

- [12] 冯鑫,李文考,田文华. 军队医院综合实力评价指标体系构建[J]. 解放军医院管理杂志, 2005, 12(2): 124-125.
- [13] 连斌. 研究型医院的内涵界定及特点研究[J]. 中华医院管理杂志, 2006, 22(5): 307-310.
- [14] 王延军. 论研究型医院的内涵、特征和建设路径[J]. 解放军医院管理杂志, 2011, 18(5): 403-406.
- [15] 陈博, 罗旭, 李景波. 关于研究型学科建设的思考与探索 • 卫生管理 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.26.054

- [J]. 中国医院管理, 2012, 32(12): 44-45.
- [16] 方福德, 程书钧, 田玲. 建设研究型医院促进转化医学发展[J]. 中国卫生政策研究, 2009, 2(7): 16-19.
- [17] 李书章. 研究型医院发展战略的创新特征与建设实践[J]. 解放军医院管理杂志, 2011, 18(2): 101-103.

(收稿日期: 2014-03-17 修回日期: 2014-06-23)

肿瘤生物样本库的标准化建立与管理

邱 祝, 向廷秀, 任国胜[△]

(重庆医科大学附属第一医院分子肿瘤及表观遗传学实验室 400016)

中图分类号: R36

文献标识码: B

文章编号: 1671-8348(2014)26-3546-02

肿瘤是中国乃至全球最常见、病死率最高的疾病之一。肿瘤组织是人类对肿瘤发生、发展和转移机制进行探索的最直接、最具体的研究对象,为了能够系统的收集、管理、并且有效利用这些肿瘤组织,建立肿瘤组织样本库(tumor tissue bank, TTB)^[1-2]。肿瘤组织样本库的建立能够系统、规范、科学收集、保存手术切除的肿瘤组织、采集肿瘤患者相关体液及汇总相关病理类型、临床分期和治疗效果等方面信息的平台^[3-4]。本院肿瘤组织样本库自 2012 年成立以来,在临床科室、麻醉科、手术室的大力配合下已经初具规模,初步形成组织样本的标准化收集、储存和管理的体系,已经收集各类手术中产生的组织样本包括肿瘤组织、癌旁组织、远端正常组织、正常组织和各类体液样本。随着肿瘤组织样本库的发展,也出现了许多问题,作者就现在组织样本库目前的问题进行探讨,以期有助于样本库标准化、规范化的发展。

1 肿瘤组织样本库的现状 & 建立的意义

近几年,生物样本库的发展日新月异,世界上很多发达国家已经建立了自己的肿瘤组织样本库,并且逐渐形成了规范化、标准化、规模化的体系。知名度比较大的包括日本生物样本库(biobank Japan),其主要特点是收集住院患者组织和普通人群,侧重常见疾病的研究及药物实验。欧洲生物样本库(biobanking and biomolecular resources reasearch infrastructure),其主要特点是网络型样本库、包括欧盟 24 国家超过 200 个机构,目前已经存有样本量大于 1 千万份。新加坡组织网络(singapore tissue network),其主要特点是收集组织与 DNA 样本,为特定研究项目收集提供样本。英国生物样本库(UK biobank),启动于 2006 年,主要收集普通人群样本。在我国,近几年我国一些医院也相继成立了样本库,比如天津肿瘤医院、中山大学肿瘤医院、北京肿瘤医院。与发达国家相比,有优势,也存在很多劣势。优势在于我国地大物博,人口众多,疾病的种类也十分繁多,资源丰富,每年肿瘤发病病例约 200 万例,死亡病例约 150 万例。我国生物样本库的劣势主要是每个样本库都是以个体为中心,缺乏规范化的管理,缺乏资源的共享,对组织样本不能有效的利用,导致资源的浪费。建立生物样本库的意义是为了整合资源,应用于以包括流行病学、疾病的分子病理机制、发生、发展及预后分析、个性化治疗方案的建立、

疗效的随访、药物敏感性研究及新药开发等的研究。

2 建立标准化的生物样本库

2.1 标准化的采集和储存生物样本 标准化的采集组织样本是组织样本库的核心内容,是获得稳定、可靠的科研结果的保障。按照国际标准化操作程序(standard operation procedure, SOP),样本库建立的基本工作流程如下:(1)获得所在医疗机构伦理委员会批准。(2)手术前同患者签署样本留取知情同意书。(3)向手术室和病理科提交样本收集申请。(4)手术中切除的样本置于冰盒里迅速送至病理科,病理科对组织进行常规的登记,样本库技术人员在保证病理诊断的前提下进行取材,存入样本库的组织包括肿瘤组织、癌旁组织、远端正常组织和良性组织。(5)每天手术结束后将 1 d 收集的样本用液氮罐转运回样本库放入 -80 ℃ 冰箱长期保存,做好电子版和纸质版登记备份。组织样本取材与储存的注意事项:(1)需要严格控制低温时间,手术中取出组织从离体到冻存所需时间差越短越好。TuBa Frost 的标准是 30~120 min,主要目的是尽量缩短组织缺血的时间,保证细胞内外渗透压,减少组织的降解^[5]。保证上述的要求需要外科医生、病理医师和技术人员的密切配合。研究指出组织取出后 5~10 min 内冷冻,基因就已经开始改变;15 min 后有 10%~15% 的基因改变;30 min 后有 20% 以上的改变^[5]。但也有研究表明,基因表达的改变与组织从取出到冷冻之间的时间间隔并无直接关系,然而为了保证样本质量,期间时间间隔还是愈短愈好^[6]。经过许多实验室反复实验论证,组织离体后 20 min 内冻存的样本可获得比较稳定的基因表达^[7]。(2)冻存组织取材大小 5 mm×5 mm×5 mm^[7]。(3)为避免组织交叉污染。每次取材应使用干净、消毒的器械,取正常和肿瘤组织要使用两套不同器械。(4)长期储存组织应放于 -80 ℃ 冰箱或液氮罐内可保证组织的质量,温度越低组织保存的时间越长,但也有研究分析指出 -80 ℃ 长期保存的组织 DNA 比较稳定,保存期超过 5 年 RNA 就有所改变^[8]。放置于气态的液氮罐中的组织超过 10 年, RNA 也相对稳定。(5)样本库技术人员都要经过专业培训,认真学习相关病理知识、手术室无菌操作规范,并且佩戴专业保护装置,如手套、护目镜等,同时要避免感染艾滋病、肝炎、结核等。

2.2 样本的质量控制 低温冻存被公认为是组织与器官长期

保存最有效的方法。其原理是通过降低细胞的代谢率起到保护组织细胞的作用。对于低温样本的质量控制可直接影响组织样本的使用效率,为了更加有效的利用这些组织样本,此程序主要由样本库技术人员进行严格把关。样本库技术人员在病理科人员的协助下共同取材,并对所取组织样本进行病理学鉴定,若组织切片中肿瘤成分超过 75% 则认为质量良好,如不足 65% 则可能影响研究结果^[8-9]。对储存于生物样本库的病例应进行定期临床随访,以便获得疾病治疗效果、临床进展及是否生存等重要资料。对于低温冰箱应做好日常的维护工作,定时记录低温冰箱的温度,并且在样本库所在房间配备双电源及低温冰箱报警系统来确保样本的安全。对于液氮罐需要随时检查液氮量。众多研究显示,长期冻存对于 DNA 大分子的稳定性影响不大,甚至石蜡包埋组织块中的 DNA 也可进行分子生物学分析。RNA 分子则易被广泛存在于细胞内、皮肤、唾液、汗液及周围环境中的 RNA 酶所降解。使用液氮保存是保存 RNA 活性的最理想方法,当温度降至液氮温度时^[10],细胞组织中所有的生物化学、生物物理过程均处于停止状态,但限于空间及经费等原因,大型液氮储藏罐或液氮冰箱尚难以推广普及。

2.3 样本的信息化管理 组织样本的科学价值并不只是在于其是采用先进的方法采集,高质量的冷冻和存储,更在于其相应保存了完整的临床数据。重庆医科大学附属第一医院利用定制的生物样本库管理软件对在库的组织样本进行系统、规范的管理。样本库管理软件的主要特点:(1)采用个性化设置,可根据所在机构对样本信息的需求自定义软件。本库根据自身定制的样本库管理软件包括以下 3 个方面信息:病案信息、病历信息、样本信息。病案信息包括患者姓名、性别、生日、年龄、随访信息、影像信息、联络方式、身份证号;病历信息包括手术日期、手术科别、手术医生、手术名称、临床诊断、肿瘤的 TNM 分期;样本信息包括样本种类、次级分类、是否原发、转移、肿瘤性质、样本质地、样本颜色、取材员姓名、组织的离体时间、取材时间、低温时间、有无化疗以及化疗方案。样本库管理软件可以自行设计冻存设备包括 -80℃ 低温冰箱、液氮罐,可根据本库低温冰箱的内部结构设计储存方式,并且准确定位冰箱里的组织样本,另一个特色就是该软件可以采用组合查询的方式进行样本的检索,即可以根据科研人员的课题研究的需要,自定义组合查询条件来找到所需要的样本,样本库技术人员将出库组织样本所得到的实验数据反馈与生物样本库管理软件。(2)样本库管理软件网络化。为了进一步保证样本库信息的安全性,本库采用网络化对样本库信息进行管理。主要包括使用客户端和服务端分开,保证样本库信息的多地备份,以防止在出现电脑损坏或者其他不可预知情况下能够保证样本库信息的安全。并且在医院网络部门和样本库软件设计公司的配合下,实现了样本库软件和医院信息管理系统(hospital information system, HIS)的对接,即输入患者的住院号,软件就可以自动从 HIS 系统中读取到患者的病案和病历信息。此项功能的开通不仅很大程度上提高了工作的效率,也减少了因为人为因素造成的样本信息录入错误。

3 生物样本库的前景与挑战

随着表观遗传学和分子生物学的发展,基因治疗已经成为肿瘤治疗的研究热点,对组织样本的需求也越来越大,生物样本库的作用也越来越明显^[11-13]。随着研究的日益深入,对生

物样本库的要求也越来越高。高水平的生物样本库不仅需要高质量的生物样本还应该与之匹配的完整的信息数据库,达到这一要求需要手术医生、病理科医生和样本库工作人员的共同努力。我国人口众多,疾病种类也相当复杂,应该采用更加科学的方式有效,合理地收集人类肿瘤样本资源,为科研工作者搭建一个平台,为未来肿瘤患者的个性化治疗提供帮助^[14-17]。

参考文献:

- [1] Whyte B. National tumor bank set up in United Kingdom [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2003, 95(10): 706.
- [2] Riegman PH, Dinjens WN, Oomen MH, et al. TuBaFrost 1: uniting local frozen tumour banks into a European network: an overview [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(16): 2678-2683.
- [3] 季加孚. 北京大学临床肿瘤学院标本库的建设 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2005, 37(3): 329-330.
- [4] 陈明清, 珠珠, 戴莉萍, 等. 云南省遗传性大肠癌组织库的建立及管理 [J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(27): 3122-3125.
- [5] 黄东海, 章华, 范松青, 等. 鼻咽癌组织库及其信息管理系统建立 [J]. *中华病理学杂志*, 2010, 39(8): 574-575.
- [6] 何国林, 高毅, 潘明新, 等. 原发性肝癌组织标本采集、保存数据库及组织库的建立与管理 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(18): 3354-3356.
- [7] 王聪, 张大庆, 赵盈盈, 等. 大肠癌组织库建立及质量控制的经验 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2012, 27(4): 406-410.
- [8] 陆晓芳, 马欣, 周骏群, 等. 肝脏组织样本库的建立及管理 [J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(11): 1187-1190.
- [9] 党裔武, 陈罡, 罗殿中, 等. 肿瘤组织标本库的创建及意义 [J]. *实用医技杂志*, 2008, 15(12): 1499-1502.
- [10] Reis ST, Feitosa EB, Pontes-Junior J, et al. Tumor banks: the cornerstone of basic research in urology [J]. *Int Braz J Urol*, 2010, 36(3): 348-354.
- [11] 周晓光, 张杰. 肿瘤组织库的研究进展 [J]. *国际肿瘤学杂志*, 2009, 36(9): 662-665.
- [12] 于颖彦, 刘炳亚, 朱正纲. 肿瘤组织库建立的进展及意义 [J]. *诊断学理论与实践*, 2009, 8(1): 9-11.
- [13] 段刘剑, 张杰, 周晓光. 肿瘤组织库规范化操作程序的探讨 [J]. *医学与哲学: 临床决策论坛版*, 2010, 31(5): 28-30.
- [14] Macleod AK, Liewald DC, Mcgilchrist MM, et al. Some principles and practices of genetic biobanking studies [J]. *Eur Respir J*, 2009, 33(2): 419-425.
- [15] 韩洪秀, 杨敏, 李向红. 肿瘤组织库的建立与规范化管理 [J]. *中华病理学杂志*, 2008, 37(12): 849-850.
- [16] 郜恒骏, 朱明华. 重视肿瘤组织库的标准化建设和应用 [J]. *中华病理学杂志*, 2008, 37(12): 797-798.
- [17] 万美容, 刘福民, 刘小云. 肿瘤组织库的建立与管理 [J]. *徐州医学院学报*, 2009, 29(2): 104-105.