

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.33.009

## 维吾尔族、哈萨克族、汉族人群 CYP2C19 基因多态性分析\*

秦延海,古丽扎尔·买买提明<sup>△</sup>,帕丽达·阿不来提

(新疆医科大学第一附属医院干部病房内二科,乌鲁木齐 830000)

**[摘要]** 目的 确定 CYP2C19 在维吾尔族、哈萨克族、汉族人群中的基因型及等位基因分布特征。方法 选取该院干部内二科住院体检患者 750 例,采用聚合酶链-限制性片段长度多态性方法分析 CYP2C19 基因多态性,了解基因型和代谢型分布在 3 个民族间的差异性。结果 检测到 CYP2C19 的不同代谢型在维吾尔族、哈萨克族、汉族间分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。哈萨克族快代谢型基因频率为 93.8%,高于汉族(89.0%);慢代谢型基因频率为 6.2%,低于汉族(11.0%),差异有统计学意义( $P = 0.006$ )。结论 在维吾尔族、哈萨克族、汉族人群中,CYP2C19 的代谢型和基因型分布有显著差异,可指导临床个体化用药。

**[关键词]** CYP2C19;基因型;汉族;维吾尔族;哈萨克族

**[中图分类号]** R541.4

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)33-4632-03

## Analysis of genetic polymorphism of cytochrome CYP2C19 in Chinese Uighur, Kazak and Han populations\*

Qin Yanhai, Gulizhaer · Mainaitiming<sup>△</sup>, Palida · Abulatib

(Second Department of Internal Medicine, Cadres Ward of First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

**[Abstract]** **Objective** To identify the genotype and allele distribution feature of cytochrome CYP2C19 in Chinese Uighur, Kazak and Han populations, and by detecting the CYP2C19 genotype. **Methods** Finding out the differences of genotype distribution among the three Chinese nationalities. The 750 inpatients were selected from Second Department of Internal Medicine, Cadres Ward of First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University. The CYP2C19 genotypes of the unrelated patients were assessed by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. **Results** Six different CYP2C19 genotypes were determined in this study. There was a significant difference among the three Chinese nationalities ( $P < 0.05$ ). The rate of fast metabolism type in Kazak is 93.8% more than the rate of Han populations. The rate of slow metabolism type in Kazak is 6.2% less than the rate of Han populations. The difference was statistically significant ( $P = 0.006$ ). **Conclusion** Nationality has significant effect on genetic polymorphism of CYP2C19 in Chinese Uighur, Kazak and Han populations.

**[Key words]** CYP2C19; genotype; Han nationality; Uighur; Kazak

细胞色素氧化酶 P450 2C19 是细胞色素氧化酶 P450 超家族中的重要成员,也是人体中重要的药物代谢酶,催化代谢许多内源性底物及临床上大约 2% 的药物,包括:血小板抑制剂、质子泵抑制剂、抗精神病药、降糖药等<sup>[1]</sup>。现已证实,CYP2C19 基因多态性是引起个体间和种族间对同一药物表现出不同代谢能力的最主要原因<sup>[2]</sup>,临床上氯吡格雷代谢受 CYP2C19 基因多态性的影响明显。CYP2C19 基因包括多种突变体,其中野生型为 CYP2C19 \* 1, CYP2C19 \* 2 和 CYP2C19 \* 3 为主要突变体,其他突变体较罕见。CYP2C19 \* 2 为外显子 5 上的 m1 突变,即第 681 位碱基发生变异(G-A),CYP2C19 \* 3 为外显子 4 上的 m2 突变,即第 636 位处的碱基变异(G-A),且均为等位基因碱基的突变,形成杂合子或纯合子突变,从而呈现常见的 6 种基因型,其中 \* 1 / \* 1, \* 1 / \* 2, \* 1 / \* 3 基因型的表现型为快代谢型或正常代谢型; \* 2 / \* 2, \* 3 / \* 3, \* 2 / \* 3 基因型的表现型为慢代谢型<sup>[3]</sup>。由于药物代谢酶 P450 在人群中表现为快慢代谢型主要归因于 CYP2C19 基因的单核苷酸多态性,故对 CYP2C19 进行基因型分类,研究不同种族间的基因型分布特点,对临床指导用药具有重要的意义<sup>[4-5]</sup>。

新疆地区维吾尔族、哈萨克族人口众多,由于各民族间饮

食及生活方式的不同,继而导致冠心病及 2 型糖尿病的发病率不同。氯吡格雷是噻吩并吡啶类衍生物,是一种前体药物,必须通过 CYP450 酶代谢,生成具有抑制血小板聚集作用的活性代谢产物,达到抑制血小板聚集的目的。但是氯吡格雷抵抗(CR)的存在却严重影响着治疗效果,从而导致临床预后差。虽然目前尚未阐明 CR 的确切机制,但是基因多态性被广泛认为是最重要的原因之一<sup>[6]</sup>。作者通过研究维吾尔族、哈萨克族和汉族人群 CYP2C19 的等位基因和基因型分布情况,并将各民族的结果进行比较,考察民族差异性对 CYP2C19 基因多态性的影响,对于冠心病患者进行个体化用药指导。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取本院干部内二科住院体检患者 750 例,汉族 264 例,维吾尔族 276 例,哈萨克族 210 例;男 512 例,女 238 例,平均年龄 60.3 岁,确诊冠心病患者 520 例,并给予冠心病二级预防用药。通过询问、记录受试者的家族史来判断其无血缘关系,所有受试者暂无重大疾病,如严重的心功能不全,肝肾功能损害,冠脉搭桥术后及短期内外伤手术史,所有受试者均知晓该检查的目的,并同意抽血检查。

## 1.2 方法

**1.2.1 样本的收集** 静脉取血 2~3 mL,加置 EDTA 抗凝管

(紫头管)中,1~2 h 内送检。

**1.2.2 DNA 的提取及 PCR 扩增** 采用全血基因组 DNA 提取试剂盒(上海白鸥生物技术有限公司),根据说明书要求提取和纯化外周血 DNA。引物采用 Primer5.0 软件进行引物设计,上游引物:5'-AGG GAT AGT ATG AGG GAG GA-3',下游引物:5'-CAA AAG CCG ATG TAG GTC-3'(由上海捷瑞生物工程公司合成)。CYP2C19 \* 2 位点及 CYP2C19 \* 3 位点扩增条件为 95 °C 5 min 起始模板变性,变性 95 °C 30 s,退火 46 °C 30 s,延伸 72 °C 45 s,共 35 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。分别生成 CYP2C19 \* 2、CYP2C19 \* 3 的等位基因扩增片段,37 °C 水浴 4 h,用质量分数为 2% 琼脂糖凝胶(加入核酸染料 GELVIEW)100 V 电泳。30 min 后在紫外线下观察、摄影。将 PCR 产物及酶切产物与 DNA marker 比较,确定基因型。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行分析,用 Hardy-Weinberg 平衡检验样本的群体代表性,基因型频率和等位基因频率采用基因计数法计算,计数资料以百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$ , $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 汉族、维吾尔族、哈萨克族 CYP2C19 代谢表型分布** 基因型为 \* 1/\* 1 者代谢表型为快代谢型纯合子;\* 1/\* 2,\* 1/\* 3 基因型的表现型为快代谢型杂合子;\* 2/\* 2,\* 2/\* 3,\* 3/\* 3 基因型的为慢代谢型,见表 1。3 个民族间的 CYP2C19 代谢型分布差异有统计学意义( $\chi^2=25.1$ , $P<0.05$ ),汉族的慢代谢型明显多于哈萨克族和维吾尔族,维吾尔族和哈萨克族快代谢型纯合子明显多于汉族。单独维吾尔族和哈萨克族之间 CYP2C19 代谢型分布差异无统计学意义( $P=0.338$ )。

**2.2 维吾尔族与汉族 CYP2C19 基因型和等位基因频率的比较** 维吾尔族快代谢型基因频率为 94.2%,明显高于汉族的 89.0%;慢代谢型基因频率为 5.8%,明显低于汉族 11.0%。等位基因 CYP2C19 \* 1 频率维吾尔族为 78.4%,明显高于汉族;CYP2C19 \* 2 频率维吾尔族的 18.3% 低于汉族的 30.1%;CYP2C19 \* 3 频率低于汉族。见表 2。

表 1 3 民族 CYP2C19 代谢表型分布[n(%)]

民族	n	快代谢型		慢代谢型
		纯合子	杂合子	
维吾尔族	276	173(62.7)	87(31.5)	16(5.8)
哈萨克族	210	118(56.2)	79(37.6)	13(6.2)
汉族	264	111(42.0)	124(47.0)	29(11.0)

**2.3 哈萨克族与汉族 CYP2C19 基因型及等位基因频率的比较** 哈萨克族快代谢型基因频率为 93.8% 高于汉族的 89.0%,慢代谢型基因频率为 6.2% 低于汉族的 11.0%,差异有统计学意义( $P=0.006$ )。哈萨克族等位基因 CYP2C19 \* 1 频率为 76.2%,明显有别于汉族的 54.4%;哈萨克族的 CYP2C19 \* 2 等位基因频率 21.4% 低于汉族 42.0%,两民族间的等位基因频率差异有统计学意义( $P=0.026$ ),见表 2。

**2.4 维吾尔族与哈萨克族 CYP2C19 基因型和等位基因频率的比较** 哈萨克族快代谢型基因频率 93.8% 与维吾尔族的 94.2%,慢代谢型基因频率为 6.2% 与维吾尔族的 5.8%,差异无统计学意义( $P=0.338$ )。哈萨克族和维吾尔族等位基因 CYP2C19 \* 1、CYP2C19 \* 2、CYP2C19 \* 3 的分布差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 3 民族基因型比较[n/n(%)]

民族	n	基因型					
		* 1/* 1	* 1/* 2	* 1/* 3	* 2/* 2	* 2/* 3	* 3/* 3
维吾尔族	276	173/276(62.7)	75/276(27.2)	12/276(4.3)	12/276(4.3)	2/276(0.7)	2/276(0.7)
哈萨克族	210	118/210(56.2)	68/210(32.4)	11/210(5.2)	10/210(4.8)	2/210(0.9)	1/210(0.5)
汉族	264	111/264(42.0)	110/264(41.7)	14/264(5.3)	22/264(8.3)	5/264(1.9)	2/264(0.8)

**3 讨 论**

遗传多态性指在特定人群中,染色体的同一位点存在两种或多种不连续的变异型或基因型,主要包括基因多态性、染色体多态性、酶多态性等。其中与多种药物代谢相关的 CYP2C19 基因多态性为先天性遗传,后天的疾病多不会改变该基因型,同时不受性别和年龄的影响<sup>[7]</sup>。基因多态性表现为明显的种族差异性,不同的民族之间也有所不同,所以开展我国人群的基因多态性与环境的作用关系的研究同样具有重要的意义。已有研究提示,在我国各民族间存在 CYP2C19 基因型差异,且该基因多态性具有一定的可比性,由于各民族间遗传背景的不同,各民族间的基因频率也各不相同<sup>[8]</sup>。已有研究发现亚洲人群中几乎 100% 的弱代谢归因于 CYP2C19 \* 2 和 CYP2C19 \* 3 所编码功能缺陷等位基因<sup>[9]</sup>。CYP2 家族不仅存在于心血管系统,同时参与多种重要药物代谢,包括 ADP 受体阻滞剂(氯吡格雷)、质子泵抑制剂(奥美拉唑)、抗癫痫药(丙戊酸钠)等<sup>[10]</sup>。对于本文来说,了解本地区 3 民族间的基因分型特点,可用于指导临床合理用药,指导氯吡格雷在冠心病患者中的使用情况,以个体化用药达到更好的临床效益。

度及血药浓度,其参与的药物代谢对于某些疾病的预防、疾病的发生、预后影响明显。经由 CYP2C19 酶代谢的药物,血浓度受人体基因型影响。快代谢型个体血浓度低,效应减弱,可能导致治疗无效,慢代谢型个体则效应增强,容易产生不良反应。弱代谢型、中间代谢型的受试者氯吡格雷活性代谢物的浓度水平比强代谢型低,活性代谢物主要起抑制血小板的作用,故血小板聚集率较强代谢型高,主要心血管不良事件及支架内血栓形成的概率提高。对于此类患者可通过加强氯吡格雷药物剂量,或是联合用药。还可以将氯吡格雷换为新型 P2Y12 拮抗剂普拉格雷或替格瑞洛。否定以往的模式化、常规化用药,达到真正个体化用药<sup>[11]</sup>。但药物于人体的处置代谢过程十分复杂,因此临床上用药还应根据患者临床表现做出处理。冯端浩等<sup>[12]</sup>研究发现对于 ADP 抑制率明显低的突变基因纯合子或杂合子组(CYP2C19 \* 2/\* 2、CYP2C19 \* 3/\* 3 和 CYP2C19 \* 2/\* 3)的患者,单纯的提高氯吡格雷的用药剂量,仍不能提高其抑制血小板的效果,建议此类基因型患者使用联合用药方案。本研究中汉族人口 \* 2,\* 3 等位基因所占的比例分别为 30.1%、4.4%;维吾尔族中 \* 2,\* 3 等位基因所占的比例分别为 18.3%、3.3%;哈萨克族中 \* 2,\* 3 等位基因所占的比例分

CYP2C19 基因多态性直接影响外源性物质如药物代谢强

别为 21.4%、2.4%；本研究汉族人群发生 \* 2、\* 3 的杂合型突变率较高，高于维吾尔族和哈萨克族的 \* 2、\* 3 等位基因的分布比率，该突变大多为杂合突变，汉族的慢代谢型明显高于 2 个少数民族，可以说明 3 个民族间的 CYP2C19 基因多态性具有一定的可比性。这与牛春燕等<sup>[13]</sup>的研究结果相一致。维吾尔族与哈萨克族间基因频率分布具有差异性，具体各等位基因或基因型间的差异无统计学意义。本研究初步显示，CYP2C19 的基因多态性存在明显的民族间差异，通过了解该地区人群的基因分布频率，可用于指导临床用药。即指导冠心病患者抗血小板治疗氯吡格雷应用，对于氯吡格雷抵抗与 CYP2C19 基因多态性的关系还需进一步研究随访。

目前临床上检测 CYP2C19 基因的多态性的方法有多种并各具优缺点。如荧光定量 PCR 和基因芯片检测成本较高；焦磷酸测序较直接测序法提高了特异性和灵敏度，但检测周期和费用不能满足临床需要；特异性和灵敏度较高的多重 PCR 点突变筛查技术，因其高效、廉价的特点逐渐成为主导的检测手段<sup>[14]</sup>。通过检测基因型来评估判断患者使用相关药物治疗的有效性，即有利于患者的个体化治疗还可以降低药物不良事件的发生风险。随着人们对基因组学的进一步了解，CYP2C19 基因检测手段的改进，P450 酶被全面熟知，患者便可以从基因指导用药方面最大的获益。面对临床复杂的临床用药还应考虑多位点、多因素综合影响，结合特定位点基因突变对用药方案进行预测和调整。

#### 参考文献

- [1] 王娟, 苏明权, 杨柳, 等. 西北地区 530 例临床患者 CYP2C19 遗传多态性分析[J]. 中华临床医师杂志, 2012, 11(1): 6-22.
- [2] 郭志强, 贾正平, 马俊, 等. 对甘肃回族、藏族、汉族人群 CYP2C19 基因多态性分析[J]. 药学服务与研究, 2010, 10(5): 350-353.
- [3] 周健, 吕虹, 康熙雄. 药物代谢酶 CYP2D6 和 CYP2C19 的基因多态性与个体化治疗[J]. 中国医学生物技术, 2009, 8(4): 299-302.
- [4] Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular

events[J]. N Engl J Med, 2009, 360(1): 363-375.

- [5] Yang ZF, Cui HW, Hasi T, et al. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes 2C9 and 2C19 in a healthy Mongolian population in China[J]. Genet Mol Res, 2010, 9(3): 1844-1851.
- [6] Fifi JT, Brockington C, Narang J, et al. Clopidogrel resistance is associated with thromboembolic complications in patients undergoing neurovascular stenting [J]. Am J Neuroradiol, 2013, 34(4): 716-720.
- [7] 夏长胜, 刘畅, 赵晓涛. 等位基因特异荧光 PCR 法检测 CYP2C19 基因型[J]. 基础医学与临床, 2013, 3(33): 330-334.
- [8] 周健, 吕虹, 康熙雄. 中国汉族人群不同性别、年龄、体重指数之间细胞色素氧化酶 CYP2C19 基因多态性的检测[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(2): 208-213.
- [9] 徐晓薇, 杜凤和, 陈步星. 氯吡格雷抗血小板作用与 CYP2C19 基因多态性关系的探讨[J]. 中国病案, 2011, 12(12): 36-38.
- [10] 杨毅宁, 王新磊, 马依彤. CYP2C19 基因多态性与维吾尔族冠心病相关性[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(7): 632-635.
- [11] 苟文, 常静. 氯吡格雷抵抗与 CYP2C19 基因多态性的相关性研究进展[J]. 心血管病学进展, 2013, 34(3): 443-446.
- [12] 冯端浩, 刘震, 赵冠人. 依据 CYP2C19 基因型调整首次 PCI 术后患者氯吡格雷给药剂量初步研究[J]. 解放军药理学学报, 2012, 28(6): 487-490.
- [13] 牛春燕, 关丽, 罗金燕. 维吾尔族健康人群 CYP2C19 基因多态性分析[J]. 新疆医科大学学报, 2011, 28(3): 247-249.
- [14] 高云, 王侦, 朱振宇. 多重 PCR 点突变筛查技术在 CYP2C19 基因分型中的应用[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(32): 2293-2296.

(收稿日期: 2015-07-10 修回日期: 2015-08-27)

(上接第 4631 页)

- 蛋白检测在肾脏病中的应用[J]. 医学综述, 2009, 15(17): 2583-2586.
- [6] 李毅, 祁成, 袁鹏. 血清胱抑素 C 在妊娠期高血压疾病早期肾损伤中的意义[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(15): 2256-2258.
- [7] 钱宇佳, 贾瑞喆, 刘晓梅. 子痫前期患者肾功能损害及其与血流动力学变化的关系[J]. 实用妇产科杂志, 2012, 28(9): 751-754.
- [8] 李波, 李峰. 血清胱抑素 C、 $\beta_2$ -微球蛋白及传统标志物检测在肾功能不同损害期的临床研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(9): 1287-1289.
- [9] 赵峰波, 郭加旺, 刘勇志, 等. 血清  $\beta_2$ -微球蛋白、胱抑素 C 在评价早期肾功能损伤中的敏感性[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(21): 157-158.
- [10] 张旦欢, 毛佩菊, 黄燕萍. 胱抑素 C 与肾功能损害程度相关性研究[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6

(8): 2192-2194.

- [11] 卢卫国, 何静. 血清胱抑素 C 对早期肾功能损伤诊断价值分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(12): 1564-1565.
- [12] 罗红权, 陈新敏. 妊娠高血压综合征患者血清胱抑素 C 检测的临床应用[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(10): 1825-1826.
- [13] 黄启涛, 高云飞, 王艳. 血清胱抑素 C 水平与早发型子痫前期发生和不良妊娠结局关系探讨[J]. 实用妇产科杂志, 2012, 28(4): 266-269.
- [14] 单虹. 子痫前期患者血清  $\beta_2$ -微球蛋白的变化及其临床意义[J]. 海南医学, 2013, 24(7): 1004-1005.
- [15] 宋清玲. 血清  $\beta_2$ -微球蛋白在妊娠高血压综合征早期肾功能诊断中的意义[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(5): 609-610.

(收稿日期: 2015-06-19 修回日期: 2015-09-22)