

• 综 述 •

EB 病毒相关淋巴瘤检测技术的研究进展^{*}欧倬君 综述, 向 瑜[△] 审校

重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016

摘 要: EB 病毒(EBV)在全球范围内感染率极高, 早期为无症状潜伏感染, 与多种淋巴瘤及淋巴组织增殖性疾病的发生发展密切相关。此类疾病兼具了病毒感染和血液淋巴系统受累的特点, 临床表现复杂, 预后不良, 为疾病的诊断与治疗方案的选择带来了困难。早检出、早干预对 EBV 相关疾病的预防与治疗至关重要。传统的检测方法面临病毒漏检以及 EBV 相关淋巴瘤复杂的遗传学诊断的难题, 急需新的检测技术对疾病进行辅助诊断。该文主要围绕常见的 EBV 相关淋巴瘤的临床特征和相应检测技术的研究进展进行综述。

关键词: EB 病毒; 淋巴瘤; 检测技术; 辅助诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.19.018

中图法分类号: R733.4

文章编号: 1673-4130(2025)19-2415-06

文献标志码: A

Advances in Epstein-Barr virus-associated lymphomas detection techniques^{*}OU Zhuojun, XIANG Yu[△]

Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing
Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: Epstein-Barr virus(EBV) has a high prevalence of infection worldwide, with early onset of a-symptomatic latent infection, and has been shown to be closely associated with the development of many lymphomas and lymphoproliferative disorders. These diseases are characterized by both viral infection and involvement of the blood and lymphatic system, with complex clinical manifestations and poor prognosis, which pose problems in the diagnosis and selection of treatment options. Early detection and intervention are essential for the prevention and treatment of EBV-related diseases. However, traditional detection methods face the difficulties of viral leakage and the complex genetic features of EBV-associated lymphomas, and there is an urgent need for new detection techniques to assist in the diagnosis of the disease. This article mainly focuses on the clinical features of common EBV-associated lymphomas and the research progress of the corresponding detection technologies.

Key words: Epstein-Barr virus; lymphoma; detection techniques; companion diagnosis

EB 病毒(EBV)属于疱疹病毒科嗜淋巴细胞病毒属 γ 亚科, 是一种具有包膜结构的双链线状 DNA 病毒, 于 1964 年首次从 Burkitt 淋巴瘤中分离出, 其直径为 150~200 nm, 约有 18 万个碱基对, 编码 80~100 种蛋白, 是最早被发现与人类肿瘤相关的病毒^[1]。EBV 主要传播途径为唾液传播, 通过病毒糖蛋白与细胞受体间的相互作用感染口腔上皮细胞, 侵犯记忆 B 淋巴细胞后在人体内建立起终身潜伏感染。潜伏期的 EBV 阳性 B 淋巴细胞可重新激活进入生命周期, 称为病毒再激活^[2]。多数病毒携带者不会表现出临床症状。这种看似无症状的感染掩盖了 EBV 真实的致病潜能, 一旦病毒-宿主间的平衡受到干扰, 可导致多种疾病的发生。EBV 已被证实与多种淋巴瘤的发

生密切相关^[3-5]。

1 概 述

1.1 EBV 相关淋巴瘤的特征 淋巴瘤是一种以淋巴细胞或淋巴前体细胞恶性增生为特征的淋巴系统疾病。EBV 感染可导致霍奇金淋巴瘤(HL)、弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)、NK/T 细胞淋巴瘤(NKTCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、浆母细胞瘤(PBL)等淋巴瘤的发生^[6]。根据潜伏基因的表达定义了不同的 EBV 潜伏感染模式(0、I、II、III 型)。EBV 相关淋巴瘤各自的细胞起源、与 EBV 的相关性以及相应的遗传特征, 见表 1。

1.2 EBV 相关淋巴瘤发病机制 目前, EBV 相关淋巴瘤的发病机制还未完全明确。有研究指出, EBV 可能是通过“hit and run”的机制诱导淋巴瘤的发生^[7]。

* 基金项目: 2025 年重庆市科卫联合医学科研面上项目(2025MSXM097)。

[△] 通信作者, E-mail: 202931@hospital.cqmu.edu.cn。

该机制强调瞬时获得完整或不完整的病毒基因组可能诱导宿主细胞发生恶性转化,导致肿瘤的发生发展。但随着时间的推移,为逃避免疫系统的清除,病毒的基因组可完全或部分的丢失,此前累积的宿主细胞表观遗传改变则成为肿瘤发展的驱动力。EBV 所表达的病毒蛋白和 RNA 能干扰细胞的增殖调控和 DNA 修复,重组 DNA 活动的激活又使病毒基因组发生继发性丢失。

EBV 以潜伏性感染和裂解性感染两种状态存在,潜伏感染是所有 EBV 相关淋巴瘤患病的共同特征。EBV 表达的一系列基因产物是淋巴瘤发生的重要因素^[4,8-9]。(1)潜伏膜蛋白(LMP)-1 可模拟 CD40 受体功能,诱导 NF-κB 的 p65 亚基与人端粒酶逆转录酶结合,导致肿瘤细胞发生永生化;还可激活磷脂酰肌醇

3/蛋白激酶 B (PI3K/AKT)信号通路,参与趋化因子 5 介导的肿瘤血管生成,促进肿瘤恶化。(2)EBV 核抗原(EBNA)1 招募 DNA 甲基转移酶和组蛋白去乙酰化酶等表观遗传修饰酶到达启动子区域,使其发生甲基化或组蛋白去乙酰化,影响宿主细胞的表观遗传修饰,抑制抑癌基因的表达。(3)EBV 编码的小 RNA 降低宿主细胞表面的主要组织相容性复合体类分子的表达,避免感染细胞被细胞毒性 T 淋巴细胞识别和杀伤;还能影响巨噬细胞极化,为淋巴瘤创造有利的免疫微环境。

EBV 基因组及其病毒产物能通过多种途径补偿基因突变功能,为肿瘤的生长存活提供所需的必要信号,导致 EBV 阳性淋巴瘤与 EBV 阴性淋巴瘤的基因改变有所差异,呈现出不同的分子特征。

表 1 EBV 相关淋巴瘤的特征

淋巴瘤	细胞来源	潜伏感染类型	EBV 相关性(%)	蛋白表达种类	基因改变	信号通路
BL 地方性散发性	生发中心	I 型	10~80	EBV 核抗原(EBNA)1	免疫球蛋白基因重排,细胞周期蛋白 D3,B 细胞淋巴瘤(Bcl)-6,MYC,CD10	PI3K/AKT
HL	生发后中心	II 型	30	EBNA1,潜伏膜蛋白(LMPs)1,2	转录因子 3,肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3,β-2 微球蛋白	核因子-κB (NF-κB), Janus 激酶(JAK)-信号转导和转录激活因子(STAT)
DLBCL	生发后中心	III 型	5~15	EBNA1,-2,-3A,-3B,-3C,LMPs-1	髓样分化因子 88,Ras 同源基因家族蛋白 A,MYC,CD79B	NF-κB,JAK/STAT
NKTCL	T/NK 细胞	II 型	100	EBNA1,LMPs-1,-2	PR 结构域锌指蛋白 1,DEAD 盒解旋酶 3X,叉头框蛋白 O3,含 E3 泛素蛋白连接酶 1 的 HECT 结构域和锚蛋白重复序列,STAT 3	促分裂素原活化蛋白激酶(MAPKs),NF-κB,JAK/STAT
PBL	浆母细胞	II 型	60	EBNA-1,LMPs-1,-2A,-2B	干扰素调节因子 4,细胞因子信号抑制因子 1,JAK2,STAT 3	MAPKs,JAK/STAT,Wnt/β-catenin,NOTCH

2 EBV 相关感染淋巴瘤的检测技术

目前淋巴瘤的诊断较大程度依赖于淋巴组织活检进行染色切片组织学形态分析和免疫组化;对于 EBV 载量的检测多采用实时荧光定量 PCR(qPCR)技术,EBV 感染的血清学检测多采用酶联免疫吸附试验(ELISA)。常规的检测技术如荧光原位杂交(FISH)可对部分基因重排和染色体变异进行分析,但对于复杂的基因重排或源自癌基因的盒式插入(如混杂重排配体、位于染色体远端的 MYC 重排等)目前的检测技术难以达到。根据“hit and run”假说所提出的 EBV“一过性”致癌作用,利用现有的检测技术如 qPCR、ELISA 尚不能对潜在的病毒感染、病毒与肿瘤之间的交互关系进行辅助性诊断。近年来分子诊断的迅速发展,多种创新技术,如流式细胞分析、数字 PCR、高通量测序等在淋巴瘤检测中崭露头角,为

EBV 相关淋巴瘤的检测提供了新方案。

2.1 流式细胞术

2.1.1 传统流式细胞术 流式细胞术(FCM)问世于 20 世纪 70 年代,随着技术的进展,在肿瘤疾病诊断、免疫功能监测、治疗靶点筛查等方面得到了极大的运用。FCM 对液流中排成单列的细胞或其他生物微粒,可利用光散射、光吸收、荧光标记等原理快速测定细胞 DNA 含量、体积、膜受体和表面抗原等重要参数,进而对细胞进行特异性分选和分析^[10]。多参数流式(MP-FCM)通过不同荧光的抗体对细胞抗原进行标记,进一步提高了传统流式的敏感度,8~10 色的 MP-FCM 在血液疾病检测中成为主流^[11]。

不同 EBV 感染状态的淋巴瘤患者的淋巴细胞亚群呈现出差异。利用 FCM 对淋巴细胞亚群分析可对 EBV 相关淋巴瘤患者的复发转移、生存预后进行评

估。研究者发现在 NKTCL 中,相较于 EBV DNA 阴性患者,EBV DNA 阳性患者的 CD4⁺ T 细胞比例更高,CD19⁺ B 数量可作为 DLBCL 的预后指标^[12],CD8⁺ T 细胞表达出更高水平的多种表面抑制性受体^[13]。

此外,流式细胞术也用于淋巴瘤的自身抗体检测。MUSSOLIN 等^[14]发现 FCM 能有效检测间变性大细胞淋巴瘤患者体内的酪氨酸激酶抗体,抗体的高滴度与低复发风险相关。但相较于 FCM 在淋巴细胞分选中的高灵敏度和高特异度,自身抗体检测仍面临干扰多、早期滴度低的挑战,高特异性、易于检测的新抗体还有待进一步发掘以及临床验证。

2.1.2 质谱流式细胞术(MC) MC 将传统流式快速检测与质谱分析高分辨率的优势相结合,能检测超过 40 种标志物。MC 利用金属同位素代替荧光基团对抗体进行标记,并通过电感耦合等离子体质谱离子化,基于质量-电荷比分离细胞,对于低浓度蛋白的检测更灵敏,具有多参数、高通量、干扰小等优点,进一步满足了对单细胞异质性研究的需求,有望成为血液肿瘤检测的新技术^[15]。

FERREIRA 等^[16]利用 MC 对 EBV DNA 血症的实体器官移植受者进行检测,研究自限性 EBV DNA 血症(SLD)和慢性 EBV DNA 血症(CD)两组患者的免疫反应,发现 CD 组中分泌 IFN- γ 的 EBV 特异性 CD4⁺ T 细胞、CD11c⁺ 细胞显著低于 SLD 组,提示先天免疫和适应性免疫的交互作用对调节 SLD 血症至关重要。组织成像质谱流式是将组织质谱成像和单细胞质谱流式功能相结合而诞生的新技术,能够在对组织切片进行多参数分析的同时保留样本的空间位置信息,对于肿瘤细胞微环境和组织结构的研究更具优势^[17]。

2.2 数字 PCR(dPCR)

2.2.1 微滴式 dPCR(ddPCR) dPCR 于 1999 年由 VOGELSTEIN 和 KINZLER 提出,2012 年后快速发展并商品化。dPCR 将样本分割成微小液滴进行独立反应,每个反应室内只含有或近似含有一单位的 DNA 分子,利用泊松分布原理,以“终点信号的有或无”为判断依据对目标 DNA 序列进行检测。根据反应原理和反应单元的不同,dPCR 可分为 ddPCR 和芯片式 dPCR^[18]。dPCR 不再依赖标准曲线,能计算 DNA 序列的绝对拷贝数,具有绝对定量、抗干扰能力强的优点,为淋巴瘤诊断分型、最小残留病灶(MRD)检测、预后评估等多个方面提供了检测技术支撑^[18-19]。

EBV DNA 作为 EBV 相关淋巴瘤辅助诊断的指标之一,与淋巴瘤发生、残留、转移的风险相关。有研究者利用 ddPCR 解决目前 qPCR 检测 EBV DNA 的

灵敏度较低、实验室结果的可比性和重复性较差的局限性,对中国西南片区疑似 EBV 感染的患者采用 ddPCR 与 qPCR 同步检测 EBV DNA,发现西南地区临床实践中 EBV 载量较低,以 ddPCR 为标准的 qPCR 在评估中存在 68.3% 的漏检率^[20],采用 ddPCR 更能为临床诊断 EBV 感染提供有利支持。

此外,有研究表明 microRNA 是优于 EBV DNA 的辅助诊断指标。microRNA 来源于凋亡的肿瘤细胞,可作为病毒致癌基因诱导宿主细胞基因突变和表观遗传改变导致淋巴瘤的发生,具有相对稳定,不易降解的特点,与循环 DNA 相比,直观地反映肿瘤的存活活性。MUNDO 等^[21]发现在常规方法(如 qPCR-DNA)检测 EBV 阴性的淋巴瘤的样本中,也有一定比例的肿瘤细胞能够通过高灵敏度的 ddPCR 检测到 EBV 编码的 microRNA。采用 ddPCR 检测 microRNA 灵敏度更高,可发现潜在的病毒感染,进一步支持了 EBV 可能在淋巴瘤的发病机制中发挥广泛作用的观点。

2.2.2 多重 ddPCR 多重 ddPCR 的出现推动了 dPCR 技术的进步。基于 ddPCR 的原理,多重 ddPCR 对多种浓度探针和荧光基团进行组合,能同时检测每个独立反应单元中至少 4 个目标序列的基因突变,已成功运用于病毒基因或包膜的检测,避免了因引物或探针不匹配所导致的假阴性结果^[22]。研究者利用该技术在瘤组织和血液标本中均成功定量检测出 DLBCL 中热点区域的体细胞突变,实验结果与高通量测序相比有较高的一致性^[23],展现了其不受标本类型限制、高通量、高精确性等优点。

2.3 基因测序技术

2.3.1 第二代测序技术(NGS) 2005 年 Life Sciences 公司推出的超高通量基因组测序系统 Genome Sequencer 20 System,标志着 NGS 时代的到来。NGS 的主要步骤包括 DNA 片段化、文库构建和文库与载体交联扩增,并引入了可逆终止末端,实现了边合成边测序。NGS 可同时测序数百万个 DNA 片段,实现了跨转录组区域变异的检测,可广泛分析淋巴瘤基因,识别特异基因重排、单核苷酸多态性和表观遗传特征,有助于诊断和预后评估^[24]。NGS 分为全外显子组测序(WES)、全基因组测序(WGS)、靶向测序(TRS)。

WES 利用探针或引物捕获基因组中所有外显子区域,经过富集后对外显子进行高通量测序,有利于低频突变的检出。WES 成本较 WGS 更低、数据量更小,适用于遗传表型异质性疾病的诊断。WITTE 等^[25]通过 WES 对 PBL 患者的体细胞突变和拷贝数变异进行分析,发现其突变谱相较于 DLBCL 具有显著特异性,并鉴定出神经营养因子酪氨酸受体激酶 3

等新型突变基因;EBV 阳性患者基因表达谱显示出抗原呈递和细胞周期调控异常,与细胞代谢和免疫逃逸密切相关,可能影响免疫治疗反映,为 PBL 病理生物学的独立性和分子分型提供了理论依据。WES 对于解释免疫表型和关键的治疗决策的选择至关重要。

WGS 是对整个基因组进行分析,包含内含子和基因间的区域,能发现非编码区变异,偏差更小,对特殊基因区域如 GC 富集区、重复序列的检测优于 WES,更适用于疑难病例、发现罕见或未知遗传变异。PANEA 等^[26]采用 WGS 描述了 BL 亚型的全基因图谱,确定了 72 个 BL 驱动基因,几乎每个驱动基因都发生了编码和非编码突变,且 EBV 感染者基因突变更多,突出了 WGS 对识别驱动基因的重要性。

TRS 是一种针对特定基因区域进行高深度测序的技术,在较短时间内即可辅助疾病的诊治。TRS 可分为基于引物 PCR 扩增的扩增子测序和基于探针杂交的杂交捕获测序^[27]。相较于扩增子测序,杂交捕获测序检测范围更广、灵活度更高,对样本 DNA 输入量要求较低,更适用于对复杂或大规模基因的检测。PETROVA-DRUS 等^[28]利用杂交捕获测序对 400 多个与血液肿瘤相关的基因进行检测,首次发现在甲醛固定石蜡包埋(FFPE)和新鲜组织中均能检测出非靶向的 EBV 衍生 DNA,与形态学有较好相关性。此外,FFPE 靶向测序利用邻近连接技术,能检测核内物理邻近的 DNA 片段之间的相互作用,进一步加强了对染色体结构变异的检测,解决了 FFPE 制作过程中 DNA 片段化影响基因重排检测的问题^[29]。

由于检测周期较长、成本较高等缺陷限制了 NGS 的大规模应用,难以用于患者病情的动态评估。dPCR 对 DNA 和 RNA 的检测错误率低,更加快速经济,但又依赖于靶标的设计。二者结合的新方案更能发挥各自的优势,为淋巴瘤 MRD 监测提供新策略:NGS 用于突变基因的初步发掘,dPCR 用于后续的验证和监测。

2.3.2 单细胞测序(SCS)技术 SCS 区别于传统测序,对一群细胞批量测序得到平均基因表达水平,能在单细胞水平上对基因组、转录组、表观遗传等进行分析,揭示细胞种群差异和细胞进化的关系^[30]。SCS 可分为单细胞基因组 DNA 测序和单细胞转录组 RNA 测序(scRNA-seq)^[31]。

肿瘤细胞的异质性是淋巴瘤患者出现耐药的重要原因之一,化疗后新突变或克隆进化的出现可导致患者病情复发和不良预后。研究者利用 scRNA-seq 对淋巴瘤细针穿刺样本和外周血样本分析发现血液和肿瘤样本中存在不同的免疫细胞群体,且治疗前后的免疫细胞频率和表型在治疗部位、远处肿瘤及外周血中均出现差异^[32],scRNA-seq 能辅助患者治疗方案

的评估。SCS 还有助于发现 EBV 相关淋巴瘤患者特殊的免疫微环境,推动免疫治疗的发展。LI 等^[33]利用 NKTCL 及其匹配的外周血单个核细胞进行 scRNA-seq,表达 LMP-1 的恶性 NK 细胞亚群分泌大量的二肽基肽酶-4,有着更强的抑制 T 细胞免疫应答的能力,EBV 编码基因的高转录和低浸润肿瘤相关巨噬细胞是预后良好的指标。

SCS 和伴随的数据分析方法在过去十年得到了快速发展,与其他组学联合的新技术如基因组与转录组联合、转录组与代谢标记联合、转录组与蛋白组联合的出现为 EBV 相关淋巴瘤诊疗模式的探索提供了更多的可能^[34]。

2.3.3 第三代测序技术(3GS) 3GS 相较于 NGS 具有读长更长(最长可达 10 kbp)、对参考基因组依赖更小的优点,能准确对病毒基因整合位点、癌细胞克隆、宿主基因结构变异进行分析,为研究病毒致病基因提供了新方法。单分子实时测序(SMRT)和纳米孔单分子测序技术(ONT)是目前 3GS 的主流^[35]。

有研究利用 SMRT 发现了急性髓性白血病新的祖细胞群体,高核糖体蛋白基因水平与患者较差的预后相关^[36]。利用 ONT 对病毒基因组测序,灵敏度更高、成本更低且无需重建单倍型,显示了 ONT 在病毒检测领域的显著优势^[37]。

3GS 在液体活检领域强大的测序能力,对病毒与血液恶性肿瘤的检测具有前景,但目前其在临床运用中性能数据的研究报道相对有限,3GS 的临床价值还需更多的验证。

EBV 相关淋巴瘤的精准诊断需整合多种分子检测技术,各方法在临床适用性上各具优缺点:(1)FCM 凭借普及度高、耗时短及多参数分析的优势,多用于肿瘤细胞初筛和疗效动态监测,但其荧光光谱重叠、低丰度蛋白检测能力有限及空间信息缺失等局限可能影响复杂样本解析。(2)dPCR 以绝对定量、多目标检测及受 PCR 抑制剂干扰小见长,在 EBV DNA 载量监测和特定肿瘤基因变异快速检测中具有独特价值,但缺乏标准化流程和罕见变异检测短板亟待改进。(3)MC 采用金属同位素标记显著降低光谱干扰,凭借单细胞分辨率和高灵敏度,在肿瘤免疫微环境解析及免疫治疗靶点筛选中作用突出,然而高成本和无法实时分选细胞进行下游分析的特性限制了其推广。(4)WGS 可全面识别未知或罕见驱动突变,适用于基因组复杂或表型不典型患者的诊断,但高成本、复杂的数据处理和解读要求对临床应用构成挑战。(5)WES 通过深度测序提升低频突变检测灵敏度,在遗传异质性疾病诊断中优势显著,但外显子外区域的检测盲区可能遗漏重要非编码区变异。(6)TRS 凭借高特异性、短周期和低成本,成为大规模基因筛查和疾

病亚型分类的首选,但其对预设靶点的依赖性可能导致未选区域变异的遗漏。(7)SCS 通过解析细胞异质性,结合多组学分析在肿瘤微环境研究、治疗靶点探索及疫苗研发中展现独特潜力,但技术复杂性、扩增偏差和基因丢失风险仍需进一步优化。

3 总结与展望

EBV 在全球范围内普遍易感,具有强大的致病潜力。感染者通常为无症状潜伏感染,难以即时对病毒进行治疗干预,早期筛查十分重要。EBV 病毒基因表达模式和细胞遗传变化之间存在复杂的相互作用,具体的致病机制尚不完全清楚。EBV 相关淋巴瘤临床表现复杂,部分患者缺乏典型特征,不同类型与病毒的相关性不尽相同,且严重程度差异较大,易出现漏诊误诊。目前临床对于淋巴瘤的治疗更多聚焦于肿瘤本身,EBV 阳性淋巴瘤的特定治疗选择仍然有限,导致部分患者的疗效欠佳。传统的检测手段存在病毒漏检的风险且难以满足当前个性化诊疗的要求,而 dPCR、MC、NGS、SCS 等新兴分子诊断技术展现出了优势,逐渐得到了认可与应用。但各项检测技术均有其特定的适用范围,技术间的相互补充有助于更精准地识别 EBV 相关淋巴瘤的特征,能在多样的应用背景下满足临床需求;同时各种新型生物标志物的出现拓宽了检测的广度和深度,与高效精准的检测方法相结合更有利于病毒的筛查,对于表型较差、缺乏免疫标志物的患者也更具意义。多学科、多领域如与生物信息学、肿瘤免疫学、基因组学、人工智能的交叉融合进一步推动了对疾病的探索。无论何种手段,技术标准化不可忽视,实验室间结果的一致性和重复性是实现准确诊断和技术普及的关键。

参考文献

[1] TAYLOR G S, LONG H M, BROOKS J M, et al. The immunology of Epstein-Barr virus-induced disease[J]. *Annu Rev Immunol*, 2015, 33(1): 787-821.

[2] WARD B J H, SCHAAL D L, NKADI E H, et al. EBV association with lymphomas and carcinomas in the oral compartment[J]. *Viruses*, 2022, 14(12): 2700.

[3] BU G L, XIE C, KANG Y F, et al. How EBV Infects: the tropism and underlying molecular mechanism for viral infection[J]. *Viruses*, 2022, 14(11): 2372.

[4] BEDNARSKA K, CHOWDHURY R, TOBIN J W D, et al. Epstein-Barr virus-associated lymphomas decoded[J]. *Br J Haematol*, 2024, 204(2): 415-433.

[5] ROSCHEWSKI M, WILSON W H. EBV-associated lymphomas in adults[J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2012, 25(1): 75-89.

[6] LUPO J, TRUFFOT A, ANDREANI J, et al. Virological markers in epstein-barr virus-associated diseases[J]. *Vi-*

ruses, 2023, 15(3): 656.

[7] NILLER H H, WOLF H, MINAROVITS J. Viral hit and run-oncogenesis: genetic and epigenetic scenarios[J]. *Cancer Lett*, 2011, 305(2): 200-217.

[8] HUANG J, ZHANG X, NIE X, et al. Assembly and activation of EBV latent membrane protein 1[J]. *Cell*, 2024, 187(18): 4996-5009.

[9] ZOU D, FENG S, HU B, et al. Bromodomain proteins as potential therapeutic targets for B-cell non-Hodgkin lymphoma[J]. *Cell Biosci*, 2024, 14(1): 143.

[10] MANOHAR S M, SHAH P, NAIR A. Flow cytometry: principles, applications and recent advances[J]. *Bioanalysis*, 2021, 13(3): 181-198.

[11] PORWIT A, BÉNÉ M C, DUETZ C et al. Multiparameter flow cytometry in the evaluation of myelodysplasia: Analytical issues; recommendations from the European LeukemiaNet/International Myelodysplastic Syndrome Flow Cytometry Working Group[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2023, 104(1): 27-50.

[12] 沈子园, 李宇杰, 胡灵灵, 等. 外周血淋巴细胞亚群在淋巴瘤不同 EB 病毒感染状态患者中的预后价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2024, 47(7): 763-769.

[13] FENG X, MENG M, LI H, et al. T-cell dysfunction in natural killer/T-cell lymphoma[J]. *Oncoimmunology*, 2023, 12(1): 2212532.

[14] MUSSOLIN L, BONVINI P, AIT-TAHAR K, et al. Kinetics of humoral response to ALK and its relationship with minimal residual disease in pediatric ALCL[J]. *Leukemia*, 2009, 23(2): 400-402.

[15] ARNETT L P, RANA R, CHUNG W W Y, et al. Reagents for mass cytometry[J]. *Chem Rev*, 2023, 123(3): 1166-1205.

[16] FERREIRA V H, BATIST J, HUMAR A, et al. Innate and adaptive immune correlates of chronic and Self-limiting EBV DNAemia in Solid-organ transplant recipients[J]. *Transplantation*, 2020, 104(11): 2373-2382

[17] MOLDOVEANU D, RAMSAY L, LAJOIE M, et al. Spatially mapping the immune landscape of melanoma using imaging mass cytometry[J]. *Sci Immunol*, 2022, 7(70): 5072.

[18] GERTZ M A. Waldenström macroglobulinemia; 2021 update on diagnosis, risk stratification, and management[J]. *Am J Hematol*, 2021, 96(2): 258-269.

[19] OTTOLINI B, NAWAZ N, TRETHEWEY C S, et al. Multiple mutations at exon 2 of RHOA detected in plasma from patients with peripheral T-cell lymphoma[J]. *Blood Adv*, 2020, 4(11): 2392-2403.

[20] 王心仪, 周娟, 刘颖, 等. 基于 ddPCR 技术分析 EB 病毒载量特征及与 qPCR 技术的比较研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(4): 431-434.

[21] MUNDO L, DEL PORRO L, GRANAI M, et al. Frequent traces of EBV infection in Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas classified as EBV-negative by routine meth-

ods;expanding the landscape of EBV-related lymphomas [J]. *Mod Pathol*,2020,33(12):2407-2421.

[22] DE KOCK R,BASELMANS M,SCHARNHORST V,et al. Sensitive detection and quantification of SARS-CoV-2 by multiplex droplet digital RT-PCR[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*,2021,40(4):807-813.

[23] ALCAIDE M,YU S,BUSHELL K,et al. Multiplex droplet digital PCR quantification of recurrent somatic mutations in diffuse large B-Cell and follicular lymphoma[J]. *Clin Chem*,2016,62(9):1238-1247.

[24] JIN X,LIU H,LI J,et al. Composite B-cell and T-cell lymphomas;clinical, pathological, and molecular features of three cases and literature review[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*,2023,24(8):711-722.

[25] WITTE H M,KÜNSTNER A,HERTEL N,et al. Integrative genomic and transcriptomic analysis in plasmablastic lymphoma identifies disruption of key regulatory pathways[J]. *Blood Adv*,2022,6(2):637-651.

[26] PANEA R I,LOVE C L,SHINGLETON J R,et al. The whole-genome landscape of Burkitt lymphoma subtypes [J]. *Blood*,2019,134(19):1598-1607.

[27] SINGH R R. Target enrichment approaches for next-generation sequencing applications in oncology[J]. *Diagnostics (Basel)*,2022,12(7):1539.

[28] PETROVA-DRUS K,QUESADA A E,BOWMAN A S,et al. Quantitative Off-Target detection of Epstein-Barr Virus-Derived DNA in routine molecular profiling of hematopoietic neoplasms by Panel-Based Hybrid-Capture Next-Generation sequencing [J]. *J Mol Diagn*,2022,24(1):69-78.

[29] ALLAHYAR A,PIETERSE M,SWENNENHUIS J,et al. Robust detection of translocations in lymphoma FFPE samples using targeted locus capture-based sequencing [J]. *Nat Commun*,2021,12(1):3361.

[30] LEI Y,TANG R,XU J,et al. Applications of single-cell sequencing in cancer research;progress and perspectives [J]. *J Hematol Oncol*,2021,14(1):91.

[31] YAN X. Comprehensive description of the current breast cancer microenvironment advancements via single-cell analysis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2021,40(1):142.

[32] SHREE T,SATHE A,CZERWINSKI D K,et al. Single cell RNA sequencing of serial tumor and blood biopsies from lymphoma patients on an in situ vaccination clinical trial[J]. *Blood*,2018,132(1):4107.

[33] LI Y,LUO C,JIANG J,et al. Single-Cell analysis reveals malignant cells reshape the cellular landscape and foster an immunosuppressive microenvironment of extranodal NK/T-cell lymphoma [J]. *Adv Sci (Weinh)*,2023,10(36):e2303913.

[34] LIM J. Advances in single-cell omics and multiomics for high-resolution molecular profiling [J]. *Exp Mol Med*,2024,56(3):515-526.

[35] SCARANO C,VENERUSO I,DE SIMONE R R,et al. The third-generation sequencing challenge;novel insights for the omic sciences[J]. *Biomolecules*,2024,14(5):568.

[36] WU J,XIAO Y,SUN J,et al. A single-cell survey of cellular hierarchy in acute myeloid leukemia[J]. *J Hematol Oncol*,2020,13(1):128.

[37] RIAZ N,LEUNG P,BARTON K,et al. Adaptation of oxford nanopore technology for hepatitis C whole genome sequencing and identification of within-host viral variants [J]. *BMC Genomics*,2021,22(1):148.

(收稿日期:2024-10-26 修回日期:2025-04-10)

(上接第 2414 页)

[45] ACKERMAN C M,MYHRVOLD C,THAKKU S G,et al. Massively multiplexed nucleic acid detection with Cas13[J]. *Nature*,2020,582(7811):277-282.

[46] WELCH N L,ZHU M,HUA C,et al. Multiplexed CRISPR-based microfluidic platform for clinical testing of respiratory viruses and identification of SARS-CoV-2 variants [J]. *Nat Med*,2022,28(5):1083-1094.

[47] MYHRVOLD C,FREIJE C A,GOOTENBERG J S,et al. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13 [J]. *Science*,2018,360(6387):444-448.

[48] YANG Y,LIU J,ZHOU X. A CRISPR-based and post-amplification coupled SARS-CoV-2 detection with a portable evanescent wave biosensor[J]. *Biosens Bioelectron*,2021,190:113418.

[49] WANG S,LI H,KOU Z,et al. Highly sensitive and specific detection of hepatitis B virus DNA and drug resistance mutations utilizing the PCR-based CRISPR-Cas13a system[J]. *Clin Microbiol Infect*,2021,27(3):443-450.

[50] GAO S,LIU J,LI Z,et al. Sensitive detection of food-borne pathogens based on CRISPR-Cas13a [J]. *J Food Sci*,2021,86(6):2615-2625.

[51] ZHOU J,YIN L,DONG Y,et al. CRISPR-Cas13a based bacterial detection platform;Sensing pathogen *Staphylococcus aureus* in food samples[J]. *Anal Chim Acta*,2020,1127:225-233.

[52] HARRINGTON L B,BURSTEIN D,CHEN J S,et al. Programmed DNA destruction by miniature CRISPR-Cas14 enzymes[J]. *Science*,2018,362(6416):839-842.

[53] WEI Y,TAO Z,WAN L,et al. Aptamer-based Cas14a1 biosensor for amplification-free live pathogenic detection [J]. *Biosens Bioelectron*,2022,211:114282.

[54] YOSHIMI K,TAKESHITA K,YAMAYOSHI S,et al. CRISPR-Cas3-based diagnostics for SARS-CoV-2 and influenza virus[J]. *iScience*,2022,25(2):103830.

(收稿日期:2024-10-25 修回日期:2025-03-12)