

如何撰写高质量的流行病学研究论文

第二讲 分子流行病学研究报告规范——STROBE-ME 介绍

陈茹 段芳芳 詹思延

【导读】 随着分子生物学理论和技术的迅速发展,生物标志越来越多地应用于流行病学研究中,进而形成了分子流行病学,为病因研究和预防措施评价开辟了新的途径。近年来,分子流行病学的应用范围不断扩大,但相关研究的报告质量却参差不齐,限制了研究的进一步运用与发展。本文旨在介绍“加强观察性流行病学研究报告质量——分子流行病学研究”(Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology-Molecular Epidemiology, STROBE-ME),并对清单的一些重要条目进行解读。

【关键词】 分子流行病学研究报告规范;分子标志物;清单

How to write high-quality epidemiological research paper II. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology-Molecular Epidemiology (STROBE-ME)——introduction and explanation CHEN Ru, DUAN Fang-fang, ZHAN Si-yan. Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China Corresponding author:ZHAN Si-yan, Email:siyan-zhan@bjmu.edu.cn

This work was supported by a grant from the Beijing Natural Science Foundation (No. 7111006).

【Key words】 Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology-Molecular Epidemiology; Biomarker; List

1. STROBE-ME 的产生背景:生物标志(biological marker, biomarker)是指生物体内任何可测量的能用于解释、预测健康/疾病结局的物质或结构,可分为暴露生物标志、效应生物标志和易感性生物标志。近年来,分子生物学理论和技术的迅速发展,使得生物标志物越来越多地应用于流行病学研究中,产生了一个新的流行病学分支,即分子流行病学。作为传统流行病学与新兴分子生物学技术相结合的学科,分子流行病学主要从分子水平阐明疾病发生、发展的规律及其影响因素,有效地解决传统流行病学遇到的一系列困难,使得疾病的预防及干预手段更加先进、有效^[1]。图 1 以肿瘤为例描绘了生物标志的应用谱,并已广泛用于衡量外源/内源性因素和机体之间在不同生物水平上的相互作用过程。

虽然 STROBE (Strengthening the

Reporting of Observational Studies in Epidemiology) 声明已经为规范观察性流行病学研究报告提供了良好的指导^[2-4],但涉及生物标志的研究除受传统流行病学研究普遍存在的偏倚和混杂影响外,还面临一些特殊问题,包括生物标志测量的有效性和可靠性、偏倚的特殊来源、反向因果关系,以及多重比较或选择性报告造成的假阳性结果等。为此 Gallo 等^[5]在 2011 年提出了基于 STROBE 声明的 STROBE-ME。因为已有专门针对遗传关联性研究的 STREGA (Strengthening the Reporting of Genetic

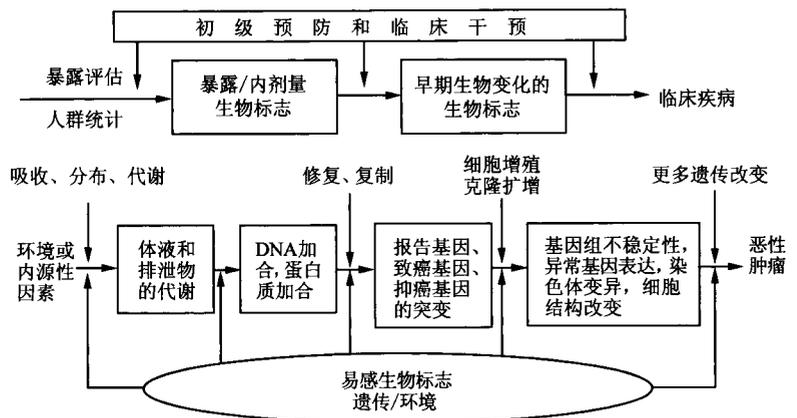


图 1 分子流行病学研究中生物标志的应用

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.07.019
基金项目:北京市自然科学基金(7111006)
作者单位:100191 北京大学医学部公共卫生学院
流行病学与卫生统计学系
通信作者:詹思延, Email:siyan-zhan@bjmu.edu.cn

Association Studies)声明^[6,7],STROBE-ME主要针对除遗传关联性研究以外的分子流行病学研究。

2. STROBE-ME的制定、目标和使用:STROBE-ME最初是由欧洲ECNIS协作网(Environmental Cancer Risk, Nutrition and Individual Susceptibility-European Network of Excellence)提出,并由包括流行病学、生物统计学和实验室技术专家以及一些专业期刊的编辑在内的多学科专家组共同开发。该小组于2008—2010年举办四次会议,同时征求来自ECNIS的意见,历时3年完成,共有30多名科学家参与。STROBE-ME的制定是基于现有较为完善的STROBE声明和其他相关声明及跨学科专家工作组的合作。

STROBE-ME旨在提高分子流行病学研究的报告质量,产生更规范、透明的论文,使编辑、评阅人和读者更好地理解作者的研究内容。尽管采用改善的报告标准可以间接提高研究设计的质量,但STROBE-ME的初衷并不是规定研究应如何进行,也不能作为观察性研究质量的评价标准。作为STROBE声明在分子流行病学研究的扩展,目前的推荐意见只针对那些使用生物标志作为解释变量的研究,包括暴露/内剂量标志、早期生物变化标志和易感性标志,并未包含其他涉及生物标志物的研究设计,如信度和效度的测量及其转化研究。

3. STROBE-ME的内容:STROBE-ME提供了一份报告分子流行病学研究的项目清单(表1),在STROBE原有的22项条目的基础上,扩展了10项条目(如ME-1、ME-2等),涉及分子流行病学研究设计的特殊性问题、样品采集中相关受试者状况的描述,以及将生物标志测量引入到统计模型等方面。同时在原始列表中新添了7项特殊条目(如ME-4.1、ME-4.2等),包括生物样品收集、存储和处理,以及用于分析的实验室方法。新增的每项条目均有相应的描述和解释。此外,STROBE-ME开辟了5个专栏介绍分子流行病学的特殊内容,包括分子标志物的定义和分类,针对分子流行病学研究设计的特殊性,生物样品收集、处理与和储存,生物标志物的有效性和可靠性以及伦理学问题。

4. STROBE-ME清单解读:

题目和摘要(ME-1) 如研究中测量了一个或多个生物标记物,应在题目或至少在摘要中予以说明。这有助于读者快速识别该项研究,同时确保该篇文章可在电子数据库中正确检索到。如“全氟辛酸(PFOA)暴露升高人群中的血清PFOA和全氟辛

烷磺酸(PFOS)浓度与肝功能生物标志物”^[8]一文在题目中描述了暴露标志(PFOA和PFOS)和效应标志(肝功能生物标志物),进而在摘要中明确说明效应标志是丙氨酸转氨酶(ALT)和谷氨酰转肽酶(GGT)。

背景/原理(ME-2) 在“前言”中应明确该文献纳入的一种或多种特定生物标志物的选择过程。明确阐述选择特定生物标志的背景资料和理由,以及该生物标志如何被引入研究设计(生物标志物的暴露、内部剂量、早期生物学变化和易感性),例如某些多态性位点的选择是基于候选基因策略还是通路策略。此外,应澄清该生物标志是否被(某种物质/结构)替代,如果是,还应提示如何替代。

研究目标(ME-3) 在阐述研究目标时,应包括任何预先确定的假设。例如,如果一个或多个生物标志物被用于替代测量,应明确说明生物标志物预先假设的期望值。

研究设计(ME-4) 在“方法学部分”应详细报告研究设计。对于传统的设计,如病例对照研究、队列和横断面研究,可以遵循STROBE建议。对于巢式病例对照研究和病例队列研究,在报告时应格外注意病例组和对照组的选择标准、抽样框架及匹配标准,因这是该类研究设计潜在偏倚的主要来源。除个人的匹配标准外,均应报告用于选择或匹配生物样品的方法(存储时间和批次)。此外,建议简要描述实施该巢式研究的队列情况,包括人群、抽样方法、结局确证、随访期失访对象数量以及建立该队列主要目的。

生物样品采集(ME-4.1) 在文章报告中必须准确描述样品的收集和运输,使读者能够评估生物标志测量潜在偏倚或错误,以保证研究可重复性。报告应包括①生物样品的采集设置(地点、当天时间、当年时间、参与实验室及人员等);②样品数量/体积;③样品收集过程(是否加抗凝血剂,如肝素等);④如果研究对象是健康人,收集样品时其状态(是否为空腹,及其体位等);⑤如研究对象为非健康者,还应报告与其健康和医疗情况有关的信息;⑥在任何情况下(相关临床或生理结局),均应报告样品采集的时间,这有可能影响生物标志物的特征或浓度。应特别注意研究对象有可能通过已知或未知途径影响生物标志物水平的相关因素。总之,在“方法学部分”应明确报告所有可能改变生物样品或影响最终生物标志测量的关键信息。

生物样品处理(ME-4.2) 在“方法学部分”需

表 1 报告观察性流行病学研究——分子流行病学的条目清单

条目	条目序号	STROBE	STROBE-ME
题目和摘要			
题目和摘要	1	(1) 题目或摘要中应以常用专业术语描述研究设计 (2) 摘要内容要丰富, 且能准确表述研究所做及其所见	ME-1 对结果有重要影响的特定生物标志物, 需在题目和/或摘要中说明
前言			
背景和原理	2	解释科学背景和预测研究的依据	ME-2 解释在可能的许多生物标志物中选择特定生物标志物的方法/原因及其科学背景(例如, 已有其他生物标志物的研究, 或已有报告, 或没有研究)
研究目标	3	阐明研究目标, 包括任何预先确定的假设	ME-3 先验假设: 如果一个或多个生物标志物被用于替代测量, 说明生物标志物预期值的先验假设
方法			
研究设计	4	在论文中先陈述研究设计的要素	ME-4 描述针对分子流行病学的特殊研究设计(尤其是巢式病例对照研究和病例队列研究)及其如何实施
生物样品采集			ME-4.1 报告生物样本采集的设置、样本量、采集程序的特点、参与者的条件、样品采集与相关临床或生理终点的时间间隔
生物样品处理			ME-4.2 描述样品处理(离心、时间、添加物等)
生物样品存储			ME-4.3 描述样品在生物标志物分析前的存储(存储、融解、操作等)
生物标志物的生化特性			ME-4.4 报告生物标志物的半衰期及其化学和物理特性(如溶解度)
研究现场	5	描述研究现场, 包括具体场所和相关时间(研究对象征集、暴露、随访和数据收集时间)	
研究对象	6	(1) 队列研究: 描述选择研究对象的合格标准、来源人群和选择方法, 描述随访方法; 病例对照研究—描述选择确诊病例和对照的合格标准、来源人群和选择方法, 描述选择病例和对照的原理; 横断面研究—描述选择研究对象的合格标准、来源人群和选择方法 (2) 队列研究—配对研究描述配对标准和暴露与非暴露数目; 病例对照研究—配对研究描述配对标准和每个病例对应的对照数目	ME-6 报告任何可能影响生物标志物特性或浓度的因素, 包括研究对象的习惯、临床条件、生理因素及工作或生活条件等
研究变量	7	明确定义结局、暴露、预测因子、潜在混杂因子和效应修饰因子(如果可能, 应给出诊断标准)	
数据来源/测量	8	对每个关心的变量, 描述其数据来源和详细的判定(测量)方法(如果有多组, 还应描述各组之间判定方法的可比性)	ME-8 实验方法: 报告使用的检测类型、检出限、生物样品数量、检测程序的时间(适用时)和校准程序或任何使用的标准
偏倚	9	描述潜在的偏倚	
样本大小	10	解释样本大小的确定方法	
计量变量	11	解释分析中如何处理计量变量(如果可能, 描述怎样选择分组及分组原因)	
统计方法	12	(1) 描述所有统计方法, 包括控制混杂的方法 (2) 描述亚组和交互作用检查方法 (3) 描述缺失值的处理方法 (4) 如果可能, 队列研究应解释失访的处理方法; 病例对照研究应解释病例和对照的匹配方法; 横断面研究应描述根据抽样策略确定的统计方法 (5) 描述敏感性分析	ME-12 描述如何将生物标志物引入统计模型
测量的信效度和内部/外部检验			ME-12.1 报告文献中生物标志物测量的信度和效度, 以及研究中使用的任何内部或外部检验
结果			
研究对象	13	(1) 报告各阶段研究对象的数量, 包括可能合格的数量、被检验是否合格的数量、证实合格的数量、纳入研究的数量、完成随访的数量和分析的数量 (2) 描述各阶段研究对象未能参与的原因 (3) 考虑使用流程图	ME-13 给出每个阶段生物样品缺失的原因

续表 1 报告观察性流行病学研究——分子流行病学的条目清单

条目	条目序号	STROBE	STROBE-ME
描述性资料	14	(1)描述研究对象的特征(如人口学、临床和社会特征)以及关于暴露和潜在混杂因子的信息 (2)提供每个相关变量有缺失值的研究对象数目 (3)队列研究—总结随访时间(如平均时间、总和时时间)	
生物标志物测量值的分布			ME-14.1 给出生物标志物测量值的分布(包括均值、中位数、范围和方差)
结局资料	15	队列研究—报告发生结局事件的数量或根据时间总结发生结局事件的数量;病例对照研究—报告各个暴露类别的数量或暴露的综合指标;横断面研究—报告结局事件的数量或总结暴露的测量结果	
主要结果	16	(1)给出未校正和校正混杂因子的关联强度估计值、精确度(如 95%CI)。阐明根据哪些混杂因子进行调整以及选择这些因子的原因 (2)当对连续性变量分组时报告分组界值 (3)如果有关联,可将有意义时期内的相对危险度转换成绝对危险度	
其他分析	17	报告其他分析,如亚组和交互作用分析、灵敏度分析	
讨论			
重要结果	18	概括与研究假设有关的重要结果	
局限性	19	结合潜在偏倚和不确定的来源,讨论研究的局限性及潜在偏倚的方向和大小	ME-19 描述实验程序的主要局限性
解释	20	结合研究目的、局限性、多因素分析、类似研究的结果和其他相关证据,谨慎给出一个总体的结果解释	ME-20 根据先验的生物学合理性对结果作出解释
可推广性	21	讨论研究结果的可推广性(外推有效性)	
其他信息			
资助	22	给出当前研究的资助来源和资助者(如有可能,给出原始研究的资助情况)	
伦理学			ME-22.1 描述知情同意和伦理委员会的批准,尤其是样品是否匿名或可识别

要详细描述样品处理的所有步骤,包括手工和实验室特定仪器处理,以评估实验的可重复性。若采用广泛认可的技术,其主要步骤可引用相关文献,但应说明对原始实验室技术有无改变。

生物样品储存(ME-4.3) 有些生物样品可能经过长期储存后才用于测量(尤其是在巢式病例对照研究和病例队列研究中),关键是其间是否发生过冻融。由于反复冻融可部分改变待查生物标志物的测量值,应在“方法学部分”报告生物样品可能经历的任何操作,并详细描述样品的储存方式。

生物标志物的生化特性(ME-4.4) 对于新的生物标志,在“方法学部分”应报告与测量值和结果解释相关的生物化学和生物物理特性,如半衰期、溶解度或亲脂性。

研究对象(ME-6) 应报告研究对象中任何可能(已知或未知)途径影响生物标志物水平的相关特征。例如,空气污染或季节性因素可能影响研究对象DNA加合物水平;而饮食类型或阳光暴露量可能影响研究对象的DNA损伤生物标志物水平。

数据来源/测量(ME-8) 在“方法学部分”应详述实验室用于生物标志物分析的技术。在描述新的

或改良的技术时应特别注意,如采用广泛认可的技术,其主要过程可引用相关文献,但应说明对原始实验室技术有无改变。还应说明本实验室使用的任何校准程序或外部标准(或比较来自不同实验室的数据)。应明确给出“离群值”的定义(例如,是否根据病理生理、技术或统计的理由)。

统计学方法(ME-12) 通常情况下,适用于生物标志物的统计方法与流行病学和临床研究应用的统计方法相同。但在生物标志物研究中使用连续变量时,把标志物作为协变量进行线性检验可能有效,如作为结局以检查其他统计模型就不一定恰当。应与其他纳入统计模型的变量一样,详细描述生物标志物测量值的统计学处理。还应明确说明变量是以连续还是分类变量引入(如果是分类变量,什么标准被用于确定截断点);极端值是否被排除,以何种原则排除;原始变量是否经过对数转化或其他任何方式的处理;是否对粗测量或校正/调整值(如结合激素比值、肌酐调整值)进行了分析;如何处理无法检测生物标志物水平的样品(例如视为零,还是作为检测限,作为检测水平的一半或估算)。

测量信效度和内部/外部检验(ME-12.1) 每一

个引入的特定生物标志物均应报告测量的有效性和可靠性。测量误差可包括真正的“变异”也有“错误”。“分析性测量误差”来源于实验室技术,包括批次间的变化,而其他来源的“分析前误差”包括被研究的个体或样品的变异。在理想情况下,对每个生物标志物均应报告个体间、个体内和实验室间的变异,以使读者能够理解每个特定的生物标志物潜在误差来源。可根据参考文献做出可靠性估计,当数据无法从文献中获得时,也应予以说明。如果把效度和信度作为研究的内容,应简要说明其方法和过程。如在实验室之间对实验过程或生物标志物测量方法进行标准化,也应明确说明。在描述新的生物标志物时对其测量的验证尤为重要。如缺少测量误差的信息,无法解释生物标志物研究中个体内和个体间的变异。同样,批次间变异也很重要,有可能产生假象。此外,在“方法学部分”还应详细说明所有内部和外部的附加验证,并在论文的“结果”中展示其结果,因为此过程可使研究结果更加可信。

研究对象(ME-13) 分析时由于样品质量、数量、可用性、收集时间或技术失败等无法纳入时,应给予具体原因,这助于追踪最终的样本量和样品排除的原因。

生物标志物测量值的分布(ME-14.1) 适当描述生物标志物测量值的分布有助于结果解释,且利于与其他研究者同类生物标志物测量值进行比较,可促进结果的生物学解释。

局限性(ME-19) 应在“讨论”中详细描述试验结果的各种局限性。其局限性是否可能引入随机或系统误差,如果是系统误差,提示结果可能的偏倚方向,这些均有助于对局限性的讨论。考虑到生物标志物研究结果验证的重要性,“讨论”中还应说明在研究中是否使用了任何验证过程。

解释(ME-20) 生物标志物的活性和先验假设提供了合理的生物学解释,也有利于强调生物标志物的附加价值——解释因果关联下潜在的生物学机制。

伦理学问题(ME-22.1) 凡涉及生物样品来源的检测,必须满足以下要求:征求信息时遵循方案;避免伤害研究对象;保证适当的知情同意,相关数据库的匿名管理;建立保密性和安全性保障;制定恰当的应对各方对个人资料要求的方案;制定完善的数据访问、所有权和知识产权政策;明确个体是否和如何被告知可能有医学帮助的研究结果;安排伦理研究和隐私保护机构的监督。

5. 结语:同其他科学研究一样,公开透明地报告研究结果也是流行病学的基本要求,特别是分子流行病学。广泛而系统地使用现有的STROBE-ME清单,可以从根本上提高分子流行病学的报告质量和解释能力。同时,希望这些准则可以提高其他基于生物标志物研究的报告质量,包括越来越多的在生物信息库和生物监测项目内进行的研究。发表优秀的研究报告可为循证过程提供证据基础,并以这些研究采用适当的方法进行总结,得出无偏的结论,提高公众的知识和健康水平。当然,STROBE-ME仍需发展和完善,STROBE网站(<http://www.strobe-statement.org>)提供了专门的论坛以讨论和改进清单内容,并提供相关材料。

参 考 文 献

- [1] Zhan SY. Epidemiology. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012: 292. (in Chinese)
詹思延. 流行病学. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 292.
- [2] von Elm E, Altman DG, Egger M, et al. The Strengthening of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. Lancet, 2007, 370(9596): 1453-1457.
- [3] Wang B, Zhan SY. How to write high-quality epidemiological research paper Lecture one Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology (STROBE)—Introduction and explanation. Chin J Epidemiol, 2006, 27(6): 547-549. (in Chinese)
王波, 詹思延. 如何撰写高质量的流行病学研究论文 第一讲 观察性流行病学研究报告规范——STROBE介绍. 中华流行病学杂志, 2006, 27(6): 547-549.
- [4] Zhan SY. Lecture three: How to report observational studies in epidemiology—explanation for international reporting guidelines of STROBE. Chin J Evid Based Pediatr, 2010, 5(3): 223-227. (in Chinese)
詹思延. 第三讲 如何报告观察性流行病学研究——国际报告规范STROBE解读. 中国循证儿科杂志, 2010, 5(3): 223-227.
- [5] Gallo V, Egger M, McCormack V, et al. STrengthening the Reporting of OBServational studies in Epidemiology—Molecular Epidemiology (STROBE-ME): an extension of the STROBE Statement. PLoS Med, 2011, 8(10): e1001117.
- [6] Little J, Higgins JP, Ioannidis JP, et al. Strengthening the Reporting of Genetic Association studies (STREGA)—an extension of the STROBE statement. Eur J Clin Invest, 2009, 39(4): 247-266.
- [7] Yan WL. Lecture four: How to report genetic association studies—explanation for international reporting guidelines of STREGA. Chin J Evid Based Pediatr, 2010, 5(4): 304-307. (in Chinese)
严卫丽. 第四讲: 如何报告遗传学关联研究——国际报告规范STREGA解读. 中国循证儿科杂志, 2010, 5(4): 304-307.
- [8] Gallo V, Leonardi G, Genser B, et al. Serum perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) concentrations and liver function biomarkers in a population with elevated PFOA exposure. Environ Health Perspect, 2012, 120(5): 655-660.

(收稿日期: 2013-05-20)

(本文编辑: 张林东)