

药物代谢酶和药物作用靶点
基因检测技术指南(试行)

前言

药物体内代谢、转运及药物作用靶点基因的遗传变异及其表达水平的变化可通过影响药物的体内浓度和敏感性，导致药物反应性个体差异。近年来随着人类基因组学的发展，药物基因组学领域得到了迅猛发展，越来越多的药物基因组生物标记物及其检测方法相继涌现。药物基因组学已成为指导临床个体化用药、评估严重药物不良反应发生风险、指导新药研发和评价新药的重要工具，部分上市的新药仅限于特定基因型的适应症患者。美国 FDA 已批准在 140 余种药物的药品标签中增加药物基因组信息，涉及的药物基因组生物标记物 42 个。此外，部分行业指南也将部分非 FDA 批准的生物标记物及其特性（如 *MGMT* 基因甲基化）的检测列入疾病的治疗指南。药物反应相关基因及其表达产物的分子检测是实施个体化药物治疗的前提。

药理学与遗传学结合的关键环节包括药物代谢动力学（*pharmacokinetics*, PK）和药物效应动力学（*pharmacodynamics*, PD）两方面。药物代谢动力学主要是定量研究药物在生物体内吸收、分布、代谢和排泄规律，侧重于阐明药物的体内过程；药物效应动力学主要研究药物对机体的作用、作用规律及作用机制，其内容包括药物与作用靶位之间相互作用所引起的生化、生理学和形态学变化，侧重于解释药物如何与作用靶点发生作用。对药物代谢酶和药物靶点基因进行检测可指导临床针对特定的患者选择合适的药物和给药剂量，实现个体化用药，从而提高药物治疗的有效性和安全性，防止严重药物不良反应的发生。目前美国 FDA 和我国食品药品监督管理局（CFDA）都已批准了一系列的个体化用药基因诊断试剂盒。这些试剂盒基本都是对人 DNA 样本进行基因检测。而在基因表达的检测方面，由于 RNA 的稳定性差，样本处置不当可导致目标 RNA 降解，使得检测结果不准确，影响临床判断。因此，RNA 检测试剂的研发相对滞后。

本指南旨在为个体化用药基因检测提供一致性的方法。本指南中所指的药物基因组生物标志物不包括影响抗感染药物反应性的微生物基因组变异。此外，肿瘤靶向治疗药物个体化医学检测指南见《肿瘤个体化治疗的检测技术指南》。

本指南起草单位：中南大学湘雅医院临床药理研究所、中南大学临床药理研究所、中南大学湘雅医学检验所，并经国家卫生计生委个体化医学检测技术专家委员会、中国药理学会药物基因组学专业委员会、中国药理学会临床药理学专业委员会和中华医学会检验分会组织修订。

本指南起草人：周宏灏、陈小平、张伟、刘昭前、尹继业、李智、李曦、唐洁、俞

竞、彭静波、曹杉、成瑜。

目 录

1.本指南适用范围.....	1
2.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测概述.....	1
3.标准术语.....	1
4.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测分析前质量保证.....	6
4.1 采样前准备.....	6
4.2 标本采集.....	7
4.3 标本的运输与保存.....	9
4.4 标本的接收与保存.....	9
5.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测分析中质量保证.....	10
5.1 实验室设计要求.....	10
5.2 检测方法.....	11
5.3 仪器设备的使用、维护与保养.....	17
5.4 人员培训.....	17
5.5 检测体系的性能验证.....	18
6.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测分析后质量保证.....	19
6.1.检测报告、解释及报告发放.....	19
6.2 检测后样本的保存和处理.....	23
7.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的质量保证.....	23
7.1 检测确认和特征描述.....	24
7.2 可操作性的 SOP 编写.....	24
7.3 质控品与室内质控.....	24
7.4 室内质控的评价.....	26
7.5 室间质量评价.....	26
8.制度.....	27
附录 A. 基因及突变名称、核酸信息.....	28
附录 B. 缩略语.....	30
附录 C. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测项目列举.....	33
附录 D. 药物代谢酶和药物作用靶点基因相关的药物.....	50
参考文献.....	52

1. 本指南适用范围

本指南由国家卫生计生委个体化医学检测技术专家委员会制定，旨在为临床检验实验室进行药物代谢酶和药物靶点基因的检测提供指导。本指南的主要适用对象为开展个体化医学分子检测的医疗机构临床实验室。

2. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测概述

药物代谢酶和药物作用靶点基因特性的变化可通过影响药物的体内浓度和靶组织对药物的敏感性，导致药物反应性（包括药物的疗效和不良反应发生）个体差异。药物基因组生物标志物的检测是临床实施个体化药物治疗的前提。从药物代谢酶和药物作用靶点基因出发，对个体化用药基因检测的适应人群、标本采集、运输、接收、处理、样本检测、结果报告与解释、室内室间质控需遵循的基本原则，以及可能出现的问题与应对措施等方面的内容进行介绍，可为基于药物代谢酶和药物作用靶点的基因检测提供标准化指导。

3. 标准术语

3.1 Ct 值（threshold cycle）

荧光定量 PCR 反应的荧光强度超过设定的阈值所需的循环数。Ct 值位于 PCR 反应的指数期初期，与标本中待测核酸分子的原始拷贝数呈反比，即样本中原始拷贝数越多，荧光强度升高的就越快，相应的 Ct 值就越小。

3.2 RNA（ribonucleic acid）

核糖核酸，与 DNA 类似的单链核酸，由核糖核苷酸按照一定的顺序排列而成，含尿嘧啶而不含胸腺嘧啶，存在于细胞质和细胞核中，在细胞蛋白质的合成及其他化学活动中起重要的作用。RNA 分子包含信使 RNA（mRNA）、转运 RNA（tRNA）、核糖体 RNA（rRNA）和其他小 RNA 等多种类型，分别行使不同的功能。各种 RNA 的混合物称为总 RNA。

3.3 rs 和 ss 体系 SNP

由美国国立生物技术信息中心（national center for biotechnology information, NCBI）建立、dbSNP 数据库制定的 SNP 命名体系，rs 体系的 SNP 代表已获得官方认可和推荐的参考 SNP（reference SNP），ss 体系的 SNP 代表用户新递交但尚未得到认可的 SNP（submitted SNP）。

3.4 TE 缓冲液

TE 缓冲液由 Tris 和 EDTA 配置而成，主要用于溶解 DNA，能稳定储存 DNA。

3.5 错配修复 (mismatch repair, MMR)

在含有错配碱基的 DNA 分子中,使正常核苷酸序列恢复的核苷酸修复方式,这种类型的修复可纠正 DNA 双螺旋上错配的碱基对,还可修复因复制打滑而产生的核苷酸插入或缺失。MMR 的过程需要区分母链和子链,做到只切除子链上错误的核苷酸,而不会切除母链上的正常核苷酸。修复的过程是:识别出正确的链,切除掉不正确的部分,然后通过 DNA 聚合酶 III 和 DNA 连接酶的作用,合成正确配对的双链 DNA。

3.6 单核苷酸多态性 (SNP)

是指由单个核苷酸—A、T、C 或 G 的改变而引起的 DNA 序列的改变,造成包括人类在内的物种之间染色体基因组的多样性。

3.7 等位基因

一般是指位于一对同源染色体相同位置上控制某一性状的不同形态的一对基因。若成对的等位基因中两个成员完全相同,则该个体对此性状来说是纯合子。若两个等位基因各不相同,则该个体对该性状来说是杂合子。

3.8 5-氟尿嘧啶

一种嘧啶类似物,作为胸苷酸合成酶抑制剂,阻断 DNA 复制的必需原料胸腺嘧啶的合成。主要用于肿瘤的治疗。

3.9 光密度

表示紫外光照射下被检测物吸收的光密度,260nm 波长下的吸光值 (DNA 吸收峰值) 可用来表示 DNA 的相对浓度,具体换算公式为: DNA 浓度 (ng/μl) = OD₂₆₀ X 50 X 稀释倍数。

3.10 基因芯片

将大量 (通常每平方厘米点阵密度高于 400) 的核酸探针分子固定于支持物上并与标记的样品分子进行杂交,通过检测每个探针分子的杂交信号强度进而获取样品分子的数量和序列信息。

3.11 基因

是遗传物质的最小功能单位,是指具有一定生物学意义的一段 DNA。

3.12 基因型

又称遗传型,是某一生物个体全部基因组合的总称,它反映生物体的遗传构成,即从双亲获得的全部基因的总和。据估计,人类的结构基因有 3 万个。因此,整个生物的

基因型是无法表示的，遗传学中具体使用的基因型，往往是指某一性状的基因型。

3.13 基因组生物标志物

是一种可用于指示正常生物学过程、病理过程和/或对治疗及其他干预措施反应性的可测量的 DNA 或 RNA 特性。其中 DNA 的特性可包括但不仅限于单核苷酸多态性、短序列重复次数多态性、单倍型、DNA 修饰如甲基化、核苷酸的插入/缺失、拷贝数变异及细胞遗传学重排如转位、重复、缺失或反转。RNA 特性包括但不仅限于 RNA 序列、RNA 表达水平、RNA 处理过程（如剪接和编辑）、微小 RNA。

3.14 检出限（limit of detection, LOD）

标本中一种分析物可被检出的最低的含量，这一分析物含量可能不是量化的具体数值。

3.15 健康保险隐私及责任法案（health insurance portability and accountability act, HIPAA）

美国政府 1996 年颁布的、医疗服务行业必须遵守的法案。该法案制定了一系列安全标准，就保健计划、供应商及结算中心如何以电子文件的形式传送、访问和存储受保护的健康信息做出了详细的规定。

3.16 聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）

简称 PCR 技术，是一种体外扩增特异 DNA 片段的技术，应用该技术可以在短时间内将一个或几个 DNA 拷贝扩增到百万数量级。

3.17 临床检验实验室

是指对取自人体的各种标本进行生物学、微生物学、免疫学、化学、血液免疫学、血液学、生物物理学、细胞学等检验，并为临床提供医学检验服务的实验室。

3.18 灵敏度（sensitivity）

测量系统的示值变化除以相应的被测量值变化所得的商。

3.19 室内质量控制

实验室内进行的用于满足质量要求的操作技术和活动。

3.20 室间质量评价

室间质量评价是多家实验室分析同一标本，并由外部独立机构收集和反馈实验室上报结果、评价实验室操作的过程，也称能力验证。

3.21 脱氧核糖核酸（DNA）

核酸的一种，是由特殊序列的脱氧核糖核苷酸单元（dNTP）构成的多聚核苷酸，起携带遗传信息的功能。DNA 为一种双链分子，通过核苷酸碱基对间的氢键维系。DNA 包含的 4 种核苷酸包括：腺嘌呤（A）、鸟嘌呤（G）、胸腺嘧啶（T）和胞嘧啶（C）。人类存在两种类型的 DNA：来自染色体的基因组 DNA（gDNA）和线粒体 DNA。

3.22 能力验证（proficiency testing, PT）

多个标本周期性地发送到实验室进行分析和（或）鉴定，将每一实验室的结果与同组的其他实验室的结果或指定值进行比较，并将比较结果报告给参与的实验室，同室间质量评价。

3.23 生物标记物（biomarker）

患者标本中所含有的一种特殊的分析物质（如 DNA、RNA、蛋白质等），可用于疾病诊断、判断疾病分期或评价新药或新疗法在目标人群中的安全性和有效性。

3.24 微卫星

指基因上含有重复的 DNA 短小序列或单核苷酸的区域，每个单元长度在 1-6 bp 之间。根据重复单元的构成与分布，微卫星 DNA 序列可分为 3 种类型：单一型、复合型和间断型。

3.25 微卫星不稳定性（microsatellite instability, MSI）

是指肿瘤基因组特定的微卫星位点与其对应的非肿瘤基因组相比，因重复单位的缺失或插入而造成的结构性等位基因的大小发生改变，出现新的微卫星等位基因现象。

3.26 线性

在已知的范围内，某检测提供的结果能够直接与标本的浓度（或量值）成比例关系的能力。

3.27 相对定量

通过标准曲线法和 CT 值比较法测定目的基因的相对表达量，以比较两个或多个样本中目的基因的表达差异。该方法通常用来检测基因表达量是上调还是下降。

3.28 遗传药理学

研究机体的基因多态性对药物反应个体差异的影响，是药物基因组学的重要内容。

3.29 药物不良反应（adverse drug reaction, ADR）

是指上市的合格药品在常规用法、用量情况下出现的，与用药目的无关，并给患者带来痛苦或危害的反应。

3.30 药物的反应性

包括药物吸收和分布（即药代动力学）、药物效应（如药物效应动力学）、药物的疗效及药物不良反应。

3.31 药物基因组学

研究人类基因组信息与药物反应之间的关系，同时也可以发现药物新靶点和提高临床试验的成功率。

3.32 荧光定量 PCR

通过应用荧光染料或荧光标记的特异性探针，对聚合酶链反应产物进行标记跟踪，实时监控反应过程，结合相应的软件可以对荧光信号进行分析，实现基因检测的定性和（或）定量分析。

3.33 荧光原位杂交（FISH）

一种细胞遗传学技术，可以用来对核酸进行检测和定位。荧光标记的核酸探针只与具有高度相似性的核酸杂交，可用于染色体上基因的定位和定量。

3.34 杂交

两个以上的分子具有相近的化学结构和性质而在适宜的条件下形成杂交体，杂交体中的分子不是来自一个二聚体分子。利用两条不同来源的多核苷酸链之间的互补性而使它们形成杂交体双链被称为核酸杂交。

3.35 知情同意（informed consent）

患者有权利知晓自己的病情，并可以对医务人员所采取的治疗措施和临床检测项目有决定取舍的权利。

3.36 控制品

仅用于质量控制目的而不是用于校准分析的标本或溶液。

3.37 准确度（accuracy）

是测量结果中系统误差与随机误差的综合，表示测量结果与真值的一致程度。

3.38 正确度（trueness）

无穷多次重复测量所得量值的平均值与一个参考量值间的一致程度。

3.39 精密度（precision）

是指在一定条件下进行多次测定时，所得测定结果之间的符合程度，表示测量结果中的随机误差大小的程度。

3.40 特异性 (specificity)

在出现干扰现象（影响量）时，试验或检测程序能够正确地识别或定量确定某一实体物质的能力。

4. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测分析前质量保证

根据临床检验实验室的条件确定合适的分子诊断项目和恰当的样本处理是确保核酸定性定量检测准确性的关键。标本在检测前必须确保标本的采集、运输和储存符合要求。标本处置不当可能引起核酸降解，导致定量检测结果不准确。

4.1 采样前准备

1) 分子诊断项目的申请与完善

药物代谢酶和药物作用靶点基因检测采样前需填写规范的应用单，应用单应包含足够的信息，以识别患者和有资格开具应用单的临床医生。临床医生应根据临床需求合理选择分子诊断项目。个体化用药领域发展迅速，临检实验室应加强与临床医师的沟通，及时指导临床医师选择有价值的诊断项目，帮助医师合理解释检验结果；不断接受正确合理的临床医师的反馈意见，及时了解临床对个体化用药分子检测的需求，优化项目目录。实验室应根据其具体的工作流程，确定质量监测指标，如患者诊断信息完整率、适当临床判断率等，并定期对数据进行回顾性分析，定期对检验申请进行评审。

2) 患者的正确识别及知情同意

患者的正确识别是确保获得正确的临床标本的前提。收集标本的容器上应注明患者的信息，通常应包括姓名、送检医院及科室、住院号等。医护人员在采样前需首先核对确定患者的身份，核实能标示患者的信息。

标本收集前应向患者介绍个体化用药基因检测的意义，以得到患者的认同，即知情同意。采样前需告知患者所检测项目的目的、意义、基本过程、项目可能存在的不足如检测结果可能出现与临床用药实际不相符的情况、剩余核酸的去向（包括可能匿名用于科研项目）及保存时间，保护受检者的个人隐私（包括医疗记录和医疗数据）。对实施有创检查的分子诊断项目如穿刺取活检组织，应清楚地告知患者及家属检查可能遇到的风险和紧急情况下的紧急预案。知情同意书是医方履行如实告知义务的证据，也是患者行使选择权的书面依据。

3) 送检单的填写与项目的复核

标本采集前需填写送检应用单，提供受检者必需的信息。应用单需填写的信息包括：

申请的检测项目、标本编号、受检者姓名、性别、出生日期、民族、采样日期及时间、标本来源（组织类型）、相关临床资料（如身高、体重、疾病诊断、疾病分型分期、合并疾病、用药情况）、采样单位及科室名称、送检医师姓名等信息。临检实验室应有专业人员根据信息采集表对检测项目的合理性进行审核，必要时可与送检医师讨论。

4.2 标本采集

临床分子诊断实验室应对各种个体化用药分子诊断临床标本的采集按检测要求建立SOP。标本采集人员应经过系统的培训。采样前应对标本采集容器进行评价，确保容器本身不会干扰测定过程，并保存评估记录。用于药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的标本在采集时间上无特殊要求。静脉血液采集之前应按要求对预采血的部位彻底消毒。肿瘤组织中DNA的分析利用常规诊断所用的标本即可，但用于RNA分析的标本需专门采集，并准备好液氮等速冻所需的材料及设备。标本采集需要在密闭、一次性采样系统中完成，所用的材料如注射器、棉签、拭子等应为一次性使用，以防止污染。无论采集哪种类型的标本，采样时都必须戴手套，以避免标本中病原微生物感染和皮肤脱落细胞对标本的污染。

用于药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的标本类型有多种，包括全血标本、组织标本（新鲜组织、冰冻组织、石蜡包埋组织、穿刺标本）、口腔拭子、骨髓、胸腹水等。样本采样原则见《个体化医学检测质量保证指南》。

1) 全血和骨髓标本

全血标本采集到含有适当抗凝剂或添加物的采样管中，添加物根据被测量（DNA、细胞内RNA）、检测项目和采样体积而定。因肝素可抑制PCR，全血或骨髓标本一般用EDTA或枸橼酸盐抗凝。采样前需在采样管或注射器上标注标本信息。全血标本采集外周静脉血2~3 mL并置于采血管中，将采血管轻轻颠倒混匀数次以确保充分抗凝，避免溶血。如检测目的是细胞内RNA，建议用含RNA稳定剂的采样管，或采样后尽快将全血或骨髓加入到RNA稳定溶液中。采集干血斑标本时，可向无菌滤纸上滴加约50 μ L全血，根据需要可连续在数个印圈上滴加标本，于室温自然干燥至少4小时。干血斑标本采集时不要堆叠血斑，不与其他界面接触，待血斑充分干燥后应放入无菌袋中，避免血斑之间的相互污染，同时加入干燥剂和湿度指示卡，密封包装后运送。

2) 组织标本

当待检测的组织与血液或口腔脱落细胞基因型不一致时，或当组织是待测核酸必须

的来源时（如检测肿瘤组织中 mRNA 表达、融合基因、基因扩增或缺失、甲基化水平、微卫星不稳定等），需采集组织标本进行检测。可用的组织标本包括新鲜组织、活检组织、石蜡包埋组织和石蜡切片。

- a) 新鲜组织和活检组织：采样大小取决于组织类型。一般而言，无论是哪种组织类型，在没有大量脂肪细胞浸润的情况下，10 mg 组织标本可提取 DNA 或 RNA 10 μg。无菌条件下取米粒大小手术或活检组织（约 25 mg）；肿瘤组织要求未坏死肿瘤组织比例>70%。穿刺取实体肿瘤组织时，取得的细胞数与穿刺针的粗细有关，21G 细针每次获得≥100 个细胞，19G 细针每次获得≥150 个细胞，支气管活检每次获得≥300 个细胞，CT 介导的细针穿刺每次可获得≥500 个细胞。通常检测时标本中肿瘤细胞的数量需达到 200~400 个。在某些情况下，要求同时采集无病变的组织或外周血作为对照（如微卫星不稳定性检测）。组织块取样后的处理与保存见《个体化医学检测质量保证指南》。
- b) 石蜡包埋组织：推荐用 10% 中性缓冲甲醛溶液固定组织标本，避免使用含重金属离子的固定液如 Bouin 液等。甲醛介导的 DNA 损伤在固定 3 小时后明显发生，且时间越长，DNA 损伤越严重。因此推荐较小的组织（如活检组织标本）固定 6~12 小时，较大的组织（如手术切除标本）固定 6~48 小时。甲醛固定的石蜡包埋组织不适用于 RNA 检测，但在没有其他标本可供选择时，可考虑选择没有污染部分提取的 RNA 用于检测，待测 RNA 序列的长度最好<130 bp。组织标本切片时应特别注意避免标本间的交叉污染。
- c) 组织切片：用于 DNA 检测时，手术标本需提供 10 μm 厚的石蜡切片 4~8 张，面积为成人拇指盖大小；活检穿刺标本提供 10 μm 厚切片 8~10 张。所有切片均为白片。肿瘤组织切片应在 HE 染色后，经病理医师显微镜下观察，以判断是否含有肿瘤细胞及肿瘤细胞的数量是否足够（一般要求>50%）、坏死组织比例<10%，并在对应的白片上画出癌巢，对肿瘤细胞密集区域进行标注。DNA 测序法要求肿瘤细胞至少占组织细胞的 50%。应采取措施避免核酸交叉污染，制备不同患者病理切片标本时，需更换新刀片。

3) 口腔脱落细胞

口腔脱落细胞可同时用于 DNA 和 RNA 分析。常用的是口腔拭子，患者清水漱口后，将消毒医用棉签伸进口腔，在口腔内侧脸颊粘膜处左右反复擦拭 20 次左右，取出棉签，

将棉签置于干净滤纸上阴干，每位受检者至少采集棉签 3 根。棉签立即放入干净封口塑料袋内封闭并放入纸质信封，信封上应做好详细标记。滤纸应经过灭菌处理，以防细菌生长抑制核酸酶的活性。漱口标本也可作为口腔脱落细胞的来源。用于 RNA 分析的口腔脱落细胞必须保存在 RNA 稳定剂中。

4.3 标本的运输与保存

分子检测人员应熟知标本运送与保存的条件要求。标本一经采集，应尽快送到临检实验室。临检实验室应制定样本运输与保存的 SOP。在运送工具的选择、标本的运送和保存环境等方面应严格按照规定执行。

运送过程中应防止盛放标本的容器破碎和标本丢失，注意标本的隔离、封装、容器的密闭。标本应标明采集的日期和时间、运送时间、实验室接收时间、实验室接收时标本的温度。运送条件根据标本类型和待测靶核酸的性质而定。DNA 分析应在采集后 8 小时内送达实验室，否则需低温运送。当待测核酸为 RNA 时，能在 10 分钟内送达实验室的标本可室温运送；如果运送时间较长，则应将标本置于干冰中，4 小时内送达实验室；如果标本中添加了 RNA 稳定剂，则可室温运送或邮寄。标本的长距离运送应符合生物安全要求。标本运输人员应接受适用于标本类型和远程运输的安全和包装程序的培训。

1) 样本运输中需注意的常规事项

- a) 放置血液标本的采血管应用石蜡膜或透明胶带封住管盖，以防标本运送过程中采血管管盖脱离；标本运输过程中选用轻质且不易破碎的包装物，并在包装间隙用细碎轻质材料填充。
- b) 标本运输和储存过程中要避免将标本暴露于可能导致核酸降解的环境中。
- c) 选择可靠的快递公司，样本寄出后应尽快告知检测实验室快递单号及相关信息，以便对样本运输情况进行查询和跟踪。样本要求在尽量短的时间内送达临检实验室。
- d) 组织或血液标本的采集过程中可能引起部分基因的表达上调，定量分析基因表达时需考虑到。

2) 常见标本运输和保存注意事项

见《个体化医学检测质量保证指南》。

4.4 标本的接收与保存

- 1) 标本的验收、接受与拒收：临床分子诊断实验室应建立严格的标本验收制度和

不合格标本拒收制度，并安排专人接收标本。标本验收的内容包括：检查申请单的项目填写是否符合要求、标识是否清楚；申请单有无医师签字；申请单所填项目是否与标本所示一致；申请单姓名、科别、门诊或住院号与标本的标签是否一致；是否签署了知情同意书；核实标本采集及送检之间的时间间隔（要求采样 1 周以内）；检查标本的量和外观质量，血液标本的外观质量包括采血管是否密闭、有无溶血、管壁有无破损、标本是否有明显的污染迹象（如开盖），样本接收时的大致温度，样本量是否符合要求。手术切除组织标本需做切片和 HE 染色，由有经验的病理医师评价肿瘤细胞的数量是否满足检测需要。若送检的为 DNA 样本时，要求体积大于 20 μL ，OD 260/280 为 1.6~1.8 之间，浓度大于 50 $\text{ng}/\mu\text{L}$ ，琼脂糖电泳后电泳条带大于 50 kb。拒收无标签、标签不清晰、采血管破裂、已开盖、运送时间超过 1 周的样本。拒收标本时应及时与送检单位联系，要求重新采样或重新送样。每个接受的合格标本均应分配一个唯一的标识码。样本签收时实行送样人和收样人双签名制度。标本接收后，如不能立即检测，必须按要求进行适当的保存。

2) 样本的登记与录入：样本签收后立即登记样本基本信息，收样日期和时间，并尽快将标本信息录入实验室（或医院）信息系统，后续的操作过程及样本保存均用唯一编号。

3) 标本预处理：部分送检标本到达实验室后需进行预处理，如保存于滤纸上的血液标本需采用穿孔机将滤纸上的血斑取下装入离心管中，用溶解液冲洗浸泡滤纸，摇床上室温孵育以除去滤纸上的血红蛋白。为避免交叉污染，一个干血斑取材完毕后，穿孔机需用 70% 的乙醇彻底清洗，PBS 冲洗后，方可用于下一个干血斑的采集。甲醛固定石蜡包埋组织在进行核酸检测前需进行彻底的脱蜡，二甲苯是常用的高效脱蜡有机溶剂。

4) 接收后标本的保存见《个体化医学检测质量保证指南》。

5. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测分析中质量保证

药物代谢酶和药物作用靶点基因检测必须有严格的质量控制措施，涉及基因扩增的检测项目必须在通过技术审核的临床基因扩增检验实验室完成。分析中质量控制的内容包括：实验室设计的要求；检测程序的选择、验证及确认；仪器设备的使用、维护与校准；人员培训；样本的准备（如核酸纯化等）；执行检测；确认检测结果的可靠性。实验室应制定室内质量控制操作程序（SOP）和参加室间质评或实验室间比对。

5.1 实验室设计要求

原则上按照《个体化医学检测质量保证指南》的要求进行。作为药物代谢酶和药物作用靶点基因检测核心技术之一的PCR，要保证结果的可靠性和准确性，首要措施就是防“污染”。检测实验室应按《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》要求进行设置，并按要求严格控制空气流向，避免PCR产物污染。

5.2 检测方法

药物代谢酶和药物作用靶点基因检测过程一般包括核酸提取和靶标检测两阶段。

5.2.1 核酸提取方法

DNA 提取用酚-氯仿提取法和盐析法等均可。酚-氯仿法提取可能导致 DNA 样品中酚或氯仿残留，从而抑制后续的 PCR 反应。盐析法提取可能存在蛋白质及其他物质的残余，DNA 的纯度和得率不高。DNA 提取操作要求在生物安全柜内进行。DNA 一般溶解在 pH 为 7.2 的 TE (Tris-EDTA) 溶液中，可减少其降解。但如果 DNA 在提取后几天内用于 PCR，也可用双蒸水进行溶解。提取出的 DNA 要求 OD 260/280 介于 1.6~1.8 之间，浓度大于 50 ng/μL。

DNA 相对稳定，在无 DNA 酶的情况下，常温下纯化的 DNA 在 TE 缓冲液中可放置 26 周，2~8°C 冰箱中可放置至少 1 年。为降低 DNA 酶的活性和确保 DNA 的完整性，纯化的 DNA 标本的长期保存应在 0°C 以下的环境中。建议将 DNA 原液保存于-70°C 或以下的环境中。DNA 应放置在带盖密封、疏水的塑料管中（带橡胶垫片的塑料管更好，可防蒸发）。聚丙烯容易吸附 DNA，尤其是在高离子强度的时候，聚乙烯结合 DNA 的能力更强。DNA 最适于保存在异质同晶聚合物材料的塑料管或经特殊处理的聚丙烯塑料管中。

RNA的提取用异硫氰酸胍结合酚-氯仿提取法，要求提取后的RNA OD 260/280介于 1.8~2.1之间，琼脂糖电泳28S:18S \geq 2。因RNA很容易被降解，纯化好的RNA最好沉淀在无水乙醇中-70 °C或更低温度下保存。RNA需储存在灭菌、疏水、并用焦碳酸二乙酯 (DEPC) 灭活了RNA酶的塑料管中，操作过程需带手套。尽量将RNA溶解于偏碱性 (pH 7.1~7.5) 溶液中。纯化的RNA在首次冻融后3小时内保持稳定，但反复冻融可导致降解。

5.2.2 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的检测方法

用于靶标检测的方法包括PCR-直接测序法、PCR-焦磷酸测序法、荧光定量PCR法、PCR-基因芯片法、PCR-电泳分析、PCR-高分辨率熔解曲线法、等位基因特异性PCR法、PCR-限制性片段长度多态性方法、原位杂交 (ISH) 等多种方法，每种方法的原理和优

缺点如下：

1) PCR-直接测序法

也称 PCR-Sanger 测序，该方法基于双脱氧核糖核酸（ddNTP）末端终止法，根据核苷酸在某一固定点开始延伸，随机在某一特定碱基处终止，由于掺入的每个碱基都进行了荧光标记，因此产生了以 A、T、C、G 结束的四组相差一个碱基的不同长度的系列核酸片段；通过毛细管电泳分离这些片段后读取待测核酸的碱基序列。Sanger 法测序是 DNA 序列分析的经典方法。由于该方法可直接读取 DNA 的序列，因此被认为是基因分型的金标准。

PCR-Sanger 测序法的操作过程主要包括 PCR 扩增和 PCR 产物纯化、测序反应、测序和结果分析四个主要步骤。分析时需要设置阴性对照和阳性质控品。该方法属于定性检测，优点是测序长度较长，可发现新的变异位点。主要不足：灵敏度不高，尤其是在进行肿瘤组织体细胞突变检测时，当组织中靶标基因突变比例低于 20% 时，可能出现假阴性结果；对试剂和仪器有特殊要求，不易普及；操作复杂，成本相对较高，速度慢、通量低。

2) PCR-焦磷酸测序法

本方法是由 4 种酶催化的同一反应体系中的酶级联化学发光反应。实验需设计一条生物素标记的测序引物，当引物与单链模板 DNA 退火后，在 DNA 聚合酶、ATP 硫酸化酶、荧光素酶和三磷酸腺苷双磷酸酶 4 种酶的协同作用下，将引物上每一个 dNTP 的聚合与一次荧光信号的释放偶联起来，通过检测荧光的释放和强度，达到实时测定 DNA 序列的目的。所需试剂包括样本处理试剂、核酸扩增试剂、单链模板制备试剂、焦磷酸测序试剂和阳性质控品五大类。所需仪器为 PCR 仪和焦磷酸测序仪。为避免假阳性和假阴性结果，应严格区分阳性质控品和反应试剂的使用，防止因试剂污染致假阳性发生。

该方法的主要优点：检测灵敏度较高，对体细胞突变和甲基化等可实现定量检测；分型准确可靠，通量较高，实验设计灵活，可发现新的突变或遗传变异。主要缺点：对试剂和仪器有特殊要求，不易普及；检测灵敏度有限，对肿瘤组织中的低丰度体细胞突变（<3%）容易出现假阴性；测序长度仅 10 多个碱基，不能对长片段进行分析。

3) 实时荧光 PCR 法

根据检测原理的不同，实时荧光 PCR 法可分为探针法和非探针法两种，前者利用与靶序列特异杂交的探针（Taqman 和分子信标）来指示扩增产物的增加，后者利用荧

光染料或特殊设计的引物来指示扩增产物的增加。Taqman 探针法同时综合了 5'端核酸酶活性和荧光等技术，其在反应过程使用 4 条寡核苷酸链，其中两条为等位基因特异性探针，两条为 PCR 引物。两条探针可分别与突变型和野生型模板互补，其两端分别应用含报告基团和淬灭基团的染料进行标记，两条探针的报告基团荧光染料不一样。在进行 SNP 检测时，PCR 扩增的退火过程导致探针与模板杂交结合，当引物延伸至探针处时，DNA 聚合酶的 5'端外切酶活性将探针的 5'端报告基团从探针上切除，使之与淬灭基团分离，从而释放出相对应的荧光，而没有配对的探针仍然保持完整而不会发荧光。不同的等位基因探针由于标记的荧光染料不同，因此所发荧光信号不同，可通过对荧光信号的检测判断样本的基因型。

实时荧光 PCR 法灵敏度高，分型准确，操作简便快捷，所用仪器容易普及，易于推广使用。但该方法通量不高，探针成本较高，单个位点的检测成本与样本量有关，样本量越小，成本越高。本方法主要适于对少量位点、大样本进行分型。目前 CFDA 已批准 *CYP2C9*、*VKORC1* 等多种基因多态性检测的 PCR-荧光检测试剂盒。

4) PCR-基因芯片法

该方法以特定的寡核苷酸片段作为探针，将其有规律地排列固定于支持物上，然后将样品 DNA 通过 PCR 扩增、荧光标记等程序，按碱基配对原理与芯片杂交，再通过荧光检测系统对芯片上的荧光信号进行检测和分析，从而迅速获得个体的基因型信息。基因芯片分型法的操作过程包括 PCR 核酸扩增、杂交、芯片扫描和结果分析。该方法用于 DNA 基因分型时属于定性检测，灵敏度为 50 ng/μL。基因芯片法分析时需设置阴性对照和阳性质控品。应用基因芯片检测试剂盒时应确保试剂在开封前按要求保存、各组液体使用前振荡混匀，杂交和洗片操作务必在避光条件下进行，PCR 反应液和定位参照需避光保存，芯片加样时注意使液体铺满整个反应区，但不能溢出、不能出现气泡，以防交叉污染。其主要优点是可同时对多个待测 SNP 位点进行检测。我国 CFDA 已批准多种用于药物代谢酶和药物作用靶点基因如 *ALDH2*、*CYP2C9*、*CYP2C19*、*CYP2D6*、*ADRI*、*ACE*、*VKORC1* 多态性检测的基因芯片试剂盒。

5) PCR-电泳分析

该方法是指对待分析的目的基因片段进行 PCR 扩增，并通过琼脂糖凝胶电泳或毛细管电泳分析，根据 PCR 产物的大小对基因多态性位点进行基因分型。该方法属于定性检测，且只能用于对已知的多态性位点进行检测，不能识别未知多态性。琼脂糖电泳

法适用于对片段较长的插入缺失多态性进行检测，如 *ACE* 插入缺失多态性；毛细管电泳法适于对较短的插入缺失多态性如 *UGT1A1**28 多态性和微卫星不稳定性（*MSI*）进行检测。PCR 过程中需建立阳性质控品和阴性质控品，电泳分析时需同时用分子量标记物进行片段大小的判断。当分子量标记物反应管无条带或出现较弱的条带时，可能的原因包括点样孔漏、荧光染料不够或失效、电泳时间过长或电压过大。该方法的优点是成本低，在普通实验室即可开展；缺点是只适合对 DNA 插入/缺失多态性或融合基因进行定性测定，不能用于 SNP 的检测。

6) PCR-高分辨率熔解曲线（HRM）法

该方法通过对 PCR 反应的熔解曲线分析进行基因分型。PCR 扩增的熔解曲线取决于其扩增序列，序列中一个碱基的差异都可导致双链 DNA 的解链温度发生变化。HRM 法应用实时荧光定量 PCR 仪监测这种细微的温度变化，确定所扩增的目的片段中是否存在突变，从而用于基因分型。HRM 分析使用 LC Green 等饱和荧光染料，该类染料在饱和浓度时对 PCR 反应无抑制作用，因此可以高浓度使用，从而全部结合 DNA 双螺旋结构中的小沟。在双链 DNA 的变性过程不存在荧光分子的重排，其特异度得到大幅提升，因此，熔解曲线细微的变化可以反映扩增片段中碱基的差异。应用本方法进行基因分型属于定性分析。

该方法操作简便、快速、通量大、使用成本低、结果准确，有利于实现闭管操作，在进行甲基化检测时可根据熔解曲线确定甲基化程度的高低。该方法的缺点是：不能排除待测核酸中新出现的遗传变异；由于单个碱基突变导致 DNA 解链温度的变化非常小，该方法对仪器的灵敏度和分辨率有较高要求。

7) 等位基因特异性 PCR（Allele-specific PCR, AS-PCR）

又称为扩增阻滞突变系统 PCR（Amplification Refractory Mutation System PCR, ARMS-PCR）。该技术的基本原理：由于 Taq DNA 聚合酶缺乏 3'到 5'端的外切酶活性，3'端错配的碱基会导致引物延伸速度变慢，当错配达到一定程度时，引物延伸将终止，得不到特异长度的 PCR 扩增产物，从而提示模板 DNA 没有与引物 3'端配对的碱基，反之则有。因此，AS-PCR 反应需要两条等位基因特异的引物和一条共用的反向引物，两条非特异性引物在 3'端与模板错配，但其他部分碱基序列完全一样。只有引物的 3'端与模板完全配对时，PCR 扩增才可以进行。PCR 产物可通过凝胶电泳进行分析和基因型的判断。该方法也可与实时荧光定量 PCR 结合起来进行基因分型。该方法可以用于检测

各种类型的 SNP，其优势是灵敏度高，特别适合于对肿瘤组织中的体细胞突变进行检测；缺点是假阳性率较高。

8) PCR-限制性片段长度多态性方法

限制性片段长度多态性方法（RFLP）是一种基于酶切原理的方法，是最早用于基因分型的经典方法之一，现在仍被广泛采用。该方法主要基于某些限制性内切酶可以特异性识别某一特定序列和结构 DNA，并对其进行剪切的原理。限制性内切酶通常识别双链 DNA 的某一特定序列，并在特定位置或者附近将双链 DNA 切断，从而产生较短的 DNA 片段。由于限制性内切酶识别序列的严格性，一个碱基的变化都可以导致酶切活性的消失。利用这一特性，若待分型的 SNP 位点在某一限制性内切酶的识别位点上，将会导致该酶只对其中的一种等位基因具有酶切活性。因此，对位于限制性酶切识别位点的 SNP 进行分型时，可以使用包含该位点的 PCR 产物与相应的限制性内切酶进行温育。酶切以后的产物进行电泳，并根据酶切产物片段的大小来进行基因分型。该方法不需要任何探针，也不需要特别的仪器设备，成本较低，实验过程简单，可操作性强。但缺点也很明显，主要是通量太低，大量分型时工作量大，并且只适用于部分 SNP 分型。

9) 原位杂交（ISH）法

ISH 法以各种人体标本，包括相应实验方法制备的细胞学和组织学标本（福尔马林固定石蜡包埋）作为靶标，采用目的 DNA 探针与该靶标进行分子杂交，从而检测相关的靶基因异常。ISH 技术按照探针标记物的类型，可分为亮视野原位杂交和荧光原位杂交（FISH）。ISH 法检测的靶标具有完整的细胞核，无需进行核酸的提取。其具体的方法学原理见《原位杂交（ISH）指南》。在药物代谢酶和靶点基因检测中，ISH 法主要用于测定基因扩增和基因缺失异常。

表 1. 各种药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术优缺点及适用性比较

方法	优点	缺点	适用性
AS-PCR	灵敏度高，适于对肿瘤组织中突变比例较低的体细胞突变进行检测。	通量低	对小样本、低突变比例的体细胞突变进行检测。
实时荧光 PCR	通量较高，操作简	探针较昂贵	对相同位点、大样本标本

	单，仪器设备易普及。		进行检测，可用于 mRNA 表达检测。
焦磷酸测序	高通量，高灵敏度，可以检测插入/缺失突变和未知突变。等位基因含量的比例可用于室内质控。	需要特殊仪器设备。	适合于较大样本、突变比例高于 5% 的各种类型 SNP 检测、甲基化位点的确定。
HRM	成本低，灵敏度高，闭管操作，降低污染风险。	需要特殊仪器设备，条件摸索过程较为困难	适合有该类机器的实验室开展各种类型 SNP 分型研究；可用于已知甲基化位点的检测。
Sanger 法测序	直接获取序列，分型的金标准，可发现未知突变。	通量低，不能检测突变比例小于 20% 的 SNP。	各种 SNP 的检测，未知突变的筛查以及验证其他分型的结果。
PCR-RFLP	无需特殊的仪器设备，成本较低，实验过程简单，可操作性强。	通量低，只适用于部分 SNP 分型	适用于无条件够买贵重仪器设备的实验室开展小样本的分型检测。
基因芯片法	通量高	灵活度低，成本高，需要特殊的仪器设备。	适用于具备芯片检测能力的实验室对已知固定位点、大样本标本进行检测。
原位杂交 (ISH)	在细胞核原位对基因的异常进行检测	成本高，通量低，时间较长。	适于对基因扩增和缺失异常进行检测。

5.2.3 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测项目及类型

遗传药理学知识库 (PharmGKB) 根据项目成熟程度将个体化用药基因检测项目分为 4 级，并认为其中 1 级项目 (包括 1A 级和 1B 级) 满足临床应用的最高标准，而 4 级项目适于临床应用的证据最少^[1]。1A 级项目为同时获临床遗传药理学实施联盟

(Clinical Pharmacogenetics Implementation consortium, CPIC)、认可 CPIC 药物基因组学指南的医学会、以及美国国家卫生研究院药物基因组学研究网络 (Pharmagenomics Research Network, PGRN) 认同的项目, 这类项目通常经大规模随机对照临床试验 (RCT) 对项目的意义进行了论证; 1B 级项目有确切的临床证据提示相关性, 且这种相关性被具有一定样本规模的研究证实, 但还需进一步的临床证据。根据检测项目所涉及的基因在影响药物反应中的作用机制和被测靶分子 (DNA 或 RNA) 的不同, 个体化用药分子检测项目包括药物代谢酶与转运体基因遗传多态性检测、药物作用靶点基因遗传变异检测、其他基因变异检测和药物作用靶点基因 mRNA 表达检测四种类型 (附录 C)。

5.3 仪器设备的使用、维护与保养

原则上按照《个体化医学检测质量保证指南》的要求进行。药物代谢酶和药物作用靶点基因检测涉及的仪器设备众多, 实验室可参考生产商提供的操作说明书编写书面的、有案可查的预防性维护及校准计划, 确定仪器设备的维护周期, 建立仪器设备日常维护的 SOP。对于某些计量分析仪器, 应依照我国计量法规定, 由计量检定机构定期进行校验, 并保存好校验证证书。加热系统及冰箱等设备的维护包括对温度进行监测。仪器维护过程中要注意清洁剂的使用, 尤其是仪器的光路系统。每台仪器应该配备专用的清洁工具。在例行仪器的维护和保养后, 应填写仪器维护保养记录表。如维护中发现问题, 应及时汇报并将出现的问题详细记录, 最后由维护操作人员签名。

5.4 人员培训

原则上按照《个体化医学检测质量保证指南》的要求进行。药物代谢酶和药物作用靶点基因检测通常要涉及试剂配制、核酸提取、仪器编程、结果分析和报告等步骤。操作人员需要有一定的专业技术知识和经验才能获得稳定可靠的检测结果。加强人员培训是确保检测质量的关键。人员培训分为入职培训、内部培训和外部培训。通过培训, 让操作人员掌握和建立安全操作的概念、“防污染”的概念、具备独立进行质控活动和仪器维护的能力, 可对试剂和质控品的出入库及使用情况、设备保养等情况进行准确记录, 进行数据分析。实验室工作人员在培训后书面确认其已接受适当的培训, 阅读并理解了相关 SOP。实验室应对实验室工作人员进行处事能力考核和周期性能力再考核, 定期开展内部培训。外部培训包括国家卫生计生委临床检验中心和国家卫生计生委个体化医学检测培训基地等机构组织开展的各种技术培训。

5.5 检测体系的性能验证

原则上按照《个体化医学检测质量保证指南》的要求进行。临床检验实验室应用的体外诊断试剂包括国家药品食品监督管理局（CFDA）批准的试剂盒和国家卫生计生委个体化医学检测试点单位通过性能评定、具有严格标准操作规程（SOP）的自配试剂（LDT）。所有试剂都需进行性能评价。实验室所购买的商业化的仪器应根据说明书进行验证。在报告结果之前实验室应该证明其性能能够满足厂家规定的准确度、精密度、线性与可报告范围和参考区间。实验室还应该为每个检测系统建立性能规范，包括适用性、准确度、精密度和分析特异性（包括干扰物质）、可报告范围和其他重要特性，并根据性能规范确定系统的校准和质控程序，保持性能特征建立、校准和质控程序相关活动的记录。同时也需对检验中的耗材进行质检。

个体化医学分子检测包括定性检测和定量检测。定性检测的性能验证指标主要包括重复性/精密度、准确度（突变型的检测能力）、分析特异性、检出限等，可参考美国临床实验室标准化协会（CLSI）的EPI2—A2文件进行。定量检测监测体系性能验证的指标主要包括准确度、精密度、线性、可报告范围、检出限、参考区间、灵敏度、特异性等。

准确度的评价有两种方法，一种方法是与标准物质进行比较，使用待评估的项目对已知标准的标准物质（如定性检测中用到的阳性参照品）进行分析，将检测结果与已知标准值进行比较；第二种方法是同时用待评估项目与标准方法（或参考方法）对同一批次样品进行分析，然后将不同方法得到的结果进行对比分析。精密度是指重复检测条件下，获得的独立测量结果间的一致程度，是对检测体系随机误差的一种度量，常用标准差表示，标准差越小精密度越好。定性检测的精密度还包括一份阳性或阴性样本在多次检测中，是否能得到可重复的阳性或阴性结果。药物代谢酶和药物作用靶点基因变异检测体系进行准确度、精密度等性能验证时所使用的参考物质为各种突变型和野生型质粒或突变细胞株。

线性分析可直接分析已知浓度的样品，也可将一定浓度的样品进行系列稀释后，根据稀释因子来研究检测值与逐步下降的预期估计浓度之间是否存在线性。可报告范围是能够报告的可靠的最低和最高检测结果，实验室可通过“多点法”进行简单验证，推荐应用5个不同浓度水平的样品进行验证。

LoD是指可被检测体系检出的最低检测浓度，又称最小检测浓度或检测底限。建立和验证LoD时，需同时建立、验证空白检测限。检出限一般由厂家、方法建立者完成，

实验室LDT试剂应确立方法的LoD。

临界值是鉴别样品、作为判断特定疾病、状态或被测量物存在与否的界限的量值。测量结果高于临界值判断为阳性，低于临界值判断为阴性，接近临界值判断为非确定性。临界值的选择决定检验的诊断特异性和诊断灵敏度。目前已有部分临床治疗指南将药物靶点基因的mRNA表达水平高低（如*ERCC1*和*RRM1*）作为指导用药的依据，然而目前对待测靶mRNA表达水平临界值的确定尚未明确。分子诊断实验室可通过绘制受试者工作特征曲线（receiver operating characteristic, ROC）确定诊断阈值，得到合适的敏感度和特异度。ROC曲线趋左上角靠近，曲线下面积就越大，其临床检验的准确性就越好。临检过程中应按照试剂盒生产商的说明或定义定期对临界值进行评审。

LDT试剂的性能评估包括样品的类型与数量、所选择的参比方法、评价指标、准确度、重复性与精密度、线性范围、检测范围、分析的灵敏度与特异性、参考区间或cut-off值及临床性能评估结果。具体可参考国家卫计委《个体化医学检测LDT研制技术规范》。

6. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测分析后质量保证

原则上按照《个体化医学检测质量保证指南》的要求进行。分析后质量保证包括检测报告、结果解释、报告发放与咨询、检测后样本的保存和处理。

6.1. 检测报告、解释及报告发放

1) 检测报告的内容及要求

检测报告应通俗易懂，应在尽可能避免歧义的情况下客观地解释结果，以确保临床医生能正确解读。报告单要求有统一的格式和书写内容要求，报告应包含的内容：医疗机构或实验室名称、项目名称、标本编号或条码、送检单位及（或）科室名称、患者信息（姓名、性别、年龄）、标本类型、标本采集与接收时间、送检医生姓名、疾病诊断、报告单出具的时间、标本处理过程、检测方法和主要设备、检测过程、检测结果并附相关图表、结果解释、用药方案建议、检测的局限、必要的参考文献、检测人员、审核人员和复核人员签字、结果报告日期和备注，检测单位联系信息。检测结果应以清晰易读且易被医师和患者理解的形式进行报告，报告单上应采用标准化的基因命名和计量单位。定量检测应注明参考区间、检测方法的线性或测定范围；定性检测可直接写基因型、基因扩增有或无、微卫星不稳定的程度（低、中、高）、甲基化有无等。

2) 检测结果的解释

根据药物基因组生物标志物检测指导个体化用药主要包括两种类型：一是根据个体

的遗传信息调整用药剂量，以增加药物疗效，减少药物不良反应的发生；二是根据个体的遗传信息确定用药的种类，避免应用针对特定基因型个体无效或可能产生严重药物不良反应的药物。药物剂量的调整往往需根据随机对照临床研究的结果；对目前缺乏随机对照临床研究的遗传变异，可依据基因型对药物药代动力学曲线下面积影响的大小估算用药剂量；当一个药物的反应性受多个基因或基因与环境因素间相互作用影响时，可根据国内国际大规模临床试验推导出的、纳入了个体基因型及其他因素的用药剂量计算公式确定用药剂量。常见药物代谢酶和药物作用靶点基因遗传变异检测结果对临床用药的指导建议见表 2。

表 2. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测项目及其用药指导

检测项目	用药指导
<i>ALDH2</i> *2 多态性检测	携带 <i>ALDH2</i> *2 等位基因的心绞痛患者尽可能改用其他急救药物，避免硝酸甘油舌下含服无效。
<i>CYP2C9</i> *3 多态性检测	将 <i>CYP2C9</i> 和 <i>VKORC1</i> 基因型代入华法林剂量计算公式计算初始用药剂量；减少携带 <i>CYP2C9</i> *3 的个体塞来昔布的用药剂量；适当增加携带 <i>CYP2C9</i> *3 等位基因的高血压患者洛沙坦的用药剂量。
<i>CYP2C19</i> *2 和 *3 多态性检测	增加 PM 基因型个体氯吡格雷的剂量，或选用其他不经 <i>CYP2C19</i> 代谢的抗血小板药物如替格瑞洛等；PM 基因型个体阿米替林的起始剂量降低至常规剂量的 50% 并严密监测血药浓度；PM 基因型患者应用伏立康唑时容易出现毒副反应，建议适当减少剂量。
<i>CYP2D6</i> *10 多态性检测	携带 <i>CYP2D6</i> *10 等位基因的患者他莫昔芬的疗效欠佳，阿米替林的起始剂量应降至常规用药剂量的 25%。
<i>CYP3A5</i> *3 多态性检测	减少 <i>CYP3A5</i> *3/*3 基因型患者他克莫司的用药剂量，以避免发生不良反应。可将 <i>CYP3A5</i> *3 基因型代入公式计算他克莫司的起始剂量。
<i>CYP4F2</i> *3 多态性检测	降低 <i>CYP4F2</i> *3 纯合子基因型患者华法林及香豆素类抗凝药（醋硝香豆素、苯丙香豆素）的用药剂量。

<i>DPYD</i> *2A 等位基因检测	携带 <i>DPYD</i> *2A 等位基因的患者应慎用 5-FU、卡培他滨和替加氟，或降低用药剂量，以避免毒性反应。
慢型 <i>NAT1</i> / <i>NAT2</i> 基因型检测	<i>NAT1</i> 和 <i>NAT2</i> 慢代谢型基因型患者反复给予异烟肼后易出现蓄积中毒，引起周围神经炎，应引起注意。
<i>SLCO1B1</i> 521T>C 多态性检测	携带 521C 等位基因的患者慎用辛伐他汀和西立伐他汀，以降低发生肌病的风险，具体可根据 FDA 推荐剂量表（附表 2）。
<i>TPMT</i> 多态性检测	降低低酶活性基因型患者 MP 的用药剂量，杂合子起始剂量为常规剂量的 30~70%，携带两个突变等位基因的个体用药剂量为常规用药剂量的 1/10，或 1 周 3 次给予常规剂量的药物，或换用其他药物，以避免产生严重的造血系统毒性反应；携带 <i>TPMT</i> 活性极高基因型的患者 MP 治疗可能无效。携带 <i>TPMT</i> 突变等位基因的儿童患者建议用卡铂而不用顺铂，以避免引起耳毒性。
<i>UGT1A1</i> 多态性检测	<i>UGT1A1</i> *28（6/7）和（7/7）基因型个体应用伊立替康时应选用剂量较低的化疗方案，以避免引起严重腹泻；携带 <i>UGT1A1</i> *6 等位基因的患者 4 级中性粒细胞减少症的发生风险增加，应谨慎使用。
<i>ACE</i> <i>VD</i> 多态性	DD 基因型的高血压患者建议选用福辛普利进行降压治疗；DD 基因型的高血压合并左心室肥大和舒张期充盈障碍的患者建议使用依那普利和赖诺普；II 基因型患者应用赖诺普利或卡托普利治疗时应注意监测肾功能。
<i>ADRB1</i> 多态性检测	Gly389 基因型高血压患者建议不选用美托洛尔降压，或适当增加用药剂量。
<i>APOE</i> 多态性检测	基因型为 E2/E2 的高血脂症患者建议选用普伐他汀治疗，以提高降脂疗效。
<i>ANKK1</i> rs1800497 多态性检测	携带 rs1800497A 等位基因的患者应用第二代抗精神

	病药时静坐不能不良反应的发生风险增加，应注意。
错配修复蛋白缺失（ <i>dMMR</i> ）检测	建议 <i>dMMR</i> 者接受不含 5-FU 的化疗方案。
<i>G6PD</i> 基因多态性检测	携带突变等位基因的 <i>G6PD</i> 缺乏患者禁用氯喹、氨苯砞和拉布立酶。
<i>HLA-B</i> 位点等位基因检测	携带 <i>HLA-B*1502</i> 等位基因者慎用卡马西平和苯妥英，携带 <i>HLA-B*5801</i> 等位基因者慎用别嘌醇，以免引起 SJS/TEN；携带 <i>HLA-B*5701</i> 等位基因者慎用阿巴卡韦，以免引起药物性肝损害。
<i>IFNL3</i> 多态性检测	<i>Rs12979860T</i> 等位基因携带者聚乙二醇干扰素 α -2a、聚乙二醇干扰素 α -2b 和利巴韦林治疗 HCV 感染的疗效差。
微卫星不稳定性（MSI）检测	MSI-H 患者建议不用 5-FU 辅助治疗。
<i>PML-RARα</i> 融合基因检测	<i>PML-RARα</i> 融合基因阳性的 APL 患者可用 As ₂ O ₃ 进行治疗。
<i>TOP2A</i> 基因异常（基因扩增或基因缺失）检测	<i>TOP2A</i> 基因异常的乳腺癌患者建议采用含蒽环类药物的治疗方案。
<i>VKORC1</i> -1639 G>A 多态性检测	携带-1639A 等位基因的个体应减少华法林的用药剂量，具体可根据华法林剂量计算公式确定华法林的起始用药剂量。
<i>ERCC1</i> mRNA 表达检测	建议 <i>ERCC1</i> mRNA 低表达的非小细胞肺癌患者选用以铂类为主的化疗方案。
<i>RRM1</i> mRNA 表达检测	建议 <i>RRM1</i> mRNA 低表达的患者选用吉西他滨为主的化疗方案。

3) 检测结果的报告流程与发放

检测报告通常以纸质报告单形式或以电子版通过网络形式发放。药物代谢酶和靶点基因检测结果报告需要有严谨有效的流程，以确保检验信息的完整、有效、及时、正确、隐私。首先要对检测结果报告进行审核分析，包括审核检测过程的有效性，受检者的基本信息，结果数据分析。审核者应当是主管技师以上的工作人员、本专业实验室负责人、

高年资检验人员和临床实验室主任授权人，审核者对检验报告的质量负责。

通过审核的检测报告可以报告单形式或通过检测实验室的信息管理系统发放。应建立检测报告单发出和管理制度。明确检测结果报告发放的程序和责任，设定并公示检测结果报告时间，报告时间是指从接受送检标本起，到检测结果发放的时间。应制定个体化用药基因检测数据管理制度，数据中应录入患者信息和检验数据；检测数据的修改必须征得报告结果签发人员同意后，由操作人员进行修改；所有检测报告和原始记录应当归档保存，实验室信息系统数据至少要拷贝3份并保存在不同的地方，以便日后核对。一般检验报告单和检测结果数据至少保存两年；室内质控和参加室间质量评价的记录和质控信息至少保存两年；仪器状态和维修记录要保留到仪器使用终身。检测结果的查询通常可根据患者姓名、标本编号、检测项目和送检日期进行查询。

检测报告发放后收到检测报告投诉需记录并统计，分析原因，避免二次错误。

4) 检测后咨询服务

个体化医学分子诊断实验室应配备相关资质、取得国家卫生计生委个体化医学检测培训基地培训合格证的个体化用药咨询人员，对检测项目提供咨询服务，负责对检测报告在临床上出现的各种情况进行解释和检后服务。

6.2 检测后样本的保存和处理

样本完成检测后要进行一定时间（尽可能长期）的保留，以备必要时复查。标本的保存也可为科研工作的开展和回顾性调查提供条件。完成检测后剩余的 DNA 样本至少在-80℃保存 2 年。DNA 在-70℃的环境下可保存至少 7 年。纯度不高的 DNA 样品建议保存在-20℃或更低的温度中，以确保 DNA 的完整性。在不影响受检者个人隐私及利益的前提条件下，DNA 及临床资料也可匿名用于科学研究，但需在知情同意书中明确。废弃的样本应作为生物危险品处置。

7. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的质量保证

药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的质量控制与保证是个体化医学检测质量保证的核心内容，是个体化用药基因诊断规范化和标准化的首要前提。因此临床检验项目的计划和准备，试验性能确认/验证以及检验全过程都需要建立有效的质量控制体系。

7.1 检测确认和特征描述

在将检测用于临床工作之前应该对方法进行分析确认和临床确认。实验室应确定待检测的靶核酸、确定要使用的试验方法和建立试验性能确认/验证的计划和程序。确认/

验明程序应该包括：检验目的；靶基因，基因序列和突变；预期患者人群；被比较的试验方法，或要使用的方法；使用的样本类型；要确定的分析性能特征；参考材料的来源；如何分析性能规范，如何规定试验的局限性；出现问题时的纠正措施。

7.2 可操作性的 SOP 编写

有可操作性的标准操作规程（SOP）是个体化医学检测实验室质量管理的灵魂。SOP 源于仪器和试剂说明书、一些标准文件和实验室实验工作经验的积累，应包括试剂准备、标本采集、标本接收与预处理、核酸提取、测定方法、结果分析和报告、仪器操作、实验室安全措施等临床检验的各个环节。SOP 的编写应注意通俗易懂、注重细节、清晰明了、图文并茂。实验室工作人员应严格遵循 SOP 中的步骤要求进行操作，当发现 SOP 有“故障”时，经过技术研发小组的工作人员讨论、实验验证后及时修改。

7.3 质控品与室内质控

7.3.1 质控品

所有药物代谢酶和药物作用靶点基因检测都需要选择一定的质控样本进行质控分析。质控样本的选择视检测项目而定，如药物代谢酶的SNP检测的阴性质控样本可以是无相关突变的同类样本和不含任何核酸的水样本，阳性质控样本可以为以前检测过的特定基因突变已知的样本或体外构建的已含特定突变质粒的细胞株。常用的做法为：在每次检测时同时设立试剂对照、阴性质控、阳性质控、弱阳性质控，且这些质控样本与待检样本同时进行检测，每隔一定数量的临床标本插入一份质控样本。当同时检测多个变异位点时，可根据实验室的条件设立针对2~3个位点的阴性或阳性对照，但不同批次间要注意更换阴性和阳性对照样品。

质控样本的质量与实验结果的可信度密切相关。理想的室内质控样本应该具有以下特点：基质一致，即与待测样本具有相同的基质；稳定性好，在适当的储存条件下能保持较好的稳定性；检测结果应该是确定的，且越接近试验的决定性水平越好；具有安全性，不得有生物传染危险性；单批可大量获得，以便于长期连续监测。

7.3.2 室内质量控制的方法

应用统计学原理或非统计学方法判断测定批次的结果是失控还是在控，是室内质控的核心。室内质量控制的方法包括统计学质量控制和非统计学质量控制两大类。一般而言，定性检测（如基因分型）采用非统计学质量控制，而定量检测如基因表达水平检测、基因甲基化水平测定、以及实验室“污染”所致的假阳性定量检测一般采用统计学质

控。统计学质控主要从不精密度和偏离度两个方面确定检测程序或分析方法稳定性的性能特点，其具体做法是在常规检测临床标本时，除阴性质控外，还要对连续的一个浓度梯度的阳性质控样本进行检测，分析判断质控样本的测定结果是否偏出所用方法的测定范围，进而决定常规临床测定标本结果的有效性。统计学质量控制的前提是制定在最佳条件和常规条件下实验室变异的基线。在进行不精密度测定时，一般至少对20个不同的样本连续检测不少于20天，每天2次。偏离度的测定可采用基准线法、与参考物质的检测结果比较、与其他平行单位的检测结果比较、与其他检测方法的检测结果比较等多种方法。部分定性检测方法因可计算出样本中突变等位基因的比例，也可应用统计学质控方法进行质控分析。

统计学质量控制方法主要包括两大类：阳性样本测定重复性统计质控方法和假阳性的统计质控方法。阳性质控品测定重复性统计能较准确的反映实验室仪器、试剂、实验员操作的稳定性，也是实验室实时监控检测结果是否可信的重要手段，其主要统计控制方法包括基线测定、Levey-Jennings质控图方法、Westgard多规则质控方法、累积和（CUSUM）质控方法及“即刻法”质控方法。假阳性的统计质控方法包括根据日常患者结果阳性率的Levey-Jennings质控图和直接概率计算法两种，其中Levey-Jennings质控图法是目前临床检验中应用较为广泛的一种方法，适合于质控样本多次重复、检测结果可用数值表示且呈正态分布的情况。

Levey-Jennings质控图法的具体做法是：样本处理（核酸提取）时加入流程阴参，所有步骤与待测样本一致；加模板时，各检测位点均应设置阴性对照（即以流程阴参为模板，用于检测是否发生“污染”）与一定比例的突变型/野生型阳性标准品^[23]。PCR扩增时注意前后批次阴参和阳参的孔槽摆放位置的随机性。所有阴参、阳参的检测结果应符合预期值，记录各个阳性质控品PCR扩增产物检测结果。用Levey-Jennings质控图进行统计分析，根据质控规则判断检测结果是否在控。质控规则如下：

1_{2s}: 1个质控测定值超出 $X \pm 2S$ 控制线，预警。

1_{3s}: 1个质控测定值超出 $X \pm 3S$ 控制线，失控。

2_{2s}: 同一批次2个连续的质控测定值或不同批次的2个质控测定值同时超出 $X + 2S$ 或 $X - 2S$ 控制线，失控。

R_{4s}: 同一批测定中，2个不同浓度质控物的测定值之间的差值超出4S控制线，失控。

4_{1s}: 4个连续的质控测定值同时超出 $X + 1S$ 或 $X - 1S$ 控制线，失控。

7_T: 7个连续的质控测定值呈现出向上或向下的趋势，失控。

10_X: 10个连续的质控测定值同时处于均值（ \bar{X} ）的同一侧，失控。

只有当使用所有质控规则判断确定测定值在控时的检测结果方为可信结果，而只要上述质控规则之一判断测定值失控即认为该测定值失控。阴参检测结果为阳性，也判定为失控。一旦失控出现，当日所有检测结果无效，必须暂停实验并及时查明原因，采取改进措施，直至测定结果在控后方可重新开始临床检测。每次出现失控情况需填写失控记录，详细记录失控原因、采取措施及其效果，失控报告应及时通报公布，以免反复出现同一原因导致的失控。

7.4 室内质量控制的评价

实验室应有专人对实验过程各个阶段及实验数据进行质检。在日常临床诊断服务过程中，如果发现阳性质控标本结果偏高、偏低或阴性，或阴性质控品检测为阳性，则应立即查找失控原因，并采取预防措施。

阳性质控品失控常见的原因包括模板问题、引物或探针问题、仪器问题或试剂问题。应对策略包括：纯化核酸、高浓度小量分装、避免核酸反复冻融；换用新的检测试剂；标本重复双份测定；对可能含PCR扩增抑制物的标本进行稀释等。

阴性质控品呈阳性提示核酸“污染”，污染来源可能是扩增产物和（或）核酸提取过程中的交叉污染。如果临检标本全都阳性，提示扩增产物或试剂污染，应更换试剂或进行实验室清洁、通风；如果临检标本部分阳性、部分阴性，考虑为扩增产物轻度污染或标本间交叉污染，可通过对5~8份水样品进行检测，查明污染来源，阳性提示实验室污染，则应进行实验室清洁、通风，阴性要提醒临检人员注意操作过程。

7.5 室间质量评价

临床检测实验室应参加室间质量评价（EQA），对待EQA样本不能特殊化，详细、如实地记录参与EQA的全过程，根据反馈结果了解本实验室的能力、自查存在的问题，及时寻求改进方法，解决问题，完善实验室质量控制体系，以促进实验室更好的发展。EQA评分包括绝对评分和相对评分。绝对评分就是看实验室对该次所有质评样本检测结果与预期结果相符的标本总数占该次全部样本的百分比，大部分项目大于80%即可视为检测结果满意或合格。药物代谢酶和药物作用靶点基因检测的EQA还需对检测报告的填写规范程度、文字错误、报告清晰度、结果报告揭示的充分性等进行评价。

为保证室间质评的质量，需要注意以下几点：1）参加质评实验室报告结果要清楚、

简洁；2) 参加质评实验室使用与常规样本完全相同的方法来测定室间质控样本；3) 室间质评报告要迅速及时；4) 室间质评样本的来源和浓度与临床患者标本要尽量一致；5) 室间质评样本必须在发放条件下稳定；6) 不存在不可避免的传染危险。

8.制度

临床检验过程中需遵守国家对于医疗机构和临床检验实验室的其他相关规定。

1) 医疗机构及临床实验室相关管理条例：《医疗机构管理条例》、《医疗机构临床实验室管理办法》、《医疗机构临床基因扩增管理办法》、《医疗机构临床检验项目目录》、《医疗质量控制中心管理办法（试行）》、《实验室质量手册》、《医学检验所基本标准（试行）》。

2) 标本处理的相关条例：《血站质量管理规范》、《血站实验室质量管理规范》、《血液标本留取程序》、《血液检验样本目测检查标准》、《血液的贮存发放与运输管理程序》和《血液样本接收处理标准操作规程》。

3) 医疗废物处理的相关条例：《医疗废物管理制度》。

附录 A. 基因及突变名称、核酸信息

1. 基因名称

基因命名依据人类基因命名委员会 (human gene nomenclature committee, HGNC) 1979 年颁布的人类基因命名指南。基因名称和符号参考 HGNC 数据, 其主要原则包括: 任何一个基因的命名均具有唯一性, 基因的符号缩写形式可代表对基因名称的概括, 基因中只包含拉丁符号和阿拉伯数字, 基因符号中不含标点符号, 不包含代表基因组的“G”, 不包含代表“人类”的字母如“H”或“h”, 但人类微小 RNA 基因命名包含代表人类的字母“has”。人类基因用大写拉丁字母、斜体表示。

2. 基因中核酸的位置

蛋白编码基因中核苷酸的位置一般以编码序列 (coding DNA sequence, CDS) 翻译起始密码子 ATG 的 A 为 1, 转录起始位点上游一位为-1, 翻译终止密码子 3'端第一位命名为*1, 后一位为*2, 依次类推。对于内含子起始片段内的位点, 以上一外显子最后一位核苷酸的位置、加号和内含子内的位置表示, 如 c.77+1G; 对于内含子末端的位置, 以下一外显子第一个核苷酸的位置、减号和内含子上游的位置表示, 如 c.78-2A。

3. 基因突变的表述

基因突变时, 核苷酸替代用“>”(变化为)表示, 如 c.76A>C 表示第 76 位由 A 变为 C, c.*46T>A 表示终止密码子下游 3'端非翻译区 46 位核苷酸由 T 变为 A。核苷酸缺失是一个或多个核苷酸缺失的序列变异。缺失用“del”表示, 符号前加上缺失的核苷酸的位置, 位置的始末之间用下划线链接, 如 g.210_211delTT。复制用 dup 表示, 其前面为复制的第一个至最后一个核苷酸的序列。SNP 有参考号的需列出 dbSNP 数据库中的参考号, CYP450 同工酶等位基因命名与人类 CYP450 等位基因命名委员会 (<http://www.cypalleles.ki.se/>) 保持一致, 如 *CYP2C19**2、*CYP2C19**3 等。

4. 核酸信息

基因的核酸信息包括染色体基因组 DNA 序列和 mRNA 序列, 核酸信息参考 NCBI GenBank 核酸序列数据库参考序列 (Reference Sequence, RefSeq)。基因组 DNA 序列 GenBank 注册号前面用 NT、NC 或 AC 加下划线标注, 其中以“NT_”标注的序列为 BAC 克隆或鸟枪测序法获得的不完整的基因组测序序列。如 10 号染色体上的片段 NT_030059, 同一序列号有不同的版本号时, 后面用点加版本号表示, 如 NT_030059.14。成熟 mRNA 转录本序列的注册号前面用 NM 加下划线(NM_)标注。如 *CYP2C19* 的 mRNA

序列注册号为 NM_000769。微小 RNA (microRNA, miRNA) 的核酸序列信息参考 miRBase 序列数据库, miRNA 前体序列前用“MI”标注, miRNA 的成熟体序列前用“MIMAT”标注。

附录 B. 缩略语

- ACE: angiotensin converting enzyme 血管紧张素转换酶
- ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitor 血管紧张素转换酶抑制剂
- ADRB1: β -adrenergic receptor 1 β 1 肾上腺素受体
- ALDH2: aldehyde dehydrogenase 2 线粒体乙醛脱氢酶 2
- ANKK1: ankyrin repeat and kinase domain containing 1 锚蛋白重复和激酶域 1
- APOE: Apolipoprotein E 载脂蛋白 E
- ARMS-PCR: amplification refractory mutation system PCR 扩增阻滞突变系统 PCR
- AZP: azathioprine 硫唑嘌呤
- CDS: coding DNA reference sequence 编码 DNA 参考序列
- CFDA: China food and drug administration 国家食品药品监督管理总局
- CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium 临床遗传药理学实施联盟
- CSCO: 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会
- CYP450: Cytochrome P450 细胞色素 P450
- CYP2C19: Cytochrome P450 2C19 细胞色素 P450 同工酶 2C19
- CYP2C9: Cytochrome P450 2C9 细胞色素 P450 同工酶 2C9
- CYP2D6: Cytochrome P450 2D6 细胞色素 P450 同工酶 2D6
- CYP3A5: Cytochrome P450 3A5 细胞色素 P450 同工酶 3A5
- dMMR: deficient mismatch repair 错配修复蛋白缺失
- DNA: deoxyribonucleic acid 脱氧核糖核酸
- dNTP: deoxy-ribonucleoside triphosphate 脱氧核苷三磷酸
- DPYD: dihydropyrimidine dehydrogenase 二氢嘧啶脱氢酶
- DRD2: dopamine receptor D2 多巴胺受体 D2
- EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid 乙二胺四乙酸
- EM: extensive metabolizer 快代谢者
- EQA: external quality assessment 室间质量评价
- ERCC1: excision repair cross-complimentation group 1 切除修复交叉互补组 1
- 5-FU: fluorouracil 氟尿嘧啶
- FDA: food and drug administration 美国食品药品监督管理局

FFPE: Formalin fixed and paraffin embedded 甲醛固定与石蜡包埋

FISH: fluorescent in situ hybridization 荧光原位杂交

FK506: tacrolimus 他克莫司

G6PD: glucose-6-phosphate dehydrogenase 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶

Genomic biomarker 基因组生物标记物

GWAS: genome-wide association study 全基因组关联研究

HCV: hepatitis virus C 丙型肝炎病毒

HGNC: human gene nomenclature committee 人类基因命名委员会

HIPAA: health insurance portability and accountability act 健康保险隐私及责任法案

HLA: Human leukocyte antigens 人类白细胞抗原

HRM: high resolution melt 高分辨率溶解曲线

IM: intermediate metabolizer 中间代谢者

ISH: *In situ* hybridization 原位杂交

LDT: laboratory developed test 实验室自配试剂

MGMT: O6-methylguanine DNA methyltransferase O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶

MMR: mismatch repair 错配修复

6-MP: mercaptopurine 6-巯基嘌呤

MS: microsatellite 微卫星

MSI: microsatellite instability 微卫星不稳定性

MSS: microsatellite stability 微卫星稳定

NAT1: N-acetyltransferase 1 *N*-乙酰基转移酶 1

NAT2: N-acetyltransferase 2 *N*-乙酰基转移酶 2

NCCN: National Comprehensive Cancer Network 美国国立综合癌症网络

NSCLC: non-small cell lung cancer 非小细胞肺癌

OATP1B: organic anion transporting polypeptide member 1B1 有机阴离子转运多肽 1B1

PCR: polymerase chain reaction 聚合酶链式反应

PD: pharmacodynamics 药物效应动力学

PGRN: Pharmagenomics Research Network 药物基因组学研究网络

PGt: pharmacogenetics 遗传药理学

PGx: pharmacogenomics 药物基因组学

PK: pharmacokinetics 药物代谢动力学

PM: poor metabolizer 慢代谢者

PML: promyelocytic leukemia 早幼粒细胞性白血病

RCT: random control trial 随机对照试验

RAR α : Retinoic receptor α 维甲酸受体 α

RefSNP allele: 参考 SNP 等位基因

RR: ribonuclease reductase 核糖核苷酸还原酶

RRM-1: ribonuclease reductase modulator 1 核糖核苷酸还原酶调节亚基 1

SLCO1B1: solute carrier organic anion transporter family, member 1B1 有机阴离子转运多肽 1B1

SNP: single nucleotide polymorphism 单核苷酸多态性

SOP: standard operation procedure 标准操作规程

SJS/TEN: Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis Stevens-Johnson 综合征/
中毒性表皮坏死松解症

TE: Tris-EDTA 三羟甲基氨基甲烷-乙二胺四乙酸缓冲液

6-TG: thioguanine 6-硫鸟嘌呤

6-TGN: 6-thioguanine nucleotide 6-硫鸟嘌呤核苷酸

TIMP: thioinosine monophosphate 巯基次黄嘌呤单磷酸

TOP2A: topoisomerase II alpha, 拓扑异构酶 II α

TPMT: thiopurine S-methyltransferase 硫嘌呤甲基转移酶

UGT1A1: UDP-glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1

UM: ultrarapid metabolizer 超快代谢者

VKORC1: vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1 维生素 K 环氧化物还原酶复合体亚基 1

附录 C. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测项目列举

1. 药物代谢酶与转运体基因多态性检测

1.1 *ALDH2**2 多态性检测

线粒体乙醛脱氢酶 2 (*ALDH2*) 同时具有乙醛脱氢酶和酯酶活性, 参与乙醇、硝酸甘油等药物的代谢。*ALDH2* 代谢活化硝酸甘油成其活性代谢产物一氧化氮。*ALDH2**2 (Glu504Lys, rs671) 多态导致所编码蛋白质 504 位谷氨酸被赖氨酸所取代, 携带突变等位基因 (*ALDH2**2) 的个体 *ALDH2* 酶活性下降, 杂合子个体酶活性仅为野生型个体的 10%, 突变纯合子个体酶活性缺失。因此, 携带 *ALDH2**2 等位基因的个体酒精代谢能力下降, 少量饮酒即出现脸红、心跳加速等不适; 代谢硝酸甘油的能力下降, 硝酸甘油抗心肌缺血的效应减弱。亚洲人群中 *ALDH2**2 等位基因的携带率为 30~50%。携带 *ALDH2**2 等位基因的心绞痛患者应尽可能改用其他急救药物, 避免硝酸甘油含服无效。

1.2 *CYP2C9**3 多态性检测

CYP2C9 是细胞色素 P450 酶 (*CYP*) 第二亚家族中的重要成员, 占肝微粒体 P450 蛋白总量的 20%。*CYP2C9* 参与抗凝血药、抗惊厥药、降糖药、非甾体类解热镇痛抗炎药、抗高血压药以及利尿药等多种药物的羟化代谢, 其中华法林、甲苯磺丁脲和苯妥因均为治疗指数较窄的药物。*CYP2C9* 活性变化可导致这些药物体内浓度出现较大变化, 甚至导致严重药物不良反应的发生。*CYP2C9**2 (rs1799853, C430T, Arg144Cys) 和 *CYP2C9**3 (rs1057910, A1075C, Ile359Leu) 均导致 *CYP2C9* 酶活性降低, *CYP2C9**3 纯合子个体酶活性仅为该位点野生型纯合子基因型个体 (携带 *CYP2C9**1 或 Arg144/Ile359 等位基因) 的 4~6%。中国人群中 *CYP2C9**2 的频率为 0%, *CYP2C9**3 的频率为 3%。*CYP2C9* 遗传多态性导致其酶活性变化, 从而导致药物代谢种族和个体差异现象。

华法林是临床上常用的抗凝药物, 是深静脉血栓、心房纤颤、心脏瓣膜置换术和肺栓塞等疾病的一线用药, 其临床疗效和不良反应存在很大的个体差异, 血药浓度过高或敏感性增加可导致严重出血事件。华法林由 S-和 R-两种消旋体构成, 其中 S-华法林的抗凝活性约为 R-华法林的 5 倍。85% 以上的 S-华法林在体内经 *CYP2C9* 代谢为无活性的代谢产物, *CYP2C9**3 纯合子和杂合子基因型个体 S-华法林的口服清除率分别下降 90% 和 66%, 因此华法林的给药剂量需相应降低^[2-4]。美国 FDA 已批准修改华法林产品说明书, 推荐在使用华法林前进行 *CYP2C9* 基因检测^[5]。测定 *CYP2C9**3 等位基因可用

于指导中国人群确定华法林的起始用药剂量，并预测药物毒性，结合国际标准化比值（International normalized ratio, INR）检测值，估计华法林的维持剂量，确保用药安全。

塞来昔布是昔布类非甾体类抗炎药，通过特异性抑制环氧酶-2 而发挥解热、镇痛和抗炎作用，其不良反应涉及心血管系统、胃肠道、中枢神经系统和呼吸系统，如引起高血压、消化不良、头疼等。塞来昔布在肝脏中主要由 CYP2C9 代谢。建议携带 CYP2C9 低酶活性基因型的患者降低塞来昔布的用药剂量，从而降低药物不良反应的发生风险。

洛沙坦是一种常用的抗高血压药物，在体内主要经 CYP2C9 代谢活化为具有降压作用的代谢产物 E-3174。携带 CYP2C9*3 等位基因的个体服用洛沙坦后 E-3174 的生成减少，洛沙坦的代谢率降低。口服单剂量洛沙坦后 1h~6h 后，CYP2C9*1/*3 基因型个体中洛沙坦的降压作用下降，需适当增加用药剂量以增强降压疗效。

1.3 CYP2C19*2 和 CYP2C19*3 多态性检测

CYP2C19 参与氯吡格雷、S-美芬妥英、奥美拉唑、伏立康唑、安定、去甲安定等药物的代谢。CYP2C19 遗传变异可导致酶活性的个体差异，使人群出现超快代谢者（ultrarapid metabolizer, UM）、快代谢者（extensive metabolizer, EM）、中间代谢者（intermediate metabolizer, IM）和慢代谢者（poor metabolizer, PM）4 种表型。CYP2C19*2（rs4244285, c.681G>A）和 CYP2C19*3（rs4986893, c.636G>A）是中国人群中存在的 2 种导致 CYP2C19 酶缺陷的主要等位基因。CYP2C19*2 导致剪接缺失，CYP2C19*3 为终止密码子突变。EM 个体只携带 CYP2C19*1 等位基因，IM 个体携带 CYP2C19*2 或 CYP2C19*3 杂合子基因型；PM 个体包括 CYP2C19*2/*2、CYP2C19*2/*3 和 CYP2C19*3/*3 基因型。东方人群中 75~85% 的 PM 由 CYP2C19*2 所致，约 20~25% 的 PM 由 CYP2C19*3 所致。

氯吡格雷是一种抗血小板药物，广泛用于急性冠脉综合征、缺血性脑血栓、闭塞性脉管炎和动脉硬化及血栓栓塞引起的并发症。心脏支架手术后的患者需长期服用氯吡格雷以防止支架内再梗。氯吡格雷主要经 CYP2C19 代谢活化后发挥抗血小板效应。CYP2C19 PM 患者应用常规剂量的氯吡格雷后体内活性代谢物生产减少，对血小板的抑制作用下降。美国 FDA 和美国心脏病学会建议，对于 CYP2C19 慢代谢基因型患者需考虑改变治疗方案^[5]，具体意见为：CYP2C19*1/*1 基因型个体应用氯吡格雷有效，可常规使用；CYP2C19*2 或*3 基因型个体对氯吡格雷疗效降低，建议更换成普拉格雷或替卡格雷；CYP2C19*2 或*3 突变型纯合子个体应用氯吡格雷效果差，建议换用普拉格雷

或替卡格雷。

阿米替林为三环类抗抑郁药，主要用于焦虑性或激动性抑郁症的治疗。阿米替林在体内主要经 CYP2C19 代谢为活性代谢产物去甲替林。CYP2C19 活性的高低可通过影响血液中阿米替林与去甲替林的浓度比，影响阿米替林的疗效和不良反应的产生。CYP2C19 PM 个体血浆阿米替林与去甲替林浓度的比值显著升高，5-羟色胺再摄取的抑制作用显著增强。由于三环类抗抑郁药具有多种不良反应如抗胆碱作用、中枢神经系统不良反应和心血管不良反应，与治疗失败密切相关。调整携带 CYP2C19 突变等位基因患者阿米替林的起始用药剂量有助于降低初始治疗的失败率。CPIC 指南建议 CYP2C19 EM 和 IM 基因型患者应用常规起始剂量的阿米替林，而 CYP2C19 PM 基因型个体阿米替林的起始剂量应降低至常规剂量的 50%，并进行治疗药物监测^[1]。

伏立康唑是一种广谱三唑类抗真菌药，CYP2C19 是其主要代谢酶之一。CYP2C19 EM 与 PM 个体间伏立康唑的血液浓度存在显著差异，PM 个体在应用常规剂量药物时可能出现毒副反应，建议减少用药剂量；EM 和 IM 个体可给予常规剂量。在常规剂量治疗时，若 EM 个体出现毒副反应或 PM 疗效不佳，均应考虑更换药物。FDA 批准的药物说明书中指出应用伏立康唑前需检测 CYP2C19 基因型，以确保用药安全^[5]。

1.4 CYP2D6*10 多态性检测

CYP2D6 又称异喹胍 4'-羟化酶，CYP 第二亚家族中的重要成员。人群中 CYP2D6 的活性呈现强代谢者（EM）、中间代谢者（IM）、弱代谢者（PM）和超强代谢者（UM）四态分布的现象。白种人群中 CYP2D6 PM 的发生率高达 5~10%，而在东方人群中 PM 的发生率约为 1%。

目前已发现了 CYP2D6 基因的 70 多种遗传变异。不同突变类型对酶活性和药物代谢的影响不一。中国人群中 CYP2D6 常见的导致酶活性降低的等位基因包括 CYP2D6*3（A2637 deletion）、CYP2D6*4（G1934A）、CYP2D6*5（CYP2D6 deletion）和 CYP2D6*10（C188T），等位基因频率分别为 1%、1%、6%和 53%。其中，CYP2D6*5 为基因缺失多态，导致 PM 表型；CYP2D6*10 为该酶第 34 位脯氨酸被丝氨酸所替代所致，导致 IM 表型。

导致 CYP2D6 酶活性缺失的多态性可影响安替比林、可待因、β 受体阻滞剂如美托洛尔和卡维地洛、氯丙咪嗪、去甲替林、地昔帕明、多虑平、丙咪嗪、马普替林、奥匹哌醇、三甲丙咪嗪、昂丹司琼、曲马多和他莫昔芬等的体内代谢，从而影响这些药物的

疗效和不良反应的发生，临床需根据个体的基因型进行剂量的调整。

他莫昔芬通过与雌激素竞争结合雌激素受体，从而抑制乳腺癌细胞的增殖，广泛应用于雌激素受体阳性乳腺癌的治疗。他莫昔芬主要通过其活性代谢产物 4-羟他莫昔芬和吲哚昔芬发挥作用，其活性产物抑制细胞增殖的活性是他莫昔芬的 100 倍以上。CYP2D6 活性下降可导致他莫昔芬的疗效下降^[6,7]。美国 FDA 建议雌激素受体阳性的乳腺癌患者在接受他莫昔芬治疗前进行 CYP2D6 基因型检测，以确保药物的疗效^[5]。

CYP2D6 可将三环类抗抑郁药阿米替林代谢为无活性的代谢产物，因此 IM 和 PM 个体血浆中阿米替林的浓度升高；同时，CYP2D6 也是阿米替林活性代谢物去甲替林的主要代谢酶。CPIC 指南建议 EM 基因型个体使用常规剂量的阿米替林，IM 基因型个体阿米替林的起始剂量降低至常规剂量的 75%，PM 基因型个体选用其他不经 CYP2D6 代谢的药物，或将阿米替林的起始剂量降低至常规起始剂量的 50%，以避免不良反应的发生^[1]。

昂丹司琼为一种高度选择性的 5-羟色胺受体拮抗剂，用于防治术后、化疗及放疗引起的恶心呕吐，然而其在部分患者中疗效不理想。CYP2D6 是昂丹司琼的主要药物代谢酶之一，CYP2D6 UM 个体由于体内携带 3 个拷贝的 CYP2D6 基因，药物代谢加速，昂丹司琼的预防恶心呕吐的作用减弱。CPIC 指南指出携带 3 个 CYP2D6 等位基因的 UM 基因型个体昂丹司琼的疗效下降^[1]。

1.5 CYP3A5*3 多态性检测

CYP3A5 参与他克莫司、咪达唑仑、氨苯砜、可的松、尼菲地平等多种药物的代谢。CYP3A5 基因第 3 内含子内 22893 位存在 6986A>G 的突变 (rs776746, CYP3A5*3)，该 SNP 可导致 CYP3A5mRNA 异常剪接，引起终止密码子过早剪切 CYP3A5 蛋白，从而使其失去酶的活性，因此 CYP3A5*3 纯合子个体肝脏和肠道 CYP3A5 蛋白表达和活性显著下降。CYP3A5*1 等位基因频率存在显著种族差异，白种人群中为 10%--15%，中国人群中为 28%，而黑种人群则高达 60%--80%。

他克莫司 (tacrolimus, FK506) 为大环内酯类免疫抑制剂，临床上广泛用于肝、肾、心、肺、胰等器官移植患者的免疫抑制治疗，其主要不良反应包括继发性感染、肾毒性、神经毒性、胃肠反应、代谢障碍以及淋巴增生性疾病和肿瘤等。器官移植患者应用他克莫司后血药浓度偏低可导致急性排斥反应和药物敏感性降低；血药浓度偏高则容易发生肾毒性、神经毒性、糖尿病、高血脂症、高血压和胃肠道紊乱等不良反应。导致他克莫司毒副作用的发生。CYP3A5 在他克莫司的代谢中起重要作用，其活性降低可导致他克

莫司的血药浓度升高，不良反应增加。CPIC 指南建议携带 *CYP3A5**3/*3 基因型的移植患者减少他克莫司的用药剂量，以避免发生药物不良反应^[1]。

具体而言，可根据欧洲科学家委员会的建议或中国人群他克莫司用药剂量计算公式进行他克莫司剂量的调整。欧洲科学家委员会的建议：*CYP3A5**3/*3 基因型患者他克莫司的起始剂量为 0.15mg/kg/day；*CYP3A5**1/*3 基因型患者他克莫司的起始剂量为 0.20mg/kg/day；*CYP3A5**1/*1 基因型患者他克莫司的起始剂量为 0.25mg/kg/day。

中国人群根据 *CYP3A5**3 基因型给予初始剂量：*CYP3A5**3/*3 基因型患者他克莫司的起始剂量为 0.075mg/kg/day；*CYP3A5**1/*3 和 *CYP3A5**1/*1 基因型患者他克莫司的起始剂量为 0.15mg/kg/day；

基于中国人群的他克莫司用药剂量公式：

他克莫司稳定剂量= $5.409 - 2.584 * CYP3A5GG^a - 1.732 * CYP3A5GA^b + 0.279 * ABCB1C1236T^c + 0.205 * ABCB1G2677T^d - 0.163 * donor\ type^e - 0.149 * CCB^f - 0.140 * infection^g - 0.197 * Hypertension^h$

- a. *CYP3A5GG*: AA=0, GG=1;
- b. *CYP3A5AG*: AA=0, AG=1;
- c. *ABCB1C1236T*: 0 for CC, 1 for CT or TT;
- d. *ABCB1G2677T*: 1 for GG or GT, 2 for TT
- e. 移植类型：活体移植=1，其他=0；
- f. *CCB*:合并使用钙通道阻滞剂为 1，不合并为 0.
- f. 感染：感染=1，未出现=0；
- g. 高血压：高血压=1，未出现=0。

1.6 *CYP4F2**3 多态性检测

CYP4F2 为维生素 K 单氧酶，可氧化底物生成 ω -羟基衍生物。*CYP4F2**3 (rs2108622 C>T, V433M) 可导致酶活性降低，野生型纯合子基因型个体代谢活性最高，*CYP4F2**3 杂合子其次，*CYP4F2**3 纯合子活性最低。*CYP4F2**3 纯合子个体酶活性下降导致维生素 K 浓度升高，华法林的抗凝效果增强。临床研究提示，*CYP4F2**3 多态性与华法林稳态剂量相关，可解释 1~10% 的华法林剂量个体差异^[4]。携带 *CYP4F2**3 等位基因的个体应用华法林时出血的风险显著增加。CPIC 指南建议降低 *CYP4F2**3 纯合子基因型个体华法林及香豆素类抗凝药（醋硝香豆素、苯丙香豆素）的用药剂量^[1]。

1.7 *DPYD**2A 多态性检测

氟尿嘧啶（5-FU）、卡培他滨和替加氟都为嘧啶类似物，属抗代谢类抗肿瘤药物。卡培他滨为 5-FU 的前体，在体内可活化代谢为 5-FU，用于结肠癌和对紫杉醇及多柔比星等无效的晚期乳腺癌的治疗。替加氟为 5-FU 的衍生物，在体内经肝脏活化转变为 5-FU 而发挥抗肿瘤作用。85% 的 5-FU 经二氢嘧啶脱氢酶（DPYD）代谢灭活。DPYD 酶活性低下的结肠癌和胃癌患者应用 5-FU、卡培他滨或替加氟后出现体内 5-FU 蓄积，引起严重粘膜炎、粒细胞减少症、神经系统症状甚至死亡。DPYD 位于 1 号染色体短臂，该基因 14 外显子 1986 位 A>G 多态性（DPYD*2A）是最常见的引起酶活性下降的遗传变异，等位基因携带率为 3%。约 40% 低 DPYD 酶活性的个体携带 DPYD*2A 等位基因，其中有 60% 的患者应用 5-FU 治疗后出现 4 级严重的粒细胞减少；而在 DPYD 酶活性正常患者中，5-FU 所致严重毒副反应的发生率仅为 10%^[8,9]。因此，对 DPYD*2A 多态性进行检测可预测 5-FU 治疗导致致命性毒性反应发生风险。FDA 已批准在 5-FU 说明书中增加在用药前对 DPYD 多态性进行检测的建议^[5]。CPIC 指南也建议在应用 5-FU、卡培他滨和替加氟前对 DPYD 多态性进行检测，携带 DPYD*2A 等位基因的患者慎用 5-FU、卡培他滨和替加氟，或降低用药剂量，以避免严重不良反应或毒性的发生^[1]。

1.8 NAT1 和 NAT2 多态性检测

N-乙酰基转移酶是一种 II 相药物代谢酶，催化多种药物的乙酰化代谢。人类有两个编码 N-乙酰基转移酶的基因，分别是 NAT1 和 NAT2，两者具有 87% 的同源性。NAT1 表达于大多数组织中，其中以红细胞和淋巴细胞中最丰富，主要参与异烟肼、吡嗪酰胺、利福平、氨基水杨酸和对氨基苯甲酸等药物的代谢；NAT2 仅表达于肝脏和肠道，参与异烟肼、普鲁卡因胺、磺胺等 20 多种胍类化合物的乙酰化代谢。人群中 N-乙酰基转移酶活性呈多态分布，根据乙酰化表型的不同将人群划分为三类：慢型乙酰化代谢者、快型乙酰化代谢者和中间型乙酰化代谢者。亚洲人中慢型乙酰化代谢者的发生率为 10~30%。

NAT1 基因具有高度多态型，国际芳香胺 N-乙酰基转移酶基因命名委员会已发布了 28 种 NAT1 的基因型，其中 NAT1*4 是 NAT1 的野生型等位基因。NAT1*20、*21、*23、*24、*25、*27 与 NAT1*4 功能类似，而*14A、*14B、*15、*17 和*22 导致慢乙酰化表型，*10 和*11 导致酶活性升高。此外，还存在编码无酶活性的截短蛋白的基因型。通常将 NAT1*10 和 NAT1*11 纯合子和杂合子基因型视为快型乙酰化代谢基因型，而其余等位基因的组合则被认为是慢型乙酰化代谢基因型。因此，对 NAT1 基因进行分型不能局限于单个 SNP，而应同时对多个 SNP 进行检测和分型。异烟肼受 NAT1 多态性影响最

大，快乙酰化代谢型个体口服药物后，血浆半衰期为 45~110 分钟，而慢乙酰化代谢型个体口服药物后血浆半衰期可长达 4.5 小时。慢代谢型个体反复给药后易引起蓄积中毒，引起周围神经炎。FDA 已将 *NAT1* 基因列为药物基因组生物标记^[4]。

NAT2 基因也具有高度多态性，国际芳香胺 N-乙酰基转移酶基因命名委员会已发布了 87 种 *NAT2* 基因型，其中 *NAT2*4* 是野生型等位基因，属快代谢型等位基因；已知的慢代谢型等位基因包括 *NAT2*5B*、**5B*、**5C*、**5D*、**5E*、**5F*、**5G*、**5H*、**5I*、**6A*、**6B*、**6C*、**6D*、**6E*、**7B*、**12D*、**14A*、**17* 和 **19*。*NAT2* 基因多态性通过降低酶的稳定性、改变酶与底物亲和力以及促使蛋白酶降解等方式影响 *NAT2* 的功能。临床上推荐检测的 *NAT2* SNP 有 rs1801280、rs1799930、rs1799931 和 rs1801279。目前 FDA 已将 *NAT2* 列为异烟肼个体化用药的基因组标记物，推荐在使用异烟肼前对 *NAT2* 基因型进行检测^[4]。建议降低 *NAT2* 慢代谢型（携带两个慢代谢型等位基因或单倍型）个体异烟肼的用药剂量以预防蓄积中毒和周围神经炎；中间代谢型（携带一个慢代谢型等位基因和一个快代谢型等位基因）和快代谢型（具有两个快代谢型等位基因）患者可常规使用异烟肼进行治疗。

1.9 *SLCO1B1* 多态性检测

有机阴离子转运多肽 1B1（OATP1B1，又称 OATP-C、OATP2 或 LST1）特异地表达在肝细胞基底膜上，在肝细胞摄取和清除内源性和外源性物质如胆汁酸、非结合型胆红素、甲状腺素、他汀类药物、瑞格列奈、依那普利拉、替莫普利、缬沙坦、奥美沙坦、甲氨蝶呤和伊立替康活性代谢产物 SN-38 等中发挥重要作用。OATP1B1 由 *SLCO1B1* 基因编码，该基因第 5 外显子 521T>C（Val174Ala）多态性是亚洲人群中的主要遗传变异，等位基因频率为 10~15%，该多态性显著降低 OATP1B1 对其底物的摄取能力，使他汀类药物如普伐他汀、阿托伐他汀和罗苏伐他汀等的血药浓度升高。*SLCO1B1* 521T>C 多态性导致出现三种基因型：521TT（野生型纯合子）、521TC（突变型杂合子）和 521CC（突变型纯合子）。

他汀类药物的严重不良反应包括肝功能下降和横纹肌溶解症等，携带 521C 等位基因的患者应用辛伐他汀、西立伐他汀时肌病的发生风险显著增加^[10, 11]。为降低他汀类药物严重不良反应的发生风险，建议临床上根据 *SLCO1B1* 基因型选择他汀类药物进行治疗。

附表 1. *SLCO1B1* 521T>C 基因型与最大用药剂量的关系

药物	SLCO1B1 c.521TT (mg/天)	SLCO1B1 c.521TC (mg/天)	SLCO1B1 c.521CC (mg/天)	正常剂量范围 (mg/天)
辛伐他汀	80	40	20	5-80
匹伐他汀	4	2	1	1-4
阿托伐他汀	80	40	20	10-80

1.10 TPMT 多态性检测

巯嘌呤类药物如 6-巯基嘌呤 (mercaptopurine, 6-MP)、6-硫鸟嘌呤 (thioguanine, 6-TG) 和硫唑嘌呤 (azathioprine, AZP) 等是一类具有免疫抑制作用的抗代谢药。6-TG 和 6-MP 常用于恶性肿瘤的化疗, AZP 则主要用于自身免疫性疾病及器官移植患者。AZP 作为前体药物在肝脏经谷胱甘肽转移酶转化为 6-MP。6-MP 经次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶代谢为巯基次黄嘌呤单磷酸盐 (thioinosine monophosphate, TIMP), 后者再经过一系列的过程代谢为活性代谢产物 6-硫鸟嘌呤核苷酸 (6-thioguanine nucleotide, 6-TGN) 后发挥抗肿瘤作用。6-MP 也可经 TPMT 代谢为无活性的 6-甲巯基嘌呤(6-methyl MP, 6-MMP)。TPMT 的活性与红细胞及造血组织中 6-MP 活性代谢产物 6-TNG 的水平呈负相关, TPMT 活性降低可使巯嘌呤类药物的造血系统毒性 (严重的骨髓抑制) 增加。

TPMT 酶活性分布存在多态性现象, TPMT 遗传变异是导致其酶活性降低的主要原因。正常活性的 TPMT 由 TPMT*1 等位基因编码, TPMT*2 (rs1800462, 238G>C, Ala80Pro)、TPMT*3A (rs1800460 460G>A, Ala154Thr; rs1142345, 719A>G, Tyr240Cys)、TPMT*3B (rs1800460 460G>A, Ala154Thr)、TPMT*3C (rs1142345, 719A>G, Tyr240Cys) 是导致 TPMT 活性下降的主要 SNP 或单倍型。TPMT 基因型可分为 3 种: 野生型纯合子 (TPMT*1/*1)、杂合子和突变纯合子。野生型纯合子个体具有正常的 TPMT 活性, 杂合子个体 TPMT 活性降低, 而突变纯合子 TPMT 酶活性极低甚至缺乏。此外, 2 种突变等位基因纯合子 (TPMT*2/TPMT*3A 和 TPMT*3A/TPMT*3C) 个体也缺乏酶活性^[12]。在白种人群和非裔美国人群中, 野生型纯合子基因型的频率约 90%, 突变杂合子基因型的频率约 10%, 突变纯合子基因型的频率约 0.3%。中国人群中 TPMT*3 杂合子基因型频率约 2.2%, 未检测到 TPMT*2 等位基因。

FDA 已批准在 6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤和硫唑嘌呤的药品说明书中增加在用药前进

行 *TPMT* 基因多态性检测的建议^[5]。CPIC 建议 *TPMT* 低酶活性基因型患者在接受 6-MP 治疗时减少用药剂量，杂合子基因型个体起始剂量为常规剂量的 30~70%，突变纯合子个体将剂量减少至常规用药剂量的 1/10，或 1 周 3 次给予常规剂量的药物，或换用其他药物，以避免发生严重的造血系统毒性；*TPMT* 活性极高的患者接受常规剂量的 6-MP 治疗时可能达不到治疗效果^[1]。

顺铂广泛用于多种实体瘤的治疗，耳毒性是其不良反应之一。儿童患者中顺铂所致耳毒性的发生率高达 61%，多数情况下为双侧听力下降，并往往导致不可逆的听力丧失。听力监测是目前用于判断顺铂应用期间听力丧失的金标准。*TPMT* 可通过促进顺铂-嘌呤复合物的代谢，减少其与 DNA 的交联，从而抑制顺铂所引起的细胞死亡。*TPMT* 低酶活性等位基因可增加顺铂致耳毒性的风险，如携带 *TPMT**3B 或*3C 的儿童应用顺铂时耳毒性发生风险增加 17 倍，*TPMT* 突变等位基因预测顺铂致听力丧失的阳性预测值达 96%。2011 年 FDA 批准顺铂修改说明书，增加了 *TPMT* 基因变异与顺铂所致儿童耳毒性的用药安全信息^[5]。建议携带 *TPMT* 突变等位基因的儿童换用其他疗效相当的铂类化疗药物如卡铂。

1.11 *UGT1A1* 多态性检测

伊立替康为喜树碱类抗肿瘤药物的前药，在体内经羧酸酯酶代谢为活性代谢产物 7-乙基-10-羟基喜树碱（SN-38）。SN-38 作用靶为 DNA 拓扑异构酶 I，抑制 DNA 的合成。伊立替康广泛应用于结肠癌、肺癌、颈癌、卵巢癌等实体瘤的治疗。伊立替康可导致严重的延迟性腹泻和粒细胞缺乏，3-4 级迟发性腹泻的发生率达 40% 以上，嗜中性白细胞减少症的发生率约 10%，导致化疗提前终止。

SN-38 在肝脏中经尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（*UGT1A1*）葡萄糖醛酸化灭活，生成葡萄糖醛酸化 SN-38（SN-38G）。*UGT1A1* 基因具有多态性，最常见的是位于其启动子区 TATA 盒内的 TA 重复次数多态 *UGT1A1**28。野生型等位基因含 6 次 TA 重复（TA6, *UGT1A1**1），突变型个体含 7 次重复（TA7, *UGT1A1**28, rs3064744）。*UGT1A1**28 杂合子基因型个体 SN-38 葡萄糖醛苷化活性下降，突变纯合子个体 SN-38 葡萄糖醛苷化活性仅为野生型纯合子的 35%。在接受伊立替康治疗过程中，野生型 *UGT1A1*（6/6）基因型患者出现严重毒性作用风险较低，*UGT1A1**28 杂合子（6/7）和突变型纯合子（7/7）患者出现毒性作用的机率分别为 12.5% 和 50%。*UGT1A1**6（G71R, 211G>A）是东方人群中特有的突变等位基因，频率为 13%，该等位基因使 *UGT1A1* 的活性下降 70%，

伊立替康毒性作用的发生风险增加，与伊立替康所致嗜中性白细胞减少症有关，可使 4 级中性粒细胞减少症的发生率升高 3 倍^[13]。FDA 已批准对药物说明书进行修改，明确规定使用伊利替康前需进行 *UGT1A1* 基因型检测，以提高其用药安全^[5]。

2. 药物作用靶点基因多态性检测

2.1 ACE I/D 多态性检测

血管紧张素转换酶（angiotensin converting enzyme, ACE）是肾素-血管紧张素系统的关键酶，也是 ACE 抑制剂（ACE inhibitor, ACEI）的作用靶点。ACE 基因位于 17 号染色体 17q23，其内含子 16 存在 288 bp 的 Alu 插入（Insertion）/缺失（Deletion）多态性导致三种基因型：II（插入纯合子）、ID（插入缺失杂合子）和 DD（缺失纯合子），白种人、黑中人和亚洲人群中 D 等位基因频率分别为 56.2%、60.3% 和 39.0%。

ACE I/D 多态性可影响血浆 ACE 的水平，DD 基因型个体血浆 ACE 的活性升高，依那普利治疗后 ACE 活性下降更明显；在初治的高血压患者中，DD 型患者福辛普利的降压疗效增强；在高血压合并左心室肥大和舒张期充盈障碍的患者中，DD 基因型患者服用依那普利和赖诺普利后心功能改善程度优于 ID 和 II 基因型患者；II 基因型患者应用赖诺普利或卡托普利时肾功能下降更明显^[14,15]。为取得最佳疗效，建议临床上在选择 ACEI 类药物进行治疗前对 ACE I/D 多态性进行检测，以指导选择合适的 ACEI 类药物。

2.2 ADRB1 多态性检测

β 肾上腺素受体（ β -adrenergic receptor）为肾上腺素受体的一个亚家族，属于 G 蛋白偶联受体超家族，包含 β_1 、 β_2 和 β_3 三种不同亚型。该类受体通过与 Gs 蛋白偶联调节细胞内 cAMP 和 L 型 Ca^{2+} 通道的开放频率，是 β 受体激动剂和 β 受体阻滞剂的作用靶点。 β_1 受体编码基因 *ADRB1* 多态性可影响 β 受体阻断剂如美托洛尔的疗效^[16]。*ADRB1* Gly389Arg(rs1801253) 多态性导致位点 Arg389 和 Gly389 两种类型的受体，其中 Arg389 型受体与 G 蛋白偶联效率高于 Gly389 型受体。Arg389 纯合子高血压患者应用美托洛尔后血压下降的程度是 Gly389Arg 杂合子基因型个体的 3 倍；Arg389 纯合子基因型心衰患者应用卡维地洛和美托洛尔治疗后左室射血分数改善情况更佳。建议临床医师在应用 β_1 受体阻滞药前进行 *ADRB1* 多态性检测，并根据其基因型调整用药剂量，以提高疗效，减少不良反应的发生。

2.3 APOE 多态性检测

载脂蛋白 E（Apolipoprotein E, APOE）是一种存在于乳糜微粒和中间密度脂蛋白

中的载脂蛋白，主要由肝脏和巨噬细胞产生，参与血脂的运输、存储和排泄。人类 *APOE* 基因位于 19 号染色体 19q13.2。该基因的两个功能性 SNP rs429358 (c.388T>C, Cys130Arg) 和 rs7412 (c.526C>T, Arg176Cys) 构成 3 种单倍型，分别是 E2 (rs429358T-rs7412T)、E3 (rs429358T-rs7412C)、E4 (rs429358C-rs7412C)。由三种单倍型构成 6 种不同的基因型 (E2/E2、E3/E3、E4/E4、E2/E3、E2/E4 和 E3/E4)。E3/E3 是最常见的基因型，人群中的频率约 60%。

调脂药物普伐他汀通过竞争性抑制 3-羟基 3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-CoA 还原酶)，从而抑制肝脏中胆固醇的合成，肝细胞表面低密度脂蛋白 (LDL) 受体的表达反馈性增加，加强受体介导的 LDL 的分解代谢及血液中 LDL 的清除。目前 FDA 已将 *APOE2* 列为普伐他汀药物反应相关的生物标记。基因型为 *APOE* E2/E2 的高血脂症患者普伐他汀的降脂疗效更好^[5]。

2.4 *ANKK1* 多态性检测

锚蛋白重复和激酶域 1 (ankyrin repeat and kinase domain containing 1, *ANKK1*) 为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员。人类 *ANKK1* 基因位于 11 号染色体 11q23.2，与多巴胺受体 D2 (dopamine receptor D2, *DRD2*) 基因 *DRD2* 相邻。*ANKK1* 外显子 8 上的 SNP rs1800497 (c.2317G>A, Glu713Lys) 又称 *DRD2* Taq1A 多态性，携带该多态位点 T 等位基因可使纹状体 *DRD2* 的密度下降。静坐不能是抗精神病药主要锥体外系不良反应之一，携带 *DRD2* rs1800497 A 等位基因的患者在应用第二代抗精神病药治疗期间静坐不能不良反应的发生率显著高于该位点 GG 基因型患者。CPIC 已将 *ANKK1* rs1800497 多态性列为 1B 级药物基因组标记物，指出通过检测该多态性可降低抗精神病药不良反应的发生风险^[1]。

2.5 *IFNL3* 多态性检测

丙型肝炎病毒 (hepatitis virus C, HCV) 感染通常采用聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林进行治疗，但其疗效存在很大的个体差异，部分患者治疗后出现持续病毒反应，部分患者治疗无效，未能获得持续病毒清除。此外，亚洲人群的持续病毒反应率显著高于高加索人群。位于 *IFNL3* 基因上游约 3 kb 处的 SNP rs12979860 C>T 与干扰素联合利巴韦林治疗的病毒治疗应答相关，CC 基因型患者聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗 24 周后 70% 的患者获得持续病毒学应答，而 CT 和 TT 型患者获得持续病毒应答率只有 30%。Rs12979860C 等位基因频率分布存在种族差异，亚洲人群中大于 90%，而非洲人群中为 20~50%。高加索人群中 CC 基因型频率为 37%。美国肝脏病学会和欧洲肝脏病

学会 2011 年 HCV 感染防治指南已将 *IFNL3* 基因多态性作为基线预测聚乙二醇化干扰素反应性的主要因素之一。美国 FDA 已批准在聚乙二醇干扰素 α -2a、聚乙二醇干扰素 α -2b 和利巴韦林说明书中增加在用药前对 *IFNL3* rs12979860 基因型进行检测的建议^[5]。检测 *IFNL3* rs12979860 基因型有助于 HCV 感染的个体化治疗，从而提高其治疗水平。

2.6 *PML-RAR α* 融合基因检测

急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 是一种特殊类型的急性白血病，约 95~99% 的 APL 病例出现 17 号染色体 (17q21) 维甲酸受体 α (*RAR α*) 与 15 号染色体 (15q22) 早幼粒细胞性白血病基因 (*PML*) 融合，形成特异性融合基因 *PML-RAR α* 。该融合基因的表达产物通过异常招募转录抑制复合物和组蛋白去乙酰化酶等，干扰细胞内正常的 *PML* 和 *RAR α* 信号通路，使粒细胞分化阻滞于早幼粒阶段，从而导致骨髓中的异常早幼粒细胞无限制增殖，最终导致 APL 的发生。

砷剂的代表药物三氧化二砷 (As_2O_3) 在治疗 APL 中显示出很好的疗效。 As_2O_3 的抗 APL 作用与其快速调变和降解 *PML-RAR α* 融合蛋白，从而清除其对细胞分化和凋亡的阻遏作用有关。对 APL 患者进行 *PML-RAR α* 融合基因检测对于指导选择治疗方案、检测残留病灶和判断 APL 的预后具有重要意义^[17]。

2.7 *TOP2A* 基因异常检测

TOP2A 基因 (topoisomerase II alpha, *TOPII α*) 编码 DNA 拓扑异构酶 II α ，该酶通过调节核酸空间结构动态变化，参与 DNA 的复制、转录、重组及修复过程。乳腺癌患者肿瘤组织中存在 *TOP2A* 基因异常：*TOP2A* 基因扩增和基因缺失。*TOP2A* 基因异常的乳腺癌患者预后差，无复发生存期缩短。蒽环类药物是乳腺癌等多种肿瘤常用的化疗药物，*TOP2A* 基因异常患者对含蒽环类药物的治疗方案更为敏感。

2.8 *VKORC1* 多态性检测

维生素 K 氧化还原酶是抗凝药物华法林的作用靶点。维生素 K 环氧化物还原酶复合物 1 的编码基因 *VKORC1* 的遗传变异可通过影响 *VKORC1* 表达，从而影响华法林的敏感性。位于该基因启动子区 (-1639 G>A) 的单核苷酸突变 rs9923231 可影响 *VKORC1* 的表达，是导致华法林用药剂量个体差异的主要原因之一。与该位点 AA 基因型患者相比，-1639GA 和 GG 基因型患者平均华法林剂量分别增加 52% (95% CI: 41~64%) 和 102% (95% CI: 85~118%)。*VKORC1* 多态性对华法林剂量影响的比重因种族而异，-1639GA 和 GG 基因型对白种人华法林剂量的影响比对亚洲人的影响分别高 10% 和 50%。总体上，*VKORC1* 多态性在不同种族不同人群中可解释约 27% 华法林用药剂量的个体差异。

VKORC1 -1639A等位基因在亚洲人、白种人和黑种人群中的等位基因频率分别为91.17%、38.79%和10.81%（根据千人数据库的结果：在亚洲人、白种人和黑种人群中的等位基因频率分别为92%、40%和7%），其频率分布的种族差异与华法林用药剂量差异间具有很好的相关性。*VKORC*多态性同时也影响华法林用药的临床后果。美国FDA于2007年批准修改华法林的产品说明书，推荐在使用华法林前对*VKORC1*进行基因检测；2010年再次修改说明书，建议结合*VKORC1*和*CYP2C9*基因型考虑华法林的初始用药剂量（表3）^[5]。临床上也可根据考虑了*VKORC1*和*CYP2C9*基因型、年龄、身高、体重、种族、是否合用肝药酶诱导剂和是否合用胺碘酮等因素的剂量计算公式确定华法林初始用药剂量。

附表2.根据*VKORC1*和*CYP2C9*联合基因型建议的华法林初始用药剂量（mg）

<i>VKORC1</i> -1639 G>A 基因型	<i>CYP2C9</i> 基因型		
	*1*1	*1*3	*3*3
GG	6-4	4-3	2.5-0.5
GA	5-3	3.5-2	2.5-0.5
AA	4-2	2.5-1.25	1.25-0.5

基于中国人群的华法林用药剂量计算公式：

$$\text{华法林稳定剂量D (mg/day)} = [1.432 + 0.338 \times (\text{VKORC1 -1639AG}) + 0.579 \times (\text{VKORC1 -1639GG}) - 0.263 \times (\text{CYP2C9*1*3}) - 0.852 \times (\text{CYP2C9*3*3}) - 0.004 \text{ Age} + 0.264 \times \text{BSA} + 0.057 \times \text{AVR} + 0.065 \times \text{Sex} + 0.085 \times \text{Smoking habit} + 0.057 \times \text{Atrial fibrillation} + 0.132 \times \text{Aspirin} - 0.0592 \times \text{Amiodarone}]^2$$

注解：*VKORC1* -1639AG 表示患者为-1639AG 基因型时取值为 1，为-1639AA 或-1639GG 基因型取值为 0；*VKORC1* -1639GG 表示患者为-1639GG 基因型时取值为 1，为-1639AA 或-1639AG 基因型取值为 0；*CYP2C9**1*3 表示患者为 *CYP2C9**1*3 基因型是取值为 1，为 *CYP2C9**1*1 或 *CYP2C9**3*3 基因型是取值为 0；*CYP2C9**3*3 表示患者为 *CYP2C9**3*3 基因型是取值为 1，为 *CYP2C9**1*1 或 *CYP2C9**1*3 基因型是取值为 0；Age 表示年龄，取整岁；BSA 表示体表面积，BSA= 0.0061×身高+0.0128×体重-0.1529；AVR 表示当患者置换了主动脉瓣膜时取 1；Sex 表示当患者性别为男时取 1，为女时取 0；Smoking habit 表示有吸烟史时取值为 1，不吸烟时取值为 0；Atrial fibrillation 表示患者合并有房颤时取值为 1，不合并有房颤患者取值为 0；Aspirin 表示患者同时服用阿司匹

林时取值为 1，不服用时取值为 0；Amiodarone 表示患者同时服用胺碘酮时取值为 1，不服用时取值为 0。

3 其他基因多态性的检测

3.1 dMMR 检测

结直肠癌发病率在我国高居第 3 位，占癌症死因的第 5 位。80% 的结直肠癌为散发性，不具有遗传性；20% 的结肠癌伴有家族聚集性，最常见的为家族性腺瘤性息肉病和遗传性非息肉性结直肠癌（Lynch 综合征）。遗传性非息肉性结直肠癌患者的预后比散发性结直肠癌患者好。染色体不稳定或微卫星不稳定（MSI）都可导致结直肠癌的发生，约 15% 的结直肠癌患者是由于 dMMR 错配修复蛋白缺失而导致 MSI。dMMR 是结直肠癌预后的独立预测因子，较 pMMR 患者具有更好的预后。5-FU 联合左旋咪唑或甲酰四氢叶酸辅助治疗是 III 期结直肠癌或高风险 II 期结直肠癌患者的标准治疗方案。5-FU 辅助治疗能显著提高 pMMR 患者的无病存活期，而 dMMR 患者不能从 5-FU 治疗中获益^[18]。因此，dMMR 既可用于预测 II 期和 III 期结肠癌患者预后，又可用于判断结直肠癌患者能否从 5-FU 化疗中获益。NCCN 结直肠癌诊治指南 2010 年起推荐检测 MMR，并建议 dMMR 者不接受含氟尿嘧啶的辅助化疗方案。

3.2 G6PD 多态性检测

磷酸戊糖途径是部分细胞（如红细胞）赖以产生能量的代谢途径，同时参与 NADPH 水平的维持，而 NADPH 的含量可直接影响谷胱甘肽于细胞中的含量，后者可保护红细胞免受氧化反应的破坏。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD）是磷酸戊糖代谢途径的限速酶。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症，又名 G6PD 缺乏症，是一种常见的 X 染色体连锁遗传性疾病。患者由于遗传基因的先天缺陷，无法正常分解葡萄糖，在应用部分药物如乙酰苯胺、呋喃旦叮、呋喃唑酮、呋喃西林、氯喹、伯氨喹啉、磺胺、乙酰磺胺、磺胺吡啶、拉布立酶、氨苯砞、阿司匹林、奎尼丁、奎宁、优降糖后可能出现急性溶血反应，出现黄疸、精神不佳，严重时出现呼吸急促、心脏衰竭甚至休克，严重威胁生命。

目前已在各种族人群中鉴定了 G6PD 的 140 多种突变类型，中国人群中至少鉴定出 31 种突变类型。1388G>A、1376G>T、1024C>T、1004C>T、871G>A 和 95A>G 是中国人群最常见的突变类型，累计频率达 86%。FDA 已批准在氯喹、氨苯砞和拉布立酶药品标签中增加 G6PD 缺乏人群可能导致急性溶血的信息，拉布立酶甚至标上黑框警告^[5]。在应用氯喹、氨苯砞和拉布立酶之前，建议对 G6PD 突变进行检测，G6PD 缺乏的患者

禁用上述药物，以降低急性溶血的风险。

3.3 HLA-B 等位基因检测

人类白细胞抗原（Human leukocyte antigens, HLA）是人类主要组织相容性复合体的表达产物，在免疫系统中主要负责细胞间的相互识别和诱导免疫反应，调节免疫应答。根据 HLA 分为三类：I 类分子为 HLA-A、-B、-C 系列抗原，广泛表达于各组织有核细胞表面；II 类分子为 HLA-D/DR、-DP、DQ 系列抗原，主要表达于 B 细胞和抗原提呈细胞，I 类和 II 类抗原都与器官移植有关，其中 II 类抗原更为重要；III 类分子为补体成分。近年来发现一些药物的严重不良反应与人类白细胞抗原基因多态性有关，如 *HLA-B*1502* 等位基因与卡马西平和苯妥英所致 Stevens-Johnson 综合征/中毒性表皮坏死松解症 (Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis, SJS/TEN) 相关，*HLA-B*5801* 等位基因与别嘌醇所致 SJS/TEN 相关；*HLA-B*5701* 等位基因与阿巴卡韦所致药物性肝损害相关^[19, 20]。美国 FDA 已批准在卡马西平药品说明书中增加汉族及东南亚裔人群在服用卡马西平前进行 *HLA-B*1502* 等位基因筛查的建议，*HLA-B*1502* 阳性的个体应慎用卡马西平，以避免出现严重的皮肤毒性反应；建议应用阿巴卡韦前进行 *HLA-B*5701* 等位基因检测，以避免发生 SJS/TEN^[5]。CPIC 同时也已将 *HLA-B*1502* 作为预测卡马西平和苯妥英皮肤毒性的 1A 级药物基因组标记物，将 *HLA-B*5801* 作为预测别嘌醇皮肤毒性的 1A 级药物基因组标记物，将 *HLA-B*5701* 作为预测阿巴卡韦所致药物超敏反应的 1A 级药物基因组标记物^[1]。

3.4 MGMT 启动子甲基化检测

替莫唑胺为烷基类抗肿瘤前体药物，在体内经非酶途径快速转化为具有细胞毒性的活性化合物 MTIC [5-(3-甲基三氮烯-1-基)咪唑-4-甲酰胺]，并对细胞产生毒性。MTIC 的细胞毒性源于其 DNA 烷基化作用，烷基化主要发生在鸟嘌呤的 O₆ 和 N₇ 位。替莫唑胺是目前神经胶质瘤的一线化疗药物，部分患者服用替莫唑胺后出现不同程度的耐药，导致化疗失败。

O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶 (MGMT) 是一种 DNA 修复酶，存在于细胞浆和细胞核中，当 DNA 烷基化时，大量 MGMT 转移至细胞核，不可逆地将烷基化基团从 O⁶ 转移到自身 145 位的半胱氨酸残基上而保护细胞免受烷化剂的损伤。MGMT 活性升高是神经胶质瘤患者烷化剂耐药的主要原因之一。MGMT 基因启动子区 CpG 岛甲基化可抑制其基因表达，高甲基化可导致 MGMT 基因沉默，MGMT 活性下降。约 45% ~ 70% 的神经

胶质瘤患者存在*MGMT*启动子甲基化。*MGMT*启动子甲基化的胶质瘤患者对替莫唑胺联合放疗的治疗效果远高于甲基化阴性患者。

3.5 微卫星不稳定性检测

微卫星是指基因上含有重复的 DNA 短小序列或单核苷酸区域。在人类基因组中，有成百上千个微卫星，当 DNA 进行复制时，由于微卫星重复序列错配（微卫星突变）导致其序列缩短或延长，从而引起微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)。通常情况下，DNA 错配修复基因（MMR）可修复这些突变。但在肿瘤细胞内，由于 MMR 蛋白缺失，无法修复错配的微卫星，导致肿瘤细胞内出现 MSI。MSI 已成为判断 MMR 蛋白缺失的标记物。根据 MSI 不稳定性的程度，可分为高不稳定性（MSI-H）和低不稳定性（MSI-L）。正常情况下称为微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)。

MSI 与结直肠癌的发生发展及 5-FU 治疗获益密切相关，约 15%的结直肠癌由于 dMMR 导致 MSI。针对 II 期和 III 期结肠癌患者进行的大样本随机临床研究发现，MSI-H 患者较 MSS 或 MSI-L 患者的预后更好，但 MSI-H 患者不能从氟尿嘧啶辅助治疗中获益，而 MSS 和 MSI-L 患者可从氟尿嘧啶辅助治疗中获益^[21, 22]。因此，MSI 可作为预测 II 期和 III 期结肠癌患者预后以及是否可从氟尿嘧啶辅助治疗中获益的指标。

4. 药物作用靶点基因表达水平检测

4.1 *ERCC1* mRNA 表达检测

铂类药物（包括顺铂、卡铂和奥沙利铂）广泛用于多种实体瘤的化疗。铂类进入肿瘤细胞后通过烷基化 DNA 链上的碱基并交联，形成“DNA-铂”复合物，从而抑制 DNA 复制和肿瘤细胞的生长。铂类药物所造成的 DNA 损伤可通过核苷酸剪切修复酶的作用进行修复。切除修复交叉互补组 1 (excision repair cross-complimentation group 1, *ERCC1*) 是识别并切除修复“DNA-铂”复合物的限速酶。*ERCC1* 表达水平与铂类药物的疗效呈负相关，*ERCC1* mRNA 表达水平低的非小细胞肺癌患者在接受铂类与吉西他滨联合化疗方案或以铂类为主的化疗后疗效更好，总生存期显著延长。NCCN 非小细胞肺癌的临床治疗指南（2010）将 *ERCC1* mRNA 表达水平作为预测铂类药物疗效的生物标记物，*ERCC1* mRNA 呈高表达水平的患者耐药，低表达水平者敏感。

4.2 *RRM1* mRNA 表达检测

吉西他滨是一种类似于胞嘧啶的抗代谢药物，可直接抑制 DNA 的合成，或通过抑制核糖核苷酸还原酶（ribonuclease reductase, RR）的活性，间接影响 DNA 的合成，诱导细胞凋亡。吉西他滨临床上用于非小细胞肺癌、乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌及其他实体

瘤。RR 由两个亚基 RRM1 和 RRM2 组成，调节亚基 RRM1 (ribonuclease reductase modulator 1, RRM-1) 由 *RRM1* 基因编码。临床研究发现，*RRM1* mRNA 表达水平与吉西他滨的疗效呈负相关，检测其表达水平可用于指导临床是否应用吉西他滨进行化疗。在晚期非小细胞肺癌患者，肿瘤组织中 *RRM1*mRNA 表达水平与中位数生存期相关，*RRM1* 低表达者的中位生存期显著延长。NCCN 非小细胞肺癌的临床治疗指南（2011）将 *RRM1* mRNA 表达水平作为吉西他滨疗效预测的生物标记物，*RRM1* mRNA 表达水平低的患者选用吉西他滨为主的化疗方案疗效较好。

附录 D. 药物代谢酶和药物作用靶点基因相关的药物

基因或变异名称	个体化应用的药物
药物代谢酶与转运体基因	
<i>ALDH2</i>	硝酸甘油
<i>CYP2C9</i>	华法林、塞来昔布、洛沙坦
<i>CYP2C19</i>	氯吡格雷、S-美芬妥英、奥美拉唑、阿米替林、伏立康唑、安定、去甲安定
<i>CYP2D6</i>	他莫昔芬、阿米替林、昂丹司琼、美托洛尔、氯丙咪嗪、去甲替林、地昔帕明、多虑平、丙咪嗪、马普替林、奥匹哌醇、三甲丙咪嗪、曲马多
<i>CYP3A5</i>	他克莫司
<i>CYP4F2</i>	华法林
<i>DPYD</i>	氟尿嘧啶、卡培他滨、替加氟
<i>NAT1、NAT2</i>	异烟肼、普鲁卡因胺、吡嗪酰胺、利福平、氨基水杨酸、对氨基苯甲酸
<i>SLCO1B1</i>	辛伐他汀、西立伐他汀、匹伐他汀、阿托伐他汀
<i>TPMT</i>	6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、硫唑嘌呤、顺铂
<i>UGT1A1</i>	伊立替康
药物作用靶点基因	
<i>ACE I</i>	福辛普利、依那普利、赖诺普利、卡托普利
<i>ADRB1</i>	β 受体阻断剂如美托洛尔
<i>APOE</i>	普伐他汀
<i>ANKK1</i>	第二代抗精神病药
<i>IFNL3</i>	聚乙二醇干扰素 α -2a、聚乙二醇干扰素 α -2b、利巴韦林
<i>PML-RARα</i>	三氧化二砷
<i>TOP2A</i>	蒽环类化疗药物
<i>VKORC1</i>	华法林
<i>ERCC1</i>	铂类药物（顺铂、卡铂和奥沙利铂）

<i>RRM1</i>	吉西他滨
其他基因	
<i>dMMR</i>	氟尿嘧啶
<i>G6PD</i>	氯喹、氨苯砜、拉布立酶
<i>HLA-B</i>	卡马西平、苯妥英、阿巴卡韦、别嘌醇醇
MGMT	替莫唑胺
MSI	氟尿嘧啶

参考文献

- 1) www.pharmgkb.org/
- 2) International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med*. 2009;360(8):753-64.
- 3) Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999;353:717-9.
- 4) Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, Barnes C, Eriksson N, Soranzo N, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. *PLoS Genet* 2009;5:e1000433.
- 5) www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics
- 6) Schroth W, Antoniadou L, Fritz P, Schwab M, Muerdter T, Zanger UM, et al. Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J Clin Oncol* 2007;25:5187-93.
- 7) Lim HS, Ju LH, Seok LK, Sook LE, Jang IJ, Ro J. Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:3837-45.
- 8) Terrazzino S, Cargnin S, Del RM, Danesi R, Canonico PL, Genazzani AA. DPYD IVS14+1G>A and 2846A>T genotyping for the prediction of severe fluoropyrimidine-related toxicity: a meta-analysis. *Pharmacogenomics* 2013;14:1255-72.
- 9) Caudle KE, Thorn CF, Klein TE, Swen JJ, McLeod HL, Diasio RB, Schwab M. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94:640-5.
- 10) Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N Engl J Med* 2008;359:789-99.
- 11) de Keyser CE, Eijgelsheim M, Hofman A, Sijbrands EJ, Maitland-van DZA, van Duijn CM, et al. Single nucleotide polymorphisms in genes that are associated with a modified response to statin therapy: the Rotterdam Study. *Pharmacogenomics J*

2011;11:72-80.

- 12) Black AJ, McLeod HL, Capell HA, Powrie RH, Matowe LK, Pritchard SC, et al. Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. *Ann Intern Med* 1998;129:716-8.
- 13) Onoue M, Terada T, Kobayashi M, Katsura T, Matsumoto S, Yanagihara K, et al. UGT1A1*6 polymorphism is most predictive of severe neutropenia induced by irinotecan in Japanese cancer patients. *Int J Clin Oncol* 2009;14:136-42.
- 14) Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-6.
- 15) Thorn GF, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for angiotensin-converting enzyme. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20:143-6.
- 16) Parvez B, Chopra N, Rowan S, Vaglio JC, Muhammad R, Roden DM, Darbar D. A common beta1-adrenergic receptor polymorphism predicts favorable response to rate-control therapy in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:49-56.
- 17) 2012 NCCN Chronic Myelogenous Leukemia Guideline
- 18) Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3219-26.
- 19) Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, et al. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature* 2004;428:486.
- 20) Kang HR, Jee YK, Kim YS, Lee CH, Jung JW, Kim SH, et al. Positive and negative associations of HLA class I alleles with allopurinol-induced SCARs in Koreans. *Pharmacogenet Genomics* 2011;21:303-7.
- 21) Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247-57.
- 22) Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N*

Engl J Med 2000;342:69-77

23) 李艳, 李金明. 《个体化医疗中的临床分子诊断》 人民卫生出版社 2013年8月.