

己糖激酶-2检测联合液基薄片细胞学检查在尿路上皮癌术前诊断中的价值

夏轶¹ 张莹¹ 周丹梅¹ 倪响² 杜尊国¹ 包芸¹ 唐峰¹ 胡小木^{1△}

(¹复旦大学附属华山医院病理科 上海 200040; ²海军军医大学第一附属医院病理科 上海 200433)

【摘要】 目的 探讨基于尿液标本的己糖激酶-2(hexokinase2, HK2)检测、液基薄片细胞学检查(thin-prep cytology test, TCT)联合检测在尿路上皮癌(urothelial carcinoma, UC)的诊断价值。方法 回顾性分析2021年1月至2023年1月于复旦大学附属华山医院就诊的124例患者的临床资料,在输尿管镜活检或手术治疗前分别进行HK2检测和TCT,以最终病理活检结果为参考,比较两种方法单独或联合检测对UC的诊断准确性差异。结果 HK2检测诊断UC较TCT具有较高的灵敏度,其诊断UC的灵敏度为79.52%(66/83),特异度为80.49%(33/41);其中诊断高级别UC的灵敏度为90.00%(45/50),低级别UC的灵敏度为63.64%(21/33)。传统的TCT检测灵敏度较低:TCT诊断UC的灵敏度为51.81%(43/83),特异度为95.12%(39/41);其中诊断高级别UC的灵敏度为56.00%(28/50),低级别UC的灵敏度为45.45%(15/33)。将二者联合可提高诊断灵敏度:TCT和UC联合检测诊断UC的灵敏度为84.34%(70/83),特异度为80.49%(33/41);其中诊断高级别UC的灵敏度为92.00%(46/50),低级别UC的灵敏度为72.73%(24/33)。结论 尿液HK2检测诊断UC的灵敏度高于尿液TCT;两者联合检测可以明显提高诊断UC尤其是低级别UC的灵敏度。

【关键词】 己糖激酶-2(HK2); 液基薄片细胞学检查(TCT); 尿路上皮癌(UC)

【中图分类号】 R446 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2026.02.009

Value of hexokinase2 detection combined with thin-layer cytology test in the preoperative diagnosis of urothelial carcinoma

XIA Yi¹, ZHANG Ying¹, ZHOU Dan-mei¹, NI Xiang², DU Zun-guo¹, BAO Yun¹,
TANG Feng¹, HU Xiao-mu^{1△}

(¹Department of Pathology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; ²Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the diagnostic value of urine hexokinase2 (HK2) test and liquid based thin-prep cytology test (TCT) in urothelial carcinoma (UC) by urine specimen. **Methods** We conducted a retrospective review of clinical data of 124 patients treated at Huashan Hospital, Fudan University from Jan 2021 to Jan 2023. HK2 test and TCT were performed prior to ureteroscopic biopsy or surgical treatment. The diagnostic results of the two methods alone or in combination were compared with the histological results. **Results** HK2 testing exhibited higher sensitivity in the diagnosis of urothelial carcinoma (UC) than TCT. The sensitivity and specificity of HK2 for the diagnosis of UC were 79.52% (66/83) and 80.49% (33/41), respectively; the sensitivities for high-grade UC and low-grade UC were 90.00% (45/50) and 63.64% (21/33), respectively. Conventional TCT testing showed relatively low sensitivity: the sensitivity and specificity of TCT for the diagnosis of UC were 51.81% (43/83) and 95.12% (39/41), respectively; the sensitivities for high-grade UC and low-grade UC were 56.00%

[△]Corresponding author E-mail: huxm1993@163.com

网络首发时间:2026-03-16 17:16:43 网络首发地址:https://link.cnki.net/urlid/31.1885.R.20260316.1432.002

(28/50) and 45.45% (15/33), respectively. Combined detection of the two assays improved diagnostic sensitivity; the sensitivity and specificity of combined TCT and HK2 testing for UC were 84.34% (70/83) and 80.49% (33/41), respectively; the sensitivities for high-grade UC and low-grade UC were 92.00% (46/50) and 72.73% (24/33), respectively. **Conclusion** The sensitivity of urine HK2 test in diagnosing UC is higher than that of TCT; the combination of both tests can significantly improve the sensitivity in diagnosing UC, especially low-grade UC.

【Key words】 hexokinase2 (HK2); thin-prep cytology test (TCT); urothelial carcinoma (UC)

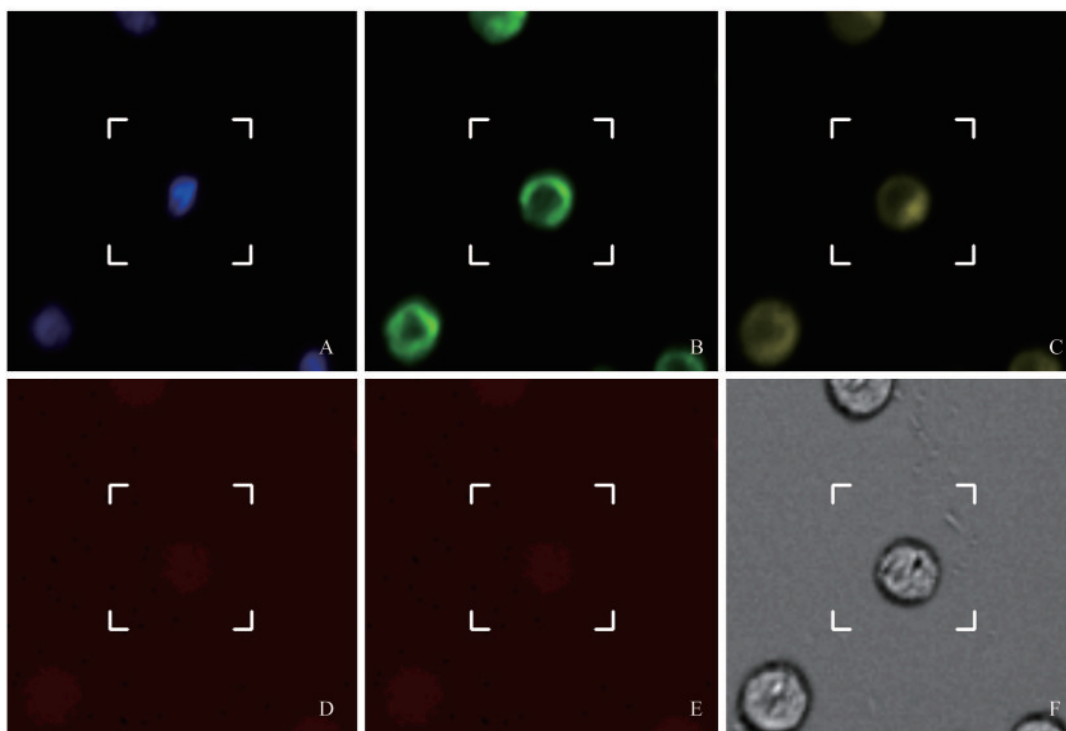
尿路上皮癌(urothelial carcinoma, UC)是泌尿系统中最为常见的恶性肿瘤之一,发生于肾盂、肾盏、输尿管、膀胱黏膜和尿道^[1]。肿瘤术前的诊断、分级和分期对于制订手术或其他治疗方案具有重要的参考价值,因此准确的术前诊断对于改善患者预后十分重要。目前早期UC的诊断依赖于影像学检查和输尿管镜活检,但前者并不能精准明确病变性质及进行术前分级和分期,而后者属于有创操作,并不能广泛开展。肿瘤脱落细胞是常见的检查方法,但其灵敏度较低。近年来已出现各种新型尿路上皮癌生物标志物及检测方法,例如核基质蛋白22(nuclear matrix protein 22, NMP22)、膀胱肿瘤抗原(bladder tumor antigen, BTA)、荧光原位杂交(UroVysion)和免疫细胞试验(immunoCyt/uCyt+),均获得美国食品药品监督管理局和欧洲药品管理局的批准。新型尿液生物标志物检测优于传统细胞学检查,但存在假阳性率高、尿液样本储存、高成本等限制,阻碍了临床转化,且缺乏大样本数据研究的验证。肿瘤能量代谢方式的改变被列为肿瘤四大特征之一^[2],即便在氧气充足的条件下,癌细胞仍可将能量代谢主要转向糖酵解,重构葡萄糖代谢与能量生成方式,进入有氧糖酵解状态,这一现象被称为Warburg效应。基于Warburg效应,现已发展出利用体液样本检测鉴别肿瘤细胞的创新技术。研究发现己糖激酶-2(hexokinase2, HK2)的异常表达是尿路上皮癌不同于正常尿路上皮的特征之一^[3]。利用糖代谢标志物HK2检测,对尿液脱落细胞中葡萄糖高摄取的细胞进行荧光标记,通过自动分析软件识别被标记细胞,精准检测肿瘤细胞,可作为UC的诊断方式之一。本文将探讨HK2检测技术和液基薄片细胞学检查(thin-prep cytology test, TCT)这两种方法单一和联合检测在UC术前诊断中的价值。

资料和方法

一般资料 回顾性收集2021年1月至2023年1月复旦大学附属华山医院所检测的尿HK2结果数据。收集患者的基本临床信息,包括年龄、性别、症状、细胞学诊断、HK2检测结果以及最终病理诊断等。纳入标准:同时有HK2检测、尿脱落细胞学和活检样本的组织病理学诊断结果,样本采集于2周内完成;排除标准:既往有尿路上皮肿瘤或其他恶性肿瘤病史。本研究经复旦大学附属华山医院伦理委员会批准(批准号:KY2025-1387),所有患者均签署知情同意书。

方法

己糖激酶-2(HK2)检测 收集患者新鲜晨尿标本,过滤、600×g离心10 min,匀速倒掉上清,加入1 mL清洗液重悬,转移至1.5 mL离心管。对广谱细胞角蛋白(CKpan)、白细胞标志物(CD45、CD66b)、HK2代谢标志物、细胞核染料4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)进行免疫荧光染色,将其放至单细胞图像分析自动分离仪(JH-AC-6300,苏州浚惠生物科技有限公司)中使用,荧光扫描和光镜扫描5个通道:DAPI(50 ms),FITC(200 ms),PE(200 ms),APC(500 ms),Bright Field(5 ms),并摄片(图1)。利用单细胞图像分析自动分离仪(JH-AC-6300)内置软件用来识别不同通道内的高代谢细胞,并人工复核结果。判读标准:高代谢细胞数量≥5个且高代谢细胞浓度≥1.25个/10 mL为高风险;高代谢细胞数量≥5个或高代谢细胞浓度≥1.25个/10 mL为低风险;高代谢细胞数量<5个而且高代谢细胞浓度<1.25个/10 mL,为未见异常。高风险为阳性,低风险和未见异常为阴性^[4]。



A: Nuclear staining; B: Staining of high metabolic marker (HK2); C: Staining of epithelial marker (PAN-CK); D: Leukocyte marker (CD45); E: Neutrophil marker (CD66b); F: Bright field.

图1 单细胞图像分析自动分离仪中荧光扫描和光镜扫描5个通道(200×)

Fig 1 The automatic separator for single-cell image analysis is equipped with 5 channels for fluorescence scanning and light microscopy scanning (200×)

液基薄片细胞学检测 收集患者新鲜晨尿标本,600×g离心10 min制作TCT,进行HE染色。本研究所有TCT涂片均由2名经验丰富的病理医师重新阅片判读,光镜下观察肿瘤细胞,其中尿液中发现肿瘤细胞或可疑肿瘤细胞为阳性,无肿瘤细胞或可疑肿瘤细胞为阴性。

病理学检查 所有活检最终均经4%甲醛溶液固定和石蜡包埋后常规HE染色,组织病理切片由1名住院医师和1名高年资泌尿系统肿瘤亚专科医师共同重新阅片并诊断,其组织学分类参考2022年第5版WHO尿路肿瘤分类标准。

统计学方法 采用SPSS 26.0及MedCalc 19.0统计软件进行数据分析。对分类数据的分析用百分比表示,进行 χ^2 检验。为了更直观和准确地表示出HK2检验、TCT及两者联合检验对尿路上皮癌的诊断性能,计算曲线下面积(area under the curve, AUC)、灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值,并通过95%CI及P值评估其统计学意义。采用Delong检验进行不同检测方法间AUC的两两比较,以明确各检测方法诊断效能的差异。 $P<0.05$ 为差

异具有统计学意义。

结 果

患者临床病理特征 本研究共收集到符合条件的样本124例。其中男性患者97例,女性患者27例,年龄24~94岁,中位年龄66岁。124例患者中有68例临床表现为不同程度肉眼血尿,8例临床表现为腰背部疼痛,7例临床表现为不同程度肾积水。经病理学明确诊断为UC者83例,其中,男性66例,女性17例,40~55岁9例,56岁~70岁45例,70岁以上29例。肿瘤部位包括膀胱56例、肾盂18例、输尿管4例、肾盂合并膀胱1例、肾盂合并输尿管4例。所有UC中,50例组织学分级为高级别UC,33例为低级别UC。其余41例患者最终诊断为非肿瘤性病变。

己糖激酶-2(HK2)检测结果 HK2检测结果阳性74例,阴性50例,以活检组织病理诊断为最终诊断结果进行对比,其中假阳性8例,假阴性17例(表1)。HK2检测诊断UC的AUC为0.800(95%CI: 0.714~0.887),灵敏度为79.52%(66/83),特异度为

80.49% (33/41), 阳性预测值 89.19%, 阴性预测值为 66.01% ($P < 0.001$), 详见表 2。

TCT 结果 TCT 阳性 45 例, 阴性 79 例。以活检组织病理诊断为最终诊断结果进行对比, 其中假阳性 2 例, 假阴性 40 例(表 1)。TCT 诊断 UC 的

AUC 为 0.735 (95%CI: 0.648~0.822), 灵敏度为 51.81% (43/83), 特异度为 95.12% (39/41), 阳性预测值 95.56%、阴性预测值 49.40% ($P < 0.001$), 详见表 2。

表 1 3种检测方法诊断不同级别 UC 的结果

Tab 1 Diagnostic results of three testing methods for different grades of urothelial carcinoma [n(%)]

Final diagnosis	Cases	HK2 test		TCT		Combined detection	
		+	-	+	-	+ ⁽¹⁾	- ⁽²⁾
High grade UC	50 (40.32)	45 (36.29)	5 (4.03)	28 (22.58)	22 (17.74)	46 (37.10)	4 (3.23)
Low grade UC	33 (26.61)	21 (16.94)	12 (9.68)	15 (12.10)	18 (14.52)	24 (19.35)	9 (7.26)
Non-tumor lesions	41 (33.07)	8 (6.45)	33 (26.61)	2 (1.61)	39 (31.45)	8 (6.45)	33 (26.61)
Total	124 (100.00)	74 (59.68)	50 (40.32)	45 (36.29)	79 (63.71)	78 (62.90)	46 (37.10)

HK2: Hexokinase-2; TCT: Thin-prep cytologic test; UC: Urothelial carcinoma. ⁽¹⁾The “+” was defined as detection of either HK2 or TCT positivity. ⁽²⁾The “-” was defined as both HK2 and TCT showed negative results.

表 2 HK2、TCT 单独及联合诊断疾病价值分析

Tab 2 Analysis of the diagnostic value of HK2, TCT and combined detection for diseases

Methods	AUC	95%CI	P	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
HK2	0.800	0.714-0.887	<0.001	79.52	80.49	89.19	66.01
TCT	0.735	0.648-0.822	<0.001	51.81	95.12	95.56	49.40
Combined detection	0.824	0.740-0.908	<0.001	84.34	80.49	89.74	71.72

PPV: Positive predictive value; NPV: Negative predictive value.

HK2 检测和尿脱落细胞学联合检测结果 124 例患者中, HK2 检测和 TCT 检查结果均为阳性者 78 例, 其中假阳性 8 例, 联合检测结果均为阴性者 46 例, 其中假阴性 13 例(表 1)。联合检测诊断 UC 的灵敏度为 84.34% (70/83), 特异度为 80.49% (33/41)。联合检测 UC 的灵敏度高于单细胞检测 ($\chi^2 = 54.195$, $P < 0.001$), 特异度有统计学差异 ($\chi^2 =$

34.880, $P < 0.001$); 联合检测诊断 UC 的灵敏度高于尿脱落细胞学检测 ($\chi^2 = 16.774$, $P < 0.001$), 两者特异度差异有统计学意义 ($\chi^2 = 3.980$, $P = 0.046$)。Delong 检验结果显示, HK2 检测与 TCT 的 AUC 差异无统计学意义 ($Z = 1.593$, $P = 0.1112$), 而联合检测的 AUC 显著高于 HK2 检测 ($Z = 2.038$, $P = 0.0416$) 和 TCT ($Z = 2.350$, $P = 0.0188$), 详见表 3、图 2。

表 3 不同检测方法诊断价值比较

Tab 3 Comparison of diagnostic values among different detection methods

Methods	Area difference	SE	95%CI	Z	P
HK2 vs. TCT	0.065 4	0.041 1	-0.015 1, 0.161 1	1.593	0.111 2
HK2 vs. Combined detection	0.024 1	0.011 8	0.000 9, 0.047 3	2.038	0.041 6
TCT vs. Combined detection	0.089 5	0.038 1	0.014 8, 0.164 0	2.350	0.018 8

病理分级与两种诊断方法之间的关系 在病理学诊断为 UC 的病例中, HK2 检测诊断高级别 UC 的灵敏度为 90.00% (45/50), 低级别 UC 的灵敏度为 63.64% (21/33), 两者差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.484$, $P = 0.004$)。

尿细胞学检测诊断高级别 UC 的灵敏度为 56.00% (28/50), 低级别 UC 的灵敏度为 45.45% (15/33), 两者差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.885$, $P = 0.347$)。

联合检测诊断高级别 UC 的灵敏度为 92.00% (46/50), 低级别 UC 的灵敏度为 72.73% (24/33), 两者差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.226$, $P = 0.040$)。HK2 检测诊断高级别 UC 灵敏度高于尿脱离细胞学检测, 两者差异有统计学意义 ($\chi^2 = 1.524$, $P = 0.217$)。联合检测和尿脱落细胞诊断高级别 UC 的灵敏度无统计学差异 ($\chi^2 = 3.339$, $P = 0.68$), HK2 检测和联合检验高级别 UC 的敏感性, 两者差异有统

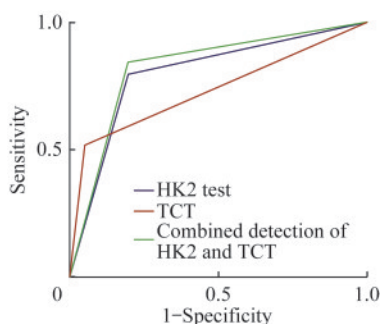


图2 HK2、TCT及两者联合检验的诊断性能

Fig 2 Diagnostic performance of HK2 test, TCT and their combined detection

学意义($\chi^2=29.016, P<0.001$)。HK2检测和尿脱落细胞学检测低级别UC的灵敏度无统计学差异($\chi^2=2.018, P=0.155$),联合检测诊断低级别UC的敏感度高于尿脱落细胞学检测,两者差异有统计学意义($\chi^2=7.946, P=0.005$)。联合检测和HK2检测低级别UC的灵敏度差异有统计学意义($\chi^2=18.040, P<0.001$)。

讨 论

UC是泌尿系统中最为常见的恶性肿瘤之一,其中膀胱癌排名居我国男性恶性肿瘤发病率第8位^[5],上尿路的UC虽发病率较膀胱癌低,但具有发病隐匿、复发率高、预后较差等特点^[6]。UC的主要治疗方法为手术切除辅以灌注化疗等。手术前的明确诊断和手术方案的制订依赖于输尿管镜活检,但镜检作为有创操作,面临着活检风险大、患者依从性低、增加手术难度、可能导致肿瘤播散等缺陷^[7]。

尿脱落细胞检查作为一项无创检查,相对于镜检具有易操作、患者依从性高等优点,但囿于技术的限制,其检出率相对较低。近十年来,包括流式细胞检测、荧光影像分析等技术相继被尝试运用于尿脱落细胞的肿瘤筛检,但收效不甚理想^[8]。因此,开发新的肿瘤诊断手段并结合现有诊断技术,提高细胞学检查诊断UC的准确率,具有重要临床意义。

肿瘤细胞代谢重编程已被视为恶性肿瘤的重要特征之一。包括UC细胞在内的肿瘤细胞,均有特殊的代谢方式,其更依赖有氧糖酵解,因此细胞内HK2表达异常增高^[9]。研究证实通过检测细胞尿液脱落细胞HK2对于诊断UC,尤其是低级别或

早期无症状UC具有良好的准确性^[10]。TCT相较于传统尿脱落细胞涂片具有更高的灵敏度和特异度,但其灵敏度仍低于90%^[11],且TCT的诊断不可避免地受医师的经验和诊断风格影响,带有一定的主观性。尤其是低级别UC,其细胞异型不明显,常常容易漏诊,且易与反应性增生、修复性改变的上皮混淆。而HK2的表达相对较为客观,在机器识别的辅助下一定程度上避免了观察误差。本结果表明,HK2相较于TCT对UC尤其是低级别UC具有更高的检出率,两者结合敏感度达到90%以上,可显著提高UC的术前诊断精度,同时该检测的高敏感度对于隐匿性尿路上皮癌的筛查具有重要作用,这与国内外其他研究结果相似^[4,11]。除了尿路上皮癌之外,HK2的异常表达与多种肿瘤的生物行为呈正相关^[12],利用HK2检测有助于扩大筛查范围,避免发生于膀胱部位的其他肿瘤(如转移性癌或副节瘤、淋巴瘤)等少见肿瘤的漏诊。

本研究中存在一些假阴性病例,复习相关结果,可能是由于样本中细胞含量较少所造成的,因此,充足的细胞量是精确诊断的前提。另外值得注意的是,本研究队列HK2检测假阳性病例中存在2例良性肿瘤,分别为尿路上皮乳头状瘤和内翻性乳头状瘤,这两种肿瘤的己糖激酶代谢情况并无相关文献报道。虽然活检结果为阴性,但考虑到存在取样误差可能,这些患者仍需密切随访。同时,我们将针对HK2在良性肿瘤中的表达开展后续的相关研究。

相较于传统的液基涂片和TCT检查,单细胞测序技术具有诊断精确、特异度高等优点^[4],但其高成本、低通量的特点使其现阶段在基层医院难以普及。HK2检测相对成本低廉,便于推广,对于我国的医疗卫生现状更具有适用性。

本研究的局限性:(1)样本量较小,且部分样本采集于体检患者,因此阳性率相对较低。(2)为回顾性研究,存在选择偏倚,影响对联合检测方法临床价值的评估。(3)部分患者无长期随访结果,单次活检病理并不能反映其真实健康状况,因此存在病理活检结果“假阴性”的可能。(4)HK2检测联合TCT并不能分辨阳性样本是上尿路上皮还是下尿路上皮来源,仍然需要泌尿外科医师结合其他检查结果进行判断。

本研究结果提示,相较于传统细胞学镜检, HK2检测结合TCT可显著提高UC尤其是低级别

UC 的诊断精确性,有助于泌尿外科医师的术前诊断和 UC 患者的术后随访。

作者贡献声明 夏轶 数据采集,论文构思和撰写。张莹 数据分析。周丹梅 数据采集和整理。倪响 研究设计和构思。杜尊国 研究设计。包芸 数据解释,贡献材料。唐峰 论文修订。胡小木 研究设计,论文撰写。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1):7-30.
- [2] HANAHAHAN D, WEINBERG RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 114(4):646-674.
- [3] AFONSO J, GONÇALVES C, COSTA M, *et al.* Glucose metabolism reprogramming in bladder cancer: hexokinase 2 (HK2) as prognostic biomarker and target for bladder cancer therapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(3):982.
- [4] WANG Z, CHEN J, YANG L, *et al.* Single-cell sequencing-enabled hexokinase 2 assay for noninvasive bladder cancer diagnosis and screening by detecting rare malignant cells in urine[J]. *Anal Chem*, 2020, 92(24):16284-16292.
- [5] 周昌明,王泽洲,郑莹.2023年美国癌症数据解读及对中国癌症防治的启示[J]. *中国癌症杂志*, 2023, 33(2):117-125.
- [6] 张庆云,蒙清贵.上尿路尿路上皮癌诊治进展[J]. *现代泌尿生殖肿瘤杂志*, 2021, 13(3):185-188,192.
- [7] 张彪,侯倩,尚攀峰.输尿管镜在上尿路上皮癌诊治中的利与弊[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2023, 28(4):359-362,364.
- [8] 蒋醒竹,胡晓轶,陈阳,等.尿生存素检测结合脱落细胞检查在膀胱癌诊断中的应用价值[J]. *复旦学报(医学版)*, 2008, 35(1):99-101,124.
- [9] MASSARI F, CICCARESE C, SANTONI M, *et al.* Metabolic phenotype of bladder cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2016, 45:46-57.
- [10] 肖晓悦,赵焕,郭会芹,等.基于肿瘤细胞糖代谢和单细胞测序分析尿液脱落细胞在尿路上皮癌诊断中的价值[J]. *中华病理学杂志*, 2023, 52(5):472-479.
- [11] 张进生,渠渊,安红雷,等.尿液标本液基细胞薄层涂片检查在膀胱癌诊断中的应用[J]. *北京医学*, 2011, 33(7):563-565.
- [12] 王祥宇,郑燕,鲁明.肿瘤代谢与肿瘤转移[J]. *复旦学报(医学版)*, 2016, 43(1):86-93.
- (收稿日期:2024-04-27;编辑:王蔚)
-
- (上接第210页)
- [20] MELNIKOVA L, GOLOVNIN A. Multiple roles of dxnp and dadd1—drosophila orthologs of atrx chromatin remodeler[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22):16486.
- [21] GU W, TALEVICH E, HSU E, *et al.* Detection of cryptogenic malignancies from metagenomic whole genome sequencing of body fluids [J]. *Genome Med*, 2021, 13(1):98.
- [22] WADDEN J, RAVI K, JOHN V, *et al.* Cell-free tumor DNA (cf-tdna) liquid biopsy: current methods and use in brain tumor immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:882452.
- [23] SKOURAS P, MARKOULI M, KALAMATIANOS T, *et al.* Advances on liquid biopsy analysis for glioma diagnosis[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(9):2371.
- [24] SHEN T, ZHANG Y, MEI L, *et al.* Single-stranded circular DNA theranostics [J]. *Theranostics*, 2022, 12(1):35-47.
- [25] XU L, DUAN J, CHEN J, *et al.* Recent advances in rolling circle amplification-based biosensing strategies—a review[J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1148:238187.
- [26] YUE S, LI Y, QIAO Z, *et al.* Rolling circle replication for biosensing, bioimaging, and biomedicine [J]. *Trends Biotechnol*, 2021, 39(11):1160-1172.
- [27] STEFANESCU R, STANCIU GD, LUCA A, *et al.* Secondary metabolites from plants possessing inhibitory properties against beta-amyloid aggregation as revealed by thioflavin-t assay and correlations with investigations on transgenic mouse models of alzheimer's disease [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(6):870.
- [28] PANCOE SX, WANG YJ, SHIMOGAWA M, *et al.* Effects of mutations and post-translational modifications on α -synuclein in vitro aggregation[J]. *J Mol Biol*, 2022, 434(23):167859.
- [29] VERMA S, RAVICHANDIRAN V, RANJAN N. Beyond amyloid proteins: Thioflavin t in nucleic acid recognition [J]. *Biochimie*, 2021, 190:111-123.
- (收稿日期:2025-05-26;编辑:王蔚)