

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 19. 024

广东佛山地区冠心病患者 CYP2C19 基因多态性分析

袁晓文, 赵学峰, 邱 铨, 罗子源

(广东省佛山市南海区人民医院检验科 528200)

摘 要:**目的** 探讨广东佛山地区冠心病患者 CYP2C19 基因的多态性分布特征。**方法** 采用 DNA 微阵列芯片法对 1 083 例冠心病患者进行 CYP2C19 基因分型,比较不同地区人群之间 CYP2C19 基因多态性分布的差异。**结果** 在 1 083 份检测标本中,CYP2C19 * 1、* 2 及 * 3 等位基因的频率分别为 63.57%、31.12%、5.31%;CYP2C19 分 3 种代谢型,快代谢型(* 1/* 1)占 40.90%,中间代谢型(* 1/* 2、* 1/* 3)占 45.34%,慢代谢型(* 2/* 2、* 2/* 3、* 3/* 3)占 13.76%。佛山地区代谢型分布与广州和东莞地区相似,而与汕头地区却差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 佛山地区冠心病患者中有较多的 CYP2C19 代谢功能缺失基因,临床用药前应加强患者基因检测,调整用药剂量或种类,实现精准治疗。

关键词:CYP2C19; 冠心病; 基因多态性

中图法分类号:R541.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)19-2926-04

Polymorphism analysis of CYP2C19 gene among patients with coronary heart disease in Foshan area of Guangdong Province

YUAN Xiaowen, ZHAO Xuefeng, QIU Quan, LUO Ziyuan

(Department of Clinical Laboratory, Nanhai District People's Hospital, Foshan, Guangdong 528200, China)

Abstract: Objective To investigate the polymorphisms distribution characteristics of CYP2C19 gene among the patients with coronary heart disease (CHD) in Foshan area of Guangdong Province. **Methods** The CYP2C19 genotyping was performed by adopting the DNA microarray in 10 83 patients with CHD. Then the distribution differences of CYP2C19 gene polymorphisms were compared among different areas of population. **Results** Among 1 083 detected samples, the allele frequencies of CYP2C19 * 1, CYP2C19 * 2 and CYP2C19 * 3 were 63.57%, 31.12% and 5.31% respectively; CYP2C19 included three metabolic types, rapid metabolism type (* 1/* 1) accounted for 40.90%, intermediate metabolism type (* 1/* 2, * 1/* 3) accounted for 45.34%, and slow metabolism type (* 2/* 2, * 2/* 3, * 3/* 3) accounted for 13.76%. The distribution of metabolic types in Foshan area was similar to that of Guangzhou area and Dongguan area, but compared with Shantou area, the difference had statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** The CHD patients in Foshan area have many CYP2C19 metabolism functional deletion genes. The gene detection should be strengthened before patient's clinical medication for adjusting the medication dosage or categories to realize the precise treatment.

Key words: CYP2C19; coronary artery diseases; gene polymorphism

冠心病是一种由冠状动脉血管发生粥样硬化而造成血管腔狭窄或阻塞,引起心肌损伤的常见心脏病。随着社会的发展,人们生活水平的提高,冠心病的发病率居高不下,实行预防措施可以有效降低病死率。氯吡格雷联合阿司匹林,能够有效地预防不良心血管事件的发生。但是,仍然有不少患者在给予常规剂量治疗后发生冠状动脉缺血事件,这种现象称作氯吡格雷抵抗(CR)^[1]。CYP2C19 是主要的细胞色素

P450 药物代谢酶之一,和氯吡格雷的代谢密切相关。目前研究表明,CYP2C19 基因存在多态性,同时这种多态性分布存在明显的地区和种族间的差异^[2]。CYP2C19 基因的野生型是 CYP2C19 * 1/* 1,其产物具有完全的催化活性;在中国汉族人群中,主要突变的等位基因是 CYP2C19 * 2 和 CYP2C19 * 3,导致酶失去催化活性。根据药物代谢速率快慢和基因型分型,可将其分为 3 种类型。正常野生型表型为快代谢

型;突变杂合子表现为中间代谢型;突变纯合子表现为慢代谢型。由于不同代谢表型的个体间存在代谢速度的差异,血药浓度也呈个体化差异。通过对患者进行 CYP2C19 基因分型,判定患者药物代谢速度,合理调节药物的剂量,可以提高氯吡格雷的使用有效性,减少不良反应。目前,对广东佛山地区汉族人群 CYP2C19 基因多态性研究鲜有报道,因此,本研究选择佛山地区汉族冠心病患者为研究对象,探讨该地区冠心病患者 CYP2C19 基因的多态性分布特征,并比较其与广东其他地区人群之间分布的差异,为本地区汉族人群冠心病患者及需要使用 CYP2C19 基因代谢药物患者的临床个体化用药提供理论依据,减少不良心血管事件和药物反应的发生。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入的研究对象为 2016 年 1 月至 2017 年 9 月本院冠心病患者 1 083 例,其中男 775 例,女 308 例。所有入选对象均来自广东佛山地区常住居民,相互之间无亲缘关系,无家族遗传病史,愿意参加本研究。排除标准:合并恶性肿瘤,严重心功能不全,急慢性肝、肾病变,短期内有外伤或外科手术及拒绝参加的患者。本研究经本院医学伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 基因组提取试剂盒,CYP2C19 基因检测试剂盒,全自动杂交仪和生物芯片识读仪(上海百微科技有限公司),Veriti 聚合酶链反应(PCR)仪(美国 ABI 公司),干式恒温器(杭州奥盛公司),高速离心机(珠海黑马医学仪器有限公司),涡旋振荡器(江苏海门其林贝尔仪器厂)。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取 所有患者均于清晨空腹采集前臂静脉全血 2 mL,置于 EDTA 抗凝管内,根据血液基

因组 DNA 提取试剂盒说明书操作提取基因组 DNA。DNA 标本-20 ℃ 保存,冻融不超过 3 次,1 周内提取 DNA。

1.3.2 PCR 扩增 扩增反应体系为 25 L,包括:CYP2C19 扩增液 19 L、反应液 A 1 L、DNA 模板 5 L。扩增条件为 50 ℃ 5 min;94 ℃ 5 min;94 ℃ 25 s,48 ℃ 40 s,72℃ 30 s,35 个循环;72 ℃ 5 min 终止反应。将扩增产物 1 和扩增产物 2 置于 2~8 ℃ 保存。

1.3.3 杂交显色 杂交:按照产品说明书,依次加入预杂交液、杂交反应液、洗脱液、抗体液、显色液。结果判读:将玻璃芯片板和杂交产物放入芯片识读仪。利用 ArrayDoctor 软件自动扫描、分析杂交结果。根据说明书判断 CYP2C19 基因型所对应的代谢表型。基因型与代谢型的对应关系:* 1/ * 1(636GG、681GG)为快代谢型;* 1/ * 2(636GG、681GA)、* 1/ * 3(636GA、681GG)为中代谢型;* 2/ * 2(636GG、681AA)、* 2/ * 3(636GA、681GA)、* 3/ * 3(636AA、681GG)为慢代谢型。

1.3.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计数资料以率或例数表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 佛山地区汉族人群 CYP2C19 基因型及代谢型分布 在 1 083 份检测标本中,CYP2C19 基因型分布由多到少分别为 * 1/ * 1、* 1/ * 2、* 2/ * 2、* 1/ * 3、* 2/ * 3、* 3/ * 3,分别占患者总数的 40.90%、39.8%、9.05%、5.54%、4.34%、0.37%。检测出 CYP2C19 的 3 种代谢型,快代谢型(* 1/ * 1)占 40.90%,中间代谢型(* 1/ * 2、* 1/ * 3)占 45.34%,慢代谢型(* 2/ * 2、* 2/ * 3、* 3/ * 3)占 13.76%。CYP2C19 * 1、* 2 及 * 3 等位基因的频率分别为 63.57%、31.12%、5.31%。

表 1 不同性别的患者 CYP2C19 基因型及代谢型分布[n(%)]

性别	n	基因型						代谢型		
		* 1/ * 1	* 1/ * 2	* 1/ * 3	* 2/ * 2	* 2/ * 3	* 3/ * 3	快代谢型	中间代谢型	慢代谢型
男	775	303(39.10)	317(40.90)	49(6.32)	67(8.65)	35(4.52)	4(0.51)	303(39.10)	366(47.23)	106(13.68)
女	308	140(45.45)	114(37.01)	11(3.57)	31(10.06)	12(3.90)	0(0.00)	140(45.45)	125(40.58)	43(13.96)
合计	1 083	443(40.90)	431(39.80)	60(5.54)	98(9.05)	47(4.34)	4(0.37)	443(40.90)	491(45.34)	149(13.76)

表 2 不同年龄段患者 CYP2C19 基因型及代谢型分布[n(%)]

年龄段 (岁)	n	基因型						代谢型		
		* 1/ * 1	* 1/ * 2	* 1/ * 3	* 2/ * 2	* 2/ * 3	* 3/ * 3	快代谢型	中间代谢型	慢代谢型
≤40	28	10(35.71)	12(42.86)	1(3.57)	4(14.29)	1(3.57)	0(0.00)	10(35.71)	13(46.43)	5(17.86)
>40~50	106	32(30.19)	48(45.28)	7(6.60)	13(12.26)	3(2.83)	3(2.83)	32(30.19)	55(51.89)	19(17.93)
>50~60	209	86(41.15)	75(35.89)	15(7.18)	25(11.96)	8(3.83)	0(0.00)	86(41.15)	90(43.06)	33(15.79)

续表 2 不同年龄段患者 CYP2C19 基因型及代谢型分布[n(%)]

年龄段 (岁)	n	基因型						代谢型		
		* 1/ * 1	* 1/ * 2	* 1/ * 3	* 2/ * 2	* 2/ * 3	* 3/ * 3	快代谢型	中间代谢型	慢代谢型
>60~70	351	153(43.59)	140(39.89)	16(4.56)	23(6.55)	19(5.41)	0(0.00)	153(43.59)	156(44.44)	42(11.97)
>70	389	162(41.65)	156(40.10)	21(5.40)	33(8.48)	16(4.11)	1(0.26)	162(41.65)	177(45.50)	50(12.85)
合计	1 083	443(40.90)	431(39.80)	60(5.54)	98(9.05)	47(4.34)	4(0.37)	443(40.90)	491(45.34)	149(13.76)

2.2 不同性别冠心病患者 CYP2C19 基因型与代谢型频率分布特点 本研究将患者分为男、女两个组,结果显示,男、女患者 CYP2C19 基因型分布差异无统计学意义($\chi^2=8.303, P=0.140$),代谢型分布差异无统计学意义($\chi^2=4.335, P=0.114$)。见表 1。

2.3 不同年龄段患者 CYP2C19 基因型与代谢型分布特点 本研究将 1 083 例患者分为 5 个年龄段,分别是≤40 岁、>40~50 岁、>50~60 岁、>60~70 岁、>70 岁。结果显示,不同年龄段患者 CYP2C19 基因型分布差异有统计学意义($\chi^2=35.520, P=0.018$),代谢型分布差异无统计学意义($\chi^2=8.504, P=0.386$)。见表 2。

3 讨 论

氯吡格雷是一种前体药物,需要经过小肠的吸收和肝脏中 CYP2C19 酶的氧化和水解后才能转化为有活性的代谢产物,产生抗血小板聚集的作用^[3]。CYP2C19 基因具有很多 SNP 位点,CYP2C19 * 2 和 CYP2C19 * 3 等位基因是亚洲人群中最主要的功能缺失型。CYP2C19 * 2 是外显子 5 的第 681 位点碱基缺失,导致转录蛋白的剪切突变失活,使蛋白合成提前终止,从而丧失了酶催化活性;CYP2C19 * 3 是外显子 4 的第 636 位点碱基突变,构成 1 个终止子破坏转录蛋白的活性,导致蛋白合成被提前终止,使酶失去活性。慢代谢型患者,药物的疗效和不良反应随基因型不同而不同^[4]。所以,美国食品药品监督管理局(FDA)对氯吡格雷发布黑框警告:在氯吡格雷低反应的患者中进行 CYP2C19 基因型测定,判断 CYP2C19 功能,对氯吡格雷代谢不良者,建议增加剂量或更换其他抗凝血药物。

此外,CYP2C19 还参与了抗抑郁、抗真菌、抗癫痫、质子泵抑制剂等药物代谢^[5-7],快代谢型代谢药物快,不容易发生不良反应;慢代谢型代谢药物慢,药物易蓄积,容易发生不良反应。因此,如果是快代谢型的患者,用相关药物时可以适当增大剂量,确保有效需要浓度,而慢代谢型患者,应降低剂量或者更换非 CYP2C19 基因代谢的药物,避免药物的不良反应。目前,对佛山地区汉族人群 CYP2C19 基因多态性研究鲜见报道,因此,本研究选择佛山地区汉族冠心病患者为研究对象,探讨本地区冠心病患者 CYP2C19

基因的多态性分布特征,并分析其与广东其他地区人群之间分布的差异。

CYP2C19 的基因多态性分布存在明显的地区和种族间的差异。中国人群中 CYP2C19 * 2 等位基因频率约为 30%,显著高于白人(约 15%)和美国黑人(约 18%);CYP2C19 * 3 等位基因频率在中国人、白人和美国黑人别为 5.0%、4.0%、0.4%^[8]。本研究 1 083 份标本中,患者 CYP2C19 * 1、* 2 及 * 3 等位基因的频率分别为 63.57%、31.12%、5.31%,与上述报道相似。CYP2C19 快代谢型 443 例占 40.90%;中间代谢型 491 例占 45.34%,慢代谢型 149 例占 13.76%,也就是说佛山地区的患者有将近 60%会存在或轻或重的氯吡格雷抵抗现象。中间代谢型的患者由于氯吡格雷活性代谢产物的血药浓度偏低,而需增加维持剂量来达到治疗效果;慢代谢型患者的氯吡格雷活性代谢产物水平较低,则需要改用或者联合其他血小板拮抗剂。本研究结果显示,CYP2C19 代谢型与性别和年龄没有关系($P>0.05$),与文献^[9-10]报道一致。本文还研究了广东不同地区汉族人群之间 CYP2C19 基因多态性的分布是否存在差异,结果显示,佛山地区代谢型分布与广州(快代谢型、中间代谢型、慢代谢型分别为 36.8%、47.7%、15.5%)^[11]、东莞(快代谢型、中间代谢型、慢代谢型分别为 42.9%、44.5%、12.65%)基本相似^[12],而与汕头地区(快代谢型、中间代谢型、慢代谢型分别为 58.3%、33.3%、8.3%)差异有统计学意义($P<0.05$)^[13]。汕头地区的快代谢型人群比例高于佛山,而中间代谢型和慢代谢型人群比例低于佛山。

本研究是关于广东佛山地区 1 083 例汉族冠心病患者 CYP2C19 基因多态性的研究。本研究得出的结论为临床基于遗传信息的合理用药提供了很好的理论基础。广东佛山地区冠心病患者中有较多的 CYP2C19 代谢功能缺失基因,临床用药前应加强患者基因检测,调整用药剂量或种类,实现精准治疗。

参考文献

[1] BOZZI L M, MITCHELL B D, LEWIS J P, et al. The pharmacogenplatelet response to clopidogrel and aspirin[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2016, 14(1): 116-124. (下转第 2931 页)

损伤或反复感染。(3)中间型 β 地贫的表型变化范围更宽,主要为 β^+ 地贫纯合子或双重杂合子。其临床表现为中度贫血,血红蛋白水平维持在 $60\sim 100\text{ g/L}$,伴随不同程度的脾肿大;大部分中间型 β 地贫患者需接受输血和驱铁来维持生命^[12]。

迄今为止, β 地贫尚缺乏理想的治疗方法。由于广西地区人群的 β 地贫基因携带率较高,同型 β 地贫携带者婚配的概率也较大,同型 β 地贫婚配夫妇其后代有 $1/4$ 的概率为中间型或重型 β 地贫,重型 β 地贫患儿的出生将会给其家庭和社会造成极大的负担。因此,想要提高人口素质、避免重症 β 地贫患儿的出生不仅需要完善的地贫防控体系,还需要在本辖区内对居民大力普及地贫防控知识。加强地贫筛查,并对筛查阳性者进行地贫基因诊断,对高危人群进行遗传咨询及产前诊断势在必行。

参考文献

[1] 杨阳,张杰.中国南方地区地中海贫血研究进展[J].中国实验血液学杂志,2017,25(1):276-280.

[2] 徐湘民,张新华,陈荔丽.地中海贫血预防控制操作指南[M].北京:人民军医出版社,2011:9-10.

[3] 庞婉容,龙驹,叶学和,等.广西北部湾地区人群地中海贫血基因突变分析[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(1):39-42.

(上接第 2928 页)

[2] YOUSEF A M,BULATOVA N R,NEWMAN W,et al. Allele and genotype frequencies of the polymorphic cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19) in the Jordanian population[J]. Mol Biol Rep, 2012,39(10):9423-9433.

[3] BHATT D L,PARÉ G,EIKELBOOM J W,et al. The relationship between CYP2C19 polymorphisms and ischaemic and bleeding outcomes in stable outpatients: the charisma genetics study[J]. Eur Heart J,2012,33(17):2143-2150.

[4] 李小雯,郑松柏. CYP2C19 基因多态性及其对质子泵抑制剂疗效影响研究进展[J].中国新药与临床杂志,2013,32(10):775-779.

[5] YU B N,CHEN G L,HE N,et al. Pharmacokinetics of citalopram in relation to genetic polymorphism of CYP2C19[J]. Drug Metab Dispos,2003,31(10):1255-1259.

[6] SCHOLZ I,OBERWITTLER H,RIEDEL K D,et al. Pharmacokinetics, metabolism and bioavailability of the triazole antifungal agent voriconazole in relation to CYP2C19 genotype[J]. Br J Clin Pharmacol, 2009, 68(6):906-915.

[7] IANG D,BAI X,ZHANG Q,et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of

[4] 李燕,黄善忠,钟伟明.广西贵港地区 β -地中海贫血基因突变类型与分布频率的探讨[J].国际检验医学杂志,2013,34(3):325-326.

[5] 刘富华,贾艺聪,陈洁晶,等.广西地区 13 589 例地中海贫血筛查结果及基因突变类型分析[J].临床血液学杂志,2015,28(6):966-969.

[6] 余永雄,黄丽,陈唯.梧州地区 β -地中海贫血基因突变类型分析[J].现代预防医学,2013,40(4):740-741.

[7] 蔡望伟.中国南方人群 β -地中海贫血 CD41-42(-CTTT)突变的起源与扩散的群体遗传学研究[D].广州:南方医科大学,2008.

[8] 黄烁丹,邹婕,庄宇嫦,等.广东梅州地区地中海贫血基因突变类型分析[J].新医学,2016,47(4):261-265.

[9] 王林铎,黄海龙,林娜,等.福建地区 β -地中海贫血基因突变谱分析[J].中国妇幼保健,2015,30(13):2040-2043.

[10] 肖晗,向赞,孙红,等.武汉地区儿童 β -地中海贫血基因突变类型分析[J].生物医学工程与临床,2015,19(5):515-518.

[11] 陈碧艳.3 例罕见地中海贫血家系分子诊断和产前诊断[J].海南医学院学报,2013,19(4):452-456.

[12] 黄利华,刘冬霞,李伟明,等.广东清远地区 β -地中海贫血基因型特点[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2017,38(1):41-45.

(收稿日期:2018-01-10 修回日期:2018-05-23)

valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed effect modeling[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2009, 65(12):1187-1193.

[8] ZHOU S F,LIU J P,CHOW B B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact[J]. Drug Metab Rev,2009,41(2):89-295.

[9] 赵连爽,杨紫伟,代娣,等.沈阳地区冠心病患者氯吡格雷药物代谢相关 CYP2C19 基因多态性分布分析[J].检验医学与临床,2017,14(6):754-758.

[10] 邓济廷,唐翌姝,毕小云.重庆地区人群 CYP2C19 基因型表型多态性分析及检测的临床意义[J].重庆医学,2015,44(7):899-901.

[11] 王红,李瑜元,聂玉强,等.广州地区肝酶 CYP2C19 基因型人群调查[J].广东医学,2004,25(10):1204-1206.

[12] 华仙丽,梁爱芬,雷亚利,等.广东东莞地区心血管疾病患者 CYP2C19 基因多态性分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(5):606-608.

[13] CHEN L,QIN S,XIE J,et al. Genetic polymorphism analysis of CYP2C19 in Chinese Han populations from different geographic areas of mainland China[J]. Pharmacogenomics,2008,9(6):691-702.

(收稿日期:2018-02-02 修回日期:2018-04-18)