

· 临床研究 ·

CYP2C19 基因多态性对股腘动脉支架植入术后早期支架内再狭窄的影响

李立强, 佟铸, 崔世军, 郭建明, 郭连瑞*

(首都医科大学宣武医院血管外科, 北京 100053)

【摘要】 目的 阐明 *CYP2C19* 基因多态性与股腘动脉支架植入术后 1 年内支架内再狭窄的关系。**方法** 选择 2019 年 3 月至 2021 年 3 月于首都医科大学宣武医院血管外科首次接受股腘动脉支架植入术的 118 例患者为研究对象, 患者术前 3 d 及术后长期服用阿司匹林 (100 mg/d), 并于术前 3 d 至术后 1 年口服氯吡格雷 (75 mg/d)。使用聚合酶链反应 (PCR) 荧光探针法检测氯吡格雷代谢活性基因 (*CYP2C19* *1, *2, *3, *17) 的单核苷酸多态性分布及表达。术后使用彩色多普勒超声进行随访观察, 以靶血管再狭窄率 > 50% 判断为再狭窄。采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。根据数据类型, 分别采用方差分析或 χ^2 检验进行组间比较。**结果** 入选的 118 例患者中, 快代谢型 (*1/*17, *17/*17) 1 例、正常代谢型 (*1/*1) 48 例、中代谢型 (*1/*2, *1/*3, *2/*17, *3/*17) 52 例和慢代谢型 (*2/*2, *3/*3, *2/*3) 17 例。正常代谢型再狭窄发生率为 25.0% (12/48)、中代谢型再狭窄发生率为 19.2% (10/52)、慢代谢型再狭窄发生率为 53.0% (9/17)。慢代谢型与正常代谢型及中代谢型再狭窄发生率比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** *CYP2C19* 基因多态性可能是股腘动脉支架植入术后早期发生再狭窄的危险因素。慢代谢型再狭窄发生率较快代谢型与中代谢型显著增高。

【关键词】 基因多态性; *CYP2C19*; 支架内再狭窄; 股腘动脉; 支架植入术; 氯吡格雷抵抗

【中图分类号】 R654.4 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2022.06.096

Effect of CYP2C19 gene polymorphisms on early in-stent restenosis after femoropopliteal artery stenting

LI Li-Qiang, TONG Zhu, CUI Shi-Jun, GUO Jian-Ming, GUO Lian-Rui*

(Department of Vascular Surgery, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China)

【Abstract】 Objective To clarify the relationship of *CYP2C19* gene polymorphisms with early in-stent restenosis one year after femoropopliteal artery stenting. **Methods** A total of 118 patients were enrolled, who firstly underwent femoropopliteal artery stenting in the Department of Vascular Surgery, Xuanwu Hospital, Capital Medical University from March 2019 to March 2021. The patients orally took aspirin 100mg/d three days before operation and thereafter and clopidogrel 75mg/d from three days before operation to 1 year after operation. The distribution and expression of single nucleotide polymorphisms of clopidogrel metabolic active genes (*CYP2C19* *1, *2, *3, *17) were detected by polymerase chain reaction (PCR) fluorescence probe method. The patients were followed up by color Doppler ultrasound. The restenosis rate over 50% of a target vessel was defined as restenosis. SPSS statistics 22.0 was used for data analysis. According to different data type, one way ANOVA or χ^2 test was used for data comparison among groups. **Results** Among the 118 patients enrolled, 1 was of fast metabolic type (*1/*17, *17/*17), 48 of normal metabolic type (*1/*1), 52 of moderate metabolic type (*1/*2, *1/*3, *2/*17, *3/*17) and 17 of poor metabolic type (*2/*2, *3/*3, *2/*3). Restenosis occurred in 25.0% (12/48) of normal metabolic type, 19.2% (10/52) of moderate metabolic type and 53.0% (9/17) of poor metabolic type. χ^2 test showed significant difference in restenosis rate between poor metabolic type and normal metabolic type ($P < 0.05$) or moderate metabolic type ($P < 0.05$). **Conclusion** *CYP2C19* gene polymorphism may be a risk factor for early restenosis after femoropopliteal artery stenting. The restenosis rate of poor metabolic type increases significantly compared with normal and moderate metabolic types.

【Key words】 polymorphism, genetic; *CYP2C19*; in-stent restenosis; femoropopliteal artery; stenting; clopidogrel resistance

Corresponding author: GUO Lian-Rui, E-mail: guolianrui@xwhosp.org

收稿日期: 2021-10-14; 接受日期: 2021-12-14

通信作者: 郭连瑞, E-mail: guolianrui@xwhosp.org

氯吡格雷是一种噻吩并吡啶类衍生物,主要通过 CYP450 酶系代谢转化为有活性的物质,发挥抗血小板聚集的作用,其中 CYP450 酶系中的 CYP2C19 最为关键。为了预防股腘动脉支架植入术后早期支架内再狭窄或血栓形成等下肢缺血事件的发生,使用阿司匹林联合氯吡格雷的标准双联抗血小板治疗已经成为股腘动脉支架植入术后常规药物治疗方案。然而,部分患者仍然会在术后早期发生支架内再狭窄。本研究旨在阐明 CYP2C19 基因多态性与股腘动脉支架植入术后早期支架内再狭窄之间的关系,为术后抗血小板个体化治疗提供一定的依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2019 年 3 月至 2021 年 3 月于首都医科大学宣武医院血管外科入院进行股腘动脉支架植入手术的 118 例下肢动脉硬化闭塞症 (arteriosclerosis obliterans, ASO) 患者为研究对象,其中男 99 例,女 19 例。纳入标准:(1)首次接受下肢动脉手术干预;(2)下肢 ASO 术前符合泛大西洋学会联盟 (Trans-Atlantic InterSociety Consensus, TASC) II 分型 C~D 型(C 型:股腘动脉多个狭窄或闭塞总长度>15 cm;D 型:股总或股浅动脉闭塞段长度>20 cm 且包括腘动脉及膝下三分叉动脉的慢性闭塞);(3)患者无抗血小板药物过敏及禁忌,术后至少服用阿司匹林(100 mg/d)和氯吡格雷(75 mg/d)1 年。排除标准:(1)服用其他抗栓类药物如西洛他唑、华法林、利伐沙班等;(2)合并严重感染、肝肾功能不全、恶性肿瘤、免疫系统疾病、凝血功能异常及血液病、孕妇或可能怀孕者。

记录所有入选患者的年龄、性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史、体质指数、纤维蛋白原、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇水平等信息及 CYP2C19 基因多态性检测结果。患者术前 3 d 开始双联抗血小板治疗,即口服 75 mg/d 氯吡格雷和 100 mg/d 阿司匹林;患者术中造影评价 TASC II 分级后行股腘动脉普通球囊扩张后支架植入术,术后即时造影≤30%残余狭窄。术后服用 75 mg/d 氯吡格雷和 100 mg/d 阿司匹林 12 个月。

1.2 基因型检测方法

经患者知情同意后使用乙二胺四乙酸二钾

(ethylenediaminetetraacetic acid-K2, EDTA-K2) 抗凝管收集外周静脉血 5 ml 送至首都医科大学宣武医院检验科,使用人类 CYP2C19 基因检测试剂盒(武汉友芝友医疗科技股份有限公司)聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 荧光探针法进行检测。提取全血 DNA,然后采用 PCR 扩增特定的基因片段,并与基因芯片上的特异性核酸探针杂交。由基因芯片读出对应 CYP2C19 的基因型并分为 4 组:快代谢型(*1/*17,*17/*17)、正常代谢型(*1/*1)、中代谢型(*1/*2,*1/*3,*2/*17,*3/*17)和慢代谢型(*2/*2,*3/*3,*2/*3)。

1.3 随访和终点事件

通过门诊、电话等在术后 3、6、12 个月对患者进行随访,记录患者服药情况、出血等药物不良反应,并行下肢动脉多普勒超声检查,以靶血管再狭窄率>50%判断为再狭窄。如出现间歇性跛行明显加重或静息痛等下肢缺血加重症状,随时复诊行超声检查。临床终点事件为下肢动脉多普勒超声检查发现支架内再狭窄(包括支架内闭塞及血栓形成),或严重出血的不良事件。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析。计数资料以例数(百分率)表示,组间比较采用 χ^2 检验。群体代表性检验采用 χ^2 检验进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床资料比较

共计 118 例患者参与本研究,其基因型分组结果如下:快代谢型(*1/*17,*17/*17)1 例、正常代谢型(*1/*1)48 例、中代谢型(*1/*2,*1/*3,*2/*17,*3/*17)52 例和慢代谢型(*2/*2,*3/*3,*2/*3)17 例。经 χ^2 检验 CYP2C19 基因型实际频率分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡。

患者年龄 46~86(65.1±12.1)岁。快代谢型仅有 1 例(*1/*17),男性,该例患者术后 1 年随访时靶血管通畅,无出血并发症,因样本量太小,后续分组统计及组间比较未纳入。其他 3 种代谢型患者年龄、性别、高血压、糖尿病、体质指数、吸烟、高纤维蛋白原血症、高脂血症(总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇升高)等比较,差异均无统计学意义($P>0.05$;表 1)。

表 1 3组患者一般资料比较

Table 1 Comparison of baseline data among three groups

Item	Normal metabolic type (n = 48)	Moderate metabolic type (n = 52)	Poor metabolic type (n = 17)	F/χ^2	P value
Age (years, $\bar{x} \pm s$)	70.40 ± 10.02	73.38 ± 8.12	69.29 ± 11.54	1.816	0.167
Gender (male/female, n)	44/4	40/12	14/3	4.018	0.134
Hypertension [n(%)]	22(45.8)	22(42.3)	6(35.3)	0.577	0.749
Diabetes mellitus [n(%)]	28(58.3)	23(44.2)	9(52.9)	2.009	0.366
Smoking [n(%)]	24(50.0)	22(42.3)	7(41.2)	0.732	0.693
Fib (g/L, $\bar{x} \pm s$)	3.76 ± 1.11	3.56 ± 0.85	3.75 ± 1.40	0.500	0.608
BMI (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	24.92 ± 3.01	24.60 ± 3.25	24.98 ± 2.00	0.188	0.829
TC (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	1.80 ± 0.88	1.74 ± 0.86	1.99 ± 0.67	0.566	0.569
TG (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	3.39 ± 1.14	3.46 ± 1.11	3.83 ± 1.13	0.997	0.372
LDL-C (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	1.67 ± 0.59	1.71 ± 0.61	1.65 ± 0.48	0.084	0.920

Fib: fibrinogen; BMI :body mass index; TC: total cholesterol; TG: triglyceride; LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol.

2.2 随访结果

所有患者均完成了术后随访,平均随访时间(9.3+2.0)个月。随访期内 31 例患者发生了支架内再狭窄,发生率为 26.3%(31/118)。正常代谢型再狭窄发生率 25.0%(12/48)、中代谢型再狭窄发生率 19.2%(10/52)、慢代谢型再狭窄发生率 53.0%(9/17)。再狭窄发生率比较,正常代谢型组与中代谢型组差异无统计学意义($\chi^2 = 0.484, P>0.05$);正常代谢型与慢代谢型组差异有统计学意义($\chi^2 = 4.481, P<0.05$);中代谢型与慢代谢型差异有统计学意义(校正 $\chi^2 = 5.705, P<0.05$)。

3 讨论

氯吡格雷作为无活性的前体药物,经口服后于小肠吸收入血,约 85%的氯吡格雷经酯酶代谢转化为无生物活性的物质,而仅有 15%的氯吡格雷经由肝细胞微粒体内的细胞色素 P450 代谢转化为氧化氯吡格雷,氧化氯吡格雷能够与 P2Y12 受体不可逆地结合,发挥抗血小板聚集的作用^[1]。

在介入心脏病学领域,阿司匹林联合氯吡格雷的双联抗血小板治疗是急性冠状动脉综合征患者行经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术后的标准药物治疗方案^[2,3],但部分患者即使在遵循医嘱服药后仍会出现严重不良心血管事件,称之为氯吡格雷抵抗(clopidogrel resistance, CR),其临床诊断标准为血栓弹力图检测二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)诱导的血小板聚集抑制率<50%^[4,5]。对于 CR 是否受 CYP2C19 基因的影响,一项国内研究显示 CYP2C19 野生纯合型、突变杂合型和突变纯合型出现 CR 的概率分别为 11.0%、29.8% 和 48.0%, CYP2C19 基因多态性与 CR 的发生具有相关性, CYP2C19 * 2、CYP2C19 * 3

基因突变可能使患者发生 CR 的风险增加^[6]。但 Namazi 等^[7]认为, CYP2C19、P2Y12 等基因多态性与 CR 无显著相关性。因此, CYP2C19 与 CR 之间的关系仍需要进一步的深入研究。PLATO 研究表明,与氯吡格雷相比,替格瑞洛能够显著降低 PCI 治疗术后心肌梗死、卒中、心源性死亡风险等^[8]。其特点是能够可逆地结合 P2Y12 受体,无需经肝脏代谢酶激活,达到持续抑制血小板聚集的作用。因此建议对于 PCI 术后不良临床事件发生风险较高或存在氯吡格雷抵抗的冠心病患者选用替格瑞洛进行抗血小板治疗^[9]。但是,由于替格瑞洛无相关外周动脉相关的使用适应证,且尚没有足够的循证医学证据,因此在下肢动脉腔内治疗术后使用替格瑞洛仍存在争议^[10,12]。在脑血管病领域,天坛医院 Wang 等^[13]利用 Chance 研究的数据探讨了采用氯吡格雷治疗的小卒中或短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)患者 CYP2C19 遗传变异型与临床预后之间的关系。作者认为,仅在未携带 CYP2C19 功能缺失等位基因的 TIA 或小卒中患者中发现氯吡格雷联合阿司匹林(与单独阿司匹林比较)能够降低新发卒中的风险,抗血小板治疗的有效性受到 CYP2C19 基因型的影响。因此,在心脏病学和脑血管病学领域的抗栓研究中,基于基因型增减氯吡格雷的剂量或更换为其他抗血小板药物都是以后的研究方向。

股腘动脉支架植入术是针对下肢动脉粥样硬化闭塞症的腔内治疗的有效方法,可改善患者肢体动脉血供,缓解间歇性跛行和静息痛等症状。然而,股腘动脉支架植入术后支架内再狭窄仍是后续治疗的难点。有文献报道,支架术后再狭窄甚至闭塞的发生率高达 20%~50%^[14]。因此,对于围手术期药物,特别是以阿司匹林、氯吡格雷为

代表的抗血小板药物的合理使用,是延缓再狭窄的潜在手段。本研究结果显示,*CYP2C19* 的基因型为慢代谢型(*2/*2,*3/*3,*2/*3)的患者,术后早期发生再狭窄的可能,显著高于正常代谢型(*1/*1)与中代谢型(*1/*2,*1/*3,*2/*17,*3/*17)。常规给予拟行股腘动脉支架植入术的患者检测 *CYP2C19* 基因,并给予相应的药物方案调整,如加用西洛他唑^[15] 或小剂量利伐沙班^[16] 等,可能有助于患者更好地预防早期再狭窄,这也是后续研究的方向,需要在今后的工作中累积更多病例。

【参考文献】

[1] 于学会, 胡樑臣, 李艳华, 等. 氯吡格雷抵抗和 *CYP2C19* 基因多态性对急性冠脉综合征患者经皮冠状动脉介入治疗术后预后的影响[J]. 中国医刊, 2018, 53(2): 197-201. DOI: 10.3969/j. issn. 1008-1070. 2018. 02. 021.
Yu XH, Hu LC, Li YH, *et al.* Influence of clopidogrel resistance and *CYP2C19* gene polymorphism of prognosis after percutaneous coronary intervention with acute coronary syndrome patients[J]. Chin J Med, 2018, 53(2): 197-201. DOI: 10.3969/j. issn. 1008-1070. 2018. 02. 021.

[2] Long M, Ye Z, Zheng J, *et al.* Dual anti-platelet therapy following percutaneous coronary intervention in a population of patients with thrombocytopenia at baseline: a meta-analysis [J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2020, 21(1): 31. DOI: 10.1186/s40360-020-00409-2.

[3] Rhee TM, Park KW, Kim CH, *et al.* Dual antiplatelet therapy duration determines outcome after 2-but not 1-Stent strategy in left main bifurcation percutaneous coronary intervention [J]. JACC Cardiovasc Interv, 2018, 11(24): 2453-2463. DOI: 10.1016/j.jcin. 2018. 09. 020.

[4] Rehman KU, Akhtar T, Sabar MF, *et al.* Allele frequency distribution of *CYP2C19* *2 allelic variants associated with clopidogrel resistance in cardiac patients[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(1): 309-315. DOI: 10.3892/etm. 2015. 2493.

[5] Roden DM. Clopidogrel pharmacogenetics — why the wait? [J]. N Engl J Med, 2019, 381(17): 1677-1678. DOI: 10.1056/NEJMe1911496.

[6] 谭洁, 刘彦, 林琳, 等. 经皮冠状动脉介入术后患者 *CYP2C19* 基因多态性与氯吡格雷抵抗的相关性研究[J]. 临床心血管病杂志, 2013(2): 108-111. DOI: CNKI:SUN:LCXB. 0. 2013-02-009.
Tan J, Liu Y, Lin L, *et al.* Relationship between *CYP2C19* polymorphism and clopidogrel resistance in patients with percutaneous coronary intervention[J]. J Clin Cardiol, 2013(2): 108-111.

DOI: CNKI:SUN:LCXB. 0. 2013-02-009.

[7] Namazi S, Kojuri J, Khalili A, *et al.* The impact of genetic polymorphisms of P2Y12, CYP3A5 and CYP2C19 on clopidogrel response variability in Iranian patients[J]. Biochem Pharmacol, 2012, 83(7): 903-908. DOI: 10.1016/j.bcp. 2012. 01. 003.

[8] James S, Akerblom A, Cannon CP, *et al.* Comparison of ticagrelor, the first reversible oral P2Y₁₂ (12) receptor antagonist, with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes: rationale, design, and baseline characteristics of the PLATelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial[J]. Am Heart J, 2009, 157(4): 599-605. DOI: 10.1016/j. ahj. 2009. 01. 003.

[9] Wang D, Yang XH, Zhang JD, *et al.* Compared efficacy of clopidogrel and ticagrelor in treating acute coronary syndrome: a meta-analysis[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2018, 18(1): 217. DOI: 10.1186/s12872-018-0948-4.

[10] Jones WS, Baumgartner I, Hiatt WR, *et al.* Ticagrelor compared with clopidogrel in patients with prior lower extremity revascularization for peripheral artery disease[J]. Circulation, 2017, 135(3): 241-250. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA. 116. 025880.

[11] Berger JS, Abramson BL, Lopes RD, *et al.* Ticagrelor *versus* clopidogrel in patients with symptomatic peripheral artery disease and prior coronary artery disease: insights from the EUCLID trial[J]. Vasc Med, 2018, 23(6): 523-530. DOI: 10.1177/1358863X18775594.

[12] Hiatt WR, Fowkes FG, Heizer G, *et al.* Ticagrelor *versus* clopidogrel in symptomatic peripheral artery disease[J]. N Engl J Med, 2017, 376(1): 32-40. DOI: 10.1056/NEJMoa1611688.

[13] Wang YL, Zhao XQ, Lin JX, *et al.* Association between *CYP2C19* loss-of-function allele status and efficacy of clopidogrel for risk reduction among patients with minor stroke or transient ischemic attack[J]. JAMA, 2016, 316(1): 70-78. DOI: 10.1001/jama. 2016. 8662.

[14] 李杨, 郭建明, 谷涌泉. 股腘动脉支架内再狭窄的腔内治疗研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18(8): 873-875. DOI: 10.3969/j. issn. 1009-0126. 2016. 08. 026.
Li Y, Guo JM, Gu YQ. Progress in endovascular treatment of femoropopliteal artery in-stent restenosis[J]. Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis, 2016, 18(8): 873-875. DOI: 10.3969/j. issn. 1009-0126. 2016. 08. 026.

[15] de Donato G, Setacci F, Galzerano G, *et al.* The use of cilostazol in patients with peripheral arterial disease: results of a national physician survey[J]. J Cardiovasc Surg(Torino), 2016, 57(3): 457-465.

[16] Ultee KHJ, Steunenbergh SL, Schouten O. Rivaroxaban in peripheral artery disease after revascularization[J]. N Engl J Med, 2020, 383(21): 2089-2090. DOI: 10.1056/NEJMc2030413.

(编辑: 郑真真)