

## 江西地区心脑血管患者 CYP2C19 基因多态性检测

余龙辉<sup>1,2</sup>, 周洁<sup>3</sup>, 叶舒慧<sup>4</sup>, 吴阳<sup>1</sup>

**摘要** 目的 分析江西地区细胞色素 P450C19 (CYP2C19) 基因型的分布情况。方法 采用等位基因特异 PCR 结合荧光探针技术, 对 3 408 例患者进行 CYP2C19\*1、\*2、\*3 基因检测。结果 CYP2C19\*1、\*2、\*3 的基因频率分别为 63.3%、32.0%、4.7%; 而 CYP2C19\*1/\*1、CYP2C19\*1/\*2、CYP2C19\*1/\*3、CYP2C19\*2/\*2、CYP2C19\*2/\*3、CYP2C19\*3/\*3 的频率分布分别为 40.1%、40.5%、5.9%、10.3%、3.0%、0.3%; 其快代谢型、中代谢型、慢代谢型的频率分别为 40.1%、46.4%、13.5%; 不同性别之间 CYP2C19 基因型及代谢型差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 各年龄段各代谢型差异也无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论

江西地区心脑血管患者 CYP2C19 基因型主要以 CYP2C19\*1/\*2 为主, 代谢表型以中代谢为主, 可以此评估其氯吡格雷抵抗风险, 从而精准地为患者制定个体化医疗方案, 更大程度地降低不良心脑血管事件的发生。

**关键词** 心脑血管疾病; CYP2C19 基因; 氯吡格雷  
中图分类号 R 969.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)03-0462-04  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.03.025

心脑血管疾病是一种严重威胁人类健康的全球性疾病, 尤其是影响 50 岁以上的中老年人健康的常见病, 即使应用当下最先进、完善的治疗手段, 仍可有 50% 以上的幸存患者生活不能完全自理。当前, 氯吡格雷 (clopidogrel) 作为第二代噻吩吡啶类抗血小板药物, 在心脑血管疾病的防治中运用广泛, 主要作用于防止血栓形成方面。但研究<sup>[1-3]</sup>表明, 氯吡格雷抗血栓作用并不能使所有患者受益, 不同患者对氯吡格雷的反应有差异, 同时部分患者反应性较低或无反应, 称之为氯吡格雷低反应或氯吡格雷抵抗。然而其具体机制尚未明确, 不过越来越多研

究<sup>[4-5]</sup>显示基因多态性是氯吡格雷抵抗的一个重要原因。随着遗传药理学的发展, 药物代谢酶基因中的某些位点的多态性可引起相应酶含量或酶活性的变化, 从而影响药物代谢能力。而细胞色素 P450C19 (cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19, CYP2C19) 酶作为细胞色素 P450 药物代谢酶家族中的重要一员, 是氯吡格雷在体内生物代谢的关键酶, 该研究旨在分析江西地区心脑血管患者 CYP2C19 基因型分布情况, 以指导临床更合理地应用氯吡格雷, 降低心脏再缺血、冠状动脉支架内血栓<sup>[6]</sup>和缺血性脑卒中<sup>[7]</sup>等不良心脑血管事件的风险, 为实现个性化用药奠定遗传学基础。

### 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 选取 2016 年 1 月~2018 年 1 月因心脑血管疾病就诊于南昌大学第一附属医院 3 408 例患者, 男 2 183 例, 22~94 岁, 中位年龄 67 岁, 女 1 225 例, 17~95 岁, 中位年龄 70 岁。抽取患者 EDTA 抗凝静脉血 2~3 ml, 当天提取 DNA。

**1.2 仪器与试剂** 全自动基因提取仪购自苏州天隆公司, 荧光定量 PCR 仪 (ABI7500) 购自美国应用生物系统公司, CYP2C19 基因检测试剂盒购自苏州旷远生物分子技术有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 DNA 提取** 利用全自动基因提取仪进行提取所用标本 DNA, 具体步骤见说明书, 并用定量分析仪检测其浓度和纯度合格后用于后续荧光定量 PCR。

**1.3.2 荧光定量 PCR 法检测 CYP2C19 基因型** 按照说明书指示, 每份标本需添加四种反应液, 即 CYP2C192G、2A、3G 及 3A PCR 反应液, 同时加入内参探针对本次反应结果进行质量控制, 并且每次实验均带上阳性对照和空白对照。PCR 反应总体积: 25  $\mu$ l, 其中上述四种反应液各 23  $\mu$ l, 酶 1  $\mu$ l, 模板 1  $\mu$ l。整个荧光定量 PCR 反应在 ABI7500 仪上进行。反应条件见说明书。程序结束, 观察扩增曲线, 分析 Ct 值数据, 进行基因型结果判读。

**1.3.3 CYP2C19 基因型检测** 本实验共检测 6 种

2018-10-31 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81660277)

作者单位: <sup>1</sup>南昌大学第一附属医院检验科, 南昌 330006

<sup>2</sup>江西省人民医院心内科, 南昌 330006

<sup>3</sup>江西省妇幼保健院检验科, 南昌 330006

<sup>4</sup>南昌大学医学院公共卫生学院, 南昌 330031

作者简介: 余龙辉, 男, 硕士, 住院医师;

吴阳, 男, 硕士, 检验师, 责任作者, E-mail: 839444295@

qq.com

基因型: CYP2C19\* 1/\* 1、\* 1/\* 2、\* 1/\* 3、\* 2/\* 2、\* 2/\* 3 和 \* 3/\* 3 型。3 种代谢型判读方法为: \* 1/\* 1 为快代谢型; \* 1/\* 2 和 \* 1/\* 3 为中代谢型; \* 2/\* 2、\* 2/\* 3 和 \* 3/\* 3 均为慢代谢型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 进行统计分析, 计数资料采用百分数表示, 组间比较用  $\chi^2$  检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CYP2C19 基因型分布 采用“等位基因特异 PCR”技术结合荧光探针检测 CYP2C19 基因, 本研究 3 408 例患者中, 结果显示 CYP2C19 基因型由多到少分布为 \* 1/\* 2、\* 1/\* 1、\* 2/\* 2、\* 1/\* 3、\* 2/\* 3、\* 3/\* 3, 所占比例分别为 40.5%、40.1%、10.3%、5.9%、3.0%、0.3%。其男女基因型所占比例, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 2.807$ ,  $P = 0.73$ ), 见图 1。

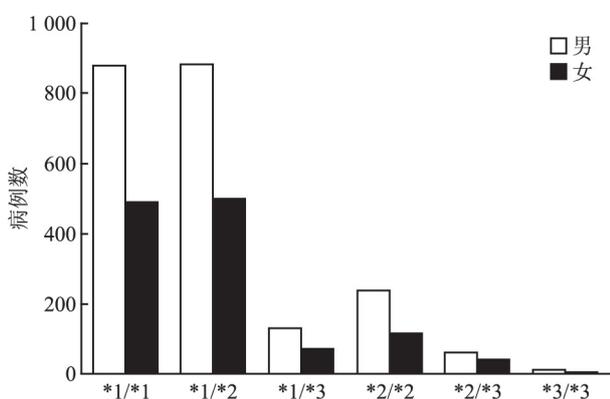


图 1 CYP2C19 基因型在不同性别中的分布 [n(%) ]

## 2.2 CYP2C19 等位基因在不同性别中的频率分布

本研究 3 408 例患者中, CYP2C19\* 1、\* 2、\* 3 的基因频率分别为 63.3%、32.0%、4.7%, 其在不同性别中的比例, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.67$ ,  $P = 0.715$ ), 见图 2。

## 2.3 氯吡格雷不同代谢型在不同性别中的分布

本研究 3 408 例患者中, 根据基因型判读, 氯吡格雷代谢型主要以中代谢型 (46.4%) 为主, 快代谢型和慢代谢型分别为 40.1% 和 13.5%, 其在不同性别中的比例, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.471$ ,  $P = 0.79$ ), 见图 3。

2.4 不同年龄段氯吡格雷代谢型于不同性别中的分布 将 3 408 例患者分为 6 个年龄段, 各年龄段各代谢型分别在男性和女性中所占比例比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

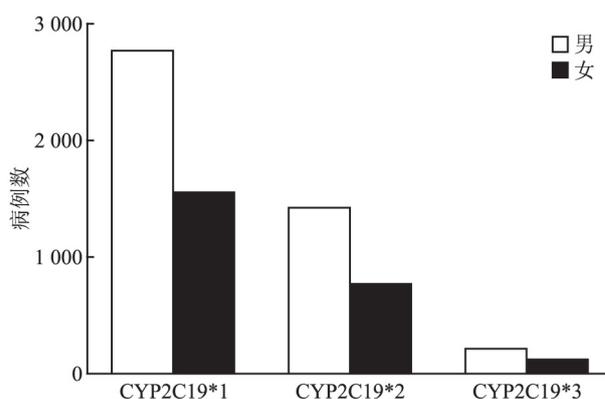


图 2 CYP2C19 等位基因在不同性别中的频率分布 [n(%) ]

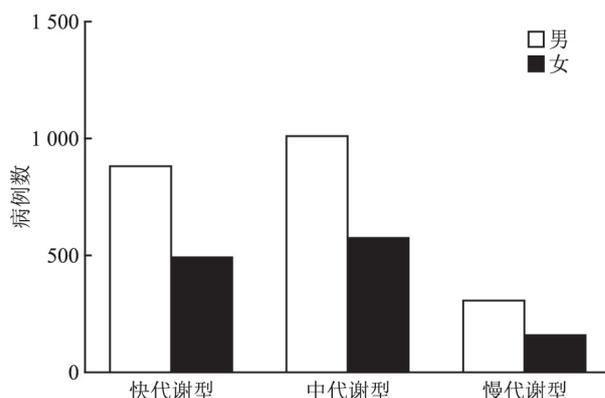


图 3 氯吡格雷代谢型在不同性别中的分布 [n(%) ]

表 1 不同年龄段氯吡格雷代谢型在不同性别中的分布 [n(%) ]

年龄段 (岁)	男性			女性		
	快代谢型	中代谢型	慢代谢型	快代谢型	中代谢型	慢代谢型
≤40	37(42.5)	39(44.8)	11(12.6)	12(52.2)	6(26.1)	5(21.7)
41~50	99(39.3)	118(46.8)	35(13.9)	30(34.5)	47(54.0)	10(11.5)
51~60	185(38.4)	232(48.1)	65(13.5)	88(35.8)	117(47.6)	41(16.7)
61~70	273(39.9)	318(46.5)	93(13.6)	185(43.5)	191(44.9)	49(11.5)
71~80	214(40.2)	242(45.4)	77(14.4)	136(40.1)	162(47.8)	41(12.1)
≥80	67(46.2)	58(40)	20(13.8)	41(39.0)	51(48.6)	13(12.4)
合计	875	1007	301	492	574	159
$\chi^2$ 值		3.921			12.502	
P 值		0.951			0.253	

### 3 讨论

随着人口老年化数量不断增加,我国心脑血管疾病患者基数也在不断增长,而氯吡格雷作为第二代噻吩吡啶类抗血小板药物,在心脑血管疾病的防治中效果显著,目前国内外临床研究<sup>[8]</sup>均提示经皮冠状动脉介入治疗术后可通过服用氯吡格雷以达抗血小板的功能,从而降低心血管事件发生率;同时,指南<sup>[9]</sup>指出氯吡格雷还可作为缺血性卒中及短暂性脑缺血发作二级预防的首选抗血小板药物。但是,氯吡格雷抗血小板作用普遍存在着个体差异,部分患者服用常规剂量氯吡格雷仍有较高的血小板活性,血栓事件的发生概率往往增加,以往认为这可能与药物间相互作用或患者依从性差等有关,而氯吡格雷本身为无活性的一种前体药物,需在肝脏经过 CYP2C19 酶代谢生成活性产物,从而发挥抑制血小板的激活和聚集的作用<sup>[10]</sup>。而 CYP2C19 蛋白主要由 CYP2C19 基因介导,越来越多研究<sup>[10]</sup>表明 CYP2C19 基因多态性对 CYP2C19 酶活性起着重要作用。CYP2C19 基因位于 10 号染色体 10q24 上,除了野生型等位基因 CYP2C19\*1,还存在多种单核苷酸多态性,而 CYP2C19\*2 和 CYP2C19\*3 为中国人最常见的等位基因,也称为功能缺失性等位基因。研究<sup>[11]</sup>显示其在氯吡格雷抵抗人群出现的频率大大高于非氯吡格雷抵抗人群,因此在实际临床应用中,可通过患者 CYP2C19 基因代谢型适当调整氯吡格雷剂量,以真正做到个体化医疗。

随着精准医疗的提出,越来越多热门遗传基因检测再次被人们所提及和关注,相关报道指出 CYP2C19 存在着广泛的地域、种族差异,探讨不同地区不同种族的 CYP2C19 基因多态性的分布特征将有助于指导临床用药。本研究的主要人群为南昌大学第一附属医院的心脑血管患者,共计 3 408 例患者,男 2 183 例,22~94 岁,中位年龄 67 岁,女 1 225 例,17~95 岁,中位年龄 70 岁,本研究采用“等位基因特异 PCR”技术结合荧光探针的方法对 3 408 例江西地区心脑血管患者进行 CYP2C19 基因多态性检测,结果显示 CYP2C19\*1、\*2、\*3 的基因频率分别为 63.3%、32.0%、4.7%,其 CYP2C19\*1 型的携带率最高;而 CYP2C19\*1/\*1、CYP2C19\*1/\*2、CYP2C19\*1/\*3、CYP2C19\*2/\*2、CYP2C19\*2/\*3、CYP2C19\*3/\*3 基因型的频率分别为 40.1%、40.5%、5.9%、10.3%、3.0%、0.3%,CYP2C19\*1/\*2 型占江西地区的主导;其正常代

谢型、中间代谢型、慢代谢型的频率分别为 40.1%、46.4%、13.5%,以中间代谢型为主,与张爱玲等<sup>[12]</sup>报道一致,仍有 13.5% 的患者为慢代谢型,其氯吡格雷低反应或氯吡格雷抵抗现象严重,应考虑调整剂量或换药;不同性别之间 CYP2C19 基因型及代谢型差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),各年龄段各代谢型差异也无统计学意义( $P > 0.05$ )这与相关文献<sup>[13-14]</sup>报道一致。本研究病例基数较大、年龄跨度大以及性别分布合理,能较好地体现江西地区 CYP2C19 基因多态性的分布特征。

心脑血管疾病作为我国疾病主要死因之一,为了更好地预防和治疗,氯吡格雷用药前的 CYP2C19 基因分型检测势在必行,本研究显示 CYP2C19\*1/\*2 型占江西地区的主导基因型,同时患者的年龄和性别与 CYP2C19 基因型分布并无直接影响,CYP2C19\*1/\*2 作为中代谢型,据 2013 版临床药物基因组学实施联盟指南<sup>[15]</sup>指出 CYP2C19\*1/\*2 型急性冠脉综合征/经皮冠状动脉介入治疗患者常规剂量氯吡格雷可能效果不佳,可根据疗效适当小幅增加剂量,或换其他抗血小板药物,从而为患者制定个体化医疗方案,更大程度地降低不良事件的发生。

### 参考文献

- [1] Yi X, Lin J, Zhou Q, et al. Clopidogrel resistance increases rate of recurrent stroke and other vascular events in chinese population [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis 2016, 25(5): 1222-8.
- [2] Barysheva V, Ketova G. Allele frequency distribution of CYP2C19 genotypes associated with clopidogrel resistance in russian population [J]. Clin Ther 2016, 38(10S): e25-6.
- [3] Arya V, Mahajan P, Saraf A, et al. Association of CYP2C19, CYP3A5 and GP II b/III a gene polymorphisms with aspirin and clopidogrel resistance in a cohort of Indian patients with coronary artery disease [J]. Int J Lab Hematol 2015, 37(6): 809-18.
- [4] Liu R, Zhou Z Y, Chen Y B, et al. Associations of CYP3A4, NR1I2, CYP2C19 and P2RY12 polymorphisms with clopidogrel resistance in Chinese patients with ischemic stroke [J]. Acta Pharmacol Sin 2016, 37(7): 882-8.
- [5] Moon J Y, Franchi F, Rollini F, et al. Role of genetic testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention [J]. Expert Rev Clin Pharmacol 2018, 11(2): 151-64.
- [6] Siasos G, Oikonomou E, Vavuranakis M, et al. Genotyping, platelet activation, and cardiovascular outcome in patients after percutaneous coronary intervention: two pieces of the puzzle of clopidogrel resistance [J]. Cardiology 2017, 137(2): 104-13.
- [7] Kernan W N, Ovbiagele B, Black H R, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American

- Heart Association/American Stroke Association[J]. *Stroke*, 2014, 45(7): 2160–236.
- [8] Levine G N, Bates E R, Blankenship J C, et al. 2015 ACC/AHA/SCAI focused update on primary percutaneous coronary intervention for patients with ST-elevation myocardial infarction: an update of the 2011 ACCF/AHA/SCAI guideline for percutaneous coronary intervention and the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines and the society for cardiovascular angiography and interventions[J]. *Circulation*, 2016, 133(11): 1135–47.
- [9] 中华医学会神经病学分会中华医学会神经病分会脑血管病学组, 王拥军, 刘鸣, 等. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4): 258–73.
- [10] Scott S A, Sangkuhl K, Gardner E E, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2011, 90(2): 328–32.
- [11] Hassani Idrissi H, Hmimch W, Khorb N E, et al. A synergic effect between CYP2C19\* 2, CYP2C19\* 3 loss-of-function and CYP2C19\* 17 gain-of-function alleles is associated with clopidogrel resistance among moroccan acute coronary syndromes patients [J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 46.
- [12] 张爱玲, 胡欣, 杨莉萍, 等. 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): 427–34.
- [13] 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): 606–9.
- [14] 李洁, 程筱雯, 汪波, 等. 安徽汉族冠心病患者 CYP2C19 基因多态性研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(5): 784–8.
- [15] 钟诗龙, 韩雅玲, 陈纪言, 等. 氯吡格雷抗血小板治疗个体化用药基因型检测指南解读 [J]. *中国实用内科杂志*, 2015, 35(1): 38–41.

## Detection of CYP2C19 gene polymorphism in patients with cardiovascular and cerebrovascular diseases from Jiangxi province

Yu Longhui<sup>1,2</sup>, Zhou Jie<sup>3</sup>, Ye Shuhui<sup>4</sup>, et al

<sup>1</sup>Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006;

<sup>2</sup>Dept of Cardiology, People's Hospital of Jiangxi Province, Nanchang 330006;

<sup>3</sup>Dept of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Jiangxi Province, Nanchang 330006;

<sup>4</sup>Medical College of Nanchang University, Nanchang 330031)

**Abstract Objective** To analyze the genotype distribution of cytochrome P450C19 (CYP2C19) in Jiangxi province. **Methods** By alleles specific PCR combined with fluorescence probe technique, A total of 3 408 patients were detected CYP2C19\* 1, \* 2 and \* 3 allele. **Results** The allele frequencies of CYP2C19\* 1, \* 2 and \* 3 were 63.3%, 32.0% and 4.7% respectively; and the distribution of CYP2C19\* 1/\* 1, CYP2C19\* 1/\* 2, CYP2C19\* 1/\* 3, CYP2C19\* 2/\* 2, CYP2C19\* 2/\* 3, CYP2C19\* 3/\* 3 were 40.1%, 40.5%, 5.9%, 10.3%, 3.0%, 0.3% respectively; and the distribution of extensive metabolism, intermediate metabolism and poor metabolism were 40.1%, 46.4%, 13.5%; The CYP2C19 genotypes and metabolism had no statistical difference in different genders ( $P > 0.05$ ); and also had no statistical difference in different age groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The major genotype of patients with cardiovascular and cerebrovascular diseases is CYP2C19 \* 1/\* 2 and the major metabolite is intermediate metabolism in Jiangxi province, then we can evaluate the clopidogrel resistance risk and formulate the personalized therapeutic scheme accurately, it will greatly reduce the probability of adverse medical events.

**Key words** cardiovascular and cerebrovascular diseases; CYP2C19 gene; clopidogrel