

BRAF 基因突变对甲状腺乳头状癌诊治价值的研究进展

刘斌 潘明志

【摘要】 鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌基因同源体 B1(BRAF)基因突变是甲状腺乳头状癌(PTC)最常见的基因变化。相关性分析显示 PTC 的发生、发展与 BRAF 基因突变密切相关, BRAF 基因突变对 PTC 的诊断及治疗指导的价值受到了广泛关注。但现有的临床证据显示,不能单纯依赖 BRAF 基因突变制定 PTC 患者的手术方式、指导初始危险度分层及术后选择放射性碘治疗。索拉非尼和司美替尼可改善放射性碘抵抗性 PTC 患者的预后,但其疗效与患者 BRAF 基因突变与否无显著相关性。

【关键词】 甲状腺肿瘤; 诊断; 治疗; BRAF 突变

Advances in value of BRAF gene mutation on the diagnosis and treatment of papillary thyroid cancer Liu Bin, Pan Mingzhi. Department of Nuclear Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: Pan Mingzhi, Email: pmingzhi@sina.com

【Abstract】 v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1(BRAF) mutation represents the most common oncogenic event in papillary thyroid cancer(PTC). The value of BRAF mutation in the diagnosis and guiding treatment of PTC has achieved enthusiastic investigation since the initiation and progression of PTC has been correlated with BRAF mutation. However, existing evidence does not suggest BRAF mutation as an independent factor in guiding surgical approach, stratifying recurrence risk, or selecting postoperative radioiodine therapy for PTC patients. Although sorafenib and selumetinib have effectively improved the prognosis of patients with radioactive iodine-refractory PTC, such efficacy is independent of BRAF mutation status.

【Key words】 Thyroid neoplasms; Diagnosis; Therapy; BRAF mutation

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤,也是近二十多年发病率增长最快的实体癌,且主要为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)。鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌基因同源体 B1(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)基因突变是 PTC 最常见的基因变化,目前认为 PTC 的发生、发展主要与 BRAF 基因突变密切相关^[1], PTC 患者 BRAF 基因突变的临床意义越来越受到关注。对于 BRAF 基因作为 PTC 术前的辅助诊断、手术方式的指导、初始危险度分层和术后选择放射性碘治疗等的分子标志物的意见仍不统一,本文就相关问题综述如下。

1 BRAF 基因简介

BRAF 基因位于 7q34, 长约 190 kb, 转录

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4114. 2015. 02. 011

基金项目: 国家自然科学基金(81401445)

作者单位: 610041 成都, 四川大学华西医院核医学科

通信作者: 潘明志(Email: pmingzhi@sina.com)

mRNA 的长度约为 2.5 kb。BRAF 蛋白由 783 个氨基酸组成, 相对分子质量约为 95000。BRAF 蛋白激酶区的 T598 和 S601 两个位点的磷酸化决定着 BRAF 蛋白的活性。对于 PTC, BRAF 基因的突变多是由 15 号外显子的第 1799 位核苷酸 T 突变为 A (T1799A), 导致编码的第 600 位氨基酸(谷氨酸)被缬氨酸所取代(V600E), 故又称为 BRAF^{V600E} 突变^[2]。BRAF^{V600E} 突变体能模拟 T598 和 S601 两个位点的磷酸化作用, 从而持续激活下游靶蛋白, 引发生物学效应^[3]。

2 PTC 组织 BRAF^{V600E} 突变率

Xing 等^[4]汇总分析了 29 项有关甲状腺肿瘤 BRAF^{V600E} 突变的临床研究, 结果表明约 44% 的 PTC 有 BRAF^{V600E} 突变, 而甲状腺滤泡癌、甲状腺髓样癌及甲状腺良性肿瘤均未见 BRAF^{V600E} 突变, 这提示 BRAF^{V600E} 突变主要见于 PTC, 并与 PTC 的发生密切相关。

BRAF^{V600E} 突变率与 PTC 患者的年龄及肿瘤的亚型有关。据报道成人 PTC 患者 BRAF^{V600E} 突变率为 30%~80%^[5], 儿童 PTC 患者 BRAF^{V600E} 突变率相对较低, 约为 3%~12%^[6]。经典 PTC 和高柱状细胞型 PTC 的 BRAF^{V600E} 突变率分别为 67%~68% 和 80%~83%, 而滤泡亚型 PTC 的 BRAF^{V600E} 突变率相对较低, 为 12%~18%^[5]。

3 BRAF^{V600E} 突变性检测用于辅助 PTC 术前诊断

细针穿刺抽吸活检(fine-needle aspiration biopsy, FNAB)对甲状腺结节的诊断具有较高的价值, 但技术层面及检查方法本身的局限性, 使得约 20%的甲状腺结节仍难以准确定性^[7]。有学者在术前测定了甲状腺结节的 BRAF^{V600E} 突变性, 并与术后的病理检查结果对比, 结果显示, 经术后病理学确诊的 PTC, 术前细胞学 BRAF^{V600E} 突变检出率为 40%^[8], 与文献报道的 PTC 组织 BRAF^{V600E} 突变率基本一致^[4-5]。

鉴于 PTC 具有较高的 BRAF^{V600E} 突变率, 在 FNAB 的基础上行 BRAF^{V600E} 突变性检测, 可辅助诊断甲状腺结节的良恶性。Dujardin 等^[9]对 FNAB 疑似 PTC 的细胞行 BRAF^{V600E} 突变性检测, 诊断 PTC 的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 45.5%、87.5%、88.2%和 43.8%。因此, 对 FNAB 获取的疑似 PTC 细胞行 BRAF^{V600E} 突变性检测, 能使约 50%的 PTC 得以确诊。

多数 FNAB 不确定性结节, 组织病理学和(或)临床随访显示为良性, 仅 17%为 PTC^[10]。以 PTC 发生 BRAF^{V600E} 突变率为 45%计算, 检测 BRAF^{V600E} 突变性最终仅能使约 8%的 FNAB 不确定性结节得以确诊。因此, 从卫生经济学角度对所有 FNAB 不确定性结节行 BRAF^{V600E} 突变性检测是否适宜, 仍待进一步的研究。

4 BRAF^{V600E} 突变对 PTC 术式的指导意义

因术前的颈部彩超不能准确判断中央区淋巴结是否有肿瘤转移, 部分外科医生试图依据术前细胞学 BRAF^{V600E} 突变检测结果作为 PTC 患者中央区淋巴结预防性清扫的依据, 以期改善患者的预后。2013 年, Lee 等^[11]对此分析了现有的文献资料, 得出单一的 BRAF^{V600E} 突变不能作为中央区淋巴结预防性清扫的依据, 应结合患者其他的临床特征综合

考虑。Danilovic 等^[5]进行的前瞻性临床研究证实, 依据 BRAF^{V600E} 突变而进行中央区淋巴结预防性清扫, 结果 PTC 患者的预后并未因此得到改善。

5 BRAF^{V600E} 突变对 PTC 术后治疗方案的影响

已有较充分的证据显示, BRAF^{V600E} 突变与 PTC 组织的生物学行为及预后密切相关。Pelizzo 等^[12]分析了 931 例分期为 T₁-T₂, N₀, M₀ 的 PTC 患者的肿瘤生物学行为, 结果显示 BRAF^{V600E} 突变与肿瘤的多灶性、更具侵袭性的病理学亚型、肿瘤包膜的侵犯及肿瘤的直径具有显著相关性。此外, 含有 BRAF^{V600E} 突变的 PTC 患者, 其复发率可达无 BRAF^{V600E} 突变者的 3 倍, 且复发灶多无摄碘能力。Yang 等^[13]报道原发灶无 BRAF^{V600E} 突变的 PTC 患者, 随访中仅 5.6%的有非亲碘性转移灶, 而原发灶含 BRAF^{V600E} 突变的 PTC 患者, 84.2%的有非亲碘性转移灶。

鉴于 BRAF^{V600E} 突变与 PTC 的生物学行为及预后密切相关, 是否将 BRAF^{V600E} 突变作为 PTC 的初始危险度分层因素, 对于低危的 T₁-T₂ 期 PTC, 如肿瘤原发灶存在 BRAF^{V600E} 突变, 是否考虑进行¹³¹I 治疗, 目前意见仍不统一^[14-15]。

随着超声技术的迅猛发展和超声引导下 FNAB 的广泛开展, 微小乳头状甲状腺癌的检出率显著升高。目前认为, 不伴有淋巴结及远处转移的微小乳头状甲状腺癌预后较好, 10 年生存率在 90%以上, 对此类患者国内外指南均认为术后可不行¹³¹I 治疗^[14-15]。Walczyk 等^[16]对 113 例低危微小乳头状甲状腺癌患者进行了长达 12 年的随访, 尽管这类患者原发灶 BRAF^{V600E} 突变率达 69%, 但 BRAF^{V600E} 突变与肿瘤的复发率无统计学相关性。一项由 7 个国家共 13 个机构参研的项目, 以 PTC 相关病死率作为终点指标, 回顾性分析了 BRAF^{V600E} 突变与 PTC 患者预后的相关性。研究发现 BRAF^{V600E} 突变组与未突变组每 1000 人的年死亡人数分别为 11.80 例 (95%CI, 8.39-16.60) 和 2.25 例 (95%CI, 1.01-5.00), 风险比为 3.53(95%CI, 1.25-9.98), 但将淋巴结转移、甲状腺外侵袭及远处转移等因素纳入分析, BRAF^{V600E} 突变与病死率之间的相关性不具有统计学意义, 风险比为 1.21(95%CI, 0.53-2.76)^[17]。因此, 现有的证据并不支持将 BRAF^{V600E} 突变作为 PTC 的危险度分层因素, 不能仅依据 BRAF^{V600E} 突

变而选择进行¹³¹I治疗。

6 靶向抑制 BRAF^{V600E} 突变治疗 PTC

BRAF^{V600E} 突变促使了 PTC 的发生及进展, 抑制 BRAF^{V600E} 突变体或其下游的关键性蛋白分子, 将抑制 PTC 的生长及迁徙。细胞学研究显示, BRAF^{V600E} 突变体蛋白抑制剂 AZD6244 可使 PTC 细胞株 TPC1 的增殖率降低 70%; 动物实验显示, AZD6244 作用于荷 TPC1 裸鼠, 肿瘤的中位进展期(肿瘤体积增加 4 倍所需时间)可达对照组的 3.2 倍($P < 0.01$)^[18]。Knauf 等^[19]利用转基因技术获得隐含 BRAF^{V600E} 突变体的小鼠, 因钠碘转运体及甲状腺球蛋白表达缺失而易发生甲减, 如使用 BRAF^{V600E} 突变体蛋白抑制剂, 可恢复钠碘转运体及甲状腺球蛋白的表达, 这提示过度活化的 BRAF^{V600E} 突变体抑制了钠碘转运体等碘代谢分子的表达。Hou 等^[20]的研究进一步显示, 利用 BRAF^{V600E} 突变体蛋白激酶抑制剂 RDEA119 可增强 K1、C643 及 KAT18 等 11 种甲状腺癌细胞株碘代谢基因的表达。

现有的临床研究亦显示, 靶向 BRAF^{V600E} 突变体下游信号通路的多激酶抑制剂, 如司美替尼(selumetinib)和索拉非尼(sorafenib), 能够改善放射性碘抵抗性甲状腺癌患者的预后, 主要表现为患者无进展生存期的延长, 但肿瘤病灶隐含 BRAF^{V600E} 突变的患者并未较无 BRAF^{V600E} 突变者表现出更好的疗效, 此外这类多激酶抑制剂均未能有效地恢复失分化甲状腺癌的碘代谢能力^[21-23]。司美替尼治疗放射性碘抵抗性 PTC 的 II 期临床研究显示, 12 例原发灶隐含 BRAF^{V600E} 突变的 PTC 患者与 14 例无变异者的无进展生存中位值分别为 33 周和 11 周, 二者间的差异无统计学意义($P=0.3$)^[22]。索拉非尼已被美国食品和药品监督管理局批准用于治疗放射性碘抵抗性的失分化甲状腺癌, III 期随机、对照研究显示, 207 例接受索拉非尼治疗者与 209 例接受安慰剂治疗者的无进展生存中位值分别为 10.8 月和 5.8 月($P < 0.0001$), 但对索拉非尼治疗起效与否与患者的 BRAF^{V600E} 突变状态无关^[23]。

7 小结

现有的临床证据尚不支持对所有的 FNAB 不确定性结节行 BRAF^{V600E} 突变性检测以辅助诊断结节

性质, BRAF^{V600E} 突变尚不能作为 PTC 的初始危险度分层因素, 不能仅依据 BRAF^{V600E} 突变而进行中央区淋巴结的预防性清扫。对于低危的 PTC, 不能因肿瘤组织存在 BRAF^{V600E} 突变而选择行¹³¹I治疗。

在 BRAF^{V600E} 突变之外, 是否存在其他与 PTC 失分化更加密切的基因变异事件^[24], 索拉非尼和司美替尼等多激酶抑制剂具体通过何种机制改善了放射性碘抵抗性 PTC 患者的预后, 均待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Nucera C, Lawler J, Parangi S. BRAF(V600E) and microenvironment in thyroid cancer: a functional Link to drive cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2417-2422.
- [2] Capper D, Preusser M, Habel A, et al. Assessment of BRAF^{V600E} mutation status by immunohistochemistry with a mutation-specific monoclonal antibody[J]. *Acta Neuropathol*, 2011, 122(1): 11-19.
- [3] 刘斌, 匡安仁. MAPK/ERK 和 PI3K/Akt 信号通道的基因变异与甲状腺癌的发生发展及诊治[J]. *生物医学工程学杂志*, 2012, 29(6): 1221-1225.
- [4] Xing M. BRAF mutation in papillary thyroid cancer: pathogenic role, molecular bases, and clinical implications[J]. *Endocr Rev*, 2007, 28(7): 742-762.
- [5] Danilovic DL, Lima EU, Domingues RB, et al. Pre-operative role of BRAF in the guidance of the surgical approach and prognosis of differentiated thyroid carcinoma[J]. *Eur J Endocrinol*, 2014, 170(4): 619-625.
- [6] Rivkees SA, Mazzaferri EL, Verburg FA, et al. The treatment of differentiated thyroid cancer in children: emphasis on surgical approach and radioactive Iodine therapy[J]. *Endocr Rev*, 2011, 32(6): 798-826.
- [7] Cañadas-Garre M, Becerra-Massare P, López de la Torre-Casares DM, et al. Reduction of false-negative papillary thyroid carcinomas by the routine analysis of BRAF(T1799A) mutation on fine-needle aspiration biopsy specimens: a prospective study of 814 thyroid FNAB patients[J]. *Ann Surg*, 2012, 255(5): 986-992.
- [8] Albarel F, Conte-Devolx B, Oliver C. From nodule to differentiated thyroid carcinoma: Contributions of molecular analysis in 2012[J]. *Ann Endocrinol(Paris)*, 2012, 73(3): 155-164.
- [9] Dujardin F, Pagès JC, Collin C, et al. BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma: prevalence and detection in fine needle aspiration specimens[J]. *Ann Pathol*, 2010, 30(4): 252-262.
- [10] Tang KT, Lee CH. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: pathogenic role and clinical implications[J]. *J Chin Med Assoc*, 2010, 73(3): 113-128.
- [11] Lee JW, Koo BS. The prognostic implication and potential role of BRAF mutation in the decision to perform elective neck dissection

(下转第 160 页)