



药物基因组PCR篇

# 指南汇编



# 目 录

氯吡格雷抗血小板治疗个体化用药基因型检测指南解读	1-4
2013+CPIC指南：CYP2C19基因型与氯吡格雷治疗（更新版）	5-11
华法林抗凝治疗的中国专家共识	12-18
CPIC华法林指南2017版	19-46
围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南2017	47-56
2018中国痴呆与认知障碍诊治指南(七)阿尔茨海默病的危险因素及其干预	57-62
药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)	63-118
检测项目列表	119



## 指南与共识

# 氯吡格雷抗血小板治疗个体化用药 基因型检测指南解读

钟诗龙<sup>1</sup>, 韩雅玲<sup>2</sup>, 陈纪言<sup>1</sup>, 袁晋青<sup>3</sup>, 孙艺红<sup>4</sup>, 王效增<sup>2</sup>, 李毅<sup>2</sup>

DOI:10.7504/nk2014120302 中图分类号:R541.4 文献标志码:A

**关键词:** 氯吡格雷; 抗血小板治疗; 个体化用药; 基因型检测; 指南

**Keywords:** clopidogrel; antiplatelet therapy; genetic testing; personalized medicine; guideline

氯吡格雷(clopidogrel)是心血管疾病中广泛用于抗血小板的药物。氯吡格雷治疗可明显改善经皮冠状动脉介入治疗术(PCI)术后患者的主要心血管预后,但仍有5%~15%的患者在1年内会出现包括死亡、心肌梗死和脑卒中在内的临床终点事件。产生个体差异的原因除了患者的依从性、冠心病危险因素(肥胖、糖尿病、吸烟)和药物之间的相互作用等因素外,基因变异也扮演着重要作用,特别是直接参与这些药物处置、代谢、转运的基因变异。2010年3月,美国食品药品监督管理局(FDA)宣布氯吡格雷抵抗的“黑框警告”,提醒应用氯吡格雷后出现心血管不良事件与CYP2C19功能缺失的等位基因有关。本文结合中国人的临床证据,解读临床药物基因组学实施联盟(CPIC)的CYP2C19基因检测和氯吡格雷个体化治疗的证据和指南<sup>[1-2]</sup>。

### 1 氯吡格雷的药代动力学和药效学通路介绍

氯吡格雷是一个噻吩并吡啶前体药物,在经过肠道吸收,其中有ABCB1参与。约有85%氯吡格雷经酯酶CES1水解成无活性的羧酸衍生物,仅15%经过肝药酶的两步氧化作用转化成活性硫醇代谢物。在活化过程中,第一步经CYP2C19、CYP1A2和CYP2B6催化代谢为2-氧-氯吡格雷(2-oxo clopidogrel),第二步经CYP2C19、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP3A4和CYP3A5等催化生成活性硫醇

基金项目:十二五国家科技支撑计划(2011BAI11B07),国家自然科学基金(81373486),广东省科技计划项目基金(2012A030400062和2013B021800157)

作者单位:1.广东省人民医院 广东省医学科学院医学研究部 广东省心血管病研究所,广州 510080; 2.沈阳军区总医院心内科,沈阳 110016; 3.中国医学科学院阜外心血管病医院心内科,北京 100037; 4.北京大学人民医院心内科,北京 100044

通信作者:钟诗龙,电子信箱:zhongsl@hotmail.com

代谢物,其中CYP2C19在氯吡格雷活化作用中占有主要作用。最近发现PON1对第二步2-氧-氯吡格雷活化也有作用。氯吡格雷代谢物有多种异构体,其中H4为主要活性代谢物(Clopi-H4),其半衰期约0.5~1.2 h。活性代谢物可选择性不可逆地与血小板表面二磷酸腺苷受体P2Y12结合,减少ADP结合位点,阻断ADP对腺苷环化酶的抑制作用,促进cAMP舒血管物质磷酸蛋白的磷酸化,抑制纤维蛋白原与血小板糖蛋白GPⅡb/Ⅲa受体结合及继发的ADP介导的糖蛋白GPⅡb/Ⅲa复合物的活化,抑制血小板的聚集。

### 2 CYP2C19功能缺失等位基因对氯吡格雷反应性的影响

许多研究发现氯吡格雷的药代动力学和药效学通路上CYP2C9、CYP3A4或CYP3A5、CYP2C19、ABCB1和P2Y12R等基因的变异与氯吡格雷抗血小板效应有关。目前大部分研究主要集中于CYP2C19基因多态性与氯吡格雷抗血小板作用的联系。

CYP2C19基因多态性在不同人种分布差异较大,CYP2C19的\*1、\*2、\*3和\*17在不同的人群中所占的比例比较稳定并且较高。CYP2C19\*2等位基因分布频率在黄种人、白人和黑种人分别为29%、12%和15%。CYP2C19不同位点的等位基因对氯吡格雷的代谢的作用强度不同,在各等位基因中,\*1为正常功能等位基因,\*2-\*8为功能缺失或是降低等位基因,\*17为功能增强等位基因。

### 3 临床使用氯吡格雷药物基因组学检测的证据

诸多证据表明CYP2C19基因型与接受氯吡格雷治疗的冠心病患者的临床终点事件关联,也有一些研究并没有观察到CYP2C19基因型和心血管不

良反应之间的关联性。在报道阴性关联性结果的研究中,入选人群的不良心血管事件的发生率通常较低,这些人群一般为非支架植入者。总之,CYP2C19功能缺失等位基因可减少活性代谢物浓度,降低血小板功能抑制程度,增加心源性死亡、非致命心肌梗死、支架内血栓或脑中风等心血管不良事件的风险。最近一项涉及9个研究9685例患者的荟萃分析显示,与非携带者相比,携带1个和2个CYP2C19功能缺失等位基因患者出现心血管死亡、心肌梗死或缺血性中风的风险增高55%和76%。此外,与非携带者相比,携带1个和2个CYP2C19功能缺失等位基因患者出现支架血栓的风险增加2.67和3.97倍。荟萃分析表明CYP2C19基因型对PCI术后用氯吡格雷治疗的亚洲人群出现不良心脏反应有更大影响。在功能缺失等位基因中,对\*2等位基因的研究最广泛,但数据不能外推到其他功能缺失基因。虽然不同研究CYP2C19\*17等位基因对心血管不良事件影响的数据不一致,但此等位基因似乎可以增加出血风险。因此携带\*17的患者在服用氯吡格雷时应密切注意出血风险。因为中国汉族人CYP2C19\*17等位基因频率很低(<1%),CYP2C19\*17对中国人氯吡格雷抗血小板治疗的影响应该不大。

全基因组关联性研究表明CYP2C9基因多态性可以解释总的氯吡格雷反应性变异的12%<sup>[3]</sup>。因为CYP2C19基因多态性对总的变异贡献相对较小,而且CYP2C19基因分型检测的阳性预测性较低,因此在临床广泛使用之前应评估CYP2C19基因分型在临床中的实用性。目前,TARGET-PCI研究正在评估CYP2C19基因分型的临床实用性。在此单中心研究中,如果患者携带CYP2C19\*2等位基因,将使用普拉格雷作为氯吡格雷的替代抗血小板药物。

#### 4 氯吡格雷药物基因组学检测的临床应用个体化用药建议

临床药物基因组学实施联盟(CPIC)由美国国家卫生研究院(NIH)的药物基因组学组织(<http://www.pgrn.org>)和药物基因组学知识库(<http://www.pharmgkb.or>)组成的促进基础研究向临床转化的组织。它基于临床证据制定指南,旨在帮助临床医生理解现有的基因检测如何能够用于优化药物治疗,而不是推荐谁应该做遗传药理学检测。随着基因型检测或其他测序技术的越来越便利,不久将来越来越多患者在治疗时也许已经知道CYP2C19基因型。

我们结合最新的中国人临床证据,介绍CPIC的CYP2C19基因检测和氯吡格雷个体化治疗的指南<sup>[4]</sup>。

用于指导那些已经知道CYP2C19基因型或者临床医师选择要作CYP2C19基因分型的患者个体化用药。2012年美国心脏病学院基金会和美国心脏协会的ACS指南指出,在不稳定心绞痛(UA)/NSTEMI患者或患者在PCI后应检测CYP2C19功能缺失基因型,用于P2Y12受体抑制剂治疗(C级证据)<sup>[5]</sup>。

CPIC指南建议不携带CYP2C19功能减少等位基因的患者,每天服用氯吡格雷75mg。携带CYP2C19\*17/17或CYP2C19\*1/17基因型的患者,由于出血风险增加,需要时刻观察出血事件是否发生<sup>[6]</sup>。携带CYP2C19功能减少等位基因的患者,有两种选择。

#### 5 氯吡格雷剂量递增方案

第一种选择是增加氯吡格雷剂量。CURRENT-OASIS 7研究结果显示,双倍剂量(第1天600mg,第2~7天150mg,之后75mg/d)较标准剂量(第1天300mg,之后75mg/d)的氯吡格雷显著减少主要终点事件发生率,同时显著减少支架内血栓形成。然而也有研究显示增加剂量获益并不明显。在VerifyNow检测对血栓形成和安全性影响的研究中,通过VerifyNow检测血小板对氯吡格雷效反应的,如无反应性,患者在前6个月每天服用150mg<sup>[7]</sup>。与每天服用75mg相比,服用150mg患者也没有降低死亡、心肌梗死的风险。另一项研究表明,CYP2C19功能减少等位基因的患者,每天服用150mg氯吡格雷也没有增加反应性的比例。因此,这些数据表明维持剂量增加到150mg是不够的<sup>[8]</sup>。

最近研究表明在健康人和ACS患者增加氯吡格雷负荷和(或)维持剂量可以改善CYP2C19\*2杂合型患者的血小板聚集率,但仅轻微改善纯合突变基因型患者的血小板聚集率。大型临床试验表明较高的治疗血小板聚集率的ACS/PCI患者在用较高氯吡格雷剂量治疗时不能减少心血管死亡、非致死性心肌梗死或支架内血栓的风险<sup>[7,9]</sup>。然而,这些临床试验仅加倍氯吡格雷维持剂量,这可能还不够,最近的研究提示在CYP2C19\*2纯合突变患者可能需要更高剂量才能取得充分的血小板抑制率。目前还缺乏单独基于CYP2C19基因型进行氯吡格雷剂量调整的临床研究,所以基于CYP2C19基因型进行氯吡格雷剂量调整的策略还需作进一步验证。

#### 6 换用其他抗血小板药物方案

第二种选择是换用其他抗血小板药物,比如噻氯匹定、普拉格雷、替卡格雷。这些药物的抗血小板

效应不受CYP2C19基因型的影响。与噻氯匹定相比,普拉格雷、替卡格雷更受欢迎,因为噻氯匹定有中性粒细胞减少的风险。此外,通过CYP2C19基因型检测,普拉格雷、替卡格雷的临床疗效已得到证实。在TRITON TIMI 38临床试验的遗传学研究中,在携带不同CYP2C19基因型的患者在服用普拉格雷后,心血管死亡,非致命的心肌梗死、卒中发生率差异没有统计学意义<sup>[10]</sup>。同样,在PLATO研究中,CYP2C19基因型不影响替卡格雷组患者的心血管死亡、心肌梗死、卒中的发生率<sup>[11]</sup>。另外,携带不同CYP2C19基因型患者的出血发生率也没有显著性差异<sup>[10-11]</sup>。这些数据表明CYP2C19功能减少等位基因的患者,可以服用普拉格雷和替卡格雷。CPIC指南同样建议这类患者服用普拉格雷或是其他不受CYP2C19基因型影响的抗血小板药物。然而,这两种药物并不是适合每一个人。频繁出现病理出血,体重<60kg或是伴随其他抗凝药使用的患者不建议服用普拉格雷。有颅内出血史或是频繁出现病理出血,严重的肝损伤患者禁止服用替卡格雷。缺血性脑卒中患者也禁服这两种药物。因此,医生应该根据患者的临床特征来选择抗血小板药物。

优化抗血小板药物治疗可以使效益最大化,减少心血管事件复发风险的同时减少出血事件。在大型随机临床试验证实在择期PCI的ACS患者中普拉格雷优于氯吡格雷,心血管死亡、心肌梗死或卒中风险比为0.81(95%CI 0.73~0.90, P<0.001),支架内血栓降低42%<sup>[12]</sup>。但是由于出血风险,不是所有患者都可以用普拉格雷代替氯吡格雷。值得注意的是,在携带CYP2C19功能缺失基因型患者,普拉格雷优于氯吡格雷,而在CYP2C19强代谢型患者(\*1/\*1基因型患者)中,两者的复合终点无差异<sup>[10]</sup>。

除了普拉格雷,替格瑞洛在大型随机临床试验中也表明在ACS患者中优于氯吡格雷,心血管死亡、心肌梗死或卒中风险比为0.84(95%CI 0.77~0.92, P<0.001),支架内血栓降低26%<sup>[13]</sup>。遗传学亚组分析表明,在携带CYP2C19功能缺失基因型患者中,替格瑞洛可以减少23%主要终点事件(8.6%对11.2%;HR 0.77, 95%CI 0.60~0.99, P=0.038),在没有任何CYP2C19功能缺失基因型患者中,减少14%主要终点事件(8.8%对10.0%;HR 0.86, 95%CI 0.74~1.01),尽管这个减少没有达到统计学意义(P=0.0608)。与氯吡格雷相比,替格瑞洛似乎在携带CYP2C19功能缺失基因型的接受PCI术患者中优势更明显(携带者:7.7%对10.6%, HR 0.71;不携带者:7.4%对8.2%, HR 0.90)。

尽管普拉格雷和替格瑞洛在总体疗效上优于氯吡格雷,但氯吡格雷还会在很长一段时间广泛用于ACS/PCI患者。基因型指导的个体化用药可以识别那些患者适合用那一种抗血小板治疗方案。为了便于氯吡格雷临床个体化治疗方案,图1总结了基于CYP2C19基因型的抗血小板个体化治疗方案建议。如果ACS/PCI患者携带CYP2C19强代谢或超强代谢基因型(\*1/\*1、\*1/\*17和\*17/\*17),推荐使用氯吡格雷标准剂量,如果临床实验室检测显示患者携带CYP2C19功能缺失基因型,如果没有禁忌证,建议

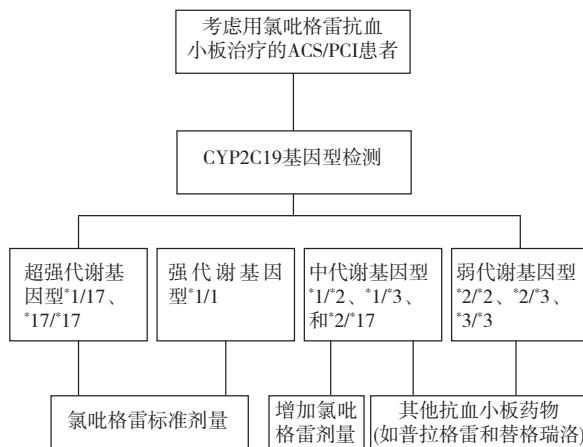


图1 ACS患者在PCI术后在考虑氯吡格雷抗血小板治疗时,基于CYP2C19基因型的个体化用药方案

使用其他抗血小板药物(如普拉格雷、替格瑞洛)<sup>[4]</sup>。

在根据基因型指导的个体化用药中,最难处理的是携带中代谢基因型患者(\*1/\*2、\*1/\*3、\*2/\*17)。与强代谢型患者相比,中代谢基因型患者有较高的治疗残余血小板活性,携带CYP2C19\*2杂合型ACS/PCI患者用氯吡格雷治疗时出现严重心血管事件的风险较高。因此,这些数据支持在没有禁忌的情况下,中代谢基因型患者可增加氯吡格雷维持剂量或换其他抗血小板药物治疗。但是,考虑到中代谢基因型患者的治疗残余血小板活性有很大的个体间差异,临床应考虑引起心血管事件的风险增高的其他因素,以取得最有效的个体化治疗。另外,尽管这些指南主要关注CYP2C19\*2和\*3,许多临床基因型检测平台也包括其他可以引起代谢表型改变的等位基因(如\*4-\*8和\*17)。如上述,体外证据表明\*4-\*8等位基因能引起CYP2C19功能完全缺失。因此,当基因型检测发现ACS/PCI患者携带这些基因型时,应考虑这些等位基因与\*2等位基因对氯吡格雷代谢的影响和引起的临床后果一致。

## 7 CYP2C19 基因分型检测方法

到2011年8月1日为止,美国FDA批准了2种、中国批准了1种CYP2C19基因分型检测的体外诊断方法。这两种可以检测3个CYP2C19基因位点的基因型(\*2,\*3和\*17)。另外也存在一些非FDA批准的CYP2C19基因型检测试剂盒,包括Infiniti®CYP450 2C19+检测方法和一些实验室开发的检测方法,这些方法可以检测一些额外的罕见等位基因的测试基因型,如\*4,\*6~\*10。Infiniti®CYP450 2C19+方法的检测时间可以缩短至8 h内。

## 8 基因检测对患者潜在的利益和风险

CYP2C19基因型检测的潜在好处在于当考虑在ACS/PCI术后患者使用与氯吡格雷治疗时,可以识别心血管事件风险较高的基因型,并考虑采用其他抗血小板治疗策略。然而,尽管有许多证据表明CYP2C19功能缺失基因型增加ACS/PCI术后使用与氯吡格雷治疗的患者出现不良心血管事件风险,但还缺乏随机临床试验证明CYP2C19基因型检测可以提高临床效果。而且,尽管在合格的实验室CYP2C19基因型检测结果直接和可靠,但基因型检测错误仍可能会带来潜在不良后果。因为基因型是终身检测结果,任何差错可引起一辈子的不良健康指导。

## 9 警告:基因型检测的合理应用和潜在误用

在进行CYP2C19基因型检测时,一个挑战是需要检测结果快速返还到临床。因为大量潜在的可以预防的复发事件发生在早期,如证据显示CYP2C19\*2与明确的早期支架内血栓有关,所以在开始抗血小板治疗前获得检测结果更为有利。为了解决这个问题,有公司已经开发了一些床边基因型检测系统,现在一些医学研究中心已经把它应用早期基因型检测系统到临床中。

值得注意的是,这些个体化用药建议主要用于行PCI的ACS患者。目前还没有数据支持CYP2C19基因型检测用于其他场合的用药指导。另外,目前没有数据支持CYP2C19基因型检测用于儿科的氯吡格雷用药指导。然而,没有理由怀疑在儿童中CYP2C19突变等位基因对氯吡格雷代谢的影响会与成人不同。

目前基于基因型进行氯吡格雷处方的临床证据还没有完全建立,是否运用CYP2C19的基因检测和采取调整的治疗方案需要综合考虑。还需进一步深入研究和阐述患者的基因多态性和抗血小板治疗之

间的关系,减少不良心血管反应的发生,可为心血管疾病的防治提供新途径,为患者的个体化治疗提供美好的前景。

## 参考文献

- [1] Hou X, Shi J, Sun H. Gene polymorphism of cytochrome p450 2c19\*2 and clopidogrel resistance reflected by platelet function assays: A meta-analysis[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2014, 70: 1041-1047.
- [2] Xie X, Ma YT, Yang YN, ET AL. Personalized antiplatelet therapy according to cyp2c19 genotype after percutaneous coronary intervention: A randomized control trial[J]. Int J Cardiol, 2013, 168: 3736-3740.
- [3] Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP, et al. Association of cytochrome p450 2c19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy[J]. JAMA, 2009, 302: 849-857.
- [4] Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for cyp2c19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update[J]. Clin Pharmacol Ther, 2013, 94: 317-323.
- [5] Jneid H, Anderson JL, Wright RS, et al. 2012 accf/aha focused update of the guideline for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction (updating the 2007 guideline and replacing the 2011 focused update): A report of the american college of cardiology foundation/american heart association task force on practice guidelines[J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 60: 645-681.
- [6] Sibbing D, Koch W, Gebhard D, et al. Cytochrome 2c19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement[J]. Circulation, 2010, 121: 512-518.
- [7] Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, et al. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: The gravitas randomized trial[J]. JAMA, 2011, 305: 1097-1105.
- [8] Barker CM, Murray SS, Teirstein PS, et al. Pilot study of the antiplatelet effect of increased clopidogrel maintenance dosing and its relationship to cyp2c19 genotype in patients with high on-treatment reactivity[J]. JACC Cardiovasc Interv, 2010, 3: 1001-1007.
- [9] Collet JP, Cuisset T, Range G, et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting[J]. N Engl J Med, 2012, 367: 2100-2109.
- [10] Sorich MJ, Vitry A, Ward MB, et al. Prasugrel vs. Clopidogrel for cytochrome p450 2c19-genotyped subgroups: Integration of the triton-timi 38 trial data[J]. J Thromb Haemost, 2010, 8: 1678-1684.
- [11] Wallentin L, James S, Storey RF, et al. Effect of cyp2c19 and abcb1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: A genetic substudy of the plato trial[J]. Lancet, 2010, 376: 1320-1328.
- [12] Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes[J]. N Engl J Med, 2007, 357: 2001-2015.
- [13] Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes[J]. N Engl J Med, 2009, 361:1045-1057.

# Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2013 Update

SA Scott<sup>1</sup>, K Sangkuhl<sup>2</sup>, CM Stein<sup>3</sup>, J-S Hulot<sup>4,5</sup>, JL Mega<sup>6</sup>, DM Roden<sup>7</sup>, TE Klein<sup>2</sup>, MS Sabatine<sup>6</sup>, JA Johnson<sup>8,9,10</sup> and AR Shuldiner<sup>11,12</sup>

Cytochrome P450 (CYP)2C19 catalyzes the bioactivation of the antiplatelet prodrug clopidogrel, and CYP2C19 loss-of-function alleles impair formation of active metabolites, resulting in reduced platelet inhibition. In addition, CYP2C19 loss-of-function alleles confer increased risks for serious adverse cardiovascular (CV) events among clopidogrel-treated patients with acute coronary syndromes (ACSs) undergoing percutaneous coronary intervention (PCI). Guideline updates include emphasis on appropriate indication for CYP2C19 genotype-directed antiplatelet therapy, refined recommendations for specific CYP2C19 alleles, and additional evidence from an expanded literature review (updates at <http://www.pharmgkb.org>).

This document is an update to the 2011 Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline on the clinical use of CYP2C19 genotype test results for patients requiring antiplatelet therapy.<sup>1</sup> As of April 2013, a prospective randomized controlled trial on CYP2C19 genotype-directed antiplatelet therapy with clinical outcomes has yet to be reported. Consequently, these recommendations are based on evaluation of the currently available evidence. Specifically, the updated therapeutic recommendations are more focused on patients with acute coronary syndromes (ACSs) undergoing percutaneous coronary intervention (PCI) than the original guideline, with additional updates involving refined recommendations for variant and novel CYP2C19 alleles beyond \*2 and

further evidence from an expanded literature review. As in the 2011 guideline, recommendations for the use of other laboratory tests, such as platelet function monitoring, and cost-effectiveness assessments are beyond the scope of this document. This document does not focus on demographic or other clinical variables such as adherence to therapy, age, diabetes mellitus, obesity, smoking, and concomitant use of other drugs that may influence clopidogrel efficacy and clinical decision making. The CPIC of the National Institutes of Health's Pharmacogenomics Research Network and PharmGKB develops peer-reviewed gene/drug guidelines that are published and updated on [www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org) every 2 years or as needed based on significant developments in the field.<sup>2</sup>

## FOCUSED LITERATURE REVIEW

A systematic literature review was conducted on CYP2C19 genotype and clopidogrel response (see **Supplementary Materials and Methods** online). Guidelines for antiplatelet therapy were developed based on interpretation of the available literature by the authors and experts in the field.

## DRUG: CLOPIDOGREL

### Background

Clopidogrel is a thienopyridine prodrug that requires hepatic biotransformation to form an active metabolite that selectively and irreversibly inhibits the purinergic P2RY<sub>12</sub> receptor and thus platelet aggregation for the platelet's life span (~10 days).

<sup>1</sup>Department of Genetics and Genomic Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, New York, USA; <sup>2</sup>Department of Genetics, Stanford University, Stanford, California, USA; <sup>3</sup>Division of Clinical Pharmacology, Department of Medicine and Pharmacology, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA; <sup>4</sup>Department of Pharmacology, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, INSERM UMR S 956, Pitié-Salpêtrière University Hospital, Paris, France; <sup>5</sup>Cardiovascular Research Center, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, New York, USA; <sup>6</sup>Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Study Group, Cardiovascular Division, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA; <sup>7</sup>Department of Medicine and Pharmacology, Office of Personalized Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, USA; <sup>8</sup>Department of Pharmacotherapy and Translational Research, Colleges of Pharmacy and Medicine, Gainesville, Florida, USA; <sup>9</sup>Center for Pharmacogenomics, University of Florida, Gainesville, Florida, USA; <sup>10</sup>Department of Medicine (Cardiology), Colleges of Pharmacy and Medicine, University of Florida, Gainesville, Florida, USA; <sup>11</sup>Department of Medicine and Program for Genomic and Personalized Medicine, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA; <sup>12</sup>Geriatric Research and Education Clinical Center, Veterans Administration Medical Center, Baltimore, Maryland, USA. Correspondence: AR Shuldiner ([ashuldin@medicine.umaryland.edu](mailto:ashuldin@medicine.umaryland.edu))

Received 28 February 2013; accepted 6 May 2013; advance online publication 24 July 2013. doi:10.1038/clpt.2013.105

Only 15% of the prodrug is available for transformation to the active agent; the remaining 85% is hydrolyzed by esterases to inactive forms. Conversion of clopidogrel to its active metabolite requires two sequential oxidative steps involving several CYP enzymes (e.g., CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A4/5; **Supplementary Figure S1** online). One small association study suggested that paraoxonase 1 (PON1) may also be involved in clopidogrel activation,<sup>3</sup> however, this finding and the reported association between *PON1* variant alleles and clopidogrel response variability was not replicated in multiple recent publications (for review, see ref. 4).

### GENE: CYP2C19

#### Background

A gene summary on *CYP2C19* has recently been published<sup>5</sup> and is available online at PharmGKB: <http://www.pharmgkb.org/gene/PA124#tabview=tab3&subtab=31>. The hepatic *CYP2C19* enzyme contributes to the metabolism of a large number of clinically relevant drugs such as antidepressants, benzodiazepines, mephénytoin, some proton pump inhibitors, and clopidogrel. Like many other *CYP450* superfamily members, the *CYP2C19* gene is highly polymorphic, with >25 known variant alleles (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>) (**Supplementary Tables S1** and **S2** online).<sup>5</sup> The wild-type *CYP2C19\*1* allele is associated with functional *CYP2C19*-mediated metabolism. The most common *CYP2C19* loss-of-function allele is *\*2*(c.681G>A; rs4244285), with allele frequencies of ~15% in Caucasians and Africans, and 29–35% in Asians (**Supplementary Tables S3** and **S4** online). Other *CYP2C19* variant alleles with reduced or absent enzymatic activity have been identified (e.g., *\*3*–*\*8*); however, their frequencies are typically below 1%, with the exception of *CYP2C19\*3* (c.636G>A; rs4986893) in Asians (with an allele frequency of 2–9%; **Supplementary Tables S3** and **S4** online).

With respect to clopidogrel pharmacodynamics, *CYP2C19* loss-of-function alleles are inherited as autosomal codominant traits because heterozygotes (e.g., *\*1/\*2* and *\*1/\*3*) have platelet responsiveness to clopidogrel that lies between homozygous wild-type (i.e., *\*1/\*1*) and loss-of-function allele homozygotes or compound heterozygotes (e.g., *\*2/\*2* and *\*2/\*3*).<sup>6–11</sup> Therefore, on the basis of identified *CYP2C19* genotypes, individuals typically are categorized as extensive metabolizers (EMs; *\*1/\*1*), intermediate metabolizers (IMs; e.g., *\*1/\*2* and *\*1/\*3*),

or poor metabolizers (PMs; e.g., *\*2/\*2* and *\*2/\*3*) **Table 1**. The frequencies of *CYP2C19* PMs are ~2–5% among Caucasians and Africans and ~15% in Asians (**Supplementary Materials and Methods** online).

By contrast, the common *CYP2C19\*17* allele (c.-806C>T; rs12248560) results in increased activity as a consequence of enhanced transcription, with average multiethnic allele frequencies of ~3–21% (**Supplementary Tables S3** and **S4** online). Therefore, individuals who carry this allele may be categorized as ultrarapid metabolizers (e.g., *\*17/\*17*) **Table 1**. Some studies indicate that this allele results in enhanced platelet inhibition and clopidogrel response<sup>10,12–14</sup> and perhaps an increased risk of bleeding complications.<sup>15,16</sup> However, other studies have not identified an effect of *CYP2C19\*17*.<sup>11,17–20</sup> Discordant results in the literature may be due in part to the linkage disequilibrium that exists between *\*17* and *\*2*. Specifically, the gain-of-function “T” allele of *\*17* always occurs on a haplotype that also harbors the wild-type “G” allele of *\*2*, so the observed effect of the gain-of-function *\*17* allele may actually be due, in part, to the absence of the loss-of-function “A” allele of *\*2*. As such, adequate evidence for an independent effect of this allele on clinical outcomes is lacking. Moreover, given that *\*17* is unable to completely compensate for the *\*2* loss-of-function allele,<sup>13</sup> *\*2/\*17* compound heterozygotes should be classified as IMs (see **Supplementary Table S5** online).

#### Linking genetic variability to variability in drug-related phenotypes

Clopidogrel is commonly prescribed for ACSs and/or following PCI. However, responses to clopidogrel vary widely, with inhibition of adenosine diphosphate (ADP)-induced platelet aggregation being normally distributed across a broad range.<sup>11</sup> Many studies have shown that *CYP2C19\*2* heterozygotes and homozygotes have reduced active clopidogrel metabolites and higher on-treatment platelet aggregation as compared with *\*1* homozygotes.<sup>6–8,10,11,21</sup> Moreover, substantial evidence exists linking *CYP2C19* genotype with clinical outcomes among clopidogrel-treated ACS patients, particularly those undergoing PCI,<sup>9–11,18,22–24</sup> probably as a result of decreased formation of the active clopidogrel metabolite. Studies linking *CYP2C19* genotype with variability in clopidogrel response are summarized in **Supplementary Tables S6** and **S7** online, and it is this

**Table 1** Assignment of likely *CYP2C19* phenotypes based on genotypes

Likely phenotype	Genotypes	Examples of diplotypes
Ultraparid metabolizer: normal or increased activity (~5–30% of patients)	An individual carrying two increased activity alleles ( <i>*17</i> ) or one functional allele ( <i>*1</i> ) plus one increased-activity allele ( <i>*17</i> )	<i>*1/*17, *17/*17</i>
Extensive metabolizer: homozygous wild-type or normal activity (~35–50% of patients)	An individual carrying two functional ( <i>*1</i> ) alleles	<i>*1/*1</i>
Intermediate metabolizer: heterozygote or intermediate activity (~18–45% of patients)	An individual carrying one functional allele ( <i>*1</i> ) plus one loss-of-function allele ( <i>*2–*8</i> ) or one loss-of-function allele ( <i>*2–*8</i> ) plus one increased-activity allele ( <i>*17</i> )	<i>*1/*2, *1/*3, *2/*17</i>
Poor metabolizer: homozygous variant, mutant, low, or deficient activity (~2–15% of patients)	An individual carrying two loss-of-function alleles ( <i>*2–*8</i> )	<i>*2/*2, *2/*3, *3/*3</i>

Some rare genotype combinations have unclear predicted metabolic phenotypes; see **Supplementary Table S5** online.

body of evidence, rather than randomized clinical trials, that provides the basis for genotype-informed therapeutic recommendations when considering treatment with clopidogrel (**Table 2**). Of note, the most definitive studies showing a relationship between *CYP2C19* genotype and clopidogrel response have predominantly been conducted in ACS patients, almost all of whom underwent PCI. Therefore, these recommendations do not apply to other situations in which clinicians may consider using clopidogrel, such as medical management of ACS, stroke, and peripheral artery disease.<sup>25,26</sup>

Large meta-analyses (**Supplementary Table S7** online) have shown that clopidogrel-treated ACS patients undergoing PCI who are *CYP2C19*\*2 heterozygotes or homozygotes have an increased risk for major adverse CV events as compared with \*1 homozygotes (hazard ratio (HR) = 1.55, 95% confidence interval (CI) = 1.11–2.17 for heterozygotes; HR = 1.76, 95% CI = 1.24–2.50 for homozygotes) and increased risks of stent thrombosis (HR = 2.67, 95% CI = 1.69–4.22 for heterozygotes; HR = 3.97, 95% CI = 1.75–9.02 for homozygotes).<sup>27</sup> Additional meta-analyses have replicated the association between *CYP2C19* genotype and stent thrombosis, with reported odds ratios ranging from 1.75 to 3.82 among \*2 heterozygotes and homozygotes (**Supplementary Table S7** online).

As described above, a lack of effect of *CYP2C19* loss-of-function alleles on adverse CV outcomes has been reported among clopidogrel-treated patients with lower clinical risks (e.g., in clinical trials with fewer coronary patients undergoing PCI with stenting and in patients receiving clopidogrel for atrial fibrillation and stroke).<sup>25</sup> Consistent with these findings, meta-analyses that include studies with low frequencies of PCI, patients without coronary disease, follow-up periods beyond the duration of clopidogrel therapy, or non-CV outcomes have not supported a major role for *CYP2C19* in clopidogrel response variability in these patient populations<sup>26</sup> (**Supplementary Table S7** online). Consequently, widespread adoption of *CYP2C19*-guided antiplatelet therapy for all patients is not recommended. Rather, this guideline is an example of indication-specific clinical pharmacogenetics whereby *CYP2C19* genotype-directed antiplatelet therapy is limited predominantly to ACS patients managed with PCI (ACS/PCI).<sup>28</sup> Although there are limited data regarding the potential role of *CYP2C19* for elective PCI cases treated with

clopidogrel, these guidelines may also be considered for these patients. However, the lack of indication for other US Food and Drug Administration-approved antiplatelet agents (e.g., prasugrel and ticagrelor) for treatment of elective PCI must be balanced with the boxed warning on the clopidogrel label recommending consideration of alternative antiplatelet therapy in *CYP2C19* PMs with ACS or PCI.

The growing body of literature implicating *CYP2C19*\*2 (and probably other loss-of-function alleles) in adverse clopidogrel responses prompted the Food and Drug Administration to implement a boxed warning on the clopidogrel label describing the relationship between *CYP2C19* pharmacogenetics and drug response among ACS/PCI patients, particularly noting the diminished effectiveness in PMs. Because the Food and Drug Administration warning does not require genetic testing to initiate clopidogrel therapy, if a patient's genotype is unknown, the decision to perform *CYP2C19* testing is up to the individual clinician.

#### Genetic test interpretation

Clinical genotyping tests are available that interrogate variant *CYP2C19* alleles and predict an individual's *CYP2C19* metabolizer phenotype (**Supplementary Materials and Methods** online). Each named star (\*) allele is defined by the genotype at one or more specific single-nucleotide polymorphisms (**Supplementary Table S1** online) and is associated with a level of enzyme activity (**Supplementary Table S2** online). **Table 1** and **Supplementary Table S5** online summarize the assignment of the likely *CYP2C19* phenotype based on common star allele diplotypes, and these assignments are used to link genotypes with personalized antiplatelet therapy.

#### Available genetic test options

A number of Clinical Laboratory Improvement Amendments-certified laboratories offer targeted genetic testing for *CYP2C19*\*2, \*3, and other variant alleles (see **Supplementary Materials and Methods** online). A voluntary listing of testing providers and related genetic test information is publicly available through the Genetic Testing Registry of the National Institutes of Health: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/>. At the time of this writing, only the *CYP2C19*\*2 and \*3 alleles have

**Table 2** Antiplatelet therapy recommendations based on *CYP2C19* status when considering clopidogrel for ACS/PCI patients

Phenotype (genotype)	Implications for clopidogrel	Therapeutic recommendations	Classification of recommendations <sup>a</sup>
Ultrarapid metabolizer (UM) (*1/*17, *17/*17) and extensive metabolizer (EM) (*1/*1)	Normal (EM) or increased (UM) platelet inhibition; normal (EM) or decreased (UM) residual platelet aggregation <sup>b</sup>	Clopidogrel: label-recommended dosage and administration	Strong
Intermediate metabolizer (*1/*2, *1/*3, *2/*17)	Reduced platelet inhibition; increased residual platelet aggregation; increased risk for adverse cardiovascular events	Alternative antiplatelet therapy (if no contraindication), e.g., prasugrel, ticagrelor	Moderate
Poor metabolizer (*2/*2, *2/*3, *3/*3)	Significantly reduced platelet inhibition; increased residual platelet aggregation; increased risk for adverse cardiovascular events	Alternative antiplatelet therapy (if no contraindication), e.g., prasugrel, ticagrelor	Strong

<sup>a</sup>See **Supplementary Materials and Methods** (Strength of Therapeutic Recommendations) online. <sup>b</sup>The *CYP2C19*\*17 allele may be associated with increased bleeding risks (ref. 15). ACS, acute coronary syndrome; PCI, percutaneous coronary intervention.

been adequately studied with respect to clinical outcomes on clopidogrel, although other known loss-of-function alleles with lower frequencies (e.g., \*4 \*8) also likely influence clopidogrel response (see **Supplementary Materials and Methods** online).

### CYP2C19 sequencing and novel variants

In addition to targeted genotyping, clinical laboratories may test *CYP2C19* by direct sequencing, and clinical whole-exome and whole-genome sequencing programs are increasingly being deployed across academic medical centers and commercial laboratories. Sequencing-based tests capture the common *CYP2C19* variants (e.g., \*2 and \*3) but will also identify both rare (e.g., \*4 \*8) and novel *CYP2C19* variant alleles that have untested clinical significance with respect to clopidogrel response (**Supplementary Materials and Methods** online). Available evidence suggests that *CYP2C19* and other drug metabolism genes are highly polymorphic. Although it is challenging to infer any association with clopidogrel response in the context of a novel *CYP2C19* sequence variant, reported variants that are “pathogenic” or “likely pathogenic” (based on the American College of Medical Genetics and Genomics consensus nomenclature) may act in a manner biologically consistent with other common loss-of-function alleles (e.g., \*2 \*8) because these are sequence alterations that typically result in an upstream poly peptide frameshift, premature or mutated stop codon, or canonical splice-site mutation. Novel *CYP2C19* variants classified as having “unknown significance” (e.g., missense alterations, in-frame insertions/deletions, and nonconserved nucleotide substitutions) or “likely benign” should not be assumed to mimic the biological consequences of known *CYP2C19* loss-of-function alleles and their established roles in clopidogrel response variability.

### Incidental findings

There are no diseases or conditions that have been convincingly linked to variation in the *CYP2C19* gene independent of drug metabolism and response.

### Other considerations

*CYP2C19* loss-of-function alleles do not account for all the variability in clopidogrel response. Some studies have implicated variants in other genes associated with clopidogrel response (e.g., *ABCB1*, *CES1*, *CYP2B6*, *CYP2C9*, *P2RY12*, and *PON1*; see **Supplementary Materials and Methods** online for review); however, these have not been consistently replicated.

## THERAPEUTIC RECOMMENDATIONS

CPIC guidelines are designed to help clinicians understand how available genetic test results can be used to optimize drug therapy rather than to recommend in whom pharmacogenetic testing should be conducted. With the growing ease and availability of genetic testing and other sequencing programs, an increasing number of patients in the near future may already know their *CYP2C19* genotype status at the time of treatment, and this document provides guidance on clinical management for those in whom genotype is available or for whom the

clinician chooses to order a *CYP2C19* genotyping test. With respect to other professional statements, the 2012 American College of Cardiology Foundation/American Heart Association ACS guidelines noted that genetic testing for *CYP2C19* loss-of-function alleles may be considered on a case-by-case basis, especially for patients who experience recurrent ACS events despite ongoing therapy with clopidogrel.<sup>29</sup> In addition, the committee recommended that genotyping might be considered if results of testing may alter management, which they suggest until better clinical evidence exists to provide a more scientifically derived recommendation.<sup>29</sup>

Optimal individualized antiplatelet treatment should maximize benefit by reducing risk of recurrent CV events while minimizing adverse effects such as bleeding. Prasugrel is an approved antiplatelet agent that was superior to clopidogrel in a large-scale randomized trial of ACS patients with planned PCI, with an HR for CV death, myocardial infarction, or stroke for prasugrel vs. clopidogrel of 0.81 (95% CI = 0.73–0.90,  $P < 0.001$ ), as well as a 42% reduction in stent thrombosis.<sup>30</sup> However, it may not represent a substitute for clopidogrel in all patients due to an increased risk of non-coronary artery bypass grafting TIMI major bleeding (HR = 1.32, 95% CI = 1.03–1.68;  $P = 0.03$ ), including fatal bleeding (prasugrel = 0.4% vs. clopidogrel = 0.1%;  $P = 0.002$ );<sup>30</sup> its contraindication in some patients (e.g., history of transient ischemic attack, stroke, or intracranial bleeding); and the lower expense of generic clopidogrel following the recent expiration of its patent. Of note, the benefit of prasugrel over clopidogrel was found to be greater in patients with a *CYP2C19* loss-of-function allele,<sup>31</sup> with no significant difference estimated in composite outcome risk between the two antiplatelet agents among *CYP2C19* extensive metabolizers (i.e., \*1/\*1 patients).<sup>32</sup>

In addition to prasugrel, ticagrelor is a recently approved antiplatelet agent that also was superior to clopidogrel in a large-scale randomized trial of ACS patients with an HR for CV death, myocardial infarction, or stroke for ticagrelor vs. clopidogrel of 0.84 (95% CI = 0.77–0.92;  $P < 0.001$ ),<sup>33</sup> including a 26% reduction in stent thrombosis and 18% reduction in all-cause mortality. In the genetic substudy, as compared with clopidogrel, ticagrelor reduced the primary end point by 23% among patients carrying any *CYP2C19* loss-of-function allele (8.6 vs. 11.2%; HR = 0.77, 95% CI = 0.60–0.99;  $P = 0.0380$ ) and 14% among patients without any *CYP2C19* loss-of-function allele (8.8 vs. 10.0%; HR = 0.86, 95% CI = 0.74–1.01), although this reduction did not reach statistical significance ( $P = 0.0608$ ). However, formal interaction testing that evaluated if the effect of ticagrelor vs. clopidogrel varied by genotype was also not significant. Of note, the benefit of ticagrelor as compared with clopidogrel was subsequently shown to appear to be most pronounced among the subset of patients with *CYP2C19* loss-of-function alleles who were undergoing PCI (carriers: 7.7 vs. 10.6%, HR = 0.71; noncarriers: 7.4 vs. 8.2%, HR = 0.90).<sup>34</sup> In addition, it is not known to what extent twice-daily dosing may affect the efficacy of ticagrelor relative to clopidogrel in a real-world setting.

Despite the improvements in overall efficacy reported for prasugrel and ticagrelor as compared with clopidogrel, it is

anticipated that clopidogrel will continue to be a widely prescribed medication for ACS/PCI patients. Genotype-directed therapy could identify patients who benefit most from alternative antiplatelet therapy. For clinicians considering treatment with clopidogrel, **Table 2** and **Figure 1** summarize the therapeutic recommendations for antiplatelet therapy based on *CYP2C19* status. Standard dosing of clopidogrel, as recommended in the product insert, is warranted among ACS/PCI patients with a predicted *CYP2C19* extensive metabolizer or ultrarapid metabolizer phenotype (i.e., \*1/\*1, \*1/\*17, and \*17/\*17).<sup>32</sup> If genotyping from a Clinical Laboratory Improvement Amendments–certified laboratory identifies a patient as a *CYP2C19* PM (i.e., \*2/\*2), current literature supports the use of an alternative antiplatelet agent (e.g., prasugrel or ticagrelor) when not contraindicated clinically.<sup>10,30,31,35–37</sup>

The most challenging patient population to address is the *CYP2C19* IM phenotype (e.g., \*1/\*2, \*1/\*3, and \*2/\*17). IMs have higher on-treatment residual platelet activity on average as compared with extensive metabolizers,<sup>6–8,10,11</sup> and ACS/PCI *CYP2C19*\*2 heterozygotes treated with clopidogrel have increased risks for serious adverse CV outcomes, including stent thrombosis<sup>27</sup> (see **Supplementary Materials and Methods** online). Consequently, these data support switching to an alternative antiplatelet agent for IMs when not contraindicated. However, given the wide interindividual variability in residual platelet activity observed among clopidogrel-treated IMs, clinical judgment also taking into account other factors that may place an IM at increased risk of a CV event (or adverse bleeding event) must be considered to most effectively individualize therapy.

In addition, although these guidelines have been focused on *CYP2C19*\*2 and \*3, many clinical genotyping platforms include other variant alleles (e.g., \*4, \*8 and \*17) that can alter a patient's predicted metabolizer phenotype interpretation (**Supplementary Table S5** online). As mentioned above, the \*4, \*8 alleles have strong *in vitro* evidence for complete loss of function of the *CYP2C19* enzyme (see **Supplementary Materials and Methods** online for references). Consequently, when these alleles are identified among ACS/PCI patients

treated with clopidogrel, they should be considered as influencing clopidogrel metabolism and clinical outcomes consistent with the \*2 loss-of-function allele.

## CLOPIDOGREL DOSE ESCALATION

Recent studies that have evaluated a significantly increased clopidogrel loading and/or maintenance dosing strategy in both healthy subjects and ACS patients have reported improved platelet inhibition among *CYP2C19*\*2 heterozygotes (IMs) based on *ex vivo* platelet aggregation but only nominal improvement among homozygotes (PMs) (see **Supplementary Table S8** online). Large clinical trials that evaluated higher-dose clopidogrel in ACS/PCI patients with high on-treatment platelet reactivity have concluded that adjusting clopidogrel dose on the basis of platelet function monitoring alone does not reduce the incidence of death from CV causes, nonfatal myocardial infarction, or stent thrombosis.<sup>38,39</sup> However, typically these trials only doubled the clopidogrel maintenance dose, which may not be adequate on the basis of recent studies that suggest that even higher doses may be required to achieve adequate platelet inhibition among *CYP2C19*\*2 heterozygotes (see **Supplementary Table S8** online). Given these data and the lack of clinical outcome studies for clopidogrel dose adjustment on the basis of *CYP2C19* status alone, it is currently premature to support an increased dosing strategy based on *CYP2C19* genotype. Future versions of these guidelines (updated on [www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org)) will continue to incorporate results from ongoing clinical trials designed to address these and other emerging issues, including the potential role for platelet function monitoring.

## OTHER CONSIDERATIONS

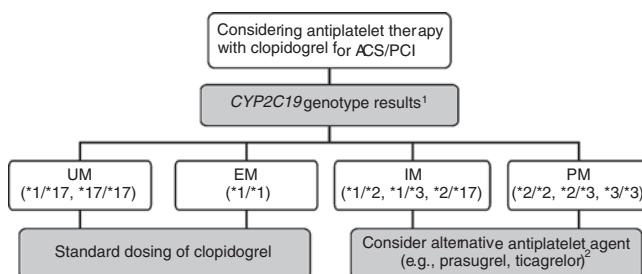
Diabetes mellitus, age, and body mass index are associated with high on-treatment residual platelet aggregation, and use of certain proton pump inhibitors may also affect clopidogrel response.

### Potential benefits and risks for the patient

The potential benefits of *CYP2C19* testing are that when considering treatment with clopidogrel in ACS/PCI patients, genotypes that confer a higher risk of a CV event on clopidogrel can be identified, and an alternative antiplatelet strategy can be instituted. Although there is mounting evidence associating deficient *CYP2C19* with increased risks of adverse CV outcomes in clopidogrel-treated ACS/PCI patients, the absence of randomized clinical trial evidence that *CYP2C19* genotyping improves outcomes must be acknowledged. Furthermore, although *CYP2C19* genotyping is straightforward and reliable when performed in qualified laboratories, as with any laboratory test, an additional possible risk to the patient is an error in genotyping. Because genotypes are lifelong test results, any such error could have adverse health implications for the life of the patient.

### Caveats: appropriate use and/or potential misuse of genetic tests

If pursuing *CYP2C19* genotyping, one of the challenges is the need for rapid turnaround time of results. It would be



**Figure 1** Algorithm for suggested clinical actions based on *CYP2C19* genotype when considering treatment with clopidogrel for ACS patients undergoing PCI (ACS/PCI). <sup>1</sup>Other rare *CYP2C19* genotypes exist beyond those illustrated (see **Supplementary Materials and Methods** online for other genotypes and frequencies). <sup>2</sup>Note that prasugrel and ticagrelor are recommended only when not contraindicated clinically. ACS, acute coronary syndrome; EM, extensive metabolizer; IM, intermediate metabolizer; PCI, percutaneous coronary intervention; PM, poor metabolizer; UM, ultrarapid metabolizer.

advantageous to have the results before initiating antiplatelet therapy because the largest number of potentially preventable recurrent events occur early in treatment. For example, among other clinical and genetic factors, *CYP2C19*\*2 has recently been associated with definite early stent thrombosis in a case-control study.<sup>22</sup> Therefore, if *CYP2C19* genotype is not already known from prior testing, early testing and expedited reporting would be advantageous. To address this issue, point-of-care genetic testing systems have been developed (see **Supplementary Materials and Methods** online), and some academic medical centers have deployed preemptive genotyping programs for selected patient populations.

Of note, as described above, these recommendations apply predominantly to ACS patients undergoing PCI. Current data do not support the use of *CYP2C19* genotype data to guide treatment in other scenarios.<sup>25,26,40</sup> In addition, at the time of this writing, there are no data available on the possible role of *CYP2C19* in clopidogrel response in pediatric patient populations; however, there is no reason to suspect that *CYP2C19* variant alleles would affect clopidogrel metabolism differently in children as compared with adults.

**SUPPLEMENTARY MATERIAL** is linked to the online version of the paper at <http://www.nature.com/cpt>

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the critical input of the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) of the Pharmacogenomics Research Network and PharmGKB, funded by the National Institutes of Health (NIH). This work was supported in part by NIH grants KL2TR000069 (S.A.S.), R24GM61374 (K.S. and T.E.K.), U01HL65962 (C.M.S.), U19HL065962-10 (D.M.R.), U01GM074492 (J.A.J.), U01HL105198 (A.R.S.), and U01GM92666 (CPIC). A.R.S. also acknowledges support from the Baltimore Veterans Administration Medical Center.

CPIC guidelines reflect expert consensus based on clinical evidence and peer-reviewed literature available at the time they are written and are intended only to assist clinicians in decision making and to identify questions for further research. New evidence may have emerged since the time a guideline was submitted for publication. Guidelines are limited in scope and are not applicable to interventions or diseases not specifically identified. Guidelines do not account for all individual variations among patients and cannot be considered inclusive of all proper methods of care or exclusive of other treatments. It remains the responsibility of the health-care provider to determine the best course of treatment for a patient. Adherence to any guideline is voluntary, with the ultimate determination regarding its application to be made solely by the clinician and the patient. CPIC assumes no responsibility for any injury to persons or damage to persons or property arising out of or related to any use of CPIC's guidelines, or for any errors or omissions.

#### CONFLICT OF INTEREST

S.A.S. receives support from NIH for antiplatelet pharmacogenomics research, is a consultant to USDS, and is an assistant director of a clinical laboratory that performs *CYP2C19* testing. J.-S.H. has received research grant support from Biotronik and Medco Research Institute and consulting fees from Biotronik and Medco Health Solutions. J.L.M. receives research grant support through Brigham and Women's Hospital from Bayer Healthcare, Bristol-Myers Squibb, Daiichi-Sankyo, Eli Lilly, Johnson & Johnson, Sanofi-Aventis, Accumetrics, and Nanosphere, and is a consultant to Boehringer Ingelheim, Janssen, and American Genomics. D.M.R. receives support from the NIH for pharmacogenomics research and is a consultant to Merck, Novartis, Dai-Ichi, Sanofi, and Astellas. M.S.S. receives research grant support through Brigham and Women's Hospital from AstraZeneca,

AstraZeneca/Bristol-Myers Squibb Alliance, Bristol-Myers Squibb/Sanofi-Aventis Joint Venture, Daiichi-Sankyo, Eisai, Merck, Sanofi-Aventis, Abbott Laboratories, Accumetrics, Nanosphere, and Roche Diagnostics, and is a consultant to AstraZeneca/Bristol-Myers Squibb Alliance, Merck, and Sanofi-Aventis. J.A.J. receives support from NIH for cardiovascular pharmacogenomics research, including clopidogrel. A.R.S. receives support from the NIH for antiplatelet pharmacogenomics research and is a consultant to USDS. The other authors declared no conflict of interest.

© 2013 American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics

- Scott, S.A. *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (*CYP2C19*) genotype and clopidogrel therapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* **90**, 328–332 (2011).
- Relling, M.V. & Klein, T.E. CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network. *Clin. Pharmacol. Ther.* **89**, 464–467 (2011).
- Bouman, H.J. *et al.* Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat. Med.* **17**, 110–116 (2011).
- Reny, J.L., Combescure, C., Daali, Y. & Fontana, P.; PON1 Meta-Analysis Group. Influence of the paraoxonase-1 Q192R genetic variant on clopidogrel responsiveness and recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *J. Thromb. Haemost.* **10**, 1242–1251 (2012).
- Scott, S.A. *et al.* PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19. *Pharmacogenet. Genomics* **22**, 159–165 (2012).
- Hulot, J.S. *et al.* Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood* **108**, 2244–2247 (2006).
- Brandt, J.T. *et al.* Common polymorphisms of *CYP2C19* and *CYP2C9* affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel. *J. Thromb. Haemost.* **5**, 2429–2436 (2007).
- Giusti, B. *et al.* Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not *CYP3A4* IVS10 + 12G/A and *P2Y12* T744C polymorphisms, is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. *Pharmacogenet. Genomics* **17**, 1057–1064 (2007).
- Collet, J.P. *et al.* Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet* **373**, 309–317 (2009).
- Mega, J.L. *et al.* Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N. Engl. J. Med.* **360**, 354–362 (2009).
- Shuldiner, A.R. *et al.* Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* **302**, 849–857 (2009).
- Frére, C., Cuisset, T., Gaborit, B., Alessi, M.C. & Hulot, J.S. The *CYP2C19*\*17 allele is associated with better platelet response to clopidogrel in patients admitted for non-ST acute coronary syndrome. *J. Thromb. Haemost.* **7**, 1409–1411 (2009).
- Sibbing, D. *et al.* Isolated and interactive impact of common *CYP2C19* genetic variants on the antiplatelet effect of chronic clopidogrel therapy. *J. Thromb. Haemost.* **8**, 1685–1693 (2010).
- Tiroch, K.A. *et al.* Protective effect of the *CYP2C19*\*17 polymorphism with increased activation of clopidogrel on cardiovascular events. *Am. Heart J.* **160**, 506–512 (2010).
- Sibbing, D. *et al.* Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* **121**, 512–518 (2010).
- Li, Y., Tang, H.L., Hu, Y.F. & Xie, H.G. The gain-of-function variant allele *CYP2C19*\*17: a double-edged sword between thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients. *J. Thromb. Haemost.* **10**, 199–206 (2012).
- Geisler, T. *et al.* *CYP2C19* and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. *Pharmacogenomics* **9**, 1251–1259 (2008).
- Simon, T. *et al.*; French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N. Engl. J. Med.* **360**, 363–375 (2009).
- Sorich, M.J., Polasek, T.M. & Wiese, M.D. Systematic review and meta-analysis of the association between cytochrome P450 2C19 genotype and bleeding. *Thromb. Haemost.* **108**, 199–200 (2012).

20. Lewis, J. *et al.* The CYP2C19\*17 variant is not independently associated with clopidogrel response. *J. Thromb. Haemost.* (2013); e-pub ahead of print 29 June 2013.
21. Hulot, J.S. *et al.* CYP2C19 but not PON1 genetic variants influence clopidogrel pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical efficacy in post-myocardial infarction patients. *Circ. Cardiovasc. Interv.* **4**, 422–428 (2011).
22. Giusti, B. *et al.* Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. *Am. J. Cardiol.* **103**, 806–811 (2009).
23. Sibbing, D. *et al.* Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* **30**, 916–922 (2009).
24. Cayla, G. *et al.* Clinical, angiographic, and genetic factors associated with early coronary stent thrombosis. *JAMA* **306**, 1765–1774 (2011).
25. Paré, G. *et al.* Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment. *N. Engl. J. Med.* **363**, 1704–1714 (2010).
26. Holmes, M.V., Perel, P., Shah, T., Hingorani, A.D. & Casas, J.P. CYP2C19 genotype, clopidogrel metabolism, platelet function, and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* **306**, 2704–2714 (2011).
27. Mega, J.L. *et al.* Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA* **304**, 1821–1830 (2010).
28. Johnson, J.A., Roden, D.M., Lesko, L.J., Ashley, E., Klein, T.E. & Shuldiner, A.R. Clopidogrel: a case for indication-specific pharmacogenetics. *Clin. Pharmacol. Ther.* **91**, 774–776 (2012).
29. Jneid, H. *et al.* 2012 ACCF/AHA focused update of the guideline for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction (updating the 2007 guideline and replacing the 2011 focused update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.* **60**, 645–681 (2012).
30. Wiviott, S.D. *et al.*; TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* **357**, 2001–2015 (2007).
31. Mega, J.L. *et al.* Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes. *Circulation* **119**, 2553–2560 (2009).
32. Sorich, M.J., Vitry, A., Ward, M.B., Horowitz, J.D. & McKinnon, R.A. Prasugrel vs. clopidogrel for cytochrome P450 2C19-genotyped subgroups: integration of the TRITON-TIMI 38 trial data. *J. Thromb. Haemost.* **8**, 1678–1684 (2010).
33. Wallentin, L. *et al.*; PLATO Investigators. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* **361**, 1045–1057 (2009).
34. Hulot, J.S., Collet, J.P. & Montalescot, G. Genetic substudy of the PLATO trial. *Lancet* **377**, 637, author reply 637–637, author reply 638 (2011).
35. Wallentin, L. *et al.* Prasugrel achieves greater and faster P2Y12 receptor-mediated platelet inhibition than clopidogrel due to more efficient generation of its active metabolite in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur. Heart J.* **29**, 21–30 (2008).
36. Pena, A. *et al.* Can we override clopidogrel resistance? *Circulation* **119**, 2854–2857 (2009).
37. Montalescot, G. *et al.* Prasugrel compared with high-dose clopidogrel in acute coronary syndrome. The randomised, double-blind ACAPULCO study. *Thromb. Haemost.* **103**, 213–223 (2010).
38. Price, M.J. *et al.*; GRAVITAS Investigators. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial. *JAMA* **305**, 1097–1105 (2011).
39. Collet, J.P. *et al.*; ARCTIC Investigators. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N. Engl. J. Med.* **367**, 2100–2109 (2012).
40. Wallentin, L. *et al.* Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial. *Lancet* **376**, 1320–1328 (2010).

## · 标准与讨论 ·

# 华法林抗凝治疗的中国专家共识

中华医学会心血管病学分会 中国老年学学会心脑血管病专业委员会

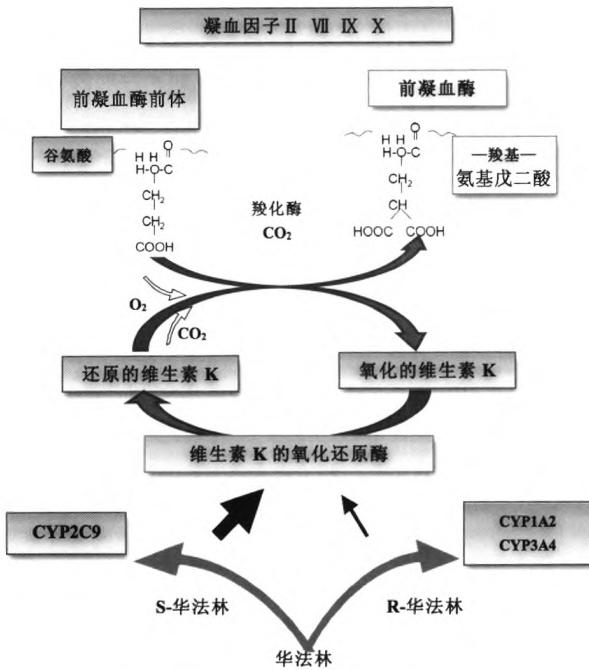
血栓栓塞性疾病的长期抗凝治疗一直是临床中的重要问题。尽管新型抗凝药物研发取得了重要的进展，并已经或即将上市，但是华法林作为最古老的口服抗凝药物仍然是需要长期抗凝治疗患者的最常用药物，包括静脉血栓栓塞性疾病(VTE)的一级和二级预防、心房颤动(房颤)血栓栓塞的预防、瓣膜病、人工瓣膜置换术和腔内血栓形成等<sup>[1]</sup>。华法林在上述领域积累了大量的临床证据，目前全球有数百万患者在使用华法林。非瓣膜病房颤研究荟萃分析显示<sup>[2]</sup>，华法林可使卒中的相对危险度降低 64%，全因死亡率显著降低 26%。但是，华法林在中国的使用率非常低，在房颤患者中不超过 10%<sup>[3]</sup>。导致华法林在临床中治疗率较低的原因包括：治疗窗窄、剂量变异性大、与其他药物及食物相互作用、需要实验室监测等。但是，更重要的原因是临床医生往往高估了华法林的出血危险，而对华法林抗凝作用的重要性认识不足。由于特殊的药理特性使得华法林的使用具有很多特殊性。国内临床医生对于如何应用华法林存在很多顾虑和误区，例如，如何选择适应证、平衡获益和风险、剂量的选择与调整、国际标准化比值(INR)异常升高的处理、如何处理与抗血小板药联合使用以及围手术期的处理等实际问题。为此，中华医学会心血管病学分会与中国老年学学会心脑血管病专业委员会组织制订了本共识，以推广和规范华法林的使用，降低血栓栓塞性疾病的致死率和致残率。

## 一、华法林的药理作用机制

凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ需经过  $\gamma$ -羧化后才能具有生物活性，而这一过程需要维生素 K 参与。华法林是一种双香豆素衍生物，通过抑制维生素 K 及其 2,3-环氧化物(维生素 K 环氧化物)的相互转化而发挥抗凝作用(图 1)<sup>[1]</sup>。羧基化能够促进凝血因子结合到磷脂表面，进而加速血液凝固；而华法林抑制羧基化过程。此外，华法林还因可抑制抗凝蛋白调节素 C 和 S 的羧化作用而具促凝血作用。华法林的抗凝作用能被维生素 K<sub>1</sub>拮抗。香豆素类药物还可以干扰在骨组织中合成的谷氨酸残基的羧化作用，孕妇服用华法林可能导致胎儿骨质异常。

## 二、华法林的药物动力学及药代学

华法林是两种不同活性的消旋异构体 R 和 S 型异构体的混合物(图 1)。华法林经胃肠道迅速吸收，生物利用度高，口服 90 min 后血药浓度达峰值，半衰期 36~42 h，在血液循环中与血浆蛋白(主要是白蛋白)结合，在肝脏中两种



华法林 S 异构体抑制维生素 K 氧化还原酶(VKOR)，华法林 S 异构体主要通过细胞色素 P<sub>450</sub> 2C9 (CYP2C9) 代谢

图 1 华法林的作用机制及代谢酶

异构体通过不同途径代谢。华法林的量效关系受遗传和环境因素影响。

1. 遗传因素：达到同一 INR 水平，白种人和中国人对华法林的耐受剂量明显不同，主要遗传因素包括：(1) 华法林相关的药物基因多态性。国内外均有大量研究发现，编码细胞色素 P<sub>450</sub> 2C9 (CYP2C9) 和维生素 K 氧化还原酶 C1 (VKORC1) 某些位点的多态性可导致对华法林的需求量减少<sup>[4,5]</sup>，还可能与副作用增加有关。(2) 华法林的先天性抵抗，先天性华法林抵抗的病人需要高出平均 5~20 倍的剂量才能达到抗凝疗效，可能与华法林和肝脏受体的亲和力不同有关。(3) 凝血因子的基因突变。

2. 环境因素：药物、饮食、各种疾病状态均可改变华法林的药代动力学。因此，服用华法林的患者在加用或停用任何药物包括中药时应加强监测 INR。S-华法林异构体比 R-华法林异构体的抗凝效率高 5 倍，因此干扰 S-华法林异构体代谢的因素更为重要。保泰松、磺吡酮、甲硝唑及磺胺甲氧嘧啶抑制 S-华法林异构体代谢，均可明显增强华法林对凝血酶原时间(PT)的作用。而西咪替丁和奥美拉唑抑制 R-华法林异构体的清除，仅轻度增强华法林对 PT 的作用。胺碘酮是

R 和 S 两种华法林异构体代谢清除的强抑制剂,可以增强华法林的抗凝作用。增强肝脏对华法林清除的药物有巴比妥、利福平、卡马西平,可抑制其抗凝作用。长期饮酒可增加华法林清除,但是饮用大量葡萄酒却几乎对患者的 PT 不产生影响。与华法林相互作用的常见药物和食物见表 1<sup>[6]</sup>。饮食中摄入的维生素 K 是长期服用华法林患者的主要影响因素之一,应建议患者保持较为稳定的维生素 K 摄入,发生明显变化时应该加强监测。

服用华法林的患者,应避免与非甾体消炎药同时服用,包括环氧合酶-2 选择性非甾体消炎药和某些抗生素。避免与抗血小板药物同时服用,除非获益大于出血危险,如急性冠状动脉综合征(ACS)患者或近期置入支架的患者。

可以影响华法林作用的疾病包括:长期腹泻或呕吐、乏氧状态、化疗、发热和甲状腺功能亢进等;最重要的是肝功能异常,慢性肾功能不全时华法林的剂量需求也会降低。

### 三、华法林的剂量和监测

华法林的有效性和安全性同其抗凝效应密切相关,而剂量-效应关系在不同个体有很大差异,因此必须密切监测防

止过量或剂量不足。PT 反映凝血酶原、因子Ⅶ、因子 X 的抑制程度。在华法林治疗最初几天内,PT 主要反映半衰期为 6 h 的凝血因子Ⅶ 的减少。随后,PT 主要反映凝血因子 X 和因子Ⅱ 的减少。华法林抗凝强度的评价采用 INR,INR 是不同实验室测定的 PT 经过实验室敏感指数(Local ISI)校正后计算得到的。因此,不同实验室测定的 INR 具有可比性。

1. 抗凝强度:华法林最佳的抗凝强度为 INR 2.0~3.0,此时出血和血栓栓塞的危险均最低。不建议低强度 INR < 2.0 的抗凝治疗。在 VTE 和房颤患者进行的低强度抗凝与标准强度抗凝比较的临床随机对照研究很少。大规模的病例对照研究提示 INR < 2.0 时房颤并发卒中的危险明显增加。本共识中除特殊说明,华法林的强度均为 INR 目标范围 2.0~3.0。

2. 初始剂量:随华法林剂量不同口服 2~7 d 后出现抗凝作用。美国胸科医师学会抗栓治疗与血栓预防指南第 9 版(ACCP9)建议<sup>[7]</sup>,对于较为健康的门诊患者,华法林初始剂量 10 mg,2 d 后根据 INR 调整剂量,主要来源于 VTE 的治疗研究。与西方人比较,亚洲人华法林肝脏代谢酶存在较大

表 1 药品、食品、膳食补充剂与华法林的相互作用

影响程度	抗感染药物	心血管药物	非甾体消炎药及免疫抑制剂	中枢神经系统药物	胃肠道药物和食物	中草药	其他药物
增强							
高度可能	环丙沙星、复方磺胺甲噁唑、红霉素;氟康唑、口服异烟肼、甲硝唑、咪康唑凝胶、咪康唑阴道栓、伏立康唑	胺碘酮,安妥明,地尔硫卓;非诺贝特、普罗帕酮、普萘洛尔、磺吡酮(先增强后抑制的双相作用)	保泰松,吡罗昔康	酒精(如合并肝脏疾病)、西酞普兰、恩他卡朋、舍曲林	甲腈咪胍、鱼油、芒果、奥美拉唑	博尔多、葫芦巴、龟苓膏	合成代谢类固醇、齐留通
很可能	阿莫西林-克拉维酸钾、阿奇霉素、克拉霉素、伊曲康唑、左氧氟沙星、利多那韦、四环素	阿司匹林、氟伐他汀、奎尼丁;罗匹尼罗、辛伐他汀	对乙酰氨基酚、阿司匹林、塞来昔布;右丙氧酚、干扰素、曲马多	双硫仑、氟伏沙明、水合氯醛;苯妥英(先增强后抑制的双相作用)	葡萄柚	丹参、当归、宁夏枸杞	左旋咪唑、氟尿嘧啶、吉西他滨/氟尿嘧啶、紫杉醇、他莫昔芬、托特罗定
可能	阿莫西林、阿莫西林-氨甲环酸洗剂;氯霉素、加替沙星、咪康唑外用凝胶、萘啶酸、诺氟沙星、氧氟沙星、沙奎那韦、特比萘芬	中毒量胺碘酮;丙吡胺、吉非罗齐、美托拉宗	塞来昔布、消炎痛、来氟米特、丙氧芬、罗非昔布、舒林酸、托美汀、外用水杨酸	非氨酯	奥利司他	丹参/甲基水杨酸	阿卡波糖、环磷酰胺/甲氨蝶呤/氟尿嘧啶;达托霉素、达那唑、异环磷酰胺、曲妥单抗
不可能	头孢孟多、头孢唑啉、磺胺异恶唑	苯扎贝特、肝素	左旋咪唑、甲基萘、丁美酮	氟西汀与地西泮、喹硫平			依托泊苷/卡铂、左炔诺孕酮
抑制							
高度可能	灰黄霉素、奈夫西林、利巴韦林、利福平	消胆胺	美沙拉嗪	巴比妥类、卡马西平	含大量维生素 K 的食物或肠道营养剂、进食大量鳄梨		巯嘌呤
很可能	双氯西林、利托那韦	波生坦	硫唑嘌呤	氯氮革	豆奶、硫糖铝	人参制品	螯合疗法、流感疫苗、复合维生素补充剂、盐酸雷洛昔芬
可能	特比萘芬	替米沙坦	柳氮磺吡啶		含有紫菜的寿司		环孢素、芳香维甲酸,辅酶 Q <sub>10</sub>
不可能	氯唑西林、萘夫西林/双氯西林、替考拉宁	呋塞米		丙泊酚		绿茶	

差异,中国人的平均华法林剂量低于西方人。中国人房颤的抗栓研究中华法林的维持剂量大约为 3 mg<sup>[8]</sup>。

- 为了减少过度抗凝的情况,通常不建议给予负荷剂量。治疗不紧急(如慢性房颤)而在门诊用药时,由于院外监测不方便,为保证安全性,也不建议给负荷剂量。

- 建议中国人的初始剂量为 1~3 mg(国内华法林主要的剂型为 2.5 mg 和 3 mg),可在 2~4 周达到目标范围。

- 某些患者如老年、肝功能受损、充血性心力衰竭和出血高风险患者,初始剂量可适当降低。

- 如果需要快速抗凝,如 VTE 急性期治疗,给予普通肝素或低分子肝素与华法林重叠应用 5 d 以上,即在给予肝素的第 1 天或第 2 天即给予华法林,并调整剂量,当 INR 达到目标范围并持续 2 d 以上时,停用普通肝素或低分子肝素。

国内外已经将华法林剂量有关的基因多态性检测商品化,主要是 CYP2C9 和 VKORC1。美国 FDA 也于 2008 年对华法林的说明书进行了更新,建议可通过基因多态性检测来帮助进行初始剂量的选择。基因多态性只能解释 30%~60% 的华法林个体差异<sup>[9]</sup>,还需综合考虑患者的体表面积、肝肾功能及合并用药等因素来选择合适的剂量。目前,国外指南还不推荐对所有服用华法林的患者常规进行基因检测来决定剂量。如有条件,基因型测定将有助于华法利剂量的调整。

3. 剂量调整:治疗过程中剂量调整应谨慎,频繁调整剂量会使 INR 波动。

- 如果 INR 连续测得结果位于目标范围之外再开始调整剂量,一次升高或降低可以不急于改变剂量而应寻找原因。

- 华法林剂量调整幅度较小时,可以采用计算每周剂量,比调整每日剂量更为精确。

- INR 如超过目标范围,可升高或降低原剂量的 5%~20%,调整剂量后注意加强监测。

- 如 INR 一直稳定,偶尔波动且幅度不超过 INR 目标范围上下 0.5,可不必调整剂量,酌情复查 INR(可数天或 1~2 周)。

4. 监测频率:治疗监测的频率应该根据患者的出血风险和医疗条件。

- 住院患者口服华法林 2~3 d 后开始每日或隔日监测 INR,直到 INR 达到治疗目标并维持至少 2 d。此后,根据 INR 结果的稳定性数天至 1 周监测 1 次,根据情况可延长,出院后可每 4 周监测 1 次。

- 门诊患者剂量稳定前应数天至每周监测 1 次,当 INR 稳定后,可以每 4 周监测 1 次。如果需调整剂量,应重复前面所述的监测频率直到 INR 再次稳定。

由于老年患者华法林清除减少,合并其他疾病或合并用药较多,应加强监测。长期服用华法林患者 INR 的监测频率受患者依从性、合并疾病、合并用药物、饮食调整等因素影响。服用华法林 INR 稳定的患者最长可以 3 个月监测 1 次 INR<sup>[10]</sup>。

5. INR 异常和(或)出血时的处理:INR 升高超过治疗范围,根据升高程度及患者出血危险采取不同的方法(表 2)。服用华法林出现轻微出血而 INR 在目标范围内时,不必立即停药或减量,应寻找原因并加强监测。患者若出现与华法林相关的严重出血,首先应该立即停药,输凝血酶原复合物迅速逆转抗凝,还需要静脉注射维生素 K<sub>1</sub> 5~10 mg。

当患者发生出血并发症,但同时又需要抗凝治疗来预防栓塞(如机械性心脏瓣膜或有房颤及其他危险因素的患者)时,长期治疗非常困难。可以考虑以下两种方法:(1)找出并治疗出血的原因;(2)是否可以降低抗凝强度。如果能够找到可逆性的出血原因,可采取多种方法来治疗导致出血的病因(如积极的抗溃疡治疗),或者在合适的患者改用抗血小板药物。

#### 6. 不良反应:

(1) 出血:抗凝治疗可增加患者出血性并发症风险,因此在治疗前以及治疗过程中应注意对患者出血风险进行评估,并确定相应的治疗方案。华法林导致出血事件的发生率因不同治疗人群而异。例如,在非瓣膜病房颤患者的前瞻性临床研究中,华法林目标为 INR 2~3 时严重出血的发生率为每年 1.4%~3.4%,颅内出血的发生率为 0.4%~

表 2 国际标准化比值(INR)异常升高或出血时的处理

INR 异常升高或出血情况	需采取的措施
INR > 3.0~4.5(无出血并发症)	适当降低华法林剂量(5%~20%)或停服 1 次,1~2 d 后复查 INR。当 INR 恢复到目标值以内后调整华法林剂量并重新开始治疗。或加强监测 INR 是否能恢复到治疗水平,同时寻找可能使 INR 升高的因素
INR > 4.5~< 10.0(无出血并发症)	停用华法林,肌内注射维生素 K <sub>1</sub> (1.0~2.5 mg),6~12 h 后复查 INR。INR < 3 后重新以小剂量华法林开始治疗
INR ≥ 10.0(无出血并发症)	停用华法林,肌内注射维生素 K <sub>1</sub> (5 mg),6~12 h 后复查 INR。INR < 3 后重新以小剂量华法林开始治疗。若患者具有出血高危因素,可考虑输注新鲜冰冻血浆、凝血酶原浓缩物或重组凝血因子 VIIa
严重出血(无论 INR 水平如何)	停用华法林,肌内注射维生素 K <sub>1</sub> (5 mg),输注新鲜冰冻血浆、凝血酶原浓缩物或重组凝血因子 VIIa,随时监测 INR。病情稳定后需要重新评估应用华法林治疗的必要性

注:维生素 K<sub>1</sub> 可以静脉、皮下或口服,静脉内注射维生素 K<sub>1</sub> 可能会发生过敏反应,而口服维生素 K<sub>1</sub> 的起效较慢。当需要紧急逆转抗凝作用时,也可以静脉内缓慢注射维生素 K<sub>1</sub>。当应用大剂量维生素 K<sub>1</sub> 后继续进行华法林治疗时,可以给予肝素直到维生素 K<sub>1</sub> 的作用消失,患者恢复对华法林治疗的反应

0.8%<sup>[11]</sup>。出血可以表现为轻微出血和严重出血,轻微出血包括鼻出血、牙龈出血、皮肤黏膜淤斑、月经过多等;严重出血可表现为肉眼血尿、消化道出血,最严重的可发生颅内出血。房颤中抗凝和危险因素(atrial fibrillation thromboembolic risk factors, ATRIA)注册研究中,房颤患者服用华法林颅内出血的年发生率为0.58%,未抗凝治疗的患者为0.32%。

服用华法林患者的出血风险与抗凝强度有关,还与患者是否为初始用药还是长期抗凝以及是否监测凝血有关。此外,与患者相关的最重要的出血危险因素为出血病史、年龄、肿瘤、肝脏和肾脏功能不全、卒中、酗酒、合并用药尤其是抗血小板药物。目前有多种评估方法应用于临床,其中HAS-BLED评分系统被推荐用于房颤患者。评分为0~2分者属于出血低风险患者,评分≥3分时提示患者出血风险增高<sup>[12]</sup>。

值得注意的是,出血风险增高者发生血栓栓塞事件的风险往往也增高,这些患者接受抗凝治疗的获益可能更大。因此,只要患者具备抗凝治疗适应证仍应进行抗凝药物治疗,而不应将出血危险因素视为抗凝治疗禁忌证。对于此类患者应注意筛查并纠正增加出血风险的可逆性因素,并需加强监测。服用华法林的患者,应该定期综合评估血栓栓塞的风险和出血风险。

(2)非出血不良反应:除了出血外,华法林还有罕见的不良反应:急性血栓形成,可表现为皮肤坏死和肢体坏疽。通常在用药的第3~8天出现,可能与蛋白C和蛋白S缺乏有关。此外华法林还能干扰骨蛋白的合成,导致骨质疏松和血管钙化。

#### 四、抗凝治疗的管理

虽然华法林有很多局限性,剂量调整和监测都比较繁琐,但通过专业门诊对病人随访和教育并进行系统化管理,能够明显增强患者的依从性和用药的安全性。因此,建议在有条件的医院建立专业门诊,加强对长期服用抗凝治疗患者的抗凝管理。按要求监测INR是保障患者安全有效抗凝治疗的重要措施。目前我国患者的INR检测主要在医院中心实验室完成,因流程较为复杂、等候时间较长、需使用静脉血标本,在一定程度上影响了患者的依从性。我国已开始引进INR即时检测技术(point-of-care test, POCT),只需一滴指血,可即时报告检测结果,大大简化了抗凝治疗的检测流程,为INR的门诊、急诊快速检测以及患者家庭监测提供了便利。临床研究显示,与每月进行1次中心实验室的检测相比,服用华法林的患者应用POCT进行家庭自我监测至少同样安全、有效<sup>[13]</sup>。应该对患者进行系统的管理,将患者教育、系统INR监测、随访和与患者良好的沟通融合起来。

#### 五、华法林的临床应用

1. 预防和治疗VTE:深静脉血栓形成和肺栓塞症一般均采用起效快、半衰期短的静脉或皮下注射抗凝药物,便于围术期应用,但有些情况需要长期预防性治疗时可以考虑用华法林与肝素或低分子肝素重叠后长期替代。例如,骨科关节置换术后患者需延长预防,脊髓损伤后康复阶段的患

者,长期使用口服华法林抗凝应该至少延长到损伤1周后。

深静脉血栓形成和肺栓塞患者急性期治疗应采用静脉抗凝药物,包括普通肝素、低分子肝素或磺达肝癸钠,并于第2天开始给予华法林重叠使用,直至INR达到目标值并稳定2d以上。长期治疗的时间取决于出血危险和VTE复发的风险。

通常VTE患者急性期后华法林抗凝至少要3个月,如果VTE的原因不清楚或者危险因素不能消除,则应该考虑长期抗凝治疗。所有长期抗凝治疗的患者都应该定期(每年)再评估血栓和出血危险。

- 如果VTE的发生为外科手术或一过性因素所致,推荐抗凝3个月。
- 首次发生的VTE,如果出血危险高,也建议抗凝治疗3个月。
- 复发的VTE,出血危险高的患者,应该抗凝治疗3个月;出血危险不高,应该长期抗凝。
- 首次发生的、没有原因的VTE,出血危险不高,应长期抗凝。
- VTE合并活动性肿瘤的患者,出血危险不高,应长期抗凝。

• 有血栓形成倾向和复发的患者抗凝治疗时间也应该延长,例如原发的近端静脉血栓形成、恶性肿瘤合并血栓或具有易栓倾向的患者(如因子V Leiden基因型为纯合子)、抗磷脂抗体综合征、抗凝血酶3及蛋白C或蛋白S缺乏。

• 所有慢性血栓栓塞性肺动脉高压(CTPH)患者,应华法林终生治疗。

2. 心脏瓣膜病:心脏瓣膜病合并下列情况时应给予华法林抗凝:

- 风湿性二尖瓣病合并窦性心律的患者,如左心房大于55mm或已经发现左心房血栓的患者。
- 风湿性二尖瓣病合并房颤的患者或发生过栓塞的患者。
- 原因不明的卒中合并卵圆口未闭或房间隔膜部瘤,如服用阿司匹林卒中复发的患者。
- 植入人工生物瓣膜的患者,二尖瓣置换术后建议服用华法林3个月。

• 植入人工机械瓣膜的患者,根据不同类型的人工瓣膜以及伴随血栓栓塞的危险来进行抗凝。主动脉瓣置换术后INR目标为2.0~3.0,而二尖瓣置换术后建议INR目标为2.5~3.5,植入两个瓣膜的患者,建议INR目标为2.5~3.5。

• 植入人工瓣膜发生感染性心内膜炎的患者,应该首先停用华法林,随后评估患者是否需要进行外科手术干预以及是否有中枢神经系统受累的症状,确认患者病情稳定、无禁忌证和神经系统并发症后,可以重新开始华法林治疗。

3. 非瓣膜性房颤:合理的抗凝治疗是预防房颤患者血栓栓塞事件的有效措施,但与此同时亦将增加出血性并发症的风险。因此,在确定患者是否适合进行抗凝治疗前应评估

其获益风险比,当预防血栓栓塞事件的获益超过出血性并发症的风险时方可启动抗凝治疗。

非瓣膜性房颤患者发生缺血性卒中的风险与其基线特征密切相关,根据基线特征对患者进行危险分层是制定正确的抗凝治疗策略的基础<sup>[7]</sup>。目前 CHADS<sub>2</sub> 评分系统是临床应用最为广泛的评估工具。随着 CHADS<sub>2</sub> 评分的增高,非瓣膜病房颤患者未来发生缺血性卒中的风险逐渐增高。若无禁忌证,所有 CHADS<sub>2</sub> 评分≥2 分的房颤患者均应进行长期口服华法林。若非瓣膜病房颤患者 CHADS<sub>2</sub> 评分为 1 分,目前也倾向于给予华法林,优于阿司匹林。

4. 心腔内血栓形成:前壁心肌梗死合并左心室血栓形成患者的抗栓治疗并没有直接的临床研究证据,基于观察性研究和华法林联合阿司匹林的临床证据推荐华法林联合抗血小板药物,但是联合治疗时间应该尽量短,即裸金属支架后 1 个月,药物涂层支架 3~6 个月。

前壁心肌梗死伴左室血栓或左室血栓高危(左室射血分数<40%,心尖前壁运动异常)的患者:

- 未置入支架:前 3 个月应用华法林联合低剂量阿司匹林 75~100 mg/d。此后停用华法林,双联抗血小板治疗至 12 个月。

- 置入裸金属支架:推荐三联治疗(华法林、低剂量阿司匹林、氯吡格雷 75 mg/d)1 个月。第 2~3 个月,应用华法林加一种抗血小板治疗,此后停止华法林治疗,继续应用二联抗血小板治疗 12 个月。

- 置入药物洗脱支架(DES):建议三联治疗(华法林、低剂量阿司匹林、氯吡格雷 75 mg/d)3~6 个月,此后停用华法林,继续应用双联抗血小板治疗至 12 个月。

## 六、特殊情况下的治疗

1. 外科围手术期的处理:临床经常会遇到长期服用华法林的患者需要进行有创检查或者外科手术。此时,患者继续或中断抗凝治疗都有危险,应综合评估患者的血栓和出血危险。完全停止抗凝治疗将使血栓形成的风险增加。正在接受华法林治疗的患者在外科手术前需暂时停药,并应用肝素进行桥接。桥接治疗是指在停用华法林期间短期应用普通肝素或低分子肝素替代的抗凝治疗方法。

若非急诊手术,多数患者一般术前 5 d 停用华法林,根据血栓栓塞的危险程度可采取以下几种方法:

- 血栓栓塞风险较低的患者,可不采用桥接,停药后术前 INR 可恢复到接近正常范围(INR<1.5)。

- 中度血栓栓塞风险的患者,术前应用低剂量普通肝素 5000 U 皮下注射或预防剂量的低分子肝素皮下注射,术后再开始低剂量普通肝素(或低分子肝素)与华法林重叠。

- 具有高度血栓栓塞风险的患者,当 INR 下降时(术前 2 d),开始全剂量普通肝素或低分子肝素治疗。术前持续静脉内应用普通肝素,至术前 6 h 停药,或皮下注射普通肝素或低分子肝素,术前 24 h 停用。

- 进行牙科操作的患者,可以用氨甲环酸,氨基乙酸漱口,不需要停用抗凝药物或术前 2~3 d 停华法林。

- 若 INR>1.5 但患者需要及早手术,可予患者口服小剂量(1~2 mg)维生素 K,使 INR 尽快恢复正常。

术后,根据手术出血的情况,在术后 12~24 h 重新开始肝素抗凝治疗,出血风险高的手术,可延迟到术后 48~72 h 再重新开始抗凝治疗,并重新开始华法林治疗。

2. 稳定性冠心病:口服华法林的患者合并稳定性心绞痛、颈动脉粥样硬化性疾病或外周动脉疾病时,单独应用华法林进行二级预防至少与阿司匹林等效,因此建议此类患者仅应用华法林治疗。

3. ACS 或冠状动脉支架植入术后:具有华法林适应证的患者发生 ACS 或接受经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后,常常需要三联抗栓治疗,即华法林联合氯吡格雷及阿司匹林。现有证据提示,与仅应用双联抗血小板药物治疗者相比,短期(如 4 周)加用华法林并不会显著增加出血事件风险,具有可接受的获益/风险比,但长期应用三联抗栓药物的安全性尚有待论证。一项小规模研究提示,华法林联合氯吡格雷优于三联治疗,但还需更大规模研究证实。对所有患者首先进行出血危险的评估,并尽量选择裸金属支架。当华法林与氯吡格雷和(或)阿司匹林联合应用时应加强凝血功能监测,并将 INR 调控在 2.0~2.5 之间。

- 择期 PCI 术后的患者,置入金属裸支架的房颤患者可短期(4 周)进行三联抗栓治疗,置入药物洗脱支架后需要进行更长时间的三联抗栓治疗(西罗莫司、依维莫司和他克莫司洗脱支架应治疗≥3 个月,紫杉醇洗脱支架应治疗至少 6 个月)。

- ACS 患者若无禁忌证,应用三联抗栓治疗(华法林、阿司匹林和氯吡格雷)。若患者出血风险高且置入裸金属支架,三联抗栓治疗 4 周;若患者出血风险较低而血栓栓塞风险较高,三联抗栓治疗 6 个月。

此后,应用华法林与氯吡格雷(75 mg,1 次/d)或阿司匹林(75~100 mg,1 次/d)治疗至 1 年,必要时可联用质子泵抑制剂或 H<sub>2</sub> 受体拮抗剂。1 年后若患者冠心病病情稳定,单独使用华法林抗凝治疗。

4. 妊娠期间抗凝:华法林能通过胎盘并造成流产、胚胎出血和胚胎畸形,在妊娠最初 3 个月华法林相对禁忌。而肝素不通过胎盘,是妊娠期较好的选择,但是费用较高。妊娠期间有几种治疗选择:

- 妊娠全程应用普通肝素或低分子肝素。
- 妊娠全程应用华法林,分娩时应用普通肝素或低分子肝素。
- 妊娠前期应用肝素,而中后期应用华法林,直至分娩前再转换为普通肝素和低分子肝素。

- 分娩前 12 h 停用肝素和低分子肝素,分娩后与华法林重叠使用 4~5 d,华法林对哺乳婴儿没有抗凝作用。

但是,瓣膜病房颤的妊娠患者血栓栓塞风险很高,可在最初 3 个月和后 3 个月分别给予肝素抗凝,中间 3 个月可给予华法林,此时 INR 应该控制在 2.0~2.5,以减少对胚胎的影响。而对于植入人工机械瓣膜的患者,最佳的策略是给予

华法林并严密监测 INR, 因为普通肝素和低分子肝素的疗效均不确切。欧洲指南认为, 妊娠期间华法林的剂量如果不超过 5 mg/d, 发生胚胎病的风险很低, 可以应用华法林直至孕 36 周<sup>[14]</sup>。ACCP9 建议只有妊娠患者的血栓风险极高时全程给予华法林抗凝, 如二尖瓣置换术或有栓塞病史的患者。如果患者的华法林用量较大, 也可考虑在孕第 6~12 周时给予普通肝素或低分子肝素。此期间应用华法林应该每周监测。妊娠期间 VTE 的预防和治疗应该给予低分子肝素, 但是分娩后可以给予华法林。

5. 癌症患者: 癌症患者发生 VTE 的危险比非肿瘤患者增加 6 倍, 一旦发生 VTE 后癌症患者的生存率明显降低。癌症患者发生 VTE 的危险因素包括: 静脉血栓病史、不活动、激素治疗、血管生长抑制剂治疗等。住院的癌症患者, 根据疾病和手术的危险来决策是否需要预防性的抗凝治疗, 一般给予低分子肝素或普通肝素。

非住院的癌症患者, 如果没有 VTE 的危险因素, 无需常规给予预防性的抗凝治疗包括华法林。实体肿瘤伴有 VTE 危险因素且出血危险不高的患者建议给予预防剂量的低分子肝素或普通肝素。中心静脉置管的患者也不建议常规给予抗凝。癌症患者发生 VTE 后, 首选低分子肝素治疗, 如不能使用低分子肝素, 可给予华法林治疗。治疗时间至少 3 个月, 如果出血危险不高, 应该更长期治疗。

6. 出血性卒中后的治疗: 对于有颅内出血病史的患者, 如果有口服华法林的适应证, 是否能够安全治疗是临床中难以决策的问题。参考国外指南如下建议:

- 如果患者有原发性颅内出血病史通常不建议长期应用抗栓治疗来预防缺血性卒中。
- 某些患者如果颅内出血危险较低(如深部出血)而血栓的危险极高, 如机械瓣植入术后或房颤 CHADS<sub>2</sub> 评分大于 4 分的患者, 仍然可考虑抗凝治疗。此时, 应该严密监测, 尽量降低出血风险。

原发性颅内出血主要指高血压脑出血和脑血管淀粉样变性导致的出血, 也包括服用抗血小板药物和服用治疗强度范围内的抗凝药物时发生的出血。不包括那些存在颅内血管畸形或肿瘤的患者, 也不包括抗凝治疗过量导致出血的患者。

7. 冠状动脉介入和器具植入术的围术期: 在接受 PCI 治疗的患者中, 有 5%~10% 长期服用华法林。目前, 国外指南对于长期服用华法林患者在介入操作术和起搏器植入术围术期建议与外科手术相似: 术前 5 d 停药, 随后根据患者血栓的风险采取相应的“桥接”治疗。欧洲调查显示, 不同地域和不同医院采取的围术期处理策略差异很大, 约 60% 的医生采取桥接治疗<sup>[15]</sup>。近年来研究发现, 不停用治疗强度的华法林, 而直接进行冠状动脉造影或 PCI 是安全的, 但是缺乏大规模的 RCT 研究。此时, 选择桡动脉途径可进一步减少出血, 而同时使用糖蛋白 IIb/IIIa 受体拮抗剂者出血增加。同样, 对于植入起搏器的患者, 研究显示也可以不停用华法林, 继续服用华法林患者的不良事件发生率较低。

## 七、华法林的未来

美国数据显示, 华法林位列因治疗导致急诊住院的 10 大药物之首<sup>[16]</sup>。由于华法林用药监测不方便, 新型口服抗凝药物在静脉血栓栓塞症的预防及治疗、非瓣膜病房颤的卒中预防中取得大量临床证据, 研究结果显示新型口服抗凝药物疗效至少不劣于华法林, 而严重出血性并发症(特别是颅内出血)的风险低于华法林。新型口服抗凝药物无需常规监测凝血功能, 更便于患者长期治疗。然而, 此类药物上市时间尚短, 仍需加强上市后安全性监测并积累临床应用经验, 例如, 老年人和肾功能不全患者的剂量, 与抗血小板药物的联合使用等等。此外, 尚无针对新型口服抗凝剂的拮抗药物, 用药过量或发生出血并发症时需根据患者具体情况做出处理(如催吐、洗胃、输注凝血因子等)。迄今关于新型口服抗凝剂在瓣膜性房颤与人工瓣膜置换和瓣膜修补术后患者的应用尚缺乏临床证据, 这些患者的抗凝治疗仍应选择剂量调整的华法林。在我国华法林仍然具有重要临床地位与广泛应用价值。

共识专家组成员(按姓氏汉语拼音排序): 曹克将(江苏省人民医院); 程晓曙(南昌大学第二附属医院); 董叶钢(中山大学附属第一医院); 高传玉(河南省人民医院); 郭继鸿(北京大学人民医院); 郭涛(昆明医学院第一附属医院); 郭艺芳(河北省人民医院); 胡大一(北京大学人民医院); 黄岚(第三军医大学新桥医院); 李保(山西省心血管病医院); 李勇(复旦大学附属华山医院); 刘少稳(复旦大学附属中山医院); 马长生(首都医科大学附属北京安贞医院); 孙艺红(北京大学人民医院); 汪道文(华中科技大学同济医学院附属同济医院); 王建安(浙江大学医学院附属第二医院); 魏毅东(上海第十人民医院); 吴书林(广东省心血管病研究所); 严激(安徽省人民医院); 杨延宗(大连医科大学附属第一医院); 杨艳敏(中国医学科学院阜外心血管病医院); 赵学(第二军医大学附属长征医院); 朱建华(浙江大学医学院附属第一医院); 朱俊(中国医学科学院阜外心血管病医院)

执笔: 孙艺红

## 参 考 文 献

- [1] Hirsh J, Fuster V, Ansell J, et al. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. J Am Coll Cardiol, 2003, 41: 1633-1652.
- [2] Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. Ann Intern Med, 2007, 146: 857-867.
- [3] Hu D, Sun Y. Epidemiology, risk factors for stroke, and management of atrial fibrillation in China. J Am Coll Cardiol, 2008, 52: 865-868.
- [4] Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. N Engl J Med, 2005, 352: 2285-2293.
- [5] Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, et al. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. Lancet, 1999, 353: 717-719.
- [6] Agoston W, Gallus AS, Wittkowsky A, et al. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed; American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest, 2012, 141 (2 Suppl): e44S-88S.

- [7] Holbrook A, Schulman S, Witt DM, et al. Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*, 2012, 141(2 Suppl):e152S-184S.
- [8] 胡大一, 张鹤萍, 孙艺红, 等. 华法林与阿司匹林预防非瓣膜性心房颤动患者血栓栓塞的随机对照研究. *中华心血管病杂志*, 2006, 34:295-298.
- [9] Manolopoulos VG, Ragia G, Tavridou A. Pharmacogenetics of coumarinic oral anticoagulants. *Pharmacogenomics*, 2010, 11: 493-496.
- [10] Schulman S, Parpia S, Stewart C, et al. Warfarin dose assessment every 4 weeks versus every 12 weeks in patients with stable international normalized ratios: a randomized trial. *Ann Intern Med*, 2011, 155:653-659.
- [11] Agarwal S, Hachamovitch R, Menon V. Current trial-associated outcomes with warfarin in prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation: a meta-analysis. *Arch Intern Med*, 2012, 172:623-631.
- [12] European Heart Rhythm Association, European Association for Cardio-Thoracic Surgery, Camm AJ, et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 2010, 31:2369-2429.
- [13] Matchar DB, Jacobson A, Dolor R, et al. Effect of home testing of international normalized ratio on clinical events. *N Engl J Med*, 2010, 363:1608-1620.
- [14] European Society of Gynecology, Association for European Paediatric Cardiology, German Society for Gender Medicine, et al. ESC Guidelines on the management of cardiovascular diseases during pregnancy: the Task Force on the Management of Cardiovascular Diseases during Pregnancy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 2011, 32:3147-3197.
- [15] Rubboli A, Dewilde W, Huber K, et al. The management of patients on oral anticoagulation undergoing coronary stent implantation: a survey among interventional cardiologists from eight European countries. *J Interv Cardiol*, 2012, 25:163-169.
- [16] Budnitz DS, Lovegrove MC, Shehab N, et al. Emergency hospitalizations for adverse drug events in older Americans. *N Engl J Med*, 2011, 365:2002-2012.

(收稿日期:2012-11-03)

(本文编辑:侯鉴君)

# CLINICAL PHARMACOGENETICS IMPLEMENTATION CONSORTIUM (CPIC)

## GUIDELINE FOR PHARMACOGENETICS-GUIDED WARFARIN DOSING: 2017

### UPDATE

Julie A. Johnson<sup>1</sup>, Kelly E. Caudle<sup>2</sup>, Li Gong<sup>3</sup>, Michelle Whirl-Carrillo<sup>3</sup>, C. Michael Stein<sup>4</sup>, Stuart A. Scott<sup>5</sup>, Ming Ta Michael Lee<sup>6</sup>, Brian F. Gage<sup>7</sup>, Stephen E. Kimmel<sup>8,9</sup>, Minoli A. Perera<sup>10</sup>, Jeffrey L. Anderson<sup>11</sup>, Munir Pirmohamed<sup>12</sup>, Teri E. Klein<sup>3</sup>, Nita A. Limdi<sup>13</sup>, Larisa H. Cavallari<sup>1</sup>, Mia Wadelius<sup>14</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacotherapy and Translational Research, College of Pharmacy, and Center for Pharmacogenomics, University of Florida, Gainesville, Florida, USA

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN

<sup>3</sup>Department of Genetics, Stanford University, Stanford, California, USA

<sup>4</sup>Division of Clinical Pharmacology Vanderbilt Medical School, Nashville, TN, USA

<sup>5</sup>Department of Genetics and Genomic Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY, USA

<sup>6</sup>Laboratory for International Alliance on Genomic Research, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, Japan; National Center for Genome Medicine; Institute of Biomedical Sciences, Academia Sinica, Taipei, Taiwan; Genomic Medicine Institute Geisinger Health system, Danville, PA

<sup>7</sup>Department of Internal Medicine, Washington University in St. Louis, St. Louis, Missouri

<sup>8</sup>Center for Clinical Epidemiology and Biostatistics, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as an 'Accepted Article', doi: 10.1002/cpt.668

<sup>9</sup>Department of Medicine and Department of Biostatistics and Epidemiology, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA

<sup>10</sup>Department of Medicine, University of Chicago, Chicago, IL, USA

<sup>11</sup>Intermountain Heart Institute, Intermountain Medical Center, and Department of Internal Medicine (Cardiology), University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, Utah.

<sup>12</sup>Department of Molecular and Clinical Pharmacology; The Wolfson Centre for Personalised Medicine; Institute of Translational Medicine, University of Liverpool, Liverpool

<sup>13</sup>Department of Neurology and Epidemiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, USA

<sup>14</sup>Department of Medical Sciences, Clinical Pharmacology and Science for Life Laboratory, Uppsala University, Uppsala, Sweden

Corresponding author: Julie A. Johnson, PharmD.; Department of Pharmacotherapy and Translational Research and Center for Pharmacogenomics, University of Florida, Box 100484, Gainesville, FL 32610-0486; phone: 352-273-6309; fax: 352-273-6306; email:  
[Johnson@cop.ufl.edu](mailto:Johnson@cop.ufl.edu)

Abstract/introduction:

Manuscript: Max 3000

References: Max 40

Tables/Figure: Max 5

Key words: warfarin, pharmacogenetics, VKORC1, CYP2C9, CYP4F2, CYP2C, clinical implementation, pharmacogenomics

## **ABSTRACT (75 WORDS)**

This document is an update to the 2011 Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes and warfarin dosing. Evidence from the published literature is presented for *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2*, and rs12777823 genotype-guided warfarin dosing to achieve a target international normalized ratio of 2-3 when clinical genotype results are available. In addition, this updated guideline incorporates recommendations for adult and pediatric patients that are specific to continental ancestry.

## INTRODUCTION

Warfarin is a widely used anticoagulant with a narrow therapeutic index and large inter-patient variability in the dose required to achieve target anticoagulation. Common genetic variants in *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2* and the *CYP2C* cluster (e.g., rs12777823), plus known non-genetic factors, account for ~50% of warfarin dose variability. This document is an update to the 2011 Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes and warfarin dosing and aims to assist in the interpretation and use of *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2*, and rs12777823 genotypes to estimate therapeutic warfarin dose among patients with a target international normalized ratio (INR) of 2-3, should clinical genotype results be available to the clinician. The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) of the National Institute of Health's Pharmacogenomics Research Network develops peer-reviewed gene/drug guidelines that are published and updated periodically on <https://cpicpgx.org/genes-drugs/> and <http://www.pharmgkb.org> based upon new developments in the field (1). These guidelines were written with a global audience in mind, although the majority of the data that underpin these guidelines arise from people of European ancestry, East Asia and African Americans.

## FOCUSED LITERATURE REVIEW

The Supplement includes a systematic literature review on *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2* and other relevant genes/genotypes that have been associated with warfarin dosing. This systematic review forms the basis for the recommendations contained in this guideline. Although some of these genes have also been associated with dose of other coumarin anticoagulants, the recommendations below are specific to warfarin.

## DRUG: WARFARIN

Warfarin (Coumadin® and others) is the most commonly used oral anticoagulant worldwide, with annual prescriptions in the Western world typically equaling 0.5 to 1.5% of the population (2). It is prescribed for treatment and prevention of thromboembolic disorders (3). Although highly efficacious, warfarin dosing is notoriously challenging due to its narrow therapeutic index and wide inter-individual variability in dose requirements even among patients with the same target INR (4). Complications from inappropriate warfarin dosing are among the most frequently reported adverse events to the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and one of the most common reasons for emergency room visits (5).

Warfarin is usually dosed empirically: an initial dose is prescribed, typically followed by at least weekly measurement of the INR and subsequent dose adjustment. The initial dose is often based on population averages (e.g., 4-5 mg/day), but in some settings, it is common to use loading doses during the first few days of anticoagulation. Irrespective of the method used to initiate warfarin, stable doses to achieve an INR of 2-3 range from 1 to 20 mg/day. The iterative process to define the appropriate dose can take weeks to months and during this period, patients are at increased risk of over- or under-anticoagulation, and thus risk of bleeding or thromboembolism.

**Warfarin pharmacology and pharmacokinetics.** **Figure 1** highlights key elements of warfarin pharmacology and pharmacokinetics. Warfarin inhibits vitamin K epoxide reductase complex (6) and is administered as a racemic mixture, with S-warfarin being more potent than R-warfarin (3).

## **GENES: *CYP2C9*, *VKORC1* AND *CYP4F2***

There is substantial candidate gene literature evaluating associations with warfarin dose requirements, as well as several reported genome-wide association studies (**Supplemental Tables S1-S7**). The genes with the strongest literature support, and for which we make recommendations for use in warfarin dosing, are *CYP2C9*, *VKORC1* and *CYP4F2*. Additionally, genome-wide association studies have identified an independently significant single nucleotide polymorphism (SNP) in the *CYP2C* cluster (7), which has also been incorporated into this updated recommendation.

### ***CYP2C9* and warfarin**

*CYP2C9* is a hepatic drug-metabolizing enzyme in the cytochrome P450 (CYP450) superfamily (8), and is the primary metabolizing enzyme of S-warfarin (**Figure 1**). *CYP2C9* has over 60 known variant alleles (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>; ***CYP2C9* allele definition table (9)**). Individuals homozygous for the reference *CYP2C9* allele (*CYP2C9\*1*) have the “normal metabolizer” phenotype. Each named *CYP2C9* star (\*) allele is defined by one or more specific SNPs and to date, 18 alleles have been associated with decreased enzyme activity (***CYP2C9 allele definition table-(9)***). The two most common decreased function alleles among individuals of European ancestry are *CYP2C9\*2* (c.430C>T; p.Arg144Cys; rs1799853) and *CYP2C9\*3* (c.1075A>C; p.Ile359Leu; rs1057910) (8). *CYP2C9* allele frequencies differ between racial/ethnic groups (8, 10).

*In vitro* and *in vivo* studies suggest *CYP2C9\*2* and \*3 impair metabolism of S-warfarin by ~30-40% and ~80-90%, respectively (8). Compared to patients homozygous for *CYP2C9\*1*,

individuals who inherit one or two copies of *CYP2C9*\*2 or \*3 are at greater risk of bleeding during warfarin therapy (11, 12), require lower doses to achieve similar levels of anticoagulation, and require more time to achieve a stable INR (11) (**Supplemental Table S1**). Additional *CYP2C9* alleles (*CYP2C9*\*5, \*6, \*8, and \*11) are associated with decreased function of the *CYP2C9* enzyme and contribute to dose variability. These alleles are found with the highest frequency among those of African ancestry, and collectively are more common than *CYP2C9*\*2 and \*3 in that population (***CYP2C9* frequency table; (9)**).

### ***VKORC1* and warfarin**

*VKORC1* encodes the vitamin K epoxide reductase protein, the target enzyme of warfarin (6). *VKORC1* catalyzes the conversion of vitamin K-epoxide to vitamin K, which is the rate-limiting step in vitamin K recycling (13).

A common variant upstream of *VKORC1* (c.-1639G>A, rs9923231) is significantly associated with warfarin sensitivity and patients with one or two -1639A require progressively lower warfarin doses than -1639G/G homozygotes (10, 14-18). The -1639G>A polymorphism is present on a haplotype that affects *VKORC1* protein expression. (18).

Other common *VKORC1* SNPs or haplotypes do not further improve warfarin dose prediction (10, 16). The c.-1639G>A allele frequency varies among different ancestral populations (***VKORC1* frequency table; (19)**), and largely explains the differences in average dose requirements between whites, blacks and Asians (10, 17). Several rare non-synonymous *VKORC1* variants confer warfarin resistance (high dose requirements) and are detailed in **Supplemental Table S2** (20).

## **CYP4F2 and warfarin**

CYP4F2 is a primary liver vitamin K oxidase that catalyzes the metabolism of vitamin K to hydroxy-vitamin K1 and removes vitamin K from the vitamin K cycle (21) (**Figure 1**). It acts as an important counterpart to VKORC1 in limiting excessive accumulation of vitamin K. The non-synonymous variant *CYP4F2\*3* (c.1297G>A; p.Val433Met; rs2108622) was first shown to affect enzyme activity and associated with warfarin dose in three independent white cohorts (22-24). Furthermore, including this *CYP4F2* variant in warfarin dosing models that included *CYP2C9*, *VKORC1* and clinical factors improved the accuracy of dose prediction (25). This correlation has been confirmed in subsequent studies with those of European and Asian ancestry, though not those of African ancestry (26, 27). Two large meta-analyses (one in Han Chinese that pulled in substantial Chinese literature) provide the best estimates for the influence data of *CYP4F2\*3* on warfarin dose requirements (26, 27). They suggest statistically significant but modest impacts of 8-11% higher warfarin doses in A allele carriers (**Supplemental Table S3**).

## **CYP2C rs12777823 and warfarin**

rs12777823 is a SNP in the *CYP2C* cluster near the *CYP2C18* gene on chromosome 10 and is associated with a clinically relevant effect on warfarin dose through *significant alterations in warfarin clearance*, independent of *CYP2C9\*2* and *\*3* (7). This association was first identified through a genome-wide association study in African Americans ( $p=1.51\times 10^{-8}$ ) and confirmed in a replication cohort ( $p=5.04\times 10^{-5}$ ); meta-analysis of the two cohorts together produced a p value of  $4.5 \times 10^{-12}$ . This study concluded that African Americans who are heterozygous or homozygous for the rs12777823 A allele require a dose reduction of ~ 7 or 9 mg/week,

respectively (7). Regression analysis showed that addition of this SNP improves the dosing algorithm published by the International Warfarin Pharmacogenetics Consortium (IWPC) by 21%. Further studies have demonstrated the importance of this SNP in African Americans (28). Although this variant is common in other ethnic populations, an association with warfarin dose has only been detected among African Americans suggesting it is not the underlying cause but likely inherited with other variant(s) on a haplotype that influences warfarin dose in this population. Of note, an association was not observed in a cohort of Egyptians, thus it is not possible to make broad statements about this allele in people of continental African ancestry. Most African Americans are of West African ancestry; it is unknown whether similar associations are present in individuals from other parts of Africa.

### **Genetic Test Interpretation**

**CYP2C9.** Clinical laboratories typically report *CYP2C9* genotype results using the star (\*) allele nomenclature system and an interpretation that includes a predicted metabolizer phenotype. Most FDA-approved *CYP2C9* tests include only \*2 and \*3, which is not as informative for African ancestry populations; however, some clinical laboratories may offer expanded *CYP2C9* panels validated as laboratory developed tests (LDTs) (for allele frequencies see: ***CYP2C9 frequency table (9)***).

**VKORC1.** Clinical laboratories typically report *VKORC1* genotype results by c.-1639G>A (or the linked 1173C>T; rs9934438) genotype (e.g., G/A) and an interpretation on warfarin sensitivity. Most commercial genotyping platforms do not detect rare *VKORC1* variants that have been associated with warfarin resistance (***VKORC1 frequency table (19)***).

**CYP4F2.** Although not as commonly tested for as *CYP2C9* and *VKORC1*, some clinical laboratories may also test for *CYP4F2* using a targeted genotyping laboratory developed test to detect *CYP4F2\*3* (c.1297G>A, p.Val433Met; rs2108622) variant. Results are typically reported by nucleotide (e.g., G/A), amino acid (e.g., Val/Met) or star (\*) allele (\*1/\*3) genotype and an interpretation related to warfarin dosing.

**CYP2C rs12777823.** Given the recent identification of the association between rs12777823 (g.96405502G>A) and warfarin dosing among African Americans, most clinical laboratories do not currently include this non-coding variant in their warfarin pharmacogenetic genotyping panels. However, the increasing accessibility of clinical research genomics programs that return actionable results and the notable effect of this variant among African Americans suggests that some patients may have genotype results for this variant in the future. Results would likely be reported by genotype (e.g., G/A) and an interpretation related to warfarin dosing.

### **Genetic test options**

Commercially available genetic testing options change over time. Additional information about pharmacogenetic testing can be found at the Genetic Testing Registry (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/>).

### **Incidental findings**

No diseases have been linked to common *CYP2C9* variants independent of drug metabolism and response. Similarly, no diseases have been consistently linked to common *VKORC1* and *CYP4F2* variants that are interrogated in warfarin response tests. However, homozygosity for rare coding mutations in *VKORC1* are a known cause of combined deficiency of vitamin K-

dependent clotting factors-2 (VKCFD2), which is a rare and potentially fatal bleeding disorder that can be reversed by oral administration of vitamin K (29).

### **Linking genetic variability to variability in drug-related phenotypes**

Common variants in *CYP2C9*, *VKORC1*, and *CYP4F2* account for up to 18%, 30%, and 11% respectively, of the variance in stable warfarin dose among patients of European ancestry (10, 16, 17, 30, 31), but because of differing allele frequencies across populations, these variants explain less of the dose variability in patients of other ancestries. In particular, *CYP2C9\*2* is virtually absent in Asians, and additional *CYP2C9* alleles (e.g. \*5, \*6, \*8, and \*11 alleles) occur almost exclusively in persons of African ancestry and contribute to dose variability in this population. Other genes of potential importance are discussed in the **Supplemental Material**.

Published in 2013, the European Pharmacogenetics of Anticoagulant Therapy (EU-PACT) and Clarification of Optimal Anticoagulation through Genetics (COAG) trials examined the efficacy of genotype-guided warfarin dosing in randomized controlled trials (32, 33). In a homogenous European population, the EU-PACT trial showed shorter time to stable dose, improved percent time in therapeutic range, and reduced number of episodes with an INR>4 using a pharmacogenetic dosing algorithm compared to standard dosing (33). The COAG trial was conducted in an ethnically diverse cohort with 27% of participants of African ancestry (32). Overall, COAG did not show a difference in time to stable dose, percent time in therapeutic range, reduction in number of episodes with INR >4 or <2, or bleeding risk with a pharmacogenetic dosing algorithm compared to a clinical algorithm. In non-blacks, the pharmacogenetic dosing algorithm arm had more patients whose stable dose was within 1 mg per

day of the algorithm-predicted dose (57 vs 39%, respectively). In contrast, the pharmacogenetic dosing algorithm was less accurate at predicting within 1 mg/day of the stable dose than the clinical algorithm in blacks (38 vs 48% respectively) (32). Blacks were more likely to have an INR above range with pharmacogenetic dosing, which could be due to the genotyping panel in the COAG trial being limited to *CYP2C9*\*2, \*3 and *VKORC1* c.-1639G>A. Other variants that influence warfarin dose and are more common in blacks (i.e., *CYP2C9*\*5, \*6, \*8, and \*11 and rs12777823) were not genotyped in the COAG trial and their absence likely led to significant overdosing in patients with these alleles (10, 34). Consequently, this updated CPIC guideline recommends against pharmacogenetic dosing of warfarin in blacks when only *CYP2C9*\*2 and \*3 genotype results are available.

The Genetics-InFormatics Trial (GIFT) is an on-going randomized controlled trial examining the effectiveness and safety of genotype-guided dosing in orthopedic patients with composite endpoints for symptomatic and asymptomatic venous thromboembolism, major hemorrhage, INR  $\geq 4$ , and death (35). GIFT includes genotyping for *CYP2C9*\*2 and \*3, *CYP4F2*\*3, and *VKORC1*-1639, but does not include the African-specific *CYP2C9* alleles or rs12777823. At the time of this publication, results from the GIFT trial were not available.

### **Therapeutic Recommendations: Adults**

***Recommendations for warfarin maintenance (chronic) dosage based on genetic information.***

We use the three-tiered rating system described previously (and in **Supplemental Material**) (1) in which ratings of strong, moderate, and optional are applied based on the evidence reviewed. The recommendations for dosing based on genotype contained herein include recommendations

and are derived from numerous observational and prospective studies, and randomized trials that suggest the ability to more accurately identify stable therapeutic warfarin dose requirements through use of both genetic and clinical information. Data from prospective studies and randomized controlled trials are equivocal on whether the improvement in dosing prediction by pharmacogenetics dosing leads to improved clinical outcomes. The majority of the literature underpinning these guidelines arises from individuals of European ancestry, African Americans, and East Asians. However, the more limited literature in other populations generally suggests the guidelines are appropriate in them also.

Numerous studies have derived warfarin dosing algorithms that use both genetic and non-genetic factors to predict warfarin dose (16, 17, 36, 37). Two algorithms perform well in estimating stable warfarin dose (16, 17) and were created using more than 5000 subjects, though as noted above, more recent data suggest they do not perform acceptably in African Americans when used without modification for *CYP2C9* alleles frequently found in the African population (32). The Gage and IWPC algorithms or minor adjustments to them have also been the algorithms used in both randomized controlled trials and most of the prospective dosing studies. Dosing algorithms using genetic information outperform non-genetic clinical algorithms and fixed-dose approaches in dose prediction, except in African Americans when the algorithm only includes *CYP2C9\*2* and *\*3* (16, 17, 32). Genetics-based algorithms also better predict warfarin dose than the FDA-approved warfarin label table (38).

**Pharmacogenetic algorithm-based warfarin dosing.** This guideline recommends that pharmacogenetic warfarin dosing be accomplished through the use of one of the

pharmacogenetic dosing algorithms described above, as summarized in **Figure 2**. These algorithms, as originally published, are available in the **Supplement** and the dosing algorithm published by IWPC is also online at <http://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=PA162372936&objCls=Dataset#tabview=tab2>. The two algorithms provide very similar dose recommendations. The clinical and genetic information used in one or both algorithms is shown in box 1. These algorithms compute the anticipated stable daily warfarin dose to one decimal and the clinician must then prescribe a regimen (e.g., an estimate of 4.3 mg/day might be given as 4 mg daily except 5 mg two days per week). An additional “dose revision” algorithm, that can be used on days 4-5 of therapy for dose refinement and uses genetic information, was tested in COAG and EU-PACT and can also be used (36) (**Supplemental Table S5**).

It is important to note that these algorithms do not include *CYP4F2*, *CYP2C9\*5*, \*6, \*8, or \*11 or rs12777823, and incorporation of these should be added when results are available, as described in **Figure 2**. The warfarindosing.org website contains both algorithms, the Gage algorithm (16) as the primary algorithm and the IWPC algorithm (17) as the secondary algorithm and can adjust for *CYP4F2*, *CYP2C9\*5* and \*6. If utilizing warfarindosing.org, the user should be clear on whether the algorithm is or is not incorporating genotypes beyond *CYP2C9* \*2 and \*3 and *VKORC1*, which are the only three genotypes in the original version of both algorithms.

#### ***Pharmacogenetics-informed loading (or initiation) dose calculations.***

The use of a different initial warfarin dose (or “loading dose”) is somewhat controversial and plays different roles in different regions of the world, based on experience and local standards.

Recent data from a diverse U.S. based cohort suggest that failure to provide a loading dose in patients with zero or one variant alleles in *VKORC1* or *CYP2C9* may delay time to therapeutic INR and reduce time in therapeutic range in the initial month of therapy (39). A genetically-guided loading dose approach was developed by Avery *et al.* (37) and a slightly modified version was successfully implemented in the EU-PACT trial (33). In COAG *CYP2C9* variant alleles were not considered for the initial dose, providing a small loading dose on day 1. Whether differences in loading dose strategies between the EU-PACT and COAG trials contributed to differing results is not known. If loading doses are to be used, a genetically-informed approach to calculating the loading dose may be helpful. The majority of the experience with a genetically-informed loading regimen is in those of European ancestry. Determination of maintenance dose would be as described above.

***Non-African ancestry recommendation.*** In patients who self-identify as non-African ancestry, the recommendation, as summarized in **Figure 2**, is to: 1) calculate warfarin dosing using a published pharmacogenetic algorithm (16, 17), including genotype information for *VKORC1-1639G>A* and *CYP2C9\*2* and *\*3*. In individuals with genotypes associated with *CYP2C9* poor metabolism (e.g., *CYP2C9 \*2/\*3*, *\*3/\*3*) or both increased sensitivity (*VKORC1-1639 A/A*) and *CYP2C9* poor metabolism, an alternative oral anticoagulant might be considered (40). The bulk of the literature informing these recommendations is in European and Asian ancestry populations, but consistent data exist for other non-African populations. These recommendations are graded as *STRONG*. 2) If a loading dose is to be utilized, the EU-PACT loading dose algorithm that incorporates genetic information could be used (33). This recommendation is *OPTIONAL*. 3) While *CYP2C9\*5*, *\*6*, *\*8*, or *\*11* variant alleles are

commonly referred to as African specific alleles, they can occur among individuals who do not identify as, or know of their, African ancestry. If these variant alleles are detected, decrease calculated dose by 15-30% per variant allele or consider an alternative agent. Larger dose reductions might be needed in patients homozygous for variant alleles (i.e. 20-40%, e.g. *CYP2C9\*2/\*5*). This recommendation is graded as *OPTIONAL*. 4) If the *CYP4F2\*3* (i.e., c.1297A, p.433Met) allele is also detected, increase the dose by 5-10%. This recommendation is also considered *OPTIONAL*. 5) The data do not suggest an association between rs12777823 genotype and warfarin dose in non-African Americans, thus rs12777823 should not be considered in these individuals (even if available).

**African ancestry recommendation.** In patients of African ancestry, *CYP2C9\*5*, \*6, \*8, \*11 are important for warfarin dosing. If these genotypes are **not** available, warfarin should be dosed clinically without consideration for genotype. If *CYP2C9\*5*, \*6, \*8, and \*11 are known, then the recommendation, as shown in **Figure 2**, is to: 1) calculate warfarin dose using a validated pharmacogenetic algorithm, including genotype information for *VKORC1* c.-1639G>A and *CYP2C9\*2* and \*3 (16, 17); 2) if the individual carries a *CYP2C9\*5*, \*6, \*8, or \*11 variant allele(s), decrease calculated dose by 15-30%. Larger dose reductions might be needed in patients who carry two variant alleles (e.g., *CYP2C9\*5/\*6*) (i.e. 20-40% dose reduction). 3) In addition, rs12777823 is associated with warfarin dosing in African Americans (mainly originating from West Africa). Thus, in African Americans a dose reductions of 10-25% in those with rs12777823 A/G or A/A genotype is recommended. These recommendations are considered *MODERATE*.

In individuals with genotypes that predict CYP2C9 poor metabolism or who have increased warfarin sensitivity (*VKORC1* c.-1639 A/A) and CYP2C9 poor metabolism, an alternative oral anticoagulant should be considered. (see **Supplemental material** for definitions of strength of recommendations). As noted above, for non-African ancestry, if a loading dose is to be used, the EU-PACT algorithm (33) that incorporates genetic information could be used to calculate loading dose. This recommendation is *OPTIONAL*. The data do not support an impact on clinical phenotype for *CYP4F2* on warfarin dosing in those of African ancestry and so no recommendation is made for use of *CYP4F2* genotype data in blacks.

**Recommendations for Pediatric Patients.** As detailed in **Supplemental Table S7**, there is strong evidence for the use of *CYP2C9\*2* and *\*3* and *VKORC1-1639G>A* genotype to guide warfarin dosing in children of European ancestry. The studies in Japanese pediatric individuals are conflicting as *VKORC1* and *CYP2C9* could not be adequately evaluated due to the low numbers of *CYP2C9* variant carriers. For other ethnicities, there is no evidence documenting that *VKORC1* and *CYP2C9* are important. Furthermore, there are no data in children that included *CYP2C9\*5*, *\*6*, *\*8*, or *\*11* genotyping. Based on the current evidence, in children of European ancestry and if *CYP2C9\*2* and *\*3* and *VKORC1-1639* genotype are available, calculate warfarin dosing based on a validated published pediatric pharmacogenetic algorithm (**Figure 3**) (41, 42). A dosing tool that can be used in children of European ancestry is available at <http://www.warfarindoserevision.com> (43).

### Other considerations

Given the effects of CYP2C9 on warfarin clearance, and given that the *CYP2C9* variant alleles are associated with reduced warfarin clearance, *CYP2C9* genotype may influence time to onset

and offset of anticoagulation, as measured by INR (44). The **Supplemental Material** summarizes other considerations in the dosing of warfarin, including clinical factors and interacting drugs, some of which are included in the pharmacogenetic dosing algorithms (see Text Box). Other genes of potential importance are detailed in the **Supplemental Material and Supplemental table S6**, including *CALU* and *GGCX*. Most clinical genotyping platforms do not include these genes, nor do the dosing tables or published algorithms. The **Supplemental Material** also discusses incorporation of genetic information into the initial dose, and alternatives to warfarin.

## POTENTIAL BENEFITS AND RISKS FOR THE PATIENT

Incorporation of genetic information has the potential to shorten the time to stable INR, increase the time within the therapeutic INR range, and reduce under-dosing or over-dosing during the initial treatment period (33). If these benefits are achieved, they could result in a reduced risk of bleeding and thromboembolic events (12, 45). There are also potential risks. For example, using genetic information to guide dosing may lead to false security and inadequate INR monitoring. In particular, there are risks of using pharmacogenetic dosing in those of African ancestry if only *CYP2C9* \*2 and \*3 alleles are included. Genetic-guided dosing may increase the risk for over-dosing or under-dosing, especially in individuals who carry rare or untested variants and are assigned as “wild-type” by default (17, 32). The cost-benefit of genetic-guided therapy depends on the cost of genotyping and the reduction in adverse events (46), and most insurance plans do not currently pay for warfarin pharmacogenetic testing. Although there is substantial evidence associating *CYP2C9* and *VKORC1* variants with warfarin dosing, randomized clinical trials have demonstrated inconsistent results in terms of clinical outcomes (see *Linking genetic variability to variability in drug-related phenotypes*). Although genotyping is reliable when performed in

qualified laboratories, an additional risk is an error in genotyping or reporting of genotype.

Genotypes are life-long test results, so such error could have long-term adverse health implications.

## **CAVEATS: APPROPRIATE USE AND/OR POTENTIAL MISUSE OF GENETIC TESTS**

Many pharmacogenetic dosing algorithms are developed for a target INR of 2-3 (17) and so their utility for estimating therapeutic warfarin doses with other target INR ranges is uncertain; however, some algorithms accommodate the target INR explicitly (16, 43). Pharmacogenetic-guided warfarin dosing does not alter the requirements for regular INR monitoring. There are patients for whom genetic testing is likely to be of little or no benefit, including those who already have had long-term treatment with stable warfarin doses and those who are unable to achieve stable dosing due to variable adherence. The greatest potential benefit is early in the course of therapy (before therapy initiation or in the early days of therapy) (36). It is likely that patients on therapy for many weeks to months, with careful INR monitoring, will derive little benefit from subsequent warfarin pharmacogenetics testing (47).

## **DISCLAIMER**

Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines reflect expert consensus based on clinical evidence and peer-reviewed literature available at the time they are written and are intended only to assist clinicians in decision-making and to identify questions for further research. New evidence may have emerged since the time a guideline was submitted for publication. Guidelines are limited in scope and are not applicable to interventions or diseases

not specifically identified. Guidelines do not account for all individual variations among patients and cannot be considered inclusive of all proper methods of care or exclusive of other treatments. It remains the responsibility of the health care provider to determine the best course of treatment for a patient. Adherence to any guideline is voluntary, with the ultimate determination regarding its application to be made solely by the clinician and the patient. CPIC assumes no responsibility for any injury to persons or damage to persons or property arising out of or related to any use of CPIC's guidelines, or for any errors or omissions.

### **Acknowledgements:**

This work was funded by the National Institutes of Health (NIH) for CPIC (R24GM115264) and PharmGKB (R24GM61374). Relevant funding for other authors includes: NIH grants U01 GM074492 and U01 HG 007269 (JAJ), K23GM104401 (SAS), GM109145 (CMS), R01HL092173 and K24HL133373 (NAL), R01 HL097036 (BFG) and grants from the Swedish Research Council (Medicine 521-2011-2440 and 521-2014-3370), the Swedish Heart and Lung Foundation (20120557 and 20140291), and the Thuréus' Foundation (MW), the UK Department of Health and Medical Research Council (MP), and the EU FP7 programme for funding EU-PACT (MP, MW).

### **Conflicts of interest**

J.A.J. is on the CPIC Steering Committee and has no conflicts of interest related to this guideline. T.E.K and M.W.C. are paid scientific advisors to the Rxight™ Pharmacogenetic Program. S.A.S. is a director of a clinical laboratory that performs *CYP2C9* and *VKORC1* genetic testing. All other authors declare no conflicts of interest related to this guideline.

Text box. Patient characteristics utilized in the Gage (16), or IWPC (17) algorithms or both

- Age
- Sex
- Race
- Weight
- Height
- Smoking status
- Warfarin indication
- Target INR
- Interacting drugs
  - Inhibitors: Amiodarone, statins, sulfamethoxazole, azole antifungals
  - Inducers: Rifampin, phenytoin, carbamazepine
- Genetic variables
  - *CYP2C9* genotype
  - *VKORC1* genotype
  - Gage algorithm can also incorporate *CYP4F2* and *GGCX* genotypes

## References:

- (1) Relling, M.V. & Klein, T.E. CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network. *Clin Pharmacol Ther* **89**, 464-7 (2011).
- (2) Pengo, V., Pegoraro, C., Cucchini, U. & Iliceto, S. Worldwide management of oral anticoagulant therapy: the ISAM study. *Journal of thrombosis and thrombolysis* **21**, 73-7 (2006).
- (3) Ansell, J., Hirsh, J., Hylek, E., Jacobson, A., Crowther, M. & Palareti, G. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* **133**, 160S-98S (2008).
- (4) Kearon, C. *et al.* Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest* **149**, 315-52 (2016).
- (5) Shehab, N., Sperling, L.S., Kegler, S.R. & Budnitz, D.S. National estimates of emergency department visits for hemorrhage-related adverse events from clopidogrel plus aspirin and from warfarin. *Arch Intern Med* **170**, 1926-33 (2010).
- (6) Rost, S. *et al.* Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* **427**, 537-41 (2004).
- (7) Perera, M.A. *et al.* Genetic variants associated with warfarin dose in African-American individuals: a genome-wide association study. *Lancet* **382**, 790-6 (2013).
- (8) Lee, C.R., Goldstein, J.A. & Pieper, J.A. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* **12**, 251-63 (2002).
- (9) Gene Reference Materials for CYP2C9. <<https://www.pharmgkb.org/page/cyp2c9RefMaterials>> (2016). Accessed November 4, 2016.
- (10) Limdi, N.A. *et al.* Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups. *Blood* **115**, 3827-34 (2010).
- (11) Aithal, G.P., Day, C.P., Kesteven, P.J. & Daly, A.K. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* **353**, 717-9 (1999).
- (12) Mega, J.L. *et al.* Genetics and the clinical response to warfarin and edoxaban: findings from the randomised, double-blind ENGAGE AF-TIMI 48 trial. *Lancet* **385**, 2280-7 (2015).
- (13) Wajih, N., Hutson, S.M., Owen, J. & Wallin, R. Increased production of functional recombinant human clotting factor IX by baby hamster kidney cells engineered to overexpress VKORC1, the vitamin K 2,3-epoxide-reducing enzyme of the vitamin K cycle. *The Journal of biological chemistry* **280**, 31603-7 (2005).
- (14) Wadelius, M. *et al.* Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J* **5**, 262-70 (2005).
- (15) Yuan, H.Y. *et al.* A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Human molecular genetics* **14**, 1745-51 (2005).
- (16) Gage, B.F. *et al.* Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther* **84**, 326-31 (2008).

- (17) Klein, T.E. *et al.* Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *The New England journal of medicine* **360**, 753-64 (2009).
- (18) Rieder, M.J. *et al.* Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* **352**, 2285-93 (2005).
- (19) *Gene Reference Materials for VKORC1*.  
<https://www.pharmgkb.org/page/vkorc1RefMaterials>. Accessed November 4, 2016.
- (20) Scott, S.A., Edelmann, L., Kornreich, R. & Desnick, R.J. Warfarin pharmacogenetics: CYP2C9 and VKORC1 genotypes predict different sensitivity and resistance frequencies in the Ashkenazi and Sephardi Jewish populations. *American journal of human genetics* **82**, 495-500 (2008).
- (21) McDonald, M.G., Rieder, M.J., Nakano, M., Hsia, C.K. & Rettie, A.E. CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: An explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant. *Molecular pharmacology* **75**, 1337-46 (2009).
- (22) Caldwell, M.D. *et al.* CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose. *Blood* **111**, 4106-12 (2008).
- (23) Stec, D.E., Roman, R.J., Flasch, A. & Rieder, M.J. Functional polymorphism in human CYP4F2 decreases 20-HETE production. *Physiol Genomics* **30**, 74-81 (2007).
- (24) *Gene Reference Materials for CYP4F2*.  
<https://www.pharmgkb.org/page/cyp4f2RefMaterials>. Accessed November 4, 2016.
- (25) Borgiani, P. *et al.* CYP4F2 genetic variant (rs2108622) significantly contributes to warfarin dosing variability in the Italian population. *Pharmacogenomics* **10**, 261-6 (2009).
- (26) Danese, E. *et al.* Impact of the CYP4F2 p.V433M polymorphism on coumarin dose requirement: systematic review and meta-analysis. *Clin Pharmacol Ther* **92**, 746-56 (2012).
- (27) Zhang, J.E. *et al.* Effects of CYP4F2 genetic polymorphisms and haplotypes on clinical outcomes in patients initiated on warfarin therapy. *Pharmacogenet Genomics* **19**, 781-9 (2009).
- (28) Alzubiedi, S. & Saleh, M.I. Pharmacogenetic-guided Warfarin Dosing Algorithm in African-Americans. *J Cardiovasc Pharmacol* **67**, 86-92 (2016).
- (29) Oldenburg, J. *et al.* Congenital deficiency of vitamin K dependent coagulation factors in two families presents as a genetic defect of the vitamin K-epoxide-reductase-complex. *Thrombosis and haemostasis* **84**, 937-41 (2000).
- (30) Wadelius, M. *et al.* The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood*, (2008).
- (31) Liang, R., Wang, C., Zhao, H., Huang, J., Hu, D. & Sun, Y. Influence of CYP4F2 genotype on warfarin dose requirement-a systematic review and meta-analysis. *Thromb Res* **130**, 38-44 (2012).
- (32) Kimmel, S.E. *et al.* A pharmacogenetic versus a clinical algorithm for warfarin dosing. *N Engl J Med* **369**, 2283-93 (2013).
- (33) Pirmohamed, M. *et al.* A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med* **369**, 2294-303 (2013).
- (34) Drozda, K. *et al.* Poor warfarin dose prediction with pharmacogenetic algorithms that exclude genotypes important for African Americans. *Pharmacogenet Genomics* **25**, 73-81 (2015).

- (35) Do, E.J. *et al.* Genetics informatics trial (GIFT) of warfarin to prevent deep vein thrombosis (DVT): rationale and study design. *Pharmacogenomics J* **12**, 417-24 (2012).
- (36) Lenzini, P. *et al.* Integration of genetic, clinical, and INR data to refine warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther* **87**, 572-8 (2010).
- (37) Avery, P.J. *et al.* A proposal for an individualized pharmacogenetics-based warfarin initiation dose regimen for patients commencing anticoagulation therapy. *Clin Pharmacol Ther* **90**, 701-6 (2011).
- (38) Finkelman, B.S., Gage, B.F., Johnson, J.A., Brensinger, C.M. & Kimmel, S.E. Genetic warfarin dosing: tables versus algorithms. *J Am Coll Cardiol* **57**, 612-8 (2011).
- (39) Arwood, M.J. *et al.* Anticoagulation endpoints with clinical implementation of warfarin pharmacogenetic dosing in a real-world setting: A proposal for a new pharmacogenetic dosing approach. *Clin Pharmacol Ther*, (2016).
- (40) (!!! INVALID CITATION !!! (12)).
- (41) Hamberg, A.K. *et al.* Warfarin dose prediction in children using pharmacometric bridging--comparison with published pharmacogenetic dosing algorithms. *Eur J Clin Pharmacol* **69**, 1275-83 (2013).
- (42) Biss, T.T. *et al.* VKORC1 and CYP2C9 genotype and patient characteristics explain a large proportion of the variability in warfarin dose requirement among children. *Blood* **119**, 868-73 (2012).
- (43) Hamberg, A.K., Wadelius, M., Friberg, L.E., Biss, T.T., Kamali, F. & Jonsson, E.N. Characterizing variability in warfarin dose requirements in children using modelling and simulation. *Br J Clin Pharmacol* **78**, 158-69 (2014).
- (44) Hamberg, A.K. *et al.* A pharmacometric model describing the relationship between warfarin dose and INR response with respect to variations in CYP2C9, VKORC1, and age. *Clin Pharmacol Ther* **87**, 727-34 (2010).
- (45) Oden, A. & Fahlen, M. Oral anticoagulation and risk of death: a medical record linkage study. *BMJ* **325**, 1073-5 (2002).
- (46) Eckman, M.H., Rosand, J., Greenberg, S.M. & Gage, B.F. Cost-effectiveness of using pharmacogenetic information in warfarin dosing for patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med* **150**, 73-83 (2009).
- (47) Ferder, N.S. *et al.* Ability of VKORC1 and CYP2C9 to predict therapeutic warfarin dose during the initial weeks of therapy. *J Thromb Haemost* **8**, 95-100 (2010).

## Figure legends

Figure 1. Schematic representation of warfarin metabolism and its mechanism of action.

Warfarin is administered via a racemic mixture of the *R*- and *S*- stereoisomers. *S*-warfarin is 3-5 times more potent than *R*-warfarin and is metabolized predominantly to 7- and 6- hydroxyl metabolites via CYP2C9. Warfarin exerts its anticoagulant effect through inhibition of its molecular target VKORC1, which in turn limits availability of reduced vitamin K, leading to decreased formation of functionally active clotting factors. These clotting factors are glycoproteins that are post-translationally carboxylated by gamma-glutamyl carboxylase (GGCX) to Gla-containing proteins. The endoplasmic reticulum chaperone protein calumenin (CALU) can bind to and inhibit GGCX activity. The metabolism of reduced vitamin K to hydroxyvitamin K1 is catalyzed by CYP4F2 which removes vitamin K from the vitamin K cycle (adapted from warfarin pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) pathways at PharmGKB,

<http://www.pharmgkb.org/do/serve?objId=PA451906&objCls=Drug#tabview=tab4>.

Figure 2. Dosing recommendations for Warfarin dosing based on genotype for adult patients

<sup>a</sup>“Dose clinically” means to dose without genetic information, which may include use of a clinical dosing algorithm or standard dose approach

<sup>b</sup>Data strongest for European and East Asian ancestry populations and consistent in other populations.

<sup>c</sup>45-50% of individuals with self-reported African ancestry carry *CYP2C9\*5, \*6, \*8, \*11*, or rs12777823. IF *CYP2C9\*5, \*6, \*8*, and *\*11* WERE NOT TESTED, DOSE WARFARIN CLINICALLY. Note: these data derive primarily from African Americans, who are largely from

West Africa. It is unknown if the same associations are present for those from other parts of Africa.

<sup>d</sup>Most algorithms are developed for the target INR 2-3.

<sup>e</sup>Consider an alternative agent in individuals with genotypes associated with CYP2C9 poor metabolism (e.g., *CYP2C9\*3/\*3, \*2/\*3, \*3/\*3*) or both increased sensitivity (*VKORC1 A/G or A/A*) and CYP2C9 poor metabolism.

<sup>f</sup>See the EU-PACT trial for pharmacogenetics-based warfarin initiation (loading) dose algorithm (33).

<sup>g</sup>Larger dose reduction might be needed in variant homozygotes (*i.e.* 20-40%).

<sup>h</sup>African American refers to individuals mainly originating from West Africa.

Figure 3. Dosing recommendations for Warfarin dosing based on genotype for pediatric patients

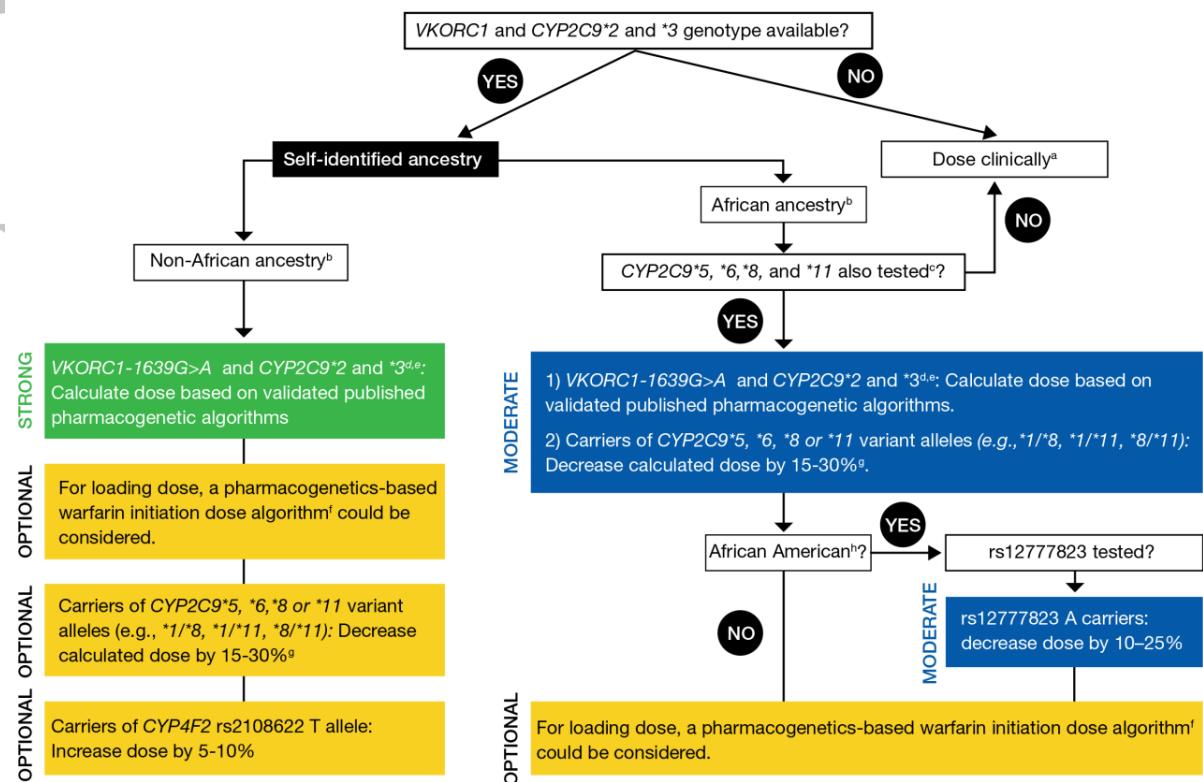
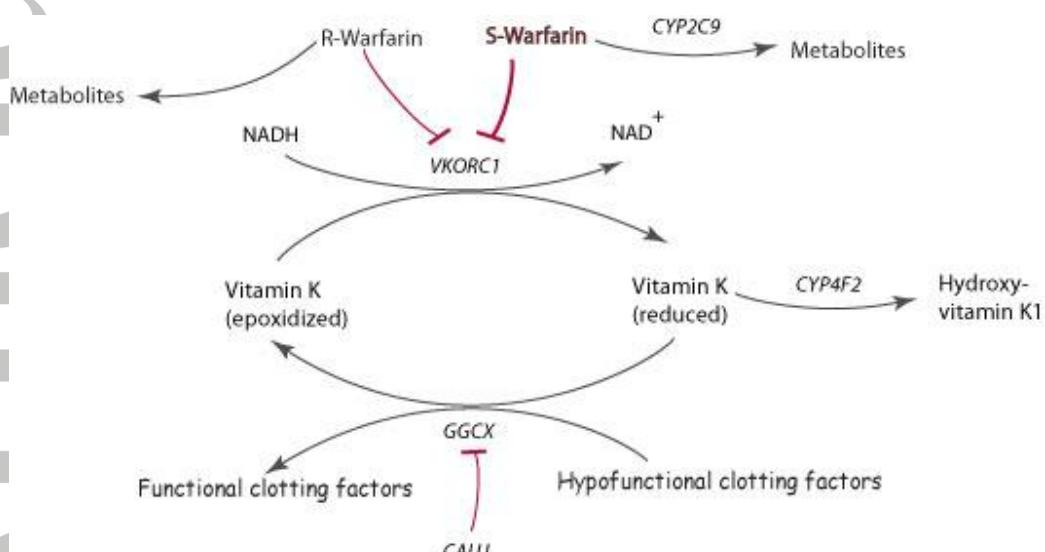
<sup>a</sup>Data strongest for European ancestry populations and consistent in most Japanese studies.

<sup>b</sup>“Dose clinically” means to dose without genetic information, which may include use of a clinical dosing algorithm or standard dose approach

<sup>c</sup>Validated published pediatric pharmacogenetic algorithms include Hamberg et al.(43) and Biss et al.(42)

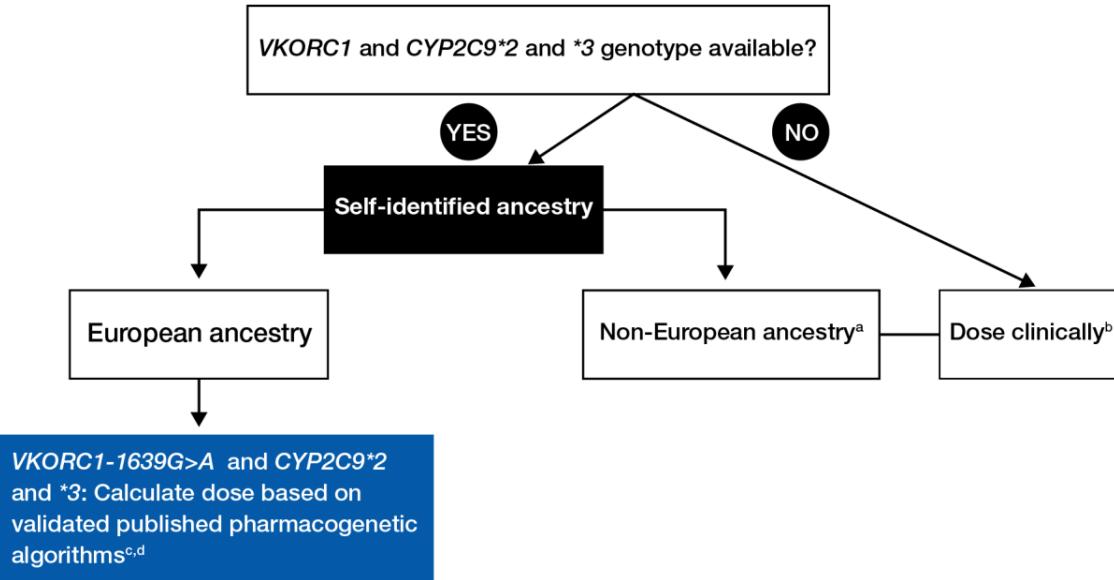
<sup>d</sup>No studies in children included *CYP2C9\*5, \*6, \*8, or \*11* genotyping.

# Article



# Accepted

Moderate



## · 特稿 ·

## 围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南(2017)

围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南工作组

神经管缺陷(neural tube defects, NTDs),又称神经管畸形,是由于胚胎发育早期神经管闭合不全所引起的一类先天缺陷,主要临床类型包括无脑、脊柱裂和脑膨出。无脑和严重脑膨出常引起死胎、死产,少数虽可活产,但存活时间很短;脊柱裂和轻度脑膨出患儿虽可存活,但无法治愈,常导致终身残疾,表现为下肢瘫痪、大小便失禁、智力低下等。脊柱裂患儿还易并发脑积水,患儿多过早夭折。因此,NTDs 是重大公共卫生问题,给患儿家庭带来沉重的精神和经济负担,消耗有限的社会医疗卫生资源,影响出生人口素质。

为预防 NTDs,原国家卫生部于 2009 年 6 月启动了“增补叶酸预防神经管缺陷”重大公共卫生项目,为农村户籍有生育计划的妇女免费提供叶酸增补剂<sup>[1]</sup>;此后,有生育计划的城镇户籍妇女也被纳入叶酸增补剂发放对象。

为了解答妇幼保健人员和公众在增补叶酸预防 NTDs 方面存在的疑问,中国妇幼保健协会出生缺陷防治与分子遗传分会组成围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷工作组,制定本指南。

本指南是在充分复习国内外文献,参考其他国家和世界卫生组织的指南或建议,并结合 NTDs 在中国的分布特点、居民膳食叶酸摄入情况及血液叶酸水平等因素后制定的。

本指南标记的证据强度和推荐分级依据加拿大预防保健专业委员会(The Canadian Task Force on Preventive Health Care)的标准<sup>[2]</sup>,见表 1 和表 2。

作者单位:中国妇幼保健协会出生缺陷防治与分子遗传分会  
通讯作者:任爱国([renag@pku.edu.cn](mailto:renag@pku.edu.cn)) 100191,北京大学生育健康研究所

表 1 本指南标记的证据强度<sup>[2]</sup>

证据强度	说 明
I	证据来自至少 1 个高质量的随机对照试验。
II-1	证据来自设计良好的非随机对照试验。
II-2	证据来自设计良好的队列研究(前瞻性或回顾性)或者病例对照研究,最好来自 1 个以上的中心或研究团队。
II-3	证据来自对不同时间或地点的干预或非干预效果的比较研究。
III	权威机构的意见、临床经验、描述性研究或者专家委员会报告等。

表 2 本指南标记的推荐分级<sup>[2]</sup>

推荐分级	说 明
A	有充足证据推荐临床应用。
B	有部分证据推荐临床应用。
C	现有证据不一致,不能做出推荐或不推荐临床应用的建议。
D	有部分证据不推荐临床应用。
E	有充足证据不推荐临床应用。
I	缺乏足够证据给出建议。

## 核心推荐

对每名备孕或孕早期妇女,应采集夫妻双方的疾病史、生育史、家族史、饮食情况、药物服用情况、行为习惯等信息,并进行必要的体格检查和实验室检查。根据以下情况,提出妇女增补叶酸的建议。

1. 无高危因素的妇女:建议从可能怀孕或孕前至少 3 个月开始,每日增补 0.4 mg(II-1A) 或 0.8 mg 叶酸(IA),直至妊娠满 3 个月。

2. 有神经管缺陷生育史的妇女:建议从可能怀孕或孕前至少 1 个月开始,每日增补 4 mg 叶酸,直至妊娠满 3 个月(IA)。鉴于国内没有 4 mg 而有 5 mg 叶酸制剂型,亦可每日增补 5 mg 叶酸。

3. 夫妻一方患神经管缺陷或男方既往有神经管缺陷生育史的妇女:建议从可能怀孕或孕前至少 1 个月开始,每日增补 4 mg 叶酸,直至妊娠满 3 个月(II-2A)。鉴于国内没有 4 mg 而有 5 mg 叶酸制剂型,亦可每日增补 5 mg 叶酸。

**4. 患先天性脑积水、先天性心脏病、唇腭裂、肢体缺陷、泌尿系统缺陷,或有上述缺陷家族史,或一、二级直系亲属中有神经管缺陷生育史的妇女:**

建议从可能怀孕或孕前至少3个月开始,每日增补0.8~1.0 mg叶酸,直至妊娠满3个月(II-2A)。

**5. 患糖尿病、肥胖或癫痫的妇女:**建议从可能怀孕或孕前至少3个月开始,每日增补0.8~1.0 mg叶酸,直至妊娠满3个月(II-2A)。

**6. 正在服用增加胎儿神经管缺陷风险药物的妇女:**正在服用卡马西平、丙戊酸、苯妥英钠、扑米酮、苯巴比妥、二甲双胍、甲氨蝶呤、柳氮磺胺吡啶、甲氧苄啶、氨苯蝶啶、考来烯胺等药物的妇女,建议从可能怀孕或孕前至少3个月开始,每日增补0.8~1.0 mg叶酸,直至妊娠满3个月(II-2A)。

**7. 患胃肠道吸收不良性疾病的妇女:**建议从可能怀孕或孕前至少3个月开始,每日增补0.8~1.0 mg叶酸,直至妊娠满3个月(II-2A)。

**个性化增补**

妇女如有以下情况,可酌情增加补充剂量或延长孕前增补时间:①居住在北方,尤其北方农村;②饮食中新鲜蔬菜和水果食用量小;③血液叶酸水平低;④MTHFR 677位点TT基因型;⑤备孕时间短。

对于高同型半胱氨酸血症妇女,建议每日增补至少5 mg叶酸,直至血液同型半胱氨酸水平降至正常后再考虑受孕,且持续每日增补5 mg叶酸,直至妊娠满3个月(II-3A)。

在建议增补叶酸的同时,应告知妇女多食用富含叶酸的食物,如绿叶蔬菜和新鲜水果;同时,养成健康的生活方式,保持合理体重,采取综合措施,降低胎儿神经管缺陷的风险(II-2A)。

**一、NTDs的胚胎发生特点**

正常情况下,人类的胚胎神经管在受孕后第21天(相当于末次月经后第35天)开始闭合,至第28天(相当于末次月经后第42天)完成闭合<sup>[3]</sup>。如果在此期间母亲体内叶酸水平不足,胎儿神经管闭合就可能会出现障碍,从而导致NTDs。神经管前端闭合障碍会导致无脑,后端闭合障碍会导致脊柱裂,前端后部局限性闭合障碍会导致脑膨出,整个神经管闭合障碍将会导致颅脊柱裂(属于无脑的一种类型)。由于胚胎神经管开始闭合时许多妇女并不知道已受孕,而得知受孕后再增补叶酸就错过了预防NTDs的最佳时机,因此,增补叶酸应从孕前开始。

鉴于许多妊娠并非计划之中,所以建议可能怀孕的育龄妇女均应每日增补叶酸。

**二、NTDs在中国的分布特征**

NTDs患病率分布在中国呈现北方高于南方的特点。原国家卫生部1986~1987年间对全国29个省、自治区和直辖市的出生缺陷发生情况进行了调查,结果显示,除西藏自治区外,长江流域以北15个省、自治区、直辖市的NTDs围产期患病率平均为4.5‰,最高为10.5‰;长江流域以南13个省、自治区、直辖市的NTDs围产期患病率平均为1.1‰,最低为0.7‰<sup>[4]</sup>。可见,NTDs患病率在中国北方和南方之间差异巨大。NTDs患病率地域之间的差异至今仍然存在<sup>[5]</sup>。中国NTDs患病率分布的另一个特点为农村高于城镇。根据全国出生缺陷监测网的数据,2006~2008年全国城镇居民的NTDs围产期患病率为1.0‰,农村居民为2.2‰;这一差距在北方地区更明显,分别为1.2‰和3.0‰<sup>[5]</sup>。如果将因产前诊断而引产的NTDs病例计算在内,2014年北方部分农村地区的NTDs总患病率高达31.5‰<sup>[6]</sup>。

**三、叶酸的生物利用率及需要量**

叶酸又称维生素B<sub>9</sub>,在人体内不能合成,只能外源性摄入。深绿色蔬菜、柑橘类水果、豆类、坚果、动物肝脏等食物内富含天然叶酸(folate)。药物、增补剂、强化食品内添加的叶酸多为人工合成叶酸(folic acid)。天然叶酸的生物利用率低,只有人工合成叶酸的60%左右。在估计叶酸总摄入量时,以1 μg天然叶酸为1个单位的膳食叶酸当量,将增补的人工合成叶酸进行折算:1 μg人工合成叶酸按1.7 μg膳食叶酸当量计算。总膳食叶酸当量(μg)=膳食叶酸(μg)+1.7×合成叶酸(μg)<sup>[7]</sup>。

非妊娠妇女的叶酸平均需要量(estimated average requirement, EAR)为每日320 μg膳食叶酸当量,推荐摄入量(recommended dietary allowance, RDA或recommended nutrient intake, RNI)为每日400 μg;妊娠妇女的EAR为每日520 μg,RDA为每日600 μg<sup>[8]</sup>。平均需要量指的是满足一半(50%)妇女所需的剂量,而推荐摄入量指满足绝大多数(97%~98%)妇女所需的剂量<sup>[8]</sup>。可能怀孕或有生育计划的妇女,应通过食用富含叶酸食品(芦笋、菠菜、西兰花、黄豆、柑橘类水果、干果等)达到推荐摄入量。

妊娠期从增补剂或强化食品获取的叶酸可耐受最高摄入量(tolerable upper intake level, UL)为每日1 mg。UL是平均每日可以摄入某种营养素的最高量,这一剂量对一般人群中的几乎所有个体都不至于产生健康损害<sup>[8]</sup>。

#### 四、不同地区育龄妇女的膳食叶酸摄入量和血液叶酸水平

中国北方地区育龄妇女膳食叶酸摄入量低于南方地区育龄妇女;在北方地区,农村育龄妇女膳食叶酸摄入量低于城镇妇女;在南方地区,农村育龄妇女的膳食叶酸摄入量接近或略高于城镇妇女<sup>[9]</sup>。

在北方NTDs高发的农村地区调查发现,婚检妇女每日叶酸摄入量中位数(四分位间距)为103 μg(69~147 μg),不及EAR(320 μg)的1/3;99%的妇女每日叶酸摄入量达不到EAR,所有妇女每日叶酸摄入量均未达到RDA(400 μg)<sup>[10]</sup>。

血液叶酸水平与膳食叶酸摄入量的分布相似,即北方地区育龄妇女血液叶酸水平低于南方地区育龄妇女;北方农村育龄妇女血液叶酸水平低于城镇妇女<sup>[9,11]</sup>;在南方,农村育龄妇女血液叶酸水平低于城镇妇女<sup>[11]</sup>,但亦有前者高于后者的报道<sup>[9]</sup>。最近调查发现,在中国北方某神经管缺陷高发地区,近期有生育计划的妇女中,88%血浆叶酸浓度低于18 nmol/L<sup>[12]</sup>;46%孕早中期妇女的红细胞叶酸浓度低于906 nmol/L(未发表资料)。因此,对于生活在北方,尤其是生活在北方农村地区的育龄妇女,可以适当提高叶酸增补剂量。

#### 五、妇女膳食叶酸摄入量高可降低胎儿NTDs风险

美国南卡罗来纳州的一项以人群为基础的病例对照研究发现,在调整混杂因素后,与膳食叶酸摄入量最低四分位组相比,摄入量最高四分位组的NTDs风险降低60%(OR=0.40,95%CI:0.19~0.84)<sup>[13]</sup>。美国加利福尼亚州的另一项病例对照研究也获得了类似结果,与膳食叶酸摄入量最低四分位组相比,最高四分位组NTDs风险降低31%(OR=0.69,95%CI:0.47~1.0)<sup>[14]</sup>。因此,通过改变膳食结构,增加叶酸摄入量,具有降低胎儿NTDs风险的作用(II-2A)。

#### 六、围受孕期叶酸缺乏增加胎儿NTDs风险

妊娠妇女血液叶酸水平与胎儿NTDs风险之间存在密切的负相关。比如,红细胞叶酸浓度

<340 nmol/L时,NTDs发病率为6.6%,而当红细胞叶酸浓度升高至906 nmol/L以上时,NTDs发病率降低至0.8%<sup>[15]</sup>,表明妇女围受孕期血液叶酸浓度低,生育NTDs患儿的风险增加。

#### 七、围受孕期增补叶酸降低胎儿NTDs风险

20世纪80年代初,英国医学研究会(British Medical Research Council)在7个国家的33所医院,开展了一项多中心随机对照临床试验,以验证增补大剂量叶酸是否能够预防NTDs的再发(前次妊娠为NTDs的妇女再次生育NTDs患儿)。1 817名高危妇女被随机分为4组:单纯叶酸(4 mg)、多种维生素(维生素A、D、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>、C以及烟酰胺)、含叶酸多种维生素、无维生素(硫酸亚铁及磷酸二钙)。从妊娠之前开始服用,直至妊娠满12周。1 195名妇女有完整妊娠结局资料,且知道胎儿是否患NTDs。共发生27例NTDs病例,其中6例在叶酸组(单纯叶酸组与含叶酸多种维生素组),21例在非叶酸组(多种维生素组与无维生素组)。增补叶酸可降低72%的NTDs再发风险;全程服药可降低83%的再发风险;不含叶酸的多种维生素无预防作用<sup>[16]</sup>。证明每日增补4 mg叶酸可有效降低NTDs的再发风险(IA)。

同期,在匈牙利进行了一项增补叶酸预防NTDs初发的随机对照研究。计划怀孕的妇女(大多数为初次怀孕)被随机分配到含叶酸维生素组(0.8 mg叶酸和11种其他维生素、4种矿物质、3种微量元素)或微量元素组(含铜、锌和很低剂量的维生素C),从妊娠前至少28天开始每日服用1次,直至妊娠满2个月。4 753名妇女确诊妊娠,其中含叶酸维生素组2 104名和微量元素组2 052名妇女的妊娠结局明确。微量元素组发生NTDs 6例,含叶酸维生素组无NTDs病例。两组之间NTDs发病率差异具有统计学意义( $P=0.029$ );另外,含叶酸维生素组的总先天畸形发病率(13.3%)低于微量元素组(22.9%)<sup>[17]</sup>。该研究证明,围受孕期每日增补含0.8 mg叶酸的多种微量元素可降低NTDs的初发风险(IA)。

20世纪90年代,原北京医科大学和美国疾病控制中心在中国河北、江苏和浙江3省进行了一项叶酸预防NTDs的大规模人群干预试验。对接受婚前医学检查或产前检查的妇女,建议每日增补

0.4 mg 的单纯叶酸增补剂,直至妊娠满 3 个月。共确认了 247 831 名妇女的妊娠结局和孕期叶酸增补情况。以未服用叶酸增补剂和募集时妊娠已满 3 个月的妇女作为对照。在 NTDs 高发的北方地区,服用叶酸组的 NTDs 发病率为 1.3‰,未服叶酸组为 6.5‰,叶酸降低 79% 的 NTDs 风险;在南方地区,服用叶酸组的 NTDs 发生率为 0.7‰,未服用组为 0.8‰,降低 16% 的 NTDs 风险。如果将依从性好(实际服用叶酸片数 > 应服片数的 80%)组妇女与未服用叶酸组妇女比较,在北方地区,服用叶酸增补剂可以降低 85% 的 NTDs 风险;在南方地区,可降低 41% 的 NTDs 风险<sup>[18]</sup>。证明围受孕期每日增补 0.4 mg 单纯叶酸可有效降低胎儿 NTDs 的风险(II-1A)。

#### 八、药物、疾病与 NTDs 风险

某些抗惊厥药,如卡马西平、丙戊酸、苯妥英钠、扑米酮、苯巴比妥;降糖药,如二甲双胍;抗癌药,如甲氨蝶呤;抗菌药,如柳氮磺胺吡啶和甲氧苄啶;利尿药,如氨苯蝶啶;降血脂药,如考来烯胺,妊娠早期服用会增加胎儿 NTDs 的风险<sup>[19-22]</sup>。孕前糖尿病增加胎儿 NTDs 和先天性心脏病等多种先天缺陷的风险<sup>[23-26]</sup>,而膳食叶酸摄入量高或增补叶酸,有助于降低妇女生育 NTDs 患儿的风险<sup>[23,25]</sup>。因此,具有上述危险因素的妇女,应在增加膳食叶酸摄入的同时,每日增补 0.8~1.0 mg 叶酸(II-2A)。妇女肥胖也与胎儿 NTDs 风险升高存在关联性<sup>[27-29]</sup>,因此也应每日增补 0.8~1.0 mg 叶酸(II-2A)。

#### 九、叶酸增补剂服用方案与血液叶酸浓度

通过口服叶酸增补剂提高血液叶酸水平取决于基础血液叶酸水平、增补剂量和增补时间。在中国北方农村地区自然居住非妊娠育龄妇女中所做的一项随机对照实验发现,0.4 mg 叶酸,每日 1 次,服用至 3 个月时,平均红细胞叶酸浓度达到 914 nmol/L (880~950 nmol/L);4 mg 叶酸,每日 1 次,服用至 1 个月时,平均红细胞叶酸浓度为 866 nmol/L (820~914 nmol/L),接近 906 nmol/L。每日增补 0.1 mg 叶酸,服用至 6 个月时,平均红细胞叶酸浓度仍未达到 906 nmol/L<sup>[30]</sup>。该研究证明,每日服用 1 片 0.4 mg 叶酸,至少需要服用 3 个月,红细胞叶酸浓度才能达到预防 NTDs 的有效水平(IA);每日服用 4 mg 叶酸,需要服用 1 个月以上(IA)。

一项在德国非妊娠育龄妇女中所做的随机对照

试验发现,每日增补含 0.4 mg 叶酸的多种微量营养素,4 周后平均红细胞叶酸浓度为 805 nmol/L,尚未达到 906 nmol/L;只有每日增补含 0.8 mg 叶酸的多种微量营养素,4 周后平均红细胞叶酸浓度才能达到 906 nmol/L<sup>[31]</sup>。该研究所用多种微量营养素内所含叶酸为 1:1 的合成叶酸与 5-甲基四氢叶酸。德国妇女的基线红细胞叶酸浓度高于中国妇女,表明对叶酸营养状况相对较好的妇女,每日增补 0.8 mg 叶酸,需要增补 1 个月的时间,红细胞叶酸浓度才能达到有效预防 NTDs 的水平(IA)。

#### 十、血液叶酸浓度的正常值及叶酸测定方法

血液叶酸浓度包括血清(血浆)叶酸浓度和红细胞叶酸浓度。前者反映近期膳食叶酸摄入量,而红细胞叶酸浓度反映近 3 个月内的膳食叶酸摄入量<sup>[32]</sup>。临幊上,血液叶酸浓度的正常值是为预防巨幼细胞贫血而制定的,血清叶酸浓度 < 6.8 nmol/L (< 3 ng/ml) 或红细胞叶酸浓度 < 226.5 nmol/L (< 100 ng/ml) 为叶酸缺乏<sup>[7]</sup>。当用于预防 NTDs 时,红细胞叶酸浓度 < 906 nmol/L (< 400 ng/ml) 为叶酸缺乏。事实上,红细胞叶酸浓度升高至 1292 nmol/L 时 NTDs 风险更低,但由于观察人数少,尚不能将这一浓度作为叶酸缺乏的界值<sup>[15]</sup>。有研究建议将 1000 nmol/L 作为预防 NTDs 的“最佳”红细胞叶酸浓度<sup>[33]</sup>。目前,尚无针对预防 NTDs 的血清叶酸浓度界值<sup>[7]</sup>。在 Daly 的研究中,血清叶酸浓度 16 nmol/L 组的 NTDs 发病风险为 0.9‰,与红细胞叶酸浓度 906 nmol/L 组的 NTDs 风险 0.8‰ 相似<sup>[15]</sup>。同样,尚未观察到将 NTDs 风险降低至最低时的最高血清叶酸浓度。有研究认为,血清叶酸浓度 > 18.0 nmol/L 时,对 NTDs 的预防作用“最佳”<sup>[34]</sup>。

血液叶酸测定的金标准是微生物法,但临幊上多利用叶酸结合蛋白原理的各种高通量自动化检测方法,如化学发光免疫法或放射性蛋白结合法。对比研究发现,化学发光免疫法所测血清叶酸浓度比微生物法低 48%,而红细胞叶酸浓度则比微生物法高 17%<sup>[35]</sup>;放射性蛋白结合法所测血清叶酸浓度比微生物法低 29%<sup>[36]</sup>。906 nmol/L 的红细胞叶酸浓度界值是采用微生物检测法确定的,因此,在解读血液叶酸浓度及应用叶酸缺乏界值时,应注意所用的检测方法。

## 十一、含叶酸复合微量营养素

服用含叶酸的多种微量营养素对预防 NTDs 也有效,但应服用针对育龄或妊娠妇女的多种微量营养素,叶酸含量不低于 0.4 mg。多种微量营养素内的某些其他营养素对预防 NTDs 可能也有一定的效果。

### 1. 维生素 B<sub>12</sub>

叶酸和同型半胱氨酸在体内的代谢过程中,需要维生素 B<sub>12</sub>的参与。理论上,维生素 B<sub>12</sub>有助于增加体内活性叶酸水平,降低同型半胱氨酸水平,进而有利于降低 NTDs 的风险。有研究发现,妇女血浆叶酸水平和维生素 B<sub>12</sub>水平是 NTDs 的独立危险因素<sup>[37]</sup>。妇女血清维生素 B<sub>12</sub>水平低于 185 pmol/L,生育脊柱裂后代的风险增加 2.5 倍<sup>[38]</sup>。NTDs 胎儿的羊水内维生素 B<sub>12</sub>浓度低于健康胎儿<sup>[39,40]</sup>。还有研究发现,与转钴胺素 II(transcobalamin II)结合的维生素 B<sub>12</sub>减少,增加 NTDs 发生的风险。因此,在增补叶酸的基础上补充维生素 B<sub>12</sub>,有助于预防 NTDs<sup>[41]</sup>。

对 12 项叶酸降低同型半胱氨酸的临床试验进行综合分析<sup>[42]</sup>,结果发现,在每日增补 0.5~5.0 mg 叶酸降低血液同型半胱氨酸水平 25% 的基础上,每日补充维生素 B<sub>12</sub> 0.5 mg 可进一步降低同型半胱氨酸水平 7%。因此,同时增补叶酸与维生素 B<sub>12</sub>可能比单纯增补叶酸预防 NTDs 的作用更强<sup>[43]</sup>。

### 2. 维生素 B<sub>6</sub>

维生素 B<sub>6</sub>参与体内同型半胱氨酸的代谢,而同型半胱氨酸水平升高与 NTDs 和多种其他不良妊娠结局的风险增加存在关联性。但在对 12 项研究进行综合分析后<sup>[42]</sup>,未发现在增补叶酸的基础上再补充维生素 B<sub>6</sub>有助于进一步降低同型半胱氨酸水平。

英国医学研究会预防 NTDs 再发的研究中,所使用的增补剂内含维生素 B<sub>6</sub> 1.0 mg 和 5 种其他维生素<sup>[46]</sup>,但既未发现多种维生素具有预防 NTDs 的作用,也未发现维生素 B<sub>6</sub>能够增强叶酸的作用。因此,尚缺乏增补维生素 B<sub>6</sub>能够增强叶酸预防 NTDs 作用的直接证据。

### 3. 其他微量营养素

妊娠中后期,随着胎儿的生长,对铁的需要量增加。而妊娠前和妊娠早期母体适宜的铁储备可以降低母亲铁缺乏和贫血的风险。因此,同时增补叶酸

和铁既可预防 NTDs,又可预防贫血。世界卫生组织推荐育龄和妊娠妇女同时增补铁和叶酸<sup>[44]</sup>。

## 十二、围受孕期增补叶酸的安全性

增补叶酸的潜在健康危害是科学界和公众非常关心的问题,主要有以下几个方面。

### 1. 大剂量增补叶酸的安全性

在前述应用 4 mg 叶酸预防 NTDs 再发的随机对照研究中<sup>[16]</sup>,未发现任何不良反应。最近,在英国完成的一项肌醇预防 NTDs 再发的随机对照研究中,肌醇组和非肌醇组妇女均从妊娠之前开始每日服用 5 mg 叶酸,直至妊娠满 3 个月,未发现不良反应<sup>[45]</sup>。对高危妇女,美国和加拿大等国家建议每日服用 4 mg 叶酸;英国、法国、西班牙、巴西等国家以及世界卫生组织建议每日服用 5 mg 叶酸<sup>[46,47]</sup>。

有研究人员为 25 名复发性流产(3~5 次)伴高同型半胱氨酸血症,并携带 MTHFR 基因 TT 纯合突变的妇女每日服用 15 mg 叶酸及 750 mg 维生素 B<sub>6</sub>。1 个月后,大多数妇女的血液同型半胱氨酸浓度降至正常。同型半胱氨酸浓度降至正常后的 3 个月内,22 名妇女怀孕。妊娠满 3 个月后,改服每日 5 mg 叶酸,并停用维生素 B<sub>6</sub>。其中 2 名妇女在妊娠 8~16 周流产,其余 20 名妇女怀孕至分娩。共发生 4 例早产,其中 2 例非重度宫内发育迟缓。未发现母亲和胎儿其他不良反应<sup>[48]</sup>。因此,孕前及孕早期每日服用 5 mg 叶酸对具有高危因素的妇女是安全的。

### 2. 掩盖维生素 B<sub>12</sub>缺乏

由于维生素 B<sub>12</sub>缺乏和叶酸缺乏均可引起巨幼细胞贫血,增补叶酸可能使因维生素 B<sub>12</sub>缺乏而导致的巨幼细胞贫血血常规得以改善,掩盖维生素 B<sub>12</sub>缺乏的症状,使这些患者不能得到及时发现和治疗,从而使因维生素 B<sub>12</sub>缺乏而导致的神经损害进行性发展,甚至加重<sup>[49]</sup>。但这种情况只可能出现在长期、大剂量增补叶酸且维生素 B<sub>12</sub>缺乏的个体。由于维生素 B<sub>12</sub>缺乏多见于老年人<sup>[50]</sup>和严格素食人群<sup>[51]</sup>,因而对短期增补叶酸的育龄妇女造成危害的可能性极小。

### 3. 增加结肠癌风险

一项长期(3~5 年)、大剂量(每日 1 mg)增补叶酸预防结直肠腺瘤再发的临床试验发现,与安慰剂组相比,叶酸无预防结直肠腺瘤再发的作用。进

一步分析发现,增补叶酸可能增加恶性肿瘤、3个以上肿瘤及除结直肠癌外的其他癌症的风险<sup>[52]</sup>。随后,有报道认为,美国和加拿大分别自1996年和1998年开始,结直肠癌发病率结束了之前多年持续下降趋势,转而开始上升,认为可能与这两个国家实施叶酸强化面粉有关(1996年开始自愿添加叶酸,1998年强制添加叶酸)<sup>[53]</sup>。有研究人员对这2篇报道提出了不同的意见<sup>[54,55]</sup>,认为随机对照研究的结果基于的是二次亚组分析,样本量小,不能排除机会的作用;另外,大规模叶酸强化自1998年1月开始,1996年或1998年结肠癌发病率的一过性升高与叶酸强化在时间上并不一致,且结直肠癌的死亡率没有上升。因此,发病率的上升可能与结肠镜检查率升高,检出增多有关。最近一项Meta分析显示,增补叶酸与结直肠癌风险无关联性<sup>[56]</sup>。有观点认为,对于无癌症病灶的人来说,增补叶酸具有预防癌症的作用;而对于已患者,增补叶酸则可能促进癌的进展<sup>[57]</sup>。

#### 4. 增加儿童期哮喘风险

最初,研究人员对一个小规模出生队列数据分析发现,母亲孕晚期(孕30~34周)增补叶酸,后代3.5岁时哮喘的风险增加26%(95%CI:1.08~1.43)<sup>[58]</sup>。随后的报道结果并不一致<sup>[59,60]</sup>。一项研究发现,母亲孕晚期(平均孕35周)血液叶酸水平与哮喘等过敏性疾病的风险之间无关联性;相反,母亲血液叶酸水平与后代6~7岁时的哮喘风险存在负相关,且呈剂量反应关系<sup>[61]</sup>。也有研究显示,母亲孕期每日服用5mg叶酸<sup>[62]</sup>,或孕期总服用剂量>72mg(相当于每日0.4mg,服用天数180天以上)与后代哮喘的风险增加存在关联性<sup>[63]</sup>;而孕期总服用剂量<36mg(相当于每日0.4mg,服用天数低于90天)与后代哮喘风险降低存在关联性<sup>[63]</sup>。因此,尚无确凿证据表明围受孕期增补叶酸增加后代哮喘的风险。

#### 十三、个性化增补

叶酸代谢通路关键酶(如MTHFR)的基因突变影响叶酸的吸收和代谢<sup>[64]</sup>。MTHFR 677位点TT纯合突变及血液叶酸浓度低与血液同型半胱氨酸浓度升高有关<sup>[65,66]</sup>,而高同型半胱氨酸血症增加NTDs及其他多种不良妊娠结局的风险<sup>[67,68]</sup>。因此,医生可根据妇女的膳食叶酸摄入量、血液叶酸浓

度、血液同型半胱氨酸浓度、叶酸代谢酶关键基因的突变情况、服用药物情况、慢性病患病情况及备孕时间长短等因素,对叶酸增补剂量和增补期限进行个性化调整。对无NTDs高危因素的妇女,每日增补剂量不宜超过1.0mg。

有研究报道,对于高同型半胱氨酸血症并携带MTHFR 677位点TT纯合突变的妇女,孕前及孕早期叶酸增补剂量每日高达15mg<sup>[48]</sup>。因此,对高同型半胱氨酸血症妇女,建议每日增补至少5mg叶酸,直至血液同型半胱氨酸水平降至正常后再考虑受孕,且持续每日增补5mg叶酸,直至妊娠满3个月(II-3A)。

对预防神经管缺陷而言,增补叶酸至妊娠满3个月已经足够。但由于叶酸对孕妇或胎儿有其他益处,中国和国外的某些学术团体建议,无高危因素的妇女可每日增补0.4mg叶酸至妊娠结束,甚至持续整个哺乳期;对具有高危因素的妇女,可每日增补0.8~1.0mg叶酸,直至妊娠结束。医生可根据妇女的具体情况给出妊娠3个月之后的增补建议。

#### 十四、其他国家及世界卫生组织的相关建议

针对低风险或一般风险妇女,大多数国家的政府部门或学术机构推荐的叶酸增补剂量为每日0.4mg,但美国预防服务专业委员会(US Preventive Services Task Force)推荐的剂量为每日0.4~0.8mg<sup>[69]</sup>。开始增补时点从孕前4周~孕前3个月不等;增补结束时点为妊娠8~12周不等。有组织建议增补更长时间,如中国营养学会《中国居民膳食指南(2016)》建议增补叶酸持续整个孕期<sup>[70]</sup>;加拿大妇产科学会建议,增补叶酸持续整个孕期,并至产后4~6周,或持续整个哺乳期<sup>[71]</sup>。

对于高风险妇女,英国<sup>[72]</sup>、法国<sup>[73]</sup>等国家和世界卫生组织<sup>[74]</sup>建议每日增补5mg叶酸。每日增补5mg叶酸的主要考虑是,包括中国在内的很多国家没有4mg叶酸剂型,而有5mg剂型。如果每次服用10片0.4mg叶酸,由此带来的不便可能会影响依从性,花费也会相应增加。而就吸收和效果而言,4mg和5mg两种剂量无明显差异。高危妇女服用叶酸的结束时间为妊娠满12周或3个月。同样,加拿大妇产科学会建议,大剂量增补至妊娠满12周后,每日继续增补0.4~1.0mg至分娩,并可进一步增补至产后4~6周或持续整个哺乳期<sup>[71]</sup>。

值得注意的是,包括美国、加拿大、智利、澳大利亚等在内的 87 个国家和地区实施了叶酸强化主粮措施<sup>[75]</sup>。澳大利亚妇女从强化面粉内每日额外摄取约 160 μg 叶酸<sup>[76]</sup>;美国妇女从强化面粉内每日摄取约 200 μg 叶酸<sup>[77]</sup>。在这些采取叶酸强化主粮措施的国家,同样建议可能怀孕的育龄妇女每日服用叶酸增补剂。

### 十五、健康教育和指导

妇幼保健人员应告知备孕及孕早期妇女,每人都有生育 NTDs 患儿的风险;曾经生育过 NTDs 患儿的妇女再次妊娠,生育 NTDs 患儿的风险更高。增补叶酸可有效降低生育 NTDs 患儿的初发和再发风险。

在建议增补叶酸的同时,应告知育龄妇女多食用富含叶酸的食物,养成健康的生活方式,保持合理体重,预防孕早期高热,采取综合措施,降低胎儿 NTDs 风险。

有些综合征或染色体异常也会表现有 NTDs。因此,增补叶酸不能预防所有的 NTDs。如果全程增补叶酸的妇女生育了 NTDs 患儿,应建议其去做遗传咨询,并进行必要的实验室检查,以明确病因。

执笔:任爱国,张雪娟,刘慧姝,朱丽萍,刘凯波,贾艳菊

#### 指南工作组成员(按姓氏笔画排序):

吕康模(四川省成都市妇女儿童中心医院)

朱丽萍(上海市妇幼保健中心)

任爱国(北京大学生育健康研究所/卫生部生育健康重点实验室)

刘凯波(北京妇产医院北京妇幼保健院)

刘慧姝(广东省广州市妇女儿童医疗中心)

李进华(河北省妇幼保健中心)

李练兵(重庆市人口和计划生育科学技术研究院)

吴青青(北京妇产医院)

张雪娟(山西省妇幼保健院)

张霆(首都儿科研究所)

陈耀勇(广州医科大学第三附属医院)

贾政军(湖南省妇幼保健院)

贾艳菊(天津市中心妇产科医院)

高华方(国家卫生计生委科学技术研究所)

龚波(上海市长宁区妇幼保健院)

蔡艳(山东省济南市妇幼保健院)

冀小平(内蒙古自治区妇幼保健院)

## Guideline for the Prevention of Neural Tube Defects by Periconceptional Folic Acid Supplementation (2017)

*The Folic Acid Supplementation Working Group, Birth Defects Prevention and Molecular Genetics Branch, China Maternal and Child Health Association*

Corresponding author: REN Ai-guo (renag@bjmu.edu.cn)

### Key Recommendations

During preconception care or in clinical encounters with women who are capable of becoming pregnant, information on personal medical history, reproduction, family disease history, diet, medication, and lifestyles should be collected. Physical examination and laboratory assessment may also be conducted as necessary. The following recommendations regarding folic acid supplementation should be provided based on the information gathered.

1. Women without known risk factors for neural tube defects should take a daily supplement containing 0.4 mg (II-1A\*) or 0.8 mg (IA) folic acid whenever pregnancy is possible or at least 3 months before pregnancy until the end of the third month of pregnancy.
2. Women with a previous pregnancy affected by a neural tube defect should take 4 mg folic acid daily whenever pregnancy is possible or at least 1 month before pregnancy until the end of the third month of pregnancy (IA). Because no supplements containing 4 mg folic acid are available, the prescription form of 5 mg folic acid may be used.
3. Women or their partners with a personal neural tube defect, or women whose partners have had a previous pregnancy affected by a neural tube defect should take 4 mg folic acid daily whenever pregnancy is possible or at least 1 month before pregnancy until the end of the third month of pregnancy (II-2A). Because no supplements containing 4 mg folic acid are available, the prescription form of 5 mg folic acid may be used.
4. Women who have congenital hydrocephaly, congenital heart defects, orofacial clefts, defects of the urinary tract or a positive family history of these defects, or a family history of neural tube defects in first- or second-degree relatives should take a daily supplement containing 0.8 mg to 1.0 mg folic acid whenever pregnancy is possible or at least 3 months before pregnancy until the end of the third month of pregnancy (II-2A).
5. Women with diabetes or epilepsy, or who are obese, should take a daily supplement containing 0.8 mg to 1.0 mg folic acid whenever pregnancy is possible or at least 3 months

before pregnancy until the end of the third month of pregnancy (II-2A).

6. Women who are taking teratogenic medications, such as carbamazepine, valproic acid, phenytoin, primidone, phenobarbital, metformin, methotrexate, sulfasalazine, triamterene, trimethoprim, and cholestyramine, should take a daily supplement containing 0.8 mg to 1.0 mg folic acid whenever pregnancy is possible or at least 3 months before pregnancy until the end of the third month of pregnancy (II-2A).

7. Women with gastrointestinal malabsorption conditions should take a daily supplement containing 0.8 mg to 1.0 mg folic acid whenever pregnancy is possible or at least 3 months before pregnancy until the end of the third month of pregnancy (II-2A).

#### *Personalized supplementation*

A higher dose or extended use of folic acid supplements may be considered if women 1) live in one of the northern provinces, especially in northern rural areas; 2) have a diet containing inadequate amounts of fresh fruit or vegetables; 3) have a low blood folate concentration; 4) carry a homozygous mutation at the 677 locus of the *MTHFR* gene; or 5) have a short interval of pre-pregnancy preparation.

Women with hyperhomocysteinemia should take 5 mg folic acid daily until their homocysteine concentration is normalized, and continue through the end of the third month of pregnancy (II-3A).

#### *Comprehensive measures for the prevention of neural tube defects*

In addition to taking a folic acid supplement, women should consume a folate-rich diet, adopt healthy lifestyles, and maintain a healthy body weight. These measures help to reduce the risk of fetal neural tube defects as well (II-2A).

\* Quality of evidence and classification of recommendations.

### 参 考 文 献

- 中华人民共和国卫生部. 卫生部关于印发《增补叶酸预防神经管缺陷项目管理方案》的通知. <http://www.nhfpc.gov.cn/zhuzhan/wsbmzj/201304/02c3c3d5117464aa054c08de04b0468.shtml>. 2009-09-14.
- Canadian Task Force on Preventive Health C. New grades for recommendations from the Canadian Task Force on Preventive Health Care. *CMAJ*, 2003, 169:207-208.
- Blom HJ, Shaw GM, den Heijer M, et al. Neural tube defects and folate: case far from closed. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7:724-731.
- 中国出生缺陷监测协作组. 中国出生缺陷地图集. 成都:成都地图出版社, 1992.
- Li X, Zhu J, Wang Y, et al. Geographic and urban-rural disparities in the total prevalence of neural tube defects and their subtypes during 2006-2008 in China: a study using the hospital-based birth defects surveillance system. *BMC Public Health*, 2013, 13:161.
- Liu J, Zhang L, Li Z, et al. Prevalence and trend of neural tube defects in five counties in Shanxi province of Northern China, 2000 to 2014. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2016, 106:267-274.
- WHO. Guideline: optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects. Geneva: World Health Organization, 2015.
- Institute of Medicine. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington, D. C.: National Academy Press, 2000.
- Zhao Y, Hao L, Zhang L, et al. Plasma folate status and dietary folate intake among Chinese women of childbearing age. *Matern Child Nutr*, 2009, 5:104-116.
- Meng Q, Zhang L, Liu J, et al. Dietary folate intake levels in rural women immediately before pregnancy in Northern China. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2015, 103:27-36.
- Liu J, Gao L, Zhang Y, et al. Plasma folate levels in early to mid pregnancy after a nation-wide folic acid supplementation program in areas with high and low prevalence of neural tube defects in China. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2015, 103:501-508.
- Ma R, Wang L, Jin L, et al. Plasma folate levels and associated factors in women planning to become pregnant in a population with high prevalence of neural tube defects. *Birth Defects Res*, 2017, DOI:10.1002/bdr2.1040.
- Thompson SJ, Torres ME, Stevenson RE, et al. Periconceptional multivitamin folic acid use, dietary folate, total folate and risk of neural tube defects in South Carolina. *Ann Epidemiol*, 2003, 13:412-418.
- Shaw GM, Schaffer D, Velie EM, et al. Periconceptional vitamin use, dietary folate, and the occurrence of neural tube defects. *Epidemiology*, 1995, 6:219-226.
- Daly LE, Kirke PN, Molloy A, et al. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *JAMA*, 1995, 274:1698-1702.
- MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 1991, 338:131-137.
- Czeizel AE, Duda I. Prevention of the First Occurrence of Neural-Tube Defects by Periconceptional Vitamin Supplementation. *N Engl J Med*, 1992, 327:1832-1835.
- Berry RJ, Li Z, Erickson JD, et al. Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. China-U. S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. *N Engl J Med*, 1999, 341:1485-1490.
- Lindhout D, Omtzigt JG, Cornel MC. Spectrum of neural-tube defects

- in 34 infants prenatally exposed to antiepileptic drugs. *Neurology*, 1992, 42:111-118.
- 20 Rosa FW. Spina bifida in infants of women treated with carbamazepine during pregnancy. *N Engl J Med*, 1991, 324:674-677.
- 21 Russell RM, Golner BB, Krasinski SD, et al. Effect of antacid and H2 receptor antagonists on the intestinal absorption of folic acid. *J Lab Clin Med*, 1988, 112:458-463.
- 22 Warkany J. Aminopterin and methotrexate; folic acid deficiency. *Teratology*, 1978, 17:353-357.
- 23 Parker SE, Yazdy MM, Tinker SC, et al. The impact of folic acid intake on the association among diabetes mellitus, obesity, and spina bifida. *Am J Obstet Gynecol*, 2013, 209:e231-238.
- 24 Garne E, Loane M, Dolk H, et al. Spectrum of congenital anomalies in pregnancies with pregestational diabetes. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2012, 94:134-140.
- 25 Correa A, Gilboa SM, Botto LD, et al. Lack of periconceptional vitamins or supplements that contain folic acid and diabetes mellitus-associated birth defects. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 206:e211-213.
- 26 Ray JG, Vermeulen MJ, Meier C, et al. Risk of congenital anomalies detected during antenatal serum screening in women with pregestational diabetes. *QJM*, 2004, 97:651-653.
- 27 McMahon DM, Liu J, Zhang H, et al. Maternal obesity, folate intake, and neural tube defects in offspring. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2013, 97:115-122.
- 28 Gao LJ, Wang ZP, Lu QB, et al. Maternal overweight and obesity and the risk of neural tube defects: a case-control study in China. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2013, 97:161-165.
- 29 Stothard KJ, Tennant PW, Bell R, et al. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 2009, 301:636-650.
- 30 Hao L, Yang QH, Li Z, et al. Folate status and homocysteine response to folic acid doses and withdrawal among young Chinese women in a large-scale randomized double-blind trial. *Am J Clin Nutr*, 2008, 88:448-457.
- 31 Obeid R, Schon C, Wilhelm M, et al. The effectiveness of daily supplementation with 400 or 800 microg/day folate in reaching protective red blood folate concentrations in non-pregnant women: a randomized trial. *Eur J Nutr*, 2017, DOI: 10.1007/s00394-017-1461-8.
- 32 Chanarin I. Folate deficiency. In: Blakley RL, Whitehead VM, eds. *Folates and pterins. Volume 3. Nutritional, pharmacological, and physiological aspects*. New York: John Wiley & Sons, 1986:75-146.
- 33 Crider KS, Devine O, Hao L, et al. Population red blood cell folate concentrations for prevention of neural tube defects: Bayesian model. *BMJ*, 2014, 349:g4554.
- 34 Obeid R, Koletzko B, Pietrzik K. Critical evaluation of lowering the recommended dietary intake of folate. *Clin Nutr*, 2014, 33:252-259.
- 35 Nakazato M, Maeda T, Emura K, et al. Blood folate concentrations analyzed by microbiological assay and chemiluminescent immunoassay methods. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2012, 58:59-62.
- 36 Pfeiffer CM, Hughes JP, Durazo-Arvizu RA, et al. Changes in measurement procedure from a radioassay to a microbiologic assay necessitate adjustment of serum and RBC folate concentrations in the U.S. population from the NHANES 1988-2010. *J Nutr*, 2012, 142:894-900.
- 37 Kirke PN, Molloy AM, Daly LE, et al. Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. *QJM*, 1993, 86:703-708.
- 38 Groenen PM, van Rooij IA, Peer PG, et al. Marginal maternal vitamin B12 status increases the risk of offspring with spina bifida. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 181:11-17.
- 39 Gardiki-Kouidou P, Seller MJ. Amniotic fluid folate, vitamin B12 and transcobalamins in neural tube defects. *Clin Genet*, 1988, 33:441-448.
- 40 Steen MT, Boddie AM, Fisher AJ, et al. Neural-tube defects are associated with low concentrations of cobalamin (vitamin B12) in amniotic fluid. *Prenat Diagn*, 1998, 18:545-555.
- 41 Afman LA, Van Der Put NM, Thomas CM, et al. Reduced vitamin B12 binding by transcobalamin II increases the risk of neural tube defects. *QJM*, 2001, 94:159-166.
- 42 Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *BMJ*, 1998, 316:894-898.
- 43 Refsum H. Folate, vitamin B12 and homocysteine in relation to birth defects and pregnancy outcome. *Br J Nutr*, 2001, 85 Suppl 2:S109-S113.
- 44 WHO. Guideline: Daily iron and folic acid supplementation in pregnant women. Geneva: World Health Organization, 2012.
- 45 Greene ND, Leung KY, Gay V, et al. Inositol for the prevention of neural tube defects: a pilot randomised controlled trial. *Br J Nutr*, 2016, 115:974-983.
- 46 Gomes S, Lopes C, Pinto E. Folate and folic acid in the periconceptional period: recommendations from official health organizations in thirty-six countries worldwide and WHO. *Public Health Nutr*, 2016, 19:176-189.
- 47 Cawley S, Mullaney L, McKeating A, et al. A review of European guidelines on periconceptional folic acid supplementation. *Eur J Clin Nutr*, 2016, 70:143-154.
- 48 Quere I, Mercier E, Bellet H, et al. Vitamin supplementation and pregnancy outcome in women with recurrent early pregnancy loss and hyperhomocysteinemia. *Fertil Steril*, 2001, 75:823-825.
- 49 Rush D. Periconceptional folate and neural tube defect. *Am J Clin Nutr*, 1994, 59:511S-515S.
- 50 Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, et al. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr*, 1994, 60:2-11.

- 51 Campbell NR. How safe are folic acid supplements? *Arch Intern Med*, 1996, 156;1638-1644.
- 52 Cole BF, Baron JA, Sandler RS, et al. Folic acid for the prevention of colorectal adenomas: a randomized clinical trial. *JAMA*, 2007, 297: 2351-2359.
- 53 Mason JB, Dickstein A, Jacques PF, et al. A temporal association between folic acid fortification and an increase in colorectal cancer rates may be illuminating important biological principles: a hypothesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16: 1325-1329.
- 54 Bayston R, Russell A, Wald NJ, et al. Folic acid fortification and cancer risk. *Lancet*, 2007, 370:2004.
- 55 Bayston R, Russell A, Wald NJ, et al. Folic acid fortification and cancer risk: Authors' reply. *Lancet*, 2008, 371:1335-1336.
- 56 Qin T, Du M, Du H, et al. Folic acid supplements and colorectal cancer risk: meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep*, 2015, 5;12044.
- 57 Kim YI. Folate, colorectal carcinogenesis, and DNA methylation: lessons from animal studies. *Environ Mol Mutagen*, 2004, 44:10-25.
- 58 Whitrow MJ, Moore VM, Rumbold AR, et al. Effect of supplemental folic acid in pregnancy on childhood asthma: a prospective birth cohort study. *Am J Epidemiol*, 2009, 170:1486-1493.
- 59 Martinussen MP, Risnes KR, Jacobsen GW, et al. Folic acid supplementation in early pregnancy and asthma in children aged 6 years. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 206;72: e71-77.
- 60 Veeranki SP, Gebretsadik T, Mitchel EF, et al. Maternal Folic Acid Supplementation During Pregnancy and Early Childhood Asthma. *Epidemiology*, 2015, 26:934-941.
- 61 Magdelijns FJ, Mommers M, Penders J, et al. Folic acid use in pregnancy and the development of atopy, asthma, and lung function in childhood. *Pediatrics*, 2011, 128:e135-144.
- 62 Zetstra-van der Woude PA, De Walle HE, Hoek A, et al. Maternal high-dose folic acid during pregnancy and asthma medication in the offspring. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2014, 23:1059-1065.
- 63 Yang L, Jiang L, Bi M, et al. High dose of maternal folic acid supplementation is associated to infant asthma. *Food Chem Toxicol*, 2015, 75:88-93.
- 64 Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*, 1995, 10:111-113.
- 65 Jacques PF, Boston AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation*, 1996, 93:7-9.
- 66 Crider KS, Zhu JH, Hao L, et al. MTHFR 677C- > T genotype is associated with folate and homocysteine concentrations in a large, population-based, double-blind trial of folic acid supplementation. *Am J Clin Nutr*, 2011, 93:1365-1372.
- 67 Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet*, 1995, 345: 149-151.
- 68 Dodds L, Fell DB, Dooley KC, et al. Effect of homocysteine concentration in early pregnancy on gestational hypertensive disorders and other pregnancy outcomes. *Clin Chem*, 2008, 54: 326-334.
- 69 Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, et al. Folic Acid Supplementation for the Prevention of Neural Tube Defects: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*, 2017, 317:183-189.
- 70 中国营养学会. 中国居民膳食指南 2016. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- 71 Wilson RD, Audibert F, Brock JA, et al. Pre-conception Folic Acid and Multivitamin Supplementation for the Primary and Secondary Prevention of Neural Tube Defects and Other Folic Acid-Sensitive Congenital Anomalies. *J Obstet Gynaecol Can*, 2015, 37:534-552.
- 72 National Health Services. Vitamins, supplements and nutrition in pregnancy. <http://www.nhs.uk/conditions/pregnancy-and-baby/pages/vitamins-minerals-supplements-pregnant.aspx#close>. 2015-02-03.
- 73 Goujard J, Robert-Gnansia E. Report on periconceptional supplementation for France. <http://www.eurocat-network.eu/content/NTD-Dec2007-France.pdf>. 2009-02-03.
- 74 WHO. 1.5 Prevention of neural tube defects. Standards for maternal and neonatal care. Geneva: World Health Organization, 2006;1-4.
- 75 Food Fortification Initiative. Global Progress. [http://www.ffinetwork.org/global\\_progress/](http://www.ffinetwork.org/global_progress/). 2017-05-07.
- 76 Dugbaza J, Cunningham J. Estimates of total dietary folic Acid intake in the Australian population following mandatory folic Acid fortification of bread. *J Nutr Metab*, 2012, 2012:492353.
- 77 Dwyer JT, Wotecki C, Bailey R, et al. Fortification: new findings and implications. *Nutr Rev*, 2014, 72:127-141.

(收稿日期:2017-07-13)

## · 标准与规范 ·

# 2018 中国痴呆与认知障碍诊治指南(七): 阿尔茨海默病的危险因素及其干预

中国痴呆与认知障碍诊治指南工作组

中国医师协会神经内科医师分会认知障碍疾病专业委员会

痴呆已经成为老年人群致死和致残的主要疾病之一,而阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是痴呆的首要病因。根据中国认知与老化研究(COAST 研究),截止到 2009 年,中国有 920 万痴呆患者,其中 62.5% 的痴呆患者都是 AD 导致的<sup>[1]</sup>。AD 致残率高,患者晚期丧失独立生活能力,完全需要他人照料,给社会和家庭带来了沉重的经济负担和护理负担。AD 目前仍然缺乏能够改变疾病进程的药物,仍以对症治疗为主。因此,明确 AD 发病的危险因素,并针对这些危险因素开展早期干预和预防,是降低或延缓 AD 发病的可行方法之一。

危险因素通常和疾病的病因或结局相关,可能参与到疾病的某个致病途径,但其灵敏度和特异度常常不足以成为疾病的诊断标志物。AD 的危险因素有多种分类方法,如血管类危险因素、生活方式相关危险因素、遗传危险因素等,考虑其在 AD 早期干预中的意义,本文分为可干预的危险因素和不可干预的危险因素。

## 一、不可干预的危险因素

### (一) 年龄

年龄是 AD 最大的危险因素,大多数散发性 AD 患者都是在 65 岁以后起病。世界范围内不同国家的流行病学研究都证实 AD 的发病率和患病率随着年龄增长而升高。荟萃研究的结果显示,在 60 岁以后,AD 的发病率每 10 年会增高一倍<sup>[2]</sup>。尽管年龄

DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.19.002

基金项目:国家自然科学基金(81530036);国家自然科学基金国家重大科研仪器研制项目(31627803);北京市医院管理局“使命”人才计划(SML20150801);北京学者;北京市科学技术委员会资助课题(Z161100000216137)

通信作者:贾建平,100053 北京,首都医科大学宣武医院神经疾病高创中心,神经内科;北京市老年认知障碍疾病重点实验室;首都医科大学神经变性病与记忆障碍疾病临床诊疗与研究中心;教育部神经变性病重点实验室;国家老年疾病临床医学研究中心;Email:jjp@ccmu.edu.cn

是 AD 最大的危险因素,需要注意的是 AD 并不是老化的必然结果,而老化本身也并不足以导致 AD 的发病。

### (二) 性别

性别也是影响 AD 发病的一个重要危险因素。荟萃研究的结果显示男性比女性的痴呆患病率低 19% ~ 29%<sup>[2]</sup>,造成这种差别的一个可能原因是女性的寿命比男性更长,而在高龄人群中痴呆的发病率更高。

### (三) 遗传因素

除了年龄,AD 最为明确的危险因素是遗传因素,这包括 AD 的致病基因和风险基因。目前已知的 AD 致病基因有三个,分别是位于 21 号染色体的淀粉样蛋白前体基因 (amyloid precursor protein, APP),位于 14 号染色体的早老素-1 基因(presenilin 1, PSEN1) 和位于 1 号染色体的早老素-2 基因 (presenilin 2, PSEN2)。携带有 APP 或者 PSEN1 基因突变的人群 100% 会发展为 AD,而携带有 PSEN2 基因突变的人群,其发展为 AD 的概率为 95%<sup>[3]</sup>。携带有 AD 致病基因突变的 AD 患者约占 AD 总患者数的 5% 左右,这部分患者通常在 65 岁之前就会起病。

在 AD 的风险基因中,研究最为深入和获得最广泛认可的是载脂蛋白 E 基因 (apolipoprotein E, APOE)。人 ApoE 基因位于第 19 号染色体长臂中的第 1 区 3 号带中的第 2 号亚带(19q13.2)上,有 ε2、ε3 和 ε4 三种不同的等位基因,其在人群中的携带率分别为 10% ~ 20%、60% 和 20% ~ 30%<sup>[4]</sup>。研究表明 APOE ε4 等位基因参与调节 β-淀粉样蛋白 (β-amyloid, Aβ) 的生成,并且影响星形胶质细胞和神经元对 Aβ 的清除,从而影响 Aβ 的形成和沉积。同时 APOE ε4 基因不能有效地维持 tau 蛋白与微管蛋白连接的稳定性以及不能抑制 tau 蛋白的自身聚集,从而导致双螺旋纤维的形成<sup>[4]</sup>。不同 APOE 等

位基因对 AD 发病风险的影响各不相同,其中 APOE ε4 等位基因携带者中 AD 的患病风险增加,平均发病年龄降低。研究显示携带一个 APOE ε4 等位基因的人群,其罹患 AD 的风险约是正常人的 3.2 倍,而携带有两个 APOE ε4 等位基因的人群,其罹患 AD 的风险是正常人的 8~12 倍<sup>[5]</sup>。同时携带 APOE ε4 等位基因者与未携带者相比,其从轻度认知障碍(mild cognitive impairment, MCI)向 AD 的转化速度也明显加快<sup>[6]</sup>。

除了 APOE 基因,另一个广泛研究的 AD 风险基因是分拣蛋白相关受体 1 基因(sortilin-related receptor 1, SORL1)。此外,基因组关联分析研究还发现了其他多个与 AD 发病相关的风险基因,包括 CLU、PICALM、CR1 和 BIN1 等,这些等位基因的汇总优势比(OR)通常在 1.1~1.5<sup>[7]</sup>。

#### (四) 家族史

并非所有的 AD 患者都有家族史,然而如果一个个体的一级亲属(包括父母、兄弟姐妹)中有人罹患 AD,其最终发展为 AD 的风险会增加 10%~30%<sup>[8]</sup>。一项研究显示,如果一个家庭中有 2 名或 2 名以上的同胞(即兄弟姐妹)罹患 AD,其家庭成员发展为 AD 的风险是普通人群的 3 倍<sup>[9]</sup>。AD 的这种家族聚集性可能是遗传因素与环境因素共同作用的结果。来自瑞典双胞胎研究的结果显示,环境因素对 AD 发病的贡献并不低于遗传因素的作用<sup>[10]</sup>。

### 二、可干预的危险因素

#### (一) 心脑血管疾病

不同类型的脑血管病,包括脑出血、脑梗死、脑小血管病等,均会增加 AD 的患病风险。多个研究也证实了不同的脑血管病的影像学或者病理标志物与 AD 发病风险的增高相关,这包括 Willis 环动脉粥样硬化、白质病变和皮质梗死等。另一方面,脑血管病和 AD 也常常同时存在。在 AD 患者的系列尸检研究中,34%~50% 的病理证实的 AD 患者脑内均有血管性病理改变。大约 1/3 诊断为血管性痴呆的患者脑组织中都有 AD 样病理改变<sup>[11]</sup>,合并脑血管病的 AD 患者其认知功能表现也通常更差<sup>[12]</sup>。

心血管病也与 AD 和痴呆发病风险的增高相关。一方面,心血管疾病常常伴随许多血管性危险因素,如高血压、血脂增高等,这些都是 AD 发病的危险因素。另一方面,心血管疾病本身也是 AD 发病的危险因素。研究显示 25% 的心衰患者都伴有认知功能减退<sup>[13]</sup>,轻中度心衰患者认知损害多局限于记忆和信息处理等方面<sup>[14]</sup>。

#### (二) 血压

多个横断面和纵向研究均证实中年期的高血压会增加 AD 的发病风险。在一项包含了 3 707 例日本人和美国人的 Honolulu-Asia 研究中发现,中年期未经治疗的收缩期或舒张期高血压与 25 年后的痴呆发病相关,同时也与患者的脑萎缩、老年斑及神经原纤维缠结的形成相关<sup>[15]</sup>。另一方面,随着年龄增长,血压增高对 AD 发病风险的作用逐渐减少,甚至发生反转,老年期低血压成为 AD 发病的危险因素。一项针对 75 岁以上老年人进行的为期 6~9 年的随访研究显示,低血压不仅能促进 AD 的发生,而且会加重 AD 的临床症状<sup>[16]</sup>。

除了观察性研究,多个随机对照临床试验也观察了降压治疗对认知功能的作用。其中,Syst-Eur 研究、PROGRESS 研究和 HOPE 研究中均观察到了降压治疗对痴呆发病风险的降低和认知功能的改善作用,而另外几项 RCTs 研究,包括 MRC 研究、SHEP、SCOPE 和 HYVET-COG 研究未能观察到降压治疗对认知功能的改善作用<sup>[17]</sup>。然而这些研究都只观察了降压治疗的短期预后,更长时间的观察可以帮助我们进一步明确中年期的降压治疗对晚年 AD 发病风险的影响。

#### (三) 血脂

尽管多个研究老年期血脂水平与 AD 发病风险关系的横断面研究或观察性研究的结果缺乏一致性,针对中年期血脂水平与 AD 发病风险关系的流行病学研究支持总胆固醇或低密度胆固醇(LDL-C)的增高会增加 AD 的发病风险。一项纵向队列研究显示,中年期(平均年龄 50 岁)外周血总胆固醇水平增高会使 AD 的发病风险增高 3 倍,而这种发病风险的增高与 APOE 基因型、教育水平、吸烟、饮酒等无关<sup>[18]</sup>。其他几项流行病学研究也得到了相似的结论<sup>[19]</sup>。而针对老年期血脂水平与 AD 发病风险关系的研究,其结果却缺乏一致性,这些研究的结果显示老年期外周血胆固醇水平增高可能增高或者降低 AD 发病风险,也可能没有相关性<sup>[20]</sup>。

#### (四) 2 型糖尿病

流行病学研究显示 2 型糖尿病会导致 AD 的发病风险增加将近一倍<sup>[21~23]</sup>,同样,这种相关性多来自中年期血糖水平,老年期血糖水平与 AD 发病风险的相关性仍不明确。一项纳入 10 项纵向研究的荟萃分析显示,2 型糖尿病会将 AD 的发病风险增加 54%<sup>[24]</sup>。然而来自神经病理研究的结果仍不一致,一些研究显示与健康对照相比,2 型糖尿病会增

加患者脑内的老年斑和神经原纤维缠结<sup>[25]</sup>,另外一些研究却没有观察到这种现象,甚至得到了相反的结论<sup>[26]</sup>。

#### (五) 体质量

体质量与 AD 发病风险之间的关系在不同的年龄段有所不同。荟萃分析显示,中年期(50 岁左右)的肥胖(主要是指腹型肥胖)会导致 AD 的发病风险增加 59%<sup>[24]</sup>。脂肪组织会导致胰岛素抵抗、晚期糖基化终末产物 (advanced glycationend products, AGEs)生成增多、脂肪细胞因子水平增高,这些都会增加 AD 的发病风险<sup>[27]</sup>。而老年期体质量过低则与此后 5~6 年 AD 发病风险的增高相关,这种体质量减轻可能反映了认知功能减退对患者身体状况的影响<sup>[28]</sup>。

#### (六) 吸烟与饮酒

早期的横断面研究显示吸烟对 AD 有保护作用<sup>[29]</sup>。然而人们很快认识到这可能是因为吸烟人群的平均寿命更短所造成的一种偏倚。随后的多个研究也证实吸烟能够增加 AD 的发病风险,特别是在携带有 APOE ε4 等位基因的人群中<sup>[30-31]</sup>。有趣的是,8 项由烟草企业资助的研究均显示了吸烟对 AD 发病的保护作用,而另外 14 项没有烟草企业资助的研究结果分析表明吸烟能够显著增加 AD 的发病风险<sup>[17]</sup>。大量饮酒本身就会导致酒精性痴呆,而中年期的大量饮酒会将 AD 的发病风险增加 3 倍,这在携带有 APOE ε4 等位基因的人群中更为明显<sup>[32]</sup>。另一方面,少量至中等量的饮酒则表现出对 AD 发病的保护作用<sup>[33]</sup>。一项纳入 15 项前瞻性研究的荟萃分析也显示,小到中等量的饮酒能够降低 AD 和痴呆的发病风险<sup>[34]</sup>。

#### (七) 饮食

饮食与 AD 发病风险之间的关系一直受到人们的关注。研究证实,饱和脂肪酸的过多摄入会增加 AD 的发病风险<sup>[35]</sup>。而地中海饮食,即主要摄入鱼类、水果蔬菜、富含多不饱和脂肪酸的橄榄油,适度饮用红酒而较少食用猪肉等红肉,则被多个研究证实能够降低 AD 的发病风险<sup>[36]</sup>,并且这种保护作用不受体力活动和伴随的脑血管病等因素的影响。然而,也有研究未能重现地中海饮食的这种保护性作用。其他研究分析了其他饮食因素,如维生素 E 和维生素 C 等抗氧化剂的摄入,叶酸和维生素 B12 的摄入对认知功能的保护作用,然而目前仍然未能得到相对一致的结论。

#### (八) 教育水平

多个流行病学研究已经一致性地证明了高教育水平对 AD 和痴呆发病的保护作用,即便在携带有 APOE ε4 等位基因的个体中,这种保护作用也得到了很好的体现<sup>[37-38]</sup>。一项纳入 500 例老年人为期 7 年的针对脑白质病变对轻度认知障碍和 AD 发病风险作用的研究显示,高教育水平能够保护认知功能免受脑白质病变的影响<sup>[39]</sup>。另外一项研究也显示高教育水平对认知功能的保护作用独立于脑脊液中的 Aβ 水平<sup>[40]</sup>。高教育水平对 AD 发病保护作用的机制可能归于认知储备的增高。一项包括 3 个队列人群的研究显示,高教育水平对 AD 发病的保护作用并不是减轻了脑内 AD 样的病理改变,而是提高了这些病理改变能够表现出认知功能损害临床症状的阈值<sup>[41]</sup>。

#### (九) 体力活动与脑力活动

中年期的规律体力活动可以降低痴呆与 AD 的发病风险。荟萃分析显示高强度和中等强度的体力活动可以分别将认知功能减退的风险降低 38% 和 35%<sup>[42]</sup>。另外一项纳入 16 项前瞻性研究的荟萃分析显示活跃的体力活动能够将痴呆的整体发病风险降低 28%,而将 AD 的发病风险降低 45%<sup>[43]</sup>。一项前瞻性队列研究显示中年期工作之外的体力活动,而不是工作期间的体力活动,能够将晚年期 AD 或痴呆的发病风险降低 50%,这种保护作用在携带 APOE ε4 等位基因的个体中更为明显<sup>[44]</sup>。即便是低强度的体力活动,如散步,也显示出对 AD 和认知功能减退的保护作用<sup>[45]</sup>。体力活动对 AD 的保护作用可能来自其神经营养作用,以及对心脑血管疾病危险因素的保护作用。

在明确了高教育水平对 AD 发病风险的保护作用之后,人们开始推测增加脑力活动也能够通过增加认知储备来减低 AD 的发病风险,这一推测也为多个流行病学研究所证实。研究显示无论在年轻人<sup>[46]</sup>、还是老年人<sup>[47]</sup>,通过参加各种增加脑力活动的项目,如打牌、阅读、学习新知识等,均可以减少痴呆的发病风险。这种脑力活动还可以贯穿于其他多种日常活动中,包括社交活动、针织、园艺、演奏乐器等,也都表现出对痴呆发病的保护作用<sup>[48]</sup>。来自瑞典双胞胎研究的结果显示,从事复杂性工作,特别是与人打交道的复杂性工作,也能够减少 AD 的发病风险<sup>[49]</sup>。神经影像学的研究显示长期的复杂脑力活动者的海马萎缩程度更低<sup>[50]</sup>。

#### (十) 脑外伤

回顾性研究显示脑外伤史,特别是伴随意识丧

失超过 30 min 以上的严重脑外伤史,能够增加 AD 的发病风险<sup>[51]</sup>。荟萃分析的结果显示,在有脑外伤史的患者中,男性比女性的发病风险更高<sup>[52]</sup>。脑外伤后脑内和脑脊液内 Aβ 水平的增高可能是其潜在的发病机制<sup>[53-54]</sup>。

### (十一) 其他

除了上述危险因素,人们还研究了其他因素对 AD 发病风险的影响,这包括情绪、社会交往状况、社会经济地位等。40%~50% 的 AD 患者都会伴随有抑郁情绪,研究也显示有抑郁病史的人群其 AD 和轻度认知障碍的发病率更高<sup>[55]</sup>,然而另一些研究并没有发现这种相关性。社交活动可能通过增加体力活动和脑力活动,改善情绪等多种机制影响到 AD 的发病风险。纵向研究证实社交活动的减少会增加 AD 的发病风险<sup>[56]</sup>,而老年期的独居和社交活动减少会导致 AD 的发病风险增加 2 倍<sup>[57]</sup>。流行病学研究目前尚无法证实社会经济地位在 AD 发病风险的独立作用,其对 AD 发病的影响常常与教育水平、血管性危险因素等交织在一起。

### 三、AD 的风险预测模型

基于上述众多与 AD 发病风险相关的危险因素,研究人员尝试编制能够预测 AD 发病风险的评分系统。第一个评分系统是基于芬兰的心血管、老化与痴呆队列研究 (cardiovascular aging and dementia study cohort, CAIDE) 编制的 CAIDE 痴呆风险评分<sup>[58]</sup>,此后研究人员又先后编制了其他 4 个评分系统,分别是基于心血管健康认知研究 (from cardiovascular health cognition study, CHS) 的老年人群痴呆风险评分<sup>[59]</sup>、晚发性 AD 风险评分 (late onset AD risk score, LOADRS)<sup>[60]</sup>、基于德国老化、认知和痴呆研究 (aging, cognition and dementia, AgeCoDe) 的基层医疗单位风险评分 (risk score for primary care settings)<sup>[61]</sup> 和 2 型糖尿病患者痴呆风险评分 (type 2 diabetes-specific dementia risk score, DSDRS)<sup>[62]</sup> 等。这些不同的评分系统有着一些共同的特征:在所有的评分系统中,年龄都是最强的危险因素,其次是低教育水平和血管性危险因素。血管性危险因素在不同年龄阶段的作用不同,如中年期高血压、高胆固醇和肥胖是 AD 的危险因素,而在老年期,心脑血管疾病则是 AD 发病的危险因素。当接近痴呆的高发年龄,认知下降主诉、神经心理学检查和脑磁共振检查的纳入可提高 AD 的风险预测评估值。需要指出的是,建立这些评分系统的主要目的是帮助医生和研究人员寻找 AD 的高发人群并实施早期干预,而不

能基于评分的结果就断定评估对象一定有痴呆发病的高度风险,从而造成不必要的担忧<sup>[63]</sup>。

AD 已经被公认为 21 世纪的全球健康难题,世界各国政府已经投入大量资金开展针对 AD 发病机制和治疗的研究。早在 2 500 年前,中国古代著名医学著作《黄帝内经》中就提出“上医治未病,中医治欲病,下医治已病”。Barnes 等<sup>[64]</sup> 的研究显示,如果能将 AD 的 7 种主要危险因素降低 10%~25%,全世界将减少 110 万~300 万 AD 患者。因此,如果能够更好地明确 AD 发病的危险因素,并针对这些危险因素开展早期干预,减少 AD 发病,将极大地减轻社会和家庭负担。

### 【推荐】

对 AD 发病的危险因素进行早期识别,并针对可干预的危险因素开展早期干预。(专家共识)

**执笔:** 唐毅(首都医科大学宣武医院神经内科);吕佩源(河北省人民医院神经内科)

**统稿:** 邱琼琼(首都医科大学宣武医院神经内科)

**专家委员会成员(按照姓氏笔画为序):** 于恩彦(浙江省人民医院精神卫生科);王延江(第三军医大学大坪医院神经内科);吕佩源(河北省人民医院神经内科);纪勇(天津市环湖医院神经内科);杜怡峰(山东大学附属省立医院神经内科);李焰生(上海交通大学附属仁济医院神经内科);汪凯(安徽医科大学第一附属医院神经内科);张杰文(郑州大学人民医院神经内科);陈晓春(福建医科大学附属协和医院神经内科);武力勇(首都医科大学宣武医院神经内科),罗本燕(浙江大学医学院附属第一医院神经内科);周爱红(首都医科大学宣武医院神经内科);屈秋民(西安交通大学第一附属医院神经内科);贾建平(首都医科大学宣武医院神经疾病高创中心,神经内科);贾建军(解放军总医院神经内科);高晶(北京协和医院神经科);郭起浩(复旦大学附属华山医院神经内科);唐牟尼(广州市脑科医院神经内科);唐毅(首都医科大学宣武医院神经内科);章建军(武汉大学中南医院神经内科);彭丹涛(中日友好医院神经内科);谭兰(青岛市市立医院神经内科);魏翠柏(首都医科大学宣武医院神经内科)

### 参 考 文 献

- Jia J, Wang F, Wei C, et al. The prevalence of dementia in urban and rural areas of China [J]. Alzheimers Dement, 2014, 10 (1): 1-9. DOI:10.1016/j.jalz.2013.01.012.
- Prince M, Bryce R, Albanese E, et al. The global prevalence of dementia:a systematic review and metaanalysis [J]. Alzheimers Dement, 2013, 9 (1):63-75. e2. DOI:10.1016/j.jalz.2012.11.007.
- Goldman JS, Hahn SE, Catania JW, et al. Genetic counseling and testing for Alzheimer disease:joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors [J]. Genet Med, 2011, 13 (6): 597-605. DOI:10.1097/GIM.0b013e31821d69b8.

- [4] Raber J, Huang Y, Ashford JW. ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology [J]. *Neurobiol Aging*, 2004, 25(5): 641-650. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2003.12.023.
- [5] Gandy S, Dekosky ST. APOE ε4 status and traumatic brain injury on the gridiron or the battlefield [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(134): 134ed4. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004274.
- [6] Devanand DP, Pelton GH, Zamora D, et al. Predictive utility of apolipoprotein E genotype for Alzheimer disease in outpatients with mild cognitive impairment [J]. *Arch Neurol*, 2005, 62(6): 975-980. DOI: 10.1001/archneur.62.6.975.
- [7] Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 88(4): 640-651. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.12.024.
- [8] van Duijn CM, Clayton D, Chandra V, et al. Familial aggregation of Alzheimer's disease and related disorders: a collaborative re-analysis of case-control studies [J]. *Int J Epidemiol*, 1991, 20 Suppl 2: S13-20.
- [9] Vardarajan BN, Faber KM, Bird TD, et al. Age-specific incidence rates for dementia and Alzheimer disease in NIA-LOAD/NCRAD and EFIGA families: National Institute on Aging Genetics Initiative for Late-Onset Alzheimer Disease/National Cell Repository for Alzheimer Disease (NIA-LOAD/NCRAD) and Estudio Familiar de Influencia Genética en Alzheimer (EFIGA) [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(3): 315-323. DOI: 10.1001/jamaneurology.2013.5570.
- [10] Pedersen NL, Gatz M, Berg S, et al. How heritable is Alzheimer's disease late in life? Findings from Swedish twins [J]. *Ann Neurol*, 2004, 55(2): 180-185. DOI: 10.1002/ana.10999.
- [11] Kalaria RN, Ballard C. Overlap between pathology of Alzheimer disease and vascular dementia [J]. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 1999, 13 Suppl 3: S115-123.
- [12] Chui HC, Zarow C, Mack WJ, et al. Cognitive impact of subcortical vascular and Alzheimer's disease pathology [J]. *Ann Neurol*, 2006, 60(6): 677-687. DOI: 10.1002/ana.21009.
- [13] Almeida OP, Flicker L. The mind of a failing heart: a systematic review of the association between congestive heart failure and cognitive functioning [J]. *Intern Med J*, 2001, 31(5): 290-295.
- [14] Antonelli IR, Trojano L, Acanfora D, et al. Verbal memory impairment in congestive heart failure [J]. *J Clin Exp Neuropsychol*, 2003, 25(1): 14-23. DOI: 10.1076/jcen.25.1.14.13635.
- [15] Freitag MH, Peila R, Masaki K, et al. Midlife pulse pressure and incidence of dementia: the Honolulu-Asia Aging Study [J]. *Stroke*, 2006, 37(1): 33-37. DOI: 10.1161/01.STR.0000196941.58869.2d.
- [16] Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L. Low diastolic pressure and risk of dementia in very old people: a longitudinal study [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2009, 28(3): 213-219. DOI: 10.1159/000236913.
- [17] Reitz C, Brayne C, Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2011, 7(3): 137-152. DOI: 10.1038/nrneuro.2011.2.
- [18] Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease [J]. *Ann Intern Med*, 2002, 137(3): 149-155.
- [19] Solomon A, Kåreholt I, Ngandu T, et al. Serum cholesterol changes after midlife and late-life cognition: twenty-one-year follow-up study [J]. *Neurology*, 2007, 68(10): 751-756. DOI: 10.1212/01.wnl.0000256368.57375.b7.
- [20] Reitz C, Tang MX, Manly J, et al. Plasma lipid levels in the elderly are not associated with the risk of mild cognitive impairment [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2008, 25(3): 232-237. DOI: 10.1159/000115847.
- [21] Leibson CL, Rocca WA, Hanson VA, et al. The risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1997, 826: 422-427.
- [22] Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study [J]. *Neurology*, 1999, 53(9): 1937-1942.
- [23] Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, et al. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review [J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5(1): 64-74. DOI: 10.1016/S1474-4422(05)70284-2.
- [24] Profenno LA, Porsteinsson AP, Faraone SV. Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 67(6): 505-512. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.02.013.
- [25] Janson J, Laedtke T, Parisi JE, et al. Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease [J]. *Diabetes*, 2004, 53(2): 474-481.
- [26] Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study [J]. *Diabetes*, 2002, 51(4): 1256-1262.
- [27] Fitzpatrick AL, Kuller LH, Lopez OL, et al. Midlife and late-life obesity and the risk of dementia: cardiovascular health study [J]. *Arch Neurol*, 2009, 66(3): 336-342. DOI: 10.1001/archneuro.2008.582.
- [28] Gustafson DR, Bäckman K, Waern M, et al. Adiposity indicators and dementia over 32 years in Sweden [J]. *Neurology*, 2009, 73(19): 1559-1566. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181c0d4b6.
- [29] Brenner DE, Kukull WA, van Belle G, et al. Relationship between cigarette smoking and Alzheimer's disease in a population-based case-control study [J]. *Neurology*, 1993, 43(2): 293-300.
- [30] Ott A, Slooter AJ, Hofman A, et al. Smoking and risk of dementia and Alzheimer's disease in a population-based cohort study: the Rotterdam Study [J]. *Lancet*, 1998, 351(9119): 1840-1843.
- [31] Merchant C, Tang MX, Albert S, et al. The influence of smoking on the risk of Alzheimer's disease [J]. *Neurology*, 1999, 52(7): 1408-1412.
- [32] Anttila T, Helkala EL, Viitanen M, et al. Alcohol drinking in middle age and subsequent risk of mild cognitive impairment and dementia in old age: a prospective population based study [J]. *BMJ*, 2004, 329(7465): 539. DOI: 10.1136/bmj.38181.418958.BE.
- [33] Ruitenberg A, van Swieten JC, Witteman JC, et al. Alcohol consumption and risk of dementia: the Rotterdam Study [J]. *Lancet*, 2002, 359(9303): 281-286. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07493-7.
- [34] Anstey KJ, Mack HA, Cherbuin N. Alcohol consumption as a risk factor for dementia and cognitive decline: meta-analysis of prospective studies [J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2009, 17(7): 542-555. DOI: 10.1097/JGP.0b013e3181a2fd07.
- [35] Barberger-Gateau P, Raffaitin C, Letenneur L, et al. Dietary patterns and risk of dementia: the Three-City cohort study [J]. *Neurology*, 2007, 69(20): 1921-1930. DOI: 10.1212/01.wnl.0000278116.37320.52.
- [36] Scarmeas N, Stern Y, Tang MX, et al. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease [J]. *Ann Neurol*, 2006, 59(6): 912-921. DOI: 10.1002/ana.20854.
- [37] Ngandu T, von SE, Helkala EL, et al. Education and dementia: what lies behind the association? [J]. *Neurology*, 2007, 69(14): 1442-1450. DOI: 10.1212/01.wnl.0000277456.29440.16.
- [38] Wang HX, Gustafson DR, Kivipelto M, et al. Education halves the risk of dementia due to apolipoprotein ε4 allele: a collaborative

- study from the Swedish brain power initiative [J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33 (5): 1007. e1-7. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.10.003.
- [39] Mortamais M, Portet F, Brickman AM, et al. Education modulates the impact of white matter lesions on the risk of mild cognitive impairment and dementia[J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2014, 22(11):1336-1345. DOI:10.1016/j.jagp.2013.06.002.
- [40] Soldan A, Pettigrew C, Li S, et al. Relationship of cognitive reserve and cerebrospinal fluid biomarkers to the emergence of clinical symptoms in preclinical Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34 (12):2827-2834. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2013.06.017.
- [41] Brayne C, Ince PG, Keage HA, et al. Education, the brain and dementia: neuroprotection or compensation? [J]. *Brain*, 2010, 133 (Pt 8):2210-2216. DOI:10.1093/brain/awq185.
- [42] Sofi F, Valecchi D, Bacci D, et al. Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies [J]. *J Intern Med*, 2011, 269 (1):107-117. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2010.02281.x.
- [43] Hamer M, Chida Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence[J]. *Psychol Med*, 2009, 39(1):3-11. DOI:10.1017/S0033291708003681.
- [44] Rovio S, Kåreholt I, Helkala EL, et al. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease [J]. *Lancet Neurol*, 2005, 4 (11): 705-711. DOI: 10.1016/S1474-4422(05)70198-8.
- [45] Abbott RD, White LR, Ross GW, et al. Walking and dementia in physically capable elderly men [J]. *JAMA*, 2004, 292 (12): 1447-1453. DOI:10.1001/jama.292.12.1447.
- [46] Carlson MC, Helms MJ, Steffens DC, et al. Midlife activity predicts risk of dementia in older male twin pairs[J]. *Alzheimers Dement*, 2008, 4 (5):324-331. DOI:10.1016/j.jalz.2008.07.002.
- [47] Fratiglioni L, Wang HX. Brain reserve hypothesis in dementia [J]. *J Alzheimers Dis*, 2007, 12(1):11-22.
- [48] Crowe M, Andel R, Pedersen NL, et al. Does participation in leisure activities lead to reduced risk of Alzheimer's disease? A prospective study of Swedish twins[J]. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, 2003, 58 (5):P249-255.
- [49] Andel R, Crowe M, Pedersen NL, et al. Complexity of work and risk of Alzheimer's disease: a population-based study of Swedish twins[J]. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, 2005, 60(5):P251-258.
- [50] Valenzuela MJ, Sachdev P, Wen W, et al. Lifespan mental activity predicts diminished rate of hippocampal atrophy[J]. *PLoS One*, 2008, 3 (7): e2598. DOI: 10.1371/journal.pone.0002598.
- [51] Moretti L, Cristofori I, Weaver SM, et al. Cognitive decline in older adults with a history of traumatic brain injury [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11 (12):1103-1112. DOI:10.1016/S1474-4422(12)70226-0.
- [52] Fleminger S, Oliver DL, Lovestone S, et al. Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease; the evidence 10 years on; a partial replication [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2003, 74 (7): 857-862.
- [53] Franz G, Beer R, Kampfl A, et al. Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury [J]. *Neurology*, 2003, 60(9):1457-1461.
- [54] Hong YT, Veenith T, Dewar D, et al. Amyloid imaging with carbon 11-labeled Pittsburgh compound B for traumatic brain injury[J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(1):23-31. DOI:10.1001/jamaneurol.2013.4847.
- [55] Jorm AF. History of depression as a risk factor for dementia: an updated review[J]. *Aust N Z J Psychiatry*, 2001, 35 (6):776-781. DOI:10.1046/j.1440-1614.2001.00967.x.
- [56] Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B. An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia[J]. *Lancet Neurol*, 2004, 3 (6): 343-353. DOI: 10.1016/S1474-4422(04)00767-7.
- [57] Saczynski JS, Pfeifer LA, Masaki K, et al. The effect of social engagement on incident dementia: the Honolulu-Asia Aging Study [J]. *Am J Epidemiol*, 2006, 163 (5):433-440. DOI:10.1093/aje/kwj061.
- [58] Kivipelto M, Ngandu T, Laatikainen T, et al. Risk score for the prediction of dementia risk in 20 years among middle aged people: a longitudinal, population-based study[J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5 (9):735-741. DOI:10.1016/S1474-4422(06)70537-3.
- [59] Barnes DE, Covinsky KE, Whitmer RA, et al. Predicting risk of dementia in older adults: the late-life dementia risk index [J]. *Neurology*, 2009, 73 (3): 173-179. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3181a81636.
- [60] Reitz C, Tang MX, Schupf N, et al. A summary risk score for the prediction of Alzheimer disease in elderly persons [J]. *Arch Neurol*, 2010, 67(7):835-841. DOI:10.1001/archneurol.2010.136.
- [61] Jessen F, Wiese B, Bickel H, et al. Prediction of dementia in primary care patients[J]. *PLoS One*, 2011,6 (2):e16852. DOI: 10.1371/journal.pone.0016852.
- [62] Exalto LG, Biessels GJ, Karter AJ, et al. Risk score for prediction of 10 year dementia risk in individuals with type 2 diabetes: a cohort study[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2013, 1 (3):183-190. DOI:10.1016/S2213-8587(13)70048-2.
- [63] Imtiaz B, Tolppanen AM, Kivipelto M, et al. Future directions in Alzheimer's disease from risk factors to prevention[J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 88 (4):661-670. DOI:10.1016/j.bcp.2014.01.003.
- [64] Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence[J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10 (9):819-828. DOI:10.1016/S1474-4422(11)70072-2.

(收稿日期:2018-01-24)

(本文编辑:朱瑶)

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/ $\mu$ l) = OD<sub>260</sub> 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申请单，申请单应包含足够的信息，以识别患者和有资格开具申请单的临床医生。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申请单，提供受检者必需的信息。申请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2~3mL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50μL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侵润的情况下，10 mg 组织标本可提取 DNA 或 RNA 10  $\mu\text{g}$ 。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 $\geq100$  个细胞，19G 细针每次获得 $\geq150$  个细胞，支气管活检每次获得 $\geq300$  个细胞，CT 介导的细针穿刺每次可获得 $\geq500$  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于用作 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  $\mu\text{m}$  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  $\mu\text{m}$  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規定执行。

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  $20 \mu\text{L}$ ，OD  $260/280$  为  $1.6\sim1.8$  之间，浓度大于  $50 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ，琼脂糖电泳后电泳条带大于  $50 \text{ kb}$ 。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）和参加室内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，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*、*VKORCI* 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、各组分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*、*CY2C19*、*CYP2D6*、*ADRI*、*ACE*、*VKORCI* 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<sup>[1]</sup>。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 (Pharmogenomics 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所证实，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总局（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EP12—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*2</i> 多态性检测	携带 <i>ALDH2*2</i> 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*3</i> 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*3</i> 的个体塞来昔布的用药剂量；适当增加携带 <i>CYP2C9*3</i> 等位基因的高血压患者洛沙坦的用药剂量。
<i>CYP2C19*2</i> 和 <i>*3</i> 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*10</i> 多态性检测	携带 <i>CYP2D6*10</i> 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*3</i> 多态性检测	减少 <i>CYP3A5*3/*3</i> 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*3</i> 基因型代入公式计算他克莫司的起始剂量。
<i>CYP4F2*3</i> 多态性检测	降低 <i>CYP4F2*3</i> 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*2A</i> 等位基因检测	携带 <i>DPYD*2A</i> 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 NAT1/NAT2 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>SLCOIB1 521T&gt;C</i> 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*28 (6/7)</i> 和 <i>(7/7)</i> 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*6</i> 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/D</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 rs1800497</i> 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（dMMR）检 建议 dMMR 者接受不含 5-FU 的化疗方案。

测

<i>G6PD</i> 基因多态性检测	携带突变等位基因的 G6PD 缺乏患者禁用氯喹、氨苯砜和拉布立酶。
<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呤醇，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	Rs12979860T 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 As2O3 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幊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

在将检测用于临幊工作之前应该对方法进行分析确认和临幊确认。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<sup>[23]</sup>。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<sub>2S</sub>: 1个质控测定值超出 $X \pm 2S$ 控制线，预警。

1<sub>3S</sub>: 1个质控测定值超出 $X \pm 3S$ 控制线，失控。

2<sub>2S</sub>: 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<sub>4S</sub>: 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<sub>1S</sub>: 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<sub>T</sub>: 7个连续的质控测定值呈现出向上或向下的趋势，失控。

10<sub>X</sub>: 10个连续的质控测定值同时处于均值（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。阴性检测结果为阳性，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，则应立刻查找失控原因，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内质控样本；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:  $\beta$ -adrenergic receptor 1  $\beta$ 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-complementation 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 methyltransferse 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: Pharmogenomics 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 $\alpha$ : Retinoic receptor  $\alpha$  维甲酸受体 $\alpha$

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 硫基次黄嘌呤单磷酸

TOP2A: topoisomerase II alpha, 拓扑异构酶 II  $\alpha$

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。*CYPC2C9\*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 *CYPC2C9\*2* 的频率为 0%，*CYPC2C9\*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。

华法林是临幊上常用的抗凝药物，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，其临幊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<sup>[2-4]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[5]</sup>，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<sup>[1]</sup>。

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<sup>[5]</sup>。

#### 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<sup>[6,7]</sup>。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<sup>[5]</sup>。

*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<sup>[1]</sup>。

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<sup>[1]</sup>。

### 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 *CYP3A5*mRNA 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，临幊上广泛用于肝、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<sup>[1]</sup>。

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=  $5.409 - 2.584 * \text{CYP3A5GG}^a - 1.732 * \text{CYP3A5GA}^b + 0.279 * \text{ABCB1C}^{1236T} + 0.205 * \text{ABCB1G2677T}^d - 0.163 * \text{donor type}^e - 0.149 * \text{CCB}^f - 0.140 * \text{infection}^g - 0.197 * \text{Hypertension}^h$

- 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  $\omega$ -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<sup>[4]</sup>。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<sup>[1]</sup>。

## 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%<sup>[8, 9]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[1]</sup>。

## 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 多种肼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<sup>[4]</sup>。

*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。临幊上推荐检测的 *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<sup>[4]</sup>。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<sup>[10, 11]</sup>。为降低他汀类药物严重不良反应的发生风险，建议临幊上根据 *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	SLCO1B1	SLCO1B1	正常剂量范围 (mg/天)
	c.521TT (mg/天)	c.521TC (mg/天)	c.521CC (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<sup>[12]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[1]</sup>。

顺铂广泛用于多种实体瘤的治疗，耳毒性是其主要不良反应之一。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[13]</sup>。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<sup>[5]</sup>。

## 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<sup>[14,15]</sup>。为取得最佳疗效，建议临幊上在选择 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

$\beta$  肾上腺素受体（ $\beta$ -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  $\beta_1$ 、 $\beta_2$  和  $\beta_3$  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  $\text{Ca}^{2+}$  通道的开放频率，是  $\beta$  受体激动剂和  $\beta$  受体阻滞剂的作用靶点。 $\beta_1$  受体编码基因 *ADRB1* 多态性可影响  $\beta$  受体阻断剂如美托洛尔的疗效<sup>[16]</sup>。*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。建议临幊医师在应用  $\beta_1$  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<sup>[5]</sup>。

#### 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<sup>[1]</sup>。

#### 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 $\alpha$ -2a、聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -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<sup>[5]</sup>。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 $\alpha$* 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 $\alpha$ （*RAR $\alpha$* ）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 $\alpha$* 。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 $\alpha$*  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<sub>2</sub>O<sub>3</sub>）在治疗 APL 中显示出很好的疗效。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 的抗 APL 作用与其快速调变和降解 *PML-RAR $\alpha$*  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 $\alpha$*  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<sup>[17]</sup>。

## 2.7 *TOP2A* 基因异常检测

*TOP2A* 基因（topoisomerase II alpha, TOPII  $\alpha$ ）编码 DNA 拓扑异构酶 II  $\alpha$ ，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）<sup>[5]</sup>。临幊上也可根据考虑了*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	<i>CYP2C9</i> 基因型		
G>A 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：

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

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<sup>[18]</sup>。因此，dMMR 既可用来预测 II 期和 III 期结肠癌患者预后，又可用来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、氨苯砜、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、氨苯砜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<sup>[5]</sup>。在应用氯喹、氨苯砜和拉布立酶之前，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* 等位基因与别嘌呤醇所致 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<sup>[19, 20]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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* 作为预测别嘌呤醇皮肤毒性的 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<sup>[1]</sup>。

### 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-)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 O<sub>6</sub> 和 N<sub>7</sub> 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。

O<sup>6</sup>-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O<sup>6</sup> 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<sup>[21, 22]</sup>。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-complementation 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。吉西他滨临幊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
<b>药物代谢酶与转运体基因</b>	
<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>DYPD</i>	氟尿嘧啶、卡培他滨、替加氟
<i>NAT1</i> 、 <i>NAT2</i>	异烟肼、普鲁卡因胺、呲嗪酰胺、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
<b>药物作用靶点基因</b>	
<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>ERCCI</i>	铂类药物（顺铂、卡铂和奥沙利铂）

---

*RRM1*

吉西他滨

**其他基因**

*dMMR*

氟尿嘧啶

*G6PD*

氯喹、氨苯砜、拉布立酶

*HLA-B*

卡马西平、苯妥英、阿巴卡韦、别嘌呤醇

*MGMT*

替莫唑胺

*MSI*

氟尿嘧啶

---

## 参考文献

- 1) [www.pharmgkb.org/](http://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](http://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.

# 五联检 项目列表

货号	产品名称
RP-001	人类CYP2C19基因多态性检测试剂盒（PCR-荧光探针法）  指导氯吡格雷个体化用药，有效抗凝并避免出血事件； 还可指导质子泵抑制剂、一线抗真菌药物、抗抑郁药物的个体化用药。
RP-002	人类VKORC1和CYP2C9基因多态性检测试剂盒（PCR-荧光探针法）  指导华法林个体化用药，有效抗凝并避免出血事件； 也可指导抗癫痫药物、非甾体抗炎药物个体化用药。
RP-003	人类ALDH2基因多态性检测试剂盒（PCR-荧光探针法）  ALDH2*2/*2突变型患者使用硝酸甘油无效率达到42.4%，约是野生型人群的3倍； 因此指导硝酸甘油的合理用药于患者生命十分重要。 其多态性还可提示不同个体的酒精代谢能力、及预测致癌风险。
RP-004	人类MTHFR基因多态性检测试剂盒（PCR-荧光探针法）  指导孕妇补充合适剂量叶酸，可有效预防妊娠风险和新生儿出生缺陷； 也可指导高血压患者联用叶酸，预防并发脑卒中风险； 同时还能预测H型高血压风险。
RP-005	人类ApoE基因多态性检测试剂盒（PCR-荧光探针法）  指导有效他汀类降脂药物的选择； 可预测高血脂风险、老年痴呆风险。

\* 以上产品已获证，可合规销售



国械注准20193400488



国械注准20173403154



国械注准20173403155号



国械注准20193400492

国械注准20193400487

ApoE

## 药物基因组学 “五联检”



### 操作简便

所有产品共用一个反应程序，可同时上机检测



### 检测位点齐全

覆盖面广，包括CYP2C19基因\*2、\*3和\*17基因型，CYP2C9基因的\*2和\*3基因型



### 耗时少

上机检测仅需1小时10分钟即可出结果



### 灵敏度高

样本最低检测下限为1ng/ul



### 特异性强

同源基因和本基因其他突变位点均不影响结果检测



### 精确性好

阴 阳 性 符 合 率：  
100%符合率



### 精密度高

批内和批间CV≤5%



### 抗干扰性好