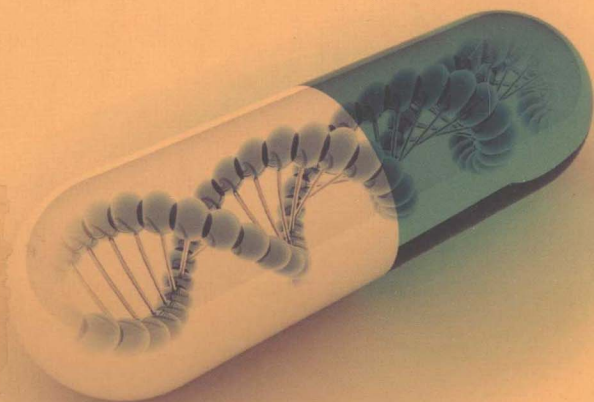


个体化用药基因检测 的临床应用

陈智龙◎编著



云南出版集团公司
云南科技出版社

个体化用药基因检测的临床应用

陈智龙 编著

云南出版集团公司
云南科技出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

个体化用药基因检测的临床应用 / 陈智龙编著. --
昆明: 云南科技出版社, 2015.5

ISBN 978-7-5416-9049-5

I. ①个… II. ①陈… III. ①基因—检测—应用—临
床药学 IV. ①R969.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 107636 号

责任编辑: 欧阳鹏 张 磊

封面设计: 涂文静

责任校对: 叶水金

责任印制: 翟 苑

云南出版集团公司

云南科技出版社出版发行

(昆明市环城西路 609 号云南新闻出版大楼 邮政编码: 650034)

南漳县金鑫印务有限责任公司 全国新华书店经销

开本: 787mm×1092mm 1/32 印张: 11.5 字数: 300 千字

2016 年 3 月第 1 版 2016 年 3 月第 1 次印刷

定价: 62.00 元

目 录

第一章 个体化用药简介	1
第一节 个体化用药概念	1
第二节 个体化用药的发展	9
第三节 目前个体化医疗的发展现状	21
第四节 药物治疗个体化差异的原因	25
第五节 个体化用药过程及现行挑战	27
第六节 个体化用药的曙光	31
第二章 个体化用药理论	37
第一节 合理用药与药物治疗的两面性	37
第二节 药物代谢动力学	46
第三节 药物浓度监测	56
第三章 基因组学	63
第一节 药物基因组学概述	63
第二节 基因组学相关概念	65
第三节 人类基因组计划	79
第四节 药物相关基因的分类	110
第五节 药物基因组学的研究方法与应用	116

第四章 基因检测	122
第一节 基 因	122
第二节 基因检测	130
第五章 个体化用药基因检测的临床应用	140
第一节 结核病用药指导的基因检测:	142
第二节 乙肝病毒耐药突变检测	143
第三节 VKORC1 基因分型指导临床 warfarin (华法林) 用药	144
第四节 铂耐药性检测	145
第五节 5- 氟尿嘧啶用药指导的基因检测	145
第六节 硫基嘌呤类药物用药指导的基因检测	146
第七节 人乳头瘤病毒筛查与宫颈癌预警	147
第八节 咖啡或啤酒可能回影响端粒长度	147
第六章 基因检测指导安全用药	149
第一节 基因与药物	149
第二节 基因检测指导安全用药	151
第七章 个体化医疗	154
第一节 个体化医疗概念	154
第二节 个体化医疗的发展历程	156
第三节 个体化医疗的研究方向与方法	164
第四节 人类基因组计划与个体化医疗	175
第五节 个体化医疗的必然性与重要性	177
第八章 临床分子诊断技术	184
第一节 临床分子诊断技术概述	184
第二节 临床分子诊断技术的发展历史	188
第三节 我国临床分子诊断的现状及应用	191
第四节 我国临床分子诊断存在的问题及对策	207

第五节 临床分子诊断技术基础	211
第六节 基因诊断	234
第七节 酶联免疫吸附测定	238
第八节 DNA 诊断系统	241
第九节 DNA 指纹	245
第十节 遗传性疾病的分子诊断技术	247
第十一节 基因工程疫苗	251
第九章 病理切片与基因检测	255
第一节 病理切片与基因检测	255
第二节 常用的免疫组化标记物	264
第十章 抗肿瘤药物个体化用药	267
第一节 靶向抗肿瘤药物的分类及其代表药物	269
第二节 针对不同靶点的靶向抗肿瘤药物应用	270
第三节 靶向抗肿瘤药物个体化应用的前景	274
第四节 肺腺癌中 EGFR 突变及 ALK 重排的检测	277
第十一章 心血管药物个体化用药	280
第一节 心血管系统安全用药	280
第二节 心脑血管用药的不良反应	318
第三节 心脑血管个体化用药指导	330
第十二章 个体化基因用药的趋势和挑战	338
第一节 个体化基因用药的意义	338
第二节 个体化用药基因检测在我国的挑战	346
第三节 个人用药基因检测的原则问题	351
第四节 其他个体化用药建设	354

第一章 个体化用药简介

第一节 个体化用药概念

个体化用药，就是药物治疗“因人而异”、“量体裁衣”，在充分考虑每个病人的遗传因素（即药物代谢基因类型）、性别、年龄、体重、生理病理特征以及正在服用的其它药物等综合情况的基础上制定安全、合理、有效、经济的药物治疗方案。个体化用药能够减少药物浪费、减轻病人的经济负担和时间花费。

人类基因组约含有 25000 个不同的基因。美国能源部（U.S.Department of Energy）及美国国立卫生研究院（NIH）的研究人员将这些基因“绘制”成了一张人类基因组图谱，这是人类基因组计划所取得的重要成果之一。在全世界科研人员的不懈努力下，人类基因组计划已于 2003 年完成。人类基因组计划（Human Genome Project）的完成大大推进了个性化用药的发展进程。个性化用药自诞生之日起，就因其疗效好的特点而深受人们的欢迎，并受到专业人士的一致推崇，冠以“个性化用药”（Personalized Medicine）之名。《化学化工新闻》（Chemical&Engineering News,C&EN）就是给“个性化用药”冠名的杂志。个性化用药运用新型分子分析方法，根据病人的遗传特征以及所处环境的特点

来帮助医师和病人选择最有效的疾病治疗方法，更好地控制疾病的进展甚至预防疾病的发生，从而实现最佳的医学治疗效果。

个体化用药是现代医学用药的重大进展，我国临床药理学的快速发展始于 20 世纪 70 年代，而国外发展得更早一些。临床药代动力学理论的建立和完善，使得治疗医学领域产生了一门重要技术——治疗药物监测 (TDM)，并在近二十多年的医学实践中发挥重大作用。随着人类基因组学的发展，以及临床药物疗效与毒副作用个体多样性的表现近三年来国外又提出了药物基因组学它可以提高用药的安全性和有效性减少药物不良反应的发生为发展个体化用药提供了新的理论依据。

虽然个性化用药并不是一个十分新颖的概念，但是我们对于个性化用药仍然存在许多疑问：医生会单独与每位患者见面并为其进行单独的诊断、询问患者有何不适、采集相应血样以检测荷尔蒙和胆固醇水平，并同时检查血液中各类型的细胞以及它们的数量吗？如果之前所开的药物对患者的病情没有帮助，医生往往会为其开另一种药。然而，这就是所谓的“个性化用药”了吗？人们也许会对上述一系列问题都给予肯定的答案——不过，真正的个性化用药远不止这些。

据统计，风湿性关节炎药物的有效比率一般为 50%，治疗老年痴呆症药物的有效比率为 30%，而癌症药物的有效比率仅 25%。进行个体化用药的目的是提高药物的疗效，降低药物的毒、副作用，减少医疗费用，让患者花最短的时间、最少的费用，达到最好的治疗效果。

造成药物副作用的其中一个原因就是由于药物本身在人体内的滞留时间太长（代谢过慢），从而对人体造成的累积毒害。我国因药物不良反应而直接或间接住院的病人每年约 250 万人次，直接死亡约 20 万人。据统计，10 ~ 15% 的中国人的药物代谢基因型为弱代谢型，因而常规剂量的药物使用会在人体内造成代谢

产物堆积,产生药物性肝炎或药物中毒等不良反应。而强代谢型人群,因为药物代谢过快,一是药物达不到有效血药浓度,造成药效不佳和药物使用上的浪费;二是某些药物如丙戊酸,代谢产物有严重的肝毒性,强代谢者在使用时需要严格注意用量。相同的药物对不同的病人所产生的作用的不同,迫使医生采取试探性治疗或保守性治疗,用药以及剂量很难做到个性化和针对性。临床上迫切需要有一种诊断指标,可以指引临床上用药达到安全并有效。

基因导向个体化医学的开展可以应用于对人体血液中药物代谢基因型的检测,对药物进行个性化评估,从而个性化选择药物种类和用药剂量,进行个性化指导治疗。

近年来,化学新药的获批比例在逐年下降,而与个体化用药有关的基因检测产品的获批比例却在逐年提高。据统计,美国 FDA 从 2005 年开始批准用于个体化用药指导的基因检测产品上市,到目前为止已批准了 16 个相关产品(包括 CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 等)美国 FDA 已经成立了专门机构研究指导基因与用药的相关政策,奥巴马政府也已把“个体化治疗”作为美国医疗改革的重要内容。(见表 1,表 2)

表 1. 美国 FDA 批准的部分个体化用药基因型检测产品

产品名称	临床用途	FDA 批准时间	申报企业	采用技术	备注
P450 (2D6, 2C19) 基因型检测试剂盒	30 种药物的剂量确定	2005-01	Roche	基因芯片	样本须 PCR 扩增
UGT1A1 基因型检测试剂盒	“依利替康”的适用人群	2005-08	Third Wave	Invader	样本须 PCR 扩增
细胞因子 F2、F5 及 MTHFR 基因型检测试剂盒	指导个体化抗凝治疗	2007-09	Nanosphere	基因芯片	采用信号放大,样本不需 PCR

CYP2C9、VKORC1 基因型检测试剂盒	指导长效抗凝药物华发林的使用剂量。	2007-09	Nanosphere	基因芯片	采用信号放大, 样本不需 PCR
		2008-01	Autogenomics	基因芯片	样本须 PCR 扩增
		2008-04	PARAGONDX	基因芯片	样本须 PCR 扩增
		2008-07	OSMETECH	电传感器	样本须 PCR 扩增

表 2.FDA 要求在说明书中注释相关基因的多态性

CYP2C19	氯吡格雷、伏立康唑、奥美拉唑、泮托拉唑、艾美拉唑、雷贝拉唑
CYP2C9	地西泮、那非那韦 塞来考昔、华法林
CYP2D6	阿托西汀、文拉法辛、利哌利酮、塞托溴胺吸入、他莫昔芬、噻吗洛尔、氟西汀、奥氮平、西维美林、托特罗定、特比萘芬、曲马多、氯氮平、阿立哌唑、美托洛尔、普萘洛尔、卡维地洛、普罗帕酮、硫利达嗪、普罗替林、可待因
DPYD	卡培他滨、氟尿嘧啶乳膏和外用液
G6PD	拉布立酶、氨苯砜、伯氨喹、氯喹
NAT	利福平、异烟肼、吡嗪酰胺
TPMT	硫唑嘌呤、硫鸟嘌呤、6-巯基嘌呤
UGT1A1(*28)	依立替康 (Irinotecan)
VKORC1	华法林

2007 年我国国家卫生部已明确将个体化用药基因检测项目 (包括 CYP2C19 项目和 ALDH2 项目) 列入临床检测目录, 国家食品药品监督管理局也明确将基因检测诊断试剂产品归为Ⅲ类体外诊断试剂管理。(见表 3) 可见药物基因检测的必要性已引起政府及相关领域专家的高度重视, 这必然会带动临床研究的热潮和临床检测市场的强大需求。

表 3. 卫生部列入临床目录的个体化用药基因检测项目

用于病毒、细菌用药指导的基因检测	1、拉米夫定用药指导的基因检测 2、结核病用药指导的基因检测 3、肠球菌耐万古霉素用药指导的基因检测
用于化学药物用药指导的基因检测	1、硝酸甘油用药指导的基因检测 2、5-氟尿嘧啶用药指导的基因检测

P450 家族代谢酶基因的基因突变检测	包括 CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4 基因的突变检测等
---------------------	--

近年来,基因导向个体化用药越来越多的应用于临床治疗,指导临床合理用药,减少医患纠纷。今天的个性化用药往往首先利用基因组技术来获得病人的基因组信息,根据病人的遗传特性制定个性化治疗方案。人类的基因组信息由 DNA 编码,这些遗传密码就像一本说明书,指导组成人体的每个分子的合成。人类基因组一共约含有 30 亿个碱基。如果将两个没有亲缘关系的人各自所含有的 30 亿碱基进行一一比对就会发现,二者之间可能有三百万个碱基存在差异,而正是这三百万个碱基之间的差异造成了人与人之间的差异。支持这一观点的一个典型证据是孩子与其父母的基因组呈现高度物理相似性,这是因为孩子几乎拥有与其父母相同的遗传变异,这正是许多家族性疾病的诱因。

在美国,目前应用最广泛的医疗方法主要有两种:第一种是处于主流地位的传统“西方”疗法——对抗性医疗;而第二种则是被称为“东方”疗法的替代性医疗。例如,当一个人出现糖尿病症状时,这些症状会与其他糖尿病患者的症状相同,比如血糖升高等。医生将根据从许多具有这种症状的病人身上获得的研究成果,来制定具体的治疗方案。

而个性化用药,则是无论患者所患何病,医生都会首先查看病人的遗传密码然后再确定具体的治疗方案。以糖尿病为例,医生会综合考虑糖尿病病人的遗传信息、血糖水平以及胰腺的功能状况等因素再为病人确定合适的治疗方案。于此相应而生的还有个体化医学和个体化治疗。

个体化医学根据个人的遗传信息,对疾病实行早期查出,终生量体裁衣预防和治疗疾病一新的医疗保健模式。个体化治疗根据病人个体的遗传变异选择合适的药物和合适的剂量一新的药物治疗模式。

一、药物动力学研究与个体化用药

临床药代动力学理论为临床个体化给药提供了理论基础。80年代后期,在我国形成了治疗药物监测的新体系。治疗药物监测的目的,是通过测定体液(或血液)中药物浓度,利用药代动力学的原理和计算方法,使给药方案个体化,提高药物的疗效、避免或减少毒性反应。临床使用的药物中有一部分可通过此法进行检验。药代动力学的主要内容是随着时间变化,药物及其代谢产物在生物体液、组织和排泄物中定量变化的规律。为了较为正确地描述需采用适当的数学模型,建立微分方程。一般用房室模型来说明不同药物进入体内的转运。例如环孢素在小肠吸收时可被小肠壁上皮细胞中的 CYP3A 酶系代谢或被小肠上皮细胞表达的 P

一糖蛋白阻止吸收,吸收后主要经肝脏的 CYP3A 酶系代谢。因此,环孢素在人体内的吸收和消除都具有非线性药动学特点,血液中药谷浓度与服用剂量不成比例,稍微增减剂量,均会引起血药浓度较大波动。药师应告知病人不要随意减量。临床上将环孢素改为 150 mg/d 与 125 mg/d 交替使用,这样易致血药浓度波动大,建议改为 135mg/d,结果血药浓度稳定在 130ng/m 左右,环孢素在体内主要由肝脏细胞 P450 酶系的 CYP3A4 和 CYP3A5 代谢,而上市的药品(包括中药或中成药)中,约 60% 都对 CYP3A4 和 CYP3A5 有影响,一些食物对环孢霉素 A 在人体内的药动学过程也有显著影响。因此,在对血药浓度进行分析时,不要忽略一些中成药,甚至保健品以及食物对于环孢素药动学的影响。应依据病人饮食和生活习惯,结合血药溶度监测个体化给药。

一般在下列情况下易采用临床监测给药:

(1) 中毒症状容易和疾病本身的症状混淆的药物。如苯妥英中毒引起的抽搐与癫痫发作不易区别。

(2) 患有肾、肝、心、胃肠道疾病时,常会引起动力学参数的显著变化。

(3) 一些需要长期使用的药物,血药浓度可能因各种原因而发生变化,引起毒性反应。

(4) 治疗指数低,安全范围窄,毒副作用强的药物,如地高辛、茶碱等。

(5) 在治疗剂量范围内药物的药代动力学即是零级过程,机体对药物的消除功能已达饱和状态。随着剂量增大,血药峰浓度不成比例地猛增,伴以消除半衰期明显延长,如苯妥英。

(6) 合并用药时,由于药物的相互作用而引起药物的吸收、分布或代谢的改变,通过血药浓度的监测,可以有效地作出校正。

(7) 药代动力学的个体差异很大,特别是由于遗传性造成药物代谢速率明显差异的情况,如普鲁卡因胺的乙酰化代谢。

临床上常用于测定的药物大约有九大类:

(1) 抗哮喘药:茶碱。

(2) 抗精神病药物:锂、阿密替林、丙咪嗪、去甲咪嗪、普罗替林、多虑平。

(3) 免疫抑制剂:环孢霉素。

(4) 解热镇疼剂:醋氨酚、非那西汀、阿斯匹林、水杨酸钠。

(5) 抗恶性肿瘤药物:甲氨蝶呤。

(6) 抗癫痫药物:苯巴比妥、苯妥英钠、卡马西平、丙戊酸钠、去氧苯比妥、乙琥胺等。

(7) 抗心律失常药:奎尼丁、普鲁卡因胺、利多卡因、胺碘酮。

(8) 强心甙:地高辛。

(9) 抗生素:氨基甙类抗生素如庆大霉素、妥布霉素、丁胺卡那霉素等。

二、药物基因组学与个体化用药

药物基因组学主要是基于药物反应的遗传多态性提出的,属于遗传药理学范畴。药物遗传多态性表现为药物代谢酶、药物转运体、药物受体和药物靶标的多态性等,这些多态性可能导致许多药物治疗中药效和毒副作用的个体间差异。因此,药物基因组学主要阐明药物代谢,药物转运和药物靶分子的基因多态性与药物作用包括疗效和毒副作用之间的关系。上世纪 90 年代启动人类基因组计划后,揭示出 30 亿密码的序列,鉴定出其中 10 万个基因的位置、结构,并阐明其中一部分基因的功能与疾病的关系,单核苷酸多态性 (SNP) 的检测与发现,以及建立单核苷酸多态性为代表的 DNA 序列变异的系统目录,提供了更多基因变异与药物在个体不同效应之间的证据,搞清这种内在联系,则使个体化用药达到最高层次。

例如人血清类粘蛋白 (ORM) 或称 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白 ($\alpha 1$ -AGP),是奎尼丁、双异丙吡胺和阿米替林等弱碱性药物在血浆中的主要结合蛋白质。又因 ORM1 具遗传多态性,因而不同 ORM1 表型蛋白质结构的不同,必然引起其功能(与血浆中的药物结合)的差异。结果提示,不同 ORM1 表型明显影响奎尼丁的血清游离药物浓度和蛋白结合率(影响分布)。ORM1 F1 表型者给药后的蛋白结合率最低,而游离药物浓度最高。临床上 ORM1 F1 表型者在用奎尼丁等弱碱性药物时,其血中游离药物水平可达 ORM1 S 表型者的 2 倍。由此看出,识别个体血浆结合蛋白质的表型或基因多态性,对于设定最佳的给药剂量尤为重要。综上所述,在临床用药科学化的发展道路上,从最初单纯的标准体重给药法,发展到后来利用药动学原理监测血药浓度制订给药方案,以及目前出现的基因检测,都从不同角度丰富了个体化用药的途径,从而不断地提高临床治疗效果。

第二节 个体化用药的发展

从 1865 年孟德尔第一次提出遗传法则到 20 世纪初遗传法则被广泛认可,从 DNA 为遗传物质基础的确立到遗传代码的阐明,从 DNA 重组技术的发展到自动化程度日益提高的 DNA 测序技术的建立,这一切都为 20 世纪 90 年代人类基因组计划的启动奠定了基础。在完成了人类基因组计划并积累了大量数据之后,科学家们所面临的挑战是如何利用人类基因组计划的巨大资源去改善人类的健康状况并使人类更好地生存。由此探索出一条根据人类基因的差异来实现个体化医疗服务的崭新途径,也为个体化医疗指明了发展方向。

1998 年美国基因泰克公司推出了治疗乳腺癌的新药“赫赛汀”(Herceptin),标志着个体化用药时代的来临。这种药物专门针对具有某种遗传特征的患者设计。

基因不同,机体对特定药物的代谢能力不同,从而直接关系到药物疗效和毒副作用的强弱——若药物在体内代谢较慢,代谢产物不易排出体外,容易积聚而引起药物性肝炎,严重者则引起药物中毒;若药物在体内代谢过快,就会导致常规剂量疗效降低或者无效,延误病情,但是盲目地增加剂量又容易导致用药过量引起的药物性肝炎或药物中毒,据粗略估计,对于一种特定的药物而言,只有三分之一的医生处方真正是“对症下药”;剩余的三分之二,不是药物无效,就是有毒副作用。

据联合国世界卫生组织统计,全球死亡患者中,三分之一是死于不合理用药,而非死于自然疾病本身。而在我国,每年的住

院病人约有 5000 多万，其中至少 250 万与药物不良反应有关，有约 20 万人因此而死亡。

在美国，每年有约 10 万人死于药物不良反应，直接和间接经济损失达 120 亿美元。

药物不良反应成为除了癌症、脑溢血和心脏病外的第四大死因，由此可见，安全用药已成为世界性的公共医疗卫生问题。

善于观察的医生都会发现每个病人对药物的反应是不一样的，显著的差异性与许多因素有关，年龄、性别、健康状况、是否正在服用其他药物等都决定一种药品能否奏效及有何副作用，他们会在临床诊疗过程中自觉地通过调整用药方式来应对这些差异性，这可以说是个体化用药的雏形。

然而随着人类基因组计划的完成和后基因组时代的到来，单纯从年龄、性别和健康状况等角度出发进行所谓的“个体化用药”已远远不够。基因变异是出现任何表型变化的根本因素，遗传因素是导致药物反应个体化差异的源头，真正意义上的个体化用药是利用先进的分子生物学技术（包括基因芯片技术）对不同个体的药物相关基因（药物代谢酶、转运体和受体基因）进行解读，临床医生可以根据病人的基因型资料实施给药方案，并“量体裁衣”式地对病人合理用药，以提高药物的疗效，降低药物的毒副反应，同时减轻病人的痛苦和经济负担，这就是基因导向的个体化用药，它代表了药物基因组学与临床药物治疗的完美结合，具有划时代的意义。

1999 年 4 月 16 日，美国华尔街日报头版的题为“开创个体化药物治疗新纪元——依据个体基因型确定药物类别和药物剂量”的报道，敏锐地向世界提出了基因导向性个体化药物治疗新时代的到来。2005 年 3 月 22 日，美国食品与药品管理局（FDA）颁布了面向药厂的“药物基因组学资料呈递（Pharmacogenomic Data Submissions）指南。该指南旨在敦促药厂在提交新药申请时

依据具体情况，必需或自愿提供该药物的药物基因组学资料，其目的是推进更有效的新型“个体化用药”进程，最终达到视“每个人的遗传学状况”而用药，使患者在获得最大药物疗效的同时，只面临最小的药物不良反应危险。FDA 颁布的新指南无疑吹响了人类向“以药物基因组学为基础的个体化用药”进军的号角。

个体化用药治疗中国发展史，2001 年研制成功国际上第一张针对具体疾病的“高血压个体化用药基因芯片”。2004 年成立个体化用药指导咨询中心，2006 年成立个体化治疗遗传分析中心，2010 年成立中南大学湘雅医学检验所。“个体化用药”医学研究成果走出深闺，让更多的病人达到合理用药的效果。

一、医疗模式的发展历程

医学模式，也即医学观。是人们在探讨人的生命和健康规律过程中形成的世界观和方法论。随着人类社会的发展，世界观不断进步，人们的医学观也不断发生了变化，医学模式也发生了转变和完善，共包括四个阶段的转变。

1. 神灵主义医学模式远古时代，人们认为世间的一切是由超自然的神灵主宰，人类的健康与疾病、生与死都归之于无所不在的神灵，这就是人类早期的健康与疾病观，即神灵主义医学模式。

2. 自然哲学医学模式随着生产力的发展和人类对自然认识能力的不断提高，人类开始运用自然哲学理论解释健康与疾病，如以中国《内经》和希腊医学之父希波克拉底的研究成果为标志的医学思想，它将健康和疾病与外界环境以及心理活动联系起来进行观察和思考，形成了自然哲学的医学模式。

3. 生物—医学模式 15 世纪文艺复兴运动后，自然科学领域涌现出一系列重大发现，一些生物医学基础学科，如生理学、病理学、寄生虫学、药理学、免疫学等都在不断完善与发展，促使人们开始运用生物医学的观点认识生命、健康与疾病，并认为健