

我国北方汉族冠心病人群氯吡格雷抵抗相关影响因素的回顾研究

邸晓辉*,边佳明,徐娟,张梅(北京军区总医院药理科,北京 100700)

中图分类号 R968 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)20-1872-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.20.17

摘要 目的:探讨影响我国北方汉族冠心病人群氯吡格雷抵抗的相关影响因素。方法:选择425例首次行经皮冠状动脉介入术的患者,根据血小板聚集率结果将患者分为氯吡格雷抵抗(CRG)组和氯吡格雷敏感(CSG)组。检测其基因型,分析其CYP2C19*2等位基因携带状态,并分析血小板聚集率等实验室指标和冠心病易感指标等与其是否发生氯吡格雷抵抗的相关性。结果:CYP2C19基因G681A突变携带者(GA、AA)在CRG组与CSG组的分布率分别为64.4%和33.1%,携带突变基因与否在两组间的分布比较差异具有统计学意义($P<0.0001$),而其他非遗传性指标在两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:CYP2C19*2等位基因的携带与氯吡格雷抵抗有显著的相关性,G681A突变基因的携带是导致氯吡格雷抵抗的危险因素,其他非遗传因素与氯吡格雷抵抗的关联不大。

关键词 冠心病;CYP2C19;氯吡格雷;经皮冠状动脉介入

Retrospective Study on Related Influential Factors of Clopidogrel Resistance in Northern Han Chinese with Coronary Heart Disease

DI Xiao-hui, BIAN Jia-ming, XU Juan, ZHANG Mei (Dept. of Pharmacology, General Hospital of Beijing Military Command, Beijing 100700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the related influential factors of clopidogrel resistance in northern Han Chinese with coronary heart disease. METHODS: 425 northern Han Chinese patients underwent first percutaneous coronary intervention were chosen and divided into clopidogrel resistance group (CRG) and clopidogrel sensitivity group (CSG) according to platelet aggregation rate. Genotypes of them were detected, and the carry of CYP2C19*2 allele was analyzed; the relevance of biochemical index as platelet aggregation rate and susceptibility index of coronary heart disease with clopidogrel resistance were compared. RESULTS: The frequency of CYP2C19 gene G681A mutation carriers (GA, AA) in CRG and CSG were 64.4% and 33.1%, respectively; there was statistical significance ($P<0.0001$). The nongenetic factors showed no statistical difference between 2 groups ($P>0.05$). CONCLUSIONS: The carry of CYP2C19*2 allele is significant relevant with the occurrence of clopidogrel resistance, and G681A mutation is a predictor for clopidogrel resistance. Other nongenetic factors show no significant effect on clopidogrel resistance.

KEYWORDS Coronary heart disease; CYP2C19; Clopidogrel; PCI

氯吡格雷(Clopidogrel)是目前世界上处方量最多的药物之一,在所有急性冠状动脉综合征(ACS)和接受经皮冠状动脉介入(PCI)支架治疗的患者中,联合应用阿司匹林与氯吡格雷

抗凝已成为标准治疗方案。但是,氯吡格雷的治疗反应在不同患者间存在巨大差异。有不少研究表明,这可能与患者间不同的遗传背景相关,其中细胞色素P₄₅₀代谢酶(CYP)2C19亚

- [2] 柯美云.反流性食管炎患者的症状特征及雷贝拉唑治疗疗效的多中心评估[J].中华消化杂志,2009,25(6):363.
- [3] 中华医学会消化内镜学会.反流性食管炎(病)诊断及治疗方案:试行[J].中华消化内镜杂志,1999,16(6):326.
- [4] 蒋烈.奥美拉唑联合莫沙比利治疗反流性食管炎22例疗效观察[J].现代医药卫生,2010,23(2):194.
- [5] 兰索拉唑临床协作组.兰索拉唑治疗反流性食管炎康复中心临床观察[J].中华消化内镜杂志,1998,15(4):243.
- [6] 王家珑,侯晓华,吴小平,等.胃食管反流病与质子泵抑制剂[J].中华消化杂志,2009,23(3):176.
- [7] 柯美云.反流性食管炎患者的症状特征及雷贝拉唑治疗

- 疗效的多中心评估[J].中华消化杂志,2009,25(6):363.
- [8] 黄敏.奥美拉唑联合莫沙比利治疗反流性食管炎临床观察[J].山西医药杂志,2010,37(4):313.
- [9] 倪丰广.三联疗法治疗胃食管反流疾病的疗效观察[J].中国药房,2012,23(12):1112.
- [10] 许天波,柯美云.酸相关疾病治疗研究进展[J].中国医药导刊,2007,5(2):101.
- [11] 杨日芳,恽榴红,丁振.质子泵抑制剂的研究进展[J].中国新药杂志,1994,3(6):3.
- [12] 林森,曲云东.质子泵抑制剂的临床应用[J].世界临床药物,2010,26(7):410.

(收稿日期:2013-11-18 修回日期:2014-02-19)

* 副主任药师。研究方向:临床药理。电话:010-66721842。
E-mail:beizongjigou@163.com

型的基因多态性被证实与氯吡格雷的抗血小板活性显著相关^[1]。但是,该研究结果是否适用于我国汉族人群,在国内尚缺乏大样本、多中心的研究。为此,笔者采用病例对照的方法,探讨CYP2C19基因G681A多态性即CYP2C19*2与我国北方汉族冠心病人群氯吡格雷抵抗的相关性及导致氯吡格雷抵抗的危险因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2010年5月—2012年4月在我院进行冠状动脉造影并进行介入治疗的患者。入选标准:我国北方地区居民,汉族,年龄18~70岁,冠心病首次行PCI术的患者。排除标准:合并恶性肿瘤,呼吸功能衰竭,有急、慢性血液系统疾病或自身免疫性疾病者,以及因急性心肌梗死行急诊PCI术患者。最终共入选425名患者,其中男性250名,平均年龄(61.8±11.5)岁;女性175名,平均年龄(65.2±8.7)岁。

1.2 分组方法

患者于入院第二日清晨采血测定血常规、血生化等指标,并于术前给予负荷剂量阿司匹林(拜耳医药保健有限公司)300 mg和氯吡格雷(杭州赛诺菲民生制药有限公司)600 mg。术后通过比浊法测定二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集率,根据血小板聚集率检验结果将研究对象分为氯吡格雷抵抗(CRG)组和氯吡格雷敏感(CSG)组。氯吡格雷抵抗定义为10 μmol/L ADP诱导的血小板聚集率>70%^[2]。

1.3 试剂

血液基因组DNA提取利用试剂盒(北京天根生物科技有限公司)完成,用微量紫外可见分光光度计(Nanodrop,美国)检测DNA浓度,统一稀释至100 μg/ml, -20℃冰箱保存,备用。自行设计引物:生物素标记的正向引物:bio5'-GAT AGT CAA TAA TTT TCC CAC TA -3',反向引物:5'-CCG TAG TAA ACA CAA AAC TAG TCA ATG -3',测序引物:5'-TTA AGT AAT TTG TTA TGG GT-3'。聚合酶链反应(PCR)试剂采用2×Taq Mix(北京博麦德科技发展有限公司),反应体系50 μl,模板量1 μl。PCR循环参数:95℃ 3 min,95℃ 30 s,57℃ 30 s,72℃ 30 s,45个循环,72℃ 3 min,4℃保持。扩增结束后,应用PYROMARK焦磷酸测序仪(德国QIAGEN公司)对CYP2C19基因G681A的基因型测序,3种基因型的测序结果见图1。

1.4 观察指标

比较两组患者的遗传背景(是否携带CYP2C19*2等位基因)、体质指数、血压、血糖、血脂等因素在各组的分布情况,并进行相关性分析。

1.5 统计学方法

采用GraphPad® Prism 5(美国)软件进行数据统计和分析。组间不同基因型出现频率的比较采用 χ^2 检验,用OR值和95%可信区间(95% CI)表示基因与疾病间的关联强度,其余指标的组间比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氯吡格雷抵抗与CYP2C19基因多态性的关联性

经检测得到,CRG组共入选患者87例,其中男性49例,女

性38例;CSG组共入选患者338例,其中男性201例,女性137例。两组患者氯吡格雷总体抵抗发生率为20.5%。

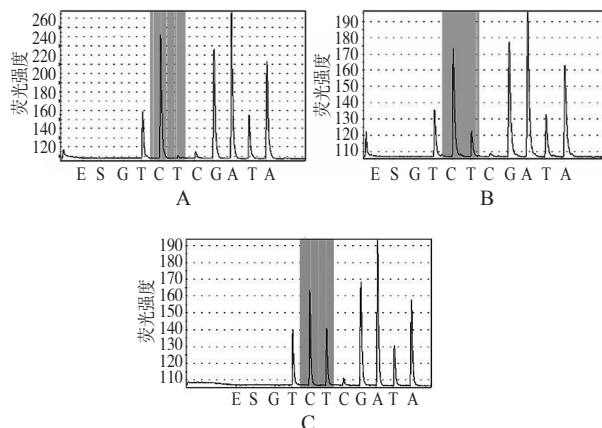


图1 3种基因型测序结果

A.GG纯合;B.GA杂合;C.AA纯合

Fig 1 Results of 3 genotypes sequencing

A.GG homozygous; B.GA heterozygous; C.AA homozygous

通过基因分型将患者分为两组,即突变等位基因携带者(CYP2C19*2carrier,包括GA和AA基因型)和野生纯合子携带者(CYP2C19*2non-carrier,即GG基因型),详见表1。

表1 氯吡格雷抵抗与患者CYP2C19*2基因突变的分布[例(%)]

组别	n	2 gene mutation [case (%)]	
		GA和AA基因	GG基因
CRG组	87	56(64.4)	31(35.6)
CSG组	338	112(33.1)	226(66.9)
合计	425	168(39.5)	257(60.5)

由表1可见,CYP2C19*2突变等位基因携带者的总比例为39.5%,其中在CRG组中携带突变等位基因的比例为64.4%,在CSG组中携带突变等位基因的比例为33.1%,经 χ^2 检验显示, $\chi^2=28.23$, $P<0.0001$,OR=3.645,95%CI(2.224,5.973),表明CYP2C19*2等位基因的携带与氯吡格雷抵抗有显著的相关性,G681A突变基因的携带是导致氯吡格雷抵抗的重要原因。

2.2 非遗传因素与氯吡格雷抵抗的相关性

本研究比较了两组患者的非遗传因素指标与氯吡格雷抵抗的相关性,结果未发现各指标在两组间有显著性差异,详见表2(1 mm Hg=0.133 kPa)。

3 讨论

氯吡格雷广泛用于ACS患者PCI术后的双重抗血小板治疗,国外一系列临床研究已经证实了氯吡格雷强大的抗栓作用以及显著的临床疗效^[3]。氯吡格雷本身并无抗血小板聚集活性,只有经过肝药酶的代谢才能产生活性代谢物,其活性代谢物是血小板P2Y₁₂受体的选择性拮抗剂,可阻断ADP诱导的血小板聚集^[4]。CYP2C19是该步骤中一个重要的代谢酶,CYP2C19基因位于10号染色体,有9个外显子,*2等位基因的核心突变G681A导致剪接缺陷,可使酶活性完全丧失。Hapmap数据显示,我国汉族人群中A的突变频率为0.25,本研究

表2 两组患者非遗传因素于氯吡格雷抵抗的相关性比较
($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of relevance between non-genetic factors and clopidogrel resistance between 2 groups($\bar{x} \pm s$)

非遗传因素	CSG组(n=87)	CRG组(n=338)	P
年龄,岁	62.9±9.1	63.3±10.5	0.745
吸烟,例(%)	38(43.7)	168(49.7)	0.316
体质量指数,kg/m ²	24.6±3.5	25.3±3.4	0.089
收缩压,mm Hg	132±28.8	134±22.8	0.549
舒张压,mm Hg	88±17.1	86±16.2	0.311
血小板,×10 ⁹ L ⁻¹	203±52	194±41	0.137
白细胞,×10 ⁹ L ⁻¹	6.8±1.6	7.1±1.5	0.102
血清肌酐,μmol/L	77.4±19.1	74.6±16.5	0.213
甘油三酯,mmol/L	1.78±0.46	1.69±0.42	0.081
总胆固醇,mmol/L	5.46±0.68	5.59±0.77	0.151
空腹血糖,mmol/L	5.7±0.8	5.6±0.7	0.250
心肌肌钙蛋白 I,ng/ml	0.69±0.13	0.72±0.15	0.088

的检测结果显示A的突变频率为0.22,与其基本一致。

随着氯吡格雷的广泛应用,越来越多的临床证据表明其抗血小板作用并不能使所有PCI术后的患者受益,约有10%~30%的患者对氯吡格雷反应较差,出现所谓的氯吡格雷抵抗^[5]。为此,2010年8月,美国心脏病学会基金会和美国心脏病学会共同发布了美国食品药品监督管理局(FDA)关于氯吡格雷的盒装警告:针对医师和患者,建议通过检测药物基因型以明确患者氯吡格雷的代谢变化,以预测患者不良反应的风险^[6]。氯吡格雷抵抗的定义目前没有统一意见,一般认为在服用氯吡格雷后,将功能上不能抑制ADP诱导的血小板聚集、临床上心血管事件反复发作定义为氯吡格雷抵抗。对于实验室检测的血小板活性,有学者认为,给予600 mg氯吡格雷后4 h,对ADP诱导的血小板聚集抑制率与基线相比降低<10%为氯吡格雷抵抗;10%~30%为反应不完全;>30%为药物反应良好^[7]。也有文献将ADP诱导的血小板最大聚集率作为指标,认为>70%就是氯吡格雷抵抗^[8-9]。本研究中采取了后者的定义。

本研究结果显示,在我国北方汉族人群中,ACS患者首次PCI术后使用氯吡格雷+阿司匹林的治疗方案,发生氯吡格雷抵抗的比例为20.5%,且发生氯吡格雷抵抗的患者在CRG组患者中携带CYP2C19*2等位基因的比例显著高于CSG组患者,提示是否携带CYP2C19*2等位基因是发生氯吡格雷抵抗的危险因素。但是需要指出的是,CYP2C19*2等位基因的携带只是发生氯吡格雷抵抗的危险因素之一,可以部分解释氯吡格雷抵抗的发生。在本研究中,CRG组中也有较高比例(35.6%)的患者并未携带CYP2C19*2等位基因。氯吡格雷仅能阻断ADP诱导的血小板聚集,对于其他因素导致的血栓形成并无抑制作用,因此仅通过代谢酶的活性预测PCI术后心血管事件的发生必然是局限的。目前,氯吡格雷药理学通路上很多其他的靶点也被列为候选基因进行了遗传药理学研究,如ABCB1转运体C3435T的突变,P2Y12受体T744C的突变等,但是都没有像CYP2C19*2那样较强的关联性^[10]。大量

研究结果显示,吸烟、糖尿病、高血压、高脂血症、肥胖等因素为冠心病的危险因素,但这些危险因素与氯吡格雷抵抗之间关系尚不清楚。本研究结果显示,两组患者的上述非遗传性因素间比较,差异均无统计学意义。

综上所述,CYP2C19*2等位基因的携带与氯吡格雷抵抗有显著的相关性,G681A突变基因的携带是导致氯吡格雷抵抗的危险因素,其他非遗传因素与氯吡格雷抵抗的关联不大。

参考文献

- [1] Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. *N Engl J Med*, 2009,360(4):354.
- [2] Cuisset T, Frere C, Quilici J, et al. Role of T744C polymorphism of the P2Y12 gene on platelet response in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome[J]. *Thromb Res*, 2007,120(6):893.
- [3] Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT III, et al. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2002,288(19):2411.
- [4] Terpening C. Clopidogrel: a pharmacogenomic perspective on its use in coronary artery disease[J]. *Clin Med Insights Cardiol*, 2010,4(4):117.
- [5] David R, Gregory JD, Sanjay K, et al. ACCF/AHA clopidogrel clinical alert: approaches to the FDA "boxed warning"[J]. *JACC*, 2010,56(4):537.
- [6] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel clinical implications, management, and future perspectives [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007,49(14):1505.
- [7] Muller I, Besta F, Schulz C, et al. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement[J]. *Thrombo Haemost*, 2003,89(5):783.
- [8] Cuisset T, Frere C, Quilici J, et al. Role of the T744C polymorphism of P2Y12 gene on platelet response to a 600-mg loading dose of clopidogrel in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome[J]. *Thromb Res*, 2007,120(6):893.
- [9] 孙莹,韩亚玲,张效林,等.P2Y12受体T744C单核苷酸多态性与中国北方汉族冠心病人群氯吡格雷抵抗的关联研究[J]. *中国医学工程*, 2011,19(4):44.
- [10] Cuisset T, Morange PE, Alessi MC. Recent advances in the pharmacogenetics of clopidogrel[J]. *Hum Genet*, 2012,131(5):653.

(收稿日期:2014-01-17 修回日期:2014-03-26)