

巴中市哲学社会科学规划项目

(2024 年度)

项 目 类 别 一般课题

立 项 编 号 BZ24YB129

学 科 分 类 医学类

课 题 名 称 超声引导下 FNAC 联合 BRAF V600 E 基因检测
在甲状腺乳头状癌患者中的诊断价值

项 目 负 责 人 朱林江

项 目 参 与 人 蒋建中 唐钢

负责人所在单位 巴中市中心医院

联 系 电 话 15982769485

巴中市社会科学界联合会 制

超声引导细针穿刺细胞学检查联合 BRAF 基因检测在甲状腺 TI-RADS 4 类结节中的诊断价值

【摘要】目的：探讨超声引导细针穿刺（FNA）细胞学检查联合 BRAF 基因检测在甲状腺 TI-RADS4 类结节中的诊断价值。**方法：**收集 2023 年 1 月至 2024 年 7 月期间在巴中市中心医院行甲状腺手术的患者共 93 例，术前甲状腺彩超提示甲状腺结节均为 TI-RADS 4 类结节，术前均自愿接受超声引导细针穿刺（FNA）细胞学检查及 BRAF 基因检测，记录其细胞学检查、BRAF 基因检测及术后石蜡病检结果，分析甲状腺乳头状癌患者的病理特征，以及探讨超声引导细针穿刺细胞学检查联合 BRAF 基因检测在甲状腺 TI-RADS 4 类结节中的诊断价值。**结果：**93 例甲状腺 TI-RADS 4 类结节的患者术后石蜡病检提示甲状腺乳头状癌共 81 例，其中结节直径 $\leq 1\text{cm}$ 的甲状腺乳头状癌 67 例(占比 82.7%)，FNA 联合 BRAF v600E 基因检测诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度为 97.5%，较仅用 FNA 诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度为 72.8%，差异有统计学意义($\chi^2=17.66$ ， $P<0.05$)；不同年资主治医师细针穿刺操作 FNA 检查结果及 BRAF V600E 基因检测结果间比较无统计学意义（ $P>0.05$ ）。**结论：**超声引导细针穿刺（FNA）细胞学检查联合 BRAF 基因检测能提高甲状腺 TI-RADS 4 类结节的确诊率。

【关键词】 甲状腺结节 甲状腺癌 细针穿刺 BRAF 基因检测

Diagnostic value of ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology combined with BRAF gene detection in thyroid nodules of TI-RADS category 4

【Abstract】Objective To explore the diagnostic value of ultrasound-guided fine-needle aspiration (FNA) cytology combined with BRAF gene detection in thyroid nodules classified as TI-RADS category 4. **Methods** A total of 93 patients who underwent thyroid surgery at Bazhong Central Hospital from January 2023 to July 2024 were collected. Preoperative thyroid color Doppler ultrasound indicated that all thyroid nodules were classified as TI-RADS category 4 nodules. All patients voluntarily underwent ultrasound-guided fine-needle aspiration (FNA) cytology and BRAF gene detection before surgery. The results of cytology examination, BRAF gene detection, and postoperative paraffin pathology were recorded. The pathological characteristics of patients with papillary thyroid carcinoma were analyzed, and the diagnostic value of ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology combined with BRAF gene detection in thyroid nodules classified as TI-RADS category 4 was explored. **Results** Postoperative paraffin pathology of 93 patients with thyroid nodules classified as TI-RADS category 4 indicated that there were 81 cases of papillary thyroid carcinoma. Among them, 67 cases of papillary thyroid carcinoma with a nodule diameter of ≤ 1 cm accounted for 82.7%. The sensitivity of FNA combined with BRAF v600E gene detection in diagnosing papillary thyroid carcinoma was 97.5%, which was significantly different from the sensitivity of only using FNA to diagnose papillary thyroid carcinoma (72.8%, $\chi^2 = 17.66$, $P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the FNA examination results and BRAF V600E gene detection results among attending physicians of different seniorities ($P > 0.05$). **Conclusion** Ultrasound-guided fine-needle aspiration (FNA) cytology combined with BRAF

gene detection can improve the diagnosis rate of thyroid nodules classified as TI-RADS category 4.

【Key words】 thyroid nodule; thyroid cancer; fine-needle aspiration; BRAF gene detection

甲状腺癌是我国高发的恶性肿瘤之一，其发病率较其他恶性肿瘤增长最快，早发现、早确诊对提高患者的疗效及预后至关重要。甲状腺结节是一种甲状腺增生性病变，近年来，由于人们对医疗保健的重视以及诊疗手段的进步，甲状腺结节的检出率明显增高^[1]，尤其在女性中更为普遍。据研究表明，甲状腺结节中约 7%~15%的为甲状腺癌^[2]，而甲状腺 TI-RADS 4 级结节的良恶性鉴别对于患者的治疗方案选择和预后评估至关重要。超声引导下甲状腺结节细针穿刺(Fine-needle aspiration, FNA)细胞学检查是甲状腺结节术前诊断的重要手段，具有操作简单、损伤小和准确率高等优点^[3]，但是有一小部分甲状腺结节在行该操作后仍无法明确诊断。BRAF 基因是原癌基因 RAF 家族中的一员，位于人类 7 号染色体上，编码 MAPK 通路中的丝氨酸苏氨酸蛋白激酶（BRAF 蛋白）。该酶将信号从 RAS 转导至 MEK1/2，从而参与调控细胞内多种生物学事件，调节细胞分化、增殖、迁移等多种生物学过程。许多肿瘤，包括甲状腺乳头状癌、恶性黑色素瘤、结直肠癌中常出现 BRAF(V600E)点突变而异常激活。已知 BRAF 基因存在 40 余种不同的突变类型，其中最常见的是位于第 15 号外显子的 1799 位点突变 BRAF V600E，约占 BRAF 突变的 90%以上，且在甲状腺乳头状癌发病中起着重要作用^[4]。BRAF V600E 基

因突变检测作为目前一种新型的分子诊断技术，为甲状腺结节良恶性的鉴别提供了新的方向。本研究通过收集日常工作中的甲状腺 TI-RADS 4 类结节数据分析了符合研究条件的甲状腺乳头状癌患者的病理特征，并探讨了超声引导细针穿刺联合 BRAF 基因检测在甲状腺 TI-RADS4 类结节中的诊断价值。

1. 对象和方法

1.1 对象 本研究以 2023 年 1 月至 2024 年 7 月期间在巴中市中心医院行手术治疗且术前甲状腺彩超提示甲状腺结节为 TI-RADS 4 类的患者为研究对象，共 93 例，男 26 例，女 67 例，年龄 21 ~ 78(47.20 ± 12.66)岁。纳入标准：(1)既往未接受甲状腺手术治疗及甲状腺其他相关治疗，如 ^{131}I 治疗、射频及微波消融治疗等；(2)在外院未做过甲状腺结节的穿刺活检；(3)未服用过治疗或影响甲状腺相关的药物；(4)在我院彩超提示甲状腺 TI-RADS 4 类结节，自愿进行超声引导下甲状腺结节 FNA 细胞学检查和穿刺标本外送行 BRAF V600E 基因突变检测；(5)在本院接受甲状腺手术治疗并有术后病理检查结果。排除标准：(1)未在本院接受甲状腺手术治疗的患者；(2)术前已明确患有其他恶性肿瘤的患者；(3)资料不完整的患者。本研究中所有患者均知情及签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 超声引导细针穿刺细胞学检查操作均由甲状腺外科主治医师执行。穿刺液样本推至载玻片上涂片 3-5 张，快速固定后送我院病理科检查。

1.2.2 BRAF V600E 基因突变检测 采集甲状腺结节穿刺液标本经患者及家属同意后外送同一基因检测机构应用 ARMS-PCR（等位基因特异性扩增聚合酶链式反应）进行 BRAF V600E 基因突变检测。

1.3 统计学处理采用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示；计数资料以例(%)表示，组间比较采用 χ^2 检验，显著性水平 $\alpha = 0.05$ ，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以术后石蜡病理检查结果为金标准，分析 FNA 和 FNA 联合 BRAF V600E 基因突变检查诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度。灵敏度=真阳性数 / (真阳性数+假阴性例数)。

2 结果

2.1 术后病理检查结果 93 例甲状腺 TI-RADS4 类结节患者术后石蜡病理检查结果显示甲状腺乳头状癌 81 例，其他良性病变有 12 例。

2.2 甲状腺乳头状癌患者的临床特征 81 例甲状腺乳头状癌患者中，男 20 例(20.9%)，女 61 例(79.1%)，男女比例为 1: 3.05；TI-RADS 4a 类结节 47 例（58.0%），TI-RADS 4b 类结节 24 例（29.6%），TI-RADS 4c 类结节 10 例（12.4%）。甲状腺结节直径 $\leq 1\text{cm}$ 有 67 例(82.7%)，甲状腺结节直径 $> 1\text{cm}$ 有 14 例(17.3%)。其中发生淋巴结转移的甲状腺乳头状癌有 20 例(24.7%)，未发生淋巴结转移的有 61 例(75.3%)；并且其中发生 BRAF V600E 基因突变的甲状腺乳头状癌有 70 例(86.4%)，详见表 1。

2.3 不同直径甲状腺乳头状癌患者临床病理特征的比较 不同甲状腺乳头状癌直径大小患者间临床病理特征比较见表 1。不同甲状腺乳头状癌

直径大小患者间性别、结节 TI-RADS 分级、是否发生淋巴结转移、是否有 BRAF V600E 基因突变的比较无统计学意义 (P>0.05)。

2.4 FNA 和 BRAF V600E 基因检测诊断甲状腺乳头状癌结果 FNA 诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度为 72.8%；FNA 和 BRAF V600E 基因联合检测诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度为 97.5%，见表 2。FNA 和 FNA 联合 BRAF V600E 基因检测诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度差异有统计学意义见表 3($\chi^2=17.66$, P<0.05)。

表 1 不同直径 PTC 患者临床病理特征的比较[例(%)]

临床病理特征	n	直径≤1cm 患者 (n=67)	直径> 1cm 患者 (n=14)	χ^2 值	P 值
性别					
男	20	14 (20.9)	6 (42.8)	3.004	> 0.05
女	61	53 (79.1)	8 (57.2)		
TI-RADS 分级					
4a	47	37 (54.4)	10 (71.4)	1.921	> 0.05
4b	24	22 (32.8)	2 (14.3)		
4c	10	8 (12.8)	2 (14.3)		
淋巴结转移					
有	20	16 (23.9)	4 (28.6)	0.137	> 0.05
无	61	51 (76.1)	10 (71.4)		
基因突变					
是	70	58 (86.6)	12 (85.7)	0.007	> 0.05
否	11	9 (13.4)	2 (14.3)		

表 2 FNA、BRAF V600E 基因检测及 FNA 联合 BRAF V600E 基因检测诊断 PTC 结果（例）

检测方式及 定性结果	n	术后石蜡病检结果		灵敏度
		阳性	阴性	
		(n=81)	(n=12)	
FNA				
阳性	59	59	0	72.8%
阴性	34	22	12	
BRAF V600E 基 因检测				
阳性	70	70	0	86.4%
阴性	23	11	12	
FNA 联合 BRAF V600E 基因检测				
阳性	79	79	0	97.5%
阴性	14	2	12	

表 3 FNA 和 FNA 联合 BRAF V600E 基因检测诊断 PTC 的灵敏度的对比（例）

2.5 不同年资主治医师穿刺操作 FNA 及 BRAF V600E 基因检测结果的比较见表 4 不同年资主治医师穿刺操作 FNA 及 BRAF V600E 基因检测结果间比较无统计学意义 ($P>0.05$)。

定性结果 检测方式	阳性	阴性	χ^2 值	P 值
FNA	59	22	17.66	< 0.05
FNA 联合 BRAF V600E 基因检测	79	2		

表 4 不同年资主治医师穿刺操作 FNA 及 BRAF V600E 基因检测结果

检测方式及 定性结果	n	不同年资主治医师		χ^2 值	P 值
		≤3 年	> 3 年		
FNA					
阳性	59	24	35	0.358	> 0.05
阴性	34	16	18		
BRAF V600E 基 因检测					
阳性	70	28	42	1.047	> 0.05
阴性	23	12	11		

3 讨论

甲状腺结节是临床上一种常见的疾病^[5],近年来,随着现代医疗技术水平的进步、各项医疗设备的设计、应用与普及,甲状腺结节的检出率有了明显提高,可达 19%~67%^[6-7]。大多数的甲状腺结节为良性病变,一般不需要进行任何治疗,但如果高度怀疑恶性病变或检出恶性病变时就需要更进一步深入诊断与治疗。通常情况下甲状腺良恶性病变鉴别难度较高,容易导致误诊、漏诊,而且国人是谈“癌”色变,故需尽早鉴别和诊断结节是否已经出现恶性病变,这对疾病的早期治疗意义重大^[8]。

超声检查由于其在甲状腺良、恶性肿瘤的鉴别与评估中具有十分重要的意义,且在临床工作中应用广泛,是筛查甲状腺结节良恶性的首选方法。超声诊断甲状腺恶性结节的恶性征象:实性、边界不清、点状或簇状钙化、低或极低回声、微小分叶、纵横比>1 等。甲状腺结节根据超声特征可分为不同等级,其中 4 类结节具有一定的恶性风险。根据 ACR 2017 分级标准,4 类结节进一步细分为 4a、4b、4c 三个亚类,恶性概率

分别为 5%–10%、10%–50%和 50%–85%。因此，对于甲状腺 TI-RADS 4 类结节，进行进一步的良恶性鉴别显得尤为重要。有文献报道^[9–10]明确提出超声引导下的甲状腺结节细针穿刺活检技术，在甲状腺结节良恶性诊断中有着无可替代的重要地位，其诊断精确性、安全性均有一定的保障。但因穿刺技术、所取细胞量较少、容易破坏细胞和细胞间质等原因，因此仍有 10% ~ 40% 甲状腺结节通过 FNA 无法获得明确诊断^[11]。

本研究中 93 例甲状腺 TI-RADS4 类结节患者术后石蜡病检结果提示有 81 例甲状腺乳头状癌，其中男 20 例(20.9%)，女 61 例(79.1%)，男女比例为 1：3.05，女性占比较大，与国内其他文献报告相当^[12]。有文献报道称 2022 年美国女性新发甲状腺癌的数量约是男性的 2.68 倍^[13]，甲状腺乳头状癌更易发生在女性，这跟女性生理因素、激素水平及环境因素有关，同时现代女性注重甲状腺及乳腺的体检，以及临床中高频彩超的应用，这更能检出更多的甲状腺结节。

本研究中 81 例 PTC 中直径 $\leq 1\text{cm}$ 的 PTC 患者中，甲状腺 TI-RADS 4a 类结节占 54.4%，TI-RADS 4b 类结节 24 例（29.6%），TI-RADS 4c 类结节 10 例（12.4%），这主要跟大部分患有甲状腺 TI-RADS 4a 类结节的患者不愿直接手术，更易接受 FNA；而甲状腺 TI-RADS 4b 类及 TI-RADS 4c 类结节的患者因考虑其恶性概率较大，更易接受手术；同时临床上为避免漏诊，临床医师针对甲状腺 TI-RADS 4a 类结节患者多建议其采取细针穿刺细胞学检测，导致入组患者数量相对较多。本研究中 81

例甲状腺乳头状癌患者术后明确有淋巴结转移者 20 例, 其淋巴结转移发生率 24.7%, 与国内一项单中心的回顾性研究结果中显示的甲状腺乳头状癌患者 22.4% 的淋巴结转移发生率相近^[14]。国内另一研究中显示其甲状腺乳头状癌患者淋巴结转移发生率约为 27.4%^[17], 也与本研究结果相当。

BRAF 基因是原癌基因, 其突变会引起细胞无限分裂和增殖失控, 从而导致肿瘤的形成。BRAF V600E 基因突变是甲状腺癌发生过程中最常见的遗传学事件。其在甲状腺乳头状癌中的发生率为 40% ~ 70%, 但是在甲状腺其他恶性肿瘤和良性甲状腺增生中很少发现^[15]。有研究者做了一项系统性综述, 其结果发现 BRAF V600E 基因突变在国人甲状腺乳头状癌中的突变比例为 71.2%^[16], 本研究中 81 例 PTC 中 BRAF V600E 基因突变率达到 86.5%, 明显高于文献报道, 但国内也有研究中 PTC 患者 BRAF V600E 基因突变率达 91.5%^[17]; 这可能跟不同地域的环境因素、每个研究项目中 BRAF 基因突变采用的检测方法不同有关。

本研究结果显示, FNA 联合 BRAF v600E 基因检测诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度达到 97.5%, 而单纯 FNA 诊断甲状腺乳头状癌的灵敏度为 72.8%, FNA 联合 BRAF V600E 基因突变检测能明显提高甲状腺乳头状癌诊断的灵敏度。在确诊的甲状腺乳头状癌患者中, 82.7% 的患者其甲状腺结节直径 $\leq 1\text{cm}$ 。从该结果可以看出 FNA 联合 BRAF V600E 基因突变检测更加有利于检出及明确小直径结节的性质, 尤其是结节直径 $\leq 1\text{cm}$ 的甲状腺乳头状癌, 即甲状腺癌微小乳头状癌 (papillary thyroid

microcarcinoma, PTMC)。这可能与该研究中甲状腺 TI-RADS 4a 类小结节患者占比较大 (54.4%)、总体样本量较少有关。同时甲状腺结节体积较小的患者在临床上手术意愿相对较小, 更容易接受 FNA 联合 BRAF V600E 基因检测以来明确诊断。近年来, 虽然我国甲状腺癌的发病例数逐年增加, 但因甲状腺乳头状癌的愈后较好, 甲状腺乳头状癌患者的死亡率却维持在较低水平, 这导致了临床工作中一些关于一些小体积 ($\leq 5\text{mm}$) 甲状腺 4a 类结节是否需要行 FNA 联合 BRAF v600E 基因检测的争议, 有研究数据表明我国存在甲状腺癌过度诊断的情况, 特别是在一些经济发达城市, 其甲状腺癌过度诊断率高达 70%^[18]。过度诊断会使患者承受沉重的疾病诊疗经济负担及心理负担, 从而影响其生活质量, 同时还会导致我们医疗保障体系承受相当沉重的经济负担。

在当前的临床工作中 FNAC 是目前评估甲状腺结节性质的重要手段。FNA 具有操作精准、安全、创伤小、痛苦少等优点, 但其诊断准确率受多种因素影响, 如穿刺技术、样本处理、病理医师经验等。有研究表明细针穿刺细胞学检查 (fine needle aspiration cytology, FNAC) 是目前公认安全性和准确性较高的术前诊断技术, 但其准确性对穿刺医师和病理医师要求较高, 结果仍存在一定的不确定性^[19], 在本研究中不同年资主治医师穿刺结果中, FNA 及 BRAF v600E 基因检测的阳性率无统计学意义 ($P>0.05$), 此结果说明该项研究中医务人员的穿刺技术无

明显差异，可做到技术同质化，这为后续临床工作及研究提供了更好的技术支持。

综上，通过本研究我们知道了 FNA 联合 BRAF V600E 基因突变检测在甲状腺 TI-RADS 4 类结节中的诊断价值显著，特别有利于检测及明确小体积结节的性质，尤其是肿瘤直径 $\leq 1\text{cm}$ 的甲状腺乳头状癌。该方法可以提高诊断准确率，减少漏诊和误诊，但也会导致一部分患者的过度诊断及治疗。这需我们甲状腺外科医师在日常工作中尽量识别出那些急需行 FNA 及 BRAF V600E 基因突变检测的患者。

文章目前状态：已投稿

