

甲状腺乳头状癌基因组学改变及其临床应用的研究进展

Progress in genomic profiling of papillary thyroid cancer and its clinical significance

方敏 综述;盛媛 审阅(第二军医大学附属长海医院 甲乳外科,上海 200433)

[摘要] 甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)是甲状腺癌中最为常见的亚型,尽管大多数 PTC 预后较好,但仍有少部分预后较差。随着近年来基因组学研究和精准医疗的迅速发展,越来越多与 PTC 相关的基因组学改变被发现,包括单核苷酸的突变、基因异位与融合、基因拷贝数变化等。这些变化一方面能加深对 PTC 发生、发展和转归机制的理解,另一方面从临床诊治角度解读这些信息具有重大临床价值:促成对 PTC 的分子分型,弥补目前常规检查项目的不足,从而提高 PTC 的诊断效能和预后判断,为新的靶向药物的研发及应用提供理论依据。本文就近年来 PTC 基因组学研究领域的主要进展及其临床意义进行综述。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;基因组学;二代测序;精准医疗

[中图分类号] R736.1; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)03-0437-04

甲状腺癌是一种常见的内分泌肿瘤,在世界许多地区该病的发病率逐年上升,其中以甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer, PTC)最常见^[1-2]。尽管大多数 PTC 的预后较好,5 年生存率超过 95%^[3],但值得关注的是部分 PTC 可去分化发展成侵袭性强、恶性程度高的未分化甲状腺癌。在临床上,一些病理诊断及临床治疗相同的 PTC,其预后却大相径庭,这提示 PTC 中存在不同的分子亚型,其分子特性在影响癌细胞生物学行为中起了重要作用。因此,从分子水平研究 PTC,并以此进行 PTC 的分子分型,从而制定合适的个体化、精准化治疗方案,将对提高 PTC 患者的预后有着重要作用。近年来,基因测序领域取得了突破性的进展。随着二代测序技术(next-generation sequencing, NGS)的出现,测序所需耗费的时间和财力成本大大下降。例如,一个人基因组测序费用从 2003 年完成首个人类基因组所耗费的近 27 亿美元降至 2015 年约 1000 美元^[4]。大型肿瘤测序项目的相继开展、精准医学概念的提出和生物信息学大数据处理方法的不断改进等因素极大地促进了肿瘤基因组学的发展。正是在这样的背景下,PTC 基因组学研究不断取得突破性进展。

1 PTC 的基因组学变化的特点

1.1 单核苷酸突变

单核苷酸突变是最早发现的甲状腺癌基因组特点。其中 *BRAF* 基因 T1799A 是最常见的突变之一,该位点突变导致 *BRAF* 蛋白第 600 位缬氨酸突变为

谷氨酸从而持续激活。近来发现,*BRAF* V600E 在 PTC 中分布也存在异质性,有研究等^[5]报道所检测的 85 例 PTC 中携带 *BRAF* V600E 的肿瘤细胞所占百分比 $\geq 30\%$ 的为 76 例(89.4%),这与 *BRAF* V600E 出现于 PTC 发生的早期说法一致。然而,关于 *BRAF* V600E 作为预后因素的临床意义仍然存在争议。Bastos 等^[6]报道在直径 ≤ 20 mm 的 PTC 中,*BRAF* V600E 与高复发率相关。在 2 624 例 PTC 患者临床数据分析中,*BRAF* V600E 与甲状腺外扩散和淋巴结转移相关^[7]。在 69 例 PTC 患者平均随访 63.9 个月的研究中,*BRAF* V600E 与更大的年龄和更高的肿瘤分期相关,但与长期预后无相关性^[8]。针对 508 例 PTC 患者的回顾性研究分析表明,*BRAF* 突变与无复发生存期和疾病特异生存期无显著相关^[9]。*BRAF* V600E 和肿瘤复发相关^[10]。

近年来,新发现 PTC 中存在 *TERT* 启动子突变,并显示该突变具有较大的临床价值。Vinagre 等^[11]报道了甲状腺癌在内的多种癌症存在 *TERT* 启动子

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 8150111616)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 8150111616)

[作者简介] 方敏(1991-),女,江苏省昆山市人,硕士生,主要从事甲状腺癌及乳腺癌的临床诊治及基础研究, E-mail: fangmin0530@163.com

[通信作者] 盛媛(SHENG Yuan, Corresponding author), E-mail: sheng528yuan@163.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20160428.1700.010.html>

突变, 而 Liu 等^[12]着重研究了不同亚型甲状腺癌中 *TERT* 启动子突变情况, 发现尤其是 *BRAF* 突变阳性的 PTC 亚型中 *TERT* 启动子突变率为 7.5%, 与更差的临床预后相关, 可作为 PTC 的独立预后指标^[13]。*TERT* 启动子突变 (*TERT C228T*) 与 PTC 的进展以及远处转移有关^[14]。此外, *TERT* 启动子突变可作为预示肿瘤复发的标志物^[15]。结合 *BRAF* V600E 和 *TERT C228T* 可鉴定出 PTC 中预后最差的患者亚群^[16-17]。

通过 NGS 可得知基因组的序列, 从而同时获得基因突变信息, 新发现了 PTC 中存在 *DICER1*、*CBL*、*NOTCH1*、*PIK3R4*、*SMARCA4*、*MET*、*VHL* 等多个基因突变^[18]。TCGA 关于 PTC 的研究项目新发现了 *EIF1AX*、*PPM1D* 和 *CHEK2* 等基因突变^[19]。对 *BRAF* 野生型的一例患者进行全基因组测序发现了癌基因 *TRRAP* 突变^[20]。

1.2 基因易位与融合、基因拷贝数变化

RET-PTC 是甲状腺乳头状癌中最为典型的基因易位方式, 目前已发现 10 种以上的 *RET-PTC* 易位种类。该易位方式导致酪氨酸激酶 *RET* 无需配体的二聚化和持续活化^[21]。Demeure 等^[20]通过对 1 例高细胞型 PTC 的患者进行全基因组测序首次在甲状腺癌中发现 *EML4-ALK* 易位。

RNA-seq 可实现对全转录组的测序分析, 因此其是发现新融合基因的有力工具。通过 *RNA-seq*, 鉴定出 3 个新的融合基因 (*C11ORF58-SBSPON*、*ARNTL-PTPRD*、*KIAA2026-MIR31HG*) 和 *KAZN* 基因的 1 个新转录本^[22]、新的融合基因 *STRN-ALK*^[23] 以及 *WNK1-B4GALNT3*^[18]。此外, 还发现了更常见于辐射相关甲状腺癌中的 *ETV6-NTRK3* 融合基因^[24]。

对 1 例 *BRAF*、*NRAS* 野生型和不存在 *RET-PTC* 的 PTC 患者进行全基因组测序发现, 其 1 号染色体短臂缺失和长臂的增加, 9 号染色体短臂和 13 号染色体长臂缺失; 这些改变导致肿瘤抑制基因 *CDKN2C*、*CDKN2A* 和 *RBI* 的杂合性缺失以及包括 *DHFR*、*ANKRD34B* 在内基因的拷贝数增加^[20], 这提示拷贝数变化也是 PTC 发生发展的驱动力之一。

2 基因组学变化对 PTC 诊治的价值

2.1 提高 PTC 的诊断效能

由于甲状腺常用的辅助检查对于甲状腺结节性质的判定并无特异性, 因此细针穿刺细胞学检查 (fine needle aspiration, FNA) 常作为术前诊断的常用方法, 是诊断 PTC 的金标准。然而, 大约有 20% ~ 30% 的患者并不能通过 FNA 确诊。对于这部分患

者, 结合基因组学层面的信息能提高其诊断效能。Nikiforov 等^[25]对 143 例 FNA 结果为滤泡样增生或可疑滤泡样增生 (follicular neoplasm/suspicious for a follicular neoplasm, FN/SFN) 且已行外科手术明确病理的患者进行研究, 发现通过 NGS 检测甲状腺癌中常见的基因突变位点 (包括 *RAS* 突变、*TERT* 突变及 *TSHR* 突变等) 和融合基因 (包括 *THADA*、*PPARG* 及 *NTRK3* 基因等) 可将 FNA 对 FN/SFN 的诊断敏感性提升至 90%, 诊断特异性提升至 93%。LE Mercier 等^[26]对 34 例 FNA 未能确诊的患者通过 NGS 行甲状腺癌中常见的基因突变位点的检测, 在 7 例突变阳性的病人中, 5 例经术后病理确认为 PTC。此外, 有研究^[27]建立了一个联合 *CLDN10*、*HMG2*、*LAMB3* 三种基因的数学模型, 该模型对甲状腺癌诊断的敏感性及特异性可分别达到 94%、96%, 且该模型评分的高低与区域淋巴结转移相关。

2.2 优化 PTC 的治疗方案

随着对 PTC 发病机制研究的不断深入, 与 PTC 发生发展有关的基因突变及信号通路的发现为其靶向治疗奠定了基础。多吉美 (nexavar) 又称索拉非尼 (sorafenib) 能够抑制参与细胞增殖和血管生成过程中的多种激酶, 是首个获 FDA 批准专门用于放射性碘难治性分化型甲状腺癌的药物。该新适应证的获批, 是基于 III 期 DECISION 临床试验的数据, 结果表明, 与安慰剂相比, 多吉美显著延长了患者的 PFS (10.8 vs 5.8 个月, $P < 0.01$)^[28]。Ali 等^[29]报道了采用 *BRAF* V600E 抑制剂维罗非尼 (vemurafenib) 治疗 1 例携带该突变的转移性 PTC 患者, 影像学表现及临床症状都得到了缓解, 并获得了 23 个月的生存期。Dadu 等^[30]对 17 例携带 *BRAF* V600E 的 PTC 患者进行维罗非尼治疗, 其中 3 例有颈部转移 (17.6%)、14 例有远处转移 (82.4%), 除去因副作用停止治疗的 2 例患者, 结果有 47% (7/15) 获得缓解, 53% (8/15) 病情得到稳定。目前维罗非尼治疗 PTC 的临床试验正在进行 (临床试验编号: NCT01286753、NCT01709292), 在一项 II 期临床试验中, 25 例携带 *BRAF* V600E 的 PTC 患者对维罗非尼的治疗反应率为 35%, 平均 PFS 为 15.6 个月^[29]。此外, 全基因组测序还鉴定出了 *ANKRD34B* 易位突变可能成为 *BRAF* 野生型患者的治疗靶点^[20]。

2.3 促进 PTC 的预后判断

多数情况下, PTC 预后较好, 但是 5.7% 的患者会在 5 年内复发, 9.4% 的患者会在 10 年内复发^[31]。因此, 鉴定出预后较差的患者人群并提前进行干预将具有重要临床意义。多个研究报道了

TERT 启动子突变是潜在的 PTC 预后标志物(相关内容见 1.1),然而该指标能否得到临床应用,则需要更多的临床数据支持和验证以及相应肿瘤生物学机制的阐述。在多组学的分子分型研究中,基于 mRNA 表达可将 PTC 分为 5 种亚型,其中 mRNA5 亚型包含 73.5%(25/34)的高细胞型 PTC,而高细胞型 PTC 与更晚肿瘤分期和更高风险相关^{[19]685}。

3 结 语

同其他大部分类型肿瘤一样,PTC 的基因组特点信息仍然有待进一步挖掘,相关资料在黄色人种中更显得缺乏。NGS 和精准医疗的蓬勃发展使得近年来 PTC 基因组学研究进展迅速。PTC 中新的基因突变、拷贝数变异、融合基因和表观遗传调控等信息随着测序样本数量的增加或测序及分析方法本身的进步,利用所获得的基因组学信息来改善 PTC 的诊治成为研究热点。

挑战和机遇并存:(1)在大量数据面前,如何正确解读数据背后的临床意义是研究中面临的诸多挑战之一;(2)基因组学分析费用昂贵,对检测平台要求较高,如何实现其临床常规应用有待思考;(3)公众对于基因组学的陌生将阻碍相关进展的普及。2015 年年初美国总统奥巴马提出精准医学计划,我国也紧接着制定了精准医学的发展计划。PTC 基因组学研究是实现 PTC 精准医疗的前提和必经之路,有理由相信,这将变革临床上甲状腺癌的诊治,提高患者的生存质量和生存期,最终使患者受益。

[参 考 文 献]

[1] NIKIFOROV Y E, NIKIFOROVA M N. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7 (10): 569-580. DOI:10.1038/nrendo.2011.142.

[2] PELLEGRITI G, FRASCA F, REGALBUTO C, et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors [J/OL]. *J Cancer Epidemiol*, 2013, (2013): 965212 [2015-11-08]. <http://www.hindawi.com/journals/jce/2013/965212/>. DOI:10.1155/2013/965212.

[3] HAY I D, THOMPSON G B, GRANT C S, et al. Papillary thyroid carcinoma managed at the Mayo Clinic during six decades (1940-1999): temporal trends in initial therapy and long-term outcome in 2444 consecutively treated patients [J]. *World J Surg*, 2002, 26(8): 879-885.

[4] WETTERSTRAND K A. DNA sequencing costs: data from the NHGRI genome sequencing program(GSP) [R/OL]. [2015-11-03]. <http://www.genome.gov/sequencingcosts>.

[5] DE BIASE D, CESARI V, VISANI M, et al. High-sensitivity BRAF mutation analysis: BRAF V600E is acquired early during tumor development but is heterogeneously distributed in a subset of pa-

pillary thyroid carcinomas [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(8): E1530-1538. DOI: 10.1210/jc.2013-4389.

[6] BSATOS A U, OLER G, NOZIMA B H, et al. BRAF V600E and decreased NIS and TPO expression are associated with aggressiveness of a subgroup of papillary thyroid microcarcinoma [J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 173(4): 525-540. DOI:10.1530/EJE-15-0254.

[7] HONGA R, LIM J A, KIM T H, et al. The frequency and clinical implications of the BRAF(V600E) mutation in papillary thyroid cancer patients in Korea over the past two decades [J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2014, 29(4): 505-513. DOI:10.3803/EnM.2014.29.4.505.

[8] DALIRI M, ABBASZADEGAN M R, BAGAR M M, et al. The role of BRAF V600E mutation as a potential marker for prognostic stratification of papillary thyroid carcinoma: a long-term follow-up study [J]. *Endocr Res*, 2014, 39(4): 189-193. DOI:10.3109/07435800.2013.879169.

[9] HENKE L E, PFEIFER J D, MA C, et al. BRAF mutation is not predictive of long-term outcome in papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2015, 4(6): 791-799. DOI:10.1002/cam4.417.

[10] FERNANDEZ I J, PICCIN O, SCIASCIA S, et al. Clinical significance of BRAF mutation in thyroid papillary cancer [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 148(6): 919-925. DOI: 10.1177/0194599813481942.

[11] VINAGRE J, ALMEIDA A, PÓPULO H, et al. Frequency of *TERT* promoter mutations in human cancers [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2185. DOI:10.1038/ncomms3185.

[12] LIU X, BISHOP J, SHAN Y, et al. Highly prevalent *TERT* promoter mutations in aggressive thyroid cancers [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2013, 20(4): 603-610. DOI:10.1530/ERC-13-0210.

[13] MELO M, DA ROCHA A G, VINAGRE J, et al. *TERT* promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(5): E754-765. DOI:10.1210/jc.2013-3734.

[14] GANDOLFI G, RAGAZZI M, FRASOLDATI A, et al. *TERT* promoter mutations are associated with distant metastases in papillary thyroid carcinoma [J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 172(4): 403-413. DOI:10.1530/EJE-14-0837.

[15] DETTMER M S, SCHMITT A, STEINERT H, et al. Tall cell papillary thyroid carcinoma: new diagnostic criteria and mutations in BRAF and *TERT* [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2015, 22(3): 419-429. DOI:10.1530/ERC-15-0057.

[16] 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.

[17] LIU X, QU S, LIU R, et al. *TERT* promoter mutations and their association with BRAF V600E mutation and aggressive clinicopathological characteristics of thyroid cancer [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(6): E1130-E1136. DOI:10.1210/jc.2013-4048.

[18] COSTA V, ESPOSITO R, ZIVIELLO C, et al. New somatic muta-

- tions and WNK1-B4GALNT3 gene fusion in papillary thyroid carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13): 11242-11251. DOI: 10.18632/oncotarget.3593.
- [19] AGRAWAL N, AKBANI R, AKSOY B A, et al. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma [J]. *Cell*, 2014, 159(3): 676-690. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.050.
- [20] DEMEURE M J, AZIZ M, ROSENBERG R, et al. Whole-genome sequencing of an aggressive BRAF wild-type papillary thyroid cancer identified EML4-ALK translocation as a therapeutic target [J]. *World J Surg*, 2014, 38(6): 1296-1305. DOI: 10.1007/s00268-014-2485-3.
- [21] XING M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(3): 184-199. DOI: 10.1038/nrc3431.
- [22] LE PENNEC S, KONOPKA T, GACQUER D, et al. Intratumor heterogeneity and clonal evolution in an aggressive papillary thyroid cancer and matched metastases [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2015, 22(2): 205-216. DOI: 10.1530/ECR-14-0351.
- [23] KELLY L M, BARILA G, LIU P, et al. Identification of the transforming STRN-ALK fusion as a potential therapeutic target in the aggressive forms of thyroid cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(11): 4233-4238. DOI: 10.1073/pnas.1321937111.
- [24] LEEMAN-NEILL R J, KELLY L M, LIU P, et al. ETV6-NTRK3 is a common chromosomal rearrangement in radiation-associated thyroid cancer [J]. *Cancer*, 2014, 120(6): 799-807. DOI: 10.1002/encr.28484.
- [25] NIKIFOROV Y E, CARTY S E, CHIOOSEA S I, et al. Highly accurate diagnosis of cancer in thyroid nodules with follicular neoplasm/suspicious for a follicular neoplasm cytology by ThyroSeq v2 next-generation sequencing assay [J]. *Cancer*, 2014, 120(23): 3627-3634. DOI: 10.1002/encr.29038.
- [26] LE MERCIER M, D'HAENE N, DW NÈVE N, et al. Next-generation sequencing improves the diagnosis of thyroid FNA specimens with indeterminate cytology [J]. *Histopathology*, 2015, 66(2): 215-224. DOI: 10.1111/his.12461.
- [27] BARROS-FILHO M C, MARCHI F A, PINTO C A, et al. High diagnostic accuracy based on CLDN10, HMGA2, and LAMB3 transcripts in papillary thyroid carcinoma [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(6): E890-E899. DOI: 10.1210/jc.2014-4053.
- [28] BROSE M S, NUTTING C M, JARZAB B, et al. Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2014, 384(9940): 319-328. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60421-9.
- [29] ALI S M, HE J, CARSON W, et al. Extended antitumor response of a BRAF V600E papillary thyroid carcinoma to vemurafenib [J]. *Case Rep Oncol*, 2014, 7(2): 343-348. DOI: 10.1159/000363377.
- [30] DADU R, SHAH K, BUSAIDY N L, et al. Efficacy and tolerability of vemurafenib in patients with BRAF(V600E)-positive papillary thyroid cancer: M. D. Anderson Cancer Center off label experience [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(1): E77-E81. DOI: 10.1210/jc.2014-2246.
- [31] BILIMORAI K Y, BENTREM D J, KO C Y, et al. Extent of surgery affects survival for papillary thyroid cancer [J]. *Ann Surg*, 2007, 246(3): 375-384. DOI: 10.1097/SLA.0b013e31814697d9.
- [收稿日期] 2016-03-20 [修回日期] 2016-04-15
[本文编辑] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

第 14 届国际树突状细胞研讨会会议通知

由中国免疫学会、第二军医大学医学免疫学国家重点实验室和国际树突状细胞疫苗协会主办的第 14 届国际树突状细胞研讨会拟定于 2016 年 10 月 14 - 18 日在上海国际会议中心召开。“国际树突状细胞研讨会”是由诺贝尔奖获得者 Ralph Steinman 教授发起举办,是国际上最成功的专题会议之一。此次会议邀请了海内外著名免疫学家进行大会报告,预计将有来自世界各地的 600 余名代表参加会议,会议内容主要包括树突状细胞的发育、与疾病发生及治疗的关系等。诚邀国内专家与同行踊跃投稿,积极参加会议交流。

会议报到日期: 2016 年 10 月 14 日

会议日期: 2016 年 10 月 15 - 18 日

会议地址: 上海国际会议中心(上海市黄浦区滨江大道 2727 号 电话: 021-50370000)

会议网址: www.dc-2016.com

学术组联系方式

联系地址: 200433 上海市杨浦区翔殷路 800 号 第二军医大学医学免疫学国家重点实验室

联系人: 郭振红

联系电话: 021-5562 0832

电子邮箱: dc2016@immunol.org

中国免疫学会、第二军医大学医学免疫学国家重点实验室