

# 北京地区新生儿细胞色素 P450 单核苷酸多态性及其代谢表型分布的研究\*

郭九叶, 耿珊珊, 高月乔, 孙志华 (北京市朝阳区妇幼保健院, 北京 100026)

**摘要:**目的 了解北京地区新生儿细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 重要单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点及其代谢表型的分布情况, 为儿童的精准用药提供支持。方法 利用 Taqman-PCR 方法检测 1 000 例新生儿的 CYP2D6 (100C>T), CYP2C9 (1075A>C), CYP2C19 (681G>A), CYP2C19 (636G>A), CYP3A4 (878T>C) 和 CYP3A5 (6986A>G) 位点基因型及等位基因频率, 并计算其代谢表型分布。结果 ① CYP2D6 (100C>T) 和 CYP3A5 (6986A>G) 位点的杂合型基因型频率较高, 分别为 51.7% 和 44.9%。CYP3A5 (6986A>G) 位点的突变型等位基因频率较高, 为 61.8%。② CYP2D6, CYP2C9 和 CYP3A4 均以快代谢型为主, 检出率分别为 79.0%, 99.8% 和 100%。慢代谢型主要是 CYP2C19 和 CYP3A5 基因, 检出率分别为 12.5% 和 39.4%。③ CYP450 各亚型基因型分布在不同性别间比较差异均无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.113 \sim 3.316$ , 均  $P > 0.05$ )。结论 CYP3A5 (6986A>G) 和 CYP2D6 (100C>T) 在新生儿人群中的突变频率较高, CYP3A5 和 CYP2C19 的慢代谢型人群分布较高, 在临床用药中要注意结合基因检测结果来确定用药剂量。

**关键词:** 细胞色素 P450; 单核苷酸多态性; 基因频率; 代谢表型; 慢代谢

中图分类号: Q786; R722.1 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)06-009-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.06.003

## Distribution of Single Nucleotide Polymorphisms of Cytochrome P450 Genes and Metabolic Phenotypes of Newborn Infants in Beijing Area

GUO Jiu-ye, GENG Shan-shan, GAO Yue-qiao, SUN Zhi-hua

(Beijing Chaoyang Maternal and Child Health Hospital, Beijing 100026, China)

**Abstract:** **Objective** To survey the distribution of the important single nucleotide polymorphisms (SNPs) loci and their metabolic phenotypes of cytochrome P450 (CYP450) of newborn infants in Beijing and provide supports for children's precise drug use. **Methods** The DNA samples of 1 000 newborn infants were detected by Taqman-PCR method on CYP2D6 (100C>T), CYP2C9 (1075A>C), CYP2C19 (681G>A), CYP2C19 (636G>A), CYP3A4 (878T>C) and CYP3A5 (6986A>G). The frequencies of genotypes and alleles were calculated, and the distribution patterns of the 5 subtypes of CYP450 genes were obtained. **Results** ① The heterozygous genotype frequencies of CYP2D6 (100C>T) and CYP3A5 (6986A>G) loci were higher, 51.7% and 44.9% respectively. The frequency of mutant alleles at CYP3A5 (6986A>G) loci was 61.8%. ② CYP2D6, CYP2C9 and CYP3A4 were mainly metabolites of fast metabolism, accounting for 79%, 99.8% and 100% respectively. The poor metabolisms were mainly CYP2C19 and CYP3A5 genes, accounting for 12.5% and 39.4% respectively. ③ There was no significant difference in the distribution of CYP450 genotypes among different sexes ( $\chi^2 = 0.113 \sim 3.316$ , all  $P > 0.05$ ). **Conclusion** The mutation frequency of CYP3A5 (6986A>G) and CYP2D6 (100C>T) in the newborn infants was higher, and the poor metabolic population of CYP3A5 and CYP2C19 was highly distributed. In clinical use, should pay attention to the combination of the results of gene detection to determine the dosage of the drug.

**Keywords:** cytochrome P450; single nucleotide polymorphism; gene frequency; metabolic phenotype; poor metabolism

细胞色素 P450 酶 (CYP450) 是一组存在于生物体内的蛋白酶, 可促进氧化、羟化、脱烷基和脱氨基等反应的发生, 广泛参与体内物质及外源性药物和毒物的生物转化<sup>[1,2]</sup>。目前市场上 90% 以上药物的体内代谢由肝微粒体酶的 CYP450 家族完成, 其中大部分是 CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 和 CYP3A5 药物代谢酶参与代谢<sup>[3,4]</sup>, 而

单核苷酸多态性 (SNP) 造成的不同个体间 CYP450 基因型的异质性, 引起 CYP450 酶活性差异, 影响了相应药物在体内的代谢过程。临床上可根据 CYP450 基因不同亚型的基因型将人群划分为不同的代谢亚型<sup>[5]</sup>。国内已有 CYP450 酶基因型和代谢表型的研究报道<sup>[6~8]</sup>, 但通常样本量较少且针对新生儿的研究鲜有报道, 本文以北京地区新

\* 基金项目: 北京市朝阳区社会发展计划项目基因 (编号: cysf1624)。

作者简介: 郭九叶 (1981—), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事新生儿内科工作, E-mail: jyguo0425@163.com。

通讯作者: 孙志华, 男, 主任医师, 主要从事腹腔镜等妇科微创技术及基因诊断及治疗的研究, E-mail: szh0616@126.com。

生儿为研究对象,分析了CYP450重要亚型基因型及代谢表型,为临床个体化用药提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 2016年3月~2018年2月期间在北京市朝阳区妇幼保健院出生的新生儿共1 000例,其中男性548例,女性452例,所有研究对象均为汉族,其父母均签署知情同意书,于出生后72 h内取新生儿足跟血制作干血片。

1.2 试剂和仪器 干血斑基因组DNA提取试剂盒购自天根生物,Taqman引物及探针由英潍捷基合成,高速离心机购自Eppendorf公司,荧光定量

PCR仪和微量核酸定量仪购自Thermo Fisher公司。

## 1.3 方法

1.3.1 基因组DNA提取:采用干血斑基因组DNA提取试剂盒对收集的样本进行提取,使用微量核酸定量仪测定其浓度和纯度。

1.3.2 SNPs位点基因分型:使用Taqman荧光定量PCR方法在荧光定量PCR仪上对6个SNP位点进行基因分型检测,引物和探针序列见表1。PCR扩增条件为:95℃ 10 min;95℃ 15 s,60℃ 1 min,40个循环。

表1 CYP450基因6个SNP位点等位基因检测引物及探针

SNP位点	引物序列(5'-3')	探针序列(5'-3')
CYP2D6(100C>T)	For:CTGCTCCTGGTGGACCTGAT Rev:GCAGTATGGTGTCTTGGGAAGTC	FAM-CACGCTACCCACCAGG-TAMRA VIC-CACGCTACTACTCACCAGG-TAMRA
CYP2C9(1075A>C)	For:TGCAAGACAGGAGCCACATG Rev:AAACAACTTACCTTGGGAATGAGATAG	FAM-GTCCAGAGATACATTGAC-TAMRA VIC-GTCCAGAGATACCTTGAC-TAMRA
CYP2C19(681G>A)	For:CTTAGATATGCAATAATTTCCCACTATCA Rev:TCGATTCTTGGTGTCTTTTACTTTCT	FAM-ATTTCCCGGAACCCA-TAMRA VIC-ATTTCCCGGAACCCA-TAMRA
CYP2C19(636G>A)	For:AAGATCAGCAATTTCTTAAGTTGATGG Rev:CTCAGGAAGCAAAAACTTGGC	FAM-GCAGGCTCCAGATCGGA-TAMRA VIC-GCAGGCTCCAGATCGGA-TAMRA
CYP3A4(878T>C)	For:TCTGATTACCTAAAATGTCTTCTCTCTC Rev:TTTCTGCTGGACATCAGGGTG	FAM-ACGAGCTCCAGATCGGA-TAMRA VIC-ACGAGCTCCAGATCGGA-TAMRA
CYP3A5(6986A>G)	For:AATGCTCTACTGTCAATTTCTAACCATATC Rev:GATGAAGGGTAATGTGGTCCAAA	FAM-GGGAAGAGATATTGAAAG-TAMRA VIC-GGGAAGAGATACTGAAAG-TAMRA

1.4 统计学分析 采用SPSS 19.0统计软件对数据进行分析处理,基因型分布采用Hardy-Weinberg遗传平衡定律(HWE)检验,各基因型在不同性别间比较采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Hardy-Weinberg遗传平衡检验结果 见表

表2 1 000例新生儿人群CYP450各亚型SNP位点基因型及等位基因频率分布[n(%)]

SNP位点	基因型			基因型等位基因		Hardy-Weinberg平衡	
	WW	WM	MM	野生型	突变型	$\chi^2$	P
CYP2D6(100C>T)	CC[273(27.3)]	CT[517(51.7)]	TT[210(21.0)]	C[1 063(53.2)]	T[937(46.8)]	1.45	0.23
CYP2C9(1075A>C)	AA[917(91.7)]	AC[81(8.1)]	CC[2(0.2)]	A[1 915(95.8)]	C[85(4.2)]	0.02	0.88
CYP2C19(681G>A)	GG[484(48.4)]	GA[418(41.8)]	AA[98(9.8)]	G[1 386(69.3)]	A[614(30.7)]	0.31	0.58
CYP2C19(636G>A)	GG[920(92.0)]	GA[80(8.0)]	AA[0(0)]	G[1 920(96.0)]	A[80(4.0)]	1.74	0.19
CYP3A4(878T>C)	TT[983(98.3)]	TC[17(1.7)]	CC[0(0)]	T[1 983(99.2)]	C[17(0.8)]	0.07	0.79
CYP3A5(6986A>G)	AA[157(15.7)]	AG[449(44.9)]	GG[394(39.4)]	A[763(38.2)]	G[1 237(61.8)]	2.36	0.12

说明:W:wild type;M:mutation type。

CYP2C9(1075A>C),CYP2C19(636G>A)和CYP3A4(878T>C)位点的野生型纯合子基因型频率较高,CYP2D6(100C>T)和CYP3A5(6986A>G)位点的杂合型基因型频率较高,CYP2C19(636G>A)和CYP3A4(878T>C)位点的突变纯合型基因型在本次受检人群中未检出。

2. 本研究中CYP450家族6个SNP位点的等位基因频率分布经检验符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律,差异无统计学意义( $\chi^2=0.02\sim 2.36$ ,均 $P>0.05$ ),具有群体代表性。

### 2.2 CYP450基因型及等位基因频率分布 见表2。

CYP2C9(1075A>C),CYP2C19(636G>A)和CYP3A4(878T>C)位点的野生型等位基因频率较高,CYP3A5(6986A>G)位点的突变型等位基因频率较高。

2.3 CYP450各亚型代谢表型分布 见表3。在受检人群中,CYP2D6,CYP2C9和CYP3A4均以

快代谢型为主,慢代谢型主要是 CYP2C19 和 CYP3A5 基因,见表 3。

表 3 1 000 例新生儿人群 CYP450 各亚型代谢表型分布[*n*(%)]

基 因	快代谢型 EM	中间代谢型 IM	慢代谢型 PM
CYP2D6	100C/C;100C/T 790(79.0)	100T/T 210(21.0)	--
CYP2C9	1075A/A;1075A/C 998(99.8)	1075C/C 2(0.2)	--
CYP2C19	636G/G+681G/G 432(43.2)	636G/G+681G/A; 636G/A+681G/G 443(44.3)	636G/A+681G/A; 636A/A+681G/G; 636G/G+681A/A 125(12.5)
CYP3A4	878T/T;878T/C 1000(100)	--	--
CYP3A5	6986A/A;6986A/G 606(60.6)	--	6986G/G 394(39.4)

说明:--表示此项无数据。

2.4 不同性别间 CYP450 基因型分布比较 见表 CYP450 各亚型基因型分布差异无统计学意义( $\chi^2=0.113\sim 3.316$ ,均  $P>0.05$ )。

4。548 例男性新生儿和 452 例女性新生儿中

表 4 CYP450 各亚型基因型在不同性别中的分布

SNP 位点	基因型	男性( <i>n</i> =548)		女性( <i>n</i> =452)		$\chi^2$	<i>P</i>
		<i>n</i>	百分比(%)	<i>n</i>	百分比(%)		
CYP2D6(100C>T)	CC	151	27.55	122	26.99	1.912	0.384
	CT	274	50.00	243	53.76		
	TT	123	22.44	87	19.25		
CYP2C9(1075A>C)	AA	501	91.42	416	92.04	0.158	0.924
	AC	46	8.39	35	7.74		
	CC	1	0.18	1	0.22		
CYP2C19(681G>A)	GG	271	49.45	213	47.12	3.316	0.192
	GA	217	39.60	201	44.47		
	AA	60	10.95	38	8.41		
CYP2C19(636G>A)	GG	506	92.34	414	91.59	0.186	0.667
	GA	42	7.66	38	8.41		
	AA	0	0.00	0	0.00		
CYP3A4(878T>C)	TT	538	98.18	445	98.45	0.113	0.737
	TC	10	1.82	7	1.55		
	CC	0	0.00	0	0.00		
CYP3A5(6986A>G)	AA	89	16.24	68	15.04	2.800	0.247
	AG	233	42.52	216	47.79		
	GG	226	41.24	168	37.17		

3 讨论 CYP450 家族成员参与了体内众多化学物质的生物转化,酶的活力根据基因型可分为快代谢型、中间代谢型和慢代谢型,在临床诊疗过程中,慢代谢型个体对药物的生物转化过程通常较慢,对这部分个体而言,为获得预期的疗效同时避免相应的毒副作用,需要根据受检者 CYP450 基因型及代谢表型来选择适用的药物及合理的药物剂量。本研究中发现北京地区新生儿中 CYP2D6,CYP2C9 和 CYP3A4 均以快代谢型为主,而 CYP2C19 和 CYP3A5 慢代谢型检出率较高,因此临床诊疗过程中,对于 CYP2C19 和 CYP3A5 参与代谢的药物,

在使用前,应建议患者做相应的基因检测,根据基因型和代谢表型来确定药物治疗方案。CYP2C19(c. 681G>A)和 CYP2C19(c. 636G>A)两种基因型均可产生失活的 CYP2C19 蛋白<sup>[9,10]</sup>。携带两种基因型的杂合子或者纯合子个体,对吡哌美辛、奥美拉唑、兰索拉唑、吡嗪酮片、苯巴比妥、氯吡格雷等药物的代谢能力均减弱,尤其是纯合子患者,用药剂量更应该慎重。本次研究中,受检人群 CYP2C19 快代谢型,中间代谢型和慢代谢型的比例分别为 43.2%,44.3% 和 12.5%,与蒋兴然等<sup>[11~13]</sup>报道的汉族人群中的代谢表型分布基本一

致,与葛高顺等<sup>[14]</sup>报道的厦门地区人群表型分布略有差别,可能是地区间的差异。CYP3A5 参与醋酸泼尼松、氯苯吡胺、红霉素、卡马西平等多种药物的代谢。CYP3A5 基因 6986A>G 的突变可导致 CYP3A5 基因 mRNA 剪接异常生成无活性的蛋白<sup>[15]</sup>,本次研究结果中 CYP3A5 慢代谢型比例为 39.4%,与肖婧等<sup>[6]</sup>报道的 41.7% 接近。此外, CYP450 各亚型基因型分布在不同性别间比较差异无统计学意义。

综上所述,北京地区汉族人群 CYP450 关键代谢基因中,要重点检测 CYP2C19 和 CYP3A5 这两种亚型的基因型,有助于实现临床诊疗中的精准用药。

#### 参考文献:

- [1] Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation[J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138(1): 103-141.
- [2] Ahmed S, Zhou Z, Zhou J, et al. Corrigendum to pharmacogenomics of drug metabolizing enzymes and transporters: relevance to precision medicine[J]. *Genomics Proteomics & Bioinformatics*, 2016, 14(5): 298-313.
- [3] Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 352(21): 2211-2221.
- [4] Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, et al. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 392(6): 1093-1108.
- [5] Weinshboum R. Inheritance and drug response[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2003, 348(6): 529-537.
- [6] 肖婧, 顾艺, 孙琳, 等. 汉族儿童细胞色素 P450 单核苷酸多态性及其代谢表型分布的研究[J]. *中国循证儿科杂志*, 2010, 5(3): 194-200.  
Xiao J, Gu Y, Sun L, et al. Distribution of single nucleotide polymorphisms of cytochrome P450 genes and metabolic phenotypes in Han children[J]. *Chinese Journal of Evidence Based Pediatrics*, 2010, 5(3): 194-200.
- [7] 沈俊辉, 黄春芳, 马鑫, 等. 北京地区 CYP450 药物代谢基因的等位基因分布调查[J]. *中国医药导报*, 2012, 9(29): 131-133.  
Shen JH, Huang CF, Ma X, et al. Investigation of alleles distribution of CYP450 drug metabolism genes in Beijing[J]. *China Medical Herald*, 2012, 9(29): 131-133.
- [8] 杨栋, 万立华, 涂政, 等. 中国汉族人群 CYP2D6, CYP3A4 SNP 位点基因多态性分析[J]. *重庆医科大学学报*, 2014, 39(5): 687-690.
- [9] Yang D, Wan LH, Tu Z, et al. Analysis of SNP genetic polymorphism in CYP3A4 and CYP2D6 in Chinese Han population[J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2014, 39(5): 687-690.
- [9] Jiang DC, Bai XR, Zhang QX, et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed-effect modeling[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2009, 65(12): 1187-1193.
- [10] Frere C, Cuisset T, Morange PE, et al. Effect of cytochrome P450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome[J]. *Am J Cardiol*, 2008, 101(8): 1088-1093.
- [11] 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.
- [12] 华仙丽, 梁爱芬, 雷亚利, 等. 广东东莞地区心血管病患者 CYP2C19 基因多态性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(5): 606-608.  
Hua XL, Liang AF, Lei YL, et al. Analysis of CYP2C19 polymorphism among patients with cardiovascular diseases in Dongguan area[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2017, 38(5): 606-608.
- [13] 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.
- [14] 葛高顺, 倪二茹, 方宜臻, 等. 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[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(4): 8-11, 15.  
Ge GS, Ni ER, Fang YZ, et al. Study on the distribution of CYP2C19 genotypes and phenotypes mononuclear cells of peripheral blood from patients with cardiovascular diseases in Xiamen Area[J]. *J Mod Lab Med*, 2018, 33(4): 8-11, 15.
- [15] Hu YF, Qiu W, Liu ZQ, et al. Effects of genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, 33(11): 1093-1098.