

# 个体化用药的基因诊断—检验医师培养新方向

郑磊 司徒博 王前

作者单位:510515 广州市,南方医科大学南方医院检验医学中心

人类基因组计划(human genome project, HGP)确定、阐明和记录了组成人类基因组的全部 DNA 序列信息,基因组序列的公布,为传统医学向个体化医疗的转化开启了大门。继人类基因组计划后,国际人类基因组单体型图计划建立了人类全基因组遗传多态图谱,描述了人类基因组中常见遗传多态位点的目录、形式及位置,展现了遗传差异在同一群体内部和不同人群间的分布状况,为疾病的易感性研究及个体化诊疗提供分子基础。个体化用药是个体化治疗的重要组成部分,基因水平研究的不断深入使得以基因为导向的个体化用药从理论走向了现实。

个体化用药的基因诊断是当今检验医学学科发展新的机遇,国内不少临床实验室已经或者正在积极准备开展个体化用药的临床基因诊断业务。作为实验室与临床沟通的“使者”,检验医师应密切关注与临床相关的个体化用药进展,同时掌握基因检测的原理与技术,为个体化用药基因诊断的广泛开展和结果解释做好准备。

## 1 个体化用药的现状

目前以基因信息为导向的个体化用药大致分为以下两部分。

**1.1 遗传多态性为基础的个体化用药** 临床实践显示,同一种药会在不同患者中显示出不同的反应性,体现在用药后部分患者有效,部分患者无效甚至产生严重毒副作用。尽管影响个体反应差异的原因复杂,包括身高、体重、年龄、性别、吸烟、药物相互作用、肝肾功能等,但最重要的影响原因是个体的遗传差异<sup>[1]</sup>。由于药代学与药效学相关蛋白(如药物转运蛋白、血浆药物结合蛋白、药物代谢酶、药物受体、药物靶标相关蛋白、离子通道等)对药物作用的影响最为直接,因此对这些蛋白的遗传多态性研究在遗传药理学领域中较为重视,在科研成果上取得重要进展。

以药物代谢酶为例,不同的参与药物代谢的酶基因型可影响其蛋白功能,在表型上则可表现为强代谢型、弱代谢型和杂合代谢型,强代谢型可导致药物疗效差,而弱代谢型则容易产生毒副作用。如临床常用的抑酸药奥美拉唑的主要代谢酶为 P450 2C19(CYP2C19),研究发现 CYP2C19 野生纯合子(强代谢型)人群服用奥美拉唑后血药浓度峰值最低、代谢

速度最快,对消化道溃疡疗效也较差;相反 CYP2C19 的突变纯合子则可能因为代谢较慢而在相同剂量下显示出较好的疗效,杂合突变者疗效则居中<sup>[2,3]</sup>。这提示我们在应用奥美拉唑对消化道溃疡患者进行治疗前,应先行 CYP2C19 的基因检测,根据患者基因型调整用药剂量,以达到更佳的治疗效果。不仅如此,主要由 CYP2C19 代谢的其他药物(如氟吡格雷、安定、美芬妥因、氟脲)的代谢情况亦可通过该基因多态性情况反映出来,从而指导用药剂量。又如常用的抗肿瘤药物伊立替康,它在体内转化为活性产物 SN-38 后发挥抗癌作用,SN-38 的抗癌活性是其母药伊立替康的 100~1000 倍,同时也发现它与应用伊立替康所出现的严重不良反应密切相关。由于伊立替康的活性代谢产物 SN-38 在肝细胞内通过葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronyl transferase, UGT)的作用与葡萄糖醛酸结合,形成  $\beta$ -葡萄糖苷酸 SN-38(SN-38G)而丧失抗癌活性同时减低毒性。研究<sup>[4]</sup>发现,编码 UGT 的基因 UGT1A1 其突变型 UGT1A1\*28 的突变纯合子对 SN-38 的葡萄糖苷活化活性仅是野生型的 35%,UGT1A1\*28 的突变杂合子则介于其中,因而 UGT1A1\*28 的纯合突变子更容易产生毒副作用(50%几率);而野生型 UGT1A1 在接受伊立替康治疗时产生毒副作用风险极低。2005 年,美国食品及药品管理局要求在伊立替康药品标签上加入警示,建议患者在使用伊立替康前先检测是否带有 UGT1A1\*28 突变。由于该突变的影响是与剂量相关的,在使用低剂量伊立替康治疗时,UGT1A1 突变情况对毒副作用的风险影响不大<sup>[5]</sup>。这提示临床医师在使用伊立替康前应根据 UGT1A1 基因型情况,调整用药剂量或者更改用药,以降低患者用药所致的粒细胞降低、严重腹泻及脱水等毒副作用发生的可能性,同时可节省医疗开支。随着遗传药理学研究的不断深入,基因多态性与许多药物的个体差异的关系已逐渐揭示,部分医疗单位亦开展了指导个体化用药的基因检测项目,根据个体基因信息调整用药正逐渐改变传统的“千人一量”的用药原则。

**1.2 肿瘤靶向治疗为基础的个体化用药** 肿瘤细胞与正常体细胞在基因与蛋白水平存在本质差异,而分子靶向治疗便是通过药物抑制肿瘤细胞在发生发展中起重要作用的基因或蛋白而发挥抗癌作用。尽管肿瘤靶向药物往往针对肿瘤

生长、增殖信号通路上的重要基因或蛋白,但由于肿瘤细胞间的异质性决定了不同肿瘤甚至同一类肿瘤中也会存在不同分子分型,这也是靶向药物疗效悬殊的分子基础。

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 信号传导通路在大多数肿瘤细胞的生长、增殖、转移、抑制凋亡、血管生成等方面起到重要作用,针对 EGFR 信号通路的靶向药物也是近年来的研究热点。吉非替尼与厄洛替尼是选择性表皮因子受体酪氨酸激酶抑制剂 (EGFR-TKI), 大规模临床试验表明,在非小细胞肺癌患者中 EGFR-TKI 与肿瘤细胞 EGFR 基因突变情况的疗效密切相关,在肺癌 EGFR 基因突变的患者中疗效显著,而无突变者对该药不敏感<sup>[6-8]</sup>。另一类靶向药物抗 EGFR 单克隆抗体(西妥昔单抗、帕尼单抗)也在结直肠癌的疗效中显出差异,临床研究亦表明肿瘤组织的 KRAS 或 BRAF 基因野生型患者对该类药物疗效显著,而带有基因突变者被认为是疗效不佳的生物指标<sup>[9]</sup>。类似的例子还可见于伊马替尼对胃肠道间质瘤 C-KIT 突变患者疗效较佳<sup>[12]</sup>、曲妥珠单抗对 HER2 高表达的乳腺癌患者更敏感<sup>[13]</sup>、最近公布的靶向药物 BRAF 激酶抑制剂 vemurafenib (PLX4032) 对带有 BRAF V600E 突变的恶性黑色素瘤患者显示出极佳的疗效等<sup>[14]</sup>。靶向药物往往价格昂贵,若使用前能先检测肿瘤的基因型决定用药与否,能大大节省部分患者不必要的医疗费用,减轻毒副作用。由于靶向治疗作用显著,且比传统化疗毒副作用更少,进入研发及临床的靶向药物将会越来越多,而基于肿瘤分子分型的个体化治疗带来的基因诊断将是检验医学发展的新领域。

## 2 检验医师的发展方向

以基因为导向的个体化用药将会是今后个体化医疗的趋势,而既懂分子诊断技术与结果分析,又懂临床疾病诊治规律的检验医师理应成为个体化用药基因检测的主要脊梁,检验医师既要了解最新的临床进展与成果,也要掌握基因检测的原理与技术。检验医师具体需要在以下四个方面注意学习与提升。

**2.1 熟悉相关学科的理论知识与新进展** 基因指导的个体化用药涉及分子生物学、药理学、遗传学、临床医学等多个学科领域,这就要求检验医师必须具备相关学科扎实的理论功底,才能具备正确分析结果、指导临床用药的能力。此外,个体化用药临床成果日新月异,检验医师需关注最新的以及具有影响力的研究成果,一方面需要努力将成熟的研究成果向临床转化,另一方面需要向临床医师提供新的检测依据与临床意义。

**2.2 学习并掌握基因分析的理论与技术** 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 主要指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性,是人类最常见的遗传变异,检测 SNP 是目前指导个体化用药基因检测

的主要目的。尽管检测 SNP 的方法有很多,包括 PCR-RFLP、PCR-SSCP、定量 PCR、测序、芯片杂交、质谱分析等。但基于 PCR 后电泳的检测方法一般不用于临床检测。目前应用于临床的主流检测方法主要有测序法、芯片法及以定量 PCR 为基础的分析方法三类。被称为“金标准”的测序法最为直观,但需要昂贵的仪器及专业的操作分析;芯片法快速且通量大,但准确性与敏感性等有待提高;基于探针法的定量 PCR 相对比较常用,但成本偏高,PCR-HRM(高分辨率熔解曲线)或许是一个较好的发展方向。此外还需注意的是,若检测肿瘤源性的突变基因情况,应注意肿瘤组织中往往混杂了大量野生型体细胞核酸,为避免假阴性,务必保证待测组织中肿瘤细胞含量应大于 50%。不同临床实验室可能会选择不同的检测方法,检验医师应熟悉并掌握该方法的原理、流程、质控方法等,以保证检测结果的准确性。

**2.3 密切联系临床实践** 针对基因分型的个体化用药的最终目的是指导临床做出更合理的用药选择,这包括选择更合适的药物(摒弃预测毒副作用大与无效的药物)、选择最合适的个体化剂量(根据代谢与作用差异)两方面。检验医师需将较成熟的研究成果向临床医师介绍,另一方面也需要结合临床的实际需求与问题,共同选择开展检测相关的药物与检测位点。此外,尽管遗传因素对个体用药差异起了重要的作用,但对药物的选择与剂量的调整是受多因素影响的,往往需要综合多方面做出判断。如 CYP2C9 与 VKORC1 基因的多态性被认为是目前对华法林的代谢差异最重要的影响因素<sup>[15]</sup>,但具体的用药剂量还需要考虑患者的年龄、体重、INR 等因素,这要求检验医师须与临床实践密切联系,综合考虑,制定合适的用药方针与用药模型。

**2.4 树立科研意识,参与科研活动** 科研与临床相辅相成、密不可分,临床为科研提供研究方向,科研成果也需要在临床中反复验证。个体化治疗是医学科学研究领域的热点,且值得深入探索的领域很多。岗位特殊性决定了检验医师较容易获得临床样本与熟悉检测技术,而且基因分型的实验要求往往不太高,这都为检验医师开展科研活动提供便利条件。高素质的检验医师应树立科研意识,以临床的实际问题为导向,与临床科室合作开展科研活动,这有利于提高研究问题、分析问题的综合能力,有利于加深对临床医学知识的理解、锻炼临床思维<sup>[16]</sup>。

我们应该清楚地看到,以基因为导向的个体化用药使用药量、药效及其不良反应从依赖经验迈向更准确的基因预测,使“千人一量”的用药模式渐渐迈向“因人施药”,使患者选择个体化治疗最佳方案从理论成为现实。目前个体化用药成果在向临床转化的过程中仍存在许多问题,这需要检验医师、临床药师、临床医师等多个学科人员的共同参与和努力。检验医师作为检验与临床的“桥梁”,应肩负起个体化治疗基

因检测与分析的责任,同时应紧跟学科发展前沿,不断提高自己的理论与技术水平,为整体医疗水平的提高做贡献。

### 3 参考文献

- 1 周宏灏,张伟,主编.新编遗传药理学.北京:人民军医出版社,2011,19.
- 2 Hu XP, Xu JM, Hu YM, et al. Effects of CYP2C19 genetic polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of omeprazole in Chinese people. *J Clin Pharm Ther*, 2007, 32:517-524.
- 3 Tanigawara Y, Aoyama N, Kita T, et al. CYP2C19 genotype-related efficacy of omeprazole for the treatment of infection caused by *Helicobacter pylori*. *Clin Pharmacol Ther*, 1999, 66:528-534.
- 4 Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, et al. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan, 2004, 22:1382-1388.
- 5 Hoskins JM, Goldberg RM, Qu P, et al. UGT1A1\*28 genotype and irinotecan-induced neutropenia: dose matters. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99:1290-1295.
- 6 Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2004, 350:2129-2139.
- 7 Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004, 304:1497-1500.
- 8 Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2005, 353:123-132.
- 9 Amado RC, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 2008, 26:1626-1634.
- 10 Lièvre A, Bachet JB, Le Corre D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2006, 66:3992-3995.
- 11 Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 2008, 26:5705-5712.
- 12 Blanke CD, Demetri GD, von Mehren M, et al. Long-term results from a randomized phase II trial of standard-versus higher-dose imatinib mesylate for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT. *J Clin Oncol*, 2008, 26:620-625.
- 13 Smith I, Procter M, Gelber RD, et al. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet*, 2007, 9555:29-36.
- 14 Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med*, 2011, 364:2507-2516.
- 15 Huang SW, Chen HS, Wang XQ, et al. Validation of VKORC1 and CYP2C9 genotypes on interindividual warfarin maintenance dose: a prospective study in Chinese patients. *Pharmacogenet Genomics*, 2009, 19:226-234.
- 16 郑磊,王前,王淑娟,等.加强检验与临床结合,培养高素质检验医师. *中国高等医学教育*, 2004, 1:61-63.

(收稿日期:2011-04-10)

(本文编辑:李霖)

## 消息

### 第四届全国社区卫生服务经验交流高级研讨会

#### 暨成都市社区卫生服务特色观摩

中国社区卫生服务学术研究论坛组委会、北京中欣博康医学研究中心定于2011年8月24-26日在成都联合举办“第四届全国社区卫生服务经验交流高级研讨会”。学习期满可申请国家继续医学教育I类学分。

#### 1 论坛主题及会议形式

论坛主题:提高管理水平,发展创新模式  
会议形式:专题讲座、互动交流、实地观摩

#### 2 会议时间及地点

会议时间:2011年8月24日至26日(24日全天报到)  
会议地点:四川省成都市梨园祥·丽雅阁酒店(地址:成

都市人民北路一段1号)。

#### 3 联系方式

联系人:李老师  
联系电话:010-65702218  
传真:010-65420380  
短信报名:13717999170  
E-mail:zxkb003@163.com  
网址:www.chczxbk.org

中国社区卫生服务学术研究论坛组委会  
北京中欣博康医学研究中心