



实验室诊断

给大疱性表皮松解症（EB）患者、家人和照护者的信息

这是 EB 患者体验的生活



什么是大疱性表皮松解症？

大疱性表皮松解症 (Epidermolysis Bullosa, EB) 是一组罕见的遗传性疾病，其特征是皮肤和粘膜脆弱，由机械因素引起水疱。EB 包括四种主要类型：单纯型 EB (EBS)、交界型 EB (JEB)、营养不良型 EB (DEB) 和金德勒型 EB (KEB)，共有 30 多种亚型。大疱性表皮松解症在临床上具有异质性，严重程度范围很广。

封面照片：Janaina Rodrigues Pereira, 患有隐性营养不良型 EB, 40 岁, 巴西 (照片来源: Suelen Szymanski)

ioCam ERCS

415500-1501-000

照片来源和版权：R. Hamentner



关于本手册	07
什么是 EB?	09
为什么需要实验室诊断?	10
有哪些诊断步骤?	12
检测方法描述	14
我应该收到哪些信息?	17
什么是遗传咨询?	18
实践中怎样操作?	20
谁应该做检测?	22
术语表	25
一般信息	27



Miguel Kingerski da Silva Calgaro, 患有隐性营养不良型 EB, 6 岁, 巴西 (照片来源: Suelen Szymanski)



本手册适合哪些人阅读？

本手册适合 EB 者、他们的家人和照护者阅读。如果符合以下情况，本手册将对您有所帮助：

- 您、您的孩子或家庭成员被临床诊断为疑似 EB
- 您想了解 EB 实验室诊断的过程
- 您想了解患有 EB 的后果和注意事项
- 您想了解未来计划生育的方案

本手册有哪些内容？

本手册提供了有关 EB 实验室诊断的信息。本手册涵盖的主题包括：

- 什么是 EB
- 当某人被怀疑患有 EB 时获得准确诊断的重要性
- 做出准确 EB 诊断的步骤
- 最新的 EB 实验室诊断方法和注意事项
- 分析结果与 EB 患者护理管理决策之间的联系
- 患者及其家人的遗传模式和遗传咨询
- EB 实验室诊断在实践中的工作原理
- 谁应该做 EB 实验室诊断以及去哪里做诊断

本手册中的信息来自哪里？

本手册中的信息和建议直接来自“大疱性表皮松解症实验室诊断临床实用指南”。该指南由一群 EB 医疗保健专业人员、EB 患者和家庭成员于 2019 年编写。指南中的信息和建议有多种来源，包括临床研究和专家意见。

本手册中有三种不同类型的建议：



强烈推荐

基于高质量的研究证据



推荐

基于研究证据



推荐

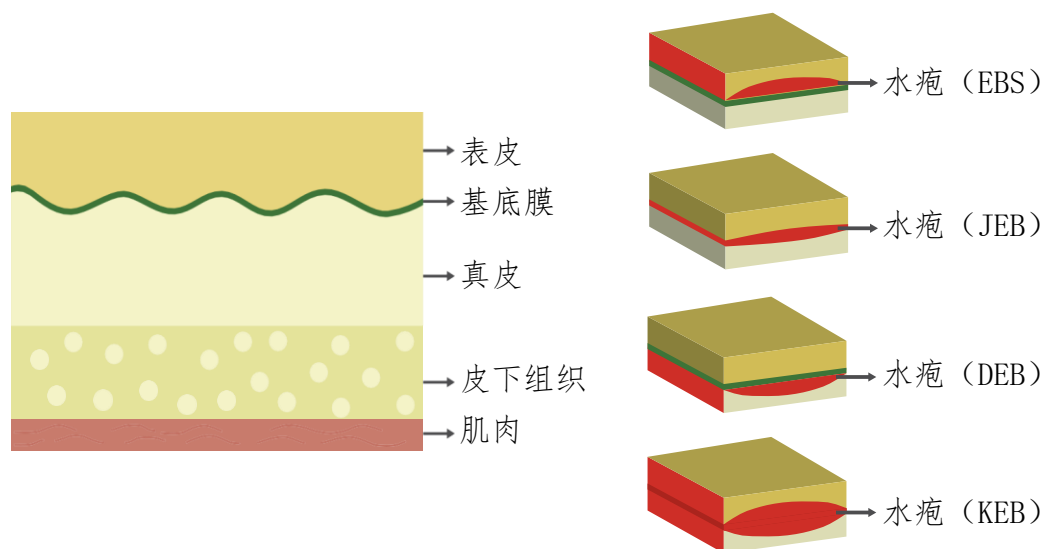
基于临床经验



EB 是一组罕见的遗传性疾病，其特征是皮肤和粘膜脆弱，以及机械原因产生的水疱。EB 包括四种主要类型 - 单纯型 EB(EBS)、交界型 EB(JEB)、营养不良型 EB(DEB)和金德勒型 EB(KEB)；有 30 多种亚型。EB 在临床上具有异质性，严重程度范围很广。对于新生儿和症状轻微的人，确定他们的 EB 类型/亚型需要实验室诊断。对于家族中第一次出现 EB 患者的情况，不做基因检测就无法确定遗传模式（父母将基因传给他们孩子的方式）。

基于皮肤中产生水疱的位置，EB 分为四种主要类型。在 EBS 中，水疱发生在皮肤的上层，即表皮（表皮内）；在 JEB 中，水疱发生在把表皮和下面真皮连接在一起的结构，即基底膜（交界处）；在 DEB 中，水疱发生在浅表真皮（真皮）内的基底膜下方；而在 KEB 中，水疱可能发生在皮肤内的多个不同层面。

超过 20 个基因的致病突变与 EB 有关。这些基因包含翻译成蛋白质（如胶原蛋白、层粘连蛋白和整合素）的信息，这些蛋白质在皮肤中起到保持皮肤完整性和耐拉力的作用。



上图左侧显示了皮肤的结构，上层是表皮，然后逐渐向下依次是基底膜、真皮和皮下组织（脂肪），皮下组织位于肌肉之上。右侧显示了 EB 患者皮肤中水疱分裂的主要层次：表皮内、交界处和真皮。



“如果诊断仅基于目测或临床表现，那么与获得正确的实验室诊断相比，它可能会导致一个人在生活中承受更多痛苦、更多健康问题。他们本可以接受有针对性的或个性化的治疗，并知道如何更有效地照顾自己。当确切地知道你患有哪种类型的 EB 或健康问题时，你更容易为未来做好准备，从而使 EB 患者的生活更加可控。”

Lisa Brains, 47 岁，澳大利亚，患有隐性营养不良型 EB

实验室诊断对于确定 EB（亚）类型以及基因（DNA）和蛋白质水平上的确切病因至关重要。

这对于 EB 患者及其直系亲属来说在以下方面非常重要：

- 准确的遗传咨询
- 预测疾病严重程度
- 基于确切信息的明智决策
- 适当的全身护理
- 产前诊断
- 个性化医疗护理和伤口敷料
- 参与临床试验
- 持续治疗

“作为一名从事 EB 工作的临床医生，有时我感觉自己好像在照顾患有不同疾病的儿童，因为每种类型的儿童在轻重程度和并发症上都有很大差异。出生后尽快得到准确的诊断使 EB 多学科团队能够与家庭合作，规划未来并就他们的护理方案做出相关决策。某些类型的 EB 尽管出生时临床表现稳定，实际预后不良，因此诊断对于确保适当的治疗和支持至关重要。确定疾病的遗传性对于计划未来怀孕的家庭也至关重要，这样我们才能通过产前检测为他们提供支持。”

Katie Plevey，英国大奥蒙德街医院高级 EB 临床护理专家，
与 DEBRA UK 合作

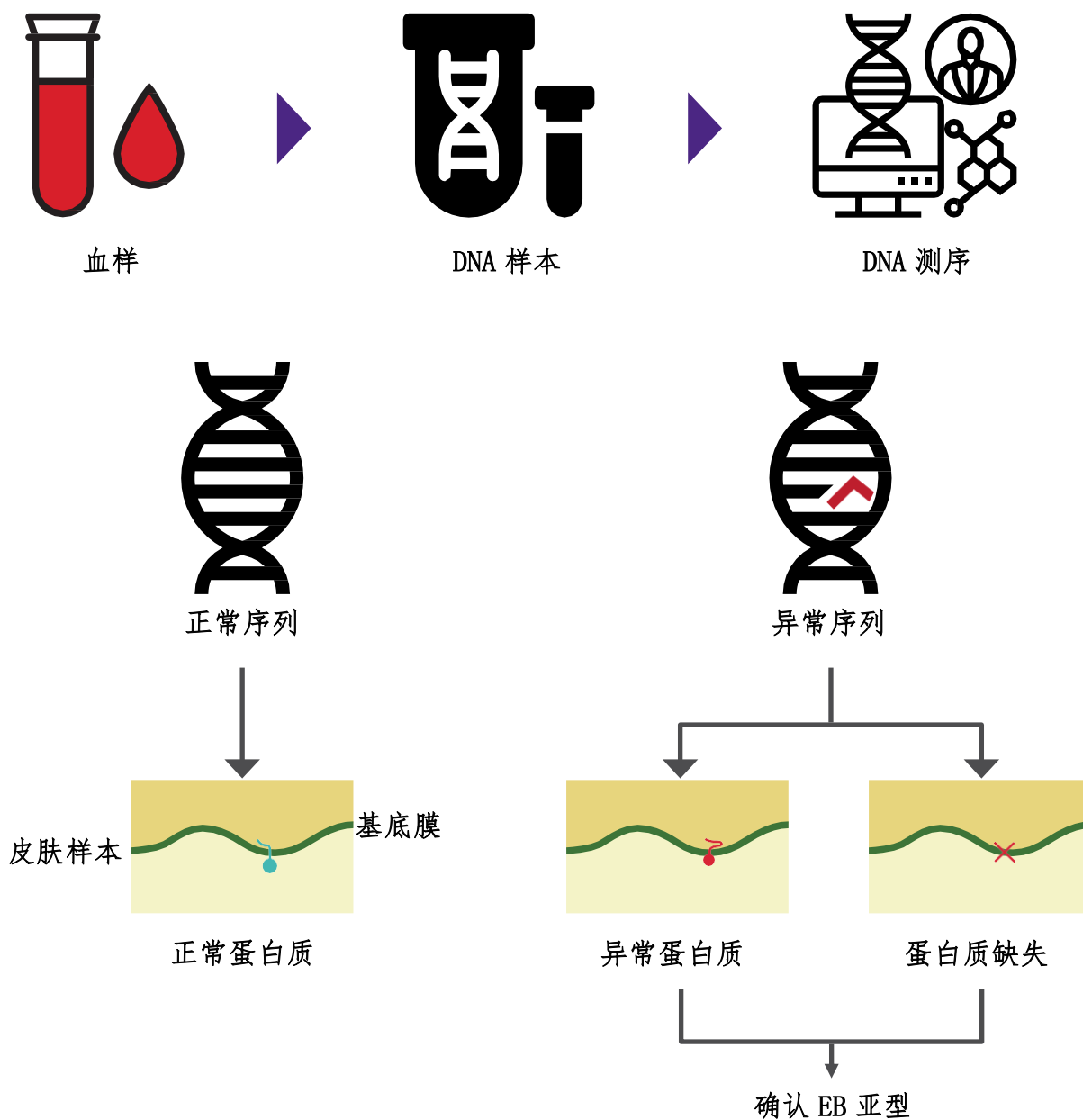
有哪些诊断步骤？

EB 实验室诊断主要使用两种方法：

基因检测从血液样本中提取 DNA，寻找特定致病序列突变。

皮肤活检在蛋白质层面分析皮肤样本，观察蛋白质表达、定位和超微结构变化（皮肤成分的变化只能通过电子显微镜看到）。

EB 实验室诊断方法





强烈建议

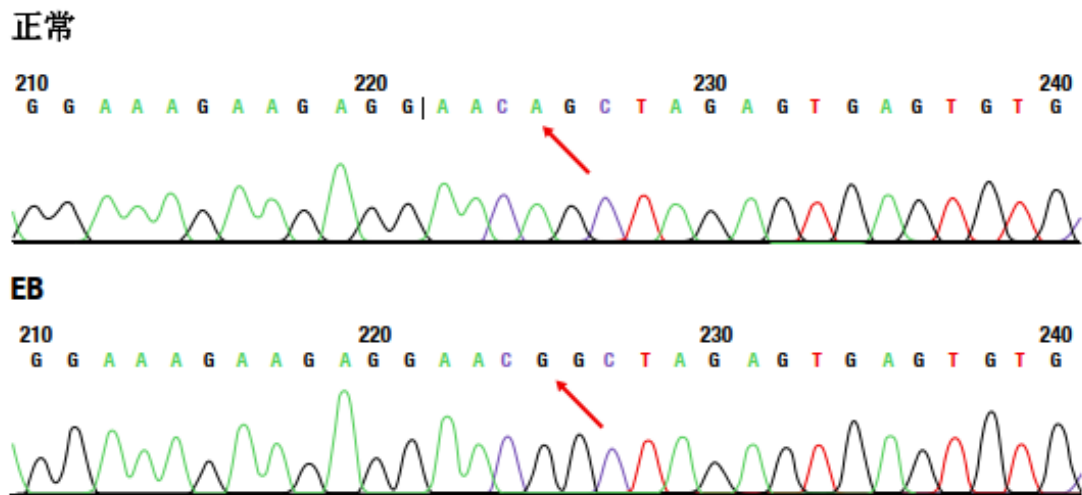
- 如果观察到临床特征并且家族史提示患有EB，则始终建议在患者、父母或法定监护人知情同意后进行实验室诊断。
- 首先，需要进行标准的常规评估以排除其他遗传或获得性皮肤病。
- 理想情况下，应同时进行血液样本的基因检测和皮肤样本的分析，以便在基因和蛋白质水平上全面表征EB。这些方法提供了互补的信息，可以预测疾病的进程。
- 在计划进行EB实验室诊断时，必须考虑对EB患者及其家人的益处、不同方法的可用性、国家法规和经济因素。利用临床医生和诊断学家的专业知识确定检测方法的先后顺序可以缩短诊断时间并节省资源。可以考虑以下EB实验室诊断顺序：
 - 对于新生儿，首先应该做皮肤样本分析，因为它可以快速提供结果。同时，应始终进行基因检测。
 - 对于有典型临床特征的病例，通过不同技术（尤其是桑格测序（SS）或下一代测序（NGS））进行基因检测可以得出最终诊断。
 - 对于预期有复杂遗传背景的EB（亚型），或有非典型临床特征或病因不明的病例，建议通过NGS进行基因检测。
- 如果通过基因检测在EB患者身上查到了致病突变，则应继续对其父母进行检测以确定遗传模式。其他家庭成员也可以接受检测以进行遗传咨询。
- 如果在EB患者身上未检测到致病突变，则必须重新评估诊断步骤。

基因检测

为了进行基因检测，需要从 EB 患者及其父母身上采集血液样本。这些样本用于提取基因组 DNA。

基因组 DNA 包含有关我们个人基因构成的所有信息。它包括大约 24,000 个基因，每个基因都有独特的序列代码，这些序列可以翻译成具有特定功能的蛋白质。每个基因的序列代码由四种不同的分子组成，称为脱氧核糖核酸 (DNA)，它们以 A、T、G 和 C 的“字母”精确排列。

EB 相关基因中的致病突变可以通过特定基因的桑格测序 (SS) 或下一代测序 (NGS) 检测出来，后者可以一次分析所有 EB 基因。



桑格测序生成的数据示例。上图是正常 DNA 序列，下图是 EB 患者的 DNA 序列。红色箭头指向正常的“A”和异常的“G”，这是导致此人患上 EB 的致病突变。

建议

建议所有 EB 患者做基因检测。



皮肤样本分析

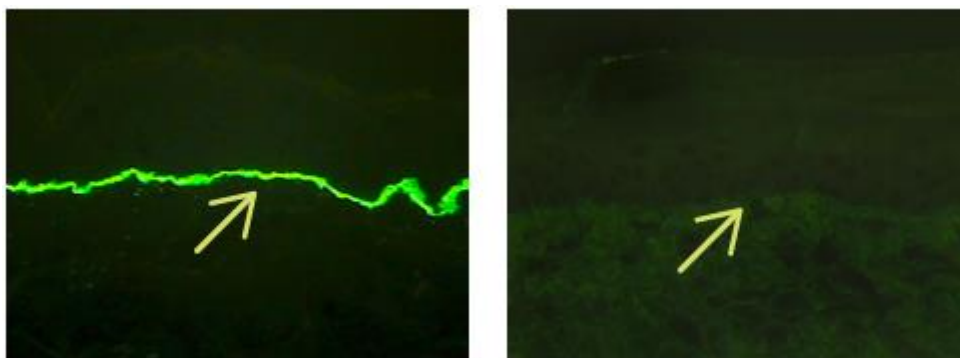


建议

可以使用免疫荧光显微镜 (IFM) 和/或透射电子显微镜 (TEM) 分析皮肤样本

免疫荧光显微镜 (IFM)

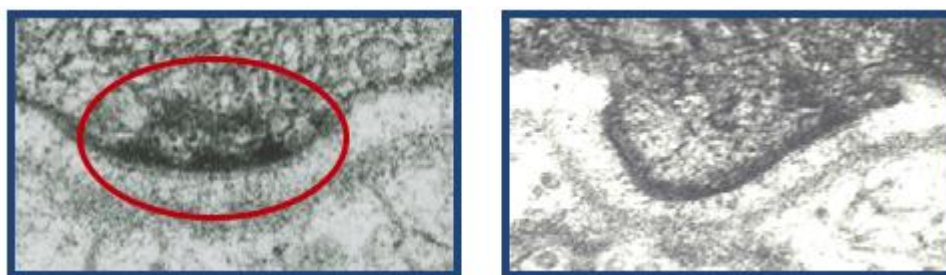
IFM 检查皮肤中的蛋白质。EB 相关蛋白质可被特定 (抗体) 试剂识别。与正常皮肤样本相比, 该技术可显示缺失或减少的蛋白质。



左图显示正常皮肤样本被与 VII 型胶原蛋白相结合的抗体染色 (绿线)。右图显示 DEB 患者的皮肤样本中完全没有 VII 型胶原蛋白。

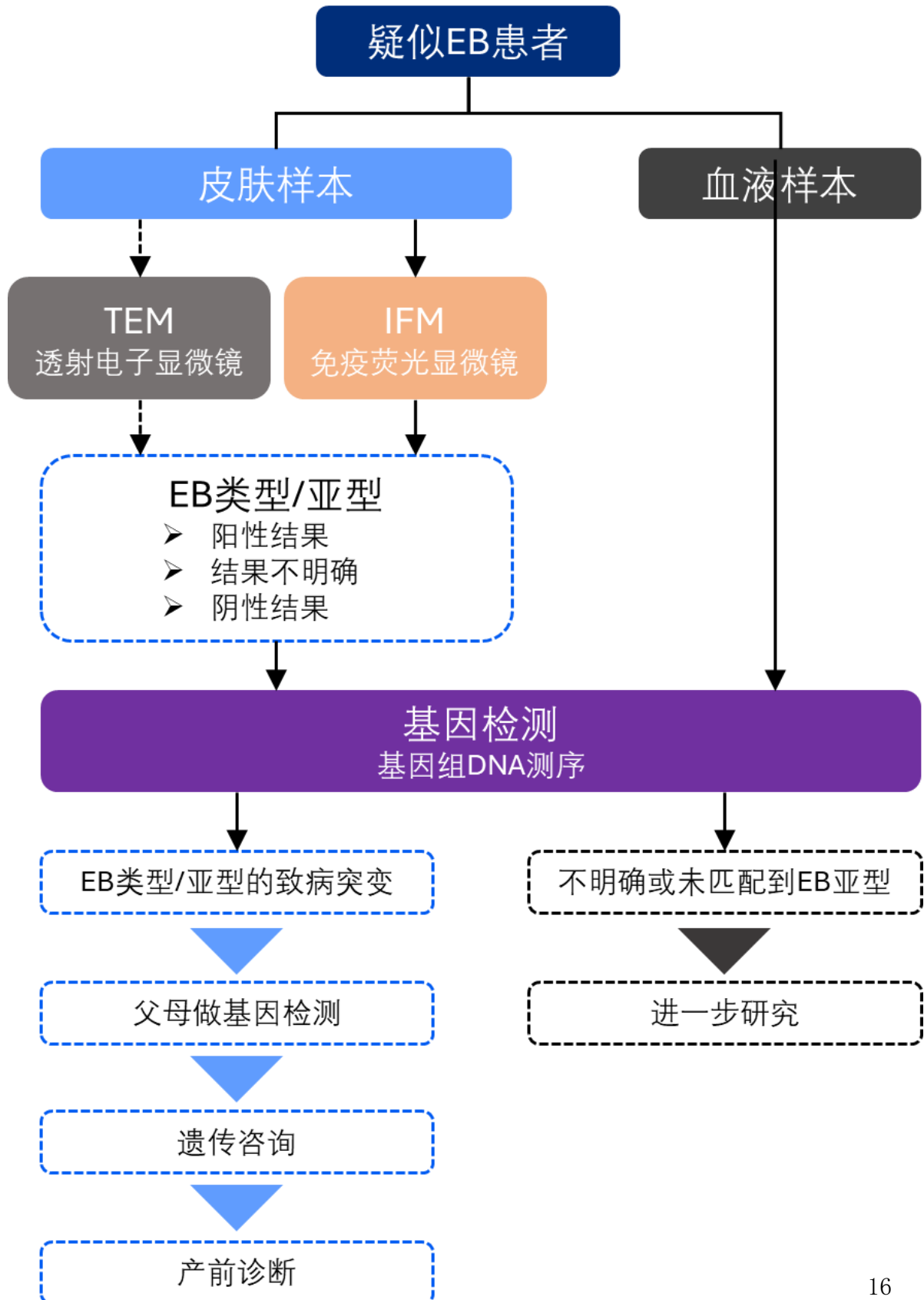
透射电子显微镜 (TEM)

TEM 是一种直接检查皮肤结构成分的技术, 传统显微镜无法看到皮肤的超微结构。TEM 可将样本放大多达 1000 万倍。它很少用于标准 EB 诊断, 但在解决疑难病例时很有用。



左侧图片来自正常皮肤样本, 右侧图片来自 JEB 患者。红圈中的深色结构在患者样本中缺失。

EB 实验室检测步骤



EB 实验室诊断完成后，我应该收到什么信息？

每次实验室测试完成后，都会编写一份报告来总结结果。只要有可能，这些结果会与患者的临床特征联系起来。实验室通常不会将诊断报告直接交给 EB 患者或家属。这是为了避免普通人对科学术语产生误解。根据本地法规，结果将由遗传咨询师或其他专业人员提供给患者和/或其家属。如果报告直接给了患者或家属，始终建议咨询遗传咨询师。

基因测试结果有三种情况：

- **阳性结果**表示已检测出致病突变，并解释了 EB 的原因。
- **不明确的结果**表示检测出了“新的”（以前未知的）突变，并且该突变的后果未知。
- **阴性结果**表示未在 EB 相关基因中发现致病突变。

同样，皮肤样本的 IFM 结果也有三种情况：

- **阳性结果**表示与正常皮肤相比，EB 相关蛋白质异常或缺失，并且可以确定皮肤分离的深度，因此已确定 EB 类型/亚型。
- **不明确的结果**表示它与任何 EB 类型/亚型都不相符。
- **阴性结果**表示 EB 皮肤样本和正常皮肤之间没有显著差异。但是，不能排除轻度 EB 类型/亚型。

建议

皮肤分析可以使用免疫荧光显微镜（IFM）和/或透射电子显微镜（TEM）。





Miguel Kingerski da Silva Calgaro, 患有隐性营养不良型 EB, 6 岁, 巴西
(照片来源: Suelen Szymanski)

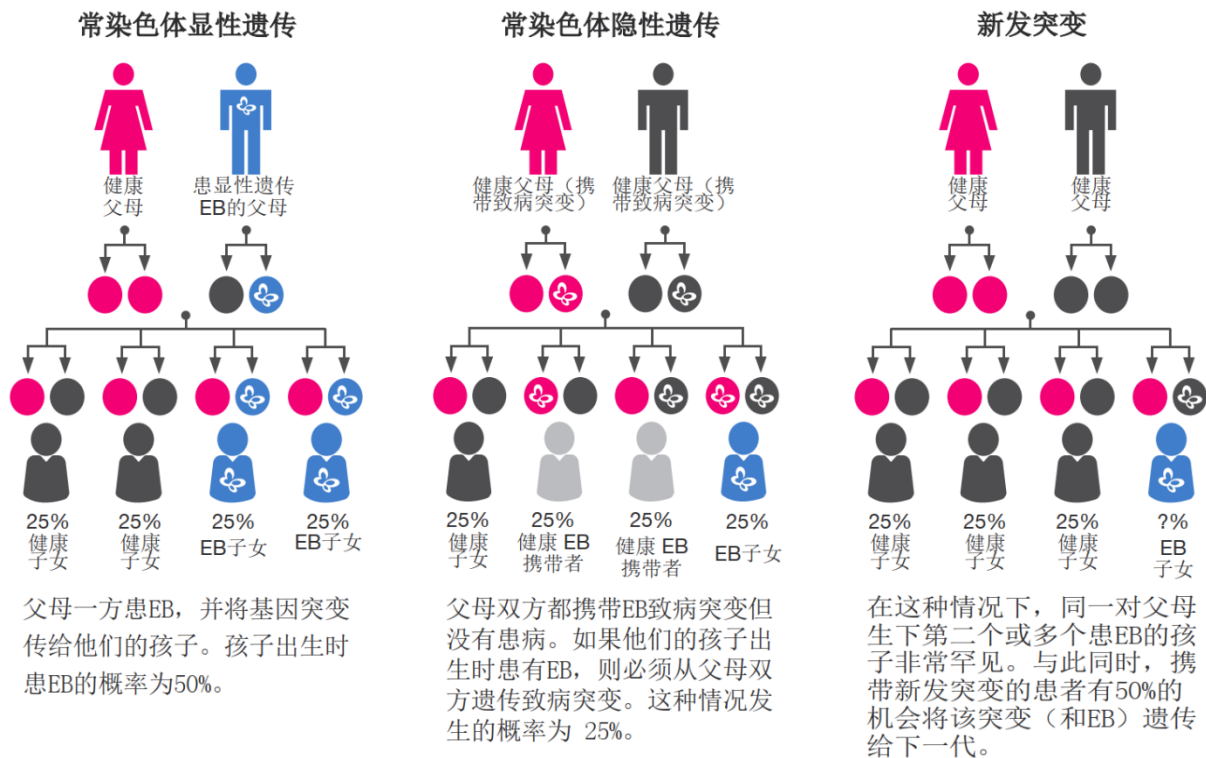
一旦确定了致病突变，EB 患者及其家人应向遗传咨询师或其他专家寻求咨询。
遗传咨询师应向家人解释：

- 什么是 EB
- 遗传模式
- 实验室检查的具体结果
- 疾病严重程度的预测
- 计划生育的方案
- 进行产前诊断的方案。

EB 有三种遗传方式：

- 常染色体显性遗传
- 常染色体隐性遗传
- 新发突变 - 在某些情况下，导致 EB 的致病突变会自发地首次发生在一个人身上。这表示其父母的血液中没有致病突变。

EB 遗传模式



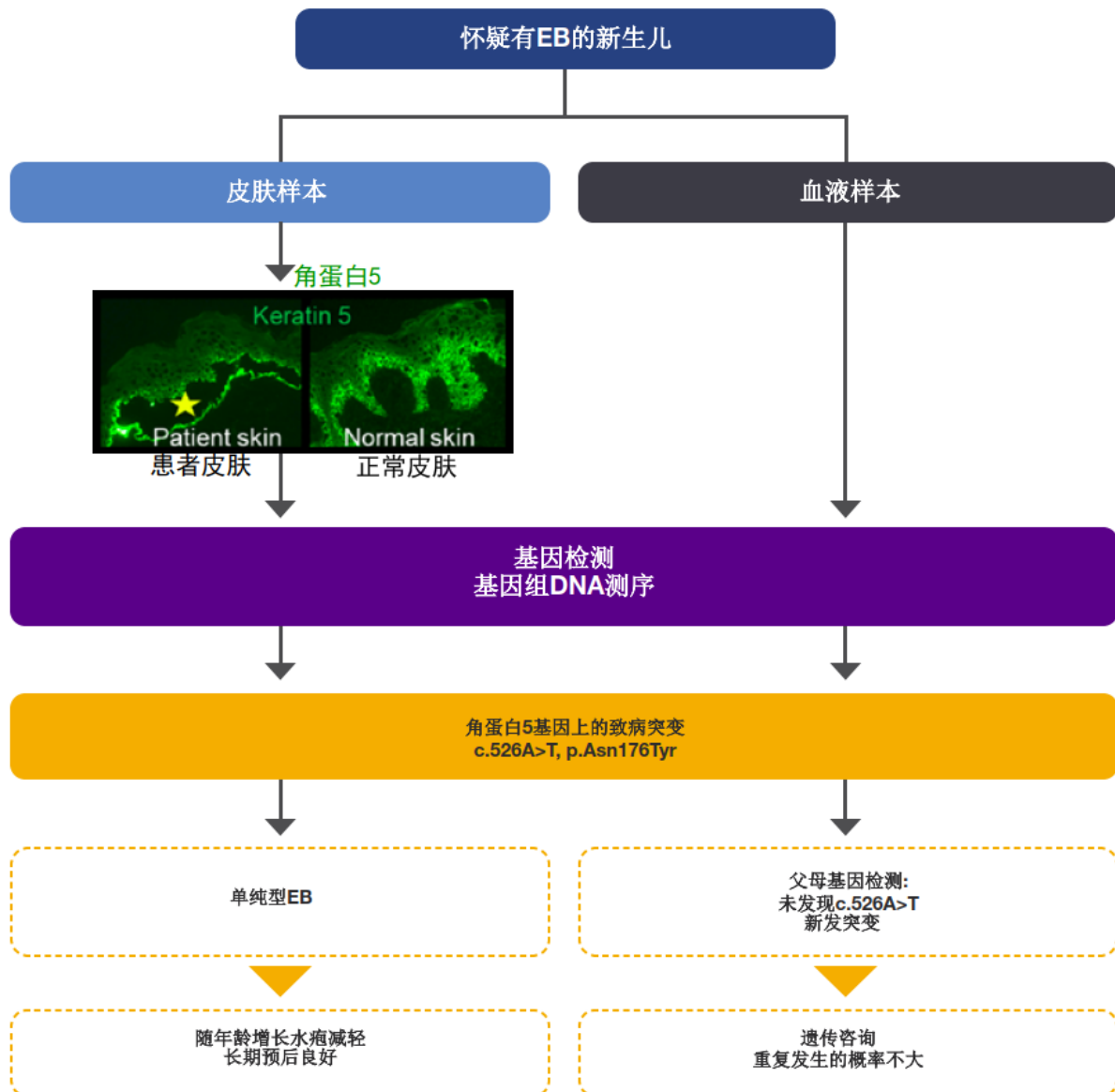
“从新生儿的角度来看, 早期可靠的基因诊断可以为一个家庭带来巨大的改变。确诊可以为家庭提供信息, 让他们了解未来生活和护理需求的实际影响。它可以指导医疗专业人员进行适当的治疗、疼痛管理和伤口护理。在严重的情况下, 它还可以帮助确保家庭在适当的心理支持下充分利用与新生儿在一起的时间。在疑似 EB 患儿出生后的前几周, 对家庭进行遗传咨询和基因检测非常重要。”

Rebecca Saad, 大疱性表皮松解症和皮肤病学临床护理顾问,

SCHN, 澳大利亚悉尼

【译注: 不太同意新发突变的患儿父母再次生出 EB 患儿非常罕见的说法, 因为检测父母基因突变的时候只抽血, 并不检查生殖细胞。根据较新的论文 (DOI:10.1111/bjd.21059), 传统上被诊断为新发突变的 EBS 患者父母可能有生殖细胞镶嵌现象。】

新生儿有皮肤大疱时的 EB 实验室诊断步骤



如果新生儿出现局部皮肤缺失、水疱或皮肤脆弱，应尽快转诊至 EB 诊断中心进行诊断。除了采集血液样本以提取基因组 DNA 外，还应采集皮肤样本。IFM 可在数小时内提供诊断结果，从而确保适当的新生儿护理管理。同时进行基因检测。这个婴儿被诊断为 EBS，预后良好。在健康的父母中未发现致病突变，表明其是新发突变。因此，这对夫妇未来的孩子出生时患 EB 的风险非常低。

【译注：不太同意新发突变的患儿父母再次生出 EB 患儿非常罕见的说法，因为检测父母基因突变的时候只抽血，并不检查生殖细胞。根据较新的论文 (DOI:10.1111/bjd.21059)，传统上被诊断为新发突变的 EBS 患者父母可能有生殖细胞镶嵌现象。】

以下是基因检测报告中显示的结果示例：

- **阳性结果：**“COL7A1 基因中的 p.Gly2043Arg 是显性 DEB 病例中最常见的突变，该患者检测出 p.Gly2043Arg 杂合支持显性 DEB 的诊断。” **明确的显性 DEB 诊断**
- **结果不明确：**“p.Val848Phe 似乎是一种新突变；因此，这种突变的致病相关性尚不确定。对其他家庭成员的筛查可能有助于验证 COL7A1 中这种非典型发现是否会导致疾病。” **可能是 DEB**
- **阴性结果：**“没有任何 COL7A1 致病突变证据表明应诊断为 DEB。” **不是或排除 DEB**

以下是皮肤样本免疫荧光显微镜分析报告示例：

- **阳性结果：**“患者皮肤样本中缺乏层粘连蛋白 332，支持严重泛发性 JEB 诊断。” **明确的重度 JEB 诊断**
- **结果不明确：**“免疫荧光显微镜显示几种 EB 相关蛋白存在非典型异常。这些异常并不明确指示任何特定的 EB 类型或亚型。因此，无法确定皮肤起疱的原因。透射电子显微镜和下一代基因测序将有助于寻找诊断线索。” **可能是 EB**
- **阴性结果：**“没有明确迹象表明该样本可以诊断为大疱性表皮松解症。” **不是 EB**



“我嫁给了那个喜欢送我Mars巧克力棒、皮肤黝黑的马耳他男孩，他现在是一位非常有爱心和同情心的男子。我们开始商量要个小孩儿。我和艾森伯格医生谈过，并接受了详细的遗传咨询。他告诉我，我有50%的机会将这种疾病遗传给我的孩子。我很难过。我非常想成为一名母亲。我赌了一次，和杰夫一起决定尝试一下。

2005年3月24日，尽管风险很大，但我还是生了一个男孩。……我们的儿科医生对他做了检查，宣布他没有EB，并把我们的“小奇迹”交给了我。

那天下午，我打电话给艾森伯格医生，告诉他我们生了一个健康的男孩儿。“他叫什么名字？”他问道。”

Nina Azzopardi, 患有单纯型EB, 48岁, 澳大利亚



强烈建议

强烈建议在具有本领域专业知识和经验且获得认可的实验室做 EB 诊断。

建议任何进行 EB 诊断的实验室都考虑由“大疱性表皮松解症实验室诊断临床实用指南”制定和认可的检测标准 (Br J Dermatol. 2019 年 5 月 15 日。doi: 10.1111/bjd.18128.)。

然而，世界各地的 EB 临床和诊断中心在可用的诊断设备和方法方面存在巨大差异，而且管理罕见病护理和基因检测以及这些服务报销的国家卫生系统法规也存在巨大差异。因此，可能很难满足上述文献中规定的所有标准。这种情况可能需要 EB 临床医生和诊断学家做出合理调整，前提是这种调整不会与指南有太大偏差。



获得性皮肤病	非遗传性或出生时存在（先天性），而是由于出生后影响皮肤结构的基因突变而形成的皮肤病。
抗体	一种血液蛋白，在响应和抵消特定抗原时产生。抗体与身体识别为外来的物质（如细菌、病毒和血液中的异物）发生化学结合。
临床特征	可以被其他人观察到的健康问题的征兆。症状是只有患有该疾病的人才能注意到和体验到的效果。特征（体征）和症状之间的主要区别在于谁观察到了效果。
临床异质性	定义为参与者、治疗或结果的特征或研究环境的差异
电子显微镜	具有高放大倍数和分辨率的显微镜，使用电子束代替光线并使用电子透镜
机械诱导的水疱	一组遗传性疾病，其特征是机械诱导引起基底角质形成细胞裂解，在表皮内产生水疱。
粘膜	粘膜是覆盖身体各个腔体和内脏器官表面的膜。它由一层或多层上皮细胞组成，覆盖在一层疏松结缔组织上。

We would like to thank everyone who contributed to the creation of this booklet!

DEBRA International





Luan Almeida Rocha, 患有显性营养不良型 EB, 19 岁, 巴西
(照片来源: 道格拉斯·罗查·德·阿尔梅达)

免责声明

本手册中包含的信息并不表示唯一的方法, 也不作为医疗护理的标准。需要根据个人情况做调整。本手册的作者已做出相当大的努力, 以确保其中包含的信息准确反映其所基于的指南的内容。作者, 奥地利 DEBRA 和国际 DEBRA 对本手册中详述的任何不准确之处、被视为误导的信息或任何建议、忠告或建议的成功不承担任何责任。以下页面提供的信息如有更改, 恕不另行通知。有关可用的临床实践指南、手册和联系信息的最新信息, 请访问: www.debra-international.org

版权

© 版权所有 DEBRA International 2019。保留所有权利。本作品根据 Creative Commons 署名-非商业-禁止演绎许可条款获得许可, 允许在任何媒体中使用和分发, 前提是正确引用原始作品、非商业使用且未进行任何修改或改编。

【译注: 加入我们, 致谢, 联系方式, 各国 DEBRA 列表未翻译】

加入国际 DEBRA

世界领先的 EB 患者宣传和支持网络

国际 DEBRA 是在奥地利注册的慈善机构 (ZVR 932762489)



www.debra-international.org



office@debra-international.org



[@DEBRAInternational](https://www.facebook.com/DEBRAInternational)



[@InterDEBRA](https://twitter.com/InterDEBRA)

