

## · 专 论 Special comment ·

## 精准医学时代甲状腺结节危险分层的“超声-细胞-基因”组学

徐辉雄

【摘要】 甲状腺结节是危害人群健康的常见疾病,过度诊疗和诊疗不足的风险同时存在。如何有效地筛选出甲状腺癌患者,并对甲状腺癌的侵袭性进行精确分层,是当前亟待解决的关键临床和科学问题。“超声-细胞-基因”组学概念提出,有针对性地解决了当前超声灵敏度高而特异度低、细胞学检查存在大量无法诊断或不确定诊断结果、术前基因检测靶点单一且无法区分滤泡性肿瘤等难题。可以预期,“超声-细胞-基因”组学体系的建立和不断完善,将逐步使甲状腺结节危险分层方法实现早期、精确、直观、量化、易行的目标,同时也将为各种新型诊疗方案的选择提供重要依据。

【关键词】 甲状腺结节; 危险分层; 组学; 超声; 细胞学检查; 基因检测

中图分类号:R581 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2020)-10-0963-05

**“Ultrasound-cell-gene” omics for the risk stratification of thyroid nodules in the era of precision medicine** XU Huixiong. Department of Medical Ultrasound, Affiliated Shanghai Tenth People's Hospital, School of Medicine, Tongji University; Shanghai Research Center of Thyroid Diseases; Shanghai Engineering Research Center of Ultrasound Diagnosis and Treatment; National Clinical Research Center of Interventional Medicine, Shanghai 510080, China

Corresponding author: XU Huixiong, E-mail: xuhuixiong@126.com

【Abstract】 Thyroid nodule has been a common disease that endangers the health of population, and clinically the risks of excessive and insufficient diagnosis and treatment are usually coexisting. How to correctly screen out patients with thyroid cancer and precisely stratify the invasiveness of thyroid cancer is the clinical and scientific key issue that needs to be solved urgently. The introduction of the concept of “ultrasound-cell-gene” omics has solved many clinical difficult issues, as this concept aims especially at the following present clinical challenges: for thyroid nodules ultrasonography is of high sensitivity but low specificity, a large number of cases can not be definitely diagnosed by cytology, the preoperative gene detection is usually just testing a single target spot, based on which the follicular tumors can not be distinguished, etc. It can be reasonably and optimistically expected that the establishment and continuous improvement of the “ultrasound-cell-gene” omics system will gradually enable the thyroid nodule risk stratification method to achieve the goals of early, precise, intuitive, quantitative and easy to implement diagnosis, and it will also provide an important guidance for the selection of various new diagnosis and treatment schemes. (J Intervent Radiol, 2020, 29: 963-967)

【Key words】 thyroid nodule; risk stratification; omics; ultrasound; cytological examination; gene detection

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2020.10.001

基金项目:上海市医学领军人才培养计划项目(2019LJ21)、上海市“强主体”临床重点专科建设项目(SHSLCZDZK03502)、上海超声诊疗工程技术研究中心项目(19DZ2251100)

作者单位:510080 上海 同济大学附属第十人民医院超声医学科、上海市甲状腺疾病研究中心、上海超声诊疗工程技术研究中心、国家放射与治疗临床医学研究中心

通信作者:徐辉雄 E-mail: xuhuixiong@126.com

甲状腺结节诊治近年来成为关注焦点,一些争议持续存在。部分学者认为存在过度诊断与过度治疗,也有部分学者认为低估了甲状腺癌侵袭性<sup>[1-3]</sup>。在庞大的甲状腺结节人群中,甲状腺癌不足 5%。如何有效地筛检出甲状腺癌患者,同时对甲状腺癌侵袭性进行精确分层,是当前亟待解决的关键临床和科学问题<sup>[3-4]</sup>。甲状腺结节危险分层的主要方法包括影像学、细胞学和基因检测。影像学检查中以高频超声最常用,细胞学检查则多通过超声引导细针穿刺抽吸(fine needle aspiration,FNA)获取细胞以进一步检查,基因检测能对细胞学不能确定的结节或不典型结节作出准确诊断。以上 3 种方法互为补充,缺一不可,层层递进,构成了甲状腺结节危险分层体系的基轴<sup>[1-5]</sup>。

## 1 甲状腺结节危险分层的“超声-细胞-基因”体系

### 1.1 基于超声影像的甲状腺结节危险分层方法

超声是甲状腺结节首选影像学检查方法,它具有以下优势:实时、高分辨力、无创、无辐射、性价比高、操作简便、容易普及、准确性高。超声诊断甲状腺结节主要基于超声图像上的可疑超声特征,如实性肿物、低回声(或显著低回声)结节、钙化、形态不规则或分叶状、纵横比 $>1$ 、颈部淋巴结转移或周围组织浸润等。以上征象风险不一,在用于判断结节性质时,没有一个征象同时具有很好的灵敏度和特异度。一项 meta 分析纳入 31 个研究 18 288 个甲状腺结节,发现上述征象的灵敏度为 26%~87%,特异度为 40%~93%<sup>[6]</sup>。由此带来一个问题,即不同年资或不同医院的医师诊断水平千差万别,让广大患者及临床医师无所适从。

在此背景下,多种基于超声影像的甲状腺结节危险分层方法应运而生,包括 2015 年美国甲状腺学会(American Thyroid Association,ATA)发布的甲状腺结节危险分层系统,2016 年美国临床内分泌医师学会(American Association of Clinical Endocrinologists,AACE)、美国内分泌学院(American College of Endocrinology,ACE)和意大利临床内分泌协会(Associazione Medici Endocrinologia,AME)联合发布的 AACE/ACE-AME 危险分层系统,以及 2017 年美国放射学院(American College of Radiology,ACR)发布的甲状腺影像报告和数据系统(thyroid imaging reporting and data system,TI-RADS)<sup>[4,7-8]</sup>。这些甲状腺结节危险分层方法标准化了甲状腺超声术语,简化了医师与患者、医师与医师间的交流,还使甲状

腺癌风险程度及应采取的措施一目了然,在不同医院之间也可通过应用相同的系统构建共同的沟通基础,因而在临床上得到了广泛应用。

超声甲状腺结节危险分层方法显著提高了诊断甲状腺恶性结节的灵敏度,但特异度普遍较低;此外,目前并无全球统一的危险分层方法,也给实际应用及交流带来了不便。

### 1.2 超声引导 FNA 细胞学检查

当具备临床适应证时,FNA 细胞学检查被各种甲状腺临床诊疗指南公认为最准确和性价比最高的检查方法。FNA 灵敏度高(88.2%~97.0%),特异度较超声检查有所提高,但波动范围较大(47.0%~98.2%)。FNA 细胞学检查结果多采用统一的 Bethesda 分类系统(Bethesda system for reporting thyroid cytopathology,BSRTC),具体如下:I 类,不能诊断;II 类,良性;III 类,意义不明的不典型或滤泡性病变(atypiao fundetermined significance/follicular lesionofunde termed significance,AUS/FLUS);IV 类,滤泡性肿瘤或可疑滤泡性肿瘤;V 类,可疑恶性;VI 类,恶性<sup>[4]</sup>。根据不同中心的经验,I 类结节发生率为 20%~25%,其中有 20%~30%容易恶变;III 类结节有 5%~30%恶变率;IV 类结节 FNA 无法作出准确诊断;V 类结节中仍有部分为良性。III、IV、V 类结节又统称为不确定(indeterminate)结节,发生率可高达 30%<sup>[4]</sup>。

因此,FNA 尽管有诸多优点,甚至被列为甲状腺结节首选检查方法,但仍存在特异性变化范围大、部分结节不能诊断、细胞学结果不确定等问题。FNA 结果也因为不同中心、不同操作者的穿刺标本取材结果、不同经验的病理医师而有所不同,加强规范化培训、制定统一的指南可部分解决此类问题。此外,基因检测在此基础上能提供更精准的解决方案。

### 1.3 FNA 联合基因检测

对 FNA 抽吸到的细胞同时做基因检测,可以进一步提高诊断特异度和准确度,发现更多良性结节,从而减少不必要的手术。目前研究较多的基因有 BRAF、RAS 基因突变以及 RET/PTC 基因重排等,其中 BRAF 基因突变在甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma,PTC)中最常见,根据人种和检测方法不同,阳性率变化范围在 29%~83%<sup>[4]</sup>。根据同济大学附属第十人民医院超声医学科暨上海市甲状腺疾病研究中心的一组资料,FNA 联合应用 BRAF<sup>V600E</sup> 基因检测后,诊断 PTC 的灵敏度由

75.7%升高至 92.3%,准确度由 78.7%提高至 90.6%。BRAF<sup>V600E</sup>突变在 Bethesda 分类系统 I 类、II 类、III 类、IV 类、V 类、VI 类结节中的检出率分别为 25%、26%、46%、20%、74%、89%<sup>[9]</sup>。在细胞学结果良性结节中,也存在 BRAF<sup>V600E</sup> 基因突变阳性,此时若超声图像可疑征象超过 2 项,仍应考虑甲状腺切除术。BRAF<sup>V600E</sup> 基因也有少数假阳性情况。BRAF<sup>V600E</sup> 突变还可用于预测 PTC 患者颈部淋巴结转移<sup>[10-11]</sup>。最近的研究还发现 HRAS/NRAS/KRAS 突变阳性的甲状腺结节中有 76%为恶性,其中滤泡型 PTC 最为常见。HRAS/NRAS/KRAS 突变阳性恶性风险分别为 92%、74%、64%。

除了以上基因外,半乳糖凝集素(galectin)-3、CD44 分子、人骨髓内皮细胞(human bone marrow endothelial cell, HBME)-1、细胞角蛋白(cytokeratin, CK)19、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)等也有学者进行了研究<sup>[12]</sup>。

最近研究发现在侵袭性甲状腺癌中,端粒酶逆转录酶(TERT)启动子突变发生率较高,TERT 启动子在甲状腺癌中较为常见的突变位点是 C228T。文献报道未分化甲状腺癌中 TERT 启动子突变率为 46.3%,低分化甲状腺癌为 37.5%,PTC 为 11.7%,滤泡性甲状腺癌为 13.9%。同济大学附属第十人民医院超声医学科暨上海市甲状腺疾病研究中心的一组资料发现,PTC 中 TERT 启动子阳性率为 4.8%;TERT 启动子(+)的甲状腺癌,直径更大、腺外侵犯更多、易累及血管、淋巴结转移及远期复发率高<sup>[13]</sup>。

表观遗传学改变(包括印迹基因印迹状态改变)出现在肿瘤发生前,起促进作用。对印迹基因表达原位检测,可在细胞形态学发生改变前发现肿瘤进展,提高早期诊断率。印迹检测方法专注于新生 RNA 内含子,而不是成熟的 mRNA,以显示印迹基因的转录位点。印迹基因检测理论上能够在细胞学和 BRAF 均无法检出时,准确地检出恶性改变,因此具有极高的灵敏度和阴性预测值。同济大学附属第十人民医院超声医学科暨上海市甲状腺疾病研究中心在国内率先开展了甲状腺印迹基因的前瞻性研究,初步结果发现印迹基因能显著提升细胞学不典型结节的诊断性能,并且有望解决滤泡状腺瘤和腺癌细胞学乃至病理学难以鉴别的世纪难题。

综上,FNA 联合基因检测已成为甲状腺癌个体化精准诊断和治疗不可或缺的重要环节。

## 2 甲状腺结节危险分层“超声-细胞-基因”组学时代来临

### 2.1 基于超声组学的甲状腺结节危险分层方法

随着大数据和人工智能(artificial intelligence, AI)兴起,影像组学(radiomics)概念于 2012 年应运而生。影像组学指高通量地提取大量影像信息,实现感兴趣区分割、特征提取与模型建立,进一步从中提取和剥离出真正起作用的关键信息,用于疾病的辅助诊断、分类或分级。影像组学多基于机器学习(machine learning, ML)和深度学习(deep learning, DL)实现。深度学习能够大幅提高分类或预测模型的准确性,但数据量需要传统影像组学的 10 倍或百倍以上。近年来机器学习和深度学习有融合发展的趋势,将深度学习网络输出的特征与影像组学中的经典分类器结合,能在有限的训练数据集上,进一步提升影像组学分类或预测的准确性和可靠性<sup>[14-15]</sup>。

超声组学(ultrasomics)是影像组学的一个重要分支。针对前述超声影像甲状腺结节危险分层方法的局限性,部分学者采用超声组学做了一些有益的探索。Ma 等<sup>[16]</sup>采用卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)分析了 15 000 幅超声图像,报道深度学习鉴别甲状腺结节良恶性的准确度约为 83.0%。Li 等<sup>[17]</sup>采用另一种 CNN 模型,灵敏度为 93.5%,特异度为 81.5%。Akkus 等<sup>[14]</sup>的一组资料发现 CNN 诊断甲状腺结节的灵敏度为 86%、特异度为 90%。中山大学和同济大学团队对 1 040 个病例 3 120 幅图像进行分析,发现超声组学和深度学习的准确性分别为 66.8%和 74.7%,深度学习方法具有更高的诊断效能<sup>[18]</sup>。Akkus 等<sup>[14]</sup>发现,当深度学习的灵敏度设置到最高值时,可以减少 52%不必要 FNA,同时不会漏诊恶性甲状腺结节,证实深度学习的应用有望改变甲状腺结节的诊疗流程。

同济大学附属第十人民医院超声医学科暨上海市甲状腺疾病研究中心赵崇克等建立了一种机器学习与视觉融合的超声组学方法,证实比传统的机器学习方法和 TI-RADS 具有更高的诊断效能(AUC:0.900~0.917 vs. 0.770~0.789 vs. 0.681~0.689);同时发现在引入剪切波弹性成像后,机器学习与视觉融合超声组学方法的诊断效能可得到进一步提升(AUC:0.951~0.953 vs. 0.900~0.917),证实基于双模态的机器学习方法在结节危险分层上具有重要价值,并且与 TI-RADS 比较能显著降低不必要的 FNA(30.0%~37.7% vs. 4.5%~4.7%)<sup>[19]</sup>。

超声组学在实际应用过程中仍存在不同超声



仪器、不同医院、不同年资医师之间图像不一致问题,需要进一步统一仪器条件、统一图像标准、加强医师培训提供标准化的图像。此外,需要进一步完善和标准化影像组学方法,尤其是在目前统一算法和流程尚不成熟的条件下。

## 2.2 基于基因组学的甲状腺结节危险分层方法

由于甲状腺肿瘤的基因异常靶点众多,人群中存在一定异质性,因此多分子联合检测应运而生,以提高诊断的灵敏度和特异度。近年来,Afirma 基因表达分类(gene expression classifier,GEC)方法广泛用于诊断不确定细胞学检查结果的结节,该检测方法包括 167 个差异表达基因。有研究对 49 个研究中心 265 个无法判断细胞性质的结节进行前瞻性研究,证实 GEC 对不典型增生的阴性预测值达到 95%,滤泡状腺瘤达到 94%<sup>[3]</sup>。Afirma GEC 可使 1/3 不确定结节免于不必要手术<sup>[20]</sup>。

尽管 Afirma GEC 方法被众多权威团队和指南推荐,但它对可疑结节的特异度和阳性预测值仍偏低。近期,Afirma GEC 升级版 Afirma 基因组测序分类(genomic sequencing classifier,GSC)引入临床。与 GEC 比较,GSC 对不确定结节的阳性预测值有较大提升(57.1% vs. 36.7%)<sup>[21]</sup>。其他多分子组合还包括 Thyroseq V2(包括 14 个基因-点突变、42 种融合基因、8 个基因表达)、Thyroseq V3(共 112 个基因,包括点突变、插入缺失、融合基因、拷贝数变异、表达异常等)。有报道发现对不典型增生/滤泡状腺瘤,术前 FNA 联合 Thyroseq V2 诊断甲状腺癌的灵敏度为 90.9%,特异度为 92.1%;另一组报道发现 Thyroseq V3 的灵敏度为 98.0%,特异度为 81.8%,准确度达 90.9%;因此,可以应用 Thyroseq V2 和 Thyroseq V3 来指导形成治疗策略<sup>[4,12,22]</sup>。

## 3 结论

总体看,精准医学时代的来临,使得根据“超声-细胞-基因”组学特征对甲状腺结节进行危险分层成为可能。针对甲状腺结节庞大人群,早期、精确、直观、量化、易行的诊断方法是开展甲状腺结节危险分层所追求的目标。“超声-细胞-基因”组学体系的建立和不断完善,是实现这一目标的重要途径,同时也为各种新型诊疗方案的选择提供了重要依据<sup>[23-27]</sup>。

### [参考文献]

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA

Cancer J Clin, 2020, 70:7-30.

- [2] Durante C, Grani G, Lamartina L, et al. The diagnosis and management of thyroid nodules: areview[J]. JAMA, 2018, 319: 914-924.
- [3] Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology [J]. N Engl J Med, 2012, 367:705-715
- [4] 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, 26:1-133.
- [5] Xing M, Haugen BR, Schlumberger M. Progress in molecular-based management of differentiated thyroid cancer[J]. Lancet, 2013, 381:1058-1069.
- [6] 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]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99:1253-1263.
- [7] 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, 22:622-639.
- [8] Tessler FN, Middleton WD, Grant EG, et al. ACR thyroid imaging, reporting and data system(TI-RADS): white paper of the ACR TI-RADS Committee[J]. J Am Coll Radiol, 2017, 14:587-595.
- [9] Zhao CK, Zheng JY, Sun LP, et al. BRAF<sup>V600E</sup> mutation analysis in fine-needle aspiration cytology specimens for diagnosis of thyroid nodules: the influence of false-positive and false-negative results[J]. Cancer Med, 2019, 8:5577-5589.
- [10] Chen J, Li XL, Zhao CK, et al. Conventional ultrasound, immunohistochemical factors and BRAF<sup>V600E</sup> mutation in predicting central cervical lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma[J]. Ultrasound Med Biol, 2018, 44:2296-2306.
- [11] Chen J, Li XL, Zhang YF, et al. Ultrasound validation of predictive model for central cervical lymph node metastasis in papillary thyroid cancer on BRAF[J]. Future Oncol, 2020, 16: 1607-1618
- [12] 贺亚萍, 徐辉雄. 超声引导细针穿刺抽吸活组织检查联合分子标志物诊断甲状腺肿瘤的进展[J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2015, 12: 753-756
- [13] Shi H, Guo LH, Zhang YF, et al. Suspicious ultrasound and clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma predict the status of TERT promoter[J]. Endocrine, 2020, 68:349-357.
- [14] Akkus Z, Cai J, Boonrod A, et al. A survey of deep-learning applications in ultrasound: artificial intelligence-powered ultrasound for improving clinical workflow[J]. J Am Coll Radiol, 2019, 16(9 Pt B):1318-1328.
- [15] 郭翌, 周世崇, 余锦华, 等. 影像组学的前沿研究与未来挑战[J]. 肿瘤影像学, 2017, 26:81-83.

- [16] Ma J, Wu F, Zhu J, et al. A pre-trained convolutional neural network based method for thyroid nodule diagnosis[J]. Ultrasonics, 2017, 73:221-230.
- [17] Li H, Weng J, Shi Y, et al. An improved deep learning approach for detection of thyroid papillary cancer in ultrasound images[J]. Sci Rep, 2018, 8:6600.
- [18] Wang Y, Yue W, Li X, et al. Comparison study of radiomics and deep learning-based methods for thyroid nodules classification using ultrasound images[J]. IEEE Access, 2020, 8: 52010-52017.
- [19] Zhao CK, Ren TT, Yin YF, et al. A comparative analysis of two machine learning-based diagnostic patterns with ACR TI-RADS for thyroid nodules: diagnostic performance and unnecessary biopsy rate[J]. Thyroid, 2020, [online ahead of print].
- [20] Sultan R, Levy S, Sulanc E, et al. Utility of Afirma gene expression classifier for evaluation of indeterminate thyroid nodules and correlation with ultrasound risk assessment: single institutional experience[J]. Endocr Pract, 2020, 26:543-551.
- [21] Wei S, Veloski C, Sharda P, et al. Performance of the Afirma genomic sequencing classifier versus gene expression classifier: an institutional experience[J]. Cancer Cytopathol, 2019, 127: 720-724.
- [22] Jug R, Foo WC, Jones C, et al. High-risk and intermediate-high-risk results from the ThyroSeq v2 and v3 thyroid genomic classifier are associated with neoplasia: independent performance assessment at an academic institution [J]. Cancer Cytopathol, 2020, 128:563-569.
- [23] Xu JM, Xu XH, Xu HX, et al. Conventional US, US elasticity imaging, and acoustic radiation force impulse imaging in the prediction of malignancy in thyroid nodules[J]. Radiology, 2014, 272:577-586.
- [24] Yue W, Qi L, Wang DD, et al. US-guided microwave ablation of low-risk papillary thyroid microcarcinoma: long-term results of a prospective study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105: 1791-1800.
- [25] Yue WW, Wang SR, Lu F, et al. Radiofrequency ablation vs. microwave ablation for patients with benign thyroid nodules: a propensity score matching study[J]. Endocrine, 2017, 55:485-495.
- [26] Ma J, Wu F, Jiang T, et al. Cascade convolutional neural networks for automatic detection of thyroid nodules in ultrasound images[J]. Med Phys, 2017, 44:1678-1691.
- [27] Li X, Zhang S, Zhang Q, et al. Diagnosis of thyroid cancer using deep convolutional neural network models applied to sonographic images: a retrospective, multicohort, diagnostic study[J]. Lancet Oncol, 2019, 20:193-201.

(收稿日期:2020-08-12)

(本文编辑:边 皓)

## ·消 息·

## 关于开展全国滤器病例大赛活动的通知

尊敬的各位医师朋友们:

下腔静脉可回收滤器应用越来越广泛,对于预防致死性肺栓塞发挥着至关重要的作用。为提高滤器经导丝释放(OTW)和回收的手术操作水准,促进滤器规范化应用,展示医师在实际临床应用中的优秀病例,分享滤器置入和回收操作流程及技巧,爱琅(上海)医疗器械有限公司(Argon)特举办“爱纹秤-首届全国滤器病例大赛”。现将有关事项通知如下:

一、项目时间:2020 年 10 月至 2021 年 4 月

二、参赛要求:参赛者采用 3 种病例的任何一种提交:①采用 OTW 置入爱立特滤器;②采用爱琅圈套器回收爱立特滤器;③回收爱立特滤器(不限于爱琅圈套器)

三、参赛选手:血管外科、介入科、普外科及其他相关科室医师

四、比赛机制:区域晋级赛和总决赛

五、投稿链接、下载链接及网上投票入口,将在 2020 年 10 月 25 日后公布于“365 医学网”(www.365 heart.com)及“血管资讯”微信公众号,敬请关注

六、病例模板及比赛规则:请咨询爱琅当地销售及经销商

七、奖项设置:全国总决赛一等奖 1 名、二等奖 2 名、三等奖 3 名、优秀奖 2 名。所有参赛选手和晋级选手均有参赛奖励

八、联系人及联系方式:许先生:13811247949 xiaodong.xu@argonmedical.com

曹先生:13810582260 steven.cao@argonmedical.com

顾先生:13701992292 haijun.gu@argonmedical.com

张女士:13585526480 jane.zhang@argonmedical.com

爱琅(上海)医疗器械有限公司

2020 年 10 月