

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.05.010

川东北 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性 对华法林剂量的影响*

杨思芸, 梁 婧, 唐志立[△], 刘 涛, 苏 强

(四川省南充市中心医院, 四川 南充 637000)

摘要:目的 探讨川东北汉族人群华法林 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性与华法林剂量的关系。方法 选取 100 例无亲缘关系的川东北地区服用华法林的汉族患者, 采用荧光染色原位杂交测序法对其 CYP2C9 和 VKORC1 基因型进行基因检测, 随访并评估其 CYP2C9, VKORC1 对华法林剂量的影响。结果 CYP2C9 1075 基因中, AA 型为 89.00%, AC 型为 11.00%, CC 型为 0; VKORC1 1639 基因中 GG 型为 2.00%, AA 型为 86.00%, GA 型为 12.00%。所需的华法林剂量, CYP2C9 1075 AA 基因型为 (3.05 ± 0.87) mg/d, AC 基因型为 (2.13 ± 0.54) mg/d, 差异显著 ($P < 0.01$); VKORC1 1639 GG + GA 基因型为 (4.90 ± 1.22) mg/d, AA 基因型为 (2.58 ± 0.65) mg/d, 差异显著 ($P < 0.01$)。结论 川东北地区汉族患者 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性会影响华法林的剂量, CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性的检测结果可为临床治疗调整华法林剂量提供依据。

关键词: 川东北汉族人群; CYP2C9; VKORC1; 基因多态性; 华法林; 剂量; 合理用药; 个体化给药

中图分类号: R969; R973+.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)05-0030-03

Effects of CYP2C9 and VKORC1 Gene Polymorphisms on Warfarin Dosage in Northeast Sichuan

YANG Siyun, LIANG Jing, TANG Zhili, LIU Tao, SU Qiang

(Nanchong Central Hospital, Nanchong, Sichuan, China 637000)

Abstract: Objective To investigate the relationship between CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms on warfarin dosage in Han patients in Northeast Sichuan. **Methods** CYP2C9 and VKORC1 genotypes were detected by using fluorescent in situ hybridization staining sequencing detection system from 100 unrelated Han patients in Northeastern Sichuan, and 100 patients taking warfarin were followed up to assess the effect of CYP2C9 and VKORC1 on warfarin dosage. **Results** There was 89.00% of AA type, 11.00% of AC type and 0 of CC type in CYP2C9 1075 gene. There was 2.00% of GG type, 86.00% of AA type and 12.00% of GA type in VKORC1 1639 gene. The required warfarin dosage were (3.05 ± 0.87) mg/d and (2.13 ± 0.54) mg/d for CYP2C9 1075 AA genotype and AC genotype respectively, the difference was significant ($P < 0.01$). The required warfarin dosage were (4.90 ± 1.22) mg/d and (2.58 ± 0.65) mg/d for VKORC1 1639 GG + GA genotype and AA genotype respectively, the difference was significant ($P < 0.01$). **Conclusion** The CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms in Han patients in Northeast Sichuan can affect warfarin dosage. The detection results of CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphism can provide the basis for warfarin dosage adjustment in the clinical treatment.

Key words: Han patients in Northeastern Sichuan; CYP2C9; VKORC1; gene polymorphism; warfarin; dosage; rational drug use; individualized drug administration

华法林是需要长期抗凝治疗患者的常用药物, 适应证包括静脉血栓栓塞性疾病(VTE)的一级和二级预防、心房颤动血栓栓塞的预防、瓣膜病、人工瓣膜置换术和心腔内血栓形成等^[1]。目前, 全球有数百万患者在使用华法林^[2]。但由于华法林的治疗窗非常窄, 个体差异大, 且在体内受到各种因素的影响, 包括遗传、生理病理、合并用药、基因多态性等, 其中基因多态性的影响最显著。受基因的影响, 白种人和中国人在国际标准化比值(INR)达标时对华法林的需求剂量就呈现明显不同^[3-5]。目

前, 国内外大量研究发现, 细胞色素 P450 2C9(CYP2C9)和维生素 K 环氧化物还原酶复合体 1(VKORC1)基因多态性显著影响华法林剂量^[6-8]。本研究中旨在探讨川东北患者 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性对华法林剂量的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入标准: 汉族; 年龄 > 18 岁; 服用华法林(华法林钠片, 上海信谊药厂有限公司, 规格为每片 2.5 mg)9 d

*基金项目: 四川省科技计划项目[2016JY0192]; 四川省南充市科技计划项目[16YFZJ0030]。

第一作者: 杨思芸, 女, 大学本科, 主任药师, 研究方向为临床药学, (电子信箱)yangsiyun8866@aliyun.com。

[△]通信作者: 唐志立, 男, 大学本科, 主任药师, 研究方向为药事管理, (电子信箱)1003955916@qq.com。

至10年;INR 1.5~3.0;治疗期间未服用影响华法林的药物或食物;具备定期门诊复诊条件;治疗过程中规律服药;同意参与试验和随访。

排除标准:近期手术;严重的肝、肾或甲状腺疾病;急性心肌梗死后1个月内;感染性心内膜炎;活动性消化性溃疡;需长期服用非甾体类抗炎药;需使用试验药物以外的抗血小板、抗凝药物及溶栓药物;妊娠期;恶性肿瘤;确诊或可疑血液系统疾病(轻、中度贫血除外),血小板缺乏症(血小板 $<100 \times 10^9/L$);进食不佳。

病例选择:前瞻性纳入我院心内科、心胸外科、普外三科和呼吸内科2014年12月至2018年6月住院的患者100例。

1.2 基因检测

应用TL988-Ⅱ型荧光染色原位杂交测序检测系统(微测序基因分析系统,西安天隆科技有限公司),直接读取血液白细胞中的目标SNP位点。

抽取3 mL静脉血,置EDTA抗凝管,上下颠倒混匀,再取150 μ L加入事先配置好的NH₄Cl预处理液离心管中,3 000 r/min离心5 min;吸走残余液体,加入1 mL生理盐水彻底重悬白细胞,然后室温3 000 r/min,离心5 min;将残余液体吸干净,向富集有白细胞的离心管中加入100 μ L PHARM-GENE 01 SNP分析保存液,用移液器反复吹打混匀直至成透明无团块状,室温静置20~30 min;各取1 μ L经上述流程处理后的白细胞样本,分别加入到CYP2C9 1075A>C(rs1057910),VKORC1 1639G>A(rs9923231) PHARM-GENE200SNP分析样品处理试剂,震荡混匀,短暂离心;将待检测的样品处理试剂按照相应序号位置,置于实时荧光检测仪中,选

择检测基因类型,开始检测。每月随访,记录患者所服用的华法林剂量和INR值(1.5~3.0)。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以率(%)表示,行 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP2C9 1075A>C和VKORC1 1639G>A基因型分布

100例患者中,CYP2C9 1075A>C和VKORC1 1639G>A基因型分布相关结果见表1和表2。不同基因型患者在性别、年龄、身高、体质量方面均无统计学意义($P>0.05$),见表3。

2.2 不同基因型对患者华法林维持剂量的影响

100例患者各基因型的维持剂量及INR见表4。不同基因型患者的INR值两两相比,无统计学意义($P>0.05$)。CYP2C9 AC型患者的维持剂量明显低于AA型患者,VKORC1 AA型患者的维持剂量明显低于GG,GA型患者($P<0.01$)。

表1 服用华法林的患者CYP2C9基因型分布情况

性别	AA		CC		AC	
	例数	率(%)	例数	率(%)	例数	率(%)
男($n=49$)	45	91.84	0	0	4	8.16
女($n=51$)	44	86.27	0	0	7	13.73

表2 服用华法林的患者VKORC1基因型分布情况

性别	GG		AA		GA	
	例数	率(%)	例数	率(%)	例数	率(%)
男($n=49$)	1	2.04	46	93.88	2	4.08
女($n=51$)	1	1.96	40	78.43	10	19.61

表3 不同基因型患者临床资料比较($\bar{X} \pm s$)

项目	CYP2C9		VKORC1		
	AA	AC	GG	GA	AA
年龄(岁)	60.78 $\pm$ 10.61	59.02 $\pm$ 9.82	58.92 $\pm$ 9.77	59.11 $\pm$ 10.23	59.32 $\pm$ 9.37
身高(cm)	160.22 $\pm$ 11.65	160.65 $\pm$ 10.91	161.02 $\pm$ 11.04	160.56 $\pm$ 9.98	160.02 $\pm$ 11.61
体质量(kg)	55.52 $\pm$ 13.61	56.45 $\pm$ 13.26	55.74 $\pm$ 14.25	56.07 $\pm$ 14.75	57.32 $\pm$ 13.87

表4 不同基因型患者华法林维持剂量和INR情况比较

基因	基因型	例数	维持剂量(mg)	INR
CYP2C9	AA	89	3.05 $\pm$ 0.87	2.02 $\pm$ 0.24
	AC	11	2.13 $\pm$ 0.54*	1.95 $\pm$ 0.31
VKORC1	GG+GA [△]	14	4.90 $\pm$ 1.22	2.06 $\pm$ 0.22
	AA	86	2.58 $\pm$ 0.65*	2.01 $\pm$ 0.27

注:[△]GG型有2例,GA型有12例;与AA型比较,* $P<0.01$;与GG+GA比较,* $P<0.01$ 。

3 讨论

目前,临床主要通过监测凝血酶原时间、INR 对华法林用量进行调整,但这种监测方法调整剂量的周期较长,患者发生血栓或出血的可能性很大,INR 值达标也不一定表示达到了抗凝目的^[9]。老年人由于自身器官功能及生理特点,服用华法林的剂量更难调整,调整剂量期间抗凝过量导致严重合并症的风险大大提高^[10]。

近年来大量研究表明,CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性显著影响华法林剂量^[6-8]。CYP2C9 是华法林的主要代谢酶,主要突变型是 CYP2C9 * 2(C430T,rs1799853)和 CYP2C9 * 3(A1075C,rs1057910),突变均导致酶活性下降,华法林代谢减慢,需减少华法林剂量^[11-12]。维生素 K 环氧化物还原酶(VKOR)是华法林的作用靶点,其编码基因 VKORC1 突变导致酶活性下降,编码的产物 VKOR 减少,华法林剂量需求减少^[12]。VKORC1 和 CYP2C9 基因多态性介导的给药模型可解释 53.1% ~ 62.8% 华法林维持剂量个体差异^[13-14]。

由表 4 可知,发现携带 AC 基因型的患者华法林维持剂量明显低于携带 AA 基因型的患者($P < 0.01$),提示携带 C 等位基因的患者体内华法林代谢较慢,与国内外研究结果一致^[11-12,15-16]。同时,发现 AA 基因型的患者华法林维持剂量明显低于 GG 型与 GA 型($P < 0.01$),提示突变纯合型 AA 基因型患者体内华法林代谢明显较慢,与国内外文献^[11-12,15-16]报道一致。本研究结果提示,携带 CYP2C9 1075 AC 基因型与 VKORC1 1639 AA 基因型的患者服用华法林时应适当减少华法林的剂量。

综上所述,川东北地区汉族人群中法法林维持剂量虽与 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性均有关,因此 CYP2C9 基因多态性的检测结果作为老年患者华法林首次给药剂量和维持剂量的指导依据很有必要。但由于本研究样本量较小,且影响华法林剂量及药效的影响因素众多,仍需进一步开展更多种基因型的前瞻性试验研究,以便进行更精确地分析。

参考文献:

[1] 中华医学会心血管病学分会. 华法林抗凝治疗的中国专家共识[J]. 中华内科杂志,2013,52(1): 76-82.
[2] 史佩,王楠,杨立霞. 华法林药物相关基因组学研究进展[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2016,4(30): 20-22.
[3] YUAN HY, CHEN JJ, LEE MT, et al. A novel functional VKORC1 Promoter Polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity[J]. Hum Mol Genet,

2005,14(13): 1745-1751.

- [4] 张敏,王果,周宏激. 华法林个体差异的遗传药理学因素[J]. 中国药理学通报,2008,24(7): 857-860.
[5] GAN GG, PHIPPS ME, LEE MMT, et al. Contribution of VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms in the interethnic variability of warfarin dose in Malaysian populations[J]. Annals of Hematology, 2011,90(6): 635-641.
[6] DANG MTN, HAMBLETON J, KAYSER SR. The influence of ethnicity on warfarin dosage requirement[J]. Ann Pharmacother, 2005, 39(6): 1008-1012.
[7] SCONCE EA, KHAN TI, WYNNE HA, et al. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen[J]. Blood, 2005, 106(7): 2329-2333.
[8] SHITAKE F, MCGINNIS R, BOURGEOIS S, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose[J]. PLoS Genet, 2009,5(3): e1000433.
[9] CALDWELL MD, BERG RL, ZHANG KQ, et al. Evaluation of Genetic Factors for Warfarin Dose Prediction[J]. Clin Med Res, 2007,5(1): 8-16.
[10] GARCIA D, CROWTHER MA, AGENO W. Practical management of coagulopathy associated with warfarin[J]. BMJ, 2010, 340(7752): 918-920.
[11] SILAN C, DOGAN OT, SILAN F, et al. The prevalence of VKORC1, 1639 G>A and CYP2C9 * 2 * 3, genotypes in patients that requiring anticoagulant therapy in Turkish population[J]. Molecular Biology Reports, 2012,39(12): 11017-11022.
[12] RATHORE SS, AGARWAL SK, PANDE S, et al. Frequencies of VKORC1 - 1639 G>A, CYP2C9 * 2 and CYP2C9 * 3 genetic variants in the Northern Indian population[J]. Bioscience Trends, 2010,4(6): 333.
[13] 阳丽梅,黄旭慧,王少明,等. 基于 CYP2C9、VKORC1 及 CYP4F2 基因多态性的华法林给药模型的验证[J]. 中国医院药学杂志,2013,33(23): 1957-1961.
[14] 张晓丹,赵红丽,李潞,等. 非瓣膜病房颤患者 VKORC1 与 CYP2C9 基因多态性华法林抗凝剂量模型临床疗效评价[J]. 中国心血管病研究,2016,14(7): 639-642.
[15] LIMDI NA, WIENER H, GOLDSTEIN JA, et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 on warfarin response during initiation of therapy[J]. Blood Cells Molecules & Diseases, 2009, 43(1): 119-128.
[16] 刘佳,朱华,陆强,等. 基因多态性对华法林稳态剂量和模型预测剂量的相关性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2017,37(11): 1078-1081.

(收稿日期:2018-08-14)