

厦门地区心血管病患者外周血 单个核细胞 CYP2C19 基因型与表型的分布研究*

葛高顺,倪二茹,方宜臻,孟琦,郭奕昌,谢华斌

(厦门大学附属心血管病医院检验科,福建厦门 361004)

摘要:目的 探讨厦门地区心血管病患者外周血单个核细胞(PBMCs)CYP2C19 基因型与表型的分布情况,为心血管疾病患者的合理用药提供依据。方法 以2016年4月~2018年4月厦门地区2 017例心血管疾病患者为研究对象,采用荧光染色原位杂交法检测 CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 及 CYP2C19 * 17 基因,统计分析该地区基因型与表型的分布特征,并与已报道其他地区的结果进行比较。结果 CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 及 CYP2C19 * 17 基因突变率分别为 57.21%, 10.61% 和 0.99%,超快代谢型(ultrarapid metabolizer, UM)、快代谢型(extensive metabolizer, EM)、中间代谢型(intermediate metabolizer, IM)和慢代谢型(poor metabolizer, PM)检出率分别为 0.55%, 35.35%, 50.47% 和 13.63%。不同性别、年龄和疾病类型组比较差异无统计学意义($P>0.05$);厦门地区与南京、北京、武汉等地区及韩国、泰国比较差异无统计学意义($P>0.05$),与大连地区及西班牙、俄罗斯、伊朗、土耳其等国家比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 厦门地区心血管病患者 CYP2C19 基因型与表型分布有地区差异,且慢代谢型比例较高。

关键词:心血管疾病;CYP2C19;基因多态性

中图分类号:R54;Q786 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)04-008-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.04.003

Study on the Distribution of CYP2C19 Genotypes and Phenotypes Mononuclear Cells of Peripheral Blood from Patients with Cardiovascular Diseases in Xiamen Area

GE Gao-shun, NI Er-ru, FANG Yi-zhen, MENG Qi, GUO Yi-chang, XIE Hua-bin

(Department of Laboratory Medicine,

Cardiovascular Hospitals of Xiamen University, Fujian Xiamen 361004, China)

Abstract: Objective To investigate the distribution of CYP2C19 genotypes and phenotypes in mononuclear cells of peripheral blood from patients with cardiovascular diseases of Xiamen area, in order to provide evidence for rational use of cardiovascular disease. Methods The experimental group was peripheral blood samples from 2 017 patients diagnosed as cardiovascular diseases in Xiamen from April 2016 to April 2018, CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 and CYP2C19 * 17 genes were detected by the fluorescence detector, and the distribution of CYP2C19 genotypes and phenotypes of this study was analyzed and compared with some reported areas. Results The allele frequencies of CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 and CYP2C19 * 17 were 57.21%, 10.61% and 0.99%, and UM, EM, IM, PM were 0.55%, 35.35%, 50.47% and 13.63%, respectively. Different gender, age, type of disease had no statistical significance in CYP2C19 genotypes and phenotypes differences ($P>0.05$). There were no statistical significance between Xiamen area and Nanjing, Beijing, Wuhan, South Korea and Thailand ($P>0.05$), while compared with Dalian areas, Spanish, Russia, Iran and Turkey it had statistical significance ($P<0.05$). Conclusion The distribution of CYP2C19 genotypes and phenotypes among patients with cardiovascular diseases of Xiamen area had regional specificity, and the frequency of PM was higher.

Keywords: cardiovascular disease; CYP2C19; genetic polymorphisms

近年来,世界卫生组织报道,心血管疾病已是全球的头号死因。研究发现细胞色素氧化酶 P450 家族中最重要的成员 CYP2C19 可影响许多心血管病常用药物的代谢,如质子泵抑制剂、抗血小

板药物等^[1]。目前,已发现超过 34 种 CYP2C19 等位基因突变,根据基因型可将其分为以下 4 种表型:超快代谢型(UM)、快代谢型(EM)、中间代谢型(IM)和慢代谢型(PM)^[2]。CYP2C19 基因突变

* 基金项目:厦门市科技局科技惠民项目(3502Z20174009)。

作者简介:葛高顺(1986—),男,硕士,主管检验技师,主要从事临床分子生物学诊断工作, E-mail: gegaoshun87@163.com。

通讯作者:谢华斌,男,本科,主任技师,主要从事临床分子生物学诊断工作, E-mail: xmscl@126.com。

可导致 P450 酶活性表现出遗传多态性,使药物活性具有明显个体差异^[3],即基因型和表型差异与心血管疾病的疗效,缺血缺氧性心血管事件或死亡率密切相关。所以通过 CYP2C19 基因型或表型合理用药,可提高疗效、降低药物不良反应的发生率^[4]。目前,国内外文献报道显示 CYP2C19 基因型或表型存在一定种族和地域差异,本文旨在了解厦门地区心血管疾病患者 CYP2C19 基因型与表型的分布特征,以期为厦门地区心血管疾病患者更合理的个体化用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 4 月~2018 年 4 月厦门大学附属心血管病医院诊断为心血管疾病的患者 2 017 例,其中男性 1 630 例、女性 387 例。再根据患者年龄分为两组:<65 岁组 1 031 例,平均年龄 55 岁;≥65 岁组 986 例,平均年龄 73 岁。

1.2 试剂与仪器 TL998A 荧光检测仪(西安天隆科技有限公司);测序反应通用试剂盒(北京华夏时代基因科技发展有限公司)。

1.3 方法 采集受检者空腹静脉血 2 ml 于 ED-

TA-K₂ 抗凝真空管,按照试剂盒说明书进行外周血单个核细胞分离,分别加入具有探针的荧光检测试剂 CYP2C19 * 2 9154G > A(rs4244285), CYP2C19 * 3 7948G > A(rs4986893), CYP2C19 * 17 806C > T(rs12248560) 进行杂交测序,判读结果。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 进行统计学分析,基因分布采用 Hardy-Weinberg 平衡定律检验,计数资料以 % 表示,各基因型与表型在不同性别、年龄、疾病类型、地区组间比较用 Pearson χ^2 检验分析差异性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP2C19 基因型分布情况 见表 1。CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 及 CYP2C19 * 17 等位基因突变率分别为 57.21%, 10.61% 和 0.99%, Hardy-Weinberg 平衡定律检验 CYP2C19 * 2 存在偏差($\chi^2 = 10.19, P < 0.05$), CYP2C19 * 3 ($\chi^2 = 0.17, P = 0.68$) 与 CYP2C19 * 17 ($\chi^2 = 0.05, P = 0.82$) 在遗传中稳定不变,即数据来自同一孟德尔群体,具有群体代表性。

表 1 CYP2C19 基因型的分布

基因多态性	基因型	n	百分比(%)	Hardy-Weinberg 平衡
CYP2C19 * 2	GG	863	42.79	$\chi^2 = 10.19, P < 0.05$
	GA	961	47.65	
	AA	193	9.57	
	G	2 687	66.61	
	A	1 347	33.39	
CYP2C19 * 3	GG	1 803	89.39	$\chi^2 = 0.17, P = 0.68$
	GA	209	10.36	
	AA	5	0.25	
	G	3 815	94.57	
	A	219	5.43	
CYP2C19 * 17	CC	1 997	99.01	$\chi^2 = 0.05, P = 0.82$
	CT	20	0.99	
	TT	0	0.00	
	C	4 014	99.50	
	T	20	0.50	

2.2 CYP2C19 表型分布情况 见表 2。

表 2 CYP2C19 表型的分布

表型	等位基因型	n	百分比(%)
超快代谢型(UM)	*1*17, *17*17	11	0.55
快代谢型(EM)	*1*1	713	35.35
中间代谢型(IM)	*1*2, *1*3*, *2*17, *3*17,	1 018	50.47
慢代谢型(PM)	*2*2, *2*3, *3*3	275	13.63

超快代谢型(UM)、快代谢型(EM)、中间代谢型(IM)和慢代谢型(PM)检出率分别为 0.55%, 35.35%, 50.47% 和 13.63%。

2.3 性别对 CYP2C19 基因型与表型的影响 见表 3。1 630 例男性和 387 例女性心血管疾病患者 CYP2C19 的基因型和表型分布差异无统计学意义($\chi^2 = 0.002 \sim 1.422$, 均 $P > 0.05$)。

表 3

CYP2C19 基因型与表型在不同性别中的分布

基因型		男 性(n=1 630)		女 性(n=387)		χ^2	P
		n	百分比(%)	n	百分比(%)		
CYP2C19 * 2	GG	698	42.82	165	42.64	0.004	0.95
	GA	778	47.73	183	47.29	0.025	0.88
	AA	154	9.45	39	10.08	0.143	0.71
CYP2C19 * 3	GG	1 459	89.51	344	88.89	0.127	0.72
	GA	167	10.25	42	10.85	0.124	0.725
	AA	4	0.25	1	0.26	0.002	0.96
CYP2C19 * 17	CC	1 613	98.96	384	99.22	0.228	0.63
	CT	17	1.04	3	0.78	0.228	0.63
	TT	0	0.00	0	0.00	-	-
表 型	UM	9	0.55	2	0.52	0.007	0.93
	EM	577	35.40	136	35.14	0.009	0.92
	IM	829	50.86	189	48.84	0.511	0.46
	PM	215	13.19	60	15.50	1.422	0.23

备注:“-”表示无数据。

2.4 年龄对 CYP2C19 基因型与表型的影响 见表 4。1 031 例 <65 岁和 986 例 ≥65 岁的心血管

疾病患者 CYP2C19 的基因型和表型分布差异均无统计学意义($\chi^2=0.002\sim 3.749, P>0.05$)。

表 4

CYP2C19 基因型和表型在不同年龄中的分布

基因型		<65 岁(n=1 031)		≥65 岁(n=986)		χ^2	P
		n	百分比(%)	n	百分比(%)		
CYP2C19 * 2	GG	428	41.51	435	44.12	1.397	0.24
	GA	499	48.40	462	46.86	0.481	0.49
	AA	104	10.09	89	9.03	0.656	0.42
CYP2C19 * 3	GG	935	90.69	868	88.03	3.749	0.05
	GA	94	9.12	115	11.66	3.517	0.06
	AA	2	0.19	3	0.30	0.248	0.62
CYP2C19 * 17	CC	1 020	98.93	977	99.09	0.122	0.73
	CT	11	1.07	9	0.91	0.122	0.73
	TT	0	0.00	0	0.00	-	-
表 型	UM	11	1.07	9	0.91	0.122	0.73
	EM	364	35.31	349	35.40	0.002	1
	IM	511	49.56	499	50.61	0.22	0.64
	PM	145	14.06	129	13.08	0.413	0.52

备注:“-”表示无数据。

2.5 不同疾病类型 CYP2C19 基因型与表型的分布 见表 5。963 例心肌梗死患者和 1 054 例非心肌梗死的心血管疾病患者 CYP2C19 的基因型和表型分布差异均无统计学意义($\chi^2=0.009\sim 1.546$, 均 $P>0.05$)。心肌梗死组与非心肌梗死心血管病组的诊断与鉴别诊断,均由本院心内科与心外科医生严格根据临床表现、特征性心电图改变及实验室检查指标进行确诊分组,且并发其他系统疾病无明显差异。

2.6 不同地区间 CYP2C19 基因型与表型的比较 见表 6。结合本文和近年来文献已报道结果,对

厦门地区与南京等 10 个不同地区及国家数据进行比较。中国地区差异较小,厦门地区与南京、北京、武汉地区比较差异均无统计学意义,与大连地区比较仅 CYP2C19 * 2 GG 基因,EM 差异有统计学意义;亚洲地区差异也较小,与韩国、泰国比较差异均无统计学意义;与非亚洲地区比较差异较大,如与西班牙比较仅 CYP2C19 * 3 AA, CYP2C19 * 17 TT 基因差异无统计学意义,与俄罗斯、伊朗、土耳其等国家比较仅 CYP2C19 * 3 AA 基因,EM 差异无统计学意义,其他差异均有统计学意义。

表 5 CYP2C19 基因型和表型在不同疾病类型中的分布

基因型	心肌梗死组 (n=963)		非心肌梗死组 (n=1 054)		χ^2	P
	n	百分比(%)	n	百分比(%)		
CYP2C19 * 2	GG	401	41.64	462	43.83	0.988
	GA	467	48.49	494	46.87	0.533
	AA	95	9.87	98	9.30	0.187
CYP2C19 * 3	GG	866	89.93	937	88.90	0.561
	GA	96	9.97	113	10.72	0.307
	AA	1	0.10	4	0.38	1.546
CYP2C19 * 17	CC	954	99.07	1 043	98.96	0.061
	CT	9	0.93	11	1.04	0.061
	TT	0	0.00	0	0.00	-
表 型	UM	5	0.52	6	0.57	0.023
	EM	337	34.99	376	35.67	0.101
	IM	485	50.36	533	50.57	0.009
	PM	136	14.12	139	13.19	0.373

备注:“-”表示无数据。

表 6 厦门地区与文献报道其他地区的比较 (%)

组 别	n	基因型									表型			
		* 2GG	* 2GA	* 2AA	* 3GG	* 3GA	* 3AA	* 17CC	* 17CT	* 17TT	UM	EM	IM	PM
厦门地区	2 017	42.79	47.65	9.57	89.39	10.36	0.25	99.01	0.99	0.00	0.55	35.35	50.47	13.63
南京地区 ^[5]	625	44.96	42.24	12.80	92.64	7.20	0.16	97.90	2.10	0.00	1.60	38.10	45.26	15.04
北京地区 ^[6]	1 429	49.31	41.99	8.70	90.31	9.59	0.10	97.97	2.03	0.00	1.20	41.50	45.30	12.00
武汉地区 ^[7]	316	46.80	42.10	11.10	93.30	6.70	0.00	-	-	-	-	43.40	42.40	14.40
大连地区 ^[8]	200	60.50 *	35.50	4.00	88.50	11.50	0.00	99.50	0.50	0.00	0.50	52.00 *	40.00	7.50
泰国 ^[9]	1 051	51.96	40.72	7.32	87.44	12.46	0.10	95.70	4.30	0.00	4.30	40.72	41.95	13.03
韩国 ^[10]	271	48.90	45.02	5.90	80.82	18.08	1.10	97.20	2.80	0.00	1.10	35.70	49.20	14.00
俄罗斯 ^[11]	971	73.33 *	25.23 *	1.44 *	98.87 *	1.03 *	0.10	52.11 *	41.09 *	6.80 *	39.75 *	32.65	25.85 *	1.75 *
伊朗 ^[12]	180	76.11 *	21.67 *	2.22 *	100.00 *	0.00 *	0.00	62.30 *	32.20 *	5.50 *	34.40 *	41.70	21.60 *	2.20 *
西班牙 ^[13]	503	77.00 *	21.00 *	2.00 *	99.20 *	0.80 *	0.00	63.00 *	34.00 *	3.00	31.00 *	52.00 *	15.00 *	2.00 *
土耳其 ^[14]	244	82.40 *	17.60 *	1.20 *	100.00 *	0.00 *	0.00	57.80 *	35.60 *	6.60 *	36.90 *	44.30	17.60 *	1.20 *

备注:“-”表示无数据,“*”表示 $P<0.05$ 。

3 讨论 CYP2C19 与经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous transluminal coronary intervention, PCI)术后最常用的抗血小板药物氯吡格雷的代谢密切相关。CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 等位基因突变可减弱氯吡格雷的抗血小板疗效,而 CYP2C19 * 17 等位基因突变可增强其疗效,根据基因型可分为 4 种代谢表型,各表型患者的药物治疗方案有所不同。近年研究发现,氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance, CPGR)是增加支架内血栓、再梗死等不良心血管事件的一个危险标志^[15]。本文结果显示厦门地区人群缺乏 CYP2C19 * 17 TT 基因型患者, CYP2C19 * 17 等位基因突变率小于 1%, 超快代谢型患者极少;而 CYP2C19 * 2 等位基因突变率则超过 50%, 中间代谢型患者也超过 50%, 慢代谢型患者比例高达 13.63%, 这类患者服用常规剂量的氯吡格雷可能疗效不佳^[16]。此外,该人群 CYP2C19 * 2 不符合 Hardy-Wein-

berg 平衡定律, CYP2C19 * 3 与 CYP2C19 * 17 符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,与部分报道不完全一致,可能与不同地区人群的基因型分布存在一定差异有关^[11,17]。比较不同性别、年龄、疾病类型组 CYP2C19 基因型与表型的频数频率分布差异均无统计学意义,而不同地区间 CYP2C19 基因型与表型存在不同的差异,与大部分报道相符。厦门地区与南京、北京、武汉等地区及韩国、泰国比较差异无统计学意义;与大连地区比较仅 CYP2C19 * 2 GG 基因、快代谢型差异有统计学意义,其他基因型与表型差异无统计学意义;与西班牙、俄罗斯、伊朗、土耳其等国家比较差异较大。综上,亚洲地区与非亚洲地区相比, CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3 等位基因突变率较高, CYP2C19 * 17 等位基因突变率较低,慢代谢型与中间代谢型患者比例较高,超快代谢型患者比例较低。由此可推测,不同地区及国家患者使用 CYP2C19 可影响的 (下转 15 页)

(上接11页)药物治疗时剂量应有所差异,而厦门地区心血管疾病患者慢代谢型分布的比例较高,检测 CYP2C19 基因有助于心血管疾病患者的个体化药物治疗,特别是 PCI 术后的抗血小板治疗。

参考文献:

- [1] Scott SA, Sangkuhl K, Shuldiner AR, et al. Pharm GKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2012, 22(2):159-165.
- [2] Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy:2013 update[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94(3):317-323.
- [3] Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy[J]. *the Journal of the American Medical Association*, 2009, 302(8):849-857.
- [4] Just KS, Schneider KL, Schurig M, et al. Falls: the adverse drug reaction of the elderly and the impact of pharmacogenetics[J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18(13):1281-1297.
- [5] Sun W, Li Y, Li J, et al. Variant recurrent risk among stroke patients with different CYP2C19 phenotypes and treated with clopidogrel[J]. *Platelets*, 2015, 26(6):558-562.
- [6] 蒋兴然, 张云岗, 路 军, 等. 北方地区汉族消化道疾病中 CYP2C19 基因多态性分析[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2016, 32(10):1101-1104, 1109.
Jiang XR, Zhang YG, Lu J, et al. Distribution of CYP2C19 genetic polymorphisms in a north Chinese Han population with digestive tract diseases[J]. *J Clin Exp Pathol*, 2016, 32(10):1101-1104, 1109.
- [7] 韩瑞玲, 李 艳, 吴 薇. 武汉地区冠心病患者氯吡格雷药物代谢相关基因 CYP2C19 的多态性分布分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(3):21-23.
Han RL, Li Y, Wu W. Analysis of the polymorphism distribution of clopidogrel metabolism related gene CYP2C19 in patients with coronary artery disease in Wuhan[J]. *J Mod Lab Med*, 2015, 30(3):21-23.
- [8] Zhang J, Zhang H, Li K, et al. Development of a polymerase chain reaction/ligase detection reaction assay

- for detection of CYP2C19 polymorphisms[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2018, 22(1):62-73.
- [9] Sukasem C, Tunthong R, Chamnanphon M, et al. CYP2C19 polymorphisms in the Thai population and the clinical response to clopidogrel in patients with atherothrombotic-risk factors[J]. *Pharmacoeconomics Pers Med*, 2013, 6:85-91.
- [10] Kim KA, Song WK, Kim KR, et al. Assessment of CYP2C19 genetic polymorphisms in a Korean population using a simultaneous multiplex pyrosequencing method to simultaneously detect the CYP2C19 * 2, CYP2C19 * 3, and CYP2C19 * 17 alleles[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2010, 35(6):697-703.
- [11] Sychev DA, Denisenko NP, Sizova ZM, et al. The frequency of CYP2C19 genetic polymorphisms in Russian patients with peptic ulcers treated with proton pump inhibitors[J]. *Pharmgenomics Pers Med*, 2015, 8:111-114.
- [12] Payan M, Tajik N, Rouini MR, et al. Genotype and allele frequency of CYP2C19 * 17 in a healthy Iranian population[J]. *Med J Islam Repub Iran*, 2015, 29(1):269.
- [13] Martínez-Quintana E, Rodríguez-González F, Medina-Gil JM, et al. CYP2C19 activity and cardiovascular risk factors in patients with an acute coronary syndrome[J]. *Med Clin (Barc)*, 2017, 149(6):235-239.
- [14] Gumus E, Karaca O, Babaoglu MO, et al. Evaluation of lansoprazole as a probe for assessing cytochrome P450 2C19 activity and genotype-phenotype correlation in childhood[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2012, 68(5):629-636.
- [15] Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2004, 109(25):3171-3175.
- [16] Paré G, Mehta SR, Yusuf S, et al. Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(18):1704-1714.
- [17] Mirzaev KB, Zelenskaya EM, Barbarash OL, et al. CYP2C19 polymorphism frequency in Russian patients in Central Russia and Siberia with acute coronary syndrome[J]. *Pharmgenomics Pers Med*, 2017, 10:107-114.

收稿日期:2018-06-07

修回日期:2018-06-11