

胸外科肺部恶性肿瘤生物样本库的建设与管理

高 辉¹, 陈彩霞², 韩巴特尔¹

(1. 北京大学肿瘤医院内蒙古医院胸外科, 内蒙古 呼和浩特 010017;

2. 内蒙古医科大学附属医院临床医学研究中心, 内蒙古 呼和浩特 010000)

摘要: 随着靶向治疗或个性化医疗新时代的到来, 肿瘤生物样本库逐渐成为生物医学研究领域不可或缺的一部分。生物样本不仅在基因组、转录组、蛋白质组或代谢组等方面的变化提供了必要支持, 同时为寻找疾病标志物、预后标志物及治疗靶点提供了极大帮助。为此, 有必要建设高效运行的肿瘤生物样本库。本文从生物样本库的软件、硬件方面及技术层面对肿瘤生物样本库的建设与管理进行论述, 以期提高生物样本的有效利用, 促进生物样本库可持续发展, 最终为肺癌的早期诊治提供思路。

关键词: 靶向治疗; 个性化治疗; 肺癌; 生物样本库

中图分类号: R197

文献标识码: B

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.03.012

文章编号: 1006-1959(2024)03-0065-04

Construction and Management of Biobanks of Lung Malignant Tumor in Thoracic Surgery

GAO Hui¹, CHEN Cai-xia², Hanbateer¹

(1. Department of Thoracic Surgery, Inner Mongolia Hospital, Peking University Cancer Hospital, Hohhot 010017, Inner Mongolia, China;

2. Clinical Medical Research Center, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China)

Abstract: With the advent of a new era of targeted therapy or personalized medicine, tumor biobanks have gradually become an indispensable part of biomedical research. Biological samples not only provide necessary support for changes in genome, transcriptome, proteome or metabolomics, but also provide great help for finding disease markers, prognostic markers and therapeutic targets. Therefore, it is necessary to build an efficient tumor biobank. This paper discusses the construction and management of tumor biobank from the aspects of software, hardware and technology of biobank, in order to improve the effective use of biological samples, promote the sustainable development of biobank, and finally provide ideas for the early diagnosis and treatment of lung cancer.

Key words: Targeted therapy; Personalized treatment; Lung cancer; Biobanks

生物样本库(biobanks)是一种生物样本(信息)储存库。生物样本可以是来源于动物、植物或人类的细胞、组织、器官、分泌液、核酸、蛋白质、血液、粪便等(本文所指样本库主要指人类生物样本库)。生物样本信息是指生物样本相关的临床、病理、治疗、随访、知情同意等资料及其质量控制、信息管理与应用系统。自 1990 年以来,生物样本库已成为医学研究的重要资源,支持多种类型的当代研究,如基因组学、蛋白质组、代谢组和个性化医学^[1-4]。生物样本库为研究人员提供能够代表大量人群的数据。多个研究人员可以使用同一生物样本库中的样本和从这些样本中获得的数据,用于跨目的研究。如许多疾病

(包括高血压、肥胖、糖尿病、肿瘤等)与单核苷酸多态性有关,使用代表数万或数十万个体的大量样本进行全基因组关联研究可以帮助识别疾病生物标志物^[5-8]。肺癌导致的死亡是全球人类死亡的主要原因之一^[9]。究其根本原因,诱发肺癌的因素复杂,包含现已发现的外部因素(如职业暴露、生活习惯等)和内部因素(如遗传因素、基因突变等),因此对于肺癌早期诊断和治疗难度也具有很大挑战性。目前肺癌的治疗方式主要有手术治疗、新辅助治疗、放疗、化疗和免疫治疗等,尽管如此,肺癌的死亡率仍居高不下,且生存期依然较短。因此,寻找新的生物标记物或者治疗途径和方法迫在眉睫。癌症生物样本库是重要的生物医学研究基础设施,可用于临床前、转化和临床研究,可以帮助应对癌症这一复杂疾病面临的挑战。建立肺癌生物样本库可以通过利用患者生物样本和数据实现精准医学以识别风险、早期诊断、改进疾病管理和靶向治疗,从而推进肺癌研究,最终造福肺癌患者。本文主要总结我院肺癌生物样本库的建设工作,以期帮助研究人员推进肺癌研究,并协助临床医生早期诊断和有效治疗肺癌。

基金项目: 2022 年度自治区卫生健康科技计划项目(编号: 202201363)

作者简介: 高辉(1986.12-),男,吉林图们人,硕士,住院医师,主要从事肺癌发病机制研究

通讯作者: 韩巴特尔(1979.8-),男,内蒙古通辽人,博士,副主任医师,主要从事蒙医治疗呼吸道肿瘤的机制研究

1 生物样本库的建设

1.1 设施与环境 生物样本库具有 5 个功能区域,分别为样本接收区、样本前处理区、样本超低温冻存区、样本深低温冻存区、管理系统区。本院实验室设备有生物安全柜、离心机、石蜡切片机、条码打印机、生物样本库管理系统等,可完成对生物样本的前处理及深度处理。样本库区均配备空调进行环境温度控制,一般环境温度控制在 18℃~20℃。

1.2 人员配备 现有专业技术人员 3 人,涉及外科学、药理学专业。部分工作人员经过内审员和生物样本库建设管理与转化医学研究培训。全部专业技术人员接受了《人类遗传资源管理条例》及《中华人民共和国安全法》的学习培训。专业技术人员负责生物样本全流程控制。

1.3 信息化建设 生物样本库的建设不仅包含实体库(湿库),还包括生物样本衍生的信息资料(干库)。能够同时有效结合湿库与干库的生物样本库才是一个完整高效运转的生物样本库^[10]。生物样本库的更大意义在于生物样本背后数据的挖掘与应用。在大数据时代和个性化医疗日益重要的时代,数据的可见性和访问、存储、管理和集成已成为生物样本库和生物医学研究的一个主要问题^[11]。我院正在努力完成生物样本管理系统与临床 HIS/LIS 系统的对接,以加强生物样本库的建设程度。

1.4 伦理建设 伦理建设是生物样本库建设的难点,更是重点。根据《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》和《中国生物安全法》。一方面,保存的样本

需要提供样本所属科研项目的伦理审批书复印件,伦理审批依托医院伦理委员会进行。另一方面,技术人员需与样本捐赠者签订合法合规的知情同意书。根据《中国肿瘤临床诊治指南(2022)》收集我院 2022 年 12 月至今符合肺癌诊治诊断标准的、并愿意愿意配合并签署知情同意书的患者的血液样本和组织样本。

2 生物样本库的管理

2.1 生物样本采集、运输及前处理

2.1.1 血液样本采集、运输及前处理 根据纳入患者的住院号,进行条码预制,条码采取去隐私化,及管理系统生成的随机编码。然后采用含有抗凝剂的紫色采血管、和含促凝剂的黄色采血管,静脉取血 5 ml 左右,上下颠倒 3~4 次,后紫色采血管进行分装到贴有预制条码的冻存管中,放入冻存盒,转移至-80℃冰箱入库;黄色采血管 4℃静置 30 min 后,3500 rpm 离心 10 min,后分装至贴有预制条码的冻存管上,放入冻存盒,转移至-80℃冰箱入库。基本流程见图 1。

2.1.2 组织样本的采集、运输及前处理 准备已贴有预制标签(去隐私化)的冻存管,手术中以瘤灶为中心,水平向两侧展开,以正常组织-远癌组织-近癌组织-癌组织的顺序取约 5 mm×5 mm×5 mm 体积的组织,放入冻存管或者固定管,后投入液氮壶,转移至冻存盒,放入-80℃冰箱。基本流程见图 2。

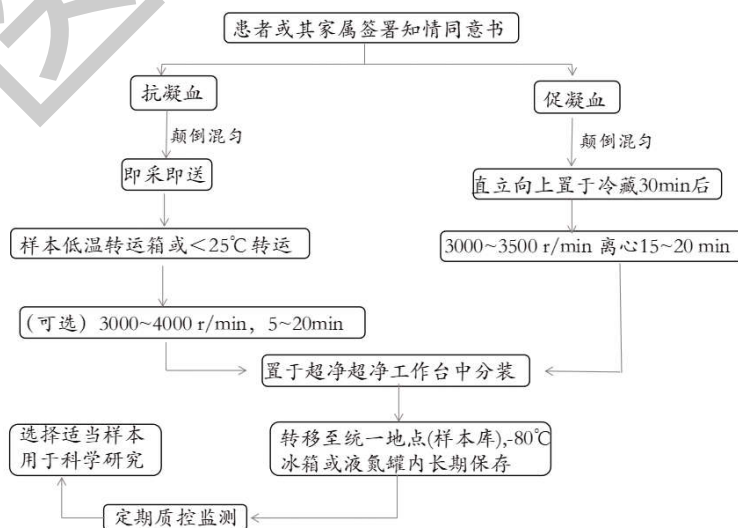


图 1 肺癌患者血样采集过程

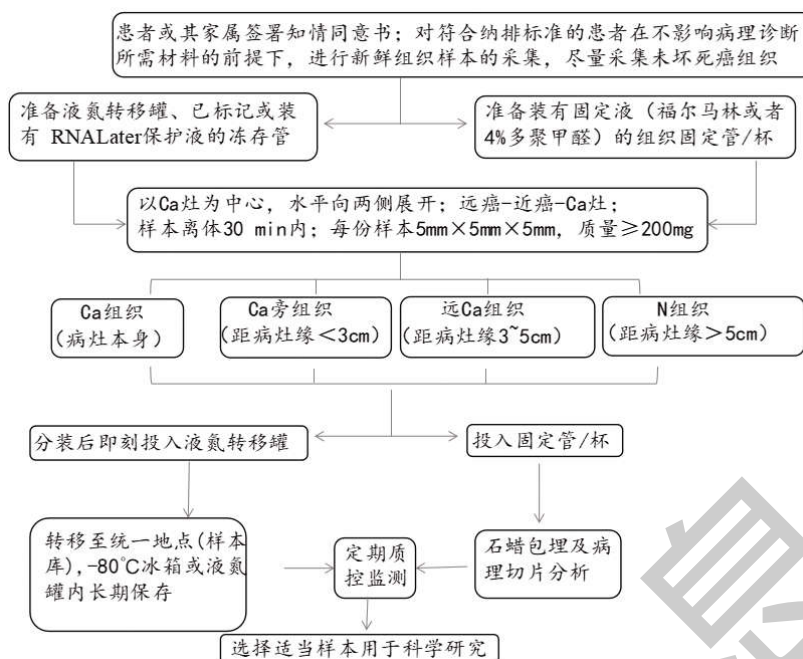


图 2 肺癌患者组织样本采集过程

2.2 样本入库 入库方式分两种,一种可以用冰箱上连接的扫码枪扫码入库,另一种可以直接点击生物样本管理系统中相应的样本进行入库,入库后核对位置信息是否正确。

2.3 样本质控 根据生物样本库质量和能力通用要求(GB/T 37864-2019)对存入的样本定期进行质控检测^[12]。对于血液样本,通常提取 DNA,对于组织样本提取 RNA 或者 DNA,后利用 NANODROP 进行纯度和浓度测定,并通过琼脂糖凝胶电泳检测核酸完整性。

2.4 样本出库与销毁 先在生物样本管理系统中根据项目关键词或者其他信息搜索样本,筛选样本后,点击出库,然后从-80℃冰箱的对应位置取出样本。先在生物样本管理系统中根据项目关键词或者其他信息搜索样本,筛选样本后,点击销毁,后联系医院生物医疗垃圾处理部进行样本销毁。

2.5 样本使用 样本的使用首先需确保生物样本的安全,其中不仅要保证样本质量安全,更要保证样本信息安全。每一份样本使用均需要通过样本使用承诺书,承诺内容包含样本使用人知悉并遵守《人类遗传资源管理条例》及《中华人民共和国生物安全法》,样本不涉及国际合作、不跨境且在知情同意书范畴内进行使用。

2.6 安全管理 工作人员在样本采集、运输、接收、处理、储存、发放和销毁时应符合相关生物安全要

求^[13,14]。生物样本库区均使用门禁系统,且超低温冰箱保证专人专管的上锁管理模式。超低温冰箱带有温度监控的冷链设备,能够保证样本质量安全。生物样本的信息通过人员权限设定安全级别,可通过固定账号和密码才可查阅,且账号密码只对科研项目内人员公开。

3 总结及展望

我院作为省级三级甲等医院,由于缺乏专职人员与基金支持,我院生物样本库发展受到一定限制,所以,暂时均属于科研项目内样本收集,还未开展保藏的活动。后续,我院将进一步加强样本库发展,向国内人类遗传资源管理办公室申请保藏资质,更加规范化的收集和保藏生物样本。

随着国内外生物样本库的不断发展,生物样本库将为未来医学,包括个性化医疗保健和基因组医学奠定坚实的基础^[15,16]。尽管越来越多的生物样本库正在出现,但只注重样本数量、质量的生物样本库已不能满足当前的发展需求。除此之外,生物样本库的可持续发展是必然的发展趋向。实体生物样本库的建设和运行需要充足的经费支持,当前国内外生物样本库大部分靠科研基金维持运行。当大部分样本库正在投入精力收集样本时,部分数据库已开始了低成本的研究。美国国家癌症研究所(NCI)的一项分析表明,使用以前建立的数据库的研究总体上成本更低,每年发表的论文数多于只进行前瞻性样

本收集的研究^[17]。UK Biobank 是一个包含 50 万英国参与者的遗传和健康信息的大型生物医学数据库,该数据库在全球范围内可供批准的研究人员访问,它是现代医学和治疗进步的主要贡献者之一,并促成了多项改善人类健康的科学发现^[18-20]。因此,国内生物样本库需加强自身的更新机制,着力建设相应的数据库,降低生物样本库的运行成本,逐步与国际接轨。

生物样本库利用存在无法达到预期效果的风险。部分样本收集过程需要数年,甚至数十年。但是,随着时间的推移,新的科学见解会导致曾经预设的课题思路和方向发生改变,甚至过时,最终导致样本无法用于研究。因此,对于这种问题,一方面尽量收集高质量样本,以便这些样本对可能没有预见到的多中心研究工作有用;另一方面,尽可能的整合样本库资源,先做到市级、省级共享,再做到全国共享。

总之,生物样本库的国际标准化可能是未来的发展趋势,实现生物样本库的全球注册,既有利于整合生物样本资源,提高生物样本利用率,又有助于整治生物样本库缺乏统一标准的乱象。

参考文献:

[1]Wendt FR,Koller D,Pathak GA,et al.Biobank Scale Pharmacogenomics Informs the Genetic Underpinnings of Simvastatin Use[J].Clin Pharmacol Ther,2021,110(3):777-785.
[2]Almeida N,Rodriguez J,Pla Parada I,et al.Mapping the Melanoma Plasma Proteome (MPP) Using Single-Shot Proteomics Interfaced with the WiMT Database [J].Cancers (Basel), 2021,13(24):6224.
[3]Parichehreh-Dizaji S,Samimi H,Asadolahpour E,et al.Establishment of biobank facility at Endocrinology and Metabolism Research Institute of Iran: experiences, challenges, and future outlook[J].J Diabetes Metab Disord,2021,20(1):1081-1084.
[4]Ostrom QT,Devine K,Fulop J,et al.Brain tumor biobanking in the precision medicine era: building a high-quality resource for translational research in neuro-oncology [J].Neurooncol Pract,2017,4(4):220-228.
[5]Milton AD,Almazroue H,Jin Y,et al.DDAH1 SNP rs480414 that protects against the development of pulmonary hypertension in bronchopulmonary dysplasia results in lower nitric oxide production in neonatal cord blood-derived lymphoblastoid cell lines[J].J Neonatal Perinatal Med,2022,15(1):113-121.
[6]Dong SS,Zhu DL,Zhou XR,et al.An Intronic Risk SNP rs12454712 for Central Obesity Acts As an Allele-Specific Enhancer To Regulate BCL2 Expression [J].Diabetes,2021,70(8):

1679-1688.

[7]Nygård L,Laine AP,Kiviniemi M,et al.Tri-SNP polymorphism in the intron of HLA-DRA1 affects type 1 diabetes susceptibility in the Finnish population [J].Hum Immunol,2021,82(12):912-916.
[8]Zhang Z,Liu X,Li L,et al.SNP rs4971059 predisposes to breast carcinogenesis and chemoresistance via TRIM46-mediated HDAC1 degradation[J].EMBO J,2021,40(19):e107974.
[9]Lazzari C,Spagnolo CC,Ciappina G,et al.Immunotherapy in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): Current Evidence and Perspectives[J].Curr Oncol,2023,30(4):3684-3696.
[10]满秋红,于农,闫飞,等.我国生物样本库建设现状与未来发展的思考[J].中国医药生物技术,2018,13(4):289-293.
[11]Fransson MN,Rial-Sebbag E,Brochhausen M,et al.Toward a common language for biobanking [J].Eur J Hum Genet,2015,23(1):22-28.
[12]中国国家标准化管理委员会,国家市场监督管理总局.生物样本库质量和能力通用要求:GB/T 37864-2019[S].北京:中国标准出版社,2019.
[13]中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.实验室生物安全通用要求:GB 19489-2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
[14]国家卫生和计划生育委员会.病原微生物实验室生物安全通用准则:WS 233-2017[S].北京:国家卫生和计划生育委员会,2017.
[15]Kuriyama S,Yaegashi N,Nagami F,et al.The Tohoku Medical Megabank Project:Design and Mission[J].J Epidemiol,2016,26(9):493-511.
[16]Minegishi N,Nishijima I,Nobukuni T,et al.Biobank Establishment and Sample Management in the Tohoku Medical Megabank Project[J].Tohoku J Exp Med,2019,248(1):45-55.
[17]Evans JR,Akee RK,Chanana S,et al.National Cancer Institute (NCI) Program for Natural Product Discovery: Exploring NCI-60 Screening Data of Natural Product Samples with Artificial Neural Networks[J].ACS Omega,2023,8(10):9250-9256.
[18]Elliott P,Peakman TC,UK Biobank.The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine[J].International Journal of Epidemiology,2008,37(2):234-244.
[19]Ramírez J,van Duijvenboden S,Young WJ,et al.Analysing electrocardiographic traits and predicting cardiac risk in UK biobank[J].J RSM Cardiovasc Dis,2021,10:20480040211023664.
[20]余其澳,宋欢,汪晓东,等.英国生物样本库(UK Biobank)在结直肠癌临床研究中的应用 [J].中华结直肠疾病电子杂志, 2021,10(4):351-356.

收稿日期:2023-05-16;修回日期:2023-05-23

编辑/成森