

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20210421.002

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20210421.1653.004.html>

BRAF基因突变在甲状腺乳头状癌中的研究进展

张旭旭¹, 马苏美^{1,2}✉

(1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院超声科, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 甲状腺癌是最常见的内分泌系统肿瘤。通过超声引导下细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)可鉴别大部分甲状腺结节的良恶性。但由于细胞学检测的局限性,部分甲状腺结节难以鉴别其良恶性。*BRAF*基因突变是常见的人类致癌突变,也是甲状腺乳头状癌中突变频率最高的一种。通过FNA与*BRAF*基因检测相结合,可显著提高甲状腺结节良恶性的诊断率,有利于弥补细胞学单一诊断的不足。此外,虽然甲状腺癌的发病率在世界范围内均在快速增长,但其死亡率却保持稳定。甲状腺癌的过度诊断与过度治疗的问题日益显现。然而,由于目前对*BRAF*基因研究的局限性,其对甲状腺乳头状癌预后价值尚存在争议。因此,为了降低过度诊治过患者的不利影响,未来对基因和肿瘤生物学行为的关系还需进一步研究。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;肿瘤侵袭性;原癌基因蛋白*BRAF*;端粒酶逆转录酶

[中图分类号] R736.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2022)17-1356-05

Advances in *BRAF* gene mutations in papillary thyroid carcinoma

ZHANG Xu-xu¹, MA Su-mei^{1,2}✉

(1. The First Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Ultrasound, The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

[Foundation Project]: It was supported by Lanzhou Science and Technology Plan Project (2018-3-58)

[Author]: ZHANG Xu-xu, Resident Physician, E-mail: zhangxx9100@163.com.

[Correspondence to]: MA Su-mei, Chief Physician, E-mail: lzmsm6711@163.com.

Received: 2021-02-15

Revised: 2021-04-18

JHMu, 2022;28(17):1356-1360

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] Thyroid cancer is the most common endocrine system tumor. Ultrasound guided fine needle puncture (FNA) can identify benign and malignant thyroid nodules. However, due to the limitation of cytological detection, some thyroid nodules are difficult to distinguish benign and malignant. *BRAF* gene mutation is a common human oncogenic mutation and the highest mutation frequency in papillary thyroid carcinoma. The combination of FNA and *BRAF* gene detection can significantly improve the diagnostic rate of benign and malignant thyroid nodules and make up for the deficiency of single diagnosis of cytology. Moreover, while the incidence of thyroid cancer is growing rapidly worldwide, its mortality remains stable. The problem of overdiagnosis and overtreatment of thyroid cancer is becoming more and more obvious. However, due to the limitations of current studies on *BRAF* genes, its prognostic value for papillary thyroid carcinoma remains controversial. Therefore, in order to reduce the adverse effects of overdiagnosis and treatment, the relationship between gene and tumor biological behavior needs further study in the future.

[KEYWORDS] Papillary thyroid carcinoma; Neoplasm invasiveness; Proto-oncogene proteins *BRAF*; Telomerase reverse transcriptase

甲状腺癌是最常见的内分泌系统肿瘤^[1],约占所有内分泌肿瘤的95%。甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)是最常见的甲状腺癌类

型,其发病率在世界范围内均在增长^[2]。主要是由于各种辅助诊断技术尤其是高频超声的临床应用,以及人们健康意识的提高使得PTC检出率明显上

[基金项目] 兰州市科技计划项目(2018-3-58)

[作者简介] 张旭旭,住院医师, E-mail: zhangxx9100@163.com。

[通讯作者] 马苏美,主任医师, E-mail: lzmsm6711@163.com。

[收稿日期] 2021-02-15

[修回日期] 2021-04-18

网络出版时间: 2021-04-21 17:19:13

升。借助超声检查的影像学征象可对甲状腺结节进行危险分级,从而有利于临床管理。随着临床对鉴别甲状腺结节良恶性需求的提高,仅仅通过分级管理不能很好地满足临床需求。细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)是术前鉴别甲状腺结节良恶性的最常用工具。甲状腺细胞病理学 Bethesda 报告系统是配合 FNA 的规范解读^[3]。由于细胞学检测的局限性,约 1/3 的甲状腺结节不能确定其良恶性^[4],因此需要借助其他方法辅助鉴别其良恶性。*BRAF* 基因突变是 PTC 中突变率较高的一种突变,通过 *BRAF* 突变检测联合 FNA 可提高 PTC 的诊断率^[5]。然而,*BRAF* 基因突变预测预后的价值尚存在一定的争议。本文就目前 *BRAF* 基因突变在 PTC 中的研究进展进行综述。

1 *BRAF* 基因突变的一般特征

BRAF 突变是 Davies 及其同事于 2002 年在恶性黑色素瘤中首次被发现^[6],随后在甲状腺癌中也发现此突变并被广泛研究。*BRAF* 基因是原癌基因,该原癌基因编码丝氨酸/苏氨酸激酶 BRAF,属于 RAF 蛋白激酶家族的一种,是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号级联的细胞内效应物,有助于将信号从细胞外传递到细胞核。这种信号转导通路称为 MAPK 通路,对生长和细胞增殖、分化、细胞运动和凋亡具有重要意义^[7],是与人类肿瘤相关的最重要的致癌信号通路之一。*BRAF* V600E 突变是甲状腺癌最常见的突变位点,其突变后导致所表达蛋白质中第 600 位的缬氨酸(V)转换为谷氨酸(E)。*BRAF* V600E 突变与 PTC 密切相关,其在甲状腺癌中突变率差异较大。以往的研究表明,在甲状腺癌中 *BRAF*V600E 的突变率从 29% 到 83% 不等^[8],与西方国家相比,亚洲国家似乎具有更高的突变率^[9,10],这可能与碘摄入量的差异^[11]、人种等因素相关。

2 *BRAF* 基因突变的检测方法

检测 *BRAF* 状态的金标准是通过桑格测序或二代基因测序对组织直接进行突变检测。虽然直接测序准确、直观,但是价格较高、操作繁琐、费时费力,不利于在临床推广。此外,还有基于 *BRAF* 基因表达蛋白产物的免疫组化法和基于聚合酶链式反应的(polymerase chain reaction, PCR)间接检测方法。有研究纳入 72 例术后福尔马林固定石蜡包埋的标本,通过抗 *BRAF*V600E 抗体的免疫组化方法和桑格测序评估突变状态的价值表明,免疫组化法是种高敏感性、高特异性和准确性的方法,在常规病理学实验室有较高的应用价值^[12]。不过,在

术前 FNA 穿刺标本中,与基因测序的方法相比,在细胞涂片上直接应用免疫组化的方法时有较高假阳性的风险^[13]。Kim 等^[14]通过实时 PCR 的方式检测 *BRAF* 突变与二代测序相比较,结果发现实时 PCR 检测 *BRAF* V600E 突变与二代基因测序有着相似的诊断敏感性和特异性,并且实时 PCR 的检测方法更为方便快捷,而且需要模板 DNA 的浓度也较直接测序更低。因此,通过 PCR 检测 *BRAF* V600E 突变对临床具有较高的应用价值。

3 *BRAF* 基因突变与 PTC 侵袭性的关系

由于甲状腺癌的过度诊治问题日益突出,通过寻找有关侵袭性的危险因素预测 PTC 患者的预后仍在积极探索。找到一种或几种生物标志物来特异性识别恶性肿瘤对临床具有十分重要的意义。在甲状腺癌中,目前最有前途也最有争议的生物标志物之一是 *BRAF*V600E 基因突变。由于 *BRAF*V600E 突变具有较高的特异性(99%)和较高的阳性预测值^[15],通过联合评价甲状腺结节 *BRAF*V600E 突变状态,有助于提高 PTC 诊断率,减少不必要的诊断性手术^[5,16]。然而,目前通过检测 *BRAF* V600E 基因突变鉴别 PTC 侵袭性病理特征尚存在一定争议。一些研究表明,*BRAF* V600E 基因突变与 PTC 的甲状腺外侵犯病理特征、淋巴结转移、局部复发等相关^[8,17-19],是 PTC 不良预后的独立危险因素。此外,Wang 等^[20]在一项多中心回顾性研究中表明,在存在 *BRAF* V600E 基因突变的患者中,男性是 PTC 不良临床预后的独立危险因素。然而,这些发现却没能不同国家的研究中被重复验证^[21-23]。*BRAF* 突变确定与 PTC 具有一定的相关性,但是据此说明其在淋巴结转移、局部复发等中有较高的临床应用价值可能会存在一定误差,根据 *BRAF*V600E 突变状态制定手术方法是否能够改善临床预后还有待进一步验证。

4 *BRAF* 和 *TERT* 基因突变共存与 PTC 侵袭性的关系

由于单独 *BRAF* 基因突变检测可能存在的局限性,肿瘤的发生也是多基因参与的过程。因此,有研究希望联合 PTC 相关的其他突变,共同预测 PTC 患者的预后。端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)启动子突变与甲状腺癌的相关性已被证实^[24]。TERT 是端粒酶的催化蛋白亚基,它有着维持染色体的完整性和基因组稳定性的功能^[25]。端粒酶在生殖细胞和干细胞中有较好表达,而在体细胞中被抑制。当发生 *TERT* 突变时,可使细胞获得无限增殖的潜力而导致癌症的发

生^[26]。Lee等^[27]的研究结果表明与TERT启动子和BRAF V600E两种突变均为阴性的组相比,两种突变同时存在的情况与老年和更晚的肿瘤分期显著相关。Trybek等^[28]通过对568名PTC患者的严格监测,发现BRAF V600E和TERT突变共存的PTC患者与较差的预后和临床病程相关,并且可能有助于预测较差的治疗反应、复发和较差的预后。因此,BRAFV600E和TERT启动子突变可以增强PTC侵袭性的作用机制被研究。其中一种猜想是与BRAF突变诱导上调几种ETS转录因子,TERT启动子突变可能通过创建ETS结合位点并增加TERT表达启动癌变有关。BRAF V600E突变激活的分子通路通过TERT启动子突变或TERT表达进一步增强。通过这种两种突变同时存在的协同作用增强了癌结节的侵袭性^[29]。还有一种猜想是BRAF V600E/MAP激酶通路磷酸化并激活FOS,FOS作为转录因子与GABPB启动子结合使GABPB表达增加,驱动GABPA-GABPB复合物形成,后者选择性结合并激活突变TERT启动子,上调TERT表达。升高的TERT作为一种肿瘤蛋白,有力地促进了癌细胞的侵袭行为和肿瘤的发展^[30]。两种猜想均与协同作用相关,最终导致TERT表达增加。就目前研究现状分析,同时检测到BRAF V600E和TERT启动子突变预示着较差的临床预后,有助于更好地对甲状腺癌患者进行治疗。除TERT启动子突变外,BRAF突变联合PIK3CA突变、TP53突变、AKT1突变亦与PTC的侵袭性行为相关^[15,31]。Colombo等^[32]通过对208例PTC患者同时检测19种常见的基因改变,通过基因组背景分析表明,精确地进行甲状腺结节的危险分层不能依赖单一基因的改变,突变密度和遗传异质性对临床特征和疾病结果也有着很大影响。Lee等^[33]通过选定的高复发风险PTC患者进行多种基因检测,同样发现大多数患者有一个以上的遗传变异。

然而,来自日本库玛医院的数据显示,因PTMC发生进展而放弃主动监测病例转化手术的病例中,BRAF基因突变在稳定疾病组(61%)、肿瘤增大组(70%)和淋巴结转移组(80%)之间没有显著差异。这些出现进展的病例中没有1例呈TERT启动子基因突变阳性^[34]。似乎出现进展的PTMC并不会同时存在BRAF突变和TERT突变。不过这可以用最新提出的自限性癌症的概念解释。自限性癌症是日本教授基于以下3点而提出的甲状腺癌自然史的概念^[35],并且认为自限性癌症是真正恶性的,但不会发展为致命的癌症。第一,多项研究表

明预防性切除PTMC不会改变死亡率。第二,因PTMC也具有增殖和转移的能力,但不会因此而发展成为致死性癌症。第三,乳头状癌在年轻人中的高发病率提示甲状腺癌的最初发病可能发生在婴儿期。根据自限性癌症的概念,这些出现进展的病例可能还是自限性甲状腺癌,而不是致死性的甲状腺癌。目前研究认为肿瘤的发生是多因素作用,多基因参与并经多阶段发展共同作用的结果,而基因的表达亦是表达产物在细胞内或细胞间相互作用的过程。而BRAF和TERT基因突变共存可能是发展为致死性甲状腺癌的一个开关。目前研究所以对BRAFV600E评价PTC患者预后的价值存在争议,可能与除BRAFV600E之外的基因变异未被检测有关。再者,BRAF在PTC中的突变率约为29%~83%^[8],而PTC术后的患者20年生存率可达99%^[36]。这种差异也证明单独BRAF基因突变不太可能是预测PTC不良预后的预测因素。因此,仅通过BRAF一种基因突变来预测PTC具有侵袭性特征并不可靠。

综上所述,甲状腺结节的BRAF突变基因检测可用于辅助提升甲状腺恶性结节的诊断。然而,BRAF V600E突变在评价PTC侵袭性的价值上尚有一定争议,这可能与潜在的基因变异未被检测有关。因此,为了降低过度诊治对患者的不利影响,和推动精准医疗和个体化治疗的发展,未来还需要更深入的研究,使患者更多地受益。

作者贡献度说明:

张旭旭:课题实验研究的执行人,收集课题病例资料,完成数据分析及论文初稿的写作;马苏美:项目的构思者及负责人,指导实验设计、数据分析、论文写作与修改。两位作者都阅读并同意最终的文本。

参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA: CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- 2 Li M, Maso LD, Vaccarella S. Global trends in thyroid cancer incidence and the impact of overdiagnosis[J]. Lancet Diabet Endocrinol, 2020, 8(6): 468-470.
- 3 Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology[J]. Thyroid, 2017, 27(11): 1341-1346.
- 4 Davies L, Randolph G. Evidence-based evaluation of the thyroid nodule[J]. Otolaryngol Clin North Am, 2014, 47(4): 461-474.
- 5 Beisa A, Kvietkauskas M, Beisa V, et al. Significance of BRAF V600E mutation and cytomorphological fea-

- tures for the optimization of papillary thyroid cancer diagnostics in cytologically indeterminate thyroid nodules[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2019, 127(4): 247-254.
- 6 Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer [J]. *Nature*, 2002, 417(27): 949-954.
- 7 Nikiforov YE. Thyroid carcinoma: Molecular pathways and therapeutic targets [J]. *Modern Pathol*, 2008, 21(S2): S37-S43.
- 8 Song JY, Sun SR, Dong F, et al. Predictive value of BRAF (V600E) mutation for lymph node metastasis in papillary thyroid cancer: A meta-analysis [J]. *Curr Med Sci*, 2018, 38(5): 785-797.
- 9 Dong SY, Chen J, Xia EJ, et al. Clinical analysis of BRAF (V600E) mutation and its correlation with sonographic image characteristics in papillary thyroid carcinoma in Chinese coastal areas [J]. *Am Surg*, 2020, 86(5): 450-457.
- 10 Lee SE, Hwang TS, Choi YL, et al. Molecular profiling of papillary thyroid carcinoma in Korea with a high prevalence of BRAF (V600E) mutation [J]. *Thyroid*, 2017, 27(6): 802-810.
- 11 Kim HJ, Park HK, Byun DW, et al. Iodine intake as a risk factor for BRAF mutations in papillary thyroid cancer patients from an iodine-replete area [J]. *Eur J Nutr*, 2018, 57(2): 809-815.
- 12 Rashid FA, Tabassum S, Khan MS, et al. VE1 immunohistochemistry is an adjunct tool for detection of BRAF (V600E) mutation: Validation in thyroid cancer patients [J]. *J Clin Lab Anal* 2021, 35(2): e23628.
- 13 Smith AL, Williams MD, Stewart J, et al. Utility of the BRAF p.V600E immunoperoxidase stain in FNA direct smears and cell block preparations from patients with thyroid carcinoma [J]. *Cancer Cytopathol*, 2018, 126(6): 406-413.
- 14 Kim WY, Kim H, Hwang TS, et al. Comparison between real-time PCR and pyrosequencing for detection of BRAF V600E mutation in thyroid fine-needle aspirates [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2017, 25(5): 358-365.
- 15 Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, 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): 1-133.
- 16 Yin L, Tang Y, Yu S, et al. The role of BRAF V600E in reducing AUS/FLUS diagnosis in thyroid fine needle aspiration [J]. *Endocr Pathol*, 2019, 30(4): 312-317.
- 17 Martinez JRW, Vargas-Salas S, Gamboa SU, et al. The combination of RET, BRAF and demographic data identifies subsets of patients with aggressive papillary thyroid cancer [J]. *Horm Cancer*, 2019, 10(2-3): 97-106.
- 18 Ali KM, Awany S, Ibrahim DA, et al. Role of P53, E-cadherin and BRAF as predictors of regional nodal recurrence for papillary thyroid cancer [J]. *Ann Diagn Pathol*, 2019, 40: 59-65.
- 19 Xing M, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between BRAF V600E mutation and mortality in patients with papillary thyroid cancer [J]. *JAMA*, 2013, 309(14): 1493-1501.
- 20 Wang F, Zhao S, Shen X, et al. BRAF V600E confers male sex disease-specific mortality risk in patients with papillary thyroid cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(27): 2787-2795.
- 21 Kure S, Ishino K, Kudo M, et al. Incidence of BRAF V600E mutation in patients with papillary thyroid carcinoma: A single-institution experience [J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(11): 5560-5572.
- 22 Damiani L, Lupo S, Rossi R, et al. Evaluation of the role of BRAFV600E somatic mutation on papillary thyroid cancer disease persistence: A prospective study [J]. *Eur Thyroid J*, 2018, 7(5): 251-257.
- 23 王晶, 刘龙腾, 崔娣, 等. BRAF V600E突变与甲状腺乳头状癌发生及预后相关因素分析 [J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(4): 288-292.
- 24 Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23(3): R143-155.
- 25 Blasco MA. Telomeres and human disease: Ageing, cancer and beyond [J]. *Nature Rev Genet*, 2005, 6(8): 611-622.
- 26 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- 27 Lee SE, Hwang TS, Choi YL, et al. Prognostic significance of TERT promoter mutations in papillary thyroid carcinomas in a BRAF (V600E) mutation-prevalent population [J]. *Thyroid*, 2016, 26(7): 901-910.
- 28 Trybek T, Walczyk A, Gasior-Perczak D, et al. Impact of BRAF V600E and TERT promoter mutations on response to therapy in papillary thyroid cancer [J]. *Endocrinology*, 2019, 160(10): 2328-2338.
- 29 Song YS, Yoo SK, Kim HH, et al. Interaction of BRAF-induced ETS factors with mutant TERT promoter in papillary thyroid cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(6): 629-641.
- 30 Liu R, Zhang T, Zhu G, et al. Regulation of mutant

TERT by BRAF V600E/MAP kinase pathway through FOS/GABP in human cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 579.

31 Landa I, Knauf JA. Mouse models as a tool for understanding progression in BRAF (V600E)-driven thyroid cancers[J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2019, 34(1): 11-22.

32 Colombo C, Muzza M, Proverbio MC, et al. Impact of mutation density and heterogeneity on papillary thyroid cancer clinical features and remission probability [J]. *Thyroid*, 2019, 29(2): 237-251.

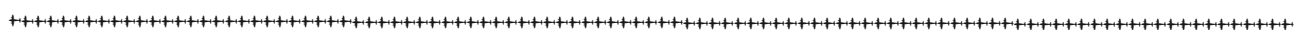
33 Lee MY, Ku BM, Kim HS, et al. Genetic alterations and their clinical implications in high-recurrence risk papillary thyroid cancer [J]. *Cancer Res Treat*, 2017, 49(4): 906-914.

34 Yabuta T, Matsuse M, Hirokawa M, et al. TERT promoter mutations were not found in papillary thyroid microcarcinomas that showed disease progression on active surveillance[J]. *Thyroid*, 2017, 27(9), 1206-1207.

35 Takano T. Natural history of thyroid cancer[J]. *Endocr J*, 2017, 64(3): 237-244.

36 Kakudo K, Tang W, Ito Y, et al. Papillary carcinoma of the thyroid in Japan: Subclassification of common type and identification of low risk group [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(10): 1041-1046.

[本文编辑] 潘 茵



(上接第 1355 页)

40 Chen X, Mao M, Shen Y, et al. lncRNA TUG1 regulates human pulmonary microvascular endothelial cell apoptosis *via* sponging of the miR-9a-5p/BCL2L11 axis in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(2):906.

41 Zhang Y, Jia S, Gao T, et al. Dexmedetomidine mitigate acute lung injury by inhibiting IL-17-induced inflammatory reaction [J]. *Immunobiology*, 2018, 223 (1) : 32-37.

42 Du XH, Li SS, Xiong GS, et al. Therapeutic efficacy of dexmedetomidine on chronic obstructive pulmonary disease *via* downregulating lncRNA PACER [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(24):12963-12970.

43 Xia H, Xue J, Xu H, et al. Andrographolide antagonizes the cigarette smoke-induced epithelial-mesenchymal transition and pulmonary dysfunction through anti-inflammatory inhibiting HOTAIR [J]. *Toxicology*, 2019, 422: 84-94.

44 Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: Asystematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 394(10204):1145-1158.

[本文编辑] 邹 洲 宋睿璞 朱 昊