

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.07.052

◇医药教育◇

精准医疗时代病理学研究生分子病理教学的探索

罗韬, 姚小红, 葛佳, 时雨, 阎晓初

作者单位: 中国人民解放军陆军军医大学第一附属医院病理学研究所, 重庆 400038

通信作者: 姚小红, 女, 副主任医师, 副教授, 博士生导师, 研究方向为胶质瘤血管生成的细胞和分子机制研究, E-mail: yxh15@163.com

基金项目: 重庆市研究生教育教学改革研究项目(yjg153072)

摘要: 精准医疗时代的到来, 给病理学科的发展带来了机遇和挑战。分子病理作为病理学科发展的前沿阵地, 近年来在临床病理诊断中的地位不断提高, 急需培养病理医师分子诊断的理念。而目前的分子病理研究生教学存在与临床脱节、缺乏实践训练的问题。我们提出分子病理教学的理论授课应与临床治疗、病理诊断以及科研热点结合, 并根据分子病理常用平台设计了聚合酶链式反应(PCR), 荧光原位杂交(FISH), 测序及科研课题设计的实践教学。通过系统完整的教学模式, 为培养符合精准医疗时代要求的分子病理专科人才提供支持。

关键词: 病理学, 分子/教育; 病理学, 临床/教育; 免疫组织化学; 教育, 医学, 研究生; 精准医疗

The exploration of molecular pathology education of postgraduates in the age of precision medicine

LUO Tao, YAO Xiaohong, GE Jia, SHI Yu, YAN Xiaochu

Author Affiliation: Institute of Pathology, The First Hospital Affiliated to Army Military Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract: The advent of precision medical age has brought opportunities and challenges to the development of pathology. Molecular pathology, as the forefront of the development of pathology, has been improving its status in clinical pathology diagnosis in recent years. It is urgent to cultivate pathologists' molecular diagnosis concept. At present, the postgraduate teaching of molecular pathology is disjointed with clinic and lack of practical training. We proposed that molecular pathology teaching should be combined with clinical treatment, pathological diagnosis and scientific research hotspots. According to the platform of molecular pathology, we designed polymerase chain reaction, fluorescence in situ hybridization, sequencing and practiced teaching of scientific research projects. Through a complete system of teaching model, we provide support for the training of molecular pathology specialists in accordance with the requirements of the era of precision medicine.

Key words: Pathology, molecular/education; Pathology, clinical/education; Immunohistochemistry; Education, medical, graduate; Precision medical treatment

精准医疗(Precision Medicine)是基于个体化医疗的理念, 将最新的分子遗传学成果和生物信息学大数据分析应用到临床诊疗中的新型医学模式。最初是在2011年提出, 2015年1月20日, 美国前总统奥巴马提出“精准医学计划”, 财政预算计划在2016年拨付2.15亿美元用于相关研究和技术发展^[1]。中国也在2016年加快了精准医学的步伐, 国家发改委批复在全国建设27个基因检测技术应用示范中心; 中国的华大基因也在2017年发布了基于SBS策略的自主研发测序仪BGISEQ500, 冲击着外企垄断的测序上游^[2]。而这些改变, 也给病理学这一经典学科的发展带了挑战和机遇。

病理学, 特别是诊断病理学, 实际上是最早践

行精准医疗的学科^[3]。在二十世纪七十年代, 基于辣根过氧化物酶的免疫组化(Immunohistochemistry)技术就已发明并广泛用于肿瘤的辅助病理分型, 而不同的肿瘤分型所应用的治疗方法也完全不同^[4]。随着测序技术的不断发展, 基因图谱的改变越来越受到人们的重视。2016年, 中华医学会病理学分会分子病理学组成立, 标志着分子病理在病理诊断中的正式崛起。现在的病理医师不能再局限于“形态病理为主, 分子病理为辅”的理念, 而是“两手抓两手都要硬”。将包括蛋白改变(免疫组化), 基因突变, 染色体异常等分子生物学内容纳入到病理学的框架中, 形成全新的分子病理学^[5]。未来的病理人案头除了《病理医师实用组织学》《诊断病理学》以

外,还应有《分子诊断与肿瘤个体化治疗原则》等最新分子诊断用书。把最新的成果应用到临床病理诊断中,才能在精准医疗的浪潮中乘风破浪,砥砺前行。

病理学专业的研究生,是未来活跃在病理一线的诊断病理医师。组织病理的学习,已经形成完整的教学模式,包括理论授课,临床实践等内容^[6-7]。而分子病理的教学内容,一直停留在理论部分的学习,缺乏实践操作内容;内容上多参考分子生物学的章节划分,主要集中信号通路的介绍,而忽略了临床治疗与病理诊断的联系^[8]。精准医疗的迅猛发展,要求分子病理的教学模式进一步更新,才能培养出符合新时代需要的病理医师,才能在分子病理亚专科建设上贡献力量。

1 分子病理的理论教学

分子病理作为分子生物学与病理学的交叉学科,广义上讲,只要研究疾病发展过程中分子水平的功能和机制,都属于分子病理学。但是作为目标是培养病理医师的分子病理教学,这样的范围过于宽泛。每年都有许多高影响力期刊报道某分子或者分子通路在疾病的发生发展中发挥着重要作用,从细胞核到细胞膜,从肿瘤细胞到免疫细胞,但是能真正走到临床治疗,走进WHO病理分型指南的屈指可数^[9-10]。因此,分子病理的理论授课,应该基于在临床治疗以及病理诊断的应用,以这些成功临床应用的案例,给研究生讲解分子生物学与病理学的结合如何推动精准医疗的发展。此外,结合本单位的研究工作,给研究生展示如何运用分子生物学的工具去解释一个临床治疗或诊断的具体科学问题,培养研究生的科研思维,也是理论授课应该涵盖的内容。

1.1 与临床治疗结合 靶向药物的发展,是精准医疗时代最为重要的助推器之一。随着赫赛丁和利妥昔单抗的临床应用,越来越多的靶向药物如雨后春笋般涌现出来。而临床靶向治疗的运用,关键在于是否有靶点基因的改变。以肿瘤领域患病人数第一的非小细胞肺癌为例,其NCCN指南已将EGFR激酶抑制剂作为一线用药,而EGFR是否突变是应用EGFR激酶抑制剂的关键指标^[11]。类似的例子还有许多,如赫赛丁仅用于HER2阳性的乳腺癌病人,伊马替尼用于KIT/PDGFRA突变的胃肠间质瘤病人,伊马替尼用于费城染色体阳性的白血病病人^[12-13]。而相应的突变就需要利用组织石蜡样本进行基因突变检测,可以说,分子病理的诊断报告是病人是否可以使用靶向药物的金标准。此外,一些基因的突变对于化疗药物的敏感性也有影响,如胶

质瘤中MGMT甲基化状态影响病人对替莫唑胺的敏感性。因此,在分子病理教学中,应该强化临床治疗相关内容,按照不同的靶点分子进行章节分类,完整地展示该靶点从科研发现到临床应用,让学生从实际的例子感受精准医疗时代的历史性变革。

1.2 与诊断病理结合 临床病理诊断是病理科的核心价值,上个世纪的病理诊断主要依靠病理医生的“火眼金睛”,直到免疫组化技术的出现,我们可以通过一些蛋白指标,辅助进行病理分型及鉴别诊断。比如非小细胞肺癌中的腺癌的主要标记是细胞角蛋白7(Cytokeratin 7,CK7),甲状腺转录因子-1(Thyroid Transcription Factor-1,TTF-1);鳞癌的主要标记是细胞角蛋白5/6(Cytokeratin 5/6,CK5/6),肿瘤蛋白P63(Tumor Protein P63,P63)。但是由于免疫组化的表达并不是“有”和“无”的差别,而是“多”和“少”的区分。所用试剂、抗体、操作流程的不同,在免疫组化判读上存在差别,这就难以将免疫组化作为诊断的关键标准,而只能作为辅助诊断的工具。而基因层面的改变,包括点突变,染色体缺失等,检测重复性好,不同检测方法一致性高。2016年,中枢神经系统肿瘤WHO分型标准推翻了几十年的组织病理分型系统,将分子改变(IDH点突变,1p/19q联合缺失,H3K27M突变等)纳入到胶质瘤分型标准中,并明确指出,若组织病理形态与分子病理诊断不符,以分子病理诊断为准^[14]。可以说将分子病理诊断提到了组织病理同样的高度。我们有理由相信,随着大规模肿瘤测序工作的完成,会有越来越多的癌种将分子病理纳入其WHO分型标准中。因而在课程设置上,可以按照癌种进行章节设置,参考肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)的多平台大规模测序结果,介绍最新的分子病理的发展情况(如肝癌,结直肠癌,肺癌),以及已写入WHO分型标准的案例(如胶质瘤,髓母细胞瘤),让学生们切身感受到分子病理的发展对病理诊断工作的影响。

1.3 与科研热点结合 如果说病理诊断是病理科的核心价值,那么科研工作就是病理科最好的“名片”。虽然“唯SCI论”确实存在一定的问题,但是目前各大高校的研究生教育体系中,SCI论文是硬指标^[15]。分子病理作为病理学发展的前沿阵地,不断产生基础科研和临床科研的创新性成果,是培养研究生科研能力的最佳平台。分子病理的教学工作,还应该以科室已毕业研究生的工作为基础,培养研究生的科研思维,引导研究生发现自己的研究方

向。为后续的科研实践打下坚实的基础。

2 分子病理的实践教学

理论联系实际,是共产党最基本的原则之一,分子病理的教学上也不例外。实践是理解检测基因突变原理,掌握高通量测序质控,激化科研创新思维的重要途径。分子病理实践教学的目的,在于让研究生在操作的过程中一步一步的掌握操作流程中每个步骤的目的,并且理解分子病理是如何将分子生物学的最新技术与病理学结合起来。研究生通过实际操作才能掌握一份基因检测报告的“烹饪”过程,并联系理论课的内容,设计一份科研课题书。这种联系理论的实践教学,必定能让研究生对分子病理的理解更加深刻。课程安排按照病理科开展的平台分类,可以分为以下四部分。

2.1 聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR) PCR是分子病理检测平台中应用最为成熟的,研究生在以往的分子生物学的课程中也有接触,相对来说容易接受。按照从易到难的教学原则,将PCR平台的内容安排在前面,让研究生从熟悉的领域开始。在实验原理讲授部分就可以强调检测突变所用的探针法与以往检测表达量所用的染料法的区别,避免造成误解;在实际操作中,让研究生动手操作,强调操作上的小细节,提高研究生的动手能力。在操作空隙,应结合PCR技术讲解其在病理诊断以及临床用药中的意义,使学员认识到PCR技术与分子病理的区别所在。

2.2 荧光原位杂交(Fluorescence in Situ Hybridization, FISH) FISH是将DNA探针用荧光标记,特异性检测目的DNA序列在切片的定位,定性和半定量分析^[16]。可以原位检测DNA扩增(如HER2, TOP2A),染色体缺失(1p/19q),基因断裂(EWSR1, FKHR)以及基因融合(BCL2/IGH, EML4/ALK)。目前,针对点突变的荧光探针正在研发中。FISH是病理科常用的分子病理平台,也是分子病理与其他分子生物学平台最大的不同之处。FISH的结果判断,需要结合镜下形态,这就需要研究生具备扎实的组织病理学知识。而其相对PCR而言,操作更为复杂,流程中的细节对结果影响较大,这就要求研究生需要严格按照步骤说明进行,才能获得理想的检测结果。

2.3 测序 测序可以说是现今分子病理操作要求最高的平台,包括sanger测序,二代测序都需要五个工作日以上才能出具检测报告。研究生对测序的了解还仅仅停留在概念阶段,大致了解基本原理,对具体细节及目的并不清楚,更不用说二代测序数据处理时的生物信息学分析。因而测序部分主要

以研究生观摩操作为主,教学的目的是让研究生了解测序每个步骤在整个实验中的作用,帮助研究生建立测序的知识框架。

2.4 科研课题设计 分子病理的科研课题大致分为两类:基础科研和临床科研。基础科研主要关注分子在疾病发展过程中的功能,机制,主要运用体外细胞模型和动物模型;临床科研主要探索分子靶标在临床病理诊断中的意义,主要运用临床样本和统计学分析。前者原创性强,但是需要分子生物学实验平台并投入大量时间精力;后者临床应用价值高,但需要临床样本的长时间积累。研究生通过研读文献,寻找尚未解决的实际诊断问题,如毛细胞型胶质瘤的BRAF-KIAA1549融合突变率较高^[17],而目前尚无FISH探针;肝细胞肝癌中TERT突变率达40%以上^[18],而肝脏是血流丰富的脏器,是否可以将ctDNA中的TERT突变作为早诊和复发的血清学标志。通过具体课题的实践,掌握科研工作中会用到的统计学方法,检测原理和论文写作技巧,完成研究生阶段对于科研能力的训练和培养。

3 展望

精准医学时代的到来,给整个医学界带来了前所未有的冲击,许多学科都在重塑^[19]。分子病理作为病理学科在精准医学时代的前沿,决定了未来病理学科在医学中的地位,是挑战,更是机遇^[20]。研究生教育是学科发展的基石,现在的博士、硕士,以后就是学科发展方向的领航员。分子病理教学的好与坏,直接影响了新一代病理人的理念和思维方式。只有基础结合临床,理论联系实践,才能将分子诊断的理念深深扎根于研究生脑中,才能培养出符合精准医学时代要求的病理学科人才。

利益冲突 作者声明无利益冲突

作者贡献声明 罗韬:提出设计思路、实施项目及撰写论文;姚小红:修订思路及实施项目;时雨:审校论文;葛佳,阎晓初:指导项目实施

参考文献

- [1] COLLINS FS, VARMUS H. A new initiative on precision medicine [J]. N Engl J Med, 2015, 372(9): 793-795.
- [2] 华大:自主研发生物科技创新实现基因科技造福人类[J]. 生物产业技术, 2016, (5): 67-69 (2016-05-01) [2019-05-20] DOI: 10.3969/j.issn.1674-0319.2016.05.010.
- [3] 张波. 病理学在精准医疗时代的发展[J]. 精准医学杂志, 2018, 33(2): 98-101.
- [4] 张卫琴. 免疫组化技术在病理诊断中的应用[J]. 安徽医药, 2012, 16(11): 1700-1702.
- [5] 张志丽. 分子病理学的发展现状[J]. 基层医学论坛, 2018, 22(16): 2291-2292.

- [6] 周小鸽, 谢建兰, 柳玮华. 诊断病理教学中开展实践教学工作的探讨[J]. 中国病案, 2014, 15(11): 66-67.
- [7] 汪鑫平, 谢鑫, 刘燕, 等. 病理学与临床医学联合教学探讨[J]. 中华医学教育杂志, 2017, 37(5): 696-699.
- [8] 张小静, 侯刚强, 彭音, 等. 分子病理引入病理学教学的探讨及意义[J]. 基础医学教育, 2017, 19(9): 651-653.
- [9] 桂秋萍. WHO(2016)中枢神经系统肿瘤分类新增病理类型解读[J]. 诊断病理学杂志, 2016, 23(12): 897-901.
- [10] 孙瑞芳, Stein H, 王晋芬. 2016年版WHO淋巴瘤分类新进展及其应用[J]. 白血病·淋巴瘤, 2016, 25(6): 321-325.
- [11] ETTINGER DS, WOOD DE, AISNER DL, et al. Non-small cell lung cancer, Version 5.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15(4): 504-535.
- [12] 曹明, 张帆. 人类表皮生长因子受体-2在乳腺癌研究中进展[J]. 安徽医药, 2015, 19(12): 2263-2267.
- [13] 韩振宇, 郑吉阳, 周威, 等. 胃肠道间质瘤基因突变及靶向治疗进展[J]. 西南国防医药, 2018, 28(6): 599-600, 封3.
- [14] LOUIS DN, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820.
- [15] 余党会, 彭俊, 惠朝阳, 等. 医学研究生开设SCI论文写作课程的几点体会[J]. 基础医学教育, 2015, 17(3): 269-272.
- [16] 陈敏, 杨洁亮, 吕丽霞, 等. 全自动荧光原位杂交实验条件的优化及与手工方法的对比[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(6): 694-696.
- [17] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南(2015)[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(7): 485-509.
- [18] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. Comprehensive and Integrative genomic characterization of hepatocellular carcinoma[J]. Cell, 2017, 169(7): 1327-1341.e23. DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.046.
- [19] 王丹, 沙岩, 胡俊峰, 等. 精准医学信息学对临床医疗和卫生领域的促进和影响[J]. 医学信息学杂志, 2018, 39(7): 27-30.
- [20] 毛峥嵘, 马丽琴, 张伟, 等. "互联网+"背景下病理学教学实践与发展[J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(6): 479-480.

(收稿日期: 2019-06-04, 修回日期: 2019-06-25)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.07.053

◇ 药物警戒 ◇

重症药疹 32 例回顾性分析

赵文, 郭书萍

作者单位: 山西医科大学第一医院皮肤科, 山西 太原 030001

通信作者: 郭书萍, 女, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为炎症性皮肤病与皮肤病理, E-mail: gsp6688@sina.com

摘要:目的 探讨重症药疹的发生发展规律、治疗、临床特点和预后。方法 回顾分析山西医科大学第一医院皮肤科 2014 年 12 月至 2018 年 4 月间收治的 32 例重症药疹(Severe Drug Eruption, SDE)病人相关资料。结果 重症多形红斑型药疹是最常见重症药疹类型, 共 20 例(62.50%)。潜伏期最长的重症药疹类型是剥脱性皮炎型药疹, 为(22.44±13.97)d。最常见致敏药物为抗癫痫药。发热及黏膜损害发生率最高。激素联合静脉滴注丙种球蛋白治疗重症药疹病人在皮损控制时间(6.38±1.71)d、激素的最大用量(1.06±0.37)mg·kg⁻¹·d⁻¹、皮损控制时激素累积剂量(6.62±3.32)mg/kg、激素总累积剂量(8.40±3.39)mg/kg 等方面均较单用激素组低($P < 0.05$)。结论 各型重症药疹临床表现各有不同; 且易对黏膜、肝肾等造成伤害, 威胁到病人生命, 临床医师应该谨慎使用易致敏药物, 如卡马西平、中药/中成药、青霉素等; 首选治疗方案仍然是静脉滴注糖皮质激素, 早期联合丙种球蛋白疗效更佳。

关键词: 药疹; 多形红斑; 抗惊厥药; 丙种球蛋白类; 回顾性研究

Retrospective analysis of 32 cases of severe drug eruption

ZHAO Wen, GUO Shuping

Author Affiliation: Department of Dermatology, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

Abstract: Objective To explore the occurrence, development, treatment, clinical characteristics and prognosis of severe drug eruption. **Methods** The clinical data of 32 patients with severe drug eruption admitted to the Department of Dermatology in the First Hospital of Shanxi Medical University from December 2014 to April 2018 were retrospectively analyzed. **Results** Severe erythema multiforme drug eruption is the most common type of severe drug eruption, with a total of 20 cases (62.50%). The type of severe drug eruption with the longest incubation period is exfoliative dermatitis, and its incubation period was (22.44±13.97)d. The most