

融合基因检测方法的最新研究进展

张志远¹, 郑直¹, 田晓怡² (1. 中国医学科学院基础医学研究所 / 北京协和医学院基础学院生物化学与分子生物学系, 北京 100005; 2. 国家儿童医学中心 / 首都医科大学附属北京儿童医院检验中心, 北京 100045)

摘要: 融合基因指的是由两个或多个基因片段在基因组中发生重组而形成的新序列, 其在肿瘤发生、发展过程中具有重要的生物学功能和临床意义。融合基因的检测可以为肿瘤的早期诊断、风险分层和靶向治疗等提供重要指导。传统的融合基因检测方法占据主导地位, 但存在灵敏度偏低, 成本偏高或技术复杂, 难以大规模应用的局限。随着生物新技术的迅猛发展, 一系列全新的融合基因检测方法逐渐涌现, 为融合基因检测提供新的思路。该文综述了融合基因检测的传统方法以及近年来发展的测序技术, 旨在为融合基因的检测提供思路, 为相关疾病的诊断及精准治疗提供指导。

关键词: 融合基因; 下一代测序; 液体活检

中图分类号: Q781 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 05-205-08

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.05.038

Advancements in Latest Fusion Gene Detection Methods

ZHANG Zhiyuan¹, ZHENG Zhi¹, TIAN Xiaoyi² (1. *Department of Molecular Biology and Biochemistry, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences/School of Basic Medicine, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China*; 2. *Department of Clinical Laboratory, Beijing Children's Hospital Affiliated with Capital Medical University/National Center for Children's Health, Beijing 100045, China*)

Abstract: Fusion genes are new sequences formed by the recombination of two or more gene fragments in the genome that play an important biological role and have clinical significance in the process of tumorigenesis and development. The detection of fusion genes can provide important guidance for early diagnosis, risk stratification and targeted therapy of tumors. Traditional fusion gene detection methods dominate clinical applications, but have limitations such as low sensitivity, high cost or technical complexity, making them difficult to apply on a large scale. Fortunately the rapid advancements of new biotechnology, a series of new fusion gene detection methods are gradually emerging, providing new alternatives for fusion gene detection. This article reviews traditional fusion gene detection methods and the sequencing technologies developed in recent years, aiming to provide ideas for the detection of fusion genes and guidance for the diagnosis and precise treatment of related diseases.

Keywords: fusion gene; next-generation sequencing; liquid biopsy

融合基因 (fusion genes, FGs) 与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关。融合基因的检测对于肿瘤的早期诊断和个性化治疗具有重要意义。荧光原位杂交、免疫组织化学技术等传统的检测手段虽然使用广泛, 但通常只能测定已知的融合基因。随着分子生物学技术的发展, 下一代测序 (next-generation sequencing) 和其他各种新技术提供了更全面、高效、精准的检测手段, 并逐渐应用于融合基因的基础研究和临床检测中。不同的检测方法都受到各自样本类型、样本质量、实验室条件、检测成本等多种因素的影响, 因此, 需要因地制宜, 综合考虑选择最适当的检测方法才能有效辅助临床开展个体化精准治疗。本文就各种融合基因检测技术的原理、优势与局限性以及相关的检验策略进行综述。

1 融合基因简介

融合基因通常是由于染色体发生易位、倒位、缺失、插入或串联重复等突变, 导致两个基因之间相互融合从而形成新的序列^[1], 当融合断点处于两种开放阅读框 (open reading frame, ORF) 之间时, 就可以编码相关的嵌合蛋白, 从而产生新功能。基因重排的另一情况是不改变蛋白本身的结构及功能, 而改变相关基因的表达水平^[2]。编码序列可以与新的启动子、增强子融合从而提高下游基因的表达水平, 也可能通过失去抑制性 miRNA 结合位点来提高表达水平^[1, 3, 4]。此外, 还有一种情况是基因组不发生重排, 但通过顺式剪接或反式剪接在 RNA 的水平上发生融合, 进而产生新的融合蛋白^[5]。

融合基因最初发现于白血病患者中, 目前已发

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82202630)。

作者简介: 张志远 (2000-), 男, 在读硕士生, 研究方向: 生物化学与分子生物学, E-mail: 1810115127@bjmu.edu.com。

通讯作者: 田晓怡 (1985-), 女, 博士, 副主任技师, 主要从事临床检验诊断学研究, E-mail: xiaoyikkxl@163.com。

郑直 (1966-), 男, 博士, 教授, 主要从事生物化学与分子生物学研究, E-mail: zhizheng100@126.com。

现融合基因与肺癌、甲状腺癌、前列腺癌、乳腺癌等多种肿瘤密切相关^[4],例如,慢性粒细胞白血病中 BCR-ABL1 基因,尤文肉瘤中 EWSR1-FLI1 融合基因可作为特定肿瘤的诊断标志物^[6];尿液中 TMPRSS2-ERG 融合转录本水平可用于对血清前列腺特异性抗原升高的男性的前列腺癌风险进行分层^[7]。此外,部分融合基因及其代谢产物可以作为肿瘤药物作用靶点^[8],例如,伊马替尼等一系列酪氨酸激酶抑制剂可以显著改善 BCR-ABL1 阳性的慢性粒细胞白血病患者的预后^[9]。因此,检测融合基因对于肿瘤的早期诊断、风险分层和靶向治疗具有重要意义^[10-11]。

2 融合基因检测方法

2.1 融合基因传统检测方法 传统的检测方法在目前的临床融合基因诊断中占主导地位,主要包括染色体检验技术、荧光原位杂交、逆转录聚合酶链式反应、免疫组织化学染色等技术。它们通常只检测几种常见的融合基因,对于未知或少见的融合基因检测能力有限^[12]。

2.1.1 染色体检验技术 常见的染色体检验技术有核型分析以及染色体显带技术。核型分析是通过显微镜对单个细胞所有染色体的数目、相对大小和结构进行分析,并与人类细胞遗传学国际命名体制进行对比观察是否存在异常。此方法对淋巴造血系统肿瘤,特别是急性非淋巴细胞白血病,具有重要的诊断分型意义和预后评价作用^[12],例如, t(15,17)(q22,q12) 染色体核型异常提示可能存在 PML-RARA 融合基因,存在这种融合基因的急性早幼粒细胞白血病利用全反式维甲酸治疗效果良好^[13]。染色体经过特殊处理后,可以显现出一系列明暗相间的条纹,即显带染色体,目前实验室常用 Giemsa 法、逆向 Giemsa 法,即 G 显带、R 显带。染色体显带技术可以直观地呈现基因重排类型,是常规基本的细胞遗传学方法^[14],但此方法灵敏度较低,受到分裂相数量、质量以及实验者主观判断的影响。熟练的细胞遗传学专家可以发现约 5~10 Mb 的 DNA 缺失^[15],对于微小片段的缺失难以发现,对于结果为阴性的患者还需要通过 FISH 或 RT-PCR 的方法进一步确认^[12,14,16]。

2.1.2 荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH): FISH 一般被认为是检测融合基因的“金标准”^[17]。该方法利用碱基互补配对的原理,将荧光标记的探针与靶标 DNA 退火结合后在荧光显微镜下观察靶基因在染色体中的定位,从而判断是否有融合事件的发生。此外,还有针对融合基因 mRNA 的单分子荧光原位杂交 (single molecular FISH) 技术,见图 1。利用大约 50 个短荧光探针

与同一 mRNA 分子上的相邻位点结合,使每个靶 mRNA 分子在荧光显微镜下为衍射极限斑点,而融合转录本在显微镜下表现为发出两种颜色的荧光斑点,此方法已经成功检测到慢性粒细胞白血病中 BCR-ABL1 融合基因以及尤文肉瘤中 EWSR1-FLI1 融合基因^[18]。这类方法结果直观形象,但是操作较复杂,对于制片的要求高,一次只能检测一个或几个目的位点,在杂交效率的影响下可能导致信号丢失出现假阴性结果,而且结果的判读较为主观^[19]。此外,常用的 FISH 对基因重排的分辨率 <10kbp,且多重检测的能力较差^[2],因此,尚不能完全代替染色体显带技术。

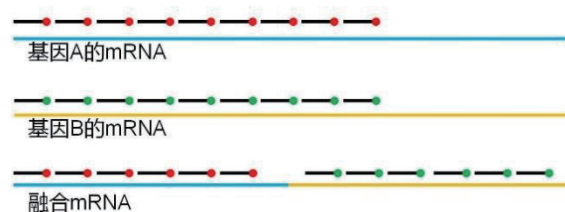


图1 单分子荧光原位杂交检测融合基因原理示意图^[18]

2.1.3 逆转录聚合酶链式反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR): RT-PCR 是一种常见的融合基因检测方法,首先提取样本中的 RNA,利用逆转录酶获得 cDNA 后,再联合荧光定量 PCR 技术,针对融合基因断点序列设计引物进行检测。此方法灵敏度高,可实现相对定量^[20],但是受到荧光通道和探针的限制,常规实验室中每个反应孔可检测的靶基因数通常不超过 4 种。若要进行多种融合基因的检测需要更多的反应孔,每个样本需要分成多个反应体系分别扩增多种融合基因,工作量庞大;此外,如果染色体断裂位点不同,同一融合基因存在多种转录本,需要分别对其进行扩增检验,见图 2。且只能检出已知的融合类型,难以检测少见型以及变异型融合基因,易造成漏检^[21]。

2.1.4 免疫组织化学技术 (immunohistochemistry, IHC): IHC 将免疫学方法与组织化学技术相结合,利用抗原-抗体结合具有高特异性、高亲和力的特性,将特异性抗体与组织中相应抗原反应后,加入酶标记的第二抗体,结合形成“抗原-抗体-酶”复合物,标记的酶与对应底物反应生成有色产物,通过显微镜观察对组织或细胞中的某种抗原进行定位、定性及相对定量研究。由于 IHC 灵敏度高,技术原理相对简单,成本较低^[22-23],其在非小细胞肺癌间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase, ALK) 重排的初步筛查中发挥重要作用^[24]。相关研究表明在非小细胞肺癌中,ALK 重排阳性的患者使用酪氨酸激酶抑制剂进行个性化治疗可以显著改善患者预后^[25]。然而 IHC 需要用到特异性结合融

合蛋白的高亲和力抗体,但目前已知的融合基因中仅有一少部分找到了合适的融合蛋白抗体,因此,

可检测的融合基因种类较少^[2],不能检测未知的融合基因以及融合伴侣^[23]。

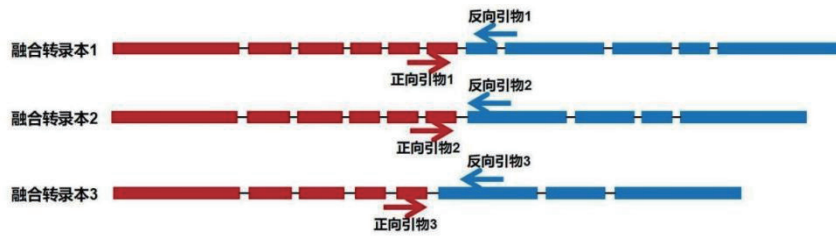


图2 RT-PCR方法检测同一种融合基因不同融合转录本的引物设计

2.2 融合基因最新检测方法

2.2.1 电化学传感器 (electrochemical biosensor) 技术: 电化学传感器可以识别生物事件并将其转化为电信号,从而对分析物进行定量。近年来已经开发出了针对核酸、抗体、癌细胞等多种靶标的生物识别元件^[26],并成功鉴定出 BCR-ABL, PML-RAR α 等多种融合基因^[27-28]。检测融合基因的传感器电极上固定有相应的单链寡核苷酸 (ssDNA), 与待测体系中的靶核酸结合后可以产生相应的电信号,见图3。检测探针通过金-硫键 (Au-S bond) 固定在金电极上,报告探针上有生物素标记。若靶 DNA 存在,可形成检测探针-靶 DNA-报告探针的三

明治结构,报告探针上标记有生物素,可以和辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的亲合素结合,从而提供酶促反应放大的电流信号,通过电流信号的变化可以判断是否存在目标融合基因^[26]。此类检测方法所需样本较少,成本低,可用于多重融合基因的快速检测^[29]。然而在实验中,生物分子浓度、杂交时间、温度、pH 值、盐离子浓度等多种因素都会影响 DNA 探针的稳定性以及构象,因此必须摸索反应条件并找出合适的 DNA 探针^[30]。此外未来还需要通过继续寻找具有更强稳定性和更佳电学性能的新型纳米材料,优化电极结构,以开发更加灵敏、便捷、可携带的检测装置^[29]。

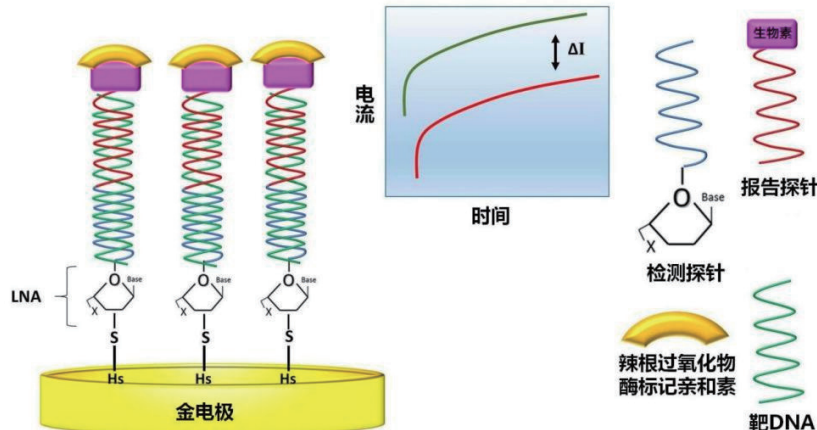


图3 电化学传感器技术检测 PML-RAR α 基因“三明治法”原理示意图^[26]

2.2.2 下一代测序 (next generation sequencing, NGS): NGS 是一种高通量测序技术,能够同时对大量核酸片段进行测序。在融合基因检测中,NGS 技术可以全面、高效地检测基因组中的融合事件。近些年来新一代测序技术依靠其高覆盖度的优势,也开始应用于融合基因的检测。

2.2.2.1 全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS): WGS 方法在单个实验中测定样品的全部 DNA 序列。首先,将基因组 DNA 片段化,再连接到所选 NGS 平台的接头,并测序到全基因组表征所需的深度,从而提供一种全面无偏的方法识别各种已知或未知的融合位点^[31]。利用 WGS 的数据除

了识别融合基因之外,还可以检出单核苷酸多态性 (SNP)、拷贝数等多种类型的变异,及时发现多种对肿瘤发生和进展具有潜在影响的改变,提高测序的实用性^[32]。

WGS 方法也存在一些局限性,其无法识别转录本之间产生的融合。例如: SCL45A3-ELK4 融合产生一种非编码 RNA,在前列腺癌发展中起到重要作用,该融合是在转录后相邻基因之间的顺式剪接过程中产生的融合 RNA^[5],此过程不涉及基因组序列的改变,因此会被 WGS 方法漏检。此外,基因组中绝大多数序列为非编码序列, WGS 可能会产生大量冗余信息,检出的融合事件可能并不影响

相关 RNA 或蛋白的表达水平,也不影响疾病的发生发展进程,此类融合位点临床意义尚不明确,并不能作为干预性治疗的靶点^[33]。目前 WGS 深度通常在 $30\times\sim 60\times$ 附近,想得到高置信度融合基因的信息需要提高测序深度,成本过于高昂,不适合在临床诊疗中大规模开展^[23]。

2.2.2.2 转录组测序 (RNA-seq): 转录组测序结果含有丰富的融合基因、基本表达量变异、转录本变异等多种信息。基于 RNA 的全转录组测序 (whole transcriptome sequencing, WTS) 与 WGS 一样可以无偏倚地检测已知和未知表达的融合基因^[2]。肿瘤中融合基因的分布存在典型的长尾现象,种类繁多,但大部分融合基因阳性率很低^[34],因此,常规的核型分析和 RT-PCR 等方法检测的融合基因有限,此时利用 RNA-seq 方法可以显著提高此类融合基因的检出率^[21, 35]。随着对此类少见融合基因的意义越来越重视, RNA-seq 方法越来越体现出全面检测的优势。此方法不受内含子区域的影响,多种不同的融合基因突变体可能编码得到相同的致癌融合转录本,相较 WGS 可以大量减少冗余信息^[36]。

然而 RNA 比 DNA 更加容易降解,特别是经过福尔马林固定的组织样本,会导致 RNA 显著片段化,最终无法得到数量和质量足够的 RNA^[37]。与 WGS 相同,此方法用于临床诊疗需要超高深度的测序,由于成本较高而难以普及应用^[23]。此外, RNA-seq 方法不能检测到某些染色体重排,这种重排仅改变 RNA 表达水平,但不改变相关 RNA 的序列。这样的情况常发生在新的启动子或增强子融合,进而调节基因表达水平,例如 IGH 增强子与 c-MYC 基因在 DNA 水平上的融合提高了 c-MYC RNA 的

表达水平但并不影响最终 c-MYC 的 RNA 序列,因此会被 RNA-seq 方法漏检^[31]。

2.2.2.3 目标区域测序 (target region sequencing, TRS) TRS 方法是针对更具有临床意义的目标区域进行高通量测序,对目的区域进行遗传变异位点的检测,经济高效,缩短了研究周期。TRS 主要可以分为杂交捕获法以及扩增子法。

杂交捕获法在制备文库过程后,加入生物素化的核酸探针杂交从而对目标基因进行富集。此类探针设计要求目标区域中至少含有一个融合伴侣,从而捕获得到多种包含该伴侣已知或未知的融合突变^[23, 38]。此方法经过杂交步骤极大减少了无关序列的数量,提高检测灵敏度,但此方法工作流程相对较长,无法针对未知的融合基因设计探针,在探针距离融合位点较远时容易捕获不到,因而出现假阴性的现象^[2]。

扩增子法主要基于多重 PCR (multiplex PCR, mPCR) 对靶标进行富集,传统 mPCR 利用针对不同融合伴侣的引物组合检测已知特定的融合变异。而锚定 mPCR (anchored mPCR, AMP) 方法通过将 cDNA 片段与 NGS 通用接头连接,只需靶向其中一个融合伴侣,在目标基因引物与通用引物之间扩增富集,这样可以检测对应融合伴侣的各种已知或未知的融合^[23],见图 4。该方法通常比 WGS 以及 RNA-seq 过程更迅速,但不常见的融合本常在生成的 NGS 文库中被排除,可检测融合基因的广度也随之降低^[2]。mPCR 需要较高质量的 RNA,多重反应时引物设计较为困难,且容易受到脱靶引物结合、引物二聚体的影响降低了准确性^[17]。

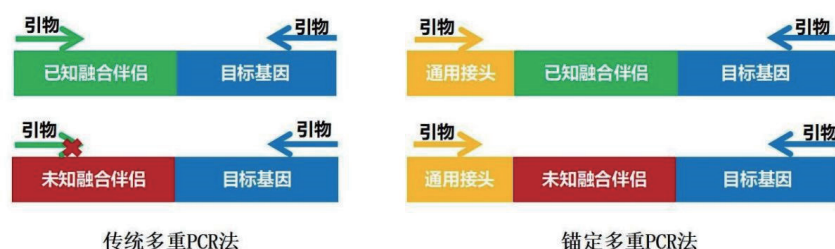


图4 扩增子法的原理示意图^[23]

2.2.2.4 CRISPR-Cas9 技术联用长纳米孔测序: 第三代测序技术 (third generation sequencing, TGS) 在融合基因检测中也逐渐开始发挥作用。Christina STANGL 团队开发了基因富集的融合检测 (fusion detection from gene enrichment, FUDGE) 方法,首先经过 CRISPR-Cas9 技术靶向富集融合基因,再利用纳米孔测序^[39]。该方法首先将得到的 DNA 样本去磷酸化,再通过设计的 crRNA 引导 Cas9 结合

到目标基因,并切割产生磷酸化的端口,而 Cas9 仍然与切口的前间隔序列邻近基序 (protospacer adjacent motif, PAM) 远端一侧结合掩蔽这一端磷酸化 DNA,另一侧末端暴露在外 DNA 可以经过酶促反应加上 A 尾,继而与接头发生连接,从而将此 DNA 导入纳米孔中,导向未知序列方向测序见图 5。此方法与杂交捕获法类似,只需要靶向一个已知的融合伴侣,在 48h 内检测出相关的融合类型。

但此方法需要提供非片段化的 DNA 样本, 经过福尔马林固定石蜡包埋的样本中 DNA 常出现降解,

读取长度减少, 可能无法全面鉴定融合基因。

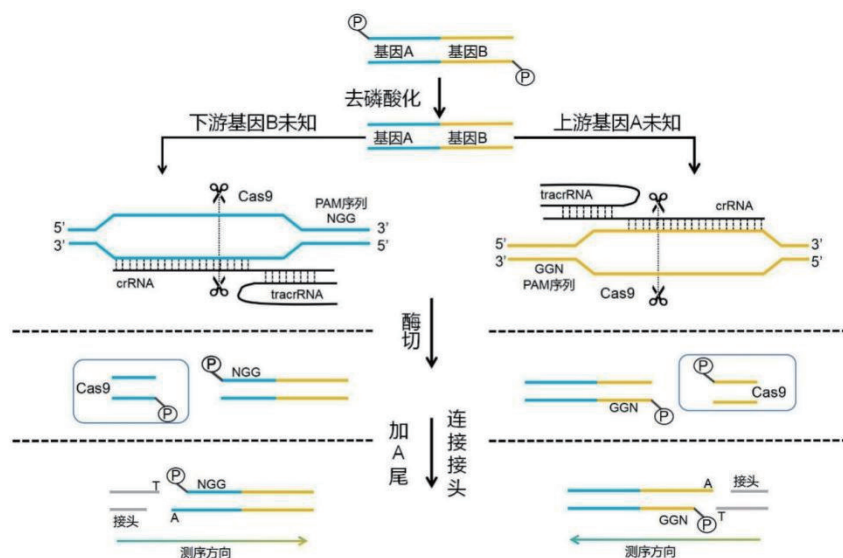


图5 FUDGE 测序方法^[39]

虽然各种测序方法都为检测融合基因提供新的思路, 但是 NGS 方法尚在科研阶段, 对很多临床实验室而言是全新的技术, 需要更深入的培训以及更尖端的设备, 在实际临床工作中的应用仍然有限^[2, 40]。同时, 在 NGS 文库制备、测序和数据分析过程中有可能产生错误结果, 后续还需要经过一代测序 (Sanger 测序) 验证, 增加了患者的成本^[35]。

3 融合基因检测策略

融合基因检测时首选肿瘤组织样本, 当组织学样本收集有困难时可以采集细胞学样本。以非小细胞肺癌 (NSCLC) 为例, 《非小细胞肺癌融合基因检测临床实践中国专家共识 (2023 版)》^[41] 推荐病理学确诊并且靶向药物治疗后耐药的 NSCLC 患者进行融合基因检测。若实验室受到经济成本或检验周期限制, 可以首选 qRT-PCR 对 ALK, ROS1, RET 等必检基因进行检测; 检测结果为阴性或者判读模糊时, 则使用 FISH, IHC 或 NGS 进行验证。若实验室条件允许, 推荐 DNA 二代测序检测必检基因以及扩展融合基因; 若检测结果为阴性, 可以考虑利用 RNA 二代测序和 IHC 方法进行验证。对于无法取得组织学或细胞学样本的患者或样本中肿瘤细胞比例过低的患者, 在等待相关组织或细胞学样本可获取之前, 可以尝试通过液体活检 (liquid biopsy) 方法进行 NGS 检测。

液体活检可以对血液等体液中循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)、循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC)、外泌体 (exosome) 等进行检测^[42]。外泌体是由真核细胞分泌到体液内的小型膜结合囊泡^[43], 其中可以包含多种蛋白

质以及 DNA, mRNA, miRNA, 并可以维持其稳定存在于血液、尿液、唾液等多种体液之中^[44], 因此, 利用 PCR 以及 NGS 方法进行液体活检可以实现早期诊断和预后判断。相比组织活检方法, 液体活检作为一种无创或微创的方法, 具有非侵入性、可重复性、易于连续收集等优势, 对于监测肿瘤进展和评估治疗反应具有重要的临床应用前景^[42]。然而, 目前液体活检也存在一些局限性, 对于肿瘤负荷低的患者, ctDNA 等标志物只能少量脱落而难以达到检出限^[42]。在初治晚期 NSCLC 患者中, 基于 ctDNA 的杂交捕获法检测 ALK 融合的灵敏度偏低, 仅为 64.7%~79.2%^[41]。因此, 液体活检阴性时仍需进一步的肿瘤组织检测, 以排除假阴性结果的可能。液体活检作为一种强大的工具大规模投入临床应用还有一定的距离。

在真实的实验过程中, 融合基因检测容易受到患者个体标本差异以及实验室条件等多种因素的干扰, 当不同的检测平台所得结果不一致时, 推荐采用第三种平台进行验证, 确保检测结果无异议后才能展开适当的靶向治疗手段。综上所述, 融合基因的检测需要因地制宜, 综合考虑标本类型与质量、平台可及性、检测周期和经济成本等多方面因素, 选用最佳的检测方法^[41]。

4 小结

融合基因检测对肿瘤的早期诊断以及指导个性化治疗具有重要的临床意义。传统的核型分析, FISH, RT-PCR, IHC 等检测方法在诊断常见的融合基因时广泛使用, 但是它们通常只能检测已知的融合基因, 而且通常操作者的工作量较大, 对发现

新型融合基因的能力有限。WGS, RNA-seq 以及 CRISPR-Cas9 联用纳米孔测序等新技术的涌现提供了更全面、高效和精确的方法,并在基础研究和临床应用中展现出巨大的潜力,然而这些新技术限制于成本高、技术难度大等因素尚未能在临床实验室

中大规模开展。未来,随着更多新技术的涌现,可以期待融合基因的检测取得更大的突破。同时,将现有方法与其他生物学领域的技术结合,有望进一步推动融合基因检测技术的发展和

表 1 不同融合基因检测方法的比较 ^[23]			
类 别	检测靶标	优势	不足
染色体检测技术	染色体	简单直观	灵敏度低,受分裂相数量影响;结果判别较为主观
FISH	DNA/RNA	金标准,特异性强,直观	操作复杂,制片要求高,一次检测的位点数目有限 无法检测未知融合基因
RT-PCR	RNA	操作性强,灵敏度高,实现相对定量	检测重数有限,无法检测未知的融合基因
IHC	蛋白质	成本低,技术简单,样本需求量低	操作复杂,样本完整性要求高,合适融合蛋白抗体种类少,无法检测未知融合基因
电化学传感	DNA/RNA	成本低,样本需求量低 可实现快速、便携式检测	需摸索适合的反应条件 有待开发新型纳米材料
测序方法	WGS	DNA	全面无偏倚检测,可检出未知的融合基因 成本昂贵,数据量大,分析复杂,无法检测转录后剪接导致的融合,检出的融合事件临床意义可能不明
	WTS	RNA	全面无偏检测,可检出未知的融合基因 成本昂贵,样本质量、投入量要求高,无法判别仅改变 RNA 表达水平而不改变 RNA 序列的融合事件
杂交捕获法	DNA/RNA	排除无关序列,灵敏度高,仅靶向一个融合伴侣,可检出该伴侣已知和未知的融合事件	检测流程长,探针远离融合位点可能导致漏检,无法针对完全未知的融合设计探针
扩增子法	DNA/RNA	样本投入量要求更低 仅靶向其中一个融合伴侣	RNA 质量要求较高,引物优化困难,易受到 PCR 偏好性、脱靶引物、引物二聚体影响
FUDGE	DNA	快速检测多重靶标,仅靶向其中一个融合伴侣	对 DNA 样本质量要求高,可能无法全面鉴定融合基因

参考文献:

[1] TANIUE K, AKIMITSU N. Fusion genes and RNAs in cancer development[J]. Non-Coding RNA, 2021, 7(1): 10.

[2] HEYER E E, BLACKBURN J. Sequencing strategies for fusion gene detection[J]. BioEssays, 2020, 42(7): e2000016.

[3] MANIER S, SALEM K Z, PARK J, et al. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications[J]. Nature Reviews Clinical Oncology, 2017, 14(2): 100-113.

[4] 张军伟, 管欣超, 刘韬, 等. 融合基因分析方法在肿瘤研究中的应用与发展 [J]. 广州医药, 2023, 54(8): 1-8.

[5] ZHANG Junwei, GUAN Xinchao, LIU Tao, et al. Development and application of fusion gene analysis methods in tumors research[J]. Guangzhou Medical Journal, 2023, 54(8): 1-8.

[6] QIN Fujun, ZHANG Yanmei, LIU Jia, et al. SLC45A3-ELK4 functions as a long non-coding chimeric RNA[J]. Cancer Letters, 2017, 404: 53-61.

[7] GAO Qingsong, LIANG Wenwei, FOLTZ S M, et al. Driver fusions and their implications in the development and treatment of human cancers[J]. Cell Reports, 2018, 23(1): 227-238, e3.

[8] WARLI S M, WARLI M H, PRAPISKA F F. PCA3 and TMPRSS2: ERG urine level as diagnostic biomarker of prostate cancer[J]. Research and Reports in Urology, 2023, 15: 149-155.

[9] INABA H, MULLIGHAN C G. Pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Haematologica, 2020, 105(11): 2524-2539.

[10] 刘伟平, 官凡琪, 宋耀辉, 等. 慢性粒细胞白血病患者 BCR-ABL 融合基因 P210 表达对病程判断和预后评估的临床价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5): 12-15.

[11] LIU Weiping, GUAN Fanqi, SONG Yaohui, et al. Clinical value of BCR-ABL fusion gene P210 expression of patients with chronic myeloid leukemia for course judgment and prognosis evaluation[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(5): 12-15.

[12] VELLICHIRAMMAL N N, CHATURVEDI N K, JOSHI S S, et al. Fusion genes as biomarkers in pediatric cancers: a review of the current state and applicability in diagnostics and personalized therapy[J]. Cancer Letters, 2021, 499: 24-38.

[13] WANG Yue, SHI Tao, SONG Xueru, et al. Gene fusion neoantigens: emerging targets for cancer immunotherapy[J]. Cancer Letters, 2021, 506: 45-54.

[14] 陈哲, 金敏威, 陈颖, 等. 应用 R 带显带技术对 151

- 例急性非淋巴细胞白血病的细胞遗传学分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(12): 2902-2903.
- CHEN Zhe, JIN Minwei, CHEN Ying, et al. Cytogenetic analysis on 151 cases of acute nonlymphocytic leukemia by R-banding technique[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2009, 19(12): 2902-2903.
- [13] MCCULLOCH D, BROWN C, ILAND H. Retinoic acid and Arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia: current perspectives[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2017, 10: 1585-1601.
- [14] 孙恒娟, 杜成坎, 李红, 等. 细胞遗传学检测方法对 MLL 基因异常儿童急性白血病的诊断意义[J]. 检验医学, 2022, 37(12): 1196-1199.
- SUN Hengjuan, DU Chengkan, LI Hong, et al. Diagnostic value of cytogenetics in acute leukemia with MLL gene abnormality[J]. *Laboratory Medicine*, 2022, 37(12): 1196-1199.
- [15] HUANG Huifang, CHEN Jiadi. Chromosome bandings[J]. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 2017, 1541: 59-66.
- [16] 李林飞, 宋银森, 李东晓, 等. 染色体核型分析联合荧光原位杂交技术对儿童急性髓系白血病 M2 的诊疗意义[J]. 实验与检验医学, 2021, 39(3): 570-572.
- LI Linfei, SONG Yinsen, LI Dongxiao, et al. The diagnostic and therapeutic significance of chromosomal karyotype analysis combined with fluorescence in situ hybridization technology for childhood acute myeloid leukemia M2[J]. *Experimental and Laboratory Medicine*, 2021, 39(3): 570-572.
- [17] SCHMITT F, DI LORITO A, VIELH P. Molecular testing on cytology for gene fusion detection[J]. *Frontiers in Medicine*(Lausanne), 2021, 8: 643113.
- [18] MARKEY F B, RUEZINSKY W, TYAGI S, et al. Fusion FISH imaging: single-molecule detection of gene fusion transcripts in situ[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): 0093488.
- [19] LIM A S T, LIM T H. Fluorescence in situ hybridization on tissue sections[J]. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 2017, 1541: 119-125.
- [20] GAO Lu, XU Yan, WENG Lanchun, et al. A rare cause of persistent leukocytosis with massive splenomegaly: myeloid neoplasm with BCR-PDGFR α rearrangement-case report and literature review[J]. *Medicine*, 2022, 101(24): e29179.
- [21] 王芳, 陈雪, 吴祁生, 等. 国际指南更新引领血液肿瘤临床诊疗进入精准医学和基因组时代[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(9): 888-892.
- WANG Fang, CHEN Xue, WU Qisheng, et al. Update of international guidelines leads the clinical diagnosis and treatment of hematological malignancies into the era of precision medicine and genomics[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2023, 46(9): 888-892.
- [22] KOZUMA Y, TOYOKAWA G, SETO T. ALK testing methods: is there a winner or loser?[J]. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 2019, 19(3): 237-244.
- [23] 蒋析文, 李三喜, 梁志坤, 等. 基于下一代测序的基因融合检测技术在肿瘤伴随诊断中的研究进展[J]. 中华预防医学杂志, 2022, 56(12): 1880-1888.
- JIANG Xiwen, LI Sanxi, LIANG Zhikun, et al. Research progression of gene fusion detection technology based on next generation sequencing in tumor companion diagnostics[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2022, 56(12): 1880-1888.
- [24] BATRA U, NATHANY S, SHARMA M, et al. IHC versus FISH versus NGS to detect ALK gene rearrangement in NSCLC: all questions answered?[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2022, 75(6): 405-409.
- [25] ZHAO Ruiying, GUO Lianying, ZHANG Bo, et al. Identification and therapeutic evaluation of ALK rearrangements in non-small-cell lung cancer[J]. *Journal of Pathology Clinical Research*, 2022, 8(6): 538-549.
- [26] CHUPRADIT S, KM NASUTION M, RAHMAN H S, et al. Various types of electrochemical biosensors for leukemia detection and therapeutic approaches[J]. *Analytical Biochemistry*, 2022, 654: 114736.
- [27] 陈美君, 刘雅兰, 王颖, 等. 新型比率型电化学生物传感器的构建及对 BCR/ABL 融合基因的检测[J]. 分析化学, 2022, 50(5): 692-704.
- CHEN Meijun, LIU Yalan, WANG Ying, et al. A novel ratiometric electrochemical biosensor for detection of BCR/ABL fusion gene[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 50(5): 692-704.
- [28] LEI Yun, WANG Kun, YANG Jiayong, et al. Sequence-specific amperometric detection based on a double-probe mode and enzyme-mediated multiple signal electrocatalysis for the double-stranded DNA of PML/RAR α -related fusion gene[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2022, 1231: 340436.
- [29] OLIVEIRA L S, AVELINO K Y P S, OLIVEIRA S R D E, et al. Flexible genosensors based on polypyrrole and graphene quantum dots for PML/RAR α fusion gene detection: a study of acute promyelocytic leukemia in children[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2023, 235: 115606.
- [30] AVELINO K Y P S, OLIVEIRA L S, SANTOS M R, et al. Electrochemical DNA biosensor for chronic myelocytic leukemia based on hybrid nanostructure[J]. *Bioelectrochemistry*(Amsterdam, Netherlands), 2022, 147: 108176.
- [31] KIAEI A, ONSORI H, ALIJANI A, et al. Detection of t(8;14) c-myc/IgH gene rearrangement by long-distance polymerase chain reaction in patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Hematology Oncology and Stem Cell Therapy*, 2016, 9(4): 141-146.
- [32] ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium. Pan-cancer analysis of whole genomes[J]. *Nature*, 2020, 578(7793): 82-93.
- [33] LI Weihua, LIU Yutao, LI Wenbin, et al. Intergenic breakpoints identified by DNA sequencing confound targetable kinase fusion detection in NSCLC[J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2020, 15(7): 1223-1231.
- [34] 孟凡萍, 郝坡. 渝东北地区 441 例白血病患者融合基因表达特点分析[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2): 15-17.

- MENG Fanping, HAO Po. Analysis of expression characteristics of fusion gene in 441 patients with leukemia in northeastern Chongqing[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(2): 15-17.
- [35] CHEN Xue, WANG Fang, ZHANG Yang, et al. Fusion gene map of acute leukemia revealed by transcriptome sequencing of a consecutive cohort of 1000 cases in a single center[J]. *Blood Cancer Journal*, 2021, 11(6): 112.
- [36] HAYNES B C, BLIDNER R A, CARDWELL R D, et al. An integrated next-generation sequencing system for analyzing DNA mutations, gene fusions, and RNA expression in lung cancer[J]. *Translational Oncology*, 2019, 12(6): 836-845.
- [37] HEDEGAARD J, THORSEN K, LUND M K, et al. Next-generation sequencing of RNA and DNA isolated from paired fresh-frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples of human cancer and normal tissue[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e98187.
- [38] SCHRÖDER J, KUMAR A, WONG S Q. Overview of fusion detection strategies using next-generation sequencing[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 1908: 125-138.
- [39] STANGL C, DE BLANK S, RENKENS I, et al. Partner independent fusion gene detection by multiplexed CRISPR-Cas9 enrichment and long read nanopore sequencing[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 2861.
- [40] BACHER U, SHUMILOV E, FLACH J, et al. Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use[J]. *Blood Cancer Journal*, 2018, 8(11): 113.
- [41] 中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会, 中华医学会肿瘤学分会肺癌专家委员会. 国家病理质控中心. 非小细胞肺癌融合基因检测临床实践中国专家共识(2023版)[J]. *中华病理学杂志*, 2023, 52(6): 565-573. Molecular Pathology Collaboration Group of Tumor Pathology Committee of China Anti-Cancer Association, Chinese Medical Association Chinese Society of Oncology, Pathology Quality Control Center. Expert consensus on clinical practice of fusion genes detection in non-small cell lung cancer in China (2023 version)[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2023, 52(6): 565-573.
- [42] NIKANJAM M, KATO S, KURZROCK R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15(1): 131.
- [43] YU Dan, LI Yixin, WANG Maoye, et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21(1): 56.
- [44] ZHOU Yuju, ZHANG Ying, GONG Huan, et al. The role of exosomes and their applications in cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12204.

收稿日期: 2023-12-06

修回日期: 2024-04-09

(上接第111页)

- lupus erythematosus[J]. *Zhejiang Medical Journal*, 2022, 44(1): 1-5.
- [7] 孔滔, 饶舜, 朱伟, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血T淋巴细胞Mg²⁺转运蛋白1水平表达及临床价值研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2024, 39(3): 157-163. KONG Tao, RAO Shun, ZHU Wei, et al. Study on the expression level of Magnesium transporter protein 1 in peripheral blood T lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus and its clinical value[J]. *Journal of Laboratory Medicine*, 2024, 39(3): 157-163.
- [8] CARRIÓN-BARBERÀ I, SALMAN-MONTE T C, VÍLCHEZ-OYA F, et al. Neuropsychiatric involvement in systemic lupus erythematosus: a review[J]. *Autoimmunity Reviews*, 2021, 20(4): 102780.
- [9] YU Haitao, NAGAFUCHI Y, FUJIO K. Clinical and immunological biomarkers for systemic lupus erythematosus[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 928.
- [10] PETRIĆ M, RADIĆ M. Is Th17-targeted therapy effective in systemic lupus erythematosus?[J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2023, 45(5): 4331-4343.
- [11] ZHANG Yali, XIE Liyi, LU Wanhong, et al. LncRNA MIAT enhances systemic lupus erythematosus by upregulating CFHR5 expression via miR-222 degradation[J]. *Central European Journal of Immunology*, 2021, 46(1): 17-26.
- [12] CHUN Wang, TIAN Jilai, ZHANG Ying. Transplantation of mesenchymal stem cells ameliorates systemic lupus erythematosus and upregulates B10 cells through TGF-β1[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 512.
- [13] AYANO M, HORIUCHI T. Complement as a biomarker for systemic lupus erythematosus[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(2): 367.
- [14] CHEN Yan, TAO Tingjun, WANG Weiliang, et al. Dihydroartemisinin attenuated the symptoms of mice model of systemic lupus erythematosus by restoring the Treg/Th17 balance[J]. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2021, 48(4): 626-633.
- [15] ZHAO Xingyun, WANG Shifen, WANG Shengjun, et al. mTOR signaling: a pivotal player in Treg cell dysfunction in systemic lupus erythematosus[J]. *Clinical Immunology*, 2022, 245: 109153.
- [16] NANDAKUMAR K S, NÜNDEL K. Editorial: systemic lupus erythematosus - predisposition factors, pathogenesis, diagnosis, treatment and disease models[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 1118180.

收稿日期: 2024-06-13

修回日期: 2024-08-05