doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.11.005
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2024.11.005
China Journal of General Surgery, 2024, 33(11):1786-1793.

·甲状腺外科专题研究·

BRAF^{V600E}基因突变检测在细针穿刺细胞学良性甲状腺结节中的应用价值

蔡文卿[1]，崔灿[2]，刘洁[1]，陈卓[1]，韩欣冉[1]，吴可[1]，刘美琪[1]，吴境[1]，刘晓莉[1]

（1. 吉林大学中日联谊医院 甲状腺外科，吉林 长春 130033；2. 辽宁省丹东市第一医院 普外二科，辽宁 丹东 118001）

摘　要

背景与目的：细针穿刺细胞学（FNA）因所获取样本量较少等原因，其局限性包括标本无法诊断、细胞学结果不确定、假阴性及假阳性结果等，易造成患者漏诊或误诊。鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B1（BRAF）突变作为甲状腺乳头状癌（PTC）的特异性生物标志，在FNA良性高风险结节中诊断价值目前研究较少。因此，本研究进一步探讨FNA良性甲状腺结节中附加BRAF^{V600E}基因突变检测的临床价值。

方法：回顾性分析2019年1月—2022年9月吉林大学中日联谊医院甲状腺外科549例经668次超声提示PTC高风险、TIRADS分级为4~5类结节患者的临床资料。所有患者均接受手术治疗并于术后对切除组织进行石蜡病理学检查，根据纳入和排除标准，共84枚FNA良性结节纳入本研究，分析BRAF^{V600E}基因突变患者的临床病理特征；以术后病理结果为金标准，分析BRAF^{V600E}基因突变检测对FNA良性结节中的诊断效能。

结果：84枚FNA良性甲状腺结节中，44枚（52.4%）BRAF^{V600E}基因突变检测阳性。BRAF^{V600E}基因突变阳性患者中年龄<45岁的患者占比明显高于BRAF^{V600E}基因突变阴性组患者（56.8% *vs.* 35.0%，P=0.045）、结节中位长径明显小于BRAF^{V600E}基因突变阴性组（0.49 cm *vs.* 0.61 cm，P=0.024）。术后病理提示，63枚甲状腺结节为PTC结节，21枚为良性结节；PTC组结节的中位长径小于良性结节（0.50 cm *vs.* 0.70 cm，P=0.004）、结节<1 cm的占比高于良性结节组（95.2% *vs.* 71.4%，P=0.007）、BRAF^{V600E}基因突变检出率高于良性组（68.3% *vs.* 4.8%，P<0.001）。在甲状腺结节超声特征中，BRAF^{V600E}基因突变阳性组甲状腺结节边缘模糊/不规则发生率明显高于阴性组（86.4% *vs.* 60.0%，P=0.006）；PTC结节边缘模糊/不规则发生率高于良性结节（81.0% *vs.* 52.4%，P=0.010）。多因素Logistic回归分析结果显示，BRAF^{V600E}基因突变阳性的甲状腺结节诊断为PTC的风险是BRAF^{V600E}基因突变阴性结节的39.184倍（P=0.001），BRAF^{V600E}基因突变阳性为甲状腺结节诊断为PTC结节的独立风险因素。BRAF^{V600E}基因突变检测诊断对PTC结节诊断的敏感度为69.3%、特异度为95.2%、阳性预测值为97.7%、阴性预测值为50.0%、准确率为75.0%。

结论：BRAF^{V600E}基因突变检测具有良好的阳性预测值及准确率，可降低穿刺回报为良性结节中PTC结节的漏诊率。建议存在高度可疑超声特征的TIRADS分级为4~5类的甲状腺结节应常规进行FNA与BRAF^{V600E}基因突变联合检测。

关键词　甲状腺肿瘤；甲状腺癌，乳头状；细针抽吸活检；原癌基因蛋白质B-raf

中图分类号：R736.1

基金项目：吉林省卫生科研人才专项基金资助项目（2023SCZ37），吉林省自然科学基金资助项目（YDZJ202401159ZYTS）。

收稿日期：2024-02-19；**修订日期：**2024-10-29。

作者简介：蔡文卿，吉林大学中日联谊医院硕士研究生，主要从事甲状腺癌方面的研究。

通信作者：刘晓莉，Email: ms010@jlu.edu.cn

The application value of BRAF^{V600E} gene mutation testing in fine-needle aspiration biopsy diagnosed benign thyroid nodules

CAI Wenqing[1], CUI Can[2], LIU Jie[1], CHEN Zhuo[1], HAN Xinran[1], WU Ke[1], LIU Meiqi[1], WU Jing[1], LIU Xiaoli[1]

(1. Department of Thyroid Surgery, China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun 130033, China;2. Second Department of General Surgery, Dandong First Hospital, Dandong, Liaoning 118001, China)

Abstract

Background and Aims: Fine-needle aspiration cytology (FNA) has limitations due to the small sample size obtained, including nondiagnostic specimens, indeterminate cytological results, and false-negative or false-positive results, potentially leading to misdiagnosis or missed diagnoses. The BRAF gene mutation, specifically BRAF^{V600E}, is a specific biomarker for papillary thyroid carcinoma (PTC). However, studies on its diagnostic value in FNA benign high-risk thyroid nodules are limited. This study was conducted to further explore the clinical value of adding BRAF^{V600E} mutation testing in FNA benign thyroid nodules.

Methods: A retrospective analysis was conducted on the clinical data of 549 patients who underwent 668 ultrasound evaluations indicating high risk of PTC and were classified as TIRADS categories 4−5 thyroid nodules at the Thyroid Surgery Department of China-Japan Union Hospital of Jilin University from January 2019 to September 2022. All patients underwent surgical treatment, and paraffin pathological examination was performed on resected tissues after surgery. Based on inclusion and exclusion criteria, 84 FNA benign thyroid nodules were included in this study. The clinicopathologic characteristics of nodules with BRAF^{V600E} mutations were analyzed. Using postoperative pathology as the gold standard, the diagnostic performance of BRAF^{V600E} mutation testing in FNA benign nodules was assessed.

Results: Among the 84 FNA benign thyroid nodules, 44 (52.4%) tested positive for the BRAF^{V600E} mutation. Patients with BRAF^{V600E}-positive nodules were more likely to be younger than 45 years (56.8% *vs*. 35.0%, P=0.045), and their nodules had a smaller median long diameter compared to the BRAF^{V600E}-negative group (0.49 cm *vs*. 0.61 cm, P=0.024). Postoperative pathology revealed 63 PTC nodules and 21 benign nodules. PTC nodules had a smaller median long diameter than benign nodules (0.50 cm *vs*. 0.70 cm, P=0.004) and a higher proportion of nodules <1 cm (95.2% *vs*. 71.4%, P=0.007), with a higher BRAF^{V600E} mutation rate (68.3% *vs*. 4.8%, P<0.001). In terms of the ultrasound characteristics of thyroid nodules, BRAF^{V600E}-positive nodules showed a significantly higher rate of blurred/irregular margins than the negative group (86.4% *vs*. 60.0%, P=0.006). Similarly, PTC nodules showed a higher rate of blurred/irregular margins compared to benign nodules (81.0% *vs*. 52.4%, P=0.010). Multivariate Logistic regression analysis indicated that BRAF^{V600E}-positive thyroid nodules had a 39.184-fold higher risk of being diagnosed as PTC compared to BRAF^{V600E}-negative nodules (P=0.001), with BRAF^{V600E} mutation being an independent risk factor for PTC diagnosis. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and accuracy of BRAF^{V600E} mutation testing for PTC diagnosis were 69.3%, 95.2%, 97.7%, 50.0%, and 75.0%, respectively.

Conclusion: BRAF^{V600E} mutation testing demonstrates high positive predictive value and accuracy, and can reduce the risk of missed PTC diagnoses among FNA-reported benign thyroid nodules. It is recommended that thyroid nodules with highly suspicious ultrasound features and TIRADS categories 4−5 undergo combined FNA and BRAF^{V600E} mutation testing.

Key words Thyroid Neoplasms; Thyroid Cancer, Papillary; Fine Needle Aspiration; Proto-Oncogene Proteins B-raf

CLC number: R736.1

《甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南（第二版）》[1]中指出，我国成人甲状腺结节群体患病率为20.43%，在高分辨率超声的辅助下，甲状腺结节检出率可高达20%~76%。虽然多数甲状腺结节为良性，但鉴别甲状腺结节的性质依然是临床医生面临的挑战。超声已被确立为诊断甲状腺恶性肿瘤及中央组淋巴结转移的主要检测工具，高分辨率超声技术的应用，使甲状腺结节的恶性风险评估能力大大提高[2-3]。在超过2/3的无症状人群中，可以通过超声发现甲状腺结节。在甲腺结节中，恶性率约为10%[4]。对于甲状腺恶性肿瘤，细针穿刺细胞学（fine-needle aspiration，FNA）是一种经济及准确的微创检测方法，且具有良好的敏感度和特异度[5]。在穿刺过程中，因不同操作者对样本量判断的差异及结节大小、面积不同等因素，FNA在诊断甲状腺结节性质中存在一定局限性，如标本无法诊断、细胞学不确定、结果假阴性及假阳性等，这些结果占所有细胞学结果的10%~40%，可能会造成漏诊[6-7]。当影像学结果和FNA结果不匹配时，目前常规的方法是进行超声检测或再次进行FNA，但这将增加患者的损伤及经济负担[3,8]。粗针穿刺易增加甲状腺穿刺后出血等风险，只作为FNA的补充方法[9]。

FNA分子检测已成为常规细胞病理学检查的补充方法。鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B1（murine sarcoma viral oncogene homolog B1，BRAF）属于RAF蛋白家族，是MAPK信号级联的细胞内效应物，RAS结合蛋白移动到细胞膜后会激活BRAF，随后BRAF磷酸化并激活MAPK/ERK激酶（MEK），然后激活ERK和MAPK信号级联的下游效应分子，引起级联效应。当此信号通路发生变化时，可引起肿瘤发生并增加中央区淋巴结转移的风险[10-11]。$BRAF^{V600E}$基因突变是甲状腺乳头状癌（papillary thyroid cancer，PTC）的特异性生物学标志物，几乎不存在于甲状腺良性病变中，阳性预测价值较高[12-13]。一项针对中国汉族人群的大规模研究[14]指出，$BRAF^{V600E}$基因突变在PTC中的发生率为86.0%，BRAF突变对可疑病变诊断PTC的敏感度为85.5%，特异度为100.0%。本研究调查$BRAF^{V600E}$基因突变在FNA良性的高风险甲状腺结节中的附加诊断作用，并比较FNA良性结节中$BRAF^{V600E}$基因突变检测阳性与阴性结节的临床超声特征。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

2019年1月—2022年9月，549例患者于吉林大学中日联谊医院甲状腺外科行术前FNA及$BRAF^{V600E}$基因突变检测，且进行手术治疗。Bethesda诊断系统将FNA结果分为以下六类：I类，标本无法诊断；II类，良性病变；III类，意义不明确的非典型病变或滤泡型病变；IV类，滤泡性肿瘤；V类，可疑甲状腺恶性肿瘤；VI类，甲状腺恶性肿瘤。本研究中，将Bethesda分类II类及III类结节定义为FNA良性结节。纳入标准：(1) 首次接受甲状腺手术的患者；(2) 术前FNA结果为良性结节；(3) 临床和病理资料完整且系统可查。排除标准：(1) PTC外其他类型甲状腺恶性肿瘤患者；(2) 选择消融手术的患者。最终有84例FNA良性甲状腺结节纳入分析，其中44例甲状腺结节$BRAF^{V600E}$基因突变阳性（突变阳性组），40例甲状腺结节$BRAF^{V600E}$基因突变阴性（突变阴性组）；按术后石蜡病理检查结果，将84例结节分为PTC组（n=63）及良性组（n=21）。

1.2 超声和FNA

采用彩色多普勒超声诊断仪进行超声检查，选择L15探头，探头频率为6~15 MHz。由2名拥有10年以上甲状腺成像经验的超声科医生同时分析甲状腺结节的超声特征。根据中国版TIRADS（C-TIRADS）进行分类，提示甲状腺癌高度可疑的超声特征包括以下特征中的1项或多项：实性结节，低回声/极低回声，边界模糊/不规则，微钙化/点状钙化，结节纵横比>1。当2名医生结论不一致时，由副主任医师或主任医师评估确定分类。患者处于仰卧位，肩部垫肩垫使头部后仰充分暴露颈部。碘仿消毒术野并铺无菌洞巾，超声引导下定位穿刺点，0.5%利多卡因局部浸润麻醉，使用22 G穿刺针在不同的方向上对每枚结节进行3~4次抽吸确保充分取材。所取标本当即涂片，之后迅速浸入95%乙醇中，由2名及以上经验丰富的细胞病理学医生进行分析。将最后1次穿刺剩余标本直接注入EP管中并在180 μL细胞溶解液中漂洗，储存于-20 ℃环境中，用于$BRAF^{V600E}$基因突变检测。

1.3 DNA分离和$BRAF^{V600E}$基因突变检测

$BRAF^{V600E}$基因突变分析采用ADx-ARMS试剂盒

（中国厦门 AmoyDX 公司），其可在少量样本中检查是否存在目的基因突变。将 EP 管中所预留标本于该院 10 号楼科研中心进行 BRAF 检测。研究员按照试剂盒说明，采用 ADx-突变特异性扩增系统（ADx-ARMS）成功完成了所有送检标本 DNA 提取。采用 NanoDrop2000 紫外分光光度计（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）测量所获得 DNA 浓度。使用 SLAN-96 系统（上海宏石医疗科技有限公司）进行 BRAF 突变分析。本研究中所预留样本量均足以进行 BRAF^{V600E}基因检测。聚合酶链式反应（PCR）体系，5 μL DNA 模板和扩增必要化学物质，包括寡核苷酸引物，Taq DNA 聚合酶，寡核苷酸探针，核苷酸和缓冲液。在实时定量 PCR 仪器（美国 Applied Biosystems 公司）进行 PCR 反应。PCR 反应条件：94 ℃，5 min，初始变性；95 ℃，25 s；64 ℃，20 s；72 ℃，20 s，退火循环 15 次；93 ℃，25 s；60 ℃，35 s；72 ℃，20 s，延伸循环 31 次。

1.4　统计学处理

应用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析，定量资料两组间比较采用 t 检验和 Mann-Whitney U 检验；定性资料采用 χ^2 检验及 Fisher 确切概率检验。多因素分析采用 Logistic 回归模型进行分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　一般资料

549 例患者中，女性 444 例，男性 105 例；年龄 13~67 岁，平均（42.8±9.8）岁。超声下检出 668 枚高风险结节，全部进行 FNA 及 BRAF^{V600E}基因检测。FNA 提示，84 枚结节为 Bethesda 分类Ⅱ类（良性病变）或 Bethesda 分类Ⅲ类（意义不明确的非典型病变或滤泡型病变）；突变阳性率为 52.4%（44/84）。突变阳性组患者的平均年龄为（43.0±9.6）岁，突变阴性组为（46.4±11.2）岁，两组患者年龄比较差异无统计学意义（t=−1.476，P=0.144）。

2.2　FNA 良性结节 BRAF^{V600E}基因突变患者临床病理特征分析

对临床病理特征进行单因素分析，结果显示突变阳性组与突变阴性组患者在性别构成方面差异无统计学意义（P>0.05），但突变阳性组患者中，年龄<45 岁的患者占比高于突变阴性组患者（56.8% *vs.* 35.0%，P=0.045）。突变阳性组患者甲状腺结节长径小于突变阴性组[0.49（0.40~0.63）cm *vs.* 0.61（0.46~0.85）cm，t=−2.253，P=0.024]。甲状腺结节超声特征中，突变阳性组患者结节边缘模糊/不规则发生率高于突变阴性组（86.4% *vs.* 60.0%，P=0.006）。而两组患者低/极低回声、实性结节、结节纵横比>1、点状钙化比例比较，差异均无统计学意义（均 P>0.05）（表 1）。

表 1　FNA 良性结节中突变阳性组与突变阴性组患者临床特征比较[n（%）]

Table 1　Comparison of clinical characteristics between the mutation-positive and mutation-negative groups of fna benign nodule patients [n (%)]

临床特征	突变阳性组（n=44）	突变阴性组（n=40）	χ^2	P
性别				
男	5(11.4)	4(10.0)	—	1.000[1)]
女	39(88.6)	36(90.0)		
年龄(岁)				
<45	25(56.8)	14(35.0)	4.010	0.045
≥45	19(43.2)	26(65.0)		
结节直径(cm)				
<1	42(95.5)	33(82.5)	3.676	0.055
≥1	2(4.5)	7(17.5)		
低/极低回声				
有	40(90.9)	34(85.0)	0.698	0.404
无	4(9.1)	6(15.0)		
实性结节				
有	22(50.0)	19(47.5)	0.052	0.819
无	22(50.0)	21(57.5)		
结节纵横比>1				
是	20(45.5)	17(42.5)	0.074	0.785
否	24(54.5)	23(57.5)		
点状钙化				
有	15(34.1)	15(37.5)	0.106	0.745
无	29(65.9)	25(62.5)		
边缘模糊/不规则				
是	38(86.4)	24(60.0)	7.533	0.006
否	6(13.6)	16(40.0)		
可疑超声特征数(个)				
0	3(6.8)	4(10.0)	7.308	0.199
1	2(4.5)	6(15.0)		
2	8(18.2)	2(5.0)		
3	13(29.6)	16(40.0)		
4	12(27.3)	9(22.5)		
5	6(13.6)	3(7.5)		

注：1）采用 Fisher 确切概率检验

Note：1) Using Fisher's exact test

2.3 FNA阴性结节PTC组临床病理特征及风险因素

84例FNA良性结节均进行手术治疗切除，术后病理提示63枚结节为PTC结节（PTC组），21枚为良性结节（良性组）。单因素分析结果显示，两组患者的年龄差异无统计学意义[（44.78±9.21）岁 *vs.* （44.05±13.82）岁，t=0.226，P=0.823]。PTC组甲状腺结节的长径小于良性组[0.50（0.40~0.64）cm *vs.* 0.70（0.46~1.66）cm，P=0.004]。PTC组<1 cm甲状腺结节占比高于良性组（95.2% *vs.* 71.4%，P=0.007）。在超声影像中，PTC组患者结节边缘模糊/不规则发生率高于良性组（81.0% *vs.* 52.4%，P=0.010）。而两组患者的低/极低回声、实性结节、结节纵横比>1、点状钙化比例比较，差异均无统计学意义（均P>0.05）。PTC组$BRAF^{V600E}$基因突变检出率高于良性组（68.3% *vs.* 4.8%，P<0.001）（表2）。为避免遗漏与诊断有关风险因素，将P<0.1的临床病理特征纳入Logistic多因素回归分析，结果显示$BRAF^{V600E}$基因突变阳性的甲状腺结节诊断为PTC的风险是$BRAF^{V600E}$基因突变阴性的39.184倍（P=0.001），$BRAF^{V600E}$基因突变阳性为甲状腺结节诊断为PTC结节的独立风险因素（表3）。

2.4 $BRAF^{V600E}$基因突变检测对FNA良性结节的诊断效能分析

以术后病理检查结果为金标准，分析$BRAF^{V600E}$基因突变检测诊断对PTC结节的诊断效能（表4），结果显示，$BRAF^{V600E}$基因突变检测诊断对PTC结节的敏感度为69.3%，特异度为95.2%，阳性预测值为97.7%，阴性预测值为50.0%，准确率为75.0%。

表2 FNA良性结节中PTC组与良性组临床特征比较[n（%）]

Table 2 Comparison of clinical characteristics between the PTC group and the benign group in FNA benign nodules [n (%)]

临床特征	PTC组（n=63）	良性组（n=21）	χ^2	P
性别				
男	6(9.5)	3(14.3)	—	0.684[1)]
女	57(90.5)	18(85.7)		
年龄(岁)				
<45	29(46.0)	10(47.6)	0.016	0.899
≥45	34(54.0)	11(52.4)		
结节长径(cm)				
<1	60(95.2)	15(71.4)	—	0.007[1)]
≥1	3(4.8)	6(28.6)		
低/极低回声				
有	6(9.5)	4(19.0)	—	0.439[1)]
无	57(90.5)	17(81.0)		
实性结节				
有	32(50.8)	9(42.9)	0.397	0.529
无	31(49.2)	12(57.1)		
纵横比>1				
是	31(49.2)	6(28.6)	2.721	0.099
否	32(50.8)	15(71.4)		
点状钙化				
有	25(39.7)	5(23.8)	1.728	0.189
无	38(60.3)	16(76.2)		
边缘模糊/不规则				
是	51(81.0)	11(52.4)	6.651	0.010
否	12(19.0)	10(47.6)		
$BRAF^{V600E}$基因突变				
有	43(68.3)	1(4.8)	25.455	<0.001
无	20(31.7)	20(95.2)		

注：1)采用Fisher确切概率检验

Note：1) Using Fisher's exact test

表3 FNA良性结节PTC风险的多因素Logistic回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of PTC risk in FNA benign nodules

危险因素	β	OR(95% CI)	P
结节长径	−1.904	0.149(0.008~2.700)	0.198
纵横比>1	0.640	1.896(0.471~7.635)	0.368
边缘模糊/不规则	−0.062	0.940(0.191~4.624)	0.939
$BRAF^{V600E}$基因突变	3.668	39.184(4.443~345.605)	0.001

表4 $BRAF^{V600E}$基因突变检测结果与术后病理结果比较（n）

Table 4 Comparison of $BRAF^{V600E}$ gene mutation testing results with postoperative pathological findings (n)

$BRAF^{V600E}$基因突变	PTC	良性结节
阳性	43	1
阴性	20	20

3　讨　论

超声是一种敏感便捷且无创的检查技术，临床中首选通过超声判断甲状腺结节的大小，初步判定甲状腺结节的良恶性[15]。根据2016年美国临床内分泌医师协会、美国内分泌学会和内分泌医学会指南[16]，对于具有高度可疑超声特征的甲状腺结节，恶性肿瘤的发生风险估计为50%~90%。

FNA是目前甲状腺结节性质诊断中最简便、快速且相对更加可靠的非手术检查手段[5,17]，比传统检测方法如DNA测序及焦磷酸测序更敏感。这些优点使FNA成为临床工作中决定手术方式及范围的重要参考依据。Bethesda诊断系统及相关研究指出，FNA对甲状腺恶性肿瘤的阳性预测值为97%~99%[18]，敏感度为65%~99%，特异度为72%~100%[19-22]。但通过细胞病理学方法诊断甲状腺恶性肿瘤的误诊率（假阴性及假阳性）一直存在较大的争议。研究[23-25]指出，甲状腺结节FNA中总体假阴性的发生率在<1%~21%。Shrestha等[23]研究结果显示，FNA假阴性总体发生率为7.0%，<1 cm甲状腺结节假阴性率最高，达15.8%，1.0~3.9 cm及≥4.0 cm甲状腺结节假阴性率分别为6.3%、7.1%。在丹麦一项关于病理学报告Bethesda诊断系统的验证[8]中指出，FNA诊断为Bethesda分类II类的甲状腺结节中，术后诊断为恶性结节的42枚，假阴性率为13.3%。另有研究[22]指出，淋巴细胞性甲状腺炎可造成FNA结果的假阳性率明显升高。本研究中，84例FNA良性且于该院手术切除的甲状腺结节中，有63枚为PTC结节，假阴性率75%。假阴性的FNA结果使患者无法得到精准的治疗，从而影响患者的生存质量。

BRAF^{V600E}基因突变为PTC的特异性生物学标志物。Zhang等[13]报道，PTC患者BRAF^{V600E}基因突变率可达85.1%。目前指南中均推荐将特异性分子标记物作为FNA诊断不确定时的辅助诊断工具[5,26]。崔灿[27]研究结果显示，BRAF^{V600E}基因突变检测的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、准确率分别为77.5%、87.0%、99.4%、12.1%、77.8%。在Lu等[28]研究中，FNA提示Bethesda分类III类结节中PTC的比率为60.0%，BRAF^{V600E}基因突变诊断Bethesda分类III类结节中PTC的特异度、敏感度、阳性预测值和阴性预测值分别为100%、40.0%、100%、52.6%，BRAF^{V600E}基因突变明显增加该细胞学分类患者PTC的检出率（P=0.028）。本研究中，有44例患者甲状腺结节BRAF^{V600E}基因突变阳性，40例结节BRAF^{V600E}基因突变阴性。44枚BRAF^{V600E}基因突变阳性的结节中，43枚经术后石蜡病理证实为PTC结节，1枚经病理证实为良性肿瘤。40例FNA良性且BRAF^{V600E}基因突变阴性的患者亦进行手术治疗，术后病理检查证实有20例患者为PTC，20例为良性肿瘤。BRAF^{V600E}基因突变在FNA良性甲状腺结节中敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、准确率分别为69.3%、95.2%、97.7%、50.0%、75.0%，与以上研究结果基本一致。由此可见，BRAF^{V600E}基因突变检测在初诊甲状腺结节中及在FNA检测良性结节中均有较高的特异度及阳性预测值。术前FNA联合BRAF检测将FNA良性结节PTC确诊率提高了51.2%（43/84），大大降低了FNA良性结节中PTC结节的漏诊率。Proietti等[29]报道了1 347例PTC中54例FNA假阴性结果，其中BRAF^{V600E}基因突变6例（11%），RAS突变16例（29.6%），因此认为术前分子评估对FNA良性结节诊断具有价值。Kim等[30]研究显示，22例FNA提示良性而BRAF^{V600E}基因突变呈阳性的患者中17例接受了手术治疗，术后病理提示17枚结节中15枚为恶性，2枚为良性，因此认为当甲状腺结节FNA良性但BRAF^{V600E}基因突变阳性且结节超声影像下高度怀疑恶性时应考虑甲状腺切除术。在BRAF^{V600E}基因突变阳性患者中，年龄<45岁、结节直径较小、结节边缘模糊/不规则特征的比例高于BRAF^{V600E}基因突变阴性患者。在Chen等[31]研究中，纳入720例患者787枚结节，BRAF^{V600E}基因突变阳性结节和BRAF^{V600E}基因突变阴性结节在性别、可疑超声特征数量等方面差异有统计学意义。这或许与不同中心患者群体不同及患者纳入标准不同有关。本研究纳入的84例患者中，BRAF^{V600E}基因突变阳性的甲状腺结节诊断为PTC的风险为BRAF^{V600E}基因突变阴性结节的39.184倍（P=0.001）。然而，结果显示有20枚FNA良性且BRAF^{V600E}基因突变阴性的结节术后诊断为PTC，提示两者均阴性也并不能完全排除恶性肿瘤。有1例FNA良性但BRAF^{V600E}基因突变阳性的甲状腺结节术后诊断为良性肿瘤，提示BRAF^{V600E}基因突变阳性的FNA良性结节在手术方式的选择上亦应结合其他检查及临床经验。

本研究亦存在一定的缺陷。首先，样本数量

相对有限，仅纳入该院进行FNA联合$BRAF^{V600E}$基因突变检测并实施行手术的患者，于该院检测后外院手术的患者术后病理无从知晓，有待进一步扩大样本数量并进行多中心研究。其次，本研究中并未涉及随访，因此FNA阴性但$BRAF^{V600E}$基因突变结节的进展、恶变风险以及患者预后的影响无法分析，有待进一步随访。再者，在基因突变检测过程中，尽管采用了较为先进的技术手段，但仍可能存在一定的假阴性和假阳性结果。检测技术的敏感度和特异度还有待进一步提高，以确保结果的准确性。

综上所述，FNA与$BRAF^{V600E}$基因突变检测相结合，提高了检测的敏感度和准确率，可降低超声联合FNA检测PTC的漏诊率。存在可疑超声特征的TIRADS分级为4~5类的甲状腺结节应常规进行FNA与$BRAF^{V600E}$基因突变联合检测。在FNA阴性的甲状腺结节中，$BRAF^{V600E}$基因突变检测更应重视。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：蔡文卿进行数据分析和全文撰写；崔灿、刘洁参与数据分析与校对；陈卓、韩欣冉、吴可、刘美琪、吴境参与数据的收集、整理及文字校对；刘晓莉参与研究选题、技术路线规划、科研经费支持。

参考文献

[1] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会外科学分会甲状腺及代谢外科学组, 中国抗癌协会头颈肿瘤专业委员会, 等. 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南(第二版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2023, 39(3):181-226. doi:10.3760/cma.j.cn311282-20221023-00589.
Chinese Society of Endocrinology, Thyroid and Metabolic and Bariatric Surgery Committee, Chinese Society of Surgery, Chinese Medical Association, Chinese Association of Head and Neck Oncology, et al. Guidelines for the diagnosis and management of thyroid nodules and differentiated thyroid cancer (Second edition) [J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2023, 39(3): 181-226. doi: 10.3760/cma. j. cn311282-20221023-00589.

[2] Alexander EK, Cibas ES. Diagnosis of thyroid nodules[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2022, 10(7): 533-539. doi: 10.1016/S2213-8587(22)00101-2.

[3] Durante C, Hegedüs L, Czarniecka A, et al. 2023 European Thyroid Association Clinical Practice Guidelines for thyroid nodule management[J]. Eur Thyroid J, 2023, 12(5):e230067. doi:10.1530/ETJ-23-0067.

[4] Durante C, Grani G, Lamartina L, et al. The diagnosis and management of thyroid nodules: a review[J]. JAMA, 2018, 319(9): 914-924. doi:10.1001/jama.2018.0898.

[5] 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. doi: 10.1089/thy.2015.0020.

[6] 刘晓莉, 李芳, 孙辉. 分子检测技术在甲状腺结节诊治中的价值[J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(6):624-629. doi:10.7504/CJPS.ISSN1005-2208.2015.06.10.
Liu XL, Li F, Sun H. Value of molecular testing technique in diagnosis and management of thyroid nodule[J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2015, 35(6): 624-629. doi: 10.7504/CJPS.ISSN1005-2208.2015.06.10.

[7] 黄万泽, 张哲嘉, 白宁, 等. 超声引导下细针穿刺对甲状腺结节的诊断价值及其影响因素[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(11): 1347-1353. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.005.
Huang WZ, Zhang ZJ, Bai N, et al. Diagnostic value of ultrasound-guided fine needle aspiration for thyroid nodules and the influential factors[J]. China Journal of General Surgery, 2019, 28(11): 1347-1353. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.005.

[8] Madsen SH, Jespersen ML, Bonnema SJ, et al. Validation of the Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology in a Danish tertiary centre[J]. Dan Med J, 2024, 71(6): A10230677. doi: 10.61409/A10230677.

[9] 袁芊芊, 侯晋轩, 李金朋, 等. 细针穿刺细胞学检查与粗针穿刺活检术对甲状腺结节的诊断效能比较[J]. 中国普通外科杂志, 2024, 33(5):772-779. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.05.010.
Yuan QQ, Hou JX, Li JP, et al. Comparison of the diagnostic efficacy of fine-needle aspiration cytology and core needle biopsy for thyroid nodules[J]. China Journal of General Surgery, 2024, 33 (5):772-779. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.05.010.

[10] Moulana FI, Priyani AAH, de Silva MVC, et al. BRAF-oncogene-induced senescence and the role of thyroid-stimulating hormone signaling in the progression of papillary thyroid carcinoma[J]. Horm Cancer, 2018, 9(1):1-11. doi:10.1007/s12672-017-0315-4.

[11] 宋创业, 孟艳林, 刘冰, 等. $BRAF^{V600E}$突变蛋白及β-catenin、cyclin D1在cNO期甲状腺微小乳头状癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(11): 1462-1470. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.11.008.
Song CY, Meng YL, Liu B, et al. Expressions of $BRAF^{V600E}$ mutant protein, β -catenin and cyclin D1 in cN0 papillary thyroid microcarcinoma and the significance[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(11): 1462-1470. doi: 10.7659/j. issn. 1005-6947.2022.11.008.

[12] Koh J, Choi JR, Han KH, et al. Proper indication of BRAF(V600E) mutation testing in fine-needle aspirates of thyroid nodules[J]. PLoS One, 2013, 8(5):e64505. doi:10.1371/journal.pone.0064505.

[13] Zhang YZ, Xu T, Cui D, et al. Value of TIRADS, BSRTC and FNA-BRAF V600E mutation analysis in differentiating high-risk thyroid nodules[J]. Sci Rep, 2015, 5:16927. doi:10.1038/srep16927.

[14] Cong R, Ouyang H, Zhou D, et al. BRAF V600E mutation in thyroid carcinoma: a large-scale study in Han Chinese population[J]. World J Surg Oncol, 2024, 22(1): 259. doi: 10.1186/s12957−024−03539−7.

[15] 何巧, 李芳, 孙辉. 甲状腺超声影像报告与数据系统的应用和研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(11): 1477−1482. doi: 10.7659/j.issn.1005−6947.2018.11.017.
He Q, Li F, Sun H. Application of thyroid imaging reporting and data system and its research progress[J]. China Journal of General Surgery, 2018, 27(11): 1477−1482. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2018.11.017.

[16] Gharib H, Papini E, Garber JR, et al. American association of clinical endocrinologists, American college of endocrinology, and associazione medici endocrinologi medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules: 2016 update[J]. Endocr Pract, 2016, 22(5): 622−639. doi: 10.4158/EP161208.GL.

[17] Jang EK, Song DE, Gong G, et al. Positive cytology findings and a negative histological diagnosis of papillary thyroid carcinoma in the thyroid: is it a false-positive cytology or a disappearing tumor? [J]. Eur Thyroid J, 2013, 2(3): 203−210. doi: 10.1159/000353624.

[18] Crippa S, Mazzucchelli L, Cibas ES, et al. The Bethesda System for reporting thyroid fine-needle aspiration specimens[J]. Am J Clin Pathol, 2010, 134(2):343−344. doi:10.1309/ajcpxm9wirq8jzbj.

[19] Gharib H, Goellner JR. Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid: an appraisal[J]. Ann Intern Med, 1993, 118(4): 282−289. doi:10.7326/0003−4819−118−4−199302150−00007.

[20] Zhu Y, Song Y, Xu G, et al. Causes of misdiagnoses by thyroid fine-needle aspiration cytology (FNAC): our experience and a systematic review[J]. Diagn Pathol, 2020, 15(1): 1. doi: 10.1186/s13000−019−0924−z.

[21] Kim HG, Moon HJ, Kwak JY, et al. Diagnostic accuracy of the ultrasonographic features for subcentimeter thyroid nodules suggested by the revised American Thyroid Association guidelines[J]. Thyroid, 2013, 23(12): 1583−1589. doi: 10.1089/thy.2012.0586.

[22] Yi KI, Ahn S, Park DY, et al. False-positive cytopathology results for papillary thyroid carcinoma: a trap for thyroid surgeons[J]. Clin Otolaryngol, 2017, 42(6):1153−1160. doi:10.1111/coa.12840.

[23] Shrestha M, Crothers BA, Burch HB. The impact of thyroid nodule size on the risk of malignancy and accuracy of fine-needle aspiration: a 10-year study from a single institution[J]. Thyroid, 2012, 22(12):1251−1256. doi:10.1089/thy.2012.0265.

[24] Cavallo A, Johnson DN, White MG, et al. Thyroid nodule size at ultrasound as a predictor of malignancy and final pathologic size[J]. Thyroid, 2017, 27(5):641−650. doi:10.1089/thy.2016.0336.

[25] Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, et al. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a meta-analysis[J]. Acta Cytol, 2012, 56(4):333−339. doi:10.1159/000339959.

[26] Haddad RI, Bischoff L, Ball D, et al. Thyroid carcinoma, version 2.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20(8): 925−951. doi: 10.6004/jnccn.2022.0040.

[27] 崔灿. 术前超声−细胞病理−BRAF基因检测在甲状腺乳头状癌精准诊治中的作用[D]. 长春: 吉林大学, 2023. doi:10.27162/d.cnki.gjlin.2023.003818.
Cui C. The role of preoperative ultrasound-cytopathology-BRAF gene detection in accurate diagnosis and treatment of papillary thyroid carcinoma[D]. Changchun: Jilin University, 2023. doi: 10.27162/d.cnki.gjlin.2023.003818.

[28] Lu L, Shang HQ, Li W, et al. The combined use of fine-needle aspiration (FNA) and BRAF V600E gene testing: can it increase the definitive diagnosis rate of nodules categorized as Bethesda III for papillary thyroid carcinoma?[J]. Am Surg, 2024, 90(12): 3209−3215. doi:10.1177/00031348241265143.

[29] Proietti A, Borrelli N, Giannini R, et al. Molecular characterization of 54 cases of false-negative fine-needle aspiration among 1347 papillary thyroid carcinomas[J]. Cancer Cytopathol, 2014, 122(10): 751−759. doi:10.1002/cncy.21454.

[30] Kim SY, Kim EK, Kwak JY, et al. What to do with thyroid nodules showing benign cytology and BRAF(V600E) mutation? A study based on clinical and radiologic features using a highly sensitive analytic method[J]. Surgery, 2015, 157(2): 354−361. doi: 10.1016/j.surg.2014.09.003.

[31] Chen X, Zhou Q, Wang F, et al. Value of BRAF V600E in high-risk thyroid nodules with benign cytology results[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2018, 39(12):2360−2365. doi:10.3174/ajnr.A5898.

（本文编辑　宋涛）

本文引用格式：蔡文卿, 崔灿, 刘洁, 等. BRAF^{V600E}基因突变检测在细针穿刺细胞学良性甲状腺结节中的应用价值[J]. 中国普通外科杂志, 2024, 33(11): 1786−1793. doi：10.7659/j. issn. 1005−6947.2024.11.005

***Cite this article as*:** Cai WQ, Cui C, Liu J, et al. The application value of BRAF^{V600E} gene mutation testing in fine-needle aspiration biopsy diagnosed benign thyroid nodules[J]. Chin J Gen Surg, 2024, 33(11): 1786−1793. doi：10.7659/j.issn.1005−6947.2024.11.005