

CYP2C19 681G > A 和 636G > A 基因多态性对冠心病行 PCI 术后服用氯吡格雷患者血小板活性及临床预后的影响

董丹红¹, 宋杰¹, 郑红艳¹, 仇马丽¹, 孙广昊¹, 张葵², 张春雷³, 徐标¹

(南京医科大学鼓楼临床医学院 1. 心内科, 2. 医学检验中心, 江苏省南京市 210008;

3. 南京仁天生物科技有限公司, 江苏省南京市 210019)

[关键词] CYP2C19; 基因多态性; 氯吡格雷; 冠心病; 血小板活性

[摘要] **目的** 观察 CYP2C19 681G > A、636G > A (CYP2C19 *2、*3) 基因多态性对冠心病行冠状动脉介入术后服用氯吡格雷患者残余血小板活性及临床预后的影响。**方法** 入选 2011 年 6 月至 2011 年 12 月因冠心病行经皮冠状动脉介入术者共 202 例, 根据 CYP2C19 基因型不同, 分为正常纯合子组 78 例 (CYP2C19 *1/*1)、单突变基因携带组 100 例 (CYP2C19 *1/*2、CYP2C19 *1/*3)、双突变基因携带组 24 例 (CYP2C19 *2/*2、CYP2C19 *2/*3), 对比三组间临床基本资料、残余血小板活性、半年内主要心血管事件及出血事件发生率。**结果** 三组间仅钙离子拮抗剂使用率存在差异 (正常纯合子组、单突变基因携带组和双突变基因携带组分别为 15.4%、29.0% 和 45.8%, $P=0.007$), 其余临床资料基本相似。口服氯吡格雷 5 天 (正常纯合子组、单突变基因携带组和双突变基因携带组分别为 $51.60\% \pm 17.21\%$ 、 $55.89\% \pm 14.92\%$ 和 $62.00\% \pm 9.75\%$, $P=0.060$) 及 3 个月时 ($49.45\% \pm 16.90\%$ 、 $55.98\% \pm 19.03\%$ 和 $57.64\% \pm 18.42\%$, $P=0.248$) 二磷酸腺苷诱导的血小板聚集率在三组间均未见明显差异。双突变基因携带组半年内非致死性心肌梗死发生率明显升高 (正常纯合子组、单突变基因携带组和双突变基因携带组分别为 0%、0% 和 8.3%, $P=0.001$), 而心绞痛复发、支架内血栓形成、急性左心衰竭、心源性死亡及出血事件发生率三组间未见明显差异。**结论** CYP2C19 681G > A 和 CYP2C19 636G > A 基因多态性与经皮冠状动脉介入术后服用氯吡格雷的冠心病患者早期残余血小板活性及临床预后相关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effect of CYP2C19 681G > A and 636G > A Polymorphisms on Residual Platelet Reactivity and Adverse Clinical Events in Clopidogrel-Treated Survivors after Percutaneous Coronary Intervention

DONG Dan-Hong, SONG Jie, ZHENG Hong-Yan, QIU Ma-Li, SUN Guang-Hao, ZHANG Kui, ZHANG Chun-Lei, and XU Biao
(Department of Cardiovascular Medicine, Drum Tower Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

[KEY WORDS] CYP2C19; Polymorphisms; Clopidogrel; Coronary Heart Disease; Platelet Reactivity

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of CYP2C19 681G > A and 636G > A (CYP2C19 *2 and *3) polymorphisms on residual platelet reactivity and adverse clinical events in clopidogrel-treated survivors after percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** 202 patients with coronary heart disease who received PCI and treated with clopidogrel were enrolled in our study from Jun 2011 to Dec 2011. Based on the number of the CYP2C19 mutation allele, patients were divided into normal group ($n=78$, CYP2C19 *1/*1), one mutation allele group ($n=100$, CYP2C19 *1/*2、CYP2C19 *1/*3) and two mutation alleles group ($n=24$, CYP2C19 *2/*2、CYP2C19 *2/*3). Baseline data, residual platelet reactivity, major adverse cardiac events and bleeding within half a year were observed. **Results**

There was no significant difference on baseline data among the groups besides Calcium channel blocker (normal group, one mutation allele group, two mutation alleles group: 15.4%, 29.0% and 45.8%, $P=0.007$). Adenosine diphosphate induced platelet aggregations had no difference among all groups, no matter within 5 days (normal group, one mutation allele

group, two mutation alleles group: $51.60\% \pm 17.21\%$, $55.89\% \pm 14.92\%$ and $62.00\% \pm 9.75\%$, $P=0.060$) or 3 months (normal group, one mutation allele group, two mutation alleles group: $49.45\% \pm 16.90\%$, $55.98\% \pm 19.03\%$, $57.64\% \pm 18.42\%$, $P=0.248$). The incidence of nonfatal myocardial infarction was higher in two mutation alleles group than the other groups(normal group, one mutation allele group, two mutation alleles group: 0% , 0% and 8.3% , $P=0.001$); whereas, the incidence of angina recurrence, stent thrombosis, acute heart failure, cardiac death and the bleeding had no difference among all groups. **Conclusion** Among the patients who received PCI and treated with clopidogrel, CYP2C19 681G > A and 636G > A polymorphisms appear to affect prophase residual platelet reactivity and cardiovascular events.

冠心病行经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)术后需口服氯吡格雷抗血小板聚集,但部分患者在常规治疗下,仍发生严重冠状动脉缺血事件,如支架内再狭窄、急性心肌梗死等,推测原因有:抗血小板药物效果不佳、支架贴壁不良、血管内皮生长不良等^[1]。氯吡格雷本身无活性,经细胞色素 P450(cypochrome P450, CYP)2C19 基因编码的酶代谢后发挥抗血小板作用。研究发现^[2] CYP2C19 存在明显基因多态性,中国人以 636G > A、681G > A 多见,突变后均为无功能等位基因,对应编码的酶亦无活性。本研究旨在观察 CYP2C19 636G > A、681G > A 基因多态性对冠心病 PCI 术后患者临床预后及血小板活性的影响,从而评价基因多态性对个体化治疗的意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

前瞻性入选 2011 年 6 月至 2011 年 12 月期间在南京市鼓楼医院因冠心病行冠状动脉造影并接受 PCI 治疗者共 202 例。入选标准:年龄 > 18 周岁,冠状动脉造影确诊冠心病并行 PCI 术,术后服用氯吡格雷和阿司匹林 1 年,愿意配合随访者。排除标准:有抗血小板治疗禁忌症,对阿司匹林或氯吡格雷过敏,活动性出血与出血体质,口服抗凝治疗,严重肝肾功能不全,无能力或不愿接受随访者。

1.2 药物使用

所有患者术前阿司匹林 300 mg、氯吡格雷 300 mg 或 600 mg 负荷;术后阿司匹林 100 mg qd 长期服用、氯吡格雷 75 mg qd 口服 1 年。

1.3 血小板聚集率检测

口服氯吡格雷 5 天及 3 个月分别检测二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)诱导的血小板聚集率(adenosine diphosphate induced platelet aggregations, PL_{ADP})。采用比浊法,以 1000 r/min、3000 r/min 离心血浆分别制备富、乏血小板血浆,各取 200 μL,预热至 37℃,各加入浓度为 20 μmol/L ADP(美国 Helena 公司),应用 PACKS-4 血小板聚集仪(美

国 Helena 公司)测得 PL_{ADP}。PL_{ADP} 越高表示残余血小板活性(residual platelet reactivity, RPR)越大。

1.4 基因检测

采用 CYP2C19 基因检测试剂盒-DNA 微阵列芯片法(上海百傲科技有限公司)测定。通过提取、纯化、扩增、杂交显色、芯片识读、软件分析等步骤,最终输出 6 种基因型(表 1),CYP2C19 * 1、CYP2C19 * 2、CYP2C19 * 3 分别代表无突变、681G > A 突变和 636G > A 突变。

表 1. 软件输出结果及基因型

输出结果	基因型
* 1/ * 1	636GG/681GG
* 1/ * 2	636GG/681GA
* 1/ * 3	636GA/681GG
* 2/ * 2	636GG/681AA
* 2/ * 3	636GA/681GA
* 3/ * 3	636AA/681GG

1.5 分组

根据基因检测结果分为正常纯合子组 78 例(CYP2C19 * 1/ * 1)、单突变基因携带组 100 例(CYP2C19 * 1/ * 2、CYP2C19 * 1/ * 3)、双突变基因携带组 24 例(CYP2C19 * 2/ * 2、CYP2C19 * 2/ * 3),本研究未检测到 CYP2C19 * 3/ * 3 型。

1.6 随访

以门诊、电话、再入院记录方式进行,观察出院后半年内主要心血管事件(major adverse cardiac events, MACE)及出血情况。MACE 包括不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UA)再发入院、支架内血栓形成、非致死性心肌梗死、急性左心衰竭、心源性死亡;出血事件包括脑出血、消化道大出血及黏膜、皮肤等局部小出血。

1.7 统计学分析

采用 SPSS17.0 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 进行单因素方差分析,计数资料以百分数表示,进行多组间 χ^2 检验;Kaplan-Meier 曲线描述半年内无不良心血管事件生存率; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CYP2C19 等位基因频率、基因分型及预测表型

本研究人群 CYP2C19 636G > A 位点不符合 Hardy-weinberg 遗传平衡($P=0.013$),原因考虑为:①本研究未观察到 636AA 型,考虑其可能致死性过强、被自然选择淘汰;②636G > A 和 681G > A 位点基因连锁性可能过强,致 636AA 出现率极低;③样本量偏小。但在本研究对象中检测到 681GG、681GA、681AA 三种基因型的 CYP2C19 681G > A 位点符合 Hardy-weinberg 遗传平衡($P=0.642$),提示本研究样本仍是来自较大且具代表性的群体。CYP2C19 *1、CYP2C19 *2 和 CYP2C19 *3 等位基因频率分别为 63.4% (256/404)、32.2% (130/404) 和 4.4% (18/404),各基因型分布及预测表型见表 2。

表 3. 三组间临床基本资料

Table 3. Basic clinical data in three groups

基本资料	正常纯合子组	单突变基因携带组	双突变基因携带组	<i>P</i> 值
年龄(岁)	66.42 ± 10.86	67.52 ± 11.05	68.50 ± 10.56	0.664
男性(例)	51(65.4%)	73(73.0%)	18(75.0%)	0.471
冠心病发病类型(例)				
UA	45(57.7%)	49(49.0%)	15(62.5%)	0.344
STEMI	27(34.6%)	31(31.0%)	8(33.3%)	0.876
NSTEMI	6(7.7%)	17(17.0%)	1(4.2%)	0.075
既往史(例)				
陈旧性心肌梗死	5(6.4%)	4(4.0%)	1(4.2%)	0.750
PCI 史	1(1.3%)	3(3.0%)	1(4.2%)	0.651
搭桥史	1(1.3%)	1(1.0%)	1(4.2%)	0.506
危险因素(例)				
高血压病	52(66.7%)	70(70.0%)	18(75.0%)	0.725
糖尿病	24(30.8%)	35(35.0%)	9(37.5%)	0.767
高脂血症	5(6.4%)	7(7.0%)	3(12.5%)	0.594
吸烟史	30(38.5%)	44(44.0%)	10(41.7%)	0.758
用药情况(例)				
他汀类药物	78(100%)	100(100%)	24(100%)	
β受体阻滞剂	71(91.0%)	88(88.0%)	20(83.3%)	0.563
ACEI 或 ARB	43(55.1%)	67(67.0%)	12(50.0%)	0.149
CCB	12(15.4%)	29(29.0%)	11(45.8%)	0.007
奥美拉唑	39(50.0%)	56(56.0%)	13(54.2%)	0.726
EF	52.97% ± 9.26%	52.69% ± 8.95%	51.84% ± 9.70%	0.892
LVDd(cm)	5.15 ± 0.48	5.24 ± 0.48	5.09 ± 0.52	0.332
LDL(mmol/L)	2.35 ± 0.85	2.43 ± 1.03	2.45 ± 1.06	0.839
总胆固醇(mmol/L)	4.50 ± 1.18	4.52 ± 1.64	4.44 ± 0.88	0.974
肌酐(μmol/L)	75.24 ± 26.02	79.38 ± 25.53	82.95 ± 49.51	0.462
冠状动脉介入(例)				
使用抽吸导管	14(17.9%)	18(18.0%)	6(25.0%)	0.711
使用替罗非班	15(19.2%)	22(22.0%)	4(16.7%)	0.807
置入 IABP	5(6.4%)	4(4.0%)	0(0.0%)	0.393
多血管介入	22(28.2%)	35(35.0%)	10(41.7%)	0.407
仅 PTCA	1(1.3%)	0(0.0%)	1(4.2%)	0.170
术后 TIMI < 3 级	4(5.1%)	2(2.0%)	1(4.2%)	0.516
支架置入个数	1.96 ± 1.22	1.85 ± 0.98	1.83 ± 0.92	0.759
Gensini 评分	51.49 ± 31.70	52.81 ± 32.61	53.57 ± 36.56	0.949

注:STEMI:ST 段抬高型心肌梗死,NSTEMI:非 ST 段抬高型心肌梗死,ACEI:血管紧张素转化酶抑制剂,ARB:AT1 受体阻滞剂,CCB:钙离子拮抗剂,EF:左心室射血分数,LVDd:舒张期末左室内径,LDL:低密度脂蛋白,PTCA:经皮腔内冠状动脉成形术。

2.2 临床基本资料

对三组间临床基本资料进行对比,包括性别、年龄、冠心病类型、既往史、危险因素、相关检查(心脏 B 超、生化)、药物及手术治疗情况等,除钙离子拮抗剂使用率(正常纯合子组、单突变基因携带组、双突变基因携带组分别为 15.4%、29.0%、45.8%, $P=0.007$)外,其余差异均无显著性(表 3)。

表 2. 基因分型、表型分布情况

Table 2. Genotypic and phenotypic distributions of the study population

基因型	分布情况(例)	预测表型
*1/*1	78(38.6%)	快代谢型
*1/*2	88(43.6%)	中间代谢型
*1/*3	12(5.9%)	中间代谢型
*2/*2	18(8.9%)	慢代谢型
*2/*3	6(3.0%)	慢代谢型
*3/*3	0(0%)	慢代谢型

2.3 二磷酸腺苷诱导的血小板聚集率

三组间 5 天及 3 个月时 PL_{ADP} 差异均无显著性 ($P>0.05$; 表 4)。

表 4. 二磷酸腺苷诱导的血小板聚集率

Table 4. Platelet aggregations induced by ADP				
分 组	<i>n</i>	5 天	3 个月	
正常纯合子组	78	51.60% ± 17.21%	49.45% ± 16.90%	
单突变基因携带组	100	55.89% ± 14.92%	55.98% ± 19.03%	
双突变基因携带组	24	62.00% ± 9.75%	57.64% ± 18.42%	
<i>P</i> 值		0.060	0.248	

表 5. 主要心血管事件及出血事件(例)

Table 5. Major adverse cardiac events and bleeding of the study population(cases)

项 目	正常纯合子组	单突变基因携带组	双突变基因携带组	<i>P</i> 值
UA 再发入院	4(5.1%)	6(6.0%)	0(0.0%)	0.475
支架内血栓形成	1(1.3%)	1(1.0%)	1(4.2%)	0.506
非致死性心肌梗死	0(0.0%)	0(0.0%)	2(8.3%)	0.001
急性左心衰竭	2(2.6%)	2(2.0%)	1(4.2%)	0.827
心源性死亡	1(1.3%)	1(1.0%)	0(0.0%)	0.857
出血事件	2(2.6%)	2(2.0%)	0(0.0%)	0.733

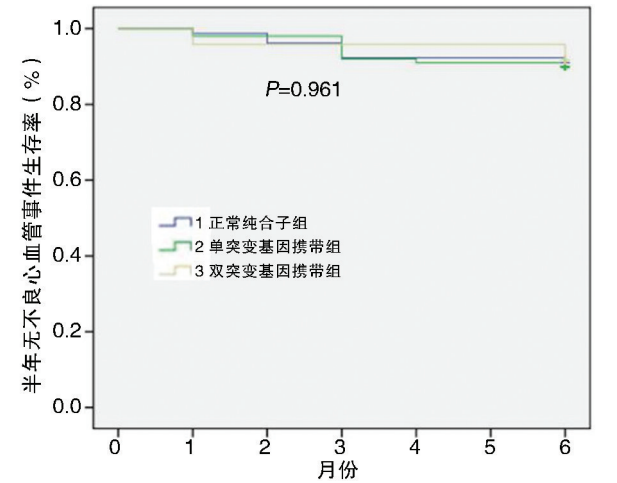


图 1. 半年内无不良心血管事件生存率
Figure 1. Cumulative event-free survival within half a year

3 讨 论

氯吡格雷是抗血小板聚集的主要药物,但约 24% 的患者服用常规剂量(75 mg, qd)后仍存在药效不足现象^[3],药物洗脱支架内血栓再发率达 1%~3%^[4],部分表现为氯吡格雷抵抗或低反应性,对此有研究提出 CYP450 酶 2C19 基因多态性与该现象相关。

氯吡格雷本身无活性,经人体肝脏内 CYP450

2.4 主要心血管事件及出血事件

非致死性心肌梗死发生率双突变基因携带组明显升高($P<0.01$),其余主要心血管事件三组间差异无显著性。正常纯合子组发生脑出血、鼻出血各 1 例;单突变基因携带组发生消化道大出血、少量黑便各 1 例;双突变基因携带组半年内无出血事件,三组间差异无统计学意义($P>0.05$;表 5)。

2.5 半年内无不良心血管事件生存率

三组患者半年内无不良心血管事件生存率差异无显著性($P>0.05$;图 1)。

酶催化代谢后,约 20% 转化为抗 ADP 诱导的血小板聚集活性的成分,与血小板 P2Y₁₂ 受体不可逆结合;其余 80% 经消化道排泄。CYP2C19 酶又称 S-美芬妥英羟化酶,是 CYP450 家族中主要代谢酶之一,奥美拉唑、苯妥英钠、阿托伐他汀等也经此酶代谢,合并使用可能会影响氯吡格雷疗效。现发现 CYP2C19 存在至少 14 种突变基因,18 种等位基因,亚洲人群以 CYP2C19 * 2、CYP2C19 * 3 多见,两者均为功能缺失型^[2]。本研究发现,携带有突变等位基因的基因型较多(61.4%),CYP2C19 * 2 出现频率较 CYP2C19 * 3 高,这与 Jeong 等^[5] 观察亚洲人群所得结果相似。

携带无功能突变等位基因的基因型所编码的产物,较无突变者(CYP2C19 * 1/* 1)活性下降,依赖该酶的药物前体(如氯吡格雷)药效亦降低。Jang 等^[6]进行 CYP2C19 基因多态性的 Meta 分析,包含 16 个前瞻性研究,共 7035 例患者携带至少 1 个无功能突变等位基因,13750 例为正常野生型,发现无功能突变基因携带者在心源性死亡、心肌梗死、支架内血栓事件发生率上均明显高于正常野生型者。唐晓芳等^[7]对冠心病行 PCI 术后口服氯吡格雷 1 年的 267 例患者进行研究,发现 CYP2C19 * 2 携带组(CYP2C19 * 1/* 2、CYP2C19 * 2/* 2)一年内紧急

血运重建术和联合终点事件发生率均较 CYP2C19 *1/*1 组高(7.3%比1.5%、8.0%比2.3%)。

本研究通过半年 MACE 随访,发现双突变基因携带组非致死性心肌梗死发生率明显升高,支架内血栓发生率略高。三组间出血事件差异虽无显著性,但可能存在携带突变等位基因数越多出血风险越低的趋势(三组出血发生率分别为2.6%、2.0%、0.0%)。分析其原因:①无功能突变等位基因编码的代谢酶活性下降,且携带该等位基因数越多,酶活性下降越明显,转化所得药物活性成分越少,氯吡格雷抗血小板活性减弱;②本研究双突变基因携带组 CCB 使用率明显增多,考虑 CCB 可能对氯吡格雷有抑制作用。由于本研究随访时间短,半年内无不良心血管事件生存率三组间差异无显著性,若延长随访时间及扩大样本量后所得结果应更具指导意义。

Jeong 等^[5]对 AMI 患者口服氯吡格雷 3~5 天后检测 PL_{ADP},发现随着无功能突变等位基因携带数量增加,PL_{ADP}随之上升,机体抗血小板聚集能力下降,但对比 CYP2C19 *2、CYP2C19 *3 携带者 PL_{ADP}及临床预后均无明显差异。氯吡格雷服用 5~7 天后可达稳定血药浓度。本研究发现服药 5 天及 3 个月时 PL_{ADP}在三组间均未见统计学差异,考虑原因:①PL_{ADP}受基因-环境共同作用,是基因及非基因因素联合作用的结果^[8];②本研究样本量偏小;③ PL_{ADP}检测时影响因素多,结果可能存在偏差及不稳定性。但是,服药 5 天时 PL_{ADP}三组间比较所得 *P* 值为 0.06,十分接近 0.05,考虑到本研究样本量仅 202 例,若扩大样本量,三组间极可能出现统计学差异(*P* < 0.05),该差异将很好的说明 CYP2C19 基因多态性对 PL_{ADP}的影响可能只存在氯吡格雷服用早期阶段,待血药浓度稳定后作用则不明显。

CYP2C19 681G > A 和 CYP2C19 636G > A 基因多态性在我国较常见,对氯吡格雷早期疗效可能存

在降低作用,且携带无功能突变等位基因数越多,冠心病 PCI 术后服用氯吡格雷患者的临床预后可能越差。CYP2C19 基因多态性的检测为今后氯吡格雷个体化治疗提供新思路。

[参考文献]

- [1] 王新磊,杨毅宁,马依彤,等. CYP2C19 酶与氯吡格雷抵抗[J]. 心血管病学进展, 2010, 31(1): 131-140.
- [2] 严非,夏春华,熊玉卿. CYP2C19 基因多态性对药物代谢的影响及其个体化用药[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(8): 949-953.
- [3] Guthikonda S, Lev EI, Kleiman NS. Resistance to antiplatelet therapy[J]. Curr Cardiol Rep, 2005, 7(4): 242-248.
- [4] 田婷,陈步星. DMS 术后极晚期血栓形成[M]//临床病例会诊与点评. 北京:人民军医出版社, 2009; 53-57.
- [5] Jeong YH, Tantry US, Kim IS, et al. Effect of CYP2C19 *2 and *3 loss-of-function alleles on platelet reactivity and adverse clinical events in East Asian acute myocardial infarction survivors treated with clopidogrel and aspirin[J]. Circ Cardiovasc Interv, 2011, 4(6): 585-594.
- [6] Jang JS, Cho KI, Jin HY, et al. Meta-analysis of cytochrome P450 2C19 polymorphism and risk of adverse clinical outcomes among coronary artery disease patients of different ethnic groups treated with clopidogrel [J]. Am J Cardiol, 2012, 110(4): 502-508.
- [7] 唐晓芳,何晨,袁晋青,等. 细胞色素 P450 2C19 基因多态性对介入术后服用氯吡格雷冠心病患者临床预后的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(7): 617-620.
- [8] Xie HG, Zou JJ, Hu ZY, et al. Individual variability in the disposition of and response to clopidogrel: pharmacogenomics and beyond [J]. Pharmacol Ther, 2011, 129(3): 267-289.

(此文编辑 许雪梅)