doi:10.11659/jjssx.01E023048

·临床研究·

超声造影联合血清SMURF1检测诊断甲状腺癌的临床分析

汪 金[1],常 新[1],韩春荣[2],万 珂[3],谌 辉[1],赵 静[1],熊 鹃[1] (1.东南大学附属中大医院溧水分院/南京市溧水区人民医院超声医学科,江苏 南京 211200;2.东南大学附属中大医院溧水分院/南京市溧水区人民医院病理科,江苏 南京 211200;3.悉尼大学医学与健康学院,澳大利亚 新南威尔士 2050)

[摘 要] **目的** 探讨超声造影联合血清Smad泛素调节因子1(SMURF1)检测对甲状腺癌的诊断价值。**方法** 纳入东南大学附属中大医院溧水分院2019年2月至2020年2月收治的144例疑似甲状腺癌患者为研究对象,根据组织病理学结果,将其分为甲状腺癌组(76例)和良性组(68例)。所有患者均行超声造影检查及血清SMURF1水平测定;分析超声造影参数、血清SMURF1单独检测及二者联合检测对甲状腺癌的诊断价值。**结果** 甲状腺癌组超声造影参数峰值强度(PI)、平均灌注强度(SImean)及最大灌注强度(SImax)均低于良性组,SMURF1 mRNA水平高于良性组(P<0.05)。超声造影参数SImax诊断甲状腺癌的敏感度为82.89%,特异度为72.06%,准确度为77.78%,*Kappa*值为0.552。血清SMURF1诊断甲状腺癌的敏感度为65.79%,特异度为94.12%,准确度为79.17%,*Kappa*值为0.589。SImax联合SMURF1诊断的敏感度、特异度、准确度、*Kappa*值分别为97.37%、85.29%、91.67%、0.832,均高于SImax、SMURF1单独诊断(P<0.05),且二者联合预测预后的*AUC*为0.927,明显高于二者单独诊断($Z_{联合\ vs.\ SImax}$=3.999,P<0.001;$Z_{联合\ vs.\ SMURF1}$=3.270,P=0.001)。**结论** 超声造影联合血清SMURF1检测可提高甲状腺癌的诊断效能,可在保证甲状腺癌患者诊断效率的前提下,避免临床甲状腺癌患者的过度诊断。

[关键词] 甲状腺癌;超声造影;Smad泛素调节因子1;诊断

[中图分类号] R736.1 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-01-10

Clinical analysis of contrast-enhanced ultrasound combined with serum SMURF1 detection in the diagnosis of thyroid cancer

WANG Jin[1], CHANG Xin[1], HAN Chun-rong[2], WAN Ke[3], CHEN Hui[1], ZHAO Jing[1], XIONG Juan[1] (1.Department of Ultrasound Medicine,Lishui Branch of Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University/Lishui District People's Hospital in Nanjing,Nanjing Jiangsu 211200,China;2.Department of Pathology,Lishui Branch of Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University/Lishui District People's Hospital in Nanjing,Nanjing Jiangsu 211200,China;3.School of Medicine and Health,University of Sydney,New South Wales Australia 2050)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) combined with serum Smad ubiquitin regulatory factor 1 (SMURF1) detection for thyroid cancer. **Methods** A total of 144 suspected thyroid cancer patients admitted to Lishui branch of Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University from February 2019 to February 2020 were selected as the study subjects. Based on the histopathological results,they were divided into the thyroid cancer group (76 cases) and the benign group (68 cases). All patients underwent contrast-enhanced ultrasound examination and serum SMURF1 level detection; the diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound parameters, serum SMURF1 detection alone, and the combination of the two methods for thyroid cancer were analyzed. **Results** Contrast-enhanced ultrasound parameters peak intensity (PI), mean perfusion intensity (SImean) and maximum perfusion intensity (SImax) in the thyroid cancer group were lower than those in the benign group, and the level of SMURF1 mRNA was higher than that in the benign group (P<0.05). The sensitivity of contrast-enhanced ultrasound parameter SImax in the diagnosis of thyroid cancer was 82.89%, the specificity was 72.06%, the accuracy was 77.78%, and the *Kappa* value was 0.552. The sensitivity of serum SMURF1 in the diagnosis of thyroid cancer was 65.79%, the specificity was 94.12%, the accuracy was 79.17%, and the *Kappa* value was 0.589. The sensitivity, specificity, accuracy and *Kappa* value of SImax combined with serum SMURF1 in the diagnosis of thyroid cancer were 97.37%, 85.29%, 91.67% and 0.832, respectively, which were higher than those of SImax and SMURF1 alone (P<0.05), the *AUC* of the combination of the two methods was 0.927, which was significantly higher than that of the two methods alone ($Z_{combined\ vs.\ SImax}$=3.999, P<0.001; $Z_{combined\ vs.\ SMURF1}$=3.270, P=0.001). **Conclusion** Contrast-enhanced ultrasound combined with serum SMURF1 detection can improve the diagnostic efficiency of thyroid cancer, which may avoid the over-diagnosis on the premise of ensuring the effective diagnosis of thyroid cancer patients.

Keywords: thyroid cancer; contrast-enhanced ultrasound; Smad ubiquitin regulatory factor 1; diagnosis

[基金项目] 江苏省医院协会面上项目(JSYGY-3-2019-504);江苏大学临床医学科技发展基金研究项目(JLY2021165);2023年度江苏大学医教协同创新基金(JDYY2023101)

[通信作者] 常 新,E-mail:changxincx4@163.com

甲状腺癌常见于人体,发病率不断升高[1]。超声造影(contrast-enhanced ultrasound,CEUS)、穿刺及CT等早期诊断技术广泛应用于甲状腺癌的诊断,但准确度均有待提高[2-3]。甲状腺癌进展慢,预后通常良好,但其引发的各种并发症会影响患者身心健康[4]。尽早筛查出甲状腺癌,并给予相应治疗,能最大限度减轻疾病对患者的影响,因此有必要寻找敏感、准确的筛查手段。甲状腺细胞癌变过程涉及多种因素,如基因的激活和失活、DNA的甲基化和突变、细胞内通路的刺激等[5]。Smad泛素调节因子1(Smad ubiquitin regulatory factor 1,SMURF1)是一种C2-WW-HECT泛素连接酶,属于Nedd4家族,在神经系统、骨骼、肺和生殖器官等多个组织中表达[6],参与病毒自噬、胚胎发生、骨稳态调控等多种生物学过程[7]。SMURF1已被证明在多种癌症中发挥致癌作用,可促进肿瘤细胞增殖、迁移和上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)[8-9]。有研究发现,SMURF1在甲状腺癌组织中高表达,可促进甲状腺癌的形成和发展[10]。本研究检测了SMURF1在甲状腺癌患者血清中的表达水平,并分析超声造影参数联合血清SMURF1检测对甲状腺癌的诊断价值,以期为甲状腺癌的临床诊断提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择东南大学附属中大医院溧水分院2019年2月至2020年2月收治的144例TI-RADS4类结节患者为研究对象。根据组织病理学结果,将患者分为甲状腺癌组(76例)和良性组(68例)。甲状腺癌组中男36例,女40例;年龄(48.67±8.16)岁;病程(3.52±1.04)年;病灶:左侧29例、右侧34例、双侧6例、峡部7例;病理类型:乳头状癌66例,混合癌2例,髓样癌2例,滤泡癌3例,未分化癌3例。不同病理类型患者血清SMURF1 mRNA水平比较差异无统计学意义(P>0.05)。良性组中男34例,女34例;年龄(50.42±7.65)岁;病程(3.18±0.79)年;病灶:左侧25例、右侧31例、双侧5例、峡部7例;病理类型:甲状腺瘤36例,结节性甲状腺肿27例,桥本氏甲状腺炎5例。纳入标准:①手术及甲状腺功能资料基本完整,不影响试验;②确诊甲状腺癌,且均为1枚结节。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并糖尿病、高血压、肺结核等;③严重器官功能衰竭;④心、脑血管疾病。2组患者一般资料比较,差异无统计学意义(P>0.05)。本研究经东南大学附属中大医院溧水分院医学伦理委员会批准(2018-12-048),患者及家属均知情并签署同意书。

1.2 超声造影检查

由同一医师使用彩色多普勒超声诊断仪(Resona 8型,探头型号为L11-3U,探头频率为3~11 MHz)对所有患者进行检查。经肘静脉推注1.5 mL造影剂,然后快速注射5.0 mL生理盐水冲洗,记录超声造影图像。注意检查过程中不得有吞咽动作,探头于肿块切面最大处固定,采集时间>2 min。所得图像均导入Qontrast 4.0软件进行分析,得出达峰时间(time to peak,TTP)、造影剂平均通过时间(mean transit time,MTT)、峰值强度(peak intensity,PI)、平均灌注强度(mean perfusion intensity,SImean)及最大灌注强度(maximum perfusion intensity,SImax)。

1.3 qRT-PCR法检测血清SMURF1 mRNA表达

收集患者行超声造影前的空腹外周血4~5 mL,静置35~45 min,4 ℃下以4 200 r/min离心10 min,分离血清,-70 ℃保存。解冻血清,利用TRIzol LS Reagent提取总RNA;采用First-Strand cDNA Synthesis Kit将RNA反转录为cDNA;使用SYBR Green Realtime PCR Master Mix、qRT-PCR仪扩增cDNA,获取循环阈值(Ct值)。SMURF1引物上游序列为5′-ACTCGGGACATACCTGCTCT-3′,下游序列为5′-GCCCTAGGGGAGTGACTACA-3′,GAPDH为SMURF1的内参基因,以$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算SMURF1 mRNA相对表达量。

1.4 评价指标

以手术切除病灶甲状腺病理结果为金标准,以超声造影所得PI、SImean及SImax为自变量绘制受试者工作特征(*receiver operating characteristica*,*ROC*)曲线,评估超声造影对甲状腺癌的诊断价值;以血清SMURF1为自变量绘制*ROC*曲线,评估SMURF1检测对甲状腺癌的诊断价值;以超声造影准确度最高的参数SImax<57.90或血清SMURF1 mRNA>1.42为甲状腺癌阳性,采用并联方式诊断,四格表分析超声造影参数联合SMURF1检测对甲状腺癌的诊断价值。

1.5 统计学分析

采用SPSS 25.0软件分析数据。计数资料以率(%)表示,行χ^2检验;计量资料均符合正态分布,以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,行独立样本t检验;以病理结果为金标准,以四格表/*ROC*曲线分析超声造影、血清SMURF1及二者联合对甲状腺癌的诊断价值。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清SMURF1 mRNA水平和超声造影参数比较 甲状腺癌组超声造影参数PI、SImean、SImax均低于良性组(P<0.05),SMURF1 mRNA水平高于良性组(P<0.05);2组患者TTP、MTT比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表1。

表1 血清SMURF1 mRNA水平和超声造影参数比较

组别	n	PI(%)	TTP(s)	MTT(s)	SImean	SImax	SMURF1 mRNA
甲状腺癌组	76	36.17±10.42	21.09±6.34	50.32±8.64	36.31±11.58	52.14±11.54	1.62±0.51
良性组	68	47.86±12.73	19.43±6.52	48.15±7.35	53.17±16.28	62.51±13.09	1.00±0.28
t		6.054	1.548	1.613	7.217	5.052	8.895
P		<0.001	0.124	0.109	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 超声造影对甲状腺癌的诊断价值分析

*ROC*结果显示,PI、SImean、SImax诊断甲状腺癌的曲线下面积(*area under the curve*,*AUC*)分别为0.737、0.720、0.813,最佳截断值分别为42.08、45.86、57.90,敏感度分别为75.00%、84.21%、82.89%,特异度分别为66.18%、55.88%、72.06%,准确度分别为70.83%、70.83%、77.78%,见图1。SImax的*AUC*及准确度均显著高于PI、SImean(P<0.05)。

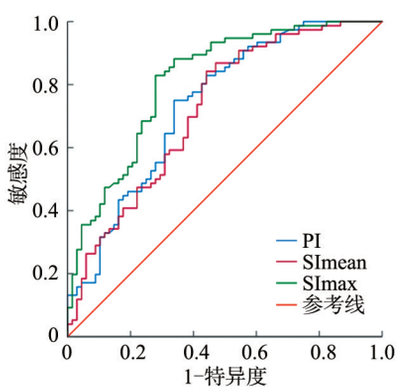


图1 PI、SImean、SImax诊断甲状腺癌的*ROC*曲线

2.3 SMURF1对甲状腺癌的诊断价值分析

*ROC*曲线显示,SMURF1诊断甲状腺癌的*AUC*为0.824(95%*CI*:0.828~0.937),截断值为1.42,敏感度为65.79%,特异度为94.12%,准确度为79.17%,见图2。

2.4 SImax、SMURF1诊断与病理学诊断的一致性比较

超声造影参数SImax、SMURF1与病理诊断结果一致性均中等(P<0.05),SImax联合血清SMURF1检测与病理诊断结果一致性较高(P<0.05),见表2。

2.5 SImax联合SMURF1对甲状腺癌的诊断价值

SImax联合SMURF1诊断甲状腺癌的敏感度和准确度均高于SImax、SMURF1单独诊断(P<0.05);且二者联合预测预后的*AUC*为0.927,明显高于二者单独诊断($Z_{联合 vs. SImax}$=3.999,P<0.001;$Z_{联合 vs. SMURF1}$=3.270,P=0.001),见表3、图3。

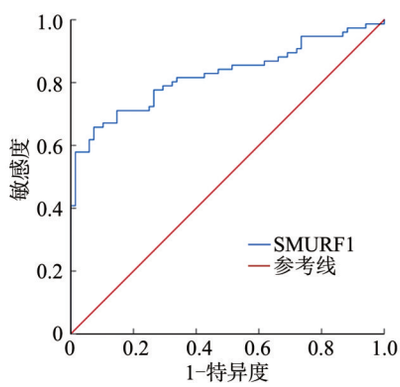


图2 血清SMURF1诊断甲状腺癌的*ROC*曲线

表2 SImax、SMURF1诊断与病理学诊断的一致性比较

指标		金标准		*Kappa*	*P*
		阳性	阴性		
SImax	阳性	63	19	0.552	<0.001
	阴性	13	49		
SMURF1	阳性	50	4	0.589	<0.001
	阴性	26	64		
SImax+SMURF1	阳性	74	10	0.832	<0.001
	阴性	2	58		

3 讨论

目前,临床上疑似甲状腺癌患者以穿刺和超声为主要诊断手段,其中穿刺属于有创检查,且会出现假阴和假阳情况,而超声可在一定程度上提高甲状腺癌的检出率,但其较低的特异度可能使检查结果出现过度诊断情况,从而导致过度治疗[11]。因此,本研究将血清SMURF1与超声造影参数联合用于甲状腺癌的诊

表3 超声造影参数SImax联合血清SMURF1 mRNA诊断甲状腺癌的价值

项目	*AUC*	95%*CI*	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数	准确度	截断值
SImax	0.813	0.740~0.873	82.89	72.06	0.549 5	77.78	57.90
SMURF1	0.824	0.751~0.882	65.79	94.12	0.584 4	79.17	1.42
二者联合	0.927	0.872~0.964	97.37	85.29	0.760 8	91.67	
$Z_{联合 vs. SImax}$,$P_{联合 vs. SImax}$				3.999,<0.001			
$Z_{联合 vs. SMURF1}$,$P_{联合 vs. SMURF1}$				3.270,0.001			

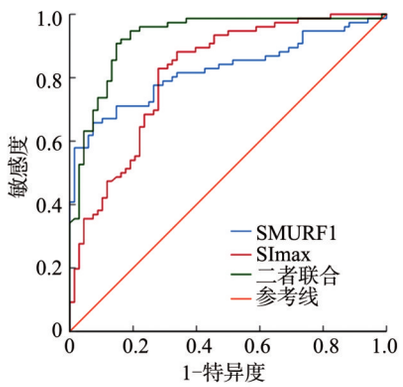


图3 SImax联合血清SMURF1诊断甲状腺癌的*ROC*曲线

断,以期提高甲状腺癌的诊断准确率,降低过度诊断、过度治疗等的发生率。

超声造影需要静脉注射造影剂,通过此种诊断探得病灶时间-强度曲线,并依靠得到的曲线情况判断灌注情况[12]。其中TTP、MTT、PI、SImean及SImax均为重要参数,甲状腺癌患者的曲线特征为TTP、MTT短,快出慢进低增强[13]。甲状腺癌细胞的侵袭和转移均与微血管形成密切相关,而超声造影参数与微血管密度有关,其诊断肿瘤血管的价值较高[14],因此,推测超声造影参数诊断可能适用于甲状腺癌的诊断。本研究中,甲状腺癌组超声造影参数PI、SImean、SImax均低于良性组,与黄莺等[15]的研究结果一致。王春梅等[16]研究表明,TTP、MTT与甲状腺癌细胞增殖及淋巴结转移等有关,可以反映甲状腺癌细胞活性;李梅等[17]发现甲状腺癌患者的超声造影特征参数TTP、MTT明显高于良性患者,本研究结果与之不符。究其原因,可能与甲状腺癌患者机体血管数量及不规则分支较多但分布不均、管网杂乱有关[18],TTP、MTT在甲状腺良性、恶性病变机体中的差异可能不一致。另有研究表明,SImax与微血管的密度相关性最高[13]。本研究结果显示,超声造影参数SImax对甲状腺癌的诊断价值最高,*AUC*为0.813,敏感度为82.89%,特异度为72.06%,准确度为77.78%,提示超声造影参数SImax对甲状腺癌具有较高的诊断价值,但其敏感度和准确度仍待提高。

SMURF1可在底物蛋白上添加单个或多个泛素分子来触发蛋白质的泛素化降解,参与细胞增殖等多种过程的调控,进而影响肿瘤进展[10]。SMURF1在大多数肿瘤中被认为是致癌基因,可促进肿瘤侵袭和转移,导致肿瘤进展和预后不良[19]。有研究显示,靶向SMURF1和/或阻断SMURF1表达,降低其泛素化活性,有利于抑癌蛋白的稳定,抑制肿瘤进展[10]。Bian[20]的研究表明,SMURF1在甲状腺癌血清中异常高表达。本研究结果显示,甲状腺癌组血清SMURF1水平显著高于良性组,SMURF1诊断甲状腺癌的*AUC*为0.824,敏感度为65.79%,特异度为94.12%,准确度为79.17%,对甲状腺癌有较高诊断价值,但敏感度较低,与上述研究一致,说明SMURF1单独诊断甲状腺癌具有局限性。

近年来,影像学与血清因子联合用于疾病评估的研究越来越多,影像学敏感度较好,血清指标具有较高特异度,二者联合使用可提高甲状腺癌的诊断准确度。有研究报道,超声造影联合球蛋白对于甲状腺癌术前N分期的预测具有较高价值[21];超声造影联合血清TSHR对老年甲状腺癌的诊断准确度为87.80%,高于超声造影和血清TSHR单独诊断[15]。本研究中,SImax联合血清SMURF1用于疾病评估的准确度高于单独诊断,提示二者联合诊断弥补了超声造影、SMURF1单独诊断的不足,降低了临床高度怀疑而难以确诊的甲状腺癌患者的误诊率,具有较高应用价值。

综上,超声造影联合血清SMURF1检测能有效提高甲状腺癌的诊断效能,可在保证甲状腺癌患者有效诊断的前提下,避免临床甲状腺癌患者的过度治疗。但本研究样本量较少且缺乏患者随访基本资料,未对超声造影联合血清SMURF1与甲状腺癌复发、预后的关系进行深入研究,后续将加大样本量进一步研究。

[参考文献]

[1] Seib CD, Sosa JA. Evolving understanding of the epidemiology of thyroid cancer[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2019, 48(1): 23-35. doi:10.1016/j.ecl.2018.10.002.

[2] Sorrenti S, Dolcetti V, Fresilli D, et al. The role of CEUS in the evaluation of thyroid cancer: from diagnosis to local staging[J]. J Clin Med, 2021, 10(19): 4559. doi:10.3390/jcm10194559.

[3] 李冰茹,关新全,李剑秋. 甲状腺癌超声诊断及误诊分析[J]. 局解手术学杂志, 2005, 4(3): 196-197. doi:10.3969/j.issn.1672-5042.2005.03.046

[4] 董文武,张 浩. 持续或复发性分化型甲状腺癌再手术疗效及其影响因素[J]. 中国实用外科杂志, 2021, 41(8): 868-871. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2021.08.07.

[5] Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P. Endocrine tumours: advances in the molecular pathogenesis of thyroid cancer: lessons from the cancer genome [J]. Eur J Endocrinol, 2016, 175(5): R203-R217. doi:10.1530/EJE-16-0202.

[6] Feng X, Jia Y, Zhang Y, et al. Ubiquitination of UVRAG by SMURF1 promotes autophagosome maturation and inhibits hepatocellular carcinoma growth [J]. Autophagy, 2019, 15(7): 1130-1149. doi:10.1080/15548627.2019.1570063.

[7] Wei X, Wang X, Zhan J, et al. Smurf1 inhibits integrin activation by controlling Kindlin-2 ubiquitination and degradation[J]. J Cell Biol, 2017, 216(5): 1455-1471. doi:10.1083/jcb.201609073.

[8] Fan X, Wang Y, Fan J, et al. Deletion of SMURF 1 represses ovarian cancer invasion and EMT by modulating the DAB2IP/AKT/Skp2 feedback loop[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(6): 10643-10651. doi:10.1002/jcb.28354.