

肿瘤诊治中分子病理学技术的应用探究

李轩飞

平顶山市第一人民医院病理科 河南平顶山

【摘要】分子病理学是近几十年出现的一门新兴学科，分子病理学学科的出现使得医学界关于肿瘤的研究也从传统的组织、细胞水平逐步深入到了染色体、DNA的水平。在此情形下关于肿瘤的病理诊断更加能够体现出客观性和准确性，而且对于肿瘤的靶向治疗和预后判断也有积极的促进作用，也可以对肿瘤病理学发展起到极大推动作用。目前在医学领域中基因突变检测、流式细胞术、免疫组化等分子病理学技术已经得到广泛应用，而且在未来的医学发展过程中也将发挥出不可替代的作用。本文主要对近年来分子病理学在肿瘤诊治中的应用进行详细总结。

【关键词】分子病理学；肿瘤诊治；基因突变

Application of molecular pathology in tumor diagnosis and treatment

Xuanfei Li

Pathology Department of Pingdingshan First People's Hospital

【Abstract】 Molecular pathology is a new discipline emerging in recent decades. With the emergence of molecular pathology, the research on tumor in the medical field has gradually deepened from the traditional tissue and cell level to the level of chromosome and DNA. Once again, the pathological diagnosis of tumors can show more objectivity and accuracy, and it can also positively promote the targeted treatment and prognosis of tumors, and can also greatly promote the development of tumor pathology. At present, molecular pathology techniques such as gene mutation detection, flow cytometry and immunohistochemistry have been widely used in the medical field, and will play an irreplaceable role in the future medical development. This article mainly summarizes the application of molecular pathology in tumor diagnosis and treatment in recent years.

【Keywords】 molecular pathology; Diagnosis and treatment of tumor; Gene mutation

引言

诊断病理学和实验病理学是传统病理学的两个重要分支，诊断病理学主要是利用活体检测、尸体解剖等手段来诊断疾病，实验病理学则是通过体外细胞培养或者动物实验方法进行疾病研究。随着免疫学、分子生物学近几十年来的快速发展，流式细胞术、免疫组化等相关技术得到了广泛应用，也进一步推动了病理学的快速发展，在此情形下出现了分子病理学这门新的学科分支。分子病理学在肿瘤疾病的研究中的应用更加体现出定位、定量的特征，也能够体现出可重复性和客观性。

1 免疫组织化学

免疫组化主要指的是针对组织或细胞中的某种特定蛋白成分通过抗原抗体特异性结合方法进行

检测和定位。免疫组化技术能够实现形态学改变和细胞成分定位的相互结合，且其病理分析可以直接在细胞涂片或者培养细胞爬片上开展，通过计算机图像技术辅助可以实现物质的定量检测分析，由于其具有较高的特异性和敏感性，在医学领域中得到了广泛应用，可以实现细胞属性以及来源的判定，分析淋巴细胞免疫表型等。例如在乳腺癌患者的诊治过程中可以利用免疫组化来实现 ER、PR 等相关资源的检测，在此基础上就可以对患者预后以及靶向药物治疗的敏感性提供进行精确判断，从而为患者后期实施内分泌治疗提供有效指导^[1]。

2 原位杂交 (in situ hybridization, ISH)

原位杂交主要指的是针对一个特定靶基因利用完成标记的和核苷酸片段探针，在组织切片、培养

细胞爬片或者细胞涂片上检测其是否存在的一种技术。原位杂交根据使用探针标记物的不同又可以进一步划分为以下几种。

2.1 荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)

FISH 可以针对较大范围内基因是否发现缺失、扩充, 染色体是否发生转位、数目变化等异常改变进行检测, 由于其本身的性能相对稳定, 而且展示结果相对直观, 目前在市场中已经出现了试剂盒。在胃癌以及乳腺癌的 HER2 基因扩增中得到广泛应用, 另外在产前诊断以及宫颈癌、白血病的检测诊断中也能发挥出巨大作用。但需要注意的是在针对乳腺癌和胃癌 HER2 进行检测的过程中由于蛋白表达意义并不明确, 因此必须要针对 HER2 基因的扩增利用 FISH 进行进一步检测验证, 这样才能对后期应用赫塞汀进行正确指导; 此外, 荧光原位杂交对于化疗及疾病预后预测也能够发挥重要的治疗作用, 目前已经成为 HER2 基因扩增的金标准。

2.2 显色原位杂交 (chromogenic in situ hybridization, CISH)

CISH 目前在医学领域中的应用非常广泛, 其主要指的是一般意义上的原位杂交^[2]。其最终目的是要完成 DNA 标记。例如可以利用显色原位杂交方法来实现疫病病毒、乳头瘤病毒的检测。与免疫组化方法相比较, 原位杂交体现出了更高的特异性, 如果无法保证抗体可靠性的情况下, 该方法属于一种可行的监测方法, 该方法在应用过程中通过普通光学显微镜即可进行观察, 而且也能够实现长期保存, 但 CISH 在应用过程中存在操作步骤复杂, 很容易因人为差异或其他有所影响而导致不稳定。

3 基因突变检测

在近几年医学领域的肿瘤治疗过程中靶向治疗属于一种新出现的治疗手段, 相较于传统化学治疗手段, 靶向治疗可以实现肿瘤细胞的选择性杀伤, 因此在肿瘤治疗过程中对正常细胞产生的影响和损害相对较小, 在肿瘤治疗领域中体现出了高选择性和负面反应少等优势^[3]。靶基因是否发生突变是靶向治疗的关键所在。因此在肿瘤的靶向治疗过程中基因突变检测能发挥出非常关键的指导作用, 而且目前医学领域中一些基因突变检测方法已经得到广泛应用, 例如 EGFR 基因突变检测易瑞沙和特罗凯

等等靶向药物对于非小细胞肺癌患者有积极作用。而在直肠癌患者在诊疗过程中利用 KRAS 基因突变检测方法可以对西妥昔和帕尼药物的适用性进行检测。

3.1 基因测序 (gene sequencing, GS)

利用基因测序技术能够将基因信息进行真实反映, 在当前的各类分子诊断中该方法已经被普遍公认为金标准。而且传统经典的 sanger 测序技术已经逐步发展形成了二代测序技术, 二代测序技术最具代表性的有 Roche 公司所研发的四五次技术以及 ABI 公司所研发的 solid 技术等; 而且随着测序技术的不断发展测序通量也在不断提升, 而且成本得到了极大控制。与经典 sanger 测序技术相比较, 其他方法虽然在特异度和灵敏度方面得到了极大提升, 但是这些方法往往是应用在已知的常见突变检测方面, 对于基因的位置突变以及罕见基因突变检测并不具备适用性^[4]。sanger 测序技术作为一种经典测序技术在实际应用过程中体现出了检测程序繁琐, 耗时较长等一些特点; 而且对于肿瘤组织标本数量的要求相对较为严格, 敏感性相对较低, 对于 20% 以下的突变不能够进行检测。

3.2 高分辨率熔解曲线 (high resolution melting, HRM)

HRM 属于一种建立在 PCR 基础上, 针对核酸溶解曲线的变化通过饱和染料进行监测的一种技术。双链 DNA 如果在单核苷酸多态性位点不匹配的情况下出现先解开的现象, 此时, 局部解开的 DNA 分子会释放出荧光染料, 此时根据荧光染料释放强度和温度曲线关系就可以判定出单核苷酸多态性是否存在, 而且溶解曲线峰性会受到单核苷酸多态性位点、杂合子以及纯合子等几种因素的综合影响。由此可以看出高分辨率溶解曲线分析方法可以清晰的辨识出不同的基因型, 同时也可以判断出单核苷酸多态性的位点。而且在检测过程中不需要使用具有特定序列的探针, 同时也不会受到突变碱基种类的曲线, 具有极高的灵敏度, 而且能够体现出高通量和成本低等一些优点, 在基因分型以及突变筛选等方面能够发挥出巨大作用。利用高分辨率熔点曲线方法能够有效区分出单碱基差异, 因此对于温度分辨率提出了严格要求, 为了达到这一要求必须要配备特定的仪器。

4 生物芯片

生物芯片技术是实现了计算机、微电子学以及生物学等前沿科学全面融合的一种具有重大科技突破性的技术之一。生物芯片技术利用硅片和玻片等支持物包被核酸、蛋白质或组织等,利用特定的分析方法或设计出不同的阵列就可以应用在不同场合中,目前生物芯片技术在基因突变检测、产前诊断、分子标记物筛选等各个方面已经取得了巨大进展。

4.1 基因芯片

基因芯片分析方法可以针对肿瘤高发人群详细分析其基因表达谱,通过将患者或肿瘤高发人群的基因库与正常对照组进行对比之后就可以为找出致病肿瘤基因提供线索;与此同时在实施进行多边检测之后,对于个体的肿瘤发生风险也可以提出预警;通过基因芯片技术为基于广泛基因表达分析的肿瘤分类技术发展奠定了坚实基础,通过基因芯片技术可以对常规手段难以检测的肿瘤进行明确区分,因此肿瘤诊断正确率可以得到极大提升。基因芯片技术在产前诊断方面的应用由于受到成本限制目前并未得到全面推广,但是与传统产程检测技术相比较,由于基因芯片本身具有极高分辨率,应用前景十分广阔^[6]。

4.2 蛋白质芯片

蛋白质芯片技术的出现为医学领域进一步实现肿瘤标记物联合检测提供了有效手段。目前在医学研究领域中已经出现了多个利用蛋白质芯片检测肿瘤血清蛋白的成功案例,而且利用蛋白质芯片技术与诊断方法进行结合后可以实现肿瘤分级。

4.3 组织芯片

组织芯片将微小组织按照特定序列进行排列后可以为疾病形态学分析提供一种沟通量、大样本的分析工具。将传统病理学与组织芯片技术进行相互融合后可以应用在免疫组化、特殊染色、原位杂交等几个方面。组织芯片技术在肿瘤诊断检测方面中的应用体现出来内对照和实验条件一致性等一些优势。例如目前在学术领域中一些专家学者利用组织芯片方法研究出 BCL-2、p53 的异常表达与直肠癌的发生存在直接关联。

5 结语

未来医疗行业的发展必然会向着个体化治疗和靶向用药这个方向发展,这些诊疗技术的实现都是

以实现患者的全面检测作为基础,例如针对患者的细胞蛋白表达水平利用免疫组化进行检测,针对患者细胞中核酸的含量和变化利用原位杂交和经营图片检测方法进行分析,通过生物芯片技术来实现规模化对比。在医疗技术水平不断提升和各类新医疗器械、新医疗技术不断涌现的情形下,深入研究分子病理学将发挥出巨大的作用。

参考文献

- [1] 《软组织和骨肿瘤分子病理学检测专家共识(2022 版)》编写专家委员会.软组织和骨肿瘤分子病理学检测专家共识(2022 版)[J].中华病理学杂志,2022,51(10):950-958.
- [2] 张璋,张渝,步宏,唐平.乳腺小叶肿瘤组织学亚型及其分子病理学研究进展[J].中华病理学杂志,2022,51(02):160-164.
- [3] 吉荣浩,王小桐,李锐,叶胜兵,王璇,马恒辉,陆珍凤,饶秋,夏秋媛.伴有核极向倒置特征的乳头状肾肿瘤临床及分子病理学特征[J].中华病理学杂志,2022,51(01):23-27.
- [4] 汪昊,陈东,董方.原发性心脏恶性肿瘤分子病理学研究进展[J].中华病理学杂志,2021,50(11):1316-1320.
- [5] Looijenga L H J, Van der Kwast T H, Grignon D, 魏建国, 方三高.国际泌尿病理学会(ISUP)关于泌尿生殖道癌分子病理学诊断共识IV:睾丸生殖细胞肿瘤分子遗传学检测应用的现状与前景[J].临床与实验病理学杂志,2021,37(03):293.
- [6] 杨秀秀,赵好为,孙小钦,代璐玲,姚莉洪,郑志建,陈宇,韩琪.唾液腺肿瘤的分子病理学研究进展[C]//.第十四届全国口腔病理学术会议论文汇编.,2020:26.

收稿日期: 2022 年 10 月 17 日

出刊日期: 2022 年 11 月 11 日

引用本文: 李轩飞, 肿瘤诊治中分子病理学技术的应用探究[J]. 国际医学与数据杂志 2022, 6(6): 41-43.

DOI: 10.12208/j.ijmd.20220235

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网(CNKI Scholar)、万方数据(WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS