

甲状腺乳头状癌 BRAF^{V600E} 突变分析

夏婷婷 胡传祥 赵静 于洋 郑向前 魏松锋 高明

摘要 目的:检测 BRAF^{V600E} 突变在甲状腺乳头状癌(PTC)中的发生情况,分析 BRAF^{V600E} 突变与临床各病理参数以及合并桥本氏甲状腺炎(HT)和结节性甲状腺肿的关系。**方法:**天津医科大学附属肿瘤医院2011年3月至2011年8月所收治的临床考虑甲状腺癌患者112例,术中取部分新鲜肿瘤组织,送基因诊断室检测 BRAF^{V600E} 突变情况,其中30例患者同时取部分正常甲状腺组织进行检测对照。**结果:**112例患者病理结果显示110例为PTC,2例为结节性甲状腺肿。其中 BRAF^{V600E} 突变在110例PTC的突变率为62.7%,不存在于结节性甲状腺肿及正常甲状腺组织。年龄 ≤ 30 岁PTC患者8例,突变率为25.0%;30~60岁患者86例,突变率为62.8%; ≥ 60 岁患者16例,突变率为81.2%,差异有统计学意义($P=0.027$)。BRAF^{V600E} 突变与其他临床病理参数间的差异无统计学意义。合并HT的PTC患者40例,突变率42.5%;未合并HT的PTC患者70例,突变率74.3%,差异有统计学意义($P=0.001$)。合并结节性甲状腺肿的PTC患者61例,突变率72.1%;未合并结节性甲状腺肿的PTC患者49例,突变率51.0%,差异有统计学意义($P=0.023$)。**结论:**PTC的 BRAF^{V600E} 突变率可能与种族差异有关。BRAF^{V600E} 突变率可能与患者年龄构成比有一定的相关性。合并HT的PTC BRAF^{V600E} 突变率低,而合并结节性甲状腺肿的PTC BRAF^{V600E} 突变率高。

关键词 甲状腺乳头状癌 突变 BRAF 结节性甲状腺肿 桥本氏甲状腺炎

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.11.008

BRAF^{V600E} Mutation in Papillary Thyroid Carcinoma

Tingting XIA, Chuanxiang HU, Jing ZHAO, Yang YU, Xiangqian ZHENG, Songfeng WEI, Ming GAO

Correspondence to: Ming GAO, E-mail: gming68@yahoo.com.cn

Department of Thyroid and Neck Tumor, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment of Tianjin City, Tianjin 300060, China

Abstract Objective: To detect BRAFV600E mutation in papillary thyroid carcinoma (PTC); to analyze the relationship between BRAFV600E mutation and clinicopathologic parameters in PTC; and to investigate BRAF^{V600E} mutation in PTC coexisting with Hashimoto's thyroiditis or nodular goiter. **Methods:** DNA was extracted from the fresh thyroid tumor tissues of 112 patients and from normal tissues of 30 patients who were treated in our institution from March 2011 to August 2011 and diagnosed with thyroid carcinoma before surgery. BRAF^{V600E} mutation was detected via polymerase chain reaction and DNA sequencing assays. Clinical data were reviewed and evaluated using the SPSS17.0 statistical software package. **Results:** The pathology showed that the 112 Chinese patients consisted of 110 cases of PTC and 2 cases of nodular goiter. The presence of BRAF^{V600E} mutation was found in 69 patients with PTC (62.7%); the mutation was detected only in PTC and not in the 2 patients with nodular goiter as well as in the 30 normal tissues near the tumor. A significant difference in the BRAF^{V600E} mutation rates in the ≤ 30 , 30-60, and ≥ 60 age groups (25.0%, 62.8%, and 81.2%, respectively) was found. However, statistical data did not show any correlation between BRAF^{V600E} mutation and other clinicopathologic parameters in PTC. The BRAF^{V600E} mutation rate in PTC coexisting with Hashimoto's thyroiditis was 42.5%, whereas that in PTC coexisting with nodular goiter was 72.1%. These results both showed a significant difference with PTC not coexisting with benign thyroid lesion. **Conclusion:** Differences in genetic backgrounds might explain the differences in the BRAF^{V600E} mutation rates. The rate obtained in the study is higher than the results in western countries but lower than that in Korea. The BRAF^{V600E} mutation rates are different in different age groups. The rate obtained in PTC coexisting with Hashimoto's thyroiditis is low, whereas a high rate was obtained in PTC coexisting with nodular goiter.

Keywords Papillary thyroid carcinoma; Mutation; BRAF; Nodular goiter; Hashimoto's thyroiditis

BRAF^{V600E} 突变位于人染色体7q34,是第15外显子上第1799位核苷酸上的胸腺嘧啶(T)转换为腺嘌呤(A),导致蛋白质产物中第600位的缬氨酸(V)转换为谷氨酸(E)所致。BRAF^{V600E} 突变常见于恶性黑色素瘤、甲状腺癌、结肠癌及卵巢癌等。其在国内甲状腺癌中的突变情况研究并不多,本研究分析了110

例PTC的 BRAF^{V600E} 突变情况,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验对象及方法

天津医科大学附属肿瘤医院目前已开设基因诊断室,本科临床考虑甲状腺癌的患者术中常规取部分新鲜肿瘤组织,基因诊断室检测 BRAF^{V600E} 突变情

况。本研究选取2011年3月至2011年8月所收治的临床考虑甲状腺癌的患者112例,其中30例患者同时取部分正常甲状腺组织进行检测对照。所有病例均经病理科确诊。HT以甲状腺过氧化物酶抗体或甲状腺球蛋白抗体升高为标准。合并结节性甲状腺肿参照术前彩超或术后病理结果确认。

1.2 统计学方法

通过SPSS17.0软件进行统计分析,分类变量采用 χ^2 检验,连续变量采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

BRAF^{V600E}突变检测共计112例,其中2例最终病理结果为良性,110例病理为PTC。2例良性患者均为野生型,110例PTC中突变型69例,野生型41例,突变率62.7%。其中30例患者正常甲状腺组织同时行BRAF^{V600E}突变检测,结果均为野生型。

BRAF^{V600E}突变与性别、腺外侵犯、癌灶大小、多灶性、淋巴结转移、分期之间的关系经 χ^2 检验差异无统计学意义(表1); t 检验未发现突变型组与野生型组年龄的平均值存在明显差异(表1);年龄以45岁为界分组后,经 χ^2 检验突变率差异无统计学意义;年龄按青、中、老年分组后经 χ^2 检验差异有统计学意义(表2)。

表1 BRAF^{V600E}突变与PTC患者临床病理参数间的关系 例(%)

Table 1 Correlation between BRAF^{V600E} mutation and clinicopathologic parameters in PTC

项目	突变型(n=69)	野生型(n=41)	P
性别 男	15(21.7)	11(26.8)	0.543
女	54(78.3)	30(73.2)	
年龄/岁	46.8±11.8	44.0±11.1	0.229
侵出腺叶	44(63.8)	21(51.2)	0.196
癌灶大小/cm	1.9±1.3	1.8±1.9	0.766
多灶性	35(50.7)	15(36.6)	0.150
淋巴结转移	36(52.2)	24(58.5)	0.517
分期 I/II	38(55.1)	28(68.3)	0.171
III/IV	31(44.9)	13(31.7)	

表2 年龄对BRAF^{V600E}突变的影响 例(%)

Table 2 BRAF^{V600E} mutation in ≤30, 30~60, and ≥60 age groups

项目	年龄			P
	≤30岁(n=8)	30~60岁(n=86)	≥60岁(n=16)	
突变型	2(25.0)	54(62.8)	13(81.2)	0.027
野生型	6(75.0)	32(37.2)	3(18.8)	

合并桥本氏甲状腺炎(HT)的PTC患者40例,突变率42.5%(17例),未合并HT的PTC患者70例,突变率74.3%(52例),差异有统计学意义(表3)。合并结节性甲状腺肿的PTC患者61例,突变率72.1%(44

例),未合并结节性甲状腺肿的PTC患者49例,突变率51.0%(25例),差异有统计学意义(表4)。

表3 合并桥本氏甲状腺炎与BRAF^{V600E}突变的相关性 例(%)

Table 3 BRAF^{V600E} mutation in PTC coexisting with Hashimoto's thyroiditis

项目	合并桥本氏甲状腺炎 (n=40)	未合并桥本氏甲状腺炎 (n=70)	P
突变型	17(42.5)	52(74.3)	0.001
野生型	23(57.5)	18(25.7)	

表4 合并结节性甲状腺肿与BRAF^{V600E}突变的相关性 例(%)

Table 4 BRAF^{V600E} mutation in PTC coexisting with nodular goiter

项目	合并结节性甲状腺肿 (n=61)	未合并结节性甲状腺肿 (n=49)	P
突变型	44(72.1)	25(51.0)	0.023
野生型	17(27.9)	24(49.0)	

3 讨论

甲状腺癌常见的组织学类型有乳头状癌(PTC)、滤泡癌(FTC)、髓样癌(MTC)、未分化癌(ATC)。BRAF^{V600E}突变仅存在于PTC和ATC中,而不存在于FTC、MTC、甲状腺良性疾病及正常甲状腺组织中。本研究检测结果也显示2例良性病变及30例正常甲状腺组织均为野生型。BRAF^{V600E}突变在ATC中检出率较低,在PTC的检出率文献报道差异很大,西方国家PTC中BRAF^{V600E}突变的检出率较韩国低^[1-3]。本研究BRAF^{V600E}突变在PTC中的检出率为62.7%,较西方国家报道偏高,而低于多数韩国文献报道,考虑BRAF^{V600E}突变可能存在种族性差异。突变的检出率也可能受样本选取的影响,如样本的甲状腺癌组织学亚型、年龄的构成比不同等,另外,突变的检测方法等因素也有可能影响到检出率。

目前国外有不少关于BRAF^{V600E}突变与甲状腺癌临床病理学参数相关性的研究。多数研究显示经典型PTC的突变率明显高于滤泡亚型的PTC^[3-4]。但对于BRAF^{V600E}突变可否作为指导预后不良的指标争议较大。多数文献统计可发现其中一项或几项临床病理参数与BRAF^{V600E}突变有相关性。如Xing等^[5]的一项多中心研究资料显示腺外侵犯、颈淋巴结转移和甲状腺癌已处于进展期(III~IV期),均与PTC的BRAF^{V600E}突变有显著相关性。但也有研究认为突变与各参数不存在相关性^[6]。本研究虽然显示BRAF^{V600E}突变与性别、腺外侵犯、癌灶大小、多灶性、淋巴结转移、分期相关性差异无统计学意义,但可以发现突变组的腺外侵犯比例、多灶性比例以及处于III~IV期的比例均高于野生型组,或许通过增加样本量可以发现之间的相关性。

本研究 *t* 检验统计中未发现突变型组与野生型组年龄的平均值存在明显差异。以 45 岁分组, χ^2 检验后两组也未见明显差异, 但按青年 (≤ 30 岁)、中年 (30~60 岁)、老年 (≥ 60 岁) 分组, 突变率分别为 25.0%、62.8%、81.2%, 差异有统计学意义。Nikiforova 等^[7] 研究 55 例切尔诺贝利核事故后的 PTC 患者和 82 例散发型 PTC 患者, 发现核事故导致 PTC 中 BRAF^{V600E} 突变的发生率为 4%, 散发型 PTC 中 BRAF^{V600E} 突变的发生率为 37%, 而 RET/PTC 重排的发生率分别为 58% 和 20%。一方面说明核辐射主要导致 RET/PTC 重排率的增加, 而 BRAF^{V600E} 可能是一种对放射不敏感的基因。另一方面对于核事故后 PTC BRAF^{V600E} 突变率低于散发 PTC 患者的现象, 有学者认为是由于年龄构成比与突变有相关性, 儿童及青少年突变率低, 而核辐射导致的 PTC 患者大多为儿童的缘故^[8]。另外, 最新研究也表明随年龄的增加 BRAF^{V600E} 突变率明显增加^[6]。结合本研究的统计结果认为 BRAF^{V600E} 突变与年龄有一定的相关性, 此突变的发生可能是一个时间累积的过程, 儿童及青年的突变率低, 而老年人突变率高。

PTC 常伴发甲状腺良性疾病同时发生, 本研究也分别统计了合并 HT 和合并结节性甲状腺肿的 PTC 患者的 BRAF^{V600E} 突变率, 发现伴发 HT 的患者突变率低 ($P=0.001$), 而伴发结节性甲状腺肿的患者突变率高 ($P=0.023$)。HT 合并甲状腺癌的病例并不少见, Larson 等^[9] 的研究表明, HT 患者甲状腺癌的发病率是普通人的 3 倍。部分文献认为合并 HT 的甲状腺癌淋巴结转移率低, 预后相对好, 有人认为是因为自身免疫性可杀伤杀死癌细胞, 还有人认为癌旁的甲状腺炎淋巴细胞浸润以及血浆中淋巴细胞的渗出, 限制和减少了癌细胞的扩散。Kim 等^[10] 统计了 101 例患者显示合并 HT 的甲状腺癌 BRAF^{V600E} 突变率低, 与本研究统计结果一致。这一现象也提示合并 HT 的 PTC 预后较好可能与 BRAF^{V600E} 突变率低有关。虽然本研

究显示合并结节性甲状腺肿的 PTC 患者 BRAF^{V600E} 突变率高, 但国内外文献鲜见其它报道, 尚需更进一步的大样本统计资料加以证实。而合并此两种良性甲状腺疾病的 PTC 的 BRAF^{V600E} 突变率与单纯 PTC 突变率的差别的原因也有待于从分子水平上进一步研究。

参考文献

- 1 Kim SJ, Lee KE, Myong JP, et al. BRAFV600E mutation is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer[J]. *World J Surg*, 2012, 36(2): 310–317.
- 2 Frasca F, Nucera C, Pellegriti G, et al. BRAFV600E mutation and the biology of papillary thyroid cancer[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2008, 15(1): 191–205.
- 3 Kim KH, Kang DW, Kim SH, et al. Mutations of the BRAF gene in papillary thyroid carcinoma in a Korean population[J]. *Yonsei Med J*, 2004, 45(5): 818–821.
- 4 Proietti A, Giannini R, Ugolini C, et al. BRAF status of follicular variant of papillary thyroid carcinoma and its relationship to its clinical and cytological features[J]. *Thyroid*, 2010, 20(11): 1263–1270.
- 5 Xing M, Westra WH, Tufano RP, et al. BRAF mutation predicts a poorer clinical prognosis for papillary thyroid cancer[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(12): 6373–6379.
- 6 Sassolas G, Hafdi-Nejjari Z, Ferraro A, et al. Oncogenic alterations in papillary thyroid cancers of young patients[J]. *Thyroid*, 2012, 22(1): 17–26.
- 7 Nikiforova MN, Ciampi R, Salvatore G, et al. Low prevalence of BRAF mutations in radiation-induced thyroid tumors in contrast to sporadic papillary carcinomas[J]. *Cancer Lett*, 2004, 209(1): 1–6.
- 8 Lima J, Trovisco V, Soares P, et al. Reply to: Low prevalence of BRAF mutations in radiation-induced thyroid tumors in contrast to sporadic papillary carcinomas[J]. *Cancer Lett*, 2005, 230(1): 149–150.
- 9 Larson SD, Jackson LN, Riall TS, et al. Increased incidence of well-differentiated thyroid cancer associated with Hashimoto's thyroiditis and the role of PI3k/Akt pathway[J]. *J Am Coll Surg*, 2007, 204(5): 764–773.
- 10 Kim SK, Song KH, Lim SD, et al. Clinical and pathological features and the BRAF(V600E) mutation in patients with papillary thyroid carcinoma with and without concurrent Hashimoto thyroiditis[J]. *Thyroid*, 2009, 19(2): 137–141.

(2011-11-03 收稿)(2012-03-12 修回)

(本文编辑: 王展宏)

Clinical Oncology and Cancer Research 更名启事

经国家新闻出版总署批准, 中国抗癌协会系列期刊 *Clinical Oncology and Cancer Research* (ISSN 1674-5361, CN 12-1404/R) 自 2012 年第 1 期正式更名为 *Cancer Biology & Medicine* (ISSN 2095-3941, CN 12-1431/R), 主编郝希山院士, 季刊, 重点报道国内外肿瘤学最新科研成果和临床诊治进展。

期刊高度重视投稿的创新性与科学性, 目前使用国际主流投审稿平台 Editorial Manager 进行稿件处理, 邀请国内外优秀专家学者进行高质量的同行评议, 每期内容以电子期刊发布于 www.metapress.com 平台, 采用开放存取 (Open Access, OA) 出版模式, 目前不收取发表费用, 欢迎关注与投稿。

网站: www.cancerbiomed.org

投稿网址: http://www.editorialmanager.com/cocr

E-mail: editor@cancerbiomed.org

电话: 022-23522919