

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.09.011
文章编号: 1005-8982 (2022) 09-0065-08

临床研究·论著

高原人群 *CYP2C9* 和 *VKORC1* 基因多态性及其与华法林用药剂量的相关性研究

胡建鹏¹, 李云², 熊倩¹, 李宏伟¹, 陈坤前³, 高连灏¹, 陈一非⁴, 李秀萍¹, 王俊玲¹
(曲靖市第一人民医院 1. 检验中心, 2. 麻醉科, 3. 心脏血管外科, 4. 神经介入科, 云南 曲靖 655000)

摘要: **目的** 探讨高原人群基于中国人群华法林用药剂量计算公式(PRC模型)和国际华法林遗传药理学协会推荐的亚裔人群华法林剂量计算公式(IWPC模型)两种模型预测剂量的准确性及其临床应用价值。**方法** 回顾性分析曲靖市第一人民医院2016年10月—2020年1月375例行华法林代谢基因多态性检测患者的临床资料。通过qRT-PCR检测*CYP2C9*和*VKORC1*基因多态性,记录患者基本信息和临床用药情况,采用两种模型计算预测剂量并分析其与维持剂量[国际标准化比值(INR)稳定维持在2.0~3.0范围内时所服用的华法林剂量]的相关性,评估两模型预测的准确性。**结果** 在实际治疗过程中患者是否选择服用华法林进行抗凝,通常与患者的性别、身高、吸烟史、是否合并房颤、是否注射低分子肝素钙无关,而与患者年龄、体重、体表面积(BSA)、初INR、是否置换主动脉瓣膜、是否服用阿司匹林、利伐沙班或氯吡格雷相关。375例患者*CYP2C9*和*VKORC1*基因频率符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律,其中*CYP2C9*基因*1/*1(AA)、*1/*3(AC)及*3/*3(CC)基因型频率分别为93.07%(349/375)、6.93%(26/375)和0.00%(0/375),*VKORC1*-1639基因AA、AG和GG基因型频率分别为82.66%(310/375)、16.27%(61/375)和1.07%(4/375)。无论是使用PRC还是IWPC模型,除*CYP2C9**1/*1 & *VKORC1*AA($n=289$)组与*CYP2C9**1/*3 & *VKORC1*AG($n=5$)组预测剂量的差异无统计学意义($P>0.05$)外,其他所有基因型组预测剂量两两比较均有差异($P<0.05$)。在收集到维持剂量的174例患者中,*CYP2C9**1/*1 & *VKORC1*AG和*CYP2C9**1/*1 & *VKORC1*GG组维持剂量分别为 $[(3.41 \pm 1.01)\text{mg}, n=30]$ 和 $[(4.75 \pm 0.35)\text{mg}, n=2]$,均高于*CYP2C9**1/*1 & *VKORC1*AA组 $[(2.59 \pm 0.73)\text{mg}, n=136]$ ($P<0.05$);*CYP2C9**1/*3 & *VKORC1*AA组维持剂量为 $[(2.00 \pm 0.53)\text{mg}, n=5]$,低于其他基因型组合($P<0.05$)。PRC和IWPC模型预测准确性分别为72.99%(127/174)和62.64%(109/174);Pearson相关系数($r_1=0.546, r_2=0.567$);决定系数($R_1^2=0.298, R_2^2=0.322$)。两个模型预测剂量间无差异($r=0.839, P>0.05$)。**结论** 携带*CYP2C9**3等位基因的患者对华法林更敏感,所需华法林剂量较低,而携带*VKORC1*-1639G等位基因的患者需要更高剂量的华法林才可以获得有效的抗凝疗效。基因组学预测剂量可为临床使用华法林剂量提供依据,提高抗凝治疗的安全性和有效性。

关键词: *CYP2C9*基因; *VKORC1*基因; 基因多态性; 华法林; 剂量; 高原地区

中图分类号: R96

文献标识码: A

Study on *CYP2C9* and *VKORC1* gene polymorphisms and their correlation with warfarin dosage in high altitude population

Jian-peng Hu¹, Yun Li², Qian Xiong¹, Hong-wei Li¹, Kun-qian Chen³,
Lian-hao Gao¹, Yi-fei Chen⁴, Xiu-ping Li¹, Jun-ling Wang¹

(1. Inspection Center, 2. Department of Anesthesiology, 3. Department of Cardiovascular Surgery, 4. Department of Neuro Intervention, First People's Hospital of Qujing City, Qujing, Yunan 655000, China)

收稿日期: 2022-01-11

[通信作者] 王俊玲, E-mail: 410068686@qq.com

Abstract: Objective To explore the accuracy and clinical value of dose prediction based on warfarin dose calculation formula (PRC model) in Chinese population and warfarin dose calculation formula (IWPC model) in Asian population recommended by the International Association of warfarin genetics and pharmacology. **Methods** The clinical data of 375 patients with warfarin metabolic gene polymorphism in Qijing first people's Hospital from October 2016 to January 2020 were analyzed retrospectively. The gene polymorphisms of CYP2C9*3 and VKORC1 were detected by qRT-PCR, and the basic information and clinical medication of patients were recorded. The predicted dose was calculated by two models, and its correlation with the maintenance dose (warfarin dose taken when the international standardized ratio (INR) was stably maintained in the range of 2.0 to 3.0) was analyzed to evaluate the accuracy of the prediction of the two models. **Results** Whether patients choose to take warfarin for anticoagulation in the actual treatment process is usually not related to the patient's gender, height, smoking history, atrial fibrillation, and low molecular weight heparin calcium injection, but related to the patient's age, weight, body surface area (BSA), initial INR, aortic valve replacement, aspirin, rivaroxaban, and clopidogrel. The frequencies of CYP2C9 and VKORC1 genes in 375 patients were in accordance with Hardy Weinberg's law of genetic balance. The frequencies of CYP2C9 gene *1/*1 (AA), *1/*3 (AC), and *3/*3 (CC) genotypes were 93.07% (349/375), 6.93% (26/375), and 0.00% (0/375) respectively, and the frequencies of VKORC1-1639 gene AA, AG, and GG genotypes were 82.66% (310/375), 16.27% (61/375), and 1.07% (4/375) respectively. No matter using the PRC or IWPC model, there was no significant difference in the predicted dose between CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA ($n = 289$) group and CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AG ($n = 5$) ($P > 0.05$). Among 174 patients with maintenance dose, the maintenance dose of CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AG and CYP2C9*1/*1 & VKORC1 GG group were $[3.41 \pm 1.01]$ mg, $n = 30$] and $[4.75 \pm 0.35]$ mg, $n = 2$], respectively, which were higher than that of CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA group $[(2.59 \pm 0.73)$ mg, $n = 136]$ ($P < 0.05$); the maintenance dose of CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AA group was $[(2.00 \pm 0.53)$ mg, $n = 5]$, which was lower than that of other genotype combinations ($P < 0.05$). The prediction accuracy of PRC and IWPC models were 72.99% (127/174) and 62.64% (109/174), respectively; Pearson correlation coefficient ($r_1 = 0.546$, $r_2 = 0.567$); determination coefficient ($R_1^2 = 0.298$, $R_2^2 = 0.322$). There was no difference between the predicted doses of the two models ($r = 0.839$, $P > 0.05$). **Conclusion** Patients with CYP2C9*3 allele are more sensitive to warfarin and required lower warfarin dosage, while patients carrying the VKORC1-1639 G allele required a higher warfarin dosage to reach target effective anticoagulant therapy. The detection results of CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms can provide the basis for warfarin dosage adjustment and improve the safety and effectiveness of warfarin anticoagulant therapy.

Keywords: CYP2C9; VKORC1; polymorphism, genetic; warfarin; dosage; plateau area

华法林是一种双香豆素衍生物^[1], 通过抑制维生素 K 及其环氧化物的相互转化而发挥抗凝作用。主要适用于预防和治疗血栓栓塞性疾病(深静脉血栓、肺动脉栓塞、脑梗死、心房颤动、瓣膜病), 心脏瓣膜置换术, 以及心腔内血栓形成等抗凝治疗。但由于华法林治疗窗口窄, 剂量变异性大, 与其他药物和食物相互作用, 需要实验室监测, 血药浓度过高或敏感性增加可导致严重出血事件等, 因此在中国的使用率较低^[2-3]。

高原地区的特征为低压、低氧、高寒及强辐射, 在此环境下长期生活会导致患者机体各系统特别是血液、呼吸、心血管、内分泌等产生一系列病理和生理变化, 进而影响药物的体内代谢过程。高原环境主要影响高血浆蛋白结合药物的药

代动力学(PK)^[4]。华法林与血浆蛋白(主要是白蛋白)结合率高达 98% ~ 99%, 但只有游离华法林能发挥抗凝作用, 因此, 影响华法林与血浆蛋白结合的因素都可能直接影响华法林的抗凝疗效。

在临床实践中, 如何综合考虑遗传与环境因素, 使华法林抗凝治疗剂量更加准确, 从而降低治疗过程中的风险, 使患者最大程度受益, 是临床医师面临的共同问题。目前, 为了实现华法林精准用药, 国内外已建立了多种华法林给药剂量预测模型, 这些模型大多基于 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性, 部分模型还将 CYP4F2、EPHX1 及 GGCX 基因纳入考虑, 综合患者种族、性别、年龄、体重、疾病、是否合用肝酶诱导剂、胺碘酮等因素进行多因素回归分析。所建模型对华法林

个体剂量差异的解释程度为 20%~70% 不等^[5-12]。曲靖地处云贵高原中部,平均海拔 2 000 m。本研究旨在分析高原地区基因组给药模型预测剂量的准确性及临床应用价值,供临床医师参考。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器 生物安全柜(美国 Thermo 公司);高速离心机(德国 Sigma 公司);伯乐 CFX96 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);MK-20 振荡恒温加热器、OneDrop 紫外分光光度计、立式压力蒸汽灭菌器(日本 Yamato 公司);净化工作台(SW-CJ-2FD 苏州安泰公司);Eppendorf 可调移液器。

1.1.2 主要试剂 天根血液基因组 DNA 提取试剂盒(TIANamp Blood DNA Kit DP318)、人类 CYP2C9 & VKORC1 基因多态性检测试剂盒购自武汉友芝友公司。

1.2 标本收集

收集曲靖地区 2016 年 10 月—2020 年 1 月 375 例行华法林代谢基因多态性检测的患者。主要包括深静脉血栓、肺栓塞、脑梗死、冠状动脉粥样硬化、慢性阻塞性肺疾病,经及心脏瓣膜置换术后等心脑血管疾病患者。采集 EDTA-K₂ 抗凝全血 2 mL, 2~8℃ 保存不超过 1 个月,检测后 DNA 和全血标本 -80℃ 保存 2 年以备复查。记录患者性别、年龄、身高、体重、吸烟史、合并房颤、置换主动脉瓣膜等基本信息,以及临床合并用药情况。本研究经医院医学伦理委员会批准(C2018013),患者签署

知情同意书。

1.3 试验方法

使用离心柱吸附法提取人外周血细胞中基因组 DNA,所提取 DNA 用 OneDrop 紫外分光光度计测定浓度及纯度,要求 DNA 的 A260/280 在 1.8~2.0。使用 qRT-PCR 法检测 CYP2C9*3 (A1075C, rs1057910) 和 VKORC1 (G-1639A, rs9923231) 基因多态性。

1.4 基于药物基因组学的华法林剂量预测公式

使用国家卫生健康委员会(National Health Commission, PRC)2015 年发布的《药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)》推荐的基于中国人群华法林用药剂量计算公式和国际华法林遗传药理学协会(The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, IWPC)推荐的亚裔人群华法林剂量预测公式计算华法林预测剂量(见表 1)。按照中国医生华法林用药习惯,3 mg/片规格片剂最常用,每次调整剂量 1/4 片,因此,当维持剂量与预测剂量相差 ≤ 0.75 mg 时,判定为在预测范围内。

1.5 统计学方法

数据分析采用 Excel 和 IBM SPSS Statistics 23 统计软件。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 *t* 检验;计数资料以例(%)表示,比较用 χ^2 检验;华法林预测与实际维持剂量的相关性分析采用 Pearson 法,并用 χ^2 检验验证 CYP2C9*3 和 VKORC1 基因型检测结果是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

表 1 两种华法林剂量预测公式

模型	公式
PRC	$\text{Dose}(\text{mg}/\text{day}) = [1.432 + 0.338(\text{VKORC1}-1639\text{GA}) + 0.579(\text{VKORC1}-1639\text{GG}) - 0.263(\text{CYP2C9}^*1^*3) - 0.852(\text{CYP2C9}^*3^*3) - 0.004 \text{Age} + 0.264 \text{BSA} + 0.057 \text{AVR} + 0.065 \text{Sex} + 0.085 \text{Smoking habit} + 0.057 \text{Atrial fibrillation} + 0.132 \text{Aspirin} - 0.0592 \text{Amiodarone}]^2$
IWPC ^[5]	$\text{Dose}(\text{mg}/\text{weekly}) = [5.6044 - 0.2614(\text{age in decades}) + 0.0087(\text{height in cm}) + 0.0128(\text{weight in kg}) - 0.8677(\text{VKORC1}-1639\text{GA}) - 1.6974(\text{VKORC1}-1639\text{AA}) - 0.9357(\text{CYP2C9}^*1^*3) - 2.3312(\text{CYP2C9}^*3^*3) - 0.1092(\text{Asian race})]^2$

注:VKORC1-1639GA 表示-1639 位点基因型为 AG 时=1,为 AA 或 GG 时=0,其他同理;BSA=0.0061×身高(cm)+0.0128×体重(kg)-0.1529;患者置换了主动脉瓣膜 AVR=1,男性 Sex=1,有吸烟史 Smoking habit=1,合并房颤 Atrial fibrillation=1,服用阿司匹林 Aspirin=1,服用胺碘酮 Amiodarone=1,Asian race:属于亚洲人群时=1,否则均=0。在 IWPC 公式中,age in decades 表示患者年龄取十位上的数值,如 60~69 岁均取 6 带入计算。

2 结果

2.1 患者基本信息

行基因检测的 375 例患者中, 182 例未服用华法林, 193 例服用了华法林。服用华法林患者收集到初始剂量, 其中 174 例收集到维持剂量相关数据。将服用华法林者、未服用华法林者及收集到华法林维持剂量者的基本信息进行比较, 可知患

者实际治疗过程中是否选择服用华法林进行抗凝, 通常与患者的性别构成、身高、吸烟史、是否合并房颤、是否注射低分子肝素钙无关 ($P>0.05$), 而与患者年龄、体重、体表面积 (BSA)、初始国际标准化比值 (INR)、是否置换主动脉瓣膜, 以及是否服用阿司匹林、利伐沙班或氯吡格雷相关 ($P<0.05$)。

表 2 受试者基本特征

组别	n	男/女/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	身高/(cm, $\bar{x} \pm s$)	体重/(kg, $\bar{x} \pm s$)	BSA/(m ² , $\bar{x} \pm s$)	吸烟史例(%)	置换主动脉瓣膜例(%)
所有受试者	375	186/189	59.82 ± 16.12	161.79 ± 8.21	61.30 ± 11.14	1.62 ± 0.18	82(21.87)	20(5.33)
未服用华法林者	182	96/86	61.84 ± 15.07	162.63 ± 8.73	62.95 ± 11.59	1.64 ± 0.18	39(21.43)	2(1.10)
服用华法林者	193	90/103	57.92 ± 16.87	161.05 ± 7.62	59.75 ± 10.49	1.60 ± 0.16	43(22.28)	18(9.33)
收集到华法林维持剂量者	174	79/95	57.26 ± 16.76	160.64 ± 7.49	59.57 ± 10.40	1.59 ± 0.16	39(22.41)	16(9.20)
χ^2/t 值		1.401	-2.370	-1.911	-2.800	-2.820	0.040	12.559
P值		0.237	0.018	0.057	0.005	0.005	0.842	0.000

组别	合并房颤例(%)	服用阿司匹林例(%)	注射低分子肝素钙例(%)	服用利伐沙班例(%)	服用氯吡格雷例(%)	初始INR($\bar{x} \pm s$)
所有受试者	50(13.33)	99(26.40)	146(38.93)	136(36.27)	23(6.13)	1.34 ± 0.71
未服用华法林	22(12.09)	66(36.26)	67(36.81)	78(42.86)	20(10.99)	1.23 ± 0.31
服用华法林	28(14.51)	33(17.10)	79(40.93)	47(24.35)	3(1.55)	1.45 ± 0.93
收集到华法林维持剂量	23(13.22)	25(14.37)	73(41.38)	47(27.01)	3(1.72)	1.47 ± 0.97
χ^2/t 值	0.764	17.707	0.669	42.044	14.482	3.146
P值	0.382	0.000	0.414	0.000	0.000	0.002

2.2 所有患者基因分型分布情况

行基因检测的 375 例患者中, CYP2C9 基因 *1/*1 (AA)、*1/*3 (AC) 及 *3/*3 (CC) 基因型频率分别为 93.07% (349/375)、6.93% (26/375) 和 0.00% (0/375)。VKORC1-1639 基因 AA、AG 及 GG 基因型频率分别为 82.66% (310/375)、16.27% (61/375) 和 1.07% (4/375)。因此, CYP2C9*1 等位基因频率为 96.54%, CYP2C9*3 等位基因频率为 3.46%。VKORC1-1639 A 等位基因频率为 90.79%, VKORC1-1639 G 等位基因

频率为 9.21%。 χ^2 检验结果表明, CYP2C9*3A>C 和 VKORC1-1639G>A 基因频率均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ($\chi^2=0.021$ 和 0.177 , $P=0.885$ 和 0.915)。所有患者的基因型分布和预测剂量见表 3。

2.3 所有患者两种模型预测剂量情况

行基因检测的 375 例患者根据检测结果并结合患者基本信息, 用两种模型预测华法林剂量。结果发现, 所有基因型组合 PRC 和 IWPC 模型预测剂量差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。因携带 CYP2C9*1/

表 3 375 例患者 CYP2C9*3 和 VKORC1(-1639 G>A) 基因型分布频率 例(%)

基因型	CYP2C9 AA(*1/*1)	CYP2C9 AC(*1/*3)	CYP2C9 CC(*3/*3)	合计
VKORC1(-1639G>A)AA	289(77.07)	21(5.60)	0(0.00)	310(82.66)
VKORC1(-1639G>A)AG	56(14.93)	5(1.33)	0(0.00)	61(16.27)
VKORC1(-1639G>A)GG	4(1.07)	0(0.00)	0(0.00)	4(1.07)
合计	349(93.07)	26(6.93)	0(0.00)	375(100.00)

*1 & VKORC1 AA 基因型患者最多,占 77.07% (289/375),以其为对照组。统计结果显示,无论是使用 PRC 还是 IWPC 模型,CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AG 组、CYP2C9*1/*1 & VKORC1 GG 组和 CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AA 组预测剂量与对照组比较,差异有统

计学意义 ($P < 0.05$),而 CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AG 组预测剂量与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。经多重比较发现,其他所有基因型组合预测剂量两两比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 375 例患者不同基因型组合预测剂量情况 (mg/d, $\bar{x} \pm s$)

基因型组合	n	预测剂量			
		PRC	IWPC	t 值	P 值
CYP2C9*1/*1 & VKORC1(-1639G>A)AA	289	2.90 ± 0.49	2.90 ± 0.71	-0.010	0.992
CYP2C9*1/*1 & VKORC1(-1639G>A)AG	56	4.22 ± 0.50 [†]	4.22 ± 0.83 [†]	0.290	0.977
CYP2C9*1/*1 & VKORC1(-1639G>A)GG	4	5.61 ± 0.86 [†]	7.39 ± 1.98 [†]	1.644	0.171
CYP2C9*1/*3 & VKORC1(-1639G>A)AA	21	2.02 ± 0.34 [†]	1.97 ± 0.46 [†]	-0.344	0.733
CYP2C9*1/*3 & VKORC1(-1639G>A)AG	5	3.04 ± 0.33	2.87 ± 0.51	-0.644	0.538

注: [†]与 CYP2C9(*1/*1) & VKORC1(-1639G>A)AA 比较, $P < 0.05$ 。

2.4 不同 CYP2C9&VKORC1 基因型组合的华法林剂量

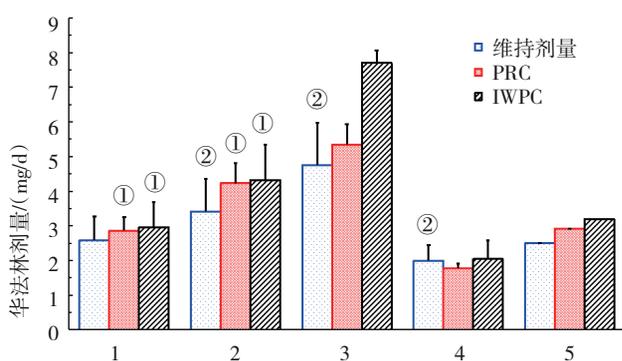
对 CYP2C9 & VKORC1 不同基因型组合 PRC 和 IWPC 模型预测剂量和维持剂量分析发现,除 CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AA 组的 PRC 模型预测剂量低于维持剂量以外,其他所有基因型组合的 IWPC 和 PRC 模型的预测剂量均高于维持剂量,尤其是 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 和 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AG 基因型患者预测剂量均高于维持剂量 ($P < 0.05$),其他基因型比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各基因型两种模型预测剂量比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。因携带 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 基因型患者最多,占 78.16% (136/174),以其为对照组。统计结果显示,CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AG 和 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 GG 组维

持剂量分别为 (3.41 ± 1.01)mg 和 (4.75 ± 0.35)mg,均高于 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 组 (2.59 ± 0.73)mg ($P < 0.05$);CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AA 组维持剂量为 (2.00 ± 0.53)mg,低于所有其他基因型组合 ($P < 0.05$);CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AG 基因型仅 1 例患者收集到维持剂量,不纳入比较。本研究中携带 CYP2C9*3 等位基因的患者预测准确性最高,IWPC 和 PRC 模型分别为 100% (6/6) 和 83.33% (5/6)。PRC 模型预测准确性为 72.99% (127/174),其中 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 基因型患者 136 例,有 106 例在预测范围内,预测准确性为 77.94% (106/136)。IWPC 模型预测的准确性为 62.64% (109/174),其中 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 基因型患者 136 例,有 91 例在预测范围内,预测准确性为 66.91% (91/136)。见表 5 和图 1。

表 5 不同 CYP2C9 & VKORC1 基因型患者华法林剂量情况

CYP2C9*3 A>C 基因型	VKORC1-1639 G>A 基因型	n	维持剂量/ (mg/d, $\bar{x} \pm s$)	PRC 预测剂量/ (mg/d, $\bar{x} \pm s$)	PRC 预测准确率 例(%)	IWPC 预测剂量/ (mg/d, $\bar{x} \pm s$)	IWPC 预测准确率 例(%)
CYP2C9*1/*1	AA	136	2.59 ± 0.73	2.86 ± 0.39	106(77.94)	2.96 ± 0.69	91(66.91)
CYP2C9*1/*1	AG	30	3.41 ± 1.01 [†]	4.23 ± 0.58	15(50.00)	4.32 ± 0.94	12(40.00)
CYP2C9*1/*1	GG	2	4.75 ± 0.35 [†]	5.35 ± 0.58	1(50.00)	7.71 ± 1.23	0(0.00)
CYP2C9*1/*3	AA	5	2.00 ± 0.53 [†]	1.78 ± 0.14	4(80.00)	2.04 ± 0.45	5(100.00)
CYP2C9*1/*3	AG	1	2.50	2.92	1(100.00)	3.20	1(100.00)
合计		174	2.74 ± 0.87	3.09 ± 0.75	127(72.99)	3.22 ± 1.03	109(62.64)

注: [†]与 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 比较, $P < 0.05$;维持剂量与预测剂量相差 ≤ 0.75 mg 时,判定为在预测范围内;CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AG 基因型组合仅 1 例标本收集到维持剂量。



1: CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA; 2: CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AG; 3: CYP2C9*1/*1 & VKORC1 GG; 4: CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AA; 5: CYP2C9*1/*3 & VKORC1 AG。①各基因型组合 IWPC 和 PRC 模型预测剂量与维持剂量比较, $P < 0.05$; ②与 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 基因型组合维持剂量比较, $P < 0.05$ 。

图 1 不同基因型华法林预测剂量与维持剂量比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.5 IWPC 和 PRC 模型预测剂量与维持剂量相关性分析

将收集到维持剂量的 174 例患者维持剂量设置为横坐标, 预测剂量分别设置为纵坐标, 绘制散点图, 并添加趋势线, 对两个模型的预测剂量与维持剂量进行相关性分析, 得到 PRC 模型 Pearson 相关系数 $r_1=0.546$, 决定系数 $R_1^2=0.298$; IWPC 模型 Pearson 相关系数 $r_1=0.567$, 决定系数 $R_2^2=0.322$ 。如图 2 所示, 图中虚线为理想预测剂量 (预测剂量=维持剂量), 实线为两个模型华法林预测剂量趋势线。

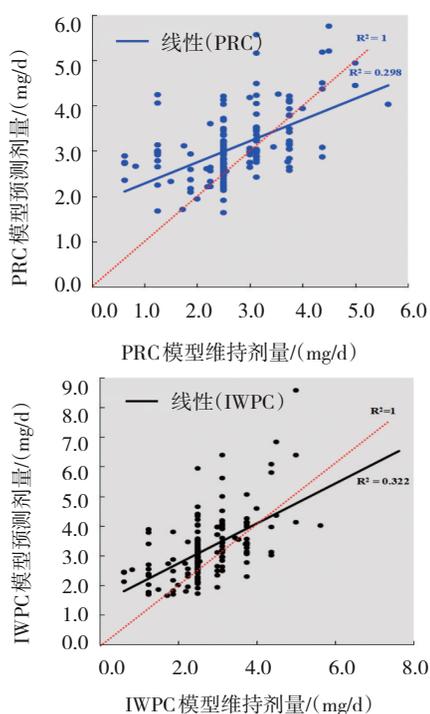


图 2 华法林两种预测模型预测剂量与维持剂量的相关性

3 讨论

自周宏灏院士在国际上首次发现和阐明了遗传因素引起药物种族和个体差异的若干现象和机制及其规律, 建立了有国家和民族特色的遗传药理学理论体系, 开拓了我国药物基因组学研究领域, 率先提出和推动“量体裁衣”个体化药物精准治疗以来, 国内外大量研究将基因型与其他相关影响因素联合进行统计分析, 建立基于基因组学的华法林剂量预测模型, 并对所建模型进行回顾性和前瞻性验证。

本研究通过回顾性分析, 利用权威报道的 PRC 和 IWPC 模型, 对高原人群基于基因组学的华法林剂量预测模型进行有效性验证。通过检测 CYP2C9*3 (A1075C, rs1057910) 和 VKORC1 (G-1639A, rs9923231) 基因多态性, 综合患者的性别、年龄、身高、体重、合并用药、房颤和置换主动脉瓣膜与否, 以及合并用药等因素, 发现 PRC 和 IWPC 模型分别可解释 29.8% 和 32.2% 的给药剂量个体差异, 且预测剂量与实际维持剂量呈正相关 ($r_1=0.546$, $r_2=0.567$), 与已有文献报道符合^[13]。但总体上华法林预测剂量与实际维持剂量存在偏差, CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AA 和 CYP2C9*1/*1 & VKORC1 AG 基因型患者预测剂量均显著高于维持剂量。经分析, 导致预测剂量高于实际维持剂量的原因主要有以下几个方面: ①建立模型时病例来源人群与该研究纳入人群的基本特征背景存在差异。②建立模型时未将高原特殊环境影响因素纳入考虑, 高原地区因其低压、低氧、高寒、强辐射及血氧饱和度较低等特点, 影响华法林与血浆蛋白 (主要是白蛋白) 结合, 血液中游离华法林含量增加, 对华法林的需求量降低。③样本量较小, 实验结果存在一定局限性。④我国机械瓣膜置换术后的抗凝强度标准低于指南推荐范围^[14]。⑤华法林治疗窗口窄, 起效缓慢, 医生在使用过程中极为谨慎。

预测模型的解释性低也提示可能还存在其他遗传和非遗传因素的影响^[15]。已有文献报道, 华法林的剂量还受 APOE、EPHX1、CYP4F2、GGCX、CYP3A4、CYP1A2、UGT1A1、CYP2C19、NQO1 等基因的影响^[16-17]。另外, 生活方式、饮食习惯、联合用药、病理生理状态等非遗传因素对华法林抗凝疗效也有显著影响。如胺碘酮、甲硝唑、环丙沙星、

吡罗昔康、奥美拉唑、龟苓膏等药物可增强华法林抗凝作用,而利福平、利巴韦林、灰黄霉素、奈夫西林、消胆胺、美沙拉嗪、巴比妥类、卡马西平、维生素K等药物可抑制华法林抗凝作用^[3]。吸烟、发热、饮酒、腹泻等也可抑制华法林抗凝作用^[18]。

本研究置换了主动脉瓣膜的20例患者中18例选择服用华法林进行抗凝,占90%,说明临床医师在选择抗凝药物时,患者是否置换主动脉瓣膜是一个极其重要的决定指标。此外,服用华法林组患者体重、BSA及年龄均低于未服用华法林组,说明临床医生可能对预测剂量偏低且年龄较小的患者更偏向选择华法林,而对于预测剂量较高、年龄偏大的患者使用华法林时会更为谨慎。同时,使用氯吡格雷的患者主要来自于神经介入科,通常不合并使用华法林。而使用利伐沙班和低分子肝素钙的患者主要来自于心脏血管外科,因华法林达到有效血药浓度需要72h左右,因此通常需要先服用低分子肝素钙重叠3d。对于未服用华法林的患者,通常会选择利伐沙班、阿司匹林或氯吡格雷进行治疗。

本研究目前仍在继续对不同病历资料和临床终点事件进行收集,虽然可解释性有限,但获取遗传和非遗传信息可以为临床医生在使用和调整药物剂量时提供参考,对于携带 *VKORC1-1639G* 等位基因的患者可从更高剂量开始,调整剂量时也可更加大胆,缩短达到目标INR值所需时间。而对于携带 *CYP2C9*3* 等位基因的患者,则需更加谨慎,从更小剂量开始服用以降低出血风险。研究结果已经提示使用华法林前先对患者进行相关基因检测可对临床抗凝治疗的有效性和安全性产生积极影响。鉴于已有报道不同海拔健康人群凝血功能随着海拔高度的升高而发生改变[凝血酶原时间(PT)、部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)逐渐延长,而纤维蛋白原(Fib)含量逐渐下降]^[19-20],在进一步的研究中,本课题组将构建更大的样本数据库,纳入患者长期居住地海拔、血氧饱和度、凝血指标、民族、同型半胱氨酸(Hcy)、联合使用氯吡格雷、低分子肝素钙或利伐沙班等遗传和非遗传信息,以建立适合于高原民族地区的华法林剂量预测模型,同时为发掘新的

适合中国人的华法林剂量预测公式奠定基础,使研究成果惠及更多患者。

参 考 文 献 :

- [1] DESAI N R, KRUMME A A, SCHNEEWEISS S, et al. Patterns of initiation of oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation- quality and cost implications[J]. *Am J Med*, 2014, 127(11): 1075-1082.
- [2] HU D Y, SUN Y H. Epidemiology, risk factors for stroke, and management of atrial fibrillation in China[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(10): 865-868.
- [3] 中华医学会心血管病学分会, 中国老年学学会心脑血管病专业委员会. 华法林抗凝治疗的中国专家共识[J]. *中华内科杂志*, 2013, 52(1): 76-82.
- [4] 年永琼, 辛元尧, 周雪姣, 等. 高原低氧环境对人体的生理影响以及人体药物代谢动力学特征的研究进展[J]. *药学研究*, 2018, 37(6): 346-351.
- [5] International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, KLEIN T E, ALTMAN R B, et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(8): 753-764.
- [6] GAGE B F, EBY C, JOHNSON J A, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2008, 84(3): 326-331.
- [7] HUANG S W, CHEN H S, WANG X Q, et al. Validation of *VKORC1* and *CYP2C9* genotypes on interindividual warfarin maintenance dose: a prospective study in Chinese patients[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2009, 19(3): 226-234.
- [8] FARZAMIKIA N, SAKHINIA E, AFRASIABIRAD A. Pharmacogenetics-based warfarin dosing in patients with cardiac valve replacement: the effects of *CYP2C9* and *VKORC1* gene polymorphisms[J]. *Lab Med*, 2017, 49(1): 25-34.
- [9] MIAO L Y, YANG J, HUANG C R, et al. Contribution of age, body weight, and *CYP2C9* and *VKORC1* genotype to the anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2007, 63(12): 1135-1141.
- [10] GU Q, KONG Y, SCHNEEDE J, et al. *VKORC1-1639G>A*, *CYP2C9*, *EPHX1691A>G* genotype, body weight, and age are important predictors for warfarin maintenance doses in patients with mechanical heart valve prostheses in southwest China[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2010, 66(12): 1217-1227.
- [11] JU S, GAO Y, CAO X, et al. Association between the lower extremity deep venous thrombosis, the warfarin maintenance dose, and *CYP2C9*3*, *CYP2D6*10*, and *CYP3A5*3* genetic polymorphisms: a case-control study[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21(9): 539-546.
- [12] ZAMBON C F, PENGO V, PADRINI R, et al. *VKORC1*,

- CYP2C9* and *CYP4F2* genetic-based algorithm for warfarin dosing: an Italian retrospective study[J]. *Pharmacogenomics*, 2011, 12(1): 15-25.
- [13] 刘芑菲, 卓钟灵, 苏明, 等. 中国汉族人群 *CYP2C9* 及 *VKORC1* 基因多态性及其对华法林用药剂量的相关性研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(1): 71-77.
- [14] ZHANG L, ZHENG X, LONG Y, et al. D-dimer to guide the intensity of anticoagulation in Chinese patients after mechanical heart valve replacement: a randomized controlled trial[J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15(10): 1934-1941.
- [15] 刘媛, 钟诗龙, 杨敏, 等. 华法林药代学和药动学通路突变等位基因在中国汉族人群中的分布[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2011, 43(6): 798-803.
- [16] LIU R, CAO J, ZHANG Q, et al. Clinical and genetic factors associated with warfarin maintenance dose in northern Chinese patients with mechanical heart valve replacement[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(2): e5658.
- [17] LI J, YANG W L, XIE Z H, et al. Impact of *VKORC1*, *CYP4F2* and *NQO1* gene variants on warfarin dose requirement in Han Chinese patients with catheter ablation for atrial fibrillation[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 96.
- [18] ZHANG J H, CHEN Z J, CHEN C M. 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.
- [19] 顾松琴. 不同海拔地区健康人淋巴细胞亚群、血小板及凝血功能的改变[J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(7): 700-703.
- [20] 杨绍芳, 葛森, 李小平, 等. 健康老年人活化部分凝血活酶时间参考值与海拔高度的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(20): 5136-5139.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 胡建鹏, 李云, 熊倩, 等. 高原人群 *CYP2C9* 和 *VKORC1* 基因多态性及其与华法林用药剂量的相关性研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(9): 65-72.

Cite this article as: HU J P, LI Y, XIONG Q, et al. Study on *CYP2C9* and *VKORC1* gene polymorphisms and their correlation with warfarin dosage in high altitude population[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(9): 65-72.