

解放军总医院第五医学中心传染病特色生物样本库的标准化建立

白冰珂, 胡燕, 马叶女, 姚增涛

解放军总医院第五医学中心, 北京 100039

摘要: 为了建立具有传染病特色的规范化、标准化临床生物样本库,在前期通过文献检索和实地调研等方法,在转化医学理念的指导下,以前瞻性队列为牵引,标准化收集、保存本院艾滋病、肝病等特色临床传染病样本。从 2015 年 7 月至今,建立了库容量大于 200 万份的传染病样本库,制定了完整的各类样本(血液、组织等)收集、处理及保存等标准操作规程,制定了安全管理、样本管理、样本质控等相关管理制度,优化了样本库管理-样本信息-随访信息三位一体的运作流程。收集、保藏了血浆、全血、外周血单核细胞等样本近 20 万份,可为乙肝、艾滋病等传染病的综合防治与研究提供高质量样本及相关临床信息。

关键词: 生物样本库; 转化医学; 标准化; 临床研究

中图分类号: R197.30 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2020)04-0508-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.04.035

临床样本是不可再生的宝贵资源,高质量、标准化的收集、保存样本对探索新的治疗方法、制定诊断指标、药物研发等具有重要意义^[1]。随着转化医学的兴起和发展,对生物样本资源的迫切需求与日俱增,对生物样本的质量也提出了更高的要求^[2-3]。因此,标准化规范化建立生物样本库,保存足够数量和高质量的样本,配套完整的临床信息,是建立高水平科研平台的基本需求^[4-5]。

1 医院生物样本库的建立和发展

解放军总医院第五医学中心(原解放军第 302 医院)是全国最大、全军唯一的传染病三级甲等专科医院,传染病临床资源丰富,具较为雄厚的肝病/艾滋病转化医学研究背景。在院领导的高度关注下,以转化

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1200800)

作者简介: 白冰珂(1980-),女,博士,研究方向:病毒病原学和生物样本科学。

医学思想为指导,以前瞻性队列设计为牵引,建立了传染病特色的临床样本资源库,隶属临床研究管理中心,位于科训楼 A 段,建筑面积约 810 m²,可容纳超低温冰箱 120 台,液氮存储系统 40 台,设有低温冷链监测系统、环境监测系统、视频监测系统,并建立了高效、安全和规范的信息管理系统,可为临床的预防、干预和科学研究提供高质量的样本,大幅缩短课题周期,加快研究进程,在基础研究和临床研究上都具有重要价值和实际意义。

2 医院生物样本库的整体建设方案

2.1 主要耗材与设备 为方便样本出入库及管理,采用底部预制二维码的冻存管(THERMO 公司)进行样本的低温保存。同时为了节省冰箱内部空间,使用了万格公司生产的 14×14 及 10×10 冻存盒进行样本的保存。软件是利用汇仁公司的生物样本库管理系统,可实现样本库管理-样本信息-随访信息三位一体的

功能及 COPD 病情有关,也与炎症细胞因子的水平相关,提示 IL-37 在 COPD 发病过程中起重要作用,并可能作为评估 COPD 患者病情和治疗效果、有诊断意义的检测指标。

参考文献

- [1] 丁明,袁成,李萍,等. 稳定期慢性阻塞性肺疾病患者肺泡灌洗液中 IL-8、IL-17 水平的相关性研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(6): 884-889.
- [2] 周鹏,梁爱武,张惠敏,等. 白介素-17 在慢性阻塞性肺疾病中的表达变化研究概况[J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(12): 55-57.
- [3] 王欣,沈暘,王珏,等. 白介素 37 与气道慢性炎症性疾病[J]. 中国医学文摘耳鼻喉科学, 2018, 33(1): 104-108.
- [4] Hu D. Role of anti-inflammatory cytokines IL-35 and IL-37 in asthma[J]. Inflammation, 2017, 40(2): 697-707.
- [5] 褚新颖,李立宇. 白介素在慢性阻塞性肺疾病气道炎症中的作用

- [J]. 河北北方学院学报, 2014, 30(5): 110-113.
- [6] 陈诗皓,杜晓楠,李艳,等. IL-37 对粉尘螨诱导气道上皮及固有免疫细胞产生 IL-6 的作用研究[J]. 微生物学免疫学进展, 2017, 45(4): 1-7.
- [7] 马铭,任汉强. IL-37 通过调控 M-CSF 和抑制 IL-6-JAK2/STAT3 信号通路抑制骨质疏松的机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(10): 1552-1556.
- [8] Patel FJ, Volkmann DT, Taylor GW, et al. Retracted: IL-37 reduces inflammatory response after cerebral ischemia and reperfusion injury through down-regulation of pro-inflammatory cytokines[J]. Cytokine, 2014, 69(2): 234-239.
- [9] 杨扬. IL-37 的免疫生物学作用机制及临床展望[J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(8): 689-690.
- [10] 李梦媛,杨星九,徐大模,等. IL-37 对炎症相关性疾病的抑制作用[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(12): 75-80.
- [11] 袁立燕,谢杰,薛汝增,等. 白细胞介素 37 的免疫学研究进展[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2016, 23(4): 280-284.

收稿日期: 2019-08-01

功能。

2.2 标准操作规程的制定 在参考相关文献后^[1,5-6],制定了一系列的规范操作流程:包括样本采集与处理标准流程;样本使用标准流程;样本安全转运规程;生物安全管理规定;超低温冰箱、液氮使用规程、样本库温度实时监控规程、应急处理规范等。保证样本从收集、处理、保存到利用的过程都能按照标准化的操作规程来运行。

2.3 知情同意 凡入库的每个队列及知情同意书需通过医院伦理委员会同意,严格按照赫尔辛基宣言保护患者利益及隐私。本库建立的原则是非盈利性的,样本及临床资料信息以医学研究为目的,使用过程中要求研究者保证合法、合理使用。知情同意书主要内容是征求患者同意使用其血液、体液、组织等样本满足今后可能的科研工作。

2.4 队列建立 和临床科室深入沟通后,根据要解决的临床问题,设计前瞻性队列,制定研究方案和病例报告表(case report form, CRF),明确入组标准,并通过我院伦理委员会的审查后,方可入库进行标准化保存。患者采血前需签署知情同意书,该部分工作由临床医生负责与患者沟通。目前我院生物样本库已成功建立队列 12 例,均通过伦理审查。

2.5 样本采集、处理及保存 对于住院患者,在其入院后次日由有经验的护士抽取清晨空腹静脉 EDTA 抗凝血约 8 ml,颠倒轻柔混匀数次后放入冰盒中(避免剧烈震荡),由样本库工作人员运送至实验室。对于门诊患者,由门诊医生开具采血单后至护士站采血,之后由样本库工作人员运送至实验室。2 000 rpm 离心 10 min 后吸取 6 管 500 μ l 血浆冻存,剩余血浆丢弃然后加入适量磷酸盐缓冲液混匀,加入 Ficoll 离心管,2 500 rpm 离心 20 min,缓慢降速后小心吸取中间白膜层,加磷酸盐缓冲液洗两遍后计数冻存至底部预制二维码冻存管。每支管冻存细胞约 500~1 000 万个。打开软件,扫描底部二维码并关联 HIS 系统中病人临床信息。

目前样本库的组织来源多为肝穿刺标本。临床医生在进行肝脏穿刺活检术时留取约 1.5 cm 长度穿刺标本浸泡生理盐水中,10 min 内由样本库工作人员运送至实验室。在超净台中小心用眼科剪取约 0.5 cm 样本于 1.5 ml 离心管,剪碎后加 100 μ l RNAlater 保存液完全覆盖样本,4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜后吸掉 RNAlater 保存液,将组织冻于-80 $^{\circ}$ C 冰箱长期保存。剩余部分样本浸泡在 4%多聚甲醛溶液中室温过夜,然后转至 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存,在一个月由负责病理实验的工作人员制

成蜡块长期保存。因为底部二维码并非肉眼可见,为了方便工作人员及科研人员后续使用,利用一维码编写本库内部的流水号,实现了二维码-流水号-位置信息-患者 ID 号四码合一的管理系统,任何一个码位信息都可以准确无误查到样本。

2.6 样本入库 根据国内外建库的先进经验^[5-7],结合我院的实际情况,制定了标准的入库流程。样本接收后 4 h 内完成处理和入库保存。实验员登记病人姓名、ID 号、采集科室、采集时间、样本量等基本信息,该部分信息由纸质版和电子版进行双重备份。不符合要求的样本,如采集时间过长、ID 号信息不全等样本要视情况进行拒收或销毁。按照标准操作流程处理样本后,通过扫描底部二维码进行智能化入库,同时关联 HIS 系统中的临床信息,方便进行后续的信息检索、数据查询、统计分析等工作。目前已入库样本近 20 万份,包括乙肝、艾滋病等病例约 2 万份,其中血浆约 12 万份,全血约 4 万份,淋巴细胞富集液约 3.6 万份,组织 400 多份。样本收集前患者均签署了知情同意书,对无民事行为能力的人则获得其监护人的知情同意。见图 1。

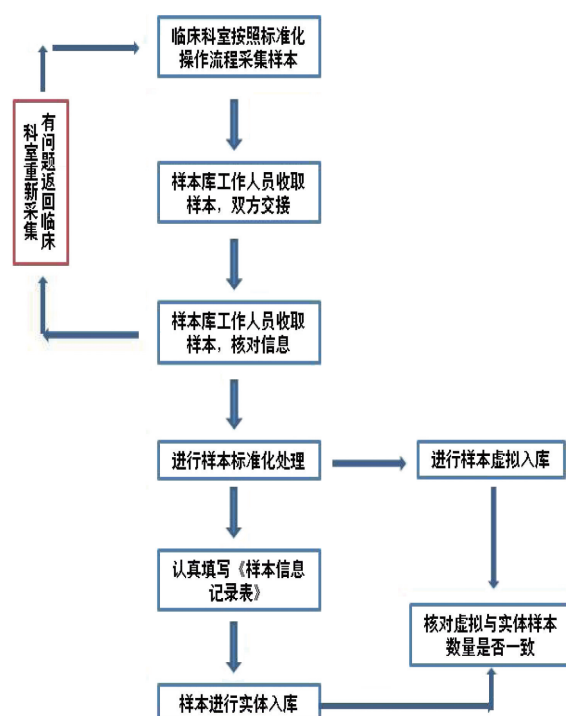


图 1 样本入库流程图

2.7 样本的使用 申请使用者在申请时需填写申请表,由样本采集科室也就是队列建立科室的临床主任签字后方可领用。在该院的样本管理规定中明确表示,样本所有权归医院和队列建立科室共同拥有,队列建立科室有优先使用权。见图 2。

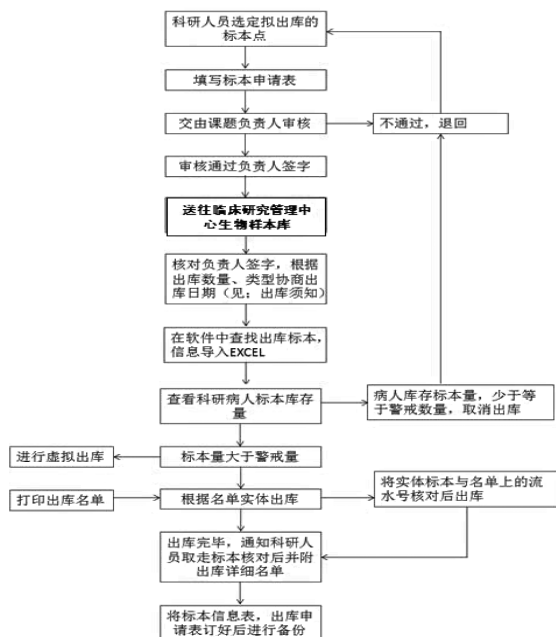


图 2 样本出库流程图

2.8 人员配备情况 样本库在院领导及相关专家组成的生物样本库建设项目管理委员会领导下,配备专职人员 5 名,含 2 名高级职称,1 名中级职称和 2 名实验员,全面负责样本库的标准化建设和维护以及全流程质控等工作。另外有兼职人员 7 名,含 1 名高级职称,1 名初级职称和 5 名实验员,主要负责样本接收、入库、实验仪器耗材等管理维护工作。5 名专职人员和 3 名兼职人员均已通过中国医药协会组织样本库分会组织的生物样本库岗前培训。在全部人员的努力下,样本库在 2017 年通过了由中国人类遗传资源管理办公室批复的关于人类遗传资源采集、收集、买卖、出口的审批。见图 3。

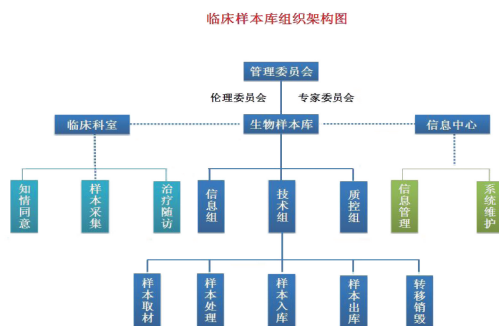


图 3 样本库组织架构图

3 结束语与展望

转化医学研究的重要前提之一是有充足的、可用的临床样本,它是基础研究与临床应用的重要技术载体^[8]。规范、科学地建立生物样本库是开展转化研究重要的基础准备^[5-6,8]。生物样本库已经成为生物医学研究和药品研发领域的必备基础,它不仅仅是一项

简单的收集工作,而是要通过标准化、规范化的采集、处理、保存样本并配套完整的临床信息,将现有宝贵的遗传资源转化成基因学研究的新工具,从而赋予其特定的知识价值,促进医学科学发展^[9-11]。样本库创造价值的能力,取决于管理体系和有序模式的建立。为了使一个样本库能够正常运转,必须要建立一系列样本研究的科学有效性的质量管理机制^[5-6]。

本院生物样本库的建立,旨在对我院乙肝、艾滋等感染性疾病患者进行病情随访监控、收集患者疾病过程中动态多点样本进行观察,实现样本资源共享。针对早期诊断、预警标志物、疾病进程等研究需要大量、动态、多样化的样本和临床数据资料,以便进行溯源分析及前瞻性研究。通过3年多的建设,该样本库已初具规模,形成了一套完善的管理制度和标准操作规程,明确了样本库工作人员职责,特别是规范了样本在库管理、样本使用及样本优先使用权限,确保全院科研人员之间可进行样本有效交流、互惠互利。

以高通量生物技术、各种组学研究、大数据技术和智能化应用为导向的新一轮医学革命的加快发展,迫切需要具有一定标准水平有价值生物样本和数据资源。生物样本库可以整合有限的生物样本资源,建立资源应用的交流平台,促进多学科与跨专业的协同合作^[12-13]。临床数据资源得到最大限度的开发和应用,有助于将我院丰富的传染病临床患者样本资源通过临床研究转化为临床诊断及治疗的医疗手段,为研究型医院的发展提供坚实的支撑。

参考文献

- [1] 张育军,叶磊,高芳芳,等. 生物样本库建设是临床医学研究的基石[J]. 转化医学杂志,2014,3(6):347-351.
- [2] 董尔丹,胡海,余文化. 生物样本库是生物医学研究的重要基础[J]. 中国科学,2015,45(4):359-370.
- [3] 刘世建,傅启华,王伟,等. 临床生物样本库发展的机遇与挑战[J]. 第二军医大学学报,2017,38(3):265-269.
- [4] 郑培永,杨佳泓,范锦立. 生物样本库[J]. 科学,2014,66(3):26-29.
- [5] 郭健. 生物样本库的规范化建设[J]. 中华临床实验室管理电子杂志,2014,2(4):198-201.
- [6] 郜恒骏. 中国生物样本库向标准化迈进[J]. 中国医药生物技术,2015,10(6):481-483.
- [7] De Souza YG, Greenspan JS. Biobanking past, present and future: responsibilities and benefits[J]. AIDS,2013,27(3):303-312.
- [8] 陆怡. 转化医学与生物样本库现状[J]. 生命的化学,2012,32(3):287-293.
- [9] Hens K, Wright J, Dierickx K. Biobanks: oversight offers protection[J]. Science, 2009, 326(5954):798-799.
- [10] Meir K, Gaffney EF, Simeon-Dubach D, et al. The human face of biobank networks for translational research [J]. Biopreserv Biobank, 2011, 9(3):279-285.
- [11] 董哲君,肖飞,郭健. 生物样本库建立现况与进展[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(2):130-135.
- [12] Vaught J. Biobanking comes of age: the transition to biospecimen science[J]. Annu Rev PharmacolToxicol. 2016, 56:211-228.
- [13] 郜恒骏,杜莉利,张小燕,等. 生物样本库发展的现状、机遇与挑战[J]. 协和医学杂志,2018,9(2):172-176.