺癌的诊断意义尚存争议,但是仍有利于发现细胞学误诊为良性的疾病或癌前病变,并及时手术切除结节预防恶变。基因诊断弥补了传统细胞学技术的不足,但是其灵敏度和特异度尚存在局限性;联合检测多种基因改变虽可改善甲状腺疾病的诊断,避免不必要的诊断性手术,但其费

用高昂、对检测技术的要求较高,故广泛应用于临床仍存在较多问题。随着生物学技术的不断发展,将不断发现有利于甲状腺癌诊断的分子标志物,完善各类检测技术手段,提高诊断的准确性和患者的预后。

参考文献

- [1] LUBITZ C C, SOSA J. The changing landscape of papillary thyroid cancer: epidemiology, management, and the implications for patients [J]. *Cancer*, 2016, 122(24): 3754-3759.
- [2] HAUGEN B R, ALEXANDER E K, BIBLE K C, 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): 12-13.
- [3] RUSINEK D, CHMIELIK E, KRAJEWSKA J, et al. Current advances in thyroid cancer management. Are we ready for the epidemic rise of diagnoses [J]. *Internat J Mol Sci*, 2017, 18(8): E1817.
- [4] 王欣怡, 白俊文. 甲状腺癌的相关基因 BRAF、RET、RAS 研究新进展 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(36): 4631-4634.
- [5] KIMURA E T, NIKIFOROVA M N, ZHU Z, et al. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(7): 1454-1457.
- [6] 王力群, 郑曦, 吴钦穗, 等. BRAF 基因在甲状腺癌细针穿刺标本中的表达研究 [J]. *中国医药指南*, 2018, 16(19): 164-165.
- [7] BASOLO F, TORREGROSSA L, GIANNINI R, et al. Correlation between the BRAF V600E mutation and tumor invasiveness in papillary thyroid carcinomas smaller than 20 millimeters: analysis of 1 060 cases [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(9): 4197-4205.
- [8] 蒋倩楠. 甲状腺微小乳头状癌隐匿性颈部淋巴结转移的危险因素 [D]. 青岛: 青岛大学, 2018.
- [9] KOWALIK A, KOWALSKA A, WALCZYK A, et al. Evaluation of molecular diagnostic approaches for the detection of BRAF V600E mutations in papillary thyroid cancer: Clinical implications [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179691.
- [10] NIKIFOROV Y E. Role of molecular markers in thyroid nodule management: then and now [J]. *Endocr Pract*, 2017, 28(8): 979-988.
- [11] AL-SALAMEH A, BAUDY C, COHEN R. Update on multiple endocrine neoplasia Type 1 and 2 [J]. *Presse Med*, 2018, 47(9): 722-731.
- [12] 王秀杰. 甲状腺结节相关基础与临床研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2017.
- [13] 许俊峰, 彭学皎, 张琨, 等. 甲状腺髓样癌的分子诊断及研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(4): 681-685.

[14] MARTIN-COSTA M C, LLINDSEY S C, CUNHA L L, et al. A pioneering RET genetic screening study in the state of Ceará, Brazil, evaluating patients with medullary thyroid cancer and at-risk relatives: experience with 247 individuals[J]. Arch Endocrinol Metab, 2018, 62(6): 626-635.

[15] MONACO M, PALMA G, VITIELLO M, et al. Loss of one or two PATZ1 alleles has a critical role in the progression of thyroid carcinomas induced by the RET/PTC1 oncogene[J]. Cancer, 2018, 10(4): 92-99.

[16] SU X, LI Z, HE C, et al. Radiation exposure, young age, and female gender are associated with high prevalence of RET/PTC1 and RET/PTC3 in papillary thyroid cancer: a meta-analysis[J]. Oncotarget, 2016, 7(13): 16716-16730.

[17] 王 文 兰, 王 萍, 赵 世 华, 等. BRAF~(T1799A) 突 变、RET/PTC 重排对术前诊断甲状腺乳头状癌的作用[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(16): 3028-3033.

[18] SU X, HE C, MA J, et al. RET/PTC rearrangements are associated with elevated postoperative TSH Levels and multifocal lesions in papillary thyroid cancer without concomitant thyroid benign disease[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0165596.

[19] VASKO V, FERRAND M, DI CRISTOFARO J, et al. Specific pattern of RAS oncogene mutations in follicular thyroid tumors[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(6): 2745-2752.

[20] 杨 麒 巍, 隋 玉 杰, 杜 珍 武, 等. RAS 基 因 家 族 在 实 体 瘤 中 突 变 率 的 研 究 进 展[J]. 中 国 体 视 学 与 图 像 分 析, 2018, 23(3): 303-310.

[21] GUPTA N, DASYAM A K, CARTY S E, et al. RAS mutations in thyroid FNA specimens are highly predictive of predominantly low-risk follicular-pattern cancers [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(5): 914-922.

[22] D'CRUZ A K, VAISH R, VAIDYA A, et al. Molecular markers in well-differentiated thyroid cancer [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2018, 275(6): 1375-1384.

[23] 邵 飞, 张 晓 文, 沈 山 梅. BRAF、TERTp、RAS、RET/PTC、PAX8/PPAR 在 甲 状 腺 癌 中 的 研 究 进 展[J]. 医 学 综 述, 2018, 24(7): 1318-1323.

[24] ARMSTRONG M J, YANG H, YIP L, et al. PAX8/PPARγ rearrangement in thyroid nodules predicts follicular-pattern carcinomas, in particular the encapsulated follicular variant of papillary carcinoma [J]. Thyroid, 2014, 24(9): 1369-1374.

[25] GRECO A, MIRANDA C, PIEROTTI M A. Rearrangements of NTRK1 gene in papillary thyroid carcinoma[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 321(1): 44-49.

[26] CUI X J, ZHAO H O, SU P, et al. Clinicopathologic and molecular features of cribriform morular variant of papillary thyroid carcinoma[J]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, 2018, 47(5): 354-359.

[27] TRAN T, GIANOUKAKIS A G. Familial thyroid neoplasia: impact of technological advances on detection and monitoring [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2010, 17(5): 425-431.

[28] XING J C, TUFANO R P, MURUGAN A K, et al. Single nucleotide polymorphism rs17849071 G/T in the PIK3CA gene is inversely associated with follicular thyroid cancer and PIK3CA amplification [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49192.

[29] WANG Y, HOU P, YU H, et al. High prevalence and mutual exclusivity of genetic alterations in the phosphatidylinositol-3-kinase/akt pathway in thyroid tumors [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(6): 2387-2390.

[30] PAES J E, RINGEL M D. Dysregulation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in thyroid neoplasia [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2008, 37(2): 375-387.

[31] EVANGELISTI C, DE BIASE D, KURELAC I, et al. A mutation screening of oncogenes, tumor suppressor gene TP53 and nuclear encoded mitochondrial complex I genes in oncocytic thyroid tumors [J]. BMC Cancer, 2015, 21(15): 157-165.

(收稿日期: 2019-09-18 修回日期: 2019-12-26)

• 综 述 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 08. 039

超声引导下外周神经阻滞麻醉应用进展

高国林¹综述, 谭 刚^{2△}审校

1. 中国医学科学院北京协和医学院, 北京 100730; 2. 北京协和医院麻醉科, 北京 100730

关键词: 超声引导; 外周神经阻滞麻醉; 麻醉领域

中图分类号: R614. 4

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)08-1138-04

外周神经阻滞麻醉定位技术对麻醉剂准确注入有重要指导意义, 目前, 临床应用的定位技术有外周

神经解剖结构盲探、神经刺激仪及超声引导定位等^[1-2]。由于超声引导有简单易行、图像质量优异等

△ 通信作者, E-mail: tangang@pumch. cn.