



中华医学杂志



四川省医学科学院  
四川省人民医院  
SICHUAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES  
SICHUAN PROVINCIAL PEOPLE'S HOSPITAL

# 分子诊断·助力精准医疗

2023

第三届中华分子诊断大会

## 论文汇编

主办：中华医学会 中华医学杂志编辑委员会

协办：四川省医学会检验医学专委会 四川省医师协会检验医师分会

承办：四川大学华西医院 四川省人民医院



04/21日 - 04/23日



# 第三届中华分子诊断大会 论文汇编



官方网站



官方微信

2023年4月21—23日 四川·成都

## 目 次

### 优秀论文

- TREM2:一种新的阿尔茨海默病的生物标志物 ..... 1  
张晓敏 刘静 曹敏 杨婷婷 王亚琦 侯玉丽  
宋乔 崔雨婷 王培昌
- 基于PCR-CRISPR/Cas13a技术检测乙型肝炎病毒共价闭环状DNA方法的  
建立和临床验证 ..... 2  
田原 徐玲 高耀 范子豪 曹亚玲 陈思思 潘桢桢 张向颖 段钟平 任锋
- 可溶性程序性死亡蛋白-1(sPD-1)在预测慢性乙型肝炎患者的严重肝脏炎症中  
是一项很有前景的生物标志物 ..... 3  
欧明蓉
- 联合呼吸道宏基因组和宏转录组鉴别诊断肺癌和肺部感染 ..... 4  
韩东升 余斐 陈瑜
- 父代镶嵌型结节性硬化症漏诊致子代结节性硬化症家系研究 ..... 5  
宋德宇
- 西南地区儿童EB病毒感染现状和流行病学特点 ..... 6  
车光璐
- BCR-ABL1融合基因激酶抑制剂耐药突变监测及突变克隆演变分析 ..... 7  
陈佳琦 马小丽 陈雪 张阳 王芳 袁丽莉 刘红星
- 靶向NGS检测方法用于检测下呼吸道感染病原体的评估 ..... 8  
谷德健 王嘉平 王佳威 易玉婷 楚玉星 张静艳 王榕 杨玲
- 基于外周血单个核细胞DNA甲基化的早期胃癌诊断试剂的研究 ..... 9  
谢艳 王景 王传新
- 基于三维多孔微流控芯片的外泌体SORL1检测平台构建及其在结直肠癌  
早期诊断中的应用 ..... 10  
陈雨晴 杜鲁涛 李培龙
- BRMS1L通过诱导GPX2-ROS通路的氧化还原失衡抑制非小细胞肺癌的  
增殖和转移 ..... 11  
顾觉彬 曹鹏龙 李士军
- PML-RARA变异型融合基因检测及序列分析 ..... 13  
马小丽 王芳 陈雪 张阳 袁丽莉 刘红星
- 基于催化发夹组件联合横向流动免疫层析方法实现对新布尼亚病毒核酸的  
快速、便捷的检测 ..... 14  
陈琳 马梦吟 丁海 赵立伟 欧明蓉 陈雨欣

|  |    |
|--|----|
| 多组学联合应用揭示结直肠癌肝转移患者肠道微生物组和代谢组特征 .....                           | 15 |
| 张馨雅 杜鲁涛 李培龙  |    |
| 基于 GEO 数据库筛选阿尔茨海默病的关键基因及信号通路 .....                             | 16 |
| 侯玉丽 王怡斐 付静轩 王培昌  |    |
| <b>论著·分子诊断进展及应用</b>  |    |
| 基于二代测序的碳青霉烯耐药高毒力肺炎克雷伯菌的分子特征分析 .....                            | 17 |
| 陈典典 曹敬荣 白向荣 杨文硕 王培昌  |    |
| SDCCAG8 对于小鼠模型的多个系统的纤毛的正常形态和功能至关重要 .....                       | 18 |
| 任芝霖 蒋黎   |    |
| ABI3 是一种新的阿尔茨海默病早期生物标志物 .....                                  | 19 |
| 曹敏   |    |
| 血液、痰液 SHOX2、RASSF1A 甲基化检测协助肺癌早期诊断的病例分析 .....                   | 20 |
| 阮和球 王子贺 吴丹娜 夏梦娟 牛婷 高小玲   |    |
| 老年人群甲状腺功能参考区间的建立及对亚临床甲减诊断的影响 .....                             | 21 |
| 付静轩 王培昌  |    |
| 转录因子 CTCF 通过 POLD1 参与复制性衰老的进展 .....                            | 22 |
| 侯玉丽 宋乔 高世超 张晓敏 王亚琦 刘静  |    |
| 付静轩 曹敏 王培昌   |    |
| IGF-1 通过抑制 POLD1 表达促进细胞衰老 .....                                | 24 |
| 侯玉丽 王怡斐 宋乔 张晓敏 刘静 王亚琦 崔雨婷                                      |    |
| 付静轩 冯子仪 张驰 王培昌   |    |
| 癫痫患者脑脊液中 K <sup>+</sup> 、Ca <sup>2+</sup> 水平变化及其临床价值初步探讨 ..... | 25 |
| 路尧   |    |
| 视神经脊髓炎谱系疾病与多发性硬化患者部分脑脊液免疫标志物的比较分析 .....                        | 26 |
| 时丽丽 王金玲 王怡斐 李蕾 王培昌   |    |
| 脑脊液寡克隆区带数量及强弱差异对多发性硬化的诊断意义 .....                               | 27 |
| 王金玲 王培昌  |    |
| 淋巴细胞 Pole2 增龄性表达变化及在常见老年病患者中初步观察 .....                         | 28 |
| 张驰 侯玉丽 王培昌   |    |
| 基于 CRISPR/Cas13a 技术对乙型肝炎低病毒血症患者 HBV DNA 即时检测 .....             | 29 |
| 范子豪 田原 徐玲 曹亚玲 高耀 陈思思 潘桢桢 莫胤康 张向颖                               |    |
| 段钟平 任锋   |    |
| CRISPR/ Cas13a 助力耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(CRKP)检测 .....                     | 30 |
| 曹亚玲 张向颖 田原 徐玲 范子豪 陈思思 潘桢桢 高耀                                   |    |
| 段钟平 任锋   |    |
| 低剂量的化疗药 SAHA 通过上调非小细胞肺癌 MHC- I 的表达促进抗肿瘤免疫应答 .....              | 31 |
| 董文茜 王保龙  |    |
| 705 例胎儿产前诊断芯片与染色体核型分析遗传学结果分析 .....                             | 32 |
| 李萌萌 张晗喆 郝娜 周京 周希亚 戚庆炜 蒋宇林                                      |    |
| 生殖道病原菌 LAMP 检测的环引物设计和优化 .....                                  | 33 |
| 徐小芳 贾义国 陈尚贤 王新博 余跃 金依蕾   |    |
| 张榆卓 苏姝 孙群  |    |
| 基于 CRISPR/Cas13a 新技术检测乙型肝炎病毒 pgRNA 方法建立与评价 .....               | 34 |
| 徐玲 田原 范子豪 曹亚玲 陈思思 张向颖 段钟平 任锋                                   |    |

|  |    |
|--|----|
| 基于级联放大的 CRISPR/Cas 免扩增试纸条的 miRNA 检测 .....                        | 35 |
| 田本顺 程国辉 顾兵 陈明慧   |    |
| 2015至2019年成人癌症患者中产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶肠杆菌科相关尿路感染的<br>多中心回顾性研究 ..... | 36 |
| 王国婧 崔巍   |    |
| 肺炎链球菌 StkP 蛋白 B 细胞及 T 细胞抗原表位的生物信息学分析 .....                       | 37 |
| 李莎莎 王华东 杨丹 伏慧  |    |
| 尿酸与血脂对血流动力学影响的交互作用分析 .....                                       | 38 |
| 向微   |    |
| 白介素 32 在结核性胸腔积液中的诊断价值 .....                                      | 39 |
| 杜娟   |    |
| 基于“T”结构触发的恒温转录扩增用于 BCR/ABLP210 超灵敏荧光原位成像分型检测新方法 .....            | 41 |
| 滕洁 江咏梅   |    |
| NGS 检测甲状腺乳头状癌 RET 基因融合及其临床病理学特征 .....                            | 42 |
| 施栋梁  |    |
| 九价 HPV 疫苗扩龄影响下 60685 例受试者 HPV 基因型特征:一项横断面研究 .....                | 43 |
| 李志强 刘宇 祝成亮 肖璇  |    |
| 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染的临床特征及相关危险因素研究 .....                               | 44 |
| 黄雅轩 蔡依含 何婉霞 赵越   |    |
| 一种针对 Omicron 变异株及其亚系的人源化单抗 .....                                 | 45 |
| 赵立伟 沈瀚 陈雨欣   |    |
| 新冠灭活疫苗诱导的抗体 Fc 介导的效应功能动态监测 .....                                 | 47 |
| 李闯   |    |
| 1997 例海南省黎族新生儿耳聋基因筛查分析 .....                                     | 48 |
| 赵振东 许海珠  |    |
| 血清 miRNA 评估经动脉化疗栓塞治疗肝癌患者的疗效 .....                                | 49 |
| 王福花 王春艳  |    |
| 总丹参酮及联合酪氨酸激酶抑制剂诱导人髓系白血病细胞凋亡研究 .....                              | 50 |
| 刘红星 周晓苏 马小丽 张阳 陈雪 曹泮翔  |    |
| 少见型和变异型 BCR-ABL1 融合基因检测及临床资料分析 .....                             | 51 |
| 马小丽 王芳 张阳 陈雪 袁丽莉 王娜 刘红星  |    |
| 基于遗传学指标的儿童急性髓系白血病个体化预后预测模型 .....                                 | 52 |
| 房建成 王芳 张阳 陈雪 曹泮翔 刘红星   |    |
| 1 例 ALPK3 杂合移码变异致肥厚型心肌病遗传学重分析及相关文献复习 .....                       | 53 |
| 洪陈亮 杜菊萍 葛卫力  |    |
| 基于机器学习进行妊娠期糖尿病风险预测 .....   | 54 |
| 方阳 邢金芳 袁恩武 张琳琳   |    |
| 基于 CRISPR 技术 HDV RNA 检测技术的研发及临床验证 .....                          | 55 |
| 张向颖 任锋   |    |
| 2018 至 2021 年长治地区结核分枝杆菌耐药趋势及基因突变位点分析 .....                       | 56 |
| 宋凌燕  |    |
| 21 例慢性粒-单核细胞白血病遗传学及分子生物学特征分析 .....                               | 57 |
| 杨一平 安子怡 高杰 郝冀洪   |    |
| 1 个新的 COL4A5 基因剪接位点突变所致的 Alport 综合征 .....                        | 58 |
| 陈素云 厉春萍 徐光标 沈波   |    |

|  |    |
|--|----|
| 特异性百日咳鲍特杆菌PCR检测方法的建立和比较 .....  | 59 |
| 左伟伦  |    |
| 染色体微阵列分析技术在1230例不同临床指征孕妇产前诊断中的应用 .....   | 60 |
| 黄洁香 胡聪颖 林荔 黄敏君 林堃  |    |
| 儿童乙肝疫苗免疫无应答差异miRNA筛选与生物信息学分析 .....   | 61 |
| 黄小丽  |    |
| 原始细胞颗粒增多的急性髓系白血病临床特性分析及文献复习 .....  | 62 |
| 侯雪宁 杨一平 高杰 安子怡 郝冀洪   |    |
| 2014至2020年北京人乳头瘤病毒基因型分布变化分析 .....  | 63 |
| 马旭 曾小莉 袁慧  |    |
| 催化茎环自组装反应触发序列的探究 .....   | 64 |
| 刘菊梅  |    |
| 外周血单个核细胞DNA甲基化标志物在乳腺癌早期诊断中的应用 .....  | 65 |
| 孔雪 王恬恬 李培龙 王传新   |    |
| 环状RNA hsa_circ_0067842在乳腺癌中的功能及机制研究 .....  | 66 |
| 李娟 董相君 杜鲁涛   |    |
| 基于外周血单个核细胞的多位点DNA甲基化标记的检测模型对结直肠癌的诊断价值研究 .....  | 67 |
| 谢艳 李培龙 王传新   |    |
| 长链非编码RNA AC0120731对乳腺癌细胞迁移侵袭的影响及临床价值研究 .....   | 68 |
| 孔雪 王传新   |    |
| 综合生物信息学分析AURKA基因与宫颈癌患者不良预后的相关性 .....   | 69 |
| 王秋 李晓峰 夏勇 纪玲   |    |
| 一种新型长链非编码RNA AC0733521通过结合YBX1促进乳腺癌转移及血管生成 .....   | 70 |
| 孔雪 王传新   |    |
| Prognostic value of the long noncoding RNA AFAP1-AS1 in cancers .....  | 71 |
| 朱礼秀 王巧丽 徐国强 徐天瑞  |    |
| Transcriptional expression of CXCL10 and STAT1 in Lupus Nephritis and the intervention<br>effect of Triptolide ..... | 72 |
| 施栋梁  |    |
| 染色质可及性揭示KRAS驱动的FOSL2通过上调CCL28促进胰腺导管腺癌进展 .....  | 73 |
| 张淑君 王传新  |    |
| LncRNA表达谱用于食管癌的预后预测和分子分型研究 .....   | 74 |
| 张淑君 王传新  |    |
| <b>论著·分子诊断技术质量控制</b>   |    |
| 不同提取试剂及配套的提取仪对新冠病毒核酸检测的影响 .....  | 75 |
| 朱颖 刘晓峰 张娟 梁超 程宇 陈忠   |    |
| WT1实时荧光定量试剂盒检测用于白血病治疗监测的方法学评估 .....  | 76 |
| 马小丽 王芳 王娜 周琳 刘昕娜 谭印成 刘红星   |    |
| 人类VKORC1及CYP2C9基因多态性检测体系的性能验证及其思考 .....  | 77 |
| 田德全 兰贺 张蕴秀 王培昌   |    |
| 医院内部POCT血气分析仪比对方法的建立与分析 .....  | 78 |
| 路尧 王红彦 王培昌   |    |
| 新型冠状病毒核酸检测实验室复检规则与报告方式的探讨 .....  | 79 |
| 陈曦妍  |    |

|  |    |
|--|----|
| MALDI-TOF MS自建数据库对丝状真菌临床分离株鉴定能力的评估 .....   | 80 |
| 李颖   |    |
| 基于微滴式数字PCR定量检测丁型肝炎病毒 .....   | 81 |
| 高耀 徐玲 田原 范子豪 曹亚玲 潘桢桢 张向颖 段钟平 任锋  |    |
| <b>论著·多学科合作经验分享</b>  |    |
| 1例5p133-pter部分单体及Xp2212-pter部分重复胎儿的产前诊断 .....  | 82 |
| 詹福寿  |    |
| 预测重症化成人社区获得性肺炎的列线图模型的构建和验证 .....   | 83 |
| 王子铭 虞伟   |    |
| 多模式融合教学在检验科血栓和止血临床见习带教中的应用探索 .....   | 84 |
| 王晓琳 王培昌 李蕾 孙健武 马静 朱文梅  |    |
| 同浓度、不同种类念珠菌孢子对白细胞和血小板计数的影响 .....   | 85 |
| 陈卓曦  |    |
| 新型冠状病毒奥密克戎变异株核酸检测的实践与探讨 .....  | 86 |
| 何吕芬 林子金 张新平 陈少金 朱华雄 罗文凯 秦天 朱雄  |    |
| CALM-AF10阳性急性白血病患者临床特征及预后分析 .....  | 87 |
| 王彤 陈雪 张阳 王芳 马小丽 袁丽莉 刘红星  |    |
| 衰老细胞促进病毒感染诱导的炎症并抑制病毒复制 .....   | 88 |
| 崔湘铨 邬开朗 祝成亮 肖璇   |    |
| <b>病例报告·分子诊断进展及应用</b>  |    |
| mNGS辅助诊断牙周细菌混合感染引起的少见危重症脑干脓肿病例1例 .....   | 89 |
| 李瑞 张栋 杜娟 肖盟 谢秀丽 尚雪松 于淑颖 赵颖 伊洁 郭佳钰<br>苏慧婷 徐英春 杨启文   |    |
| FGG基因Ala315Gly错义突变导致遗传性异常纤维蛋白原血症的家系分析 .....  | 90 |
| 赵而玉 李玉杰 于婷 张燕 叶荃 龙云霞 马晓云 王晓燕   |    |
| TUBB1新发突变相关的巨血小板减少症1例并文献复习 .....   | 91 |
| 高杰 安子怡 杨一平 郝冀洪   |    |
| SRC基因相关性血小板减少家系1例附文献复习 .....   | 92 |
| 安子怡 杨一平 高杰 郝冀洪   |    |
| ctDNA用于未知原发病灶脑转移瘤患者的诊断及靶向治疗的病例报道 .....   | 93 |
| 江佳佳 卜暉 杨伊 尹梓瞳 何俊瑛 陈雪 张真源   |    |
| 产前复杂X染色体嵌合型特纳综合征1例 .....   | 94 |
| 朱重阳 刘灵   |    |
| Mycoplasma hominis meningitis diagnosed by metagenomic next-generation sequencing in a preterm<br>newborn: a case report and literature review ..... | 95 |
| 车光璐  |    |
| <b>病例报告·分子诊断技术质量控制</b>   |    |
| 关于1例嗜肺军团菌病的案例分析 .....  | 96 |
| 王子霞 高思懿 顾兵   |    |
| <b>病例报告·多学科合作经验分享</b>  |    |
| 宏基因组测序技术辅助肺部低序列马尔尼菲篮状菌感染检出1例 .....   | 97 |
| 袁凯旋  |    |

|  |     |
|--|-----|
| 宏基因组测序辅助诺卡菌合并其他感染病原体检出2例 .....   | 98  |
| 袁凯旋  |     |
| 原发性纤毛不动综合征2例病例报告及文献复习 .....  | 99  |
| 陈世勇 莫琇琇 王娜 陈帅帅   |     |
| 2M型血管性血友病引起的出血性黄体1例并文献复习 .....   | 100 |
| 应潇颖  |     |
| 抗Yo抗体阳性的帕金森综合征1例分析及文献复习 .....  | 101 |
| 时丽丽  |     |
| 肺炎克雷伯菌肝脓肿1例 .....  | 102 |
| 师志云  |     |
| 新发17q12微缺失导致的青少年发病的成人型糖尿病5型1例 .....  | 103 |
| 陈帅帅 卢扬 杜菊萍 王娜 沈波 扬远行   |     |
| The effect of low-dose abatacept on CTLA4 haploinsufficiency with severe pneumonia ..... | 104 |
| 杜菊萍 陈帅帅 王娜 潘绍标 沈波  |     |

### 综述·分子诊断进展及应用

|   |     |
|---|-----|
| 膀胱癌分子诊断技术发展与应用 .....                    | 105 |
| 聂震宇                                     |     |
| 突触囊泡蛋白2A与神经系统相关疾病的研究进展 .....            | 105 |
| 张晓敏                                     |     |
| 阿尔茨海默病中蛋白质相互作用对 $\beta$ -分泌酶的调节机制 ..... | 106 |
| 刘聪聪                                     |     |
| 星形胶质细胞嘌呤能信号通路在癫痫发病中的作用 .....            | 107 |
| 路尧                                      |     |
| APP胞内转运及其影响因素在阿尔茨海默病发生发展机制研究中的进展 .....  | 107 |
| 王小灵                                     |     |
| 阿尔茨海默病血液蛋白类生物标志物的研究进展 .....             | 108 |
| 王小灵                                     |     |
| E3泛素连接酶在阿尔茨海默病中的作用机制研究进展 .....          | 108 |
| 张晶晶                                     |     |
| 脑脊液生物标志物在阿尔茨海默病诊断中的价值 .....             | 109 |
| 张晓敏                                     |     |
| Canavan病及其致病基因ASPA的研究进展 .....           | 109 |
| 张颖贞                                     |     |
| 基于核酸比色检测沙门氏菌的诊断技术研究进展 .....             | 110 |
| 凌佳继                                     |     |
| 单颗粒散射在核酸检测中的应用 .....                    | 111 |
| 马军                                      |     |
| 核酸筛查中硬气膜实验室和移动方舱实验室的综合应用 .....          | 112 |
| 李树洁                                     |     |
| 单细胞转录组测序技术在多发性骨髓瘤研究中的应用 .....           | 113 |
| 孙玉莹 张娟 程宇 梁超 陈忠                         |     |
| HBV RNA检测在慢性乙型肝炎中的研究进展 .....            | 114 |
| 王晋霞                                     |     |

|  |     |
|--|-----|
| 男性尖锐湿疣与人乳头瘤病毒分型关系的研究进展 .....           | 114 |
| 杨茜                                     |     |
| 临床检验组学模型在缺血性卒中诊断和溶栓预后中的研究进展 .....      | 115 |
| 姜瑶                                     |     |
| 遗传病产前检测技术进展及挑战 .....                   | 115 |
| 罗文波                                    |     |
| 数字PCR技术在核酸检测参考测量程序应用研究进展 .....         | 116 |
| 魏亚丽 周睿 王清涛                             |     |
| 基于RNA的等温扩增技术及其在病原体感染领域的临床应用 .....      | 117 |
| 滕洁                                     |     |
| 西黄丸靶向miRNA治疗乳腺癌的分子机制 .....             | 118 |
| 卢晴晴                                    |     |
| <b>综述·分子诊断技术质量控制</b>                   |     |
| 人乳头瘤病毒两种检测方法的比较 .....                  | 119 |
| 何美惠                                    |     |
| 人乳头瘤病毒概述 .....                         | 119 |
| 张琳                                     |     |
| 实验室自建遗传病NGS检测项目及实践 .....               | 120 |
| 贾佳 胡腾 吴冰冰                              |     |
| <b>综述·多学科合作经验分享</b>                    |     |
| DBS刺激丘脑底核和苍白球内侧核对晚期帕金森病疗效的meta分析 ..... | 121 |
| 王珍玉                                    |     |
| 后疫情时代传染性疾病的分子诊断“平战结合”策略的思考 .....       | 122 |
| 吴茜                                     |     |

# TREM2:一种新的阿尔茨海默病的生物标志物

张晓敏 刘静 曹敏 杨婷婷 王亚琦 侯玉丽 宋乔 崔雨婷 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 脑内小胶质细胞表达的髓样细胞触发受体2(TREM2)在神经退行性疾病,尤其是阿尔茨海默病(AD)中起着重要作用。本研究旨在阐明TREM2作为AD诊断生物标志物的潜在价值。

**方法** 采用ELISA法检测人和小鼠血清中TREM2水平,采用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)和Western blot方法检测单核细胞和小鼠脑组织中TREM2 mRNA和蛋白质的表达水平,采用MMSE/MoCA评分法评估患者的认知能力,采用Morris水迷宫(MWM)实验评价小鼠的认知能力,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析TREM2对AD和帕金森病型痴呆(PDD)的诊断价值。

**结果** 与健康对照者(HC)相比,轻度认知障碍(MCI)患者、阿尔茨海默病型痴呆(DAT)患者和PDD患者的血清可溶性TREM2(sTREM2)浓度和单核细胞中TREM2的表达水平均显著升高。与野生型小鼠相比,APP/PS1小鼠血清和海马中的TREM2水平也显著升高。在AD患者和APP/PS1小鼠中,TREM2水平与认知能力呈负相关。此外,血清sTREM2在区分AD和HC的敏感性和特异性分别为81.8%和47.6%。

**结论** TREM2可能是AD诊断和监测的一种新的潜在生物标志物。

## · 优秀论文 ·

# 基于PCR-CRISPR/Cas13a技术检测乙型肝炎病毒共价闭环环状DNA方法的建立和临床验证

田原 徐玲 高耀 范子豪 曹亚玲 陈思思 潘桢桢 张向颖 段钟平 任锋  
首都医科大学附属北京佑安医院 北京市肝病研究所

**目的** 共价闭环环状DNA(cccDNA)的存在是乙型肝炎病毒(HBV)持续感染的主要原因。目前的检测HBV cccDNA的方法存在灵敏度和特异性方面的不足。本研究旨在建立基于CRISPR-Cas13a技术的高度敏感和特异的方法来检测HBV cccDNA。

**方法** 通过比较rcDNA和cccDNA的基因序列,设计并筛选了扩增靶向缺口区域的PCR引物、探针和crRNA,从而建立了包括样品提取、预处理、扩增和检测在内的基于CRISPR-Cas13a技术的HBV cccDNA检测新方法。收集HBV相关患者的肝组织、血浆、全血和外周血单核细胞(PBMC),对该方法进行进一步的临床验证。

**结果** 选定HBV cccDNA跨缺口区作为扩增靶序列,设计特异性PCR引物、荧光定量PCR探针以及crRNA,建立了基于CRISPR-Cas13a技术的HBV cccDNA检测新方法。并利用qPCR、PCR-CRISPR、RCA-qPCR、RCA-PCR-CRISPR和ddPCR五种方法对40例HBV相关患者的肝组织和24例HBV相关患者的血浆、全血和外周血单个核细胞(PBMC)进行了检测。结果表明,RCA-PCR-CRISPR方法对肝组织的检出率为72.5%,高于其他检测方法。

**结论** 本研究建立了基于CRISPR/Cas13a的新型检测方法,可对HBV cccDNA进行高灵敏度和特异性检测,为准确检测HBV感染、抗病毒治疗评估、治疗终点的确定以及调整治疗方案提供了有力的技术支撑。

# 可溶性程序性死亡蛋白-1(sPD-1)在预测慢性乙型肝炎患者的严重肝脏炎症中是一项很有前景的生物标志物

欧明蓉

南京医科大学鼓楼临床医学院医学检验科

**目的** 肝活检是诊断肝脏炎症的金标准,但因其属于侵入性手术而限制了它的广泛应用。可溶性程序性细胞死亡蛋白-1(sPD-1)在炎症和感染性疾病中表达上调,且与疾病的严重程度相关。本研究旨在探寻在慢性乙型肝炎(CHB)患者中血清sPD-1与肝脏炎症及纤维化程度之间的潜在相关性,并评估其识别严重肝脏炎症的CHB患者的能力。

**方法** 研究共纳入南京医科大学鼓楼临床医学院241例接受肝活检的CHB患者。血清sPD-1水平通过采用高通量、自动测定方法来进行检测。分析血清sPD-1水平与肝脏炎症及纤维化程度的相关性,然后进行单因素和多因素logistic回归分析,来分析严重肝脏炎症的自变量。采用二元logistic回归构建严重肝脏炎症的预测模型,并采用受试者工作特征曲线(ROC)评价预测模型的诊断准确性。

**结果** 血清sPD-1水平在严重肝脏炎症( $G \geq 3$ )的CHB患者中最高[211.01(164.30, 390.63)pg/ml],高于轻度肝脏炎症( $G_0$ - $G_1$ ) [128.07(100.98, 174.06)pg/ml,  $P < 0.001$ ]和中度肝脏炎症( $G_2$ ) [120.97(100.73, 165.37)pg/ml,  $P < 0.001$ ]的CHB患者。且血清sPD-1水平与肝脏的炎症分期( $r=0.192$ ,  $P=0.003$ )、AST( $r=0.278$ ,  $P < 0.001$ )和ALT( $r=0.136$ ,  $P=0.035$ )呈正相关。多变量分析结果显示,血清sPD-1、天冬氨酸转氨酶(AST)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(GGT)、血小板(PLT)和乙型肝炎病毒e抗原(HBeAg)是严重肝脏炎症的预测因子。通过结合sPD-1、AST、GGT、PLT和HBeAg建立的预测模型在预测CHB患者(AUC=0.917, 95%CI: 0.863~0.971)和ALT $\leq 1 \times$ 正常(ULN)上限的CHB患者(AUC=0.921, 95%CI: 0.851~0.991)的严重肝脏炎症方面具有良好的表现。

**结论** 血清sPD-1与CHB患者的肝脏炎症程度相关,高水平血清sPD-1反映了严重的肝脏炎症。血清sPD-1是严重肝脏炎症的预测因子,在与其他临床指标结合时具有更高的诊断准确性。

# 联合呼吸道宏基因组和宏转录组鉴别 诊断肺癌和肺部感染

韩东升 余斐 陈瑜

浙江大学医学院附属第一医院检验科

**目的** 无偏倚的宏基因组高通量测序(mNGS)技术能够在一次测试中获得样本中所有的微生物和宿主遗传物质(DNA和RNA)。本研究旨在依靠支气管肺泡灌洗液 mNGS 测试(BLAF-mNGS)生成的宏基因组和宏转录组数据开发基于机器学习的鉴别诊断模型,并研究其在患有肺部疾病的患者中早期鉴别诊断肺癌和肺部感染的临床效能。

**方法** 纳入浙江大学医学院附属第一医院 775 例呼吸系统疾病患者,包括 160 例病理诊断为肺癌的患者,以及 615 例具有微生物证据的肺部感染患者(包括结核病 131 例、真菌性肺炎 172 例、细菌性肺炎 312 例)。对入组的所有患者收集的 BALF 样本进行了无偏倚(DNA+RNA)的 mNGS 检测。使用生成的 mNGS 数据,比较了肺癌患者和肺部感染患者之间微生物多样性和宿主基因表达的差异。然后将肺癌组和每个感染组的 BLAF-mNGS 数据集随机分为训练数据集和验证数据集,用于开发可用于区分肺癌和各种肺部感染的最佳鉴别诊断模型。

**结果** 通过比较肺癌( $n=160$ )和肺部感染( $n=615$ )的 BALF-mNGS 测试数据,发现感染组微生物多样性高于肺癌组( $P<0.05$ )。呼吸道定植微生物(棒状杆菌和拟杆菌)和病原体(结核分枝杆菌和新型隐球菌)是两组的主要差异微生物( $P<0.05$ , LDA 评分 $>2$ )。从 BALF 样本中检测到的基因表达数据中,检测到 175 个富含 NOD 样受体信号通路和趋化因子信号通路的基因在肺癌和肺部感染组之间差异表达( $FDR<0.05$ )。细胞类型组成成分分析显示,巨噬细胞 M1 在肺部感染组中较高( $P<0.001$ ),而在肺癌组中肥大细胞活化和 DCs 活化较高( $P<0.001$ ,  $P=0.016$ )。随后,将 BALF-mNGS 的宏基因组(微生物组成和人类拷贝数变异)和转录组数据(宿主差异表达基因和细胞类型组成分析)与 11 个机器学习分类器组合建模(将其命名为 LC/PI 模型),用于区分肺癌和肺部感染。结果表明,随机森林诊断模型(RF-LC/PI 模型)在区分肺癌和肺部感染方面具有最佳性能(灵敏度和特异度分别为 86.7% 和 87.8%,  $AUC=0.838$ )。类似于 RF-LC/PI 模型的建立,进一步开发了 3 个区分肺癌和结核病(LC/TB 模型)、肺癌和真菌性肺炎(LC/FP 模型)、肺癌和细菌性肺炎(LC/BP 模型)的诊断模型。这 3 种模型的 AUC 分别为 0.91、0.88、0.91,说明具有较高的鉴别诊断准确率。

**结论** 本研究利用 BALF-mNGS 的宏基因组和宏转录组数据建立了用于鉴别肺癌和肺部感染的组合组学诊断模型,结果显示了较高的鉴别诊断准确性。该方法的使用预期可以促进肺部疾病的早期临床鉴别诊断,并使患者通过一种实验室测试受益更多。

# 父代镶嵌型结节性硬化症漏诊致子代结节性硬化症家系研究

宋德宇

四川大学华西医院皮肤性病科

**目的** 检测分析结节性硬化症家系致病基因。

**方法** 该家系两姐弟均表现为结节性硬化症,而父母均“健康”。采集该家系成员临床资料、外周血及病变组织,进行二代测序以及 sanger 验证。

**结果** 该家系儿子为先证者,外周血二代测序发现先证者携带 TSC1 c.1525C>T 突变。该位点在家系其他成员进行 sanger 验证结果表明,父母均为野生型,姐姐检出 TSC1 c.1525C>T 突变。对父母外周血进行进一步的靶向 TSC1 基因深度测序。发现母亲外周血存在比例为 15.13% 的 TSC1 c.1525C>T 低频突变。追问病史:母亲既往存在“肾囊肿”,组织学发现部分区域存在血管平滑肌脂肪瘤表现,但未予重视。两姐弟均患结节性硬化症。

**结论** 该家系母亲为 TSC1 合子后变异所致的镶嵌型型结节性硬化症,合子后突变累及生殖腺镶嵌,导致子代出现结节性硬化症。镶嵌现象在临床上并不少见,充分认识并结合高深度检测其致病突变并结合遗传咨询,有助于阻断严重的综合征在子代出现。

· 优秀论文 ·

# 西南地区儿童EB病毒感染现状和流行病学特点

车光璐

四川大学华西第二医院检验科

**目的** 回顾分析西南地区儿童原发性EB病毒感染的年龄构成、男女性别占比情况、EB病毒感染初始就诊原因等流行病学特点,为儿童EB病毒感染的诊疗和后续研究预后因素提供基础。

**方法** 收集2021年1月至2022年12月四川大学华西第二医院门诊及住院就诊的同时进行EB病毒核酸定量检测患者的年龄、性别、就诊时间、就诊原因等基本信息。分析EB病毒核酸检测的阳性率和儿童EB病毒感染的阳性率;不同季节儿童EB病毒检测阳性率有无变化;儿童EB病毒感染的年龄段分布情况,以及感染儿童初始就诊原因的分布情况。

**结果** 2021年1月至2022年12月EB病毒核酸定量检测的总检测量为17 950例,其中阳性样本2 702例,总阳性率为15.1%;其中儿童的总检测量为17 365例,儿童感染阳性率为15.5%。分析不同季节儿童EB病毒检测阳性率的变化情况发现第1季度、第2季度、第3季度和第4季度儿童EB病毒检测阳性例数分别占总阳性的14.5%(586)、17.6%(819)、15.1%(714)、14.4%(571)。去除重复检测的病例后,发现儿童EB病毒感染者中男性感染者有1 323例,占总阳性的57.2%,明显高于女性感染者989例(42.8%)。通过分析阳性感染者的年龄分布情况,发现处于婴儿期(<1岁)的患者占1.6%,幼儿期(1~3岁)的患者占20.7%,学龄前期(3~6岁)的患者占44.0%,学龄期(6~12岁)的患者占31.0%,青春期(12~14岁)的患者占2.8%。最后分析儿童EB病毒感染者的就诊原因,35.6%的患者因存在典型三联征,即发热、咽峡炎、颈部淋巴结肿大而就诊;34.9%的患者因呼吸道感染症状而就诊,如急性化脓性扁桃体炎、急性支气管炎、肺炎等;其余患者主要是因为单纯的发热、颈部淋巴结炎、肝损伤、双眼浮肿等原因就诊。

**结论** 西南地区儿童EB病毒原发性感染发病率较高,全年均可发病,夏秋季节发病率稍高。男性感染者明显多于女性感染者。同时EB病毒感染在学龄前期和学龄前儿童中高发,可能的原因是该年龄段儿童已经开始走进校园,与人接触频繁,从而增加了病毒的感染风险。

·优秀论文·

# BCR-ABL1 融合基因激酶抑制剂耐药突变监测及突变克隆演变分析

陈佳琦 马小丽 陈雪 张阳 王芳 袁丽莉 刘红星  
河北燕达陆道培医院病理和检验医学科

**目的** 探讨BCR-ABL1融合基因ABL1激酶区耐药突变检测的临床应用及突变克隆演变的规律。

**方法** 采集河北燕达陆道培医院73例临床用激酶抑制剂治疗的慢性粒细胞性白血病(CML)或急性B淋巴细胞性白血病(B-ALL)患者不同时期的118份骨髓或外周血标本。采用巢式PCR扩增BCR-ABL1的ABL1激酶区,对扩增产物进行基因测序分析,对部分标本加做克隆分析。结合临床情况分析突变与耐药的关系及突变的发生和演变规律。

**结果** 共39例患者检测到突变,突变类型共25种(点突变23种、插入突变1种、缺失突变1种);49例未用格列卫治疗的患者中,2例(4.1%)检测到耐药突变,但突变克隆比例较低;47例临床出现耐药的患者中,36例(76.6%)检测到突变,其中7例患者通过增加伊马替尼剂量达到一定的效果,5例患者通过改用达沙替尼获得改善的治疗效果;15例出现加速期、急变期进展的CML患者中,突变克隆比例较高;1例患者中同一克隆同时携带T315I合并E355G突变,临床表现为完全耐药;1例患者中不同克隆分别携带G250E和M351T突变,在伊马替尼治疗过程中,耐药程度较低的M351T克隆比例逐渐降低,耐药程度较高的G250E克隆比例逐渐增加;1例患者中检测到不同克隆分别携带G250E和T315I突变,在用伊马替尼治疗过程中,中度耐药的G250E克隆比例逐渐降低,高度耐药的T315I克隆比例逐渐增加,患者对伊马替尼和达沙替尼均耐药,后在骨髓移植后复发时又检测到一过性出现的功能缺失型的D363fsX380突变。

**结论** ABL1激酶区点突变是激酶抑制剂耐药的主要原因,临床耐药的患者中约76.6%可通过基因测序方法检测到突变克隆。少数患者用药前即存在较低比例的耐药突变克隆,临床出现疾病进展的患者中耐药突变克隆比例较高。突变类型多为点突变,也可为插入或缺失突变,甚至也可能会有功能缺失型突变出现。部分突变克隆可同时携带两种突变,也可能有两种不同突变的克隆同时存在。多种突变克隆存在时,在药物作用下可观察到克隆演变,耐药程度较高的克隆更易获得生存优势。

## · 优秀论文 ·

# 靶向 NGS 检测方法用于检测下呼吸道感染病原体的评估

谷德健<sup>1</sup> 王嘉平<sup>2</sup> 王佳威<sup>2</sup> 易玉婷<sup>2</sup> 楚玉星<sup>2</sup> 张静艳<sup>1</sup> 王榕<sup>1</sup> 杨玲<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北京吉因加医学检验实验室有限公司医学中心; <sup>2</sup>苏州吉因加生物医学工程有限公司

**目的** 靶向NGS技术(target next-generation sequencing, tNGS)是一种新兴的、类似于mNGS的测序技术;通过靶向扩增或者捕获目标病原体,可以实现广泛且快速的病原体检测。本研究旨在评估一种靶向306种病原体的tNGS技术用于下呼吸道感染患者病原体检测的可行性。

**方法** 分别从生物信息学模拟数据、微生物标准品和临床样本三个层面进行评估。首先,模拟数据分别通过人源基因组序列和病原基因组序列模拟感染样本,构建了35个属和244个种的模拟样本,用于评估该tNGS模拟检测的稳定性及生物信息学判读的准确性。第二,通过对28种微生物标准品的检测,评估tNGS检测方法的准确性及稳定性;28种标准品包含15种细菌、6种真菌、7种病毒(3种DNA病毒和4种RNA病毒)。最后,纳入117例(107例阳性和10例阴性)来自于下呼吸道感染(LRTI)患者的肺泡灌洗液(86例)和痰液样本(31例)进行tNGS检测性能的评估。

**结果** 通过模拟数据评估了tNGS检测方法的稳定性。在模拟数据评估中,无论是35个属,还是244个种的模拟样本,都被准确判读(阳性率均为100%),且可以有效过滤因近源比对导致的错误信号。进一步通过微生物标准品进行了tNGS检测方法的评估。分析纳入了28个标准品和10个人源序列的阴性对照。100%(28/28)的微生物标准品检出阳性,100%的阴性对照检测为阴性。为了保证检测结果的稳定性和精密度,对6个微生物标准品进行了2轮检测测试,结果显示2次检测的微生物reads之间差别小于10倍,保证了检测的精密度。最后,纳入了117例临床样本进行了tNGS检测准确性的分析,临床阳性结果以培养和分子检测结果为参考标准。tNGS检测结果显示100例为阳性,其中真阳性样本为97例;17例为阴性,其中真阴性样本为7例。10例假阴性样本中,2例有明确培养结果,其中1例tNGS中仅检出铜绿假单胞菌,培养结果还存在大肠埃希菌;另1例培养结果显示嗜麦芽窄食单胞菌和烟曲霉阳性,tNGS仅检测到烟曲霉;另外8例在其他分子检测中均报出阳性,但在tNGS中未检出可信病原体。3例假阳性样本中均检测到了条件致病菌,3例均检出肺炎链球菌,其中2例检出流感嗜血杆菌。tNGS检测的准确性为88.9%,阳性符合率为90.6%,阴性符合率为70.0%。其中,细菌的阳性符合率为93.4%,真菌为77.8%,病毒为100.0%。

**结论** 通过生物信息学模拟数据、微生物标准品和临床样本对tNGS检测技术的评估,tNGS检测方法在306种病原体中显示出较高的准确性。在临床样本中阳性一致率达到了90.6%,并且能准确判断耐药结果。这或许有助于临床LRTI患者快速和准确的病原学检测。

# 基于外周血单个核细胞DNA甲基化的 早期胃癌诊断试剂的研究

谢艳 王景 王传新  
山东大学第二医院检验科

**目的** 胃癌早期诊断方法多为侵入性,敏感性、特异性不理想。外周血单个核细胞中异常的DNA甲基化参与了对肿瘤的免疫反应,并可能作为胃癌诊断的非侵入性标记物。本研究旨在外周血单个核细胞中识别有用的DNA甲基化标记,并开发一种早期胃癌(EGC)的诊断方法。

**方法** 用于胃癌早期诊断的候选DNA甲基化标记物是通过 Infinium MethylationEPIC BeadChip 在外周血单个核细胞上筛选获得的,随后用焦磷酸测序和靶向亚硫酸氢盐测序(TBS)进行验证。然后,建立了一种高效的胃癌检测分类器,利用新开发的多通道 qMSP (mcqMSP)检测外周血单个核细胞中4个 CpG 位点的DNA甲基化状态。在多中心队列中分析了该分类器对胃癌早期筛选的性能。

**结果** 经标记选择阶段进一步筛选,标记验证阶段焦磷酸测序和TBS验证,得到4个胃癌甲基化差异的CpG标记(cg11754974、cg15792125、cg22678228和cg22792587)。这4种CpG标记物能较好地地区分胃癌患者和健康人群(AUC均>0.800)。进一步构建了基于4种甲基化标记和mcqMSP法的胃癌检测分类器,分类器开发和验证阶段,胃癌和EGC检测的AUC分别为0.921、0.885和0.891、0.870。更重要的是,与传统的血清学标记物相比,胃癌检测分类器具有更高的检出率和较高的特异性。

**结论** 基于mcqMSP法和4种甲基化标记的胃癌检测分类器是一种特异性、无创性、有前景的EGC诊断方法。

· 优秀论文 ·

# 基于三维多孔微流控芯片的外泌体 SORL1 检测平台构建及其在结直肠癌早期诊断中的应用

陈雨晴<sup>1</sup> 杜鲁涛<sup>2</sup> 李培龙<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山东大学第二医院检验科;<sup>2</sup>山东大学齐鲁医院检验科

**目的** 外泌体因其丰富的生物信息和高度的稳定性而成为结直肠癌(CRC)诊断的新生标志物。然而,具有特定表面受体的外泌体的准确检测是有限的,阻碍了它们的临床应用。本研究旨在构建基于三维多孔海绵微流控芯片的外泌体富集平台。

**方法** 构建基于三维多孔海绵微流控芯片的外泌体富集平台,包括三维多孔PDMS海绵结构的制备和结构表征。三维多孔海绵结构用CD9抗体功能化以捕获进入微流控芯片的外泌体,外泌体捕获效率高达90%。然后通过外泌体蛋白质组学分析技术筛选可用于CRC诊断的差异性外泌体膜蛋白标志物。多水平表达筛选表明SORL1为CRC特异性外泌体膜蛋白,SORL1阳性外泌体纳入下一步研究。随后,进一步设计了一种通过特异性量子点标记检测SORL1的方法,利用硅量子点(Si-QD)荧光信号提高外泌体SORL1的检测灵敏度,并合成了Si-QD和SORL1抗体复合物。最后,采用基于人工智能(AI)的综合分类方法,从64张互补的量子点荧光图像中提取综合特征,构建快速、灵敏的结直肠癌诊断和鉴别系统。受试者工作特征曲线(ROC)用于评估结直肠癌的诊断效率。

**结果** 结直肠癌样本中SORL1的表达显著上调。该系统的诊断灵敏度和特异度分别为91.13%和100%。曲线下面积(AUC)为0.98,明显高于癌胚抗原(CEA)。该方法在早期CRC、年轻CRC和CEA阴性CRC患者中显示出相同的诊断性能。

**结论** 构建了三维多孔海绵微流控芯片,利用量子点检测方法和机器学习智能分析系统,创建了新颖的特异性高效检测技术平台。该平台可实现流经芯片样本中外泌体的高富集,实现快速捕获和定量检测。新创建的智能图像识别系统可以有效实现结直肠癌的早期诊断,为结直肠癌的早期发现提供新的方法和途径。

# BRMS1L通过诱导GPX2-ROS通路的氧化还原失衡抑制非小细胞肺癌的增殖和转移

顾觉彬 曹鹏龙 李士军

大连医科大学附属第一医院检验科

**目的** 探究BRMS1L作为转录因子在非小细胞肺癌(NSCLC)组织和细胞中的表达情况,从细胞和动物水平阐明BRMS1L在非小细胞肺癌细胞中的重要作用;探究其调节通路下游关键分子GPX2,明确BRMS1L调控GPX2介导谷胱甘肽代谢失衡,诱导细胞氧化应激损伤,从而抑制NSCLC进展的分子机制,寻找有希望的药物ROS诱导剂胡椒胺,为NSCLC临床精准治疗模式提供新思路、新方法。

**方法** 生物信息学分析预测转录因子BRMS1L对NSCLC生长、转移和患者预后的影响。NSCLC细胞株慢病毒转染,结合平板克隆及Transwell等实验技术,验证BRMS1L在NSCLC发生发展中的作用。利用RNA-Seq技术筛选过表达BRMS1L前后A549细胞mRNA差异表达谱,应用GSEA等聚类分析软件预测相关信号通路并筛选关键调控蛋白GPX2。通过荧光素酶报告基因活性实验、CHIP实验明确BRMS1L直接调控GPX2的作用方式。应用分子生物学手段,结合质粒转染技术检测GPX2转染前后的稳定过表达BRMS1L的A549细胞和敲减BRMS1L的H358细胞生物学表型(克隆增殖、迁移、侵袭)的改变,并通过流式细胞术检测细胞内的ROS水平,明确BRMS1L通过GPX2-ROS通路发挥抗肿瘤作用。动物实验验证BRMS1L的体内作用,并进一步阐明作用机制。应用胡椒胺观察ROS诱导剂对NSCLC的影响,检测相关标志物水平,观察体内外结果的一致性。

**结果** 生物信息学分析预测转录因子BRMS1L抑制NSCLC发生发展,临床NSCLC组织验证BRMS1L蛋白水平明显低于肺癌旁组织,且与肿瘤大小和转移呈负相关。过表达BRMS1L后,A549细胞的克隆生长能力、增殖能力以及迁移和侵袭能力受到明显抑制。反之,与对照组相比,BRMS1L低表达的H358细胞表现出更强的肿瘤活性。RNA-Seq技术结合数据分析发现过表达BRMS1L后,GPX2表达水平变化显著(差异表达约100倍)( $P<0.001$ ),与之相关的谷胱甘肽代谢信号通路也显著改变。对稳定过表达BRMS1L细胞株进行瞬时转染过表达GPX2,稳定过表达BRMS1L的表型特征因GPX2共转染得到一定程度的逆转。荧光素酶报告基因活性实验和CHIP实验结果显示BRMS1L可以直接作用于GPX2的启动子影响GPX2表达( $P<0.001$ ),流式细胞术显示BRMS1L导致细胞内ROS水平升高。使用ROS清除剂NAC会导致BRMS1L的机制效果被解除,细胞增殖和转移能力增强。构建不同BRMS1L表达量的NSCLC细胞,分别接种于雌性裸鼠侧腹。结果发现BRMS1L高表达组肿瘤生长速度远低于对照组。小鼠组织的免疫组化测定结果显示,BRMS1L高表达组GPX2水平、增殖标志物Ki67的染色强度显著低于对照组,而凋亡蛋白caspase-3的染色强度较高。应

用ROS诱导剂胡椒胺治疗后,NSCLC细胞和肿瘤生长均受到抑制,且BRMS1L低表达组对PL治疗更加敏感,免疫组织化学方法检测ROS标志物8-OXO蛋白的表达,结果显示BRMS1L低表达组8-OXO蛋白阳性率远高于对照组( $P<0.01$ )。

**结论** NSCLC组织中BRMS1L表达水平与病理分级与淋巴结转移有关,说明NSCLC组织中BRMS1L的表达水平可以反映疾病进展程度并对其进行预后评估。转录因子BRMS1L可以抑制癌细胞的增殖、迁移和侵袭过程,提示BRMS1L可以抑制癌细胞的发生发展,为临床治疗提供新的靶点。BRMS1L作为转录因子可以直接作用于GPX2的启动子,调控GPX2介导谷胱甘肽代谢失衡,使细胞内ROS水平升高,导致细胞氧化应激损伤,影响肿瘤生长,从而抑制NSCLC进展。活性氧类物质H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以抑制NSCLC进展,且无论是体内还是体外,低表达BRMS1L对胡椒胺治疗具有更高的敏感性。BRMS1L表达水平可能是预测小分子ROS诱导剂治疗反应的潜在生物标志物,为靶向治疗提供了新的思路。

# PML-RARA 变异型融合基因检测及序列分析

马小丽 王芳 陈雪 张阳 袁丽莉 刘红星  
河北燕达陆道培医院检验科

**目的** 了解PML-RARA变异型(V型)融合基因的序列特征,对PML-RARA融合基因进行综合检测,并对其中的V型融合基因进行序列分析。

**方法** 收集河北燕达陆道培医院初治或复发的急性早幼粒细胞白血病(APL)患者骨髓或外周血标本。用巢式PCR和欧洲抗癌协作组的EAC2003方案对PML-RARA融合基因进行检测,并对发现的V型融合基因进行序列分析。

**结果** 112例PML-RARA阳性的患者中,7例为V型(6.3%),7例V型融合基因均通过巢式PCR正确检出和分型,但EAC2003方案只能正确检出其中4例。基因序列分析表明,两种方案均正确检出的4例患者PML基因断裂位点均位于Exon6的后半部分。其他3例患者中,1例PML基因的断裂位点位于Exon6前半段;1例PML基因的断裂位点位于Exon6前半段,并伴有63bp来源于RARA第二内含子的序列插入;1例PML基因的断裂位点位于Exon6前半段,并伴有36bp来源于RARA第二内含子的序列插入,该患者染色体核型分析未见t(15;17)(q22;q12),但用FISH方法检测到91.4%的细胞可见PML-RARA融合信号。此3例患者由于PML基因的断裂位点位于Exon前半段,部分伴内含子来源的假性外显子片段的插入,从而导致EAC2003方案的检测和分型失败。

**结论** PML-RARA V型融合基因临床较为少见,并且其序列具有较大的变异性。在检测到的7例PML-RARA V型患者中,EAC2003方案不能正常检出其中的3例,应对方案进行改进设计。

## · 优秀论文 ·

# 基于催化发夹组件联合横向流动免疫层析方法实现对新布尼亚病毒核酸的快速、便捷的检测

陈琳<sup>1</sup> 马梦吟<sup>1</sup> 丁海<sup>1</sup> 赵立伟<sup>2</sup> 欧明蓉<sup>1</sup> 陈雨欣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学附属南京鼓楼临床医学院检验科;<sup>2</sup>南京中医药大学附属鼓楼临床医学院

**目的** 发热伴血小板减少综合征(SFTS)是在中国新出现的一种蜱虫传播的病毒性感染疾病。目前,诊断SFTS病毒(SFTSV)感染的金标准方法是逆转录聚合酶链反应(RT-PCR),但是该方法需要大型设备和专业人员,在大多数SFTS流行的农村地区无法普及。本研究旨在开发一种用于检测SFTSV的简单、快速的核酸扩增系统。

**方法** 本研究开发了一种用于检测SFTSV的简单、快速的核酸扩增系统,即催化发夹组件(CHA)与基于试纸条的横向流动免疫层析(LFIA)的检测方法相结合。可以通过扩增产物(生物素和地高辛双标记的H1-H2杂交双链)来检测SFTSV RNA,将其加入到含有荧光素 Alexa Fluor 647(AF647)联合链霉亲和素以及抗地高辛抗体的LFIA试纸中,最后通过AF647荧光确定SFTSV RNA的存在。

**结果** CHA-LFIA方法呈现出非常高的扩增效率和特异性,检测限可以达到1 aM。将47例SFTS患者和12名健康对照者的血清样本利用CHA-LFIA方法进行了SFTSV RNA检测,结果表明该检测方法与RT-PCR结果一致。新建立的CHA-LFIA方法可以在30 min内对血清样品实现500 IU/ml SFTSV的稳定检测。

**结论** 本研究建立了一种快速、简单、高灵敏和特异性的核酸检测方法。在SFTS流行的农村地区,该方法为SFTS患者的早期诊断提供了可能性。

# 多组学联合应用揭示结直肠癌肝转移患者肠道微生物组和代谢组特征

张馨雅<sup>1</sup> 杜鲁涛<sup>2</sup> 李培龙<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山东大学第二医院检验科;<sup>2</sup>山东大学齐鲁医院检验科

**目的** 肝转移作为结直肠癌(colorectal cancer, CRC)最常见的转移部位,对患者的生存期起着主导作用。尽管结直肠癌肝转移(CRLM)预测有比较成熟的影像学方法,但无创、准确预测肝转移的方法仍然有限。本研究旨在发现CRLM与CRC相比肠道微生物组和代谢组的特征差异,并构建机器学习模型来评估所得生物标志物对CRLM的诊断能力。

**方法** 使用来自198例CRLM和CRC患者的粪便和血清样本进行了宏基因组(粪便)和代谢组(粪便和血清)测序,随机分为发现队列(50例CRC,27例CRLM)和验证队列(100例CRC,21例CRLM)。发现队列的测序结果进一步分析了CRLM肠道微生物、粪便和血清代谢物的特征,并通过五重交叉验证构建了随机森林模型,并在独立队列中验证了该模型的诊断效果。

**结果** 与CRC相比,CRLM具有不同的微生物群落组成以及总体粪便和血清代谢物谱。肠道微生物、代谢物和KO基因与临床指标的关联证明了CRLM特有的肠道菌群-宿主代谢串扰的潜力。采用5倍交叉验证的随机森林模型,获得发现队列中由24个最佳判别性细菌类群、11个KO基因、18个粪便代谢物和21个血清代谢物组成的鉴定模型。结合4个特征生物标志物组的诊断组合曲线下面积(AUC)为0.836,基于血清代谢物作为独立诊断标志物的模型AUC为0.851。值得注意的是,血清代谢物联合CEA的诊断模型AUC为0.931,粪便代谢物联合CEA和CA199的诊断模型AUC为0.934,均具有优异的诊断性能。

**结论** 与CRC相比,CRLM具有独特的宿主-微生物组相互作用,可能是参与肝转移的重要机制。基于代谢物、肠道菌群和微生物酶相关活性的CRLM分类模型可能是准确预测CRLM的有效方法。

## · 优秀论文 ·

# 基于GEO数据库筛选阿尔茨海默病的关键基因及信号通路

侯玉丽 王怡斐 付静轩 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 采用生物信息学分析方法筛选在阿尔茨海默病发生发展过程中扮演重要角色的基因及信号通路。

**方法** 从GEO公共数据库中获得GSE36980数据集作为分析数据集,应用R软件中的limma包进行差异基因的筛选,应用ggplot和pheatmap包绘制差异基因的火山图及热图。ClusterProfile程序包对差异基因进行GO(gene ontology)和KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)的功能富集分析。通过STRING在线数据库和Cytoscape软件构建蛋白质-蛋白质相互作用网络,随后用cytohubba插件筛选出枢纽基因,最后用GSE106241数据集验证枢纽基因的差异表达及与A $\beta$ 42表达水平的相关性,并进行统计分析。

**结果** 通过limma包分析GSE36980数据集,筛选出46个差异表达基因,包括42个下调基因和4个上调基因。GO分析和KEGG功能富集分析表明,差异表达基因在GABA信号通路、Ras信号通路、突触传递、钙离子通道等方面显著富集。通过蛋白互作网络聚焦到与阿尔茨海默病相关的10个枢纽基因。通过GSE106241数据集验证表明,10个枢纽基因中的GABRA1、HTR2A和NEUROD6在不同braak分级中表达下降( $P<0.05$ ),并与A $\beta$ 42表达水平呈负相关( $P<0.05$ )。

**结论** 获得的枢纽基因GABRA1、HTR2A和NEUROD6可能是阿尔茨海默病潜在的生物标志物,为阿尔茨海默病的诊疗提供了新的靶点。

# 基于二代测序的碳青霉烯耐药高毒力肺炎克雷伯菌的分子特征分析

陈典典 曹敬荣 白向荣 杨文硕 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 确定碳青霉烯耐药高毒力肺炎克雷伯菌(CR-hvKP)基因组中耐药基因与毒力基因的分布,探讨CR-hvKP的耐药与毒力分子特征。

**方法** 收集2016—2020年该院分离的17株CR-hvKP菌株,使用Illumina Hisep进行二代测序,对所测序列进行拼接、组装与注释;应用ODiamond软件和RGI软件将CR-hvKP基因组与毒力因子数据库(VFDB)和抗菌药物耐药基因数据库(ARDB)进行比对,发掘和分析菌株基因组中毒力因子和耐药基因分布,并比较不同型别菌株携带的耐药基因与毒力基因的差异。

**结果** 基因组序列数据显示17株CR-hvKP菌株全部为CC258克隆复合群,其中10株(58.9%)MLST型别为ST11型,7株(41.1%)为国际上未报导新序列型别。基因组中存在20多种耐药编码基因,包括对 $\beta$ -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类抗菌药物耐药的基因;存在60多个毒力编码基因,涉及铁摄取和铁载体、调节蛋白、黏附及侵袭作用的10类毒力因子,荚膜血清型仅存在KL64型(82.4%)和KL47型(17.6%),未发现其他血清型。ST11型流行株与新ST型菌株相比,总体所携带的耐药基因与毒力基因及血清型差异无统计学意义( $P>0.05$ ),耐药基因blaCTX-M-27( $P<0.05$ )、blaTEM-1( $P<0.05$ )、blaTEM-2( $P<0.05$ )、ant2ia( $P<0.05$ )、sul1( $P<0.05$ )和毒力基因rmpA( $P<0.05$ )。

**结论** 该院分离CC258克隆CR-hvKP菌中ST11型为主要流行株,CR-hvKP基因组携带大量的耐药基因与毒力基因,新ST型的出现亟需进一步全基因组水平监测耐药和毒力进化,为临床诊治提供依据。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# SDCCAG8对于小鼠模型的多个系统的纤毛的正常形态和功能至关重要

任芝霖<sup>1</sup> 蒋黎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>电子科技大学医学院 四川省人民医院分子遗传中心;<sup>2</sup>电子科技大学医学院 四川省人民医院

**目的** 研究SDCCAG8相关视网膜纤毛病的致病机理。

**方法** 通过利用CRISPR/Cas9介导的同源重组技术(HDR)成功构建携带Sdccag8截短突变的两个基因敲入小鼠模型,Sdccag8<sup>Y236X/Y236X</sup>和Sdccag8<sup>E451GfsX467/E451GfsX467</sup>。它们所对应的人类SDCCAG8基因突变c.696T>G p.Y232X和c.1339-1340insG p.E447GfsX463分别致巴德毕式综合征(BBS)和洛肯综合征(SLS)两种视网膜纤毛病。挑选1个月、3个月、6个月年龄段小鼠各3~5只,进行表型分析:肾-视网膜形态(IHC、HE)、视网膜功能(ERG)、肾脏功能(尿蛋白检测)、感光细胞形态(SEM)、外节段蛋白的表达水平、定位(WB+IHC)等研究SDCCAG8在感光细胞的功能和相关视网膜纤毛病的致病机理。

**结果** 两个基因敲入小鼠模型准确复制SDCCAG8相关BBS综合征的表型,包括视杆-视锥营养不良、肾囊肿、多趾畸形、不育和生长发育迟缓。其表型始发年龄和严重程度与Sdccag8突变的亚等位基因强度成正比。它们是迄今首次表现多趾畸形的BBS基因敲入小鼠模型。虽然,小鼠感光细胞发生退化后,主要光传导相关蛋白出现表达错位。但是,在突变小鼠的感光细胞、肾小管上皮细胞和小鼠胚胎成纤维细胞中都发现纤毛异常。

**结论** SDCCAG8在纤毛发生中发挥着重要作用,纤毛异常是导致SDCCAG8相关视网膜纤毛病的根本原因。

# ABI3 是一种新的阿尔茨海默病早期生物标志物

曹敏

北京怀柔医院检验科

**目的** Abi3 基因是阿尔茨海默病(AD)疾病进程中小胶质细胞的重要调节因子,但 ABI3 在神经退行性疾病中的诊断能力少有报道。本研究旨在阐明 ABI3 在 AD 患者中的诊断价值。

**方法** ELISA 检测 AD 患者血清、CSF 及 APP/PS1 小鼠血清中 ABI3 的水平。进一步通过 RT-PCR 和 WB 检测 AD 患者外周血单核细胞(PBMCs)以及 APP/PS1 小鼠海马和皮层组织中 ABI3 的表达水平。用线性回归分析评估认知能力与 ABI3 水平的相关性。并通过 ROC 分析评估 ABI3 对 AD 的诊断价值。

**结果** AD 患者血清、脑脊液和外周血单核细胞中 ABI3 水平均明显降低,并具有较好的诊断作用。此外,APP/PS1 小鼠的 ABI3 水平从 5 月龄开始在海马组织中明显下降,但这种变化仅出现在 9 月龄的皮层组织中。AD 患者血清及 APP/PS1 小鼠海马组织中的 ABI3 水平与认知能力显著相关。

**结论** 血清、脑脊液和 PBMCs 中的 ABI3 可作为一种新的 AD 早期诊断标志物。此外,ABI3 有可能成为 AD 早期的一种新的示踪标志物。

论著·分子诊断进展及应用·

## 血液、痰液 SHOX2、RASSF1A 甲基化检测 协助肺癌早期诊断的病例分析

阮和球 王子贺 吴丹娜 夏梦娟 牛婷 高小玲  
海南省人民医院中心实验室

**目的** 探讨无创血液、痰液 SHOX2、RASSF1A 基因甲基化技术用于肺癌患者早期筛查及诊断的临床意义。

**方法** 收集海南省人民医院收治的4例老年患者,均采集血液、痰液样本进行人 SHOX2、RASSF1A 基因甲基化DNA检测,结合国内外相关文献资料对基因甲基化检测结果与临床确诊信息进行分析比对。

**结果** 该4例患者年龄71~82岁,均存在呼吸系统疾病症状,3例经有创检测确诊2例肺鳞状细胞癌,1例小细胞癌,1例经PET-CT确诊为肺癌。对比痰液 SHOX2、RASSF1A 基因甲基化DNA检测结果4例患者均为阳性,其中3例血液基因甲基化检测阳性。

**结论** 肺癌高危人群,尤其是具高龄、气管镜检查不耐受特点的老年疑似患者,建议及时进行兼具经济性的无创血液、痰液 SHOX2、RASSF1A 基因甲基化检测,有助于疑似肺癌早期筛查和辅助诊断工作。

# 老年人群甲状腺功能参考区间的建立 及对亚临床甲减诊断的影响

付静轩 王培昌

首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 建立老年人群甲状腺功能参考区间,分析其对甲减、亚临床甲减患病率的影响。

**方法** 收集2018年1月至2020年7月首都医科大学宣武医院体检患者的血清甲状腺功能数据。比较年轻组(<65岁)和老年组( $\geq 65$ 岁)TSH、TT3、TT4、FT3和FT4水平。老年人群参考区间通过数据的2.5分位数和97.5分位数进行建立。此外,根据厂商推荐的参考区间和我们建立的参考区间,我们分析了甲状腺功能减退的患病率。

**结果** 本研究共纳入24 209例体检患者。其中,2 565例年龄 $\geq 65$ 岁,占比10.6%。和年轻组相比,老年组TSH水平(2.02比1.94  $\mu\text{IU/ml}$ )和TT4水平(7.80比7.60  $\mu\text{g/dl}$ )更高,FT3水平(2.96比3.13  $\text{pg/ml}$ )和FT4水平(1.20比1.23  $\text{ng/dl}$ )更低。年轻组和老年组TT3水平相差不多。老年患者中,TSH的参考区间为0.55~6.12  $\mu\text{IU/ml}$ ,TT3的参考区间为0.71~1.43  $\text{ng/ml}$ ,TT4的参考区间为5.00~10.90  $\mu\text{g/dl}$ ,FT3的参考区间为2.36~3.59  $\text{pg/ml}$ ,FT4的参考区间为0.93~1.60  $\text{ng/dl}$ 。老年男性TSH的参考区间为0.56~5.71  $\mu\text{IU/ml}$ ,老年男性TSH的参考区间为0.45~6.44  $\mu\text{IU/ml}$ 。根据厂商推荐的参考区间,共有2 331例(88.8%)具有正常TSH,而根据计算的年龄性别特异性的参考区间,共有2 441例(93.0%,  $P<0.001$ )具有正常TSH。亚临床甲减的患病率分别为8.6%和3.8% ( $P<0.001$ )。

**结论** 和年轻人相比,老年人具有较高水平的TSH。提示建立老年人群TSH参考区间是必要的。这对老年人群亚临床甲减的诊断具有重要意义。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 转录因子CTCF通过POLD1参与复制性衰老的进展

侯玉丽 宋乔 高世超 张晓敏 王亚琦 刘静 付静轩 曹敏 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** POLD1是DNA聚合酶 $\delta$ 的催化亚基,在DNA合成和DNA修复过程中起关键作用,在复制性衰老过程中下调的POLD1介导衰老的发生发展。然而,POLD1随龄下调的分子机制尚未明确。CTCF作为一种转录因子,通过与DNA序列或蛋白质结合,在维持端粒复制和染色体稳定性方面发挥了重要作用。本研究探讨衰老进展中转录因子CTCF对POLD1的调控机制,从而调节和干预衰老进程。

**方法** 从宣武医院健康体检中心招募不同年龄的志愿者,采用密度梯度离心法分离人淋巴细胞。通过ChIP-qPCR在健康人淋巴细胞、2BS和WI38细胞中验证CTCF与POLD1启动子的结合能力。通过western blot和RT-qPCR检测2BS和WI38细胞、SAMP8小鼠各组织、淋巴细胞中CTCF和POLD1表达的随龄改变。在2BS和WI38细胞中转染pLenti-CMV-CTCF慢病毒过表达CTCF,转染shRNA-CTCF慢病毒敲低CTCF,转染shRNA和pLenti-CMV慢病毒分别作为阴性对照,在过表达CTCF的细胞株中转染shRNA-POLD1敲低POLD1表达,在敲低CTCF的细胞株中转染pLenti-CMV-POLD1慢病毒过表达POLD1,进行回复实验。慢病毒转染后通过ChIP-qPCR检测CTCF与POLD1启动子的结合水平,SA- $\beta$ -gal染色检测细胞衰老水平,CCK8检测细胞增殖能力,EdU检测DNA合成能力,彗星实验检测DNA损伤修复能力。

**结果** CTCF主要与POLD1启动子的-1015--997和-625--607结合。此外,在人外周血淋巴细胞、2BS和WI38细胞中,CTCF与POLD1启动子的结合水平随着衰老而减弱。在不同代龄的2BS和WI38细胞、不同月龄SAMP8小鼠的海马、肝脏和鼠尾成纤维细胞、不同年龄健康成人外周血淋巴细胞中POLD1和CTCF的蛋白和mRNA水平随龄下降,并且CTCF与POLD1表达水平之间呈正相关。在2BS和WI38细胞中下调CTCF表达后,POLD1的表达水平下降,并且CTCF与POLD1启动子的结合水平下降,而过表达CTCF后则有相反的结果,并且CTCF过表达诱导的POLD1表达上调被转录抑制剂放线菌素D所阻断,进一步证明CTCF在转录水平上调控POLD1表达。除此之外,在敲除CTCF的细胞中观察到SA- $\beta$ -gal阳性细胞百分比增加、细胞增殖能力下降、DNA合成能力下降和氧化应激下DNA的损伤修复能力下降,而在敲除CTCF的细胞株中转染过表达的POLD1慢病毒后,POLD1的表达水平上调,并且减弱CTCF敲除对细胞衰老的影响。此外,与上述的敲除CTCF细胞株相比,CTCF过表达细胞株的衰老状态发生了相反的改变,延缓了细胞衰老水平,并且在过表达CTCF的细胞株中转染敲除的POLD1慢病毒后,POLD1的表达水平下降,同时减弱CTCF过表达对细胞衰老的影响,以上结果表明CTCF是通过POLD1调控细胞衰老。

**结论** 转录因子 CTCF 与 POLD1 启动子的两个位点进行结合,衰老过程中 CTCF 的下调导致 CTCF 与 POLD1 启动子结合水平下降,进而 POLD1 表达随龄下调从而促进细胞衰老的进展。该研究为复制衰老的分子机制提供了新思路,并可能为延缓衰老提供新的靶点。

## 论著·分子诊断进展及应用·

## IGF-1通过抑制POLD1表达促进细胞衰老

侯玉丽 王怡斐 宋乔 张晓敏 刘静 王亚琦 崔雨婷 付静轩 冯子仪  
张驰 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 虽然衰老与胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)信号传导之间的潜在联系在过去几年中引起了广泛关注,但具体的分子机制尚未完全阐明。POLD1作为DNA聚合酶 $\delta$ 的催化亚基,随细胞衰老而表达下调,在衰老进展中发挥关键作用。本研究探讨IGF-1对POLD1的调控作用,从而对IGF-1调控细胞衰老的机制提供新的思路。

**方法** 通过western blot和RT-qPCR的方法检测不同月龄SAMP8小鼠海马组织中POLD1和IGF-1的表达水平,通过ELISA的方法检测不同年龄段健康人群外周血清中POLD1和IGF-1的表达水平,初步分析POLD1和IGF-1表达之间的相关性。在2BS细胞中加入IGF-1和IGF-1受体(IGF-1R)抑制剂linsitinib后观察POLD1的表达,明晰IGF-1对POLD1的调控作用。通过SA-b-Gal半乳糖苷酶染色观察细胞的衰老状态,5 $\beta$ -Edu实验观察细胞的DNA合成能力,CCK-8实验观察细胞的增殖能力,从而观察IGF-1通路对细胞衰老的影响。在2BS细胞中敲除POLD1和过表达POLD1后,进一步观察IGF-1对细胞衰老的影响,探讨IGF-1-IGF-1R是否是通过影响POLD1而调控细胞衰老。

**结果** 在不同年龄段健康人群血清和不同月龄SAMP8小鼠的海马组织中,IGF-1表达随龄上调,POLD1表达随龄下调,二者之间表达呈明显负相关( $P<0.05$ )。Linsitinib作为IGF-1受体的抑制剂,抑制IGF-1R的激活。用健康年轻人群的血清培养2BS细胞后,IGF-1表达水平下调而POLD1表达水平升高,细胞衰老染色水平下降,DNA合成能力升高,细胞增殖能力升高,细胞衰老状态延缓。而用老年血清培养2BS细胞后则出现相反的结果,当在老年血清培养的细胞中加入linsitinib后,IGF-1水平回复性下降而POLD1水平回复性升高,老年血清促进细胞衰老的作用减弱,表明血清中的IGF-1是通过与IGF-1R受体结合发挥作用。同时在正常培养的2BS细胞中加入外源性IGF-1刺激后,IGF-1表达水平升高而POLD1表达水平下降,细胞发生衰老。而加入外源性的linsitinib后,IGF-1表达水平下降而POLD1表达水平升高,细胞衰老延缓,表明IGF-1是通过与IGF-1R结合调节POLD1表达和调控细胞衰老。而在敲除POLD1的细胞中加入linsitinib后,linsitinib延缓细胞衰老的作用减弱,在过表达POLD1的细胞中加入IGF-1后,IGF-1促进细胞衰老的作用减弱。

**结论** 血清或者外源性的IGF-1通过与IGF-1R结合抑制细胞内POLD1的表达而促进细胞衰老,为IGF-1调控细胞衰老的机制提供了新的证据。

# 癫痫患者脑脊液中 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平变化及其临床价值初步探讨

路尧

首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 探讨癫痫患者脑脊液(CSF)中 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平变化及其作为临床监测指标的价值。

**方法** 选择首都医科大学宣武医院2020年1月至2021年9月收治的癫痫患者65例作为疾病组,其中药物控制良好组35例、控制不良组30例;同期住院的头痛、头晕患者65例为对照组。分别检测各组入组个体CSF及外周血清中钠离子( $Na^+$ )、钾离子( $K^+$ )、钙离子( $Ca^{2+}$ )水平,癫痫患者检测血药浓度;分析各组 $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平的差异,并分析血清、CSF  $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平的相关性和CSF  $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 对癫痫临床用药监测的价值。

**结果** 癫痫组CSF  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平均显著低于对照组( $P<0.05$ ),药物控制不良组CSF  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平均显著低于控制良好组和对照组( $P<0.05$ ),控制良好组与对照组相比CSF  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。癫痫组CSF  $K^+$ 水平与血清 $K^+$ 水平呈正相关( $R^2=0.345$ ,  $P<0.05$ )。当CSF  $K^+$ 浓度截断值为2.67 mmol/L时,对癫痫药物控制不良与控制良好具有较好的诊断效率(灵敏度为95.00%,特异性为89.47%);当CSF  $Ca^{2+}$ 浓度截断值为1.16 mmol/L时,对癫痫药物控制不良与控制良好具有较好的诊断效率(灵敏度为70.00%,特异性为63.16%)。

**结论** CSF  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 均可以作为癫痫药物治疗的监测指标,癫痫药物控制不良的患者在相同血药浓度时会表现出更明显的CSF  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 水平降低,在用药期间,除应监测血药浓度外还应密切关注CSF  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 的变化趋势,以预防药物不良反应的发生。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 视神经脊髓炎谱系疾病与多发性硬化患者部分脑脊液免疫标志物的比较分析

时丽丽 王金玲 王怡斐 李蕾 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 观察血清、脑脊液(CSF)白蛋白(ALB)、免疫球蛋白、补体水平及相关合成指标在多发性硬化(MS)、视神经脊髓炎谱系疾病(NMOSD)中的变化,初步分析上述指标在两种疾病诊断及鉴别诊断中的意义。

**方法** 选取91例已确诊神经系统脱髓鞘患者,包括多发性硬化(MS)患者33例,视神经脊髓炎谱系疾病(NMOSD)患者58例,选取头痛(Headache, HA)患者50例作为非炎性对照组。测定血清及CSF ALB、IgA、IgM、IgG以及血清C3、C4等水平,并计算血清免疫球蛋白与CSF免疫球蛋白比值IgA Q、IgG Q、IgM Q、ALB Q,计算ALB Q>Q<sub>lim</sub>(ALB)及24 h鞘内合成率,比较分析MS、NMOSD各指标差异。

**结果** MS、NMOSD组患者CSF IgG、IgG Q、24 h鞘内合成率和ALB Q>Q<sub>lim</sub>(ALB)比例均显著高于对照( $P<0.05$ ),且MS组患者24h鞘内合成率和IgG Q明显高于NMOSD组( $P<0.05$ )。

**结论** MS和NMOSD均有血脑屏障功能损伤,而鞘内IgG的合成是MS和NMOSD的一个关键区分点,在两者的鉴别诊断中有重要意义。

# 脑脊液寡克隆区带数量及强弱差异 对多发性硬化的诊断意义

王金玲 王培昌

首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 脑脊液寡克隆区带电泳分析后脑脊液出现血清中不存在的条带被认为脑脊液寡克隆区带(oligoclonal band, OCB)阳性,OCB阳性是多发性硬化(multiple sclerosis, MS)确诊的重要依据。在这一条带模式中,有两种不同类型:一种 OCB 条带数量多( $\geq 10$ 条)且显著;第二种 OCB 条带模糊、微弱且数量少( $\leq 4$ 条)。本研究目的是为了探究条带的强弱及数量差异对 MS 的诊断价值。

**方法** 以 2017 年 1 月至 2019 年 6 月入住我院神经内科的神经系统疾病患者为研究对象,在送检脑脊液与血清配对标本要求 OCB 分析的患者中,共筛选出 359 例脑脊液寡克隆区带阳性病例,同时收集这些患者的临床信息。

**结果** 359 例 OCB 阳性患者中,第一种类型(条带数量多且显著)共 270 例(75.2%);第二种类型(条带微弱且数量少)共 89 例(24.8%)。第一种类型中有 219 例(81.1%)被诊断为多发硬化或临床孤立综合征(clinically isolated syndrome, CIS);第二种类型中仅有 1 例(1.1%, $P < 0.001$ )与多发性硬化有关(该例样本为 MS 药物治疗后)。若排除第二种类型阳性条带的干扰,OCB 阳性结果对 MS 或 CIS 的预测价值从 61% 提升至 81.1%。

**结论** 脑脊液 OCB 阳性条带中仅第一种类型对 MS 的诊断意义较大。推荐所有回报为 OCB 阳性的结果中都应注明条带是第一种类型或是第二种类型。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 淋巴细胞Pole2增龄性表达变化及在常见老年病患者中初步观察

张驰 侯玉丽 王培昌

首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 探讨北京市健康人群外周血淋巴细胞Pole2表达水平的增龄性变化,分析常见4种老年病患者与同龄正常人外周血淋巴细胞Pole2表达水平的差异。

**方法** 首先对Pole2 mRNA qRT-PCR自建方法进行性能验证,然后选择2018年12月至2019年12月期间于首都医科大学宣武医院体检中心的健康人及同时期就诊患者作为研究对象,以RT-PCR、蛋白印迹法检测20~29岁、30~39岁、40~49岁、50~59岁、60~69岁、70~79岁( $n=30$ )健康人群外周血淋巴细胞Pole2的mRNA及蛋白表达水平,绘制增龄相关曲线;检测糖尿病(DM)、冠心病(CHD)、阿尔茨海默病(AD)、脑动脉粥样硬化(CVD)外周血淋巴细胞Pole2的mRNA及蛋白表达水平,用单因素方差分析和重复测量做多组均数间比较分析其与同龄健康人群的差异。

**结果** 北京健康人群Pole2的mRNA及蛋白表达水平在20~29岁至50~59岁年龄区间随着年龄增长而上升,60~69岁至70~79组以后随着年龄增长而下降( $P<0.001$ );CHD、AD、DM、CVD患者外周血淋巴细胞Pole2的mRNA及蛋白表达水平明显高于同年龄健康人群,其中AD患者组Pole2蛋白表达水平明显高于其他疾病组( $P<0.001$ )。

**结论** 外周血淋巴细胞Pole2表达水平随着年龄增长而变化为60岁前随着年龄增长而增加,60岁后随着年龄增长而下降;在常见的4种老年病患者中表达均高于正常人,其具有成为衰老及上述老年病标志物的较大潜能。

# 基于CRISPR/Cas13a技术对乙型肝炎 低病毒血症患者HBV DNA即时检测

范子豪<sup>1,2</sup> 田原<sup>1,2</sup> 徐玲<sup>1,2</sup> 曹亚玲<sup>1,2</sup> 高耀<sup>1,2</sup> 陈思思<sup>1,2</sup>

潘桢桢<sup>1,2</sup> 莫胤康<sup>1,2</sup> 张向颖<sup>1,2</sup> 段钟平<sup>1</sup> 任锋<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>首都医科大学附属北京佑安医院北京市肝病研究所;<sup>2</sup>北京肝病研究所

**目的** 世界卫生组织制定了一项战略,旨在到2030年消除乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)对公共卫生的威胁,而主要目标之一是提高HBV检测的效率和覆盖范围。随着抗病毒药物的广泛使用,越来越多的患者持续或间歇性检测到血浆中HBV DNA呈低水平阳性(<2000 IU/ml),称为低水平病毒血症(low-level viremia, LLV),其诊断效率和覆盖范围较低。本研究旨在开发一种快速、便携的HBV DNA检测试纸条,以实现高灵敏度、高特异性的即时检测(point-of-care testing, POCT)。

**方法** 建立、优化和评估了一种基于CRISPR/Cas13a结合RPA技术的快速便捷检测HBV DNA的胶体金试纸条。招募180例HBV感染患者(包括不同病毒载量的患者、LLV患者和接受抗病毒治疗的患者的动态血浆样本)进行临床验证。

**结果** 基于CRISPR-Cas13a技术建立了HBV DNA POCT检测,灵敏度为101拷贝/ $\mu$ l(临床样本灵敏度为<10 IU/ml),特异性均为100%。通过这种方法分别有效地鉴定了HBV DNA梯度浓度HBV阳性质粒和临床样本。针对LLV患者的检测,阳性符合率为87%,阴性符合率为100%,其中>100 IU/ml的LLV患者阳性符合率可达100%。在抗病毒治疗患者中动态血浆样本的检测其敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为100%、92.15%、93.75%、100%。

**结论** 开发了一种基于RPA-CRISPR/Cas13a的快速、便携的HBV DNA检测试纸条,可实现对LLV患者的高灵敏度、高特异性POCT检测。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# CRISPR/Cas13a助力耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(CRKP)检测

曹亚玲 张向颖 田原 徐玲 范子豪 陈思思 潘桢桢 高耀  
段钟平 任锋

首都医科大学附属北京佑安医院北京市肝病研究所

**目的** 耐碳青霉系类肺炎克雷伯菌(CRKP)菌株的出现已成为世界公共卫生的一个难题,快速准确且廉价的CRKP检测在抗生素治疗以及感染控制中发挥重要作用。本研究建立一种基于CRISPR-cas13系统并结合PCR或重组聚合酶等温扩增技术(RAA)的检测方法,用于从纯化菌落中检测KPC,NDM碳青霉烯酶基因和肺炎克雷伯菌(KP)基因助力CRKP的检测。

**方法** 首先,通过比对KPC、NDM和部分KP基因序列获得保守区域,在其中选择150-300bp合成质粒作为阳性标准品,同时设计并筛选可高效检测KPC、NDM和KP基因的crRNA以及相应的PCR、RAA引物。通过PCR或RAA扩增检测模板,并将扩增产物加入CRISPR-Cas13a系统进行反应;其次,使用梯度稀释的质粒进行检测,分析该方法的灵敏性、特异性;最后,收集来自北京佑安医院感染中心保存的60株CRKP菌株,同时使用RAA-CRISPR荧光读出法,RAA-CRISPR横向测流试纸条读出法,NG-Test CARBA 5,纸片扩散法进行检测。

**结果** 建立了基于PCR/RAA-CRISPR的CRKP检测方法,并使用阳性标准品梯度稀释后进行方法评价,采用PCR-CRISPR检测系统,LOD可达到10拷贝/ $\mu\text{l}$ 。采用RAA-CRISPR检测系统,荧光法和横向测流试纸条读出系统LOD均可达到1拷贝/ $\mu\text{l}$ 。灵敏度高于Q-PCR;使用RAA-CRISPR荧光读出法,RAA-CRISPR横向测流试纸条读出法,NG-Test CARBA 5,纸片扩散法同时检测60份CRKP菌株,检出率分别为93%、93%、95%、100%。

**结论** 本研究将PCR/RAA扩增技术与CRISPR-cas13技术相结合,建立了一种快速准确廉价的助力CRKP检测的方法。该方法在耐药监测,感染控制临床以及治疗指导方面有广泛的应用前景。

# 低剂量的化疗药 SAHA 通过上调非小细胞肺癌 MHC- I 的表达促进抗肿瘤免疫应答

董文茜 王保龙

中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)检验科

**目的** MHC- I 分子低表达是肿瘤免疫逃逸的主要机制之一, SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid) 是一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACI), 可通过调节组蛋白乙酰化的状态发挥免疫调节作用。本研究旨在探讨低剂量的 SAHA 是否能通过上调非小细胞肺癌(NSCLC)MHC- I 分子的表达增强抗肿瘤免疫应答。

**方法** SAHA 分别处理人肺癌细胞 A549、H520 和小鼠肺癌细胞 Lewis, 流式细胞术检测 MHC- I、CD80 和 CD86 的表达, WB 检测 STAT1、Smad2/3、MHC- I、p-STAT1 和 p-Smad2/3 的表达, 以及 STAT1 和 Smad2/3 的入核情况; siRNA 干扰 STAT1 和 Smad2/3 的表达, WB 和流式细胞术分别检测 SAHA 处理后 MHC- I 的表达水平变化; 构建小鼠皮下肿瘤模型, 瘤内注射 SAHA 或 PBS, 腹腔注射或不注射通路抑制剂(nifuroxzaide 和 ITD-1), 测量并计算肿瘤体积; 瘤内注射 SAHA, 分离肿瘤浸润的淋巴细胞(TIL), 流式细胞术检测 CD8<sup>+</sup>T 细胞数量和 IFN- $\gamma$  分泌 CD8<sup>+</sup>T 细胞的百分率; Lewis 细胞免疫 C57BL/6 小鼠, 磁珠分选脾脏 CD8<sup>+</sup>T 细胞并与 SAHA 预处理的 Lewis 细胞共培养, 流式细胞术检测 CD8<sup>+</sup>T 细胞的增殖能力和 Lewis 细胞的凋亡情况。

**结果** SAHA 处理后 A549、H520 和 Lewis 细胞表面 MHC- I、CD80 和 CD86 表达显著上调, STAT1、Smad2/3、p-STAT1、p-Smad2/3 表达水平及 STAT1、Smad2/3 入核均显著增加; siRNA 干扰 STAT1、Smad2/3 表达可显著抑制 SAHA 诱导的 MHC- I 分子上调; 瘤内注射 SAHA 明显抑制肿瘤的生长, 阻断 STAT1 和 Smad2/3 通路显著减弱 SAHA 介导的抗癌作用; 瘤内注射 SAHA 显著升高 TIL 中 CD8<sup>+</sup>T 细胞和 IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞的比例; SAHA 预处理的 Lewis 细胞与小鼠脾脏特异性 CD8<sup>+</sup>T 细胞共培养后, CD8<sup>+</sup>T 增殖的能力显著增强, Lewis 细胞凋亡率显著增加。

**结论** 低剂量的 SAHA 通过激活 STAT1、Smad2/3 信号途径上调 NSCLC 细胞表面 MHC- I 分子的表达, 进而增强抗肿瘤免疫应答。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 705例胎儿产前诊断芯片与染色体核型分析遗传学结果分析

李萌萌 张晗喆 郝娜 周京 周希亚 戚庆炜 蒋宇林

中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院产科中心 国家妇产疾病临床医学研究中心妇产科

**目的** 回顾性分析705例因不同指征行产前诊断核型分析与染色体微阵列分析(CMA)检测患者的一般资料及产前遗传学诊断结果。探讨CMA在不同送检指征中的检出率以及与核型分析检出率的比较并探讨对于侵入性产前诊断均应提供CMA检测的必要性。

**方法** 本研究纳入自2021年1月1日至2021年12月31日在北京协和医院就诊,行产前诊断核型分析及CMA检测的705例孕妇的临床资料。根据送检指征不同,将705例行产前诊断病例分为9个亚组,亚组内又可分为超声异常组与无超声异常组。

**结果** 705例患者平均年龄为(33.7±4.6)岁。染色体核型分析共检出异常69例,占总样本9.8%(69/705)。CMA共检出异常100例,检出率为14.2%,CMA异常检出率较染色体核型分析增高6%。两者相比,有显著统计学意义。CMA在超声异常组中异常检出率最高为8.1%,CMA在超声异常组对于致病性/可能致病性拷贝数变异(P/LP CNV)的检出率最高为1.6%(11/705)。CMA在超声正常组中异常检出率约为6%(43/705),P/LP CNV的整体检出率为1.4%(10/705)。CMA与核型分析在不同送检指征组中检出率不同,其中在超声异常组与核型分析相比,检出率显著升高。

**结论** 染色体核型分析与CMA检测在不同送检指征中检出率不同,当胎儿存在超声异常时,胎儿染色体异常风险增加,产前遗传学检测的方案应包含CMA检测。尽管CMA在超声正常组的异常风险较超声异常组低,但仍然存在风险,应将风险告知孕妇。

# 生殖道病原菌 LAMP 检测的环引物设计和优化

徐小芳<sup>1</sup> 贾义国<sup>1</sup> 陈尚贤<sup>2</sup> 王新博<sup>2</sup> 余跃<sup>2</sup> 金依蕾<sup>1</sup> 张榆卓<sup>1</sup> 苏姝<sup>1</sup> 孙群<sup>1</sup>

<sup>1</sup>四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室;<sup>2</sup>四川大学生命科学学院

**目的** 探究环引物对环介导等温扩增(LAMP)方法扩增效率的影响因素,设计并优化孕期生殖道主要感染病原菌的LAMP检测方法。

**方法** 基于前期筛选的阴道加德纳菌(*Gardnerella vaginalis*, *G.vaginalis*)、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*, group B streptococcus, GBS)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E.faecalis*)的特异性检测基因 23S rDNA、glk 和 gyrA,在 LAMP 引物设计网站(<http://primerexplorer.jp/e/>)设计 LAMP 的基础引物组及环引物。本研究使用 *G.vaginalis*、GBS 和 *E.faecalis* 标准菌株构建 LAMP 检测方法,以 *G.vaginalis* 为模型探究环引物的设计与优化方法。通过扩增效率筛选出候选基础引物组及环引物,并且分析环引物的长度和 GC 含量对 LAMP 反应速率的影响,通过特异性和灵敏度实验对候选 LAMP 引物组进行方法评估。

**结果** 根据筛选出 *G.vaginalis* 的设计 LAMP 引物,通过扩增效率筛选出基础引物组 GV-1、GBS-132、EF-3。使用  $6.0 \times 10^5$  CFU/ml *G.vaginalis* 的 DNA 作为扩增模板,在未添加环引物时无阳性扩增,添加一条环引物(LB)和添加两条环引物(LB+LF)时均能产生阳性扩增,且同时添加 LB 和 LF(平均 Ct=14.22)时,扩增效率显著优于仅添加 LB(平均 Ct=23.22)( $P < 0.001$ )。添加不同长度(19 bp、21 bp、23 bp)环引物 LB 进行 LAMP 扩增,各组平均扩增 Ct 值依次为 26.53、28.55 和 30.90,结果表明添加不同长度环引物导致扩增 Ct 值存在显著差异( $P < 0.05$ )。使用 23 bp 的环引物 LB,同时添加不同长度(19 bp、22 bp、25 bp)环引物 LF,各组平均扩增 Ct 值依次为 19.59、21.04 和 22.90,结果表明添加相同环引物 LB 与不同长度环引物 LF 导致扩增 Ct 值存在显著差异( $P < 0.05$ )。添加长度相同、GC 含量不同的环引物 LB(GC 含量 52%、57% 和 62%)和环引物组(LB+LF, GC 含量 48%、53% 和 58%),仅添加环引物 LB 的各组间平均扩增 Ct 值依次为 26.53、27.78 和 28.13,添加环引物组(LB+LF)的各组间平均扩增 Ct 值依次为 19.64、19.55 和 19.41,结果表明 *G.vaginalis* 不同 GC 含量的环引物对 LAMP 扩增效率的影响无显著差异( $P > 0.05$ )。*G.vaginalis*、GBS 和 *E.faecalis* 的引物组 GV-1、GBS-132、EF-3 的灵敏度为  $6.1 \times 10^3$  CFU/ml、 $1.5 \times 10^4$  CFU/ml 和  $2.2 \times 10^3$  CFU/ml,且所有扩增产物的熔解曲线为单峰曲线,说明无引物二聚体产生。

**结论** 环引物的添加可以显著提高 LAMP 扩增效率,且筛选长度较短的环引物有利于提高 LAMP 反应速率。针对 *G.vaginalis*、GBS 和 *E.faecalis* 设计的 LAMP 引物组 GV-1、GBS-132、EF-3 灵敏度高,具有生殖道感染病原菌临床筛查的应用潜力。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 基于CRISPR/Cas13a新技术检测乙型肝炎病毒pgRNA方法建立与评价

徐玲 田原 范子豪 曹亚玲 陈思思 张向颖 段钟平 任锋  
首都医科大学附属北京佑安医院 北京市肝病研究所

**目的** 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)前基因组RNA(perigenomic RNA, pgRNA)是共价闭环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)的转录产物,也是HBV蛋白与核酸的合成模板,是检测抗病毒治疗效果,预测复发的重要指标。但是,由于现有的检测方法灵敏度不高,特异性不强,限制了其作为HBV感染标志物的临床应用。CRISPR/Cas13a检测技术结合重组酶聚合酶扩增技术具有成本低,速度快,灵敏度高的特点。本研究旨在建立基于CRISPR/Cas13a的高灵敏度、高特异性的HBV pgRNA检测方法,并进行验证。

**方法** 首先,阳性样本获取:使用qPCR与ddPCR方法对高病毒载量临床标本进行初筛,获得阳性样本;其次,CRISPR/Cas13a检测方法的建立:选择HBV pgRNA的一段保守序列作为扩增靶点,经过PCR扩增后,扩增产物经CRISPR/Cas13a体系进行反应,通过检测荧光信号值确定最适反应条件;然后,CRISPR/Cas13a检测方法灵敏性、特异性、稳定性评价:将系列稀释的阳性样本通过CRISPR/Cas13a检测后确定其灵敏性,其他病毒样本通过CRISPR/Cas13a检测后确定其特异性,将系列稀释的样本分别进行10次以上重复试验,确定其稳定性;最后,临床样本验证:正常对照组与HBV不同病毒载量组各20份血浆样本,提取病毒核酸,使用CRISPR/Cas13a检测其荧光值,检测结果与qPCR和ddPCR检测方法相对比。

**结果** 使用qPCR与ddPCR方法筛选得到阳性样本浓度为104拷贝/ $\mu\text{l}$ ;阳性样本经PCR扩增后,经CRISPR/Cas13a体系进行反应,筛选出最适crRNA序列与各组分最佳体积,完成基于CRISPR/Cas13a检测方法的建立;系列稀释的样本通过CRISPR/Cas13a方法检测,灵敏度低至1拷贝/ $\mu\text{l}$ ,不同病毒样本通过CRISPR/Cas13a方法检测后,HBV pgRNA阳性样本可以与其他病毒样本的荧光值出现明显差异,系列稀释的样本进行多次重复实验后,组间组内无显著性差异;CRISPR/Cas13a对临床样本进行检测,其检测结果灵敏性与ddPCR相似,更优于qPCR。

**结论** 建立了基于CRISPR/Cas13a检测HBV pgRNA的方法,具有很高的准确性、灵敏性、特异性、稳定性,为临床HBV pgRNA检测提供了新的方向,对HBV感染的疗效评价、监测复发、预后判断具有重大意义。

# 基于级联放大的 CRISPR/Cas 免扩增 试纸条的 miRNA 检测

田本顺<sup>1</sup> 程国辉<sup>2</sup> 顾兵<sup>1</sup> 陈明慧<sup>2</sup>

<sup>1</sup>广东省人民医院检验科;<sup>2</sup>徐州医科大学

**目的** 开发基于 Cas13a 和 Cas12a 级联的 CRISPR/Cas 试纸条检测(casCRISPR-LFA)生物传感器,在无需对待测靶标进行预扩增的情况下,实现 miR-21 的快速,方便和低成本检测。

**方法** 为保证 DNA/RNA 杂交探针在反应过程的稳定,将 un-RNA-Cy5 与 un-DNA-BHQ3 以不同比例(1:0、1:1、1.1:1、1.2:1 和 0:0)进行杂交,以确定最佳的杂交比例。使用琼脂糖凝胶(3%)电泳和荧光曲线对 casCRISPR 系统进行验证。将 casCRISPR 系统与单一的 CRISPR/Cas13a 系统进行性能评估和比较。设计特异性的 crRNA,用于分别靶向 Cas12a 和 Cas13a。RNA/DNA 杂交探针中的 RNA 和 DNA 分别作为 Cas13a 的底物和 Cas12a 的特异性靶标。设计带有测试线(T线)和控制线(C线)的试纸条,以适用于 CRISPR 的信号输出。使用连续稀释的不同浓度的 miR-21( $1\times 10^{-9}$ 、 $1\times 10^{-10}$ 、 $1\times 10^{-11}$ 、 $1\times 10^{-12}$ 和 0 mol/L)评估 casCRISPR-LFA 的灵敏度。使用3种不同的 miRNA(miRNA-141、Let-7d 和 Let-7a),阴性对照组和 miR-21 阳性对照来验证特异度。选择 MDA-MB-231 乳腺癌细胞,三阴性乳腺癌(TNBC)细胞系,作为阳性细胞,进行实际样本中 miR-21 的检测。

**结果** DNA/RNA 杂交探针在 DNA 和 RNA 比例为 1.1:1 的时候最稳定。Cas13a 仅在识别 miRNA 靶标时才发挥反式切割酶活性。同时,DNA/RNA 杂交探针中的 RNA 和 DNA 可以通过 Cas13a 和 Cas12a 的反式活性有效地被酶解。casCRISPR 系统可以在 30 min 内将灵敏度提高 100 倍,而无需靶标预扩增,与基于无扩增的试纸条的 CRISPR 方法相比,灵敏度提高 1 000 倍。在 miR-21 浓度低于  $1\times 10^{-12}$  mol/L 时,试纸条检测线上未出现明显变化,而在大于  $1\times 10^{-11}$  mol/L 时,可观察到颜色较深的 T 线。此外,随着 miR-21 浓度的降低,T线上的颜色逐渐减弱。除了细胞数量为  $6.59\times 10^3$  的 NIH/3T3 细胞和 MDA-MB-231 细胞外,试纸条均观察到深色 T 线。qRT-PCR 检测标准曲线显示,所有经 qRT-PCR 确认的 miR-21 阳性样品也均被 casCRISPR-LFA 测出。此外,两种方法检测比较时,所有 miR-21 阴性待测样品均显示阴性信号。

**结论** 证明了 Cas13a 和 Cas12a 在切割 RNA/DNA 杂交探针时存在的反式切割特性,杂交探针的合成不需要复杂的设计。利用两种 CRISPR/Cas 的级联放大,结合试纸条的易读取特性,在非扩增的情况下,对 miR-21 的检测限可达 pM(比基于 cas13a 的单一 miRNA 测定限低约 100 倍)。为进一步测试该方法的应用潜力,从细胞水平成功进行了分析和检测,并利用 qRT-PCR 进行了验证,该检测结果与 qRT-PCR 检测结果一致。casCRISPR-LFA 平台具有的简单、高效性和低成本,为 miRNA 的 POCT 检测提供了一种很有应用前景的方案。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 2015至2019年成人癌症患者中产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶肠杆菌科相关尿路感染的 多中心回顾性研究

王国婧 崔巍

中国医学科学院肿瘤医院检验科

**目的** 调查成人癌症患者产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶(ESBL)肠杆菌科相关尿路感染(UTI)的患病率和危险因素。

**方法** 对2015至2019年以中国医学科学院癌症医院为中心的三家癌症医院进行了回顾性研究。对成人癌症患者中产ESBL肠杆菌科UTI的临床特征、危险因素和药敏性进行了描述和分析。

**结果** 共评估了4 967份UTI样本,其中909份为阳性。排除了多种感染细菌、不合格菌株、不一致的病理信息、无药物敏感性试验或医疗记录后,剩余358例。其中160例ESBL阳性,198例非ESBL组。5年来,ESBL UTI的患病率在39.73%~53.03%之间。按肿瘤类型进行的亚组分析显示,62.5%的泌尿外科肿瘤患者分离物ESBL阳性。多因素分析显示肿瘤转移( $OR=3.41, 95\%CI: 1.84\sim 6.30$ )、泌尿系癌症( $OR=2.96, 95\%CI: 1.34\sim 6.53$ )、留置导尿管( $OR=2.08, 95\%CI: 1.22\sim 3.55$ )和手术或侵入性操作( $OR=1.98, 95\%CI: 1.13\sim 3.50$ )是独立危险因素。根据抗生素敏感性,美罗培南、亚胺培南和哌拉西林/他唑巴坦是ESBL UTI最常用的抗生素。

**结论** 鉴于ESBL-UTI的高发病率,临床医生应警惕它的发生,尤其是泌尿系癌症或转移性肿瘤患者。定期更换尿管、减少不必要的侵入性手术和选择合适的抗生素是处理成人癌症患者ESBL-UTI发生的必要条件。

# 肺炎链球菌 StkP 蛋白 B 细胞及 T 细胞抗原表位的生物信息学分析

李莎莎<sup>1</sup> 王华东<sup>2</sup> 杨丹<sup>1</sup> 伏慧<sup>1</sup>

<sup>1</sup>宁夏医科大学总医院医学实验中心; <sup>2</sup>中国人民解放军联勤保障部队军第九四二医院

**目的** 运用生物信息学方法对肺炎链球菌 StkP 基因编码蛋白的理化性质、结构等进行分析,并预测潜在的 B 细胞以及 T 细胞抗原表位。

**方法** 通过 NCBI 数据库获取 StkP 蛋白氨基酸序列的相关信息;运用 ProtParam 软件分析 StkP 蛋白的理化性质;采用 ProScale 软件预测 StkP 蛋白的亲水性、柔韧性、表面可及性、 $\beta$ -转角;使用 SOMPA 和 SWISS-MODEL 在线服务器,分析蛋白的二级结构及构建 StkP 蛋白的三级结构;B 细胞表位分别用软件 ABCpred 及 IEDB 综合预测;T 细胞表位由 SYFPEITHI 软件分析确定。

**结果** StkP 蛋白由 659 个氨基酸组成,理论 PI 值 8.61,原子组成为 C3197H5234N872O997S14,不稳定指数为 40.13,归类为不稳定蛋白,平均亲水系数(GRAVY):-0.294,属于亲水性蛋白;StkP 蛋白的二级结构中 $\alpha$ 螺旋占 33.08%,延伸链占 19.58%, $\beta$ -转角占 7.74%,无规卷曲占 39.61%。ABCpred 及 IEDB 软件预测 StkP 蛋白预测潜在的 B 细胞表位分别为 9 个和 7 个;SYFPEITHI 在线程序预测 CTL 细胞表位和 Th 细胞表位,预测 8 个 CTL 和 13 个 Th 细胞优势表位。

**结论** 通过生物学信息的方法预测了肺炎链球菌 StkP 蛋白含有多个潜在的 B 细胞及 T 细胞抗原表位,为以 StkP 蛋白为基础的新型亚单位疫苗的研究提供了理论基础。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 尿酸与血脂对血流动力学影响的交互作用分析

向微

广东省人民医院检验科

**目的** 探讨尿酸与血脂对血流动力学影响的交互作用分析。

**方法** 以广东省人民医院体检中心的人群作为研究对象,选取2020年1至12月3 688例体检男性进行回顾性分析,其中正常尿酸水平患者702例,高尿酸患者2986例。收集以上人群的尿酸、血脂相关指标及血流变相关指标的检查结果,采用Logistic回归模型进行血流动力学的影响因素研究,并分析尿酸与血脂的交互作用对血流动力学的影响。

**结果** 正常尿酸水平患者702例,高尿酸患者2 986例。收集以上人群的尿酸、血脂相关指标及血流变相关指标的检查结果,采用Logistic回归模型进行血流动力学的影响因素研究,并分析尿酸与血脂的交互作用对血流动力学的影响。结果 高尿酸组血脂及血流动力学指标异常的比例显著高于对照组( $P<0.05$ )。Logistic回归分析结果表明,尿酸、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等指标均为全血粘度切变率、全血粘度高切200异常的危险因素( $P<0.05$ )。交互作用结果显示,尿酸和TG对全血粘度切变率存在相对较强的相加交互作用及相乘交互作用,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论** 尿酸水平与高血脂的交互作用是男性全血粘度切变率、全血粘度高切200异常的危险因素,这类人群应该积极控制尿酸及血脂水平,从而在一定程度上预防心血管疾病的发生。

# 白介素 32 在结核性胸腔积液中的诊断价值

杜娟

首都医科大学附属北京潞河医院呼吸与危重症医学科

**目的** 结核性胸腔积液(tuberculous pleural effusion, TPE)是一种常见的临床疾病,由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引起,以胸腔内免疫细胞聚集为特征,表现从自发吸收的良性积液到伴有胸膜增厚、脓胸甚至纤维化,以上表现均可导致肺功能的持久损害。因此探讨TPE的发病机制和快速无创的诊断方法具有重要的意义。白介素 32(interleukin 32, IL-32)是近期发现的一种促炎细胞因子,在结核病(tuberculosis, TB)中发挥重要的免疫学功能,可通过诱导巨噬细胞凋亡和维生素D抗菌信号通路抑制细胞内MTB的生长。目前尚缺乏IL-32在TPE中表达水平的研究,因此我们对TPE中IL-32的表达水平进行研究,重点关注IL-32对TPE的诊断价值。由于糖尿病、过敏性疾病等合并疾病会对免疫系统有重要影响,本研究设置无合并症和存在合并症队列,探讨了不同合并症疾病患者的胸腔积液中IL-32的浓度,评估其对诊断价值的影响,试图建立具有高诊断效能的多变量模型。

**方法** 本研究连续招募2018年1月至2019年12月未确诊的北京和武汉的胸腔积液患者。武汉队列(发现阶段)旨在检测无合并症影响的各病因的胸腔积液中IL-32水平,纳入无已知合并症且以不明原因胸腔积液入院的患者。北京队列(验证阶段)用于评估多种疾病并存的状态下IL-32水平的诊断效能及受合并症影响情况,纳入了在北京以不明原因胸腔积液入院的患者,伴或不伴有合并症。收集诊断明确的患者的胸腔积液及外周血,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)分别采用实时荧光定量PCR和比色法检测ADA的表达。此外,我们通过ELISA检测了不同病因胸腔积液上清中IL-32水平。我们使用受试者操作(receiver operating characteristic, ROC)曲线和曲线下面积(areas under the curve, AUC)评估了IL-32对于TPE的诊断价值。

**结果** 无合并症患者TPE中IL-32的浓度为376.8(238.0~613.6)ng/L( $n=14$ ),非TPE为60.5(35.6~81.5)ng/L( $n=15$ ),TPE样本IL-32水平显著高于其他类型胸腔积液( $P<0.001$ )。在验证阶段:存在合并症)以不明原因胸腔积液入院的患者,伴或不伴有合并症,在TPE中IL-32的浓度为435.4(360.3~812.3)ng/L,非TPE的浓度为132.7(78.0~192.7)ng/L, TPE显著高于非TPE( $P<0.001$ )。对验证组MPE不同合并症的患者进行胸腔积液IL-32浓度的亚组分析发现,无合并症的MPE中IL-32浓度为87.2(23.6~153.2)ng/L, MPE合并糖尿病的胸腔积液上清中IL-32的浓度为199.5(121.7~237.9)ng/L, MPE合并过敏性疾病177.4(123.0~241.9)ng/L, MPE合并高血压118.3(100.3~173.3)ng/L。MPE合并糖尿病或变应性疾病患者胸膜IL-32浓度明显高于无合并症患者( $P<0.05$ ),而其他合并症如高血压患者胸膜IL-32浓度无明显差异( $P>0.05$ )。这提示合并症可能会影响到患者胸腔积液中IL-32的表达水平。进一步建立多指标联合的诊断模型,采用二元logistic回归方法

建立多变量模型,评估多变量模型的诊断价值。最后的进入多变量模型的指标包括年龄、ADA、LDH 和 IL-32。曲线下面积为0.996(95%CI:0.954~1.000),敏感性、特异性、阳性似然比、阴性似然比、阳性预测值、阴性预测值分别为93.0%、98.4%、56.7、0.1、97.6、95.2。

**结论** TPE 中 IL-32 水平显著高于非 TPE 及其配对的外周血,可作为 TPE 可靠的诊断标志物,变应性疾病、糖尿病等合并症可能对 IL-32 的诊断效能有轻微影响。通过多参数建立包含年龄、ADA、LDH 和 IL-32 的回归模型,可提高诊断效能。

# 基于“T”结构触发的恒温转录扩增用于BCR/ABLP210超灵敏荧光原位成像分型检测新方法

滕洁 江咏梅

四川大学华西第二医院

**目的** 慢性粒细胞白血病(CML)是一种起源于多能造血干细胞的恶性骨髓增殖性疾病,95%以上的CML患者血细胞中会出现费城染色体即BCR/ABL融合基因,其中以p210型融合蛋白最为常见。根据融合基因断裂位点的不同,p210最常见的两种转录亚型分别是e13a2和e14a2,它们在治疗中对伊马替尼药物的反应截然不同,与e14a2亚型患者相比,e13a2转录亚型患者预后较差,复发率较高。因此,精确、特异的区分e13a2和e14a2在CML诊断和治疗中具有重要指导意义。本研究设计了一种基于“T”结构触发的恒温转录扩增用于BCR/ABL P210超灵敏荧光原位成像分型检测新方法。

**方法** 以BCR/ABL mRNA e13a2/e14a2作为靶标模型,分别设计两条引物探针使其能在靶标存在时形成缺陷型“T”型结构。该结构在DNA聚合酶作用下能补齐缺口形成含完整T7双链启动子的复合结构,T7 RNA聚合酶特异性识别启动子位点并触发体外线性转录扩增,产生大量富含鸟嘌呤的RNA单链。该单链结构能与硫磺素染料ThT特异组装形成RNA G4-ThT复合物,在440 nm激发光作用下、通过荧光显微镜可观察到明亮的绿色荧光信号,从而实现高灵敏的荧光原位分型检测。

**结果** 通过特异性设计的两对引物探针,该方法能实现对BCR/ABL e13a2、e14a2两种亚型的体外精准分型和体内原位成像检测。经对比,该方法与流式细胞术检测结果一致。

**结论** 通过整合高灵敏的转录扩增技术和高效能的RNA G4-ThT信号放大策略,本研究建立的荧光原位成像分型检测BCR/ABL mRNA新方法实现了对e13a2和e14a2亚型的有效区分,且该方法具有明显优于传统FISH方法的优势,如耗时短、操作简便、探针合成成本低等,具有广阔的临床应用前景。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# NGS检测甲状腺乳头状癌RET基因融合及其临床病理学特征

施栋梁

福建医科大学附属协和医院病理科

**目的** 探讨甲状腺乳头状癌(PTC)患者RET基因融合及其临床病理学特征。

**方法** 通过二代测序技术(NGS)对442例PTC患者进行基因检测;同时收集患者资料,探讨RET融合与临床病理学特征的关系。

**结果** (1)442例PTC患者中检出24例RET融合,其中RET-CCDC6融合16例,RET-NCOA4融合6例,RET-ERC1融合2例。(2)RET融合患者中男性4例,女性20例;年龄在9~75岁;肿瘤最大径从0.2~3.6 cm;11例患者肿瘤为单灶,13例患者肿瘤为多灶;16例患者肿瘤为单侧,8例患者为双侧;5例患者肿瘤侵犯被膜,19例患者无侵犯被膜;10例患者存在甲状腺外侵犯,14例患者无腺外侵犯;20例患者有淋巴结转移,4例患者无淋巴结转移。(3)RET融合与肿瘤最大径( $P<0.001$ )、肿瘤单/双侧( $P=0.020$ )、淋巴结转移( $P=0.005$ )相关,而与年龄、性别、癌灶分布、侵犯被膜、腺外侵犯无关。(4)不同突变丰度的RET融合与PTC患者肿瘤最大径( $P<0.001$ )、肿瘤单/双侧( $P=0.049$ )、淋巴结转移( $P=0.018$ )相关,与其他临床病理特征无关。(5)RET-CCDC6融合仅与PTC患者肿瘤最大径( $P=0.001$ )相关,RET-NCOA4融合仅与肿瘤单/双侧( $P=0.005$ )相关;RET-ERC1融合与PTC患者临床病理学特征均无关。

**结论** RET基因融合与PTC患者多项高危因素相关,通过NGS检测RET基因融合能够为预后判断提供依据。

# 九价HPV疫苗扩龄影响下60685例受试者HPV基因型特征:一项横断面研究

李志强 刘宇 祝成亮 肖璇  
武汉大学人民医院检验科

**目的** HPV疫苗接种是推动WHO《加速消除宫颈癌全球战略》的关键举措,而目前关于九价HPV疫苗扩龄接种的影响数据较少,本研究旨在探究2022年中国九价HPV疫苗扩龄接种政策影响下人群HPV感染现状及基因型特征。

**方法** 回顾性分析2017年1月—2022年10月在武汉大学人民医院就诊并进行HPV分型检测的60685例受试者临床资料。样本包括女性59785例,男性900例,分别来自住院(18577例),门诊(30559例),体检(9614例)和其他科室(1935例)。

**结果** 纳入人群HPV分型检测阳性为10303例,阳性率17.0%,男性阳性率(32.7%)高于女性(16.7%)( $P<0.001$ ),男女群体HPV阳性率逐年缓慢递增。人群中HPV均以单重感染为主,女性各年龄段高危型HPV(HR-HPV)感染率均高于低危型HPV(LR-HPV),而男性人群则以LR-HPV感染为主。女性感染最常见的HPV基因型是HPV52,其感染率年龄分布呈双峰趋势( $\leq 20$ 岁和56~60岁),同时女性体检人数逐年递增;男性受试者HPV感染最常见的基因型是HPV6,其感染率年龄分布未见双峰,年体检人数也未见递增。受扩龄政策影响的是30253例(49.9%)27~45岁女性,九价HPV疫苗扩龄接种前后,该人群疫苗覆盖率由二价12.0%,四价16.7%,上升至九价42.4%。相应地,疫苗未覆盖率由83.3%下降至57.6%( $P<0.001$ )。如果中国男性可接种九价HPV疫苗,将可能减少56.4%的男性HPV感染。

**结论** 人群HPV阳性率仍然较高,且有增长趋势,而九价HPV疫苗的扩龄接种将可能减少42.4%的适龄女性因HPV感染而引发的疾病威胁;若中国九价HPV疫苗面向男性开放,将能够为该人群提供约56.4%的保护效率。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染的临床特征及相关危险因素研究

黄雅轩<sup>1</sup> 蔡依含<sup>2</sup> 何婉霞<sup>2</sup> 赵越<sup>3</sup>

<sup>1</sup>南方医科大学检验与生物技术学院;<sup>2</sup>广州南方学院云康医学与健康学院;<sup>3</sup>南方医科大学附属广东省人民医院/广东省医学科学院检验科

**目的** 探讨医院耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(CRPA)感染的临床特征及相关危险因素,为有效防控 CRPA 感染提供科学依据。

**方法** 收集 2020 年 1 月至 2022 年 6 月,广东省人民医院分离的 CRPA 所致感染的患者病例资料 60 例,采用 1:2 病例-对照研究方法,随机收集由碳青霉烯类敏感铜绿假单胞菌(CSPA)所致感染患者资料 120 例作为对照,分析 CRPA 感染的临床特征、感染危险因素及患者预后。

**结果** 60 株 CRPA 主要来源于下呼吸道分泌物(30 株,50.0%)和中段尿标本(10 株,16.7%),集中于重症监护室(26 株,43.3%)和心血管外科(13 株,21.7%)。经单因素分析,多种因素可能会导致 CRPA 感染的发生,其中患者应用过氨基糖苷类药物( $OR=0.339, 95\%CI:0.146\sim0.790, P=0.012$ )及应用过 $\geq 3$  种抗菌药物( $OR=0.247, 95\%CI:0.068\sim0.898, P=0.034$ )可能是导致 CRPA 感染发生的重要危险因素。CRPA 感染的死亡率高于 CSPA 感染( $P=0.003$ )。

**结论** CRPA 所致感染严重影响患者预后,临床需采取积极措施提升对 CRPA 的防控能力,同时需加强对各类抗菌药物的管理,做好环境卫生学监测,以减少 CRPA 感染的发生与院内流行。

# 一种针对 Omicron 变异株及其亚系的人源化单抗

赵立伟 沈瀚 陈雨欣

南京中医药大学鼓楼临床医学院医学检验科

**目的** 自早期新冠肺炎大流行以来,已报道了大量针对 SARS-CoV-2 的强大中和抗体。然而, SARS-CoV-2 变异株的不断出现,特别是 Omicron 亚型的高水平突变,对免疫逃避、疫苗失效以及缺乏有效的临床治疗中和抗体的严重担忧也由此产生。因此,迫切需要开发具有广谱中和活性的新型中和抗体来针对 Omicron 变异体。

**方法** (1)制备针对新冠病毒刺突蛋白的单克隆抗体:通过 ELISA 检测经 3 次 DNA 疫苗、2 次蛋白疫苗免疫后的兔血清对 Spike 蛋白和 RBD 蛋白的结合抗体滴度,分离抗体滴度最高的免疫兔脾细胞,分选单个 B 细胞并培养。收集上清液进行 ELISA 检测,阳性孔进行 RT-PCR 扩增其免疫球蛋白可变区,组装后在 HEK293T 细胞中瞬时表达。ELISA 对培养上清液进行再次筛选。(2)酶联免疫吸附实验(ELISA):将 SARS-CoV-2 WT、Delta、Omicron 及亚系的 ECD 和 RBD 蛋白加入 ELISA 96 孔板中包板过夜。洗板 5 次后封闭 1h,洗板 5 次,加入一抗 1H1 单抗,二抗使用 HRP 羊抗兔 IgG(H+L),显色终止后检测 450 nm 波长下的吸光度值。(3)假病毒中和实验:梯度稀释的单抗分别与 SARS-CoV-2 假病毒 WT、Delta 和 Omicron 亚系在 37 °C 下孵育 1 小时。96 孔板加入新鲜胰酶消化的 HEK293T-ACE2 细胞,在 37 °C 孵育 48h 后,加入荧光素酶检测化学发光值并计算半数抑制浓度。

**结果** (1)具有广谱中和能力的兔单抗 1H1 的鉴定:本研究团队在此前鉴定了 4 株能有效中和新冠病毒的兔单抗,包括 1H1、5E1、7G5 和 9H1。我们进一步比较这四种单抗对 Delta 和 Omicron BA.1 假病毒的中和作用。结果显示四种单抗均可中和 Delta 株,但是只有 1H1 单抗对 Omicron 具有中和能力。进一步检测 1H1 对 Omicron 亚系的中和能力,结果显示 1H1 能够对所有的 Omicron 亚系都有较强的中和效力,其中 1H1 对 BA.1 的中和能力比其他亚系高至 3-4 倍。(2)1H1 与 SARS-CoV-2 变异株 Spike 和 RBD 蛋白的结合特性:ELISA 测定检测 1H1 与 SARS-CoV-2 变异株的不同刺突 ECD 蛋白和 RBD 蛋白的结合能力。我们的数据表明,1H1 能够结合所有的 ECD 蛋白,并且结合能力相当。对 RBD 蛋白的结合能力与对 ECD 蛋白的结合能力整体上相对一致,另外 1H1 与 WT RBD 的结合能力略高于 Delta 和 Omicron 亚系的 RBD。(3)人源化 1H1 对 Omicron 亚系的广泛中和效力:为了提高 1H1 单抗用于临床治疗的可行性,将 1H1 人源化,降低单抗药物的免疫原性。假病毒中和实验结果显示人源化后有部分抗体可以对 WT 和 Omicron 亚系均具有较强的中和能力,其中对 BA.1、BA.2.75、BA.2 的中和能力略高于其他变种。

**结论** 本研究进一步证明了广谱中和抗体 1H1 对 Delta 和 Omicron、BA.1.1、BA.2、BA.3 和 BA.4 假病毒具有较强的抑制作用,并且人源化后的抗体也具有广泛的中和能力,本研究结果可为新冠病毒 Omicron 感染的治疗提供参考价值。

# 新冠灭活疫苗诱导的抗体Fc介导的效应功能动态监测

李闯

南京中医药大学附属鼓楼医院医学检验科

**目的** 新冠疫苗诱导特异性抗体是发挥免疫保护的重要组成部分。抗体的主要功能是中和病毒和抗体Fc介导的效应功能。本团队前期发现,新冠疫苗诱导的中和抗体能有效中和新冠病毒原始株和变异株,发挥抗病毒效果。国外研究报道,mRNA疫苗能有效诱导抗体Fc效应功能。然而,在我国广泛接种的新冠灭活疫苗诱导的抗体是否也能通过Fc发挥效应功能进而起到抗病毒作用尚不清楚。

**方法** 通过建立前瞻性新冠疫苗接种队列(NCT04729374),入组100例健康医护人员,开展了三针疫苗接种。在不同的接种时期(接种前、1针2周、2针2周、2针8周、2针36周、3针2周、3针8周)收集血清,检测血清对野生型和Omicron变异株的刺突蛋白特异性抗体依赖性细胞吞噬(ADCP)和抗体依赖性中性粒细胞吞噬(ADNP)功能,同时和新冠病毒康复者血清进行比较。

**结果** 新冠灭活疫苗诱导的抗体具有ADCP功能,且随接种次数的增加,ADCP效应不断增强。然而,随着疫苗接种间隔时间的延长,灭活疫苗诱导的新冠特异性抗体的ADCP逐渐衰退。灭活疫苗加强针后,能有效增强对原始病毒株和Omicron各亚型变异株的ADCP效应。同时,我们也检测了血清ADNP应答,发现了与ADCP类似的规律。与此同时,康复者血清介导的ADNP应答比疫苗接种血清高数10倍左右。

**结论** 新冠灭活疫苗诱导抗体应答也可以通过Fc效应发挥抗病毒作用,且对变异株也有较好的响应,为新冠灭活疫苗的免疫保护机制提供新的科学依据。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 1997例海南省黎族新生儿耳聋基因筛查分析

赵振东 许海珠

海南省妇女儿童医学中心新生儿疾病筛查中心

**目的** 了解中国黎族人群耳聋基因的携带情况和特征,为政府决策部门拟定适宜的耳聋防控政策提供数据支持。

**方法** 采用横断面研究。以海南省少数民族自治市县 2021 年 1 月-2021 年 6 月出生的黎族新生儿为研究对象,采取知情同意自愿原则,利用新生儿足跟血干血斑为样本,使用荧光 PCR 熔解曲线法进行中国人常见的 26 个耳聋基因位点筛查。根据《遗传性耳聋基因筛查规范》对基因筛查阳性及提示有未知突变的样本外送基因公司进行测序验证。

**结果** (1)2021 年上半年研究区域共出生 2 412 例黎族新生儿,经知情同意自愿参加本研究者 1 997 例,参与率为 82.8%(1 997/2 412),检出 607 例耳聋基因位点突变,耳聋基因携带率为 30.4%(607/1997)。男性耳聋基因携带率为 15.0%(300/1997),女性携带率为 15.4%(307/1997)经统计学分析,性别间( $P=0.964$ )分布差异无统计学意义。(2)检出 3 种遗传性耳聋基因:GJB2 基因携带率 27.2%(544/1 997),SLC26A4 基因携带率 2.3%(46/1 997),12S rRNA 基因携带率 0.1%(2/1 997)。以 GJB2 基因 c.109G>A、SLC26A4 基因 c.1983C>A(非试剂盒突变位点,经测序确认)和 GJB2 基因 c.235delC 为突变热点,检出率分别为 25.3%(506/1 997)、1.8%(36/1 997)和 1.1%(22/1 997)。并发现 4 种试剂盒未涵盖的突变位点:GJB2 基因的 c.235C>T、c.79G>A 和 SLC26A4 基因的 c.1983C>A、c.1001+131G>T。

**结论** 海南省黎族新生儿耳聋基因携带率高,以 c.109G>A、c.1983C>A 和 c.235delC 为突变热点,作为新生儿听力筛查的有效补充,有必要在海南省黎族自治县尽早开展新生儿耳聋基因检测,以保证出生人口生活质量和人口素质。

# 血清 miRNA 评估经动脉化疗栓塞治疗肝细胞癌患者的疗效

王福花 王春艳

山西省肿瘤医院分子生物室

**目的** MicroRNAs (miRNAs)已被证明在血液循环中稳定存在,使其成为某些癌症类型的有价值的生物标志物。肝细胞癌(HCC)患者可以接受局部经动脉化疗栓塞(TACE)治疗,但与该治疗相关的可靠预后预测因素仍有待确定。本研究通过分析血清 miRNA 来评估 TACE 治疗的效果并预测预后。

**方法** 通过对 TACE 治疗前和 TACE 治疗后 3 天收集的 HCC 患者血清样本进行配对分析,确定 TACE 治疗对血清 miRNAs 的差异影响。然后通过 qPCR 确认候选差异丰度 miRNAs (miR-27a-3p、miR-720、miR-4454、miR-4286、miR-1290)。

**结果** 这些分析鉴定出 94 个差异丰富的 miRNA(差异评判标准均为大于 2 倍变化;结果为 81 个表达上调,12 个表达下调),其中 miR-1290 在 TACE 治疗后表达上调最为显著。值得注意的是,在 TACE 疗效差的患者中 miR-1290 的上调明显高于疗效好的患者,该 miRNA 水平的升高与较差的生存率有关。

**结论** miR-1290 可能是 HCC 患者 TACE 治疗后的重要预后指标。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 总丹参酮及联合酪氨酸激酶抑制剂诱导人髓系白血病细胞凋亡研究

刘红星<sup>1,2,3</sup> 周晓苏<sup>1</sup> 马小丽<sup>2</sup> 张阳<sup>1,2</sup> 陈雪<sup>1</sup> 曹泮翔<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北京陆道培血液病研究院分子医学研究室;<sup>2</sup>河北燕达陆道培医院;<sup>3</sup>北京陆道培医院

**目的** 近年来有研究报道丹参酮ⅡA和隐丹参酮等丹参酮单体对多种恶性肿瘤细胞株有显著的增殖抑制作用。但总丹参酮(TSN)对白血病的抗肿瘤作用尚无研究报道。本研究旨在探讨TSN及联合酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)应用时对人髓系白血病细胞株(MLCs)和TKIs耐药株的增殖抑制作用及分子机制。

**方法** 使用K562、Kasumi-1和本实验室构建的TKIs耐药株K562/T315I,研究TSN对MLCs的增殖抑制和诱导凋亡作用。用CCK-8法检测细胞增殖活性,流式细胞术Annexin-V双标记法检测细胞凋亡,Western blot检测细胞凋亡调控蛋白Bcl-2和Bax表达。将经TSN处理和未处理的细胞株进行转录组测序,对差异表达的基因进行基因集富集分析。

**结果** TSN下调MLCs抗凋亡蛋白Bcl-2的表达,上调促凋亡蛋白Bax的表达,显著降低Bcl-2/Bax比率( $P < 0.01$ )。TSN抑制MLCs增殖相关信号通路和DNA损伤修复通路,激活诱导肿瘤细胞凋亡的信号通路。TSN显著增强伊马替尼对K562和K562/T315I细胞株的增殖抑制和凋亡诱导作用。

**结论** TSN对K562、Kasumi-1以及TKIs耐药的K562/T315I细胞株有显著的抑制和促凋亡作用,联合TKI使用时可进一步增强抗肿瘤作用。本研究为TSN用于白血病治疗提供了初步实验依据。

# 少见型和变异型 BCR-ABL1 融合基因检测及临床资料分析

马小丽<sup>1</sup> 王芳<sup>1</sup> 张阳<sup>1</sup> 陈雪<sup>1</sup> 袁丽莉<sup>1</sup> 王娜<sup>1</sup> 刘红星<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>河北燕达陆道培医院检验医学科;<sup>2</sup>北京陆道培血液病研究院

**目的** BCR-ABL1 融合基因检测的临床应用已广泛开展,一般实验室只检测常见的 3 种 BCR-ABL1 亚型。少见型和变异型 BCR-ABL1 并不非常少见,且易被忽视。通过筛查少见型和变异型 BCR-ABL1 融合基因,分析其与临床特征的相关性。

**方法** 收集初诊或复发的慢性粒细胞性白血病(CML)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)及其它白血病患者骨髓或外周血标本。建立一套多重巢式 PCR 方案,引物设计范围覆盖了 BCR 基因和 ABL1 基因的全长,可以检测所有可能出现的 BCR-ABL1 亚型。检测标本中 BCR-ABL1 并对变异序列测序分析。结合临床资料分析变异型 BCR-ABL1 与疾病表型的相关性。

**结果** 58 例 BCR-ABL1 阳性的 ALL 标本中,2 例表达 BCR-ABL1 e1a3(3.4%)、1 例表达 BCR-ABL1 e6a2(1.7%,用格列卫治疗有效);82 例 BCR-ABL1 阳性的 CML 慢性期标本中,1 例表达 BCR-ABL1 e19a2(1.2%)、3 例表达 BCR-ABL1 b3a3(3.7%)、1 例表达 BCR-ABL1 b2a3(1.2%);1 例慢性中性粒细胞性白血病(CNL)标本表达 BCR-ABL1 e19a2;1 例混合细胞型白血病(AHL)标本表达 BCR-ABL1 b3a2 伴 BCR 第 13 外显子末端 30bp 碱基缺失的变异型。

**结论** CML 和 Ph 阳性的 ALL 中均有约 5% 的患者表达少见或变异型 BCR-ABL1 融合基因。少见型 BCR-ABL1 融合基因多为 ABL1 基因断裂位点位于第二内含子的 eXa3 型,BCR 基因的断裂位点也可能发生变异。BCR-ABL1 e1a3 和 e6a2 表达的患者临床表现为 ALL,BCR-ABL1 b3a3、b2a3 和 e19a3 的患者临床表现为 CML,可能主要和 BCR 基因的断裂位点有关。1 例表达 BCR-ABL1 e19a2 的患者临床表现与典型的 CML 相同,并无特殊的中性粒细胞增高,提示 e19a2 可能不仅见于 CNL。表达 BCR-ABL1 b3a2 伴 30bp 碱基缺失的患者临床表现为 AHL,可能和基因的变异有关。少见型和变异型 BCR-ABL1 融合基因临床并不非常少见,变异型 BCR-ABL1 融合基因可能和特殊的临床表现有关,应值得重视。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 基于遗传学指标的儿童急性髓系白血病 个体化预后预测模型

房建成 王芳 张阳 陈雪 曹泮翔 刘红星

河北燕达陆道培医院检验医学科

**目的** 构建可综合分析常见遗传学指标的儿童急性髓系白血病(AML)的个体化生存和复发预测模型。

**方法** 以国际协作的癌症基因组研究TARGET项目的公开数据库中的儿童AML组的遗传学改变和临床治疗及预后信息为资料,选择在AML中最常发生并且治疗和预后意义明确的11个染色体和基因变异为分析指标。对每个遗传学指标分别做单因素生存分析,选取特征,再构建cox比例风险模型和亚组分布的竞争风险的回归模型。

**结果** 首先得到每个遗传改变的单因素生存/复发分析结果,以及构建好的多变量cox比例风险模型,和亚组分布的竞争风险的回归模型,做线列图,可以根据各变量的组合情况给出相应的预测生存曲线以及复发和死亡的累积风险曲线。

**结论** 所训练得到的预测模型可以用于提示有所选择的11个遗传学变量中,各种可能的变异组合的儿童AML患者的生存/复发情况,有望用于儿童AML患者生存/复发情况的个体化预测。

# 一例 ALPK3 杂合移码变异致肥厚型心肌病遗传学重分析及相关文献复习

洪陈亮<sup>1</sup> 杜菊萍<sup>2</sup> 葛卫力<sup>2</sup>

<sup>1</sup>浙江台州恩泽医院精准中心;<sup>2</sup>浙江省台州医院

**目的** 探讨 ALPK3 杂合缺失变异致肥厚型心肌病的临床特征、分子生物学特征。

**方法** 回顾性分析 1 例 ALPK3 基因相关 HCM 先证者的临床资料,总结先证者的临床特征、心电图、超声心动图和基因检测的特点,并以“ALPK3 gene”作为检索词在中文数据库及 pubmed 数据库进行检索。总结 ALPK3 杂合缺失突变相关的 HCM 的临床特点及基因突变信息。

**结果** 先证者,男性,43 岁。先证者因“胸闷、胸痛半年,加重两天”由外院送至我院,行急诊冠脉造影,结果提示:LM、LAD、LCX 及 RCA 未见明显异常。拟“急性冠脉综合征”收入心内科,根据诊断 1、肥厚型心肌病 2、低氧血症,给予冠脉造影术+经皮冠状动脉介入术(GAG+PCI),术后病情稳定,好转出院。二代测序发现染色体 15q25.2 的 ALPK3 基因存在外显子 5 c.1550dupC(p.Pro518ThrfsTer53)杂合移码突变。文献检索共检测到 5 篇相关病例报道,其中 3 篇为队列研究,2 篇为个案的杂合变异。发现男性发病率较女性高,发病年龄较其他肌节蛋白突变基因推迟 10 年,中风风险较他肌节蛋白突变基因高,更容易出现心尖肥厚型和向心性肥厚。

**结论** ALPK3 基因杂合缺失突变所致的 HCM 主要表现为心尖型肥厚为主,精准诊断依赖基因检测,需要大量的病例进一步分析预后及基因型与表型的关系。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 基于机器学习进行妊娠期糖尿病风险预测

方阳 邢金芳 袁恩武 张琳琳

郑州大学第三附属医院(河南省妇幼保健院)检验科

**目的** 探究机器学习模型在妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)预测方面的应用,提高GDM的预测精度和临床应用价值。

**方法** 采用了基于支持向量机(SVM),随机森林(RF),K临近(K neighbors)三种方法机器学习模型,对来自本医院的3800个孕妇病历数据进行数据整理清洗得到训练集和验证集。其中,对三种模型使用妊娠期的生化指标和临床信息,同时结合了孕期血糖、胰岛素敏感性等指标进行预测。

**结果** 经过数据的训练和测试,发现SVM模型在GDM预测方面的准确率达到87.7%,K临近模型的准确率达到89.3%,而RF模型的准确率则达到了96.6%。此外,还发现RF模型的预测结果在诊断时具有较高的特异性和敏感性,能够更加准确地识别GDM病例。

**结论** 本研究证明了机器学习模型在GDM预测方面的应用价值,能够提高GDM的预测精度和临床应用价值。其中,RF模型在GDM预测方面表现出更高的准确率和较好的特异性和敏感性,可作为一种有潜力的GDM预测工具。我们的研究为GDM的早期预测和干预提供了新的思路和方法,对促进妇幼保健事业的发展具有重要意义。

# 基于CRISPR技术HDV RNA检测技术的研发及临床验证

张向颖 任锋

首都医科大学附属北京佑安医院北京肝病研究所

**目的** 丁型肝炎病毒(HDV)感染和危害长期以来被低估甚至忽视。HDV感染精准检测是改善目前丁肝感染被低估的关键前提,HDV感染检测方法的局限性是HDV感染被显著低估的重要原因之一。本研究利用CRISPR新技术建立一种新型的HDV快速精准检测方法,为丁肝诊断提供技术支持。

**方法** 通过比较不同基因型HDV序列,设计并筛选HDV RAA扩增引物、探针及crRNA,从而建立了包括样本提取、预处理、扩增和检测在内的CRISPR HDV检测技术。构建HDV质粒作为阳性对照,并收集临床样本进行小样本的初步临床评价。

**结果** 通过HDV不同基因型的序列比对,合成HDV的通用序列,选定HDV的扩增靶序列为757-922bp,设计特异性RAA引物、荧光定量PCR探针以及crRNA,建立了基于CRISPR-Cas13a技术的HDV RNA检测新方法。将该方法与qPCR方法进行检测,结果表明,RAA-CRISPR方法检测灵敏度为10copies/ $\mu$ l,高于荧光定量PCR方法。

**结论** 本研究建立了基于CRISPR/Cas13a的新型检测方法,可对HDV进行高灵敏度和特异性检测,为准确检测HDV感染,抗病毒治疗评估、治疗终点的确定以及调整治疗方案提供了有力的技术支撑。

## 论著·分子诊断进展及应用·

## 2018至2021年长治地区结核分枝杆菌耐药趋势及基因突变位点分析

宋凌燕

长治医学院附属和平医院检验科

**目的** 评价长治地区结核分枝杆菌耐药趋势变化及基因突变位点。

**方法** 收集2018年2月至2021年12月我院门诊住院患者结核分枝杆菌涂片阳性的痰液及分离培养的纯结核分枝杆菌株样本838例,采用熔解曲线法进行样本结核分枝杆菌利福平和异烟肼耐药情况及突变位点分析。

**结果** 2018至2021年利福平与异烟肼同时耐药率分别为18.3%(36/197)、15.3%(37/242)、11.8%(21/178)、10.8%(24/221);单利福平耐药率分别为1%(2/197)、1.6%(4/242)、3.9%(7/178)、2.7%(6/221);突变频率最高的位点为ropB(codon 529-533);单异烟肼耐药率为7.1%(14/197)、9.9%(24/242)、14.6%(26/178)、10.4%(23/221),其中突变频率最高的位点KatG315密码子。

**结论** 目前,长治地区利福平和异烟肼的耐药率总体呈下降趋势,其中异烟肼耐药率高仍是个不容忽视的问题。

## 21例慢性粒-单核细胞白血病遗传学及分子生物学特征分析

杨一平 安子怡 高杰 郝冀洪  
河北医科大学第二医院检验科

**目的** 分析慢性粒-单核细胞白血病(CMML)的临床资料,提高对慢性粒-单核细胞白血病的诊断水平。

**方法** 回顾性分析2018年4月至2022年4月河北医科大学第二医院确诊为CMML的21例成年患者的临床资料。

**结果** 21例患者中男性12例,女性9例;年龄在23至84岁,中位年龄61岁,16例患者超过50岁(71.2%),13例患者超过60岁(61.9%),患者中位发病年龄明显低于国外文献报道的73~75岁。依照2016年WHO分类,CMML-0 4例,CMML-1 5例,CMML-2 12例。骨髓细胞形态学提示CMML患者骨髓增生多数活跃-极度活跃,粒系及单核系增生,同时可见髓系及红系细胞发育异常现象。流式细胞学分析显示主要免疫表型为:CD34+、CD117+、CD13+、CD56+,并出现CD16、CD56异常表达。染色体核型分析显示4例存在染色体核型异常,分别为45X-X、46XX,t(11,19)(q23;p13)、46XY,dup(1)(p12p33)、复杂核型(5号、7号染色体位点异常及8号染色体数目异常)。FISH染色体核型检测显示1例患者检测到CEP8[+8]阳性,1例患者存在Y染色体缺失。常见的基因突变为:NRAS、TET2、ASXL1、RUNX1、DNMT3A、KRAS、NPM1、U2AF1,其中ASXL1属于MMM系统中的不利预后因素,RUNX1、ASXL1、NRAS突变属于CPSS-Mol系统中不利预后因素。

**结论** 遗传学和分子生物学分析有助于患者的疾病诊断和预后分析。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 1个新的COL4A5基因剪接位点突变所致的Alport综合征

陈素云 厉春萍 徐光标 沈波  
浙江省台州医院检验科

**目的** 探讨1个由COL4A5基因内含子变异导致的Alport综合征家系的临床特征及基因特点,为该病的基因诊断及遗传咨询提供基础。

**方法** 对1例有家族史的肾脏疾病患儿应用二代测序技术进行基因检测,用Sanger测序对变异位点进行验证,应用minigene技术分析基因变异对pre-mRNA剪切过程的影响,用软件分析突变蛋白结构改变。

**结果** 患者及其母亲、弟弟出现镜下血尿和蛋白尿等肾脏损害症状,病理检测均发现肾脏系膜增生硬化,二代测序结果显示先证者携带1个新的COL4A5基因内含子(c.4298-8G>A)变异,其母亲、弟弟及外婆均发现该变异,minigene结果显示此突变影响mRNA的正常剪接,在突变处产生一个新的Acceptor位点,导致46号内含子右侧滞留6bp。软件预测显示突变后蛋白的二级结构发生改变。

**结论** COL4A5基因剪接位点c.4298-8G>A变异是Alport综合征新的致病变异,是该家系的致病原因,为X连锁遗传性肾炎家系的分子诊断及临床分析提供了依据。

## 特异性百日咳鲍特杆菌PCR检测方法的建立和比较

左伟伦

厦门市妇幼保健院医学检验科

**目的** 建立一个灵敏度高、特异性好的百日咳鲍特杆菌PCR检测方法,并确定其检测的灵敏度和特异性。

**方法** 在百日咳鲍特杆菌独有的PT基因片段中设计内、外两对引物,以不同浓度的百日咳18323菌株的全基因组DNA作为模板,分别运用IS481元件引物、外侧引物、内侧引物、以及巢式PCR四种方案进行PCR检测,对比不同检测方法的灵敏度。用IS481和巢式PCR方法分别检测未分离出百日咳鲍特杆菌的临床咽拭子样本,对比两种方法的特异性。

**结果** 巢式PCR方案最低可检出25 fg/ $\mu$ l的目的基因,相比普通PCR其检测灵敏度提高了40倍,相比传统IS481检测灵敏度无明显差别。临床样本检测中IS481结果为阳性,巢式PCR结果为阴性。

**结论** 巢式PCR检测PT基因片段的方法能有效的提高百日咳鲍特杆菌的检测灵敏度和特异性,适用于临床百日咳患者的诊断。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 染色体微阵列分析技术在1230例不同临床指征孕妇产前诊断中的应用

黄洁香<sup>1</sup> 胡聪颖<sup>2</sup> 林荔<sup>1</sup> 黄敏君<sup>1</sup> 林堃<sup>1</sup>

<sup>1</sup>莆田学院附属医院产前诊断中心产前诊断中心;<sup>2</sup>莆田学院药学和医学技术学院

**目的** 探讨染色体微阵列分析技术(chromosome microarray analysis, CMA)在不同临床指征孕妇产前诊断中的应用价值和优势。

**方法** 回顾性分析2017年1月~2022年12月在福建省莆田市莆田学院附属医院产前诊断中心就诊的1230例因临床指征异常而进行介入性诊断的孕妇的CMA检测结果,统计不同临床指征的CMA阳性检出率,并对CMA阳性病例电话随访妊娠结局及胎儿出生后情况。

**结果** 在1230例孕妇羊水中共检测出染色体异常190例,总检出率为15.4%(190/1230)。不同临床指征中,无创产前DNA检测高风险的CMA阳性检出率最高为39.5%(15/38),其次是胎儿发育迟缓27.3%(3/11),血清学筛查高危的检出率最低12.1%(24/198)。在483例产前超声异常的孕妇中,超声软指标异常295例,其中永存左上腔静脉28.6%(2/7),脉络丛囊肿17.9%(5/28),软指标异常--2个以上17.2%(16/93)的CMA阳性检出率较高。在190例染色体异常中,临床意义不明的拷贝数变异(VOUS)99例,致病性拷贝数变异(pCNVs)35例,数目异常33例,杂合性缺失(LOH)和单亲二倍体(UPD)共14例;嵌合体9例。在165例CMA阳性病例的随访中,90例正常存活,59例终止妊娠,3例胎死宫内,13例在出生后出现异常。

**结论** CMA能够检测到染色体拷贝数变异(copy number variantion, CNV)<10 Mb的微重复/微缺失,是对染色体核型分析的有效补充;不同的临床指征的CMA阳性检出率可以为孕妇提供更加科学客观的临床指导建议;对CMA检测结果为VOUS的病例进行充分的遗传咨询和出生后定期的随访具有重要的临床意义。

# 儿童乙肝疫苗免疫无应答差异 miRNA 筛选与生物信息学分析

黄小丽

厦门市妇幼保健院医学检验科

**目的** 检测并筛选乙肝疫苗免疫后无应答和高应答儿童血浆中差异表达的 microRNA(miRNA),初步分析预测差异 miRNA 调控的靶基因及功能。

**方法** 在本院健康体检检测乙肝两对半的儿童中,选取年龄,体重身高,出身体重和身长无差异的 6 例无应答,6 例高应答儿童,通过 miRNA 测序技术来筛选无应答组与高应答组血浆中差异 miRNA,并用 qRT-PCR 进行验证。利用生物信息学方法预测差异表达 miRNA 调控的靶基因,分析靶基因富集的基因功能(gene ontology,GO)和信号通路(pathway)的表达情况。

**结果** 与高应答组比较,疫苗免疫无应答组共有 21 个 miRNA 表达发生显著变化。其中 12 个上调,9 个下调( $P<0.05$ )。GO 富集性分析显示,靶基因主要富集在细胞与细胞的连接处,以及分子功能类别的蛋白结合。KEGG Pathway 富集性分析显示,靶基因富集数量最多的为信号通路途径。

**结论** 儿童乙肝疫苗免疫无应答差异 miRNA 表达与乙肝疫苗接种后体内的免疫直接或间接调节有关,miRNA 差异表达影响多种信号通路,这可能解释(部分)抗体反应的个体间差异,可能作为乙肝疫苗抗体反应的预测生物标志物。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 原始细胞颗粒增多的急性髓系白血病临床特性分析及文献复习

侯雪宁<sup>1</sup> 杨一平<sup>2</sup> 高杰<sup>2</sup> 安子怡<sup>2</sup> 郝冀洪<sup>2</sup>

<sup>1</sup>河北医科大学第一医院检验中心;<sup>2</sup>河北医科大学第二医院

**目的** 本研究分析8例原始细胞颗粒增多的急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者的临床资料包括临床表现、实验室检查、治疗与预后等情况,为临床诊断与鉴别原始细胞颗粒增多的AML分型提供依据,提高诊断水平。

**方法** 收集2020年1月1日至2021年12月31日的8例原始细胞颗粒增多的非急性早幼粒细胞白血病的患者病历,收集其基本资料包括年龄、性别、临床特点以及骨髓形态学、融合基因、二代测序和染色体核型结果,分析其相关性。

**结果** 骨髓原始细胞比例的中位数为45.5%,8例患者均可见颗粒增多的原始细胞,2例有染色体核型异常,2例融合基因阳性。突变基因NPM1检出率37.5%,FLT3-ITD、CEBPA、TET2检出率25.0%。在5例患者流式细胞检查中CD117、CD38、CD33和HLA-DR抗原表达率为100.0%,CD123、CD13抗原表达率80.0%;8例患者均可见骨髓POX染色阳性,NSE染色5例阳性。5例复查骨髓象提示缓解,1例M4患者预后较差。

**结论** 8例AML患者均呈现出一定的异质性。细胞形态学联合免疫表型、融合基因、二代测序和染色体核型分析检查的综合结果,能够有效的鉴别AML的分型。

# 2014至2020年北京人乳头瘤病毒基因型分布变化分析

马旭 曾小莉 袁慧

首都医科大学附属北京安贞医院检验科

**目的** 高危人乳头瘤病毒(HPV)亚型的持续感染是导致~5%人类癌症的原因。现在,三种疫苗已被用来避免年轻女性首次感染 HPV 或新发感染。然而,HPV 疫苗接种对北京市女性患者 HPV 感染率的影响尚未得到评估。本研究比较了2014至2020年7年中高危 HPV 基因型的逐年流行情况。

**方法** 本研究纳入2014至2020年于临床科室特别是妇科就诊的女性患者。他们可能患有不同类型的宫颈疾病,甚至是宫颈癌。采用多重荧光 PCR 法检测宫颈标本中13种高危 HPV。根据年龄将患者分为4组。

**结果** 本研究涵盖了4年(2014年、2016年、2018年和2020年)的数据。这4年高危 HPV 总体感染率分别为18.0%、14.6%、21.9%和19.1%。随着 HPV 亚型感染数量的增加,流行率随之下降,其中单一型别感染(11.7%~16.4%)是主要的感染类型。在13个基因型中,最常见的单一型别感染是 HPV52,其次是 HPV58、HPV16或 HPV16、HPV58。HPV56的流行率从2018年开始上升,取代 HPV39 进入前五名。按年龄分组分析显示,在46~60岁年龄组中,几种 HPV 基因型流行率逐渐降低,而多个 HPV 基因型的流行率在其他年龄组中逐渐增加。虽然 HPV16/58 受三种疫苗保护,直到2020年才显著减少。与2014年相比,2018/2020年 HPV 双重感染的比例更高。最常见的双重感染 HPV39/68 在2018年后几乎消失,不同双重感染类型的流行率倾向于相互接近。

**结论** 北京2014至2020年女性患者 HPV 的总体流行率没有显著变化。HPV39 的流行率逐渐下降,但在2018年后,双重感染 HPV39/68 的流行率似乎突然显著下降。与2014年相比,2020年46~60岁年龄组中多个 HPV 型别的流行率有所下降。且只有46~60岁年龄组的 HPV 流行率下降,特别是疫苗覆盖的 HPV 基因型(HPV16 和 HPV58)。这些变化可能是九价疫苗或其他两种疫苗的交叉保护(HPV39)和直接保护(HPV16 和 HPV58)效应。

## 论著·分子诊断进展及应用·

## 催化茎环自组装反应触发序列的探究

刘菊梅

厦门市妇幼保健院检验科

**目的** 优化核酸序列设计,提升催化茎环自组装反应(CHA)的检测性能。

**方法** 研究结合前期实验和Oligo软件设计CHA核酸序列H1、H2,并采用NUPACK分析所设计茎环状DNA的稳定二级结构、自由能,再通过电泳条带和荧光信号验证CHA反应、观察系列不同结合部位和不同长度触发序列的效果。

**结果** 理论分析可知,CHA核酸底物能形成单一且稳定的茎环状结构,电泳泳道中可见生成新的目标条带,荧光信号结果与电泳结果吻合;不同的触发序列,生成的新条带亮度和荧光信号存在一定差异,与H1、H2反应效果突出的触发序列分别为18-23 nt(trigger 1-1~1-4、1-8),17-19 nt(trigger4、4-1、4-7、4-16)。

**结论** 不同触发序列对CHA反应有明显影响,可关注茎环状DNA末端和成环区的特异性结合的触发序列,实验筛选17-23 nt的触发序列达到理想扩增效率。

# 外周血单个核细胞DNA甲基化标志物在乳腺癌早期诊断中的应用

孔雪 王恬恬 李培龙 王传新  
山东大学第二医院检验医学中心

**目的** 免疫系统可以监测肿瘤的发展,DNA甲基化参与机体对肿瘤的免疫反应。因此,携带癌症特异性表观遗传改变的外周血单个核细胞DNA可作为乳腺癌早期检测的非侵入性标记物。

**方法** 在发现阶段使用850K芯片对50例乳腺癌患者和30例健康对照者的外周血单个核细胞DNA进行全基因组DNA甲基化分析寻找乳腺癌特异性甲基化改变。然后通过焦磷酸测序和靶向亚硫酸氢盐测序选择差异最显著的CpG位点在一个200例患者的队列中进行多方法多步骤验证。最后,基于通过验证的甲基化位点建立多重定量甲基化特异性PCR方法,并在一个501例患者的多中心队列中分析该方法对乳腺癌的诊断效能。

**结果** 在乳腺癌患者和健康对照组中共鉴定出289个差异甲基化位点,包括112个低甲基化位点及177个高甲基化位点。选择其中差异最显著的8个甲基化位点,通过焦磷酸测序和靶向亚硫酸氢盐测序进一步验证,最终4个高甲基化位点(cg18637238、cg16652347、cg13828440、cg11754974)通过验证。然后,开发了基于四个甲基化标记物的多重定量甲基化特异性PCR检测方法。该方法在鉴别乳腺癌方面表现良好,AUC为0.925,敏感性为83.1%,特异性为90.4%。更重要的是,与CA153、CA125和CEA相比,多重定量甲基化特异性PCR检测方法对早期乳腺癌(0期,88.2% vs. 0%,0%,5.9%)和直径 $\leq 1.5$  cm的微小肿瘤(91.7% vs. 0%,2.1%,0%)具有更高的敏感性。

**结论** 基于外周血单个核细胞DNA的甲基化标志物建立的多重定量甲基化特异性PCR检测方法可作为一种无创、准确、快速、高通量的乳腺癌早期诊断方法,在检测早期乳腺癌和微小肿瘤方面比传统肿瘤标志物更敏感。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 环状RNA hsa\_circ\_0067842在乳腺癌中的功能及机制研究

李娟<sup>1</sup> 董相君<sup>1</sup> 杜鲁涛<sup>2</sup>

<sup>1</sup>山东大学第二医院检验医学中心;<sup>2</sup>山东大学齐鲁医院

**目的** 乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤,发病率和死亡率均居前列,严重危害女性健康。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一类具有连续闭合环状结构的非编码RNA,不易被核酸外切酶降解,在生物体内更加稳定,这使其具有成为生物标志物的潜能。目前越来越多的研究表明,circRNAs与包括乳腺癌在内的多种肿瘤的发生发展密切相关,而circRNAs在乳腺癌转移和免疫逃逸中的功能和潜在分子机制尚未完全阐明。本研究旨在探讨新型circRNA hsa\_circ\_0067842在乳腺癌中的生物学功能和机制。

**方法** 选取6对乳腺癌组织与对应癌旁正常组织进行高通量circRNA芯片检测,经过生物信息学分析筛选及引物验证确定研究对象。利用组织芯片技术评估hsa\_circ\_0067842的表达水平以及和预后的关系。通过sanger测序确定其环化位点,利用RNA酶、放线菌素D实验验证其环状特性及稳定性。使用过表达质粒和小干扰RNA转染的方式,通过一系列功能实验探讨hsa\_circ\_0067842在乳腺癌转移和免疫逃逸中的作用。机制研究方面,通过RNA pull down、银染和质谱分析,探究了hsa\_circ\_0067842的互作蛋白分子,采用细胞核蛋白和细胞质蛋白抽提实验及荧光原位杂交(FISH)方法进一步研究hsa\_circ\_0067842与互作蛋白分子HuR的作用方式。并通过放线菌素D、免疫沉淀和泛素实验验证hsa\_circ\_0067842对下游靶基因CMTM6和PD-L1的调控机理。最后利用挽救实验进一步证实上述实验研究。

**结果** 根据circRNA高通量芯片数据和生物信息学分析筛选,确定hsa\_circ\_0067842为后续研究对象。hsa\_circ\_0067842在乳腺癌组织中显著高表达且与乳腺癌不良预后相关,可作为乳腺癌的独立预后因子,且qRT-PCR结果显示乳腺癌细胞株hsa\_circ\_0067842的表达水平明显低于正常乳腺上皮细胞,结果与芯片数据相符。体外功能实验表明,hsa\_circ\_0067842可促进乳腺癌细胞的迁移、侵袭和免疫逃逸,但对乳腺癌细胞的增殖能力没有显著影响。机制研究结果表明,hsa\_circ\_0067842可与HuR相互作用,促进HuR由细胞核向细胞质的转运,胞质HuR可以增强靶基因CMTM6的稳定性,并且CMTM6可以促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力。此外,hsa\_circ\_0067842可以通过HuR/CMTM6轴调控PD-L1的泛素化水平,抑制PD-L1的降解。最后,挽救实验结果表明CMTM6的沉默可以部分抑制hsa\_circ\_0067842对乳腺癌转移和免疫逃逸能力的促进作用。

**结论** 本研究筛选发现了一种在乳腺癌中高表达的新型circRNA hsa\_circ\_0067842,其可以通过HuR/CMTM6/PD-L1轴促进乳腺癌的转移和免疫逃逸,具有成为乳腺癌预后标志物和治疗靶点的潜力。

# 基于外周血单个核细胞的多位点DNA甲基化标记的检测模型对结直肠癌的诊断价值研究

谢艳 李培龙 王传新  
山东大学第二医院检验科

**目的** 结直肠癌起病隐匿,临床确诊时多为中晚期,早期诊断是提高患者五年生存率的关键,也是临床亟待解决的难题。免疫细胞的分子改变发生在肿瘤发生的早期,为早期癌症诊断提供了理论基础。本研究旨在开发一种有效的基于外周血单个核细胞的多分子检测方法,以提高早期CRC的诊断。

**方法** 候选DNA甲基化标记首先在发现阶段使用Infinium MethylationEPIC阵列从外周血单个核细胞中鉴定出来(山东队列I,  $n=100$ ),并在验证阶段通过焦磷酸测序和靶向亚硫酸氢盐测序进一步验证(山东队列II,  $n=202$ )。然后,在中试研究中建立了单管多重甲基化特异性定量PCR(multi-msqPCR)同时检测5个标志物的方法。在此之后,构建了基于DNA甲基化和multi-msqPCR方法的CRC预测模型(CPM),并在多中心队列( $n=595$ )中使用接受者工作特征曲线下面积(AUC)评估其诊断性能。

**结果** 通过Illumina 850K芯片识别的5个鉴别性DNA甲基化标记被成功验证为诊断早期CRC。Multi-msqPCR在早期CRC检测中具有较好的鉴别性能,检测限较单分子检测低10倍。交叉验证CPM对早期CRC的AUROC为0.91(敏感性=81.18%;特异性=89.39%),显著高于CEA(AUC=0.62)。CPM检测对晚期腺瘤(AA)病例也有较高的鉴别度(AUC=0.85;敏感性=63.04%;特异性=89.39%)。此外,在多种癌症类型中检测CPM具有cnc特异性诊断价值。我们的随访数据也表明,CPM可以比目前的传统诊断方法早2年发现早期CRC。

**结论** CPM作为一种结合表观遗传生物标志物和multi-msqPCR方法,可用于早期结直肠癌的常规临床诊断,具有良好的应用前景和成本效益。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 长链非编码RNA AC012073.1对乳腺癌细胞迁移侵袭的影响及临床价值研究

孔雪 王传新

山东大学第二医院检验医学中心

**目的** 探讨长链非编码RNA(lncRNA)AC012073.1在乳腺癌(BC)中的表达及对细胞迁移侵袭的影响,并对其临床价值进行研究。

**方法** 运用高通量芯片和TCGA数据挖掘分析在BC组织中高表达并与患者预后不良相关的lncRNAs。利用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测AC012073.1在乳腺癌细胞和血清中的表达水平。通过小干扰或质粒转染技术敲减或过表达AC012073.1并利用Transwell和划痕实验检测其对细胞迁移和侵袭能力的影响。利用TargetScan等数据库对下游作用靶点和功能富集分析进行预测,并运用Cytoscape软件绘制ceRNA调控网络。采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清AC012073.1对乳腺癌的诊断效能。

**结果** 筛选发现一种新型lncRNA AC012073.1,在乳腺癌组织中高表达且与患者预后不良显著相关( $P=0.031$ ),乳腺癌细胞系中AC012073.1表达水平明显高于正常乳腺上皮细胞。选择MDA-MB-231和MCF-7两株细胞进行功能实验,结果显示,敲减AC012073.1显著抑制细胞迁移和侵袭能力,反之过表达AC012073.1后,细胞的迁移和侵袭能力明显增强。下游靶点和基因通路分析显示AC012073.1可能通过调控肿瘤经典信号通路促进乳腺癌的进展。此外,qRT-PCR结果显示,与健康对照相比,乳腺癌患者血清中AC012073.1显著升高,ROC曲线结果显示曲线下面积(AUC)为0.833,表明其对乳腺癌具有良好的诊断价值。

**结论** 研究表明AC012073.1在乳腺癌中显著高表达,促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭,并可能成为乳腺癌诊断和预后的潜在生物标志物。

# 综合生物信息学分析 AURKA 基因与宫颈癌患者不良预后的相关性

王秋 李晓峰 夏勇 纪玲  
北京大学深圳医院检验科

**目的** 筛选宫颈癌组织中差异表达的基因,分析其与宫颈癌预后间的关系,得出其作为宫颈癌预后评估新标志物的可能性。

**方法** 从 GEO 数据库获取宫颈癌组织和正常宫颈组织的转录组测序结果的数据。通过 GEO 数据集的在线 GEO2R 工具分析得到宫颈癌组织和正常宫颈组织中的差异表达基因。用在线分析工具“仙桃学术”进行 GO 和 KEGG 分析。基于 String 网站和 Cytoscape 软件构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络并筛选出枢纽(Hub)基因。通过 Kaplan-Meier 和 Cox 单因素回归分析枢纽基因对患者总生存率(OS)和无病生存期(DFS)的影响及与其临床特征的关联。通过在线 GEPIA database 和 the Human Protein Atlas 进行枢纽基因表达的验证。采用受试者工作特征(ROC)曲线来评估枢纽基因表达水平对区分宫颈癌组织和正常宫颈组织的可行性。

**结果** 在3个数据集中的71个差异表达基因中,有48个基因表达上调,23个基因表达下调。使用String网站和Cytoscape软件构建这些差异表达基因的可视化PPIs。然后,使用Kaplan-Meier曲线进一步分析Hub基因在宫颈癌中的生存率,结果显示JUN和AURKA基因的上调与较差的生存率相关。最后在GEPIA database和the Human Protein Atlas进行JUN和AURKA基因的mRNA和蛋白表达验证,发现仅AURKA基因的mRNA和蛋白在宫颈癌中表达显著上调。ROC结果显示曲线下面积(AUC)为0.945,表明AURKA基因表达水平对宫颈癌具有较高的预测价值。

**结论** 宫颈癌组织中AURKA mRNA和蛋白表达上调,则宫颈癌患者的总生存率和无病生存期均缩短,AURKA基因具有作为宫颈癌预后评估新标志物及靶点的潜在可能。

## 论著·分子诊断进展及应用·

# 一种新型长链非编码RNA AC073352.1 通过结合YBX1促进乳腺癌转移 及血管生成

孔雪 王传新

山东大学第二医院检验医学中心

**目的** 乳腺癌是全世界妇女癌症死亡的主要原因。转移患者预后差,乳腺癌转移的机制尚不完全清楚。长链非编码RNA (lncRNAs)已被证明在乳腺癌的发展和进展中具有重要作用。然而,lncRNA驱动乳腺癌转移的潜在机制尚不清楚。本研究探索一种功能性lncRNA及其在乳腺癌中的作用机制。

**方法** 利用lncRNA芯片和TCGA数据库分析,筛选目标lncRNA AC073352.1及其表达水平原位杂交证实乳腺癌组织及临床意义。AC073352.1在乳腺癌进展中的作用通过体外和体内的功能实验进一步研究。通过RNA pull-down、Western blot和RNA免疫沉淀分析研究AC073352.1的调控机制。通过共培养和外泌体标记实验对乳腺癌细胞转移到内皮细胞的外泌体AC073352.1进行评估。外泌体AC073352.1在血管生成中的作用通过成管实验进一步研究。

**结果** 本研究发现了一种新型lncRNA AC073352.1,它在乳腺癌组织中显著上调并与TNM晚期和不良预后相关。此外,AC073352.1在体内和体外均能促进乳腺癌的转移。在机制上,阐明了AC073352.1与YBX1相互作用并稳定其表达。敲除YBX1可减少细胞迁移和侵袭,并可部分逆转AC073352.1驱使的乳腺癌转移。此外,AC073352.1可能通过与乳腺癌细胞中的YBX1结合被包裹进外泌体,从而导致血管生成。

**结论** AC073352.1可以作为乳腺癌预后的生物标志物和治疗靶点。

# Prognostic value of the long noncoding RNA AFAP1-AS1 in cancers

朱礼秀<sup>1</sup> 王巧丽<sup>2</sup> 徐国强<sup>1</sup> 徐天瑞<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昆明医科大学第三附属医院放疗科;<sup>2</sup>昆明医科大学第六附属医院

**Objective** This meta-analysis explored whether the expression of Actin filament-associated protein 1 antisense RNA 1 (AFAP1-AS1) is related to the prognosis and clinicopathological features of cancer patients.

**Methods** PubMed, EMBASE and the Cochrane Library were systematically searched. Hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs) were used to assess prognostic value based on overall survival (OS), disease-free survival (DFS) and progression-free survival (PFS), and odds ratios (ORs) with 95% CIs were used to determine relationships between AFAP1-AS1 and clinicopathological features, such as large tumor size (LTS), high tumor stage (HTS), poor histological grade (PHG), lymph node metastasis (LNM) and distant metastasis (DM).

**Results** Thirty-five qualified articles and 3,433 cases were analyzed. High AFAP1-AS1 expression correlated with significantly shorter OS (HR=2.15, 95%CI=1.97-2.34,  $P<0.001$ ), DFS (HR=1.37, 95%CI=1.19-1.57,  $P<0.001$ ) and PFS (HR=1.97, 95%CI=1.56-2.50,  $P<0.001$ ) than low AFAP1-AS1 expression among the cancer patients. In various cancers, elevated AFAP1-AS1 expression was significantly associated with LTS (OR=2.76, 95%CI=2.16-3.53,  $P<0.001$ ), HTS (OR=2.23, 95%CI=1.83-2.71,  $P<0.001$ ) and PHG (OR=1.39, 95%CI=1.08-1.79,  $P=0.01$ ) but not LNM (OR=1.59, 95%CI=0.88-2.85,  $P=0.12$ ) or DM (OR=1.81, 95%CI=0.90-3.66,  $P=0.10$ ).

**Conclusion** High AFAP1-AS1 expression was associated with prognosis and clinicopathological features, suggesting that AFAP1-AS1 is a prognostic biomarker for human cancers.

# Transcriptional expression of CXCL10 and STAT1 in Lupus Nephritis and the intervention effect of Triptolide

施栋梁

福建医科大学附属协和医院病理科

**Objective** This study screened out the key genes associated with the occurrence and development of lupus nephritis (LN) using bioinformatics methods, and then explored the expression of key genes in LN and the inhibitory effect of Triptolide.

**Methods** The GEO2R online tool in the GEO database was used to perform differential analysis of gene expression in LN tissues and normal kidney tissues. The GO function and KEGG pathway enrichment analysis of differentially expressed genes (DEGs), STRING, and Cytoscape software were used to build a protein-protein interaction network (PPI) to screen out the Hub gene. The relative expression of CXCL10 mRNA in each group was detected by Real-Time fluorescent quantitative PCR (RT-PCR). CXCL10 secretion was detected by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and Western blot was used to detect the expression of the JAK/STAT1 signaling pathway related proteins STAT1 and p-STAT1 in each group.

**Results** Bioinformatics showed that there were 22 DEGs expression differences in the GEO database. The GO enrichment analysis showed that biological process (BP) such as the type I interferon signaling pathway, interferon- $\gamma$ -mediated signaling pathway, virus defense response, and immune response were significantly regulated by DEGs. Through the combination of String database analysis and cytoscape software, it was found that STAT1 and CXCL10 are closely related to lupus nephritis. Experimental results showed that IFN- $\gamma$  induces the expression of CXCL10 mRNA and protein by activating the JAK / STAT1 signaling pathway, while Triptolide inhibits the expression of CXCL10 mRNA and protein by inhibiting the JAK/STAT1 signaling pathway.

**Conclusion** STAT1 and CXCL10 are the key genes in the occurrence and development of lupus nephritis. IFN- $\gamma$  induces the expression of CXCL10 by activating the JAK / STAT1 signaling pathway, while Triptolide inhibits the expression of CXCL10 by blocking the JAK/STAT1 signaling pathway.

## 染色质可及性揭示KRAS驱动的FOSL2 通过上调CCL28促进胰腺导管腺癌进展

张淑君 王传新  
山东大学第二医院检验科

**Objective** The epigenetic mechanisms of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) progression are poorly understood. This study aims to identify key transcription factor (TF) by multiomics sequencing to explore the molecular mechanisms of TF with critical roles in PDAC.

**Methods** we used ATAC-seq, H3K27ac ChIP-seq, and RNA-seq to characterized the epigenetic landscape by genetically engineered mouse models (GEMMs) of PDAC with or without KRAS and/or TP53 mutations. Survival of FOSL2 was assessed using Kaplan-Meier method and multivariate Cox regression analysis for patients with PDAC. We performed Cleavage Under Targets and Tagmentation (CUT&Tag) to study the potential targets of FOSL2. CCK8, transwell migration and invasion, RT-qPCR, western blot, IHC, ChIP-qPCR, dual-luciferase reporter, and xenograft model assays were used to explore the functions and underlying mechanisms of FOSL2 in PDAC progression.

**Results** We found that the epigenetic changes were involved in some immuno-suppressed signaling with PDAC progression. Also, we identified a critical regulator FOSL2 which was upregulated, associated with poor prognosis of patients with PDAC, and promoted cell proliferation, migration, and invasion. In terms of the mechanism, we found that FOSL2 was a downstream target of KRAS / MAPK pathway and recruited regulatory T (Treg) cells by transcriptionally activating CCL28 expression, which implicated an immuno-suppressed regulatory axis of KRAS/MAPK-FOSL2-CCL28-Treg cells in PDAC development.

**Conclusion** Our findings revealed that KRAS-driven FOSL2 could promote PDAC progression via transcriptionally activating CCL28, and indicated an immune-suppressed role of FOSL2 in PDAC.

## 论著·分子诊断进展及应用·

# LncRNA 表达谱用于食管癌的预后预测和分子分型研究

张淑君 王传新  
山东大学第二医院检验科

**Objective** Long non-coding RNAs (lncRNAs) have emerged as useful prognostic markers in many tumors. In this study, we investigated the potential application of lncRNA markers for the prognostic prediction of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

**Methods** We identified ESCC-associated lncRNAs by comparing ESCC tissues with normal tissues. Subsequently, Kaplan-Meier (KM) method in combination with the univariate Cox proportional hazards regression (UniCox) method was used to screen prognostic lncRNAs. By combining the differential and prognostic lncRNAs, we developed a prognostic model using cox stepwise regression analysis.

**Results** The obtained prognostic prediction model could effectively predict the 3-and 5-year prognosis and survival of ESCC patients by time-dependent receiver operating characteristic (ROC) curves (area under curve=0.87 and 0.89, respectively). Besides, a lncRNA-based classification of ESCC was generated using k-mean clustering method and we obtained two clusters of ESCC patients with association with race and Barrett's esophagus (BE) (both  $P<0.001$ ). Finally, we found that lncRNA AC007128.1 was upregulated in both ESCC cells and tissues and associated with poor prognosis of ESCC patients. Furthermore, AC007128.1 could promote epithelial-mesenchymal transition (EMT) of ESCC cells by increasing the activation of MAPK/ERK and MAPK/p38 signaling pathways.

**Conclusion** Collectively, our findings indicated the potentials of lncRNA markers in the prognosis, molecular subtyping, and EMT of ESCC.

# 不同提取试剂及配套的提取仪对新冠病毒核酸检测的影响

朱颖 刘晓峰 张娟 梁超 程宇 陈忠

北京海思特医学检验实验室有限公司医学部分子平台

**目的** 研究不同的核酸提取试剂及配套的提取仪在核酸提取性能的差异,从而选择提取性能最佳的提取试剂和配套的提取仪用于新冠病毒(2019-nCoV)核酸检测。

**方法** 内部员工阴性咽拭子标本,混入商用弱阳性质控品,作为模拟阳性标本。分别选用4种不同品牌的核酸提取试剂及配套的提取仪,分别提取阴性、阳性模拟样本,在同一台荧光定量PCR仪上进行荧光定量PCR扩增实验。通过比较其循环阈值(CT)分析四种不同品牌的核酸提取试剂及配套的提取仪在新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测的阴阳性符合率、精密度、灵敏度的差异。通过5%、10%的全血干扰实验,对提取纯度进行性能验证。

**结果** 阴阳性符合率:四种不同品牌的核酸提取试剂及配套的提取仪,阴性、阳性模拟样本的阴阳性符合率均为100%;精密度:四种不同品牌的核酸提取试剂及配套的提取仪在精密度上略有差异,但满足新型冠状病毒检测的要求。A品牌试剂:模拟样本的内标CT值,N基因CT值,ORF1基因CT值的CV%分别为:0.76%、0.92%、1.39%。B品牌试剂:模拟样本的内标CT值,N基因CT值,ORF1基因CT值的CV%分别为:0.64%、0.84%、1.26%。C品牌试剂:模拟样本的内标CT值,N基因CT值,ORF1基因CT值的CV%分别为:0.88%、1.09%、1.14%。D品牌试剂:模拟样本的内标CT值,N基因CT值,ORF1基因CT值的CV%分别为:0.78%、0.92%、1.70%。灵敏度:四种不同品牌的核酸提取试剂及配套的提取仪在扩增试剂盒宣称的检测下限处均能100%检出样本。但当阳性样本更低浓度稀释时,B品牌和C品牌的提取试剂及配套的提取仪提取效率不佳,部分阳性样本出现漏检。纯度:B品牌提取试剂及配套提取仪在5%和10%全血干扰的情况下,样本提取效率差,部分模拟阳性样本的N基因或ORF1基因的探针未完全跳起。其他品牌提取试剂及提取仪表现良好,未受全血的干扰。

**结论** 4种不同品牌的核酸提取试剂及配套的提取仪在阴阳性符合率、精密度、灵敏度等方面表现良好,均可用于新冠病毒核酸的提取,满足新型冠状病毒检测的要求。部分提取试剂可能不含蛋白去除液,无法分解血液中的蛋白质,提取后样本纯度差,对后续PCR造成影响,导致部分拭子上含血的阳性样本无法检出。如果临床接收到患者出现口腔黏膜出血或采集样本用力不当导致的出血的样本,应使用含蛋白去除液成分的核酸提取试剂进行核酸提取。

## 论著·分子诊断技术质量控制·

# WT1 实时荧光定量试剂盒检测用于白血病治疗监测的方法学评估

马小丽 王芳 王娜 周琳 刘昕娜 谭印成 刘红星

河北燕达陆道培医院检验医学科

**目的** 探讨商品化 WT1 定量检测试剂盒与欧洲协作组方案定量检测 WT1 相对表达量的相关性,验证商品化试剂盒的性能,评估其临床应用价值。

**方法** 使用商品化试剂盒(Otsuka)与欧洲协作组方案平行测定 47 例患者共 104 份标本的 WT1 表达量。采用线性回归分析和 Bland-Altman 一致性分析软件比较两种方法的相关性和一致性。选取 8 例检测 3 次以上患者不同时间的标本,考察二者检测 WT1 表达水平动态变化与流式细胞术检测微小残留病及临床情况的符合程度。

**结果** 104 例临床样本用欧洲协作组方案和 Otsuka 试剂盒同时进行 WT1 定量,经线性回归分析两种方法的相关性较好( $R^2=0.9304$ ),Bland-Altman 一致性分析偏倚是 1.25 倍,95% 可置信区间是-1.69~1.09 倍,结果较一致。正常对照样本的 WT1 表达量均低于 Otsuka 的阈值,8 例患者欧洲协作组方案及 Otsuka 试剂盒定量结果及变化趋势与流式细胞术 MRD 监测结果及临床情况相符。

**结论** Otsuka WT1 PCR 定量检测试剂盒与欧洲协作组方案相关性及其一致性良好,可用于临床监测 WT1 mRNA 表达量,以辅助诊断及判断预后。

# 人类 VKORC1 及 CYP2C9 基因多态性检测体系的性能验证及其思考

田德全 兰贺 张蕴秀 王培昌  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 对人类 VKORC1&CYP2C9 基因多态性检测试剂盒(PCR-荧光探针法)进行性能验证。

**方法** 根据《医学实验室质量和能力认可准则》(CNAS-CL02:2012)和《医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明》(CNAS-CL02-A009)文件中对性能验证的要求,对人类 VKORC1&CYP2C9 基因多态性检测试剂盒的准确度、特异性、精密度、测定下限和抗干扰能力进行验证。

**结果** 20 例临床标本荧光定量 PCR 检测结果和 Sanger 测序结果比对符合率为 100%,10 例经该试剂盒检测为野生型的标本 Sanger 测序结果也均为野生型,准确度和特异性符合要求。对 1 例杂合突变型(G/A,\*1/\*1)及 1 例纯和突变型(A/A,\*1/\*1)标本共重复检测 15 次,结果均一致,且  $C_t$  值 CV $\leq$ 5%,精密度较好。当 DNA 含量低至 0.1 ng/ $\mu$ l 时,该试剂盒仍能准确检测出结果。全血中血红蛋白和胆红素浓度分别不大于 4.95 g/L 和 510  $\mu$ mol/L 时,不影响试剂盒检测的准确度。

**结论** 经验证该检测体系的各项性能与厂家说明书所声称的一致,可以满足临床检测的需求。

## 论著·分子诊断技术质量控制·

# 医院内部POCT血气分析仪比对方法的建立与分析

路尧 王红彦 王培昌

首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 探讨医院内部即时检验(POCT)血气分析仪实验室间质量保证和质量评价的方法。

**方法** 参照临床实验室标准化协会对仪器比对的要求,收集每台参比POCT血气分析仪连续20 d室内质控数据计算变异系数(CV),评价其精密度。选取5份不同水平血气分析仪质控品进行现场比对,30 min内收集所有POCT血气分析仪pH值、二氧化碳分压 $[P(\text{CO}_2)]$ 、氧分压 $[P(\text{O}_2)]$ 检验结果,计算均值、标准差、变异系数。以CLLA'88允许偏差作为临床可接受判断标准,要求每台POCT血气分析仪的 $CV < 1/3$ 允许总误差(TEa),对所有检验结果进行判断。

**结果** 参比的21台POCT血气分析仪pH值、 $P(\text{CO}_2)$ 、 $P(\text{O}_2)$  20 d室内质控结果的 $CV < 1/3$  TEa。21台POCT血气分析仪pH值5个水平平均值的CV分别为0.09、0.06、0.03,均 $< 1/2$  TEa; $P(\text{CO}_2)$  5个水平平均值的CV分别为0.62、1.13、0.98,均 $< 1/2$  TEa; $P(\text{O}_2)$  5个水平平均值的CV分别为2.12、1.88、0.76,均 $< 1/2$  TEa。

**结论** 参比的21台POCT血气分析仪分析结果一致,采用该方法对医院内部不同实验室间POCT血气分析仪进行质量评价是可行的,建立的比对方法可以很好地监测全院POCT血气分析仪的检测状态,保证检查结果的一致性和准确性。

# 新型冠状病毒核酸检测实验室复检规则 与报告方式的探讨

陈曦妍

乐山市市中区人民医院检验科

**目的** 探讨更佳新型冠状病毒核酸检测实验室复检规则与报告方式。

**方法** 回顾性分析2022年12月以来疫情流行上升期、高峰期、下降期三个时期中部分核酸结果,分为A、B、C三组,A组1098例,B组852例,C组975例,并对复检标本所属人员其它时间检测结果进行回顾。

**结果** 初检阳性标本复检率B组(22.77%)高于C组(12.92%),高于A组(7.47%),差异具有统计学意义( $P<0.001$ );三组复检标本均以单N基因阳性为主,A组53例(64.63%),B组121例(62.37%),C组92例(73.02%)。复检阳性率B组(79.38%)高于C组(59.52%),高于A组(52.44%),差异具有统计学意义( $P<0.001$ );最终报告阳性率B组(79.23%)高于A组(30.05%),高于C组(15.08%),差异具有统计学意义( $P<0.001$ )。初检单N基因阳性的标本,复检阳性的初检 $C_t$ 值小于复检阴性的,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );当初检N基因 $C_t$ 值为38.04时,判读该标本复检是否为阴性的ROC曲线下面积(AUC)为0.64,敏感度75.3%,特异度51.5%,约登指数0.268。B组复检后报告阳性的标本(73例),既往均为阳性;报告阴性的标本(1例),既往均为阳性,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论** 新型冠状病毒核酸检测实验室复检规则的制定应结合临床,而不仅基于实验室内部流程质量保证。报告除准确表述实验室检测结果外,予以相应建议或备注更契合就检与诊疗需求。

## 论著·分子诊断技术质量控制·

# MALDI-TOF MS 自建数据库对丝状真菌临床分离株鉴定能力的评估

李颖

首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 评估MALDI-TOF MS自建数据库对丝状真菌临床分离株的鉴定能力。

**方法** 分子测序技术明确41株拟建库丝状真菌的种属信息。采用标准提取法分别对拟建库菌株幼稚菌落和成熟菌落进行MALDI-TOF MS自建数据库处理;另采用236株丝状真菌临床分离株评估该自建数据库的鉴定能力。

**结果** 41株建库丝状真菌分属于10属25种。自建数据库包含82张参考质谱图。采用MALDI-TOF MS自建数据库可将评估菌株种水平鉴定率由商业数据库的29.2% (69/236)提升至67.5% (159/236);将自建数据库与商业数据库联合后,评估菌株种水平鉴定率为76.3% (180/236),且无错误鉴定情况。与形态学方法相比,MALDI-TOF MS自建数据库对临床常见曲霉菌株的鉴定无优势,对于曲霉少见种和非曲霉丝状真菌,其种水平鉴定率为61.8% (34/55),显著优于形态学方法(16.4%,9/55)。

**结论** MALDI-TOF MS自建数据库有助于提高实验室丝状真菌鉴定能力,在形态学方法鉴定困难的少见丝状真菌鉴定方面其作用更为显著。

# 基于微滴式数字PCR定量检测丁型肝炎病毒

高耀<sup>1,2</sup> 徐玲<sup>1,2</sup> 田原<sup>1,2</sup> 范子豪<sup>1,2</sup> 曹亚玲<sup>1,2</sup> 潘桢桢<sup>1,2</sup> 张向颖<sup>1,2</sup> 段钟平<sup>1</sup>  
任锋<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>首都医科大学附属北京佑安医院;<sup>2</sup>北京肝病研究所

**目的** 目前丁型肝炎病毒(hepatitis delt virus, HDV)的流行率远远被低估,其中一项主要原因是目前仍缺乏精准的HDV RNA定量检测方法。本研究旨在建立一种新型基于微滴式数字PCR(digital droplet PCR, ddPCR)的HDV定量检测方法。

**方法** 首先通过检测HDV全基因型的通用质粒(pMD19T)建立了基于ddPCR的HDV RNA精准定量检测方法。然后使用ddPCR、ELISA、RT-PCR方法检测30例确诊的丁型肝炎患者及14例对照人群,明确ddPCR检测HDV RNA的灵敏性。最后对728例HBV阳性患者进行了HDV筛查,其中包括慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝硬化(liver cirrhosis, LC)、肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)和肝衰竭(liver failure, LF)各182例,证实该方法的临床应用价值。

**结果** 首先使用ddPCR检测梯度稀释的HDV质粒,结果证明ddPCR的检测下限(low limit of detection, LLOD)较低,LLOD和定量检测下限(lower limit of quantitation, LLOQ)分别为0.18拷贝/反应(95%CI: 0.001 215 1~0.764 36)和5.51拷贝/反应(95%CI: 1.15~6.4×10<sup>5</sup>)。在检测的44份丁肝患者血清样本中,ELISA、ddPCR、RT-PCR分别检出的阳性为30例、24例、10例。最后对728例HBV阳性患者进行了HDV筛查,在CHB、LC、HCC和LF人群中,ELISA检测的HDV抗体阳性率分别为1.1%、3.3%、2.7%和7.1%,RT-PCR检测HDV RNA阳性率分别为0%、16.7%、15.4%和20.0%。值得注意的是,ddPCR检测的HDV阳性率为0%、33.3%、30.8%和60.0%。

**结论** 建立了一种基于ddPCR的高灵敏性、高特异性的HDV RNA定量检测方法。该方法证明了在HBV相关的终末期肝病,尤其是肝衰竭患者中,存在极高的HDV感染率。

## 论著·多学科合作经验分享·

# 1例5p13.3-pter部分单体及Xp22.12-pter部分重复胎儿的产前诊断

詹福寿

宁夏医科大学总医院实验室

**目的** 探讨基于下一代测序技术的基因组拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)在胎儿5p13.3-pter缺失及Xp22.12-pter重复诊断中的应用。

**方法** 抽取孕妇及其丈夫外周血行常规染色体G显带核型分析,在B超引导下行羊膜腔穿刺术,抽取羊水常规细胞培养,收获、制片,G显带处理,对胎儿进行染色体G显带核型分析,并采用CNV-seq技术对胎儿全基因组拷贝数变异(copy number variants, CNVs)进行检测。

**结果** 胎儿染色体核型为46, XY, der(5)(Xpter→Xp22.12::5p13.3→5qter)mat。胎儿母亲外周血染色体核型为46, X, t(X;5)(5pter→5p13.3::Xp22.12→Xqter;Xpter→Xp22.12::5p13.3→5qter)。胎儿父亲核型为46, XY。胎儿CNV-seq检测结果为seq[hg19] del(5)(p15.33p13.3) chr5:g.20000\_30620000del, seq[hg19] dup(X)(p22.33p22.12) chrX:g.2700000\_19840000dup,在5号染色体p15.33p13.3区段存在30.60Mb片段的缺失,在X染色体p22.33p22.12区段存在17.14Mb片段的重复。

**结论** 胎儿5号染色体的结构异常源自其母亲的t(X;5)平衡易位,CNV-seq技术可以诊断5p13.3-pter缺失及Xp22.12-pter重复,并可精确定位,为基因型和表型的关联分析积累数据。

# 预测重症化成人社区获得性肺炎的列线图模型的构建和验证

王子铭 虞伟  
泰康仙林鼓楼医院检验科

**目的** 早期识别重症成人社区获得性肺炎(community-acquired pneumonia, CAP)患者对于临床决策至关重要。旨在建立并验证基于患者炎症指标、基础疾病、病原学及CURB-65评分构建的列线图模型。

**方法** 回顾性分析2018年1月至2021年12月在泰康仙林鼓楼医院首诊为CAP的172例住院患者临床资料,按病情严重程度分为重症组和非重症组,记录患者性别、年龄、既往史、主诉症状、发病时间、合并症、CURB-65评分、入院首次血常规、肝肾生化、凝血、微生物培养结果及是否根据微生物培养结果调整抗生素治疗方案。采用单因素筛选重症及非重症差异指标,共线性分析后,依据AIC准则向前逐步回归法进行多因素logistic回归分析,严格寻找构建模型的危险因素。基于多变量分析的结果构建列线图模型,ROC曲线及校正曲线评估模型的区分度及精确度。

**结果** 172例CAP患者中重症48例(27.9%),非重症124例(72.1%),年龄为74(57~83)岁,发病时间为5(3~10)d,合并症总数为3(2~5)种,其中合并高血压58例(33.7%),心力衰竭为17例(9.9%);根据CURB-65评分,低危组(CURB-65≤1分)113例(65.7%),中危组(CURB-65=2分)34例(19.8%),高危组(CURB-65≥3分)25例(14.5%)。单因素分析结果显示:重症组患者较非重症组,年龄、CURB-65评分、炎症指标更高,复合感染(培养2种及以上病原菌)发生率高,ALT及AST差异有统计学意义( $P<0.05$ )。纳入多因素分析示:高血压( $OR=3.749$ )、心力衰竭( $OR=4.616$ )、复合感染( $OR=2.886$ )、吸烟史( $OR=8.268$ )、中高CURB-65评分( $OR=4.833$ )、CRP( $OR=1.012$ )、AST( $OR=1.015$ )为危险因素( $P<0.05$ )。将筛选指标纳入列线图模型检验结果示:模型曲线下面积为0.896(0.840~0.937)( $P<0.05$ ),校准曲线显示重症CAP的预测概率与观察概率一致性较好(H-L检验: $\chi^2=6.088, P>0.05$ )。

**结论** 列线图模型具有良好的识别重症CAP患者的能力,可以辅助作为一种全面可靠的临床诊疗工具,为重症CAP高危患者提供及时干预治疗措施提供依据。

## 论著·多学科合作经验分享·

# 多模式融合教学在检验科血栓和止血临床见习带教中的应用探索

王晓琳 王培昌 李蕾 孙健武 马静 朱文梅  
首都医科大学宣武医院检验科

**目的** 探讨以翻转课堂(FC)+基于案例教学法(CBL)+基于问题教学法(PBL)3种教学方法相融合的方式在血栓和止血临床见习带教中的应用及效果。

**方法** 选择首都医科大学2018级医学检验专业学生60人为研究对象,随机分为实验组(即实验教学方法组)和对照组(即传统教学方法组)。实验组采用FC+CBL+PBL教学方法授课,对照组采用传统授课式教学方法,观察及比较两组的教学效果及满意度。

**结果** 实验组理论成绩、实际操作能力、报告单解读及临床意义分析能力均高于对照组( $P<0.05$ ),差异有统计学意义;实验组的理论知识掌握程度、自学能力、团队合作能力、实操能力、临床思维及沟通能力与见习带教满意度评分均高于对照组( $P<0.05$ ),差异有统计学意义。

**结论** 在检验科血栓和止血临床见习带教中,FC+CBL+PBL融合式教学法更有助于提高见习效果,值得进一步的探索和实践。

# 同浓度、不同种类念珠菌孢子对白细胞和血小板计数的影响

陈卓曦

广东省人民医院检验科

**目的** 念珠菌血症诊治较困难,病死率高,通过比较不同浓度、不同种类念珠菌孢子对白细胞和血小板计数的影响,保障血常规分析报告的准确性,为临床提供诊断依据或诊断线索。

**方法** 收集含高、中、低值的三个浓度的外周血全血,选取白念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌三种念珠菌标准菌株,在电镜下比较三种念珠菌孢子的大小,用0.9%的生理盐水调配成浓度 $6\times 10^8$  CFU/ml的真菌悬液,然后稀释为 $6\times 10^7$  CFU/ml、 $6\times 10^6$  CFU/ml、 $6\times 10^5$  CFU/ml和 $6\times 10^4$  CFU/ml四种不同浓度的菌悬液,与外周血全血按1:1比例混匀,全自动血细胞分析仪上机检测,观察不同种类、不同浓度的真菌孢子对白细胞计数和血小板计数的影响以及散点图的变化情况。

**结果** 电镜下可见热带念珠菌孢子大小>白念珠菌>光滑念珠菌,高浓度真菌孢子使全自动血细胞分析仪白细胞计数和血小板计数假性升高,其中以热带念珠菌对WBC计数影响较大,白色念珠菌次之,光滑念珠菌影响最小。

**结论** 不同浓度、不同种类真菌孢子可能会对全自动血细胞分析仪细胞计数产生较大影响,临床日常工作中应加以重视。

## 论著·多学科合作经验分享·

# 新型冠状病毒奥密克戎变异株核酸检测的实践与探讨

何吕芬 林于金 张新平 陈少金 朱华雄 罗文凯 秦天 朱雄  
三亚市人民医院检验科

**目的** 探讨现阶段新型冠状病毒感染者核酸检测中的相关问题和解决方案,为临床实验室提供参考,为疫情防控提供科学的数据支持。

**方法** 选取2022年8月1日至8月20日,采用试剂A和试剂B进行平行检测616份临床核酸检测样本,比较两者间的差异。选取2022年8月21日至8月31日入院的2168例新冠感染者,分析其流行病学特征,对其核酸检测基础循环阈值(cycle threshold, Ct值)和时间变化规律进行分析。

**结果** 对于N基因和ORF1ab两种试剂检测结果间的一致性较好,而Ct值在30~40的样本,一致性降低, $R^2$ 值分别为0.138和0.237。2168例新冠感染者男性占48.15%,女性占51.85%,年龄跨度较大(0~98岁),主要为31~60岁。新冠感染患者入院基础N基因、ORF1ab基因的Ct值与转阴周期(d)均呈负相关( $r=-0.494$ ,  $P<0.01$ ;  $r=-0.483$ ,  $P<0.01$ )。

**结论** 建立适用实验室的样本复检规范和流程,同时应加强对Ct值处于35左右样品检测的质量监控,以保证实验室新冠核酸检测结果的一致性。大面积COVID-19核酸检测,以早期发现疫情。Ct值可作为新冠患者转阴周期的预测因子,对指导新冠患者减少核酸检测频次及评估疾病进程具有一定价值。

# CALM-AF10 阳性急性白血病患者临床特征及预后分析

王彤 陈雪 张阳 王芳 马小丽 袁丽莉 刘红星  
河北燕达陆道培医院血液肿瘤中心

**目的** 探讨 CALM-AF10 阳性急性白血病患者临床特征及预后。

**方法** 回顾性分析我院收治的 5 例 CALM-AF10 阳性急性白血病患者临床资料,结合文献明确 CALM-AF10 阳性急性白血病患者临床特征及预后。

**结果** 5 例患者中男 4 例,女 1 例,中位年龄为 22.8 岁,中位随访时间为 6.8 个月,FAB 分型 M 1 1 例, M 2 1 例, M 4 1 例, M 5b 1 例, T-ALL 1 例。初诊时 CALM-AF10 融合基因水平(实时定量 PCR 法)为 17.13%~75.41%,流式结果表达双表型,5 例患者经常规化疗 1 个疗程均未获得完全缓解,其中 1 例患儿经第二疗程巩固化疗后缓解,其余 4 例经第二疗程强化治疗缓解后均复发,其中 3 例短时间内复发,1 例行异基因造血干细胞移植 2 年 6 个月后复发。4 例患者有初诊时有染色体核型结果,均伴有不同程度的核型异常。患者在疾病进展或复发时均检测到新的核型异常。

**结论** CALM-AF10 融合基因在急性髓系白血病中亦常见,常伴复杂核型异常,携带有 CALM-AF10 融合基因的患者预后差,青年人多发,男性检出率高于女性,早期即发生髓外浸润,常规化疗往往难以获得完全缓解,缓解后亦短期内复发,allo-HSCT 有可能改善其预后,但亦有一定的复发倾向。对于初诊伴有髓外浸润和难治复发的急性白血病患者,应将 CALM-AF10 纳入融合基因检测项目,更好的为白血病危险度分层及个体化治疗提供依据。

## 论著·多学科合作经验分享·

# 衰老细胞促进病毒感染诱导的炎症并抑制病毒复制

崔湘铎<sup>1</sup> 邬开朗<sup>2</sup> 祝成亮<sup>1</sup> 肖璇<sup>1</sup>

<sup>1</sup>武汉大学人民医院检验科;<sup>2</sup>武汉大学生命科学学院

**目的** 探究衰老对病毒感染和病毒复制的影响及机制。

**方法** 利用阿霉素(Doxorubicin, DOX)诱导人非小细胞肺癌细胞(A549)衰老。用自然状态和DOX诱导衰老状态的A549细胞同时感染水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)或单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV),一定时间后收样。应用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, RT-PCR)检测干扰素- $\beta$ (interferon- $\beta$ , IFN- $\beta$ )、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )以及病毒复制;蛋白质印迹法(western blot, WB)检测核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路关键蛋白核因子 $\kappa$ B p65(nuclear factor- $\kappa$ B p65, p65)蛋白、磷酸化核因子 $\kappa$ B p65(phosphorylated nuclear factor- $\kappa$ B p65, p-p65)蛋白表达量;荧光倒置显微镜观察VSV病毒或HSV病毒复制。选取无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级C57BL/6小鼠,8周龄为年轻组( $n=3$ ),15月龄以上为年老组( $n=3$ ),腹腔注射VSV病毒 $1\times 10^7$  PFU/只,24 h后安乐死,取肝、脾、肺提取RNA检测相关炎症因子指标。

**结果** 与自然状态组相比,DOX诱导组细胞周期阻滞蛋白P16、P21显著升高。 $\beta$ -半乳糖苷酶染色阳性细胞计数也明显升高。两组细胞同时感染VSV病毒,衰老细胞组IFN- $\beta$ 显著降低,而IL-6、IL-1 $\beta$ 显著升高;同时NF- $\kappa$ B通路关键蛋白p65、p-p65表达较正常细胞组明显增加。两组细胞感染VSV及HSV病毒,衰老细胞组相应的病毒复制水平也显著降低。衰老小鼠与年轻小鼠相比,年老组的C57BL/6小鼠感染VSV病毒后脾和肺中炎症反应显著增强,肝中无明显变化。

**结论** 衰老细胞和衰老个体感染病毒表现为较高的炎症反应,衰老细胞感染病毒还表现较低的抗病毒反应,这些可能是衰老导致病毒疾病进程延长的潜在原因。

## 病例报告·分子诊断进展及应用·

# mNGS辅助诊断牙周细菌混合感染引起的少见危重症脑干脓肿病例1例

李瑞 张栋 杜娟 肖盟 谢秀丽 尚雪松 于淑颖 赵颖 伊洁 郭佳钰  
苏慧婷 徐英春 杨启文  
中国医学科学院北京协和医院检验科

**背景** 脑脓肿是一种严重的颅内感染性病变,最常发生在额叶和颞叶,脑干脓肿(brainstem abscess)十分罕见。口咽部定植微生物导致的牙周感染是引发脑脓肿的重要风险因素,其中,链球菌属是最常见引起脑脓肿的口腔微生物。而嗜沫凝聚杆菌,一种常定植在口腔黏膜表面的革兰阴性苛养菌,因为常规培养及鉴定困难而易漏诊,其导致的临床感染仅有少量报道。

**方法** 依靠医院本地化的病原体宏基因组高通量测序技术(mNGS)平台及时诊断的疑似由嗜沫凝聚杆菌和中间型链球菌混合感染引起的少见危重症脑干脓肿病例。

**结果** 患者男,53岁,主诉“右侧肢体麻木无力、行走不稳、构音不清6 d”于2022年6月2日入住协和医院。查体示右侧肢体针刺觉稍减弱,右侧指鼻不稳、视物重影、齿口角偏左、双侧咽反射减低。查头颅MRI可见桥脑花环样强化灶,病灶大小约28 mm×27 mm×30 mm(前后×左右×上下),提示感染,但脑脊液及外周血的病原学检测结果(包括涂片镜检、培养、隐球菌抗原、布氏杆菌凝集试验、G试验、GM试验、结核相关的geneXpert检测、基于FilmArray多病原筛查检测和脑脊液mNGS等)均为阴性。6月8日在病房内取脑组织穿刺引流液,涂片镜检同时可见较多革兰阴性(G<sup>-</sup>)杆菌和革兰阳性球菌(G<sup>+</sup>),未见真菌、奴卡菌、隐球菌及抗酸杆菌;6月9日,脑组织穿刺引流液mNGS结果报告为两种常见口腔定植微生物:嗜沫凝聚杆菌(序列数:113973)和中间型链球菌(序列数:41691)。追问病史,患者今年1月存在拔牙史,目前下颌中切牙缺如,发病前存在口周针刺感,诊断为牙源性感染可能。6月13日,脓肿穿刺引流液培养结果为中间链球菌,抗生素调整为头孢曲松(2 g,q12h)联合左氧氟沙星(0.5 g,qd)治疗,泼尼松(30 mg,qd,每3日减量10 mg)进一步减轻脑水肿。07-28动态复查头增强MRI/脑干薄扫增强MRI可见病灶范围较前略有缩小,周围水肿吸收,患者神经功能持续康复,目前生活可自理,言语、肢体运动及协调性均明显改善,仅遗留右侧肢体偶有轻度麻木感。7月29日,患者带药出院。

**结论** 本文介绍了1例通过mNGS鉴定的由嗜沫凝聚杆菌和中间链球菌混合感染引起的少见脑干脓肿病例。从本病例诊治经验,脑脓肿起病急,进展快速,抗菌药物治疗周期长(头孢曲松足量治疗5周以上),所以应该借助mNGS等无需预先假设的病原体筛查手段尽早发现潜在病原体,并针对性治疗,缩短患者病程,改善患者预后。对既往曾有牙科侵入操作、口腔感染的患者,需高度警惕发生脑脓肿的可能性。

## 病例报告·分子诊断进展及应用·

# FGG 基因 Ala315Gly 错义突变导致遗传性异常纤维蛋白原血症的家系分析

赵而玉<sup>1</sup> 李玉杰<sup>1</sup> 于婷<sup>2</sup> 张燕<sup>1</sup> 叶荃<sup>1</sup> 龙云霞<sup>1</sup> 马晓云<sup>1</sup> 王晓燕<sup>1</sup>

<sup>1</sup>同济大学附属东方医院胶州医院;<sup>2</sup>青岛市市立医院东部院区

**目的** 对1个FGG基因Ala315Gly错义突变导致的遗传性异常纤维蛋白原血症家系进行表型和基因突变分析,探讨该错义突变与遗传性异常纤维蛋白原血症的相关性。

**方法** 收集2021年12月到同济大学附属东方医院胶州医院就诊的先证者临床资料及其家系成员(共3代8人),采用德国BE.SN018014-00032血凝仪检测凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、血浆纤维蛋白原活性(Fg:C)和纤维蛋白(原)降解产物(FDPs);采用美国Beckman AU5800全自动生化分析仪进行纤维蛋白原抗原(Fg:Ag)和D-二聚体(D-D)含量的检测;先证者Fg的FGA、FGB和FGG基因所有外显子和侧翼序列采用DNA直接测序法;突变位点采用反向测序予以验证,家系成员相应的突变位点也进行一代测序检测;突变位点基因的保守性分析使用ClustalX-2.1-win软件,突变位点蛋白质功能的潜在影响预测使用Mutation taster和Polyphen-2在线生物信息学软件,突变前后蛋白质空间结构及分子间作用力的分析使用AlphaFold2和PyMOL软件。

**结果** 先证者Fg:C为0.97 g/L,结果降低;其母亲、小姨、外公Fg:C的结果均降低,与先症者类似;除母亲TT延长外,先证者及家系其他人员PT、APTT、TT、Fg:Ag、FDPs、D-D均在正常范围内。与健康对照相比,先证者及其母亲、小姨、外公凝血酶诱导的纤维蛋白最大聚集率和聚集曲线斜率显著降低。DNA直接测序法结果提示,先证者为FGG(4q311NM\_000509.4)基因 exon8:c.944C>G:p.(Ala315Gly)错义突变、杂合突变。家系成员相应突变位点一代测序显示,先症者母亲、小姨、外公均为Ala315Gly杂合子。A315位点在同源物种间高度保守;生物信息学软件预测Ala315Gly突变影响Fg的聚集功能;蛋白质模型分析表明,A315与周围疏水氨基酸W395、T397、F316、A367形成疏水相互作用,A315G突变后破坏了全部疏水相互作用,且侧链缩短。

**结论** 纤维蛋白原c.944C>G错义突变导致其氨基酸周围失去疏水相互作用且侧链缩短,降低了空间结构的稳定性,可能导致遗传性异常纤维蛋白原血症的发生。

# TUBB1 新发突变相关的巨血小板减少症 1 例并文献复习

高杰 安子怡 杨一平 郝冀洪  
河北医科大学第二医院检验科

遗传性血小板减少症(hereditary thrombocytopenia, HT)是一类由基因突变引起的巨核细胞和(或)血小板结构功能改变所致的罕见疾病,巨血小板减少症是其中研究比较多的一类。TUBB1 相关的遗传性巨血小板减少症(TUBB1-RD)是一种少见的常染色体显性遗传性疾病(AD),以不同程度血小板减少和出血为主要特征,但是大多数患者临床症状不典型。本研究报道 1 例 TUBB1-RD,临床工作者在遇到类似的患者时,应考虑有遗传性血小板减少症的可能,必要时进行相关基因检测,精准诊断,以免造成误诊和漏诊,防止误诊误治。

患者男,22岁。因间断性鼻出血来我院就诊,血常规检查发现血小板计数  $66 \times 10^9/L$  ( $125 \sim 350 \times 10^9/L$ ),血小板分布宽度 17.70 fl ( $11.60 \sim 16.50$  fl),血小板体积 11.90 fl ( $7.40 \sim 11.00$  fl),血小板压积 0.08% ( $0.09 \sim 0.30\%$ )。外周血细胞形态学检查发现巨大血小板。凝血功能检查发现除纤维蛋白原降低 ( $2.08$  g/L,参考范围  $2.38 \sim 4.96$  g/L),其他均正常。患者肝、肾功能、免疫风湿检查及抗核抗体检查均正常。骨髓细胞形态学检查发现骨髓有核细胞增生活跃,粒系以中、晚期粒细胞为主;红系增生,以中、晚幼红细胞居多,成熟红细胞大小形态无明显变化;巨核细胞 18 只,其中幼稚型 4%,颗粒型 56%,产板型 40%;可见成堆血小板及大血小板。结合患者临床表现和实验室检查,考虑遗传性巨血小板减少症。在患者知情同意下,对其进行血小板减少相关基因的靶向测序,证实患者 20 号染色体上的 TUBB1 基因外显子 4 上发生了 c.472\_474del GAG (p.E158del) 的突变,为杂合突变。Pubmed、Medline、知网、维普等国内外数据库未有该位点的相关性报道,该突变为新发突变。通过 EIGEN、BayesDel addAF 等生物信息学分析的方法,推测该位点的新发突变可能具有致病性。

## 病例报告·分子诊断进展及应用·

# SRC 基因相关性血小板减少家系 1 例 附文献复习

安子怡 杨一平 高杰 郝冀洪  
河北医科大学第二医院检验科

SRC 相关性血小板减少症(SRC-RT)是一种罕见的常染色体显性遗传病,以血小板减少、巨大血小板及血小板功能受损为主要特征临床易误诊为血小板减少性紫癜。该病是由 SRC 基因外显子上的杂合突变引起。我们在临床发现了一个 SRC-RT 家系,两姐妹均有间断皮肤出血点、瘀斑、鼻出血及月经量大等临床表现,经 Genebank 查证为新发突变,确诊为 SRC-RT,现对其进行报道并进行文献复习,提高临床对少见遗传性血小板减少症的认识,提高诊断水平。

先证者,女,10岁,由于月经初潮量大,经行不止就诊。既往史:先证者出生后不久即发现血小板减少,面部皮肤出现少量针尖大小出血点,未予检查及治疗。3个月时,查血常规示血小板减少,于当地医院行骨穿等各项检查诊断为原发免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)予丙球、激素静脉治疗后监测患儿血小板上升不满意,出院后改为口服激素治疗,并缓慢减量至停。此后患儿未再正规治疗,间断有皮肤出血点、瘀斑及鼻出血,无呕血便血,每年予全血输注支持治疗 1-2 次。体格检查:贫血貌,皮肤散在淤点瘀斑,皮肤黏膜无黄染,周身浅表淋巴结未触及肿大。实验室检查结果见表 1,根据患者临床表现和实验室检查考虑为先天性巨大血小板减少症。对其家系调查发现其妹有类似病史,生后 6 d 查血小板  $68 \times 10^9/L$ ,无明显症状,未予检查及治疗,间断鼻出血,压迫后可止血,磕碰后可出现皮肤淤点瘀斑,间断复查血常规,血小板最低达 0,最高可至正常。月经来潮后月经量多。

结合病史、家族史及实验室检查,考虑为遗传性巨大血小板减少症。在家长知情同意后,进行二代测序分析,发现先证者及其妹第 20 号染色体 SRC 基因外显子 6 发生了 c.449+10G>A (splicing) 杂合突变,经 Sanger 测序验证了该基因位点上的杂合变异,确诊为 SRC-RT。

## 病例报告·分子诊断进展及应用·

# ctDNA 用于未知原发病灶脑转移瘤患者的 诊断及靶向治疗的病例报道

江佳佳 卜暉 杨伊 尹梓瞳 何俊璞 陈雪 张真源  
河北医科大学第二医院神经内科

脑转移瘤是最多发的颅内肿瘤,脑转移瘤最常见的来源为肺、乳腺和皮肤(黑色素瘤)。较少见的是来自结肠、肾脏、前列腺、睾丸、卵巢、肉瘤。脑转移瘤的诊断和治疗一直是临床实践中的一大挑战。目前主要依赖影像学和组织活检,当遇到无法进行组织活检或已保存的组织切片基因分析时,液体活检就显得愈加重要。液体活检的出现为患者提供了获取基因谱的新方法,改善了传统组织活检的诸多局限性,如无法克服肿瘤异质性、侵入性操作风险、样品制备误差等,在肿瘤诊断、筛查及预后等方面具有巨大潜力。循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)是在血液中循环的肿瘤衍生的片段 DNA,已被证实含有肿瘤的基因组改变信息,并已被用于监测肿瘤的进展和对治疗的反应。对于脑转移瘤,脑脊液中循环肿瘤 DNA(ctDNA)含量更高,更能反映肿瘤特征。本研究报道 1 例 ctDNA 协助诊断为 EGFR 阳性非小细胞肺癌颅内多发转移的患者。

患者男,68 岁。最初被诊断为多发占位待查,多发脑转移。PET/CT 示:横膈上下(以膈上为著)多发高代谢淋巴结;第 3 胸椎棘突后方软组织高代谢灶;左肺下叶外基底段及右肺下叶后基底段稍高代谢结节;双肾上腺增粗伴高代谢;全身多发高代谢灶;扫面范围内双侧小脑半球多发高代谢灶;直肠近直乙交界处及直肠末端高代谢灶。然而,在住院治疗期间寻找原发病灶成为一大问题,为排除感染性疾病及脑囊虫病,外送脑脊液二代测序结果示:未检出病原微生物。外送血囊虫相关抗体检测结果示:阴性。大肠镜病理结果回报:(降结肠,活检)黏膜肌间及脉管内可见癌细胞团,首先考虑转移。结合患者影像学,考虑不能除外肺部来源转移,而肺部小结节病理活检较为困难,头颅 MR 影像学提示为特殊类型囊性转移,穿刺活检难度较大。因此决定外送(血+脑脊液+肠病理切片)肿瘤相关基因,检测结果示:EGFR p.A767\_V769dup 第 20 外显子非移码插入突变,提示肺来源可能性大。至此,找到了原发肿瘤为肺来源的非小细胞肺癌,并找到了合适患者的靶向药物甲磺酸阿美替尼。ctDNA 分析可以更好地捕捉患者原发肿瘤,并有助于患者的诊断和治疗,为患者提供一种新的非侵入性的肿瘤诊断方法,使患者能够得到精准的个体化治疗。

## 病例报告·分子诊断进展及应用·

## 产前复杂X染色体嵌合型特纳综合征1例

朱重阳 刘灵

郑州大学第三附属医院(河南省妇幼保健院)产前诊断中心

孕妇25岁,因“无创产前检测提示性染色体偏多”就诊进行羊膜腔穿刺。

羊水染色体核型检测提示:胎儿核型为45,X[64]/46,X,+mar1[13]/46,X,+mar2[3];染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)结果提示:胎儿性染色体 Xp22.33p21.1和Xq22.2q28区域缺失, Xp21.1p11.1区域2.515Mb嵌合缺失, Xq11.1q21.2区域2.235Mb嵌合缺失, Xq21.2q22.2区域1.798Mb嵌合缺失;荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)结果显示:nuc ish(DXZ1x1, DYZ3x0)[52/100]/(DXZ1x2, DYZ3x0)[48/100]。染色体核型与CMA、FISH技术的联合运用,明确了胎儿性染色体的异常情况,为临床遗传咨询和妊娠结局的选择提供参考信息。

## 病例报告·分子诊断进展及应用·

# *Mycoplasma hominis* meningitis diagnosed by metagenomic next-generation sequencing in a preterm newborn: a case report and literature review

车光璐

四川大学华西第二医院检验科

*Mycoplasma hominis* is mainly colonized in genital tract and vertically transmitted to newborns, however it rarely causes neonatal meningitis. We reported a case of *M. hominis* meningitis in a premature infant. She was admitted to our hospital for treatment after 6 days of repeated fever. After admission, cerebrospinal fluid (CSF) repeatedly analysis showed that leukocytes and protein in CSF increased a lot and glucose decreased, but there was no growth in repeatedly conventional CSF culture. The patient was diagnosed as *M. hominis* meningitis by mNGS. The antibiotic therapy of the neonate was meropenem, vancomycin and ampicillin against bacterial infection, azithromycin against mycoplasma infection. Finally, the child was cured and discharged from the hospital and followed up regularly in the neurology clinic. mNGS may be a promising and effective diagnostic technique for identifying uncommon pathogens meningitis in patients with meningitis symptoms and signs without microbial growth in routine CSF culture.

## 病例报告·分子诊断技术质量控制·

## 关于1例嗜肺军团菌病的案例分析

王子霞<sup>1</sup> 高思懿<sup>2</sup> 顾兵<sup>1</sup>

<sup>1</sup>广东省人民医院检验科;<sup>2</sup>广州南方学院

**目的** 广东省人民医院于2022年9月收治1例因“呼吸困难2 d,加重2 h”入院的患者。患者有心脏病手术史,免疫抑制剂基础。为对患者快速确诊,进行实验室检查。

**方法** 入院后查体,体温:36.5℃、双肺呼吸音稍低,可闻及明显湿啰音,心律不齐、白细胞计数升高 $19.03\times 10^9/L$ 、血钠偏低127 mmol/L、降钙素原(PCT)检测:42.55 ng/L。CT结果提示:双肺多发感染,双肺间质性改变。经过实验室多种分子检测方法学验证,包括恒温扩增法、病原宏基因测序法、数字PCR,就诊2 d,快速捕获病原体嗜肺军团菌。

**结果** 分子检测方法学辅助临床快速诊断患者为嗜肺军团菌病。

**结论** 分子检测利于病原学快速诊断,临床多种分子检查手段的开展及应用,有助于方法学的准确性、可靠性。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

# 宏基因测序技术辅助肺部低序列马尔尼菲篮状菌感染检出1例

袁凯旋

广东省人民医院检验科

**目的** 篮状菌病(talaromycosis)是由马尔尼菲篮状菌(*talaromyces marneffeii*)引起的一种深部真菌病,该菌多感染细胞免疫功能缺陷的患者,但也可感染健康者。本文报道一例既往有糖尿病,类风湿关节炎使用免疫抑制剂病史的患者感染马尔尼菲篮状菌的病例。

**方法** 患者男,56岁,因最近新发肺部病灶入院。入院后胸部CT考虑真菌感染,常规培养未检出病原体,遂行肺穿刺术送穿刺物培养、宏基因组学测序(mNGS)及病理检查。

**结果** 宏基因组检出马尔尼菲篮状菌,但序列数低。临床医生结合宏基因组检查及疑难病例讨论,肺部CT影像学、患者糖尿病基础病、类风湿关节炎使用免疫抑制剂病史综合考虑真菌感染可能性大。给予伏立康唑抗感染治疗1个月余,患者情况好转。

**结论** 马尔尼菲篮状菌病临床鉴别较难,mNGS将有助于临床确认、排除或发现潜在马尔尼菲篮状菌感染,即使在检测报告中读长数较低,也需结合临床信息综合考虑其为致病菌的可能。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

# 宏基因组测序辅助诺卡菌合并其他感染病原体检出2例

袁凯旋

广东省人民医院检验科

**目的** 诺卡菌病是诺卡菌属引起的少见的细菌感染可引起免疫低下人群合并其它病原体的感染,诺卡菌混合感染临床表现缺乏特异性、传统培养时间长,需避免漏检。本文报道2例经宏基因组学二代测序技术(mNGS)辅助检出的诺卡菌合并其它病原体感染的病例。

**方法** 例1:患者男,27岁。经肾移植后发热3 d,通过血 mNGS 检出皮疽诺卡菌合并耶氏肺孢子菌感染。例2:48岁急性白血病男性患者,胸部CT考虑继发性肺结核基础上合并曲霉菌感染伴曲霉球形成,完善检查送检肺泡灌洗液 mNGS 辅助检出皮疽诺卡菌合并烟曲霉感染。

**结果** 例1患者经复方磺胺甲噁唑联合泊沙康唑抗感染治疗后症状好转,随访一般情况良好。例2患者经复方磺胺甲噁唑联合伏立康唑治疗后好转,随访情况良好。

**结论** 诺卡菌的混合感染易漏检,当明确诺卡菌感染并进行针对性治疗后,患者无明显好转或出现病情反复,要考虑混合感染可能,这时可将mNGS和传统方法相结合,避免诺卡菌、耶氏肺孢子菌、曲霉菌的漏检,从而避免抗生素过度使用,可辅助发现疑难或少见的病原体。

# 原发性纤毛不动综合征2例病例报告 及文献复习

陈世勇 莫琇琇 王娜 陈帅帅  
浙江省台州医院检验科

**目的** 提高对原发性不动纤毛综合征的认识和诊断水平,以及基因检测明确病因对于疾病的管理、治疗和预后的意义。

**方法** 对2019年12月和2021年2月确诊2例原发性不动纤毛综合征(PCD)的临床资料进行分析以及相关的文献复习。

**结果** 2例患者在临床表现上均存在多年反复感染,CT胸部平扫均可见支气管扩张和内脏反位,两名患者有不孕不育或弱精子症,均存在与纤毛运动相关的基因突变。追问患者家族史发现病例2的父母为近亲结婚。

**结论** 对于反复出现上下呼吸道感染症状或符合原发性纤毛运动障碍的临床表现的患者,应考虑存在原发性纤毛运动障碍可能,应通过基因检测明确病因,有助于PCD患者诊疗和管理。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

## 2M型血管性血友病引起的出血性黄体1例 并文献复习

应潇颖

浙江省台州医院检验科

**目的** 探讨2 M型遗传性血管性血友病(VWD)引起的出血性黄体(HCL)的临床诊治要点。

**方法** 回顾性分析1例以HCL为表现的2M型VWD的临床资料,并回顾分析相关文献。采集患者及其家系成员的外周血,用Sanger测序法分析患者VWF基因所有外显子、侧翼序列及5'和3'非翻译区,寻找突变位点,对其他家系成员相同位点进行突变检测。

**结果** 患者为31岁女性,临床以HCL为表现,血管性血友病因子抗原(VWF:Ag)和FVIII因子活性(FVIII:C)分别为32%和53%,基因检测结果显示患者及其父亲VWF基因存在c.4120C>T杂合错义变异(p.Arg1374Cys)。患者卵巢囊肿剔除术后,切口持续出血,经止血和替代治疗后,凝血指标改善,病情有所好转,出院后联合多学科门诊对患者进行管理随访,定期VWF:Ag、FVIII:C监测,未再发HCL。

**结论** 2M型VWD引起的HCL临床罕见,影像学检查、凝血指标筛查、分子诊断以及家族史、抗凝史都有助于诊断,治疗首选替代治疗,口服避孕药可以有效预防HCL。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

# 抗 Yo 抗体阳性的帕金森综合征 1 例分析及文献复习

时丽丽

首都医科大学宣武医院检验科

神经系统副肿瘤神经综合征(paraneoplastic neurological syndrome, PNS)是一类与肿瘤相关的影响中枢神经系统和外周神经肌肉系统的综合征。包括抗 Hu 抗体、抗 Yo 抗体、抗 Ri 抗体、抗脑衰蛋白反应介导蛋白(collapsin response mediator protein, CRMP5)抗体、抗 Aamphiphysin 抗体在内的特异性抗体检测可辅助诊断副肿瘤综合征。副肿瘤性小脑变性(paraneoplastic cerebellar degeneration, PCD)是一种罕见的神经系统副肿瘤神经综合征,与抗 Yo 抗体阳性相关,其患者大多数为患宫颈内膜癌和乳腺癌的女性患者。PCD 的临床表现为眼球震颤、构音障碍以及躯干和肢体共济失调。抗 Yo 抗体阳性在男性中极为罕见,本研究报道 1 例抗 Yo 抗体阳性男性患者。患者男,68 岁。主因“记忆力下降 4 年,尿频尿急 3 年,行走缓慢 1 年”入院。3 个月前无明显诱因出现尿失禁,双下肢无力,就诊于当地医院,诊断为急性脑梗死。输液治疗后,症状未见明显改善。既往史:陈旧性脑梗死,膀胱肿瘤术后。个人史及家族史无特殊。入院查体:神清,言语清晰,用词稍贫乏。阅读可,面部表情可,记忆力差,四肢肌力 V 级,四肢肌力稍增高,格拉斯哥昏迷评分(Glasgow Coma Scale, GCS)为 15 分,美国国立卫生研究院卒中量表(the National Institute of Health Stroke Scale, NIHSS)评分为 0 分,饮水试验 I 级,余正常。入院后行头颅磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)可见广泛皮质下脑白质损害,诊断为帕金森综合征。肝胆胰脾肾超声未见异常,颅内动脉超声未见异常。颈动脉超声可见动脉斑块。肺电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查示右上肺小结节。前列腺平扫+增强 MRI 示前列腺重度增生,不排除恶变,建议完善前列腺增强 MRI。脑脊液寡克隆检测、TORCH[TO 即刚地弓形虫(toxoplasma, TOX);R 即风疹病毒(rubellavirus, RV),C 即巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV),H 即单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)]检测、隐球菌检测、结核分枝杆菌检测均为阴性。脑脊液 Cl<sup>-</sup>和免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)A 水平升高。血、脑脊液自身免疫性脑炎抗体(N-甲基-D-天冬氨酸受体)、神经脊髓炎抗体(水通道蛋白 4)均为阴性,抗核抗体谱检测均为阴性,副肿瘤综合征相关抗体(抗 Hu 抗体、抗 Ri 抗体、抗 Ma2 抗体、抗 CRMP5 抗体)均为阴性。脑脊液抗 Yo 抗体为阴性,血清抗 Yo 抗体强阳性。结合临床特征,诊断为 PNS。生化项目、凝血项目、自身免疫性疾病相关筛查项目均未见明显异常。患者及家属拒绝进一步治疗,要求出院。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

## 肺炎克雷伯菌肝脓肿 1 例

师志云

宁夏医科大学总医院医学实验中心

肝脓肿以前是一种多种微生物感染。目前,肺炎克雷伯菌引起的肝脓肿报道越来越多,主要发生在东南亚,原因不明。肝脓肿是肝实质的严重感染,并与显著的发病率和死亡率相关。一种新的肺炎克雷伯菌高毒变种的出现正在研究中,该变种可在亚洲人群中引起严重感染。本研究报道 1 例反复胆道感染并发肝脓肿的亚洲男性患者病例。

患者男,73岁。于2017年8月24日因腹痛、黄疸、发热,就诊我院,初步诊断为梗阻性胆管炎,对患者进行引流和抗生素抗感染处理,在当前就诊1年之前,患者因胆管癌行ERCP手术,手术后未出现明显并发症。患者于2017年9月24日因腹胀再次就诊我院,对该患者进行禁饮食胃肠减压、胃管引流、灌肠和预防行使用头孢类抗生素对症处理,情况好转后出院。4个月后,患者出现无明显诱因的腹痛、腹胀,腹痛为持续性绞痛。腹部检查显示肝肿大,距离右肋缘2cm,无压痛;腹部膨隆,其他全身检查无明显异常。全血细胞计数显示白细胞计数为 $6.63 \times 10^9/L$ ,以中性粒细胞为主,中性粒细胞相对值88.1%,淋巴细胞相对值5.1%。活化部分凝血酶原时间39.6s,活化部分凝血酶原时间比值1.45,纤维蛋白原定量6.062g/L,D-二聚体定量7.250。降钙素原检查: $2 \leq PCT < 10$ 。尿素为14.23mmol/L,肌酐为 $139.2 \mu\text{mol/L}$ ,都有升高。空腹血糖水平为7.85mmol/L。白蛋白、球蛋白和白球比都有不同程度的下降。CT检查示肝左叶不均匀低密度灶,边界欠清,增强后壁及分隔明显强化,患者右肺部也存在散在炎症。介入放射学引导脓肿引流并对引流物进行细菌培养加药敏实验,并使用广谱抗生素两周进行治疗。10d后患者肝脓肿情况好转,精神状态好转。肺炎克雷伯菌培养呈阳性,对培养出的菌株通过临床定义、毒力表型和毒力基因实验鉴定为高毒力肺炎克雷伯菌(hvKP),且对超广谱 $\beta$ 内酰胺酶耐药。该患者为肺炎克雷伯菌肝脓肿,对患者进行肺炎克雷伯菌肝脓肿的长期抗生素(7周)治疗。经过引流与抗感染治疗患者肝脓肿逐渐消失。1个月后患者因发热入院复查,CT示肝脓肿消失,但出现多发肝囊肿、胸腔积液和肺部炎症,给予抗生素抗感染治疗和胸腔闭式引流处理,影像学观察好转后出院。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

# 新发17q12微缺失导致的青少年发病的成人型糖尿病5型1例

陈帅帅 卢扬 杜菊萍 王娜 沈波 扬远行  
台州恩泽医疗中心(集团)浙江省台州医院检验科

17q12缺失综合征是由17号染色体长臂间质微缺失引起的染色体异常。本研究旨在介绍1例由17q12缺失引起的青少年发病的成人型糖尿病5型(MODY5)患者,以进一步明确该综合征的表型。先证者为女性,24岁,表现为青少年发病的糖尿病,同时具有高尿酸血症、痛风性关节炎、低镁血症病史,B超显示两肾囊肿,父母均没有相关症状。全外显子检测发现ABCC8基因c.3163G>A(p.Glu1055Lys)变异,为父源;进一步通过染色体拷贝数变异(CNV-Seq)检测到17q12区域1.42 Mb的大片段缺失,为新发变异。此外,本研究通过对中国人群中的17q12缺失综合征进行了汇总。17q12缺失综合征引起多个基因单倍体功能不全,包括HNF1B,LHX1和ACACA等,与肾脏及泌尿生殖系统异常、青少年发病的成人型糖尿病和神经发育障碍有关。通过CNV检测有助于明确不明原因糖尿病及肾脏异常患者的病因。

## 病例报告·多学科合作经验分享·

## The effect of low-dose abatacept on CTLA4 haploinsufficiency with severe pneumonia

杜菊萍 陈帅帅 王娜 潘绍标 沈波  
台州恩泽医疗中心(集团)浙江省台州医院检验科

Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 haploinsufficiency is a disease of immune dysregulation with autoimmunity, immunodeficiency, and lymphoproliferation involving multiple systems. We report a 16-year-old girl who was characterized by recurrent pulmonary infection, lymphocytic interstitial lung disease, hepatosplenomegaly, failure to thrive and diarrhea due to a de novo CTLA4 mutation. A low dose of abatacept (a CTLA4-immunoglobulin fusion molecule) treatment was initiated every 2 weeks for 3 months and every week for 1 month, resulting in a mild improvement of the patient's clinical symptoms.

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 膀胱癌分子诊断技术发展与应用

聂震宇

中南大学湘雅医学院附属海口医院中心实验室

膀胱癌是泌尿系统最为常见的肿瘤,不仅具有较高的病死率和复发率,且严重影响患者的生活质量。分子诊断技术自从出现以来经过多年的发展,已经成为一类技术、设备相对独立的检验学科,其所服务的学科也变得越来越广泛。利用分子诊断技术可通过检测膀胱癌细胞的分子分型、基因突变、染色体重排等信息为患者的诊断、分层、预后和治疗提供依据。本文综述了分子诊断技术简要发展历程及应用范围,并根据近年来膀胱癌分子诊断技术应用的情况和前景进行综述,总结了该技术的优缺点,为临床与基础科研人员选择适当的检测技术提供了理论依据与指导。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 突触囊泡蛋白2A与神经系统相关疾病的研究进展

张晓敏

首都医科大学宣武医院检验科

突触囊泡蛋白2A(synaptic vesicle protein 2A,SV2A)是突触囊泡上的一种重要的膜蛋白,它对神经递质的传递,兴奋性和抑制性平衡的调节,神经毒素等物质运输和转运至关重要。通过查阅文献发现SV2A与多种神经系统或精神疾病关系密切。本文主要综述了SV2A与癫痫、阿尔茨海默病、帕金森病以及精神分裂症等神经系统相关疾病的研究进展,期望对今后神经系统疾病的研究有一定启示作用。

## 综述·分子诊断进展及应用·

# 阿尔茨海默病中蛋白质相互作用对 $\beta$ -分泌酶的调节机制

刘聪聪

首都医科大学宣武医院检验科

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种慢性神经退行性疾病,目前尚无有效的治疗方案。AD的发病机制十分复杂,学说众多,目前较为公认的仍然是淀粉样蛋白级联假说,该学说认为淀粉样斑块在脑组织的沉积是AD发病的关键病理机制。 $\beta$ -分泌酶( $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1, BACE1)是淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)淀粉样降解途径中的限速酶,其降解产物 $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid protein, A $\beta$ )是淀粉样斑块的主要成分。在AD患者大脑和体液中BACE1浓度和活性增加,是引起AD的重要因素,探究BACE1的影响因素不仅对于抑制A $\beta$ 的形成至关重要,而且对于开发AD的新的治疗靶点也有重要意义。蛋白质之间的相互作用在蛋白质参与的各种生物学过程中发挥着重要的作用,因而被广泛研究,BACE1的相互作用蛋白可以通过直接结合、间接结合、参与各种细胞信号转导通路等方式直接或间接的在BACE1的转录、翻译、修饰、胞内运输等各个环节对BACE1进行调节,从而影响AD的发生与疾病的进程。本文将从BACE1的生物学功能以及相互作用蛋白对BACE1转录、翻译、细胞内转运以及活性与降解的调节作用进行综述,探讨BACE1生理功能与活性的影响因素以及BACE1互作蛋白调控BACE1的作用机制,旨在为AD的防治以及药物研发提供借鉴。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 星形胶质细胞嘌呤能信号通路在癫痫发病中的作用

路尧

首都医科大学宣武医院检验科

癫痫的病理特征是大脑神经元突发性、高度同步化异常放电,导致短暂性大脑功能障碍。其发病机制非常复杂,至今尚未明确,而脑内兴奋-抑制失衡导致神经元异常同步放电是癫痫反复发作的基础。越来越多的证据表明,星形胶质细胞向神经元传递的异常信号在神经网络的超兴奋性中起重要作用。而嘌呤能信号在星形胶质细胞与神经元以及星形胶质细胞与星形胶质细胞的相互作用中起着核心作用,有关嘌呤能信号通路中的功能障碍已被报道在包括癫痫在内的各种中枢神经系统疾病中。本文将首先讨论星形胶质细胞生理功能与癫痫发生的关系;随后将更详细地回顾最新的研究证据,表明星形胶质细胞嘌呤能信号的失调积极地促成癫痫中异常神经元活动的出现。期望从星形胶质细胞嘌呤能信号通路在癫痫发病的作用上发现更多有力证据,为癫痫的新药开发和治疗靶点选择提供新的方向。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## APP胞内转运及其影响因素在阿尔茨海默病发生发展机制研究中的进展

王小灵

首都医科大学宣武医院检验科

$\beta$ 淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid peptide, A $\beta$ )在脑组织中沉积形成的淀粉样斑块是AD的主要病理机制之一。 $\beta$ 淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经淀粉样降解产生A $\beta$ 。APP在内质网生成后的胞内转运极其复杂,其影响因素较多,本文综述了APP胞内转运路径,重点描述了糖基化、磷酸化、泛素化、脂质化以及结合蛋白对APP胞内转运的影响,意在从翻译后修饰、结合蛋白两个视角阐释APP胞内转运及其降解调节,以期进一步明晰AD的发生发展机制,并为AD干预或/和治疗新策略提供思路。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 阿尔茨海默病血液蛋白类生物标志物的研究进展

王小灵

首都医科大学宣武医院检验科

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是引起老年性痴呆症最常见的病因,多发生于老年期和老年前期,是一种以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的神经系统疾病,其早期诊断对于延缓病情、改善预后具有十分重要的意义。近年来,血液生物标志物检测在AD的诊断中取得了快速发展,相较于脑脊液,血液检测具有创伤小、易获取的优势,因此备受研究者青睐。本文对AD中研究较为广泛的血液标志物进行综述,以期对疾病的早期诊断、干预和治疗提供更加直接有效的证据。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## E3泛素连接酶在阿尔茨海默病中的作用机制研究进展

张晶晶

首都医科大学宣武医院检验科

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是发生于老年期常见的、以进行性认知功能障碍为特征的中枢神经系统退行性疾病。AD疾病进展缓慢,可从记忆减退发展至丧失身体机能,对家庭和社会造成极重的负担。AD患者脑内 $\beta$ -淀粉样蛋白和tau蛋白的异常聚集和沉积是AD典型的病理特征,而引起异常蛋白质聚集和沉积的原因之一可能是蛋白质生成和降解失衡。近几年,许多研究发现泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)在脑内蛋白质平衡方面起到重要作用。在UPS中,E3泛素连接酶又是其中数量、种类最多,调控机制最复杂的酶,能够参与调节多种AD相关蛋白,在AD等神经退行性疾病中起到非常重要的作用。本文就E3泛素连接酶在阿尔茨海默病中的作用进行综述,以期对理解阿尔茨海默病的发病机制提供新的研究思路。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 脑脊液生物标志物在阿尔茨海默病诊断中的价值

张晓敏

首都医科大学宣武医院检验科

阿尔茨海默病(AD)是一种老年期的神经退行性疾病,早期干预是目前延缓该病进展的唯一可靠手段。本文参阅AD诊断标准,汇总并分析了近年来各类AD生物标志物研究的代表性文献,分类评述了各类脑脊液标志物对AD诊断及鉴别诊断的效能。其中CSF A $\beta$ 42、A $\beta$ 42/A $\beta$ 40、T-tau、p-tau、A $\beta$ 42/p-tau、GAP-43、SNAP-25、NRGN、VILIP-1等对AD诊断、鉴别诊断均具有较大价值。CSF标志物可用于AD诊断及鉴别诊断,实验室应根据自身条件,选择适宜的AD CSF标志物。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## Canavan病及其致病基因 ASPA 的研究进展

张颖贞

首都医科大学宣武医院检验科

天冬氨酸酰化酶(ASPA)基因编码天冬氨酸酰化酶,该酶特异性地将N-乙酰基-L-天冬氨酸(NAA)水解为乙酸盐残基和游离天冬氨酸。ASPA存在于各种组织中,但主要存在于肾脏和大脑白质中,特别是在少突胶质细胞中。ASPA以常染色体隐性遗传方式遗传,是Canavan病(CD)的病因。CD通常在出生后的第一年出现海绵状脑白质营养不良和神经元功能进行性丧失,这通常导致早期死亡。CD患者可以通过脑磁共振波谱(MRS)和尿有机酸中NAA水平升高,培养成纤维细胞中缺乏ASPA酶活性以及鉴定ASPA基因突变来诊断。目前对ASPA基因的研究主要集中在对CD患者的突变分析,揭示了许多错义突变,缺失和插入。Canavan病目前没有有效的治疗方法;然而,基于病毒的基因转移有可能阻止或逆转这种致死疾病的进程。对ASPA基因及致病机制的研究可能将有助于发现Canavan病的有效治疗方法。文章对国内外关于该基因的结构、表达情况和生理功能以及Canavan病的研究进展进行了较为详细的综述。

## 综述·分子诊断进展及应用·

# 基于核酸比色检测沙门氏菌的诊断技术研究进展

凌佳继

四川大学华西第二医院检验科

水和食物相关的健康问题最近受到了很多关注,特别是食物中毒细菌,正成为对人类健康的严重威胁。目前,用于检测这些细菌的技术费时费力,为了克服这些挑战,提高沙门氏菌的检出效率。近年来开发出一系列适用于沙门氏菌检测的传感策略,其中比色传感策略最具吸引力,因为它为沙门氏菌的检测提供了简单、快速和准确的检测,本研究旨在综述核酸比色法检测沙门氏菌的研究进展。纳入文献通过使用比色法鉴定了来自不同物种的沙门氏菌,如伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、伤寒沙门氏菌和甲型副伤寒沙门氏菌,此外需要更多的研究来评估比色核酸在细菌检测中的敏感性和特异性,以及其在常规诊断中的潜力。本综述概述了斑疹伤寒和非斑疹伤寒疾病诊断试验的表现,使用 $2.56\text{ CFU/ml}\sim 5\times 10^3\text{ CFU/ml}$ 的加标样品获得不同的LOD,检测到了不同的沙门氏菌,包括伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、伤寒沙门氏菌和副伤寒沙门氏杆菌等。大多数研究使用金纳米颗粒作为报告分子,为分析提供肉眼比色可见结果。核酸现在被用于更多的研究,因为它可以通过扩增方法提高测试的灵敏度。然而,与抗原检测相比,这种方法只能检测样本中的细菌抗原,限制了其诊断敏感性。该综述指出,缺乏使用这种比色核酸技术进行细菌检测来评估临床样本的研究,因此我们建议对临床细菌样本的检测进行更多的研究,而不是加标样本,这些研究中应包括LOD敏感性和特异性参数。

# 单颗粒散射在核酸检测中的应用

马军

郑州大学第三附属医院(河南省妇幼保健院)检验科

1. 背景:快速、灵敏、特异性检测核酸对于传染病防控至关重要。散射光,特别是瑞利散射光和拉曼散射光谱,在核酸检测方面具有比较广泛的应用。等离激元的瑞利散射光能够对周围微环境的变化做出灵敏响应。而表面增强拉曼技术充分利用“指纹图谱”分析优势,两者均可以实现对待测核酸的高特异性、高灵敏检测。本文对瑞利散射及表面增强拉曼散射在核酸检测中的检测原理、检测效率及应用侧重点进行综述,并对其应用前景进行展望。

2. 等离激元纳米探针及拉曼增强基底:金、银纳米颗粒具有特征性的单颗粒瑞利散射光,并且,不同大小、形状、组成成分的纳米颗粒对周围环境的变化具有不同响应。此外,金、银、铜等贵金属纳米材料可以产生很强的电磁场增强效果,可以作为优良的表面增强拉曼基底,并且,不同形貌、排列状态的纳米颗粒增强电磁场的效果不同。

3. 瑞利散射和表面增强拉曼技术在核酸检测中的应用:基于等离激元探针的单颗粒瑞利散射光可以构建多种核酸分析方法,包括颗粒计数、等离激元探针耦合、等离激元形貌变化、等离激元微环境折光指数变化等。表面增强拉曼技术可以高特异性、超灵敏、快速、无损光学检测核酸。表面增强拉曼技术分析核酸的方法主要有直接法和间接法,其中直接法是利用待测核酸自身的特性,间接法则需要标记探针。表面增强拉曼散射与单颗粒瑞利散射联合检测核酸,可以协同两种技术优势,获取更多待检测物的生物信息,避免了单一模式的检测误差。

4. 总结:本文对瑞利及表面增强拉曼散射在核酸检测中的最新研究进展,重点介绍了检测原理、检测效率及应用侧重点,并讨论了基于瑞利及表面增强拉曼散射的核酸检测技术有待进一步解决的关键问题及潜在的应用。

## 综述·分子诊断进展及应用·

# 核酸筛查中硬气膜实验室和移动方舱实验室的综合应用

李树洁

甘肃金域医学检验所有限公司基因室/实验诊断部

2019年12月以来,新型冠状病毒肺炎疫情在全球大范围蔓延,核酸检测在疫情防控工作中起关键作用。应对突发的大规模核酸筛查工作,在人员和设备有限的条件下,为提升核酸检测能力,硬气膜实验室和移动方舱实验室投入市场。本文从硬气膜实验室和移动方舱实验室的组织架构、实验室分区、人员和仪器配置、实验室的特点、产能及优势方面进行阐述,总结大规模核酸筛查下硬气膜实验室和移动方舱实验室的综合应用经验,通过多方协同,优化人员及仪器设备,持续创新抗疫方案,大大提升了新冠检测产能和效率。

## 综述·分子诊断进展及应用·

# 单细胞转录组测序技术在多发性骨髓瘤研究中的应用

孙玉莹 张娟 程宇 梁超 陈忠

北京海思特医学检验实验室有限公司科研平台

**目的** 多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种异质性非常强的恶性血液系统疾病。单细胞RNA测序(single-cell RNA-sequencing, scRNA-seq)在疾病中的应用表明单细胞数据在克服肿瘤异质性和治疗靶点选择上的有良好效用。本文对scRNA-seq在MM治疗靶点的研究进行综述。

**方法** 通过文献查找,整理和归纳scRNA-seq在MM研究中应用。

**结果** 多发性骨髓瘤是血液系统常见恶性肿瘤,发病率在血液系统恶性肿瘤居第2位。单细胞测序技术在单个细胞水平上,对基因组、转录组及表观基因组水平进行测序分析的技术。scRNA-seq能够在转录水平上检出混杂样品测序所无法得到的异质性信息,常用于肿瘤异质性、治疗靶点和疾病发生发展的相关研究。目前scRNA-seq技术应用在多发性骨髓瘤中研究较少。Cohen等通过对初诊MM和复发难治MM患者的研究,发现包括缺氧耐受、蛋白质折叠和线粒体呼吸的MM分子耐药新通路,其中肽基丙酰异构酶A(PPIA)是蛋白质折叠反应的中心酶,将成为耐药MM患者的潜在治疗新靶点。Rebecca Boiarsky等人对不同疾病阶段MM患者和健康供者的浆细胞(plasma cell, PC)进行研究,探索了肿瘤克隆内和不同克隆间异质性的遗传发展和分子机制。在骨髓瘤早期阶段异常细胞已经存在转录组改变,但在以往实验中由于骨髓瘤细胞含量占比少而导致某些改变未检测到甚至检测失误,比如在MGUS样本中CD27下调而非以往实验中发现的表达上调。在对PC的基因表达谱分解中发现15个与骨髓瘤转录相关的基因表达特征。Lijun Yao等人比较患者样本中肿瘤细胞和非肿瘤细胞之间的基因表达情况,发现了38个编码细胞表面蛋白和15个编码细胞内蛋白的MM标记基因。这些编码骨髓瘤相关表面蛋白的基因包含多个与信号转导和造血有关的基因,包括CD19、CD22、CD24等。在表面蛋白基因的相关性分析中发现三个高相关性基因群,且存在互斥表达基因,比如单个肿瘤很少同时表达CD40和SLAMF7。在非表面靶点基因中有11个基因在PC中相对于BM免疫群体特异性上调,包括MZB1、SSR4、DERL3等。

**结论** scRNA-seq技术克服MM发生早期异常浆细胞的比例低的问题,能较早发现MM的转录组改变和MM患者特异性转录变化,进而发现具有识别潜力的骨髓瘤相关抗原、治疗靶点,为开发治疗MM的精确医学方法奠定了基础。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## HBV RNA 检测在慢性乙型肝炎中的研究进展

王晋霞

长治医学院附属和平医院检验科

乙型肝炎病毒(HBV)在全球范围内流行,慢性HBV感染者大约7000万例,目前临床使用目前我们通常使用HBsAg、HBeAg、HBV DNA、ALT检测和肝病五项甚至八项指标综合来评估抗病毒疗效及肝炎分级诊断,但由于HBV DNA对抗病毒药物敏感,给药后HBV DNA可能会低于检测限,从而无法区分CHB的自然病程。与HBV DNA相比,HBV RNA在鉴别CHB的自然病程方面可作为一个新指标。因此本文就血清HBV RNA检测在慢性乙型肝炎(CHB)患者中的研究进展做一综述。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 男性尖锐湿疣与人乳头瘤病毒分型关系的研究进展

杨茜

甘肃金城医学检验所有限公司基因室/实验诊断部

尖锐湿疣是一种由人乳头瘤病毒(HPV)感染引起的以肛门、外生殖器部位增生性损害为主要表现的性传播疾病。HPV属于乳头多瘤空泡病毒科的乳头瘤空泡病毒,具有强嗜上皮性,感染后可致人类皮肤和黏膜多种良性和恶性病变,不同型别的HPV感染可导致不同的临床病变,研究显示,几乎99%的宫颈癌与HPV感染有关。低危型HPV是目前中国尖锐湿疣的主要感染类型,对于男性,HPV感染主要引起男性外生殖器和肛周疣,高危型HPV还可引起男性肛门癌、阴茎癌以及口腔癌等。临床约70%的尖锐湿疣患者可检测出HPV感染,低危型HPV6/11是与尖锐湿疣的发生密切相关的主要亚型,且尖锐湿疣患者中不仅存在HPV单一感染、双重感染,还存在多种类型的混合感染。目前,针对男性尖锐湿疣患者尿道黏膜脱落细胞HPV感染情况尤其是感染型别的研究较少,HPV检测是确诊男性尖锐湿疣唯一科学精准的方法,本研究通过整理分析男性尖锐湿疣与HPV感染型别的关系,以期为临床诊疗提供基础研究。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 临床检验组学模型在缺血性卒中诊断和溶栓预后中的研究进展

姜瑶

兰州大学第二医院检验科

缺血性卒中(ischemic stroke, IS)是由脑血管因素(包括狭窄、阻塞甚至闭塞等原因)导致的脑组织缺血坏死的一类疾病的总称。随着多组学时代的发展,检验组学(laboratory omics)和临床检验组学(clinlabomics)也应运而生,基于真实世界的检验大数据所构建的模型将有望应用于IS的诊疗。随着人工智能时代的快速发展,机器学习(machine learning, ML)在医学领域开始被逐渐应用,它具有模拟人的学习能力的特点,以获取最新的知识和技能。因此,本文将介绍检验组学和临床检验组学的理念,综述 ML 常用的算法,以及基于 ML 算法所构建的临床检验组学模型用于预警 IS 或预测 IS 的溶栓预后,以期在临床上为 IS 的诊疗提供可靠的依据。

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 遗传病产前检测技术进展及挑战

罗文波

中国医学科学院北京协和医院产科中心实验室

实验技术的快速发展为产前遗传病检测提供技术可能。与产后遗传病检测相比,产前遗传病检测往往缺乏相应的疾病表型,因而对实验室检测能力表现出更高度的依赖。针对不同的临床情况如何选择相应的实验室检测技术,如何评估其方法性能及报告准确性等,这些问题都为检测技术在产前遗传病临床检测中的应用带来挑战。本文将阐述产前遗传病检测技术的发展、目前常用的检测方法应用范围及其优缺点、产前检测面对的问题挑战、以及未来发展的可能趋势及展望。

## 综述·分子诊断进展及应用·

# 数字PCR技术在核酸检测参考测量程序应用研究进展

魏亚丽 周睿 王清涛

首都医科大学附属北京朝阳医院检验科

参考测量体系的建立是常规方法检测结果实现量值溯源的重要途径。数字PCR技术(dPCR)可以在不需要校准的情况下对核酸目标序列进行可靠、准确的定量,得到绝对拷贝数和核酸含量,被认为是可溯源至国际单位制(SI)的绝对定量方法。本文综述了数字PCR优势及影响因素,数字PCR技术在核酸定量参考测量程序医学领域的最新应用进展以及数字PCR作为高级别、高精量的定量定值方法定量核酸参考物质的应用。对核酸进行准确且可溯源性测量可提供可靠的结果,为医疗决策提供支持。

# 基于RNA的等温扩增技术及其在病原体感染领域的临床应用

滕洁

四川大学华西第二医院医学检验科

It is very important to detect pathogenic bacteria, viruses or fungi in a patient's secretion or body fluid samples as soon as possible to determine the patient's recovery. For a certain pathogen, the amount of ribosomal RNA copies contained is often tens of thousands of times higher than the amount of DNA copies, so the detection of RNA has higher sensitivity. In addition, whether for DNA pathogens or RNA pathogens, the direct detection of ribonucleic acid transcribed by pathogens in vivo can distinguish active infection or past infection, can eliminate the influence of residual DNA of pathogens that have died in the lesions, and can also avoid excessive medical interventions for transient infections, which is of great significance in the field of infectious pathogen detection. Isothermal amplification technology has played important roles in molecular diagnosis because of its significant advantages. Highly sensitive RNA detection can be achieved by both direct transcription amplification and one-step amplification based on reverse transcription. Direct transcription amplification technologies rely on reverse transcriptase and T7 RNA polymerase to achieve linear transcription amplification of RNA; while the one-step amplification technology depends on a reverse transcriptional process at the beginning of the reaction. Both methods have outstanding advantages in clinical application, commercial kits and commercial all-in-one machines based on these principles have been put into clinical use. This review mainly introduces the clinical application of isothermal amplification technologies in the detection of RNA pathogens and the main difficulties faced at this stage. It is hoped to provide insightful ideas for the construction of pathogen RNA detection technology to meet the needs of point-of-care testing in the future.

## 综述·分子诊断进展及应用·

## 西黄丸靶向 miRNA 治疗乳腺癌的分子机制

卢晴晴

湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心

The incidence rate of breast cancer is the first in the world. According to the results of immunohistochemistry, breast cancer can be divided into four types, and there are differences in histological grading, tumor diameter and survival rate among different types. The dialectical types of breast cancer in our hospital include Zheng Xu Xie Lian (positive deficiency then evil love) and Gan Yu Xue Ning (liver depression then blood coagulation). Xihuang pill can replenishing Qi and strengthening the body, detoxifying and dispersing stagnation, and also can activate blood circulation to remove blood stasis. MiRNA is a small non encoding RNA, which may promote or inhibit the proliferation, migration, invasion and apoptosis of breast cancer. At present, studies on the treatment of breast cancer by rhinoceros bolus are mainly focused on cell level, while the study of molecular mechanism of rhinoceros bolus's anti-tumor mechanism by epigenetics is relatively little. From the perspective of methylation of gene promoter, we can elucidate the target and regulation mechanism of Xihuang Pill in treating breast cancer, which can provide a new direction for the development of anti-tumor drugs and the research of Chinese medicine anti-tumor, and improve the survival rate of patients with metastatic diseases.

## 综述·分子诊断技术质量控制·

## 人乳头瘤病毒两种检测方法的比较

何美惠

甘肃金域医学检验所有限公司基因室/实验诊断部

宫颈癌是最常用的妇科恶性病变,而高危型人乳头瘤病毒持续感染也与宫颈癌的发生率有关。目前检测人乳头瘤病毒的方法较多,本文对实时荧光PCR法与PCR-反向点杂交法从方法学的角度进行比较。其中实时荧光PCR法可快速、准确的检测人乳头瘤病毒,无需PCR后处理,避免了扩增产物污染和交叉污染,却无法对人乳头瘤病毒进行分型;反向点杂交法对人乳头瘤病毒进行具体的分型,可同时检测高危型和低危型,但是此方法只能对样本进行定性分析,不能提供定量方面的参考,且操作步骤相较于实时荧光法较繁琐,增加了污染的风险。通过分析二者在高危型人乳头瘤病毒检测中的诊断价值,为医院及临床医生筛查人乳头瘤病毒的方法选择提供参考。

## 综述·分子诊断技术质量控制·

## 人乳头瘤病毒概述

张琳

甘肃金域医学检验所有限公司基因室

人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是全世界最普遍的性传染病之中,成为危害生殖健康的主要原因。HPV是一种双链环状DNA病毒,仅寄生于人类表皮和粘膜的复层鳞形上皮,可引起产各种良恶性增生性病变,多见女性宫颈癌和尖锐湿疣。HPV传播途径多样,大多数病毒感染是透过高密度直接接触传染,也可能通过接触被感染者污染的物体及母婴等密接接触而间接传播。HPV致病性主要包括低危型及高危型,低危型感染引起的良性病变中以男女两性均可发生的尖锐湿疣发病率最高,好发于年轻的性活跃人群,高危型HPV与肿瘤的启动、发生、发展及恶性表型的全过程都密切相关,是与人类肿瘤关系最为密切的肿瘤病毒。本文就HPV病毒的生物学特性、传播方式以及致病性进行如下综述。

## 综述·分子诊断技术质量控制·

## 实验室自建遗传病NGS检测项目及实践

贾佳 胡腾 吴冰冰

复旦大学附属儿科医院儿科

实验室自建检测方法(laboratory developed test, LDT)模式在二代测序技术(next-generation sequencing, NGS)的体外诊断检测项目中有广泛地应用。本文聚焦临床遗传性疾病NGS LDT检测项目,综述国内外相关指南、共识和研究,探讨遗传性疾病NGS LDT检测项目的挑战和机遇,检测项目设计、性能确认、质量体系建立、检测项目发布及监管要素。

## 综述·多学科合作经验分享·

# DBS 刺激丘脑底核和苍白球内侧核对晚期帕金森病疗效的 meta 分析

王珍玉

武汉体育学院科研部

**目的** 通过 Meta 分析的方法系统评价脑深部电刺激术(DBS)作用于丘脑底核(STN)和苍白球内侧核(GPi)靶点对晚期帕金森病患者在改善精神效应、运动功能、生活质量和减少多巴胺用量方面的综合疗效。

**方法** 系统检索知网、万方、维普、中国生物医学数据库(CBM)、PubMed、Embase、Cochrane Library、Web of Science 数据库中关于刺激 STN 和 GPi 靶点治疗晚期帕金森患者的随机对照试验(RCT),检索时间为建库至 2022 年 2 月。由两位评审员运用 Cochrane 手册对纳入文献进行独立筛选、提取资料,结合物理治疗证据数据库量表(PEDro)的标准对纳入文献进行方法学质量评价。运用 Revman5.3 进行 Meta 分析。

**结果** 本文共纳入了 10 项随机对照研究,共 834 例患者。Meta 分析显示,GPi-DBS 能明显降低帕金森病统一评定量表评分:UPDRS-III:(WMD=1.20,95%CI:0.16~2.25, $P=0.02$ )、UPDRS-II:(WMD=1.01,95%CI:0.03~2.00, $P=0.04$ )、UPDRS-I:(WMD=0.46,95%CI:0.14~0.77, $P=0.005$ );提高患者生活质量量表(PDQ-39)评分(WMD=6.12,95%CI:2.50~9.75, $P<0.001$ );改善贝克抑郁量表(BDI)评分(WMD=1.81,95%CI:0.73~2.89), $P=0.001$ );而 STN-DBS 在减少术后药物用量方面优于 GPi DBS (WMD=-298.75,95%CI:-347.30~-223.19, $P<0.001$ )。

**结论** 基于当前证据显示,GPi DBS 在改善抑郁、增加生活质量、提高晚期帕金森患者运动功能方面优于 STN DBS。而 STN DBS 在减少用药方面较 GPi DBS 更有优势。临床应用时可结合患者实际用药需求做出适当选择。上述结论仍需更多高质量研究予以验证。

## 综述·多学科合作经验分享·

# 后疫情时代传染性疾病的分子诊断“平战结合”策略的思考

吴茜

兰州大学第二医院检验医学中心

新冠疫情爆发对医学实验室的核酸检测能力提出严峻挑战,面对疫情地方各级政府和医疗机构快速响应积极备战,通过应急PCR实验室建设和人员培训以及加快核酸试剂研发等措施,应对和控制住了新冠疫情的传播和更大危害。然而,回顾过往也暴露出PCR实验室能力建设“平战结合”理念的缺失和预案的前瞻性不够。为此本文就后疫情时代PCR实验室如何实现“平战结合”的策略进行探讨。通过回顾性分析梳理传染性疾病的分子诊断的问题和不足,总结前期经验和缺陷失误,提出可持续发展的“平战结合”策略,进一步提升分子诊断实验室应对突发传染性病原体核酸检测的战时能力。