

- physiological regulation[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(38): 40122-40129.
- [5] Tsukamoto Y, Kato J, Ikeda H. Silencing factors participate in DNA repair and recombination in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Nature*, 1997, 388(6645): 900-903.
- [6] Archer SL. Pre-B-cell colony-enhancing factor regulates vascular smooth muscle maturation through a NAD⁺-dependent mechanism; recognition of a new mechanism for cell diversity and redox regulation of vascular tone and remodeling[J]. *Circ Res*, 2005, 97(1): 4-7.
- [7] Marcia CH, Leonard PG. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction [J]. *Gen Dev*, 2006, 20(21): 2913-2921.
- [8] Kim SR, Lee KS, Park SJ, et al. Involvement of sirtuin1 in airway inflammation and hyperresponsiveness of allergic airway disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(2): 449-460.
- [9] 关振宏, 张茂林, 段铭. 流感病毒在诱导 A549 细胞凋亡过程中对 SIRT1 和 P53 蛋白的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 2009, 31(6): 767-770.
- [10] Rajendrasozhan S, Yang SR, Kinnula VL, et al. SIRT1, an Anti-inflammatory and antiaging protein, is decreased in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(8): 861-870.
- [11] Rajendrasozhan S, Yao H, Rahman I. Current perspectives on role of chromatin modifications and deacetylases in lung inflammation of COPD [J]. *COPD*, 2009, 6(4): 291-297.
- [12] Zeng L, Chen R, Liang F, et al. Silent information regulator, Sirtuin 1, and age-related diseases[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2009, 9(1): 7-15.
- [13] Yang SR, Wright J, Bauter M, et al. Sirtuin regulates cigarette smoke induced proinflammatory mediators release via RelA/p65 NF- κ B in macrophages in vitro and in rat lungs in vivo; implications for chronic inflammation and aging[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 292(2): 567-576.
- [14] Hwang JW, Chung S, Sundar IK, et al. Cigarette smoke-induced autophagy is regulated by SIRT1-PARP-1-dependent mechanism: implication in pathogenesis of COPD [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2010, 500(2): 203-209.
- [15] Sun Y, Sun DC, Li F, et al. Downregulation of SIRT1 by antisense Oligonucleotide induces apoptosis and enhances radiation sensitization in A549 lung cancer cells[J]. *Lung Cancer*, 2007, 58(1): 21-29.
- [16] Tseng RC, Lee CC, Hsu HS, et al. Distinct HIC1-SIRT1-p53 loop deregulation in lung squamous carcinoma and adenocarcinoma patients[J]. *Neoplasia*, 2009, 11(8): 763-770.

(收稿日期: 2011-06-22 修回日期: 2012-02-06)

· 综 述 ·

基于新一代高通量技术的个性化医疗研究进展

王慧丽 综述, 郭安源 审校

(华中科技大学文华学院环境工程系, 武汉 430074)

关键词: 个性化医疗; 全基因组关联分析 GWAS; 高通量测序; 多态性, 单核苷酸; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2100-03

个性化医疗是指根据不同患者独特的临床、遗传、基因组和环境信息设计有针对性的个性化治疗方案和用药。个性化医疗的首要目标是要针对特定群体或个体使用能对其产生最佳疗效的药物和剂量, 以提高疗效同时最大限度地降低药物的不良反应, 实现医疗方面的量体裁衣。个性化医疗的提出是现代医学发展史上的一场重大革命, 是与千人用一药的传统治疗方案截然不同的新思路, 其提出已经逐渐引起各国学者、医疗卫生人员和普通民众的关注。早在 2003 年, 人类基因组计划刚完成, 就有专家提出个性化的基因时代必将来临。近年来, 随着全基因组关联分析和第 2 代高通量测序技术在生物医学研究领域的广泛应用, 个性化医疗也取得了一定进展。本文主要就个性化医疗在近年来高通量生物学研究中的取得的进展做一综述。

1 个性化医疗与人类基因多态性

个性化医疗方案的提出, 主要由于两方面的原因: 一方面, 人们发现同一种疾病的不同患者对同一种药物的反应是不同的。使用该药, 部分患者有很好的疗效, 部分患者可能没有疗效, 也没有不良反应, 而有的患者可能不但没有疗效, 还会有不

良反应。据统计, 全球每年死亡的病例中, 约有 1/3 是因药物不良反应引起的, 中国每年有近 20 万人死于用药不当^[1]; 另一方面, 人们也发现同一种疾病可以由不同的原因导致, 尤其是一些复杂性疾病。这种疾病受多种遗传和环境因素影响, 不同的患者有不同的病因, 需要采用不同的治疗方案^[2]。

以上两方面的差异, 是由于人的遗传多态性差异造成。随着人类个体基因组序列的测定, 发现不同个体的 DNA 序列并不完全相同, 不同的 DNA 序列变异称为多态性。目前, 国际千人基因组计划研究结果已经发现人类基因组中存在近 1 500 万个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 这些已发现的位点基本达到了人类基因组中可能出现的多态性位点的 95%^[3]。同时, 每个个体平均携带有 250~300 个位于基因内的可能造成功能改变的变异位点, 其中部分与已知的遗传疾病有关联^[3]。

目前, NCBI 的人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)已经收录了人类的 1 万 3 000 个基因与 7 000 多种疾病有关联^[4]。单个 DNA 碱基突变就会导致个体表型或性状发生较大的改变, 如可能导致镰刀形红细胞贫

血病和血友病等孟德尔遗传病,即单基因疾病。单基因疾病由于致病原因单一,功能改变也较容易阐明。部分单基因疾病的研究成果,已经应用于临床的遗传筛查和产前诊断等。这些研究为预防、治疗遗传病给予了极大的帮助,为单基因遗传病患者的个性化医疗提供了坚实的理论基础和应用指导。如果人类的所有疾病或性状都像上述孟德尔遗传病一样,由单个或少数几个基因控制;或者如果不同人 DNA 序列间的差异,主要是上述能导致明显表型变化的 DNA 突变,那么个性化医疗也许很快就能实现。

然而,一方面,不同人 DNA 序列间的差异,并非 DNA 突变,而主要是一些没有明显表型的遗传多态,大多数是仅有一个碱基不同的单核苷酸多态位点。它们是在长期进化过程中随着不断改变的生存选择压力而形成的,表现为对不同物质的代谢反应速率或反应结果有差异。这些不同的多态位点,可以有不同的组合方式,例如 3 个多态位点便能形成 9 种不同的组合,人类的所有基因多态位点之间的组合方式是天文数字。阐明每个多态位点的功能以及它们之间的不同组合方式的功能,将是阐明人与人之间各种不同复杂性状的根本途径,包括对各种药物的反应等。

另一方面,随着传染病得到控制、人类生活和医疗水平的提高,如今威胁人类生命健康的疾病,主要是一些复杂性疾病。它们并不是由单一的致病基因引起的,而是受到包括基因多态性、基因-基因相互作用等遗传因素与多种环境因素以及它们之间的相互作用共同影响的。因此,只有充分掌握了这两方面的知识,才能最终实施个性化医疗。

2 全基因组关联分析技术在个性化医疗研究中的应用

目前,已经获得了 95% 左右的人类多态性位点,然而对这些位点或相关基因与疾病关联方面的研究还非常有限,但这些疾病关联信息却是个性化医疗最终得以实现的重要基础。全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)正是获得这种知识的重要手段之一,也是国际上近几年来发展的新方法。它是一种通过在人类全基因组范围内寻找某些基因位点差异与某种表型之间联系的方法,这种表型可以是各种人们所关心的冠心病、糖尿病等质量性状,也可以是血压、血脂、身高、对药物的反应速率等数量性状。根据研究侧重点的不同, GWAS 既可以用于研究人类复杂疾病的遗传背景,即复杂疾病遗传学,也可以用于研究药物疗效的遗传背景,即药物基因组学。

自 2005 年《Science》杂志报道了第 1 项关于年龄依赖性视网膜黄斑变性的 GWAS 研究成果以来^[5], GWAS 研究技术在全球迅速开展。根据美国国家基因组研究所截止到 2011 年 6 月的统计,已经有 932 篇 GWAS 的文献发表,这些研究发现了 4 000 多个 SNP 与 200 多种疾病和性状相关联^[6]。这些研究大多数都是有关复杂疾病以及与疾病密切相关的生化指标的遗传背景研究,如有关肥胖、糖尿病、冠心病、癌症、精神分裂症、多发性肝硬化、近视、食管癌、鼻咽癌、心房颤动、风湿性关节炎等^[6]。随着 GWAS 研究的开展,国内安徽医科大学张学军等研究团队也积极利用这项新的技术开展研究^[7-8]。目前,国内已经发表的 GWAS 研究有银屑病、系统性红斑狼疮、身高、食管癌、2 型糖尿病、骨质疏松、鼻咽癌、结肠癌、冠心病、肺癌、特应性皮炎等。这些研究中很多发现了与疾病有显著相关的位点或中国汉族人群特定的位点,表明中国在复杂疾病 GWAS 研究上部分已经达到国际水平^[9]。这些疾病易感基因的发现为该疾病的研究奠定了基础,也为疾病的基因诊断、个

性化治疗带来希望。

此外,科学家们还将 GWAS 技术应用到疾病治疗的研究中,相比较研究人类复杂疾病和性状的 GWAS 而言,对药物反应和疾病治疗的 GWAS 研究相对较少。这些已有的药物基因组方面的 GWAS 研究近 70% 是关于药物反应,其他关于药物不良反应的研究。药物反应的 GWAS 研究有干扰素和抑制血小板药物氯吡格雷的反应,抗凝剂剂量的使用要求等;药物不良反应的 GWAS 研究有他汀类药物诱导的肌病和氟氯西林诱导的肝损伤研究等^[10]。最近的 GWAS 研究结果发现,基因 VKORC1、CYP2C9 和 CYP4F2 的基因型是华法林剂量的遗传决定因素^[11]; Gamma 氨基丁酸(GABA)受体与迟发性运动障碍治疗中的抗精神病药物的不良反应密切相关^[12]。SLCO1B1 基因的一个多态性位点是他汀类药物的主要不良反应(横纹肌溶解)的独立决定因子,这对他汀类肌毒性的预测和预防具有重要意义。基因 ITPA/DDRGI1 附近的一个位点与干扰素治疗丙型肝炎引起的血小板减少有显著关联。这些研究对药物基因组学和个体化用药的发展积累了经验,奠定了理论基础。

3 高通量测序技术在个性化医疗研究中的应用

近年来,随着测序技术的不断发展,尤其是 2005 年以来以 Roche 公司的 454 技术, Illumina 公司的 Solexa 技术和 ABI 公司的 SOLiD 技术为标志的第 2 代测序技术相继问世,使得测序通量得以显著提升,时间大大缩短,同时测序成本显著下降,使得疾病的研究发生了重大转变,个人基因组的研究逐渐开展,个性化医疗的相关研究再次提上日程。

目前,利用第 2 代测序研究疾病在 DNA 水平的技术策略主要有外显子组测序、全基因组重测序和目标基因组区域测序。借助高通量基因组测序技术,研究者可以更加快速准确地找到与疾病相关的基因组序列与结构的异常变化,从而确定致病基因或易感位点。2009 年 8 月, Ng 等^[13]发表了 12 个人类外显子组测序的研究论文,该研究通过对 4 位弗里曼谢尔登综合征患者进行外显子组测序及分析,找出了患者 DNA 中致病的 MYH3 基因突变,开创了外显子组测序方法确定罕见致病变异基因的先河。随后,外显子组测序作为快速定位单基因病致病基因的有力工具被快速应用于不同单基因病的研究者,并且也逐步应用于研究多基因变异引起的常见疾病,如糖尿病、高血压和肿瘤等^[14]。

随着测序技术的发展和费用的降低,可以想象在全面实现个体化医疗的时代,每个人都会拥有自己的基因组图谱。医生可以根据患者的基因组图谱制定个体化的治疗方案,从而在保证药效的同时将不良反应降到最低。个人基因组图谱的意义不仅在于疾病治疗,还在于通过基因组图谱中变异信息的解读,实现在发病前对疾病风险的预测和评估,从而尽早地采取有效的预防措施。因此,利用全基因组重测序进行变异检测具有极大的应用价值和广阔的市场前景,也是个性化医疗得以实现的一个重要步骤和必经之路。

4 基因组信息在个性化医疗的应用

基因组信息在个性化医疗方面的应用主要体现在以下几个方面:(1) 疾病风险评估。这一点主要是指通过基因组和遗传学研究,获得单基因病和多基因病的潜在遗传变异位点以及它们与疾病发生的关联性,然后根据这些位点和疾病相关性进行疾病风险评估,分析不同个体将来患该疾病的可能性和风险。(2) 疾病早期诊断和分型。很多疾病在其发病的早期不容易确诊和分型,绝大多数癌症如果能在早期进行确诊和分型的话,将有很大的概率被治愈。因此疾病的早期诊断在个性化

医疗中占很重要地位。不同个体的基因组信息对疾病的早期诊断有重要意义。(3) 疾病的治疗和药物敏感性检测。针对不同患者的药物靶基因上的不同突变,分析该药物对患者的作用,从而适当的选择不同的用药和药物剂量,使之达到最佳治疗效果,这是个性化医疗的重要表现。(4) 疾病预后的监测。在预后的监测中主要对部分基因或特定分子的表达检测来判断疾病的预后情况。2007 年美国 FDA 批准了第一个用于监测癌症患者 5 年内肿瘤转移和复发的方法 Mamma Print。该试剂盒就是根据 70 个基因的表达信号来实现肿瘤的预后^[15]。

5 展 望

迄今为止,GWAS 和第 2 代高通量测序技术已经成为研究人类复杂疾病和药物反应的遗传背景的重要方法,在今后一段时间内将依然是研究的热点所在。相信随着越来越多的高通量生物医学研究技术的应用和研究的深入开展,复杂疾病和药物反应的遗传背景知识会越来越丰富,将为疾病预警、风险预测、临床诊断、药物开发和个性化医疗奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] 刘伯宁. 后基因组时代十年志--兼论十年间生命科学的发展及所面临的挑战[J]. 自然杂志, 2010, 467(6): 1061-1073.
- [2] The 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing [J]. Nature, 2010, 467(7319): 1061-1073.
- [3] Amberger J, Bocchini C, Hamosh A. A new face and new challenges for Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)[J]. Hum Mutat, 2011, 32(5): 564-567.
- [4] Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration [J]. Science, 2005, 140(2): 352.
- [5] Zhang XJ, Huang W, Yang S, et al. Psoriasis genome-wide association study identifies susceptibility variants within LCE gene cluster at 1q21 [J]. Nature Genetics, 2009, 41: 205-210.
- [6] Han JW, Zheng HF, Cui Y, et al. Genome-wide association study in a Chinese Han population identifies nine

new susceptibility loci for systemic lupus erythematosus [J]. Nat Genet, 2009, 41(11): 1234-1237.

- [7] 范岚, 张伟, 周宏灏. 与人类疾病的发病和治疗相关的全基因组关联研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(4): 307-310.
- [8] Daly AK. Genome-wide association studies in pharmacogenomics[J]. Nat Rev Genet, 2010, 11(4): 241-246.
- [9] Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose[J]. PLoS Genet, 2009, 5(3): e1000433.
- [10] Inada T, Koga M, Ishiguro H, et al. Pathway-based association analysis of genome-wide screening data suggest that genes associated with the gamma-aminobutyric acid receptor signaling pathway are involved in neuroleptic-induced, treatment-resistant tardive dyskinesia [J]. Pharmacogenet Genomics, 2008, 18(4): 317-323.
- [11] SEARCH Collaborative Group. SLC01B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study [J]. N Engl J Med, 2008, 359(8): 789-799.
- [12] Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, et al. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C [M]. Hum Mol Genet In press, 2011: 5-8.
- [13] Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes [J]. Nature, 2009, 461(7261): 272-276.
- [14] 杨旭, 焦睿, 杨琳, 等. 基于新一代高通量技术的人类疾病组学研究策略[J]. 遗传, 2011, 33(8): 829-846.
- [15] van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer [J]. N Engl J Med, 2002, 347(25): 1999-2009.

(收稿日期: 2012-01-19 修回日期: 2012-03-23)

· 综 述 ·

肾病综合征凝血机制研究近况

胡石炜 综述, 张道友[△] 审校

(安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院肾脏内科 241000)

关键词: 肾病综合征; 凝血机制; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2102-03

机体的止血涉及一系列过程,包括血小板(PLT)的激活和聚合形成 PLT 栓子,血管壁损伤暴露出组织因子活化凝血链,各种抑制剂终止凝血链,溶解已形成的血栓。其中任一步骤异常都会导致血栓形成。肾病综合征(NS)血栓形成可能由于抑制凝血的蛋白酶的丢失,促凝因子合成的增加,肾小球凝血系统的激活^[1]。其他因素有长期卧床不动,导管插入所致静脉损

伤、高脂血症等。

1 PLT 激活和聚合

PLT 与血管壁相互作用,PLT 聚合参与 NS 血栓栓塞。NS 患者存在 PLT 增多,红细胞变形能力逐渐降低,vW 因子渐增该因子能促进 PLT 转运到血管壁和 PLT 聚合,PLT 聚合增强。研究 NSPLT 功能发现^[2],有 72 的患者存在 PLT 高聚