·临床研究·

CYP1A2和CYP2C19基因多态性与老年稳定性冠心病患者预后的关系

蔡雨伦,徐伟豪,李曼,李慧颖,周文丽,李月蕊,刘宏斌*
(解放军总医院第二医学中心心血管内科,国家老年医学临床研究中心,北京 100853)

【摘 要】 **目的** 研究CYP1A2和CYP2C19基因多态性与老年稳定性冠心病患者一级预防和二级预防不良预后的关系。**方法** 选取2017年4月~7月在解放军总医院老年病科进行体检的长期口服氯吡格雷的男性患者241例,年龄均>60岁。根据是否明确诊断患有冠心病分为一级预防组123人和二级预防组118人。所有患者入组后静脉采血,检测血小板聚集功能和CYP1A2和CYP2C19基因多态性,并且随访至2019年4月,记录主要不良心脑血管事件(MACCE)的发生情况。采用SPSS 23.0统计软件进行数据处理,分别采用t检验、Pearson卡方检验对组间数据进行比较,预后结局比较采用多因素Cox比例风险模型。**结果** 分别按照CYP1A2和CYP2C19两个基因的突变情况分为快代谢组和中慢代谢组,各分组之间ADP和AA诱导的血小板聚集度之间比较均无差异(P>0.05)。多因素Cox生存分析显示,在一级预防组中,仅年龄为独立危险因素(HR=1.074,95%CI 1.003~1.150);在二级预防组中,年龄(HR=1.036,95%CI 1.000~1.075)和糖尿病(HR=1.990,95%CI 1.071~3.696)为独立危险因素。在两组中CYP2C19分型、CYP1A2分型对于预后均无影响(P>0.05)。**结论** CYP1A2和CYP2C19的基因分型对于稳定性冠心病一级预防和二级预防的老年人群的血小板聚集功能以及2年内MACCE的发生没有显著影响。

【关键词】 单核苷酸基因多态性;氯吡格雷;冠心病
【中图分类号】 R541.1 【文献标志码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.05.077

Correlation of polymorphisms of CYP1A2 and CYP2C19 with prognosis of stable coronary heart disease in elderly patients

CAI Yu-Lun, XU Wei-Hao, LI Man, LI Hui-Ying, ZHOU Wen-Li, LI Yue-Rui, LIU Hong-Bin*
(Department of Geriatric Cardiology, Second Medical Center, National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the relationship of polymorphisms of CYP1A2 and CYP2C19 with prognosis of stable coronary heart disease in elderly patients receiving primary or secondary prevention. **Methods** A total of 241 men aged ⩾ 60 years were enrolled, who was on long-term oral clopidogrel and received their annual health examination in Chinese PLA General Hospital between April and July 2017. The patients were divided, based on diagnosis of coronary heart disease, into primary prevention group (n=123) and secondary prevention group (n=118). For all patients, blood samples were collected on admission, platelet aggregation was measured, polymorphisms of CYP1A2 and CYP2C19 were assayed, and major adverse cardiovascular and cerebrovascular events (MACCE) were recorded during the follow-up as of before April 2019. The data were processed by SPSS statistics 23.0. t test and Pearson chi-square test were performed to compare the data between groups, and multivariate Cox proportional hazard model was used to compare the outcomes. **Results** According to polymorphisms of CYP1A2 and CYP2C19, all patients were divided into fast metabolism group and medium/slow metabolism group, and platelet aggregations induced by ADP and AA of the two groups were not significantly different (P>0.05). Multivariate Cox survival analysis showed that only age [hazard ratio (HR)=1.074, 95% confidence interval (CI): 1.003-1.150] was independent risk factor in primary prevention group, and that, after adjusting for baseline characteristics, age (HR=1.036, 95%CI: 1.000-1.075) and diabetes (HR=1.990, 95%CI: 071-3.696) were independent risk factors in secondary prevention group. However, the phenotypes of CYP2C19 and CYP1A2 had no effects on the prognosis (P>0.05). **Conclusions** The phenotypes of CYP1A2 and CYP2C19 had no significant effect on the platelet aggregation function and the risk of MACCE in the elderly patients receiving primary or secondary prevention with stable coronary heart disease.

【**Key words**】 single nucleotide polymorphisms; clopidogrel; coronary heart disease
This work was supported by National Key Research & Development Program of China (2017YFC0840103).
Corresponding author: LIU Hong-Bin, E-mail: liuhbin301@163.com

收稿日期:2019-08-19;**接受日期**:2019-09-15
基金项目:国家重点研发专项(2017YFC0840103)
通信作者:刘宏斌,E-mail:liuhbin301@163.com

氯吡格雷是第二代噻吩并吡啶类药物,只有约15%能由各种细胞色素P450酶(cytochrome P450, CYP)催化为活性产物,并发挥出相应的抗血小板作用。CYP1A2和CYP2C19酶参与其中超过50%的过程,是最为重要的代谢酶。现在氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance, CR)逐渐成为人们关注的焦点,而老年人因为多病共存、多药共用,使得这一问题更为突出。近年来,基因组学研究发现氯吡格雷代谢通路上的CYP酶的等位基因变异型与其抗血小板效应降低和不良预后增多相关,之后也有不少研究对此产生争议[1,2],但2015年原国家卫计委的指南又再次重申了CYP2C19基因检测的重要性[3]。

当前,因为阿司匹林的胃肠道反应导致其不耐受发生率变高,从而有越来越多老年人选择氯吡格雷作为冠心病的一级预防药物。另一方面,大型的临床研究也发现阿司匹林一级预防没有减少心血管事件的发生,但增加出血风险[4,5]。目前研究多关注于CYP2C19的分型和冠心病二级预防或PCI术后不良预后的关系,而对于CYP1A2的基因型及冠心病一级预防的老年人研究较少。鉴于此,本文重点在于研究CYP1A2和CYP2C19基因多态性与老年稳定性冠心病一级预防和二级预防不良预后的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2017年4月~7月在解放军总医院老年病科进行体检的长期口服氯吡格雷的男性患者241例,年龄均>60岁。根据是否明确诊断患有冠心病分为一级预防组123人和二级预防组118人。本研究项目获解放军总医院伦理委员会批准。

入选及诊断标准如下。(1)一级预防组:均为曾发生过心绞痛但经冠状动脉造影或者冠状动脉CTA检查病变血管狭窄不足50%、因阿司匹林不耐受而选择氯吡格雷作为一级预防药物的目前病情稳定的患者;(2)二级预防组:均为曾发生过心绞痛或心肌梗死、经冠状动脉造影或者冠状动脉CTA检查病变血管狭窄>50%、或经冠状动脉支架植入术(percutaneous transluminal coronary intervention, PCI)或冠状动脉搭桥术(coronary artery bypass grafting, CABG)后长期使用氯吡格雷作为二级预防的目前病情稳定的患者。排除标准:(1)非解放军总医院定点保健人员,病史及随访资料不全;(2)各种血液系统疾病或有严重出血倾向;(3)严重肝肾功能不全或严重感染;(4)恶性肿瘤晚期。

1.2 方法

1.2.1 基线资料的获取 记录入选者年龄、吸烟情况、体质量指数(body mass index, BMI)、高血压病史、糖尿病病史等。在进行体格检查时,抽取入选者8 h空腹静脉血15 ml,检测血常规、脂代谢、肝肾功能等指标。心脏超声记录左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。

1.2.2 血小板聚集功能的检测 采用光学比浊法(light transmittance aggregometry, LTA)测定血小板聚集。取血样800转/min离心5 min,获得富血小板血浆,4 000转/min离心8 min,获得乏血小板血浆。用花生四烯酸(AA; 0.5 mmol/L)和二磷酸腺苷(ADP; 10 μmol/L)作为诱导剂,使用美国Chrono-Log MODEL700血小板聚集仪进行检测。

1.2.3 单核苷酸多态性检测 单核苷酸多态性检测(single nucleotide polymorphisms, SNPs)使用美国应用生物系统公司TaqMan OpenArray基因检测系统检测CYP1A2 * 1F(rs762551)和CYP2C19 * 2(rs4244285), * 3(rs4986893)的突变情况。引物序列见表1

1.2.4 CYP分型的相关定义 (1)CYP1A2: * 1F代表163C>A突变,AA型为快代谢型,AC/CC型为中慢代谢型。(2)CYP2C19:CYP2C19 * 1、CYP2C19 * 2、CYP2C19 * 3分别代表无突变,681G>A突变,636G>A突变。CYP2C19 * 1/ * 1为快代谢型,其余CYP2C19 * 1/ * 2、CYP2C19 * 1/ * 3 CYP2C19 * 2/ * 2、CYP2C19 * 3/ * 3、CYP2C19 * 2/ * 3为中慢代谢型。

1.2.5 其他相关定义 当前吸烟:目前正在吸烟或曾有吸烟史、但戒烟<1年。长期口服抗血小板药物:连续口服氯吡格雷>6个月,且无禁忌证将继续长期服用。高血压:连续3次测量收缩压≥140 mmHg

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

SNPs	Forward primer	Reverse primer
rs762551	5′-GAAGTGGAAACTGAGATGATGTGTG-3′	5′-AGACATTCATTCATTCATTTCCTCA-3′
rs4244285	5′-CAATGTGATCTGCTCCATTATTTTC-3′	5′-GTCCCGAGGGTTGTTGATGT-3′
rs4986893	5′-CTGCAATGTGATCTGCTCCA-3′	5′-TTAAGTAATTTGTTATGGGTTCCCG-3′

SNPs: single nucleotide polymorphisms.

(1 mmHg = 0.133 kPa)和(或)舒张压≥90 mmHg,或有明确高血压史。糖尿病:餐后 8 h 的空腹血糖≥7.0 mmol/L 和(或)随机血糖≥11.1 mmol/L,或有明确的 2 型糖尿病史[6]。

1.2.6 随访 通过门诊或急诊、体检及再入院等方式进行随访,入选者均每年随访 1 次,直至 2019 年 4 月。记录主要不良心脑血管事件(major adverse cardiovascular and cerebrovascular events,MACCE)发生情况,包括全因死亡、随访期间新发心肌梗死、靶血管病变重建、短暂性脑缺血发作、脑卒中、需要住院的严重不稳定性心绞痛和心力衰竭等。

1.3 统计学处理

使用 SPSS 23.0 统计软件进行处理。正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组比较采用 t 检验;计数资料用例数(百分率)表示,采用 Pearson 卡方检验;预后结局比较采用多因素 Cox 比例风险模型。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一级预防组和二级预防组一般基线资料比较

二级预防组的糖尿病患病率显著高于一级预防组(44.1%和 26.8%),其余指标均无差异(表 2)。

2.2 血小板聚集功能的差异比较

分别按照 CYP1A2 和 CYP2C19 两个基因的突变情况分为快代谢组和中慢代谢组。各分组之间 ADP 和 AA 诱导的血小板聚集度之间比较均无差异($P>0.05$,表 3)。

2.3 多因素 COX 生存分析

平均随访时间 22 个月,共发生 MACCE 67 例(其中一级预防组 18 例,二级预防组 49 例):新发不稳定性心绞痛 27 例,心肌梗死 8 例,短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)16 例,脑梗死 10 例,心力衰竭 2 例,全因死亡 4 例。将 CYP2C19 分型、CYP1A2 分型、年龄、BMI、当前吸烟、高血压病史和糖尿病病史纳入模型,2 组分别进行分析。在一级预防组中,仅年龄为独立危险因素($HR=1.074$, 95% CI 1.003 ~ 1.150);在二级预防组中,年龄($HR=1.036$, 95% CI 1.000 ~ 1.075)和糖尿病($HR=1.990$, 95% CI 1.071 ~ 3.696)为独立危险因素。在各组中 CYP2C19 分型、CYP1A2 分型对于预后均无影响($P>0.05$;表 4)。

3 讨 论

CYP1A2 和 CYP2C19 的基因多态性在不同种族的人群中分布是不尽相同的。CYP1A2 * 1F (163C>A; rs762551)是功能获得型突变,相比高加索白人而言,亚裔黄种人的突变发生比例较低;而 CYP2C19 * 2 (681G>A; rs4244285)和 CYP2C19 * 3 (636G>A; rs4986893)都是功能丧失型突变,它们发生的比例在亚洲人中明显高于高加索白人和美国黑人[7]。总体而言,这可能也是氯吡格雷抵抗发生在亚洲黄种人中较多的原因之一。

表 2 2 组主要观察指标比较

Table 2 Comparison of baseline clinical characteristics between 2 groups

Variable	Primary prevention group ($n=123$)	Secondary prevention group ($n=118$)	P value
Age(years, $\bar{x}\pm s$)	79.9±10.0	80.5±9.6	0.635
BMI(kg/m^2, $\bar{x}\pm s$)	24.26±3.05	24.00±2.88	0.512
Hypertension[n(%)]	90(73.2)	88(74.6)	0.804
Diabetes mellitus[n(%)]	33(26.8)	52(44.1)	0.005
Gender[male, n(%)]	119(96.7)	117(99.2)	0.190
Hemoglobin(g/L, $\bar{x}\pm s$)	131.2±14.9	133.3±13.3	0.290
Platelet($\times10^9$/L, $\bar{x}\pm s$)	179.3±48.3	183.5±41.3	0.502
WBC($\times10^9$/L, $\bar{x}\pm s$)	6.2±1.8	6.3±1.8[b]	0.591
Total protein(g/L, $\bar{x}\pm s$)	66.3±5.3	66.1±5.8	0.784
Creatinine(μmol/L, $\bar{x}\pm s$)	85.3±27.3	82.4±22.4	0.398
Total cholesterol(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	3.68±0.82	3.75±0.70	0.520
Triglycerides(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	1.16±0.44	1.33±0.71	0.055
HDL-C(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	1.20±0.30	1.17±0.32	0.495
LDL-C(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	2.19±0.69	2.25±0.66	0.557
LVEF(%, $\bar{x}\pm s$)	61.79±4.86	60.97±5.81	0.286
CYP1A2 phenotype fast metabolism[n(%)]	41(33.3)	41(34.7)	0.817
CYP2C19 phenotype fast metabolism[n(%)]	51(41.5)	42(35.6)	0.349

BMI: body mass index; WBC: white blood cell; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol; LVEF: left ventricular ejection fraction.

表3 血小板聚集功能的差异比较

Table 3 Differences in platelet aggregation ($\bar{x}\pm s$)

Variable	CYP1A2 phenotype		CYP2C19 phenotype	
	Fast metabolism ($n=82$)	Medium and slow metabolism ($n=159$)	Fast metabolism ($n=93$)	Medium and slow metabolism ($n=148$)
ADP%	45.3±19.7	49.5±20.1	47.6±19.9	48.5±20.1
AA%	38.2±30.9	39.8±33.3	40.1±32.2	38.7±32.8

ADP%: adenosine diphosphate-induced platelet aggregation; AA%: arachidonic acid-induced platelet aggregation.

表4 MACCE的多因素Cox生存回归分析

Table 4 Multivariate Cox survival regression analysis for MACCE

Variable	Primary prevention		Secondary prevention	
	P value	*HR*(95%*CI*)	*P* value	*HR*(95%*CI*)
CYP2C19	0.358	1.650(0.568-4.798)	0.614	1.178(0.623-2.230)
CYP1A2	0.446	0.761(0.376-1.537)	0.750	0.918(0.541-1.555)
Age	0.042	1.074(1.003-1.150)	0.050	1.036(1.000-1.075)
Hypertension	0.481	0.644(0.190-2.186)	0.981	1.009(0.468-2.179)
DM	0.796	1.158(0.381-3.513)	0.029	1.990(1.071-3.696)
BMI	0.763	1.025(0.873-1.204)	0.596	1.029(0.925-1.145)
Current smoking	0.339	0.418(0.070-2.496)	0.092	5.672(0.753-42.724)

MACCE: major adverse cardiovascular cerebrovascular events; HR: hazard ratio; CI: confidence interval; DM: diabetes mellitus; BMI: body mass index.

当前对于CYP2C19的基因多态性和血小板功能以及预后的关系并未形成统一,有研究支持二者的关系,也有研究发现二者并无关系。2018年一项纳入6个随机对照试验共2 371例患者的meta分析结果显示,依据基因检测指导下的治疗并未减少总体MACCE的发生,但对于ACS患者有一定收益[1]。另一个纳入36项研究的44 655名冠心病患者的meta分析显示,基因突变结果在亚洲人中仅对PCI治疗30 d后的预后有影响,而在西方人中获益主要体现在30 d内[2]。Trenk得到的结论是CYP2C19的基因多态性对血小板反应性的影响可能比较低,对诸多临床终末事件的发生无明显作用[8]。另一方面,2017年发表的针对亚洲PCI治疗人群的meta分析中,纳入20项研究和15 056名对象,结果显示在亚洲人群中,PCI术后的功能丧失型基因携带者的MACCE发生率有显著降低,支架内血栓发生率也较低[9]。2014年一项纳入19项研究10 960名患者的meta分析中,CYP2C19的*2型携带者发生高血小板反应(high on-treatment platelet reactivity, HTPR)的比例较高,高剂量的氯吡格雷也不能获得更高的收益[10]。

CYP2C19的基因多态性并不能完全解释关于氯吡格雷反应性的差异。氯吡格雷最终的药物效果受多方因素的影响,基因只占其中一小部分,其他影响因素还有药物相互作用、糖耐量异常和肥胖等[11]。现在也有一种观点认为影响氯吡格雷代谢的关键酶不是CYP2C19,而是CYP3A4/5,CYP3A4/5对氯吡格雷的催化速度高于CYP2C19[12]。当前有关CYP2C19基因型与氯吡格雷反应性的研究多集中于PCI术后的心肌梗死患者。因此,这些研究可能并不适用于所有的使用氯吡格雷的人群,其中就包括慢性稳定性心绞痛。

2005年~2015年资料表明,中国的急性心肌梗死的平均发病年龄为62~67岁[13]。目前的研究结果主要涉及较年轻的人群,而老年患者肠道吸收的能力降低,脂肪增加,肾功能的改变导致药物积聚,降低肝代谢的效率。老年人胃肠功能减退,对于阿司匹林的不耐受较年轻人发生更多,因此在本中心也有较多老年患者选择使用氯吡格雷作为冠心病的一级预防药物。本研究中,一级预防人群经过2年的随访后,在Cox比例风险模型中并未发现2个CYP酶的分型对于血小板聚集功能以及MACCE的发生有显著影响,仅年龄为唯一独立危险因素。在二级预防的人群中,2个CYP酶的分型对于血小板聚集功能以及2年内MACCE的发生也未有显著影响,只有年龄和糖尿病是独立危险因素。

本研究也存在一些不足,局限于单中心,且各组纳入的人群较少,男性人群占主要部分,将来需要更多大样本的针对老年人群的研究。

综上所述,CYP1A2 和 CYP2C19 的基因分型对于稳定性冠心病一级预防和二级预防的老年人群的血小板聚集功能以及 2 年内 MACCE 的发生没有显著影响。

【参考文献】

[1] Kheiri B, Osman M, Abdalla A, *et al*. CYP2C19 pharmacogenetics *versus* standard of care dosing for selecting antiplatelet therapy in patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized clinical trials [J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2019, 93(7): 1246-1252. DOI: 10.1002/ccd.27949.

[2] Niu X, Mao L, Huang Y, *et al*. CYP2C19 polymorphism and clinical outcomes among patients of different races treated with clopidogrel: a systematic review and meta-analysis [J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2015, 35(2): 147-156. DOI: 10.1007/s11596-015-1404-7.

[3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)概要[J]. 实用器官移植电子杂志, 2015, 3(5): 257-267. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2015.05.001.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. Technical guidelines for genetic testing of drug metabolizing enzymes and drug-acting targets (pilot) outline[J]. Pract J Organ Transplant, 2015, 3(5): 257-267. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2015.05.001.

[4] Mcneil JJ, Wolfe R, Woods RL, *et al*. Effect of aspirin on cardiovascular events and bleeding in the healthy elderly[J]. N Engl J Med, 2018, 379(16): 1509-1518. DOI: 10.1056/NEJMoa1805819.

[5] Sugawara M, Goto Y, Yamazaki T, *et al*. Low-dose aspirin for primary prevention of cardiovascular events in elderly Japanese patients with atherosclerotic risk factors: subanalysis of a randomized clinical trial (JPPP-70) [J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2019, 19(3): 299-311. DOI: 10.1007/s40256-018-0313-0.

[6] Cao J, Liu L, Fan L, *et al*. The prevalence, risk factors and prognosis of aspirin resistance in elderly male patients with cardiovascular disease[J]. Aging Male, 2012, 15(3): 140-147. DOI: 10.3109/13685538.2012.666584.

[7] Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, *et al*. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update [J]. Clin Pharmacol Ther, 2013, 94(3): 317-323. DOI: 10.1038/clpt.2013.105.

[8] Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, *et al*. Paraoxonase-1 Q192R polymorphism and antiplatelet effects of clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement[J]. Circ Cardiovasc Genet, 2011, 4(4): 429-436. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.111.960112.

[9] Xi Z, Fang F, Wang J, *et al*. CYP2C19 genotype and adverse cardiovascular outcomes after stent implantation in clopidogrel-treated Asian populations: a systematic review and meta-analysis[J]. Platelets, 2019, 30(2): 229-240. DOI: 10.1080/09537104.2017.1413178.

[10] Zhang L, Yang J, Zhu X, *et al*. Effect of high-dose clopidogrel according to CYP2C19 * 2 genotype in patients undergoing percutaneous coronary intervention — a systematic review and meta-analysis[J]. Thromb Res, 2015, 135(3): 449-458. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.12.007.

[11] Jiang XL, Samant S, Lesko LJ, *et al*. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel[J]. Clin Pharmacokinet, 2015, 54(2): 147-166. DOI: 10.1007/s40262-014-0230-6.

[12] Dansette PM, Levent D, Hessani A, *et al*. Thiolactone sulfoxides as new reactive metabolites acting as bis-electrophiles: implication in clopidogrel and prasugrel bioactivation[J]. Chem Res Toxicol, 2013, 26(5): 794-802. DOI: 10.1021/tx400083b.

[13] 高晓津, 杨进刚, 杨跃进, 等. 中国急性心肌梗死患者心血管危险因素分析[J]. 中国循环杂志, 2015, 29(3): 206-210. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2015.03.003.
Gao XJ, Yang JG, Yang YJ, *et al*. Cardiovascular risk factor analysis for acute myocardial infarction patients in China[J]. Chin Circ J, 2015, 29(3): 206-210. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2015.03.003.

(编辑: 门可)