

papillomas via inactivation of MAPK pathway in mice [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e34154.

[22] 周健, 谈永飞, 葛志军, 等. 食管鳞癌组织中 JWA、FAK 表达变化及其与淋巴结转移的关系[J]. 山东医药, 2011, 51(38): 16-17.

[23] Wang S, Wu X, Chen Y, et al. Prognostic and predictive role of JWA and XRCC1 expressions in gastric cancer [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(10): 2987-2996.

[24] 汤唯艳, 宋雪, 朱立伟, 等. JWA 基因多态性与紫杉类药物

物对晚期胃癌化疗疗效相关性的研究[J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16(23): 12-14.

[25] Chen Y, Xia X, Wang S, et al. High FAK combined with low JWA expression: clinical prognostic and predictive role for adjuvant fluorouracil-leucovorin-oxaliplatin treatment in resectable gastric cancer patients[J]. J Gastroenterol, 2013, 48(9): 1034-1044.

(收稿日期: 2015-03-25 修回日期: 2015-04-21)

• 综 述 •

尿液中检测循环 miRNA 的研究进展

易浚飞 综述, 钟秋蓉 审校(南京军区福州总医院全军临床检验医学研究所, 福州 350025)

【关键词】 miRNA; 尿液; 生物标志物
DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.18.068 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)18-2798-04

MicroRNA(miRNA)是一类进化上保守的非编码小分子 RNA, 作为基因的内源性调节物, 可与特异的 mRNA 的 3' 非翻译区结合, 诱导 mRNA 降解干扰蛋白质合成或抑制翻译。目前已在人体的胞外环境确认了一系列 miRNA, 发现 miRNA 可由细胞和组织释放入循环系统, 稳定存在于血清、血浆、尿液和其他体液中, 可作为多种疾病和组织损伤的非侵入性生物标志物。本文总结了检测尿液中循环 miRNA 用于多种疾病筛查、诊断、分期的相关进展。

1 尿液循环 miRNA 检测的研究基础

人体内估计超过 1/3 的细胞转录组受 miRNA 调节, 虽然数目相对不多(少于 2 000 种), 但在常见的组织和体液中 miRNA 有很高的稳定性, miRNA 表达增殖的潜力可准确辅助定量分析与分散的组织类型和疾病状态有定位关系的 miRNA, 从而作为一个诊断新工具。

有研究认为外泌体是转运 miRNA 的细胞结构基础, 外泌体是纳米级别的细胞单层膜结构, 可由机体多种类型细胞释放, 并广泛分布于唾液、血浆、乳汁、尿液等体液中。外泌体可携带多种 mRNA、miRNA、蛋白质, 参与细胞间通讯, 重启免疫系统, 血管新生、肿瘤细胞生长等过程。在肿瘤或疾病中, 这些分子都可以作为生物标志物^[1]。miRNA 也是重要的调节分子, 涉及细胞生长全过程, 如时序发育、干细胞分化和凋亡, 可作为一种“肿瘤信号”^[2]。

研究显示 miRNA 在病理发展中会快速从组织中释放入血, 在血清、血浆、唾液和尿液中, 这些胞外 miRNA 与肿瘤的不同病理状态有关。Weber 等^[3]检测了 12 种来自于不同阶段怀孕妇女和不同泌尿道上皮细胞肿瘤患者的体液和尿液标本中的 miRNA, 应用定量 PCR 对这些体液中的 miRNA 做广谱分析。结果显示 miRNA 在所有体液中均存在, 在不同体液中构成比明显不同, 一些高水平的 miRNA 在多种体液中表达相同, 而一些 miRNA 在特定体液中富集, 还观察到不同生理状态的尿液标本具有独特的 miRNA 模式。提示使用特定 miRNA 水平可用作检测和监测不同病理生理学状态。

细胞坏死和凋亡过程产生的 miRNA 片段会大量释放到尿液中, 且尿液在临床上容易大量获得, 所含蛋白也比血液标本少, 所以 RNA 预处理和后续检测时蛋白干扰也较低。19~25 个核苷酸长度的 miRNA 可对抗核酶的降解而更加稳定, 敏

感性和特异性上都优于现有标志物^[4]。

2 尿液循环 miRNA 与泌尿系统肿瘤

miRNA 已经证实与一些肿瘤细胞增殖有关, 出现一类新级别的癌基因或是抑癌基因时多表现为异常表达。通过检测 miRNA 可确定肿瘤的分化程度, 特别是对低分化肿瘤分期的准确性高于以往的 mRNA 分期^[5]。

目前膀胱癌的诊断“金标准”是膀胱镜检, 但具有一定损伤和相对昂贵, 而普通的尿液镜检对低分化膀胱癌的敏感性较差。Yamada 等^[6]结合 miR-96、miR-183 与尿液镜检对膀胱癌患者标本进行了队列研究, 除发现 miRNA 上调, 两者联合检测从 78 例膀胱癌中诊断出 61 例, 敏感性从 43.9% 提升到 78.2%。还发现 miR-96 和 miR-183 表达量增加与肿瘤进展级别和病理分期同步, 在术后尿液中两者表达水平降低, 提示这两种 miRNA 可作为膀胱癌的标志物, miR-96 结合尿液镜检也可成为一个很好的诊断指标。另外应用数学预测模型优化尿液 miRNA 的结果分析也显示了比镜检显著改进的诊断正确度^[2]。另外常规保存的尿液细胞涂片也能用于 miRNA 表达谱分析, Simonato 等^[7]使用 qRT-PCR 在常规尿液细胞涂片中分析 miR-145、miR-20 所选的涂片标本均可抽提到满意的总 RNA, 而 20 ng 总 RNA 就可用于 miRNA 表达谱分析。结果提示, 膀胱癌患者标本中的 miR-145、miR-205 显著下调。

检测尿液中 RNA 类的肿瘤标志物还可以用于诊断其他泌尿系统的实体肿瘤, 而且这类循环 miRNA 的独特表达模式与特定的疾病相关, 特别是早期阶段, 其高特异性和敏感性的潜能可用于肿瘤分期和早期预测^[8]。Bryant 等^[9]使用含有 742 个 miRNA 的 Exiqon qRT-PCR 芯片分析了 78 例前列腺癌患者和 28 例健康对照血清标本, 确定了 12 个表达量差异的 miRNA。进而检测 135 份健康人与前列腺癌患者尿液标本中 5 个选定的 miRNA, 发现肿瘤患者尿液中 miR-107 和 miR-574-3p 水平显著高于健康对照, 均可诊断出前列腺癌患者, 并且准确性高于检测尿液前列腺特异性抗原(PSA)。Hanke 等^[10]建立了一种对尿液标本中小相对分子质量的 RNA 进行预处理和分子检测技术, 用于非侵入性的诊断泌尿道上皮膀胱癌。提取了来源于膀胱癌患者(低分化组和高分化组)和健康志愿者尿液标本中的小相对分子质量 RNA, 使用定量 RT-PCR 检测了 157 种 miRNA, 发现利用 miRNA-126/miRNA-152 的比值

来诊断膀胱癌的特异性为 82%, 敏感性为 72%, ROC 曲线下面积为 0.768(95%CI:0.605~0.931), 具有相当高的准确性。

尽管在尿液中无创检测 RNA 肿瘤标志物的优点很多, 但是尿液中不仅含有肿瘤细胞, 也有凋亡和坏死细胞, 如良性剥落的泌尿道上皮细胞、白细胞, 还有非细胞来源的 RNA, 都可能干扰 RNA 的检测。早期研究中, 在尿液中检测组织来源的标志物的诊断性能弱于直接检测实体肿瘤。Hanke 等^[11]研究了新方法以减少尿液标本的影响因素, 可最小化检测误差。通过在尿细胞颗粒, 细胞降解碎片和尿液中分别提取 RNA, 用 qRT-PCR 定量检测。使用 1 个外部 RNA 标准品标准化每一个步骤, 来平衡尿液标本中背景因素的干扰。比较了尿液标本中 4 个预设的 RNA 肿瘤标志物和 5 个已确认的组织来源 RNA 组织标志物的表达情况, 结果表明 ETS2 mRNA/uPA mRNA 的比值用于诊断膀胱癌的特异性为 100%, 敏感性为 75.4%, ROC 曲线下面积为 0.929(95%CI:0.882~0.976), 可作为一种潜在的膀胱癌诊断标志物。

检测尿液 miRNA 还可用于泌尿系统肿瘤的病理机制研究, Shimizu 等^[12]使用芯片评估了肿瘤细胞株、原癌组织、术前和术后尿液标本中 miRNA 基因甲基化。提示膀胱癌细胞中沉默后 miRNA 的异位表达可以抑制其生长和侵袭性, 提示 miRNA 基因的后天沉默可能与肿瘤进展有关, 且 miRNA 基因的甲基化可作为肿瘤检测的生物标志物。

3 尿液循环 miRNA 与肾脏疾病

体内的外泌体和胞外液囊的循环水平可影响肾病的进展。液囊可作为细胞通讯的胞外载体, 运输功能性分子(如 mRNA、miRNA 等)到受体细胞。外泌体和外泌体介导的信号转导可在疾病发生中起效, 如动脉粥样硬化、肾病, 成为诊断和治疗肾病的潜在标志物^[13]。在与之相关的 miRNA 与肾病的相关研究中, 发现其表达差异出现于肾与其他器官、或是肾脏不同部位。而且 miRNA 还在足突状细胞的生长中起重要作用, 如糖尿病肾病、多囊性肾病。尤其注意的是, 在小鼠模型中发现足突细胞缺失特有的 Dicer(miRNA 起源中的 1 个关键酶), 可导致蛋白尿和严重肾损伤。

肾活检是肾脏疾病诊断的金标准, 但需入院操作, 且有 3% 并发症的风险, 定量检测尿液 miRNA 提供了慢性肾病标志物的一个可选途径^[14]。Wang 等^[15]分析了 IgA 肾病患者尿沉渣标本中的 miRNA 表达, 发现尿液中 miR-200a、miR-200b 和 miR-429 的表达量下降, 与尿蛋白阳性相关。说明其可用于评估 IgA 肾病, 上调程度与肾病的临床与组织严重性相关^[16]。Wang 等^[17]使用肾缺血再灌注老鼠和 STZ 诱导肾损伤老鼠作为急、慢性肾损伤模型, 应用 TaqMan 探针的 qRT-PCR 方法评估鼠尿液、血清和肾组织中 miRNA 的变化。结果发现肾组织中富含的 miRNA-10a(miR-10a) 和 miRNA-30d(miR-30d) 很容易在尿液中检测到, 且其水平与肾损伤的程度明确相关。相反这一变化并没在肾损伤后的鼠血清中发现。

目前常用的早期诊断肾损伤指标, 如尿蛋白定量, 预测价值有限。Wang 等^[17]使用小鼠的急性肾损伤模型, 评估小鼠的尿液、血清和肾组织中 miRNA 的变化情况, 结果显示肾富含的 miR-10a 和 miR-30d 较易在鼠尿液中检测到, 而且其水平与两种模型的肾损伤程度阳性相关, 相反, 肾损伤的小鼠血清中没有观察到相同的改变。提示尿液 miR-10a 和 miR-30d 用于检测肾损伤提供了一种非侵入、敏感、特异和潜在的高通量方法。Luo 等^[18]探讨了儿童先天性肾病综合征(NS)患者的血清、尿液 miRNA 作为标志物的临床价值, 先用 TaqMan 低密

度芯片筛查, 再用定量 RT-PCR 确认血清标本中的表达差异 miRNA, 再收集患者尿液标本用于检测筛选出的 miRNA。发现血清中 5 种 miRNA 水平和尿液中 miR-30a-5p 水平显著降低与临床治疗后病情改善相关。

糖尿病肾病机制研究发现高糖环境中 miRNA(miR-192)可作为激活转化生长因子 β 的效应分子^[19]。Argyropoulos 等^[20]观察了糖尿病肾病不同阶段患者尿液中的 miRNA 表达谱差异, miRNA 表达谱覆盖了生长因子信号通路和已知糖尿病肾病肾纤维化通路。这些 miRNA 表达组合将可推断肾脏病时分子信号的改变, 可用于糖尿病肾病的早期诊断、风险分级的标志物。

4 尿液循环 miRNA 与肾移植后的排斥监测

研究表明尿液细胞和外周血细胞中 miRNA 水平与急性肾移植排斥相关, 可作为肾移植后急性排斥(简称急排)结局的预测因子。有研究应用这类非侵入性生物标志物的检测来预测肾移植后排斥, 通过监测 miRNA 表达来预测肾移植后的状态, 减少使用侵入性活检, 预测急排的进展和肾移植后的慢性病变, 提前使用保护移植肾功能的治疗方案, 促进受者个性化的免疫抑制治疗^[21]。Lorenzen 等^[22]评估了稳定期肾移植患者和急排期肾移植患者的尿液中 miRNA, 使用定量 PCR 方法检测了急排患者、无排斥移植患者、稳定移植患者伴泌尿系感染患者。急排患者相比健康对照发现 miR-10b 和 miR-210 下调, miR-10a 上调, 而急排患者相比稳定移植伴泌尿系感染患者仅 miR-210 有差别, 移植一年后低 miR-210 水平患者可伴随出现 GFR 的降低。结果表明这些选定的 miRNAs 在急排患者的尿液中发生大幅改变, miR-210 水平可确认肾移植急排的发生, 并预测移植后的肾功能, 可作为一个全新的急性肾排斥的生物标志物。

miRNA 还参与了移植免疫反应中引起移植器官的排斥作用, 其基因特异转录沉默可以调节免疫反应的通路中如先天免疫的发展, 炎症反应、T 细胞、B 细胞分化和移植排斥的不同阶段, miRNA 还在移植后综合征发展中起作用, 如纤维化、肝硬化、致癌作用, 常易引起移植器官的失败或不良结局, 最近组织中定量检测 miRNA 的方法, 以及在血清和尿液中检测的改进, 可应用分析移植后如排斥、复发、肿瘤等^[23]。因 miRNA 可在尿液中直接检测, 所以可作为一种新的肾移植急排结局的预测因子。

5 尿液循环 miRNA 与心脏疾病

各种体液中(血清、血浆、唾液、尿液、母乳、眼泪), 大约 90% 的胞外 miRNA 都与蛋白结合(如 Ago2、HDL 和其他 RNA 结合蛋白), 约 10% 被小型膜表面分子包装(外泌体、凋亡小体), 因此这类胞外 miRNA 可介导细胞间通讯, 最近的研究表明其水平和构成疾病、损伤状态有关, 可成为心血管疾病的非侵入性生物标志物^[24]。已有研究评估心肌梗死患者的血浆心肌特异 miRNAs 水平, 同时在尿液标本中检测, 探讨其与肌钙蛋白、心肌功能的相关性^[25]。

研究显示尿液中 miR-1 是急性心肌梗死的标志物, 小鼠试验中 24 h 即可有 50 倍的升高, 而另一 miR-208 也仅能在心肌梗死后尿液中检出, 并初步证实此类 miRNA 是经由相关外泌体转运而发挥功能^[26]。Duan 等^[27]也观察了 ST 段升高的急性心肌梗死(ST-EMI)患者尿液中的心肌特异 miRNA(miR-1)表达水平的改变, 同时测定血清中 cTnI、CK-MB 的水平。结果心肌梗死患者血清 cTnI、CK-MB 和尿液 miR-1 均明显高于健康对照, 且 miR-1 水平与 CK-MB、cTnI 水平显著相关。

6 尿液循环 miRNA 与自身免疫性疾病

近期的研究显示 miRNA 在自身免疫性疾病的发病机制中起了重要作用,miRNA 参与调节先天和获得性免疫反应,包括免疫细胞的分化和进展,如调节性 T 细胞稳定和功能性化,这类调节 miRNA 的裂解能导致自身免疫性疾病。

Wang 等^[28]检测了系统性红斑狼疮(SLE)患者血液和尿液上清液中的 miR-146a 和 miR-155,相比对照组,血清中 miR-146a 和 miR-155 降低,尿液中 miR-146a 水平增高,SLE 患者的肾小球滤过率(GFR)与血清中 miR-146a、miR-155($r=0.384, P=0.014$)呈正相关。经钙三醇治疗 6 个月后,SLE 患者血清 miR-146a 水平显著增加。后期又在 SLE 患者血清和尿液中检测了多种 miRNA(miR-200 系、miR-205 和 miR-192)水平,尿液中 miR-200a、miR-200c、miR-141、miR-429 和 miR-192 均低于对照组,SLE 疾病活动指数(SLEDAI)与血清中 miR-200a 呈负相关,而尿液 miRNA 水平与其他临床参数没有显著的关系。说明尿液 miRNA 与血清中水平呈不同变化,两者间无关联性。多数尿沉渣中 miRNA 来自肾实质细胞产生,miRNA 可参与 SLE 的病理过程,建议对其进行进一步研究^[29]。

7 尿液循环 miRNA 检测技术的进展

尿液中含有的循环 miRNA 可用为一种生物标志物,用于早期诊断、预测临床结局和疗效监测,然而水平相对较低,为检测这些低水平的分子,必须在初始阶段对其进行特殊的富集。分析这类核酸基质的标志物目前多利用 PCR 或改良 PCR,并与基因芯片等组合使用以提高敏感性和特异性^[30]。

体液中特异 miRNAs 的存在模式提示其有希望成为替代标志物,但分析尿液中的 miRNAs 仍是一个挑战。难点包括从很有限的生物标本来源中恢复核苷酸、标准化策略、相关技术的性能验证等,现有大多数的研究仅引入较少患者队列限制了其有效性和实际应用。转录 miRNA 生物标志物成为临床常规诊断项目,还依赖于未来体液 miRNAs 能够实现快速、高效、标准化^[5]。

为促进 miRNA 标志物的发现和临床应用,已出现一些新的技术平台。如基于基因组锁核酸(LNA)基础的 miRNA-qPCR 技术,具有很高的敏感性和稳定性,直接将重要临床来源的 miRNA 进行高通量复制,而不需提前扩增。通过上千份生物液体标本(血清、血浆、尿液)验证,应用质控系统,减少分析前和分析变量偏倚^[31]。还有研究使用等速电泳来分离和敏感检测未标记分子(DNA、rRNA、miRNA),简单操作就能百万倍预浓缩,再基于离子迁移率来有效分离和提取,可简单或不经预处理从复合物中抽提或纯化核苷酸,如细胞株、尿液、血液^[32]。

还有研究将已知的胞外循环 miRNAs 编制成数据库:mi-Randola,使其成为生物医学研究的基本工具,这个 miRNA 数据库,允许用户推断循环 miRNA 的潜在生物学功能,以及与表型的联系,目前包含 2 132 条记录,581 个特异的常规 miRNAs 和 21 种类型标本^[33]。

尿液中循环 miRNA 已成为一种新的非侵入性生物标志物,与多种疾病和组织损伤相关,已经涉及临床诊断的多个领域,如尿液 miRNAs 水平改变介入毒物诱导的肝损伤^[34]、miRNAs 成为兴奋剂(红细胞刺激剂)滥用的生物标志物^[35]。可以预见随着检测技术的发展,尿液循环 miRNA 将成为临床诊断的一个新的强有力工具。

参考文献

[1] Rani S, O'Brien K, Kelleher FC, et al. Isolation of exo-

somes for subsequent mRNA, MicroRNA, and protein profiling[J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 784: 181-195.

- [2] Snowdon J, Boag S, Feilott H, et al. A pilot study of urinary microRNA as a biomarker for urothelial cancer[J]. *Can Urol Assoc J*, 2012, 7(1/2): 1-5.
- [3] Weber JA, Baxter DH, Zhang S, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(11): 1733-1741.
- [4] Zen K, Zhang CY. Circulating MicroRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers[J]. *Med Res Rev*, 2012, 32(2): 326-348.
- [5] Kuner R, Brase JC, Sultmann H, et al. microRNA biomarkers in body fluids of prostate cancer patients[J]. *Methods*, 2013, 59(1): 132-137.
- [6] Yamada Y, Enokida H, Kojima S, et al. MiR-96 and miR-183 detection in urine serve as potential tumor markers of urothelial carcinoma: correlation with stage and grade, and comparison with urinary cytology[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(3): 522-529.
- [7] Simonato F, Ventura L, Sartori N, et al. Detection of microRNAs in archival cytology urine smears[J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(2): e57490.
- [8] Lorenzen JM, Thum T. Circulating and urinary microRNAs in kidney disease[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(9): 1528-1533.
- [9] Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JW, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(4): 768-774.
- [10] Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2010, 28(6): 655-661.
- [11] Hanke M, Kausch I, Dahmen G, et al. Detailed technical analysis of urine RNA-based tumor diagnostics reveals ETS2/urokinase plasminogen activator to be a novel marker for bladder cancer[J]. *Clin Chem*, 2007, 53(12): 2070-2077.
- [12] Shimizu T, Suzuki H, Nojima M, et al. Methylation of a panel of MicroRNA genes is a novel biomarker for detection of bladder cancer[J]. *LID-S0302-2838(12) 01405-4 [pii] LID-10. 1016/j. eururo. 2012. 11. 030 [doi]. Eur Urol*, 2012.
- [13] Fang DY, King HW, Li JY, et al. Exosomes and the kidney: blaming the messenger[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2013, 18(1): 1-10.
- [14] Beltrami C, Clayton A, Phillips AO, et al. Analysis of urinary microRNAs in chronic kidney disease[J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(4): 875-879.
- [15] Wang G, Kwan BC, Lai FM, et al. Expression of microRNAs in the urinary sediment of patients with IgA nephropathy[J]. *Dis Markers*, 2010, 28(2): 79-86.
- [16] Wang G, Kwan BC, Lai FM, et al. Elevated levels of miR-146a and miR-155 in kidney biopsy and urine from patients with IgA nephropathy[J]. *Dis Markers*, 2011, 30(4): 171-179.

- [17] Wang N, Zhou Y, Jiang L, et al. Urinary microRNA-10a and microRNA-30d serve as novel, sensitive and specific biomarkers for kidney injury[J]. PLoS ONE, 2012, 7(12): e51140.
- [18] Luo Y, Wang C, Chen X, et al. Increased serum and urinary MicroRNAs in children with idiopathic nephrotic Syndrome[J]. Clin Chem, 2013, 59(4): 658-666.
- [19] Li JY, Yong TY, Michael MZ, et al. Review: the role of microRNAs in kidney disease[J]. Nephrology (Carlton), 2010, 15(6): 599-608.
- [20] Argyropoulos C, Wang K, McClarty S, et al. Urinary microRNA profiling in the nephropathy of type 1 diabetes[J]. PLoS ONE, 2013, 8(1): e54662.
- [21] Hartono C, Muthukumar T, Suthanthiran M. Noninvasive diagnosis of acute rejection of renal allografts[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2010, 15(1): 35-41.
- [22] Lorenzen JM, Volkmann I, Fiedler J, et al. Urinary miR-210 as a mediator of acute T-cell mediated rejection in renal allograft recipients[J]. Am J Transplant, 2011, 11(10): 2221-2227.
- [23] Sarma NJ, Tiriveedhi V, Ramachandran S, et al. Modulation of immune responses following solid organ transplantation by microRNA[J]. Exp Mol Pathol, 2012, 93(3): 378-385.
- [24] Zhu H, Fan GC. Extracellular/circulating microRNAs and their potential role in cardiovascular disease[J]. Am J Cardiovasc Dis, 2011, 1(2): 138-149.
- [25] Gidlöf O, Andersson P, vander Pals J, et al. Cardiospecific microRNA plasma levels correlate with troponin and cardiac function in patients with ST elevation myocardial infarction, are selectively dependent on renal elimination, and can be detected in urine samples[J]. Cardiology, 2011, 118(4): 217-226.
- [26] Cheng Y, Wang X, Yang J, et al. A translational study of urine miRNAs in acute myocardial infarction[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53(5): 668-676.
- [27] Duan XX, Zhou X, Wang XB, et al. Urine cardiac specific microRNA-1 level in patients with ST segment elevation acute myocardial infarction[J]. Zhongguo Weizhongbing Jijiu Yixue, 2012, 24(12): 709-712.
- [28] Wang G, Tam LS, Li EK, et al. Serum and urinary cell-free MiR-146a and MiR-155 in patients with systemic lupus erythematosus[J]. J Rheumatol, 2010, 37(12): 2516-2522.
- [29] Wang G, Tam LS, Li EK, et al. Serum and urinary free microRNA level in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Lupus, 2011, 20(5): 493-500.
- [30] Roos PH, Jakubowski N. Methods for the discovery of low-abundance biomarkers for urinary bladder cancer in biological fluids[J]. Bioanalysis, 2010, 2(2): 295-309.
- [31] Blondal T, Jensby NS, Baker A, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids[J]. Methods, 2013, 59(1): 164-169.
- [32] Garcia-Schwarz G, Rogacs A, Bahga SS, et al. On-chip isotachopheresis for separation of ions and purification of nucleic acids[J]. J Vis Exp, 2012, (61): e3890.
- [33] Russo F, Di BS, Nigita G, et al. miRandola: extracellular circulating microRNAs database[J]. PLoS ONE, 2012, 7(10): e47786.
- [34] Yang X, Greenhaw J, Shi Q, et al. Identification of urinary microRNA profiles in rats that may diagnose hepatotoxicity[J]. Toxicol Sci, 2012, 125(2): 335-344.
- [35] Leuenberger N, Jan N, Pradervand S, et al. Circulating microRNAs as long-term biomarkers for the detection of erythropoiesis-stimulating agent abuse[J]. Drug Test Anal, 2011, 3(11/12): 771-776.

(收稿日期: 2015-03-25 修回日期: 2015-04-15)

• 综 述 •

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱在血培养阳性标本鉴定方面的应用进展

赵冠华, 张霄霄, 汪定成, 董 轲 综述, 张惠中[△]审校(第四军医大学唐都医院检验科, 西安 710032)

【关键词】 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱; 血培养; 鉴定

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 18. 069 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)18-2801-04

如今, 随着抗菌药物特别是广谱抗菌药物的广泛应用, 细菌耐药问题已逐渐成为全球性问题。怎样及时而有效地选择抗菌药物成为临床医生面临的一个难题。特别是在菌血症或是脓毒症等严重感染患者中, 早期选用敏感抗菌药物可以有效降低病死率^[1]。但传统的细菌鉴定多采用手工法, 依靠形态学、革兰染色镜检和生物化学反应, 速度慢, 不能满足临床诊断和治疗的需要。近年来新发展起来的基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)为细菌鉴定带来了新的进

展, 特别是 MALDI-TOF MS 技术对血培养阳性标本直接鉴定的应用, 可以将原有血培养阳性标本的鉴定时间由 24~48 h 缩短为几十分钟(含标本预处理所用的时间), 为临床用药提供了更及时的指导。本文就 MALDI-TOF MS 在血培养阳性标本鉴定方面取得的进展予以综述。

1 MALDI-TOF MS 技术直接鉴定血培养标本

1.1 细菌的鉴定 临床上送检的血培养标本多来自血液或是无菌部位的体液, 培养阳性一般意味着患者感染严重, 需要及

[△] 通讯作者, E-mail: huizz328@163. com。