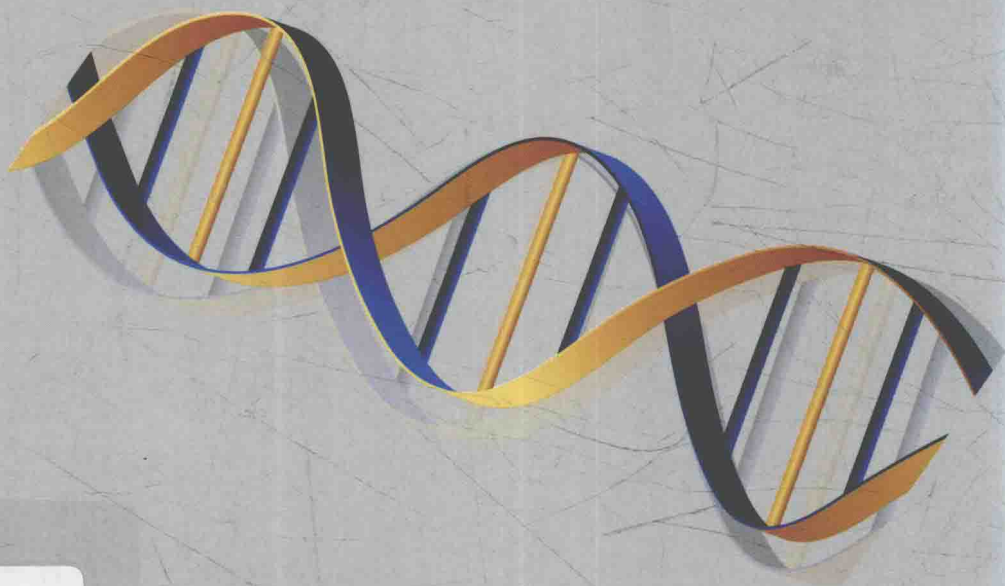


药物基因组学与 个体化治疗用药决策

主编 / 阳国平 郭成贤



人民卫生出版社

药物基因组学与 个体化治疗用药决策

主 审 袁 洪 崔一民

主 编 阳国平 郭成贤

副主编 尹继业

编 者 (按姓氏笔划排序)

尹继业	中南大学湘雅医院
刘丽娟	江西省肿瘤医院
阳国平	中南大学湘雅三医院
李 曦	中南大学湘雅医院
李金高	江西省肿瘤医院
杨 洪	美国马里兰大学
吴 畏	中南大学湘雅医院
张莉蓉	郑州大学基础医学院
孟祥光	郑州市第七人民医院
娄晓亚	中南大学湘雅三医院
袁义强	郑州市第七人民医院
郭 栋	美国马里兰大学
郭成贤	中南大学湘雅三医院
彭六保	中南大学湘雅二医院
裴 奇	中南大学湘雅三医院
谭重庆	中南大学湘雅二医院
魏 艳	郑州市第七人民医院

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

药物基因组学与个体化治疗用药决策/阳国平,郭成贤主编.

—北京:人民卫生出版社,2016

ISBN 978-7-117-23734-5

I. ①药… II. ①阳… ②郭… III. ①药物-应用-基因组-
基因疗法 IV. ①R394.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 283726 号

人卫智网	www.ipmph.com	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	www.pmph.com	人卫官方资讯发布平台

版权所有,侵权必究!

药物基因组学与个体化治疗用药决策

主 编:阳国平 郭成贤

出版发行:人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址:北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编:100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线:010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷:三河市宏达印刷有限公司

经 销:新华书店

开 本:710×1000 1/16 印张:16

字 数:296 千字

版 次:2016 年 12 月第 1 版 2016 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号:ISBN 978-7-117-23734-5/R·23735

定 价:42.00 元

打击盗版举报电话:010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

序

药物反应个体差异是临床治疗中的普遍现象,揭示药物反应个体差异的最终目的是指导临床合理用药,提高药物治疗水平。药物基因组学是研究人类全基因组中基因影响药物反应的一门学科。随着人类基因组计划的完成和后基因组学的深入研究,越来越多的与药物反应相关的基因被发现,药物反应个体差异的遗传学机制得以逐渐阐明。这极大地促进了药物基因组学的发展,使得药物基因组学在临床上的应用也越来越广泛。基于药物基因组学的个体化药物治疗,将促进临床用药从“千人一药、万人一量”的经验用药模式向“一人一药一量”的精准用药新模式转变。这对提高药物治疗效应、降低药物不良反应发生风险、节约医疗成本均具有重要意义。

目前,在国外已出版了一些介绍药物基因组学与个体化治疗的书籍,而在我国相关书籍甚少。《药物基因组学与个体化治疗用药决策》一书,提纲挈领、图文并茂地分析了药物基因组学与临床个体化治疗实践的应用现状,系统地介绍了药物基因组学在精准医疗与个体化医疗中的应用。该书的推出,将助力药物基因组学在临床的应用和推广,为临床医生、药师以及科研工作者提供知识参考。

中国工程院院士

2016年8月

前言

药物基因组学(pharmacogenomics)是研究人类全基因组中基因影响药物反应的一门学科。药物基因组学的主要任务是研究人类全基因组中所有基因的结构、表达、功能等改变对药物反应的影响。其主要目的是阐明药物反应的个体差异和种族差异,以提高药物疗效、降低毒性反应、节约医疗成本,最终实现药物的个体化治疗。药物基因组学是精准医学的前沿研究领域,是个体化治疗的核心和理论基石。随着测序技术的不断提高和基因组学技术的进步,药物基因组学的发展日新月异,使得能够指导临床个体化用药的成果越来越多。然而,与之不匹配的是,药物基因组学专业人才缺乏,临床上对药物基因组学的认识还相对薄弱。

为给我国医药学工作者提供一本较为系统的阐述药物基因组学应用的参考书,我们编撰了这本专著。本书着眼于药物基因组学的临床个体化治疗实践,较系统地介绍了目前能用于临床个体化治疗的药物基因组学成果。本书第一部分(一至四章)为总论,重点介绍药物基因组学的理论基础;第二部分(五至十六章)为各论,重点阐述各类药物基于药物基因组学的个体化治疗实践。本书还运用了大量图表,尽可能将观点、数据进行精练的归纳和生动的阐释。

本书可供从事遗传药理学、药物基因组学、精准医学、个体化医学、转化医学、临床医学、分子诊断学以及分子病理学等有关临床、科研、教学以及产品研发的工作者参考,同时也可作为培训和医学继续教育教材使用。

尽管数易其稿、努力完善,但由于编者水平有限,不足之处仍难避免。在此,恳请广大读者和专家谅解!同时,也诚挚欢迎各位批评指正,以助我们日后改进。

编者

2016年8月

目 录

第一章 概论	1
第一节 药物基因组学渊源	1
第二节 药物基因组学的任务和研究内容	3
第三节 药物基因组学常用研究方法	7
第四节 药物基因组学与个体化治疗	10
第五节 药物基因组学与个体化治疗面临的挑战	13
第二章 药物基因组学与个体化治疗决策中的常用检测技术	15
第一节 临床个体化治疗样本处理	15
第二节 常用的检测技术	21
第三节 个体化治疗检测的质量保证	45
第三章 药物基因组学与个体化治疗决策中的生物信息学	58
第一节 生物信息学相关简介	59
第二节 药物基因组学相关数据库	61
第三节 药物基因组学研究相关软件	74
第四章 药物基因组学与个体化治疗决策中的药物经济学问题	80
第一节 药物经济学概述及定义	80
第二节 药物经济学研究类型	81
第三节 药物经济学的研究角度和成本	82
第四节 药物经济学评价方法与健康产出	83
第五节 药物经济学评价模型	84
第六节 分析时间范围和贴现率	87
第七节 不确定性分析	88
第五章 药物基因组学与靶向抗肿瘤药物个体化治疗用药决策	93
第一节 概述	93
第二节 小分子表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂	94
第三节 抗 EGFR 单克隆抗体	97
第四节 人类表皮生长因子受体 2(HER2)靶向治疗药物	98

第五节	BRAF 激酶抑制剂	101
第六节	其他类靶向制剂	102
第六章	药物基因组学与抗肿瘤化疗药物个体化治疗用药决策	106
第一节	概述	106
第二节	破坏 DNA 结构与功能类药物	106
第三节	影响核酸生物合成类药物	111
第四节	调节体内激素水平类药物	119
第五节	其他类药物	124
第七章	药物基因组学与心血管疾病药物个体化治疗用药决策	133
第一节	概述	133
第二节	降压药物的药物基因组学及个体化治疗	133
第三节	抗心律失常药物的药物基因组学及个体化治疗	144
第四节	抗心绞痛药物的药物基因组学及个体化治疗	146
第八章	药物基因组学与抗凝药物个体化治疗用药决策	150
第一节	概述	150
第二节	香豆素类抗凝药	150
第三节	血小板聚集抑制剂	153
第九章	药物基因组学与降脂药物个体化治疗用药决策	157
第一节	概述	157
第二节	他汀类降脂药物	157
第十章	药物基因组学与口服降糖药个体化治疗用药决策	161
第一节	概述	161
第二节	磺酰脲类促泌剂	161
第三节	苯磺酸类衍生物促泌剂	166
第四节	双胍类药物	168
第五节	噻唑烷二酮类增敏剂	171
第十一章	药物基因组学与消化系统疾病药物个体化治疗用药决策	174
第一节	概述	174
第二节	质子泵抑制剂	174
第十二章	药物基因组学与抗神经精神病药物个体化治疗用药决策	179
第一节	概述	179
第二节	抗癫痫药物	179
第三节	抗抑郁药物	185

第四节	抗精神分裂症药物	193
第五节	抗帕金森病与其他运动障碍性疾病药物	200
第六节	小儿多动症的非兴奋性药物	201
第十三章	药物基因组学与止咳镇痛药物个体化治疗用药决策	203
第一节	概述	203
第二节	中枢性止咳药	203
第三节	非阿片类中枢性镇痛药	205
第十四章	药物基因组学与抗痛风药物个体化治疗用药决策	208
第一节	概述	208
第二节	别嘌醇	208
第十五章	药物基因组学与免疫抑制剂个体化治疗用药决策	211
第一节	概述	211
第二节	钙调磷酸酶抑制药	211
第十六章	药物基因组学与抗病原微生物药物个体化治疗用药决策	215
第一节	概述	215
第二节	抗菌药物	215
第三节	抗真菌药物	222
第四节	抗疟疾药物	223
第五节	抗病毒药物	224
附录	FDA 说明书中包含药物基因组学信息的药物	233

第一章

概 论

第一节 药物基因组学渊源

随着人类基因组学计划的完成,后基因组学的深入研究,促进了药物基因组学(pharmacogenomics)的发展。药物基因组学是研究人类全基因组中基因影响药物反应的一门学科。药物基因组学是精准医学的前沿研究领域,是个体化治疗的核心和理论基石。药物基因组学是在遗传药理学(pharmacogenetics)的基础上形成的。遗传药理学是研究人体的遗传变异所引起药物反应异常的学科,其发展最早可追溯到英国科学家 Archibald Edward Garrod (1857—1936)等对先天性代谢缺陷的研究。Garrod 在对尿黑酸尿症和苯丙酮尿症进行深入研究后,提出缺乏这些酶的个体丧失对某些外源性物质(药物)的生物转化,并进一步强调参与外源性物质(药物)生物转化的酶活性也由遗传物质决定。在 20 世纪 50 年代,遗传药理学得到了快速发展,许多重要的成果在这一时期被发现,如葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD)缺乏导致的抗疟疾药物伯氨喹引发急性溶血性贫血、胆碱酯酶活性缺乏引起的肌松药物琥珀胆碱导致的特异质反应、乙酰转移酶活性异常引起的抗结核药物异烟肼代谢异常。1962 年, Werner Kalow 出版了世界上首部遗传药理学专著——《Pharmacogenetics: Heredity and the Response to Drug》。我国遗传药理学的发展源于 20 世纪 80 年代,我国遗传药理学家周宏灏院士等在世界上首次提出了药物反应的种族差异。周宏灏院士等通过进一步对药物代谢酶、转运体和受体表型与基因多态性进行深入研究后,提出基因多态性在种族中的频率差异是导致药物反应种族差异的遗传学机制。人类基因组计划的完成,使得遗传药理学的理论得到了进一步的提升,产生了药物基因组学。药物基因组学主要研究人类全基因组中基因对药物反应的影响,它是遗传药理学的延伸和扩展。2001 年, Werner Kalow 出版了世界上首部药物基因组学专著——《Pharmacogenomics》(药物基因组学)。

目前,许多机构发布了药物基因组学应用建议,如美国食品药品监督管理局

局(U. S. Food and Drug Administration, FDA)(附录)、由美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)下设的药物基因组学研究网络(Pharmacogenomics Research Network, PGRN)和美国斯坦福大学管理的药物基因组学知识库(The Pharmacogenomics Knowledge Base, PharmGKB)联合组建的临床药物基因组学应用委员会(Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, CPIC)(CPIC 发布的指导药物见表 1-1)以及由荷兰皇家制药促进协会(The Royal Dutch Association for the Advancement of Pharmacy)创建的荷兰药物基因组学工作组(The Dutch Pharmacogenetic Working Group, DPWG)(DOWG 发布的指导药物见表 1-2)等。

表 1-1 CPIC 发布的指导药物

药物	基因
阿扎那韦(atazanavir)	UGT1A1
别嘌醇(allopurinol)	HLA-B* 58:01
他克莫司(tacrolimus)	CYP3A5
可待因(codeine)	CYP2D6
苯妥英(phenytoin)	CYP2C9、HLA-B
辛伐他汀(simvastatin)	SLCO1B1
拉布立酶(rasburicase)	G-6-PD
依伐卡托(ivacaftor)	CFTR
阿巴卡韦(abacavir)	HLA-B* 57:01
聚乙二醇干扰素- α (PEG interferon- α -based regimens)	IL28B
氟尿嘧啶(flourouracil)	DPYD
氯吡格雷(clopidogrel)	CYP2C19
卡马西平(carbamazepine)	HLA-B* 15:02
巯基嘌呤(thiopurine)	TPMT
华法林(warfarin)	CYP2C9、VKORC1
选择性五羟色胺吸收抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors)、三环类抗抑郁药(tricyclic antidepressants)	CYP2D6、CYP2C19

表 1-2 DPWG 发布的指导药物

药物	基因
阿米替林(amitriptyline)、阿立哌唑(aripiprazole)、托莫西汀(atomoxetine)、卡维地洛(carvedilol)、氯丙米嗪(clomipramine)、氯氮平(clozapine)、可待因(codeine)、多塞平(doxepin)、度洛西汀(duloxetine)、氟卡尼(flecainide)、氟哌噻醇(flupenthixol)、氟哌啶醇(haloperidol)、丙米嗪(imipramine)、美托洛尔(metoprolol)、米氮平(mirtazapine)、去甲替林(nortriptyline)、奥氮平(olanzapine)、羟考酮(oxycodone)、帕罗西汀(paroxetine)、普罗帕酮(propafenone)、利培酮(risperidone)、他莫昔芬(tamoxifen)、曲马多(tramadol)、文拉法辛(venlafaxine)、珠氯噻醇(zuclopenthixol)	CYP2D6
醋硝香豆醇(acenocoumarol)、格列本脲(glibenclamide)、格列齐特(gliclazide)、格列美脲(glimepiride)、苯丙香豆素(phenprocoumon)、苯妥英(phenytoin)、甲苯磺丁脲(tolbutamide)	CYP2C9
西酞普兰/艾司西酞普兰(citalopram/escitalopram)、氯吡格雷(clopidogrel)、埃索美拉唑(esomeprazole)、丙米嗪(imipramine)、兰索拉唑(lansoprazole)、吗氯贝胺(moclobemide)、奥美拉唑(omeprazole)、泮托拉唑(pantoprazole)、雷贝拉唑(rabeprazole)、舍曲林(sertraline)、伏立康唑(voriconazole)	CYP2C19
伊立替康(irinotecan)	UGT1A1
硫唑嘌呤(azathioprine)、巯嘌呤(mercaptopurine)、硫鸟嘌呤(thioguanine)	TPMT
利巴韦林(ribavirine)	HLA-B44
阿巴卡韦(abacavir)	HLA-B* 5701
他克莫司(tacrolimus)	CYP3A5
醋硝香豆醇(acenocoumarol)、苯丙香豆素(phenprocoumon)	VKORC1
氟尿嘧啶/卡培他滨(flourouracil/capecitabine)、替加氟/尿嘧啶(tegafur/uracil)	DPYD

第二节 药物基因组学的任务和研究内容

一、药物基因组学的任务

药物基因组学是生命科学中发展迅速和备受关注的热点研究领域,是精准医学重要的组成部分,是实现个体化治疗与精准用药的理论支柱。药物基

基因组的主要任务是研究人类全基因组中所有基因结构、表达、功能等改变对药物反应的影响。其主要目的是阐明药物反应的个体差异,达到提高药物疗效、降低毒性反应、节约医疗成本,最终实现药物的个体化治疗。药物基因组学包含了基因组学、分子生物学、遗传学、药理学、生物信息学等学科特点,综合运用上述学科技术,研究与药物反应相关的基因变异、RNA 及蛋白质特征,阐明决定药物反应个体差异的根本机制,为临床基因导向个体化治疗提供理论依据。

二、药物基因组学的研究内容

药物基因组学研究的内容即为寻找与药物反应个体差异相关的基因多态性,主要包括药物代谢酶基因多态性、药物转运体基因多态性、药物作用靶点基因多态性等。

药物代谢酶参与内源性物质和外源性物质的代谢,许多药物代谢酶的基因多态性具有显著的功能意义,导致其对底物代谢能力发生改变,最终导致药物反应出现个体差异。代谢酶分为 I 相药物代谢酶、II 相药物代谢酶,其中 I 相药物代谢酶又分为细胞色素 P-450 酶(cytochrome P-450, CYP450)、非细胞色素 P-450 I 相酶。细胞色素 P-450 酶代谢临床上绝大部分药物,常见的细胞 P-450 酶有 CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4 等。这些 P-450 代谢酶遗传多态性对临床药物个体化应用有重要影响(表 1-3)。非细胞色素 P-450 I 相酶,常见的有乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)、二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPYD)。II 相药物代谢酶,常见的有 N-乙酰基转移酶(N-acetyltransferase, NAT)、谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)、葡萄糖醛酸基转移酶(UDP-glucuronosyltransferase, UGT)、硫嘌呤甲基转移酶(thiopurine methyltransferase, TPMT)。

表 1-3 CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4 代谢酶的常见底物

代谢酶	底物
CYP2C9	塞来昔布(celecoxib)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、双氯芬酸(diclofenac)、氟伐他汀(fluvastatin)、格列本脲(glibenclamide)、格列美脲(glimepiride)、格列吡嗪(glipizide)、布洛芬(ibuprofen)、厄贝沙坦(irbesartan)、美洛昔康(meloxicam)、萘普生(naproxen)、氯沙坦(losartan)、苯妥英(phenytoin)、他莫昔芬(tamoxifen)、甲苯磺丁脲(tolbutamide)、华法林(warfarin)、氯诺昔康(lornoxicam)、吡罗昔康(piroxicam)、舒洛芬(suprofen)、托拉塞米(toraseamide)、氟西汀(flouxetine)、那格列奈(nateglinide)、罗格列酮(rosiglitazone)、他莫西芬(tamoxifen)、阿米替林(amitriptyline)

代谢酶	底物
CYP2C19	阿米替林(amitriptyline)、卡立普多(carisoprodol)、西酞普兰(citalopram)、苯妥英(phenytoin)、氯吡格雷(clopidogrel)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、环己烯巴比妥(hexobarbital)、丙米嗪(imipramine)、吲哚美辛(indomethacin)、兰索拉唑(lansoprazole)、美芬妥因(mephenytoin)、氯胍(proguanil)、吗氯贝胺(moclobemide)、奈非那韦(nelfinavir)、奥美拉唑(omeprazole)、泮托拉唑(pantoprazole)、苯巴比妥(phenobarbital)、氯丙米嗪(clomipramine)、扑痫酮(primidone)、黄体酮(progesterone)、甲苯比妥(methylphenobarbital)、普萘洛尔(propranolol)、替尼泊苷(teniposide)、华法林(warfarin)、尼鲁米特(nilutamide)、埃索美拉唑(Esomeprazole)、雷贝拉唑(rabeprazole)、地西泮(diazepam)
CYP2D6	阿普洛尔(alprenolol)、安非他明(amphetamine)、阿立哌唑(ariiprazole)、阿米替林(amitriptyline)、阿托西汀(atomoxetine)、丁呋洛尔(bufuralol)、卡维地洛(carvedilol)、氯苯那敏(chlorpheniramine)、氯丙嗪(chlorpromazine)、西酞普兰(citalopram)、氯丙米嗪(clomipramine)、氯氮平(clozapine)、可待因(codeine)、异哇胍(debrisoquine)、地昔帕明(desipramine)、多塞平(doxepin)、右芬氟拉明(dexfenfluramine)、右美沙芬(dextromethorphan)、度洛西汀(duloxetine)、恩卡尼(encainide)、氟卡尼(flecainide)、氟西汀(floxetine)、氟伏沙明(flvoxamine)、利多卡因(lidocaine)、吉非替尼(gefitinib)、氟哌啶醇(haloperidol)、马普替林(maprotiline)、丙米嗪(imipramine)、甲氧氯普胺(metoclopramide)、美托洛尔(metoprolol)、米安色林(mianserin)、美西律(mexiletine)、苯哒吗啉(minaprine)、吗啡(morphine)、奈比洛尔(nebivolol)、去甲替林(nortriptyline)、帕罗西汀(paroxetine)、哌克昔林(perhexiline)、奋乃静(perphenazine)、异丙嗪(promethazine)、普罗帕酮(propafenone)、普萘洛尔(propranolol)、乙双胍(phenformin)、非那西汀(phenacetin)、司巴丁(sparteine)、利培酮(risperidone)、他莫西芬(tamoxifen)、甲硫哒嗪(thioridazine)、噻吗洛尔(timolol)、托特罗定(tolterodine)、育亨宾(yohimbine)、曲马多(tramadol)、珠氯噻醇(zuclopenthixol)、文拉法辛(venlafaxine)、金雀花碱(sparteine)、昂丹司琼(ondansetron)、羟考酮(oxycodone)
CYP3A4	阿芬太尼(alfentanil)、阿普唑仑(alprazolam)、氨氯地平(amlodipine)、阿瑞匹坦(aprepitant)、阿立哌唑(ariiprazole)、阿司咪唑(astemizole)、阿托伐他汀(atorvastatin)、阿奇霉素(azithromycin)、丁螺酮(buspirone)、咖啡因(caffeine)、氯苯那敏(chlorpheniramine)、西洛地唑(cilostazol)、西沙必利(cisapride)、克拉霉素(clarithromycin)、可卡因(cocaine)、麦角胺咖啡因片(ergotamine and caffeine tablets)、氨苯砒(dapsone)、环孢霉素(cyclosporine)、可待因(codeine)、地塞米松(dexamethasone)、美沙芬(dextromethorphan)、地西泮

续表

代谢酶	底物
	(diazepam)、地尔硫草(diltiazem)、多西他赛(docetaxel)、多潘立酮(domperidone)、依普利酮(eplerenone)、红霉素(erythromycin)、雌二醇(estradiol)、非洛地平(felodipine)、芬太尼(fentanyl)、非那雄胺(finasteride)、氟哌啶醇(haloperidol)、氢化可的松(hydrocortisone)、伊马替尼(imatinib)、尼群地平(nitrendipine)、乐卡地平(lercanidipine)、伊立替康(irinotecan)、茚地那韦(indinavir)、利多卡因(lidocaine)、洛伐他汀(lovastatin)、美沙酮(methadone)、咪达唑仑(midazolam)、尼索地平(nisoldipine)、硝苯地平(nifedipine)、奈非那韦(nelfinavir)、那格列奈(nateglinide)、昂丹司琼(ondansetron)、紫杉醇(paclitaxel)、黄体酮(progesterone)、匹莫齐特(pimozide)、普萘洛尔(propranolol)、普伐他汀(pravastatin)、奎硫平(quetiapine)、奎尼丁(quinidine)、奎宁(quinine)、利培酮(risperidone)、瑞舒伐他汀(rosuvastatin)、利托那韦(ritonavir)、沙美特罗(salmeterol)、沙奎那韦(saquinavir)、西地那非(sildenafil)、辛伐他汀(simvastatin)、西罗莫司(sirolimus)、类固醇6 β (steroid 6 β -OH)、他克莫司(tacrolimus)、他莫昔芬(tamoxifen)、替利霉素(telithromycin)、特非那定(terfenadine)、睾酮(testosterone)、曲唑酮(trazodone)、三唑仑(triazolam)、维拉帕米(verapamil)、长春新碱(vincristine)、扎来普隆(zaleplon)、齐拉西酮(ziprasidone)、唑吡坦(zolpidem)

药物转运体影响药物在体内的转运过程(摄入和外排),药物转运体的基因多态性会影响药物在体内的转运,进而导致药物在体内的吸收、分布和消除差异。药物转运体根据对底物的转运方向不同分为摄入转运体和外排转运体。摄入转运体,包括有机阴离子转运多肽家族(organic anion transporting polypeptides, OATP)、有机阴离子转运体家族(organic anion transporter, OAT)和有机阳离子转运体家族(organic cation transporters, OCT)等。外排转运体,包括多药耐药蛋白(multi-drug resistant protein, MDR)、多药耐药相关蛋白(multi-drug resistance-associated protein, MRP)以及肝脏胆盐外排泵(bile salt export pump, BSEP)等。药物转运体也可以根据结构分为三磷酸腺苷结合盒转运体(ATP binding cassette transporter, ABC 转运体)和溶质转运蛋白家族(solute transport protein family, SLC 家族)。

药物作用靶点基因多态性可引起药物与作用靶点的亲和力发生改变,导致个体产生不同的药物效应。常见的药物作用靶点有 α 肾上腺素受体(α -adrenoceptor, α -AR)、 β 肾上腺素受体(β -adrenoceptor, β -AR)、血管紧张素受体(angiotensin receptor)、血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)、阿片受体(opioid receptor)、多巴胺受体(dopamine receptor)、组

胺受体(histamine receptor)、5-羟色胺受体(5-hydroxytryptamine receptor, 5-HT)、维生素 D 受体(Vitamin D receptor, VDR)、血小板糖蛋白 II b/III a (platelet glycoprotein II b/III a)、HMG-CoA 还原酶(HMG-CoA reductase)、受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTKs)、线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)等。

有些基因多态性并不是发生在与药物代谢(pharmacokinetics)和药物效应(pharmacodynamics)相关的通路上,也能对药物反应个体差异产生重要的影响。最常见的是人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)基因型引起的罕见药物不良反应。有大量的研究已证实 HLA-B 等位基因与卡马西平(HLA-B* 15:02)、苯妥英(HLA-B* 15:02)、别嘌醇(HLA-B* 58:01)、阿巴卡韦(HLA-B* 57:01)、氨苯砜(HLA-B* 13:01)、甲醋唑胺(HLA-B* 59:01)、氟氯西林(HLA-B* 57:01)等药物所致罕见不良反应发生风险相关。

第三节 药物基因组学常用研究方法

药物基因组学作为一个交叉学科,涉及基因组学、分子生物学、遗传学、药理学、大数据、生物信息学以及临床医学等多个学科,这些学科的研究方法和技术都可以被这门新兴学科所运用。药物基因组学的研究可以从临床现象的发现,再到体外的功能验证,也可是体外的基础研究逐渐过渡到临床研究。因此,药物基因组学的研究也涉及分子细胞水平、动物水平以及人体研究水平等多个方面,本章将主要介绍一些药物基因组学研究中,相对较常见的方法。

一、分子细胞水平

研究基因多态性对基因表达和功能的影响,进而明确基因多态性对药物的影响及机制,是药物基因组学研究中常用的方法。常见的基因多态性包括:单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)、插入缺失突变(insert-deletion, Indel)、微卫星(microsatellite)、微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)、拷贝数变异(copy number variation, CNV)、DNA 甲基化(DNA methylation)、融合基因(fusion gene)等。

基因多态性检测:基因多态性的检测方法较多,包括聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)、限制性片段长度多态性 PCR(PCR-RFLP)、等位基因特异性 PCR(allele-specific PCR, AS-PCR)、高分辨率融解曲线(high-resolution melting curve, HRM)、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)、数字 PCR(digital PCR, dPCR)、荧光原位杂交(fluores-

cence in situ hybridization, FISH)、一代测序(sanger sequencing)、焦磷酸测序(pyrosequencing)、二代测序(next generation sequencing, NGS)、三代测序(third generation sequencing, TGS)。

基因表达检测:基因多态性有可能是直接影响基因的功能而发挥作用,也有可能是影响基因的 mRNA、蛋白质的表达而发挥作用。常用的检测 mRNA、蛋白质表达的技术,如 Real-time PCR、Western blot,在药物基因组学研究中也较常用。

基因过表达:在药物基因组学研究中,常常需要探寻药物和某一特定基因之间的关系。在细胞中过表达这一特定基因是研究药物与基因相互作用的一个非常有效的手段。通过将某一特定基因的 cDNA 连接到特定的表达载体上,构建出重组载体(质粒),然后通过转染的方式将质粒携带的遗传信息在细胞内进行表达。在药物基因组学中,这一方法尤其适用于单核苷酸多态性(SNP)功能的研究。通过定点突变,可以构建具有不同 SNP 的质粒。然后将这些质粒在细胞内表达,再研究其与药物的相互作用,比较不同 SNP 之间功能性的差异。

基因 knockdown:简而言之,基因 knockdown 就是通过实验的方法将细胞内某一特定基因的表达降低的方法。基因 knockdown 与基因过表达一起,成为研究基因功能的一对可以相互印证的方法。比较常见的做法是通过 RNA 干扰技术来实现对特定基因表达的下调。通过转染将与特定基因的 mRNA 互补的小干扰 RNA(siRNA)或者由此设计的短发夹 RNA(shRNA)载体导入细胞内,siRNA 或者载体表达的 shRNA 经修剪形成的 siRNA 会与特定基因的 mRNA 结合,使 mRNA 降解来达到减少其表达的目的。基因编辑技术,如 CRISPR/Cas9 技术等,也是药物基因组学中研究基因突变功能的有效武器。

肝原代细胞培养:肝脏作为药物代谢的最主要器官,一直是药物基因组学的研究重点。相比被广泛使用的肝脏肿瘤源性细胞(如 HepG2 等),原代细胞基本保留了肝细胞各种药物代谢酶、转运体的活性,所以原代细胞也更多地被用来研究药物的代谢通路以及药物对代谢酶的诱导和抑制。HepaRG 细胞是另外一种越来越被广泛使用的肝源性细胞。通过对未分化的 HepaRG 细胞进行培养;研究人员可以获得相较 HepG2 细胞高出许多的肝源性酶的表达,这也使得 HepaRG 细胞在一定程度上能够替代肝原代细胞来开展研究。

肝微粒体研究:通过机械外力将肝组织细胞破坏,肝细胞的内质网会形成数量众多的小囊结构,可溶性药物代谢酶就存在于这种小囊结构(肝微粒体)中。通过差速离心将肝微粒体和其他细胞碎片进行分离,然后再通过超高速离心将肝微粒体中的其他杂质清除。这种方法获得的肝微粒体基本保留了肝

细胞酶的活性,可以方便地用来研究药物的代谢通路和产物,筛选酶的抑制剂和诱导剂,以及在体外研究药物的相互作用。因为细胞结构被破坏,肝微粒体无法用于药物对药物代谢酶基因调控的研究。

二、动物水平

动物水平的研究是连接体外研究和人体研究的桥梁。一个合适的动物模型对于验证体外实验获得的结果是至关重要的,同时动物实验的结果也为下一步的临床试验研究提供数据支持。

基因敲除小鼠:在药物基因组学中,如果需要进一步明确某一基因在药物代谢中所起的作用,或者明确药物的作用途径,使用基因敲除的小鼠已经成为一个极其有力的工具。从最开始的全基因组敲除,到现在的组织特异性敲除;从单基因敲除,到多个基因敲除;对于科研工作者来说,最重要的工作就是如何挑选出最适合的动物模型来开展研究。

人源化转基因小鼠:虽然动物实验能够为之后的临床试验提供数据支持,但由于种属差异,药物在动物和人体中经常呈现不同的毒性或者作用。这也导致了很多在临床前表现有效的药物,却在之后的临床试验中失败。人源化的转基因小鼠为科研人员提供了很好的途径来解决此问题。将小鼠的某个基因敲除,再插入人源性的同源基因,从而成功让小鼠表达人源性的药物代谢酶、转运体以及核受体。

模型动物:科学家已经构建大量的模型动物来开展对疾病的研究。其中的一些模型动物也可以用于开展药物基因组学的研究。例如华法林耐药大鼠[由于维生素 K 还原酶(VKORC1)基因发生突变,导致的大鼠对华法林的耐受],可用来研究华法林的临床个体差异。

三、人体水平

药物基因组学研究的最终目的是根据个体遗传背景的不同,提供合理的个体化治疗方案。所有在体外和动物水平的研究最终都需要在人体水平进行验证。在循证医学的支持下,任何一个可以用于临床进行个体化治疗的遗传分子标志物都需要经过临床验证。

基于健康受试者的药物基因组学研究:此研究在药物基因组学的研究中起重要的作用。将健康受试者根据某一基因多态性进行分组,再观察分组间对于同一药物处置后反应的差异。利用健康受试者开展研究的优势在于其较少受到疾病状态的影响,更易观察到遗传因素的作用。

基于特定患者的药物基因组学研究:患者是药物基因组学最终的服务对象。正如药物研发必须经过大样本的、对特定患者的试验,才能最终被应用于