

• 综 述 •

杂交链反应在超灵敏检测方面的应用进展*

赵云虎^{1,2}, 覃晓琳², 杨结仪², 陈文韬², 廖仪文²综述, 郑和平^{1,2,△}审校

(1. 安徽医科大学, 安徽合肥 230000; 2. 广东省皮肤病医院检验科, 广东广州 510000)

摘 要: DNA 在生命活动中具有重要意义, 针对 DNA 检测技术日益增多, 近些年一种无酶等温高效的超灵敏扩增技术, 杂交链反应(HCR)逐渐引起广泛的关注。HCR, 仅在特定的核苷酸引发物(NI)和两个特殊设计的发夹 DNA(H1, H2)同时存在的情况下进行自组装, 实现了原位扩增反应。由于 NI, H1, H2 的可编辑性及可修饰性, 使得 HCR 适用于分子生物学的各个领域, 具有广泛的应用前景。该文通过 HCR 在核酸检测、蛋白检测、细胞检测及生物成像等方面的应用进展来探究其优点和不足。

关键词: 杂交链反应; 等温扩增; 超灵敏

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.07.025

中图法分类号: R440

文章编号: 1673-4130(2019)07-0863-05

文献标识码: A

The application of hybridization chain reaction in ultrasensitive detection*

ZHAO Yunhu^{1,2}, QIN Xiaolin², YANG Jieyi², CHEN Wentao², LIAO Yiwen², ZHENG Heping^{1,2,△}

(1. Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230000, China; 2. Department of Clinical

Laboratory, Guangdong Provincial Dermatology Hospital, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

Abstract: DNA has great significance in life activities, and the technology of DNA detection is increasing. Recently, hybridization chain reaction (HCR), an enzyme-free isothermal ultra-sensitive amplification technology, has gradually attracted widespread attention. HCR, self-assembly only in the presence of a specific nucleotide initiator (NI) and two specially designed hairpin DNA (H1, H2), achieves an in situ amplification reaction. With the editability and modification of NI, H1 and H2, HCR can be used to various fields of molecular biology, and has broad application prospects. In this paper, we explore the application of nucleic acid detection, protein detection, cell detection and bioimaging and compare the advantages and disadvantages in HCR.

Key words: hybridization chain reaction; isothermal amplification; ultra-sensitive

现代医学领域, 许多疾病的诊断和治疗都依赖一定的检测技术, 无论是分子水平的核酸和蛋白质, 还是细胞水平的分析都需要高灵敏度、高特异度的技术来提高检测的准确性。目前, 临床常用的检测手段主要包括核酸扩增、免疫荧光、化学发光、比色法、免疫层析、酶免疫、直接镜检等, 其中核酸扩增被认为是高灵敏、高特异的检测技术之一^[1]。现在的核酸扩增技术已经非常完善, 主要分为两大类: 热循环扩增和等温扩增。热循环扩增包括聚合酶链反应(PCR), 连接酶链式反应(LCR)等; 等温扩增包括滚环扩增(RCA), 链置换扩增(SDA), 杂交链反应(HCR)等^[2-5]。相对于热循环扩增, 等温扩增外部条件要求更简单, 不需要额外的仪器辅助变温, 甚至可以在室温下反应, 其中以 HCR 为基础的等温扩增得到人们的广泛关注^[6]。

2004 年, DIRKS 等^[7]首次提出 HCR, 一种无酶、高敏、简单、高效能、不依赖仪器的等温扩增技术。

HCR 是通过一段核酸引发物(NI)使两条发夹 DNA (H1、H2)互相杂交的级联反应, 形成稳定的长双链 DNA, 通常由几十个甚至上百个重复单位(H1、H2)互补配对形成, 对 H1、H2 进行标记可实现检测信号的增强或放大, 如荧光标记、电化学标记、纳米粒子标记等^[8-10]。迄今为止, HCR 已经应用于多种靶目标的超灵敏检测, 包括核酸、蛋白质, 甚至在肿瘤细胞中也有一定的应用^[11-16]。除了靶目标的检测, HCR 还可以联合识别分子, 实现原位或细胞内成像, 应用于疾病的诊断和治疗^[17-18]。本文首先介绍了 HCR 的基本原理和设计原理, 然后从核酸检测、蛋白检测、细胞检测及生物成像等方面介绍了 HCR 的应用进展。

1 HCR 基本原理

2004 年, DIRKS 等^[7]首次提出 HCR 的基本概念, 利用 DNA 与基质的结合, 同时进行识别和信号放大作用的创新性技术。HCR 主要是通过一段核酸引发物(NI)识别并引起发夹核苷酸(H1、H2)互相杂交,

* 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(2015A030313895)。

△ 通信作者, E-mail: zhphpf@hotmail.com。

本文引用格式: 赵云虎, 覃晓琳, 杨结仪, 等. 杂交链反应在超灵敏检测方面的应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(7): 863-867.

形成长双链 DNA 的串联级联反应。H1 由 a、b、c、b' 构成, H2 由 c'、b、a'、b' 构成(H1、H2 先经高温变性冷却后形成发夹结构), NI 由 b'、a' 构成。当 NI 不存在时, H1、H2 可保持稳定; 当 NI 存在时, 通过互补配对与 H1 末端结合, 打开 H1 发夹, 暴露 c、b'。暴露部分与 H2 末端互补, 打开 H2 发夹暴露 a'、b' (与 NI 序列相同), 从而持续打开 H1 和 H2 进行 HCR, 形成长双链 DNA。DIRKS 等^[7]指出 HCR 产物的长短与加入 NI 量成反比。

2 HCR 设计原理

常规的 NI 设计, 可根据靶核酸序列选择其某段特异性单链序列, 一般为 24 bp (前 18 bp 为 b', 后 6 bp 为 a'); H1 一般为 48 bp, 根据 NI 互补序列获得 a、b、b' 序列, 其环结构 c 需额外设计; H2 与 H1 一样长, 可通过 H1 互补序列和 NI 获得 c'、b、a'、b'^[19]。MITI 等^[20]在常规的 HCR 设计原理的基础上, 描述了另一种自组装反应触发特定核酸靶标, 用于检测不同核酸溶液中的靶目标, 极大的提高了灵敏度。设计过程中需要遵守一些原则^[21]: (1) 末端(a、c')的 GC 比例应在 30%~40% 以下; (2) 末端长度应在 12 bp 以下, 否则会影响发夹结构的稳定性; (3) 茎长度(b、b')应大于末端长度以保持发夹结构的稳定性; (4) 发夹序列(H1、H2)总体的 GC 比例应大于 60%。

3 HCR 的应用

与传统的 PCR 相比, HCR 是一种等温的、无酶的扩增技术。HCR 和 PCR 主要不同点在于, HCR 是一种引物扩增而 PCR 是一种产物扩增技术^[22]。因此, HCR 可以有效地减少非特异性扩增, 减少假阳性结果, 降低交叉污染, 提高检测灵敏度。

3.1 核酸检测 核酸是疾病早期诊断中特异的标志物, 高敏高特异检测核酸对临床的诊断和治疗具有极大的意义。SONG 等^[8]利用 β -CD 对苾的荧光增强及靶 DNA 引发 HCR, 实现了靶 DNA 无酶高灵敏检测。其中, 苾标记 H2 为信号源, 由于 β -CD 与带负电荷的 H2 存在很强的静电作用, 苾较容易进入 β -CD 腔, 因此荧光信号明显增强。而当靶 DNA 存在时, H2 参与 HCR 形成长双链 DNA, 由于空间位阻作用使苾难以进去 β -CD 腔, 因此荧光信号弱, 其检测限可达 0.1 nmol/L。LU 等^[23]通过 HCR 触发的酶级联反应建立了一种超灵敏比色法, H1 和 H2 上分别标记葡萄糖氧化酶(GOx)和辣根过氧化物酶(HRP), 经 HCR 提高了 GOx/HRP 的催化作用, 实现了对靶 DNA 最低检测限达 5.2 fmol/L。MA 等^[11]利用 DNA 修饰胶体金作为捕获探针, 通过与靶 DNA 互补结合, 暴露末端引发 H1/H2 级联反应。此时胶体金表面的长双链 DNA 可以抵抗盐离子诱导胶体金的聚集作用, 使得溶液呈红色。反之, 若不存在靶 DNA, HCR 不能发生, 盐离子诱导使胶体金聚集呈蓝色。此方法具有超高灵敏度和特异度, 检测限可达 0.5 nmol/L。

HCR 同样可应用于固相支持物表面, 如电极, 玻片, 纳米粒子, 微孔, 微流体等, 将分析物同复杂的样品体系分开。YING 等^[12]用 FAM 标记捕获探针, 靶 DNA 引发生物素化 H1/H2 (Bio-H1, Bio-H2) 级联反应, HCR 产物与样品垫上的亲和素化胶体金(AuNP-SA)结合, 层析时被检测线上包被的 FAM 抗体捕获, 可直接观察阳性结果。检测限低至 1.76 pmol/L, 比没有 HCR 扩增的层析低约 2 个数量级。CHEN 等^[9]把自催化链置换扩增(ASDA)与 HCR 巧妙的结合, 可进行无标记和多重放大检测核酸。ASDA 期间, 利用 DNA 聚合酶和内切酶对固定发夹探针和辅助 DNA 链的连续聚合、切开, 回收大量中间 DNA 序列, 从而催化链置换扩增。同时, ASDA 产物与 H1/H2 进行 HCR, 形成富含胞嘧啶环的长双链 DNA, 从而增多银纳米的聚集, 增强电化学信号, 其检测限可达 0.16 fmol/L。

3.2 蛋白质检测 蛋白质同样也是疾病诊断中重要的标志物, 然而在临床样本中许多靶蛋白的丰度偏低, 因此高敏高特异检测靶蛋白同样也是人们关注的重点。CHOI 等^[24]以荧光标记 H1/H2, 通过与抗体偶联的 NI 进行 HCR, 检测单核细胞分泌的细胞因子和趋化因子。相对于无 HCR 的免疫荧光, 免疫-HCR 的检测限和灵敏度提高近 200 倍。HOU 等^[13]将抗体和 NI 同时包被于纳米金上形成 Ab-AuNP-NI 复合物, 具有多个 NI 引发部位, 可引发多个 HCR 产物包被于同一个纳米金上, 通过电化学信号检测癌胚抗原(CEA), 线性范围为 1.0 pg/mL~20.0 ng/mL, 检测限可达 0.42 pg/mL。XU 等^[14]将纳米碳标记 H1/H2, 与检测抗体偶联的 NI 引发 HCR, 通过 HCR 放大效应及金属增强荧光(MEF)构建了一个双扩增荧光传感器检测甲胎蛋白(AFP), 线性范围为 0.000 5~5 ng/mL, 检测限可达 94.3 fg/mL。

除了抗体外, 适配体也能够高亲和高特异识别靶蛋白。适配体是一种短链单链 DNA 或 RNA, 因此可作为 NI 参与 HCR, 用于检测蛋白质。WANG 等^[25]利用氧化石墨烯(GO)对 ssDNA 和 dsDNA 的亲水性不同, 分离 H1/H2 和 HCR 产物, 从而提高检测灵敏度。当靶蛋白存在时, 适配体识别靶蛋白并改变自身构象, 引发 H1 和 H2 级联反应形成长双链 DNA。而 GO 分离作用纯化了 HCR 产物, 通过荧光染料 SYBR Green 结合双链 DNA 小沟, 达到提高灵敏度的效果, 该方法的检测限可达 1.25 pmol/L。NIE 等^[26]通过适配体识别被磁珠抗体捕获的卵巢癌标志物 CA125 抗原, 适配体引发纳米金标记 H1 和游离 H2 形成树枝状的长链, 再利用钼酸根与 DNA 磷酸酯基团的氧化还原反应, 大量的磷酸基团增加了电化学信号, 使得检测灵敏度显著增强, 检测限可达 50 μ U/mL。

3.3 肿瘤细胞检测 肿瘤细胞的某些分子标志物的表达水平与正常细胞有很大的不同, 通过检测这些差

异性表达的标志物有利于临床早期诊断和治疗癌症。LI 等^[15]针对胃癌患者血清中 microRNA-21 设计 H1/H2, 当 microRNA-21 存在时引发 HCR, 并通过 SYBR Green I 染料插入 HCR 产物作为信号, 建立了无标记荧光检测模型, 具有强荧光密度。其线性范围为 $1 \sim 10^5$ fmol/L, miRNA 检测限可达 0.255 4 fmol/L。YANG 等^[27]利用 Au-S 键将捕获探针固定在金电极表面, 探针、靶 DNA 和 (NI) 杂交形成“三明治”结构, 然后 NI 引发 HCR 形成长双链 DNA, 最后通过 RuHex 与长双链 DNA 的静电吸附作用产生电化学信号的改变。这种以 HCR 为基础的电化学物传感器可以精准的检测 I 型乳腺癌基因, 检测灵敏度低至 1 amol/L。

已有研究表明, 可通过直接检测肿瘤细胞膜表面分子标志物来诊断癌症, 有效的避免了裂解细胞和提取靶目标以检测核酸和蛋白, 提高了检测的效率。ZHANG 等^[28]先将适配体序列 (DNAa) 和信号 DNA (DNAb) 部分互补杂交, 当靶细胞存在时, 适配体特异性识别肿瘤细胞表面分子, 构象改变使 DNAb 游离。DNAb 可引发 H1/H2 级联反应, 形成长双链 DNA 可作为强荧光效应的铜粒子 (CuNPs) 的载体, 从而实现了无酶定量检测肿瘤细胞, 其检测限达 50 个细胞。ZHOU 等^[16]先将捕获探针修饰到金电极表面, 适配体通过部分互补的 (NI) 进行 HCR, HCR 中的 H1 和 H2 经特殊设计, 形成的长双链 DNA 含有许多分支序列, 该分支序列与捕获探针完全互补, 因此提供了大量的捕获位点。当肿瘤细胞存在时, 经适配体的特异性识别及分支序列和捕获探针互补杂交作用, 可超灵敏捕获肿瘤细胞, 检测乳腺癌 MCF-7 细胞的检测限可达 4 个细胞。

3.4 生物成像 荧光原位杂交 (FISH) 是通过识别细胞或组织内的靶 RNA, 直接观察 RNA 的表达量和分布, 以阐明相关病理过程和临床诊断。然而单个荧光标记探针的荧光强度较弱, CHOI 等^[29]通过荧光标记 H1/H2 进行 HCR-FISH, HCR 产物能提供大量的荧光信号, HCR-FISH 比 FISH 的荧光强度增强近 200 倍。YAMAGUCHI 等^[30]比较 HCR-FISH 与 CARD-FISH 和标准 FISH 检测环境中的微生物, 认为 HCR-FISH 不但具有高特异性的强荧光信号, 其检出率也优于其他的 FISH, 可用于单个微生物细胞检测。HUANG 等^[31]利用荧光共振转移 (FRET) 结合 HCR-FISH 的方法, 避免了 FISH 中反复冲洗的过程, 消除了探针积累或退化引起的假阳性信号。主要通过 3 个发夹结构 (H1、H2、H3) 的相互作用产生 FRET 信号, 其中 H2/H3 两端均标记 TAMRA 和 FAM, H1 识别靶 mRNA 后暴露末端引发 H2/H3 介导的 HCR, 从而增强 FRET 信号, 操作简单易行, 节约时间。

除了应用于 FISH 成像, HCR 还可以运用于活细

胞成像。WU 等^[32]将 FAM 和 TMR 分别标记在 H1/H2 上, 再包被于肽化纳米金形成复合体, 复合体可通过胞吞作用进入胞内。由于 TMR 的荧光吸收使胞内仅有很弱的荧光信号, 当靶 mRNA 存在时, 引发 HCR 使 H1/H2 与纳米金分离, 恢复 FRET 信号并增强细胞内成像。OU 等^[17]利用 MnO_2 载体吸附 H1/H2 并送入活细胞内, MnO_2 被胞内谷胱甘肽降解, 释放 H1/H2。然后通过胞内 miRNA 触发 HCR, HCR 产物上每两个 FAM 和一个 TAMRA 靠近产生显著增强的 DD-A FRET 信号, 检测限高达 9.8 pmol/L。LIU 等^[18]报道了一种分枝 HCR 用于活细胞内 mRNA 的高效信号放大成像, 分枝 HCR 能够通过单个 NI 引发的分枝产物定位活细胞中单个靶分子, 结果显示强烈的荧光斑点, 其检测限可达 500 fmol/L。ZHANG 等^[33]把端粒酶引物序列和 HCR 引发物组成复合体, 并转染到细胞质中。当端粒酶存在时, 复合物被识别, 产生大量的 NI, 然后与 H1/H2 形成具有大量侧链的长双链 DNA, 可被复合物 Q 识别, 产生增强信号, 用于检测细胞裂解物中的端粒酶活性, 检测限可达 578 个细胞/100 μL 。HUANG 等^[34]利用链霉素亲和素结合生物素化的 H1/H2, 分别形成发夹 DNA 四联体, 其中 H1 携带 Cy3, H2 携带 Cy5。两个四联体均可高效的进入细胞内, 并形成交联网络状结构, 可特异性识别靶 miRNA, 极大地提高了灵敏度和空间分辨率, 同时利用 FRET 的双发射比率成像, 有效降低假信号的干扰。

4 小 结

通过以上综述可以看出, 无酶等温扩增的 HCR 已广泛地应用于检测、成像和生物医学, 但 HCR 的应用仍面临许多挑战。合适的 H1/H2 是 HCR 中的关键因素, H1/H2 设计不完善可能会导致 HCR 失败, 而目前仍缺乏公认的系统性发夹结构设计指南。由于以核酸形式存在的适配体能够识别蛋白质、小分子及细胞, 极大地促进了 HCR 的发展, 然而可供选择的适配体不多, 极大地限制了适配体-HCR 体系。对于在固相支持物表面采用 HCR, 如何控制核酸探针的密度和方向是目前需解决的难题之一, 否则易导致非特异性吸附和集群效应, 限制 HCR 的效能。在生物成像和生物医学方面, 由于核酸的大小和电荷作用, 携带成像试剂或治疗药物的 HCR 产物难以进入胞内, 仅有少量的适配体可通过胞吞进入胞内, 极大的限制了胞内成像和靶向治疗。另外, 高分子量的 HCR 产物对正常细胞有一定的非特异性吸附, 可能会造成假阳性信号或杀死正常细胞和组织, 而且胞内对靶向药物缺乏有效和精准的释放机制, 以至于降低治疗效果。现如今, 以 HCR 为基础的应用多停留在实验室阶段, 其实际应用仍然是个挑战, 进一步研究 HCR 需建立在临床应用的基础上, 简单而灵敏的 POCT 可作为未来研究 HCR 的方向之一。

尽管面临许多挑战,但无酶等温扩增的 HCR 体系能够综合各种各样的纳米材料、复合物和分析技术,促进 DNA 纳米技术的发展,加强这些方法在临床诊断、治疗、防控等方面的实际应用。

参考文献

- [1] CRAW P, MACKAY R E, NAVEENATHAYALAN A, et al. A simple, low-cost platform for real-time isothermal nucleic acid amplification[J]. *Sensors (Basel)*, 2015, 15 (9): 23418-23430.
- [2] BENJAMIN W H, SMITH K R, WAITES K B. Ligase chain reaction[J]. *Methods Mol Biol*, 2003, 226 (1): 135-150.
- [3] MOHSEN M G, KOOL E T. The discovery of rolling circle amplification and rolling circle transcription[J]. *Acc Chem Res*, 2016, 49 (11): 2540-2550.
- [4] TOLEY B J, COVELLI I, BELOUSOV Y, et al. Isothermal Strand displacement amplification (iSDA): a rapid and sensitive method of nucleic acid amplification for point-of-care diagnosis[J]. *Analyst*, 2015, 140 (22): 7540-7549.
- [5] BI S, YUE S Z, ZHANG S S. Hybridization chain reaction: a versatile molecular tool for biosensing, bioimaging, and biomedicine[J]. *Chem Soc Rev*, 2017, 46 (14): 4281-4298.
- [6] ZHAO Y X, CHEN F, LI Q, et al. Isothermal amplification of nucleic acids[J]. *Chem Rev*, 2015, 115 (22): 12491-12545.
- [7] DIRKS R M, PIERCE N A. Triggered amplification by hybridization chain reaction[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101 (43): 15275-15278.
- [8] SONG C X, LI B J, YANG X H, et al. Use of β -cyclodextrin-tethered cationic polymer based fluorescence enhancement of pyrene and hybridization chain reaction for the enzyme-free amplified detection of DNA [J]. *Analyst*, 2016, 142 (1): 224-228.
- [9] CHEN Z Q, LIU Y G, XIN C, et al. A cascade autocatalytic Strand displacement amplification and hybridization chain reaction event for label-free and ultrasensitive electrochemical nucleic acid biosensing[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 113 (1): 1-8.
- [10] MIAO X M, NING X, LI Z B, et al. Sensitive detection of miRNA by using hybridization chain reaction coupled with positively charged Gold nanoparticles[J]. *Sci Rep*, 2016, 6 (1): 32358.
- [11] MA C P, WANG W S, MULCHANDANI A, et al. A simple colorimetric DNA detection by target-induced hybridization chain reaction for isothermal signal amplification[J]. *Anal Biochem*, 2014, 457 (1): 19-23.
- [12] YING N, JU C J, LI Z Y, et al. Visual detection of nucleic acids based on lateral flow biosensor and hybridization chain reaction amplification[J]. *Talanta*, 2017, 164 (1): 432-438.
- [13] HOU L, WU X P, CHEN G N, et al. HCR-stimulated formation of DNAzyme concatamers on Gold nanoparticle for ultrasensitive impedimetric immunoassay[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 68 (1): 487-493.
- [14] XU D D, LIU C, LI C Y, et al. Dual amplification fluorescence assay for alpha fetal protein utilizing immunohybridization chain reaction and Metal-Enhanced fluorescence of Carbon nanodots[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9 (43): 37606-37614.
- [15] LI Z, LI B C, ZHOU Y L, et al. Ultrasensitive microRNA-21 detection based on DNA hybridization chain reaction and SYBR Green dye[J]. *Anal Biochem*, 2017, 538 (1): 20-25.
- [16] ZHOU G B, LIN M H, SONG P, et al. Multivalent capture and detection of cancer cells with DNA nanostructured biosensors and multibranched hybridization chain reaction amplification [J]. *Anal Chem*, 2014, 86 (15): 7843-7848.
- [17] OU M, HUANG J, YANG X H, et al. Live-Cell MicroRNA imaging through MnO_2 Nanosheet-Mediated DD-A hybridization chain reaction[J]. *Chembiochem*, 2018, 19 (2): 147-152.
- [18] LIU L, LIU J W, WU H, et al. Branched hybridization chain reaction circuit for ultrasensitive localizable imaging of mRNA in living cells[J]. *Anal Chem*, 2018, 90 (3): 1502-1505.
- [19] GHASEMI M S, REZATOFI GHI S E, MIRZADEH K, et al. Enzyme-free amplification and detection of bovine viral diarrhea virus RNA using hybridization chain reaction and Gold nanoparticles[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100 (20): 8913-8921.
- [20] MITI A, ZUCCHERI G. Hybridization chain reaction design and biosensor implementation[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 181 (1): 115-135.
- [21] Yan S A, YUNG L Y. Rational design of hybridization chain reaction monomers for robust signal amplification [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2016, 52 (22): 4219-4222.
- [22] IKBAL J, LIM G S, GAO Z Q. The hybridization chain reaction in the development of ultrasensitive nucleic acid assays[J]. *Trac Trends Chem*, 2015, 64 (1): 86-99.
- [23] LU S S, HU T, WANG S, et al. Ultra-Sensitive colorimetric assay system based on the hybridization chain Reaction-Triggered enzyme cascade amplification[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2017, 9 (1): 167-175.
- [24] CHOI J, LOVE K R, GONG Y, et al. Immuno-hybridization chain reaction for enhancing detection of individual cytokine-secreting human peripheral mononuclear cells [J]. *Anal Chem*, 2011, 83 (17): 6890-6895.
- [25] WANG X Z, JIANG A W, HOU T, et al. Enzyme-free and label-free fluorescence aptasensing strategy for highly sensitive detection of protein based on target-triggered hybridization chain reaction amplification[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 70 (1): 324-329.
- [26] NIE Y T, YANG M Y, DING Y L. Gold nanoparticle enhanced hybridization chain reaction as a method for signal amplification application to electrochemical immunodetection

- tion of the ovarian cancer biomarker carbohydrate antigen 125[J]. Mikrochim Acta, 2018, 185(7): 331.
- [27] YANG H, GAO Y, WANG S Q, et al. In situ hybridization chain reaction mediated ultrasensitive enzyme-free and conjugation-free electrochemical genosensor for BRCA-1 gene in complex matrices[J]. Biosens Bioelectron, 2016, 80(1): 450-455.
- [28] ZHANG Y, CHEN Z W, TAO Y, et al. Hybridization chain reaction engineered dsDNA for Cu metallization: an enzyme-free platform for amplified detection of cancer cells and microRNAs[J]. Chem Commun (Camb), 2015, 51(57): 11496-11499.
- [29] CHOI H M, BECK V A, PIERCE N A. Next-generation in situ hybridization chain reaction: higher gain, lower cost, greater durability[J]. ACS Nano, 2014, 8(5): 4284-4294.
- [30] YAMAGUCHI T, KAWAKAMI S J, HATAMOTO M, et al. In situ DNA-hybridization chain reaction (HCR): a facilitated in situ HCR system for the detection of environmental microorganisms[J]. Environ Microbiol, 2015, 17(7): 2532-2541.
- [31] HUANG J, WANG H, YANG X H, et al. Fluorescence resonance energy transfer-based hybridization chain reaction for in situ visualization of tumor-related mRNA[J]. Chem Sci, 2016, 7(6): 3829-3835.
- [32] WU Z, LIU G Q, YANG X L, et al. Electrostatic nucleic acid nanoassembly enables hybridization chain reaction in living cells for ultrasensitive mRNA imaging[J]. J Am Chem Soc, 2015, 137(21): 6829-6836.
- [33] ZHANG Z Q, ZHONG C L, YUAN T X, et al. A hybridization chain reaction amplification strategy for fluorescence imaging of human telomerase activity in living cells[J]. Method Appl Fluoresc, 2018, 6(4): 045003.
- [34] HUANG D J, HUANG Z M, XIAO H Y, et al. Protein scaffolded DNA tetrads enable efficient delivery and ultrasensitive imaging of miRNA through crosslinking hybridization chain reaction[J]. Chem Sci, 2018, 9(21): 4892-4897.
- (收稿日期: 2018-08-21 修回日期: 2018-11-23)

• 综 述 •

胆道闭锁早期诊断的研究进展*

吕艳关¹综述, 刘颖颖^{2△}审校

(扬州大学附属淮安市妇幼保健院: 1. 医学检验科; 2. 新生儿医学中心, 江苏淮安 223002)

摘 要: 胆道闭锁(BA)是以肝内外胆管进行性纤维化为特征的小儿外科常见严重疾病, 如能在早期明确诊断并且施行手术可显著改善患儿预后, 否则预后大多不良, 因此胆道闭锁的早期诊断尤为重要。术中胆道造影是诊断 BA 的金标准, 但是创伤性较大, 目前仍然需要非损伤性的、特异性和敏感性高的指标来筛查诊断 BA。本文将从血液、尿液来源的实验室标记物、粪便比色卡和超声检查进行综述。

关键词: 胆道闭锁; 实验室标记物; 早期诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.07.026

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1673-4130(2019)07-0867-05

文献标识码: A

Research progress on early diagnosis of biliary atresia*

LYU Yanguan, LIU Yingying[△]

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Neonatal Medical Center, Huai'an Women & Children Hospital Affiliated to Yangzhou University, Huai'an, Jiangsu 223002, China)

Abstract: Biliary atresia (BA) is a common and serious pediatric surgical disease characterized by progressive fibrosis of the intrahepatic and extrahepatic bile ducts. If the diagnosis can be confirmed at an early stage, surgery can significantly improve the prognosis of the children, otherwise the prognosis is often poor. Therefore, the early diagnosis of biliary atresia is particularly important. Intraoperative cholangiography is the gold standard for the diagnosis of BA, but it is more traumatic. Currently, non-invasive, highly specific and sensitive indicators are still needed to screen the diagnosis of BA. In this paper, laboratory markers from blood and urine sources, stool color card and ultrasonography were reviewed.

Key words: biliary atresia; laboratory markers; early diagnosis

* 基金项目: 江苏省妇幼健康科研项目(F201713); 淮安市科技计划项目(HAS201615)。

△ 通信作者, E-mail: 1179925008@qq.com。

本文引用格式: 吕艳关, 刘颖颖. 胆道闭锁早期诊断的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(7): 867-871.