

## 人类 AGTR1、ACE、ADRB1、CYP2D6、CYP2C9 基因检测试剂盒（PCR-荧光探针法）说明书

### 【产品名称】

人类 AGTR1、ACE、ADRB1、CYP2D6、CYP2C9 基因检测试剂盒（PCR-荧光探针法）

### 【包装规格】

20 人份/盒

### 【预期用途】

本试剂盒用于体外定性检测人类静脉全血 DNA 中 AGTR1 基因 1166A>C 位点、ACE 基因 I/D 型别、ADRB1 基因 1165G>C 位点、CYP2D6\*10 位点、CYP2C9\*3 位点的多态性（见表 1）。

本试剂盒仅用于临床辅助诊断，检测结果可辅助指导高血压药物的个体化用药。具体临床应用时，临床医生需结合病例的实际情况进行判断，不能以本试剂盒检测结果作为临床诊断的唯一依据。

国家卫生计生委合理用药专家委员会和中国医师协会高血压专业委员会发布的《高血压合理用药指南（第 2 版）》（以下简称《指南》）、国家卫计委发布的《药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南（试行）》明确提出高血压用药时应该考虑药物基因组学因素。《指南》指出“CYP2C9 基因的某些位点多态性会影响氯沙坦活性产物 EXP-3174 的生成，进而影响降压效果。携带 CYP2C9\*3 等位基因的个体服用氯沙坦后，EXP-3174 的生成减少，氯沙坦的代谢率降低。

CYP2C9\*1/\*3 基因型个体中氯沙坦的降压作用下降，需适当增加用药剂量以增强降压疗效”；《指南》指出“ACE I/D 多态性可影响血浆 ACE 的水平，DD 基因型个体血浆 ACE 的活性升高，依那普利治疗后 ACE 活性下降更明显；初治的高血压患者中，DD 型患者福辛普利的降压疗效增强；在高血压合并左心室肥大和舒张期充盈障碍的患者中，DD 基因型患者服用依那普利和赖诺普利后心功能改善程度优于 ID 和 II 基因型患者；II 基因型患者应用赖诺普利或卡托普利时肾功能下降更明显”；《指南》提到“ADRB1 的 rs1801253 多态性导致位点 2 种类型的受体（Arg389 和 Gly389），Arg389 纯合子高血压患者应用美托洛尔后，血压下降程度是 Gly389Arg 杂合子基因型个体的 3 倍；Arg389 纯合子基因型心力衰竭患者应用卡维地洛和美托洛尔治疗后左室射血分数改善情况更佳。建议临床医师在应用β1 受体阻滞药前进行 ADRB1 多态性检测，并根据其基因型调整用药剂量，以提高疗效”。FDA 批准的琥珀酸美托洛尔药物说明书中提示美托洛尔主要由 CYP2D6 代谢。《β 受体阻滞剂在高血压应用中的专家指导建议》中提到，“CYP2D6 基因的多态性是决定美托洛尔药代动力学参数的关键因素，临床应用应当个体化”。中国人群中 CYP2D6 常见的导致酶活性降低的等位基因是 CYP2D6\*10，该等位基因导致中间代谢(IM)表型，美托洛尔药物代谢效率降低。

血管紧张素II是肾素-血管紧张素系统的重要因子，其 90%以上的效应通过血管紧张素II的 1 型受体（AGTR1）介导。AGTR1 的 1166A>C 基因多态性可影响氯沙坦等药物的治疗效果，C/C 基因型个体更加敏感，降压效果更好。

表 1：本试剂盒检测基因多态性类型

| 基因     | SNP 序列号   | 基因多态性   | 碱基 | 检测通道 | 杂合突变型频率       | 纯合突变型频率       |
|--------|-----------|---------|----|------|---------------|---------------|
| AGTR1  | rs5186    | 1166A>C | A  | FAM  | 7.24%～9.08%   | 0.14%～0.82%   |
|        |           |         | C  | VIC  |               |               |
| ACE    | rs4646994 | I/D     | I  | FAM  | 38.2%～44.01%  | 6.61%～10.41%  |
|        |           |         | D  | VIC  |               |               |
| ADRB1  | rs1801253 | 1165G>C | G  | FAM  | 32.52%～36.28% | 58.05%～63.31% |
|        |           |         | C  | VIC  |               |               |
| CYP2D6 | rs1065852 | *10     | C  | FAM  | 46.68%～       | 36.23%～       |

|        |           |    |   |     |             |             |
|--------|-----------|----|---|-----|-------------|-------------|
|        |           |    | T | VIC | 47.92%      | 39.56%      |
| CYP2C9 | rs1057910 | *3 | A | FAM | 2.62%～9.06% | 0.07%～0.23% |
|        |           |    | C | VIC |             |             |

注：各位点杂合突变型和纯合突变型频率根据 NCBI 中国人群碱基突变频率计算。

### 【检验原理】

本试剂盒针对人类 AGTR1、ACE、ADRB1、CYP2D6、CYP2C9 基因的各位点，设计 5 套特异性引物和探针组合，一个反应体系中通过两种不同通道检测一个位点的基因多态性，其中 FAM 通道检测野生型信号，VIC/HEX 通道检测突变型信号。在反应体系中含有不同基因型模板的情况下，PCR 反应得以进行并释放不同的荧光信号。利用仪器对 PCR 过程中相应通道的信号强度进行实时监测和输出，实现检测结果的定性分析。根据扩增曲线及 Ct 值结果，进行结果判读。检测样本时应同时检测阳性对照和空白对照，对试剂盒的性能、仪器性能、实验环境及操作进行监测，确保样本检测结果准确可靠。同时反应液中含有内标体系，以 ROX 通道检测内标信号，可以对样本质量进行监测。

本试剂盒反应体系中添加了 UNG 酶，用于防止 PCR 产物污染。体系中以 dUTP 代替 dTTP，得到含有 dUTP 的扩增产物（U-DNA）。UNG 酶可以特异性降解 U-DNA。在 PCR 开始前增加保温步骤，UNG 酶即可将反应体系中已有的 U-DNA 污染物中的尿嘧啶碱基降解，在随后变性条件下 DNA 链断裂，从而消除 U-DNA 污染，保证扩增结果的特异性和准确性。同时变性条件下 UNG 酶被灭活，不会再降解新扩增的 U-DNA，不会影响反应液的扩增性能。

### 【主要组成成分】

试剂盒采用 PCR 反应预混液设计，主要由 AGTR1（1166A>C）反应液、ACE（I/D）反应液、ADRB1（1165G>C）反应液、CYP2D6\*10 反应液、CYP2C9\*3 反应液、YZYMT-025 阳性对照和 YZYMT-025 空白对照组成。本试剂盒未包括血液基因组 DNA 提取试剂盒（需配套：武汉友芝友医疗科技股份有限公司，货号 YZYMT-028，鄂汉械备 20180027 号）、8 联 PCR 管或 96 孔 PCR 板等实验所需试剂及耗材，进行检测前用户需自备。

试剂盒 PCR 反应液中包含 PCR 缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物、探针、Taq 酶、UNG 酶，具体组成见表 2。不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

表 2：试剂盒组成

| 管号 | 标签名称              | 主要组成成分                                                                                                                                | 装量规格<br>(20 人份/盒) |
|----|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 1  | AGTR1（1166A>C）反应液 | PCR 缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq 酶、UNG 酶                                                                                            | 1 管（480μL）        |
| 2  | ACE（I/D）反应液       | PCR 缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq 酶、UNG 酶                                                                                            | 1 管（480μL）        |
| 3  | ADRB1（1165G>C）反应液 | PCR 缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq 酶、UNG 酶                                                                                            | 1 管（480μL）        |
| 4  | CYP2D6*10 反应液     | PCR 缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq 酶、UNG 酶                                                                                            | 1 管（480μL）        |
| 5  | CYP2C9*3 反应液      | PCR 缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq 酶、UNG 酶                                                                                            | 1 管（480μL）        |
| 6  | YZYMT-025 阳性对照    | 浓度为 2500copies/μL 的 AGTR1 1166 A、AGTR1 1166 C、ACE I、ACE D、ADRB1 1165 G、ADRB1 1165C、CYP2D6 *10C、CYP2D6 *10T、CYP2C9*3A、CYP2C9*3C 的质粒混合液 | 1 管（200μL）        |
| 7  | YZYMT-025 空白对照    | Tris-HCl 缓冲液(10mM)                                                                                                                    | 1 管（200μL）        |

### 【储存条件及有效期】

- 试剂盒在-20±5℃避光保存，有效期为 9 个月。
- 试剂盒在室温条件下应于 4 小时内尽快使用，开瓶后在-20±5℃保存条件下应于 2 周内使用完毕。
- 试剂盒在使用时应尽量减少试剂冻融次数，且冻融次数不多于 6 次。
- 生产日期及有效期至：见标签。

### 【适用仪器】

- 本试剂盒适用于 ABI 7500、Roche LightCycler® 480 实时荧光定量 PCR 仪。
- 本试剂盒要求仪器使用 FAM、VIC/HEX 通道采集 AGTR1、ACE、ADRB1、CYP2D6、CYP2C9 基因不同位点多态性的扩增荧光信号，使用 ROX 通道采集内标基因扩增荧光信号。

### 3. 相关参数设置：

- 荧光通道设置：FAM 通道：报告基团 FAM，淬灭基团 NFQ-MGB；VIC/HEX 通道：报告基团 VIC/HEX，淬灭基团 NFQ-MGB；ROX 通道：报告基团 ROX，淬灭基团 TAMRA；参比染料：无。
- 基线设置：在 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪上进行结果分析时，基线一般设置为 3~15，即基线的起始点设置为第 3 个循环，终点设置为第 15 个循环，基线的设置范围可以根据具体扩增情况进行微调。在 Roche LightCycler®480 荧光定量 PCR 仪上使用软件默认自动基线即可，不用手动调整基线。
- 阈值设定：所有机型均是根据样本扩增指数增长的拐点进行阈值划定，阈值的划定范围可以根据具体扩增情况进行微调。

### 【样本要求】

#### 1. 血液样本

- 样本的采集：按照医院常规采集人类 EDTA 抗凝、枸橼酸钠抗凝静脉全血的方法进行样本的采集。
- 样本保存及运输：抗凝全血样本 2~8℃保存不超过 30 天，-20±5℃保存不超过 2 年，冻融次数不超过 6 次。全血的运输必须遵守国家和当地有关规定。

#### 2. DNA 提取液

- DNA 提取及质量要求：根据血液基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行 DNA 提取。提取 DNA 的 A260/A280 在 1.6～2.1 之间。
- DNA 保存及运输：DNA 样本-20±5℃保存不多于 3 年，冻融次数不超过 6 次。DNA 样本使用冷链（-20±5℃）运输，运输时间不超过 5 天。
- 本试剂盒能检测浓度为 0.5~50ng/μL 的 DNA 样本。

### 【检验方法】

#### 1. 试剂准备：（试剂准备区）

- 从冰箱中取出试剂盒，平衡至室温，各组充分融解，快速离心 10 秒。
- 核算当次实验所需要的反应数（n），按照 23μL/孔分装量将每种反应液分别分别装到 n 个反应管内。PCR 反应管转移至样本准备区，剩余试剂放回-20±5℃冰箱冷冻避光保存。  
n=样本数+YZYMT-025 空白对照（1T）+ YZYMT-025 阳性对照（1T）

#### 2. 样本准备：（样本准备区）

##### 1) 样本 DNA 提取：

参考所购买的商用基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行操作。推荐使用血液基因组 DNA 提取试剂盒（武汉友芝友医疗科技股份有限公司，货号 YZYMT-028，鄂汉械备 20180027 号）进行血液样本基因组 DNA 提取。

##### 2) 加样：

- a) 将待测样本的基因组 DNA、YZYMT-025 阳性对照、YZYMT-025 空白对照，分别加入已装有 PCR 反应液的反应管中，加入量为 2μL/孔。
- b) 盖好 PCR 反应管盖，记录样本加样情况。将 PCR 反应管转移到核酸扩增区

进行上机检测。若 PCR 反应管内加入模板后遇临时情况不能立即上机，建议将加好模板的 PCR 反应管放于 2~8℃条件暂时保存，并在 24 小时内尽快上机检测。

##### 3. PCR 扩增：（核酸扩增区）

- 1) 开机，并进行仪器性能自检。
- 2) 取样本准备区准备好的 PCR 反应管，放置在仪器样品槽相应位置。并记录放置顺序。
- 3) 按表 3 设置仪器扩增相关参数，并进行 PCR 扩增。反应结束后，根据扩增曲线，划定合适基线（一般起始设定为 3，终止设定为 15）和荧光阈值（一般将阈值划定在扩增曲线对数形式下指数增长长期的中间），得到不同通道 Ct 值并按照表 4 进行结果判定。

表 3：仪器扩增相关参数

| 体系       | 总体积为 25μL         |                                  |     |
|----------|-------------------|----------------------------------|-----|
| 信号采集     | AGTR1（1166A>C）反应液 | 1166A—FAM 通道采集荧光信号               |     |
|          |                   | 1166C—VIC 通道采集荧光信号               |     |
|          | ACE（I/D）反应液       | ACE I—FAM 通道采集荧光信号               |     |
|          |                   | ACE D—VIC 通道采集荧光信号               |     |
|          | ADRB1（1165G>C）反应液 | 1165G—FAM 通道采集荧光信号               |     |
|          |                   | 1165C—VIC 通道采集荧光信号               |     |
|          | CYP2D6*10 反应液     | *10C—FAM 通道采集荧光信号                |     |
|          |                   | *10T—VIC 通道采集荧光信号                |     |
| PCR 反应条件 | CYP2C9*3 反应液      | *3A—FAM 通道采集荧光信号                 |     |
|          |                   | *3C—VIC 通道采集荧光信号                 |     |
|          | 内标系统              | 内标基因—ROX 通道采集荧光信号                |     |
|          | 阶段                | 条件                               | 循环数 |
|          | UNG 处理            | 37℃：10 分钟（min）                   | 1   |
|          | 预变性               | 95℃：5 分钟（min）                    | 1   |
| PCR      | PCR               | 95℃：15 秒（s）                      | 40  |
|          |                   | 60℃：60 秒（s）<br>（设置在此阶段结束时采集荧光信号） |     |

### 【检验结果的解释】

#### 1. 试剂盒有效性判定：

- 1) YZYMT-025 阳性对照：FAM、VIC、ROX 通道 Ct 值≤32，扩增曲线有明显指数增长期。
- 2) YZYMT-025 空白对照：FAM、VIC、ROX 通道无扩增曲线，或者扩增曲线为直线或轻微斜线，无明显指数增长期，无 Ct 值或 Ct 值≥38。

#### 2. 样本有效性的判定：

- 1) 内标基因：样本检测中 ROX 通道 Ct 值<38，扩增曲线有明显指数增长期。
3. 检测结果的判定：  
按照下表 4 对样本检测结果进行判定，确定样本基因多态性。

表 4：结果判定

| 反应液               | 基因多态性 | FAM 通道          | VIC 通道          |
|-------------------|-------|-----------------|-----------------|
| AGTR1（1166A>C）反应液 | A/A   | Ct 值≤36         | Ct 值>36 或无 Ct 值 |
|                   | A/C   | Ct 值≤36         | Ct 值≤36         |
|                   | C/C   | Ct 值>36 或无 Ct 值 | Ct 值≤36         |
| ACE（I/D）反应液       | I/I   | Ct 值≤36         | Ct 值>36 或无 Ct 值 |
|                   | I/D   | Ct 值≤36         | Ct 值≤36         |
|                   | D/D   | Ct 值>36 或无 Ct 值 | Ct 值≤36         |
| ADRB1（1165G>C）反应液 | G/G   | Ct 值≤36         | Ct 值>36 或无 Ct 值 |
|                   | G/C   | Ct 值≤36         | Ct 值≤36         |
|                   | C/C   | Ct 值>36 或无 Ct 值 | Ct 值≤36         |

|                  |     |                 |                 |
|------------------|-----|-----------------|-----------------|
| CYP2D6*10<br>反应液 | C/C | Ct 值≤36         | Ct 值>36 或无 Ct 值 |
|                  | C/T | Ct 值≤36         | Ct 值≤36         |
|                  | T/T | Ct 值>36 或无 Ct 值 | Ct 值≤36         |
| CYP2C9*3<br>反应液  | A/A | Ct 值≤36         | Ct 值>36 或无 Ct 值 |
|                  | A/C | Ct 值≤36         | Ct 值≤36         |
|                  | C/C | Ct 值>36 或无 Ct 值 | Ct 值≤36         |

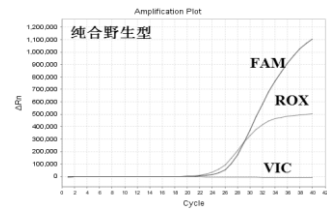


图 1 纯合野生型样本检测示意图

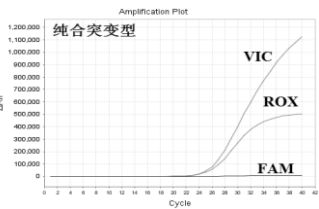


图 2 纯合突变型样本检测示意图

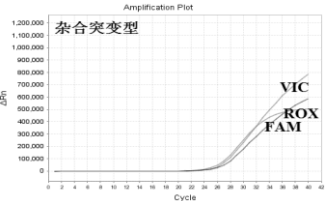


图 3 杂合突变型样本检测示意图

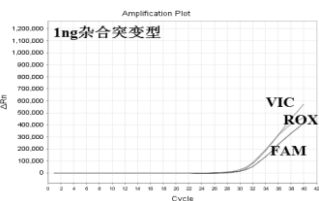


图 4 1ng 杂合突变型样本检测示意图

注：如样本 CYP2D6 基因检测结果为 ROX 通道有信号，FAM 和 VIC 通道均无信号，且重复检测后，结果不变，则怀疑样本检测区域 CYP2D6 基因发生缺失。

#### 【检验方法的局限性】

- 样本检测结果与样本的收集、处理和保存过程有关，其中任何失误都将导致检测结果的不准确。如果样本处理时未控制好 DNA 的质量，可能出现假阴性的结果。
- 本试剂盒检测结果仅为临床医生用药提供参考，不得作为临床诊治的唯一依据。对患者应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。
- 本试剂盒限于从枸橼酸钠、EDTA 抗凝全血中提取的人类基因组 DNA 的检测；检测系统适用于 ABI7500、Roche LightCycler® 480 实时荧光定量 PCR 仪；推荐使用血液基因组 DNA 提取试剂盒（武汉友芝友医疗科技股份有限公司，货号 YZYMT-028，鄂汉械备 20180027 号）进行血液样本基因组 DNA 提取；样本检测应严格按照说明书要求操作。
- 当检测结果为野生型时，不排除被检测者携带本试剂盒检测范围外的其他基因位点突变类型。

#### 【产品性能指标】

- 试剂盒包装完整，无内容物溢出；标签外观完整，无脱落，标签标识内容清晰；试剂盒内组成正确，无重复、缺失组分的情况。
- 使用试剂盒反应液检测相应基因突变型参考品，应检测出对应突变。
- 使用试剂盒反应液检测相应基因野生型参考品，应不得检出突变。
- 使用试剂盒重复检测各反应液相应基因型 1ng（0.5ng/μL，上样体积 2μL）检测限参考品，检出率为 100%。
- 使用试剂盒重复检测对应基因型参考品 10 次，应检出对应基因型，且检测结果 Ct 值变异系数 CV≤5%。
- 特异性：本试剂盒的同源基因 CYP2D7、CYP2C19 的序列不会干扰试剂盒检测结果；检测 AGTR1 基因范围外 SNP 位点 rs5185、ACE 基因范围外 SNP 位点 rs4341、ADRB1 基因范围外 SNP 位点 rs138212934、CYP2D6 基因范围外 SNP 位点 rs769258、CYP2C9 基因范围外 SNP 位点 rs17847029，均不影响本试剂盒检测结果。
- 干扰物质验证：血液中甘油三酯总含量＜6 mmol/L、总胆固醇含量＜9.2

mmol/L、血红蛋白含量＜5μmol/L、胆红素含量＜170μmol/L 时不会干扰试剂盒检测结果；常用治疗药物中氯沙坦药物血药浓度＜80ng/mL、卡托普利药物血药浓度＜50μg/mL、美托洛尔药物血药浓度＜250 ng/mL、硝苯地平药物血药浓度＜50 ng/mL、氢氯噻嗪药物血药浓度＜200 ng/mL 时不会干扰试剂盒检测结果。

- 本试剂盒可以耐受 50ng/μL 的人类基因组 DNA 样本，可以检测低至 0.5ng/μL 的人类基因组 DNA 样本。
- 本试剂盒适用于 EDTA 和枸橼酸钠抗凝全血样本，不适用于肝素抗凝全血样本。
- 临床评价：本产品与 Sanger 测序法进行比较，在 3 个临床中心总计入组 1065 例有效样本，AGTR1 基因 A/A 符合率 100%、A/C 符合率 100%、C/C 符合率 100%；ACE 基因 I/I 符合率 100%、I/D 符合率 100%、D/D 符合率 100%；ADRB1 基因 G/G 符合率 100%、G/C 符合率 99.77%、C/C 符合率 100%，ADRB1 基因总符合率为 99.91%；CYP2D6\*10 基因 C/C 符合率 99.64%、C/T 符合率 100%、T/T 符合率 100%，CYP2D6\*10 基因总符合率为 99.91%；CYP2C9\*3 基因 A/A 符合率 100%、A/C 符合率 100%、C/C 符合率 100%。与已上市同类产品进行比对研究，本产品与对比试剂的总符合率为 100%。

#### 【注意事项】

- 本试剂盒仅供体外诊断使用。
- 不同批号试剂不能混用。
- 本试剂盒内阳性对照不具有传染性，但在使用时建议将其视为具有潜在传染性物质进行处理。
- 本试剂盒内用剩的试剂及实验过程中的废弃物建议按照医疗废弃物进行处理。
- 临床实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增实验室管理办法》（卫办医政发〔2010〕194 号或现行有效版本）等有关分子生物学实验室、临床基因扩增实验室的管理规范执行。

#### 【参考文献】

- 国家卫生计生委合理用药专家委员会，中国医师协会高血压专业委员会．高血压合理用药指南（第 2 版）．《中国医学前沿杂志（电子版）》2017 年第 9 卷第 7 期．
- 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）．国卫医医护便函〔2015〕240 号．
- 国家卫生计生委．医疗机构临床检验项目目录（2013 年版）．国卫医发〔2013〕9 号．
- Miller J A, Thai K, Scholey J W. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism predicts response to losartan and angiotensin II[J]. Kidney international, 1999, 56(6): 2173-2180.
- Sun Y, Liao Y, Yuan Y, et al. Influence of autoantibodies against AT1 receptor and AGTR1 polymorphisms on candesartan-based antihypertensive regimen: results from the study of optimal treatment in hypertensive patients with anti-AT1-receptor autoantibodies trial[J]. Journal of the American Society of Hypertension, 2014, 8(1): 21-27.
- 李锡明，高春江．血管紧张素转换酶抑制剂治疗高血压病人的疗效与血管紧张素转换酶基因多态性的关系[J]．高血压杂志，2001，9(4): 298-299.
- 陈文，朱旭明．血管紧张素转化酶插入/缺失基因多态性与抗高血压药疗效关系的 meta 分析[J]．现代检验医学杂志，2017，32(2): 67-71.
- 徐承华，杨玉雯，曹衡．β1 肾上腺素受体与 CYP2D6 基因多态性对美托洛尔抗高血压治疗的影响[J]．中国临床药理学与治疗学，2011，16(12): 1414.

- 李艳翠，方芳，方舟，等．CYP2D6\*10/ADRB1 基因导向治疗对美托洛尔药动学药效学的影响[J]．黑龙江医药科学，2019，42(5): 5-8.
- FDA 美托洛尔药品说明书（参考 ID: 3501404）．
- 冯颖青，李勇，张宇清，等．β 受体阻滞剂在高血压应用中的专家指导建议[J]．中华高血压杂志，2013，21(08): 719-727.

#### 【基本信息】

注册人/生产企业名称：武汉友芝友医疗科技股份有限公司

住 所：武汉市东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 1.2 期 23 栋 1 单元 4、5 层

联系方式：027-65330996

售后服务单位：武汉友芝友医疗科技股份有限公司

联系方式：027-65330996

生产地址：武汉市东湖新技术开发区高新大道 858 号生物医药园加速器一期 A4 栋西侧 1 楼

生产许可证编号：鄂食药监械生产许 20120580 号

#### 【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注准 20223400374

#### 【说明书核准日期及修改日期】

2022 年 03 月 17 日