

物的花粉期来临时提前做好预防,同时研究结果也为政府决策提供了依据。

参考文献

[1] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组,小儿学组. 儿童变应性鼻炎诊断和治疗指南(2022 年,修订版)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2022,57(4):392-404.

[2] 陆权,陈耀龙. 走进咳嗽诊断与治疗的临床实践指南[J]. 中华儿科杂志,2021,59(9):715-716.

[3] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2021)[J]. 中华结核和呼吸杂志,2022,45(1):13-46.

[4] SHIKHA G,SWAMI H. Trends of sensitization pattern to aeroallergens among the patients with allergic rhinitis and/or bronchial asthma in Bangalore:a cross sectional study[J]. Med J Armed Forces India,2022,78(4):430-436.

[5] 李海丽. 呼和浩特地区过敏性鼻炎患者血清特异性 IgE 检测结果分析[D]. 呼和浩特:内蒙古医科大学,2018.

[6] BROŽEK J L,BOUSQUET J,AGACHE I,et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) guidelines-2016 revision[J]. J Allergy Clin Immunol,2017,140(4):950-

• 短篇论著 •

958.

[7] PASSALI D,PASSALI G C,DAMIANI V,et al. The impact of allergic rhinitis in clinical practice:an international survey[J]. J Biol Regul Homeost Agents,2021,35(1 Suppl 2):S39-S43.

[8] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年,天津)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2016,51(1):6-24.

[9] 滕伟强,周恩辉,朱乘婧,等. 上海市杨浦区变应性鼻炎患者的血清过敏原检测结果分析[J]. 海军军医大学学报,2022,43(3):266-269.

[10] 沈川,石华,柳晓琴,等. 四川地区 451 例儿童过敏原特异性 IgE 定量检测分析及临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2017,40(3):191-194.

[11] 马婷婷,庄严,雷彤,等. 内蒙古通辽地区过敏性鼻炎流行病学调查研究[J]. 中国全科医学,2019,22(21):2593-2597.

[12] 陈蕊,赵颖,安晶,等. 张家口地区 388 例变应性鼻炎患者吸入性变应原谱及危险因素分析[J]. 解放军医学杂志,2021,46(2):149-155.

(收稿日期:2022-11-09 修回日期:2023-06-02)

CYP2C9 * 3 和 VKORC1 基因位点突变对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数的影响*

焦瑞宝,刘 洋,周佳丽,张 盛,陈继中[△]
铜陵市人民医院临床检验中心,安徽铜陵 244000

摘 要:目的 探讨 CYP2C9 * 3 和 VKORC1 基因位点突变对华法林稳定剂量及凝血酶原时间-国际标准化比值(PT-INR)达标天数的影响。**方法** 收集应用华法林抗凝治疗住院患者 69 例,采用焦磷酸测序检测 CYP2C9 * 3 和 VKORC1 基因位点多态性,同步检测患者 PT-INR,查阅并收集患者病历资料、用药剂量及实验室检验数据。**结果** VKORC1 野生型占 85.51%(59/69),突变型占 14.49%(10/69)。CYP2C9 * 3 野生型占 89.86%(62/69),突变型占 10.14%(7/69)。两种基因位点均为野生型占 78.26%(54/69),一种基因位点突变占 18.84%(13/69),两种基因位点均突变占 2.90%(2/69)。VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AC 的华法林稳定剂量均低于其他 VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型组合,VKORC1 基因型 AG/GG+CYP2C9 * 3 基因型 AA 的华法林稳定剂量高于其他 VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型组合,差异有统计学意义($P<0.05$)。VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AA 的 PT-INR 达标天数少于其他 VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型组合,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** VKORC1 和 CYP2C9 * 3 两个基因位点突变影响华法林稳定剂量,并造成 PT-INR 达标天数延长。

关键词:CYP2C9 * 3; VKORC1; 基因位点突变; 华法林; 稳定剂量
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.15.023 **中图法分类号:**R969.1
文章编号:1673-4130(2023)15-1910-04 **文献标志码:**A

华法林是口服后间接发挥作用的双香豆素类抗凝剂,其化学结构与维生素 K 相似,是通过竞争性拮

* 基金项目:铜陵市科技计划项目(20190203034)。
[△] 通信作者,E-mail:672195133@qq.com。
网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230719.1458.004.html>(2023-07-20)

抗维生素 K,进而影响维生素 K 依赖性凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ在肝脏的合成,对血液中已经存在的上述 4 种因子无抵抗作用。可用于治疗血栓栓塞性疾病,防止血栓的形成与发展,治疗手术后或创伤后的静脉血栓形成,可预防血栓栓塞性疾病。华法林是迄今为止使用最多的口服抗凝药,因其作用时间长,服用方便,价格低廉等优点而成为长期抗凝治疗的首选药物,但其治疗窗很窄,掌控好抗凝治疗强度非常重要,华法林抗凝用量不足,容易形成血栓栓塞。用药过量易致各种出血,早期表现有瘀斑、紫癜、牙龈出血、鼻衄、月经量增多、伤口出血经久不愈,出血也可发生在泌尿道和消化道。凝血酶原时间-国际标准化比值(PT-INR)被公认用于衡量华法林的抗凝强度,中等强度抗凝即 PT-INR 在 2.0~3.0 是安全范围,患者需要定期监测 PT-INR 并及时调整服药剂量,就可以降低出血等不良反应的发生。影响华法林药效因素主要有遗传和非遗传因素,华法林作用靶点——维生素 K 环氧化物还原酶复合体亚单位 1(VKORC1)、华法林代谢酶——细胞色素 P450 酶 2C9(CYP2C9)是目前影响华法林抗凝时给药剂量个体化差异最主要的遗传因素^[1]。《华法林抗凝治疗的中国专家共识》认为基因多态性可解释 30%~60%的个体差异^[2]。本研究回顾性收集住院抗凝患者上述两个基因位点多态性信息和其他基本资料,探讨 VKORC1 和 CYP2C9 * 3 基因位点突变对华法林抗凝效果的影响,指导临床个体化用药。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集 2019 年 8 月至 2022 年 1 月在铜陵市人民医院住院的患者 69 例,其中男 31 例,女 38 例,年龄 25~87 岁,平均(68.88±12.14)岁,纳入标准:正在接受华法林抗凝治疗患者,包括脑梗死、心功能不全、心脏瓣膜病、风湿性心脏病等;排除标准:肝肾功能不全、凝血功能障碍或合并严重疾病的患者。

1.2 仪器与试剂 PyroMark Q24 MDx 实时荧光定量焦磷酸序列分析仪、东胜 ETC 811 基因扩增仪、MX-M 型混匀仪、MX-S 型漩涡震荡仪、STAR-MAX 全自动凝血分析仪、DNA 提取试剂盒、测序反应通用试剂盒(长沙三济公司)、脱氧核糖核苷三磷酸试剂(日本 TakaRa 公司),凝血酶原时间试剂(上海太阳生物公司)。

1.3 方法

1.3.1 VKORC1 和 CYP2C9 * 3 检测 采集所有研究对象静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾抗凝,采用硅胶柱提取、纯化基因组 DNA,将提取的 DNA 进行聚

合酶链反应(PCR),反应条件:95 ℃预变性 5 min,94 ℃变性 25 s,56 ℃退火 25 s,72 ℃延伸 25 s,共 35 个循环,最后 72 ℃延伸 5 min。采用 PyroMark Q24 MDx 实时荧光定量焦磷酸序列分析仪测定扩增产物 VKORC1 和 CYP2C9 * 3 位点基因多态性。

1.3.2 凝血酶原时间及 PT-INR 检测 采集所有研究对象静脉血 2 mL,枸橼酸钠抗凝,1 610×g 离心 10 min 获得血浆备用,运用 STAR-MAX 全自动凝血分析仪采用磁珠法测定凝血酶原时间,并与健康人群比较计算获得 PT-INR。

1.3.3 华法林稳定剂量与 PT-INR 达标天数检测 PT-INR 连续检测 3 次,每次监测间隔时间 3 d,连续 3 次 PT-INR 达到目标抗凝强度范围且华法林剂量未发生改变,即为华法林稳定剂量,所用天数为 PT-INR 达标天数。

1.4 统计学处理 采用统计软件 SPSS19.0 进行数据分析,计量资料先进行正态性检验,符合正态分布参数采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表达,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较先进行 ANOVO 方差齐性检验,再进行两两比较,*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 69 例患者两种基因型分布情况 VKORC1 野生型占 85.51%(59/69),突变型占 14.49%(10/69)。CYP2C9 * 3 野生型占 89.86%(62/69),突变型占 10.14%(7/69)。两种基因位点均为野生型占 78.26%(54/69),一种基因位点突变占 18.84%(13/69),两种基因位点均突变占 2.90%(2/69)。见表 1。

2.2 VKORC1 基因型对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数的影响 VKORC1 基因型 AG+GG 的华法林稳定剂量和 PT-INR 达标天数均大于 VKORC1 基因型 AA,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 2。

表 1 69 例住院患者 VKORC1 与 CYP2C9 * 3 基因型分布情况(*n*)

VKORC1	CYP2C9 * 3			合计
	AA	AC	CC	
AA	54	5	0	59
AG	7	2	0	9
GG	1	0	0	1
合计	62	7	0	69

2.3 CYP2C9 * 3 基因型对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数的影响 CYP2C9 * 3 基因型 AC 的华法林稳定剂量低于 CYP2C9 * 3 基因型 AA,CYP2C9 * 3 基因型 AC 的 PT-INR 达标天数大于 CYP2C9 * 3 基因型 AA,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

表 2 VKORC1 基因型对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数影比较($\bar{x}\pm s$)

VKORC1 基因型	<i>n</i>	稳定剂量 (mg/d)	PT-INR 达标 天数(d)
AA	59	3.03±0.35	12.12±4.08
AG+GG	10	3.98±0.50	22.20±4.42
<i>t</i>		7.368	7.147
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.4 两种基因型组合对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数的影响 VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AC 的华法林稳定剂量均低于其他 VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型组合,VKORC1 基因型 AG/GG+CYP2C9 * 3 基因型 AA 的华法林稳定剂量高于其他 VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型组合,差异有统计学意义($P<0.05$);而 VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AA 的华法林稳定剂量与 VKORC1 基因型

AG+CYP2C9 * 3 基因型 AC 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AA 的 PT-INR 达标天数少于其他 VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型组合,差异有统计学意义($P<0.05$);VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AC、VKORC1 基因型 AG/GG+CYP2C9 * 3 基因型 AA、VKORC1 基因型 AG+CYP2C9 * 3 基因型 AC 的 PT-INR 达标天数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 3 CYP2C9 * 3 基因型对对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数影响比较($\bar{x}\pm s$)

CYP2C9 * 3 基因型	<i>n</i>	稳定剂量(mg/d)	PT-INR 达标 天数(d)
AA	62	3.25±0.43	12.74±4.98
AC	7	2.42±0.51	21.00±3.42
<i>t</i>		4.783	4.265
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 4 两种基因型组合对华法林稳定剂量及 PT-INR 达标天数的影响($\bar{x}\pm s$)

VKORC1+CYP2C9 * 3 基因型	<i>n</i>	稳定剂量(mg/d)	PT-INR 达标天数(d)
VKORC1 基因型 AA+ CYP2C9 * 3 基因型 AA	54	3.11±0.23	11.41±3.36
VKORC1 基因型 AA+CYP2C9 * 3 基因型 AC	5	2.14±0.19	19.80±3.27
VKORC1 基因型 AG/GG+CYP2C9 * 3 基因型 AA	8	4.20±0.23	21.75±4.86
VKORC1 基因型 AG+CYP2C9 * 3 基因型 AC	2	3.12±0.23	24.00±1.41
<i>F</i>		91.309	32.111
<i>P</i>		<0.001	<0.001

3 讨 论

华法林是临床上使用最广泛,也是最有效的抗凝药物,华法林药代动力学口服胃肠道吸收迅速而完全,生物利用度高达 100%,吸收后与血浆蛋白结合率达 98%~99%,由肝脏代谢,代谢产物经肾脏排泄,服药后 12~18 h 起效,36~48 h 达抗凝高峰,维持 3~6 d,血浆半衰期 36~42 h。抗凝效果易受饮食、合并用药、遗传因素等影响,其最佳剂量因不同地区、不同民族而有所差异,某些疾病如长期腹泻或呕吐、泛氧状态、化疗、发热和甲状腺功能亢进等,以及肝功能异常、慢性肾功能不全时华法林需求也会降低;富含维生素 K 的食物可降低华法林疗效,如酸奶酪、蛋黄、绿叶蔬菜等,某些西药和中药会影响华法林药效^[3]。

近年来,随着药物基因组学深入研究和发 展,发现华法林药代动力学和药效学通路 上某些基因的遗传变异可能是造成个体间华法林差异的主要原因之一。随着药物基因组学的发展,全基因组关联研究和临床研究表明,CYP2C9 和 VKORC1 基因在华法林

发挥抗凝作用中起主要作用^[4]。

VKORC1 基因集中位于 16 号染色体上,在维生素 K 依赖性凝血因子(Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ)生成中发挥着主导作用,属于华法林作用靶点。有研究证实^[5],VKORC1 等位基因 A 突变为等位基因 G,可促使 VKORC1 蛋白合成及其酶活性明显降低,如需达到相同的抗凝强度,所需华法林剂量明显增加,首次达标时间明显延长。本研究结果显示,VKORC1 基因型 AG+GG 的华法林稳定剂量和 PT-INR 达标天数均大于 VKORC1 基因型 AA,差异有统计学意义($P<0.05$),与武元竹等^[6]研究结果一致。

华法林是 R-华法林和 S-华法林对映异构物外消旋混合物,其中 S-华法林的抗凝活性是 R-华法林的 3~5 倍,并主动经 CYP2C9 酶代谢。CYP2C9 基因位于 10 号染色体上,具有高度遗传多态性,其中 CYP2C9 * 2 和 CYP2C9 * 3 最为常见^[7-9]。CYP2C9 作为华法林的 S 异构体代谢酶,其 * 2 与 * 3 位点基因变异可导致 CYP2C9 酶活性降低,致使华法林 S 异

构体代谢减弱,华法林血药浓度增加,出现过度抗凝,增加患者出血风险。有研究显示 * 2 与 * 3 位点基因变异可分别使华法林 S 异构体代谢降低 30%~40% 和 80%~90%,故此类人群达到相同抗凝强度,所需华法林剂量明显减少^[10-11]。本研究结果显示, CYP2C9 * 3 基因型 AC 的华法林稳定剂量低于 CYP2C9 * 3 基因型 AA,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),说明华法林代谢药物在体内蓄积,造成血药浓度增高。

本研究结果显示, VKORC1 基因型 AA + CYP2C9 * 3 基因型 AC 的华法林稳定剂量均低于其他 VKORC1 + CYP2C9 * 3 基因型组合,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),可能是由于作用靶点正常,而代谢酶活性下降,其血药浓度升高引起的; VKORC1 基因型 AG/GG + CYP2C9 * 3 基因型 AA 的华法林稳定剂量高于其他 VKORC1 + CYP2C9 * 3 基因型组合,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),可能是由于作用靶点减少,为了达到足够抗凝效果,需要更高剂量来维持。与武元竹等^[6]研究结果一致。

基于华法林药物基因组学(包括基因型)构建药物模型,华法林药物基因组学联合会建立华法林剂量公益网站(www.warfarindosing.org),可根据患者的基因型和临床特征(如性别、种族、年龄、身高、体重、临床诊断、用药情况等)自动计算出华法林推荐剂量。既往多项研究表明,性别、年龄、身高、体重、CYP2C9、VKORC1 基因多态性可以解释 30%~60% 的华法林剂量个体差异^[12-14]。当然还有其他基因如 CYP4F2、APOE、GGCX、EPHX1 基因多态性也是华法林个体差异的重要影响因素^[15]。目前,为了减少经验性用药造成 PT-INR 达标天数的延长,临床上可以运用遗传药理学算法预测华法林剂量,开展个体化用药指导。

综上所述, VKORC1 和 CYP2C9 * 3 两个基因位点多态性与华法林稳定剂量和 PT-INR 达标天数有关,在临床相关疾病抗凝过程中需考虑其影响,指导个体化用药,努力减少经验性用药,缩短 PT-INR 达标天数,早日达到满意抗凝效果。

参考文献

[1] 宫小微,袁雅冬,贡莹,等. CYP2C9、VKORC1 基因多态性在 PTE 患者华法林抗凝治疗中的应用分析[J]. 医学综述,2021,27(14):2883-2887.

[2] 中华医学会心血管病学分会,中国老年学学会心血管病

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.

[3] 林升雄,吴丹娜,曹一秋. CYP2C9 及 VKORC1 基因多态性检测指导心脏瓣膜患者术后抗凝治疗的临床观察[J]. 河北医学,2022,28(2):292-295.

[4] 杨清理,宋沧桑,张阳,等. 基因多态性对华法林抗凝治疗剂量影响的研究进展[J]. 中国药物评价,2021,38(6):531-535.

[5] 王威丽,张阳,李兴德,等. CYP2C9、VKORC1 基因多态性对华法林抗凝疗效的影响[J]. 中国药物评价,2021,38(1):25-29.

[6] 武元竹,刘俊,杨魁,等. 安徽地区汉族人群 CYP2C9 * 3 和 VKORC1-1639G>A 基因多态性分布及对华法林稳定剂量的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2022,27(6):652-659.

[7] 蒿叶霞,郑璇,胡元萍,等. CYP2C9 及 VKORC1 基因多态性对心脏瓣膜术后华法林抗凝治疗策略的影响[J]. 检验医学,2019,34(2):126-129.

[8] 努尔巴哈尔·热木图拉,阿曼姑·阿不都沙拉木,杨和银. 不同民族心房颤动患者 CYP2C9 * 3 和 VKORC1 基因多态性与华法林用药剂量关联性研究[J]. 社区医学杂志,2021,19(17):1039-1042.

[9] 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.

[10] 刘玲,陈敏,黄恒柳,等. 重庆地区 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性与华法令药物敏感性的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(21):2561-2563.

[11] 陈幽伢,任小群,杨探,等. 基于 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性的心脏瓣膜置换术后华法林给药剂量预测的 3 种模型算法比较[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(4):439-443.

[12] 李文慧,胡琨,谢秋芬,等. 基于 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性的华法林个体化用药临床研究分析[J]. 中国临床药理学杂志,2022,38(13):1553-1557.

[13] 杨思芸,梁婧,唐志立,等. 川东北 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性对华法林剂量的影响[J]. 中国药业,2019,28(5):30-32.

[14] 祝锦,张微,张伟娟,等. 中国汉族人群华法林药物基因组学剂量预测公式比较[J]. 中国药学杂志,2011,46(24):1929-1934.

[15] 王森,门琛,吴军,等. CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性对高龄非瓣膜性心房颤动病人华法林维持剂量的影响[J]. 实用老年医学,2020,34(4):360-363.