

## 论著·临床研究

# CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性在高寒地区汉族人群中的分布情况分析<sup>\*</sup>

杨正亮,鞠传余,陈宏娟,金红,李琪,闫海润<sup>△</sup>

(牡丹江医学院附属红旗医院检验科,黑龙江牡丹江 157011)

**摘要:**目的 探究 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性在我国高寒地区汉族人群中的分布情况,比较其与同纬度不同国家及我国低纬度汉族人群的差异。方法 在高寒地区汉族人群中收集服用华法林的受试者 210 例,收集患者相关临床病例资料并检测患者的 CYP2C9 和 VKORC1 基因型。结果 210 例受试者 CYP2C9 的基因型 \*1/\*1、\*1/\*3 和 \*2/\*3 频率分别为 96.2%、3.3% 和 0.5%;\*1/\*1 基因型频率高于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙国家人群( $P < 0.05$ ),\*1/\*3 和 \*2/\*3 低于上述国家( $P < 0.05$ )。VKORC1 基因 AA、GA 和 GG 的基因型频率分别为 81.0%、17.6% 和 1.4%;AA 基因型频率高于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙国家人群而 GG 基因型频率低于上述国家人群( $P < 0.05$ )。CYP2C9 和 VKORC1 基因型与我国广州、湖北、江苏、华南等低纬度地区分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 CYP2C9 和 VKORC1 基因型在我国高寒地区汉族人群中以对华法林敏感性较高的类型居多。同纬度不同国家人群上述基因多态性分布差异较大,我国不同纬度汉族人群上述基因多态性分布无差异性。

**关键词:**华法林; CYP2C9; VKORC1; 高寒地区; 汉族

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.011      **中图法分类号:**R394

**文章编号:**1673-4130(2018)20-2507-04

**文献标识码:**A

## Distribution of CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms in Hans in alpine region<sup>\*</sup>

YANG Zhengliang, JU Chuanyu, CHEN Hongjuan, JIN Hong, LI Qi, YAN Hairun<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang

Medical University, Mudanjiang, Heilongjiang 157011, China)

**Abstract: Objective** To investigate the distribution of CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms in Chinese Hans in the high mountainous area of China and to compare with the population differences in different countries at the same latitude and low latitude. **Methods** Totally 210 warfarin patients were collected from the Hans in the alpine region. The patient's clinical data and CYP2C9 and VKORC1 genotypes were tested. **Results**

The frequencies of CYP2C9 genotypes \*1/\*1, \*1/\*3 and \*2/\*3 were 96.2%, 3.3% and 0.5% respectively in 210 patients. \*1/\*1 genotype frequency was higher than France, Canada, Russia, Sweden and Spain ( $P < 0.05$ ). \*1/\*3 and \*2/\*3 lower than the above countries ( $P < 0.05$ ). The AA, GA and GG genotypes of VKORC1 were 81.0%, 17.6% and 1.4%, respectively. The frequency of AA genotype were higher than those of France, Canada, Russia, Sweden and Spain. The frequency of GG genotype was lower than those of the above nationalities ( $P < 0.05$ ). The genotypes of CYP2C9 and VKORC1 were not significantly different from those of low latitudes of Guangzhou, Hubei, Jiangsu and southern China ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** CYP2C9 and VKORC1 genotypes are mainly warfarin susceptible genotypes in Chinese Hans in the alpine region of China. There is a significant difference in the distribution of the above-mentioned gene polymorphisms in different countries at the same latitude. There is no difference in the distribution of the above-mentioned gene polymorphisms among Chinese Hans at different latitudes in China.

**Key words:** warfarin; CYP2C9; VKORC1; alpine region; Hans

华法林作为一种经典的口服抗凝药,在血栓栓塞性疾病疾病的预防和治疗中应用较广,但不同患者用药剂

\* 基金项目:黑龙江省卫生计生委科研课题(2017-342);牡丹江医学院研究生创新科研项目(2016YJSCX-14MY)。

作者简介:杨正亮,男,技师,主要从事血栓与止血的实验室研究。 △ 通信作者,E-mail:yanhairun581022@sina.com。

本文引用格式:杨正亮,鞠传余,陈宏娟,等.CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性在高寒地区汉族人群中的分布情况分析[J].国际检验医学杂志,2018,39(20):2507-2510.

量差异比较大。华法林用药剂量的差异主要受遗传因素的影响<sup>[1]</sup>,在遗传因素中控制华法林药物代谢动力学-细胞色素P450同工酶2C9(CYP2C9)和控制药效动力学-维生素K环氧化物还原酶复合体亚单位1(VKORC1)起十分重要的作用。由于气候的严寒和饮食习惯的影响,高寒地区是心脑血管疾病的高发地区<sup>[2]</sup>,华法林应用的潜在人群较多,但是针对高寒地区汉族人群CYP2C9和VKORC1基因多态性分布情况尚缺乏研究数据。该研究能够为完善我国高寒地区CYP2C9和VKORC1基因多态性分布情况提供准确依据,对进一步指导华法林的个体化用药有很高的临床应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集2016年10月至2017年8月在本院就诊并服用华法林的受试者210例。其中,男112例,女98例;平均年龄(62.4±14.3)岁。入选人群之间无血缘关系,且年龄、性别之间的差异无可比性。

## 1.2 检测方法

**1.2.1 基因组DNA提取** 受试者每人采集外周静脉全血3mL(EDTA抗凝),选用血液gDNA提取试剂盒(武汉海吉力生物科技有限公司)按试剂使用说明书经提取、富集、纯化等操作步骤获取纯化的DNA样本。

**1.2.2 基因组DNA扩增** 用CYP2C9和VKORC1基因多态性检测试剂盒(荧光PCR法)(武汉海吉力生物科技有限公司),检测基因组DNA中CYP2C9和VKORC1基因共3个位点的等位基因CYP2C9\*2,CYP2C9\*3、VKORC1基因-1639G>A。扩增使用ABI ViiA<sup>TM</sup>7实时荧光定量PCR仪(美国Life technology公司)。

**1.2.3 结果判读** 依照CYP2C9和VKORC1基因多态性检测试剂盒说明书的判读方法,通过实时荧光定量PCR仪上收集的信号,计算野生型和突变型的Ct值来确定样本DNA的基因型。

**1.3 统计学处理** 应用SPSS16.0统计学软件对数据进行处理分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用t检验,计数资料以率或构成比表示,采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为时差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 CYP2C9基因多态性分布** 210例患者CYP2C9的基因型以\*1/\*1最为多见,频率为96.2%(202/210);其次是基因型\*1/\*3,频率为3.3%(7/210);基因型\*2/\*3仅检出1例,频率为0.5%(1/210);未检出\*1/\*2、\*2/\*2和\*3/\*3基因型。等位基因以\*1最多,频率为98.3%(413/420);其次是\*3,等位基因频率为1.7%(7/420)。

**2.2 VKORC1基因多态性分布** 210例受试者VKORC1-1639G>A纯突变型(AA)、杂合型(GA)和纯野生型(GG)的基因型以AA最多见,GG所占比例最低,见表1。

表1 210例受试者VKORC1基因型及等位基因分布

基因	n	频率(%)
基因型		
AA	170	81.0
GA	37	17.6
GG	3	1.4
等位基因		
A	377	89.8
G	43	10.2

**2.3 CYP2C9基因多态性在不同种族和纬度之间的分布** 选取与我国高寒地区处于同纬度(北纬40°~60°)的法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙针对CYP2C9基因多态性的研究资料进行分析。<sup>\*</sup>1/\*1基因型高寒汉族地区高于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ );<sup>\*</sup>1/\*3和<sup>\*</sup>2/\*3基因型高寒汉族地区低于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ );未检出<sup>\*</sup>1/\*2、<sup>\*</sup>2/\*2和<sup>\*</sup>3/\*3基因型。高寒汉族地区等位基因<sup>\*</sup>1的频率高于法国、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),与加拿大比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );高寒汉族地区等位基因<sup>\*</sup>3的频率低于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表2。对我国不同地区汉族人群CYP2C9基因多态性的研究资料进行分析发现:高寒地区<sup>\*</sup>1/\*1基因型频率与广州、湖北、江苏、华南等低纬度地区差异无统计学意义( $P>0.05$ );<sup>\*</sup>1/\*3基因型频率低于广州、湖北和江苏地区而高于华南地区,差异有统计学意义( $P<0.05$ );未检出<sup>\*</sup>1/\*2、<sup>\*</sup>2/\*2和<sup>\*</sup>3/\*3基因型。<sup>\*</sup>1等位基因频率高寒地区与低纬度地区差异无统计学意义( $P>0.05$ );<sup>\*</sup>3等位基因频率低于湖北和江苏地区而高于华南地区,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表2。

**2.4 VKORC1-1639G>A基因多态性在不同种族和纬度间的分布** 与法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙等同纬度国家VKORC1-1639G>A基因多态性相比,高寒汉族地区AA基因型频率高于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ );GA和GG基因型频率低于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。等位基因A频率高于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ );等位基因G频率低于法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

计学意义( $P<0.05$ )，见表 3。对我国不同地区汉族人群 VKORC1-1639G>A 基因多态性的研究资料进行分析发现，高寒地区 AA 基因型频率与广州、湖北、江苏、华南等低纬度地区差异无统计学意义( $P>0.05$ )，GA 和 GG 基因型频率均高于湖北地区，差异

有统计学意义( $P<0.05$ )。A 等位基因频率高寒地区与低纬度地区差异无统计学意义( $P>0.05$ )；G 等位基因频率高于湖北地区，差异有统计学意义( $P<0.05$ )，见表 3。

表 2 不同种族和纬度地区 CYP2C9 基因多态性分布(%)

人群	n	基因型频率						等位基因频率		
		* 1/* 1	* 1/* 2	* 1/* 3	* 2/* 2	* 2/* 3	* 3/* 3	* 1	* 2	* 3
高寒汉族	210	96.2	0.0	3.3	0.0	0.5	0.0	97.9	0.0	2.1
法国 <sup>[3]</sup>	336	67.9*	18.6	9.1*	2.5	1.6*	0.4	81.5*	12.0	6.5*
加拿大 <sup>[4]</sup>	190	73.1*	15.8	8.9*	0.5	1.6*	0.0	93.4	8.4	6.1*
俄罗斯 <sup>[5]</sup>	91	67.0*	9.9	11.0*	2.2	8.8*	1.1	82.4*	7.7	14.9*
瑞典 <sup>[6]</sup>	1 490	66.3*	18.6	11.9*	1.4	1.3*	0.5	81.5*	11.3	7.1*
西班牙 <sup>[7]</sup>	917	62.1*	26.3	10.8*	2.1	1.4*	0.0	80.7*	15.3	6.8*
广州地区 <sup>[8]</sup>	676	92.5	0.2	7.3*	0.0	0.0*	0.0	96.3	0.1	3.6
湖北地区 <sup>[9]</sup>	96	91.7	0.0	8.8*	0.0	0.0*	0.0	95.6	0.0	4.4*
江苏地区 <sup>[10]</sup>	186	90.0	0.0	10.0*	0.0	0.0*	0.0	95.0	0.0	5.0*
华南地区 <sup>[11]</sup>	252	98.6	0.0	1.4*	0.0	0.0*	0.0	99.3	0.0	0.7*

注：与高寒汉族地区相比，\*  $P<0.05$

表 3 不同种族和纬度地区 VKORC1-1639G&gt;A 基因多态性分布(%)

人群	n	基因型频率			等位基因频率	
		AA	GA	GG	A	G
高寒汉族	210	81.0	17.6	1.4	89.8	10.2
法国 <sup>[3]</sup>	336	35.7*	49.4*	14.9*	60.4*	39.6*
加拿大 <sup>[4]</sup>	190	12.1*	43.2*	44.7*	33.7*	66.6*
俄罗斯 <sup>[5]</sup>	91	57.8*	35.6*	7.8*	75.6*	24.4*
瑞典 <sup>[6]</sup>	1 490	14.9*	48.9*	36.2*	39.4*	60.6*
西班牙 <sup>[7]</sup>	917	17.0*	50.7*	34.9*	42.4*	57.6*
广州地区 <sup>[8]</sup>	676	80.9	17.8	1.3	89.8	10.2
湖北地区 <sup>[9]</sup>	96	89.4	10.6*	0.0*	94.7	5.3*
江苏地区 <sup>[10]</sup>	186	82.0	17.0	1.0	90.5	9.5
华南地区 <sup>[11]</sup>	252	80.6	18.7	0.8	89.8	10.2

注：与高寒汉族地区相比，\*  $P<0.05$

### 3 讨 论

CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性在控制华法林的药物代谢方面起着十分重要的作用，通过患者 CYP2C9 和 VKORC1 基因型的检测结果，可以初步判断患者所属的华法林代谢属于快代谢型、中代谢型和慢代谢型中的某一种类型，以进一步指导临床用药，避免因华法林用药剂量不当所造成的严重心血管事件。

在世界同纬度范围内，CYP2C9 在高寒地区不同种族之间的差异比较明显，汉族人群中占绝对优势

的 \* 1/\* 1 基因型在法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙等欧美国家所占的比例仅为 60%~70%；在汉族人群中占比极少的 \* 1/\* 2、\* 1/\* 3、\* 2/\* 2、\* 2/\* 3 和 \* 3/\* 3 基因型，在欧美国家所占比例较高。在我国，针对华南、广州、江苏和湖北等地区汉族人群 CYP2C9 基因多态性已经有相关研究，数据表明 CYP2C9 在高寒地区与其他地区汉族人群中的分布呈现较类似的趋势。通过以上数据，可以认为 CYP2C9 的基因多态性主要是在不同种族之间存在较大差异，地域因素对基因多态性的影响能力有限。

VKORC1 的基因表达主要控制华法林的药物代谢。有研究表明 VKORC1 基因多态性能够解释华法林维持剂量 30% 的遗传因素，而与 CYP2C9 联合检测可以解释 50% 服用华法林患者之间的个体差异<sup>[12]</sup>。在同纬度国家，VKORC1 基因多态性在高寒地区汉族人群和法国、加拿大、俄罗斯、瑞典和西班牙等国家呈完全相反的结果，高寒地区汉族人群占比最大的 AA 基因型在这些国家恰恰占的比例最小；高寒地区汉族人群占比最小的 GG 基因型在这些国家恰恰占的比例最大。在我国，高寒地区汉族人群 VKORC1 基因多态性与华南、广州、江苏和湖北等地区汉族人群呈现出较类似的趋势。提示种族差异是造成 VKORC1 基因多态性的主要因素。

### 4 结 论

CYP2C9 和 VKORC1 基因型在我国高寒地区汉族人群中以对华法林敏感性较高的类型居多。同纬

度不同种族人群上述基因多态性分布差异较大,不同纬度汉族人群上述基因多态性分布无差异性。

## 参考文献

- [1] MISASI S, MARTINI G, PAOLETTI O, et al. VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms related to adverse events in case-control cohort of anticoagulated patients[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(52): e5451.
- [2] 袁慧.心血管药物个体化用药指导的基因检测及临床意义[J].中华检验医学杂志,2015(7):442-444.
- [3] LACUT K, AYME-DIETRICH E, GOURHANT L A, et al. Impact of genetic factors (VKORC1, CYP2C9, CYP4F2 and EPHX1) on the anticoagulation response to fluindione[J]. Br J Clin Pharmacol, 2012, 73(3): 428-436.
- [4] NOWAK-GOETTL U, DIETRICH K, KRUEMPEL A, et al. The VKORC1 and CYP2C9 genotypes significantly effect Vitamin K antagonist dosing only in patients over the age of 20 years[J]. Blood Cells Mol Dis, 2017, 67(S1): S54-58.
- [5] IVASHCHENKO D, RUSIN I, SYCHEV D, et al. The frequency of CYP2C9, VKORC1, and CYP4F2 polymorphisms in Russian patients with high thrombotic risk[J]. Med Lith, 2013, 49(12): 517-521.
- [6] MOLDEN E, OKKENHAUG C, EKKER SOLBERG E, et al. Increased frequency of CYP2C9 variant alleles and

(上接第 2506 页)

验证结果也显示了该质控品在不利条件下(37 °C 存放 1 周)的稳定性完全满足临床检测需要,提示自制质控品可以应用于实验室常规检测工作。

## 参考文献

- [1] 张毅,储以微. Th17 与自身免疫病[J]. 复旦学报(医学版),2008,35(01):145-147.
- [2] 李仕红,杨汉正. 以 T 细胞应答过程为靶治疗自身免疫性疾病策略进展[J]. 实用临床医药杂志,2007,11(9): 165-168.
- [3] WIIK A S. Clinical use of serological tests for antineutrophil cytoplasmic antibodies. What do the studies say[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2001, 27(4): 799-813.
- [4] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学检验领域的应用说明:CNAS-CL39:2012[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会, 2012:7-9.
- [5] 王露楠,邓巍,李金明. 抗核抗体谱检测的室内质量评价[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(8):692-695.
- [6] 谢瑶,吴琨,彭清林,等. 2010 年全国自身抗体检测质量控制总结[J]. 中华风湿病学杂志,2011,15(12): 811-815.
- [7] MERONI P L, BIGGIOGGERO M, PIERANGELI S S, et al. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases[J]. Nat Rev Rheuma-

tol, 2014, 10(1): 35-43.

- [8] 王国强. 自身免疫性疾病抗体检测芯片诊断产品开发研究[D]. 济南:山东省医学科学院,2008.
- [9] 李金明. 抗核抗体的检测程序与结果报告及解释[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(12): 1325-1328.
- [10] 姜新华,赵燕飞,吴小明,等. 自制雌二醇性激素室内质控品及其性能评价[J]. 检验医学,2010,25(5): 403-404.
- [11] 周志米,张晓燕. 自制梅毒、丙肝、艾滋病抗体复合质控品的稳定性评价[J]. 浙江实用医学,2012,17(4): 301-302.
- [12] 唐立萍,张瑞镐,居漪,等. 复合血脂质控品的制备及性能评价[J]. 检验医学,2013,28(5): 430-433.
- [13] 柏居林,何宏周. 自制人类免疫缺陷病毒抗体等质控血清及室内质控方法建立研究[J]. 检验医学与临床,2010,7(3): 230-232.
- [14] 宫辉,高玲娟. 抗 HIV 抗体弱阳性质控血清的制备及应用评价[J]. 中国卫生检验杂志,2014, 24(21): 3092-3093.
- [15] 陈良琼,吉飞跃,崔益祥. 自身抗体临界值质控血清的制备及评价[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(10): 1326.
- [16] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则:CNAS-CL02[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2012:35-36.
- [17] 董莉,易青,杜肖彦. 自制质控品在化学发光仪上的应用[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(9): 1172-1174.

(收稿日期:2018-02-22 修回日期:2018-05-15)