doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.11.025

❖临床研究❖

超声剪切波弹性成像联合血浆 cfDNA 鉴别诊断良恶性甲状腺结节的临床价值

李艳艳,任玉菊,黄红梅,陈艳青
(连云港市第二人民医院超声科,江苏 连云港 222000)

【摘要】**目的**:探讨超声剪切波弹性成像(SWE)联合血浆循环游离 DNA(cfDNA)对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值。**方法**:选取病理证实的 120 例甲状腺结节患者作为研究对象,术前均完成超声 SWE 检查和血浆 cfDNA 的测定;以手术病理为金标准,通过受试者工作特征(ROC)曲线评价 SWE 参数、cfDNA 及其联合鉴别诊断甲状腺结节良恶性的价值。**结果**:120 例甲状腺结节病例中,良性结节 41 个,恶性结节 79 个。甲状腺恶性结节组患者弹性最大值(E_{max})、弹性平均值(E_{mean})高于良性结节组($P<0.05$);血浆 cfDNA 浓度明显高于良性结节组($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,SWE、cfDNA 及两者联合诊断的曲线下面积分别为 0.751、0.585、0.774;联合诊断的敏感度高于单一 SWE 诊断(69.6% *vs.* 62.0%),特异度高于单一 cfDNA 诊断(78.0% *vs.* 58.5%)。**结论**:SWE 联合血浆 cfDNA 检测可提高对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断能力,值得临床推广。

【关键词】甲状腺结节;甲状腺癌;超声;剪切波弹性成像;循环肿瘤 DNA;鉴别;诊断
【中图分类号】R115.1 【文献标志码】A

Clinical value of ultrasound shear wave elastography combined with plasma cfDNA in differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules

LI Yan-yan, REN Yu-ju, HUANG Hong-mei, CHEN Yan-qing
(*Department of Ultrasound, the Second People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang* 222000, *Jiangsu*, *China*)

【**Abstract**】**Objective**: To investigate the value of ultrasonic shear wave elastography (SWE) combined with plasma circulating free DNA (cfDNA) in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. **Methods**: 120 patients with thyroid nodules confirmed by surgery and pathology were selected as the research subjects. Ultrasound SWE examination and plasma cfDNA determination were performed before operation. With surgical pathology as the gold standard, the value of SWE parameters, cfDNA and their combination in the diagnosis of benign and malignant thyroid nodules was evaluated by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results**: Among 120 thyroid nodules, 41 were benign and 79 were malignant. Compared with the benign nodules group, the maximum elasticity (E_{max}) and average elasticity (E_{mean}) in the malignant thyroid nodules group were significantly increased ($P<0.05$). The plasma cfDNA concentration in the malignant thyroid nodules group was significantly higher than that in the benign nodules group ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of SWE was 0.751, and the area under the curve of cfDNA was 0.585, the area under the curve of SWE combined with cfDNA was 0.774, the sensitivity was higher than that of single SWE (69.6% *vs.* 62.0%), and the specificity was higher than that of single cfDNA (78.0% *vs.* 58.5%). **Conclusion**: SWE combined with plasma cfDNA detection can improve the differential diagnosis ability of benign and malignant thyroid nodules, which is worthy of clinical promotion.

【**Key words**】Thyroid nodules; Thyroid cancer; Ultrasound; Shear wave elastography; Circulating tumor DNA; Identification; Diagnosis

近年来,随着临床诊断水平提高,甲状腺结节的检出率逐年增高[1],而超声作为甲状腺结节首选检查方法,有着广泛的临床应用,并发挥着重要的筛查价值[2]。剪切波弹性成像(shear wave elastography,SWE)作为一种新型的无创超声成像技术,能通过弹性模量反映病变的生物学特性,有助于甲状腺结节性质的诊断,但单独应用价值有限[3]。循环游离 DNA(circulating free DNA,cfDNA)是由细胞坏死或凋亡所产生并游离在细胞外的 DNA。研究[4-5]发现,癌症患者血循环中 cfDNA 表达明显增高,且 cfDNA 对于癌症分期、预后判断有重要价值。血循环 cfDNA 在甲状腺结节中的研究目前尚属初级阶段,有文献[6]报道,cfDNA 或许可作为甲状腺癌的潜在生物标志物。近年来,超声检查联合分子生物标

作者简介:李艳艳(1985-),女,主治医师。E-mail:lyy454641@163.com
通讯作者:任玉菊。E-mail:renyuju722@163.com

志物检测成为癌症诊断的新趋势[7-8],但目前关于 SWE 联合 cfDNA 用于甲状腺结节良恶性诊断的研究报道尚缺乏。本研究旨在探讨超声 SWE 联合血浆 cfDNA 对甲状腺结节良恶性的鉴别诊断价值。

1　资料与方法

1.1　一般资料

选取 2019 年 1 月至 2022 年 3 月连云港市第二人民医院收治的 120 例甲状腺结节患者为研究对象。其中男性 32 例,女性 88 例;平均年龄(46.25 ± 12.23)岁。本研究符合伦理相关规定并通过审批,患者及家属知情同意。纳入标准:(1)年龄≥18 岁;(2)经手术病理取得明确病理学结果;(3)术前行超声 SWE 检查和血浆 cfDNA 检测;(4)有完整病例资料。排除标准:(1)完全钙化结节;(2)囊性结节或以囊性为主(>50%)的结节;(3)超声图像不清晰者。

1.2　方法

1.2.1　超声检查　应用 GE LOGIQ9、SIEMENS ACUSON S3000、PHILIPS EPIQ7 型超声诊断仪,探头频率为 4 ~ 15 MHz。嘱患者采取仰卧位,以枕垫肩,尽可能暴露颈部,先行常规超声检查,观察并记录结节位置、大小、形态、边界、回声等情况。然后将探头放置在颈部甲状腺体表位置,选取结节纵切最大切面,尽量将肿块调至取样框中心位置。嘱患者屏气,待图像稳定 3 s 后冻结,并保存图像,对 SWE 最大值(E_{max})、平均值(E_{mean})和标准差(E_{sd})进行测量。每个结节测量 3 次,取平均值作为最终结果。

1.2.2　血浆 cfDNA 测定　采集患者静脉血 5 mL,3 000 rpm 离心 10 min,留取上清放置在冻存管,置于 -80 ℃ 保存备用。采用游离 DNA 提取试剂盒进行血浆 cfDNA 的提取并纯化。然后进行荧光定量 PCR,参照基因为 β-actin,上下游引物分别为 5′-TAT CCA GGC TGT GCT ATC CC-3′和 5′-CCA TCT CTT GCT CGA AGT CC-3′。反应条件:95 ℃ 10min,95 ℃ 15 s,64 ℃ 1 min,共进行 35 个循环,收集扩增标准曲线,计算血浆 cfDNA 的浓度。

1.3　统计学分析

数据处理应用 SPSS26.0。非正态分布计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,采用秩和检验;正态分布计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;鉴别诊断价值采用受试者者工作特征(ROC)曲线分析,曲线下面积(AUC)采用秩和检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　病理检查结果

120 例甲状腺结节病例中,良性结节 41 个(34.2%),其中结节性甲状腺肿 38 个,肉芽肿性甲状腺炎 1 例,结节性桥本氏甲状腺炎 2 例;恶性结节 79 个(65.8%),其中乳头状甲状腺癌 76 个,髓样癌 2 个,滤泡癌 1 个。见图 1。

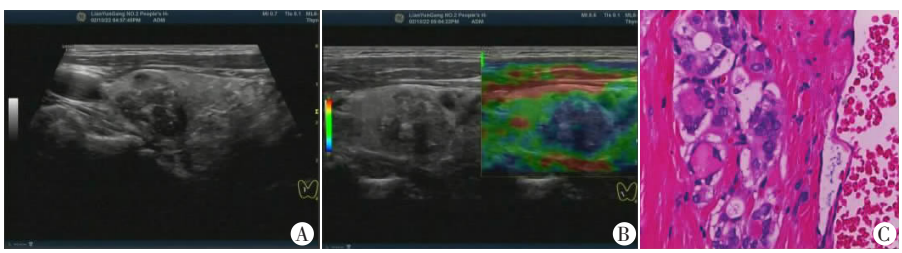


图 1　典型病例超声与病理图像(女性,52 岁)

A. 二维超声灰阶图显示甲状腺右叶低回声结节伴点状钙化;B. SWE 图像显示结节大部分显示为蓝色,伴有少许绿色,提示结节质地偏硬,Emean>界值,为 25.7kPa;C. HE 染色提示甲状腺乳头状癌(400×)。

2.2　甲状腺良性结节与恶性结节 SWE 参数比较

两组结节 E_{sd} 无统计学差异($P>0.05$);甲状腺恶性结节 E_{max}、E_{mean} 高于良性结节($P<0.05$)。见表 1

2.3　甲状腺良性结节与恶性结节患者血浆 cfDNA 浓度比较

相比良性结节组,甲状腺恶性结节组患者血浆 cfDNA 浓度增高(49.12 ± 10.25 ng/mL *vs*. 58.87 ± 9.12 ng/mL,$P<0.001$)。

表 1　甲状腺良性结节与恶性结节 SWE 参数比较[$M(P_{25},P_{75})$]

组别	E_{max}	E_{mean}	E_{sd}
良性结节(n=41)	31.7(25.1,42.6)	14.5(7.8,20.2)	7.2(4.1,9.2)
恶性结节(n=79)	44.2(30.5,61.8)	22.4(14.1,29.8)	8.9(5.2,13.6)
Z 值	2.111	3.681	-1.781
P 值	0.032	<0.001	0.094

2.4 SWE、cfDNA及二者联合鉴别诊断甲状腺结节良恶性的效能

ROC曲线分析显示,SWE、cfDNA及二者联合鉴别诊断甲状腺结节良恶性的AUC分别为、0.751、0.585、0.774;联合诊断的敏感度高于单一SWE诊断,特异度高于单一cfDNA诊断。见表2和图2。

表2 SWE、cfDNA及二者联合鉴别诊断甲状腺结节良恶性的效能

参数	Cut-off值	AUC	*P*值	敏感度(%)	特异度(%)
SWE(E_{mean})	18.91	0.751	<0.001	62.0	90.2
cfDNA	53.24	0.682	<0.001	79.7	58.5
SWE + cfDNA	-	0.774	<0.001	69.6	78.0

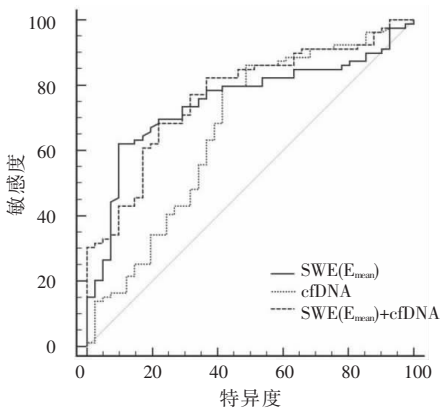


图2 SWE、cfDNA及二者联合鉴别诊断甲状腺结节良恶性的ROC曲线

3 讨论

甲状腺癌是近年发病率增长最为迅速的恶性肿瘤之一[9]。在临床上,超声联合细针穿刺活检(US-FNAB)是甲状腺结节良恶性鉴别诊断的主要手段,但仍有约30%细胞学诊断不能明确[10],且FNAB操作有创,对医疗条件要求较高,难以广泛开展。甲状腺结节超声特征多样且复杂,良恶性结节常存在交叉、重叠显像,且超声医师取材诊断常有着主观性。单独超声检查评估甲状腺结节性质与病理结果的符合率为60% ~90%[11],有着较大的诊断差异性。因此,探寻新的无创检测手段以提高甲状腺结节良恶性的鉴别诊断准确率有着重要意义。

研究[12]表明,病变组织的硬度、纤维化程度与肿瘤良恶性相关。近年来,弹性成像技术在甲状腺结节恶性风险分层中的应用越来越多。SWE能够提供组织硬度定量信息,进而用于甲状腺结节性质的判断[13],且SWE操作简单,有着可重复性好,不易受操作者影响等优势。目前,已有较多报道采用SWE参数进行甲状腺结节良恶性的判断[14-15]。然而,关于SWE参数的截断点尚未形成统一,选取截断点及诊断效能也存在较大差异,可能与不同研究的对象、方法不同有关。Duan等[16]E_{max}、E_{mean}截断点分别选取为53.2 Kpa、34.5 Kpa时,SWE相比常规超声对于甲状腺结节良恶性有着较优的诊断效能;而在各SWE参数中,E_{mean}对甲状腺结节性质的评估准确性最高(79.6%)。Liu等[17]研究报道,在所有SWE参数中,E_{mean}≥38.3 Kpa是效能最高的诊断指标。本研究结果显示,甲状腺恶性结节E_{max}、E_{mean}高于良性结节(P<0.05),且E_{mean}的AUC大于E_{max}(P<0.05),以E_{mean}>18.91 Kpa作为截断点,诊断的特异度较高,而敏感度较低,与既往报道类似。本研究E_{mean}诊断甲状腺结节良恶性的截断点相比Park等[18]报道结果(85.2 Kpa)、Sebag等[19]报道结果(65.0 Kpa)明显较低,原因可能在于不同操作者在进行超声探头预压时压力不同,进而使得获得的弹性模量值存在差异有关。此外,SWE参数会受结节大小、所处位置、粗大钙化及囊性改变的影响,导致诊断结果出现假阳性、假阴性[20],故单独应用SWE进行甲状腺结节的诊断有其局限性。

近年研究[21]发现,cfDNA是肿瘤的潜在生物标志物。正常组织细胞凋亡仅释放少量cfDNA,而在肿瘤患者中,增殖的肿瘤细胞可释放大量cfDNA,其通常携带有原发灶的生物学基因特性。研究[22]表明,cfDNA在癌症患者血循环中表达增高,可用于肿瘤的分级、疗效监测和预后判断。在胆囊癌患者中,血cfDNA增高与肿瘤恶性程度相关[23]。王宇轩等[24]研究表明,cfDNA水平可用于肺结节良恶性的鉴别诊断。张潇分等[25]报道,cfDNA可辅助用于乳腺癌的诊断。本研究结果显示,相比良性结节组,甲状腺恶性结节组患者血浆cfDNA浓度增高(P<0.05),且cfDNA的AUC为0.682,提示cfDNA与甲状腺结节良恶性相关,对甲状腺结节性质评估有较高价值,可作为甲状腺癌的诊断分子标志物。

近年来,影像学检查联合外周血分子标志物成为临床诊断的新模式[26]。考虑到上述SWE诊断的局限性,加上cfDNA的潜在诊断意义。本研究进一步评估SWE联合cfDNA对甲状腺结节良恶性的评估价值,结果显示,二者联合的AUC为0.774,较单独SWE或cfDNA提高,获得了较高的敏感度(69.6%)和特异度(78.0%)。本研究不足在于以手术病理作为金标准,可能会使得恶性结节病例相对偏多,造成了一定的选择偏差;加之样本量较小,难免存在统计偏差,未来仍需括大样本量进一步研究。

综上,SWE、血浆cfDNA检测均可用于甲状腺结节良恶性的鉴别诊断,二者联合可提高诊断效能。

参考文献

[1] 王龙龙,李红强,苌群刚,等. 甲状腺癌 21980 例患者临床病理特征与发病趋势分析[J]. 中华医学杂志,2020,100(14):1072 – 1076.

[2] Lauria A,Maddaloni E,Briganti SI,*et al*. Differences between ATA,AACE/ACE/AME and ACR TI-RADS ultrasound classifications performance in identifying cytological high-risk thyroid nodules[J]. European Journal of Endocrinology,2018,178(6):595 – 603.

[3] 孙鹏飞,谭石,胡向东,等. 尺度效应对剪切波弹性成像诊断甲状腺良,恶性结节效能的影响[J]. 中国介入影像与治疗学,2021,18(9):539 – 543.

[4] Gilson P. Enrichment and Analysis of ctDNA[J]. Recent Results Cancer Res,2020,215:181 – 211.

[5] Nie K,Jia Y,Zhang X. Cell-free circulating tumor DNA in plasma/serum of non-small cell lung cancer[J]. Tumour Biology the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology & Medicine,2015,36(1):7 – 19.

[6] Fussey JM,Bryant JL,Nikolaos B,*et al*. The Clinical Utility of Cell-Free DNA Measurement in Differentiated Thyroid Cancer:A Systematic Review[J]. Frontiers in Oncology,2018,8(1):132 – 139.

[7] 张佳藤,崔可飞,马笑,等. 超声造影联合血清甲状腺球蛋白抗体检测在甲状腺癌诊断中的应用价值[J]. 癌症进展,2020,18(10):998 – 1008.

[8] 徐林霞,王素萍,徐国霞,等. 超声弹性成像参数联合血清 MK 和 VEGF 对分化型甲状腺癌的诊断价值及与肿瘤恶性程度关系研究[J]. 影像科学与光化学,2021,39(1):12 – 18.

[9] Wang J,Yu F,Shang Y,*et al*. Thyroid cancer:incidence and mortality trends in China,2005-2015[J]. Endocrine,2020,68(5):163 – 173.

[10] Xing M,Haugen BR,Schlumberger M. Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer-ScienceDirect[J]. Lancet,2013,381(9871):1058 – 1069.

[11] Shapira-Zaltsberg G,Miller E,Martinez-Rios C,*et al*. Comparison of the diagnostic performance of the 2017 ACR TI-RADS guideline to the Kwak guideline in children with thyroid nodules[J]. Pediatric radiology,2019,49(7):862 – 868.

[12] Rago T,Scutari M,Loiacono V,*et al*. Low Elasticity of Thyroid Nodules on Ultrasound Elastography Is Correlated with Malignancy,Degree of Fibrosis,and High Expression of Galectin-3 and Fibronectin-1[J]. Thyroid,2017,27(1):103 – 110.

[13] Swan KZ,Nielsen VE,Bonnema SJ. Evaluation of thyroid nodules by shear wave elastography:a review of current knowledge[J]. Journal of Endocrinological Investigation,2021,44(10):2043 – 2056.

[14] 王剑翔,俞飞虹,胡菊萍,等. TIRADS 联合剪切波弹性成像对 BSRTCⅢ类结节的诊断价值[J]. 中国医学影像学杂志,2021,29(10):993 – 997.

[15] 林蔚,丁宁,朱思平. C-TIRADS 联合弹性成像对甲状腺结节良恶性预测的应用价值[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2021,41(9):1388 – 1391.

[16] Duan SB,Yu J,Li X,*et al*. Diagnostic value of two-dimensional shear wave elastography in papillary thyroid microcarcinoma[J]. Onco Tragets Ther,2016,9(1):1311 – 1317.

[17] Liu BX,Xie XY,Linag JY,*et al*. Shear wave elastography versus real-time elastography on evaluation thyroid nodules:a preliminary study[J]. Eur J Radiol,2014,83(7):1135 – 1143.

[18] Park AY,Son EJ,Han K,*et al*. Shear wave elastography of thyroid nodules for the prediction of malignancy in a large scale study[J]. Eur J Radiol,2015,84(3):407 – 412.

[19] Sebag,Vailant-Lombard J,Berbis J,*et al* hear wave elastography:a new ultrasound imaging mode for the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules[J]. J Clin Endocrinol Metab,2010,95(12):5281 – 5288.

[20] Liu Z,Hui J,Xue H,*et al*. Shear wave elastography combined with the thyroid imaging reporting and data system for malignancy risk stratification in thyroid nodules[J]. Oncotarget,2017,8(26):43406 – 43416.

[21] 袁祖阳,王新峰,耿潇,等. 食管癌液态活检:检测循环游离 DNA 作为分子标志物是否可行?[J]. 癌症,2021,40(7):279 – 282.

[22] 陈涛,王坚. 循环肿瘤 DNA 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 中华普通外科杂志,2020,35(1):84 – 85.

[23] 华影,唐晓磊. 自组装发光定量系统检测胆囊癌患者血清循环游离 DNA 的水平变化及意义[J]. 山东医药,2021,61(1):25 – 28.

[24] 王宇轩,苏崇玉,刘志东. Alu-qPCR 检测游离 DNA 长度在肺结节良恶性鉴别中的应用[J]. 现代肿瘤医学,2021,29(6):944 – 949.

[25] 张潇分,贾春平,陈宏梅,等. 外周血循环肿瘤细胞和游离 DNA 联合检测在乳腺癌辅助诊断中的临床价值[J]. 中华检验医学杂志,2019,42(8):662 – 668.

[26] 贾红飞,牛宁宁,张学娜. 超声弹性成像技术联合血清 uPA 检测对甲状腺结节良恶性鉴别诊断的价值分析[J]. 中华地方病学杂志,2020,39(7):516 – 520.

(**收稿日期**:2022 – 05 – 26　　**修回日期**:2022 – 07 – 06)