

# 基于基因突变的分子风险分层对甲状腺乳头状癌淋巴结转移的预测价值研究

张 恺<sup>1</sup>, 姚 京<sup>2</sup>, 王 冰<sup>2</sup>, 万 政<sup>2</sup>, 梁志雯<sup>2</sup>, 田 文<sup>2</sup>

<sup>1</sup>解放军总医院卫勤部, 北京 100853; <sup>2</sup>解放军总医院第一医学中心普通外科医学部甲状腺(疝)外科, 北京 100853

**摘要:**背景 甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)患者总体预后良好, 但部分患者会发生淋巴结转移, 如何预测PTC淋巴结转移仍缺乏有效手段。目的 采用分子风险分层(molecular risk group, MRG)方法, 探索PTC高危分子分型与淋巴结转移的相关性。方法 采用二代测序技术(next-generation sequencing, NGS)对2021年11月—2024年3月于解放军总医院第一医学中心甲状腺(疝)外科进行手术的PTC患者术后标本进行基因检测, 对39种基因变异进行分子风险分层, 同时收集患者的临床病理学资料, 进行淋巴结转移关联因素的Logistic回归, 并对MRG评估效能进行分析。结果 共纳入74例PTC例患者, 男性23例(31.1%), 女性51例(68.9%); 年龄17~69岁, 发病年龄(40.16±12.59)岁。74例PTC患者完成177 panel基因联合检测, 共检查出39种基因变异, 其中SNV/Indel 37种, 基因融合2种, 基因变异率为100%, MRG高危分型38例(51.35%), 低危分型36例(48.65%)。MRG分型与甲状腺乳头状癌临床病理学特征的关系分析显示有被膜侵犯与MRG高危分型显著相关( $P=0.035$ )。多因素Logistic回归结果显示, MRG高危分型是PTC患者淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移的独立危险因素( $OR=3.080、2.545、1.443, P<0.05$ )。配对四格表分析显示, 患者MRG高危分型对淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移均有一定的评估效能( $AUC=0.729、0.671、0.601$ )。统计推断显示, MRG高危分型与淋巴结转移/中央区淋巴结转移的关联性显著( $P<0.05$ ), 但优势性亦全部显著( $P<0.05$ ), 提示与金标准结果有一定差异。结论 本研究利用分子风险分层方法揭示了MRG高危分型与PTC中央区淋巴结转移相关, MRG高危分型可能是预测PTC中央区淋巴结转移的潜在指标, 可以为术前评估PTC患者是否存在中央区淋巴结转移提供新的方法。

**关键词:**甲状腺乳头状癌; 淋巴结转移; 分子风险分层; 中央区转移; 二代测序

中图分类号: R736.1

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2025)06-0574-09

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.25030401

引用本文: 张恺, 姚京, 王冰, 等. 基于基因突变的分子风险分层对甲状腺乳头状癌淋巴结转移的预测价值研究 [J]. 解放军医学院学报, 2025, 46 (6): 574-582.

## Predictive value of gene mutations for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma by using molecular risk group method

ZHANG Kai<sup>1</sup>, YAO Jing<sup>2</sup>, WANG Bing<sup>2</sup>, WAN Zheng<sup>2</sup>, LIANG Zhiwen<sup>2</sup>, TIAN Wen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical Service Department of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; <sup>2</sup>Department of Thyroid (Hernia) Surgery, Department of General Surgery, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: TIAN Wen. Email: tianwen301\_cta@163.com

**Abstract: Background** Patients with papillary thyroid carcinoma (PTC) generally have a favorable prognosis, but some may develop lymph node metastasis. However, effective methods for predicting lymph node metastasis in PTC are still lacking. **Objective** To explore the correlation between high-risk molecular subtypes of PTC and lymph node metastasis (LNM) by molecular risk group (MRG). **Methods** Genetic testing was performed using next-generation sequencing technology (NGS) on postoperative specimens of PTC patients who underwent surgery in the Department of Thyroid (Hernia) Surgery, the First Medical Center of PLA General Hospital from November 2021 to March 2024. Molecular risk stratification was performed for 39 genetic variants, while clinicopathological data of the patients were collected. Logistic regression analysis was conducted to identify factors associated with lymph node metastasis, and the predictive performance of the molecular risk gene (MRG) was evaluated. **Results** A total of 74 PTC patients were enrolled, including 23 males (31.1%) and 51 females (68.9%). The age ranged from 17 to 69 years, with a median age of (40.16±12.59) years. A total of 39 gene mutations were detected in 74 PTC patients, including 37 SNV/Indel and 2 fusion genes, with a mutation rate of 100%. MRG high-risk classification was found in 38 cases (51.35%) and low-risk classification in 36 cases (48.65%). The relationship between MRG classification and clinicopathological features of papillary

收稿日期: 2025-03-26

第一作者: 张恺, 硕士。Email: 18210130179@163.com

通信作者: 田文, 硕士, 主任医师, 教授。Email: tianwen301\_cta@163.com

thyroid carcinoma showed that the presence of capsular invasion was significantly related to MRG high-risk classification ( $P=0.035$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that MRG high-risk classification was an independent risk factor for LNM/CLNM/LLNM in PTC patients ( $OR=3.080/2.545/1.443$ ,  $P<0.05$ ). Paired four-grid table analysis showed that MRG high-risk classification had a certain evaluation efficacy for lymph node metastasis, central lymph node metastasis and lateral cervical lymph node metastasis, and the AUC was 0.729, 0.671 and 0.601, respectively. Statistical inference showed that MRG high-risk classification was significantly associated with lymph node metastasis/central lymph node metastasis ( $P<0.05$ ), but the dominance (difference test) was also significant ( $P<0.05$ ), suggesting that it was different from the gold standard. **Conclusion** MRG high-risk classification is associated with central lymph node metastasis in PTC by molecular risk stratification method. MRG high-risk classification may be a potential indicator for predicting central lymph node metastasis in PTC, which is a new method for preoperative evaluation of central lymph node metastasis in PTC patients.

**Keywords:** papillary thyroid carcinoma; lymph node metastasis; molecular risk group; central compartment metastasis; next-generation sequencing

**Cited as:** Zhang K, Yao J, Wang B, et al. Predictive value of gene mutations for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma by using molecular risk group method[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(6): 574-582.

甲状腺癌(thyroid carcinoma, TC)中甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最为常见的类型, 约占全部TC的90%<sup>[1]</sup>。一般来说, PTC通过手术切除、内分泌综合治疗、放射性核素 $I^{131}$ 治疗等, 预后总体良好。然而有一部分甲状腺癌仍表现出较强的侵袭性, 包括甲状腺外侵犯、血管侵犯、淋巴结转移和远处转移等, 其中最为常见的是淋巴结转移(lymph node metastasis, LNM), 约80%的乳头状癌患者可能出现颈部淋巴结转移, 其中VI区淋巴结转移最为常见。发生淋巴结转移的患者复发率高达30%, 严重影响患者的生存时间和生活质量<sup>[2]</sup>。目前术前超声是检测甲状腺癌淋巴结转移的主要手段, 但准确率有限。随着分子生物学技术的广泛应用, 二代测序技术(next-generation sequencing, NGS)已经成为肿瘤研究的重要手段, 而基因突变作为甲状腺癌的重要驱动力, 其与患者淋巴结转移之间的复杂关系也逐渐浮出水面。已有研究表明, BRAF V600E突变的PTC患者淋巴结转移的概率显著提高, 可以作为PTC的潜力标记物。但也有研究表明BRAF V600E与淋巴结转移关联性不显著<sup>[3-4]</sup>。由此可见, 在一定程度上, 分子水平检测能够预测淋巴结转移的发生, 但仍具有一定的局限性和不确定性。近年来, 分子风险分层(molecular risk group, MRG)已纳入第3版甲状腺细胞病理Bethesda报告系统(TBSRTC 2023)<sup>[5-6]</sup>, 但其在中国人群中的验证仍为空白。本研究运用NGS技术, 对PTC患者进行基因检测, 探讨MRG分型与我国PTC患者淋巴结转移之间的关系, 为术前评估甲状腺乳头状癌是否存在淋巴结转移提供新的方法。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取2021年11月—2024年3月在解放军总医院第一医学中心甲状腺(疝)外科进行手术的PTC患者。纳入标准: (1)接受外科手术治疗; (2)术前未针对肿瘤采取放疗、化疗的辅助治疗; (3)术后经病理或免疫组化检查证实为甲状腺乳头状癌; (4)结节 $\geq 1$  cm, 无远端器官转移, 无其他部位肿瘤。排除标准: (1)合并其他甲状腺疾病; (2)合并其他原发恶性肿瘤; (3)临床资料不完整。本研究获解放军总医院医学伦理委员会批准(伦审第S2022-587-01号), 患者及家属均知情同意。

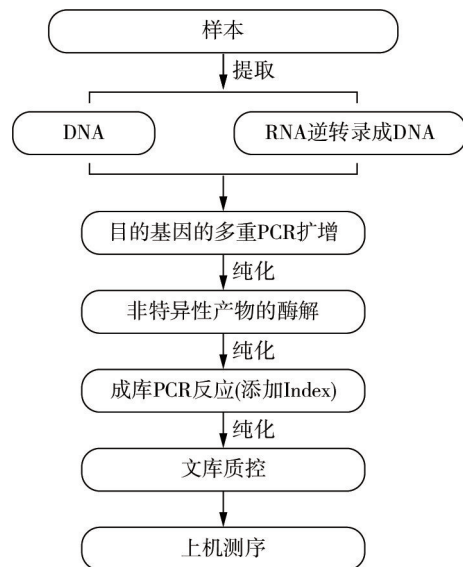
### 1.2 基因组DNA提取、文库构建和测序

文库构建: 收集患者对应的癌组织, 置入液氮中冷冻储存。对肿瘤样本核酸提取后进行文库构建, 使用甲状腺癌NGS panel(上海睿璟生物科技有限公司)人甲状腺癌基因检测试剂盒(扩增测序法)进行测序文库的制备。文库经过纯化后, 使用Qubit荧光定量仪(Thermo Fisher)测定浓度, 在NovaSeq6000平台(Illumina)进行150 bp双端测序。试剂盒检测流程见图1。

### 1.3 生物信息学分析

生物信息学分析: 使用Cutadapt(v1.18)去除原始测序reads两端的接头序列和低质量碱基。然后使用BWA(v0.7.17)将处理后的reads与人参考基因组(hg19)进行比对。通过VarScan2(v2.4.4)进行SNV/InDel分析, 并用VEP对基因变异进行注释。基因融合采用自定义脚本基于融合转录本序列进行分析。

基因检测结果分子分层: 参考Bethesda指南中的分组, 将多基因分子检测结果分为MRG高危组



文库：提取肿瘤样本核酸后，将其核酸片段进行打断、末端修复、加接头等，最终转化为一组具有特定结构和特征的核酸片段集合，并以测序仪可识别测序的信息形式建库，即文库。

图1 试剂盒检测流程简图

Fig. 1 Kit testing process diagram

和MRG低危组。MRG高危组包括驱动基因(BRAF V600E突变或RET融合)合并其他恶性突变类型(RAS、TERT、NTRK、TP53等突变)，其余归为MRG低危组。

#### 1.4 统计学方法

统计分析均使用R (v 4.3.2)软件。对连续变量进行正态性检验(Shapiro-Wilk检验)，数据呈正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用 $t$ 检验；数据呈非正态分布以 $M(IQR)$ 表示，组间比较采用Wilcoxon秩和检验；分类变量以例数(百分比)表示，组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher精确检验(当样本量较小或预期频数 $<5$ 时)。采用多因素Logistic回归分析评估MRG高危对甲状腺乳头状癌中央区淋巴结转移的独立影响，并使用逐步回归法(向后选择法)进行变量筛选。采用配对四格表评估价值分析方法，ROC曲线分析MRG对各类淋巴结转移情况的评估/预测效能。本研究所有统计分析均为双侧检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者的临床信息及病理特征

被纳入的74例PTC患者，男性23例(31.1%)，女性51例(68.9%)；年龄17~69岁，发病年龄(40.16 $\pm$ 12.59)岁。56例(75.68%)发生淋巴结转移，其中26例发生中央区合并侧颈区淋巴结转移，26例仅发生中央区淋巴结转移，4例仅发生侧颈区淋

巴结转移。见表1。

表1 甲状腺乳头状癌患者临床信息(n=74)

Tab. 1 Clinicopathological features of PTC patients (n=74)

指标	结果	指标	结果
年龄/(岁, $\bar{x}\pm s$ )	40.16 $\pm$ 12.59	BMI/(例, %)	
<55岁	64(86.49)	$\leq 23.9$ kg/m <sup>2</sup>	31(41.89)
$\geq 55$ 岁	10(13.51)	24~27.9 kg/m <sup>2</sup>	28(37.84)
性别/(例, %)		$\geq 28$ kg/m <sup>2</sup>	15(20.27)
男	23(31.08)	超声异常淋巴结/(例, %)	
女	51(68.92)	有	35(47.30)
肿瘤体积/(cm <sup>3</sup> , $\bar{x}\pm s$ )	4.39 $\pm$ 5.66	无	39(52.70)
肿瘤位置/(例, %)		淋巴结转移/(例, %)	
单侧	45(60.81)	有	56(75.68)
双侧	29(39.19)	无	18(24.32)
肿瘤灶数/(例, %)		中央区淋巴结转移/(例, %)	
单灶	35(47.30)	有	52(70.27)
多灶	39(52.70)	无	22(29.73)
有无被膜侵犯/(例, %)		侧颈区淋巴结转移/(例, %)	
有	64(86.49)	有	30(40.54)
无	9(12.16)	无	44(59.46)
未知	1(1.35)	BRAF V600E突变/(例, %)	
AJCC 8th T分期/(例, %)		是	66(89.19)
T1	24(32.43)	否	8(10.81)
T2	20(27.03)	联合变异/(例, %)	
T3	13(17.57)	是	50(67.57)
T4	17(22.97)	否	24(32.43)

AJCC 8th T分期为美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)制定的甲状腺癌第8版TNM分期。联合变异:非单点变异,多个基因在同一PTC患者发生突变。

### 2.2 基因变异检测结果及MRG分层

74例甲状腺乳头状癌患者完成177 panel基因联合检测，共检查出39种基因变异，其中SNV/Indel 37种，基因融合2种，基因变异率为100%。发生基因变异的病例中，66例发生BRAF V600E基因变异，变异率为89.2%，其中BRAF V600E单独突变20例(27.0%)，联合其他基因突变46例(62.1%)。KMT2C基因突变占比仅次于BRAF V600E，为14例(19.0%)。另外，检出5例融合变异(3例CCDC6-RET，1例NCOA4-RET，1例ETV6-NTRK)，且均不与BRAF V600E共同出现。基因变异检出、年龄、性别、淋巴结转移的瀑布图见图2。根据基因变异检出结果，74例样本按照MRG分型原则分组，有38例(51.35%)检测结果被归类为MRG高危组，36例(48.65%)检测结果被归为MRG低危组。

### 2.3 MRG分型与甲状腺乳头状癌临床病理学特征

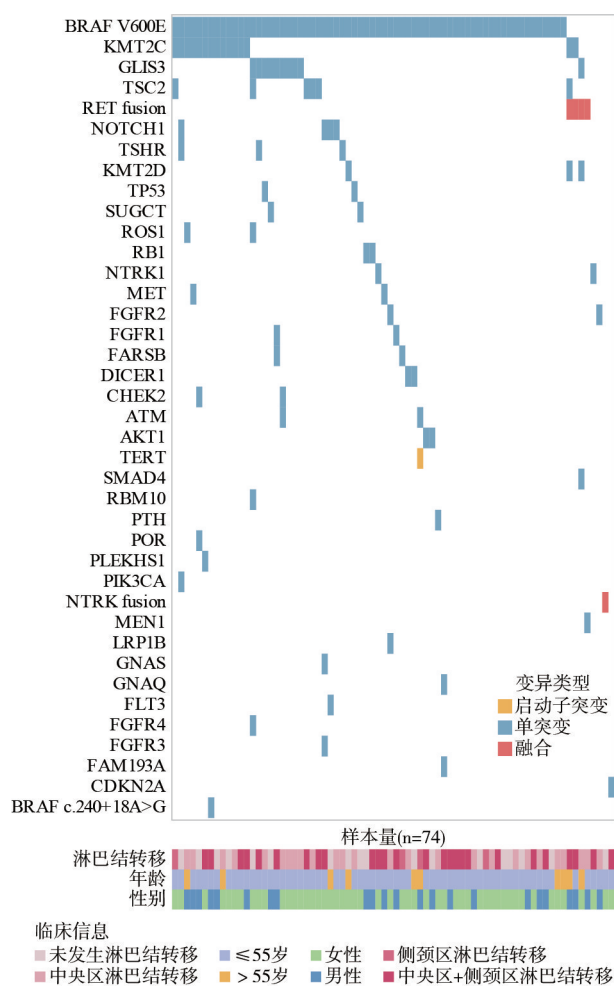


图 2 基因变异检出、年龄、性别、淋巴结转移的瀑布图  
Fig. 2 Waterfall map of gene mutation detection, age, sex, and lymph node metastasis

### 的关系

比较 MRG 高危与低危组的年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤灶数、被膜侵犯情况、体质量指数 (body mass index, BMI)、T 分期情况，发现 MRG 高危组患者发生被膜侵犯概率更高 ( $P=0.035$ )，提示 MRG 高危分型更可能导致被膜侵犯，其他因素均无统计学差异。见表 2。

### 2.4 患者淋巴结转移与高危基因分型的关系——单因素分析

(1)按是否存在淋巴结转移分组比较：以是否存在淋巴结转移，将 74 例甲状腺乳头状癌患者分为无淋巴结转移组 ( $n=18$ ) 和有淋巴结转移组 ( $n=56$ )。比较发现，MRG 高危组患者淋巴结转移比例更高，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )，但不同水平的 BRAF V600E 突变和联合突变组发生淋巴结转移的比例差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 3。

(2)按是否存在中央区淋巴结转移分组比较：

表 2 PTC 临床病理学特征指标在不同 MRG 分型中的分布比较(例, %)

Tab. 2 Relationship between MRG classification and clinicopathological features of PTC (n, %)

指标	MRG 高危组(n=38)	MRG 低危组(n=36)	$\chi^2$ 值	P 值
年龄			-	1.000
<55 岁	33(86.84)	31(86.11)		
≥55 岁	5(13.16)	5(13.89)		
性别			0.009	0.924
男	12(31.58)	11(30.56)		
女	26(68.42)	25(69.44)		
肿瘤位置			0.279	0.598
单侧	22(57.89)	23(63.89)		
双侧	16(42.11)	13(36.11)		
肿瘤灶数			0.845	0.358
单灶	16(42.11)	19(52.78)		
多灶	22(57.89)	17(47.22)		
超声异常淋巴结			1.988	0.159
有	21(55.26)	14(38.89)		
无	17(44.74)	22(61.11)		
被膜侵犯 <sup>a</sup>			-	0.035
有	36(94.74)	28(77.78)		
无	2(5.26)	8(22.22)		
BMI			0.303	0.859
≤23.9 kg/m <sup>2</sup>	17(44.74)	14(38.89)		
24 ~ 27.9 kg/m <sup>2</sup>	14(36.84)	14(38.89)		
≥28 kg/m <sup>2</sup>	7(18.42)	8(22.22)		
T 分期			0.449	0.930
T1	13(34.21)	11(30.56)		
T2	9(23.68)	11(30.56)		
T3	7(18.42)	6(16.67)		
T4	9(23.68)	8(22.22)		

<sup>a</sup> Fisher 精确概率检验, 无统计量。

将 74 例甲状腺乳头状癌患者分为无中央区淋巴结转移组 ( $n=22$ ) 和有中央区淋巴结转移组 ( $n=52$ )。比较发现，MRG 高危组患者中央区淋巴结转移比例更高，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )，提示 MRG 高危分型患者更容易发生中央区淋巴结转移，但不同水平的 BRAF V600E 突变和联合突变组发生中央区淋巴结转移的比例差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 4。

(3)按是否存在侧颈区淋巴结转移分组比较：将 74 例甲状腺乳头状癌患者分为无侧颈区淋巴结转移组 ( $n=44$ ) 和有侧颈区淋巴结转移组 ( $n=30$ )。比较发现，MRG 高危组、BRAF V600E 突变和联合突变组发生侧颈区淋巴结转移的比例差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 5。

表3 高危基因分型不同表达水平组间淋巴结转移  
概率比较(例,%)

Tab. 3 Analysis of correlation between lymph node  
metastasis and high-risk genotyping (n, %)

高危基因分型	转移 (n=56)	未转移 (n=18)	$\chi^2$ 值	P值
MRG			11.454	0.001
高危	35(62.5)	3(16.67)		
低危	21(37.5)	15(83.33)		
BRAF V600E突变 <sup>a</sup>			-	0.670
有	49(87.5)	17(94.44)		
无	7(12.5)	1(5.56%)		
联合变异			0.009	0.925
有	38(67.86)	12(66.67)		
无	18(32.14)	6(33.33)		

<sup>a</sup>Fisher精确概率检验,无统计量。

表4 高危基因分型不同表达水平组间中央区淋巴结转移  
概率比较(例,%)

Tab. 4 Correlation analysis of central lymph node  
metastasis and high risk genotyping (n, %)

高危基因分型	转移 (n=52)	未转移 (n=22)	$\chi^2$ 值	P值
MRG			7.266	0.007
高危	32(61.54)	6(27.27)		
低危	20(38.46)	16(72.73)		
BRAF V600E突变 <sup>a</sup>			-	0.422
有	45(86.54)	21(95.45)		
无	7(13.46)	1(4.55)		
联合变异			0.005	0.941
有	35(67.31)	15(68.18)		
无	17(32.69)	7(31.82)		

<sup>a</sup>Fisher精确概率检验,无统计量。

表5 高危基因分型不同表达水平组间侧颈区淋巴结转移  
概率比较(例,%)

Tab. 5 Analysis of correlation between lateral cervical  
lymph node metastasis and high-risk genotyping (n, %)

高危基因分型	转移 (n=30)	未转移 (n=44)	$\chi^2$ 值	P值
MRG			2.900	0.089
高危	11(36.67)	25(56.82)		
低危				
BRAF V600E突变 <sup>a</sup>			-	0.707
有	4(13.33)	4(9.09)		
无				
联合变异			0.019	0.891
有	10(33.33)	14(31.82)		
无	19(63.33)	19(43.18)	2.900	0.089

<sup>a</sup>Fisher精确概率检验,无统计量。

## 2.5 患者淋巴结转移与高危基因分型的关系—— 多因素 Logistic 回归

由表3~表5知,MRG高危分型均与淋巴结转移关联( $P<0.05$ 或 $P<0.1$ ),故再进行多因素 Logistic 回归确认。因变量分别为淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移。自变量即MRG分型,并结合临床专家意见及表2,将有无被膜侵犯、超声发现异常淋巴结也作为自变量。回归采用逐步后退法( $\alpha_{进}=0.05$ , $\alpha_{出}=0.10$ ),结果显示MRG高危分型均是PTC患者淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移的独立关联因素( $P<0.05$ )。见表6、图3。

表6 淋巴结转移的关联因素的多因素 Logistic 回归结果

Tab. 6 Multivariate logistic regression analysis of central  
lymph node metastasis

因变量Y	自变量X	$\beta$ 值	S $\bar{x}$	Wald $\chi^2$	P值	OR	95% CI
淋巴结转移	MRG分型	1.125	0.312	12.976	<0.001	3.080	1.670~5.681
中央区淋巴结转移	MRG分型	0.934	0.335	7.790	0.005	2.545	1.321~4.903
侧颈区淋巴结转移	MRG分型	0.367	0.176	4.346	0.037	1.443	1.022~2.038

回归哑变量赋值编码:因变量Y(淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移),均为1=是,0=否;自变量(MRG分型),1=MRG高危分型,0=MRG低危分型。

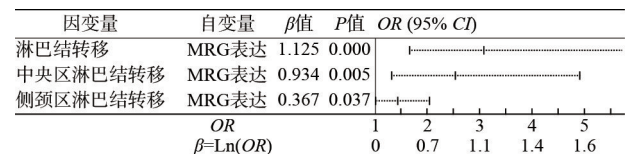


图3 多因素 Logistic 回归风险模型森林图

Fig. 3 Forest plot of risk models from multivariate  
Logistic regression

## 2.6 患者MRG高危分型对淋巴结转移的评估/预测效能

以病理结果为金标准(74例样本中,淋巴结转移56例,中央区淋巴结转移52例,侧颈区淋巴结转移30例),分别对MRG分型判断的结果(高危分型为阳性样本+,低危分型为阴性样本-),进行配对四格表评估价值分析,结果见表7。对应的AUC图(单折点ROC曲线)见图4。由其知:MRG高危分型对淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移均有一定的评估效能( $AUC=0.729$ 、 $0.671$ 、 $0.601$ )。MRG高危分型对淋巴结转移/中央区淋巴结转移的关联性显著( $P<0.05$ ),提示MRG高危确实能一定程度上反映/评估淋巴结转移/中央

区淋巴结转移状况。但优势性(差异性检验)亦全部显著( $P < 0.05$ ), 提示与金标准结果有一定差异。

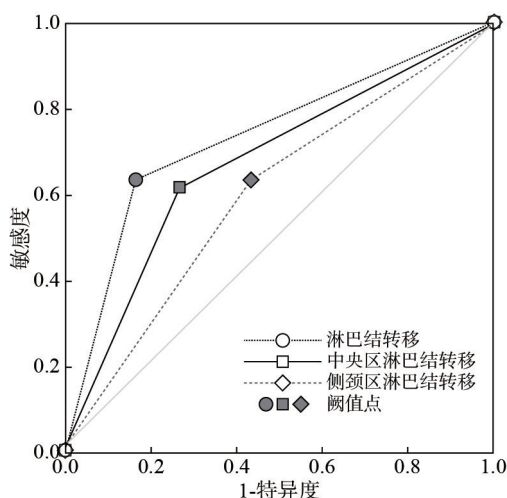


图4 患者高危基因分型MRG对淋巴结转移的评估/预测效能的ROC曲线

Fig. 4 ROC curves of MRG in evaluating/predicting different lymph node metastasis

### 3 讨论

大多数PTC患者病灶较为局限, 通过手术切除、内分泌综合治疗、放射性核素 $I^{131}$ 治疗等, 预后总体良好, 复发率相对较低。但若PTC发生了淋巴结转移, 复发率会相对较高, 淋巴结转移已被确定为PTC患者手术后出现复发的主要风险因素<sup>[7-8]</sup>。目前, 甲状腺切除手术和彻底合理的颈部淋巴结清扫是公认的治疗DTC的首选方法<sup>[9]</sup>, 而

术前预测PTC是否存在淋巴结转移还缺少有效的分子分型指标。因此, 研究探索PTC淋巴结状态的风险因素, 发现更多的潜在预测指标, 有助于外科医师评估患者病情进展, 制定更加合理的个体化治疗方案, 并确定是否需要预防性淋巴结清扫, 进而提高患者的生存率和生活质量。本研究运用分子风险分层方法, 发现MRG高危分型预测PTC淋巴结转移具有一定的有效性, 可能成为术前评估PTC淋巴结转移的预测新指标。

目前, 随着在分子水平上对甲状腺癌研究的不断深入, 越来越多的基因突变被发现与甲状腺癌的发生、进展和侵袭有关, 但单一基因的预测性能均存在争议。RAS基因是人类癌症中最常见的突变癌基因, 其介导信号级联反应, 可通过RAS-RAF-MEK-ERK通路或与PI3K/AKT通路的相互作用促进甲状腺肿瘤发生<sup>[10]</sup>。Kakarmath等<sup>[11]</sup>发现, RAS突变的患者发生淋巴结转移较少, 认为其更倾向于惰性。而Ma等<sup>[12]</sup>研究发现NRAS可能是cN0甲状腺滤泡癌中央区淋巴结转移的独立因素( $P < 0.001$ )。BRAF V600E突变在甲状腺癌中极为常见, 约占所有BRAF突变的99%, 在我国PTC患者中发生率最高可达90%以上<sup>[13]</sup>。Qu等<sup>[14]</sup>对413例PTC患者的临床病理信息进行回顾性分析发现, BRAF V600E突变与中央区淋巴结转移有关。Ji和Shi<sup>[15]</sup>进行的一项Meta分析认为, BRAF突变是cN0 PTC中CLNM的重要预测因子( $OR=2.02$ , 95%  $CI: 1.57 \sim 2.59$ ), 然而BRAF突变在cN0 PTC

表7 患者高危基因分型MRG对淋巴结转移的评估/预测效能(配对四格表评估价值分析)

Tab. 7 Efficacy of high-risk genotyping MRG in predicting lymph node metastasis (paired four-fold table evaluation value analysis)

指标	淋巴结转移			
	MRG 高危/低危	中央区淋巴结转移 MRG 高危/低危	侧颈区淋巴结转移 MRG 高危/低危	
金标准(病理诊断)	阳性	35/21	32/20	19/11
	阴性	3/15	6/16	19/25
评估阈值	+/High	+/High	+/High	
AUC	0.729	0.671	0.601	
评估效能参数	敏感度(n/N)	0.625(35/56)	0.615(32/52)	0.633(19/30)
	特异度(n/N)	0.833(15/18)	0.727(16/22)	0.568(25/44)
	准确度(n/N)	0.676(50/74)	0.649(48/74)	0.595(44/74)
	约登指数	0.458	0.342	0.201
	阳性预测值(n/N)	0.921(35/38)	0.842(32/38)	0.500(19/38)
	阴性预测值(n/N)	0.417(15/36)	0.444(16/36)	0.694(25/36)
	一致性系数Kappa	0.342(一致性一般)	0.290(一致性一般)	0.193(一致性较差)
统计推断	关联性检验( $\chi^2, P$ )	9.693, 0.002	5.959, 0.015	2.149, 0.143
	优势性检验( $\chi^2, P$ )	28.645, <0.001	31.541, <0.001	37.627, <0.001

本配对4格表的源数据,均采集于表3~表5。

中预测 CLNM 的性能并不理想。Chen 等<sup>[16]</sup>研究发现, TERT 突变是 PTC 患者预后不良的独立预测因素, 而 BRAF V600E 突变的预测价值尚无定论, 但 TERT 启动子突变与 BRAF 突变同时存在时, 与单一突变的患者相比, 不良后果的风险明显更高。Li 等<sup>[17]</sup>研究发现 TERT 突变与淋巴结转移无显著相关性( $P=0.33$ ), 但具有显著的异质性。TP53 是一种抑癌基因, 有研究表明约 26% 的甲状腺低分化癌和约 80% 的甲状腺未分化癌存在 TP53 基因突变<sup>[18]</sup>。TP53 基因突变在甲状腺癌进展中的作用更倾向于晚期改变。Novis 等<sup>[19]</sup>在一项前瞻性研究中发现, TP53 缺失是晚期甲状腺癌的特征, 与患者总生存期相关。Morita 等<sup>[20]</sup>研究发现, 原发性肿瘤、较大肿瘤中 P53 基因表达、淋巴结转移的存在与淋巴结转移的平均数量之间存在显著相关性。此外, Abdelhafez 等<sup>[21]</sup>表明, P53 是否突变与肿瘤大小和 T 分期显著相关。然而, Shin 等<sup>[22]</sup>研究结果表明, P53 蛋白过表达与 PTC 的临床病理特征(包括年龄、性别、肿瘤大小、多样性、淋巴结转移和甲状腺外侵犯等)之间无显著相关性。NTRK 基因融合是肿瘤的致癌驱动因素, 但在甲状腺癌患者中检出率较低(2.2%~2.3%)<sup>[23]</sup>。Kerr 等<sup>[24]</sup>在 NTRK 基因重排甲状腺癌中发现了多态性、远处转移和侵袭性等特征, 提示 NTRK 基因改变可能具有一定的诊断潜力。董文彦等<sup>[25]</sup>的研究提示, 目前很难确定 NTRK 融合蛋白在甲状腺癌中的细胞和组织特异性表达模式, 可能是因为样本量的限制或 NTRK 融合蛋白的多样性。

从以上研究结果中可以看出, 单基因突变或基因联合变异预测甲状腺乳头状癌淋巴结转移有一定争议。而在本研究入组病例中, 未检测出 RAS 基因突变, TP53、TERT、NTRK 基因突变检出率较低但患者均发生淋巴结转移; BRAF V600E 基因突变在转移与未转移组中占比相近(87.5% vs 94.4%), 这个结果也可能是因样本中 BRAF V600E 突变率过高导致统计效能不足。基于本研究入组患者基因突变情况, 我们把检测结果分为联合突变组(co-mutation 组)和非联合突变组, 分析发现其与淋巴结转移、中央区淋巴结转移和侧颈区淋巴结转移均无相关性, 因此基于本研究基因检测结果的解读需要采用更为新颖的方法。在美国甲状腺协会指南中, BRAF V600E 和 TERT 是 PTC 的高危影响因素; 在甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南(第 2 版)中, 将多基因检测结果提示病灶携

带高危突变组合, 如 BRAF V600E/RAS 变异合并 TERT 或 TP53 变异、RAS 变异合并 EIF1AX 变异等, 定义为 DTC 的高危初始复发风险分层<sup>[26]</sup>。这提示我们, 可以采用分子风险分层方法对多基因检测结果进行更为科学合理的分类和解读。

甲状腺癌风险分层定义由来已久<sup>[27-28]</sup>。MRG 概念收录于 2023 年的 TBSRTC 指南, 但并没有基于我国人群的 MRG 分子分型与淋巴结转移相关性的研究。在 TCGA 研究中, 提出了 RAS-like 和 BRAF-like 的分子分型可对 PTC 的恶性程度做出分类的观点<sup>[29]</sup>。此分型观点也被收录于 2022 年最新版的 WHO 指南中。Steward 等<sup>[30]</sup>将检测到的多种基因变异分子事件分为 5 组分型(高危、BRAF-like、RAS-like、CNAs 和基因表达改变), Yip 等<sup>[31]</sup>在其基础上, 提出低、中、高三分层的 MRG, 低风险 MRG 包括作为唯一事件出现的 RAS 和 RAS-like 改变, 中危 MRG 包括 BRAF V600E、其他 BRAF 类改变和 CNA, 高危 MRG 包括 1 个早期突变和 1 个晚期突变(TERT、TP53、AKT1 和 PIK3CA)。MRG 概念提出后, 多篇文章基于此做了研究, 并于 2023 年收录于 TBSRTC 指南中: 肿瘤分子特征与预后之间的关系已被充分描述, 因此可将肿瘤分为低、中和高分子风险分层<sup>[6]</sup>。通常, 低分子风险组以单个 RAS 突变或 RAS-like 变异为代表; 中分子风险组包括 BRAF V600E 突变、其他 BRAF-like 变异或拷贝数改变; 高分子风险组的特征是同时出现上述 1 种驱动基因改变以及 TERT、TP53、AKT1 和(或) PIK3CA 等基因的突变; 这一分型有助于鉴别出甲状腺癌不同的预后风险。TCGA 提出的 BRAF-like 分型侧重转录组特征, 而 MRG 高危分型更强调驱动基因的叠加突变, 两者在风险分层逻辑上存在差异。基于 MRG 分子分型规则, 本研究对 177 panel 检出的结果做了风险分层, 并初步探索验证了分子风险分层与淋巴结转移的相关性, 在多因素 Logistic 回归分析中发现, MRG 高危分型是淋巴结转移、中央区淋巴结转移、侧颈区淋巴结转移的独立关联因素, 但 MRG 高危分型与侧颈区淋巴结转移在预测、评估效能检验中一致性较差, 并且单因素分析中 MRG 高危分型与侧颈区淋巴结转移的相关性无统计学意义, 这可能也与分组后样本量降低有关。因此 MRG 高危分型可能是中央区淋巴结转移的预测指标, 尚不能作为侧颈区淋巴结转移的预测指标。本研究结果提示, 对确诊甲状腺乳头状癌的

患者术前进行NGS检测,如结果为MRG高危分型,可以考虑手术时行预防性中央区淋巴结清扫术。而MRG低危分型患者是否可以考虑不进行预防性清扫,由于本研究样本量、时间跨度、取材选择等限制,尚不明确,我们下一步将开展多中心、大样本分析进一步论证。

本研究基于本中心病例样本验证MRG分型与PTC患者淋巴结转移的相关性,对运用NGS技术检测PTC的基因突变结果分型提出了更科学合理的方案,为我国人群MRG的临床应用提供了数据支持。本研究的局限性:(1)入组患者较少且分组并不均衡,一些因素没有相关性,可能是受样本数量的影响;(2)单中心研究,且样本较少、时间跨度过短,单中心、小样本设计可能导致选择偏倚。下一步需要开展多中心研究,验证MRG分型在更大样本中的普适性,并探索其与RAS、TERT、TP53、NTRK等基因突变的协同效应。

综上所述,本研究发现MRG高危分型可以作为PTC患者中央区淋巴结转移的独立关联因素,在临床诊疗中,有望成为术前评估甲状腺癌患者是否存在淋巴结转移的潜力指标。

**作者贡献** 张恺:研究设计及实施,收集数据资料,统计分析结果,论文撰写修改;姚京、王冰:审阅研究思路,对文章进行指导;万政、梁志雯:实验标本收集,数据资料收集;田文:全面指导研究设计,对研究整体思路、方法、结果等进行把关,对文章内容作整体审阅。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突。

**数据共享声明** 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取,Email: 18210130179@163.com。

#### 参考文献

- 1 安文超,于文斌.甲状腺癌相关基因检测的研究进展[J].中国肿瘤外科杂志,2024,16(3):308-313.
- 2 金海龙,张毅,潘炯.淋巴结转移率与甲状腺乳头状癌患者术后复发及预后的相关性[J].中国综合临床,2019,35(1):14-17.
- 3 吴文年,白超,杨镇玮,等.BRAFV600E基因与甲状腺乳头状癌的相关性研究[J].新疆医学,2021,51(8):877-881.
- 4 Fang YQ, Zheng X, Zou XH, et al. Genetic and clinical profiles of 160 papillary thyroid cancers with lateral neck lymph node metastasis [J]. Front Oncol, 2023, 12: 1057532.
- 5 Schumm MA, Shu ML, Hughes EG, et al. Prognostic value of preoperative molecular testing and implications for initial surgical management in thyroid nodules harboring suspected (Bethesda V) or known (Bethesda VI) papillary thyroid cancer [J]. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2023, 149(8): 735-742.
- 6 Ali SZ, Baloch ZW, Cochand-Priollet B, et al. The 2023 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology [J].

- Thyroid, 2023, 33(9): 1039-1044.
- 7 Mao JX, Zhang QH, Zhang HY, et al. Risk factors for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11: 265.
- 8 Song WJ, Um IC, Kwon SR, et al. Predictive factors of lymph node metastasis in papillary thyroid cancer [J]. PLoS One, 2023, 18(11): e0294594.
- 9 Yuan JR, Li JH, Chen XY, et al. Predictors of lymph nodes posterior to the right recurrent laryngeal nerve metastasis in patients with papillary thyroid carcinoma: a retrospective study [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(35): e7908.
- 10 Bahar ME, Kim HJ, Kim DR. Targeting the RAS/RAF/MAPK pathway for cancer therapy: from mechanism to clinical studies [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 455.
- 11 Kakarmath S, Heller HT, Alexander CA, et al. Clinical, sonographic, and pathological characteristics of RAS-positive versus BRAF-positive thyroid carcinoma [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(12): 4938-4944.
- 12 Ma T, Wang LL, Zhang XY, et al. A clinical and molecular pathology prediction model for central lymph node metastasis in CN0 papillary thyroid microcarcinoma [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1075598.
- 13 Rashid FA, Munkhdelger J, Fukuoka J, et al. Prevalence of BRAFV600E mutation in Asian series of papillary thyroid carcinoma—a contemporary systematic review [J]. Gland Surg, 2020, 9(5): 1878-1900.
- 14 Qu HJ, Qu XY, Hu Z, et al. The synergic effect of BRAFV600E mutation and multifocality on central lymph node metastasis in unilateral papillary thyroid carcinoma [J]. Endocr J, 2018, 65(1): 113-120.
- 15 Ji JQ, Shi XL. Gene mutations as predictors of central lymph node metastasis in CN0 PTC A meta-analysis [J]. Clin Genet, 2024, 105(2): 130-139.
- 16 Chen BJ, Shi Y, Xu YN, et al. The predictive value of coexisting BRAFV600E and TERT promoter mutations on poor outcomes and high tumour aggressiveness in papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2021, 94(5): 731-742.
- 17 Li SY, Xue JY, Jiang K, et al. TERT promoter methylation is associated with high expression of TERT and poor prognosis in papillary thyroid cancer [J]. Front Oncol, 2024, 14: 1325345.
- 18 Romei C, Elisei R. A narrative review of genetic alterations in primary thyroid epithelial cancer [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1726.
- 19 Novis E, Glover A, Grady JP, et al. Oncogenic mutations in the TP53 and PI-3 kinase/AKT pathway are independent predictors of survival for advanced thyroid cancer: Analysis from the Molecular Screening and Therapeutics (MoST) program [J]. Surgery, 2025, 177: 108858.
- 20 Morita N, Ikeda Y, Takami H. Clinical significance of p53 protein expression in papillary thyroid carcinoma [J]. World J Surg, 2008, 32(12): 2617-2622.
- 21 Abdelhafez DN, Ayoub MM, Mahmoud SA, et al. YAP1 and P53 expression in papillary thyroid carcinoma [J]. Iran J Pathol, 2023, 18(1): 49-56.
- 22 Shin MK, Kim JW, Min SK, et al. Associations of the BRAF (V600E) mutation and p53 protein expression with clinicopathological features of papillary thyroid carcinomas patients [J]. Oncol Lett, 2015, 10(3): 1882-1888.
- 23 Rosen EY, Goldman DA, Hechtman JF, et al. TRK fusions are enriched in cancers with uncommon histologies and the absence of

- canonical driver mutations [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26 (7): 1624-1632.
- 24 Kerr DA, Gutmann EJ, Liu XY. Building on recent cytomorphic descriptions of NTRK-rearranged thyroid carcinoma [J]. *Cancer Cytopathol*, 2021, 129 (7): 566-567.
- 25 董文彦, 孙德正, 方敏, 等. 甲状腺癌中NTRK基因融合的研究进展 [J]. *海军军医大学学报*, 2025, 46 (1): 103-110.
- 26 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.
- 27 Kurtom S, Liu JB, Doerfler WR, et al. Tumor size and molecular risk group are associated with differentiated thyroid cancer recurrence [J]. *Surgery*, 2025, 177: 108838.
- 28 Dong Y, Wang D, Luo YS, et al. Comprehensive evaluation of risk factors for lymph node metastasis in patients with papillary thyroid carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21 (3): 188.
- 29 Harahap AS, Subekti I, Panigoro SS, et al. Developing models to predict BRAF V600E and RAS mutational status in papillary thyroid carcinoma using clinicopathological features and pERK1/2 immunohistochemistry expression [J]. *Biomedicines*, 2023, 11 (10): 2803.
- 30 Steward DL, Carty SE, Sippel RS, et al. Performance of a multigene genomic classifier in thyroid nodules with indeterminate cytology: a prospective blinded multicenter study [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5 (2): 204-212.
- 31 Yip L, Gooding WE, Nikitski A, et al. Risk assessment for distant metastasis in differentiated thyroid cancer using molecular profiling: a matched case-control study [J]. *Cancer*, 2021, 127 (11): 1779-1787.

(责任编辑:施晓亚,潘越)

(上接第545页)

- 3 GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet*, 2020, 396 (10258): 1204-1222.
- 4 国家卫生健康委员会. 中国卫生健康统计年鉴-2022 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2022.
- 5 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟 (中国), 中国医疗保健国际交流促进会高血压病学分会, 等. 中国高血压防治指南 (2024年修订版) [J]. *中华高血压杂志 (中英文)*, 2024, 32 (7): 603-700.
- 6 In China TWCOTROCHAD, Hu SS. Report on cardiovascular health and diseases in China 2021: an updated summary [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2023, 20 (6): 399-430.
- 7 Liu SW, Li YC, Zeng XY, et al. Burden of cardiovascular diseases in China, 1990-2016: findings from the 2016 global burden of disease study [J]. *JAMA Cardiol*, 2019, 4 (4): 342-352.
- 8 Ma QF, Li R, Wang LJ, et al. Temporal trend and attributable risk factors of stroke burden in China, 1990-2019: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Public Health*, 2021, 6 (12): e897-e906.
- 9 国家老年医学中心, 中华医学会老年医学分会, 中国老年保健协会糖尿病专业委员会. 中国老年糖尿病诊疗指南 (2024版) [J]. *协和医学杂志*, 2024, 15 (4): 771-800.
- 10 Type 2 diabetes mellitus [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15039.
- 11 Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109119.
- 12 Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American heart association/national heart, lung, and blood institute scientific statement [J]. *Circulation*, 2005, 112 (17): 2735-2752.
- 13 Han YT, Hu YZ, Yu CQ, et al. Lifestyle, cardiometabolic disease, and multimorbidity in a prospective Chinese study [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42 (34): 3374-3384.
- 14 Lyall DM, Celis-Morales CA, Anderson J, et al. Associations between single and multiple cardiometabolic diseases and cognitive abilities in 474 129 UK Biobank participants [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38 (8): 577-583.
- 15 Han YT, Hu YZ, Yu CQ, et al. Duration-dependent impact of cardiometabolic diseases and multimorbidity on all-cause and cause-specific mortality: a prospective cohort study of 0.5 million participants [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2023, 22 (1): 135.
- 16 Xiao LX, Wang ZY, Li JT, et al. Association of cardiometabolic multimorbidity with all-cause and cardiovascular disease mortality among Chinese hypertensive patients [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2024, 21 (2): 211-218.
- 17 王增武, 王圣, 冯彩霞, 等. 中国卒中患者高血压管理专家共识 [J]. *中国卒中杂志*, 2024, 19 (6): 672-698.
- 18 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会, 郭宁, 等. 中国慢性冠脉综合征患者诊断及治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2024, 52 (6): 589-614.
- 19 Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies [J]. *Lancet*, 2010, 375 (9733): 2215-2222.
- 20 Zhang L, Li XQ, Wolfe CDA, et al. Diabetes as an independent risk factor for stroke recurrence in ischemic stroke patients: an updated meta-analysis [J]. *Neuroepidemiology*, 2021, 55 (6): 427-435.
- 21 Lau LH, Lew J, Borschmann K, et al. Prevalence of diabetes and its effects on stroke outcomes: a meta-analysis and literature review [J]. *J Diabetes Investig*, 2019, 10 (3): 780-792.
- 22 Maida CD, Daidone M, Pacinella G, et al. Diabetes and ischemic stroke: an old and new relationship an overview of the close interaction between these diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (4): 2397.
- 23 Wada S, Yoshimura S, Inoue M, et al. Outcome prediction in acute stroke patients by continuous glucose monitoring [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7 (8): e008744.
- 24 Johnston KC, Bruno A, Pauls Q, et al. Intensive vs standard treatment of hyperglycemia and functional outcome in patients with acute ischemic stroke: the SHINE randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2019, 322 (4): 326-335.

(责任编辑:施晓亚,潘越)