

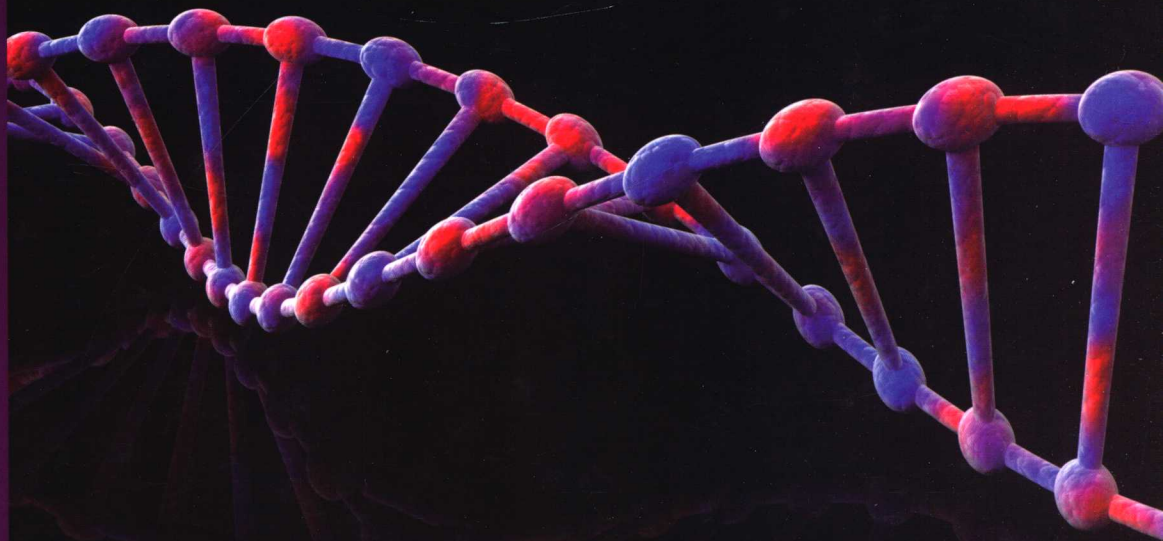
临床分子诊断学

LINCHUANG FENZI ZHENDUANXUE

主编 温旺荣 周华友

广东省出版集团
GUANGDONGSHENG CHUBAN JITUAN

广东科技出版社
全国优秀出版社



R446
J6145

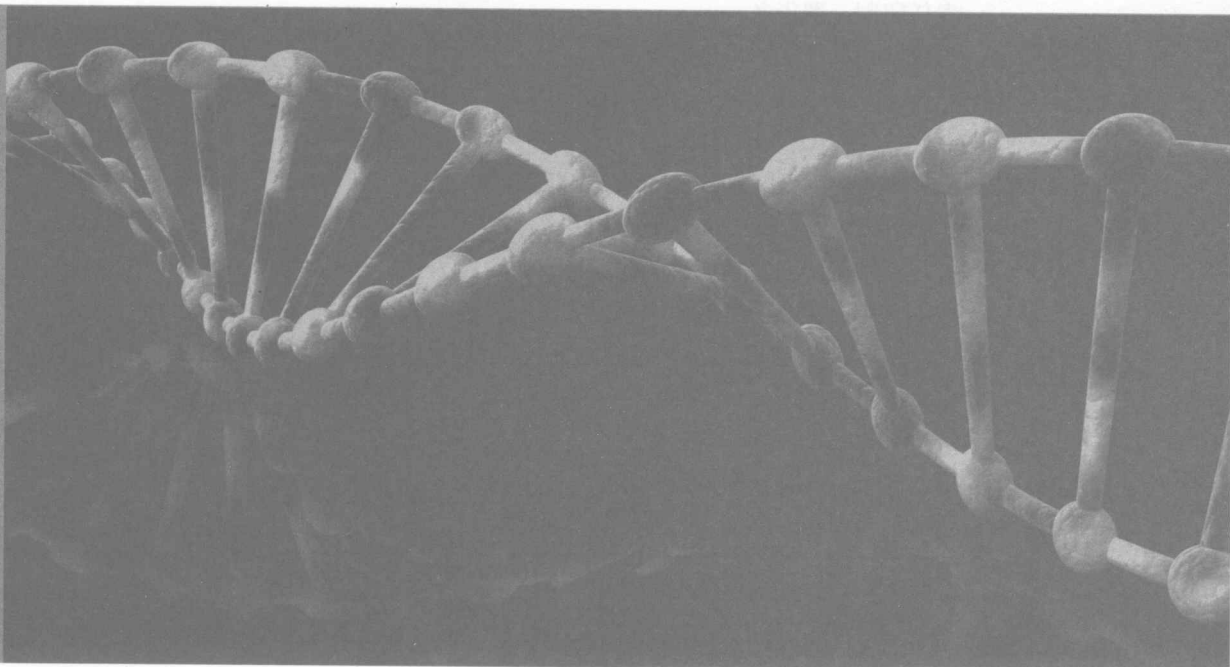
241-41

阅 览

临床分子诊断学

LINCHUANG FENZI ZHENDUANXUE

主编 温旺荣 周华友



广东省出版集团
GUANGDONGSHENG CHUBAN JITUAN

广东科技出版社
全国优秀出版社

· 广州 ·

图书在版编目(CIP)数据

临床分子诊断学/温旺荣, 周华友主编. —广州: 广东科技出版社, 2014. 3

ISBN 978-7-5359-6311-6

I. ①临… II. ①温…②周… III. ①分子生物学—实验室诊断 IV. ①R446

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第169880号

责任编辑: 李 旻

封面设计: 林少娟

责任校对: 盘婉薇 冯思婧

责任印制: 罗华之

出版发行: 广东科技出版社

(广州市环市东路水荫路11号 邮政编码: 510075)

http: //www. gdstp. com. cn

E-mail: gdkjyxb@gdstp.com.cn (营销中心)

E-mail: gdkjzbb@gdstp.com.cn (总编办)

经 销: 广东新华发行集团股份有限公司

印 刷: 顺德区帝图印刷有限公司

(广东佛山市顺德区大良凤翔工业园昌宏路32号 邮政编码: 528222)

规 格: 889mm×1194mm 1/16 印张20.75 字数500千

版 次: 2014年3月第1版

2014年3月第1次印刷

定 价: 118.00元

如发现因印装质量问题影响阅读, 请与承印厂联系调换。

主 编 温旺荣 周华友

副主编 梁志成 闻 平 徐 萌

编 委 (排名不分先后)

温旺荣 (暨南大学附属第一医院临床医学检验中心)

周华友 (广东省中医院检验医学部)

梁志成 (暨南大学生命科学院医学遗传室)

郑 茜 (英国伦敦大学欧门街医院临床遗传室)

闻 平 (江苏大学附属人民医院检验科)

徐 萌 (暨南大学附属第一医院肿瘤科)

何雅军 (广州市红十字会医院检验科)

陈文成 (右江民族医学院附属医院检验科)

曹东林 (广东省第二人民医院检验科)

邓益斌 (右江民族医学院附属医院检验科)

熊玉娟 (广东省中医院检验医学部)

编写人员 (排名不分先后)

胡亮杉 骆明勇 俞晓丽 晁 艳 石 文 余广超

查显丰 李珉珉 陈凤平 李 莉 陈文璟 尹更生

肖燕青 苏运钦 吴瑞珊 朱炳铭 车玉传

主编简介



温旺荣

温旺荣，1963年9月生，福建永定人，1987年毕业于福建医学院（上海第二医科大学医学检验本科代培），1992年获得福建医科大学硕士学位，2001—2004年为日本北海道大学访问学者。现任暨南大学附属第一医院（广州华侨医院）临床医学检验中心主任、教授、主任技师、博士生导师；兼任广东省医院协会临床检验管理专业委员会副主任委员、广东省医师协会检验医师分会副主任委员，《分子诊断与治疗杂志》编委。主要研究方向为临床重要病原体、病毒相关肿瘤miRNA和地中海贫血的分子诊断。在国内外学术期刊发表论文30多篇，以第一作者身份在*Journal of Virology*和*Virus Research*中各发表1篇（被SCI收录）。担任《应急检验学》副主编，参编《临床医学三基培训教材》。主持或参与国家自然科学基金1项、日中医学协会基金1项、日本文部省基金1项。获福建省科技进步三等奖2项、福建省医药卫生科技进步三等奖1项。



周华友

周华友，1968年8月生，福建三明人，1992年毕业于福建医科大学，2000年获中国协和医科大学硕士学位，2004年获第一军医大学博士学位。现任广州中医药大学第二附属医院（广东省中医院）检验医学部输血科主任，教授、主任技师，博士生导师；兼任美国组织相容性与免疫遗传学学会会员，中国医师协会输血科医师分会常委、广东省临床输血分会常委，广东省中西医结合学会检验医学专业委员会常委，《中国输血杂志》编委，《中国免疫学杂志》特约编委。主要研究中国人RH基因结构、遗传特点和民族多态性，ABO血型不合移植物适应性调节机制，主动免疫治疗RSA免疫效应机制，临床安全与有效性输血等。主持国家自然科学基金1项，广东省科技计划项目1项，广东省医学科研基金1项；参与“863计划”重大专项和国家自然科学基金等课题多项。在国内外专业期刊发表论文30余篇，主编专著2部，参编专著5部。获广东省科学技术进步三等奖1项。

序

进入21世纪,分子生物学技术得到了迅猛发展,对医学科学的进步产生了巨大的推动作用,也使临床医学对于疾病的实验室诊断与治疗发生了革命性变化。许多新技术的不断涌现大大促进了分子诊断技术的临床应用,特别是在临床疾病诊断和治疗中的广泛应用。在分子水平上为疾病的病因确认、预测预防、临床诊断和个体化的药物治疗等提供直接信息,对感染性疾病、遗传性疾病和肿瘤的早期诊断、个体化治疗、疗效观察、预后判断和耐药性分析等方面产生了重大影响,也由此产生了临床分子诊断学这门新的学科。

基于目前尚无一本专门论述临床分子诊断学的专著和研究生教材,为适应快速发展的临床需要,本书编写组特别组织一批长期从事临床分子诊断工作的富有经验的临床检验、分子遗传学和肿瘤个体化治疗的专家、教授编写了此书。本书不仅能让读者学到临床分子诊断学的基础理论、基本技术和应用技术,而且能学到分子诊断临床各种疾病的具体做法,并了解到分子诊断最新的临床应用,从而更好地为临床分子诊断学的应用与研究打下坚实基础。

本书突出分子诊断的临床应用,是一部帮助从事临床分子诊断和研究的专业人员、研究生以及其他的相关医务人员拓展知识面、提高业务水平的学习用书。我十分高兴看到它的出版并乐而为之序,希望今后有更多适合临床分子诊断技术人员的优秀专著出版,为临床医学的发展贡献力量。



2013.9.3

前 言

随着分子生物学、人类基因组学和蛋白质组学技术的迅猛发展,临床医学已进入分子医学时代。许多新技术不断涌现,核酸提取、纯化、扩增、杂交和测序自动化检测仪器的不断推出,大大促进了分子诊断技术的临床应用,特别是在临床疾病诊断和治疗中的广泛应用,也由此产生了临床分子诊断学这门新的学科。临床分子诊断学在分子水平上为疾病的病因确认、预测预防、临床诊断和个体化的药物治疗等提供了直接信息,对感染性疾病、遗传性疾病(包括产前诊断)和肿瘤的早期诊断、个体化治疗、疗效观察、预后判断和耐药性分析等方面产生了巨大作用,同时也出现了以研究应用疾病相关基因为特征的分子病理学、分子影像学、分子靶向治疗学、分子流行病学和分子核医学。

为了更好地适应这种快速发展的临床需要,我们特别组织一批长期从事临床分子诊断工作的临床检验专家、分子遗传学专家和临床肿瘤个体化治疗专家编写了此书,以提供给从事临床分子诊断和研究的专业人员、研究生以及其他的相关人员作为学习用书和参考指南。本书获得了暨南大学研究生教材建设项目资助,已被选为暨南大学研究生教材。

本书共13章,介绍了临床分子诊断学的基本技术和基础知识,以及对临床各种疾病的诊断和在治疗上的具体应用,并介绍了非编码RNA在临床分子诊断中的最新应用进展。读者通过阅读本书,能更好地理解 and 掌握临床分子诊断学这门学科,为临床分子诊断学的研究打下坚实基础。

参加编写本书的20多位教授和专家均来自全国知名大学的附属三级甲等医院,均是临床一线的工作人员,他们以高度的责任感完成了所承担的编写任务,在此表示诚挚的谢意。

虽然各位编者尽了最大的努力,但是由于水平有限,编写时间较短,书中难免存在疏漏,不足之处敬请同行专家、使用本教材的老师、研究生和其他读者批评指正。

温旺荣 周华友

2013年3月30日

目 录

第一章 绪论	1
第一节 临床分子诊断学概念、发展现状及趋势	3
第二节 临床分子诊断学主要临床应用	5
第三节 临床分子诊断学法律法规问题	6
第二章 临床分子诊断学基础理论	9
第一节 核酸的分子结构和复制	11
第二节 基因的转录、翻译及调控	16
第三节 基因突变与多态性	24
第四节 表观遗传学	27
第三章 临床分子诊断学基本技术	33
第一节 核酸与蛋白质纯化技术	35
第二节 分子杂交技术	40
第三节 DNA测序技术	44
第四节 聚合酶链式反应技术	50
第五节 临床分子诊断学标准化	55
第四章 临床分子诊断学应用技术	61
第一节 荧光定量聚合酶链反应技术	63
第二节 流式细胞技术	68
第三节 荧光原位杂交技术	72
第四节 生物芯片技术	75
第五节 色谱-质谱技术	80
第六节 其他相关技术	84

第五章 遗传性疾病分子诊断	87
第一节 染色体病分子诊断	89
第二节 遗传性耳聋分子诊断	108
第三节 地中海贫血分子诊断	113
第六章 病毒性疾病分子诊断	137
第一节 病毒性肝炎分子诊断	139
第二节 艾滋病分子诊断	146
第三节 流行性感冒病毒分子诊断	149
第四节 鼻咽癌与EB病毒分子诊断	151
第五节 宫颈癌与人类乳头瘤病毒分子诊断	154
第六节 优生优育与致畸相关病毒分子诊断	158
第七节 其他病毒性疾病分子诊断	163
第七章 细菌性疾病分子诊断	171
第一节 淋病分子诊断	173
第二节 结核分子诊断	176
第三节 霍乱分子诊断	180
第四节 幽门螺旋杆菌感染分子诊断	181
第五节 细菌性腹泻分子诊断	184
第六节 细菌性肺炎分子诊断	186
第七节 “超级细菌”感染性疾病分子诊断	188
第八章 真菌病分子诊断	195
第一节 念珠菌感染性疾病分子诊断	197
第二节 新生隐球菌感染性疾病分子诊断	200
第三节 烟曲霉菌感染性疾病分子诊断	203
第四节 病原真菌分子生物学鉴定技术	205
第九章 其他感染性疾病分子诊断	217
第一节 梅毒螺旋体感染性疾病分子诊断	219
第二节 衣原体感染性疾病分子诊断	221
第三节 支原体感染性疾病分子诊断	224
第四节 立克次体感染性疾病分子诊断	227
第五节 寄生虫感染性疾病分子诊断	229
第六节 未知病原体感染性疾病分子诊断	233

第十章 肿瘤分子标志物	239
第一节 肿瘤标志物基础与临床实践	241
第二节 肿瘤新型分子靶向标志——从临床前到临床研究	244
第三节 肿瘤化疗药物个体性敏感试验及临床应用	250
第四节 肿瘤干细胞分子标志研究	252
第十一章 HLA与组织配型技术	257
第一节 HLA概况	259
第二节 HLA基因命名	264
第三节 HLA生物学功能	268
第四节 HLA与临床应用	272
第五节 HLA检测与移植配型策略	280
第十二章 非编码RNA在临床分子诊断中的应用	287
第一节 非编码RNA概况	289
第二节 非编码RNA检测	292
第三节 非编码RNA研究在临床分子诊断中的应用	295
第十三章 临床分子诊断学应用展望	303
第一节 临床分子诊断学在多学科中的应用	305
第二节 临床分子诊断学在生物信息学中的应用	310
第三节 临床分子诊断技术展望	313

随着分子生物学、人类基因组学和蛋白质组学技术的迅猛发展,临床医学已进入分子医学时代。不断涌现的许多新技术和自动化仪器极大地推动了分子诊断技术的临床应用,特别是在临床疾病诊断和治疗中的广泛应用,也由此产生了临床分子诊断学这门新的学科。人们对生物体的认知已逐渐从宏观深入到微观,在分子水平上对感染性疾病、遗传性疾病(包括产前诊断)、肿瘤、耐药性分析和组织配型等方面的分子诊断、个体化治疗都产生了巨大作用,同时也会涉及法律法规问题。

第一节 临床分子诊断学概念、发展现状及趋势

一、临床分子诊断学概念

临床分子诊断学(clinical molecular diagnosis)是临床检验诊断学中最具发展潜力的重要组成部分,它是以临床疾病的诊断治疗为目的,通过各种分子生物学方法如核酸分子杂交、荧光定量PCR、基因测序和基因芯片等手段,从分子水平上对患者的组织细胞、血液、脓液、脑脊液、胸腹水、尿液、精液、粪便与其他体液、分泌物和排泄物等标本进行核酸或蛋白质的定性定量检测分析,以获取感染病原体、疾病病理变化、预防预测、预后判断、疗效考察等信息并直接指导临床疾病诊断和治疗的一门新学科。它既在感染性疾病、遗传性疾病和肿瘤等多种疾病的预测预防、早期诊断、个体化医学(personalized medicine)、疗效观察、预后判断、人类健康状况的评价和相关医学等领域具有重要指导意义;又在法医学、药学、考古学等领域具有重要价值,它将成为21世纪主导临床检验诊断技术的一门新学科。

二、临床分子诊断学发展现状

分子生物学技术在临床医学中的不断发展和广泛应用为临床分子诊断学的诞生奠定了基础,也推动着整个分子医学科学的发展。临床分子诊断学的诞生应追溯到1978年,美国华裔科学家简悦威等第一次应用液相DNA分子杂交技术成功地从分子水平上诊断了镰刀状细胞贫血(血红蛋白S病)。这是临床分子诊断的开端,主要是通过DNA分子杂交技术对遗传性疾病进行分子诊断。第二阶段是在1985年创建了聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术的基础上,20世纪90年代后期进一步建立了适合于临床疾病诊断的荧光定量PCR技术并应用于临床。首先是对感染性疾病的基因诊断,例如乙型肝炎病毒的病毒载量测定不仅可以早期诊断乙型肝炎,而且可以考察干扰素和拉米呋啶等药物的疗效,还可以及时发现耐药菌株并换药治疗;其次是对遗传性疾病的基因诊断,如地中海贫血的基因确认;还有是对肿瘤分子靶向治疗的靶点的基因位点检测,根据检测结果选择有效的治疗方案,特别是敏感药物的选择。第三阶段是20世纪90年代初期生物芯片的发明及其随后的发展,该生物芯片包括细胞芯片、组织芯片、基因芯片和蛋白芯片等。基因芯片技术主要用于血液或组织细胞标本的肿瘤标志物的检测和感染性疾病病原体的检测,已用于临床疾病的诊断、病原体的耐药基因的分析 and 肿瘤发生发展的基因研究中。如聋哑基因的检测和结核分枝杆菌耐药基因的检测。2004年基因芯片系统通过美国FDA和欧盟CE认证,成为第一个可以用于体外诊断的基因芯片系统,芯片系统已逐渐成为核酸诊断(基因型分析和基因表达分析)的标准平台,被世界上多数科研机构和临床医疗机构用于各种肿瘤、心血管疾病的转化研究和临床应用中。第四阶段是高通量基因测序技术的临床应用。高通量基因测序技术是DNA测序技术的一次革命。它一次可以同时几十万至几百万条DNA进行测序,使得对一个物种的转录组和基因组进行细致全貌的分

析成为可能。该测序技术的广泛应用,将使海量的遗传信息被相继揭秘。基因测序可以为临床疾病的分子诊断提供最准确的判定依据;微生物基因组测序可以快速鉴定临床标本中含有的感染性微生物。如已用于地中海贫血基因的确认和感染性疾病病原体的诊断和基因分型。

随着临床分子诊断技术的不断应用,急需解决临床分子诊断的标准化如标本的采集与处理、实验的质量控制、核酸或蛋白质自动化检测和多基因同时分析等问题,也将大大推动荧光定量PCR技术、基因芯片技术和高通量基因测序技术的两两联合或多种联合应用,将在更深层次指导临床疾病的诊断与治疗。

三、临床分子诊断学发展趋势

迄今为止,虽然临床分子诊断只有30多年的历史,但对疾病诊断的影响是突破性的。临床应用的分子诊断技术主要包括核酸分子杂交、多聚酶链式反应和基因测序3种基本技术,以及进一步发展的荧光定量PCR技术、基因芯片技术、高通量测序技术及其联合应用。其发展趋势如下:

(一) 检测系统的微量化

对标本的需求量非常小,只需要少量标本就可进行分析。

(二) 检测系统的高通量和自动化

可以实现基因检测方法的自动化、高通量、大规模、快速高敏感的进行。

(三) 检测方法灵敏度和准确度的提高

荧光定量PCR技术、基因芯片技术和高通量基因测序技术的两两联合或多种联合应用,将使高灵敏度、高特异性和高准确性的临床疾病的早期检测成为可能。另外,也包括分子诊断技术与临床检验其他技术的联合应用,特别是免疫标记技术。

(四) 检测范围的扩大

从检测感染性疾病、单基因遗传病和肿瘤进一步扩展到多基因遗传病如高血压病、糖尿病、哮喘和溃疡等临床常见病。

(五) 检测分子标志物的多样化

从DNA、mRNA和蛋白质到微小RNA,因为血清的微小RNA较稳定,可能成为较特异、敏感的新基因标志物,可望改变目前很难早期诊断癌症的现状。如甲胎蛋白对于肝细胞癌的诊断特异性好,但是检测到甲胎蛋白增高时肝癌往往已属于晚期,缺乏足够的敏感性。因此,需要寻找特异性和敏感性均较好的新基因标志物以早期诊断癌症。

(六) 产前分子诊断的应用

从有创性的采集绒毛、羊水和脐带血到只要采集母亲的外周血,通过母亲外周血的胎儿DNA或RNA的检测进行胚胎诊断。

(七) 个体化医学分子诊断与治疗应用

个体化医学是在临床医学领域内的“量体裁衣”,目前已成为临床疾病诊断和治疗实验室检测进展最快的一个领域。临床医生可以根据各自的全基因组测序的结果,对患者的患病情况进行分析,并开出适合各自DNA结构的药物进行诊断和治疗,真正做到个体化治疗,比如目前应用的肿瘤靶向治疗。

(八) 临床分子诊断法律法规方面的健全

国家应尽快制订并批准分子遗传的诊断标准,对临床分子诊断应用于遗传病的诊断提供法律法规保障,这将对标准化临床分子诊断产生重要影响。

第二节 临床分子诊断学主要临床应用

目前,临床分子诊断学主要临床应用包括以下5个方面。

一、感染性疾病(获得性基因病)分子诊断

一些已引起世界性大流行的病原体如SARS、禽流感、H1N1和超级细菌等感染导致的感染性疾病严重威胁着人类的健康,感染性疾病仍然是当今世界公共卫生问题。以前主要通过其病原学特征和免疫学方法检测上述病原体,这些传统的方法因受到敏感性和特异性的限制而影响感染性疾病诊断的准确性。随着各种病原体基因结构的阐明和分子诊断技术的不断应用,通过检测病原体的核酸(DNA或RNA)快速、早期、敏感和特异地诊断感染性疾病就成为可能。临床分子诊断不仅可以确诊病原体引起的感染性疾病、病原体基因分型和耐药性基因的监测,而且可以考察治疗效果、判断复发和发现使用药物后才出现的耐药菌株。因此在人类感染性疾病的早期诊断、病原体分类分型、耐药性监测和流行病学调查等方面逐渐显示出它独特的功能。

二、遗传性疾病分子诊断

随着临床分子诊断技术的不断进步,发现的人类遗传性疾病越来越多,主要包括单基因遗传病(即符合孟德尔遗传规律的)和多基因遗传病(即不符合孟德尔遗传规律受多种因素影响的)2大类。以前的遗传性疾病主要靠疾病的表观特征为依据进行诊断,然而表观容易受到外界环境因素影响,诊断的准确性和可靠性会受到一定程度的限制。遗传性疾病的分子诊断是通过检测分析患者的遗传物质(DNA、RNA、染色体、线粒体和蛋白质等)来揭示与该遗传病相关的基因、基因型、基因突变和染色体核型分析等标志物,与传统的疾病诊断方法比较,具有更准确、更可靠和能早期诊断的优点,有利于在临床上对遗传性疾病进行早期预防、早期诊断和早期治疗,从而达到减少或控制相关遗传病的发生、减轻症状和改善患者预后的目的。在产前诊断中可以提前发现患有遗传病的胎儿以便及时作出终止措施,进一步降低新生儿缺陷的发生率,真正做到优生优育。糖尿病、高血压病、哮喘、溃疡和自身免疫病等临床常见病属于多基因遗传病,目前应用临床分子诊断已可以对这些疾病的易感性进行检测并作出诊断,为预防这些疾病的发生进行生活方式、饮食习惯等针对性的改变。

三、肿瘤分子标志物

在肿瘤诊断、肿瘤复发与转移的检测、疗效和预后的判断以及人群普查等方面,肿瘤分子标志物有较大的实用价值。肿瘤基因标志物分为基因型标志物和基因表型标志物,前者是指基因本身突变和表达异常,能反映癌前启动阶段的变化;后者是指基因表达产物表达和调控异常,表现为其所编码的表达产物(胚胎性抗原和异位蛋白等)合成紊乱,蛋白质一般出现较晚。因此,如何寻找特异性肿瘤基因型标志物是进行肿瘤基因诊断的前提,也是肿瘤早期发现、早期诊断以及防治的关键所在。国内外学者都在努力研究试图尽快找到一种肿瘤特异的基因标志物,为彻底诊断和治疗肿瘤准备条件。肿瘤分子靶向治疗是近10年发展应用于临床,以细胞受体和增殖调控的分子为靶点的治疗方法,是肿瘤治疗划时代的突破,已引起全球检验科、病理科和肿瘤科相关医生的高度关注。已有一些成熟的检测指标如

EGFR、*CYP2D6*、*CYP2C19*、*K-ras*、*VKORC1*的T6484C和*CYP2C9*的A1075C等已应用于非小细胞型肺癌（NSCLC）、结直肠癌和乳腺癌等的个体化治疗和个体药物用量指导等方面，正发挥着重要的作用。特别是目前国内外研究者公认的*EGFR*是肺癌靶向治疗分子，且*EGFR*基因突变的NSCLC患者对*EGFR*-TK1的有效率明显高于未选择的NSCLC患者。随着科技的发展，肿瘤靶向治疗是个体化治疗的重要标志，应该运用恰当的靶点，利用合适的药物，治疗特定的人群。这是临床分子诊断的重要应用领域。

四、耐药性的分子诊断

致病性微生物耐药性基因的检测对于感染性疾病的选择用药、控制耐药性传播和流行病学调查具有十分重要的临床意义。由于临床上抗生素滥用，耐药菌株不断出现，多重耐药的致病性微生物也时有发生，甚至出现了具有完全耐药的超级细菌。有关超级细菌已在多个国家陆续报道。对于超级细菌的耐药机制和传播的研究与检测需要应用分子诊断技术；对于病毒性肝炎的治疗，通过肝炎病毒的核酸载量检测发现突变株如YMDD或YIDD变异，从而更换药物继续治疗也具有重要的指导作用；对于肿瘤靶向治疗，通过靶基因的检测确定治疗效果和疗效监测（肿瘤靶向治疗是依据分子分型作为用药筛选，所以有效）。因此，耐药性的分子诊断主要针对感染性病原体（主要是细菌、病毒、真菌和支原体）和肿瘤而言，通过检测耐药基因表达改变和/或检测病原体亚型或突变加以分析耐药性，对感染性疾病和肿瘤的治疗具有特别重要的意义。

五、组织配型和个体化治疗的分子诊断

分子诊断可以利用每个个体DNA的不同（主要通过检测RFLP、STR和SNPs）来鉴定个体间的相关性或同源性，从而进行亲子鉴定、组织配型和个体化治疗。应用分子诊断技术进行上述鉴定准确、可靠、可信。组织配型技术与个体的HLA的多态性密切相关。

个体化治疗是根据患者的遗传信息，量体裁衣地制订治疗效果最优、毒副反应最小、最适合患者的最佳治疗方案。它除用于肿瘤靶向治疗外，也可望用于临床常见疾病如高血压病、糖尿病、哮喘、溃疡和自身免疫病等的诊断与治疗，这些有赖于个体化的医学检测。在开展个体化医学检测时，必须按照卫生部于2010年发布的《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》和《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》（卫办医政法〔2010〕194号文件）的要求，首先是标准化规范化设计临床基因扩增检验实验室；其次是规范化培训实验室检测技术人员；最后是所有检测必须有分析前、分析中和分析后的质量管理体系。在检测时必须做好实验室室内质控和室间评价，由此才能获得准确结果，防止误导临床诊治。因此标准化规范化全国涉及基因扩增的个体化医学检测实验室是极其必要的。

第三节 临床分子诊断学法律法规问题

因为临床分子诊断的结果是当作临床疾病诊疗的客观依据，因此除标准化规范化检测外，还需要法律法规层面的保障。因为任何一种方法不可能是百分之百准确的，总归有技术性的误差。对于临床分子诊断存在医疗纠纷的风险，特别是产前诊断。现就存在的相关问题分析如下。

一、通用法律法规问题

美国必须遵循FDP的标准进行临床分子诊断,我国是依据《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》和《医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则》(卫办医政法〔2010〕194号文件)进行技术验收,验收方式为现场审核、现场提问和现场实验考核,验收范围涉及临床基因扩增检验实验室技术验收表所要求的内容。验收合格才能对患者进行检测,否则不受法律法规的保护。

在临床检验的各专业检验项目中,最可能存在医疗纠纷的正是临床分子诊断,因为未知的遗传突变和检测技术的局限性等因素均可以导致结果假阳性和假阴性的风险,同时因为临床分子检测技术的发展,同一标本在规定的条件下保存,即使在不同时间再检测,结果变化不大,可以进行比较。因此,临床分子诊断的标本要根据当地的法律法规要求保存一定的年限,以便发生医疗纠纷时可再次确认结果和寻找原因作为法律依据。正因为如此,对检测的要求也就特别高,尤其是标准化和法律法规问题。各个实验室必须按照卫生部临床检验中心指定的操作手册进行实验室设置、按规定购置仪器设备、选择好的试剂、按照sop操作和处理结果、报告结果与分析。

目前国内尚无一部关于因临床分子诊断技术的局限性导致漏诊或误诊适用的法律法规,因此,我国在这方面需要进一步深入研究和探讨,以保护患者和医护人员双方的利益。

二、产前诊断的法律问题

产前诊断是指对胎儿进行先天性缺陷和遗传性疾病的诊断。它是预防出生缺陷的二级预防措施,是提高人口素质的一项重要手段。其中,分子遗传检测是产前诊断技术中的重要步骤,起着非常关键的作用。除按照临床分子诊断通用要求进行检测外,还具有其特殊的法律问题,如检测患者首先签订知情同意书,然后再作检测。

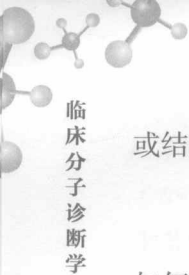
在我国,产前诊断是依据《中华人民共和国母婴保健法》及《中华人民共和国母婴保健法实施办法》的相关规定并经过行政审批的一项技术服务,所以开展产前诊断技术服务的机构必须是医疗保健机构,同时应获得卫生行政部门颁发的母婴保健技术服务执业许可证。而从事产前诊断技术服务的专业技术人员,也必须获得卫生行政部门颁发的母婴保健技术考核合格证书。同时,为了保障安全、有效、合理地实施产前诊断技术服务,尊重和保障当事各方的权益,在产前诊断技术服务中实施伦理学监督也是法定的要求。相关的医学伦理原则包括以下5个方面:尊重自主、知情同意的原则;趋利避害、有利母儿的原则;保守秘密、尊重隐私的原则;遵守法律法规、社会公益的原则;伦理监督、权益保护的原则。另外,胚胎植入前遗传学诊断除遵循产前诊断有关伦理学原则外,还应同时遵从人类辅助生殖技术伦理原则和人胚胎干细胞研究伦理指导原则的规定。

三、政府层面需要做的努力

从检测基因获得的信息,有助于治疗人体的各种疾病,并可预测人体各种疾病发生的几率,甚至可从人体的基因信息中预测人的性格倾向。针对以下的问题,政府可否在法律法规层面上寻求解决之道,而解决方法必须在不可妨碍科技发展、维持人类基本权利与人性尊严之间找到适当的平衡点。同时,为了更好地保护临床检验工作者的权益,政府也应该从法律法规层面作些规定,使得临床分子诊断工作者可以踏踏实实做实验,从学术上分析结果,解析疾病的分子机制,让操作者没有后顾之忧,特别对遗传病作出分子诊断时更要有法律法规上的保护。

(一) 婚姻与生育子女

政府可否要求婚前检查包括检测已知的致病基因或遗传缺陷,根据检测结果给予结婚与否的建议,



或结婚后不生育子女以避免生出遗传病患儿，这点对优生优育至关重要。

（二）亲属间的基因信息

个人检测的基因信息，有时亦可推知其亲属的基因信息，此时个人或检测医疗机构是否应该保密及如何保密还需进一步探讨，因为通过对个体有关遗传信息的检测，可寻找家系中其他患者的存在，有利于保护其他患者的利益。

（三）强制检测目的基因并收集基因信息建立数据库

政府、司法单位或私人机构可否因某种理由（例如侦查犯罪，预防某种疾病），强制检测某特定人群或特定族群的基因信息，并收集基因信息作为数据库以达到某种目的。

（温旺荣）

参考文献

- [1] 姜加陶, 吴传勇, 薛剑, 等. 基于悬浮点阵技术的新型EGFR基因突变检测方法的建立和应用[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2011, 3(31): 284-289.
- [2] 吕建新, 尹一兵. 分子诊断学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004.
- [3] 吕建新, 樊绮诗. 临床分子生物学检验[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [4] Kan YW, Dozy AM. Polymorphism of DNA sequence adjacent to human β -globin structural gene: relationship to sickle mutation[J]. PNAS, 1978, 75(11): 5631-5635.
- [5] Saiki RK, Scharf S, Faloona F, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia[J]. Science, 1985, 230(4732): 1350-1354.
- [6] Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, et al. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions[J]. Bio/Technology, 1993, 11: 1026-1030.
- [7] Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al. Genome sequencing in open microfabricated high density picoliter reactors[J]. Nature, 2005, 437(7057): 376-380.
- [8] Bains W, Smith GC. A novel method for nucleic acid sequence determination[J]. Journal of Theoretical Biology, 1988, 135(3): 303-307.
- [9] Chan SK, Gullick WJ, Hill ME. Mutations of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer—search and destroy[J]. Eur J Cancer, 2006, 42(1): 17-23.
- [10] Camidge DR, Kono SA, Lu Xian, et al. Anaplastic lymphoma kinase gene rearrangements in non-small cell lung cancer are associated with prolonged progression-free survival on pemetrexed[J]. Journal of Thoracic Oncology, 2011, 6(4): 774-780.