

贵州地区汉族阿尔茨海默症患者 CYP2C19 基因多态性及代谢表型分析

张 姝, 罗 洁, 许 琦, 杨 武, 何 军 (贵州省第二人民医院检验科, 贵阳 550004)

摘要: **目的** 探讨贵州地区汉族阿尔茨海默症患者细胞色素 P450 2C19(CYP2C19) 基因多态性及代谢表型的分布, 为临床个体化用药提供理论依据。**方法** 以 DNA 微阵列技术检测 227 例贵州地区汉族阿尔茨海默症患者 CYP2C19 基因多态性及代谢表型 (快代谢型, 中等代谢型, 慢代谢型), 用基因计数法计算基因频率和等位基因频率, 同时分析基因多态性与年龄、性别的相关性。**结果** 在 227 例贵州地区汉族阿尔茨海默症患者中, CYP2C19*1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 基因型的频率分别为 44.9%, 38.3%, 4.8%, 8.8% 和 3.1%, 快代谢、中代谢和慢代谢 3 种代谢表型所占比例分别为 44.9%, 43.2% 和 11.9%。不同性别及年龄基因型分布比较差异无统计学意义 ($\chi^2=4.314, 4.435$, 均 $P>0.05$), 不同年龄段 CYP2C19 代谢表型分布差异有统计学意义 ($\chi^2=32.053, P<0.001$)。**结论** 贵州地区汉族阿尔茨海默症患者中有较多的 CYP2C19 代谢功能缺失基因, 检测 CYP2C19 基因多态性及代谢表型能为临床个体化用药提供依据, 提高临床疗效, 减少不良反应发生。

关键词: 阿尔茨海默症; 细胞色素 P4502C19; 基因多态性

中图分类号: R749.16; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-013-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.004

Analysis of CYP2C19 Gene Polymorphism and Metabolic Phenotype in Alzheimerdisease Patients of Han Nationality in Guizhou

ZHANG Shu, LUO Jie, XU Qi, YANG Wu, He Jun

(Department of Laboratory Medicine, Guizhou Second People's Hospital, Guiyang 550004, China)

Abstract: Objective To explore the distribution of cytochrome P450 2C19 (CYP2C19) gene polymorphisms and metabolic phenotypes in Alzheimer disease patients of Han nationality in Guizhou, and provide a theoretical basis for clinical individualized medication. **Methods** DNA microarray technology was used to detect CYP2C19 gene polymorphism and metabolic phenotype (fast metabolic type, medium metabolic type, slow metabolic type) in 227 Alzheimer disease patients of Han nationality in Guizhou Area. Gene frequency and allele frequency were calculated by gene counting method, and the correlation between gene polymorphism and age and sex was analyzed. **Results** Among 227 Alzheimer diseasepatients of Han nationality in Guizhou, the frequency of CYP2C19*1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 genotypes were 44.9%, 38.3%, 4.8%, 8.8% and 3.1% respectively, and the proportions of fast metabolism, medium metabolism and slow metabolism were 44.9%, 43.2% and 11.9%, respectively. There was no statistically significant difference in the distribution of genotypes between different genders and ages ($\chi^2=4.314, 4.435$, all $P>0.05$), and there was a statistically significant difference in the distribution of CYP2C19 metabolic phenotypes between different ages ($\chi^2=32.053, P<0.001$). **Conclusion** There were more CYP2C19 metabolic function-deficient genes in Alzheimerdisease patients of Han nationality in Guizhou. Detection of CYP2C19 gene polymorphism and metabolic phenotype can provide a basis for clinical individualized medication, improve clinical efficacy, and reduce the occurrence of adverse reactions.

Keywords: Alzheimer disease; CYP2C19; gene polymorphism

阿尔茨海默症 (alzheimer's disease, AD) 是一种起病隐匿, 进行性发展的神经系统退行性疾病, 主要发生于老年人群。细胞色素 P450 2C19(cytochrome P450 2C19, CYP2C19) 是细胞色素酶 P450 系统重要的代谢酶, 是一群基因超家族编码, 肝脏中最重要的药物代谢酶之一, 其活性决定了药物代谢速度的快慢。CYP2C19 除了野生型等位基因 CYP2C19*1 外,

存在 CYP2C19*2-CYP2C19*28 等多种突变等位基因, 其中 CYP2C19*2 和 CYP2C19*3 在亚洲人群中的突变率较高^[1]。阿尔茨海默症患者常并发有抑郁, 临床常使用抗精神药物辅助治疗, CYP2C19 参与了利培酮、西酞普兰、丙戊酸等多种精神药物的体内代谢, 目前对 CYP2C19 相关研究中, 对冠心病患者的研究较为丰富, 对阿尔茨海默症患者的研究较少, 本研究旨在

作者简介: 张姝 (1982-), 女, 主管检验师, 研究方向: 临床微生物及分子生物学, E-mail: 2779982173@qq.com。

通讯作者: 何军 (1978-), 男, 主任技师, 研究方向: 精神疾病检验及免疫学, E-mail: gzgyhjjj@163.com。

探讨阿尔茨海默症患者 CYP2C19 基因的多态性分布特征,为需要使用 CYP2C19 基因代谢药物的患者提供个体化用药理论依据,减少药物不良反应的发生。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集我院 2017 年 6 月~2019 年 12 月住院阿尔茨海默症患者 227 例,对其临床资料进行回顾性分析,其中男性 89 例,女性 138 例,年龄 52~94 岁,所有患者均为汉族,符合《精神疾病统计诊断手册》(DSM-IV)阿尔茨海默症诊断标准。

1.2 仪器与试剂 DNA 提取试剂盒, CYP2C19 基因检测试剂盒, 杂交显色试剂盒, 全自动杂交仪和生物芯片识读仪(上海百傲科技有限公司), 基因扩增仪(杭州博日科技有限公司), 干式金属浴恒温器(西安天隆科技有限公司), 高速离心机, 微型混合器。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取: 采用含 EDTA-K₂ 抗凝剂的采血管采集外周血 2ml, 用 DNA 提取试剂盒提取全血 DNA, 样本置于 -20℃ 保存。

1.3.2 PCR 扩增: 使用上海百傲科技有限公司的 CYP2C19 基因检测试剂盒, 每份样本需扩增两个位点(681G/A, 636G/A), 扩增反应体系为 25 μl, 扩增条件: 50℃ 5min; 94℃ 5min; 94℃ 25sec, 48℃ 40sec, 72℃ 30sec, 35 个循环; 72℃ 5min。扩增产物于 2~8℃ 保存。

1.3.3 杂交显色及基因型分析: 取扩增产物 1 和扩增产物 2 各 1 μl, 加入 180 μl 杂交液, 制成杂交反应液, 按杂交显色试剂盒说明书, 依次加入抗体液、显色液。运行杂交程序, 反应结束后, 取出芯片, 放入生物芯片识读仪中, 利用 Baio 基因芯片图像分析软件 Arrdy Doctor 进行图像扫描与数据分析, 判断 CYP2C19 基因型。

1.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行分析, 用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律分析研究对象的

群体代表性, 用基因计数法计算基因型频率及等位基因频率, 不同的年龄及性别间基因型及代谢表型用百分率表示, 用 χ^2 检验进行各组间比较, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验及等位基因分布 见表 1。对收集的 227 例阿尔茨海默症患者 CYP2C19 基因 681, 636 位点的数据进行 H-W 遗传平衡定律检验, 681 位点计算结果 $\chi^2=0.02$, $P=0.999$; 636 位点计算结果为 $\chi^2=0.026$, $P=0.871$, 两位点基因频率平衡检验差异无统计学意义 ($P>0.05$), 符合遗传平衡定律, 样本具有群体代表性。681 位点 G>A 的突变率 (29.5%) 高于 636 位点 G>A 突变率 (4%), 差异有统计学意义 ($\chi^2=106.3$, $P<0.001$)。

表 1 CYP2C19 基因型 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验及等位基因分布 [n(%)]

位点	基因型			等位基因	
	G/G	G/A	A/A	G	A
681	113(49.8)	94(41.4)	20(8.8)	320(70.5)	134(29.5)
636	209(92.1)	18(7.9)	0(0)	436(96.0)	18(4.0)

注: 每例受检者 2 条等位基因, 故每个位点总数为 454。

2.2 CYP2C19 基因型及代谢型分布 见表 2。本研究贵州地区汉族阿尔茨海默症患者人群中, *1/*1 基因型有 102 例 (44.9%), *1/*2 基因型有 87 例 (38.3%), *1/*3 基因型有 11 例 (4.8%), *2/*2 基因型有 20 例 (8.8%), *2/*3 基因型有 7 例 (3.1%), *3/*3 基因型未检出; 快代谢型 102 例 (44.9%), 中代谢型 98 例 (43.2%), 慢代谢型 27 例 (11.9%), 不同性别 CYP2C19 基因型及代谢型分布差异无统计学意义 ($\chi^2=4.314$, $P=0.365$; $\chi^2=1.525$, $P=0.446$); 本研究将 227 例患者分为 3 个年龄段, 分别为 <60 岁, 60~80 岁, >80 岁, 结果显示, 不同年龄段患者 CYP2C19 基因型分布差异无统计学意义 ($\chi^2=4.435$, $P=0.816$), 代谢型分布差异有统计学意义 ($\chi^2=32.053$, $P<0.001$)。

表 2 不同性别、不同年龄段患者 CYP2C19 基因型及代谢型分布 [n(%)]

类别	n	性别		年龄		
		男 (n=89)	女 (n=138)	<60 岁 (n=8)	60~80 岁 (n=158)	>80 岁 (n=61)
基因型	*1/*1(636GG, 681GG)	44 (49.4)	58 (42.0)	4 (50.0)	67 (42.4)	31 (50.8)
	*1/*2(636GG, 681GA)	30 (33.7)	57 (41.3)	3 (37.5)	62 (39.2)	22 (36.1)
	*1/*3(636GA, 681GG)	4 (4.5)	7 (5.1)	0 (0)	10 (6.3)	1 (1.6)
	*2/*2(636GG, 681AA)	10 (11.2)	10 (7.2)	1 (12.5)	13 (8.2)	6 (9.8)
	*2/*3(636AA, 681GG)	1 (1.1)	6 (4.3)	0 (0)	6 (3.8)	1 (1.6)
代谢型	快代谢	102	44 (49.4)	4 (50)	67 (42.4)	31 (50.8)
	中代谢	98	34 (38.2)	3 (37.5)	72 (45.6)	23 (37.7)
	慢代谢	27	11 (12.4)	1 (12.5)	19 (12)	7 (11.5)

3 讨论

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 又称老年痴呆, 是一种神经退行性脑部疾病, 1906年由一位叫 Alois Alzheimer 的研究者发现, 并以他的名字命名了这一类神经系统疾病^[2]。阿尔茨海默病2018年度报告指出, 到2050年, 全球阿尔茨海默症患者预计将增加至1.52亿人^[3]。有分析预测, 未来30年我国阿尔茨海默症患者人数将大幅增长, 到2050年患病人数超过3 000万人, 达到2020年的两倍, 这是我国面临的重要医学和社会问题^[4]。约有30%~50%的阿尔茨海默症患者伴有抑郁, 近十余年来, 抑郁和阿尔茨海默症的关系以及抗抑郁药物治疗对阿尔茨海默症的作用受到广泛研究^[5], 在现有的阿尔茨海默症治疗的基础上, 新型抗抑郁药被认为是阿尔茨海默症的另一种合理有效地治疗药物。

CYP2C19 是人体内一种重要的药物代谢酶, 参与了多种抗抑郁药物 (如西酞普兰、丙戊酸、舍曲林等) 在人体内的代谢, 而其基因的多态性引起了个体对同一种药物表现出不同的药效^[6-10]。CYP2C19 基因具有高度遗传多态性, CYP2C19*1 是编码正常酶活性的野生型基因, CYP2C19*2 和 CYP2C19*3 是最常见的两组功能缺失型等位基因, 中国慢代谢者中99%都存在 CYP2C19*2 或 CYP2C19*3^[11], 基因突变导致酶活性下降, 其药物代谢的能力也随基因型不同而表现出规律性。

贵州是个多民族共居的省份, 因饮食、风俗、生活习惯、遗传背景等的不同, 不同民族的 CYP2C19 基因型也有着很大的差异^[12]。目前对阿尔茨海默症患者 CYP2C19 基因多态性的研究较少, 因此本研究选取了汉族人群中阿尔茨海默症患者作为研究对象, 对贵州地区阿尔茨海默症患者 CYP2C19 基因多态性进行分析, 结果显示, *1/*1 型占比较高 (44.9%), 有 55.1% 患者 CYP2C19 存在 CYP2C19 基因突变, 681 位点 G>A 的突变率 (29.5%) 远高于 636 位点 G>A 的突变率 (4%), 检测的所有患者中, 未检出 *3/*3 基因型, 杂合子 (G/A) 突变明显高于纯合子 (A/A) 突变, 说明有 55% 的阿尔茨海默症患者在使用经 CYP2C19 代谢的药物时, 发生药物蓄积体内的风险在增加。CYP2C19 快代谢型 102 例占 44.9%, 中间代谢型 98 例占 43.2%, 慢代谢型 27 例占 11.9%。虽然慢代谢型的患者较少, 但考虑阿尔茨海默症患者大多数为老年人, 可能患有不同的基础疾病, 对于并发心脑血管疾病的患者, 还有很大比例存在轻重不一的氯吡格雷抵抗现象^[13], 所以对于慢代谢患者, 在使用经 CYP2C19 代谢的药物时一方面要考虑降低服药剂量避免不良反应发生, 一方面还要考虑改用

或联合其他药物达到治疗效果, 因此, 对 CYP2C19 基因检测显得更为重要。

由于 CYP2C19 基因型还存在地域及种族间的差异性^[14-15], 所以对不同地区人群进行基因多态性的研究分析有助于指导临床用药个体化, 从而提高临床疗效, 减少不良反应发生。

参考文献:

- [1] 张爱玲, 胡欣, 杨莉萍. 亚洲健康人群 CYP2C19 基因型发生率的合并分析 [J]. 中国循证医学杂志, 2014, 14 (4): 427-434.
ZHANG Ailing, HU Xin, YANG Liping. Genotype frequencies of CYP2C19 in healthy Asian populations: A synthetic analysis [J]. Chinese Journal of Evidence-based Medicine, 2014, 14(4): 427-434.
- [2] BERCHTOLD N C, COTMAN C W. Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s[J]. Neurobiology of Aging, 1998, 19(3): 173-189.
- [3] PATTERSON C, World Alzheimer Report 2018. The state of the art of dementia research: New frontiers[R]. London: Published by Alzheimer's Disease International (AID), 2018.
- [4] 王英全, 梁景宏, 贾瑞霞, 等. 2020-2050 年中国阿尔茨海默病患病情况预测研究 [J]. 阿尔茨海默病及相关病杂志, 2019, 2 (1): 289-298.
WANG Yingquan, LIANG Jinghong, JIA Ruixia, et al. Alzheimer disease in China(2015-2050) estimated using the 1% population sampling survey in 2015 [J]. China Journal of Alzheimer's Disease and Related Disorders, 2019, 2(1): 289-298.
- [5] 王燕娟, 任庆国, 张志珺. SSRI 类抗抑郁剂在阿尔茨海默病中的应用研究进展 [J]. 东南大学学报 (医学版), 2014, 33 (4): 504-508.
WANG Yanjuan, REN Qingguo, ZHANG Zhijun. Advances in the application of SSRI antidepressants in Alzheimer's disease [J]. Journal of Southeast University (Medical Science Edition), 2014, 33(4): 504-508.
- [6] 靳庆敏, 葛茂宏. CYP2C19 基因多态性对抗抑郁剂代谢影响的研究进展 [J]. 精神医学杂志, 2017, 30 (4): 297-299.
JIN Qingmin, GE Maohong. Research progress of the effect of CYP2C19 gene polymorphism on the metabolism of antidepressants [J]. Journal of Psychiatry, 2017, 30(4): 297-299.
- [7] WANG Jiuhui, LIU Zhaoqian, WANG Wei, et al. Pharmacokinetics of sertraline in relation to genetic polymorphism of CYP2C19[J]. Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2001, 70(1): 42-47.
- [8] 张丽娟, 田芳. CYP2C19 遗传多态性对中国健康受试者西酞普兰代谢的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2014 (4): 324-326, 331.
ZHANG Lijuan, TIAN Fang. Effects of the genetic polymorphism CYP2C19 on pharmacokinetics of citalopram in Chinese healthy volunteers [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2014, (4): 324-326, 331.

(下转第37页)

- 抬高型心肌梗死患者预后的 Meta 分析 [J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(5): 407-411.
- YANG Jingqi, MIN Jun, LIU Liyun, et al. The value of shock index in evaluating the prognosis of patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: a Meta analysis [J]. Journal of Clinical Cardiology, 2019, 35(5): 407-411.
- [10] 奚小燕. 急性心肌梗死患者血清 IMA, MYO 水平的检测及临床意义分析 [J]. 临床检验杂志 (电子版), 2019, 8 (3): 86-87.
- XI Xiaoyan. Detection of serum IMA and MYO levels and analysis of clinical significance in patients with acute myocardial infarction [J]. Clinical Laboratory Journal (Electronic Edition), 2019, 8 (3): 86-87.
- [11] 王艳飞, 赵春生, 牛兴杰, 等. 红细胞分布宽度与修正休克指数对 ST 段抬高型心肌梗死患者 Mace 预后的预测价值 [J]. 河北医学, 2019, 25 (4): 683-687.
- WANG Yanfei, ZHAO Chunsheng, NIU Xingjie, et al. Predictive value of erythrocyte distribution width and modified shock index for mace prognosis in ST-segment elevation myocardial infarction [J]. Hebei Medicine, 2019, 25 (4): 683-687.
- [12] 郭国锋, 宋代富, 高嘉鑫, 等. 急性心肌梗死后心脏破裂的发生机制及危险因素 [J]. 中华全科医学, 2019, 17 (5): 829-833.
- GUO Guofeng, SONG Daifu, GAO Jiaxin, et al. Pathogenesis and risk factors of cardiac rupture after acute myocardial infarction [J]. Chinese Journal of General Practice, 2019, 17 (5): 829-833.
- [13] HENNESSY T, SOH L, BOWMAN M, et al. The low dose colchicine after myocardial infarction (LoDoCo-MI) study: A pilot randomized placebo controlled trial of colchicine following acute myocardial infarction [J]. American Heart Journal, 2019, 215: 62-69.
- [14] PHAN J, NGUYEN T, FRENCH J, et al. Incidence and predictors of left ventricular thrombus formation following acute ST-segment elevation myocardial infarction: A serial cardiac MRI study [J]. IJC Heart & Vasculture, 2019, 24: 100395.
- [15] PARIKH M, RAJ P, ALEJANDRO AUSTRIA J A, et al. Dietary flaxseed protects against ventricular arrhythmias and left ventricular dilation after a myocardial infarction [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2019, 71: 63-71.
- [16] CHEN Liwei, HAN Ling, LUO Jingguang, et al. Selection of percutaneous coronary intervention in elderly patients with acute myocardial infarction in tertiary hospital [J]. Medicine, 2019, 98(29): e16544.
- [17] PROCHNAU D, GLÜCK G, HOLZ I, et al. Painless myocardial infarction - a clinical challenge in the emergency department [J]. Canadian Journal of Emergency Medicine, 2019, 21(4): 557.

收稿日期: 2020-02-17

修回日期: 2020-06-21

(上接第15页)

- [9] 谢焕山, 陈宏镇, 王占璋, 等. 基于细胞色素 P450 基因多态性的文拉法辛药代动力学和安全性评价 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35 (19): 2426-2429, 2438.
- XIE Huanshan, CHEN Hongzhen, WANG Zhanzhang, et al. Evaluation of pharmacokinetics and safety of venlafaxine based on cytochrome P450 gene polymorphism [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2019, 35(19): 2426-2429, 2438.
- [10] 谢燕, 宋明芬, 章隆, 等. CYP2C19 基因多态性对精神分裂症患者丙戊酸血药浓度的影响 [J]. 中国现代应用药理学, 2016, 33 (5): 653-657.
- XIE Yan, SONG Mingfen, ZHANG Long, et al. Effect of CYP2C19 genetic polymorphism on blood concentration of valproic acid in schizophrenia [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2016, 33(5): 653-657.
- [11] XIE H G, HUANG S L, XU Z H, et al. Evidence for the effect of gender on activity of (S)-mephenytoin 4'-hydroxylase (CYP2C19) in a Chinese population [J]. Pharmacogenetics, 1997, 7(2): 115-119.
- [12] 黄博, 任凌雁, 任映, 等. 贵州少数民族 CYP2C19 基因多态性分布 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29 (20): 3-5.
- HUANG Bo, REN Lingyan, REN Ying, et al. Distribution of CYP2C19 gene polymorphism in Guizhou minority [J]. Shenzhen Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2019, 29(20): 3-5.
- [13] 黄丽云, 符青, 陈冬琳. CYP2C19 基因多态性对氯吡格雷抗血小板治疗疗效的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39 (6): 624-627.
- HUANG Liyun, FU Qing, CHEN Donglin. Effect of CYP2C19 gene polymorphism on the efficacy of clopidogrel antiplatelet therapy [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2019, 39(6): 624-627.
- [14] 平军娇, 高永双, 邓顺顺, 等. 广东省中山地区汉族精神类疾病患者药物基因型及代谢表型分布研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34 (3): 15-20, 24.
- PING Junjiao, GAO Yongshuang, DENG Shunshun, et al. Research on characteristics of drug genotypes and metabolic phenotypes in Chinese Han patients with severe mental illness in Zhongshan area of Guangdong province [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(3): 15-20, 24.
- [15] 蒋燕成, 陈辉华, 陈雅斌, 等. 中国福建泉州地区心脑血管患者 CYP2C19, ABCB1 基因多态性的检测分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34 (6): 10-15.
- JIANG Yancheng, CHEN Huihua, CHEN Yabin, et al. Detection and analysis of CYP2C19, ABCB1 gene polymorphism in patients with cardiovascular and Cerebrovascular Diseases in Quanzhou of Fujian, China [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(6): 10-15.

收稿日期: 2020-04-21

修回日期: 2020-07-07