

· 临床研究 ·

采用脑脊液宏基因组二代测序联合拷贝数变异分析技术辅助诊断脑膜癌病

任海涛¹ 刘珊¹ 房柯池² 范思远¹ 郭黎媛² 柏琳¹ 王晶² 关鸿志¹

¹中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院神经科, 北京 100730; ²中国科学院心理研究所 中国科学院心理健康重点实验室, 北京 100101

刘珊现在石家庄市人民医院神经内科, 石家庄 050030

通信作者: 王晶, Email: wangjing@psych.ac.cn; 关鸿志, Email: pumchghz@126.com

【摘要】 目的 初步探索通过脑脊液宏基因组二代测序(mNGS)联合染色体拷贝数变异(CNV)分析技术对脑膜癌病辅助诊断的意义。**方法** 连续入组北京协和医院神经科 2022 年 3 月至 2022 年 6 月确诊的 10 例脑膜癌病患者。脑膜癌病的诊断依据中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组《脑膜癌病诊断专家共识》的标准, 经脑脊液细胞学确诊。采用脑脊液 mNGS 病原微生物与 CNV 双组学检测。对照组为中枢神经系统炎性疾病患者, 包括自身免疫性脑炎与病毒性脑炎, 共 10 例。**结果** 入组的 10 例脑膜癌病患者中, 肿瘤来源包括乳腺癌 4 例、肺癌 6 例。脑脊液 mNGS 联合 CNV 检测结果 8 例阳性, 检测到非整倍体 CNV, 支持脑膜癌病的诊断; 阳性率为 8/10, 阳性患者的肿瘤来源包括肺癌 4 例、乳腺癌 4 例。脑脊液 CNV 阴性患者 2 例, 均为肺癌。全部患者脑脊液 mNGS 病原微生物分析结果均阴性; 对照组 CNV 分析结果无阳性病例。**结论** 脑脊液 CNV 可作为脑膜癌病的诊断标志物, mNGS 联合 CNV 对诊断脑膜癌病具有较高的阳性率, 病原微生物与 CNV 的双组学联合分析的检测策略有助于拓宽脑脊液 mNGS 在临床辅助诊断的应用范围。

【关键词】 细胞学技术; 脑膜肿瘤; 脑脊液; 拷贝数变异

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-12M-1-003)

Detection of meningeal carcinomatosis by metagenomic next-generation sequencing and copy number variation analysis of cerebrospinal fluid

Ren Haitao¹, Liu Shan¹, Fang Kechi², Fan Siyuan¹, Guo Liyuan², Bai Lin¹, Wang Jing², Guan Hongzhi¹

¹Department of Neurology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China; ²Key Laboratory of Mental Health, Chinese Academy of Sciences, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Liu Shan is now working in the Department of Neurology, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang 050030, China

Corresponding authors: Wang Jing, Email: wangjing@psych.ac.cn; Guan Hongzhi, Email: pumchghz@126.com

【Abstract】 Objective To evaluate the significance of copy number variation (CNV) and metagenomic next-generation sequencing (mNGS) of cerebrospinal fluid (CSF) in the diagnosis of meningeal carcinomatosis (MC). **Methods** Ten patients with MC diagnosed in the Department of Neurology of Peking Union Medical College Hospital from March 2022 to June 2022 were consecutively enrolled in this study. The patients were diagnosed according to the criteria of the

DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20220812-00609

收稿日期 2022-08-12 本文编辑 汪谋岳

引用本文: 任海涛, 刘珊, 房柯池, 等. 采用脑脊液宏基因组二代测序联合拷贝数变异分析技术辅助诊断脑膜癌病[J]. 中华神经科杂志, 2023, 56(5): 526-531. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20220812-00609.



Chinese expert consensus on the diagnosis of MC by the Chinese Society of Infectious Diseases and Cerebrospinal Fluid Cytology, and the diagnosis of MC was confirmed by CSF cytology. The control group included 10 patients who were diagnosed as autoimmune encephalitis or viral encephalitis. CSF mNGS and CNV analysis were performed simultaneously in all the patients. **Results** Of the 10 patients with MC, 6 had lung adenocarcinoma, 4 had breast cancer. CSF mNGS and CNV analysis detected large CNV in 8 of 10 patients with MC, including 4 patients with breast cancer and 4 patients with lung cancer. The results of pathogenic microorganism analysis of CSF mNGS in all the patients were negative. Meanwhile, large CNV was not detected in the control group. **Conclusions** CSF CNV can serve as a diagnostic marker for MC. The combination of mNGS and CNV analysis has demonstrated a high positive rate in the diagnosis of MC. The dual-omics analysis of pathogenic microorganisms and CNV has been proposed as a potential strategy to further expand the clinical utility of CSF mNGS in the realm of auxiliary diagnosis.

【Key words】 Cytological techniques; Meningeal neoplasms; Cerebrospinal fluid; Copy number variations

Fund program: Chinese Academy of Medical Sciences Innovations Fund for Medical Sciences (2021-I2M-1-003)

Conflicts of interest: None declared

脑膜癌病(meningeal carcinomatosis)是由于恶性肿瘤(癌)的软脑膜转移而导致的神经系统并发症,脑脊液细胞学发现癌细胞是诊断脑膜癌病的“金标准”^[1-2]。脑膜癌病的早期诊断仍面临困难,主要是因为单次腰椎穿刺脑脊液细胞学的阳性率有限,以及神经影像学检查的阳性率较低。脑脊液宏基因组学二代测序(metagenome next-generation sequencing, mNGS)技术近年来在中枢神经系统(central nervous system, CNS)感染性疾病的诊断中得到广泛应用,可否基于脑脊液二代测序技术对神经感染性疾病和神经肿瘤(包括脑膜癌病)同时进行诊断呢?我们采用mNGS联合拷贝数变异(copy number variation, CNV)的方法,分析脑脊液中的病原微生物信息和肿瘤细胞染色体CNV,旨在探索基于一次脑脊液mNGS流程,对神经感染性疾病与神经肿瘤两类疾病进行一体化诊断的路线。

资料和方法

一、研究对象

连续入组北京协和医院神经科2022年3月至2022年6月确诊的脑膜癌病患者10例。患者既往有明确乳腺癌和(或)肺癌病史,根据中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组的《脑膜癌病诊断专家共识》^[2],脑脊液自然沉淀法细胞学检测中可见肿瘤细胞而确诊。建立染色体CNV分析的脑膜癌阴性样本基线数据集作为对照:CNS炎性疾病患者,包括自身免疫性脑炎与病毒性脑炎

患者,共10例,其中自身免疫性脑炎4例、病毒性脑炎6例(单纯疱疹病毒脑炎3例,水痘带状疱疹病毒脑炎2例,巨细胞病毒脑炎1例)。

本研究为描述性研究(病例系列研究),通过北京协和医院医学伦理委员会审批(批件号:ZS-3588),并获得所有受试者书面知情同意。

二、脑脊液细胞学方法

采用自然沉淀法细胞学检测方法,通过腰椎穿刺术收集脑脊液标本,标本量2 ml,向侯熙德脑脊液细胞学沉淀器中滴加0.5 ml脑脊液,静置于4℃冰箱中,采用May-Grünwald-Giemsa(MGG)染色,光镜下观察细胞形态。

三、mNGS-CN V分析

脑脊液宏基因组病原微生物检测采用商业化试剂盒进行自动化核酸提取,通过末端修复、接头连接等操作进行文库制备,并基于Illumina Nextseq平台(Illumina Nextseq CN550, Illumina公司,美国)进行DNA测序(由未一医学检验实验室检测)。首先将测序所得数据通过数据质控处理,然后使用BWA软件(版本:0.7.17-r1188, Wellcome Trust Sanger Institute, 英国)与人参考基因组(hg19)进行序列比对,获得样本中的人源序列和非人源序列。针对样本中的非人源序列,采用自建的宏基因组数据分析软件MiTopia-PAI(未一医学检验实验室,中国)进行病原微生物的物种鉴定,识别高置信度临床致病微生物;针对比对上的人源序列进行染色体CNV分析,首先根据筛选的脑膜癌阴性样本数据集建立CNV分析的基线,基线样本采用自身免疫性脑炎患者的脑脊液标本,通过设定适合的窗口大小



以及过滤阈值,使用 CNVkit 工具(版本:0.9.9)进行 CNV 分析以及结果的可视化,将检出片段长度大于 10 Mb 的 CNV 区段作为判定样本 CNV 阳性的标准。

结 果

一、临床资料

共入组脑膜癌病患者 10 例,其中男性 2 例、女性 8 例,年龄 36~72 岁。均经脑脊液细胞学检查可见肿瘤细胞。10 例患者的临床表现包括头痛(8/10)、头晕/恶心/呕吐(7/10)、视力下降(2/10)、意识障碍(1/10)、认知障碍(1/10)等(表 1)。辅助检查:脑脊液压力升高 7 例,蛋白升高 6 例,葡萄糖减低(<2.5 mmol/L) 7 例,脑脊液细胞学均可见肿瘤细胞(图 1)。头颅磁共振检查 8 例异常,其中 6 例可见脑膜强化(图 2)。

二、脑脊液 mNGS-CNV

对 10 例脑膜癌病患者全部进行脑脊液 mNGS 病原微生物分析与 CNV 检测。结果 8 例患者 CNV 阳性(包括肺癌患者 4 例、乳腺癌 4 例),2 例患者 CNV 阴性,脑脊液 CNV 阳性率为 8/10。脑脊液 CNV 阴性患者 2 例,均为肺癌患者。8 例 CNV 阳性患者的 CNV 区段数为 2~49 条,中位数 24 条。同时全部患者脑脊液 mNGS 病原微生物分析结果均阴性。对照组 CNV 分析结果均为阴性(图 3)。

讨 论

脑膜癌病是指各种恶性上皮源性肿瘤转移至软脑脊膜与蛛网膜下腔而引起的疾病;1%~5%的

实体癌患者可发生软脑膜转移,其中肺癌是引起脑膜癌病最主要的恶性肿瘤。脑膜癌病主要表现为亚急性起病的头痛与脑膜刺激症状,常伴有进行性颅内压升高的表现,其神经系统症状及体征常缺少特异性,临床上与感染性脑膜炎(例如结核性脑膜炎等)的鉴别诊断比较困难,脑脊液细胞学是确诊脑膜癌病的主要方法^[2-3]。

脑脊液细胞学发现肿瘤细胞目前被作为诊断脑膜癌病的“金标准”。脑脊液细胞学是对脑脊液中的细胞进行形态学分类和性质判断的检查方法,国内主要采用自然沉淀法与细胞玻片离心法收集细胞,经 MGG 染色后在显微镜下观察。脑脊液细胞学所见肿瘤细胞的形态学特征包括:细胞的形态,胞质,细胞核;胞质是否存在色素颗粒或空泡,细胞与细胞排列是否规则、呈簇出现;不同来源的肿瘤细胞形态不同。脑脊液细胞学检测对于脑膜转移诊断的敏感度及特异度高于神经影像学及神经系统症状的提示^[4]。虽然脑脊液细胞学发现癌细胞是诊断脑膜癌病的“金标准”,但目前脑膜癌病的及时确诊仍面临困难,例如某些中心或者神经科尚未开展标准方法的脑脊液细胞学检测、脑脊液细胞学诊断需要依赖检测者的经验性诊断能力、腰椎穿刺脑脊液细胞学的阳性率有限。因此探索更敏感的诊断技术是脑膜癌病的重要研究方向。

脑脊液 mNGS 是 CNS 感染性疾病重要的病原体鉴定方法^[5]。2015 年以来脑脊液 mNGS 在国内逐渐应用于神经系统感染性疾病的病因诊断^[6]。新近有研究者提出,脑脊液 mNGS 联合染色体 CNV 分析有助于鉴定 CNS 恶性肿瘤。染色体不稳定性是恶性肿瘤的特征之一,CNV 是染色体不稳定性

表 1 10 例脑膜癌病患者临床表现及辅助检查结果

Table 1 Clinical manifestations and auxiliary examinations of 10 patients with meningeal carcinomatosis

例序	性别/年龄(岁)	肿瘤	头痛	视力下降	认知障碍	意识障碍	脑脊液压力 (mmH ₂ O)	脑脊液葡萄糖 (mmol/L)	脑脊液蛋白 (g/L)	脑脊液细胞学检查	头颅磁共振成像
1	男/63	肺癌		+			320	0.7	0.35	肿瘤细胞	软脑膜局部强化
2	女/49	乳腺癌	+		+		330	0.6	2.37	肿瘤细胞	软脑膜强化
3	女/69	肺癌	+			+	205	9.7	1.04	肿瘤细胞	软脑膜广泛强化
4	女/41	乳腺癌	+				330	3.6	0.17	肿瘤细胞	未见明显异常
5	女/72	肺癌	+		+		无资料	1.8	3.70	肿瘤细胞	未见明显异常
6	女/36	乳腺癌	+		+		250	1.4	0.46	肿瘤细胞	左额叶点状异常信号
7	女/59	肺癌	+	+			175	2.3	0.46	肿瘤细胞	右顶叶斑片状强化
8	女/44	乳腺癌	+				330	1.8	0.32	肿瘤细胞	右侧额叶线状强化
9	女/50	肺癌	+				320	1.1	1.30	肿瘤细胞	软脑膜局部强化
10	男/66	肺癌					120	2.7	7.30	肿瘤细胞	软脑膜强化

注: + 表示有这些临床表现; 1 mmH₂O=0.009 8 kPa



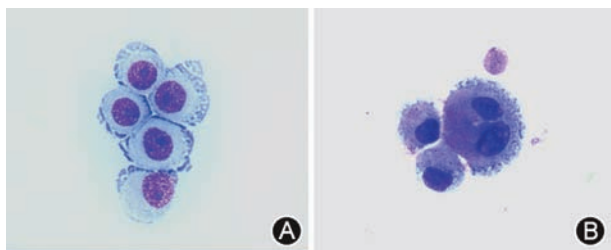


图1 脑膜癌病患者的脑脊液细胞学检查结果。A:例6,乳腺癌合并脑膜癌病,脑脊液细胞学检查可见肿瘤细胞(自然沉淀法,May-Grünwald-Giemsa染色×200)。B:例9,肺癌合并脑膜癌病,脑脊液细胞学检查可见肿瘤细胞(自然沉淀法,May-Grünwald-Giemsa染色×400)

Figure 1 Cerebrospinal fluid cytological results in patients with meningeal carcinomatosis. A: Cerebrospinal fluid cytological examination of patient 6 who had breast cancer and meningeal carcinomatosis showed tumor cells (spontaneous cell sedimentation technique, May-Grünwald-Giemsa staining ×200). B: Cerebrospinal fluid cytological examination of patient 9 who had lung cancer and meningeal carcinomatosis showed tumor cells (spontaneous cell sedimentation technique, May-Grünwald-Giemsa staining ×400)

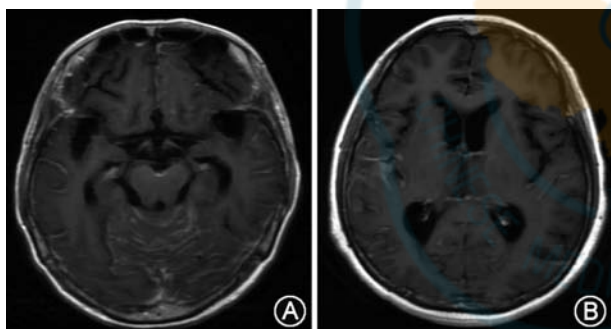


图2 肺癌合并脑膜癌病患者头颅增强磁共振成像(MRI)。A:例3,头颅增强MRI新见双侧额顶颞枕叶及小脑柔脑膜明显强化(轴位)。B:例9,头颅增强MRI显示脑沟内线状强化(轴位)

Figure 2 Enhanced magnetic resonance imaging (MRI) of patients with lung cancer and meningeal carcinomatosis. A: Enhanced MRI of patient 3 showed significant enhanced lesions in bilateral frontal lobe, parietal lobe, temporal lobe, occipital lobe and cerebellar flexure meninges (axial view). B: Enhanced MRI of patient 9 showed linear enhanced lesions in sulcus (axial view)

表现,不仅包括整条染色体拷贝数的变化,还包括了染色体片段的扩增或缺失^[7]。肿瘤细胞通常不是二倍体,其染色体数目呈单个或几个的增添或减少,称为非整倍体^[8]。2021年Gu等^[9]研究发现:用于诊断神经系统感染性疾病的脑脊液mNGS联合CNV分析,可在脑脊液流式细胞术或细胞学检查结果为阴性的情况下,提示CNS恶性肿瘤;对脑脊液细胞学与流式细胞分析结果阴性的脑肿瘤患者,脑脊液mNGS-CNV技术检测到恶性肿瘤的敏感度为75%,特异度为100%。mNGS-CNV对样本量要求

较低,具有辅助诊断神经系统肿瘤的潜力。2022年初我们开始研究应用脑脊液mNGS-CNV诊断脑膜恶性肿瘤,报告了1例肺癌继发脑膜癌病病例,脑脊液mNGS-CNV结果阳性^[10],之后进行了本项初步研究,分析脑膜癌病病例组检测结果。

本研究采用mNGS-CNV分析技术在8例脑膜癌病患者中检出大于10 Mb的CNV区段,同时脑脊液mNGS病原微生物分析未检出可疑阳性微生物,可排除感染性脑膜炎。在阴性对照中未检出CNV。通过与脑脊液细胞学进行比对验证,可见脑脊液mNGS-CNV对于脑脊液肿瘤非整倍体的检出存在一定的敏感度和特异度。mNGS-CNV分析技术对于脑脊液样本量要求少,不需要保存细胞的完整性,同时兼顾脑脊液病原体的分析,可以对患者一次腰椎穿刺脑脊液收集更多生物信息、提供更多诊断参考依据。本研究结果初步说明:这一脑脊液技术在脑膜癌病的辅助诊断中具有可行性。

本研究有以下局限性:作为初步研究,本研究的样本量较小,需要更大样本量的研究以确定mNGS-CNV对诊断脑膜癌病的敏感度和特异度。另外,本研究仅入组了由实体瘤脑膜转移引起的脑膜癌病,对于其他脑膜恶性肿瘤,包括脑膜淋巴瘤、胶质瘤的脑膜播散等疾病,mNGS-CNV的诊断价值仍有待研究确认。此外,对于脑脊液细胞学肿瘤细胞阳性,而mNGS-CNV结果阴性的原因,仍有待通过更大样本量的研究进行分析和明确。

总之,脑脊液mNGS-CNV分析可以为脑膜癌病提供分子诊断证据,有助于在感染病原体鉴定的临床适应证之外,进一步扩展脑脊液宏基因组技术的临床应用范围。病原微生物分析联合CNV分析的双组学研究策略,可能会成为实现对神经系统感染与神经系统肿瘤一体化诊断的技术路径之一。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 任海涛、房柯池、范思远:样本检测、数据分析、论文撰写;刘珊、郭黎媛:数据分析、论文撰写;柏琳:临床评估;王晶、关鸿志:立题、研究设计、数据分析、论文修改

参 考 文 献

- [1] 关鸿志,陈琳,管宇宙,等.脑膜癌病的脑脊液细胞学与临床观察[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2005,12(2):111-113,126. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2963.2005.02.017. Guan HZ, Chen L, Guan YZ, et al. Cerebrospinal fluid cytology and clinical observation of leptomeningeal carcinomatosis[J]. Chin J Neuroimmunol Neurol, 2005, 12(2):111-113,126. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2963.2005.02.017.



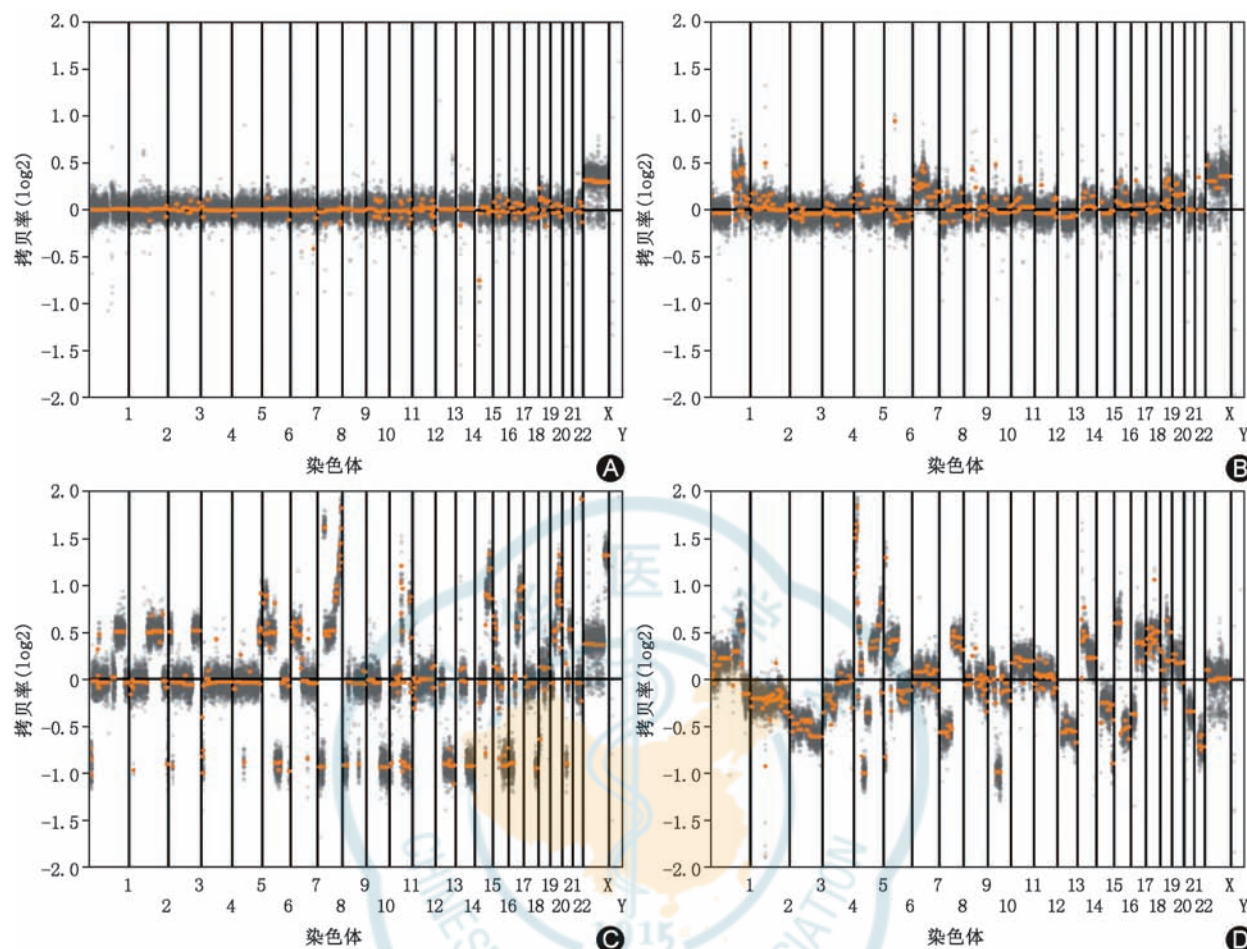


图3 脑膜癌病患者脑脊液拷贝数变异(CNV)检测结果。A:病例对照(水痘带状疱疹病毒脑炎患者)未检出大于10 Mb的CNV片段; B:例5(肺癌合并脑膜癌病患者)检出2个CNV区段:染色体1有1个区段、染色体7有1个区段;C:例6(乳腺癌合并脑膜癌病患者)检出29个CNV区段;D:例3(肺癌合并脑膜癌病患者)检出48个CNV区段

Figure 3 Cerebrospinal fluid copy number variation (CNV) in patients with meningeal carcinomatosis. A: No CNV fragment larger than 10 Mb was detected in the case control who had varicella zoster virus encephalitis. B: Two CNV segments were detected in case 5 who had lung cancer complicated with meningeal carcinomatosis, including one segment on chromosome 1 and one segment on chromosome 7. C: Twenty-nine CNV segments were detected in case 6 who had breast cancer complicated with meningeal carcinomatosis. D: Forty-eight CNV segments were detected in case 3 who had lung cancer complicated with meningeal carcinomatosis

- [2] 中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 脑膜癌病诊断专家共识[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(11): 755-758. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20200922-02693. Chinese Society of Infectious Diseases and Cerebrospinal Fluid Cytology. Expert consensus on the diagnosis of meningeal carcinomatosis[J]. Natl Med J China, 2021, 101(11): 755-758. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20200922-02693.
- [3] 中国医师协会肿瘤医师分会, 中国医疗保健国际交流促进会肿瘤内科分会. 肺癌脑转移中国治疗指南(2021年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(3): 269-281. DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20210104-00009. Chinese Association for Clinical Oncologists, Medical Oncology Branch of Chinese International Exchange and Promotion Association for Medical care. Clinical practice guideline for brain metastases of lung cancer in China (2021 version) [J]. Chin J Oncol, 2021, 43(3): 269-281. DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20210104-00009.
- [4] 中华医学会神经病学分会感染性疾病脑脊液细胞学学组. 脑脊液细胞学临床规范应用专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2020, 53(11): 875-881. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20200726-00580. Chinese Society of Infectious Diseases and Cerebrospinal Fluid Cytology. Consensus on standardizing clinical application of cerebrospinal fluid cytology[J]. Chin J Neurol, 2020, 53(11): 875-881. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20200726-00580.
- [5] 中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液宏基因组学第二代测序应用专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54(12): 1234-1240. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20210730-00532. Chinese Society of Infectious Diseases and Cerebrospinal Fluid Cytology. Expert consensus on clinical application of metagenomic next-generation sequencing of cerebrospinal fluid in the diagnosis of infectious diseases of the central nervous system[J]. Chin J Neurol, 2021, 54(12): 1234-1240. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20210730-



- 00532.
- [6] Guan H, Shen A, Lv X, et al. Detection of virus in CSF from the cases with meningoencephalitis by next-generation sequencing[J]. J Neurovirol, 2016, 22(2): 240-245. DOI: 10.1007/s13365-015-0390-7.
- [7] Ben-David U, Amon A. Context is everything: aneuploidy in cancer[J]. Nat Rev Genet, 2020, 21(1): 44-62. DOI: 10.1038/s41576-019-0171-x.
- [8] Guo Y, Li H, Chen H, et al. Metagenomic next-generation sequencing to identify pathogens and cancer in lung biopsy tissue[J]. EBioMedicine, 2021, 73: 103639. DOI: 10.1016/j.ebiom.2021.103639.
- [9] Gu W, Rauschecker AM, Hsu E, et al. Detection of neoplasms by metagenomic next-generation sequencing of cerebrospinal fluid[J]. JAMA Neurol, 2021, 78(11): 1355-1366. DOI: 10.1001/jamaneurol.2021.3088.
- [10] 任海涛, 房柯池, 范思远, 等. 应用脑脊液宏基因组二代测序拷贝数变异分析技术诊断脑膜癌病 1 例[DB/OL]. 中国临床案例成果数据库, 2022(2022-04-01) [2022-06-25]. <https://rs.yiigle.com/CN119999202201/1359967.htm>. DOI: 10.3760/cma.j.cmc.2022.e01291.
- Ren HT, Fang KC, Fan SY, et al. Diagnosis of a case of meningeal carcinomatosis by copy number variation analysis based on cerebrospinal fluid metagenome next-generation sequencing[DB/OL]. CMCR, 2022(2022-04-01) [2022-06-25]. <https://rs.yiigle.com/CN119999202201/1359967.htm>. DOI: 10.3760/cma.j.cmc.2022.e01291.

· 启事 ·

本刊对文稿中参考文献书写格式的要求

本刊参考文献执行 GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用,确需引用时,可在正文相应处注明。日文汉字请按日文规定书写,勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人全部著录;超过 3 人只著录前 3 人,后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前、名字在后,外国人的名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点;不同作者姓名之间用“,”隔开,不用“和”“and”等连词。题名后请标注文献类型标志。文献类型和电子文献载体标志代码参照 GB/T 7714—2015 附录 B《文献类型与文献载体标识代码》。中文期刊用全称;外文期刊名称用缩写,以美国国立医学图书馆编辑出版的医学索引(Index Medicus)中的格式为准;Index Medicus 未收录者,依次选用文献自身对刊名的缩写、期刊全称。文献 DOI 号著录在该条文献最后。

具体举例如下:

[1] 杨璐萌, 程忻, 凌倚峰, 等. 华山医院急性脑梗死患者阿替普酶静脉溶栓治疗依从性分析[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(10): 845-849. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2015.10.005.

Yang LM, Cheng X, Ling YF, et al. Intravenous thrombolysis treatment compliance with alteplase in patients with acute ischemic stroke in Huashan Hospital[J]. Chin J Neurol, 2015, 48(10): 845-849. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2015.10.005.

专著中析出文献时需列出文献主要责任者,在文献题名和专著主要责任者之间加用“//”,并列出版本项(第 1 版不著录)。

电子文献在题名后必须标注文献类型标志、引用日期以及获取和访问路径。

以电子版优先发表的文献,著录格式为:主要责任者.题名[文献类型标识].刊名,年,卷(更新或修改日期)[引用日期].获取和访问路径.数字对象唯一标志符.[网络预发表(published online ahead of print)].

具体举例如下:

[2] Li Y, Chen SH, Guniganti R, et al. Onyx embolization for dural arteriovenous fistulas: a multi-institutional study[J]. J Neurointerv Surg, 2021(2021-02-25)[2021-05-10]. <https://jn.is.bmj.com/content/early/2021/02/25/neurintsurg-2020-017109.long>. DOI: 10.1136/neurintsurg-2020-017109. [published online ahead of print].

中华神经科杂志编辑部

