

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.12.007  
文章编号: 1005-8982 (2021) 12-0035-05

实验研究·论著

## 超声结合 *BRAFV600E* 基因突变检测在桥本 甲状腺炎合并甲状腺结节鉴别中的应用价值\*

吴立旋<sup>1</sup>, 傅继勇<sup>1</sup>, 马伟琼<sup>2</sup>, 吴聪<sup>1</sup>, 刘磊<sup>1</sup>, 王晓龙<sup>1</sup>, 甘天育<sup>1</sup>, 李德祥<sup>1</sup>

(惠州市中心人民医院 1. 甲状腺外科, 2. 放射科, 广东 惠州 516001)

**摘要:** **目的** 采用超声、*BRAFV600E* 基因突变检测桥本甲状腺炎合并甲状腺结节, 探讨两者联合检测对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断价值。**方法** 选取2017年9月—2019年10月在惠州市中心人民医院就诊的桥本甲状腺炎合并甲状腺结节患者329例为研究对象, 根据病理确诊甲状腺结节良恶性分为恶性组(177例)和良性组(152例)。采用超声、*BRAFV600E* 基因突变检测桥本甲状腺炎合并甲状腺结节情况, 并分析超声、*BRAFV600E* 基因突变及两者联合检测对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断价值。**结果** 金标准、超声、*BRAFV600E* 基因突变诊断甲状腺炎合并甲状腺结节恶性分别为177例、167例、163例, 良性分别为152例、162例、166例。超声、*BRAFV600E* 基因突变、两者联合检测桥本甲状腺炎合并甲状腺结节恶性的敏感性分别为72.31%、65.54%和85.31%, 特异性分别为74.34%、69.08%和71.71%, 准确度分别为73.25%、67.17%和79.03%。与超声比较, 两者联合诊断敏感性较高( $P < 0.0125$ ), *BRAFV600E* 基因突变诊断准确度较低( $P < 0.0125$ ); 与*BRAFV600E* 基因突变比较, 两者联合诊断敏感性、准确度较高( $P < 0.0125$ )。**结论** 超声、*BRAFV600E* 基因突变均对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性具有一定诊断价值, 单两者联合优于单独诊断。

**关键词:** 桥本甲状腺炎; 甲状腺结节; 超声; *BRAFV600E* 基因突变; 诊断

**中图分类号:** R581

**文献标识码:** A

## The value of ultrasound scan combined with *BRAFV600E* gene mutation analysis in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules in Hashimoto's thyroiditis\*

Li-xuan Wu<sup>1</sup>, Ji-yong Fu<sup>1</sup>, Wei-qiong Ma<sup>2</sup>, Cong Wu<sup>1</sup>, Lei Liu<sup>1</sup>,

Xiao-long Wang<sup>1</sup>, Tian-yu Gan<sup>1</sup>, De-xiang Li<sup>1</sup>

(1. Department of Thyroid Surgery, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou, Guangdong 516001, China; 2. Department of Radiology, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou, Guangdong 516001, China)

**Abstract: Objective** To study the value of the combination of ultrasound scan and *BRAFV600E* gene detection in differentially diagnosing benign and malignant thyroid nodules in Hashimoto's thyroiditis. **Methods** From September 2017 to October 2019, the 329 patients with Hashimoto's thyroiditis and thyroid nodules were enrolled and divided into malignant group ( $n = 177$ ) and benign group ( $n = 152$ ) according to the pathological diagnosis (gold standard). The values of ultrasound scan or *BRAFV600E* gene detection alone and their combination

收稿日期: 2021-01-08

\* 基金项目: 2019年度广东省医学科研基金立项项目 (No.: B2019201); 惠州市中心人民医院2020年重点扶持项目 (No.: 惠市中心医函《2020》112号)

[通信作者] 李德祥, E-mail: liuqinaiwlx@126.com

in the differential diagnosis of the benign and malignant thyroid nodules in Hashimoto's thyroiditis were analyzed. **Results** There were 177, 167 and 163 cases of Hashimoto's thyroiditis with malignant thyroid nodules, and 152, 162 and 166 cases of Hashimoto's thyroiditis with benign thyroid nodules diagnosed with the gold standard, ultrasound scan and *BRAFV600E* gene mutation analysis, respectively. The diagnostic sensitivity of ultrasound scan, *BRAFV600E* gene mutation analysis and their combination was severally 72.31%, 65.54% and 85.31%, with the specificity being 74.34%, 69.08% and 71.71%, and the accuracy being 73.25%, 67.17% and 79.03%. In comparison with the ultrasound scan alone, the diagnostic sensitivity of ultrasound scan combined with *BRAFV600E* gene mutation analysis was higher ( $P < 0.0125$ ), while that of *BRAFV600E* gene mutation analysis alone was lower ( $P < 0.0125$ ). Compared with *BRAFV600E* gene mutation analysis alone, the diagnostic sensitivity and specificity of ultrasound scan combined with *BRAFV600E* gene mutation analysis were both higher ( $P < 0.0125$ ). **Conclusions** The ultrasound scan, *BRAFV600E* gene mutation analysis and their combination are all of diagnostic value in differentiating benign from malignant thyroid nodules in Hashimoto's thyroiditis, and the combined diagnosis is superior to the diagnosis alone.

**Keywords:** Hashimoto's thyroiditis; thyroid nodules; ultrasound scan; *BRAFV600E* gene mutation; diagnosis

桥本甲状腺炎属慢性复杂疾病, 发病隐匿且难治, 临床症状不明显, 与自身免疫功能关系密切, 可导致甲状腺功能减退; 同时会导致甲状腺实质弥漫性回声改变, 产生结节<sup>[1]</sup>。桥本甲状腺炎合并甲状腺结节相较于单纯的桥本甲状腺炎诊断难度更大, 且患者患甲状腺癌的概率较大<sup>[2]</sup>。因此, 准确地诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的良恶性对于治疗该病具有重要意义。超声诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺结节具有一定价值, 但存在部分漏诊、误诊<sup>[3]</sup>; *BRAFV600E*基因突变是甲状腺乳头状癌的常见形式, 与癌细胞侵袭关系密切, 对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节亦具有一定诊断价值<sup>[4]</sup>。在超声基础上结合 *BRAFV600E*基因突变是否可弥补超声诊断的不足, 从而提高桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的诊断价值, 目前尚不清楚。因此, 本研究通过超声、*BRAFV600E*基因突变检测桥本甲状腺炎合并甲状腺结节, 探讨两者对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断价值, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取2017年9月—2019年10月在惠州市中心人民医院就诊的桥本甲状腺炎合并甲状腺结节患者329例为研究对象。其中, 男性89例, 女性240例; 年龄23~64岁, 平均(43.17±8.63)岁。按手术病理切片甲状腺结节良恶性分恶性组177例, 良性组152例。手术病理结果即为金标准。本研究经医院医学伦理委员会批准, 患者签署知情同意书。

### 1.2 纳入与排除标准

**1.2.1 纳入标准** ①甲状腺结节最大径线≤10 mm; ②所有患者结节无良恶性同时存在现象; ③患者资料完整。

**1.2.2 排除标准** ①接受化疗患者; ②有甲状腺手术史; ③术前抗凝血功能异常患者; ④其他免疫功能缺陷患者。

### 1.3 主要仪器及试剂

切片机(德国Leica公司, 型号:RM2135), 光学显微镜(日本OLYMPUS公司, 型号:BX51), 彩色多普勒超声(日本日立Hivision preirus公司, 型号:F31), SLAN全自动医用实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪(北京美莱博医学科技有限公司, 型号:SLAN-48P)。ADx-ARMS-BRAF基因V600E突变检测试剂盒(厦门艾德生物医药科技有限公司, 货号:ADx-BR01), AmoyDx FFPE DNA Kit(德国Qiagen公司, 货号:180134)

### 1.4 病理检查

所有患者经病理检查确诊, 常规石蜡包埋、切片, 苏木精-伊红染色, 光学显微镜下观察病理状态, 判定良、恶性。

### 1.5 超声检查

患者取仰卧位, 头后仰, 肩下垫枕头, 暴露颈部, 将导声胶(又称超声耦合剂)涂抹于患者皮肤, 采用彩色多普勒超声探头(频率8~12 MHz)检查患者甲状腺左右侧叶、峡部及颈部淋巴结, 记录结节数目、形态、边界、内部回声、有无钙化、

结节内血流情况及淋巴结状况。异常回声信号进行甲状腺动脉血流频谱分析<sup>[5]</sup>,按照 Ti-rads 分级标准<sup>[6]</sup>进行分级,所有患者在 1~6 级,其中 6 级确诊为恶性,4 级和 5 级可能为恶性,1~3 级为良性。对 4 级和 5 级根据临床表现、实验室检查综合分析良、恶性情况。

### 1.6 *BRAFV600E* 基因突变分析

取部分病理组织置于 *ADx-ARMS-BRAF* 基因 *V600E* 突变检测试剂盒的 *BRAFV600E* 基因突变试剂中,用 AmoyDx FFPE DNA Kit 提取总 DNA, qRT-PCR 检测 *BRAFV600E* 基因突变。SLAN 全自动医用 qRT-PCR 仪检测突变信号或内控信号 Ct 值,判定标准:突变信号 Ct<28 为恶性,突变信号 Ct ≥28 为良性。

### 1.7 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计数资料以率(%)表示,用  $\chi^2$  检验,进一步两两比较调整检验水准  $\alpha=0.0125$ 。  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 金标准诊断甲状腺炎合并甲状腺患者结节

329 例桥本甲状腺炎合并甲状腺结节患者中恶性 177 例(恶性组),且均为甲状腺癌;良性 152 例(良性组),其中桥本甲状腺炎自身结节 39 例,结节性甲状腺囊肿 79 例,甲状腺腺瘤 34 例。

### 2.2 超声检查桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节结果

恶性组与良性组患者纵横比  $\geq 1$ 、内部回声弥漫性回声不均、钙化、有血流信号、有淋巴结转移比例比较,经  $\chi^2$  检验,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),恶性组高于良性组(见表 1)。Ti-rads 分级标准:6 级 27 例,4 级和 5 级 245 例,1~3 级 57 例。4 级和 5 级根据临床表现、实验室检查综合分析恶性 140 例,良性 105 例。超声诊断甲状腺炎合并甲状腺患者结节恶性 167 例,良性 162 例。

表 1 两组超声结果的比较 例

组别	n	数量		形态		边界		内部回声弥漫性回声不均		钙化		血流信号		淋巴结转移	
		单发	多发	纵横比 $\geq 1$	纵横比 $< 1$	清晰	不清晰	有	无	有	无	有	无	有	无
恶性组	177	79	98	143	34	89	88	134	43	97	80	118	59	46	131
良性组	152	66	86	78	74	79	73	96	56	47	105	48	104	3	149
$\chi^2$ 值		0.049		32.219		0.094		6.121		18.949		40.274		37.207	
P 值		0.825		0.000		0.760		0.013		0.000		0.000		0.000	

### 2.3 典型病例

患者病理检查证实甲状腺乳头状癌伴甲状腺包膜局部浸润和桥本甲状腺炎。超声表现为实性、弥漫性回声不均、形状不规则、边界不清晰的结节;包膜接触、累及结节内可见巨大钙化伴声影;结节内、外周血流丰富。见图 1。

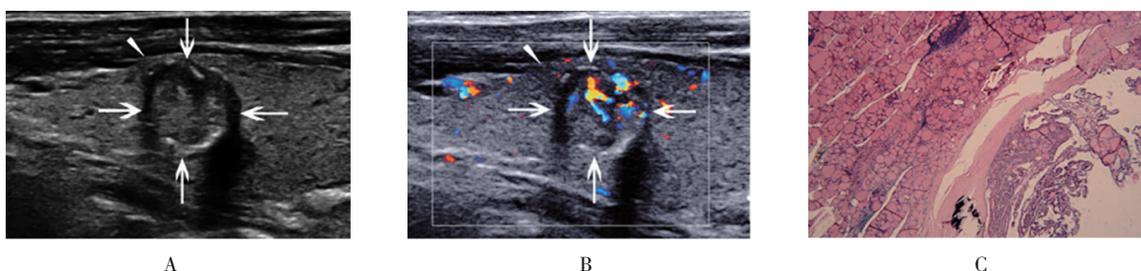
### 2.4 *BRAFV600E* 基因突变检测桥本甲状腺炎合

### 并甲状腺患者结节结果

*BRAFV600E* 基因突变试剂盒检测桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节恶性 163 例,良性 166 例。

### 2.5 超声对桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节的诊断价值

超声诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节



A: 超声图片; B: 彩色多普勒超声; C: 病理切片( $\times 40$ )。箭头示结节,三角形示结节内巨大钙化伴声影。

图 1 甲状腺微小乳头状癌患者

的敏感性为 72.31% (128/177), 特异性为 74.34% (113/152), 准确度为 73.25% (241/329); *BRAFV600E* 基因突变诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节的敏感性为 65.54% (116/177), 特异性为 69.08% (105/152), 准确度为 67.17% (211/329); 两者联合检测桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断敏感性为 85.31% (151/177), 特异性为 71.71% (109/152), 准确度为 79.03% (260/329)。见表 2。

超声、*BRAFV600E* 基因突变、两者联合检测的敏感性、准确度比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 3 种检测方法的特异性比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与超声相比, 两者联合诊断敏感性较高 ( $P < 0.0125$ ), *BRAFV600E* 基因突变诊断准确度较低 ( $P < 0.0125$ ); 与 *BRAFV600E* 基因突变相比, 两者联

表 2 3 种方法诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节的结果比较 例

诊断方法		金标准		合计
		阳性	阴性	
超声	阳性	128	39	167
	阴性	49	113	162
	合计	177	152	329
<i>BRAFV600E</i> 基因突变	阳性	116	47	163
	阴性	61	105	166
	合计	177	152	329
两者联合	阳性	151	43	194
	阴性	26	109	135
	合计	177	152	329

合诊断敏感性、准确度较高 ( $P < 0.0125$ )。见表 3。

表 3 3 种方法对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断价值比较

方法	敏感性/%	95% CI		特异性/%	95% CI		准确度/%	95% CI	
		下限	上限		下限	上限		下限	上限
超声	72.31	0.650	0.786	74.34	0.665	0.809	73.25	0.694	0.827
<i>BRAFV600E</i> 基因突变	65.54	0.580	0.724	69.08	0.610	0.762	67.17 <sup>①</sup>	0.635	0.778
两者联合	85.31 <sup>①②</sup>	0.790	0.900	71.71	0.637	0.786	79.03 <sup>②</sup>	0.729	0.868
$\chi^2$ 值	18.761			1.038			14.748		
<i>P</i> 值	0.000			0.595			0.001		

注: ①与超声比较,  $P < 0.0125$ ; ②与 *BRAFV600E* 基因突变比较,  $P < 0.0125$ 。

### 3 讨论

桥本甲状腺炎除病情发展不明显外, 还影响患者生活质量, 与精神疾病相关, 使患者自杀死亡率、不明原因死亡率提高, 可能影响患者自杀性行为的生理病理机制<sup>[7]</sup>。桥本甲状腺炎本身不宜手术治疗, 手术治疗会导致自身免疫损伤, 进而影响功能, 形成甲状腺功能减退症 (以下简称甲减); 但若合并甲状腺结节, 患者可能存在恶性风险, 恶性甲状腺结节必须手术, 患者手术后导致甲减且必须终身持续服药, 给患者造成较大压力, 但若桥本甲状腺炎合并甲状腺结节病理结果为良性, 可避免手术, 因此可减少过度治疗而引发的不必要纠纷<sup>[8]</sup>。因此, 确诊桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的良恶性对于疾病的治疗意义重大。目前病理切片是桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断方法。本研究收集的 329 例患者中恶性 177 例、良性 152 例, 且类型明确, 对于进一步治疗具有指

导意义; 但该方法花费时间较长, 快速、方便且具有较高诊断价值的方法对于桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的治疗意义重大。

超声作为甲状腺结节诊断的首选方法, Ti-rads 分级标准依据结节形态、边缘、成分、回声及局部强回声分析的不同特点判定甲状腺结节良恶性, 但判定结果不尽一致<sup>[9]</sup>。《成人甲状腺结节与分化型甲状腺癌诊治指南》<sup>[10]</sup>对甲状腺结节超声二维征象进行汇总, 发现超声图像可用于甲状腺癌的检测, 特别是对甲状腺良恶性结节的分割, 对疾病治疗具有重要意义<sup>[11]</sup>。本研究发现, 超声确诊桥本甲状腺炎合并甲状腺结节敏感性、特异性为 72.31% 和 74.34%, 准确度为 73.25%; 提示超声可诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的良恶性, 具有一定临床意义。但可能受甲状腺结节分级 4 级和 5 级临床表现、实验室检查中人为分析的差异, 导致超声诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的良恶性价值受到影响。

*BRAFV600E* 基因突变是一种常见的关键异常,与多种癌症类型密切相关,是液体活检中最有价值的致癌生物标志物之一<sup>[12]</sup>。甲状腺结节诊断中,采用细针穿刺细胞学检查、*BRAFV600E* 基因突变基因单独检测的敏感性、特异性、准确性均明显低于两者联合诊断。*BRAFV600E* 基因突变可协助细针穿刺细胞学检测细胞形态学不典型、取样量不足,弥补细针穿刺细胞学的不足,对于甲状腺结节良恶性鉴别具有重大意义<sup>[13]</sup>。本研究发现,*BRAFV600E* 基因突变试剂盒检测桥本甲状腺炎合并甲状腺患者结节敏感性为 65.54%,特异性为 69.08%,准确度为 67.17%,提示 *BRAFV600E* 基因突变诊断桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的良恶性具有一定临床意义。超声可对甲状腺恶性结节进行精准分层,分为高度和中度风险,超声对高度风险诊断价值较高,但对中度风险诊断准确性差,联合 *BRAFV600E* 基因突变检测后不仅可提高中度风险的准确率,还有助于判定甲状腺乳头状癌的转移、预后情况<sup>[14-15]</sup>。本研究发现,超声、*BRAFV600E* 基因突变、两者联合检测的特异性无差异,特异性可以准确分析不患病能力。与超声诊断相比,两者联合诊断敏感性较高;与 *BRAFV600E* 基因突变相比,两者联合诊断敏感性、准确度较高。提示在不降低特异性的情况下,两者联合诊断可提高患者良恶性诊断的敏感性、特异性,临床上可在超声基础上联合 *BRAFV600E* 基因突变,提高桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断效果,从而判定是否需要手术。

综上所述,超声联合 *BRAFV600E* 基因突变可提高桥本甲状腺炎合并甲状腺结节良恶性的诊断价值,在时间、经济允许条件下,超声诊断后 *BRAFV600E* 基因突变检测可提高诊断敏感性、准确度,对临床具有一定意义。

#### 参 考 文 献 :

- [1] LIU S M, AN Y X, CAO B, et al. The composition of gut microbiota in patients bearing hashimoto's thyroiditis with euthyroidism and hypothyroidism[J]. *Int J Endocrinol*, 2020, 2020(78): 1-9.
- [2] WANG D, DU L Y, SUN J W, et al. Evaluation of thyroid nodules with coexistent Hashimoto's thyroiditis according to various ultrasound-based risk stratification systems: a retrospective research[J]. *Eur J Radiol*, 2020, 131(10): 109059-109068.
- [3] ZIRILLI G, SALZANO G, CORICA D, et al. Thyrotropin serum levels and coexistence with Hashimoto's thyroiditis as predictors of malignancy in children with thyroid nodules[J]. *Ital J Pediatr*, 2019, 45(1): 96-105.
- [4] LUDOVICO M G. Effect of sentinel node biopsy in clinically N0, BRAF V600E-mutated, small papillary thyroid carcinoma: a pilot study[J]. *Clin Nucl Med*, 2019, 44(5): 359-364.
- [5] 孙盛楠. 超声造影对桥本甲状腺炎合并甲状腺结节的诊断价值分析[J]. *中国医疗器械信息*, 2019, 6586(10): 143-145.
- [6] CHENG S P, LEE J J, LIN J L, et al. Characterization of thyroid nodules using the proposed thyroid imaging reporting and data system (TI-RADS)[J]. *Head Neck*, 2013, 35(4): 541-547.
- [7] THOMAS H B, CHARLOTTE F S, MARIANNE T, et al. Death by unnatural causes, mainly suicide, is increased in patients with Hashimoto's thyroiditis. a nationwide danish register study[J]. *Endocrine*, 2019, 65(7 Suppl): 55-62.
- [8] BRUNS N, FINKELBERG I, ATTRACH I A, et al. Unusual presentation of polyautoimmunity and renal tubular acidosis in an adolescent with hashimoto's thyroiditis and central pontine myelinolysis[J]. *Front Endocrinol*, 2020, 56(5): 11-23.
- [9] WEI P Y, JIANG N D, XIANG J J, et al. Hounsfield unit values in ACR TI-RADS 4-5 thyroid nodules with coarse calcifications: an important imaging feature helpful for diagnosis[J]. *Cancer Manage Res*, 2020, 12(7): 2711-2717.
- [10] 张波, 徐景竹, 吴琼. 2015年美国甲状腺学会《成人甲状腺结节与分化型甲状腺癌诊治指南》解读: 超声部分[J]. *中国癌症杂志*, 2016, 26(1): 19-23.
- [11] LIU K, GAO M, QIN D D, et al. Serous BMP8A has clinical significance in the ultrasonic diagnosis of thyroid cancer and promotes thyroid cancer cell progression[J]. *Endocrine*, 2020, 20(4): 591-598.
- [12] SHUVASHIS D, KEVIN M, WANG Z R, et al. An integrated multi-molecular sensor for simultaneous *BRAFV600E* protein and DNA single point mutation detection in circulating tumour cells[J]. *Lab on a Chip*, 2019, 19(5): 738-748.
- [13] LI X B, DU H, LUO J Y, et al. Comparison of the clinical validity of droplet digital PCR to ARMSccCR for *BRAFV600E* mutation detection in thyroid nodules[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(11): 95-106.
- [14] CHODEN S, KEELAWAT S, JUNG C K, et al. VE1 immunohistochemistry improves the limit of genotyping for detecting *BRAFV600E* mutation in papillary thyroid cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(3): 596-613.
- [15] 罗文政, 周何强, 徐华. 多功能保留颈清扫术与改良式颈清扫术治疗分化型甲状腺癌的对比研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29(11): 104-107.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 吴立旋, 傅继勇, 马伟琼, 等. 超声结合 *BRAFV600E* 基因突变检测在桥本甲状腺炎合并甲状腺结节鉴别中的应用价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(12): 35-39.

Cite this article as: WU L X, FU J Y, MA W Q, et al. The value of ultrasound scan combined with *BRAFV600E* gene mutation analysis in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules in Hashimoto's thyroiditis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(12): 35-39.