



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.05.015
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2021.05.015
Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(5):613-621.

· 文献综述 ·

基于 FNAB 的分子检测技术在甲状腺结节诊断中的研究进展

周武琳, 程晓明, 吕俊远, 侯泽宇, 刘胜珊

(遵义医科大学附属医院 甲状腺乳腺外科, 贵州 遵义 563000)

摘要

随着各种检测技术的相继问世, 甲状腺结节的检出率明显上升。尽管大多数甲状腺结节是良性的, 但良恶性病变之间的判定仍然是临床医生面临的挑战。对于所有可疑甲状腺结节患者均应进行颈部超声检查。甲状腺超声可评估结节特征, 某些甲状腺结节具有可疑恶性超声征象。然而, 这些特征缺乏准确性, 无法明确诊断结节的良恶性。目前的指南仍然推荐超声引导细针穿刺活检 (FNAB) 作为评估甲状腺结节良恶性的首选检查。FNAB 是一种经济高效的诊断方法, 由于其创伤小, 敏感性和特异性较高, 可用于术前评估甲状腺结节的性质, 已成为临床不可或缺的检查手段之一。近年来国内关于 FNAB 的报道日益增多, 国内外指南关于 FNAB 指征尚有争议, 同时由于其自身存在一定的局限性, FNAB 技术的全面实施需要严格把握指征及准确判读穿刺病理结果。FNAB 虽然是术前评估甲状腺结节最常用的诊断技术, 但仍有灰区结节需要进一步诊断研究。为了制定合理的手术方案及判断预后, 指南推荐术后可测定促甲状腺激素 (TSH) 水平。FNAB 作为一个简单且相对无创的技术, 但也可产生相应的并发症, FNAB 的并发症主要与甲状腺结节的位置、穿刺针的直径、穿刺医师的操作经验等因素相关, 严重程度较轻, 多呈自限性。对于 FNAB 无法诊断或意义不明确的非典型病变或滤泡性病变, 学者们一直在努力寻找一种新的方法来精确地诊断甲状腺癌。分子生物学方法是目前的最佳选择。分子生物学方法通过检测特定甲状腺肿瘤易感基因的驱动突变来确认甲状腺肿瘤活检的恶性程度, 如 BRAF 和 RAS 癌基因突变、RET/PTC 重排和 TERT 突变检测, 从而提高术前诊断效率。甲状腺乳头状癌最常见的转移部位是局部淋巴结, 虽然 FNAB 对异常淋巴结有诊断价值, 但小或囊性淋巴结可能由于缺乏肿瘤细胞而无法诊断。检测可疑颈部淋巴结细针穿刺活检冲洗液中甲状腺球蛋白含量可作为细胞学诊断的辅助手段。笔者认为 FNAB 联合分子生物学的多层次诊断体系可提高术前诊断的精准性, 对指导治疗、判断预后具有重要价值。

关键词

甲状腺结节; 活组织检查, 细针; 综述
中图分类号: R736.1

Research progress of molecular detection technologies based on FNAB in diagnosis of thyroid nodules

ZHOU Wulin, CHENG Xiaoming, LU Junyuan, HOU Zeyu, LIU Shengshan

(Department of Thyroid and Breast surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563000, China)

Abstract

With the advent of various detection technologies, the detection rate of thyroid nodules has increased significantly.

基金项目: 贵州省遵义市红花岗区科学技术基金资助项目 [遵红科合字 (2017) 19 号]。

收稿日期: 2020-06-04; 修订日期: 2020-11-14。

作者简介: 周武琳, 遵义医科大学附属医院住院医师, 主要从事甲状腺及乳腺方面的研究。

通信作者: 程晓明, Email: cxm1688@sina.com

Although most thyroid nodules are benign, the determination between benign and malignant lesions is still a challenge for clinicians. All patients with suspicious thyroid nodules should undergo neck ultrasound. Thyroid ultrasound can assess the characteristics of nodules, and some thyroid nodules have ultrasound signs of suspicious malignancy. However, these features lack accuracy and cannot clearly diagnose benign and malignant nodules. The current guidelines still recommend ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy (FNAB) as the first choice for evaluating benign and malignant thyroid nodules. FNAB is a cost-effective diagnostic tool. Due to its small trauma, high sensitivity and specificity, it can be used to evaluate the nature of thyroid nodules before surgery and has become one of the indispensable clinical examination methods. In recent years, domestic reports about FNAB have been increasing. Domestic and foreign guidelines regarding FNAB indications are still controversial. At the same time, due to its own limitations, the full implementation of FNAB technology requires strict control of the indications and accurate interpretation of the pathological results of puncture. Although FNAB is the most commonly used diagnostic technique for preoperative evaluation of thyroid nodules, there are still gray area nodules that require further diagnostic studies. In order to formulate a reasonable surgical plan and judge the prognosis, the guidelines recommend that thyroid-stimulating hormone (TSH) levels can be measured before surgery. FNAB is a simple and relatively non-invasive technique, but it can also produce corresponding complications. The complications of FNAB are mainly related to the position of the thyroid nodule, the diameter of the puncture needle, and the operating experience of the puncture physician, of which, the severity is relatively light, and most are self-limiting. Scholars have been trying to find a new method to accurately diagnose thyroid cancer for atypical lesions or follicular lesions that cannot be diagnosed or whose meaning is not clear. Molecular biology methods are currently the best choice. Molecular biology methods confirm the malignancy of thyroid tumor biopsy by detecting driver mutations of specific thyroid tumor susceptibility genes, such as BRAF and RAS oncogene mutations, RET/PTC rearrangement and TERT mutation detection, thereby improving the efficiency of preoperative diagnosis. The most common metastatic site of papillary thyroid carcinoma is local lymph nodes. Although FNAB has diagnostic value for abnormal lymph nodes, small or cystic lymph nodes may not be diagnosed due to lack of tumor cells. Detection of thyroglobulin content in the washing fluid of fine needle aspiration biopsy of suspicious cervical lymph nodes can be used as an auxiliary means of cytological diagnosis. The author believes that the multi-level diagnostic system of FNAB combined with molecular biology can improve the accuracy of preoperative diagnosis and is of great value in guiding treatment and judging prognosis.

Key words Thyroid Nodule; Biopsy, Fine-Needle; Review

CLC number: R736.1

细针穿刺活检 (fine needle aspiration biopsy, FNAB) 是指应用无菌穿刺针穿刺结节可疑部位并抽取部分结节成分送细胞学病理检测的一种鉴别甲状腺结节的方法, 可减少不必要的手术和避免延误甲状腺癌的诊断及治疗。随着人们健康意识的增强及各种检查手段的不断完善, 甲状腺结节的检出率也随之上升。甲状腺结节的诊断策略包括甲状腺彩超、超声造影、颈部薄层CT、甲状腺FNAB、基因检测等, FNAB是术前鉴别甲状腺结节性质的首选检查, 有助于制定恰当的手术方案及明确手术范围。目前, FNAB在许多国家和地区的甲状腺肿瘤诊断和治疗中被作为甲

类推荐。然而, 由于我国FNAB技术开展较晚, 目前尚未在临床普及, 相关学科对FNAB在甲状腺结节在术前诊断的价值及重要性缺乏足够的认识, 笔者就基于FNAB的分子检测技术在甲状腺结节诊断中的研究进展进行综述。

1 FNAB的发展历史

甲状腺穿刺活检术最早始于1843年, 我国于20世纪80年代引入FNAB技术, 随着甲状腺结节的检出率逐渐升高, 医患对于甲状腺结节诊疗水平的要求不断提高, FNAB逐渐受到国内学者的重

视。1985年6月,曾宪九和贾振庚^[1]对100例甲状腺结节行触诊下细针穿刺吸引检查并进行了临床报道,揭开了我国甲状腺结节FNAB技术的序幕。我国于2012年制定了《甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南》^[2]以后,越来越多的学者开始关注甲状腺结节FNAB诊断技术。经过长达5年的探索与临床实践,经国内相关专家讨论,2018年公布了《超声引导下甲状腺结节细针穿刺活检专家共识及操作指南》^[3],加速了该项技术在我国的发展进程。

2 FNAB的适应证

严格把握FNAB指征是避免甲状腺结节过度诊断的关键。各国甲状腺协会对于甲状腺结节FNAB指征仍无统一标准(表1)。目前,关于FNAB适应证的参考指征主要包括甲状腺结节可疑恶性超声征象及甲状腺癌的临床高危因素。

2.1 甲状腺结节可疑恶性超声征象

(1) 低回声结节; (2) 低回声伴结节微小钙化; (3) 边缘不规则,向周围浸润; (4) 结节中心血供丰富; (5) 纵横比 >1 。

2.2 甲状腺癌的临床高危因素

(1) 青少年时期接受过头颈部放射线照射或放射性物质接触史; (2) 碘摄入异常; (3) 分化型甲状腺癌、髓样癌家族史; (4) 促甲状腺激素刺激; (5) 血清降钙素水平异常升高。

2.3 FNAB适应证的指南回顾

笔者总结了国内外广泛使用的指南(表1)。各国指南中对甲状腺结节的可疑声像特征虽然达成了一定的共识。但是,ATA指南中提出的结节纵横比(高 $>$ 宽)在国内指南中并未明确指出。同时,2015版ATA指南降低了“低回声”这一可疑恶性超声征象的诊断权重^[4]。此外,在对98%的甲状腺乳头状癌患者的多因素Logistic回归分析中,得出“结节内血供丰富”不是甲状腺癌发病的独立预测因子这一结论^[5]。NCCN指南与之观点一致。此外,ESMO指出单个可疑的恶性征象对恶性结节的预测价值很小,但当有一个结节同时出现多个提示恶性肿瘤的超声征象时,超声检查的特异性有所增加,而敏感性则会显著降低^[6-7]。因此,ESMO并没有根据结节是否为实性,结节的单一可疑恶性超声征象做更具体的要求。

表1 国内外指南的FNAB标准

Table 1 Criteria of FNAB in domestic and global guidelines

指南	标准
美国国家综合癌症网(NCCN)	实性结节:具有超声可疑特征 ≥ 1 cm;没有超声可疑特征 ≥ 1.5 cm。囊实性混合结节:具有超声可疑特征:实性成分 >1 cm;没有超声可疑特征:实性成分 >1.5 cm。海绵状结节: ≥ 2 cm。可疑颈部淋巴结:淋巴结FNAB \pm 甲状腺结节FNAB。
美国甲状腺协会(ATA)	结节直径 >1 cm且超声表现为实性低回声;结节直径 <1 cm但具有恶性超声征象;结节直径 >0.5 cm且伴有高风险临床病史;任何大小的甲状腺结节,但超声显示颈部淋巴结转移征象;TSH水平正常或升高的患者应结合超声检查,而对于血清TSH降低的患者应结合甲状腺核素扫描与超声检查的结果共同判定;对于PET意外发现的甲状腺肿瘤应密切结合超声检查结果决定是否需要进行US-FNAB。
欧洲肿瘤内科学会(ESMO)	任何 >1 cm的结节以及临床或超声怀疑恶性的结节 <1 cm均需行FNAB。
中国抗癌协会甲状腺癌专业委员会(CATO)	凡结节直径 ≥ 1 cm,均可考虑FNAB检查。但在下述情况下, FNAB不作为常规: (1) 经甲状腺核素显像证实为有自主摄取功能的“热结节”; (2) 超声提示为纯囊性的结节; (3) 根据超声影像已高度怀疑为恶性的结节。 结节直径 <1 cm,不推荐常规行FNAB,但如果存在下述情况之一者,可考虑US-FNAB: (1) 超声检查提示结节有恶性征象; (2) 伴颈部淋巴结超声影像异常; (3) 童年期有颈部放射线照射史或辐射污染接触史; (4) 有甲状腺癌家族史或甲状腺癌综合征病史; (5) 18F-FDG PET显像阳性; (6) 伴血清降钙素水平异常升高。

各国指南均建议术前常规测定甲状腺结节患者血清中的促甲状腺素(TSH)水平,因为血清TSH

水平升高会引起甲状腺结节的恶性风险增加^[8-9]。2015版ATA指南提出直径 >1 cm的甲状腺结节应测

量血清TSH水平。NCCN、ESMO、CATO指南与ATA指南均强调了血清TSH水平在甲状腺结节评估中的重要性。在一项纳入了126例患者的研究中发现血清TSH水平对PTMC进展的临界点为2.50 mU/L, 血清TSH水平持续升高与PTMC进展相关^[10]。此外, 有研究^[11]表明良性结节性病变血清TSH最低, PTMC次之, PTC最高。双侧肿瘤、包膜侵犯和淋巴结转移(LNM)患者血清TSH水平分别高于单侧肿瘤患者、无包膜侵犯患者和无LNM患者。侵袭性变异体PTC患者血清TSH高于非侵袭性PTC患者。研究^[12]表明大多数甲状腺结节患者的血清TSH波动在参考范围内, 但恶性结节患者的血清TSH浓度更可能处于正常上限, 且血清TSH值>2.8 mU/L的患者患癌症的风险明显增加。Duccini等^[13]探讨FNAB受试者血清TSH在参考范围内是否能预测甲状腺恶性肿瘤的研究中发现良性患者TSH平均浓度为(2.09 ± 1.15) μL, DTC患者为(2.73 ± 1.33) μL (P<0.01)。随着促甲状腺素从四分位数1增加到4分位数, 恶性诊断的频率也从四分位数1的22%逐步增加到最后四分位数的65% (P<0.001)。Golbert等^[14]发现, 高TSH水平可能与甲状腺癌的患病风险增加有关。同时, 王群等^[15]也证实了高水平的TSH对于甲状腺癌的发生发展有一定的促进作用, 这表明了术前测定血清TSH水平可以成为甲状腺癌的预测指标。

3 FNAB的并发症

甲状腺细针穿刺活检属于有创性检查, 不可避免地会有并发症发生。并发症的发生及严重程度与甲状腺结节的位置、穿刺针的直径、穿刺医师的操作经验有关。

FNAB最常见的并发症是局部疼痛和瘀斑, 严重的并发症包括血肿(包括皮下血肿), 气管或食管损伤和肿瘤种植转移等。与FNAB相关的疼痛数据很少。接受FNAB的患者中仅有8.9%报告有轻度疼痛^[16]。穿刺后疼痛可通过局部冰敷缓解, 也可选用药物止痛。甲状腺穿刺出血多由静脉渗血所引起。研究表明, 甲状腺穿刺的出血率为0.3%~2.3%^[15, 17]。少量及中等量的出血无需干预, 可自行恢复。大量出血则需要住院干预治疗。关于穿刺引起的肿瘤种植转移仅有极少数报道, Polyzos等^[18]报道一项Meta分析, 研究结果表

明由FNAB所引起的肿瘤种植转移的发生率约为0.20%~1.85%, 其原因为均使用了23 G以上的穿刺针。FNAB导致肿瘤种植转移发生率低的原因可能与穿刺针细、甲状腺癌恶性程度不高及使用TSH抑制治疗等有关。

4 基于FNAB的诊断技术

4.1 巴氏染色

病理诊断是判定结节良恶性的金标准, 其正确诊断的关键是有合格的标本和良好的制片及染色方法。巴氏染色作为最常用的染色方法之一, 其在甲状腺穿刺样本的染色中的优势更为明显, 它可以清楚地显示出甲状腺滤泡上皮细胞的核内结构^[19], 具有细胞内结构分明、透明度佳等特点。对于甲状腺细胞学结果的解读, 参照甲状腺结节病理学Bethesda报告系统诊断及分类标准^[20]: I类: 标本无法判断, 未见足够细胞成分, 无法作出诊断或不满意; II类: 良性滤泡性结节; III类: 意义不明确细胞非典型病变或滤泡性病变; IV类: 可疑滤泡性肿瘤或滤泡性肿瘤; V类: 可疑恶性肿瘤; VI类: 恶性肿瘤, 涂片细胞学形态呈恶性表现。值得一提的是巴氏染色配制过程较为繁琐, 染色过程相对复杂等多因素影响细胞的着色效果, 从而提高了涂片的诊断难度^[21]。

4.2 液基细胞学检查

液基细胞学技术(thinprep cytologic test, TCT)最初在美国广泛应用于妇科宫颈脱落细胞诊断^[22]。目前, TCT在甲状腺细针穿刺细胞学方面也取得了较好的效果。液基细胞学检查作为一种改良的细胞学检查方法, 其细胞学特征明显优于传统涂片。首先, 标本存放的保存液中含有冰醋酸, 能有效清除标本中的红细胞, 从而降低红细胞对标本的干扰^[23], 相对于传统涂片进一步提高了FNAC诊断的阳性预测值(93.2%)及阴性预测值(82.9%)^[24]。此外, TCT能重复制作多张涂片, 方便进一步进行特殊染色, 还可以行免疫组化及流式细胞学检测研究。但是TCT也有一定的局限性, 比如穿刺标本获得的数量太少以及因甲状腺结节太小而没有穿到典型病变区域, 都可能影响最终的诊断结果。

4.3 免疫细胞化学技术

随着病理技术的进一步发展, 免疫化学技术在

病理诊断中得到广泛运用,是肿瘤病理诊断重要的辅助检查。免疫细胞化学(immunocytochemistry, ICC)技术是对细针穿刺抽吸物进行检测^[25]。在临床中广泛应用于肿瘤良恶性鉴别。随着肿瘤研究的进展,国内外文献相继报道了一些分子标记物如细胞角蛋白19(CK-19)、半乳糖凝集素(galactin-3)、高迁移率族蛋白1(HBME-1)、甲状腺转录因子1(TTF-1)和TPO等来辅助甲状腺结节定性诊断。目前,虽然发现了许多与PTC有关的分子标记物,但由于单个标记物的灵敏度和特异性不高,检测技术要求较高,成本昂贵等因素,因此它们在临床上的应用并不广泛。随着分子生物学的发展,多分子联合诊断可以改善单个分子标记物的缺陷,进一步帮助FNAB做出更加精准的诊断。

4.4 甲状腺肿瘤易感基因检测技术

随着分子遗传学的快速发展,越来越多的分子标记物被报道,如BRAF、RAS、RET/PTC、TERT等。目前,临床指南推荐经FNAB仍不能明确其性质的甲状腺结节,可对FNAB标本进行甲状腺肿瘤易感基因检测,这将有助于提高诊断的敏感度和特异度,从而有利于临床诊疗策略的制定。

4.4.1 BRAF^{V600E} 基因突变 BRAF^{V600E}是甲状腺癌最常见的基因改变,BRAF基因突变时MAPK/ERK信号通路发生改变,从而引起肿瘤的发生及发展。目前BRAF基因检测主要研究最常见的T1799A突变(BRAF^{V600E}),对确诊肿瘤的切片进行去石蜡化和DNA提取,用PCR扩增BRAF基因的第15外显子,通过测量FAM信号的Ct值来确定PCR的效率^[26]。Nikiforov等^[27]研究发现,当行FNAB检查不能评估甲状腺结节性质时,在FNAB基础上联合BRAF^{V600E}基因检测可显著提高PTC诊断的准确性。此外,李晓锋等^[28]研究表明, FNAB细胞学诊断与BRAF^{V600E}基因突变联合检测甲状腺良恶性结节的敏感度、特异度分别为86.3%,100.0%,提示了BRAF^{V600E}突变联合细胞学检查在一定程度上提高了甲状腺恶性结节的检出率。Choi等^[29]发现在甲状腺癌中BRAF^{V600E}突变可导致一些摄碘基因(TSHR, NIS)的表达下降,进而引起碘化物积聚能力降低,导致PTC患者对放射性¹³¹I治疗不敏感,这表明BRAF基因突变也可作为PTC患者后续治疗和预后评价的重要

工具之一。

4.4.2 RET/PTC重排 原癌基因RET编码受体酪氨酸激酶,从而影响RAS-MAPK和PI3K-AKT级联反应的调节,参与细胞存活,分化和增殖。RET/PTC是RET酪氨酸激酶的3'端与伴侣基因的5'端之间进行基因重组的结果^[30]。RET/PTC重排后导致RAS-RAF-MAPK通路异常激活,导致甲状腺细胞癌变^[31]。RET/PTC基因重排发生率为5%~35%^[32]。Khan等^[33]研究结果表明RET/PTC3重排仅限于PTC,而且RET/PTC3重排与TSH水平升高和淋巴结转移等临床病理参数之间存在显著关联。而RET/PTC1重排在微小乳头状癌多见,在PTC的滤泡亚型中则比较少见^[34]。一项荟萃分析^[35]的结论表明RET/PTC重组在甲状腺癌中具有较高的特异性(18%)和阳性预测值(87%)。术前对BRAF和RAS野生型不确定甲状腺结节的RET/PTC1重排分析有助于制定明确的手术计划。在一项研究中,作者采用实时逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测RET/PTC1重排分析细针抽吸(FNA)与福尔马林固定石蜡包埋标本(FFPE)RET/PTC1重排的相关性。发现10例FNA与配对FFPE甲状腺乳头状癌(PTC)RET/PTC1重排结果完全相关。76例BRAF和RAS野生型经典PTCs中有29例(38.2%)有RET/PTC1重排^[36]。综上,RET/PTC重排检测有助于对甲状腺结节作出更加精准的诊断,可以作为FNAB检查的重要辅助手段。

4.4.3 RAS基因突变 继BRAF突变之后,在甲状腺癌中第二个最常见的突变是RAS原癌基因突变。RAS基因通过MAPK和PI3K-AKT信号途径参与膜酪氨酸激酶受体到细胞核的信号传递,参与细胞生长和分化。当RAS原癌基因的突变使其编码的蛋白质失去其固有的GTP酶活性,导致甲状腺肿瘤发生。由于在良性及恶性甲状腺肿瘤中均可观察到RAS基因突变,因此在对甲状腺结节进行RAS基因检测结果提示为阳性时,不能完全判定该结节为恶性结节,但RAS基因突变对甲状腺的诊断有一定的参考价值,这表明了RAS癌基因突变可作为甲状腺肿瘤的一项筛查指标。最新的欧洲甲状腺协会指南指出,RAS突变与更高的恶性肿瘤风险相关,但不应用于指导是否进行外科手术干预。近年发表的一项纳入208例患者进行了FNAB和突变检测研究发现只有10%的恶性肿瘤

是 FTC, 其最常见的基因突变是 RAS 突变, 剩下的 90% 是 PTC, 已知其与 RAS 的相关性很低。对于不确定其性质的结节 (不包括良性结节) ddPCR 检测 RAS 突变可能具有预测价值。ddPCR 是检测甲状腺细针 RAS 突变的一种新的超灵敏方法^[37]。一项分析显示^[38], 在 FNAB 诊断不能确定的情况下, FNA 穿刺物 RAS 基因突变对恶性肿瘤的灵敏度为 34.3%, 特异度为 93.5%。但目前就术前是否行 FNAB 联合 RAS 基因检测诊断甲状腺癌尚有争议。

4.4.4 TERT 启动子突变 TERT 基因定位于 5 号染色体, 是维持端粒酶活性的重要物质。端粒酶能够填补染色体末端、保持细胞持续性分裂。TERT 启动子突变后导致端粒酶活性增加, 保护端粒重复序列免受侵蚀并维持端粒长度, 诱导细胞持续分裂从而诱发癌变^[39]。TERT 启动子突变位点主要发生在 C228T 和 C250T, 对 TERT 突变的检测方法主要基于 Sanger 测序, 通过对 TERT 启动子区域的 DNA 进行 PCR 扩增, 然后对扩增产物进行 Sanger 测序, 根据基因组 DNA 测序结果分析两个热点的突变情况^[40-41]。Tanaka 等^[42]在研究中用直接 DNA 测序分析 159 例 PTC 样本的 TERT 启动子突变, 发现 TERT 启动子突变 20 例 (12.6%), 并且在研究中证实了 TERT 启动子突变与侵袭性临床病理特征之间的显著关联。Sayiner 等^[43]对 150 例甲状腺癌患者的 TERT 进行分析研究表明, 86% 的 FTC 表现为阳性, PTC 的阳性率为 46%, 以上研究均表明了当病理结果不充分时, TERT 可以提高 PTC 和 FTC 之间的鉴别诊断。此外, Xing 等^[44]发现 TERT 合并 BRAF 基因突变时, 患者的复发率明显增高, 相比于单一的 BRAF 基因判断预后具有更高的准确率。研究^[45]表明, 在 TERT 启动子突变的前提下同时干扰 BRAF 信号转导可有效抑制癌症进展。这可能为治疗甲状腺癌开辟新的道路。

4.5 FNAB 洗脱液检测

为了提高 FNAB 的诊断准确率, 20 世纪末首次提出用细针穿刺淋巴结检测甲状腺球蛋白 (LN-FNA-Tg) 浓度, 以提高对淋巴结转移的诊断, 其敏感性和特异性可达到近 100%^[46]。颈部淋巴结转移的危险因素包括年龄 < 45 岁、多灶性肿瘤、侵出包膜等^[47], 颈部淋巴结的检测是甲状腺癌诊治过程中的重要步骤^[48], LN-FNA-Tg 和 FNAC 的结合可使诊断淋巴结转移敏感度和特异度几乎达

100%^[49]。Xu 等^[50]也证实了 FNAC 和 FNA-Tg 联合检测在 DTC 的淋巴结转移的诊断价值方面优于 FNA-Tg 或 FNAC。因此, 通常建议将 LN-FNA-Tg 作为 FNAC 的常规测量方法以诊断淋巴结转移。甲状腺球蛋白 (thyroglobulin, Tg) 是诊断甲状腺癌特异性的肿瘤标志物, 当甲状腺组织发生病变后甲状腺滤泡上皮细胞分泌 Tg, Pacini 等^[46]研究发现, 对于甲状腺癌伴有颈部淋巴结转移的患者可检测到较高浓度的 Tg, 因此通过测定 LN-FNA-Tg 含量对于评估 PTC 患者是否出现淋巴结转移具有指导意义^[51]。目前 LN-FNA-Tg 检测方法是在 FNAB 操作结束完成涂片后用 1 mL 生理盐水溶液冲洗针筒。将样品立即转移到临床实验室, 采用自动免疫荧光法测定 LN-FNA-Tg 浓度, 当 FNA-Tg > 1.0 ng/mL 时判读为阳性。在一项研究^[52]中, FNAC 诊断的敏感度、特异度、准确率分别为 80.00%、100%、84.62%, 而 FNA-Tg 诊断的敏感度、特异度、准确率分别为 95.77%、90.48%、94.57%。综上所述, 在甲状腺细针穿刺的基础上联合穿刺洗脱液 Tg 定量检测能作为术前判断颈部淋巴结是否转移的有力补充。

5 总结与展望

近年来甲状腺癌发病率不断上升, 早发现、早诊断与甲状腺癌的治疗及预后息息相关, 超声检查是术前诊断甲状腺癌最敏感、最经济的方法, 但诊断效能较低, FNAB 作为甲状腺结节诊断的新技术在近 10 年迅速发展。严格把握穿刺指征、获取满意穿刺标本和准确判读穿刺结果有助于 FNAB 质量控制措施的全面施行。随着分子生物学的进步, 一些分子标记物, 如 BRAF、RET/PTC、RAS、TERT 等被用于甲状腺癌的辅助诊断, 部分人建议使用它们来进行甲状腺结节的危险分层, 从而建立更为完善的影像学-细胞病理-分子靶标多层次诊断体系, 最大程度地提高术前诊断的精准性, 指导治疗策略的制定, 也为判断预后提供有力的依据。

参考文献

- [1] 贾振庚, 曾宪九. 细针穿刺吸引甲状腺结节细胞学检查[J]. 现代医学, 1985, 13(6):330-331.

- Jia ZG, Zeng XJ. Fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of thyroid nodules[J]. *Modern Medical Journal*, 1985, 13(6):330-331.
- [2] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会外科学分会内分泌学组, 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[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28(10):779-797. doi:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2012.10.002.
- Society of Endocrinology of Chinese Medical Association, Group of Endocrinology of Society of Surgery of Chinese Medical Association, Committee for Head and Neck Oncology of Chinese Anti-Cancer Association, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of thyroid nodules and differentiated thyroid carcinoma[J]. *Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2012, 28(10):779-797. doi:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2012.10.002.
- [3] 中国医师协会外科医师分会甲状腺外科医师委员会, 中国研究型医院学会甲状腺疾病专业委员会, 中国医学装备协会外科装备分会甲状腺外科装备委员会. 超声引导下甲状腺结节细针穿刺活检专家共识及操作指南(2018版)[J]. *中国实用外科杂志*, 2018, 38(3):241-244. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2018.03.01.
- Chinese Thyroid Association, Specialized Committee of Thyroid Disease of Chinese Research Hospital Association, Committee of Thyroid Surgery of Surgery Branch of China Association of Medical Equipmen. Expert consensus and operational guidelines for ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy (2018 edition)[J]. *Chinese Journal of Practical Surgery*, 2018, 38(3):241-244. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2018.03.01.
- [4] Moon WJ, Jung SL, Lee JH, et al. Benign and malignant thyroid nodules: US differentiation--multicenter retrospective study[J]. *Radiology*, 2008, 247(3):762-770. doi:10.1148/radiol.2473070944.
- [5] Moon HJ, Kwak JY, Kim MJ, et al. Can vascularity at power Doppler US help predict thyroid malignancy?[J]. *Radiology*, 2010, 255(1):260-269. doi:10.1148/radiol.09091284.
- [6] Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, et al. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium[J]. *Eur J Endocrinol*, 2006, 154(6):787-803. doi: 10.1530/eje.1.02158.
- [7] American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, Cooper DS, Doherty GM, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer[J]. *Thyroid*, 2009, 19(11):1167-1214. doi: 10.1089/thy.2009.0110.
- [8] Boelaert K, Horacek J, Holder RL, et al. Serum thyrotropin concentration as a novel predictor of malignancy in thyroid nodules investigated by fine-needle aspiration.[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(11):4295-4301. doi:10.1210/jc.2006-0527.
- [9] Haymart MR, Repplinger DJ, Levenson GE, et al. Higher serum thyroid stimulating hormone level in thyroid nodule patients is associated with greater risks of differentiated thyroid cancer and advanced tumor stage[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(3):809-814. doi: 10.1210/jc.2007-2215.
- [10] Kim HI, Jang HW, Ahn HS, et al. High Serum TSH Level Is Associated With Progression of Papillary Thyroid Microcarcinoma During Active Surveillance[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(2):446-451. doi: 10.1210/jc.2017-01775.
- [11] Tam AA, Ozdemir D, Aydn C, et al. Association between preoperative thyrotrophin and clinicopathological and aggressive features of papillary thyroid cancer[J]. *Endocrine*, 2018, 59(3):565-572. doi: 10.1007/s12020-018-1523-6.
- [12] Mussa A, Salerno MC, Bona G, et al. Serum thyrotropin concentration in children with isolated thyroid nodules.[J]. *J Pediatr*, 2013, 163(5):1465-1470. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.07.003.
- [13] Duccini K, de Souza MVL, Delfim R, et al. High Serum Thyrotropin Concentrations within the Reference Range: A Predictor of Malignancy in Nodular Thyroid Disease[J]. *Med Princ Pract*, 2018, 27(3):272-277. doi: 10.1159/000488196.
- [14] Golbert L, de Cristo AP, Faccin CS, et al. Serum TSH levels as a predictor of malignancy in thyroid nodules: A prospective study[J]. *PloS one*, 2017, 12(11):e0188123. doi:10.1371/journal.pone.0188123.
- [15] 王群, 杨志刚, 许辉东, 等. 血清促甲状腺激素水平等因素与甲状腺癌发病的相关性研究[J]. *中国癌症杂志*, 2012, 22(11):860-863. doi:10.3969/j.issn.1007-3969.2012.11.011.
- Wang Q, Yang ZG, Xu HD, et al. Study on the relationship between serum thyroid stimulating hormone concentration and thyroid cancer incidence[J]. *China Oncology*, 2012, 22(11):860-863. doi:10.3969/j.issn.1007-3969.2012.11.011.
- [16] Frates MC, Benson CB, Doubilet PM, et al. Prevalence and Distribution of Carcinoma in Patients with Solitary and Multiple Thyroid Nodules on Sonography[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(9):3411-3417. doi: 10.1210/jc.2006-0690.
- [17] Brito JP, Gionfriddo MR, Al Nofal A, et al. The accuracy of thyroid nodule ultrasound to predict thyroid cancer: systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(4):1253-1263. doi: 10.1210/jc.2013-2928.
- [18] Polyzos SA, Anastasilakis AD. Clinical complications following thyroid fine-needle biopsy: a systematic review[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009, 71(2):157-165. doi:10.1111/j.1365-2265.2009.03522.x

- [19] 曹加兴, 赵玺龙, 字灿忠, 等. EA50染液pH值变化对宫颈脱落细胞染色的影响[J]. 西南国防医药, 2012, 22(6):608-610. doi:10.3969/j.issn.1004-0188.2012.06.015.
- Cao JX, Zhao XL, Zi CZ, et al. Effects of pH value changes in EA50 staining solution on staining of exfoliated cervical cells[J]. Medical Journal Of National Defending Forces in Southwest China, 2012, 22(6):608-610. doi:10.3969/j.issn.1004-0188.2012.06.015.
- [20] Nasser SM, Pitman MB, Pilch BZ, et al. Fine-needle aspiration biopsy of papillary thyroid carcinoma: diagnostic utility of cytokeratin 19 immunostaining[J]. Cancer, 2000, 90(5):307-311.
- [21] 张名旭. 宫颈细胞涂片巴氏染色有关问题的分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(12):2876-2877.
- Zhang MX. Analysis of the issues concerning Pap staining of cervical cells taken in a cervical smear[J]. Chinese Journal of Misdiagnostics, 2010, 10(12):2876-2877.
- [22] 潘秦镜, 李凌, 张询, 等. 液基细胞学筛查宫颈癌的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2001, 23(4):309-312. doi:10.3760/j.issn:0253-3766.2001.04.012.
- Pan QJ, Li L, Zhang X, et al. Copprative study on liquid-based cytology for cervical carcinoma screening in a high-risk area of China[J]. Chinese Journal of Oncology, 2001, 23(4):309-312. doi:10.3760/j.issn:0253-3766.2001.04.012.
- [23] 黄斯雅. 超声在甲状腺结节性疾病鉴别诊断中的应用价值[J]. 黑龙江医学, 2018, 42(4):352-353. doi:10.3969/j.issn.1004-5775.2018.04.027.
- Huang YS. Application value of ultrasound in differential diagnosis of thyroid nodules[J]. Heilongjiang Medical Journal, 2018, 42(4):352-353. doi:10.3969/j.issn.1004-5775.2018.04.027.
- [24] 张颖, 温爽, 王玲, 等. 传统涂片联合液基细胞学在甲状腺细胞学诊断中的应用价值探讨[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2019, 26(3):131-133. doi:10.16066/j.1672-7002.2019.03.004.
- Zhang Y, Wen S, Wang L, et al. Application value of traditional smear combined with liquid-based cytology in cytological diagnosis of thyroid gland nodules[J]. Chinese Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2019, 26(3):131-133. doi:10.16066/j.1672-7002.2019.03.004.
- [25] Roy S, Nandi A, Das I, et al. Comparative study of cytology and immunocytochemistry with trucut biopsy and immunohistochemistry in diagnosis of localized lung lesions: A prospective study[J]. J Cytol, 2015, 32(2):90-95. doi:10.4103/0970-9371.160557.
- [26] Yan C, Huang M, Li X, et al. Relationship between BRAF V600E and clinical features in papillary thyroid carcinoma [J]. Endocr Connect, 2019, 8(7):988-996. doi: 10.1530/EC-19-0246.
- [27] Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, et al. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(6):2092-2098. doi: 10.1210/jc.2009-0247.
- [28] 李晓锋, 刘希, 汪园园, 等. BRAF-V600E突变检测在B超引导下甲状腺细针穿刺标本中的应用及意义[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(2):381-387. doi:10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.020.
- Li XF, Liu X, Wang YY, et al. Application and significance of the BRAF-V600E mutation in fine-needle aspirations of thyroid nodules[J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2020, 40(2):381-387. doi:10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.020.
- [29] Choi YW, Kim HJ, Kim YH, et al. B-RafV600E inhibits sodium iodide symporter expression via regulation of DNA methyltransferase 1[J]. Exp Mol Med, 2014, 46(11):e120. doi: 10.1038/emm.2014.68.
- [30] Syrenicz A, Koziolok M, Ciechanowicz A, et al. New insights into the diagnosis of nodular goiter[J]. Thyroid Res, 2014, 7:6. doi: 10.1186/1756-6614-7-6.
- [31] 王波, 赵文新. ret/PTC3基因重排在甲状腺癌中的作用机制及其研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(10):2241-2242. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2013.10.089.
- Wang B, Zhao WX. Action mechanism of rearrangement of ret/PTC3 gene in thyroid cancer and the research progress[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2013, 30(10):2241-2242. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2013.10.089.
- [32] Suh I, Kebebew E. The biology of thyroid oncogenesis[J]. Cancer Treat Res, 2010, 153:3-21. doi:10.1007/978-1-4419-0857-5_1.
- [33] Khan MS, Qadri Q, Makhdoomi MJ, et al. RET/PTC Gene Rearrangements in Thyroid Carcinogenesis: Assessment and Clinico-Pathological Correlations[J]. Pathol Oncol Res, 2020, 26(1):507-513. doi: 10.1007/s12253-018-0540-3.
- [34] Soares P, Fonseca E, Wynford-omas D, et al. Sporadic ret-rearranged papillary carcinoma of the thyroid: a subset of slow growing, less aggressive thyroid neoplasms?[J]. J Pathol, 1998, 185(1):71-78. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199805)185:1<71::AID-PATH42>3.0.CO;2-S.
- [35] Rodrigues HG, de Pontes AA, Adan LF. Use of molecular markers in samples obtained from preoperative aspiration of thyroid[J]. Endocr J, 2012, 59(5):417-424. doi: 10.1507/endocrj.e11-0410.
- [36] Ko YS, Hwang TS, Kim JY, et al. Diagnostic Limitation of Fine-Needle Aspiration (FNA) on Indeterminate Thyroid Nodules Can Be Partially Overcome by Preoperative Molecular Analysis: Assessment of RET/PTC1 Rearrangement in BRAF and RAS Wild-Type Routine Air-Dried FNA Specimens[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(4):806. doi: 10.3390/ijms18040806.

- [37] Biron VL, Matkin A, Kostiuk M, et al. Analytic and clinical validity of thyroid nodule mutational profiling using droplet digital polymerase chain reaction[J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2018, 47(1):60. doi: 10.1186/s40463-018-0299-2.
- [38] Clinkscales W, Ong A, Nguyen S, et al. Diagnostic value of RAS mutations in indeterminate thyroid nodules[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2017, 156(3):472-479. doi:10.1177/0194599816685697.
- [39] Chung JH. BRAF and TERT promoter mutations: clinical application in thyroid cancer[J]. *Endocr J*, 2020, 67(6):577-584. doi: 10.1507/endocrj.EJ20-0063.
- [40] Liu R, Xing M. Diagnostic and prognostic TERT promoter mutations in thyroid fine-needle aspiration biopsy[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(5):825-830. doi:10.1530/ERC-14-0359.
- [41] Jin A, Xu J, Wang Y. The role of TERT promoter mutations in postoperative and preoperative diagnosis and prognosis in thyroid cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(29):e11548. doi:10.1097/MD.00000000000011548.
- [42] Tanaka A, Matsuse M, Saenko V, et al. TERT mRNA Expression as a Novel Prognostic Marker in Papillary Thyroid Carcinomas[J]. *Thyroid*, 2019, 29(8):1105-1114. doi: 10.1089/thy.2018.0695.
- [43] Sayiner A, Suren D. Expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) in thyroid neoplasms[J]. *J BUON*, 2018, 23(1):229-233.
- [44] Xing M, Liu R, Liu X, et al. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(25):2718-2726. doi: 10.1200/JCO.2014.55.5094.
- [45] Li Y, Cheng HS, Chng WJ, et al. Activation of mutant TERT promoter by RAS-ERK signaling is a key step in malignant progression of BRAF-mutant human melanomas[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(50):14402-14407. doi:10.1073/pnas.1611106113.
- [46] Pacini F, Fugazzola L, Lippi F, et al. Detection of thyroglobulin in fine needle aspirates of nonthyroidal neck masses: a clue to the diagnosis of metastatic differentiated thyroid cancer[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992, 74(6):1401-1404. doi:10.1210/jcem.74.6.1592886.
- [47] 翟宝伟, 高庆军, 赵代伟. 甲状腺微小乳头状癌颈部淋巴结转移的危险因素分析[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(11):1573-1579. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.009.
- Zhai BW, Gao QJ, Zhao DW. Analysis of risk factors for cervical lymph node metastases in papillary thyroid microcarcinoma[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2016, 25(11):1573-1579. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.009.
- [48] 张晶晶, 张庆丰, 余翠萍, 等. 临床T1N0M0甲状腺乳头状癌是否行中央区颈部淋巴结清扫的研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31(9):708-710. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.09.015.
- Zhang JJ, Zhang QF, Yu CP, et al. The significance of central neck dissection in clinically node-negative papillary thyroid cancer (clinical T1N0M0)[J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head & Neck Surgery*, 2017, 31(9):708-710. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.09.015.
- [49] Lee MJ, Ross DS, Mueller PR, et al. Fine-needle biopsy of cervical lymph nodes in patients with thyroid cancer: A prospective comparison of cytopathologic and tissue marker analysis[J]. *Radiology*, 1993, 187(3):851-854. doi:10.1148/radiology.187.3.8497644.
- [50] Xu Y, Wu D, Wu W, et al. Diagnostic value of cytology, thyroglobulin, and combination of them in fine-needle aspiration of metastatic lymph nodes in patients with differentiated thyroid cancer: A systematic review and network meta-analysis[J]. *Medicine*, 2019, 98(45):e17859. doi:10.1097/MD.00000000000017859.
- [51] 周乐, 张广, 张大奇, 等. 细针穿刺活检及洗脱液检测在甲状腺癌颈淋巴结清扫决策中的应用研究[J]. *中国实用外科杂志*, 2017, 37(9):1002-1006. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2017.09.16.
- Zhou L, Zhang G, Zhang DQ, et al. Application and evaluation of fine needle aspiration biopsy and eluate detection for cervical lymph node dissection decision in patients with thyroid carcinoma[J]. *Chinese Journal of Practical Surgery*, 2017, 37(9):1002-1006. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2017.09.16.
- [52] Khadra H, Mohamed H, Al-Qurayshi Z, et al. Superior detection of metastatic cystic lymphadenopathy in patients with papillary thyroid cancer by utilization of thyroglobulin washout [J]. *Head Neck*, 2019, 41(1):225-229. doi: 10.1002/hed.25488.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 周武琳, 程晓明, 吕俊远, 等. 基于FNAB的分子检测技术在甲状腺结节诊断中的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(5):613-621. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.05.015

Cite this article as: Zhou WL, Cheng XM, Lu JY, et al. Research progress of molecular detection technologies based on FNAB in diagnosis of thyroid nodules[J]. *Chin J Gen Surg*, 2021, 30(5):613-621. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.05.015