

多重 PCR-LDR 法检测人体药物代谢酶基因位点多态性

雷雅静, 周丽芳, 朱银焕, 王安行(杭州仟源恩氏基因技术有限公司, 杭州 310052)

摘要: 目的 构建一套基于多重聚合酶连接反应-连接酶检测反应(polymerase chain reaction-ligase detection reaction, PCR-LDR)体系的分型法, 用于同时检测多种人体主要药物代谢酶基因位点的突变。方法 选择药物代谢酶相关单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 设计合成各 SNP 位点的 PCR 引物和 LDR 探针, 以人口腔黏膜细胞中提取的 DNA 为模板, 获得 PCR-LDR 反应连接产物, 采用 ABI 3130XL 进行检测分析。结果 采用本研究建立的 PCR-LDR 分型方法, 对不同个体的 14 个 SNP 位点进行分型, 分型结果与测序结果完全一致。结论 本研究建立的 PCR-LDR 分型方法能够同时对 14 个 SNP 位点进行一次性分型, 结果准确、可靠, 是一种简便有效且低成本的 SNP 分型方法。

关键词: 药物代谢酶; 单核苷酸多态性; PCR-LDR

中图分类号: R969.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2021)04-0439-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.04.010

引用本文: 雷雅静, 周丽芳, 朱银焕, 等. 多重 PCR-LDR 法检测人体药物代谢酶基因位点多态性[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(4): 439-444.

Detection of Drug-metabolizing Enzyme Gene Locus Polymorphism in Human by Multiple PCR-LDR

LEI Yajing, ZHOU Lifang, ZHU Yinhuang, WANG Anxing(Hangzhou Qianyuan Enshi Gene Technology Co., Ltd., Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a novel method based on polymerase chain reaction-ligase detection reaction(PCR-LDR) system for simultaneous detection of mutations in the gene locus of various major drug metabolizing enzymes in human. **METHODS** Single nucleotide polymorphism(SNP) sites related to drug metabolism enzymes were selected, and PCR primers and LDR probes at each SNP site were designed and synthesized. DNA extracted from human oral mucosa cells was used as template to obtain PCR-LDR reaction junction products. ABI 3130XL was used for detection and analysis. **RESULTS** The PCR-LDR typing method established in this study was used to classify 14 SNP sites from different individuals, and the typing results were completely consistent with the sequencing results. **CONCLUSION** The PCR-LDR typing method established in this study is able to perform one-time typing for 14 SNP sites at the same time with accurate and reliable results. It is a simple, effective and low-cost SNP typing method.

KEYWORDS: drug metabolism enzyme; single nucleotide polymorphism; PCR-LDR

药物进入体内主要由相应的药物代谢酶进行代谢转化, 从而发挥生物学效应^[1]。生物体内参与药物代谢的酶由基因编码, 基因多态性导致不同个体的酶具有不同基因型进而表现出不同的生物学功能^[2], 使其对各种药物的代谢存在个体差异。在精准医疗时代, 基因检测可以有效帮助患者使用合适的药物, 减少和避免不良反应的发生。因此, 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分型被广泛应用于遗传学、药物基因组学以及疾病相关基因的研究。

目前, 有关 SNP 分型的技术有很多种, 包括直接测序法、电泳检测法、荧光定量 PCR 法、多重聚合酶连接反应-连接酶检测反应(polymerase chain reaction-ligase detection reaction, PCR-LDR)、

SNAPshot、质谱法等^[3-4]。每种技术都有其优缺点, 其中 PCR-LDR 是 PCR 和 LDR 理想结合的检测技术。它是利用高温连接酶实现对基因多态性位点的识别。高温连接酶一旦检测到 DNA 与互补的 2 条寡聚核苷酸接头对应处存在着基因点突变类型的碱基错配, 则连接反应就不能进行, 反之则可以连接反应。该技术属于高通量的 SNP 分型技术, 一次可对大约 20 个位点进行分型。该方法检测成本低、准确率高, 是一种理想的中通量 SNP 分型技术。

本研究通过初步文献查阅以及数据库检索, 锁定了 CYP2D6、CYP2C9、CYP2C19、CYP3A4、CYP3A5、ATP 结合盒 C 亚家族 2 转运蛋白(ATP-binding cassette C2, ABCC2)、三磷酸肌苷焦

作者简介: 雷雅静, 女, 博士, 工程师

Tel: 13567116589

E-mail: helloyt@163.com

磷酸酶 (inosine triphosphate pyrophosphatase, ITPA)、前列腺素内过氧化物合酶 (prostaglandin-endoperoxide synthase-2, PTGS2)、2 肾上腺素能受体 (β_2 -adrenergic receptor, ADRB2)、促皮质激素释放激素受体 1 (corticotropin releasing hormone recipient 1, CRHR1)、亚甲基四氢叶酸还原酶 (5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) 和 12S rRNA 等多个与药物代谢紧密相关的酶, 并建立 PCR-LDR 方法实现对上述 14 个基因位点的快速分型。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2019 年 5 月—7 月在杭州仟源恩氏基因技术有限公司进行基因保存的客户。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂 2×PCR mix(批号: 150434)、Taq DNA 连接酶(批号: 140413)均购自莫纳生物; GeneScan 120 LIZ 分子量内标(批号: 00860479)、POP7(批号:

2003640)、电泳 Buffer(批号: 1912515)等均购自美国 ABI 公司; PCR 引物和 LDR 探针由擎科生物合成。

1.2.2 仪器 Veriti™ Dx 96-Well PCR 扩增仪、3130XL 基因分析仪均购自美国 ABI 公司。

1.3 SNP 位点的选择

根据相关文献报道和国际遗传药理学数据库 (PharmGKB) 中与常见药物代谢酶相关的 SNP 信息, 最终筛选出 14 个人体药物代谢酶基因上的 SNP 位点, 结果见表 1。表 1 中同时还列举了部分与相应基因位点相关的药物, 不同基因型的个体会对这些药物表现出不同生物学效应。

1.4 引物设计

在 dbSNP 数据库中查询各 SNP 位点附近的序列, 采用 Prime 5 软件设计了 13 对引物序列, 见表 2, 所有引物均用 NCBI 网站中的 Primer-BLAST 模块 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi>) 进行了引物的特异性分析, 可基本排除非特异性条带的产生。

表 1 药物代谢酶基因位点与相关药物

Tab. 1 Drug-metabolizing enzyme gene locus and related drugs

基因	位点	药物
<i>CYP3A4</i>	rs28371759	孟鲁司特、布地奈德、丙酸氟替卡松、曲安奈德
<i>CYP3A5</i>	rs776746	卡马西平、辛伐他汀、他克莫司、氨氯地平、瑞舒伐他汀、硝苯地平
<i>CYP2D6</i>	rs1065852	酚麻美敏、小儿氨酚烷胺、曲马多、右美沙芬、氟伏沙明、托莫西汀、利培酮、美托洛尔、普罗帕酮
<i>CYP2C9</i>	rs1057910	布洛芬、双氯芬酸、塞来昔布、氟比洛芬、华法林、丙戊酸钠、苯妥英钠、氯沙坦、氟伐他汀
<i>CYP2C19</i>	rs4244285 rs4986893	伏立康唑、氯吡格雷、奥美拉唑、兰索拉唑、雷贝拉唑、地西泮、西酞普兰、舍曲林
<i>ADRB2</i>	rs1042713	沙丁胺醇、沙美特罗、螺内酯、普萘洛尔、异丙肾上腺素
<i>ITPA</i>	rs1127354	利巴韦林、疏基嘌呤、疏基嘌呤
<i>MTHFR</i>	rs1801133	叶酸、甲氨蝶呤、普伐他汀、疏基嘌呤
<i>CRHR1</i>	rs1876828	布地奈德、丙酸氟替卡松、曲安奈德
<i>PTGS2</i>	rs20417	布洛芬
<i>ABCC2</i>	rs717620	红霉素
<i>12S rRNA</i>	rs267606617 rs267606619	庆大霉素、依替米星、奈替米星、西索米星、链霉素、妥布霉素

表 2 PCR 引物序列

Tab. 2 PCR primer sequences

基因	位点	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
<i>MTHFR</i>	rs1801133	CCCAAAGCAGAGGACTCTCTC	CGGTGCATGCCCTTCACAA
<i>3A4</i>	rs28371759	CCCTTAGGGATTTGAGGGC	GGAAGTGGTGAGGAGGCATT
<i>ABCC2</i>	rs717620	TGGTAGATAATTCTGTTCCTACTT	ACTACCACTTGTCTGAGTCTG
<i>3A5</i>	rs776746	TTGTACGACACACAGCAACC	TGTACCAACCAGCTTAACGA
<i>CRHR1</i>	rs1876828	AGCAGCATACCCTAGGGAC	GATTGTCTAGAGCCTTCTCC
<i>PTGS2</i>	rs20417	GTATTATGAGGAGAATTTACC	CTAAGTTGCTTTCAACAGAAG
<i>12S</i>	rs267606617 rs267606619	GGGTCGAAGGTGGATTTAGCA	TAAGGTGGAGTGGGTTTGGG
<i>2C192</i>	rs4986893	ATCTGCTCCATTATTTTCCA	CAGGGCTTGGTCAATATAGA
<i>ITPA</i>	rs1127354	AAAGGCGGATGACAGCTCAC	GGTACTCCGGCACTTATCAGG
<i>ADRB2</i>	rs1042713	GACAAGCTGAGTGTGCAGGA	GATGGCCAGGACGATGAGAG
<i>2C191</i>	rs4244285	ATTACAACCAGAGCTTGCA	CCGAGGGTTGTTGATGTCCA
<i>2D6</i>	rs1065852	ATTTGGTAGTGAGGCAGGTATG	GCAGTATGGTGTGTCTGGAAG
<i>2C9</i>	rs1057910	TCCAGGAAGAGATTGAACGT	CGGTGATGGTAGAGGTTTAA

1.5 多重 PCR 反应体系

以口腔黏膜细胞中提取的 DNA 为模板, 总体积为 20 μL 的优化后反应体系包括 2 $\times$ PCR mix 10 μL , 模板 2 μL , 引物混合物 1 μL , 水 7 μL 。反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 25 s, 53 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 68 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保持。

1.6 探针设计

对 14 个 SNP 位点设计一系列不同长度的引物组, 使得每组引物扩增出来的条带相隔大约 2 个 bp, 根据条带的长短, 在测序仪中通过电泳区分出来。每组引物产生的实际片段长度跟理论长度会存在差异, 因此每组引物需在测序仪中进行测试, 通过分析软件进行分析, 确定条带的位置, 按需进行引物调整, 需确保每组引物之间不存在干扰且容易被识别。14 组 LDR 引物的序列见表 3。

1.7 LDR 反应体系

以多重 PCR 反应产物为模板, 优化后的 LDR 反应体系为: 10 $\times$ Buffer 2 μL , 模板 2 μL , 探针 mix 4 μL , Taq DNA 连接酶 0.5 μL , 水 11.5 μL , 总体积为 20 μL 。优化后的 LDR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 25 s, 40 个循环; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保持。PCR-LDR 产物使用 ABI 3130XL Sequencer 进行电泳检测并进行结果分析。

1.8 分析软件参数设置

打开 Genemapper ID 软件, 初次使用本项目的方法需要先导入 panels、bin set, 建立相应的 analysis method, 输入 size standard, 设置完成后, 导入电泳数据, 选择相应的 panel、analysis method 和 size standard 等分析参数, 开始分析数据。

2 结果

2.1 PCR 退火温度摸索

选取了 50 $^{\circ}\text{C}$, 53 $^{\circ}\text{C}$ 和 58 $^{\circ}\text{C}$ 3 个退火温度进行多重 PCR 反应, 结果显示, 以 53 $^{\circ}\text{C}$ 作为退火温度时, 信号最强, 因此, 最终选择的退火温度为 53 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 LDR 连接酶浓度摸索

在 LDR 的反应体系中, 对 Taq DNA 连接酶的用量进行了摸索, 选择了 0.2, 0.5, 1 μL 3 个酶量, 结果显示, 0.5 μL 和 1 μL 酶量对应的信号强度明显高于 0.2 μL 的酶量, 而 0.5 μL 和 1 μL 酶量对应的信号值没有明显差别, 因此, 选择 0.5 μL 作为最终的 Taq DNA 连接酶反应量。

2.3 PCR-LDR 复合扩增检测结果及验证

采用本研究建立的方法, 对收集到的样本进行检测, 采用分析软件对测序结果进行分析, 其中 2 例样本的展示结果见图 1。从图中可以看出 14 个位点的条带清晰且相互之间不存在干扰, 可通过软件进行自动识别。同时选取 10 例样本进行 PCR 扩增后送到第三方进行 sanger 测序, 返回的结果见表 4, 本项目建立的方法检测的所有位点均与 sanger 测序结果一致。

3 讨论

用药不当而致伤致疾, 甚至致死的事件不断在媒体报道中出现。《2016 年儿童用药安全调查报告白皮书》中指出, 因用药不当中国每年约有 3 万名儿童耳聋。调查发现, 中国儿童药物不良反应发生率为 12.5%, 是成人的 2 倍, 新生儿更是达到成人的 4 倍。由于药物的不良反应造成肝肾功能、神经系统等损伤的人特别是儿童更是不计其数。药物不良反应发生率高, 跟多种因素有关, 其中个体基因起着重要作用。

本研究检索了国际遗传药理学数据库 (PharmGKB) 以及相关文献, 筛出了 12 个与常见药物相关的药物代谢酶基因, 其中涉及到的位点数量为 14 个。细胞色素 P450 (CYP450) 是人体内代谢药物的主要酶, CYP 有多个亚家族, 本研究选择了 CYP3A4, CYP3A5, CYP2D6, CYP2C9 和 CYP2C19 等 6 个重要的酶, 它们参与了孟鲁司特^[5]、布地奈德^[6]、卡马西平^[7]、辛伐他汀^[8]、曲马多^[9]、右美沙芬^[10]、布洛芬^[11]、双氯芬酸^[12]、伏立康唑^[13]、氯吡格雷^[14]和奥美拉唑^[15]等众多药物的代谢过程。ADRB2 是一种在体内广泛分布的 G 蛋白耦联型受体, 据报道 ADRB2 基因多态性与沙丁胺醇^[16]、沙美特罗^[16]、螺内酯^[17]、普萘洛尔^[18]和异丙肾上腺素^[19]等药物的药效相关。ITPA 与肝炎患者治疗过程中贫血的发生具有相关性^[20]。MTHFR 的主要作用是在叶酸代谢通路中将 5,10-亚甲基四氢叶酸转化为具有生物学功能的 5-甲基四氢叶酸, 该基因多态性影响叶酸在体内的活性^[21]。CRHR1 基因多态性与布地奈德、丙酸氟替卡松和曲安奈德等药物的疗效有关^[22]。PTGS2 基因多态性与布洛芬的镇痛作用效果具有相关性^[23]。ABCC2 基因多态性与红霉素在体内的代谢快慢有关^[24]。线粒体 12S rRNA 突变的个体在服用氨基糖甙类药物后有诱发耳聋的风险^[25]。

表 3 LDR 探针序列

Tab. 3 LDR probe sequences

序号	探针名称	序列 5'-3'
1	MTHFR_M	P-CTCCCGCAGACACCTTCTCCTTTTTTTTTTTT-FAM
	MTHFR_C	TTTTTTTGCTGCGTGATGATGAAATCGG
	MTHFR_T	TTTTTTTTTGCTGCGTGATGATGAAATCGA
2	3A4_M	P-GGAGCTCGTGGCCCAATCAATTTTTTTTTTTT-FAM
	3A4_G	TTTTTTTTTTTCTTTTCAGCTCTGTCCGATCC
	3A4_A	TTTTTTTTTTTCTTTTCAGCTCTGTCCGATCT
3	ABCC2_M	P-GTTCCAGACGCAGTCCAGGATTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	ABCC2_A	TTTTTTTCATATTAATAGAAGAGTCTTT
	ABCC2_G	TTTTTTTTTCATATTAATAGAAGAGTCTTC
4	3A5_M	P-TGAAAGACAAAAGAGCTCTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	3A5_A	TTTTTTTTTTTGTCCAAACAGGGAAGAGATAT
	3A5_G	TTTTTTTTTTTGTCCAAACAGGGAAGAGATAC
5	CRHR1_M	P-CAGGGAGGGAGAGAGGCAGTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	CRHR1_T	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTACCCCTAGGGACCTAGGAA
	CRHR1_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTACCCCTAGGGACCTAGGAG
6	PTGS2_M	P-GGGAAGGTAAATCTCCTCTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	PTGS2_G	TTTTTTTTTTTTTTTTTCTTGTCTTGGAAGAGAGGC
	PTGS2_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTCTTGTCTTGGAAGAGAGGG
7	12S7_M	P-CTCCTCTATATAAATGCGTATTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	12S7_A	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTACACTTACCATGTTACGACTTGT
	12S7_G	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTACACTTACCATGTTACGACTTGC
8	12S9_M	P-GTGACGGGCGGTGTGTACGCTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	12S9_T	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTTTGAAGTATACTTGAGGAGA
	12S9_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTTTGAAGTATACTTGAGGAGG
9	2C19-2_M	P-CAGGGGGTGCTTACAATCCTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	2C19-2_G	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAACTTGGCCTTACCTGGATC
	2C19-2_A	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAACTTGGCCTTACCTGGATT
10	ITPA_M	P-AAACTTATCTCCTAGAAATCTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	ITPA_A	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTGTGCCACCAAAGTGCATGT
	ITPA_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTGTGCCACCAAAGTGCATGG
11	ADRB2_M	P-ATTGGGTGCCAGCAAGAAGTTTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	ADRB2_A	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCGTGGTCCGGCGCATGGCTTCT
	ADRB2_G	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCGTGGTCCGGCGCATGGCTTCC
12	2C19-1_M	P-GGGAATAATCAATGATAGTGGAATTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	2C19-1_A	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGTAATTGTTATGGGTTCCT
	2C19-1_G	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGTAATTGTTATGGGTTCCT
13	2D6_M	P-GTAGCGTGACGCCAGCGTTGGCGCTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	2D6_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCGGGCAGTGGCAGGGGGCTGGTGG
	2D6_T	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCGGGCAGTGGCAGGGGGCTGGTGA
14	2C9_M	P-GTATCTCTGGACCTCGTGACTTTTTTTTTTTTTTTTTT-FAM
	2C9_A	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGCTGGTGGGAGAAGGTCAAT
	2C9_C	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGCTGGTGGGAGAAGGTCAAG

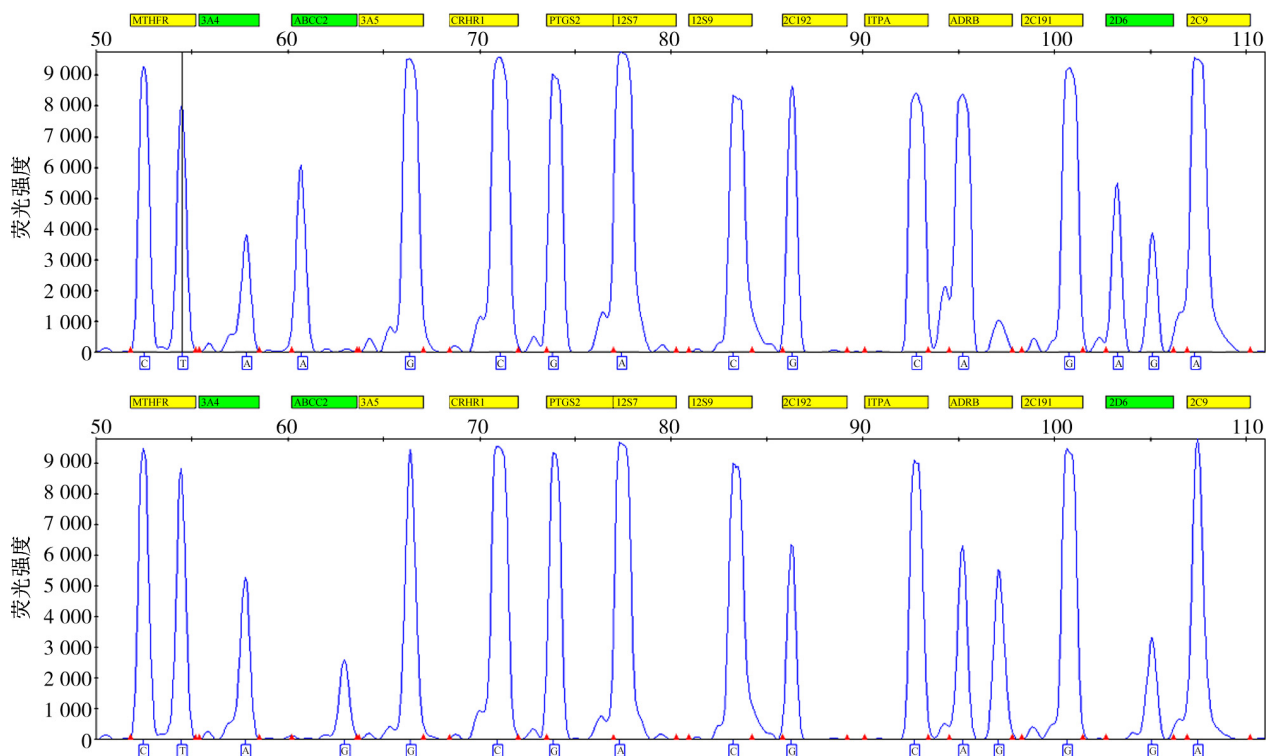


图 1 PCR-LDR 分型图谱

Fig. 1 Typing spectrogram of PCR-LDR

表 4 10 例样本的基因型

Tab. 4 Genotypes of 10 samples

位点	样本									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>CYP3A4</i>	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
<i>CYP3A5</i>	AG	GG	AG	GG	GG	AG	GG	AG	AG	GG
<i>CYP2D6</i>	AA	AA	GG	AA	GG	AA	GG	AA	AA	AA
<i>CYP2C9</i>	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
<i>CYP2C19</i>	GG	AG	AA	GG	GG	GG	GG	AG	GG	GG
<i>CYP2C192</i>	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	AG	GG
<i>ADRB2</i>	GG	AA	AG	AA	AA	AG	AG	AG	AG	AG
<i>ITPA</i>	AC	CC	CC	AC	CC	AC	CC	AC	CC	CC
<i>MTHFR</i>	CC	TT	CT	TT	TT	TT	CT	TT	CC	TT
<i>CRHR1</i>	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
<i>PTGS2</i>	GG	GG	GG	CG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
<i>ABCC2</i>	GG	GG	GG	GG	AG	AG	GG	GG	GG	GG
<i>12S7</i>	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
<i>12S9</i>	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC

本研究针对性地筛选出了 14 个基因位点, 这些基因可以覆盖目前常见的解热镇痛类药物、消化系统类药物、抗感染类药物、呼吸系统类药物、神经系统类药物以及内分泌系统类药物。同时建立了多重 PCR-LDR 检测方法, 该方法能一次性完成 14 个基因位点的 SNP 分型, 通过对样本的检测, 各位点之间不会相互干扰, 是一种低成本适用于

高通量 SNP 分型的理想方法。

REFERENCES

- [1] LIU Y Q, HONG Y J, ZENG S. Recent advances in metabolism-based drug-drug interactions[J]. J Zhejiang Univ: Med Sci(浙江大学学报: 医学版), 2009, 38(2): 215-224.
- [2] MEYER U A, ZANGER U M. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism[J]. Annu Rev

- Pharmacol Toxicol, 1997(37): 269-296.
- [3] SANGER F, NICKLEN S, COULSON A R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1977, 74(12): 5463-5467.
 - [4] SOBRINO B, CARRACEDO A. SNP Typing in Forensic Genetics: A Review[M]. New Jersey: Humana Press, 2005: 107-126.
 - [5] JARVIS B, MARKHAM A. Montelukast[J]. Drugs, 2000, 59(4): 891-928.
 - [6] MOORE C D, ROBERTS J K, ORTON C R, et al. Metabolic pathways of inhaled glucocorticoids by the CYP3A enzymes [J]. Drug Metab Dispos, 2013, 41(2): 379-389.
 - [7] ZHU X, YUN W T, SUN X F, et al. Effects of major transporter and metabolizing enzyme gene polymorphisms on carbamazepine metabolism in Chinese patients with epilepsy [J]. Pharmacogenomics, 2014, 15(15): 1867-1879.
 - [8] KIM K A, PARK P W, LEE O J, et al. Effect of polymorphic CYP3A5 genotype on the single-dose simvastatin pharmacokinetics in healthy subjects[J]. J Clin Pharmacol, 2007, 47(1): 87-93.
 - [9] LI Q, WANG R, GUO Y, et al. Relationship of CYP2D6 genetic polymorphisms and the pharmacokinetics of tramadol in Chinese volunteers[J]. J Clin Pharm Ther, 2010, 35(2): 239-247.
 - [10] SAKUYAMA K, SASAKI T, UJIE S, et al. Functional characterization of 17 CYP2D6 allelic variants(CYP2D6. 2, 10, 14A-B, 18, 27, 36, 39, 47-51, 53-55, and 57)[J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36(12): 2460-2467.
 - [11] PILOTTO A, SERIPA D, FRANCESCHI M, et al. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: Role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms[J]. Gastroenterology, 2007, 133(2): 465-471.
 - [12] MARTÍNEZ C, BLANCO G, LADERO J M, et al. Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding after NSAIDs use[J]. Br J Pharmacol, 2004, 141(2): 205-208.
 - [13] WANG T T, ZHU H F, SUN J Y, et al. Efficacy and safety of voriconazole and CYP2C19 polymorphism for optimised dosage regimens in patients with invasive fungal infections[J]. Int J Antimicrob Agents, 2014, 44(5): 436-442.
 - [14] MIAO J, LIU R, LI Z. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. N Engl J Med, 2009, 360(21): 2250-2251.
 - [15] LOU H Y, CHANG C C, SHEU M T, et al. Optimal dose regimens of esomeprazole for gastric acid suppression with minimal influence of the CYP2C19 polymorphism[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2009, 65(1): 55-64.
 - [16] PALMER C N, LIPWORTH B J, LEE S, et al. Arginine-16 beta2 adrenoceptor genotype predisposes to exacerbations in young asthmatics taking regular salmeterol[J]. Thorax, 2006, 61(11): 940-944.
 - [17] KIM K M, MURRAY M D, TU W Z, et al. Pharmacogenetics and healthcare outcomes in patients with chronic heart failure [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2012, 68(11): 1483-1491.
 - [18] LAI M L, WANG S L, LAI M D, et al. Propranolol disposition in Chinese subjects of different CYP2D6 genotypes[J]. Clin Pharmacol Ther, 1995, 58(3): 264-268.
 - [19] DISHY V, SOFOWORA G G, XIE H G, et al. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization[J]. N Engl J Med, 2001, 345(14): 1030-1035.
 - [20] THOMPSON A J, SANTORO R, PIAZZOLLA V, et al. Inosine triphosphatase genetic variants are protective against anemia during antiviral therapy for HCV_{2/3} but do not decrease dose reductions of RBV or increase SVR[J]. Hepatology, 2011, 53(2): 389-395.
 - [21] DRAGIC L L, WEGRZYN E L, SCHATMAN M E, et al. Pharmacogenetic guidance: Individualized medicine promotes enhanced pain outcomes[J]. J Pain Res, 2018(11): 37-40.
 - [22] TSARTSALI L, PAPADOPOULOS M, LAGONA E, et al. Association of hypothalamic-pituitary-adrenal axis-related polymorphisms with stress in asthmatic children on inhaled corticosteroids[J]. Neuroimmunomodulation, 2012, 19(2): 88-95.
 - [23] LEE Y S, KIM H, WU T X, et al. Genetically mediated interindividual variation in analgesic responses to cyclooxygenase inhibitory drugs[J]. Clin Pharmacol Ther, 2006, 79(5): 407-418.
 - [24] FRANKE R M, LANCASTER C S, PEER C J, et al. Effect of ABCB₂(MRP2) transport function on erythromycin metabolism[J]. Clin Pharmacol Ther, 2011, 89(5): 693-701.
 - [25] LI Z Y, LI R H, CHEN J F, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss [J]. Hum Genet, 2005, 117(1): 9-15.

收稿日期: 2020-01-20
(本文责编: 李艳芳)