

CYP2C19基因多态性与浙江汉族老年冠心病的相关性研究

樊丹君 李晨怡 陈进 叶子青

[摘要] 目的 探讨细胞色素P450 2C19(CYP2C19)基因多态性与浙江汉族老年人群冠心病的相关性。方法 采用基因芯片技术检测210例冠心病患者和206例对照组的基因多态性,对两组患者基本临床资料、实验室指标、CYP2C19基因分布进行分析。结果 冠心病组及对照组不同基因型和等位基因分布差异有统计学意义(χ^2 分别=10.53、6.48, P 均 <0.05),且冠心病组CYP2C19*2、CYP2C19*3等位基因频率明显高于对照组,差异有统计学意义(χ^2 分别=15.36、6.00, P 均 <0.05)。logistic回归分析校正性别、年龄、体重指数、血压、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇等传统危险因素之后,血糖高、有吸烟史、携带CYP2C19*2、CYP2C19*3等位基因患冠心病风险明显增加(OR 分别=1.90、1.28、2.80、3.57, P 均 <0.05)。结论 携带CYP2C19*2或CYP2C19*3基因是浙江汉族老年人群冠心病发生的重要危险因素。CYP2C19基因多态性会增加浙江汉族老年人群患冠心病的发生风险。

[关键词] CYP2C19; 基因多态性; 冠心病; 老年人

Association between CYP2C19 gene polymorphism and coronary heart disease in elderly of Han nationality in Zhejiang FAN Danjun, LI Chenyi, CHEN Jin, et al. Department of Medical Care for Cadres, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China

[Abstract] Objective To investigate the association between CYP2C19 gene polymorphism and coronary heart disease (CHD) in elderly of Han nationality in Zhejiang. **Methods** The CYP2C19 genotypes of 210 patients with CHD and 206 cases of control were detected by using gene chip technology. The basic clinical data, laboratory results, polymorphisms distribution of CYP2C19 were retrospectively analyzed. **Results** There were statistical differences in the genotypes and frequencies of alleles of CYP2C19 between the two group ($\chi^2=10.53, 6.48, P<0.05$), and the frequencies of CYP2C19 *2, CYP2C19 *3 in CHD group were higher than those in the controls ($\chi^2=15.36, 6.00, P<0.05$). Adjusting for traditional cardiovascular factors including gender, age, BMI, hypertension, TC and LDL-C, the logistic regression analysis showed that the history of smoking, higher blood sugar, CYP2C19 *2, CYP2C19 *3 were significant risk factors of CHD ($OR=1.90, 1.28, 2.80, 3.57, P<0.05$). **Conclusion** CYP2C19*2 or CYP2C19*3 may be the independent risk factors of CHD. CYP2C19 gene polymorphism can increase the risk of coronary heart disease in the elderly of Han nationality in Zhejiang.

[Key words] CYP2C19; genetic polymorphism; coronary heart disease; elderly

冠心病是遗传因素和环境因素相互作用而产生的一类疾病,是全球常见病、多发病,严重危害人类健康。细胞色素P450 (cytochrome P450 protein,

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2018.02.003

基金项目:浙江省自然科学基金(Y16H150020)、浙江省卫生厅科研基金(2012KYB002)、浙江医院的培植学科-智能化慢病管理基金

作者单位:310013 浙江杭州,浙江医院干部保健科

通讯作者:陈进, Email: cnjn1111@sina.com

CYP)是一种以血红素为辅基的B族细胞色素家族蛋白酶, CYP2C19是CYP家族中主要的药物代谢酶, CYP2C19*1为野生型, CYP2C19*2、CYP2C19*3是亚洲人群最主要的两种功能缺失型等位基因。近来有研究发现, CYP2C19基因多态性与心血管疾病相关^[1-3]。本次研究采用基因芯片技术检测浙江汉族老年人群冠心病CYP2C19基因型,分析该基因多态性与冠心病的关系,并给临床个体化用药提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2013年1月至2016年1月期间在浙江医院住院的浙江省汉族无血缘关系的冠心病老年患者210例为冠心病组,年龄均>65岁,冠心病诊断标准参照美国心脏病学会和美国心脏病协会制定的冠状动脉粥样硬化性心脏病诊断及治疗指南。其中男性147例、女性63例,平均年龄(84.44±4.39)岁。选择同期年龄、性别匹配的无冠心病客观证据的浙江省汉族无血缘关系的老年人206例为对照组,其中男性155例、女性51例;年龄均>65岁,平均年龄(83.54±4.76)岁。两组患者的排除标准:既往有心脏瓣膜病、心肌病、先天性心脏病、高血压心脏病、内分泌代谢疾病、免疫性疾病、肿瘤、严重肝肾疾病及严重感染等患者。

1.2 方法

1.2.1 一般临床资料收集:详细记录两组研究对象的传统心血管危险因素,包括性别、年龄、身高、体重、体重指数(body mass index, BMI)、吸烟史、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、空腹血糖、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、甘油三酯(triglyceride, TG)、同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)、高敏C反应蛋白(high sensitivity C reactive protein, hs-CRP)。

1.2.2 CYP2C19基因检测:抽取外周静脉血2 ml,按照上海百傲科技有限公司生产的试剂盒使用说明提取和纯化样本DNA,然后进行PCR扩增。将CYP2C19扩增液1、2分别分装到无菌的0.2 ml薄壁管中,每管19 μl,分别加1 μl反应液A、5 μl提取好的样本DNA溶液,混匀瞬时离心,将各管放入PCR扩增仪中,按下列条件扩增:50℃ 5 min, 94℃ 5 min, 94℃ 25 s, 48℃ 40 s, 72℃ 30 s, 35个循环;72℃ 5 min。4℃保存。然后进行杂交显色:将反应液B低速离心,取10 μl加入杂交缓冲瓶混匀;取180 μl杂交缓冲液,加入10 μl PCR扩增产物1和10 μl扩增产物2混匀,加入到反应试管条的预杂交液试管中;取出抗体,按1:1管的比例,加抗体稀释剂,振荡混匀,制成抗体使用液,取200 μl的抗体使用液到反应试管条的抗体试管杯中,再加200 μl显色液到反应试管条的显色试管杯中。把反应试管条放入杂交仪中,运行杂交程序。应用生物芯片识读仪进行图像扫描、数据分析,输出检测结果。

1.3 统计学方法 采用SPSS 22.0版统计软件进行

统计分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以率表示,率的比较采用 χ^2 检验;并采用Hardy-Weinberg平衡估算群体代表性;综合评估各因素与冠心病关系采用多因素logistic回归分析。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 冠心病组与对照组临床资料比较见表1

表1 冠心病组与对照组临床资料比较

项目	冠心病组(n=210)	对照组(n=206)
年龄/岁	84.44 ± 4.39	83.54 ± 4.76
男性/例(%)	147(70.00)	155(75.30)
吸烟/例(%)	66(31.40)	66(27.20)
BMI/kg/m ²	23.63 ± 3.76	23.46 ± 13.60
SBP/mmHg	134.14 ± 20.35	132.43 ± 18.01
DBP/mmHg	69.07 ± 11.68	71.51 ± 10.23
血糖/mmol/L	5.46 ± 0.98	5.28 ± 0.97
TC/mmol/L	4.40 ± 0.97	4.08 ± 1.04
LDL-C/mmol/L	2.42 ± 0.74	2.06 ± 0.83
TG/mmol/L	1.33 ± 1.32	1.33 ± 0.61
Hcy/μmol/L	15.42 ± 7.04	14.17 ± 5.82
hs-CRP/mg/L	3.70 ± 3.96	3.34 ± 3.38

由表1可见,两组人群性别、吸烟率、年龄、BMI、SBP、DBP、血糖、TC、LDL-C、TG、Hcy、hs-CRP等比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=1.47、0.90, t 分别=0.06、0.74、1.80、3.14、0.77、0.04、0.67、0.67、0.25、3.78, P 均>0.05)。

2.2 冠心病组与对照组CYP2C19基因多态性比较 两组CYP2C19基因型频率符合Hardy-Weinberg平衡,说明入选对象具有群体代表性。冠心病组和对照组CYP2C19等位基因及基因型频数分布见表2。

表2 冠心病组和对照组CYP2C19等位基因及基因型频数分布/例(%)

基因多态性	冠心病组	对照组
等位基因		
CYP2C19*1	237(56.43)	301(73.06)
CYP2C19*2	143(34.05)	90(21.84)
CYP2C19*3	40(9.52)	21(5.10)
基因型		
CYP2C19*1*1	77(36.67)	118(57.28)
CYP2C19*1*2	55(26.19)	49(23.79)
CYP2C19*1*3	28(13.33)	16(7.77)
CYP2C19*2*2	38(18.10)	18(8.74)
CYP2C19*2*3	12(5.71)	5(2.42)

由表2可见,冠心病组及对照组不同基因型频

数、等位基因频数比较,差异均有统计学差异(χ^2 分别=10.53、6.48, P 均 <0.05)。冠心病组CYP2C19*2、CYP2C19*3等位基因频率高于对照组,差异有统计学意义(χ^2 分别=15.36、6.00, P 均 <0.05)。冠心病组CYP2C19*2/*2基因型频率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=7.82$, $P<0.05$)。

表3 冠心病影响因素的多因素非条件二项分类logistic回归分析

因素	β	SE	Wald	P	OR	95%CI
吸烟史	0.64	0.19	11.60	<0.05	1.90	1.31 ~ 2.74
血糖	0.25	0.08	9.51	<0.05	1.28	1.09 ~ 1.50
CYP2C19*2	1.03	0.19	28.32	<0.05	2.80	1.91 ~ 4.09
CYP2C19*3	1.27	0.32	16.23	<0.05	3.57	1.92 ~ 6.62

由表3可见,入组主效应模型的自变量有吸烟史、血糖、CYP2C19基因多态性。携带CYP2C19*2等位基因和CYP2C19*3等位基因的患者患冠心病风险明显增加(P 均 <0.05)。

3 讨论

冠心病是动脉粥样硬化引起冠状动脉管腔狭窄或闭塞最终导致心肌缺血、缺氧或坏死的心脏病。CYP2C19参与多种外源性物质(如氯吡格雷、乙醇等)和内源性物质(如花生四烯酸)的代谢。其基因多态性导致不同地区、不同个体之间编码的CYP2C19酶代谢能力的差异。CYP2C19基因多态性不仅与冠心病经皮冠状动脉介入治疗术后氯吡格雷抗血小板反应性相关,也是花生四烯酸代谢过程中的关键酶之一^[4,5]。根据代谢能力分为强代谢型*1/*1,中间代谢型*1/*2、*1/*3,弱代谢型*2/*2、*2/*3、*3/*3。王晓焕等^[1]研究显示,云南汉族人群CYP2C19基因rs4986893位点携带A等位基因患冠心病风险增加。张立国等^[2]研究结果提示云南汉族CYP2C19*1/*2、*1/*3基因型的人群冠心病发生增加。

本次研究对浙江416例汉族老年人群进行CYP2C19基因检测发现,患有冠心病与未患冠心病对照组间不同基因型频率、等位基因频率分布有明显差异($P<0.05$),这与王晓焕等^[1]研究结果不一致,其研究报道冠心病组与对照组基因型、等位基因分布频率无统计学差异,这可能因为浙江与云南两个地区的CYP2C19基因分布不同。本次研究中冠心病组的CYP2C19*2、CYP2C19*3等位基因频数分别为143(34.05%)和40(9.52%),明显高于对照组的90(21.84%)和21(5.10%),差异有统计学意义($P<0.05$),且浙江汉族老年冠心病组CYP2C19*2/*2频率

2.3 CYP2C19基因多态性和冠心病的关系 将冠心病作为因变量,性别、年龄、BMI、吸烟史、收缩压、舒张压、血糖、TC、LDL、TG、Hcy、hsCRP、CYP2C19基因多态性作为自变量,行多因素非条件二项分类logistic回归,冠心病影响因素的多因素非条件二项分类logistic回归分析结果见表3。

明显高于对照组($P<0.05$),提示CYP2C19*2和/或CYP2C19*3基因携带者可能更易发生冠心病。logistic回归分析校正年龄、性别、体重指数、血压、TG、LDL、TC、Hcy、hsCRP等常见的冠心病危险因素后,结果显示吸烟史、血糖、携带CYP2C19*2和CYP2C19*3等位基因的人群患冠心病的风险增加(P 均 <0.05),后两者与Hokimoto等^[7]研究一致。吸烟史、血糖在单因素分析中无统计学意义,而在logistic回归有相关性,可能在单因素分析中有混杂因素,logistic回归控制了该混杂因素,增加病例数可能使两者结果一致。花生四烯酸经CYP酶(如CYP2C19)途径主要代谢产物为表氧二十碳三烯酸,表氧二十碳三烯酸已被认为是一种内源性超极化因子,通过激活钾离子、钙离子通道,使内皮下的平滑肌细胞产生超极化反应而产生扩血管作用,同时表氧二十碳三烯酸还通过转录因子、核因子 κ B和 κ B激酶抑制白细胞粘附到血管壁,因此表氧二十碳三烯酸具有抗高血压、抗炎、抗凝作用,延缓动脉粥样硬化作用,而CYP2C19等位基因功能性缺失使其编码的酶活性下降,经其代谢的表氧二十碳三烯酸水平亦下降,导致炎症增加、微循环障碍等,从而增加冠心病的发生率^[3,8]。

老年人是心血管系统疾病的高发人群,本次研究中可见浙江汉族老年人携带CYP2C19*2和/或*3的老年人更易患冠心病,在这些人群中使用药物如氯吡格雷,需考虑CYP2C19*2和/或*3因功能缺失而降低有效药物浓度,以致不能达到满意的抗血小板聚集。因此,2010年美国食品药品监督管理局发出警告,要求对需氯吡格雷治疗的患者进行基因检测,对于携带CYP2C19*2和/或*3的患者,建议加大氯吡格

(下转第140页)

作用机制,为GDF-15成为新的糖尿病肾病早期血浆标志物提供理论依据。

参考文献

- 1 Bash LD, Selvin E, Steffes M, et al. Poor glycemic control in diabetes and the risk of incident chronic kidney disease even in the absence of albuminuria and retinopathy: Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study [J]. *Arch Intern Med*, 2008, 168(22): 2440-2447.
- 2 Navarro-González JF, Mora-Fernández C, De Fuentes MM, et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 7(6): 327-340.
- 3 Tan M, Wang Y, Guan K, et al. PTGF- β , a type - β transforming growth factor (TGF- β) superfamily member, is a p53 target gene that inhibits tumor cell growth via TGF - β signaling pathway [J]. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2000, 97(1): 109-114.
- 4 Berezin AE. Diabetes mellitus related biomarker: The predictive role of growth-differentiation factor-15 [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2016, 10(1): S154-S157.
- 5 Simonson MS, Tiktin M, Debanne SM, et al. The renal transcriptome of db/db mice identifies putative urinary biomarker proteins in patients with type 2 diabetes: a pilot study [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(7): 820-829.
- 6 Mazagova M, Buikema H, van Buiten A, et al. Genetic deletion of growth differentiation factor 15 augments renal damage in both type 1 and type 2 models of diabetes [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(9): F1249-F1264.
- 7 Kempf T, Guba-Quint A, Torgerson J, et al. Growth differentiation factor 15 predicts future insulin resistance and impaired glucose control in obese nondiabetic individuals: results from the XENDOS trial [J]. *Eur J Endocrinol*, 2012, 167(5): 671-678.
- 8 Hellemons ME, Mazagova M, Gansevoort RT, et al. Growth-differentiation factor 15 predicts worsening of albuminuria in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(11): 2340-2346.
- 9 沈晓明, 李淳, 许世佳. 血清胱抑素C及血管内皮生长因子在糖尿病肾病中的早期诊断价值 [J]. *全科医学临床与教育*, 2015, 13(5): 507-510.
- 10 李慧, 高方, 薛耀明, 等. 2型糖尿病肾病患者生长分化因子-15的表达及临床意义 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(3): 387-390, 395.
- 11 Hong JH, Choi YK, Min BK, et al. Relationship between hepcidin and GDF15 in anemic patients with type 2 diabetes without overt renal impairment [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 109(1): 64-70.

(收稿日期 2017-10-28)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第133页)

雷的剂量或改用其它抗血小板药物。本次研究也存在局限性,如单中心研究、样本量偏小、年龄偏大,有待今后进行大样本、多中心和前瞻性随访研究。

参考文献

- 1 王晓焕, 傅薇, 张云坤, 等. CYP2C19基因多态性与云南汉族人群冠心病的相关性研究 [J]. *中华全科医学*, 2017, 15(5): 763-766.
- 2 张立国, 喻卓. CYP2C19基因多态性与云南汉族人群冠心病的相关性研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2016, 14(14): 1597-1600.
- 3 Akasaka T, Sueta D, Arima Y, et al. Association of CYP2C19 variants and epoxyeicosatrienoic acids in patients with microvascular angina [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 11(6): H1409-H1415.
- 4 刘浙波, 夏豪, 杨洋, 等. 氯吡格雷药物代谢相关基因CYP2C19多态性对冠心病PCI术后患者MACE的影响 [J]. *中国心血管病研究*, 2016, 14(6): 553-556.
- 5 Zordoky BN, El-Kadi AO. Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 125(3): 446-463.
- 6 吴小燕, 郭建军, 付茹莹, 等. CYP2C19基因检测对老年心脑血管患者抗血小板治疗的意义 [J]. *中华老年医学杂志*, 2017, 36(1): 37-40.
- 7 Hokimoto S, Tabata N, Akasaka T, et al. Gender differences in impact of CYP2C19 polymorphism on development of coronary artery disease [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015, 65(2): 148-152.
- 8 Ellinsworth DC, Sandow SL, Shukla N, et al. Endothelium-derived hyperpolarization and coronary vasodilation: diverse and integrated roles of epoxyeicosatrienoic acids, hydrogen peroxide, and gap junctions [J]. *Microcirculation*, 2016, 23(1): 15-32.

(收稿日期 2017-09-01)

(本文编辑 蔡华波)