中国临床医学
Chinese Journal of Clinical Medicine
ISSN 1008-6358
CN 31-1794/R

基因检测在精准医疗中的应用与管理

侯英勇, 钱梦佳, 程韵枫, 郭玮, 彭明婷, 肖艳群, 王向东, 顾建英

引用本文:
侯英勇,钱梦佳,程韵枫,郭玮,彭明婷,肖艳群,王向东,顾建英. 基因检测在精准医疗中的应用与管理[J]. 中国临床医学, 2022, 29(1): 7–10.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12025/j.issn.1008–6358.2022.20212549

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

精准药学在特发性膜性肾病中的应用进展

Application progress of precision pharmacy in idiopathic membranous nephropathy

中国临床医学. 2021, 28(2): 305–309 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008–6358.2021.20200884

可穿戴设备在呼吸系统疾病中的应用现状与展望

Application and prospect of wearable devices in respiratory diseases

中国临床医学. 2021, 28(6): 919–924 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008–6358.2021.20210361

基于基因组学的前列腺癌临床精准诊疗研究进展

The research progress of precision medicine for prostate cancer based on genomics

中国临床医学. 2018, 25(2): 290–295 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008–6358.2018.20170673

宏基因二代测序技术对脊柱感染病原学诊断的价值

Etiological dignostic value of metagenomic next–generation sequencing in spinal infection

中国临床医学. 2020, 27(4): 567–571 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008–6358.2020.20200987

人工智能在神经介入诊疗中的应用前景

Application prospect of artificial intelligence in interventional neuroradiology

中国临床医学. 2020, 27(5): 727–729 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008–6358.2020.20200276

DOI：10.12025/j.issn. 1008-6358. 2022. 20212549

·专家述评·

基因检测在精准医疗中的应用与管理

侯英勇[1]，钱梦佳[2]，程韵枫[2,3]，郭　玮[4]，彭明婷[5]，肖艳群[6]，王向东[2]，顾建英[7*]

1. 复旦大学附属中山医院病理科，上海　200032
2. 复旦大学附属中山医院临床医学研究院，上海　200032
3. 复旦大学附属中山医院血液科，上海　200032
4. 复旦大学附属中山医院检验科，上海　200032
5. 北京医院国家卫生健康委临床检验中心，北京　100005
6. 上海市临床检验中心，上海　200126
7. 复旦大学附属中山医院整形外科，上海　200032

引用本文　侯英勇，钱梦佳，程韵枫，等. 基因检测在精准医疗中的应用与管理[J]. 中国临床医学，2022，29(1):7-10. HOU Y Y, QIAN M J, CHENG Y F, et al. Application and management of gene detection in precision medicine[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine,2022,29(1):7-10.

［**摘要**］ 随着现代医学的发展，基因的序列信息逐渐成为临床疾病分子诊断精确的判定依据，基因检测技术也在精准医疗领域逐步推广。通过精准医学、检验医学、病理学等领域专家共同探讨基因检测在精准医疗中的应用与管理，本文明确了基因检测在精准医疗领域中的应用方法，也对基因检测每一步骤的质量控制及改进优化提出了建议，为从事精准医疗检测的实验室提供参考，进而更好地为患者服务。

［**关键词**］ 基因检测；精准医疗；管理

［**中图分类号**］ R 446.9　　［**文献标志码**］ A

Application and management of gene detection in precision medicine

HOU Ying-yong[1], QIAN Meng-jia[2], CHENG Yun-feng[2,3], GUO Wei[4], PENG Ming-ting[5], XIAO Yan-qun[6], WANG Xiang-dong[2], GU Jian-ying[7*]

1. Department of Pathology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
2. Institute of Clinical Science, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
3. Department of Hematology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
4. Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
5. National Center for Clinical Laboratories, Beijing Hospital, Beijing 100005, China
6. Shanghai Center for Clinical Laboratory, Shanghai 200126, China
7. Department of Plastic Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

［**Abstract**］ With the development of medicine, the information of gene sequence has gradually become the basis of accurate molecular diagnosis for many diseases, and the technology of gene detection has been gradually promoted in the precision medicine. The experts in precision medicine, laboratory medicine, pathology, and other related fields discuss the application and management of gene detection in precision medicine, and put forward proposals for the quality control, improvement and optimization of each step of gene detection methods. The target of this paper is to provide reference for all laboratories engaged in precision medicine, so as to better serve the patients.

［**Key Words**］ gene detection; precision medicine; management

［**收稿日期**］ 2021-11-10　　［**接受日期**］ 2022-01-27

［**基金项目**］ 国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项课题（2017YFC0910003）. Supported by National Key R&D Program of China (2017YFC0910003).

［**作者简介**］ 侯英勇，博士，主任医师、博士生导师. E-mail：hou.yingyong@zs-hospital.sh.cn

* 通信作者（Corresponding author）. Tel: 021-64041990，E-mail：gu.jianying@zs-hospital.sh.cn

基因是指具有遗传效应的脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA）片段。其结构、功能等与生命体的各项体征密切相关。随着现代医学的发展，基因序列信息逐渐成为临床疾病分子诊断精确的判定依据。基因检测技术为运用各种分子生物学方法，并结合生物化学、遗传学、临床医学、信息学等多学科综合研究、解密基因这一生命密码的基本手段。鉴于基因检测技术已逐步推广，经病理学、检验医学、精准医学等领域的专家共同探讨后，本文概述了基因检测在精准医疗中的应用与管理。

1 基因检测的应用

1.1 聚合酶链式反应 聚合酶链式反应（PCR）是一种酶促化学反应，可将待测目的基因在很短的时间内扩增50万倍乃至上百万倍，提高了基因诊断的灵敏度，降低了分析难度。常规PCR平台可应用于检测单核苷酸多态性、基因点突变或缺失、杂合型缺失及甲基化等。实时荧光定量PCR可应用于各型肝炎、艾滋病、禽流感、结核、性病等传染病诊断和疗效评价，也可用于单核苷酸多态性、基因点突变或缺失、杂合型缺失及甲基化等检测。扩增阻滞突变系统PCR（amplification refractory mutation system PCR，ARMS-PCR） 可实现对基因突变样本的高特异性和高灵敏度检测，通过荧光净升曲线和Ct（cycle threshold）值判读结果[1]。国家药品监督管理局已批准多款ARMS-PCR相关产品上市，以满足临床上对单基因及多基因联合检测的需求。数字PCR（droplet digital PCR，ddPCR）不依赖标准品或参考品而能直接定量目标基因拷贝数，可用于检测复杂背景下的目标基因序列，并高度耐受PCR反应抑制剂[2]。ddPCR技术可达到千分级甚至万分级的灵敏度，但检测通量较低。

1.2 荧光原位杂交 荧光原位杂交（FISH）是借助荧光探针标记基因序列以便于观察的检测技术[3]。FISH可以实现DNA片段与基因之间相对位置、方向的准确定位，可检测隐匿或微小染色体畸变及复杂核型，且费用较低，但判读主观性强，依赖于检测人员的实践经验，且通量较小。FISH可应用于基因组研究、染色体精细结构变异分析、人类产前诊断、肿瘤遗传学研究、病毒感染分析等。

1.3 一代测序 一代测序为采用双脱氧链终止法的经典测序技术。一代测序利用双脱氧核苷酸能参与DNA复制却因缺乏3′羟基而终止DNA合成的特性，在DNA合成反应体系中少量加入一种双脱氧核苷酸，该双脱氧核苷酸就会随机掺入新合成的DNA链中，使反应体系中产生长短不一的DNA链（这些DNA的3′端碱基即为该双脱氧核苷酸所含的碱基），最后进行4种含对应双脱氧核苷酸的DNA复制，将反应后的DNA通过聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，从下往上进行读序。一代测序读取碱基准确率高、重复性好，且测序成本较低，但同时检测灵敏度也较低、通量较小。Sanger测序平台可应用于基础生物学、生物技术、诊断等领域，如常见肿瘤用药相关靶基因突变检测、遗传性疾病相关基因检测、药物基因多态性检测，也可用于各型肝炎的基因分型和耐药位点的检测等。

1.4 二代测序 高通量测序又称为二代测序，能够对几十万到几百万DNA分子同时进行平行测序，然后通过生物信息学分析得到原始图像数据或电化学信号，最终得到待测样品的核酸序列或拷贝数等信息。二代测序的检测规模和通量大幅度提高，应用领域广泛。二代测序目前广泛应用于基因组DNA序列测定（微生物基因组测序、线粒体基因组测序等）和DNA扩增子测序等，得到的基因组信息丰富，并可进行变异分型和未知变异分析。

2 基因检测全流程质量控制管理

国家卫生健康委员会办公厅印发的新型抗肿瘤药物临床应用指导原则（2020年版）明确指出，对于有明确靶点的药物，须经靶点检测后方可使用。检测所用的仪器设备、诊断试剂和检测方法须获得国家药品监督管理局批准。因此，本文针对基因检测实施的各个环节，包括实验室人员配备、设备配置、环境准备、取样、核酸提取、文库制备、生物信息分析、报告解读等，制定全流程的质量控制基本要求。全流程质控的根本目的是减少错误的发生，从每个环节确保靶点检测结果的精准性。

2.1 实验室人员、设备与环境要求

2.1.1 实验室分区与规划 进行基因检测的场所一般由多间实验室组成，实验室根据执行的功能不同应有明确的区域划分，主要遵循4个原则。（1）

各区独立：实验室各个区域的物理空间及实际使用过程中，都应当处于完全分隔状态，并且各区域之间不能有空气的直接流通；（2）单一流向：基因检测通常涉及核酸纯化富集和产物扩增等过程，任何样本源性污染、扩增产物污染或气溶胶污染均可能导致假阳性结果出现，因此各实验区域间宜有一定的通风压力差，保证合理的空气流向，防止污染；（3）因地制宜，新建实验室除合理、规范外，也须易于管理；（4）方便工作：实验室区域选择及空间设计应尽可能方便日常检测工作，包括人员流动、大型仪器设备进出落地等。

2.1.2 *实验室资质要求* 临床开展基因检测首先需要有合理规范的检测实验室作为硬件支撑。临床实验室不是医院的检验科或病理科，而是所有为临床提供医学检验服务的实验室。《医疗机构临床实验室管理办法》对实验室的建设和规范提出了多项基本要求。此外，2010年发布的《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》对临床基因扩增检验实验室的设置、分区、仪器配备、人员培训等提出了规范化要求。检测技术涉及临床基因扩增技术时，实验室技术人员须通过相关技术理论与技能培训并取得临床基因扩增检测实验室人员上岗证。开展临床分子病理检测需要使用特定的检测试剂，同时需要进行有效监管。

2.2 *取样环节的优化与质控* 基因检测前阶段是指从临床医师开具医嘱至将所获样本进行保存的过程。该阶段涉及检验申请单的规范化填写，受检者信息采集和知情同意书签订，样本采集、运送、接收，核酸样本制备和保存等多个环节，是参与者身份最多最复杂的环节，因此需要严格要求流程中各环节人员遵守相关的规范化程序。

由于核酸的稳定性、结构完整性对检测结果有决定性影响，因此样本采集、运输和保存是分析前质量控制最重要的环节。用于检测的临床样本类型众多，包括手术切除或活检组织、胸腔积液、脱落细胞、外周血等，不同类型的样本处理和保存的方法不相同，应结合实际情况，确保用于检测的核酸样本满足质量控制要求。

2.3 *核酸提取的优化与质控* 用于提取DNA的肿瘤组织样本，应尽可能确定肿瘤细胞的百分比，选取以肿瘤细胞为主，且没有明显的坏死、黏液和炎性改变的组织进行检测[4]。核酸提取后，应进行质量评价：（1）采用紫外吸收法测定吸光度（260/280 nm处）的数值，通过数值大小判断DNA中是否存在RNA、蛋白质或提取过程残留试剂的污染；（2）采用荧光染料法特异性结合DNA测定其有效浓度，建议总量在20～40 μg或40 μg以上，以方便下游检测；（3）通过电泳法可以评估DNA长度（特别是游离DNA长度）是否符合预期要求，并通过条带分布的弥散性判断DNA降解程度。符合各项要求的DNA存于TE（TRIs-EDTA）溶液中待用或长期保存。

RNA的提取质控与DNA基本相同，须特别注意的是提取过程中要严格防止RNA酶对其降解，可采用高温灭菌处理的耗材及RNA保护剂保存RNA样本。

从各种类型样本中获取的核酸的质量是基因检测成功的关键因素，应综合核酸浓度、纯度、完整性、长度等因素进行质量分析，明确接受和拒绝标准。若质控失败，则应考虑重新提取甚至重新选择样本。

2.4 *文库制备的优化与质控* 基于二代测序技术的基因检测方法，需要对DNA样本进行一系列处理，制备可在相应仪器上进行检测的产物，通常称之为“文库”。文库制备方法对于所涉及的试剂、引物探针、实验条件都有明确的质量控制规范和要求，并且构建好的文库也需要进行浓度、长度等质量控制，明确接受和拒绝标准。例如：通过杂交捕获法建库时，首先需要通过超声、酶切等方式将基因组DNA处理成满足测序长度要求的小片段（游离DNA无需进行片段化），而片段化的DNA满足建库用量需求、长度符合预期是进行下游建库的质控前提。杂交捕获法适用于靶向基因测序，在目标基因富集过程中，受特定基因序列GC含量、重复区域、扩增偏好性的影响，可能产生部分非特异性的富集，这部分比例过高将降低目标区域的有效数据量，因此对引物探针的优化和校验尤为重要。

2.5 *生物信息分析流程的搭建与质控* 对于二代测序基因检测数据，需要结合生物信息学分析手段才能得到检测结果。由于生物信息分析手段多样，可选用的软件较多，并且不同检测流程的算法也有差异，实验室应根据实际分析流程制定严格的质控程序。

生物信息分析可分为测序数据的质控处理及过滤、质控合格序列的变异位点鉴定分析2个主要步骤[5]。实验室首先需要建立数据分析流程（pipeline）的标准操作规程，必须包含每次监测和评估运行性能的指标和质控参数，以及定期监测的指标和质控参数，可包括但不限于标准品的突变类型及百分比。生物信息分析流程建立后，需要采用已知变异类型和变异频率的标准品对其进行验证，评估其特异度和灵敏度是否达到实验室要求，并将验证结果签名后留底备案[4]。

实验室应记录生物信息分析过程中使用的软件和数据库的升级或版本更新情况，以保证生物信息分析的可追溯性和检测结果的再现性。应定义生物信息分析整体流程的版本号，当软件更新时进行记录，对更新后的流程重新进行性能确认并升级版本号，以便在检测记录中引用。此外，实验室需要建立一个异常记录文档，用来记录偏离生物信息分析标准流程的检测。

2.6 *报告解读的优化与质控* 基因检测完成后，需由相关专业人员出具真实可信的检测报告。报告中检测结果的解释由临床实验室负责，临床意义的解释由临床医师负责，分析后的质量控制主要为报告的正确解读[6]。

首先，报告内容应准确、清晰、明确和客观，不可掺杂虚假内容，包括采集到的患者详细信息、样本类型及质量情况、检测试剂性能和内容、检测平台及数据分析软件版本、原始结果、检测方法局限性、本次检测的质控参数信息、操作及复核人员和检测日期等信息都应详细注明[7]。建议在报告首页，针对报告内容作检测小结，可包括体细胞变异、胚系变异、具有临床意义变异、可能获益药物等信息，使临床医师能快速了解报告的核心内容。

其次，结果的解释应由相应专业人员进行书写。基因名称可参考HUGO基因命名委员会（HUGO Gene Nomenclature Committee，HGNC）。基因变异的书写格式可参考人类基因组变异协会（Human Genome Variation Society，HGVS）的建议；体细胞变异可参考分子病理学协会（Association for Molecular Pathology, AMP）、美国临床肿瘤学会（American Society of Clinical Oncology，ASCO）和美国病理学家协会（the College of American Pathologists，CAP）在2017年发布的肿瘤体细胞变异解释标准指南，报告各个检测到的变异位点及临床意义；胚系突变可参考美国医学遗传学与基因组学学会（American College of Medical Genetics and Genomics，ACMG）在2015年发布的遗传变异分类指南，对检测到的变异位点的致病性予以相应的临床解释[4]。

3 小 结

通过探讨基因检测在精准医疗中的应用与管理，明确基因检测应用方法，同时对基因检测每一步骤的质量控制及改进优化提出要求，希望能为所有从事精准医疗检测的实验室提供参考，进而不断提高及改进检测质量，更好地为精准医疗服务。

利益冲突：所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

[1] NEWTON C R, GRAHAM A, HEPTINSTALL L E, et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS)[J]. Nucleic Acids Res, 1989, 17(7):2503-2516.

[2] VOGELSTEIN B, KINZLER K W. Digital PCR[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(16):9236-9241.

[3] PRICE C M. Fluorescence *in situ* hybridization[J]. Blood Rev, 1993,7(2):127-134.

[4] 《临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识》编写组. 临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识[J]. 中华病理学杂志, 2017, 46(3): 145-148. Panel members of "expert consensus on next-generation sequencing in clinical molecular pathology laboratories". Expert consensus on next-generation sequencing in clinical molecular pathology laboratories[J]. Chinese Journal of Pathology,2017,46(3): 145-148.

[5] OLIVER G R, HART S N, KLEE E W, et al. Bioinformatics for clinical next generation sequencing[J]. Clin Chem, 2015, 61(1):124-135.

[6] QIAN M J, LI Q, ZHANG M M, et al. Multidisciplinary therapy strategy of precision medicine in clinical practice[J]. Clin Transl Med, 2020, 10(1):116-124.

[7] MATTHIJS G, SOUCHE E, ALDERS M, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing[J]. Eur J Hum Genet, 2016, 24(1):2-5.

［本文编辑］ 姬静芳