$BRAF^{V600E}$ 突变与儿童甲状腺乳头状癌临床病理特征间的关系

耿江桥^{1,2}, 王焕民³, 郭永丽⁴, 刘原虎⁴, 邵隽¹, 金雅琼⁴, 王生才¹, 宋英鸾², 伏利兵⁵, 张杰^{1*}, 倪鑫^{1,4*}

1. 国家儿童医学中心, 首都医科大学附属北京儿童医院耳鼻咽喉头颈外科, 北京 100045;
2. 河北省儿童医院耳鼻咽喉科, 石家庄 050031;
3. 国家儿童医学中心, 首都医科大学附属北京儿童医院肿瘤外科, 北京 100045;
4. 首都医科大学附属北京儿童医院北京市儿科研究所耳鼻咽喉头颈外科小儿疾病重点实验室, 北京 100045;
5. 国家儿童医学中心, 首都医科大学附属北京儿童医院病理科, 北京 100045

* 联系人, E-mail: stzhangj@163.com; nixin@bch.com.cn

收稿日期: 2018-06-05; 接受日期: 2018-07-23; 网络版发表日期: 2018-09-05

北京市医院管理局临床医学发展专项(批准号: ZYLX201508)、北京市科技计划课题(批准号: D131100005313014)、北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划(批准号: 20153079)、2017年河北省政府资助临床医学优秀人才培养和基础课题研究项目和河北省医学科学研究重点课题(批准号: 20170395)资助

摘要 在成人甲状腺乳头状癌(PTC)中, $BRAF^{V600E}$ 突变已被证明与高侵袭性和患者的不良预后差密切相关。相比之下, 在儿童PTC中该突变的研究非常有限且其出现比例在0%~63%。此外, 在儿童PTC的 $BRAF^{V600E}$ 突变的作用也存在明显的争议。本研究旨在探讨48例儿童(3~13岁) PTC中, $BRAF^{V600E}$ 突变的存在比例和作用。这些儿童PTC患者中, 包括41例经典型PTC, 5例滤泡型PTC, 2例弥漫性硬化型PTC。所有患儿中, 35.4%出现 $BRAF^{V600E}$ 突变, 在经典型PTC中41.5%出现 $BRAF^{V600E}$ 突变。进一步分析显示, $BRAF^{V600E}$ 突变的存在与患儿<10岁($P=0.011$)、手术方式($P=0.03$)、肿瘤多灶性($P=0.02$)和/或甲状腺外浸润($P=0.003$)、低MACIS评分(转移、年龄、甲状腺全切、侵袭、肿瘤大小) ($P=0.036$)和AMES评分(年龄、转移、肿瘤范围、大小) ($P=0.001$)相关。总之, 该研究表明, $BRAF^{V600E}$ 突变的存在可能与儿童PTC的部分高侵袭性临床病理特征呈负相关。

关键词 儿童甲状腺乳头状癌, $BRAF^{V600E}$ 突变, 临床病理特征

甲状腺癌(thyroid carcinoma, TC)是最常见的内分泌恶性肿瘤, 其发病率在男性和女性中均呈现迅速增加趋势。事实上, 在美国每年大约有62450个新增TC, 在中国每年大约有90000个新增TC患者^[1,2]。近期研究显示, 儿童TC发病率也呈上升趋势^[3]。1973~2004年,

通过监测、流行病学和最终结果的记录数据, SEER注册表程序显示儿童<5岁, 5~9岁甲状腺肿瘤的发病率和10~14岁为0.01, 0.09和0.44例每100000人^[4,5]。

甲状腺癌包括来自于滤泡细胞的分化型甲状腺癌和来自于滤泡旁细胞的非分化型甲状腺癌。滤泡旁细

引用格式: 耿江桥, 王焕民, 郭永丽, 等. $BRAF^{V600E}$ 突变与儿童甲状腺乳头状癌临床病理特征间的关系. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 943-952, doi: 10.1360/N052018-00099

英文版见: Geng J Q, Wang H M, Liu Y L, et al. Correlation between $BRAF^{V600E}$ mutation and clinicopathological features in pediatric papillary thyroid carcinoma. Sci China Life Sci 2017, 60: 729-738, <https://doi.org/10.1007/s11427-017-9083-8>

胞产生降钙素而且是甲状腺髓样癌的来源细胞。乳头状甲状腺癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)和滤泡状甲状腺癌(follicular thyroid carcinoma, FTC)均为分化型甲状腺癌,在成人二者占甲状腺恶性肿瘤的90%以上^[6]。值得注意的是,儿童和成人TC有显著差异。例如,PTC在儿童中较成人更常见,分别占儿童和成人所有TC病例的95%和80%。相比之下,滤泡状TC、未分化TC和与嗜酸细胞性TC很少发生于儿童^[7,8]。此外,儿童PTC的生物学行为和临床病理特点与成人也有明显不同^[7],在就诊时,儿童PTC通常会比成人处于更晚期阶段,因而需要更激进的处理。然而,儿童PTC预后往往较成人更好^[8,9]。

目前,儿童和成人TC之间的差异还没有得到很好的认识^[6,10];然而,在成人不同的肿瘤分子标志物已被建议作为潜在的工具来识别侵袭性强的PTC,从而提高成人PTC临床危险分层。对于大多数患者而言,PTC的常见突变包括*BRAF*^{V600E}突变,RET/PTC重排和RAS突变^[6,11,12]。其中,*BRAF*^{V600E}突变是最常见的PTC基因改变,该突变导致基因序列中第1799位碱基的胸腺嘧啶(T)转变为腺嘌呤(A),结果在氨基酸水平*BRAF*的第15号外显子的第600位密码子由谷氨酸取代缬氨酸,引起MAPK信号通路的持续活化,造成细胞异常增殖和肿瘤生成^[13-15]。在成人PTC,*BRAF*^{V600E}突变已被证明具有更高的侵袭性且预示着患者预后较差^[16-18]。此外,最近的一项包括32项研究的荟萃分析显示,在成人PTC,*BRAF*^{V600E}突变与淋巴转移、腺体外浸润、肿瘤多灶性、肿瘤晚期、肿瘤体积增加、男性和高细胞型PTC有关^[14]。

相反,有关小儿PTC的*BRAF*^{V600E}突变意义的研究非常有限。此外,仅有的先期研究也存在明显分歧,在这些研究中*BRAF*^{V600E}突变出现的频率范围从0%~63%不等,其在肿瘤发生过程中发挥的作用在各研究中也存在明显差异^[19-21]。因此,本研究旨在通过调查*BRAF*^{V600E}突变在48例3~13岁儿童PTC中的发生率及其对预后的影响研究其在儿童PTC中的作用。

1 材料与方法

1.1 患者信息

本研究对1994~2014年在北京儿童医院接受治疗的48个(男性19名,女性29名)连续PTC患儿的进行了回

顾性研究,本组患儿年龄在3.6~13.8岁。一位霍奇金淋巴瘤患儿因为其放疗史被排除在本研究之外,本组患儿无任何辐射史。患儿的临床资料包括性别、年龄、肿瘤大小、组织学类型、肿瘤多灶性、腺外侵犯、周围软组织浸润、淋巴管浸润,局部区域淋巴结转移、远处转移、治疗和长期随访。每例患者均经两位独立的病理学家根据美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第七版指南(2010)和儿童甲状腺结节和分化型甲状腺癌管理指南(2015)进行评判。

1.2 DNA提取

将HE染色确认为PTC的石蜡包埋组织蜡块连续切取3~6片(每片10 μm厚),将组织切片放入1.5 mL离心管中,根据QIAamp石蜡组织DNA提取试剂盒(QIA-GEN,德国)说明书进行DNA提取。

1.3 基因检测

使用*BRAF*突变检测试剂盒进行*BRAF*外显子15扩增,取5 μL DNA加入到35 μL扩增体系中,*BRAF*上游引物序列为5'-ATGCTTGCTCTGATAGGAA-3',下游引物序列为5'-GCATCTCAGGGCCAAA-3',然后进行PCR扩增,扩增条件为95℃预变性15 min,94℃变性30 s,64℃退火20 s,72℃延伸30 s,循环35次,最后72℃延伸10 min。然后对*BRAF*扩增产物进行纯化,Big Dye Terminator v3.1 kit试剂盒进行测序反应,每个样品至少进行2次检测,以保证测序结果的可重复性。

1.4 治疗和随访

对于有淋巴管浸润,腺外侵犯、局部淋巴结转移,远处转移且肿瘤超1 cm的PTC,行甲状腺全切除术。根据术前分期和/或术中观察,对有颈中区和/或颈侧区转移的患儿功能性颈淋巴结清扫术。对N0或NX的儿童PTC患者,行患侧预防性颈中区淋巴清扫术(citocentral neck dissection, CND)。所有手术均由经验丰富的外科医生完成,所有患者术后均应用左旋甲状腺素片(LT4)进行血清促甲状腺激素(thyrotropin, thyroid stimulating hormone, TSH)抑制治疗。对肿瘤大于2 cm,有甲状腺外浸润、局部转移和/或远处转移的患儿行放射性碘治疗(radioiodine treatment, RAI)。无复发迹象患儿的长期随访内容包括:患者没有疾病的证据包括颈部超声

检查和血清甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)、甲状腺球蛋白抗体和TSH水平监测. 对疑似复发的患儿通过磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和/或增强计算机断层扫描(computed tomography, CT)和诊断性全身扫描进行检查.

1.5 统计学分析

卡方检验用来评估*BRAF*^{V600E}突变是否与性别、病理类型、手术切除方式、肿瘤多灶性、腺外侵犯、淋巴结浸润, 局部区域淋巴结转移、远处转移、ATA儿童分期、MACIS评分、AMES评分和疾病复发有关. Student's *t*检验用来评估患儿年龄和肿瘤大小与*BRAF*^{V600E}突变的关系, Fisher精确检验被用来评估分类变量与*BRAF*^{V600E}突变的关系. 统计分析应用SPSS 21.0软件, *P*值<0.05表示有统计学意义.

2 结果与讨论

2.1 结果

本研究包括48名患儿(29名女性和19名男性), 年龄在3.6~13.8岁. 本课题组收集的数据包括患者的性别、年龄、治疗策略(如甲状腺切除术、颈中区淋巴结清扫、功能性颈淋巴结清扫), 肿瘤特性(如大小、组织学亚型、多灶性、囊外侵犯、腺外侵犯)分期(包括AJCC, 美国甲状腺协会(American Thyroid Association, ATA)小儿PTC与AMES分期), *BRAF*^{V600E}突变情况和PTC复发情况(表1). 观察到在48例患儿中有17例(35.4%)存在*BRAF*^{V600E}突变, 均为经典型PTC. 相反, 所有滤泡状或弥漫性硬化性PTC均为野生型*BRAF*.

数据分析显示, *BRAF*^{V600E}突变与低AJCC分期(*P*=0.014)和低AMES(*P*=0.001)肿瘤分期明显相关(表1). 相反, 患儿<10岁(*P*=0.011), 行全甲状腺切除术(*P*=0.030), 行功能性颈淋巴结清扫术(*P*=0.044), 肿瘤多灶性(*P*=0.020), 甲状腺外浸润(*P*=0.003)与*BRAF*^{V600E}突变存在负相关. 然而, 患儿的性别(*P*=0.867)、颈中区淋巴结清扫术(*P*=0.701)、肿瘤的组织学亚型(*P*=0.116)、肿瘤大小(*P*=0.092)、囊内侵犯(*P*=0.080)、淋巴结转移(*P*=0.228)、远处转移(*P*=1)、ATA儿童PTC分级(*P*=0.053)和肿瘤复发(*P*=0.643)均与*BRAF*^{V600E}突变无明显相关性.

就经典型儿童PTC患者而言(表2), *BRAF*^{V600E}突变

与肿瘤较小(*P*=0.045), 低AJCC分级(*P*=0.001)和低淋巴结分期(*P*=0.028), 低ATA儿童PTC分级(*P*=0.007), 低AMES评分(*P*=0)显著相关. 相反, *BRAF*^{V600E}突变与年龄<10岁(*P*=0.004)、全甲状腺切除术(*P*=0.011)、功能性颈淋巴结清扫(*P*=0.005)、与肿瘤的多灶性(*P*=0.009)、包膜浸润(*P*=0.029)和甲状腺外浸润(*P*=0)呈负相关. 没有协会之间存在*BRAF*^{V600E}突变和/或*BRAF*野生型等位基因与患者的性别(*P*=0.975)、一个来电显示的性能(*P*=0.141)、肿瘤远处转移(*P*=0.679)和/或疾病复发(*P*=0.382).

在年龄小于10岁的PTC儿童中, *BRAF*^{V600E}突变与低AJCC肿瘤分期(*P*=0.012)和低淋巴结转移分期(*P*=0.007), 低ATA儿童PTC分期(*P*=0.009)和低的AMES评分(*P*=0.034)显著相关. 然而, 与此相反, *BRAF*^{V600E}突变与甲状腺全切除术(*P*=0.004)、功能性颈淋巴结清扫术(*P*=0.010)、肿瘤的多灶性(*P*=0.007)和甲状腺外浸润(*P*=0.034)呈负相关. *BRAF*^{V600E}突变与患儿的性别(*P*=1)、颈中区淋巴结清扫(*P*=0.488)、肿瘤大小(*P*=0.121)、包膜浸润(*P*=0.101)、肿瘤远处转移(*P*=1)和疾病复发(*P*=1)无关(表3).

对于10~13岁的儿童PTC患儿, *BRAF*^{V600E}突变与肿瘤多灶性呈负相关(*P*=0.007). 然而, *BRAF*^{V600E}突变与患儿性别(*P*=1)、全甲状腺切除术(*P*=0.691)、颈中区淋巴结清扫(*P*=1)、功能性颈淋巴结清扫(*P*=1)、肿瘤大小(*P*=0.668)、包膜侵犯(*P*=0.675)、甲状腺外浸润(*P*=0.378)、AJCC肿瘤分级(*P*=1)或淋巴结分期(*P*=0.853)、肿瘤远处转移(*P*=1)、ATA儿科PTC分期(*P*=1)、肿瘤复发率(*P*=0.455)和AMES得分低(*P*=0.192)均无显著相关(表4).

对PTC患儿的组织病理学分析表明, 所观察到的乳头状癌癌巢在甲状腺滤泡中呈浸润性生长, 其中癌细胞呈乳头状排列, 增生旺盛. 此外, 这些细胞尚表现为泡状核和散在砂砾体(图1A). 免疫组织化学染色显示乳头状癌癌巢边缘残留甲状腺滤泡(图1B).

2.2 讨论

近几十年来, 儿童TC的发病率, 尤其是儿童PTC的发病率迅速增加. 此外, 虽然儿童PTC发病率和死亡率目前低于成人PTC的观察, 但儿童患者的复发频率却较高. 儿童乳头状甲状腺癌患者就诊时多表现为肿瘤已经较大, 可触及的甲状腺和/或颈部无痛肿块, 由

表 1 *BRAF*^{V600E}突变与儿童甲状腺乳头状癌临床病理特性间的关系^{a)}

临床病理特征	患儿 (%)	<i>BRAF</i> 阳性患儿(%)	<i>BRAF</i> 阴性患儿(%)	<i>P</i> 值
性别				0.867
男	19 (39.6)	7 (36.8)	12 (63.2)	
女	29 (60.4)	10 (34.5)	19 (65.5)	
年龄(岁)				0.011
<10	26 (54.2)	5 (19.2)	21 (80.8)	
10~13	22 (45.8)	12 (54.5)	10 (45.5)	
甲状腺手术				0.030
腺叶切除	21 (43.7)	11 (52.4)	10 (47.6)	
全切	27 (56.3)	6 (22.2)	21 (77.8)	
中央区淋巴结清扫				0.701
是	39 (81.2)	13 (33.3)	26 (66.7)	
否	9 (18.8)	4 (44.4)	5 (55.6)	
改良颈淋巴结清扫				0.044
是	29 (60.4)	7 (24.1)	22 (75.9)	
否	19 (39.6)	10 (52.6)	9 (47.4)	
病理分型				0.116
经典型	41 (85.4)	17 (41.5)	24 (58.5)	
滤泡亚型	5 (10.4)	0 (0.0)	5 (100.0)	
弥漫硬化型	2 (4.2)	0 (0.0)	2 (100.0)	
肿瘤大小(cm)				0.092
<2	2 (4.2)	2 (100.0)	0 (0.0)	
2~4	28 (58.3)	11 (39.3)	17 (60.7)	
>4	18 (37.5)	4 (22.2)	14 (77.8)	
多灶性				0.020
多灶	25 (52.1)	5 (20.0)	20 (80.0)	
单灶	23 (47.9)	12 (52.2)	11 (47.8)	
腺囊受侵				0.080
是	33 (68.8)	9 (27.3)	24 (72.7)	
否	15 (31.2)	8 (53.3)	7 (46.7)	
腺外受侵				0.003
是	25 (52.1)	4 (16.0)	21 (84.0)	
否	23 (47.9)	13 (56.5)	10 (43.5)	
AJCC分级				0.014
T ₁	3 (6.3)	3 (100.0)	0 (0.0)	
T ₂	16 (33.3)	7 (43.8)	9 (56.2)	
T ₃	6 (12.5)	3 (50.0)	3 (50.0)	
T ₄	23 (47.9)	4 (17.4)	19 (82.6)	
AJCC局部淋巴结转移				0.228
N ₀	12 (25.0)	6 (50.0)	6 (50.0)	
N _{1a}	11 (22.9)	5 (45.5)	6 (54.5)	
N _{1b}	25 (52.1)	6 (24.0)	19 (76.0)	

(续表1)

临床病理特征	患儿 (%)	<i>BRAF</i> 阳性患儿(%)	<i>BRAF</i> 阴性患儿(%)	<i>P</i> 值
AJCC远处转移				1.000
M ₀	41 (85.4)	15 (36.6)	26 (63.4)	
M ₁	7 (14.6)	2 (28.6)	5 (71.4)	
ATA儿童甲状腺癌分级(2015)				0.053
低危	11 (22.9)	7 (63.6)	4 (36.4)	
中危	10 (20.8)	4 (40.0)	6 (60.0)	
高危	27 (56.3)	6 (22.2)	21 (77.8)	
复发				0.643
是	5 (10.4)	1 (20.0)	4 (80.0)	
否	43 (89.6)	16 (37.2)	27 (62.8)	
AMES				0.001
低危	21 (43.7)	13 (61.9)	8 (38.1)	
高危	27 (56.3)	4 (14.8)	23 (85.2)	

a) AJCC, 第七版美国癌症联合委员会指南(2010); ATA儿童甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南(2015)

图 1 甲状腺乳头状癌细胞

A: 甲状腺乳头状癌(HE染色, ×50), 癌巢在甲状腺滤泡内浸润生长, 癌细胞排列呈乳头状, 增生活跃, 核异型明显, 呈泡状, 可见核沟, 内见散在砂砾体; B: 甲状腺乳头状癌(免疫组化染色, ×50), 乳头状癌巢和边缘残留的甲状腺滤泡均胞浆阳性

于常常被忽视, 导致其诊断多为晚期. 尽管儿童PTC诊断常常延迟, 有效的治疗方案可以减少PTC复发和患儿的死亡风险.

最近的研究显示, *BRAF*^{V600E}突变是成人PTC最常见的基因改变, 其出现频率在36%~83%^[10,14]. 然而, 由于儿童PTC发病率低, 目前有关其*BRAF*^{V600E}突变的研究仍非常有限且结果存在分歧. 2015年的一项研究显示, *BRAF*^{V600E}突变在儿童PTC是非常罕见的^[10], 而2014年的两项研究则显示该突变在儿童并不少见^[20,22]. 本研究的结果表明, *BRAF*^{V600E}突变在儿童PTC中的出现率为35.4% (17/48), 在儿童经典型PTC中的出现率

为41.5% (17/41). 这一比例显著高于早期文献, 但低于最近的研究结果. 患儿的年龄偏小可能是*BRAF*^{V600E}突变出现率低的主要因素. 最近, 这种可能得到了ATA有关儿童PTC指南的认同, 该报告认为这种突变在非常小的患儿中实际上是不存在的^[10]. 本研究显示, *BRAF*^{V600E}突变在年龄<10岁的PTC中的出现率仅为19.2% (5/26)例, 但在10~13岁的PTC中其出现率为54.5% (12/22) (*P*=0.011).

在成人中, 大量的研究已经表明*BRAF*^{V600E}突变是与PTC淋巴结转移, 甲状腺外侵犯, 男性患者、肿瘤多灶性和晚期肿瘤大小正相关^[14]. 在儿童PTC中, 最近的

表 2 *BRAF*^{V600E}突变与儿童经典型甲状腺乳头状癌临床病理特性间的关系

临床病理特征	患儿 (%)	<i>BRAF</i> 阳性患儿(%)	<i>BRAF</i> 阴性患儿(%)	<i>P</i> 值
性别				0.975
男	17 (41.5)	7 (41.2)	10 (58.8)	
女	24 (58.5)	10 (41.7)	14 (58.3)	
年龄(岁)				0.004
<10	23 (56.1)	5 (21.7)	18 (78.3)	
10~13	18 (43.9)	12 (66.7)	6 (33.3)	
甲状腺手术				0.011
腺叶切除	17 (41.5)	11 (64.7)	6 (35.3)	
全切	24 (58.5)	6 (25.0)	18 (75.0)	
中央区淋巴结清扫				0.141
是	36 (87.8)	13 (36.1)	23 (63.9)	
否	5 (12.2)	4 (80.0)	1 (20.0)	
改良颈淋巴结清扫				0.005
是	27 (65.9)	7 (25.9)	20 (74.1)	
否	14 (34.1)	10 (71.4)	4 (28.6)	
肿瘤大小(cm)				0.045
<2	2 (4.9)	2 (100.0)	0 (0.0)	
2~4	22 (53.7)	11 (50.0)	11 (50.0)	
>4	17 (41.5)	4 (23.5)	13 (76.5)	
多灶性				0.009
多灶	22 (53.7)	5 (22.7)	17 (77.3)	
单灶	19(46.3)	12(63.2)	7(36.8)	
腺囊受侵				0.029
是	30 (73.2)	9 (30.0)	21 (70.0)	
否	11 (26.8)	8 (72.7)	3 (27.3)	
腺外受侵				0.000
是	24 (58.5)	4 (16.7)	20 (83.3)	
否	17 (41.5)	13 (76.5)	4 (23.5)	
AJCC分级				0.001
T ₁	3 (7.3)	3 (100.0)	0 (0.0)	
T ₂	11 (26.8)	7 (63.6)	4 (36.4)	
T ₃	4 (9.8)	3 (75.0)	1 (25.0)	
T ₄	23 (56.1)	4 (17.4)	19 (82.6)	
AJCC局部淋巴结转移				0.028
N ₀	8 (19.5)	6 (75.0)	2 (25.0)	
N _{1a}	9 (22.0)	5 (55.6)	4 (44.4)	
N _{1b}	24 (58.5)	6 (25.0)	18 (75.0)	
AJCC远处转移				0.679
M ₀	34 (82.9)	15 (44.1)	19 (55.9)	
M ₁	7 (17.1)	2 (28.6)	5 (71.4)	
ATA儿童甲状腺癌分级 (2015)				0.007
低危	9 (22.0)	7 (77.8)	2 (22.2)	
中危	6 (14.6)	4 (66.7)	2 (33.3)	
高危	26 (63.4)	6 (23.1)	20 (76.9)	
复发				0.382
是	5 (10.4)	1 (20.0)	4 (80.0)	
否	36 (89.6)	16 (44.4)	20 (55.6)	
AMES				0.000
低危	16 (39.0)	13 (81.3)	3 (18.7)	
高危	25 (61.0)	4 (16.0)	21 (84.0)	

表 3 *BRAF*^{V600E}突变与10岁以下儿童甲状腺乳头状癌临床病理特性间的关系

临床病理特征	患儿 (%)	<i>BRAF</i> 阳性患儿(%)	<i>BRAF</i> 阴性患儿(%)	<i>P</i> 值
性别				1.000
男	9 (34.6)	2 (22.2)	7 (77.8)	
女	17 (65.4)	3 (17.6)	14 (82.4)	
甲状腺手术				0.004
腺叶切除	10 (38.5)	5 (50.0)	5 (50.0)	
全切	16 (61.5)	0 (0.0)	16 (100.0)	
中央区淋巴结清扫				0.488
是	23 (88.5)	4 (17.4)	19 (82.6)	
否	3 (11.5)	1 (33.3)	2 (66.7)	
改良颈淋巴结清扫				0.010
是	19 (73.1)	1 (5.3)	18 (94.7)	
否	7 (26.9)	4 (57.1)	3 (42.9)	
肿瘤大小(cm)				0.121
<2	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
2~4	16 (61.5)	5 (31.2)	11 (68.8)	
>4	10 (38.5)	0 (0.0)	10 (100.0)	
多灶性				0.007
多灶	15 (57.7)	0 (0.0)	15 (100.0)	
单灶	11 (42.3)	5 (45.5)	6 (54.5)	
腺囊受侵				0.101
是	19 (73.1)	2 (10.5)	17 (89.5)	
否	7 (26.9)	3 (42.9)	4 (57.1)	
腺外受侵				0.034
是	17 (65.4)	1 (5.9)	16 (94.1)	
否	9 (34.6)	4 (44.4)	5 (55.6)	
AJCC分级				0.012
T ₁	2 (7.7)	2 (100.0)	0 (0.0)	
T ₂	7 (26.9)	2 (28.6)	5 (71.4)	
T ₃	1 (3.8)	0 (0.0)	1 (100.0)	
T ₄	16 (61.5)	1 (6.3)	15 (93.7)	
AJCC局部淋巴结转移				0.007
N ₀	3 (11.5)	2 (66.7)	1 (33.3)	
N _{1a}	8 (30.8)	3 (37.5)	5 (62.5)	
N _{1b}	15 (57.7)	0 (0.0)	15 (100.0)	
AJCC远处转移				1.000
M ₀	20 (76.9)	4 (20.0)	16 (80.0)	
M ₁	6 (23.1)	1 (16.7)	5 (83.3)	
ATA儿童甲状腺癌分级 (2015)				0.009
低危	4 (15.4)	3 (75.0)	1 (25.0)	
中危	5 (19.2)	1 (20.0)	4 (80.0)	
高危	17 (65.4)	1 (5.9)	16 (94.1)	
复发				1.000
是	4 (15.4)	1 (25.0)	3 (75.0)	
否	22 (84.6)	4 (18.2)	18 (81.8)	
AMES				0.034
低危	9 (34.6)	4 (44.4)	5 (55.6)	
高危	17 (65.4)	1 (5.9)	16 (94.1)	

表 4 *BRAF*^{V600E}突变与10~13岁儿童甲状腺乳头状癌临床病理特性间的关系

临床病理特征	患儿 (%)	<i>BRAF</i> 阳性患儿(%)	<i>BRAF</i> 阴性患儿(%)	<i>P</i> 值
性别				1.000
男	10 (45.5)	5 (50.0)	5 (50.0)	
女	12 (54.5)	7 (58.3)	5 (41.7)	
甲状腺手术				0.691
腺叶切除	10 (45.5)	6 (60.0)	4 (40.0)	
全切	12 (54.5)	6 (50.0)	6 (50.0)	
中央区淋巴结清扫				1.000
是	16 (72.7)	9 (56.3)	7 (43.7)	
否	6 (27.3)	3 (50.0)	3 (50.0)	
改良颈淋巴结清扫				1.000
是	11 (50.0)	6 (54.5)	5 (45.5)	
否	11 (50.0)	6 (54.5)	5 (45.5)	
肿瘤大小(cm)				0.668
<2	2 (9.1)	2 (100.0)	0 (0.0)	
2~4	12 (54.5)	6 (50.0)	6 (50.0)	
>4	8 (36.4)	4 (50.0)	4 (50.0)	
多灶性				0.007
多灶	10 (45.5)	5 (50.0)	5 (50.0)	
单灶	12 (54.5)	7 (58.3)	5 (41.7)	
腺囊受侵				0.675
是	14 (63.6)	7 (50.0)	7 (50.0)	
否	8 (36.4)	5 (62.5)	3 (37.5)	
腺外受侵				0.378
是	8 (36.4)	3 (37.5)	5 (62.5)	
否	14 (63.6)	9 (64.3)	5 (35.7)	
AJCC分级				1.000
T ₁	1 (4.6)	1 (100.0)	0 (0.0)	
T ₂	9 (40.9)	5 (55.6)	4 (44.4)	
T ₃	5 (22.7)	3 (60.0)	2 (40.0)	
T ₄	7 (31.8)	3 (42.9)	4 (57.1)	
AJCC局部淋巴结转移				0.853
N ₀	9 (40.9)	4 (44.4)	5 (55.6)	
N _{1a}	3 (13.6)	2 (66.7)	1 (33.3)	
N _{1b}	10 (45.5)	6 (60.0)	4 (40.0)	
AJCC远处转移				1.000
M ₀	21 (95.4)	11 (52.3)	10 (47.6)	
M ₁	1 (4.6)	1 (100.0)	0 (0.0)	
ATA儿童甲状腺癌分级(2015)				1.000
低危	7 (31.8)	4 (57.1)	3 (42.9)	
中危	5 (22.7)	3 (60.0)	2 (40.0)	
高危	10 (45.5)	5 (50.0)	5 (50.0)	
复发				0.455
是	1 (4.6)	0 (0.0)	1 (100.0)	
否	21 (95.4)	12 (57.1)	9 (42.9)	
AMES				0.192
低危	13 (59.1)	9 (69.2)	4 (30.8)	
高危	9 (40.9)	3 (33.3)	6 (66.7)	

两项研究显示, $BRAF^{V600E}$ 突变分别为 36.8% ($n=19$) 和 63% ($n=27$)^[20,22]. 本研究的结果和上述报道基本一致, 48 例儿童 PTC 中 $BRAF^{V600E}$ 突变的总发生率为 35.4%.

Henke 等人^[20]的研究表明, 在儿童患者 $BRAF^{V600E}$ 突变与 PTC 肿瘤的分期、大小、包膜侵犯、血管侵犯、腺外软组织浸润等均无关. 与此相反, Givens 等人^[22]的研究则提示该突变与肿瘤低转移率、低诊断年龄、低肿瘤评分、低侵袭率和高完整切除率有关. 但该研究显示, $BRAF^{V600E}$ 突变与淋巴结转移、肺转移、肿瘤大小和腺体外浸润均无显著相关. 本研究 48 例儿童 PTC 中, $BRAF^{V600E}$ 突变与低 AJCC 肿瘤分期 ($P=0.014$) 和低的 AMES 评分 ($P=0.001$) 显著相关; 相反的是该突变与患者年龄 <10 岁 ($P=0.011$)、全甲状腺切除术 ($P=0.030$)、功能性颈淋巴结清扫 ($P=0.044$)、肿瘤的多灶性 ($P=0.020$) 和甲状腺外浸润 ($P=0.003$) 负相关. 虽然 Henke 等人^[20]的研究认为儿童 PTC 的 $BRAF^{V600E}$ 突变与性别有关, 但本研究并未发现该突变与病人性别之间存在关联.

以往的研究数据显示, 1973~2004 年 10~14 岁的儿童中甲状腺癌的发病率为百万分之 4.4^[4], 而在 5~9 岁的儿童中和 5 岁以下的儿童中其发病率仅为百万分之 0.9 和百万分之 0.1^[5]. 鉴于这种差异, 本研究选择了 10 岁作为病人分组的界值.

本研究 41 例经典型 PTC 中 (表 2), 有 41.5% 存在

$BRAF^{V600E}$ 突变. 在这些患者中 $BRAF^{V600E}$ 突变与肿瘤偏小 ($P=0.045$), 低 AJCC 淋巴结转移分期 ($P=0.028$) 和低 ATA 儿童 PTC 分期 ($P=0.007$) 显著相关; 相反, 其与经典型 PTC 的包膜浸润呈负相关 ($P=0.029$).

对 10~13 岁的儿童 PTC 而言 (表 4), $BRAF^{V600E}$ 突变仅与肿瘤的多灶性呈负相关 ($P=0.007$) 与任何其他变量无显著相关. 相反, 在 <10 岁的 PTC 患儿中 (表 3), $BRAF^{V600E}$ 突变与低 AJCC 肿瘤分期 ($P=0.012$)、淋巴结 ($P=0.007$) 分期, 低 ATA 儿童 PTC 分期 ($P=0.009$) 和低 AMES 评分 ($P=0.034$) 正相关. 相反, 该突变与全甲状腺切除术 ($P=0.004$)、功能性颈淋巴结清扫 ($P=0.010$)、肿瘤的多灶性 ($P=0.007$) 和甲状腺外浸润 ($P=0.034$) 呈负相关.

在低龄和相对大龄组儿童患者中 $BRAF^{V600E}$ 突变的差异, 也从一个侧面也说明了不同年龄儿童 PTC 存在一定的内在差异.

3 伦理

本临床研究由北京儿童医院伦理委员会批准, 所有程序涉及人类受试者均严格按照医院的伦理标准和 1975 的赫尔辛基宣言 (修订版 2008, 包括修改内容). 在参与研究之前, 所有患者都得到监护人的知情同意. 本研究所涉及作者没有利益冲突.

参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115–132
- 2 Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65: 5–29
- 3 Vergamini L B, Frazier A L, Abrantes F L, et al. Increase in the incidence of differentiated thyroid carcinoma in children, adolescents, and young adults: a population-based study. *J Pediatrics*, 2014, 164: 1481–1485
- 4 Ward E, DeSantis C, Robbins A, et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64: 83–103
- 5 Hogan A R, Zhuge Y, Perez E A, et al. Pediatric thyroid carcinoma: incidence and outcomes in 1753 patients. *J Surgical Res*, 2009, 156: 167–172
- 6 Xing M, Haugen B R, Schlumberger M. Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer. *Lancet*, 2013, 381: 1058–1069
- 7 LaFranchi S H. Inaugural management guidelines for children with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: children are not small adults. *Thyroid*, 2015, 25: 713–715
- 8 Parisi M T, Eslamy H, Mankoff D. Management of differentiated thyroid cancer in children: focus on the American thyroid association pediatric guidelines. *Semin Nucl Med*, 2016, 46: 147–164
- 9 Dzodic R, Buta M, Markovic I, et al. Surgical management of well-differentiated thyroid carcinoma in children and adolescents: 33 years of experience of a single institution in Serbia. *Endocr J*, 2014, 61: 1079–1086
- 10 Francis G L, Waguespack S G, Bauer A J, et al. Management guidelines for children with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*, 2015, 25: 716–759

- 11 Yarchoan M, LiVolsi V A, Brose M S. *BRAF* mutation and thyroid cancer recurrence. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 7–8
- 12 Petrulea M S, Plantinga T S, Smit J W, et al. PI3K/Akt/mTOR: a promising therapeutic target for non-medullary thyroid carcinoma. *Cancer Treatment Rev*, 2015, 41: 707–713
- 13 Liu C, Chen T, Liu Z. Associations between BRAFV600E and prognostic factors and poor outcomes in papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis. *World J Surg Onc*, 2016, 14: 241
- 14 Li C, Lee K C, Schneider E B, et al. *BRAF* V600E mutation and its association with clinicopathological features of papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 4559–4570
- 15 Davies H, Bignell G R, Cox C, et al. Mutations of the *BRAF* gene in human cancer. *Nature*, 2002, 417: 949–954
- 16 Xing M, Alzahrani A S, Carson K A, et al. Association between *BRAF* V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 42–50
- 17 Czarniecka A, Kowal M, Rusinek D, et al. The risk of relapse in papillary thyroid cancer (PTC) in the context of *BRAF* V600E mutation status and other prognostic factors. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0132821
- 18 Elisei R, Viola D, Torregrossa L, et al. The *BRAF*^{V600E} mutation is an independent, poor prognostic factor for the outcome of patients with low-risk intrathyroid papillary thyroid carcinoma: single-institution results from a large cohort study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 4390–4398
- 19 Penko K, Livezey J, Fenton C, et al. *BRAF* mutations are uncommon in papillary thyroid cancer of young patients. *Thyroid*, 2005, 15: 320–325
- 20 Henke L E, Perkins S M, Pfeifer J D, et al. *BRAF* V600E mutational status in pediatric thyroid cancer. *Pediatr Blood Cancer*, 2014, 61: 1168–1172
- 21 Sassolas G, Hafdi-Nejjari Z, Ferraro A, et al. Oncogenic alterations in papillary thyroid cancers of young patients. *Thyroid*, 2012, 22: 17–26
- 22 Givens D J, Buchmann L O, Agarwal A M, et al. *BRAF* V600E does not predict aggressive features of pediatric papillary thyroid carcinoma. *Laryngoscope*, 2014, 124: E389–E393