

基因多态性与阿司匹林抵抗

苏冠华^{1,2}, 肖玮¹, 陈欣¹综述, 王朝晖¹审校

(华中科技大学 1. 同济医学院附属协和医院心血管病研究所,

2. 布朗-协和医院心血管生物工程基因治疗研究中心, 湖北省武汉市 430022)

[关键词] 药理学; 阿司匹林抵抗; 遗传多态性; 血小板膜糖蛋白; 环氧合酶; 冠状动脉疾病

[摘要] 目前发现, 促血栓形成性基因变异可能促进阿司匹林抵抗, 增加心血管事件的风险。这些基因多态性主要包括: 编码环氧合酶 1 的基因多态性; ④编码血小板膜糖蛋白 GPIIb/IIIa 的血小板抗原 1/血小板抗原 2 多态性; ④编码血小板膜糖蛋白 Ib/IX 的 807C/T 和 873G/A 多态性。通过基因多态性的检测不仅有助于阐明阿司匹林抵抗的发生机制, 同时也为患者选择合理有效的药物治疗、实现治疗策略的个体化以及临床转归的评估提供理论基础。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

在过去的 10 年, 基因变异在药物反应上的影响和作用已经逐步被揭示。基因多态性或者变异可以决定个体是否发生可干预的临床事件。近年来的研究焦点集中在一些与疾病相关或者影响药物治疗反应的特异性基因/等位基因的变异。一些特异的基因序列已经被证实能够使患者的血小板聚集更加容易。这些遗传基因与缺血性心血管事件相关。然而揭示血小板多态性和阿司匹林疗效之间联系的资料十分有限。本文就基因多态性与阿司匹林抵抗之间的关系作一综述。

1 血小板活化路径与多态性

临床上发现仅有部分人群表现出“阿司匹林抵抗”, 因而人们开始思考阿司匹林抵抗机制与治疗学方面关系的问题^[1, 2]。最近 PROSPECTAR 研究显示, 在稳定型冠心病患者中阿司匹林抵抗可能与主要心血管不良事件 (major adverse cardiovascular events, MACE) 的发生风险相关^[3]。

血小板活化路径可由血栓素 A_2 (thromboxane A_2 , TXA_2)、二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP)、胶原、凝血酶和糖蛋白 (glycoprotein, GP) Ib/IIIa 受体等诱导, 而阿司匹林仅能有效地阻断血栓素 A_2 途径。目前, 对于血小板活化路径及基因多态性与阿司匹林抵抗的关系研究主要集中在以下几个方面^[4, 5]: 血栓素激活途径中编码环氧合酶 1 (cyclooxygenase 1, COX-1) 的基因多态性; ④GP Ib/IIIa 激活途径中编码血小板膜 GP Ib 的血小板抗原 1/血小板抗原 2 (platelet antigen 1/platelet antigen 2, PLA1/PLA2) 多态性; ④胶原激活途径中编码血小板膜 GP Ib/IX 的 807C/T 和 873G/A 多态性; 血管性假血友病因子 (von willebrand factor, vWF)、5-二磷酸腺苷

受体 P2Y1 的基因多态性以及因子 XIII Val34Leu 多态性。

此外, 血小板尚可通过其他旁路途径活化。在炎症、损伤和促血小板聚集因子如凝血酶等存在的情况下, 花生四烯酸可以通过脂氧酶代谢途径代谢成过氧化羟基廿碳四烯酸和羟基廿碳四烯酸, 后两者是强有力的白细胞趋化因子, 白细胞又可以释放前列腺素、血栓素和其他趋化因子, 导致血小板活化。然而, 阿司匹林并不能阻断这一途径, Carson 等^[6]的研究也证明了这一点。同时, 前列腺素水平增高, 也可以产生阿司匹林抵抗^[7]。花生四烯酸经过脂酶非氧化途径生成前列腺素, 为前列腺素类化合物作用的生理模拟剂。8 前列腺素 F_2 在血小板膜上的受体类似于 TXA_2 的受体, 在 ADP、胶原等诱导剂共同存在时, 可引起血小板聚集, 且不被阿司匹林所拮抗。在氧化、应激时, 患者的前列腺素水平升高, 可以导致血小板活化、血栓形成, 而阿司匹林不能抑制前列腺素水平升高所致的血栓形成。因此, 对多种止血因子, 血小板活化、粘附和聚集途径以及基因多态性在阿司匹林抵抗中的作用的的评价非常必要。

2 环氧合酶 1 基因多态性

环氧合酶 1 (COX-1) 是类花生酸途径中将花生四烯酸转化成前列腺素 G 和 H 的第一个限速酶。阿司匹林通过不可逆地抑制 COX-1 阻断了 TXA_2 的形成, 因此 COX-1 的基因多态性可能意味着某些阿司匹林抵抗患者的分子基础。

不同的个体之间可能存在 COX-1 基因单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 现象。SNP 可引起氨基酸替换、启动子连接部位的变化, 因而对内显子或外显子的功能均有显著影响。Macchi 等^[8]认为, 这种多态性影响到 COX-1 蛋白的结构或构象, 使其对阿司匹林产生抑制效果的敏感性极不均一, 从而影响阿司匹林的抗血小板作用。此外, COX-1 的基因多态性还可以影响酶的表达、生物化学功能以及药理学因子间的相互作用。

Maree 等^[9]将 144 位冠心病患者按 COX-1 单核苷酸多态性分为五组 [A-842G, C22T (R8W), G128A (Q41Q), C644A

[收稿日期] 2007-05-25 [修回日期] 2007-10-25

[作者简介] 苏冠华, 博士研究生, 主要从事冠心病的基础与临床、外周动脉疾病的组织工程—基因治疗研究, E-mail 为 suguanhua@163.com。通讯作者王朝晖, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病与心血管免疫研究, E-mail 为 wwwzh@public.wh.hb.cn。肖玮, 硕士研究生, 主要从事冠心病与血栓研究。

(G213G) 和 C714A (L237M)], 均给予阿司匹林口服, 结果表明 COX-1 的遗传变异性可以同时调节花生四烯酸诱导的血小板聚集和血栓形成; 病人对阿司匹林的反应部分决定于 COX-1 的基因型。Gonzalez-Conejero 等^[10]以血小板功能分析器-100(PAF-100)检测的凝血时间、尿 11-脱氢血栓素 B₂(11-Dehydro Thromboxane B₂, 11-dTXB₂) 水平等生物化学指标评价了 24 名健康志愿者阿司匹林的药效与 COX-1 的 C50T 多态性之间的关系, 实验发现, COX-1 的 50T 等位基因与服用阿司匹林前后的高水平尿 11-dTXB₂(TXA₂ 代谢产物) 密切相关。Ulrich 等^[11]研究了 COX-1 的 4 种基因多态性(R8W, L15-L16del, P17L, L237M) 与结肠直肠癌之间的关系, 并评价了在此人群中阿司匹林的保护效应, 研究者发现携带 P17L 基因型的患者服用阿司匹林之后比那些未服用阿司匹林者发生结肠直肠癌的风险要小。因此, 他们推测这种 COX-1 的 P17L(C50T) 基因多态性可能影响了阿司匹林的遗传药理学效应。最近, 一项大样本研究调查了中国人人群中 COX-1 的 A-842G 和 C50T 基因多态性频率及其与阿司匹林抵抗之间的关系^[12], 结果发现, 在中国人群中 COX-1 的 A-842G 和 C50T 基因多态性分布极为罕见, 与之前的高加索人种的系列研究相比, 这些功能基因的多态性对中国人群服用阿司匹林的药效动力学影响较小。同时提示在临床一遗传药理学研究中人种的差异可能发挥了重要影响。

理论上, COX-1 基因的多态性导致 COX 活性的降低将减少 TXA₂ 的生成, 同时减少了阿司匹林的需求。然而, 如果 COX 基因功能失调, TXA₂ 还可能通过不同于 COX 的其他机制生成。人类的 COX 基因多态性如何在阿司匹林阻断 TXA₂ 路径后发挥作用仍有待于进一步研究。

3 血小板抗原 1—血小板抗原 2 基因多态性

GP IIb/IIIa 受体是血小板激活的最后共同通道。迄今已发现 5 种 GP IIb 的多态性, 较为常见的是外显子 2 第 1565 位氨基酸的突变, 即 T1565/C(Leu33/Pro), 分别决定了 PLA1 和 PLA2 两种等位基因, 编码 Leu 的位点称为 PLA1, 编码蛋白的位点称为 PLA2。

1996 年, Weiss 等^[13]的研究证实 PLA2/A2 纯合子与 PLA1/A2 杂合子相比, 前者应用阿司匹林后的抗血小板聚集作用较差。他们认为在急性冠状动脉事件中, PLA2⁺ 的患者应用特异性 GP IIb/IIIa 抑制剂疗效要好于阿司匹林疗法。随后, 进一步的研究相继观察到 GP IIb/IIIa 受体基因多态性与出血时间以及血小板聚集的一些非特异的指标有关联, PLA2 等位基因与 PLA1 相比, 可以明显缩短出血时间, 促进凝血和增高血小板反应性, 更倾向于促进血栓的形成, 从而参与了阿司匹林抵抗的发生。近年, Papp 等^[14]研究也发现, 阿司匹林抵抗患者中 PLA2 等位基因出现的频率要明显高于那些对阿司匹林有良好反应的受试者, 而且该研究中所有 PLA2/A2 基因型患者对阿司匹林的抗血小板反应均不良。这就提示 PLA2 等位基因可能与阿司匹林疗法反应的不充分、不敏感相关。此外, Burr 等^[15]对 12 项流行病学研究的荟萃分析发现, PLA2 的多态性能够增加发生冠心病的风险。

然而, Macchi 等^[16]的研究显示, 阿司匹林抵抗和 PLA1/A1 基因型明显相关。Logistic 回归分析表明, 血小板 PLA1/A1 基因型和性别是阿司匹林抵抗的独立预测因子。他们认为, 可能是一种 PLA1 等位基因产生的目前尚未明确的信号组件受到了抑制。Pamukcu 等^[17]的研究发现, 在行支架植入术后的稳定型冠心病患者中 PLA1/A1 比 PLA1/A2 基因型携带者更容易对小剂量阿司匹林治疗发生抵抗。此外, 一些研究显示 PLA1/A1 纯合子个体可能倾向于早期动脉粥样硬化的发生以及稳定型冠心病的快速进展, 而携带 PLA2 等位基因个体则更倾向于发生血栓形成的并发症^[18]。

4 糖蛋白 iv a 807C/T 基因多态性

血小板粘附于斑块破裂处血管内皮下胶原是启动血小板活化的重要步骤。GP iv a/α_a 与胶原的结合对启动血小板活化进而形成血栓起重要作用。Kunicki 等^[19]研究发现, 血小板膜 GP iv a/α_a 分子数目与 GP iv a 基因 807C/T 二态性(GP iv a 基因序列 807 位核苷酸发生 C/T 转换) 显著关联, T 等位基因的纯合子(TT) 和杂合子(TC) 表达类似的高水平 GP iv a/α_a 分子, 而 C 等位基因的纯合子(CC) 表达低水平的 GP iv a/α_a 分子。GP iv a 807T 等位基因携带者的血小板表达高水平的 GP iv a/α_a 分子, 从而对胶原的粘附力增强, 影响血小板的激活、聚集, 促进血栓的形成^[19]。进一步的研究^[20]表明, 不管阿司匹林的抗血小板聚集作用, 患者可因为血小板对胶原的敏感性增加而发生阿司匹林抵抗。Homonick 等^[21]研究了阿司匹林药效动力学与血小板功能之间的关系, 结果发现血小板表面 GP iv a/α_a 分子表达水平最高的患者表现出的胶原/肾上腺素诱导的凝血时间最短。研究者由此推测这种基因决定的胶原受体(GP iv a/α_a) 密度可以同时影响基础的凝血时间和阿司匹林诱导的凝血时间。因此, GP iv a807C/T 基因多态性可能通过改变血小板表面 GP iv a/α_a 分子的表达水平, 继而影响血小板对胶原的敏感性以及阿司匹林诱导的凝血时间而参与阿司匹林抵抗的发生。同时有研究认为, GP iv a807T 等位基因引起的血小板表面 GP iv a/α_a 受体密度的增加, 可能意味着一种潜在的血栓形成危险因子促进阿司匹林抵抗的发生^[1]。这种血小板胶原受体密度对阿司匹林抵抗的潜在影响可能与其他心血管危险因子存在协同效应。病例一对照研究发现, GP iv a 807T 等位基因与非致命性心肌梗死的发生显著相关^[22, 23]。然而, 也有部分研究认为 GP iv a 807C/T 基因多态性与阿司匹林抵抗无关^[10, 16]。

5 结语与展望

综上所述, 目前对于各种基因多态性与阿司匹林抵抗之间的关系尚未形成广泛的共识, 仍有待进一步解决的问题有: 需要更多的大样本、多中心、前瞻性的研究来明确基因表型与阿司匹林抵抗以及临床终点事件之间的关系; ④明确如血液凝固和纤维蛋白溶解酶因子的基因变异等因素对阿司匹林抵抗与基因多态性之间联系的影响; ⑤开发方便、快

捷、廉价的相关基因多态性检测技术以适于不同人种大规模人群的筛查和临床应用。

由于阿司匹林主要通过抑制血小板的活化、聚集发挥作用,故深入研究血小板激活聚集途径中各环节活性酶及受体基因多态性将可能对阿司匹林抵抗发生的分子机制提供理论依据和新思路。同时,将基因分型应用于临床及流行病学,不仅有助于各种心血管疾病的高危人群进行筛选和一级预防,尚可为临床转归的评估提供新思路。通过基因芯片鉴定不同基因型对药物的不同反应,更针对性选择高效药物,实现治疗策略的个体化将是我们今后努力的方向。

[参考文献]

- [1] Cambria-Kiely JA, Gandhi PJ. Possible mechanisms of aspirin resistance [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2002, **13** (1): 49-56.
- [2] Patel D, Moonis M. Clinical implications of aspirin resistance [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2007, **5** (5): 969-975.
- [3] Pamukcu B, Oflaz H, Onur I, Oncul A, Ozcan M, Umman B, et al. Clinical relevance of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease: a prospective follow-up study (PROSPECTAR) [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2007, **18** (2): 187-192.
- [4] Szczeklik A, Musia J, Undas A, Sanak M. Aspirin resistance [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, **3** (8): 1 655-662.
- [5] Horiuchi H. Recent advance in antiplatelet therapy: the mechanisms, evidence and approach to the problems [J]. *Ann Med*, 2006, **38** (3): 162-172.
- [6] Carson SN, Demling RH, Esquivel CO. Aspirin failure insymptomatic atherosclerotic carotid artery disease [J]. *Surgery*, 1981, **90** (6): 1 084-092.
- [7] Cipollone F, Ciabattini G, Patrignani P, Pasquale M, Di Gregorio D, Bucciarelli T, et al. Oxidant stress and aspirin insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina [J]. *Circulation*, 2000, **102** (9): 1 007-010.
- [8] Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Allal J, Mauco G, et al. Resistance to aspirin in vitro is associated with increased platelet sensitivity to adenosine diphosphate [J]. *Thromb Res*, 2002, **107** (122): 45-49.
- [9] Maree AO, Curtin RJ, Chubb A, Dolan C, Cox D, O'Brien J, et al. Cyclooxygenase 1 haplotype modulates platelet response to aspirin [J]. *J Thromb Haemost*, 2005, **3** (10): 2 340-345.
- [10] Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J, Acuna C, Guerrero JA, Vicente V. Biological assessment of aspirin efficacy on healthy individuals: heterogeneous response or aspirin failure [J]. *Stroke*, 2005, **36** (2): 276-280.
- [11] Ulrich CM, Bigler J, Sparks R, Whitton J, Sibert JC, Goode EL, et al. Polymorphisms in PTGS1 (= COX-1) and risk of colorectal polyps [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004, **13** (5): 889-893.
- [12] Li Q, Chen BL, Ozdemir Vural, Ji W, Mao YM, Wang LC, et al. Frequency of genetic polymorphisms of COX1, GPIIIa and P2Y1 in a Chinese population and association with attenuated response to aspirin [J]. *Pharmacogenomics*, 2007, **8** (6): 577-586.
- [13] Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis [J]. *N Engl J Med*, 1996, **334** (17): 1 090-094.
- [14] Papp E, Havasi V, Bene J, Komlosi K, Czopf L, Magyar E, et al. Glycoprotein IIb/IIIa gene (PIA) polymorphism and aspirin resistance: is there any correlation [J]. *Ann Pharmacother*, 2005, **39** (6): 1 013-018.
- [15] Burr D, Doss H, Cooke GE, Goldschmidt-Clemon PJ. A meta-analysis of studies on the association of the platelet PIA polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of coronary heart disease [J]. *Stat Med*, 2003, **22** (10): 1 741-760.
- [16] Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Ragot S, Allal J, et al. Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet PIA1 (GP IIb/IIIa) polymorphism but not with C807T (GP Ia/IIb) and G-5T Kozak (GP Ib) polymorphisms [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, **42** (6): 1 115-119.
- [17] Pamukcu B, Oflaz H, Nisanci Y. The role of platelet glycoprotein IIIa polymorphism in the high prevalence of in vitro aspirin resistance in patients with intracoronary stent restenosis [J]. *Am Heart J*, 2005, **149** (4): 675-680.
- [18] Mikkelsson J, Perola M, Penttila A, Karhunen PJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa HPA-2 Met/VNTR B haplotype as a genetic predictor of myocardial infarction and sudden cardiac death [J]. *Circulation*, 2001, **104** (8): 876-880.
- [19] Kunicki TJ, Kritzik M, Annis DS, Nugent DJ. Hereditary variation in platelet integrin alpha 2 beta 1 density is associated with two silent polymorphisms in the alpha 2 gene coding sequence [J]. *Blood*, 1997, **89** (6): 1 939-943.
- [20] Kawasaki T, Ozeki Y, Igawa T, Kambayashi J. Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low-dose aspirin [J]. *Stroke*, 2000, **31** (3): 591-595.
- [21] Homonick M, Jilma B, Hergovich N, Stohlawetz P, Panzer S, Speiser W. Monitoring of aspirin(ASA) pharmacodynamics with the platelet function analyzer PFA-100 [J]. *Thromb Haemost*, 2000, **83** (2): 316-321.
- [22] Moshfegh K, Wuillemin WA, Redondo M, Lammle B, Beer JH, Liechti-Gallati S, et al. Association of two silent polymorphisms of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor with risk of myocardial infarction: a case-control study [J]. *Lancet*, 1999, **353** (9150): 351-354.
- [23] 赵永辉, 王燕妮, 祝家庆, 马爱群, 崔长琮, 赵庆斌. 血小板膜糖蛋白 IIb/IIIa 基因多态性与心肌梗塞的关系 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2003, **20** (5): 417-420.

(此文编辑 许雪梅)