

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.05.003

赤峰地区蒙古族冠心病患者 CYP2C19 基因多态性分布研究^{*}

陈晓梅¹, 李树敏¹, 韩旭晨¹, 霍昱吉², 李 静², 陈士萍^{1△}

赤峰学院附属医院:1. 检验科;2. 心内科, 内蒙古赤峰 024005

摘要:目的 分析赤峰地区蒙古族冠心病患者 CYP2C19 基因多态性分布状况。方法 选取 2018 年 3—12 月于该院确诊为冠心病并行经皮冠状动脉介入术治疗的患者 558 例为研究对象, 其中蒙古族患者 299 例为研究组, 汉族患者 259 例为对照组。抽取两组患者的外周血 2 mL, 提取基因组 DNA, 采用实时荧光定量 PCR 方法检测 CYP2C19 基因多态性, 比较两组间 CYP2C19 基因型、代谢型分布情况。结果 研究组患者 CYP2C19 * 1/* 1、* 1/* 2、* 2/* 3 型所占比例均高于对照组 ($P < 0.05$); 两组 CYP2C19 * 1/* 3、* 2/* 2、* 3/* 3 型所占比例比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。研究组中间代谢型和慢代谢型基因所占比例低于对照组 ($P < 0.05$), 快代谢型基因所占比例高于对照组 ($P < 0.05$)。结论 赤峰地区蒙古族冠心病患者 CYP2C19 基因存在不同基因型和代谢型, 与汉族冠心病患者间存在差异。掌握 CYP2C19 基因的多态性分布情况对冠心病患者抗凝药物的选择具有重要意义。

关键词:冠心病; CYP2C19 基因; 多态性; 蒙古族

中图法分类号:R541.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)05-0586-04

Distribution of CYP2C19 gene polymorphism in Mongolian coronary heart disease patients in Chifeng area^{*}

CHEN Xiaomei¹, LI Shumin¹, HAN Xuchen¹, HUO Yuji², LI Jing², CHEN Shiping^{1△}

Affiliated Hospital of Chifeng University:1. Department of Clinical Laboratory;

2. Department of Cardiology, Chifeng, Inner Mongolia 024005, China

Abstract: Objective To explore the distribution of CYP2C19 gene polymorphism in Mongolian coronary heart disease (CHD) patients in Chifeng area. **Methods** A total of 558 patients diagnosed as CHD and treated with percutaneous coronary intervention in the hospital from March to December 2018 were selected as the study objects, including 299 Mongolian patients as the research group and 259 Han patients as the control group, 2 mL peripheral blood samples were collected from the two groups, genomic DNA was extracted, and the CYP2C19 gene polymorphism was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. The distribution of CYP2C19 genotypes and metabotypes were compared between the two groups. **Results** The proportion of patients with CYP2C19 * 1/* 1, * 1/* 2, * 2/* 3 types in the research group were higher than those in the control group ($P < 0.05$); There were no significant differences in the proportion of CYP2C19 * 1/* 3, * 2/* 2, * 3/* 3 types ($P > 0.05$). The proportion of intermediate metabolized and slow metabolized genes in the research group were lower than those in the control group ($P < 0.05$), and the proportion of fast metabolized genes was higher than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** There are different genotypes and metabotypes of CYP2C19 gene in Mongolian patients with CHD in Chifeng area, which are different from those in Han patients. It is of great significance to know the distribution of CYP2C19 gene polymorphism for the selection of anticoagulants in patients with CHD.

Key words: coronary heart disease; CYP2C19 gene; polymorphism; Mongolian

冠心病是最常见的心血管疾病,其发病机制为冠状动脉粥样硬化引起血管狭窄、痉挛或阻塞,导致心肌缺血、缺氧、坏死^[1]。经皮冠状动脉介入术(PCI)是冠心病的首选治疗方法,能快速、有效地改善心肌血供^[2]。PCI 治疗后需进行抗凝治疗以预防血

栓形成,氯吡格雷是临床上广泛使用的抗凝药物,但其发挥药物作用需要 P450 酶的辅助。CYP2C19 基因属于细胞色素 P450 酶第二亚家族^[3],其不同的基因表型可对氯吡格雷的代谢产生影响,掌握 CYP2C19 基因多态性的分布情况对冠心病患者抗凝

^{*} 基金项目:内蒙古自治区高等学校科学技术研究项目(NJZY19218)。

作者简介:陈晓梅,女,主管护师,主要从事生物化学与分子生物学方面的研究。△ 通信作者, E-mail:04761sm@163.com。

药物的选择具有重要意义。部分学者认为 CYP2C19 基因的多态性应在药物使用期间进行检测,以避免不良心血管事件的发生^[4-6]。本文通过分析赤峰地区蒙古族冠心病患者 CYP2C19 基因多态性的分布情况,以期为临床个体化用药提供依据,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 3—12 月于本院确诊为冠心病并行 PCI 治疗的患者 558 例为研究对象,其中蒙古族患者 299 例为研究组,汉族患者 259 例为对照组。研究组中男 165 例,女 134 例;年龄 35.3~79.4 岁,中位年龄 54.2 岁;所有蒙古族患者间无血缘关系。对照组中男 146 例,女 113 例;年龄 39.7~68.2 岁,中位年龄 48.3 岁。纳入标准:符合冠心病诊断标准;同意加入本研究并签署知情同意书。排除标准:合并其他严重心脏疾病者,如严重心力衰竭、心律失常等;合并严重呼吸、消化系统疾病或恶性肿瘤者;有精神障碍者。两组患者性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),有可比性。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 血液标本基因组 DNA 提取试剂盒(凯普生物公司);CYP2C19 基因检测试剂盒(武汉海吉力生物科技公司);基因扩增仪 ABI7500 (ABI 公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 DNA 提取 取 200 μ L 抗凝全血标本,加入 20 μ L 蛋白酶 K,加入溶液 L 震荡,56 $^{\circ}$ C 混匀,温浴 15~20 min,期间颠倒混匀;加入 200 μ L 无水乙醇,充分混匀后将液体转入带有硅胶柱的 2 mL 离心管中,10 000 r/min 离心 1 min,倒掉收集管中的废液;将离心柱放入收集管中,在硅胶柱中加入 500 μ L 溶液 W1(使用前检查是否加入无水乙醇),10 000

r/min 离心 1 min;将离心柱再放入收集管中,在硅胶柱中加入 500 μ L 溶液 W2,10 000 r/min 离心 1 min;将离心柱再次放入收集管中,12 000 r/min 离心 3 min,倒掉收集管中的废液;将吸附柱放入新的 1.5 mL 离心管中,开盖静置 1~2 min 后,向吸附柱中加入 100 μ L 的 TE 洗脱液,静置 2~5 min,12 000 r/min 离心 2 min;弃柱得 DNA;将所得 DNA 分装入 1~6 号管,依次加入 6 联 PCR 反应条(* 1G、* 1A、* 2G、* 2A、* 3G、* 3A)。每个单管中的 DNA 最佳上样量为 10 μ L,每次实验均加入阴性及阳性对照。

1.3.2 ABI7500 循环反应条件 95 $^{\circ}$ C 5 min,1 个循环;95 $^{\circ}$ C 0.05 s,58 $^{\circ}$ C 30 s,10 个循环;95 $^{\circ}$ C 0.05 s,58 $^{\circ}$ C 30 s,35 个循环;收集信号 72 $^{\circ}$ C 30 s;选择 FAM 荧光。

1.3.3 DNA 质量检测 将提取好的 DNA 标本用紫外线分光光度计检测 DNA 的水平和质量。DNA 的水平要求 ≥ 10 ng/ μ L,DNA 的质量 $A_{260/280}$ 在 1.8~2.0。将符合要求的 DNA 用 TE 稀释到 0.1~20 ng/ μ L,要求最终加入 6 联 PCR 反应条中每个单管中的 DNA 总量为 1~200 ng,最佳上样量为 20~50 ng。

1.3.4 CYP2C19 基因多态性结果判定 选择 1、2 管根据野生型和突变型 FAM 信号 Ct 值判断标本 CYP2C19 * 1 的基因多态性;选择 3、4 管根据野生型和突变型 FAM 信号 Ct 值判断标本 CYP2C19 * 2 的基因多态性;选择 5、6 管根据野生型和突变型 FAM 信号 Ct 值判断标本 CYP2C19 * 3 的基因多态性,见表 1。Ct 值的确定使用自动设置基线,手动设置阈值线,同时选择阳性对照反应孔,可根据实际情况调节至 FAM 扩增曲线升起的拐点处,得到 Ct 值。阳性对照分析,1~6 号管阳性对照 FAM 信号的 Ct 值一般小于 25,波动范围在 15~25。

表 1 CYP2C19 基因多态性结果判定

管号	检测位点	野生型	突变型	杂合型
①	CYP2C19 * 1G	$\Delta Ct = ② - ① > 2.5$	$\Delta Ct = ① - ② > 2.5$	$\Delta Ct = ① - ② \times 2.5$
②	CYP2C19 * 1A	GG	AA	GA
③	CYP2C19 * 2G	$\Delta Ct = ④ - ③ > 2.5$	$\Delta Ct = ③ - ④ > 2.5$	$\Delta Ct = ③ - ④ \times 2.5$
④	CYP2C19 * 2A	GG	AA	GA
⑤	CYP2C19 * 3G	$\Delta Ct = ⑥ - ⑤ > 2.5$	$\Delta Ct = ⑤ - ⑥ > 2.5$	$\Delta Ct = ⑤ - ⑥ \times 2.5$
⑥	CYP2C19 * 3A	GG	AA	GA

1.4 观察指标 比较两组患者 CYP2C19 基因型分布情况;比较两组患者 CYP2C19 基因代谢型分布情况,其中代谢能力快的基因型为 CYP2C19 * 1/ * 1,代谢能力慢的基因型为 CYP2C19 * 2/ * 2、* 2/ * 3、* 3/ * 3,代谢能力居中的基因型为 CYP2C19 * 1/ * 2、* 1/ * 3。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,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 两组 CYP2C19 基因型分布情况比较 研究组 CYP2C19 * 1/ * 1、* 1/ * 2、* 2/ * 3 型所占比例均

高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组 CYP2C19 * 1/ * 3、* 2/ * 2、* 3/ * 3 型所占比例比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。研究组与对照组中均以 CYP2C19 * 1/ * 2 型所占比例最高。见表 2。

表 2 两组 CYP2C19 基因型分布情况比较[n(%)]							
组别	n	* 1/ * 1	* 1/ * 2	* 1/ * 3	* 2/ * 2	* 2/ * 3	* 3/ * 3
研究组	299	110(36.8)	123(41.1)	25(8.4)	30(10.0)	9(3.0)	2(0.7)
对照组	259	89(34.4)	103(39.8)	29(11.2)	34(13.1)	2(0.8)	2(0.8)
χ^2		9.467	13.573	9.498	10.536	3.347	4.239
P		0.039	0.045	0.635	0.711	0.019	0.057

2.2 两组 CYP2C19 基因代谢型分布情况比较 研究组中间代谢型和慢代谢型基因所占比例低于对照组,快代谢型基因所占比例高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组 CYP2C19 基因代谢型分布情况比较[n(%)]			
组别	n	慢代谢型	快代谢型
研究组	299	41(13.7)	110(36.8)
对照组	259	38(14.7)	89(34.4)
χ^2		119.841	9.467
P		0.049	0.039

3 讨 论

CYP2C19 基因与氯吡格雷、S-甲莫芬、奥美拉唑、伏立康唑、地西洋等药物的代谢相关^[7]。CYP2C19 基因变异可导致个体酶活性的差异,使群体中出现超快代谢者、快代谢者、中间代谢者和慢代谢者 4 种表型,其中超快代谢者携带 CYP2C19 * 1/ * 17 和 CYP2C19 * 17/ * 17 基因,快代谢者携带 CYP2C19 * 1/ * 1 基因,中间代谢者携带 CYP2C19 * 1/ * 2、* 1/ * 3 基因,慢代谢者携带 CYP2C19 * 2/ * 2、* 2/ * 3、* 3/ * 3 基因^[5]。不同基因表型人群对药物的代谢能力不同,引起同一药物在不同人群中的药效差别。其中间代谢者与慢代谢者需适当增加药物的使用剂量才能达到与超快代谢者或快代谢者相同的治疗效果^[6-8]。

本研究中,汉族冠心病患者 CYP2C19 基因型分布情况:CYP2C19 * 1/ * 2 型占比最高,为 39.8%,CYP2C19 * 1/ * 1 型为 34.4%,CYP2C19 * 1/ * 3 型为 11.2%,CYP2C19 * 2/ * 2 型为 13.1%,CYP2C19 * 2/ * 3 型、* 3/ * 3 型所占比例最低,仅为 0.8%。与国内一些学者所研究的黑龙江、重庆等地区汉族人群 CYP2C19 基因分布情况基本相似^[7,9],说明我国不同地区汉族人群存在基因多态性分布相对一致的现象。

CYP2C19 基因多态性具有显著的种族差异。CYP2C19 * 2 基因在非裔美国人和中国人中的发生

率分别为 17.0%、30.0%,CYP2C19 * 3 基因的发生率分别为 0.4%、5.0%;高加索人和中国人中慢代谢型基因的发生率分别为 3.0%、15.0%~17.0%^[10]。本研究对汉族与蒙古族冠心病患者 CYP2C19 的基因型分布进行比较发现,蒙古族患者 CYP2C19 * 1/ * 1、* 1/ * 2、* 2/ * 3 型所占比例均高于汉族患者($P<0.05$)。两民族 CYP2C19 基因代谢型分布情况比较,结果显示,两民族患者均以中间代谢型所占比例最高,其次为快代谢型,慢代谢型所占比例最低;且蒙古族患者快代谢型基因所占比例高于汉族患者($P<0.05$),慢代谢型和中间代谢型基因所占比例低于汉族患者($P<0.05$)。考虑两民族之间 CYP2C19 基因型差异可能与遗传、生活方式等多种因素相关^[10]。此外,临床上对中间代谢型或慢代谢型冠心病患者进行抗凝治疗时,可通过适当增加氯吡格雷的剂量或选用第 3 代血小板抑制剂来达到预期治疗效果^[2]。

虽然 CYP2C19 基因型的检测可以针对性地指导个体用药,但目前基因检测费用较高,临床上并不能对所有需使用氯吡格雷等受 CYP2C19 基因型影响的药物的患者进行基因检测来指导药物的使用剂量,所以探索更为简便、费用低廉的检测方法仍是目前亟待解决的问题。

综上所述,赤峰地区蒙古族冠心病患者 CYP2C19 基因存在不同的基因型和代谢型,且与汉族冠心病患者间存在差异,掌握 CYP2C19 基因的多态性分布对冠心病患者抗凝药物的选择具有重要意义。

参考文献

[1] AKASAKA T, HOKIMOTO S, SUETA D, et al. Sex differences in the impact of CYP2C19 polymorphisms and low-grade inflammation on coronary microvascular disorder[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2016, 310(11):1494-1500.

[2] 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):754-755.

[3] YAMANE K, KATO Y, TAZAKI J, et al. Prediction of clopidogrel low responders by a rapid CYP2C19 activity test[J]. J Atheroscler Thromb, 2012, 19(2):186-193.

[4] 热依汗·依明,帕丽达·阿不来提,古丽扎尔·买买提明. 维吾尔族、汉族冠心病人群 CYP2C19 基因多态性分析[J]. 心血管康复医学杂志, 2014, 23(2):127-130.

[5] 彭胡,唐克彬,颜彪,等. 泸州地区冠心病 PCI 治疗患者 CYP2C19 基因多态性分布的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2):107-110.

[6] 曾敏,熊怡沁,俞娟,等. 四川地区冠心病患者 CYP2C19 基因多态性检测[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(10):1363-1365.

(下转第 592 页)

大,季节、纬度、海拔、紫外线的照射时间与强度等均可影响维生素 D 合成^[16]。人体维生素 D 主要由紫外线照射皮肤合成,春、夏季节阳光直射穿越大气层,紫外线较少被大气层吸收,而冬季阳光斜射穿越大气层,紫外线大多被臭氧层吸收,使得冬季人体维生素 D 合成减少。另外,着装习惯、户外活动时间、使用防晒霜等也影响维生素 D 的合成^[17],绵阳地区冬季气候湿冷,日照时间短,人们着装较厚且户外活动时间减少,故 25(OH)D 水平较其他季节低。因此,在冬季应注意及时补充维生素 D,以预防维生素 D 不足带来的不良影响。

综上所述,绵阳地区孕妇维生素 D 缺乏和不足现象较为严重,不同孕期、不同季节及各个年龄段孕妇均存在维生素 D 缺乏或不足的情况,冬季尤为严重。为避免因维生素 D 缺乏或不足给孕妇和胎儿的生长发育带来不良影响,建议孕妇定期进行血清 25(OH)D 水平检测,以便临床了解孕妇的营养状况并根据其实际情况给予科学指导,以保障妇幼健康。

参考文献

- [1] SAGGESE G, VIERUCCI F, PRODAM F, et al. Vitamin D in pediatric age: consensus of the Italian Pediatric Society and the Italian Society of Preventive and Social Pediatrics, jointly with the Italian Federation of Pediatricians [J]. Ital J Pediatr, 2018, 44(1): 51-54.
- [2] LI M, LV F, ZHANG Z, et al. Establishment of a normal reference value of parathyroid hormone in a large healthy Chinese population and evaluation of its relation to bone turnover and bone mineral density [J]. Osteoporos Int, 2016, 27(5): 1907-1916.
- [3] AGHAJAFARI F, NAGULESAPILLAI T, RONKSLEY P E, et al. Association between maternal serum 25-hydroxy vitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies [J]. BMJ, 2013, 34(6): f1169-f1172.
- [4] HOLICK M F, BINKLEY N C, BISCHOFF-FERRAIRI H A, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(7): 1911-1930.
- [5] BIKLE D. Nonclassic actions of vitamin D [J]. J Clin En-

docrinol Metab, 2009, 94(1): 26-34.

- [6] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 维生素 D 及其类似物的临床应用共识 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2018, 34(3): 187-201.
- [7] 黎丽, 苏虹, 王喆, 等. 孕妇维生素 D 的调查分析 [J]. 医学检验与临床, 2016, 27(4): 15-20.
- [8] 向菲, 蒋佳, 欧亚萍, 等. 贵阳市妊娠中晚期妇女维生素 D 现状研究 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(6): 486-489.
- [9] 邹萍. 无锡地区 4 630 例妊娠期妇女 25-羟维生素 D 水平的分析 [J]. 实用医学杂志, 2015, 31(16): 2743-2745.
- [10] SCHROTH R J, LAVELLE C, TATE R, et al. Prenatal vitamin D and dental caries in infants [J]. Pediatrics, 2014, 133(5): e1277-e1284.
- [11] 刘梁, 宋红, 周川, 等. 血清 25 羟维生素 D 与新生儿感染性肺炎的关系研究 [J]. 中国全科医学, 2018, 21(19): 2330-2333.
- [12] ROSTAMI M, TEHRANI F R, SIMBAR M, et al. Effectiveness of prenatal vitamin D deficiency screening and treatment program: A stratified randomized field trial [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(8): 2936-2948.
- [13] GRANT C C, KAUR S, WAYMOUTH E, et al. Reduced primary care respiratory infection visits following pregnancy and infancy vitamin D supplementation: a randomized controlled trial [J]. Acta Paediatr, 2015, 104(4): 396-404.
- [14] WOLSK H M, CHAWES B L, LITONJUA A A, et al. Prenatal vitamin D supplementation reduces risk of asthma/recurrent wheeze in early childhood: a combined analysis of two randomized controlled trials [J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0186657.
- [15] CANTORAN M T. Vitamin D and lung infection [J]. Infect Immun, 2016, 84(11): 3094-3096.
- [16] GRIGALAYICIUS M, JUZENIENE A, BATURAITIE Z, et al. Biologically efficient solar radiation: vitamin D production and induction of cutaneous malignant melanoma [J]. Dermatoendocrinol, 2013, 5(1): 150-158.
- [17] BUYUKUSLU N, ESIN K, HIZLI H, et al. Clothing preference affects vitamin D status of young women [J]. Nutr Res, 2014, 34(8): 688-693.

(收稿日期: 2019-08-03 修回日期: 2019-11-21)

(上接第 588 页)

- [7] 范超, 张燕, 何建维, 等. 重庆地区冠心病介入治疗患者 CYP2C19 基因多态性分布 [J]. 重庆医学, 2016, 45(11): 1549-1551.
- [8] LUNDSTROM A, LASKA A C, VONARBIN M, et al. Glucose intolerance and insulin resistance as predictors of low platelet response to clopidogrel in patients with minor ischemic stroke or TIA [J]. Platelets, 2014, 25(2): 102-110.

- [9] 郭静. 黑龙江满族人群氯吡格雷药效相关 CYP2C19 基因多态性研究 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2018, 39(6): 650-651.
- [10] 董海荣, 徐肖倩, 康德成, 等. CYP2C19 基因多态性与中国北方地区人群缺血性脑卒中氯吡格雷抵抗的相关性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(7): 820-823.

(收稿日期: 2019-07-12 修回日期: 2019-11-22)