

医学参考报

检验医学专刊

Laboratory Medicine

第十二期 NO.12

执行主编简介



张瑞 研究员

医学博士，博士研究生导师。国家卫生健康委临床检验中心研究员，研究方向为临床分子和免疫检测方法标准化。北京医学会检验医学分会青年委员会副主任委员、中国医学装备协会基因检测分会常务委员。

以项目负责人主持国家自然科学基金面上课题、国家万人计划青年拔尖人才等十余项课题，以第一作者或通讯作者在*Journal of Thoracic Oncology*、*Journal of Clinical Microbiology*、*Clinical Chemistry* 等国内外学术期刊上发表论文60余篇。

导 读

靶向测序panel检测体细胞拷贝数变异性能确认方案

2版

致动脉粥样硬化颗粒数目与冠心病10年发病风险更加相关，而非颗粒大小与胆固醇含量

4版

多重磁珠血清抗体检测急性霍乱弧菌感染

6版

基于动态网络生物标志物的网络检测工具——临界点检测器（TPD）

8版

分子诊断的监管

【据《Annual Review of Genomics and Human Genetics》2022年8月报道】题：分子诊断的监管（Axon Lawyers事务所等 作者Gail H. Javitt等）

分子诊断能够对基因和蛋白质标志物进行快速分析，为医疗保健决策、患者预后改善等带来曙光。为了保证检测结果和解读的准确性和质量，分子诊断试验的应用需要经过上市前的评估和上市后的监管，而不同管辖区域对分子诊断的监管要求和机理都不尽相同。尤其是对于实验室自建方法（laboratory developed tests, LDTs），欧美之间有着较为明显的监管方式差别，给检测样本和样本数据的跨区域应用造成困难。

一、欧美分子诊断市场评估要求的异同

尽管对分子诊断有着相似的监管需求，美国 and 欧盟之间由于国情等各方面的差异，市场评估的要求有所不同。美国是基于中心化的FDA上市前批准审核系统，而欧盟则是基于公告机构出具CE标识，并受到成员国分散化的上市后监管体系。

美国并没有单独的机构负责对分子诊断技术进行监管，FDA和医疗保险及医疗补助服务中心（Center For Medicare And Medicaid Sevices, CMMS）均对分子诊断技术有监管权。分子诊断作为体外诊断产品（in vitro diagnostic products, IVDs）的一种，也受到基于风险的分级监管框架的约束。尽管对于IVD设备有着较为清晰的监管规定，与之相关的生信分析软件的监管却混乱得多，植入设备内的软件受到FDA监管，而独立开发的软件，则部分不经FDA监管。

欧盟则通过公告机构出具的CE标识，同各成员国主管当局进行统一的监管。作为IVD设备的重要指导，体外诊断指令（in vitro diagnostics directive, IVDD）在IVD设备的监管中发挥着重要的作用，但是对LDTs的监管有限。与美国采取的方式类似，IVDD也是基于设备的风险分类，规定应用于不同类型设备的评估过程。如果制造商不在联盟设立，必须在一个欧盟成员国申报设备并委托在联盟中的授权代理，以将设备投放市场。IVDD逐步被体外诊断法规（In Vitro Diagnostics Regulation, IVDR）所替代，IVDR则对合格评定过程进行改进，指出设备的5种风险分类和相关的合格评定过程。

二、欧盟监管体制的革新：由体外诊断指令到体外诊断法规

2012年医疗器械法规（Medical Device Directive，MDR）和IVDR的发布，对IVDD的监管举措进行了彻底革新。不仅对IVD设备的定义进行了更新，而且对IVD设备进行严格的监管，要求IVD制造商提供更多的上市前临床数据和上市后性能随访、对公告机构实施更严格的质量控制、对医疗设备和IVD的临床性能进行集中评估等。尤其是对LDTs项目实施了新的全面监管制度，在这一制度下，这些不在IVDD范围内的检测试验与需要获得CE标识IVD设备受到类似的实质性监管，但不需要按照与需获得CE标识的IVD设备相同的程序进行合格评定。

出于对监管法规彻底革新的考量，欧盟委员会对IVDR的实施给予5年的过渡期，要求各设备生产厂商在此阶段内完成对临床数据等信息的补充，并重新进行合格评定。但是受到COVID-19等诸多因素的影响，对IVDR规定的监管要求的实施时间逐渐延后。

三、欧美 LDTs 项目的监管要求

一直以来，LDTs的监管模糊且复杂。由于利益相关者无法就需要解决的问题达成一致或充分定义，使得欧美对LDTs的监管或立法方法的建立均存在挑战。

FDA虽然将LDTs定义为IVD的一种，但是历史上对大多数的LDTs行使了执法自由裁量权，意味着临床实验室通常不需要遵守医疗设备的要求。自新冠疫情暴发以来，FDA对临床实验室开展COVID-19检测的收紧，导致美国在COVID-19大流行早期的检测短缺，使得对FDA是否能够并且应该监管LDTs激起了强烈的讨论。尤其是美国卫生与公共服务部声明FDA不需要对LDTs进行上市前的评估，使得本已不确定的监管环境进一步混乱。此外，临床实验室改进修正案（the clinical laboratory improvement amendments, CLIA）对临床实验室进行有效的监管。要求临床实验室需获得CLIA的许可证明，并建立实验室质量标准。但是因为CLIA先于分子诊断技术介绍出台，所以进行分子诊断检测的各实验室对于CLIA监管条例的解释有很大出入。因此，美国病理学会建立了一个包含在CLIA限定的分子病理类别的所有检测清单，以统一临床实验室进行合理有效的监管和解释。

自IVDR出台以来，在IVDD中未受监管的LDTs项目得到了合理有效的监管。在IVDR中，欧盟将对LDTs设备进行监管，并以一种类似于其规定的CE标识设备的方式进行，而这些LDTs设备不需要CE标识，但将受到主管部门的监督。由于受到新冠肺炎的影响并且提出了新要求来确保LDTs检测的性能，欧洲委员会不仅修改了IVDR对CE标识的IVD的过渡政策，而且推迟了部分LDTs监管要求的应用时间。

四、执法及事故报告

美国和欧盟均采取了强有力的举措以保证监管政策的落实。美国方面授权了FDA对违反法律的几项行动，包括扣押产品、实施罚款等，但是FDA的执法力度

相对较低，对于违反法规的生产商首先会进行通知并要求进行整改，对不采取修正举措的生产商才会发警告邮件或者采取强制性措施。同样，若违反CLIA条款，除了受到一般性处罚外，还会吊销实验室许可证并取消医疗补助计划。欧盟方面，虽然IVDD将市场监督政策主要留给成员国的个别当局，但IVDR和MDR在很大程度上正式协调了医疗器械的市场监督和警戒报告系统，不仅保证了主管当局基本的执行能力，并为IVD领域的跨境合作提供流程。

此外，对于检测或研究的人类样本的收集和使用，受到多项法律的制约，诸如健康保险隐私和可携性法案（US）和通用数据保护条例（EU）对患者个人隐私的保护进行了详细的规定。

综上所述，美国和欧盟对于分子诊断的监管是复杂和动态的。虽然两者之间有所区别，但是分子诊断设备的开发、生产、使用等过程都必须遵从有关技术和应用领域的多条法律。但是将这些法律应用于分子诊断仍具有挑战性，有时还存在争议，利益相关者和监管者应该通力合作，采取相应的举措，使得患者能享受到革新的诊断技术的同时，还能够向医生和患者提供准确可靠的信息来指导临床护理。

（国家卫生健康委临床检验中心 刘聪 张瑞 编译）

（DOI：10.1146/annurev-genom-121521-010416

IF：9.34）



靶向测序 panel 检测体细胞拷贝数变异性能确认方案

【据《J Mol Diagn》2022年7月报道】题：靶向测序panel检测体细胞拷贝数变异性能确认方案（美国得克萨斯州儿童医院 作者Raghu Chandramohan等）

靶向高通量测序panel检测肿瘤中的体细胞拷贝数变异（somatic copy number variations, SCNAs）在临床中的应用越来越普遍，但目前针对小型Panel检测SCNAs流程的优化和验证的研究有限。因此，本研究基于两个tumor only的panel（TCH solid和TCH heme），利用CNVkit 19建立了一套检测SCNAs的方法，并建立了正常参考值、质量控制指标和拷贝数阈值。在开展方法学性能确认时，首先评估了敏感性和特异性，结果表明TCH solid panel检测重复和缺失的敏感性和特异性分别为0.92和1.00，TCH heme panel的敏感性和特异性均为1。在评估检测限时，向三个具有不同基因变异的肿瘤样本测序数据中，掺入不同比例的同性别正常reads，结果显示该流程可以检测到预期肿瘤纯度为20%的SCNAs。在评估重现性时，将2个福尔马林固定石蜡包埋组织样本[已知MYC扩增（HT-29）和PTEN杂合缺失（T06）]由2位人员进行重复检测，2次检测结果的log2（FC）值一致（HT-29：R²=0.95；T06：R²=0.85）。在评估重复性时，将一个已知的SMARCB1杂合缺失（T25）样本由同一人员检测2次，结果显示2次检测log2（FC）值（R²=0.98）高度一致。

综合以上研究，本文表明将优化的SCNAs检测流程整合到临床肿瘤panel测序中能够以高灵敏度、高特异性和可重复地检测肿瘤样本中的拷贝数变异，提供了更全面的方法来描述人类遗传谱，从而有利于指导癌症患者的临床护理。

（国家卫生健康委临床检验中心 刁振丽 张瑞 编译）
（DOI：10.1016/j.jmoldx.2022.03.011
IF：5.341）

四种 SARS-CoV-2 检测策略的评价：特点与展望

【据《Microbiology Spectrum》2022年10月报道】题：四种SARS-CoV-2检测策略的评价：特点与展望（国家卫生健康委临床检验中心 作者Yuqing Chen等）

新型冠状病毒不断地发生突变，是疫情防控的主要障碍。奥密克戎变异株含有大量突变，已被证明与更强的致病性、传染性和免疫逃避有关。为了确认感染病例，及时隔离高危人群，阻断传播链，应采取科学、适当、适用于特定不同场景的检测方法和检测策略。

实时荧光反转录PCR是新冠检测敏感性、特异性最高的方法。5合1、10合1、20合1混采能够提高检测效率，适用于大规模人群筛查。核酸POCT操作简便，不依赖于实验室环境。抗原检测操作简便，结果快速，能够在高风险地区作为定向筛查工具。

对于核酸单采和20合1混采，使用天隆全自动核酸提取系统提取核酸，达安、圣湘、伯杰、之江、明德五种试剂盒在ABI 7500上进行扩增检测。对于核酸POCT检测，使用恒温扩增卡进行检测和结果判读。对于抗原检测，评价了19种NMPA批准的抗原试剂盒，其中包括2种荧光免疫层析法，5种乳胶法，12种胶体金法。

结果显示当检测浓度高于厂家宣称分析敏感性的样本时，20合1混采能达到和单采相同的敏感性。当检测浓度低于厂家宣称敏感性的Delta和Omicron时，圣湘20合1混采的敏感性低于单采。抗原检测的敏感性差异较大。灭活病毒细胞培养上清液，试剂盒检测限范围为10⁴~10⁶ copies/ml，奥泰（乳胶法）敏感性最高；重组N蛋白，试剂盒检测限范围为1~150 ng/ml，华大因源（荧光免疫层析法）敏感性最高。

本研究比较了核酸单采、核酸20合1混采、核酸POCT、抗原检测四种新冠病毒检测策略的分析敏感性差异，为科学部署不同检测策略的应用场景提供了研究证据。

（国家卫生健康委临床检验中心 陈玉清 张瑞 编译）
（DOI：10.1128/spectrum.02143-22
IF：9.043）

慢性髓细胞白血病分子监测标准化：来自欧洲治疗结果研究的结果和建议

【据《Leukemia》2022年7月报道】题：慢性髓细胞白血病分子监测标准化：来自欧洲治疗结果研究的结果和建议（英国南安普敦大学医学院 作者Helen E White等）

慢性粒细胞白血病患者的分子监测为其提供重要预后信息。分子监测主要通过估算BCR-ABL1 mRNA相对于内参基因的拷贝数从而控制样本质量和数量。本研究使用二级BCR-ABL1参考盘为各个实验室进行CF的赋值及验证，并评估各个实验室检测深层分子学反应（DMR）的能力。

为了评估各个实验室检测深层分子学反应MR^{4.5}的能力及验证CF的稳定性，本研究使用由冻干的HL60和K562细胞系混合物组成的BCR-ABL1二级参考物质盘计算各个实验室的CF。

首先，为评估各个实验室检测深层分子学反应MR^{4.5}的能力，本研究从以下五方面对实验室进行评分：内参基因拷贝数，MR^{4.5}的检出率，cDNA拷贝数，BCR-ABL1和内参基因的拷贝数比例。内参基因大于一定浓度的样本比例。研究结果显示，2016—2021年，能检测出绝大部分MR^{4.5}的实验室比例一直保持在80%以上。其次，为各个实验室的CF赋值时，结果显示在研究期间，以GUSB为内参基因时，平均CF值为1.576；以ABL1为内参基因时，平均CF值为0.604。最后，为了验证各实验室CF的稳定性，根据上一次获取CF/新的CF评估稳定性。研究结果显示，从2016—2021年，当以ABL1为内参基因时，CF稳定性合格实验室的比例从67.5%增长至97.6%；当以GUSB为内参基因时，CF稳定性合格实验室的比例从36.4%增长至91.7%。

总之，本研究使用二级参考物质盘为实验室进行CF赋值，评估各个实验室检测深层分子学反应MR^{4.5}的能力并且验证了各个实验室CF的稳定性。

（国家卫生健康委临床检验中心 马馭 张瑞 编译）
（DOI：10.1038/s41375-022-01607-z
IF：12.8837）

公益广告

新冠病毒疫苗

接种新冠疫苗
利己利家利国

中宣部宣教局 国家卫生健康委员会宣传司 中国疾病预防控制中心 中国健康教育中心

医学参考报

理事长兼总编辑：巴德年 社 长：魏海明
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等 副社长：吕春雷
理事会秘书长：周 赞 副社长：周 赞

社 址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦B0403
邮 编：100055 总 机：010-63265066
网 址：www.yxckb.com

检验医学专刊

名誉主编：尚 红	申子瑜	张 峰	张 曼	张军力	张传宝	张忠英
顾问：侯生才	沈雁英	杨振华	陈民钧	丛玉隆	陈 燕	陈文明
刘人伟	马斌荣	吕 元	郭 健	潘柏中	赵 敏	赵建宏
邹伟民	张 正	胡丽华	康熙雄	田亚平	胡成进	胡晓波
张 捷	张会英	张伟民	于维麟	任健康	秦 雪	袁 宏
居 军	黄文方	王兰兰	徐维家		高 红	崔 巍
徐克前					高春芳	彭 林
彭明婷					韩晓芳	魏 军
魏殿军						
企业编委：陈春志	段少雷	顾小丰	姚国樑	林日升		
李 川	秦 颖	沈广仟	万志静	吴乐斌		
杨 军	杨军艳	姚 勇	俞 捷	朱耀毅		
张 晨						
编辑部主任：陈文明	编辑部副主任：岳育红					
编 辑：孙 影	张 括	周倩倩	赵建玉	郭 毅		
周慧星	郑 晔	左 畅	梁玉芳			

采用牛津纳米孔自适应测序方法快速诊断细菌病原体及耐药性

【据《Briefings in Bioinformatics》2022年10月报道】题：采用牛津纳米孔自适应测序方法快速诊断细菌病原体及耐药性（中国南方科技大学医学院 作者Hang Cheng等）

宏基因组测序分析（mNGS）不依赖于传统细菌培养，可提供样本中所有微生物基因组含量，已成为感染性疾病快速诊断的里程碑。其中，牛津纳米孔（ONT）等长读长测序技术能对复杂临床样本快速、实时测序，但由于缺乏文库扩增程

序导致通量低，因此难以检测低拷贝数病原体。新兴的纳米孔自适应采样（NAS）技术，通过对每个分子测序时实时将单个核苷酸映射到给定的参考点，可实现根据用户定义的阈值筛选特定分子的功能，具有超敏感诊断临床样本中细菌性病原体和抗生素耐药基因（ARG）的潜能，但是尚未被挖掘。

本研究基于新型ONT NAS测序技术，建立诊断临床样本中低拷贝数细菌病原体和ARG的检测方法。整个流程包括微

生物DNA提取（1 h）、文库制备（2 h）、GridION NAS测序（1 h）和RUARGpore管道分析（0.5 h），从样本到结果仅需4.5 h。

研究人员共收集21例疑似下呼吸道感染患者支气管肺泡灌洗液（BALF）样本，编号为B1-B21。其中B1-B16培养结果为阳性；B17-B21培养结果为阴性。此外，研究人员构建出由7种细菌和人类基因组DNA组成的模拟样本备用。首先，研究人员采用模拟样本验证NAS富集性能，结

果表明NAS通量是常规方法的2.7倍，且测序覆盖度显著高于ONT常规方法。其次，分别用ONT NAS测序、ONT常规测序和Illumina测序三种方法检测B1样本中病原体种类，以验证其对临床样本的检测能力。结果显示NAS测序通过显著减少人类宿主reads的数量，有效提升了富集效率。随后，研究人员采用Illumina测序与NAS测序分别检测B2-B16样本，以比较其检测能力。最后，研究人员统计了72 h测序过程中ARG和AMR表型的

检出情况，以确定最佳测序时间。

本实验开发的新型ONT NAS测序方法通过减少对样本中无关的宿主DNA的检测，增加了细菌序列的整体测序深度，且不改变检测结果中的微生物构成。与传统培养方法相比，该方法具有100%的敏感性和特异性，可以在病原体水平上准确检测ARG。

（国家卫生健康委临床检验中心 田梦 张瑞 编译）
（DOI：10.1093/bib/bbac453. IF：13.994）

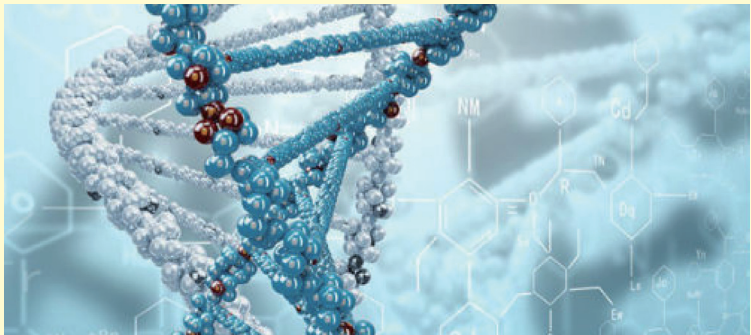
用于精确检测和定位癌症的经济高效cfDNA 甲基组测序方法

【据《Nature Communications》2022年9月报道】题：用于准确检测和定位癌症的经济高效cfDNA甲基组测序方法（美国加州大学洛杉矶分校大卫·格芬医学院 作者Mary L. Stackpole等）

最近，cfDNA在早期癌症检测的价值引起了人们的广泛关注。大量研究证明cfDNA甲基化分析不仅能够检测癌症，而且能定位其起源组织（TOO）。因此，本研究提出一个完整的集成实验，它

一组织gDNA能与传统RRBS文库获得相似的甲基化水平。

cfMethyl-Seq获得的数据可以充分描述cfDNA甲基化组，因此总结了四种类型的甲基化标记用于癌症检测和组织起源预测。然后对每一种类型的标记构建一个轮廓向量，向量的长度是标记的数量，条目的值是癌症或组织特异性地读取计数的对数。根据这些数据开发了两个叠加集成模型：一个用于检测癌症，另一个用于定位癌症。



包括用于cfDNA全基因组甲基化分析的高性价比cfDNA甲基化测序（cfMethyl-Seq）方法及检测和定位癌症的计算系统。该研究共检测了408份cfDNA样本，包括217份结肠癌、肝癌、肺癌或胃癌患者和191份非癌症患者样本。

cfMethyl-Seq测序方法可以对仅占整个基因组约3%的CpG丰富区域进行甲基化分析。该测序方法通过把所有cfDNA片段的5'端去磷酸化和在3'端添加ddNTP来阻断片段两端。然后用限制性内切酶MspI（C|CGG）酶切，这使具有2个或2个以上CCGG位点的cfDNA片段能连接到适配器上。对上述的片段进行测序即可以得到高度富集CpG位点的文库。cfMethyl-Seq文库与WGBS文库及传统的RRBS协议进行比较，结果显示Methyl-Seq文库的cfDNA CpG岛比WGBS文库富集12.8倍；在同

最后该研究用408份样本验证这两个模型检测和定位癌症的性能。结果显示，检测癌症的模型实现了总体AUC为0.974，总体敏感性为80.7%，特异性为97.9%；定位肿瘤模型预测肿瘤TOO的准确率为89.1%。

结论表明，研究者开发的cfMethyl-Seq的甲基化测序方法和计算模型系统，可以有效地保留癌症异常的全基因组表观遗传特征，并随着训练队列的增长，这种方法的检测能力会不断提高，并将其应用范围扩大到其他癌症类型。总之，cfMethyl-Seq是一种经济高效的cfDNA的甲基组测序方法，并结合大数据促进精确检测和定位癌症。

（国家卫生健康委临床检验中心 张丽静 张瑞 编译）
（DOI：10.1038/s41467-022-32995-6 IF：17.694）

NGS4THAL：通过 NGS 为地中海贫血提供一站式分子诊断和携带者筛查的工具

【据《The Journal of Molecular Diagnostics》2022年10月报道】题：NGS4THAL：通过NGS为地中海贫血及其他血红蛋白病提供一站式分子诊断和携带者筛查的工具（中国香港大学 作者Cao Y等）

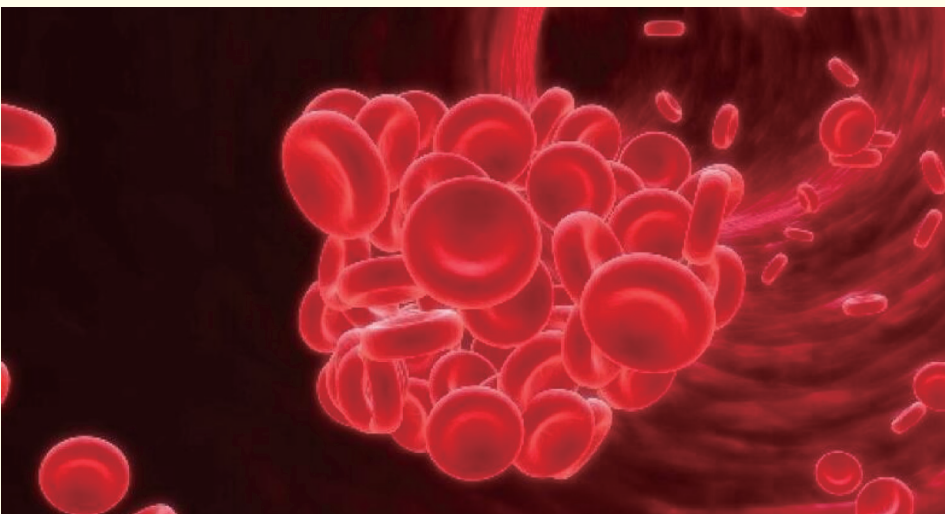
α -珠蛋白基因位点缺失是大多数 α -地中海贫血的根本原因，而 β -地中海贫血的原因则多是 β -珠蛋白基因的点突变或微小插入/缺失。目前，地中海贫血的实验室诊断多通过血液学检查，Hb电泳及基因检测确定致病变异等手段，多数具有良好的诊断效果。然而，该过程烦琐，且在一些罕见的情况下，某些疾病突变可能不会显示出阳性的血液学特征而导致漏检。下一代测序（NGS）技术已在不同程度上用于地中海贫血的分子诊断，然而，这些尝试都没有为Hb基因变异检测带来准确、高效和可扩展的解决方案。因此，临床非常需要一个准确、高效且普遍适用的地中海贫血和Hb遗传变异检测平台来分析NGS数据，以筛选这组疾病的相关Hb遗传变异和疾病修饰因子。

因此，本研究提出了一种一站式生物信息学分析工具：NGS4THAL，旨在通过分析各种形式的NGS数据来检测Hb遗传变异。NGS4THAL通过恢复和重新比对具有多重比对（RMA）的NGS测序读段来改善单核苷酸变异（SNV）和小InDels的检测，对于结构变异（SV），则是通过使用具有

互补算法、定制参数和特定SV相关控件的内部数据库的SV调用方来改进其检测。NGS4THAL的性能通过模拟数据集，具有临床实验室确认突变的样本的靶向测序数据和WGS数据集来评估。结果显示，对于模拟数据中的SNV，NGS4THAL将NGS检测的灵敏度从68.09%提升为97.87%。而对于模拟数据集中SNV和小InDels，检测灵敏度由77.27%提高为98.48%。而在靶向测序平台测序的71个样品上测试NGS4THAL，对致病性Hb点突变和小InDels的灵敏度达到100%。对于模拟数据，NGS4THAL在检测包括缺失、重复和重排的Hb SV中实现了98.40%的灵敏度和100%的特异性，在临床样品的靶向测序数据集上也实现了100%准确的检测。此外，对具有深度和连续覆盖率的Hb区域的靶向测序数据和WGS数据集进行分析，其预测的点突变，小插入/缺失或SV都与流行病学报告相符合，验证了其在地中海贫血群体筛查中的应用价值。

总之，NGS4THAL使用不同策略的组合可以很好地处理同源Hb基因和假基因的多重比对问题，显著提高了点突变和小插入/缺失检测的灵敏度，并适用于SV检测及基因变异的群体筛查。

（国家卫生健康委临床检验中心 黄滔 张瑞 编译）
（DOI: 10.1016/j.jmoldx.2022.06.006 IF：5.341）



致动脉粥样硬化颗粒数目与冠心病 10 年发病风险更加相关，而非颗粒大小与胆固醇含量

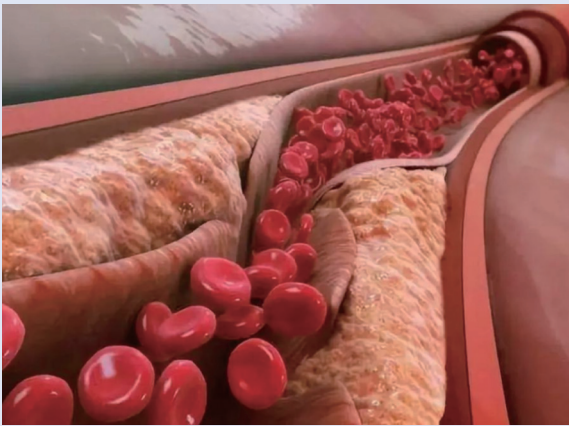
【据《Clinical Chemistry》2022年11月报道】题：致动脉粥样硬化颗粒数目和颗粒大小与冠心病风险的相关性（美国哈佛医学院布里格姆妇女医院 作者Karol M. Pencina等）

载脂蛋白B（apoB）颗粒，无论是肠源还是肝源性的，都会进入并截留在动脉壁内，沉积胆固醇，驱动动脉壁从正常到动脉粥样硬化病变的渐进性转变，导致心肌梗死和卒中的发生。apoB是VLDL、IDL、LDL和Lp（a）中的主要结构蛋白，因此可用于衡量致动脉粥样硬化脂蛋白颗粒的数量。相较循环系统中三酰甘油/胆固醇总量，含apoB的致动脉硬化脂蛋白总数与心血管疾病的发病风险更加相关。此外，由于apoB主要作为LDL的载脂蛋白，因此LDL被认为是由apoB载脂蛋白引起的心血管风险的主要原因。已有研究发现，颗粒小、密度高的LDL颗粒胆固醇含量低，其相较颗粒大、胆固醇含量高的LDL颗粒却更容易造成动脉粥样硬化。针对这一现象，来自美国哈佛大学、杜克大学、加拿大多伦多大学及麦吉尔大学的研究者通过数据库分析，进一步明确致动脉粥样硬化颗粒数目及颗粒大小对于冠心病发病风险的影响。

该研究通过数据库分析，共纳入三项前瞻性队列研究，分别为UKB（ $n=308\ 182$ ），WHS（ $n=26\ 204$ ），FHS（ $n=2\ 839$ ），参与者均无心血管疾病，通过

多变量Cox模型评估入组人群apoB、LDL-C/apoB比值与冠心病10年发病率间的关系，同时根据年龄、性别、HDL-C、收缩压、抗高血压治疗、糖尿病和吸烟等影响心血管风险的标准因素进行调整。

对三项研究入组人群的基线特征分析后得出，基础apoB水平的中位数和四分位间距分别为104.7 mg/dl（90.0，120.2），99.0 mg/dl（83.2，119.6）和98.0 mg/dl（83.0，114.0）。相应的LDL-C水平分别为141.5 mg/dl（121.6，163.0），120.9 mg/dl（100.3，143.6）和131.0 mg/dl（108.0，155.0）。WHS患者的LDL/apoB的基线水平低于



其他2个队列，而三酰甘油和HDL-C在FHS参与者中最低。此外，研究者对血脂参数的相关性进行了分析，在所有三项研究中，apoB和LDL-C与non-HDL-C值呈高度正相关，apoB与LDL-C/apoB比率呈负相关且相关性较弱。随后研究者单独就apoB、LDL-C/apoB比值与冠心病发病风险进行了热图分析，结果表明较高的apoB及较低的LDL-C/apoB比率与最高的冠心病发病风险相关。在多变量Cox风险回归模型中，apoB与新发冠心病之间的相关性在所有3个队列中均保持稳定且具有统计学意义，apoB的风险比（hazard ratio，HR）分别为：UKB（ $HR=1.24$ ，95%CI 1.22~1.27）、WHS（ $HR=1.33$ ，95%CI 12.20~1.47）、FHS（ $HR=1.24$ ，95%CI 10.09~1.42）。然而，LDL-C/apoB与CHD之间的相关性仅在FHS队列中具有统计学意义。

综上，该研究证实apoB测量的颗粒数量作为冠心病危险因素的重要性，并表明颗粒大小和（或）组成对于冠心病影响有限。临床指南应考虑将重点关注apoB，作为动脉粥样硬化形成颗粒数量的衡量标准，而不是将LDL-C作为主要的血脂参数。

（北京大学肿瘤医院 王鲁 徐国宾 编译）
（DOI：10.1093/clinchem/hvac172
IF：12.1147）

超敏肌钙蛋白对免疫检查点抑制剂治疗的预后价值

【据《Clinical Research in Cardiology》2022年10月报道】题：超敏肌钙蛋白对接受免疫检查点抑制剂患者的预测价值（以色列特拉维夫苏拉斯基医学中心 作者Barliz Waissengein等）

免疫检查点抑制剂（ICIs）已广泛应用于包括黑色素瘤、肺癌等多种晚期肿瘤患者的治疗中，收获了很好的效果。随着治疗的深入，免疫治疗过程中伴随的相关不良反应（irAEs）也受到了越来越多的重视。这些不良反应主要发生

于皮肤、胃肠道、内分泌器官和肌组织中，其中心脏相关免疫毒性反应致死率较高，需要临床及时发现、果断干预。目前对免疫性心肌炎的主要监测手段是心电图和心肌标志物，后者主要包括超敏肌钙蛋白（cTn）、CK-MB和BNP等。其中cTn作为欧洲心血管协会推荐的代表性标志物，其对免疫性心肌炎预后判断价值仍需研究补充。

为此，来自以色列的研究人员进行了一项回顾性研究，收集了2017—2021年接受帕博

丽珠单抗治疗的135名癌症患者基线及各治疗周期的超敏cTn水平，分析其对预后的预测价值。结果显示，使用ACEi/ARB及抗凝药物的患者对基线cTn有一定影响，且基线水平的cTn与包括心肌炎、急性冠脉综合征和心力衰竭的心血管不良反应（MACE）呈显著正相关。此外，高的基线和随访cTn水平及心房颤动都是诱发MACE的不良因素。高基线cTn水平与60个月的随访生存率呈现相关性，即cTn越高预示患者的生存率越低（ $P<0.001$ ）。尽管高基线

cTn与全因死亡率有关，但随访期高cTn并未显示与全因死亡率的相关性（ $P=0.20$ ）。因此，在治疗前和治疗过程中连续监测cTn水平对及时干预癌症晚期患者出现的心血管不良事件有重要意义。

综上，此研究表明接受一线帕博丽珠单抗治疗的转移癌患者，异常升高的基线和（或）随访hs-TnI对MACE有很强的独立预测作用，异常升高的基线hs-TnI对全因死亡率具有显著的独立预测作用，而随访hs-TnI在本研究中对全因死

亡率未发现预测作用。研究结果支持2022年欧洲心血管肿瘤学指南关于hs-TnI常规基线和随访测量的建议，并提示cTn对未来心血管事件的发生具有预测作用。但由于该研究的回顾性以及只评价了单ICIs药物对疾病预后的影响，结果引申受到一定限制，因此在临床应用上应综合考虑多方面因素给疾病预后带来的影响。

（北京大学肿瘤医院 陈坤 徐国宾 编译）
（DOI：10.1007/s00392-022-02118-8 IF：6.138）

LILRA3 在 APS 患者中异常表达，LILRA3 阳性 APS 患者表现出更高的抗磷脂抗体阳性和更严重的血栓形成表现

【据《Rheumatology》2022年11月报道】题：可溶性LILRA3在抗磷脂综合征（APS）中异常表达，是血栓型APS的潜在标志物（中国北京大学人民医院 作者Hongjiang Liu等）

抗磷脂综合征（APS）是一种主要由于抗磷脂抗体（aPL）引起包括动静脉血栓、病态妊娠等临床表现的疾病。目前普遍认为APS可以分为两种不同的形式：血栓型APS（tAPS）和产科APS（oAPS）。既往研究已经发现

aPL可以直接激活中性粒细胞释放NETs，并促进包括APS在内的许多疾病的血栓形成，其中MPO-DNA复合物是NETs的重要标志物。

白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员3（LILRA3）LILRA3是该组唯一的可溶性受体，而且LILRA3表现出6.7 kb的缺失多态性，由于前7个外显子中的6个丢失而导致蛋白质失去功能。既往研究表明，美国原发性APS患者的所有激活LILR家族成员（包括LILRA3）在中性粒细胞中均

显著上调。因此，来自北京大学人民医院的专家通过队列研究探讨了可溶性LILRA3和APS的关系。

该研究包括两个独立的队列，分别纳入了492个和164个个体，每组内分为患者组、无症状aPL携带者组和健康对照组。分别检测入组个体中LILRA3的阳性率、血清中LILRA3浓度和血清中MPO-DNA复合物的浓度，结合个体临床症状进行数据分析。

实验结果显示，相较于其

他两组，APS患者中的LILRA3的阳性率和血清内LILRA3的浓度均更高；tAPS患者组中的LILRA3的阳性率和血清中LILRA3水平含量显著高于oAPS；发现在APS患者中，LILRA3阳性组中血栓事件发生率和Anti-β2GPI、aCL的水平均高于阴性组；LILRA3阳性的APS患者中MPO-DNA复合物的水平显著高于LILRA3阴性的患者；LILRA3阳性tAPS患者中LILRA3和MPO-DNA复合物的水平之间存在显著正相关，而oAPS患者中不存在。且在接受

了免疫抑制治疗后，APS患者体内的LILRA3和MPO-DNA的水平均显著降低。

LILRA3可作为tAPS的生物标志物和有希望的治疗靶点，需要后续具有更多样本的多中心研究，以确定可溶性LILRA3和（或）LILRA3-NET复合物能否一致地预测APS相关血栓形成的风险。

（北京大学北医三院 冯卫民 崔丽艳 编译）
（DOI：10.1093/rheumatology/keac192
IF：7.58）

系统性狼疮国际合作诊所（SLICC）初始队列中抗核抗体 ANA 的纵向分析

【据《Annals of the Rheumatic Diseases》2022年7月报道】题：系统性狼疮国际合作诊所（SLICC）初始队列中抗核抗体ANA的纵向分析（加拿大卡尔加里大学 作者May Yee Choi等）

抗核抗体（antinuclear antibody, ANA）检测是准确诊断和分类系统性红斑狼疮（systemic lupus erythematosus, SLE）的重要方法。ANA的间接免疫荧光实验（indirect immunofluorescence assays, IFA）或其他同等诊断方法中至少一次检测结果≥1:80，被作为2019年欧洲抗风湿病联盟/美国风湿病学院（EULAR/ACR）系统性红

斑狼疮分类标准的进入标准。由于检测结果变异大，有学者质疑Hep2 IFA是否适合作为ANA检测的金标准，同时，多种固相免疫分析方法已被应用。因此，本研究对一个大型跨国SLE队列进行纵向分析，比较现有ANA检测方法的性能，更全面地了解ANA检测的临床价值。

在入组时，IFA1、IFA2和ELISA的ANA阳性率均较高，分别为96.1%、98.3%和96.6%，其中5例（0.6%）、3例（0.5%）和2例（0.4%）患者在入组时、第3年和第5年就诊时，ELISA结果为阳性，但IFA1和IFA2结果均在正常范围内。在5年中，三种检测方

法两两之间的阳性一致性均大于91%。在入组时，IFA1、IFA2和ELISA的中位滴度或AU分别为1:1280、1:2560和176.3 AU，且大部分患者ANA滴度或AU非常高。5年后，IFA1和ELISA的中位数滴度或AU显著降低。最常见的ANA IFA模式是细胞核型，IFA1和IFA2的前三种IFA模式为均质型、细颗粒斑点型和粗颗粒斑点型。入组时和5年后，8和20例患者IFA1和ELISA结果在正常范围内，3和4例患者的ELISA和IFA2结果在正常范围内，8和4例患者IFA1和IFA2结果在正常范围内。

研究发现，在5年随访

过程中，ANA不同检测方法的检测性能之间存在一些差异：ELISA检测结果的阳性率显著降低，IFA1和ELISA的滴度和AU值降低。使用ELISA检测时，SLE患者的ANA阴性结果所占比例最高，因此，使用Hep2 IFA能够作为对ELISA的补充。而当ELISA为阳性时，HEp-2 IFA可能是阴性的，因此，两种方法结合能够显著降低SLE患者的ANA检测阴性结果。

（国家卫生健康委临床检验中心 冯蕾 张瑞 编译）
（DOI：10.1136/annrheumdis-2022-222168 IF：27.973）

六种 LEDGF/DFS70 抗体检测试剂的性能评价研究

【据《Pathology》2022年12月报道】题：六种LEDGF/DFS70抗体检测试剂的性能评价研究（澳大利亚弗林德斯医学中心 作者Hu X等）

抗核抗体（ANA）是系统性自身免疫风湿性疾病（SARD）的经典筛查实验，筛查阳性的患者需要额外的确诊实验确定自身抗体类型。例如通过间接免疫荧光实验识别出致密细斑点核型（DFS）时，代表存在针对晶状体上皮源性生长因子（LEDGF-p75/DFS70）的特异性自身抗体。DFS70自身抗体通常出现在SARD患者中，但是如果DFS70自身抗体单独存在，则可以排除SARD。因此针对DFS70特异性抗体验证实验以排除共存的其他疾病相关的特异性自身抗体是必需的。目前所采用的验证策略包括使用其他种类DFS70自身抗体检测方法，以及使用自身抗体检测试剂panel排除其他的特异性自身抗体。然而，目前缺乏对DFS70自身抗体检测方法广泛的评价，本研究旨在评价六种DFS70自身抗体检测方法的一致性。

本研究共纳入100例健康血清、100例ANA阴性血清、100例ANA阳性血清（非DFS核型）及100例ANA阳性血清（DFS核型）。共纳入6种不同检测方法试剂，包括免疫荧光实验（DFS70敲除的HEp-2基质）、免疫印迹实验（欧盟）、酶联免疫吸附实验（MBL、欧盟）、化学发光法（沃芬），以及酶联免疫荧光实验（赛默飞）。

本研究结果表明DFS70特异性抗体阳性检出一致率较差，其中欧盟免疫印迹实验阳性检出率最高（94%），而基于DFS70敲除HEp-2基质的免疫荧光法灵敏度最低（48%）。另外，针对不同方法之间结果的一致性表明：对于全部400例样本，各方法一致性率从88%到97%；而对于DFS核型样本，各方法一致性降低29%~96%。基于ROC曲线对酶联免疫荧光实验和酶联免疫吸附实验重新设置最佳阳性判断阈值后，其与其他方法结果一致性显著提高。因此厂家所提供阈值通常无法满足对临床样本的准确检测，各实验室基于临床样本设置最佳阈值是必要的。除此之外，本研究发现基于DFS70敲除HEp-2基质的免疫荧光实验阳性检出率或与其他方法的一致性较低，因此该方法不适合作为DFS70自身抗体的确认实验。

综上所述，本研究发现欧盟免疫印迹实验、化学发光实验以及酶联免疫吸附实验（MBL）三种方法检测结果与厂家宣称的性能指标一致，适合用于DFS70自身抗体的确认。本研究有助于指导临床医生和免疫病理实验室对检测方法的选择，推动自身免疫疾病患者的精准检测。

（国家卫生健康委临床检验中心 王铎 李金明 编译）
（DOI：https://doi.org/10.1016/j.pathol.2022.07.010 IF：5.335）

肌炎特异性自身抗体 ELISA 和免疫沉淀方法比较

【据《Frontiers in Immunology》2022年9月报道】题：肌炎特异性自身抗体ELISA和免疫沉淀方法比较（英国皇家国立风湿病医院 作者Aravinthan Loganathan等）

肌炎特异性自身抗体检测是准确诊断特发性炎症性肌炎的重要标志物，包括抗Mi2抗体、抗MDA5抗体和抗氨基酰tRNA合成酶（anti-aminoacyl tRNA

Synthetase, ARS）抗体等。免疫沉淀被广泛认为是检测特发性炎症性肌炎的参考标准，然而执行和解释免疫沉淀结果方面的专业人员和专业设施等需求限制了免疫沉淀的广泛使用。商用免疫分析方法如ELISA检测肌炎特异性自身抗体具有高灵敏度，并且通过自身抗体的滴度水平，可能可以为临床医生提供一种评估疾病活动度的方法，然而重组蛋白纯化

差、蛋白表达和稳定性的缺乏增加了ELISA检测时的假阳性风险。因此，本研究的主要目的是以免疫共沉淀作为参考标准，在欧洲人群中评价商业ELISA免疫分析法检测肌炎特异性自身抗体的可靠性。

ARS抗体对ELISA检测的灵敏度和特异度分别为98.6%和99.1%，总体ARS抗体的推荐新分界值22.2 AU与目前使用的分界值25 AU相似。总之，研究结果表明：①ELISA和免疫共沉淀之间具有非常好的一致性，与免疫共沉淀



研究在设计时将变异系数大于20%的样品排除在最终的分析之外，共计纳入了225份健康对照组血清样本和109份肌炎特异性自身抗体组血清样本，所有样本经免疫沉淀确认后用ELISA重复检测，并根据预先设定的吸光度临界值作为阳性结果判断标准。主要的研究结果显示：①与免疫共沉淀相比，抗Mi2抗体对ELISA的灵敏度和特异度分别为94.7%和100%，推荐的新分界值34.3 AU小于目前使用的分界值53 AU。②与免疫共沉淀相比，抗MDA5抗体对ELISA的灵敏度为80%，特异度为100%，推荐的新分界值为6.7 AU小于目前使用的分界值32 AU。③总体

相比在ELISA上检测自身抗体的Cohen's Kappa值范围为0.86~1.00。②虽然推荐的新分界值与目前使用的分界值相比并没有明显改变大多数ARS抗体的灵敏度和特异度，但对于Mi2和MDA5，降低分界值会提高ELISA检测的灵敏度，而仅会略微降低检测MDA5时的特异度。

因此，研究表明ELISA是一种检测肌炎特异性自身抗体的可靠方法，并且使用不同的分界值可以在一定程度上提高欧洲人群ELISA分析的灵敏度和特异度。

（国家卫生健康委临床检验中心 封婉玉 李金明 编译）
（DOI：10.3389/fimmu.2022.9759391613 IF：8.786）

公益广告



多重磁珠血清抗体 检测急性霍乱弧菌感染

【据《Microbiology》2022年11月报道】题：多重磁珠血清抗体检测急性霍乱弧菌感染（约翰霍普金斯大学布隆伯格公共卫生学院 作者Forrest K. Jones等）

霍乱是全球公共卫生威胁。霍乱弧菌的第七大流行菌株（产毒血清群O1，El Tor生物型）是大多数霍乱病例的罪魁祸首。一些国家为了减少霍乱病例和死亡人数进行增加霍乱疫苗和对水和卫生基础设施的投资。

确诊霍乱基于临床的急性水样腹泻综合征监测，送检实验室进行鉴定。当进行实验室确认时，不到50%的疑似霍乱病例通过培养可检测到霍乱弧菌，不同环境中差异大。由于大多数霍乱弧菌感染导致轻微/无症状，临床监测仅检测到一小部分感染。临床监测系统也会受到与个人是否就诊和监测系统设计相关的偏差的影响。因此，仅凭临床监测对霍乱弧菌的传播提供了不正确的理解。

高通量血清学多重磁珠测定（high-throughput serological multiplex bead assays, MBAs）的进展使其能够用于研究多种病原体的风险和动态，且测定只需要少量血清，具有敏感、易标准化的优势，有助于广泛探索可能与先前暴露或免疫相关的新抗原。本研究评估用

MBA中使用预测急性霍乱感染的方法。

感染O1型霍乱弧菌患者的血清中会存在持久的抗体，有7种霍乱抗原的感染后抗体可进行监测，这些抗原包括Ogawa OSP、Inaba osp、CT-B、CT-H、Sialidase、TcpA、VCC，对应产生确认感染霍乱患者的O1型霍乱弧菌IgA、IgG、IgM特异性抗体的水平急剧升高，随后出现了变化。抗CT-B、抗CT-H、抗稻叶OSP和抗小川OSP抗体中，观察到IgA峰值测量中值为8天，IgM峰值测量中值在8~63天，IgG峰值测量中值是25~33天，IgA、IgG、IgM这些抗体可用于根据横断面血清学数据估计感染发病率。本研究开发一种MBA来测量对霍乱弧菌感染的抗体反应，识别急性感染，从而估计血清发病率。在霍乱患者中，MBA测定的抗OSP和抗CT-B抗体升高的幅度和持续时间比用ELISA测量的反应高。因其准确性和可扩展性，使用霍乱弧菌抗原MBA可增加全球霍乱血清发病率数据并且可以纳入多病原体血清监测系统，而无需使用传统的血清学分析的组合，方便快捷。

（首都医科大学附属北京同仁医院
康敏 鲁辛辛 编译）

（DOI：10.1128/mbio.01900-22
IF：8.9）

新型隐球菌种群的基因组变异与预后有关

【据《Microbiology》2022年11月报道】题：新型隐球菌种群的基因组变异与预后有关（麻省理工学院布罗德研究所和哈佛大学 作者Poppy Sephton-Clark等）

新型隐球菌（*C. neoformans*）是一种致病性酵母样真菌，隐球菌感染是获得性免疫缺陷综合征（AIDS）成人死亡的主要原因之一。尽管抗反转录病毒疗法广泛推广，但因机会性感染（如隐球菌性脑膜炎）导致的死亡人数仍然很高。*C. neoformans*通常呼吸道进入人类宿主。由于肺部感染，*C. neoformans*可能在易感患者的血液和中枢神经系统中传播，导致危及生命的脑膜炎。为了改善患者的预后和开发新的治疗方案，有必要了解菌株的毒力和宿主体内的适应性表型。多数隐球菌病病例是由*C. neoformans grubii*引起，且临床种群中通常存在遗传多样性，相同MLST分型的菌株也会导致患者由轻到重不同程度的感染。了解*C. neoformans*分离株之间的遗传变异如何影响患者的感染结果，对同一谱系的临床分离株进行了全基因组关联研究。

从马拉维的三家医院收集2013—2016年期间的344株菌株进行了全基因组测序，基于分离SNP位点建立了最大似然系统发育，分为VNI、VNII

和VNB基因型三个谱系，VNI基因型分为VNIa、VNIb。不同谱系间的结果比相似（log-rank检验，*P*值为0.916），这表明在毒力上没有主要的谱系特异性差异。但是使用的VNB和VNII感染分离株数量少可能限制了我们在这里检测显著差异的能力。根据GWAS分析推测到一种功能蛋白CNAG_04102，有编码的菌株可以增加兔模型的死亡率；根据GWAS分析得到磷酸果糖激酶基因CNAG_06033，分析得出缺失CNAG_06033，在适应特定宿主方面发挥了作用。

综上，个体脑脊液中的高真菌滴度与患者死亡率密切相关，表明真菌滴度是死亡率的预测因素。关于编码糖酵解的基因CNAG_06033的菌株在致病力中也发挥了作用。GWAS方法使我们能够在缺乏额外功能或途径信息的情况下识别与毒力相关的假设蛋白质，利用RNA-Seq的其他系统研究也确定了编码假设蛋白质的基因。通过结合遗传、体外、临床数据和动物模型验证，本研究深入了解了自然发生的遗传变异的影响及其对感染结果的影响。

（首都医科大学附属北京同仁医院
康敏 鲁辛辛 编译）

（DOI：10.1128/mbio.02626-22
IF：8.9）

持续更新的耐药结核病的治疗： 成功、不足和未来前景

【据《Clinical Microbiology Review》2022年10月报道】题：持续更新的耐药结核病的治疗：成功、不足和未来前景（南非夸祖鲁-纳塔尔大学 作者Navisha Dookie等）

结核病是一种可怕的传染病，2020年WHO估计约1 000万人为活动性肺结核，其中13万人为利福平（RIF）耐药或耐多药结核病（RR/MDR-TB）。近年来，在耐药肺结核中最常见的为RR-TB，其对异烟肼（INH）或其他一线/二线治疗药物也普遍耐药。对喹诺酮类药物耐药的结核病成为耐药结核病前期（pre-XDR-TB），对贝达喹啉（BDQ）和利奈唑胺（LZD）耐药的肺结核被称为泛耐药结核（XDR-TB）。耐药结核分枝杆菌的传播是获得MDR-TB的主要形式。DR-TB的治疗从18~20个月的长期注射方案到全程口服治疗已经取得了巨大的进步。在最近批准的6~9个月联合用药方案已是DR-TB治疗史上重大突破。

本综述概述了患者对新药和方案治疗效果，探索了支持当前方案选择和持续时间的证据，强调了需继续改进治疗方法和寻找快速生物标志物以监测治疗效果的重要性。

新一代抗菌药物主要为贝达喹啉（BDQ）、德拉马尼德（DLM）和普雷托马尼德（PTM）。BDQ为WHO推荐用于治疗RR/MDR-TB的一线药物。该药物的作用范围窄，仅限于分枝杆菌属，是该药物的理想特性之一。最新的meta分析显示使用BDQ的患者痰培养转阴时间显著缩短，患者的死亡率下降，长期预后（治疗后24个月）有显著改善，同时安全问题也得到了明显解决。DLM和PTM的细菌清除率与二线注射剂类似。DLM200 mg，Q12治疗8个月临床效果改善最明显。PTM具有剂量依赖的杀菌活性，PTM在BDQ-PTM-MXF-PZA（BPaz）方案中增加了组合的整体杀菌活性，显示出更快的结合清除率。

氯苯酚嗪和利奈唑胺可重新利用于新的治疗方案中。氯苯酚嗪对结核杆菌具有杀菌作用。它可在继续治疗阶段代替毒性强的硫代酰胺，有效弥补其疗效的损失。与BDQ一样，该药的耐药性与*Rv0678*基因的突变有关，所以两种药物的交叉耐药是一个主要问题。LZD在600 mg/d给药时，安全性最高并且保持了高杀伤活性，因此，WHO建议在最近批准的BPaL和BPaLM

下转第7版▶

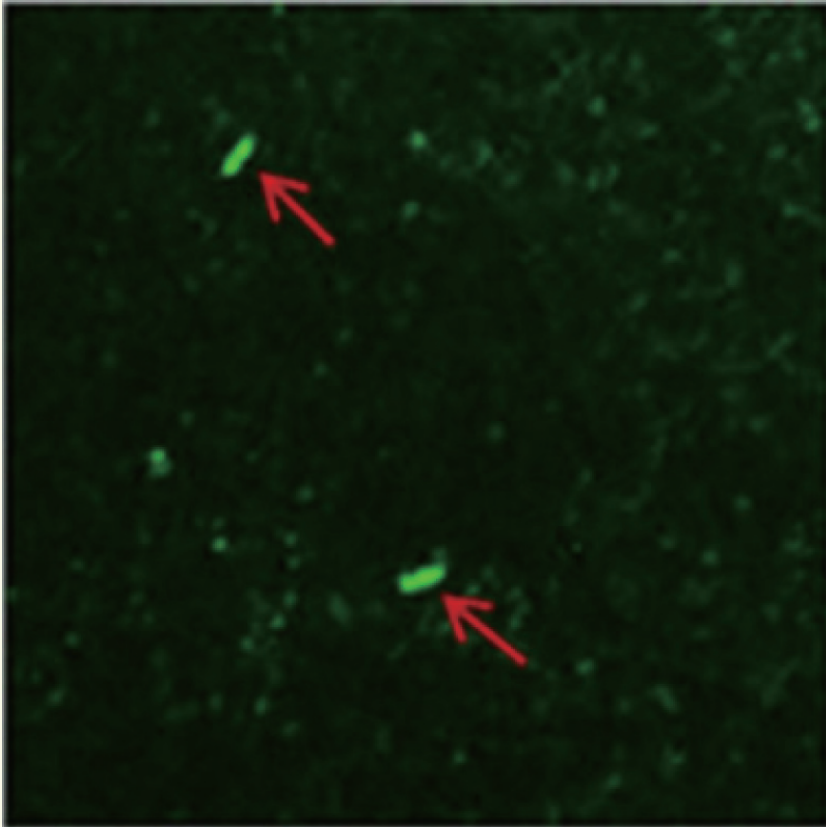


图1 荧光显微镜下的结核分枝杆菌（×40）

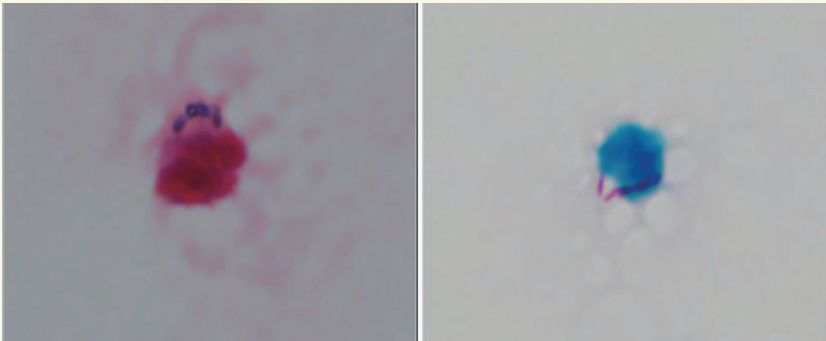


图2 革兰染色：被中性粒细胞吞噬的结核分枝杆菌（×1 000）Ziehl-Neelsen 染色：被中性粒细胞吞噬的结核分枝杆菌（×1 000）

疑似乳腺癌软脑膜转移患者脑脊液中循环肿瘤细胞检测

【据《Clinical Chemistry》2022年10月报道】题：疑似乳腺癌软脑膜转移患者脑脊液中循环肿瘤细胞检测（法国蒙彼利埃大学 作者Amélie Darlix等）

5% ~ 19%的患者会发生实体瘤的脑膜转移（LM），其中乳腺癌（BC）是最常见的癌种之一。与脑膜内转移相似，LM的发生率似乎在增加，因为转移性BC患者的生存期更长，而且治疗药物在中枢神经系统的

扩散性很差。有脑神经或脊神经受累的头痛的患者可能患有LM。要进一步确诊，两个关键检查是脑脊液（CSF）样本的常规细胞学检查和脑及髓核磁共振成像（MRI）。然而，MRI对LM诊断的临床敏感性仍然很差。因此，诊断的金标准是基于用常规细胞学检测CSF中的肿瘤细胞。CSF样本量必须至少为3 ml，分析必须迅速进行，因为90%的肿瘤细胞在CSF取样后90分钟内被破坏。

即使有最佳的CSF样本量和分析时间，该技术的效率也是有限的，需要重复采样。一个CSF样本的临床敏感性约为45%，连续3个CSF样本的临床敏感性为85%。此外，这种技术只能进行定性分析（即CSF中是否存在肿瘤细胞），而不能对肿瘤细胞数量进行定量评估。

因此这项前瞻性、单中心研究纳入了疑似BC相关LM的成年患者，采用CellSearch系统定量检测了脑脊液中循环肿瘤细

胞（CTC），分析其对LM诊断的临床敏感性和特异性, 以及评估了原发性BC组织样本与脑脊液CTC之间HER2表达的一致性。

此研究共纳入49例符合条件的患者，其中40例可进行评估。在18例细胞学检查呈阳性的患者和5例细胞学检查阴性的患者中检测到CTC。以1个CTC为截断值时，脑脊液CTC的检测与LM诊断的临床敏感性为100%，特异性为77.3%。在40.6%的HER2⁺ BC患者的脑脊

液中检测到HER2⁺ CTC。

综上，检测脑脊液中CTC的临床敏感性高于脑脊液细胞学检测。然而，细胞学阴性患者的CTC检测还需要进一步研究。在HER2⁺BC患者中发现HER2⁺CTC，提示应评估LM的HER2状态，以增加这些患者的治疗机会。

（中国医学科学院肿瘤医院 吴宇欣 崔巍 编译）

（DOI: 10.1093/clinchem/hvac127. IF: 12.167）

冠状动脉疾病和主动脉瓣狭窄：

尿液蛋白质组学研究

【据《International journal of molecular sciences》2022年11月报道】题：尿液蛋白质组学可以识别冠状动脉疾病和主动脉瓣狭窄的诊断生物标志物（葡萄牙阿威罗大学 作者Luís Perpétuo等）

冠状动脉疾病（CAD）是全球第三大死亡原因。通常与CAD并存的是主动脉瓣狭窄（AVS），这是老年人最常见的瓣膜性心脏病。在接受手术或经导管瓣膜置换术的患者中，超过60%的患者也有CAD。此外，CAD和AVS有相似的病理生理学，都是由内皮功能障碍引发的慢性炎症过程，内皮功能障碍可由压力、遗传因素、慢性感染或高胆固醇血症引起的疾病。AVS和CAD在疾病的早期阶段临床上缺乏症状，往往在晚期才被发现。AVS和CAD的金标准诊断方法包括超声心动图、心脏计算机断层扫描和磁共振成像，此外还有仅针对CAD的冠状动脉造影。有时在筛查AVS时，CAD的诊断是偶然的，特别是在无症状的患者中。因此人们迫切希望对CAD/AVS的诊断进行预测，以预防并发症并改善患者的预后。尿液蛋白质组学可以是一个新兴的检测方案，因其蛋白质浓度的动态范围较低，收集更容易，无创，量大，且蛋白质组更稳定。

研究者旨在描述CAD/AVS患者的尿液蛋白谱，寻求识别这些基于动脉粥样硬化的病症所共有的候选生物标志物，期望在不久的将来通过检测尿液实现对CAD/AVS早期诊

断。首先在手术或其他治疗干预前收集尿液样本，对12名CAD/AVS患者和11名对照组的尿液进行了蛋白质组学的探索性分析，以确定将这些疾病与健康受试者区分开来的假定候选物。在前20个表达差异变化的蛋白中，TIMP1、MMP2和vWF脱颖而出，在CAD/AVS患者中至少增加了2.5倍，并在蛋白-蛋白相互作用的网络中占据了核心位置。此外，在一个独立的队列中（19个CAD/AVS和10个对照组），通过免疫印迹分析，对TIMP1、MMP2和vWF尿水平的相对定量检测，发现在疾病和对照组之间这些蛋白没有发现显著差异，但TIMP1和高密度脂蛋白（HDL）、vWF和HDL之间存在两个强烈显著的正相关关系。

综上所述，研究人员通过质谱技术分析尿液蛋白组学，首次揭示了CAD/AVS患者尿液蛋白质组的特征，旨在识别动脉粥样硬化性疾病的常见生物标志物。在前20个表达差异变化最大的蛋白中，TIMP1、MMP2和vWF形成了蛋白-蛋白相互作用网络的中心节点，被认为是潜在有诊断价值的标志物。然而这几种蛋白在一个独立的队列中利用免疫印迹方法验证无差异，可能表明在肽水平上有特定的不同差异，而不是尿液中完整的蛋白。

（中国医学科学院肿瘤医院 吴宇欣 崔巍 编译）

（DOI：10.3390/ijms232113579. IF：6.208）

尿液中可溶性CD163分子

用于诊断和评估狼疮性肾炎

【据《Frontiers in Immunology》2022年7月报道】题：尿液中可溶性CD163分子可以用于诊断和评估狼疮性肾炎（中国台湾长庚大学 作者Yun-Ju Huang等）

狼疮性肾炎（LN）是系统性红斑狼疮（SLE）一种严重并发症，SLE是一种自身免疫性疾病，超过50%的SLE患者患有肾脏疾病。目前对于LN的组织学分类，缺乏足够特性和灵敏度的标志物。CD163是一种 I 型糖基化跨膜蛋白，尿可溶性CD163（usCD163）与LN的严重程度相关。本研究目的是评估尿可溶性CD163作为LN潜在生物标志物的价值，并研究了其与临床特征、检验指标和疾病活动性的相关性。

此研究共纳入了261例系统性红斑狼疮患者，其中95.4%为女性。作者记录了患者用药情况，肌酐、usCD163、抗双链DNA抗体水平、补体C3和C4水平。作者将患者分为高usCD163组和低表达usCD163组。结果表明，前一组患者更年轻，住院率更高，霉酚酸钠使用率更高，泼尼松龙剂量更高。并且他们的脓尿、血尿、贫血、中性粒细胞减少和淋

巴细胞减少的发生率更高，具有较高的炎症标志物及抗双链DNA抗体水平，此外，高usCD163组患者的SLEDAI-2K评分较高，其尿usCD163/肌酐比值也较高。慢性肾小球硬化指数与尿中高usCD163和高usCD163/肌酐比值相关，且具有临床意义。结果显示系统性红斑狼疮患者中，usCD163水平与UPCR水平，anti-dsDNA抗体水平，SLEDAI2K和rSLEDAI分数相关。另外，usCD163/肌酐比值与UPCR SLEDAI-2K和rSLEDAI分数也具有一定的相关性。具有统计学意义。低usCD163组慢性肾脏病（CKD）I 期和II 期的相对比例高于高usCD163组。高usCD163组中CKD II – V 期的相对比例高于低usCD163组。结果表明，usCD163较高的SLE患者往往具有较高的CKD分期。

综上所述，肾脏SLE与疾病活动性之间的强相关性表明usCD163是LN的一个有前途的生物标志物。

（中国医学科学院肿瘤医院 吴宇欣 崔巍 编译）

（DOI：10.3389/fimmu.2022.935700. IF：8.786）

◀上接第 6 版

方案中使用600 mg的LZD。

短期治疗是近期结核领域的重大创新。在治疗DR-TB方面的第一个重大创新是引入9 ~ 12个月的短疗程方案。其中包括4 ~ 6个月的强化治疗阶段和5个月的继续治疗治疗阶段。另一重大创新是推荐了第一个全口服无注射的长期治疗方案，在此方案中BDQ取代了二线注射药物，大大改善了RR/MDR-TB患者的生存率。在进行6个月的BP&L方案时，80%的患者报告了与LZD毒性有关的不良事件，但可通过减少药物剂量控制不良事件的发生。

近年来，越来越多的科学家致力于对普通药物进行改造以适合特殊人群的使用。特殊人群的结核病临床管理是主要针对儿童、青少年、孕妇和艾滋病患者的个性化治疗。目前，儿童结核病短期治疗（SHINE）试验取得了巨大的成功。在最新的WHODR-TB指南中，BDQ被推荐作为儿童口服治疗方案的一部分。此外，BDQ、DLM还可包括在6 ~ 17岁患者的治疗方案中。

需要继续探索的领域主要包括八个方面。DR-TB方案的组成、大剂量INH在治疗中的作用、乙胺丁醇和吡嗪酰胺的作用、抗菌异质耐药性、广泛的空洞性疾病和空洞内药物浓度梯度、个性化与标准化的治疗方法、异烟肼单抗的检测和治疗方案和宿主

引导疗法。

当前存在问题主要分为三大类。新出现的BDQ的耐药、DLM的耐药性和缺少评估DR-TB治疗反应的生物标志物。某些趋化因子和炎症标志物被确定为评价MDR-TB患者治疗效果生物标志物。但预测复发仍需要一种能够量化杀菌药物的活性和残余结核分枝杆菌亚群生存情况的生物标志物。

新抗菌药物的引入和重新设计的药物来加强新的治疗方案，在减少与DR-TB治疗相关的毒性和治疗时间方面取得了巨大的进展。此外，另一个重大进展是引入了短程治疗方案来治疗MDR-TB。该方案最近过渡到全口服方案，大大改善了RR/MDR-TB患者的治疗效果和依从性。其他正在进行的研究目的是减少治疗时间和药物毒性。个性化的治疗方法可能会提供更好的治疗效果，然而，对于资源有限的国家来说是一个巨大的挑战。新的核心药物应仅用于确定的治疗方案，以防止耐药性持续上升。此外，缺乏监测治疗反应的生物标志物，如治疗失败或复发的预测，是未来研究的主要方向。

（首都医科大学附属北京同仁医院 吴昱莹 鲁辛辛 编译）

（DOI: 10.1128/cmr.00180-19 IF：17.3）

基于动态网络生物标志物的网络检测工具——临界点检测器（TPD）

【据《Brief Bioinform.》2022年9月报道】题：TPD：一种基于动态网络生物标志物的临界点网络检测工具（中国华南理工大学数学学院 作者Pei Chen等）

生物系统的动态变化是一个连续过程，存在于某个器官或整个生物体的微环境和大环境中，并涉及大量生物分子之间的复杂调控。为了探索复杂疾病的微观机制，研究人员基于动态网络生物标志物（DNB）开发了网络工具——

临界点检测器TPD，用于检测临界点和分析已确定的动态网络生物标志物。

TPD提供了三种不同的方法来检测临界点，即用于大量数据集的传统动态网络生物标志物（CDNB）和单样本景观熵（SLE），以及用于单细胞RNA测序（ScRNAseq）数据集的单细胞熵（SGE），它们使用特定方法的综合指数（CI）来定量识别每个候选临界点。在接收到输入数据和选项后，临界点检测器输出各种

可视化结果。

结果显示，对于批量数据，TPD输出CI随时间变化的分数，CI曲线被可视化，它通过显著的*P*值指示上传数据集，识别动态系统的临界点。采用SLE分析结果，CI曲线以*P*值显著性表示上传数据的临界点，基于动态网络生物标志物理论，选取了在临界状态预警信号检测中起关键作用的显性基因。TPD输出这些基因网络的动态进化。用户可以从查询这些基因的CI值和相关的生

物学描述。如果上传了临床信息，TPD还会输出关键基因的生存分析结果，我们可以观察到低CI值和高CI值患者的生存时间有显著差异。对于scRNA-seq数据，TPD输出平均熵曲线，该曲线可以指示该数据集的临界点及显示相应的*P*值。TPD可说明基于标记基因的细胞比例、UMAP和基于所有信号基因或每个特定基因的细胞等级聚类。

总之，本研究所提出的网络工具TPD能够快速检测临界

点、准确识别信号、关键分子及其动态网络。鉴于临界点识别的有效性，TPD有望为学术和临床领域的用户提供支持。同时，与动态预测方法相结合，不仅可以基于组学数据检测临界状态的早期预警信号，还可以揭示动态差异信息，为生物系统在临界点附近的关键属性提供新的见解。

（哈尔滨医科大学附属第四医院
逯优美 姜晓峰 编译）
（DOI:10.1093/bib/bbac399
IF:13.994）

应用动态网络生物标志物识别急性心肌梗死早期预警关键基因

【据《Front Immunol.》2022年6月报道】题：基于加权基因相关网络分析和动态网络生物标志物算法的急性心肌梗死早期预警关键基因识别（中国协和医科大学阜外医院 作者Chenxi Song等）

稳定型冠心病（CAD）向急性心肌梗死（AMI）进展的具体机制和生物标志尚不清楚。传统的生物信息学方法主要是比较疾病与正常状态的分子特征，对病前状态的检测能力较差，难以预测疾病的发生或恶化。为此，本研究旨在通过动态网络生物标志物（DNB）分析稳定型冠心病不

同阶段外周血单核细胞的转录组测序数据，综合不同的算法探索与其进展相关的新的基因生物标志。

本文纳入了24例不同CAD病程阶段的患者：8例患者冠状动脉造影正常（NCA组），8例中等病变（IML组），8例AMI患者（AMI组）。进行外周血单核细胞RNA转录组测序，分析差异表达基因（DEG）。应用加权基因相关网络分析（WGCNA）将基因划分为几个具有相似性的基因模块表达谱，并进行相关分析以探讨每个基因模块与临床特征的相关性。应用DNB找到推进疾病进

展的关键基因。最后，探索不同分析方法之间的重叠基因。

结果显示，各组之间的基因表达谱差异显著。NCA和IML组之间、AMI和NCA组之间、AMI和IML组之间分别有DEG192个、2 269个DEG、385个。WGCNA分析共发现9个基因模块，其中2个模块与CAD分期呈正相关。GO富集分析表明，这两个基因模块中的基因生物学功能与炎症反应密切相关。DNB分析共发现103个基因可能在动脉粥样硬化斑块的进展中起关键作用。GO-BP富集的前3个途径包括调节Janus激酶活性的激活、调节细胞黏附

和负调控蛋白水解。

WGCAN与DNB分析的重叠基因鉴定出以下13个可能在动脉粥样硬化疾病进展中起关键作用的基因：*SGPP2*、*DAZAP2*、*INSIG1*、*CD82*、*OLR1*、*ARL6IP1*、*LIMS1*、*CCL5*、*CDK7*、*HBPI*、*PLAU*、*SELENOS*和*DNAJB6*。上述基因中有些已报道与动脉粥样硬化的发生或发展密切相关。

本文的亮点在于采用动态网络生物标志，来检测复杂生物过程中的关键转折点。这种算法可以识别小样本的关键过渡阶段。而局限性包括两方面：①由于目前的研究是一项

回顾性研究，需要进一步的研究来验证关键基因是否可以预测前瞻性队列中的不良事件；②由于本研究基于高通量测序数据，因此需要基于qPCR方法对基因表达水平进行定量验证。

综上，本研究总共确定了13个基因可能在动脉粥样硬化斑块的进展中起关键作用，并为早期预警生物标志物和CAD进展的潜在机制提供了新的见解。
（哈尔滨医科大学附属第四医院
杜雪飞 姜晓峰 编译）
（DOI：10.3389/fimmu.2022.879657
IF：8.7864）

罕见病与未诊断疾病诊疗研究的前沿和挑战

【据《Fundamental Research》2022年11月报道】题：罕见病与未诊断疾病诊疗研究的前沿和挑战（中国国家自然科学基金健康科学部、哈尔滨医科大学组织胚胎学系 作者Zhiyan Shan等）

罕见和未确诊的疾病往往具有多样性、误诊、诊断困难等特点。在某些情况下，该疾病会进展并危及生命。罕见和未确诊的疾病被认为是理解人类疾病的最终挑战。这篇文章主要内容是对罕见病和未确诊疾病相关的研究进展、研究前沿和重要科学问题作一综述。

受到二代测序技术的限制，以往对罕见病的研究主要集中在在编码区的单碱基突变或

拷贝数变异。目前，多组学数据的整合分析反映了复杂疾病的复杂性，为分子病因学提供了新的见解。与罕见病和未确诊疾病管理相关的关键科学问题是确定新的致病基因和新的变异，揭示罕见病和未确诊疾病的致病和分子机制、潜在的基因型和表型关联。

罕见病的细胞和类器官模型中诱导多能干细胞（iPSC）是目前最有前途的工具之一；动物模型在识别致病基因、揭示致病机制、识别药物靶点、筛选和验证治疗药物是必不可少的。半克隆技术中的雄激素源性单倍体胚胎干细胞为鉴定致病性遗传变异提供了一种快速有效的实验方法。目前关键的科学问题在于系统地建立疾

病特异性诱导多能干细胞和高效率的动物模型。这将有助于概括罕见和未确诊的人类疾病，扩大基因编辑的细胞和动物模型的生产，并为筛选致病基因、致病机制和药物开发提供一个重要的研究平台。

罕见疾病通常在早期表现出高度的表型异质性和不明显的综合征，因此，它们不可避免地阻碍了诊断和治疗。而建立基因型-表型相关性是罕见病分型和诊断的重点。亚型和诊断的关键是通过利用多组学数据集，重塑表型-基因型驱动的诊断模式，并开发个性化和准确诊断罕见和未诊断疾病的复杂分子机制。

罕见和未确诊疾病的发病机制是复杂的。目前，新疗法

已经推动了罕见和未确诊疾病的发展。为了满足罕见病临床诊断的需要，迫切需要探索新的治疗靶点，开发新的治疗药物，优化基因治疗技术，同时建立创新技术平台，开发原始基因治疗、细胞治疗技术和靶向监管技术。

网络生物标志物作为生物学特征在稳定性和准确性方面的优势被重点陈述，该方法可以通过识别波动特征、定量检测过渡前状态、作为有效的预警信号、提供可行的预警理论和方法来预测临界过渡。这可能是一个潜在的切入点，突破传统的观念，调查复杂的疾病。同时作者提到了生物分子特异性修饰（如糖基化）的诊断价值。总之，新技术和新

方法的发展对于研究罕见和未确诊疾病至关重要。跨学科系统将进一步加快新技术和创新研究范式的建立，阐明致病机制，最终提高相应疾病的精确诊断和治疗。

最后本文作者指出多学科和跨学科合作对于罕见和未确诊疾病的研究至关重要。并鼓励研究人员：①利用丰富的临床资源，发现新的罕见和未确诊疾病的致病基因和变异体。②应用合适的细胞和动物模型阐明基因型和表型。③筛选新的诊断治疗指标，建立诊断治疗模式。
（哈尔滨医科大学附属第四医院
张心宇 姜晓峰 编译）
（https://doi.org/10.1016/j.fmre.2022.08.018. IF：新杂志）

医学参考报检验医学专刊长期合作伙伴

