

靶向药物甲磺酸伊马替尼的分子标志物 *BCR-ABL* 融合基因定量检测平台的质量评价方法的研究

孙楠[#], 李丽莉[#], 张文新, 黄杰^{*}, 曲守方^{*} (中国食品药品检定研究院, 国家药品监督管理局体外诊断试剂质量研究与评价重点实验室, 北京 100050)

摘要 目的: 使用 *BCR-ABL* 定量标准品, 评价 *BCR-ABL* 融合基因检测试剂盒(数字PCR法)的性能。方法: 提取 *BCR-ABL* 定量标准品的RNA, 测定其浓度和纯度。使用 *BCR-ABL* 融合基因定量检测试剂盒(数字PCR法)和数字PCR仪进行检测, 得到标准品的 *BCR-ABL* 融合基因的分子学反应。结果: 用于准确度项目检测的标准品WS2和WS3的 *BCR-ABL* 融合基因的MR绝对偏差均不超过 $\pm 0.5 \log$, 用于检出限项目检测的标准品WS4能检出 *BCR-ABL* 融合基因突变阳性, 用于重复性项目检测的标准品WS1和WS4的 *BCR-ABL* 融合基因的MR的变异系数(CV)均 $< 3.0\%$ 。结论: *BCR-ABL* 融合基因定量检测试剂盒(数字PCR法)的准确度、检出限和重复性的性能指标符合制定的《断裂点簇集区-艾贝尔逊白血病病毒(*BCR-ABL*)融合基因检测试剂盒》标准的相应要求, 为标准的实施提供了技术支撑。

关键词: 断裂点簇集区-艾贝尔逊白血病病毒融合基因; 国际标准化; 转化系数; 分子学反应; 准确度; 检出限; 重复性; 溯源

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2024)01-0058-008

doi:10.16153/j.1002-7777.2024.01.008

Study on Standardization of Quantitative Detection Platform for *BCR-ABL* Fusion Gene as a Molecular Marker of Imatinib Mesylate

Sun Nan[#], Li Lili[#], Zhang Wenxin, Huang Jie^{*}, Qu Shoufang^{*} (National Institutes for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of In Vitro Diagnostics, Beijing 100050, China)

Abstract Objective: To evaluate performance of *BCR-ABL* fusion gene testing kit by digital PCR method using *BCR-ABL* quantitative standard. **Methods:** The RNA of standard was extracted and its concentration and purity was determined. The different *BCR-ABL* fusion gene testing kits (digital PCR method) and the digital PCR instrument were used for detection. The molecular response of *BCR-ABL* fusion gene was acquired for quantitative standard. **Results:** The MR absolute deviation of accuracy standards WS2 and WS3 did not exceed $\pm 0.5 \log$. The detection limit standard WS4 could be detected positive mutation in the *BCR-ABL* fusion gene. The MR coefficient of variation (CV) of repeatability standards WS1 and WS4 was less than 3.0%. **Conclusion:** The performance indicators of accuracy, detection limit and repeatability of *BCR-ABL* fusion gene quantitative testing kits (digital PCR method) can all meet the requirements of Industry Standards for Breakpoint Cluster

作者简介: 孙楠 Tel: (010) 67095322; E-mail: sunnan@nifdc.org.cn

共同第一作者: 李丽莉 Tel: (010) 67095599; E-mail: lilili@nifdc.org.cn

通信作者: 黄杰 E-mail: jhuang5522@126.com

曲守方 Tel: (010) 67095647; E-mail: qushoufang@126.com

Region-Abelson Leukemia Virus (*BCR-ABL*) Fusion Gene Testing Kits, providing technical support for the implementation of the standard.

Keywords: Breakpoint cluster region-Abelson leukemia virus fusion gene; international standardization; conversion factor; molecular response; accuracy; detection limit; repeatability; traceability

靶向药物甲磺酸伊马替尼, 作为慢性髓性白血病 (Chronic Myelogenous Leukemia, CML) 的有效治疗方法之一备受关注。它是首个针对关键靶分子 *BCR-ABL* 融合蛋白研发的酪氨酸激酶抑制剂 (Tyrosine Kinase Inhibitors, TKI) 药物, 开启了CML的靶向治疗时代^[1]。目前, TKI药物治疗3、6、12个月以及之后任意时间点的分子学反应已被列入国内外CML诊疗推荐或指南的TKI反应评估标准中, 且治疗后的CML患者需定期进行*BCR-ABL*融合基因监测, 直至达到稳定的主要分子学反应 (Major Molecular Response, MMR), 即 $BCR-ABL \leq 0.1\%$ (IS) 或MR 3.0, 达到功能性治愈效果。

CML是一种以髓系增生为主的造血干细胞恶性疾病, 分子水平表现为22号染色体的断裂簇位点基因 (*BCR*) 和9号染色体上的原癌基因 (*ABL*) 异位融合的*BCR-ABL*融合基因^[2]。根据*BCR*基因的断裂点不同, 可分为*M-BCR* (p210)、*m-BCR* (p190) 和*u-BCR* (p230) 3种^[3], 临床上约有98%的CML发生p210突变。

*BCR-ABL*融合基因是CML最重要的分子学标志, 其检测技术包括荧光聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 法、荧光逆转录聚合酶链反应 (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) 法、逆转录数字聚合酶链反应 (Reverse Transcription-Digital Polymerase Chain Reaction, RT-dPCR) 法和数字聚合酶链反应 (Digital Polymerase Chain Reaction, dPCR) 法^[4-5]等。数字聚合酶链反应法 (简称数字PCR) 能够用于定量检测*BCR-ABL* (p210) 融合基因的比例, 并报告分子学反应。目前, 国内已有多家公司在不同的数字PCR仪平台上研发了*BCR-ABL*融合基因检测试剂盒 (数字PCR法)。本研究使用*BCR-ABL*定量标准品, 对国内的*BCR-ABL*融合基因检测试剂盒 (数字PCR法) 的准确度、检出限和重复性的性能进行评价, 建立不同检测平台质量评价方法,

以期作为检验方法开发、产品研发转化及上市后监管提供技术支撑。

1 材料

*BCR-ABL*定量标准品: WS1~WS4的国际标准值分别为12.359% (IS)、1.692% (IS)、0.177% (IS) 和0.015% (IS), MR分别为0.91、1.77、2.75和3.82, 由中国食品药品检定研究院提供。

试剂盒A: 人*BCR-ABL*%IS检测试剂盒 (数字PCR法) 和全血液总RNA提取试剂盒[艾普拜生物科技 (苏州) 有限公司]; 试剂盒B: 人*BCR-ABL* (p210) 融合基因定量检测试剂盒 (数字PCR法) 和核酸提取或纯化试剂 (苏州锐讯生物科技有限公司); 试剂盒C: 白血病融合基因*BCR-ABL1* (p210) 核酸检测试剂盒 (数字PCR法) 和TRIzol Reagent (苏州思纳福医疗科技有限公司)。

Naica CN G PCR扩增仪[艾普拜生物科技 (苏州) 有限公司]; SG32-3000 PCR扩增仪 (苏州锐讯生物科技有限公司); DQ24-Dx数字PCR分析仪 (苏州思纳福医疗科技有限公司)。

2 方法

2.1 试验方法

2.1.1 样本准备

准确度样本选用试剂盒定量区间的中间浓度的样本, 以确保正确评价试剂盒准确度性能。本试验选用中间浓度的*BCR-ABL*定量标准品WS2和WS3, 直接用于提取RNA, 各检测2次, 要求检测结果的绝对偏差不超过 $\pm 0.5 \log$ 。

据《慢性髓性白血病中国诊断与治疗指南》(2020年版)^[6]指出获得持续MR 4.0以上并且持续超过2年是目前无治疗缓解 (Treatment Free Remission, TFR) 停药试验的前提条件, 临床应用要求至少MR 4.0应能检出, 本试验设置了检出限样本为*BCR-ABL*定量标准品WS4 (MR为3.82), 各检测2次, 要求检测结果应为融合突变阳性。

重复性样本为*BCR-ABL*定量标准品WS1和WS4, 为试剂盒检测区间内的高低2个浓度样本,

各检测10次,要求浓度的对数值或 C_t 值的变异系数(CV,%)应 $\leq 5.0\%$ 。

使用BCR-ABL融合基因检测试剂盒(数字PCR法)说明书中指定的RNA提取试剂盒,提取标准品的RNA,并对RNA的浓度和纯度进行测定。取样本RNA,加入到试剂盒的酶和反应液的混合液中。

2.1.2 试验操作方法

数字PCR是绝对定量PCR,通过对PCR反应物进行有限稀释,随后在不同的反应腔室里进行PCR

扩增,扩增结束后统计阴性液滴数和阳性液滴数,根据泊松分布原理计算出待测分子的起始拷贝数或浓度。反应结束后,根据反应孔的总微滴数,判断检测结果是否有效。打开数字PCR仪,按照试剂盒说明书设置扩增程序,对其进行PCR扩增。采集信号,并使用仪器软件进行分析。各试剂盒操作流程及结果判读见表1。PCR反应结束后,输入样本信息及曝光时间,进行信号采集。设置荧光阈值后,分析并保存数据。

表1 试剂盒操作流程及结果判读

	试剂A	试剂B	试剂C
反应体系	逆转录过程:逆转录反应液1为4 μL , RNA溶液为2 μg , 补纯化水至16 μL 。逆转录反应液2为4 μL 。 数字PCR扩增过程:PCR反应液1为5 μL , PCR反应液2为1 μL , PCR反应液3为2 μL , 纯化水7为 μL , RNA为10 μL 。	逆转录过程:逆转录反应液为8.5 μL , 逆转录酶为1.5 μL , 加入2.5 μg 的RNA, 然后用水补足至总反应体系20 μL 。 数字PCR扩增过程:BCR-ABL 210预混反应液为63 μL , BCR-ABL 210扩增酶为1 μL , 待检测样品或阴性、阳性对照品逆转录产物为16 μL 。	反转录PCR混合液为11 μL ; 引物探针混合液为1 μL ; 酶混合液为2 μL ; RNA样本300-500 ng/反应; 加无核酸酶水补齐至22 μL 。
阴阳性对照设置	校准品及阴性对照各加10 μL 。	阴性对照品、阳性对照品各加10 μL 。	阴性对照品、空白对照品(无核酸酶水)、阳性对照品1和阳性对照品2各加3 μL 。
参数设置	逆转录过程:42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 min, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 孵育5 s。 数字PCR扩增过程:40 $^{\circ}\text{C}$, Sapphire V1, 1循环; 95 $^{\circ}\text{C}$, 3 min, 1循环; 95 $^{\circ}\text{C}$, 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$, 50 s, 45循环; 25 $^{\circ}\text{C}$, Sapphire V1, 1循环。	逆转录过程:25 $^{\circ}\text{C}$, 20 min, 1循环; 42 $^{\circ}\text{C}$, 120 min, 1循环; 85 $^{\circ}\text{C}$, 5 min, 1循环; 4 $^{\circ}\text{C}$, 保存。 数字PCR扩增过程:95 $^{\circ}\text{C}$, 15 min, 1循环; 94 $^{\circ}\text{C}$, 45 s, 60 $^{\circ}\text{C}$, 90 s, 40循环; 98 $^{\circ}\text{C}$, 10 min, 1循环; 20 $^{\circ}\text{C}$, 2 min, 1循环。	25 $^{\circ}\text{C}$, 300 s, 1循环; 50 $^{\circ}\text{C}$, 1800 s, 1循环; 95 $^{\circ}\text{C}$, 300 s, 1循环; 96 $^{\circ}\text{C}$, 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$, 20 s, 5循环; 96 $^{\circ}\text{C}$, 15 s, 63 $^{\circ}\text{C}$, 20 s, 40循环; 72 $^{\circ}\text{C}$, 120 s, 1循环。
结果判读	若BCR-ABL1阳性微滴数 ≥ 3 , 则检测到BCR-ABL1融合基因, 计算待测样本的国际标准值, 并进行报告。 若阳性微滴数 < 3 且大于0, 则需复检。若重复检测或复检的阳性微滴数均 > 0 , 则检测到BCR-ABL1融合基因, 计算并报告该样本的国际标准值; 反之则报告为未检测到BCR-ABL1融合基因。 若无阳性微滴, 则报告为未检测到BCR-ABL1融合基因。	5×10^3 拷贝 \leq 检测ABL拷贝数 $< 10^4$ 拷贝, 可报告国际标准值范围为50%~0.1%, 可报告MR范围为0.3~3.0。 10^4 拷贝 \leq 检测ABL拷贝数 $< 10^5$ 拷贝, 可报告国际标准值范围为50%~0.01%, 可报告MR范围为0.3~4.0。 10^5 拷贝 \leq 检测ABL拷贝数 $< 2.5 \times 10^5$ 拷贝, 可报告国际标准值范围为50%~0.0032%, 可报告MR范围为0.3~4.5。 检测ABL拷贝数 $\geq 2.5 \times 10^5$ 拷贝, 可报告国际标准值范围为50%~0.001%或超出试剂盒检测范围, 可报告MR范围为0.3~5.0或超出试剂盒检测范围。	检测结果BCR-ABL1拷贝数为0, 报告:阴性。检测结果MR > 4.7 或国际标准值 < 0.002 , 报告:物质存在, 不能被定量。检测结果 $4.5 \leq \text{MR} < 4.7$ 或 $0.002 < \text{国际标准值} \leq 0.0032$, 报告实测MR值。MR ≤ 4.5 或国际标准值 ≥ 0.0032 , 报告实测MR值。

2.2 结果统计

在PCR反应结束后,通过收集并统计所有液滴的荧光信号,进行泊松分布计算,获得PCR反应液中*BCR-ABL* (p210)融合基因的模板总量和*ABL*基因的模板总量,结合每个试剂盒的转换系数(Conversion Factor, CF)计算国际标准值,然后通过国际标准值反映MR水平。国际标准值/ $\%$ (IS) = $BCR-ABL$ 的拷贝数/ ABL 的拷贝数 $\times 100 \times CF$; $MR = 2 - \text{Log}_{10}[\% (IS)]$ 。MR绝对偏差 = MR测试的对数值 - MR标示的对数值;变异系数(CV/ $\%$) = 10次测试的标准差/10次测试的平均值 $\times 100\%$ 。

2.3 质量评价结果要求

准确度:每个样本独立检测2次,根据国际标准值计算每个样本的MR,以2个样本的MR值计算样本的平均值和绝对偏差。质量评价结果要求为每个样本的绝对偏差不超过 $\pm 0.5 \log$ 。

检出限:每个样本独立检测3次,根据国际标准值计算每个样本的MR,质量评价结果要求为每

个样本均为*BCR-ABL*融合基因突变阳性。

重复性:每个样本独立检测10次,根据国际标准值计算每个样本的MR,质量评价结果要求为MR值的变异系数(CV) $\leq 3.0\%$ 。

3 结果

3.1 国际标准值结果

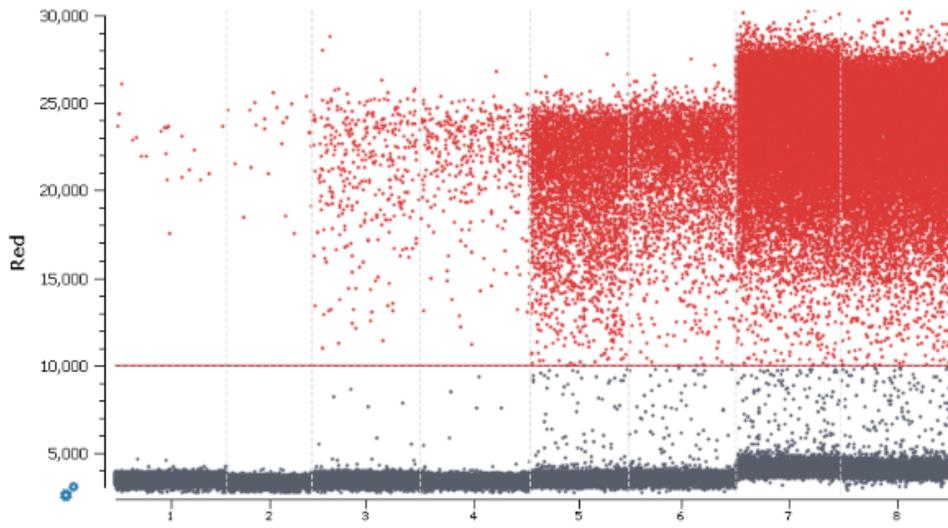
试剂盒A中标准品WS1~WS4的*ABL1*参比基因PCR反应液和*BCR-ABL1*融合基因PCR反应液(总体积为25 μL)的试验结果见表2;然后根据试剂盒提供的CF计算国际标准值,原始结果散点图见图1。

3.2 准确度

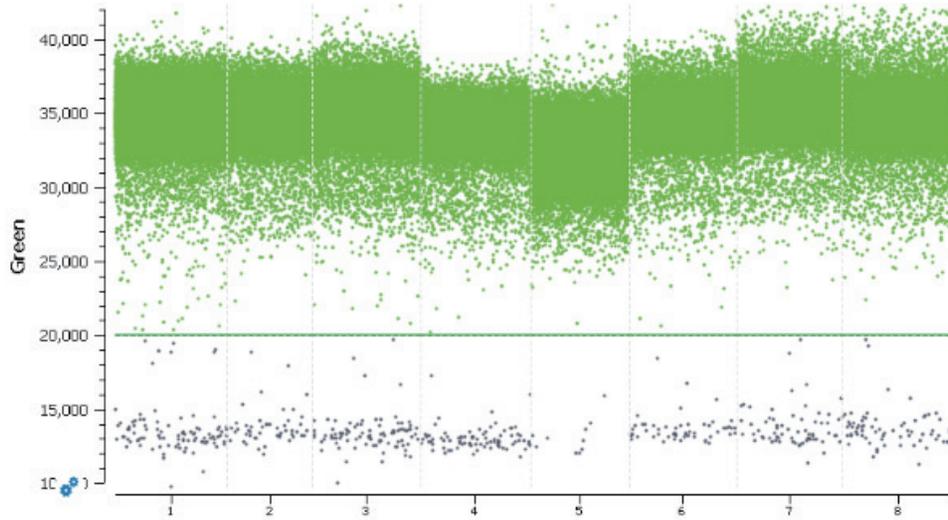
标准品WS2和WS3的MR分别标示为1.77和2.75。每个样本独立检测2次,根据国际标准值计算MR的平均值和绝对偏差。结果表明,试剂盒A中WS2和WS3的MR均值的绝对偏差分别为-0.02 log和0.02 log,试剂盒B分别为-0.04 log和0.46 log,试剂盒C分别为-0.13 log和-0.20 log,符合绝对偏差不超过 $\pm 0.5 \log$ 的要求,见图2。

表2 试剂盒A中标准品(WS1~WS4)检测结果

序号	标准品编号	<i>ABL1</i> 基因		<i>BCR-ABL1</i> 融合基因		国际标准值/ % (IS)
		浓度/ (拷贝 $\cdot \mu\text{L}^{-1}$)	阳性微滴数/个	浓度/ (拷贝 $\cdot \mu\text{L}^{-1}$)	阳性微滴数/个	
1	WS4-1	10326	26291	1.46	21	0.010
2	WS4-2	9176	24413	2.46	33	0.019
3	WS3-1	10130	26372	24.5	352	0.172
4	WS3-2	10150	25652	24.8	346	0.174
5	WS2-1	13875	23367	347	4034	1.776
6	WS2-2	10735	26241	256.4	3437	1.696
7	WS1-1	10743	26353	1948	17306	12.874
8	WS1-2	11274	24904	1875	15993	11.808



A. 标准品 (WS1~WS4) *BCR-ABL1*融合基因的结果散点图 (n=2)



B. 标准品 (WS1~WS4) *ABL1*基因的结果散点图 (n=2)

图1 试剂盒A中标准品 (WS1~WS4) 的检测结果

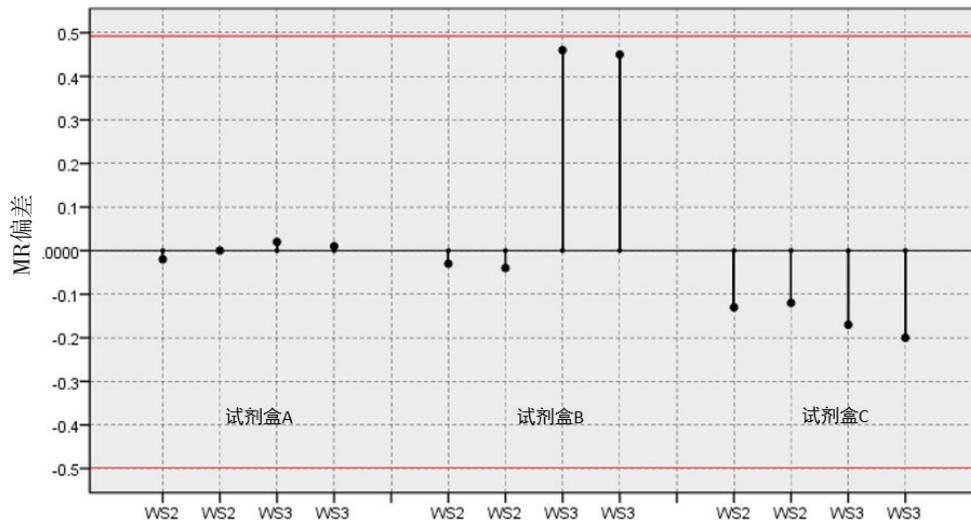


图2 试剂盒准确度结果

3.3 检出限

标准品WS4的MR标示为3.82。结果表明WS4在试剂盒A中MR均值为3.85，在试剂盒B中MR均值为

3.96，在试剂盒C中MR均值为3.68，且均为*BCR-ABL*融合基因突变阳性，见图3。

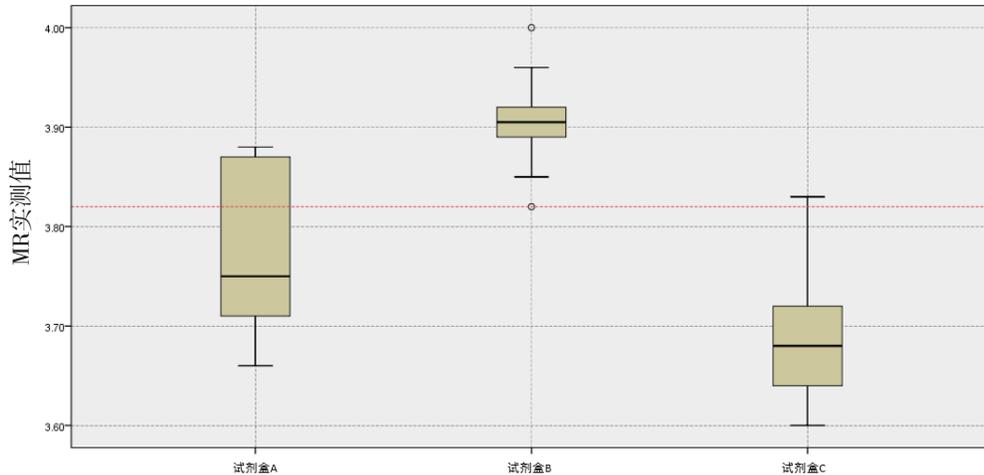


图3 试剂盒检出限结果(重复3次)

3.4 重复性

标准品WS1和WS4的MR标示分别为0.91和3.82。结果显示，试剂盒A中WS1的MR均值为0.92，CV为1.4%，WS4的MR均值为3.77，CV为

2.1%；试剂盒B中WS1的MR均值为1.05，CV为2.8%，WS4的MR均值为3.91，CV为1.2%；试剂盒C中WS1的MR均值为0.79，CV为2.4%，WS4的MR均值为3.70，CV为2.0%，均 $\leq 3.0%$ ，见图4。

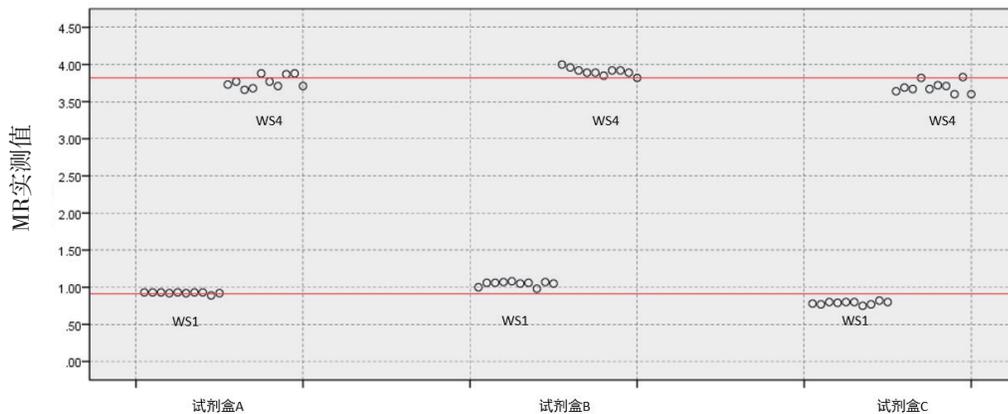


图4 试剂盒重复性结果

4 分析与讨论

4.1 *BCR-ABL*融合基因定量检测平台质量评价方法符合临床使用需求

临床研究表明，TKI治疗获得持续的深度分子学反应(DMR)超过2年的患者，部分能够获得长期的TFR，即功能性治愈。《慢性髓性白血病中

国诊断与治疗指南》(2020年版)^[6]指出获得持续MR 4.0/MR 4.5以上，并且持续超过2年是目前TFR停药试验的前提条件。*BCR-ABL*融合基因作为CML最重要的分子学标志，在CML治疗过程中通过监测*BCR-ABL*融合基因定量分析对CML患者的病情判断、药物选择及疗效监测具有重要意义^[7]。国内

研发的*BCR-ABL*融合基因检测试剂盒（数字PCR法），通过绝对定量获得融合基因和参比基因的拷贝数，根据试剂盒提供的CF获得样本的国际标准值和MR，本研究通过建立以试剂盒主要性能指标为核心的质量评价方法，明确准确度、检出限、重复性等试剂盒主要性能质量评价标准，为科学评价*BCR-ABL*融合基因定量检测平台质量提供技术依据，保障了临床CML患者的用药指导检测方法的安全有效。

4.2 科学的质量评价标准是*BCR-ABL*融合基因检测平台检测结果安全有效性的评价依据

规范化的*BCR-ABL*融合基因检测是精准指导临床治疗的前提^[8-9]。为了实现*BCR-ABL*融合基因检测结果的可比性，国际CML专家们提出了国际标准概念，即通过CF将各实验室的*BCR-ABL*检测值转换为国际标准值^[10]。世界卫生组织（WHO）提供的第一代*BCR-ABL* mRNA的国际遗传定量标准品（NIBSC code: 09/138）主要针对*BCR-ABL1* e14a2型，在使用该标准品对其他型（如e13a2）进行定量时，应验证不同型具有相同的PCR扩增效率^[11]。国家卫生健康委临床检验中心提供了*BCR-ABL1* p210/p190融合基因转录本定量标准品，并于2019年组织全国白血病*BCR-ABL1*融合基因（p210和p190）检测的室间质量评价，以评价临床实验室的检测能力^[12]。中国食品药品检定研究院（简称中检院）体外诊断试剂所前期研制了人类*BCR-ABL*融合基因RNA定性质控品，可以用于评价*BCR-ABL*融合基因突变定性检测试剂盒的性能^[13]。国际标准值是CML分子检测国际通用语言，通过建立我国*BCR-ABL*融合基因检测平台质量评价标准，确保检测结果安全有效，符合质量评价标准的检测结果可以指导临床医师根据国内外CML治疗指南并参考相关临床数据对CML患者进行精准的治疗^[14]。

4.3 以*BCR-ABL*定量标准品的量值准确性溯源链为核心的质量评价方法是不同检测系统性能评价的基础

本研究使用的中检院提供的*BCR-ABL*定量标准品，是通过WHO一级标准品完成国际标准值赋值，WS1~WS4的国际标准值分别为12.359%（IS）、1.692%（IS）、0.177%（IS）和0.015%（IS），用于评价溯源至国际标准品的*BCR-ABL*融合基因定量检测试剂盒（数字PCR法）的准确

度、检出限和重复性的性能。数字PCR是基于单分子PCR方法来进行计数的核酸绝对定量的方法。目前，国内公司开发的基于数字PCR法的*BCR-ABL*融合基因检测试剂盒可以溯源至WHO的*BCR-ABL*定量标准品（NIBSC code: 09/138），可以提供CF来计算国际标准值，实现检测的标准化。本研究使用量值溯源WHO国际标准品的准确度标准品WS2和WS3对国内现有的不同数字PCR检测平台的*BCR-ABL*融合基因定量检测试剂盒进行评价，结果3个试剂盒的WS2和WS3的MR绝对偏差均不超过 $\pm 0.5 \log$ ，满足试剂盒的准确度要求，为不同数字PCR检测系统的量值准确性评价提供了研究基础，也是不同检测系统性能评价标准建立的基础。

4.4 *BCR-ABL*融合基因定量试剂盒的质量评价标准是检测系统研发转化及应用的技术核心

中检院制定的《断裂点簇集区-艾贝尔逊白血病病毒（*BCR-ABL*）融合基因检测试剂盒》行业标准，规范了*BCR-ABL*融合基因定量的准确度、检出限和重复性的要求，为临床检测提供国际标准值和MR，指导了临床TKI用药选择及疗效监测。本研究依托该标准，以国家标准品为检测对象，将该标准的技术指标及检验方法应用于不同检测平台，详细剖析标准技术指标与检测方法在质量评价中的具体应用方案。标准对于准确度的要求为，对于标准品的绝对偏差应不超过 $\pm 0.5 \log$ 。DMR是CML患者在治疗开始后*BCR-ABL*融合基因比例下降了不低于4 logs的分子学反应水平，表示为MR 4.0[*BCR-ABL* $\leq 0.01\%$ （IS）]或MR 4.5[*BCR-ABL* $\leq 0.0032\%$ （IS）]^[15-16]。目前国内研发的部分数字PCR法试剂盒参考美国伯乐数字PCR试剂盒的性能，将检出限设置为MR 4.7[*BCR-ABL* $\leq 0.002\%$ （IS）]^[17-18]，但是考虑到国内*BCR-ABL*融合基因定量试剂盒的研发水平和临床检测的需求，标准对于检出限的要求为，对于融合比例不高于0.01%作为定量试剂盒的检出限，要求应能检测出相应的融合基因阳性；对于重复性的要求为，对重复性参考品检测10次，浓度的对数值或 C_t 值的CV应 $\leq 5.0\%$ 。本研究结果表明，科学合理的质量标准，是包括检验仪器、试剂及算法、结果方法在内的检验系统研发转化及应用的技术核心。

本研究依据对行业具有引领和规范作用的行业标准，以标准物质和行业标准相结合的方式对我

国不同数字PCR仪检测平台的*BCR-ABL*融合基因检测准确度、检出限和重复性等关键性能指标进行了适用性和科学性验证,为科学监管提供了技术支撑。

参考文献:

- [1] Reff MJ, Shillingburg A, Shah B, et al. Front-line Use of Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia: Practice Considerations[J]. J Oncol Pharm Pract, 2020, 26 (1): 156-174.
- [2] 邢明泉, 葛洪峰, 吴维霞, 等. *BCR-ABL*融合基因和 *JAK2 V617F*基因突变双阳性骨髓增殖性肿瘤的研究进展[J]. 白血病·淋巴瘤, 2022, 31 (10): 637-640.
- [3] 王艳艳, 熊辉霞. 慢性髓系白血病不同*BCR/ABL*转录本类型与伊马替尼疗效的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2018, 34 (17): 2978-2981.
- [4] 黄倩雯, 陈海雷, 黄燕, 等. 223例儿童白血病30种融合基因检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17 (2): 154-157.
- [5] Chung HJ, Hur M, Yoon S, et al. Performance Evaluation of the QXDx *BCR-ABL* %IS Droplet Digital PCR Assay[J]. Ann Lab Med, 2020, 40 (1): 72-75.
- [6] 中华医学会血液学分会. 慢性髓性白血病中国诊断与治疗指南(2020年版)[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41 (5): 353-364.
- [7] Patel S, Mistry P, Patel K, et al. Clinical Significance of *BCR-ABL* Fusion Gene in Chronic Myeloid Leukemia Patients[J]. J Assoc Genet Technol, 2020, 46 (4): 233-238.
- [8] 秦亚溱. 慢性髓性白血病患者*BCR-ABL*融合基因的规范化检测及临床应用[J]. 临床荟萃, 2021 (10): 884-888.
- [9] 中华医学会血液学分会实验诊断学组, 中国医师协会中国慢性髓性白血病联盟. *BCR-ABL*酪氨酸激酶区突变检测实验室规范中国专家共识(2015年版)[J]. 中华血液学杂志, 2015 (11): 899-901.
- [10] 秦亚溱, 马道新, 王云贵, 等. 转换国际标准化的 *BCR-ABL* (P210) 转录本水平的转换系数多中心再确认研究[J]. 中华血液学杂志, 2015 (10): 814-817.
- [11] Cross NC, White HE, Ernst T, et al. Development and Evaluation of a Secondary Reference Panel for *BCR-ABL1* Quantification on the International Scale[J]. Leukemia, 2016, 30 (9): 1844-1852.
- [12] Fu Y, Zhang R, Wu Q, et al. Development and Evaluation of Armored RNA-based Standards for Quantification of *BCR-ABL1p210/p190* Fusion Gene Transcripts[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32 (9): e22612.
- [13] 曲守方, 于婷, 张娟丽, 等. *BCR-ABL*融合基因检测试剂盒质控品的建立[J]. 药物分析杂志, 2016, 36 (9): 1629-1633.
- [14] 秦亚溱, 程辉, 岑建农, 等. 定量检测*BCR-ABL* (P210) 转录本水平多中心比对研究[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34 (2): 104-108.
- [15] Branford S. Why is it Critical to Achieve a Deep Molecular Response in Chronic Myeloid Leukemia [J]. Haematologica, 2020, 105 (12): 2730-2737.
- [16] Rea D, Ame S, Berger M, et al. Discontinuation of Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia: Recommendations for Clinical Practice from the French Chronic Myeloid Leukemia Study Group[J]. Cancer, 2018, 124 (14): 2956-2963.
- [17] Shelton DN, Bhagavatula P, Sepulveda N, et al. Performance Characteristics of the First Food and Drug Administration (FDA)-cleared Digital Droplet PCR (ddPCR) Assay for *BCR-ABL1* Monitoring in Chronic Myelogenous Leukemia[J]. PLoS One, 2022, 17 (3): e0265278.
- [18] Brown JT, Beldorth IJ, Laosinchai-Wolf W, et al. Analytical Validation of a Highly Sensitive, Multiplexed Chronic Myeloid Leukemia Monitoring System Targeting *BCR-ABL1* RNA[J]. J Mol Diagn, 2019, 21 (4): 718-733.

(收稿日期 2023年4月25日 编辑 郑丽娥)