

# LNA-taqman 探针实时荧光 PCR 快速检测 CYP4F2-C1347T, CYP2C9 \* 3, VKORC1-C1173T 与 VKORC1-G1639A 基因多态性方法的建立\*

尹翔芳<sup>1</sup>, 蒋卫霞<sup>1</sup>, 饶品彬<sup>2</sup> (1. 上海交通大学医学院附属苏州九龙医院检验科, 江苏苏州 215000; 2. 苏州吉玛基因股份有限公司, 江苏苏州 215000)

**摘要:**目的 建立一种基于 LNA-taqman 探针实时荧光 PCR 检测华法林剂量相关基因型维生素 K 单氧酶 CYP4F2, 维生素 K 环氧化物还原酶复合体亚单位 1(VKORC1)和细胞色素 P4502C9(CYP2C9)的方法。方法 针对 CYP4F2-1347C>T, CYP2C9 \* 3, VKORC1-1173C>T 与 VKORC1-1639G>A 四个单核苷酸多态性(SNP)位点, 分别设计一套等位基因特异性探针与引物, 并对 LNA-taqman 探针特异性进行评价。提取 150 例接受华法林治疗患者外周血样本基因组 DNA 进行检测, 同时对部分实时荧光 PCR 产物样品进行验证。结果 ① LNA-taqman 探针检测方法特异性高, 没有交叉性。② 150 例患者中, CYP4F2-1347C>T 基因型 CC, CT 和 TT 分别有 87, 56 和 7 例, 各占 58%, 37.3% 和 4.7%; CYP2C9 \* 3 基因型 \* 1/\* 1 和 \* 1/\* 3 分别有 142 和 8 例, 各占 94.7% 和 5.3%, 未检出纯合子 \* 3/\* 3 基因型; VKORC1-1173C>T 基因型 TT, TC 和 CC 分别有 127, 20 和 3 例, 各占 84.7%, 13.3% 和 2%; VKORC1-1639G>A 基因型 AA, AG 和 GG 分别有 124, 23 和 3 例, 各占 82.7%, 15.3% 和 2%。结论 基于 LNA-taqman 探针的实时荧光 PCR 分型方法具有操作简便, 价格低廉, 结果准确可靠等特点, 适于临床实验室对 CYP4F2, CYP2C9 \* 3, VKORC1 的基因分型。

**关键词:** 华法林; CYP4F2; CYP2C9; VKORC1

中图分类号: Q503 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)06-001-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.06.001

## Establishment of LNA-taqman Quantitative Real-time PCR for Detecting CYP4F2-C1347T, CYP2C9 \* 3, VKORC1-C1173T and VKORC1-G1639A Genes Polymorphism

YIN Xu-fang<sup>1</sup>, JIANG Wei-xia<sup>1</sup>, RAO Pin-bin<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, Suzhou Kowloon Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Jiangsu Suzhou 215000, China; 2. Suzhou Gene Pharma Co., Ltd, Jiangsu Suzhou 215000, China)

**Abstract:** **Objective** To establish a LNA-taqman-based real-time PCR assay for detecting gene polymorphisms of Vitamin K monooxygenase CYP4F2, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1(VKORC1) and cytochrome P450 2C9(CYP2C9), associated with Warfarin optimal dosage. **Methods** A set of allele-specific PCR primers and probes was designed for each single nucleotide polymorphism (SNP) of CYP4F2-1347C>T, CYP2C9 \* 3, VKORC1-1173C>T and VKORC1-1639G>A, and the specificity of LNA-taqman probe PCR was evaluated. Genomic DNA of peripheral blood samples from 150 patients with treated with warfarin was extracted, and the some PCR products were verified with sequencing. **Results** ① LNA-taqman-based real-time PCR assay was highly specificity, no overla. ② Among the 150 patients, the cases of CC, CT and TT genotype of CYP4F2-1347C>T were 87(58%), 56(37.3%) and 7(4.7%). The cases of \* 1/\* 1 and \* 1/\* 3 genotype of CYP2C9 \* 3 were 142(94.7%) and 8(5.3%), \* 3/\* 3 genotype was not detected. The cases of TT, TC and CC genotype of VKORC1 1173C>T were 127(84.7%), 20(13.3%) and 3(2%). The cases of AA, AG and GG genotype of VKORC1 1639G>A were 124(82.7%), 23(15.3%) and 3(2%), respectively. **Conclusion** The LNA-taqman-based real-time PCR assay is convenient, inexpensive, accurate and will be useful for CYP4F2-C1347T, CYP2C9 \* 3, VKORC1-C1173T and VKORC1-G1639A genotyping in a clinic laboratory.

**Keywords:** Warfarin; CYP4F2; CYP2C9; VKORC1

华法林属香豆素类口服抗凝血药, 自发明以来由于疗效确切及价格低廉, 至今仍是临床上使用最多的口服抗凝药物<sup>[1]</sup>。使用华法林治疗的一个特

点是其稳定剂量在不同种族间及个体间存在着较大差异, 遗传因素是影响华法林用量个体差异的主要原因, 越来越多的研究证实维生素 K 单氧酶

\* 作者简介: 尹翔芳(1974—), 女, 本科, 副主任技师, 主要从事临床生物化学、免疫学检验研究, E-mail: yxf1225@sina.com。  
通讯作者: 饶品彬(1989—), 男, 硕士, 苏州吉玛基因股份有限公司, 主要从事基因检测研究, E-mail: pinbinrao@163.com。

CYP4F2, 细胞色素 P4502C9 (CYP2C9) 和维生素 K 环氧化物还原酶复合体亚单位 1 (VKORC1) 基因多态性是造成华法林用量个体化差异的主要遗传因素<sup>[2~4]</sup>。其中 VKORC1-1173 基因型为 CC 和 TC 的患者, 其华法林用量明显高于 TT 基因型患者; 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明显增加<sup>[5]</sup>; 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 (CYP2C9 \* 1) 的 4%~6%, CYP2C9 \* 2 和 CYP2C9 \* 3 患者的华法林用量明显低于基因型为 \* 1/\* 1 的患者, 在中国人群中几乎没有 CYP2C9 \* 2 等位基因存在<sup>[6,7]</sup>。CYP4F2 (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 杂合子其次, CYP4F2 纯合子活性最低<sup>[8]</sup>。因此, 对 CYP4F2, VKORC1 和 CYP2C9 基因进行分型, 有助于在临床上指导不同基因型患者的华法林使用<sup>[9,10]</sup>。

LNA-taqman 探针较传统 taqman 探针具有更高特异度, 本研究拟利用 LNA-taqman 探针技术, 建立一种快速、高效, 适用于临床应用的华法林相关基因 CYP4F2, VKORC1 和 CYP2C9 多态性检测方法, 为华法林个体化用药提供技术支持。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 检测对象为上海交通大学医学院附属苏州九龙医院 2016 年~2017 年间收治的需接受华法林治疗的患者 150 例, 包括心房颤动 67 例, 深静脉血栓形成和肺栓塞 26 例, 换瓣或支架植

入术后 19 例, 风湿性心脏病 11 例, 冠心病及其他病例 27 例。其中男性 69 例, 女性 81 例, 平均年龄  $59.5 \pm 14.3$  岁, 所有患者均为汉族。该课题通过了上海交通大学医学院附属苏州九龙医院伦理委员会审查。

1.2 试剂和仪器 DNA 提取试剂盒 (德国 Qia-gen 公司); LNA-taqman 探针 (苏州吉玛基因股份有限公司); TaqDNA 聚合酶, 三磷酸脱氧核糖核苷 (dNTP), PCR 缓冲液 (大连宝生物工程有限公司); ABI StepOne Plus 荧光定量 PCR 仪 (美国应用生物系统公司), 5804R 型低温高速离心机 (德国 Eppendorf 公司), Nanodrop2000 超微量分光光度计 (Thermo Scientific)。

## 1.3 方法

1.3.1 样本采集与基因组 DNA 提取: 所有对象均采集外周静脉血 2 ml, EDTA- $\text{Na}_2$  抗凝。用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA, Nanodrop2000 检测样本 DNA 纯度 (1.8~2.0) 和浓度 (20~60 g/ml) 后, 于  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。

1.3.2 引物探针设计: 见表 1。通过 NCBI 基因组数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得 CYP2C9, VKORC1 和 CYP4F2 基因组 DNA 全序列, 在 Primer express 3.0 进行 CYP4F2-1347C > T, CYP2C9 \* 3, VKORC1-1173C > T 与 VKORC1-1639G>A 四位点的探针引物设计, 人工加以修改, 在探针中插入 LNA 修饰, 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成, 探针由苏州吉玛基因合成。

表 1 CYP2C9, VKORC1 和 CYP4F2 基因各 SNP 位点及引物和探针

基 因	引物与探针	引物与探针序列	片段大小(bp)
CYP4F2 (rs2108622)	FO	AGGTGATGTTGGATACTCCTGAT	181
	RE	TCTCCTGACTGCTCCCTTCTC	
	Wild-Probe	CGGCC+AC+A+C+AG+CT	
	Mutant-Probe	CCA+GC+T+A+TG+TGGC	
CYP2C9 * 3 (rs1057910)	FO	AGGAGCCACATGCCCTACAC	135
	RE	CAAACCTACCTTGGGAATGAGATAG	
	Wild-Probe	AGGT+CA+A+T+GT+ATCTCTGG	
	Mutant-Probe	TCCAGAGA+TA+C+C+TT+GACC	
VKORC1_1639 (rs9923231)	FO	AAATGCTAGGATTATAGGCGTGAG	108
	RE	AAGGGTAGGTGCAACAGTAAGG	
	Wild-Probe	CAC+C+C+GGC+CAATG	
	Mutant-Probe	CATT+GGC+C+A+GGTG	
VKORC1_1173 (rs9934438)	FO	CACCTGGGCTATCCTCTGTTC	96
	RE	CATGGAATCCTGACGTGGC	
	Wild-Probe	TCA+TC+GA+C+C+CTTG	
	Mutant-Probe	CC+AA+G+A+GT+CGATG	

注: “+”表示其后碱基需进行锁核酸修饰。

1.3.3 质粒标准品构建:用全基因合成方法合成 CYP2C9, VKORC1 和 CYP4F2 基因的野生型序列和突变型序列,并插入 PUC57 质粒载体,测序鉴定正确以后,将质粒 DNA 提取纯化制备成待检基因野生型和突变型质粒,所有质粒用 Nano-drop2000 进行定量。

1.3.4 LNA-taqman 探针法实时荧光 PCR 体系:10× PCR Buffer (Vazyme, Lot: P122-d2) 1×, dNTP (Vazyme, Lot: P031-01) 0.2 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L, FO 0.2 μmol/L, RE 0.2 μmol/L, 探针 PR 0.5 μmol/L, 50×ROX (Invitrogen 12223-012) 5×, 不足 18 μl 用灭菌水补齐,模板 2 μl, 总体积 20 μl。于 ABI StepOne Plus 荧光定量 PCR 仪上进行反应,反应程序为 95℃ 3 min; 95℃ 15 s, 62℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40 个循环检测 FAM 荧光信号。

1.3.5 LNA-taqman 探针特异性评价:将 CYP4F2 野生型与突变型质粒标准品同时用 CYP4F2 野生型探针与突变型探针分别检测;将 CYP2C9 野生型与突变型质粒标准品同时用 CYP2C9 野生型探针与突变型探针分别检测;将 VKORC1-1639 野生型与突变型质粒标准品同时用 VKORC1-1639 野生型探针与突变型探针分别检测;将 VKORC1-1173 野生型与突变型质粒标准品同时用 VKORC1-1173 野生型探针与突变型探针分别检测。

1.3.6 样本检测与测序验证:150 份外周血提取样本进行基因分型检测,依据基因分型结果选择各种位点基因分型共 30 份样本经 PCR 后,产物送专业生物技术公司测序。

1.4 统计学分析 用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理,用  $\chi^2$  检验判断 CYP4F2-1347C>T, CYP2C9\*3, VKORC1-1173C>T 与 VKORC1-1639G>A 的等位基因频率和基因型频分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 LNA-taqman 探针特异性评价 CYP4F2 野生型探针只特异检出 CYP4F2 野生型质粒, CYP4F2 突变型探针只特异检出 CYP4F2 突变型质粒; CYP2C9 野生型探针只特异检出 CYP2C9 野生型质粒, CYP2C9 突变型探针只特异检出 CYP2C9 突变型质粒; VKORC1-1639 野生型探针只特异检出 VKORC1-1639 野生型质粒, VKORC1-1639 突变型探针只特异检出 VKORC1-1639 突变型质粒; VKORC1-1173 野生型探针只特异检出 VKORC1-1173 野生型质粒, VKORC1-

1173 突变型探针只特异检出 VKORC1-1173 突变型质粒,见图 1,探针具有高度特异性,不产生交叉反应。

2.2 150 份血样分型 对 150 例服用华法林患者的 CYP2C9, CYP4F2 和 VKORC1 基因的四个 SNP 位点进行基因分型结果见表 2。在 150 例服用华法林的患者中检测到 CYP4F2-1347C>T 基因型 CC, CT 和 TT 分别有 87, 56 和 7 例, 各占 58%, 37.3% 和 4.7%; CYP2C9\*3 基因型 \*1/\*1 和 \*1/\*3 分别有 142 和 8 例, 各占 94.7% 和 5.3%, 未检出纯合子 \*3/\*3 基因型; VKORC1-1173C>T 基因型 AA, GA 和 GG 分别有 127, 20 和 3 例, 各占 84.7%, 13.3% 和 2%; VKORC1-1639G>A 基因型 TT, TC 和 CC 分别有 124, 23 和 3 例, 各占 82.7%, 15.3% 和 2%。抽取其中 30 份测序样本结果与基因分型完全一致, 八种代表性基因分型见图 2。

表 2 150 例患者 CYP4F2-1347C>T, CYP2C9\*3, VKORC1-1173C>T 与 VKORC1-1639G>A 等位基因和基因型频率的分布

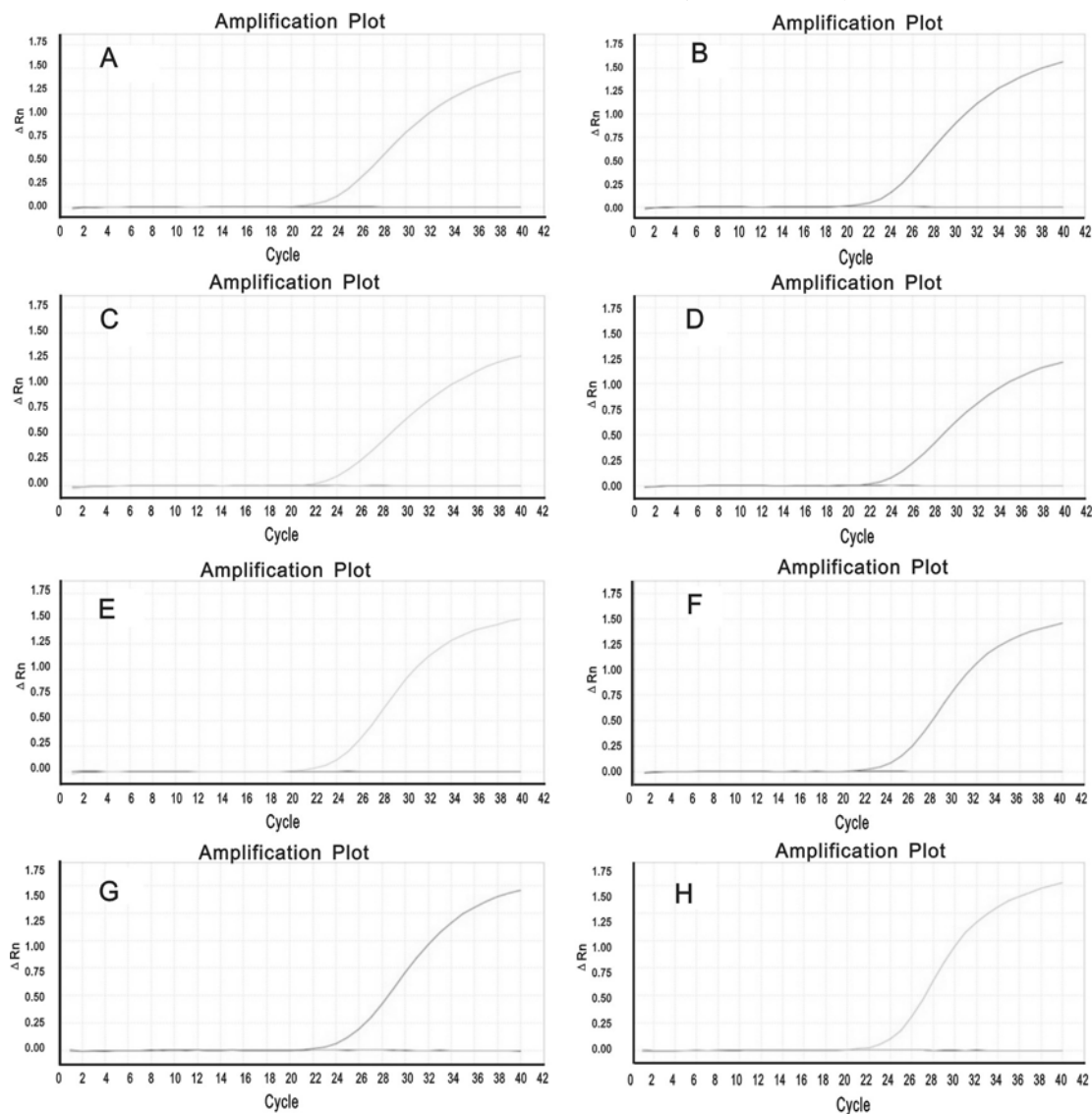
多态位点	基因型	n(%)	等位基因	n(%)
VKORC1. 1639G>A	AA	124(82.7)	A	90.3
	GA	23(15.3)	G	9.7
	GG	3(2.0)		
VKORC1. 1173C>T	TT	127(84.7)	T	91.3
	CT	20(13.3)	C	8.7
	CC	3(2.0)		
CYP2C9*3	*1/*3	8(5.3)	*1	97.3
	*1/*1	142(94.7)	*3	2.7
CYP4F2_1347C>T	TT	7(4.7)	T	23.3
	CT	56(37.3)	C	76.7
	CC	87(58.0)		

2.3 统计学分析 经  $\chi^2$  检验分析, 所选人群 CYP4F2-1347C>T, CYP2C9\*3, VKORC1-1173C>T 与 VKORC1-1639G>A 的等位基因频率和基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡,  $\chi^2$  值分别为 0.022, 0.0667 和 0.607, 差异均有统计学意义 ( $P>0.05$ )。

3 讨论 目前国内外常用的检测 SNP 的方法主要有 PCR 产物直接测序、聚合酶链反应-单链构象多态性分析 (PCR-SSCP)、PCR-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP)、序列特异性引物-PCR (PCR-SSP) 技术、TaqMan 探针法、基因芯片、微测序法 (minisequencing)、变性高效液相色谱 (DHPLC) 等<sup>[11,12]</sup>。本研究在探针设计上较传统 taqman 探针引入了锁核酸修饰 (locked nucleic acid, LNA), LNA 是一种核酸类似物, 和普通核酸分子区别是

LNA 碳环的 2'-oxygen 和 4'-carbon 位置引入亚甲基桥形成锁状结构,增加核酸双链热稳定性,同时提高探针  $T_m$  值,缩短探针长度,大大增加探针对于野生型与突变型的特异性识别<sup>[13]</sup>。本研究所设计的引物对野生型与突变型具有通检性,可以通过

在探针上标记不同荧光,实现多基因位点单管同时检测,因此 LNA-taqman 探针法实时荧光定量 PCR 具有检测方便,不需特别的仪器设备,检测时间短、效率高、简便、无污染、高通量和成本低的特点,在临床上应用更方便。



注:A,CYP4F2 野生型探针同时检 CYP4F2 野生型质粒与突变型质粒;B,CYP4F2 突变型探针同时检 CYP4F2 野生型质粒与突变型质粒;C,CYP2C9 野生型探针同时检 CYP2C9 野生型质粒与突变型质粒;D,CYP2C9 突变型探针同时检 CYP2C9 野生型质粒与突变型质粒;E,VKORC1\_1173 野生型探针同时检 VKORC1-1173 野生型质粒与突变型质粒;F,VKORC1-1173 突变型探针同时检 VKORC1-1173 野生型质粒与突变型质粒;G,VKORC1-1639 野生型探针同时检 VKORC1-1639 野生型质粒与突变型质粒;H,VKORC1-1639 突变型探针同时检 VKORC1-1639 野生型质粒与突变型质粒。

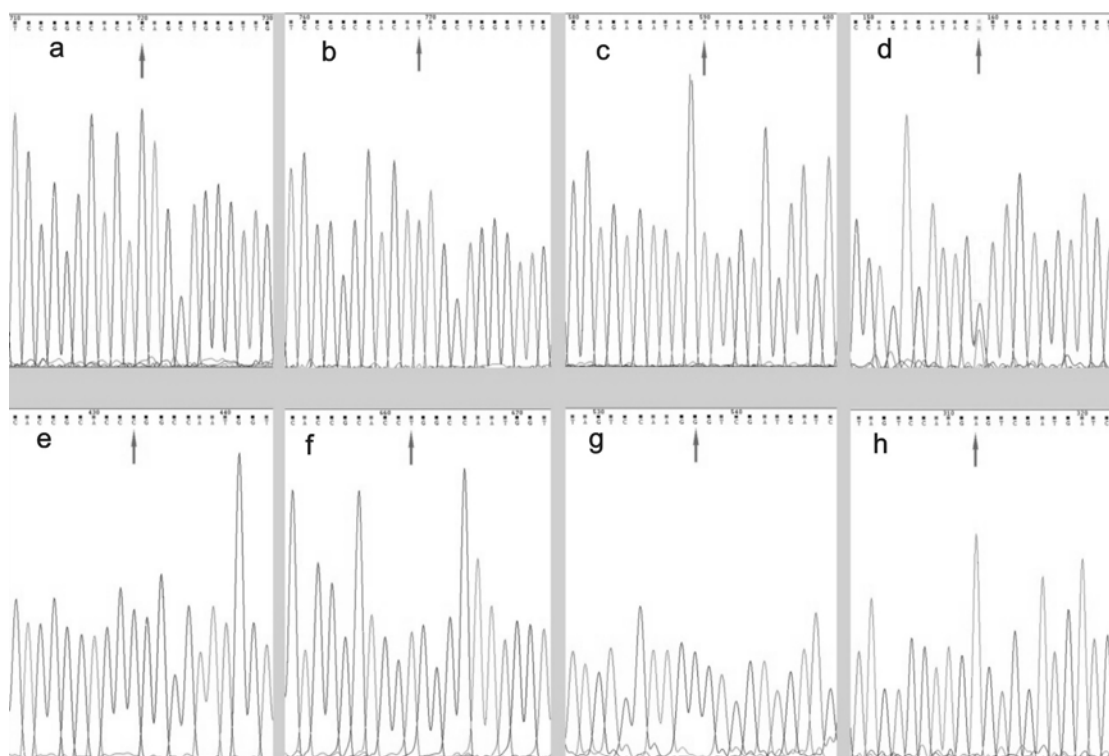
图1 CYP4F2-1347C>T,CYP2C9 \* 3,VKORC1-1173C>T 与 VKORC1-1639G>A 探针特异性评价

华法林广泛用于预防和治疗血栓栓塞性疾病如人工瓣膜置换术后、静脉血栓形成肺栓塞、心房颤动等的口服抗凝治疗,以及降低心肌梗死复发及心肌梗死后血栓栓塞死亡的危险<sup>[14,15]</sup>。但是华法林不稳定的药动力学和药效学特点限制了其应用,很小的剂量变化都有可能导致严重不良反应。影响华法林剂量有非遗传因素和遗传因素,非遗传因素主要有年龄、体表面积、吸烟史、药物的相互作用、

饮食习惯、疾病状态、环境等,而非遗传因素的影响程度较为有限,并非华法林用量个体差异的主要原因<sup>[7,8]</sup>。近年来,随着药物基因组学的进展和华法林药理作用分子机制的阐明,遗传因素在华法林用量个体差异中的作用越来越受到人们的重视,遗传因素对华法林剂量的影响主要体现在基因多态性方面<sup>[16]</sup>。本研究对 150 例服用华法林的门诊患者进行了 CYP2C9 基因 \* 3 位点,CYP4F2 基因的

V433M 位点和 VKORC1 基因的 1173C/T 和 1639G/A 位点基因分型,四个 SNP 位点的发生率符合既往研究结果<sup>[17,18]</sup>。并依据基因分型结果选择的 30 份测序样本结果与基因分型完全一致,说明 LNA-taqman 探针法实时荧光 PCR 技术检测基

因 SNP 是一种准确、简便、快速的临床高通量、常规化检测技术,能够用于华法林最佳用药剂量关联基因 CYP2C9, CYP4F2 和 VKORC1 的临床分子诊断。



注:a为CYP4F2野生型纯合子,b为CYP4F2突变纯合子,c为CYP2C9\*3为\*1/\*1纯合子,d为CYP2C9\*3为\*1/\*3杂合子,e为VKORC1.1639野生型纯合子,f为VKORC1.1639突变型纯合子,g为VKORC1.1173野生型纯合子,h为VKORC1.1173突变型纯合子,与测序结果相符。

图2 CYP4F2-1347C>T,CYP2C9\*3,VKORC1-1173C>T与VKORC1-1639G>A基因分型扩增产物测序结果

#### 参考文献:

- [1] Lehto M, Niiranen J, Korhonen P, et al. Quality of warfarin therapy and risk of stroke, bleeding, and mortality among patients with atrial fibrillation: results from the nationwide FinWAF Registry [J]. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 2017, 26 (6):657-665.
- [2] Bourgeois S, Jorgensen A, Zhang EJ, et al. A multifactorial analysis of response to warfarin in a UK prospective cohort [J]. *Genome Medicine*, 2016, 8 (1):2.
- [3] Obeng AO, Kaszemacher T, Abul-Husn NS, et al. Implementing algorithm-guided warfarin dosing in an ethnically diverse patient population using electronic health records and preemptive CYP2C9 and VKORC1 genetic testing [J]. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2016, 100(5):427-430.
- [4] Zhang J, Chen Z, Chen C. Impact of CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 genetic polymorphisms on maintenance warfarin dosage in Han-Chinese patients: A systematic review and meta-analysis [J]. *Meta Gene*, 2016(9):197-209.
- [5] Tang W, Shi QP, Ding F, et al. Impact of VKORC1 gene polymorphisms on warfarin maintenance dosage: A novel systematic review and meta-analysis of 53 studies [J]. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2017, 55(4):304-321.
- [6] Flora DR, Rettie AE, Brundage RC, et al. CYP2C9 genotype-dependent warfarin pharmacokinetics: impact of CYP2C9 genotype on R- and S-warfarin and their oxidative metabolites [J]. *Journal of Clinical Pharmacology*, 2017, 57(3):382-393.
- [7] Jia LQ, Wang Z, Men J, et al. Polymorphisms of VKORC1 and CYP2C9 are associated with warfarin sensitivity in Chinese population [J]. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2017, 13 (1): 421-425.
- [8] Johnson JA, Caudle KE, Gong L, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 update [J]. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2017, 102(3):397-404.
- [9] Wen MS, Chang KC, Lee TH, et al. Pharmacogenetic dosing of warfarin in the Han-Chinese population: a randomized trial [J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18 (3):245-253.

(下转 10 页)

- [10] Zhu YB, Hong XH, Wei M, et al. Development of a novel individualized warfarin dose algorithm based on a population pharmacokinetic model with improved prediction accuracy for Chinese patients after heart valve replacement [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2017, 38(3): 434-442.
- [11] Hou G, Jiang XH, Yang YY, et al. A 21-locus autosomal SNP multiplex and its application in forensic science [J]. *Journal of Forensic Sciences*, 2014, 59(1): 5-14.
- [12] Zhang HP, Zou J, Yin Y, et al. High-resolution melting PCR analysis for genotyping Lys 109 arg and Gln 223 arg in patients with renal cell carcinoma [J]. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 2016, 46(4): 367-373.
- [13] Rose SD, Owczarzy R, Dobosy JR, et al. Oligonucleotide primers and probes: use of chemical modifications to increase or decrease the specificity of qPCR: real-time PCR: advanced technologies and applications [M]. Caister Academic Press; 2013.
- [14] Brehm K, Krumnau O, Heilmann C, et al. Genetic variations of phenprocoumon metabolism in patients with ventricular assist devices [J]. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 2016, 50(2): 275-280.
- [15] Cho HJ, On YK, Bang OY, et al. Development and comparison of warfarin dosing algorithms in stroke patients [J]. *Yonsei Medical Journal*, 2016, 57(3): 635-640.
- [16] Zhang JE, Klein K, Jorgensen AL, et al. Effect of genetic variability in the CYP4F2, CYP4F11, and CYP4F12 genes on liver mRNA levels and warfarin response [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017(8): 323.
- [17] Zhuang WF, Wen W, Xuan BB, et al. Effect of CYP2C9, CYP4F2 and VKORC1 genetic polymorphisms on pharmacokinetics and pharmacodynamics of mean daily maintenance dose of warfarin in Chinese patients [J]. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2015, 26(2): 167-174.
- [18] Chen JX, Shao LL, Gong L, et al. A pharmacogenetics-based warfarin maintenance dosing algorithm from Northern Chinese patients [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105250.

收稿日期: 2017-09-19

修回日期: 2017-10-05