

基于2014—2019年室间质评数据的我国临床药物基因组学发展现状分析^Δ

陈幽攸*,李华云,任小群,代 颜[#](西南医科大学附属医院药学部,四川 泸州 646000)

中图分类号 R969.1;R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)16-1938-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.16.04

摘要 目的:为推进临床个体化用药提供参考。方法:在国家卫生健康委临床检验中心(NCCL)和国家药品监督管理局(NMPA)官网上提取截至2019年12月31日的有关化学药物用药指导的基因检测室间质量评价(EQA)项目及获批试剂盒的相关信息,统计各项目参评实验室数量;以参与度较高的华法林和氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项目为例,分析各参评实验室所用方法和检测试剂盒情况,以分析我国临床药物基因组学(PGx)的发展现状。结果:NCCL开展的药物基因检测EQA项目从2014年的3项增至2019年的9项;参评实验室总数2018年为926个,2019年为1 249个。华法林和氯吡格雷药物代谢基因多态性检测参评实验室数分别由最初的57、124个增至300.5、374.5个,各实验室使用较广泛的方法均为荧光聚合酶链式反应(PCR)法和PCR-芯片杂交法;目前,上述两个项目获NMPA批准的试剂盒数量分别为7、15个,但仍有部分参评实验室使用自配试剂。结论:我国临床PGx处于起步阶段,实验室的参评意识逐年提高;使用方法以荧光PCR法为主,但仍普遍存在使用自配试剂的情况,相关审批、使用、监管的制度均有待进一步完善。

关键词 临床药物基因组学;室间质量评价;个体化用药;华法林;氯吡格雷;发展现状

Analysis of the Development Status of Clinical Pharmacogenomics Based on External Quality Assessment from 2014 to 2019 in China

CHEN Youyou, LI Huayun, REN Xiaoqun, DAI Yan (Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Sichuan Luzhou 646000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide reference for promoting individualized medication in clinic. METHODS: Information on external quality assessment (EQA) projects and approved kits for the guidance of chemical drug use were collected from the websites of National Center for Clinical Laboratories (NCCL) and National Medical Products Administration (NMPA) as of December 31, 2019. The number of laboratories participating in each evaluation project was count. Taking EQA projects of clopidogrel and warfarin drug metabolism gene polymorphism detection as examples, who was with the highest participation rate, the methods and reagent kits of each laboratory were analyzed so as to analyze the current status of the clinical pharmacogenomics (PGx) in China. RESULTS: The number of PGx genetic test EQA projects conducted by NCCL increased from 3 (2014) to 9 (2019). The total number of participating laboratories was 926 in 2018, and 1 249 in 2019. The number of laboratories of warfarin and clopidogrel drug metabolism gene polymorphism detection increased from 57 to 300.5 for warfarin and from 124 to 374.5 for clopidogrel. The more widely used methods were fluorescent PCR and PCR-chip hybridization. The number of reagent kits currently approved by NMPA was 7 for warfarin and 15 for clopidogrel, respectively. But some of the laboratories participating in EQA used self-prepared reagents yet. CONCLUSIONS: The clinical PGx is in its infancy, and the awareness of laboratories about EQA is improving; the main method was fluorescence PCR, but the use of self-made reagents in laboratories is still common, regulations concerning the approval, use and supervision still need to be further improved.

KEYWORDS Clinical pharmacogenomics; External quality assessment; In vitro diagnostic reagents; Warfarin; Clopidogrel; Development status

药物基因组学(Pharmacogenomics, PGx)主要研究药物代谢酶、转运体与作用靶点的基因多态性等内容,

^Δ 基金项目:西南医科大学附属医院科研课题计划及经费、重点学科建设经费项目(No. 2017-PT-12);西南医科大学校级科研项目(No.2019ZQN009)

* 药师,硕士。研究方向:基于基因检测与治疗药物监测的个体化用药指导。电话:0830-3165760。E-mail:cyyou7@126.com

[#] 通信作者:副主任药师,博士。研究方向:药物基因组学、治疗药物监测。电话:0830-3165582。E-mail:daiyan15881957136@126.com

可从深层次解释药物疗效与安全性的个体差异^[1-2]。除PGx基础研究外,目前的研究重点还包括将发现的基因突变合理地应用于临床,以助力临床个体化用药^[3]。由此衍生出临床PGx,即利用患者的遗传信息指导临床选择最佳药物、优化用药方案,以提高疗效、减少药物不良反应(ADR),从而改善患者预后、节约医疗成本^[4]。

2015年,国家卫生计生委医政医管局印发的《药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)》^[5]和《肿瘤个体化治疗检测技术指南(试行)》^[6]进一步推动了

医院临床PGx的规范化发展,为开展个体化医学分子检测的临床实验室提供了统一的方法指导。目前,国家药品监督管理局(NMPA)已批准了数十个涉及个体化用药基因诊断的试剂盒供临床使用(由于NMPA将体外诊断试剂中与人类基因检测、治疗药物作用靶点检测相关的试剂归为第3类高风险产品管理^[7],故本文中提及的“获批试剂盒”均特指已取得第3类医疗器械注册证的体外诊断试剂盒)。且早在2014年,国家卫生计生委临床检验中心(现为国家卫生健康委临床检验中心,NCCL)就发起了关于药物代谢酶与药物作用靶点基因检测的室间质量评价(External quality assessment, EQA)项目,旨在综合评价临床PGx实验室(以下简称为“实验室”)的检验质量,推进临床PGx检验的规范化。为了解我国临床PGx发展现状,笔者对近年来NCCL开展的EQA项目情况进行统计分析,以期为推进临床个体化用药提供参考。

1 资料与方法

在NCCL和NMPA官网上提取截至2019年12月31日的有关化学药物用药指导的基因检测EQA项目及获批试剂盒的相关信息,分析各EQA项目参评实验室的总体情况;以开展PGx实验室数最多的两个项目为例,对各实验室使用的方法、检测试剂及回报结果进行统计分析。本研究仅考虑一般化学药物,故肿瘤靶向个体化治疗的基因检测项目暂不列为本文分析对象。

2 结果

2.1 2014—2019年NCCL开展的EQA项目统计

NCCL于2014年开始开展涉及药物代谢酶与药物作用靶点的基因检测EQA项目,当年开展的3项EQA项目均为人类白细胞抗原(HLA)相关基因检测;随后,EQA项目逐年增加,至2019年达9项,新增项目涉及华法林、氯吡格雷、伊立替康、他莫昔芬、辛伐他汀、他克莫司等药物代谢相关基因检测,详见表1(表中,CYP指细胞色素P₄₅₀酶,VKORC1指维生素K环氧化酶复合物亚

单位1,UGT1A1指尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶1A1,SLCO1B1指有机阴离子转运多肽1B1;“√”为当年开展的项目,“*”为当年新增项目)。

2.2 EQA项目参评实验室的总体情况

因NCCL网站部分项目数据缺失,故本文仅列出了2018—2019年的统计结果。2018—2019年各EQA项目参评实验室的数量统计见表2。由表2可见,与2018年比较,除氯吡格雷、华法林代谢基因多态性检测项目参评实验室的数量在2019年46、59个外,其他项目参评实验室的数量增长不多甚至有所降低;此外,2019年开展的新项目——辛伐他汀、他克莫司药物转运体/代谢基因分型项目参评实验室的数量均超过了其他多个项目。

2.3 两个代表性EQA项目的详细分析

在遗传药理学和PGx数据库——PharmGKB网站(<https://www.pharmgkb.org/>)上,华法林药物代谢基因(CYP2C9和VKORC1)多态性与氯吡格雷药物代谢基因(CYP2C19)多态性检测是证据级别为1A级的两项基因-药物项目(即遗传变异与临床表型之间的关联证据最强^[8]),其市场占有率、临床接受度均较高,可在一定程度上代表我国临床PGx的发展现状;同时,由上文统计结果也可以看出,近两年,我国上述两项检测项目的参评实验室较多(分别为313、394个),故本研究选择这两个项目进行详细分析。

2.3.1 华法林药物代谢基因(CYP2C9和VKORC1)多态性检测 华法林为临床广泛使用的抗凝血药,通过拮抗维生素K促凝血因子合成的作用起效,主要经CYP2C9酶代谢。相关研究表明,CYP2C9、VKORC1基因多态性检测结果能解释53%~54%的华法林剂量变化^[9-10]。中华医学会心血管病学分会于2013年发布的《华法林抗凝治疗的中国专家共识》^[11]、临床药物基因组学实施联盟(CPIC)发布的《遗传药理学指导华法林剂量指南》^[12]与加拿大药物基因组学药物安全网络(CPND)发布的《华法林治疗中CYP2C9和VKORC1基因多态性检测的临床

表1 2014—2019年NCCL开展的EQA项目统计

Tab 1 Statistics of EQA projects conducted by NCCL during 2014-2019

年份	EQA项目名称									总项目数
	HLA-B*57:01 基因检测	HLA-B*58:01 基因检测	HLA-B*15:02 基因检测	华法林药物代谢基因(CYP2C9 和VKORC1)多态性检测	氯吡格雷药物代谢基因 (CYP2C19)多态性检测	伊立替康药物代谢基因 (UGT1A1)多态性检测	他莫昔芬药物代谢基因 (CYP2D6)多态性检测	辛伐他汀药物转运体 基因(SLCO1B1)分型	他克莫司药物代谢基 因(CYP3A5)分型	
2014	√*	√*	√*							3
2015	√	√	√	√*						4
2016	√	√	√	√	√*	√*				6
2017	√	√	√	√	√	√				6
2018	√	√	√	√	√	√	√*			7
2019	√	√	√	√	√	√	√	√*	√*	9

表2 2018—2019年各EQA项目参评实验室的数量统计(个)

Tab 2 Statistics of the number of laboratories participating in each EQA project during 2018-2019 (number)

年份	HLA-B*57:01 基因检测	HLA-B*58:01 基因检测	HLA-B*15:02 基因检测	华法林药物代谢基因(CYP2C9 和VKORC1)多态性检测	氯吡格雷药物代谢基因 (CYP2C19)多态性检测	伊立替康药物代谢基因 (UGT1A1)多态性检测	他莫昔芬药物代谢基因 (CYP2D6)多态性检测	辛伐他汀药物转运体基 因(SLCO1B1)分型	他克莫司药物代谢基 因(CYP3A5)分型	合计
2018	18	70	49	267	335	121	66			926
2019	12	84	48	313	394	111	68	146	73	1249

实践建议》^[13]均指出, *CYP2C9*、*VKORC1* 基因多态性检测结果可在华法林给药方案的设计及剂量优化方面起指导性作用。因此, 华法林药物代谢基因多态性检测的临床意义重大。我国华法林药物代谢基因多态性检测的 EQA 项目从 2015 年开始进行, 截至 2019 年底, 华法林药物代谢基因多态性检测 EQA 项目参评实验室数量及使用检测方法统计见表 3 (EQA 项目每年评价 2 次, 因某些实验室申请了 EQA 项目但并未回报结果, 故同年两次评价中回报结果的实验室数量可能有所差异, 本文表格中展示的均是两次评价所回报实验室数量的平均值, 下表同; 表中, PCR 指聚合酶链式反应)。由表 3 可见, 华法林药物代谢基因多态性检测 EQA 项目参评实验室的数量从 2015 年的 57 个迅速增长至 2019 年的 300.5 个; 使用较多的检测方法为实时荧光 PCR 法 (定性) (298 个) 和 PCR-芯片杂交法 (218.5 个)。

华法林药物代谢基因多态性检测 EQA 项目各参评实验室使用的检测试剂盒统计见表 4 (为便于表述, 表中各试剂盒名称以注册人/生产厂家代替, 表 7 同); 截至 2019 年底, NMPA 批准的华法林药物代谢基因多态性检测试剂盒统计见表 5。由表 4、表 5 可见, 2015—2019 年

进行华法林药物代谢基因 (*CYP2C9* 和 *VKORC1*) 多态性检测 EQA 项目参评实验室使用的试剂盒中共有 5 个获批, 分别来自武汉友芝友生物制药有限公司、上海百微科技股份有限公司、武汉海吉力生物科技有限公司、苏州旷远生物分子技术有限公司、中山大学达安基因股份有限公司。按两次回报评价结果数据的平均实验室数计算, 2019 年使用该 5 个获批试剂盒的实验室占该年回报结果实验室总数的 58.40% (175.5/300.5)。由表 4 可见, 使用自配试剂的实验室比例正逐步减少, 由 2015 年的 17.54% (10/57) 降低至 2019 年的 9.32% (28/300.5), 表明目前的商用试剂盒已逐步满足市场需求。由表 5 可见, 截至 2019 年底, 我国获批的华法林药物代谢基因 (*CYP2C9* 和 *VKORC1*) 多态性检测试剂盒共有 7 个, 方法包括荧光 PCR 法 (含 PCR-荧光探针法)、PCR-芯片杂交法 (含 PCR-电化学基因芯片法) 及荧光 PCR-熔解曲线法等; 2017 年 6 月之后仅有 2 个试剂盒获批上市, 提示相关试剂盒的研发上市工作进展缓慢。

2.3.2 氯吡格雷药物代谢基因 (*CYP2C19*) 多态性检测
氯吡格雷为前体药物, 在肝脏通过 *CYP2C19* 等 *CYP* 酶系氧化后再经水解形成活性代谢产物而发挥作用, 用

表 3 华法林药物代谢基因多态性检测 EQA 项目参评实验室数量及使用检测方法统计 (个)

Tab 3 Statistics of the number of laboratories participating in EQA projects of warfarin drug metabolism gene polymorphism detection and detection methods (number)

年份	两次回报的实验室数量											合计
	PCR-Sanger 测序法	PCR-焦磷酸测序法	实时荧光 PCR 法 (定性)	实时荧光 PCR 法 (定量)	实时荧光 PCR-扩增阻滞突变系统/等位基因特异扩增 PCR 法	PCR-芯片杂交法	PCR-基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法	原位杂交荧光染色脱氧核糖核酸测序法	荧光原位杂交法	高通量测序/二代测序法	其他方法	
2015	8.5	10.5	5		1	24	1		1.5		5.5	57
2016	12	11	19	1	4.5	36.5	1	6	2	4	1.5	98.5
2017	26	12	52.5	8.5	9	50	1	4	1	2	5.5	171.5
2018	34.5	10	87	13.5	19	55	3	4	2.5	6	8.5	243
2019	30.5	8	134.5	16.5	15	53	7	7	6.5	2	20.5	300.5
合计	111.5	51.5	298	39.5	48.5	218.5	13	21	13.5	14	41.5	870.5

表 4 华法林药物代谢基因多态性检测 EQA 项目各参评实验室使用的检测试剂盒统计 (个)

Tab 4 Statistics of reagent kits used by laboratories participating in the EQA projects of warfarin drug metabolism gene polymorphism detection (number)

年份	武汉友芝友生物制药有限公司	上海百微科技有限公司	实验室自配	北京华夏时代基因科技发展有限公司	武汉海吉力生物科技有限公司	苏州旷远生物分子技术有限公司	Life Technologies	北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司	凯杰生物工程 (深圳) 有限公司	中山大学达安基因股份有限公司	其他试剂	合计
2015	3	23	10	2		2	1	1.5	8.5	1	5	57
2016	13.5	35	14.5	8		2.5	5	3	8.5	1.5	7	98.5
2017	42.5	47.5	22.5	8		2	7.5	2	9	2	28.5	171.5
2018	66	52	28.5	12.5		7.5	10	5	6.5	3.5	51.5	243
2019	92.5	50	28	20.5	18	14	10	4.5	3	1	59	300.5

表 5 NMPA 批准的华法林药物代谢基因多态性检测试剂盒统计

Tab 5 Statistics of reagents kits of warfarin metabolism gene polymorphism detection approved by NMPA

注册人名称	试剂盒名称	检测方法	检测位点	注册证有效期
武汉友芝友医疗科技有限公司	人类 <i>CYP2C9</i> 和 <i>VKORC1</i> 基因检测试剂盒	PCR-荧光探针法	<i>CYP2C9</i> *3 和 <i>VKORC1</i> 1639G>A	2019.12—2024.12
上海百微科技股份有限公司	<i>CYP2C9</i> 和 <i>VKORC1</i> 基因多态性检测试剂盒	PCR-芯片杂交法	<i>CYP2C9</i> *2、*3 (分别对应 <i>CYP2C9</i> 430T 和 1075C) 和 <i>VKORC1</i> G-1639A	2016.11—2021.10
武汉海吉力生物科技有限公司	<i>CYP2C9</i> 和 <i>VKORC1</i> 基因多态性检测试剂盒	荧光 PCR 法	<i>CYP2C9</i> *2、*3 (分别对应 <i>CYP2C9</i> 基因 430C>T 和 1075A>C)、 <i>VKORC1</i> 基因 1639G>A	2016.09—2021.09
苏州旷远生物分子技术有限公司	人类 <i>CYP2C9</i> 和 <i>VKORC1</i> 基因多态性检测试剂盒	荧光 PCR 法	<i>CYP2C9</i> c.1075(A>C) 和 <i>VKORC1</i> 1639(G>A)	2017.02—2022.02
中山大学达安基因股份有限公司	<i>VKORC1</i> 和 <i>CYP2C9</i> 基因检测试剂盒	PCR-电化学基因芯片法	<i>CYP2C9</i> 430(*2)、1075(*3) 和 <i>VKORC1</i> 1173、1639	2019.07—2024.06
武汉康录生物技术股份有限公司	人类 <i>VKORC1</i> 和 <i>CYP2C9</i> 基因多态性检测试剂盒	PCR-荧光探针法	<i>CYP2C9</i> 430C(>T)、1075(A>C) 和 <i>VKORC1</i> 1639(G>A)	2017.03—2022.03
广州好芝友生物科技有限公司	人类 <i>CYP2C9</i> 和 <i>VKORC1</i> 基因多态性检测试剂盒	荧光 PCR-熔解曲线法	<i>CYP2C9</i> 基因*2(C430T)、*3(A1075C) 和 <i>VKORC1</i> 基因(G-1639A)	2017.06—2022.06

于预防和治疗因血小板高聚集引起的心、脑及其他动脉循环障碍疾病。相比一般患者,携带 *CYP2C19* 功能缺失性等位基因的患者体内氯吡格雷活性代谢产物浓度降低,血小板聚集抑制作用减弱,严重影响氯吡格雷的疗效与安全性。2010年,美国FDA在氯吡格雷说明书中加入“黑框警告”,提醒应用氯吡格雷后出现心血管不良事件与 *CYP2C19* 功能缺失性等位基因有关^[14-15]。CPIC发布的指南建议,携带 *CYP2C19* 功能缺失性等位基因的患者可选择将剂量递增或换用其他抗血小板药物,携带 *CYP2C19**17/*17 或*1/*17 基因型的患者因出血风险增加,需密切观察是否发生出血事件^[15-16]。参考上述指南,医师与临床药师可依据相关基因检测结果与患者个体信息制订临床用药方案。我国从2016年开始开展氯吡格雷药物代谢基因(*CYP2C19*)多态性检测的EQA项目。截至2019年底,氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项目参评实验室数量及使用的检测方法统计见表6。由表6可见,参与氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项目并回报结果的实验室数从2016年的124个增长至2019年的374.5个;各实验室使用较多的检测方法为实时荧光PCR法(定性)(405个)和PCR-芯片杂交法(241.5个)。

氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项目各参评实验室使用的检测试剂盒统计见表7(因使用珠海赛乐奇生物技术有限公司和中山大学达安基因股份有限公司产试剂盒的实验室每年均未超过2家,故未将这两家公司列于表中);截至2019年底,NMPA批准的氯吡格雷药物代谢基因多态性检测试剂盒统计见表8。结合表7、表8可见,氯吡格雷药物代谢基因(*CYP2C19*)多态性检测EQA项目参评实验室使用的试剂盒中共有6个获

批,分别来自上海百微科技有限公司、武汉友芝友生物制药有限公司、苏州旷远生物分子技术有限公司、武汉海吉力生物科技有限公司、珠海赛乐奇生物技术有限公司和中山大学达安基因股份有限公司(后两者因数量太少未在表7中列出)。按两次回报评价结果的平均实验室数计算,2019年使用该6个获批试剂盒的EQA实验室占据了总实验室数的60.85%(227/374.5)。由表7可见,使用自配试剂的实验室占比也逐年降低,从2016年的14.52%(18/124)降低至2019年的9.35%(35/374.5)。由表8可见,截至2019年底,我国获批的氯吡格雷药物代谢基因(*CYP2C19*)多态性检测试剂盒共有15个,方法涉及荧光PCR法(含PCR-荧光探针法)、DNA微阵列芯片法、PCR毛细电泳片段分析法、PCR-金磁微粒层析法、PCR-熔解曲线法等,使用最多的仍为荧光PCR法。

3 分析与讨论

作为实现精准医学的重要措施之一,PGx的相关研究获得了较大发展,其成果也逐渐被应用于临床,开启了个体化药学服务的新时代。根据PharmGKB网站上公布的相关数据,目前临床PGx可指导涉及抗凝、降压、降糖、抗心功能不全、免疫抑制、抗肿瘤、抗病毒、抗炎、镇痛、麻醉、抗溃疡、抗抑郁、抗哮喘治疗等多种类型上百种药物的使用。通过分析国内EQA的项目及参评实验室的相关数据和获批试剂盒的相关信息可大致获知目前PGx在我国临床应用的具体情况与发展态势。

3.1 我国临床PGx发展现状分析

由前文分析可见,2014—2019年,由NCCL发起的关于化学药物相关基因检测的EQA项目在数量与参评实验室数量上都有大幅增加(如表1、表2所示)。由华法林和氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项

表6 氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项目参评实验室数量及使用检测方法统计(个)

Tab 6 Statistic of the number of laboratories participating in EQA projects of clopidogrel drug metabolism gene polymorphism detection and detection methods(number)

年份	两次回报的实验室数量											回报实验方法的实验室总数
	PCR-Sanger测序法	PCR-焦磷酸测序法	实时荧光PCR法(定性)	实时荧光PCR法(定量)	实时荧光PCR-扩增阻滞突变系统/等位基因特异扩增PCR法	PCR-芯片杂交法	PCR-基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法	原位杂交荧光染色脱氧核糖核酸测序法	荧光原位杂交法	二代测序法	其他方法	
2016	15	13.5	26.5	1.5	7	42	3	5	1.5	6	3	124
2017	27.5	16.5	79	7.5	12	64.5	1	5	2	4.5	6.5	226
2018	36.5	14	124.5	18.5	19	69	4.5	6	2.5	9	12	315.5
2019	34	11.5	175	23	15	66	7	5	7.5	3.5	27	374.5
合计	113	55.5	405	50.5	53	241.5	15.5	21	13.5	23	48.5	1040

表7 氯吡格雷药物代谢基因多态性检测EQA项目各参评实验室使用的检测试剂盒统计(个)

Tab 7 Statistics of reagent kits used by laboratories participating in EQA projects of clopidogrel drug metabolism gene polymorphism detection(number)

年份	两次回报的实验室数均值										合计
	武汉友芝友生物制药有限公司	上海百微科技有限公司	实验室自配试剂	苏州旷远生物分子技术有限公司	北京华夏时代基因科技发展有限公司	武汉海吉力生物科技有限公司	Life Technologies	北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司	凯杰生物工程(深圳)有限公司	其他试剂	
2016	12.5	40	18	10.5	6		7	4	6	20	124
2017	54.5	60.5	25	18	9		9.5	4.5	4	41	226
2018	81.5	63.5	32.5	29.5	15		10.5	5	2	26	315.5
2019	114	60.5	35	29	21	21.5	8	4.5	1.5	79.5	374.5

表8 NMPA批准的氯吡格雷药物代谢基因多态性检测试剂盒统计

Tab 8 Statistics of reagents kits of clopidogrel metabolism gene polymorphism approved by NMPA

注册人名称	试剂盒名称	检测方法	检测位点	注册证有效期
武汉友芝友医疗科技有限公司	人类CYP2C19基因检测试剂盒	PCR-荧光探针法	CYP2C19*2、*3、*17	2019.12-2024.12
上海百微科技股份有限公司	CYP2C19基因检测试剂盒	DNA微阵列芯片法	CYP2C19	2017.04-2022.04
苏州旷远生物分子技术有限公司	人CYP2C19基因分型检测试剂盒	荧光PCR法	CYP2C19*1(野生型)、*2(c.681G>A)、*3(c.636G>A)	2017.06-2022.06
武汉海吉力生物科技有限公司	CYP2C19基因多态性检测试剂盒	荧光PCR法	CYP2C19*2(G>A)、*3(G>A)、*17(C>T)	2016.09-2021.09
宁波海尔施基因科技有限公司	CYP2C19基因检测试剂盒	PCR毛细电泳片段分析法	CYP2C19*2、*3、*17	2016.03-2021.02
北京乐普医疗科技有限责任公司	CYP2C19基因突变检测试剂盒	PCR-荧光探针法	CYP2C19基因636位点(G>A)、681位点(G>A)	2016.04-2021.04
武汉康录生物技术有限公司	人类CYP2C19基因多态性检测试剂盒	PCR-荧光探针法	CYP2C19基因681位点(G>A)、636位点(G>A)和806位点(C>T)	2017.03-2022.03
珠海赛乐奇生物技术股份有限公司	CYP2C19基因多态性核酸检测试剂盒	基因芯片法	CYP2C19基因外显子5的681位点及外显子4的636位点	2017.07-2022.07
西安金磁纳米生物技术有限公司	CYP2C19基因检测试剂盒	PCR-金磁微粒层析法	CYP2C19 G681A、G636A	2018.01-2023.01
无锡锐奇基因生物科技有限公司	人类CYP2C19基因分型检测试剂盒	PCR-熔解曲线法	CYP2C19*1、*2、*3、*17	2018.04-2023.04
深圳联合医学科技有限公司	人CYP2C19基因分型检测试剂盒	PCR-荧光探针法	CYP2C19 G681A、G636A	2018.07-2023.07
陕西佰美基因股份有限公司	人CYP2C19基因分型检测试剂盒	荧光PCR法	CYP2C19*2(c.681G>A)、*3(c.636G>A)	2018.12-2023.12
武汉明德生物科技股份有限公司	人CYP2C19基因多态性检测试剂盒	PCR-荧光探针法	CYP2C19 G681A	2018.12-2023.12
重庆京因生物科技有限责任公司	CYP2C19基因多态性检测试剂盒	荧光探针法	CYP2C19*2(c.G681A)及*3(c.G636A)	2019.01-2024.01
中山大学达安基因股份有限公司	CYP2C19基因分型检测试剂盒	PCR-荧光探针法	CYP2C19 *2(c.681G>A)、*3(c.636G>A)、*17(c.-806C>T)	2019.12-2024.12

目的参评情况可知,各年参与EQA项目的实验室数量大幅增加(如表3、表6),说明了各实验室进行EQA的意识有较大提升,也反映出该两个检测项目得到广泛推进。相较之下,另5个项目发展缓慢,特别是近两年,HLA-B*57:01、*15:02基因检测等项目的参评实验室数量趋于不变甚至降低。但因其分别与阿巴卡韦、别嘌醇、卡马西平等药物某些致命的ADR有关,故进行HLA-B基因检测仍较为必要。究其原因,一方面相关检测试剂盒开发较少,市场推广不足;且医师因相关知识缺乏或经验不足无法判断患者的PGx信息而在临床使用相应药物时有所顾忌。例如,曾经的一线药物卡马西平因可能发生与HLA-B*15:02多态性相关的严重ADR而造成用药人数逐渐减少,反过来也导致该基因检测需求量降低。另一方面,某些基因检测项目涉及多个位点,费用较昂贵且未纳入医保报销范围,一定程度阻碍了其临床应用。因此,如何开展药物经济学评估基因检测的必要性,以及能否将基因检测纳入医保等都是事关其未来发展的重要影响因素。

除目前NCCL已开展的9项药物基因检测EQA项目外,还有许多未进行EQA但临床应用较多或关注度较高的基因,如影响叶酸代谢的亚甲基四氢叶酸还原酶MTHFR基因、指导硝酸甘油用药和影响酒精代谢能力的线粒体乙醛脱氢酶ALDH2基因、指导高血压药物用药的CYP2D6*10、CYP2C9*3、ADRB1(1165A>C)、AGTR1(1166A>C)、ACE(I/D)基因等,其中MTHFR、ALDH2基因多态性检测尚在有效期内的获批试剂盒分别为11个和7个,为申请厂家较多、市场占有率较大的检测项目。由NMPA网站数据可见,高血压药物用药因涉及位点较多,技术及市场开拓相对不易,近年来仅有2个试剂盒上市。新发布的2020年的临床检验EQA计划中,MTHFR基因多态性检测已被纳入EQA评价,反映出我国关于化学药物用药指导的EQA项目正在逐步发展和完善。

3.2 我国临床PGx检测方法与检测试剂盒现状分析

从表3与表6的统计结果可知,各实验室使用的检测方法多达十几种,其中使用最广泛的是荧光PCR法,获批的试剂盒也以该方法居多。随着多个基因检测试剂盒获得NMPA批准及实时荧光PCR仪器的推广,荧光PCR法以其通量较高、操作简单、仪器设备易普及的优势获得了迅速发展^[17]。虽在遗传学领域涌现了许多新方法,如PCR-基质辅助激光解析电离飞行时间质谱、二代测序等,但近几年使用上述方法的实验室均未超过10个,可能与其成本高昂或尚无商用试剂盒可用等有关。

申请第3类医疗器械注册证的前期工作耗时耗力、成本较高,可能是近年来试剂盒获批数量不多的重要原因之一。而某些试剂盒上市后可能因市场经营问题导致其发展受阻,或因无法满足“补充10家医疗机构临床数据”的再注册要求而撤市。

由表4、表7可以看出,在华法林与氯吡格雷药物代谢基因检测中,仍有部分实验室使用了自配试剂,且使用自配试剂的实验室数量均排第3。实验室自配试剂又称实验室研发诊断试剂(Laboratory developed test, LDT),是由医学检验实验室自行研发、验证和使用的检测试剂,仅在该实验室内部使用^[18-19]。因传统检测试剂盒的申报所需周期长、成本高,故在某些情况下临床实验室可使用LDT进行检测。但LDT必须符合从原材料质检、试剂配制到试剂质检及性能验证等一系列标准操作规程,日常检测应有严格的室内质量控制措施,使用LDT的实验室应积极参加相应的EQA项目,如无该EQA项目,则应建立实验室间比对的相关制度,以保证日常检验的质量^[20]。但目前并非所有实验室都能严格遵照这些要求执行,无法保证检测结果的准确性。2014年,美国FDA发布《LDT监督管理框架草案》,全面阐述了关于LDT监管的具体措施,以督促实验室在提高LDT产品质量、控制潜在风险、规范市场的同时推动LDT行业的创新发展^[19]。但国内涉及药物相关基因检测的

LDT尚缺乏针对性且明确统一的管理模式,还需NMPA与国家卫生健康委以适当的方式合力管控^[19]。由表4、表7的统计数据可见,使用实验室自配试剂的参评实验室占比逐年减少,说明现有市场供应正在逐步满足各实验室的检验需求。总而言之,目前我国临床PGx检测试剂盒的应用还较为混乱,亟待有关部门在严格准入、规范使用等方面进行调控。

3.3 基因检测指导个体化用药面临的挑战与展望

将新技术应用于临床则不可避免地需考虑成本-效益比,目前与个体化用药相关的基因检测成本相对较高,相关药物经济学研究结果显示,患者进行基因检测的成本高于获益,故不建议所有人群进行药物相关基因的普筛^[21]。例如,曾有专家质疑指导叶酸临床用药剂量选择的MTHFR基因多态性检测的必要性,认为叶酸的毒性较小,用药危险性与日常补充剂量的关联较低^[22]。此外,许多药物相关基因多态性位点的突变频率较低且存在种族差异,是否应在所有人群中进行相关基因的检测和究竟该对哪些人群进行重点检测均是业界争论的焦点^[21]。以表8中获批的氯吡格雷CYP2C19基因多态性检测试剂盒为例,其涉及的检测位点从1个到4个不等,欲开展该项目的临床实验室可通过查阅相关文献并依据本地发展情况选用最适宜的试剂盒。此外,笔者从一些基因检测研发厂家的学术推广人员处了解到,在研发一类辅助试剂的检测试剂盒时,厂家会尽可能增加针对某特定药物的检测位点,而实际上其中部分位点的参考价值并不大,只会徒增成本。另外,厂家在宣传时常会夸大基因检测的必要性以促进市场推广。临床应客观看待基因检测项目,需知即使是证据级别较高的基因检测项目也并非仅靠该多态性检测结果就可决定用药方案,尚需结合其他临床指征及患者的病理生理状态来实现精准用药。

综上所述,我国临床PGx处于起步阶段,但各医疗机构、投资者和社会公众都应理性看待,需严谨、科学地研究和发 展精准医疗;实验室的参评意识逐年提高;检测方法以荧光PCR法为主,但仍普遍存在使用自配试剂的情况,且相关审批、使用、监管的制度均有待进一步完善。相信在不久的将来,基于PharmGKB等大型数据库和相关研究,药师与医师能够更加方便地获取与药物和疾病相关的基因组学信息和药物治疗指南,在临床中真正实现个体化给药,惠及更多患者。

参考文献

[1] 阳国平,郭成贤.药物基因组学与个体化治疗用药决策[M].北京:人民卫生出版社,2016:3-56、133-160.
[2] 张月丽,周宏灏,张伟.维生素的药物基因组学研究进展[J].中国药理学通报,2014,30(11):1503-1507.
[3] RELLING MV, EVANS WE. Pharmacogenomics in the clinic[J]. *Nature*, 2015, 526(7573): 343-350.
[4] 郭成贤,王晶,李金高,等.临床药物基因组学应用现状[J].中国临床药理学与治疗学,2016,21(4):458-462.

[5] 国家卫生计生委医政医管局.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南:试行[S].2015-07-29.
[6] 国家卫生计生委医政医管局.肿瘤个体化治疗检测技术指南:试行[S].2015-07-29.
[7] 国家食品药品监督管理总局.体外诊断试剂注册管理办法[S].2014-7-30.
[8] 徐航,回翔,朱怀军,等.药物基因组学在临床药物治疗中的应用[J].药学与临床研究,2019,27(1):50-55.
[9] GAGE B, EBY C, JOHNSON J, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2008, 84(3): 326-331.
[10] 李志强,胡春燕. CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性对心房颤动患者华法林抗凝治疗的影响[J].现代中西医结合杂志,2019,28(1):18-22.
[11] 中华医学会心血管病学分会.华法林抗凝治疗的中国专家共识[J].中华内科杂志,2013,52(1):76-82.
[12] JOHNSON JA, CAUDLE KE, GONG L, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 update[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2017, 102(3): 397-404.
[13] SHAW K, AMSTUTZ U, KIM RB, et al. Clinical practice recommendations on genetic testing of CYP2C9 and VKORC1 variants in warfarin therapy[J]. *Ther Drug Monit*, 2015, 37(4): 428-436.
[14] 杨宝峰,陈建国.药理学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2015:288-294.
[15] 钟诗龙,韩雅玲,陈纪言,等.氯吡格雷抗血小板治疗个体化用药基因型检测指南解读[J].中国实用内科杂志,2015,35(1):38-41.
[16] SCOTT SA, SANGKUH K, STEIN CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94(3): 317-323.
[17] 卫生和计划生育委员会.药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)概要[J/CD].实用器官移植电子杂志,2015,3(5):257-267.
[18] 刘可君,郭世富,崔乐,等.基因测序技术在临床检验领域的应用及国内外监管现状比较研究[J].中国药事,2018,32(11):76-86.
[19] 刘东来,石大伟,张春涛.美国对实验室研发诊断试剂的监管之路[J].中国新药杂志,2016,25(3):244-252.
[20] 李金明.我国临床分子诊断试剂发展:问题及思考[J].检验医学,2014,29(3):199-201.
[21] 王拥军,赵志刚.精准医疗与药物治疗个体化实操手册[M].北京:北京科学技术出版社,2017:30-42、134-165.
[22] HICKEY SE, CURRY CJ, TORIELLO HV. ACMG practice guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing[J]. *Genet Med*, 2013, 15(2): 153-156.

(收稿日期:2020-01-25 修回日期:2020-07-22)

(编辑:孙冰)