

基因多态性与华法林剂量的研究进展

李 龙, 胡振红, 刘海潮, 夏 飞

【关键词】 基因多态性; 华法林; 华法林剂量模型; 抗凝; 凝血因子; 基因突变

【中图分类号】 R 968

【文献标识码】 A

doi:10.13730/j.issn.1009-2595.2017.06.019

华法林属于香豆素类抗凝药,是目前全球应用最为广泛的口服抗凝药物。广泛应用于肺栓塞、心脏金属瓣膜置换术后、房颤、下肢深静脉血栓的抗凝治疗^[1]。华法林疗效被广泛认可,但其治疗窗较窄,个体差异较大,其较窄的治疗窗指数以及抗凝不当导致的严重并发症长期阻碍临床推广。影响华法林疗效的因素包括患者性别、身高、体质量、肝肾功能、营养情况、疾病本身发病机制、药物之间相互作用影响等^[2]。随着基因检测技术不断发展,众多研究发现与华法林代谢相关酶、转运蛋白、受体以及其他法华林靶蛋白相关遗传的多样性均对华法林疗效及不良反应有重要的作用^[3]。目前国内外研究较为热门的基因为 P450CYP、VKORC1,其他华法林药动学及药效学相关基因也陆续被研究,如 GGCY、维生素 K 依赖性凝血因子、多耐药相关蛋白、编码维生素 K 载脂蛋白 E、微粒体环氧化物水解酶等^[4]。在基因检测的基础上利用基因多态性评估患者华法林用量的个体差异是目前研究的新热点,目前国内外已研究出多个个体化华法林剂量给药模型,但其可靠性需要临床进一步验证。为此本文就华法林相关基因多态性及剂量预测模型的应用及其有效性进行阐述,为华法林个体化差异治疗提供理论依据。

1 华法林基因多态性

1.1 影响华法林药效相关基因

VKORC1 基因编码产物为维生素 K 环氧化物还原酶复合体 1,是 VitK 代谢循环中的关键酶。VKORC1 基因的多态性导致不同个体对华法林抗凝效果的差异性已经被广泛认可。维生素 K 环氧化物还原酶复合体 1 主要活化维生素 K 辅助因子维生素 K2-3,活化的辅助因子参与羧化酶的催化反应形成凝

血因子 II、III、IX、X^[5]。维生素 K 主要阻断维生素 K 环氧化物还原酶介导维生素 K2-3 的活化,从而达到抗凝作用。VKORC1 基因常见的基因突变位点为 1639G>A、1173C>T、3730G>A^[6]。Wakamiya 等^[7]研究发现突变的 VKORC1-1639G、VKORC1-1173C 可以降低华法林药效,导致抗凝所需华法林剂量增加。Zhang 等^[8]研究发现 VKORC1-1173CC、VKORC1-1173CT 基因携带者比 VKORC1-1173TT 基因携带者华法林剂量提高分别为 97%、44%;VKORC1-1639GG、VKORC1-1639GA 基因携带者比 VKORC1-1639AA 基因携带者华法林剂量提高分别为 102%、52%。不同种族间 VKORC1 基因突变频率存在差异,Topkara 等^[9]研究发现日本人 VKORC1 基因 1173 位点 CC、CT、GT 基因频率分别为 0、0.15、0.85,而高加索地区该基因频率分别为 0.35、0.5、0.15。

1.2 影响华法林代谢相关基因

CYP2C9 基因的编码产物为胞色素 P450 酶 2C9,是华法林代谢的关键酶之一。该酶的编码基因位于 10q2412,由 8 个内含子 9 个外显子组成,全长 55 kb^[10]。CYP2C9 的野生型为 CYP2C9 * 1,常见突变类型 CYP2C9 * 2、CYP2C9 * 3、CYP2C9 * 2 基因型为 3 号外显子 416 位点 C 突变为 T,使精氨酸被半胱氨酸所代替,CYP2C9 * 3 基因型为 7 号外显子 1061 位点 A 突变为 C,使异亮氨酸被亮氨酸代替。不同基因型编码酶的活性存在差异。Sun 等^[11]报道 CYP2C9 * 2、CYP2C9 * 3 等位基因编码的胞色素 P450 酶 2C9 对华法林代谢能力降低,导致华法林的半衰期延长,具有更高的血药浓度,导致更强的抗凝作用,以上两种等位基因相对于野生型华法林维持剂量小。Alrashid 等^[12]通过荟萃分析得出类似结论,CYP2C9 * 2、CYP2C9 * 3 基因突变型华法林剂量相对于野生型减少约 20%~78%。不同种族中 CYP2C9 基因突变存在差异。Wypasek 等^[13]研究发现,在亚洲种人群中,CYP2C9 * 3 的基因突变率为 2%~10%,主要分布于

【作者单位】 430070 湖北武汉,解放军武汉总医院呼吸内科(李龙、胡振红、刘海潮、夏 飞)

【通信作者】 夏 飞,E-mail:1241351449@qq.com

中亚、南亚及西亚,同时 CYP2C9 * 2 的基因突变率低于 CYP2C9 * 3,在东亚及东南亚少见。娄莹等^[14]报道,CYP2C9 * 3 是中国主要的基因突变类型,可以解释 10%左右的华法林个体差异。除这些较常见的基因突变类型外,有研究报道 CYP2C9 * 5/6/8/11/60 基因突变同样可降低华法林使用剂量^[15]。

1.3 影响华法林信号通路相关基因

CYP4F2 基因的编码产物为维生素 K 环氧化物酶,为 CYP 家族成员之一。该基因表达产物主要存在于肝脏及肾脏中,通过羟基化维生素 K 苯基基因使还原型维生素 K 浓度下降,导致还原型维生素 K 依赖的凝血因子合成减少。CYP4F2rs2108622C>T 基因突变导致维生素 K 环氧化物酶活性降低,导致还原型维生素 K 浓度增加,抗凝所需的华法林剂量相应增加。Chua 等^[16]研究发现,与野生型 CYP4FCC 相比,CYP4FCT、CYP4FTT 基因型患者所需华法林剂量分别增加 10%、21%,该基因多态性可以解释 6%左右华法林剂量差异性。不同种族其基因突变率分别存在差异,Chung 等^[17]研究发现,CYP4F2rs2108622 三组基因(CC、TT、CT)频率在亚洲人群中分别为 66.9%、1.6%、31.5%,高加索人群基因频率分别为 46%、12%、42%,非裔美国人基因频率分别为 84%、0、16%。中国汉族人群该基因突变频率 32.9%~48%。

GGCX 基因的编码产物为 γ 谷氨酰基羧化酶,该酶影响维生素 K 依赖蛋白的合成。米力克扎提等^[18]对 200 例患者进行研究发现,GGCX 基因 rs11676382 位点 CC、GG、CG 基因型分别为 82.5%、1.0%、16.5%,CC 基因型华法林剂量相对较高。该基因突变后使维生素 K 依赖蛋白合成减少,导致维生素 K 依赖的凝血因子合成减少,抗凝所需华法林剂量减少。Yasmeen 等^[19]研究发现,GGCX 基因 rs11676382 位点发生突变可导致华法林剂量减少约 27%。然而不同种族之间该基因突变率存在明显差异,亚洲人野生型占比约 97.7%,高加索人野生型占比 86.9%,该基因突变可以解释 1.5%左右华法林剂量差异性。

EPHX1 基因位于 1q42.12,由 9 个外显子及 8 个内含子组成。该基因的编码产物为环氧化物水解酶,该酶通过水解氧化型维生素 K,使还原型维生素 K 浓度上升,导致还原型维生素 K 依赖的凝血因子合成增加。中国黄盛文等^[20]研究发现 EPHX1 基因 rs4653436 位点 GG、GA、AA 基因型频率分别为 65%、33.2%、1.8%,GG 基因型华法林剂量相对较高。该基因突变后使编码环氧化物酶活性降低,导致还原型维生素 K 依赖的凝血因子合成减少,使抗凝所

需华法林剂量减少。EPHX1 基因 rs4653436 位点(G>A)可能导致华法林剂量存在个体差异。

ApoE 基因编码产物为载脂蛋白 E,该酶影响与维生素 K 结合的乳糜微粒的肝脏重吸收,进而使肝脏中维生素 K 依赖的凝血因子生成增加,抗凝所需华法林剂量增加。ApoE 分为 E2、E3、E4 3 种亚型,其中 E4 亚型的酶活性最强。有研究发现瑞典人 E4 亚型比例约 20%,意大利该亚型比例约 10%,该基因多样性解释了瑞典人抗凝所需华法林剂量相对较大的原因^[21]。中国黄盛文等^[22]对 249 例患者进行研究发现,ApoE 等位基因 E2、E3、E4 频率分别为 9.44%、84.74%、5.82%。

2 基因多态性与华法林剂量模型的建立

国际华法林组织参与的多中心研究共纳入 4043 名样本,该组织建立的华法林剂量模型应用最为广泛,其可以解释 47%左右的剂量差异性^[23]。然而该多中心研究的人群来自不同国家不同种族,其解释的华法林剂量差异劣于针对某特定种族人群建立的华法林剂量模型。Pathare 等^[24]对阿曼人群所建立的剂量模型与国际华法林组织构建的华法林剂量模型比较,前者可以解释更多的华法林差异。针对同一特定种族人群因其纳入的影响因素的不同,其解释的剂量差异存在不同。

华法林多个基因的多态性的综合研究分析更能充分说明华法林维持剂量的多态性。近期基于年龄、身高、体质量、CYP2C9 * 2、CYP2C9 * 3、VKOCR1-1639GA 基因型的华法林剂量公式已应用于患者华法林口服剂量的指导。Fohner 等^[25]研究表明,华法林剂量模型的建立减少了国际标准化比值(international normalized ratio,INR)检测次数以及华法林剂量调整次数。能够减少患者出血、栓塞等不良后果发生几率,并且达到稳定剂量的时间明显缩短,基于此的华法林剂量模型的建立有广泛的应用前景。

3 华法林剂量预测模型的有效性

基于基因的多态性及个体非基因因素建立的剂量预测模型的有效性已被广泛研究。在 Anderson 等^[26]研究中,基于华法林剂量预测模型指导的治疗组在治疗范围时间内第一个月,第三个月达标时间百分比基于临床经验指导的治疗组高;同样,Wakamiya 等^[7]对华法林治疗研究中,临床经验指导组华法林达标时间百分比为 58.3%,剂量预测模型指导组华法林达标时间百分比为 65.4%,两组之间差异有统计学意义,同时后者比前者 INR 达标中位天数早 7 d。除此

之外,基于华法林剂量预测模型组患者出血及再次血栓的风险明显减少,同时减少了患者再次住院率。

4 结语与展望

不同个体华法林剂量差异性给华法林抗凝治疗带来风险,同时也是影响华法林疗效及导致华法林依从性差的重要因素,华法林个体化抗凝是未来华法林治疗的新方向。基因的多态性对华法林抗凝作用的影响及应用华法林相关基因的多态性建立华法林维持剂量模型是目前研究的新热点。基因因素、人口学因素、药物因素可以解释大部分华法林的个体化差异,但仍有少数差异无法解释,因此其他影响因素有待进一步研究发现。不同种族之间的基因及非基因因素的差异较大,相同的华法林剂量模型可能不能解释不同种族的华法林剂量差异,期待建立针对特定人群的更大样本的多因素剂量模型,减轻患者经济负担,减少出血及栓塞等并发症,给患者带来更多的受益。

参 考 文 献

- [1] Kudzi W, Ahorhorlu SY, Dzudzor B, *et al.* Genetic polymorphisms of patients on stable warfarin maintenance therapy in a Ghanaian population[J]. BMC Res Notes, 2016, 9(1): 507
- [2] Iwuchukwu OF, Ramirez AH, Shi Y, *et al.* Genetic determinants of variability in warfarin response after the dose-titration phase [J]. Pharmacogenet Genomics, 2016, 26(11): 510-516
- [3] Cifuentes RA, Murillo-Rojas J, Avella-Vargas E. Prediction of sensitivity to warfarin based on VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms in patients from different places in Colombia[J]. Biomedica, 2016, 36(1): 91-100
- [4] Zhang J, Chen Z, Chen C. Impact of CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 genetic polymorphisms on maintenance warfarin dosage in Han-Chinese patients: A systematic review and meta-analysis [J]. Meta Gene, 2016, 9: 197-209
- [5] Zeng WT, Xu Q, Li CH, *et al.* Influence of genetic polymorphisms in cytochrome P450 oxidoreductase on the variability in stable warfarin maintenance dose in Han Chinese[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2016, 72(11): 1327-1334
- [6] Pavani A, Naushad SM, Lakshmitha G, *et al.* Development of neuro-fuzzy model to explore gene-nutrient interactions modulating warfarin dose requirement[J]. Pharmacogenomics, 2016, 17(12): 1315-1325
- [7] Wakamiya T, Hokosaki T, Tsujimoto SI, *et al.* Erratum to: effect of VKORC1, CYP2C9, CYP4F2, and GGXX Gene Polymorphisms on Warfarin Dose in Japanese Pediatric Patients[J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20(5): 501
- [8] Zhang H, Ma K, Liu W, *et al.* Impact of CYP2C19 gene polymorphism on warfarin maintenance doses in patients with non-valvular atrial fibrillation[J]. Gene, 2016, 591(1): 80-84
- [9] Topkara VK, Knotts RJ, Jennings DL, *et al.* Effect of CYP2C9 and VKORC1 gene variants on warfarin response in patients with continuous-flow left ventricular assist devices[J]. ASAIO J, 2016, 62(5): 558-564

- [10] Zhu L, Liao S, Wang N, *et al.* Dose regimens for Chinese adult liver transplant recipients according to the genetic polymorphisms of CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A5 in recipients and donors[J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2016, 54(8): 587-596
- [11] Sun X, Yu WY, Ma WL, *et al.* Impact of the CYP4F2 gene polymorphisms on the warfarin maintenance dose: A systematic review and meta-analysis[J]. Biomed Rep, 2016, 4(4): 498-506
- [12] Alrashid MH, Al-Serri A, Alshemmari SH, *et al.* Association of genetic polymorphisms in the VKORC1 and CYP2C9 genes with Warfarin dosage in a group of kuwaiti individuals[J]. Mol Diagn Ther, 2016, 20(2): 183-190
- [13] Wypasek E, Cieśla M, Suder B, *et al.* CYP2C9 polymorphism and unstable anticoagulation with warfarin in patients within the first 3 months following heart valve replacement[J]. Adv Clin Exp Med, 2015, 24(4): 607-614
- [14] 娄莹, 韩露露, 李彦, 等. 六种基因多态性对中国汉族人群华法林稳定剂量影响[J]. 中华医学遗传学杂志, 2014, 31(3): 367-371
- [15] Mandic D, Bozina N, Mandic S, *et al.* VKORC1 gene polymorphisms and adverse events in Croatian patients on warfarin therapy[J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2015, 53(11): 905-913
- [16] Chua YA, Abdullah WZ, Yusof Z, *et al.* VKORC1 and CYP2C9 genotypic data-based dose prediction alone does not accurately predict warfarin dose requirements in some Malaysian patients [J]. Turk J Med Sci, 2015, 45(4): 913-918
- [17] Chung JE, Chang BC, Lee KE, *et al.* Effects of NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 polymorphisms on stable warfarin doses in Korean patients with mechanical cardiac valves[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2015, 71(10): 1229-1236
- [18] 米力克扎提·吾甫尔, 罗莉, 木胡牙提·乌拉斯汉, 等. 新疆汉族房颤患者 GGXX 基因 rs11676382 多态性及其与华法林稳定剂量相关研究[J]. 医学分子生物学杂志, 2015, 12(3): 202-206
- [19] Yasmeen F, Ghafoor MB, Khalid AW, *et al.* Analysis of CYP2C9 polymorphisms (*2 and *3) in warfarin therapy patients in Pakistan. Association of CYP2C9 polymorphisms (*2 and *3) with warfarin dose, age, PT and INR [J]. J Thromb Thrombolysis, 2015, 40(2): 218-224
- [20] 黄盛文, 向道康, 陈保林, 等. EPXH1 基因多态性与华法林稳定剂量关系的研究[J]. 天津医药, 2011, 39(10): 887-889
- [21] Li Y, Zhu J, Ding J. VKORC1-1639G/A and 1173 C/T genetic polymorphisms influence individual differences in warfarin maintenance dose[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2015, 19(9): 488-493
- [22] 黄盛文, 陈保林, 向道康, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性与华法林维持剂量相关性[J]. 中南大学学报: 医学版, 2011, 36(3): 212-216
- [23] Ciccacci C, Rufini S, Politi C, *et al.* Could microRNA polymorphisms influence warfarin dosing? A pharmacogenetics study on mir133 genes [J]. Thromb Res, 2015, 136(2): 367-370
- [24] Pathare A, Al Khabori M, Alkindi S, *et al.* Warfarin-pharmacogenetics; development of a dosing algorithm for Omani patients[J]. J Hum Genet, 2012, 57(10): 665-669
- [25] Fohner AE, Robinson R, Yracheta J, *et al.* Variation in genes controlling warfarin disposition and response in American Indian and Alaska native people: CYP2C9, VKORC1, CYP4F2, CYP4F11, GGXX[J]. Pharmacogenet Genomics, 2015, 25(7): 343-353
- [26] Anderson JL, Home BD, Stevens SM, *et al.* A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing[J]. Circulation, 2012, 125(16): 1997-2005