

## 【临床评价】

## 细胞色素P450酶2C9和维生素K环氧化物还原酶复合体1基因多态性对瓣膜置换术后华法林剂量影响分析

裴媛<sup>1</sup>, 周贺伟<sup>2</sup>, 郭丽娜<sup>1</sup>, 王单单<sup>1</sup>

1. 漯河市中心医院 药学部, 河南 漯河 462000

2. 漯河市中心医院 呼吸科, 河南 漯河 462000

**摘要:** 目的 分析细胞色素P450酶2C9 (CYP2C9) 和维生素K环氧化物还原酶复合体1 (VKORC1) 基因多态性对瓣膜置换术后华法林剂量的影响。方法 选取自2015年3月—2017年12月期间于漯河市中心医院行瓣膜置换术后口服华法林的127例患者为研究对象。采用PCR-RFLP法分别检测其CYP2C9和VKORC1基因型, 同时记录患者的华法林日均服用剂量、血浆总浓度及游离浓度。对不同基因型及临床特征与华法林日常服用剂量进行直线相关及多元回归分析。结果 华法林日均服用剂量对比, CYP2C9 (1061A/C) 基因型AA患者显著高于基因型AC患者 ( $P < 0.05$ ), VKORC1 (1639 G/A) 基因型AA患者显著低于基因型AG患者 ( $P < 0.05$ ), VKORC1 (1173 C/T) 基因型TT患者显著低于基因型CT患者 ( $P < 0.05$ )。华法林血浆总浓度及游离浓度对比, VKORC1 (1639 G/A) 基因型AA患者显著低于基因型AG患者 ( $P < 0.05$ ), VKORC1 (1173 C/T) 基因型TT患者显著低于基因型CT患者 ( $P < 0.05$ )。女性患者的华法林日均服用剂量显著低于男性患者 ( $P < 0.05$ ),  $\geq 70$ 岁和60~69岁患者显著低于60岁以下各年龄段 ( $P < 0.05$ )。直线相关分析及多元回归分析结果提示, 华法林日均服用剂量与CYP2C9、VKORC1基因型和年龄、性别相关 ( $P < 0.05$ )。结论 CYP2C9和VKORC1基因多态性与瓣膜置换术后华法林日常服用剂量个体化相关, 同时年龄和性别也是影响因素之一。

**关键词:** 瓣膜置换术; CYP2C9; VKORC1; 基因多态性; 华法林

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018) 11-2025-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.11.017

## Effects of CYP2C9 and VKORC1 Genetic Polymorphisms on Maintenance Dosage of Warfarin in Patients after Undergoing Mechanical Heart Valve Prostheses Replacement

PEI Yuan<sup>1</sup>, ZHOU Hewei<sup>2</sup>, GUO Lina<sup>1</sup>, WANG Dandan<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China

2. Department of Respiration, Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China

**Abstract: Objective** To evaluate the effects of CYP2C9 and VKORC1 Genetic Polymorphisms on Maintenance Dosage of Warfarin in Patients after Undergoing Mechanical Heart Valve Prostheses Replacement. **Methods** A total of 127 patients taking Warfarin after cardiac valve replacement in our hospital from March of 2015 to December of 2017 were recruited in this study, and clinical indexes such as age, gender, the average daily dose of warfarin and plasma concentration of warfarin dosage were recorded. Genotypes of CYP2C9 and VKORC1 were detected with polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique, and straight line correlation analysis between genotypes and clinical characteristics and multivariate logistic analysis with stable Warfarin dosage were performed. **Results** Maintenance dose of warfarin in patients with CYP2C9 1061A/C AA type was significantly higher than those with CYP2C9 1061A/C AC type ( $P < 0.05$ ). Maintenance dose of warfarin in patients with VKORC1-1639G/A AG type was significantly higher than those with VKORC1-1639G/A AA type ( $P < 0.05$ ). Maintenance dose of warfarin in patients with VKORC1-1173C/T CT type was significantly higher than those with VKORC1-1173C/T TT type ( $P < 0.05$ ).

收稿日期: 2018-07-27

第一作者: 裴媛(1983—),女,硕士研究生,主管药师,研究临床药理方面。Tel: 13939514855

Significant differences of plasma warfarin concentration were also observed between VKORC1-1639G/A AA and AG as well as VKORC1-1173C/T TT and CT genotypes ( $P < 0.05$ ), but not in those with CYP2C9 1061A/C genotypes. The average daily dose of warfarin was significantly higher in male patients than in females ( $P < 0.05$ ). The maintenance dose of warfarin was also significantly higher in patients under 60 years old than those aged above 60 years ( $P < 0.05$ ). Correlation and multivariate logistic analyses showed that there were statistically significant differences between stable Warfarin dosage with age, gender and different genotypes. **Conclusion** CYP2C9 and VKORC1 genotypes also have a close relationship with warfarin plasma concentration, gender and age are the important influencing factors on warfarin daily dose.

**Key words:** Mechanical heart valve replacement; CYP2C9; VKORC1; Gene polymorphism; Warfarin

华法林是临床上较为常用的抗凝药,常用于深静脉血栓、瓣膜置换术后及房颤等,其治疗窗较为狭窄,用药时需将国际标准化比值(INR)控制在2.0~3.0<sup>[1]</sup>。因不同患者对华法林用药剂量个体化差异较大,部分患者的INR控制在2.0~3.0时也会偶有出血的情况发生<sup>[2]</sup>。因此,华法林的剂量应用在临床上一直是医务工作者研究的热点。有研究称,细胞色素P450酶2C9(CYP2C9)和维生素K环氧化物还原酶复合体1(VKORC1)基因多态性对华法林的剂量应用有一定的影响<sup>[3]</sup>。本研究探讨CYP2C9和VKORC1基因多态性对瓣膜置换术后华法林剂量的影响,为临床治疗提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取自2015年3月—2017年12月于漯河市中心医院行瓣膜置换术后口服华法林的127例患者为研究对象。其中男性62例,女性65例,年龄在18~73岁,平均年龄为(55.73±14.26)岁。入选标准:(1)年龄>18岁的汉族人;(2)INR控制在2.0~3.0。排除标准:(1)正在服用或者近期服用影响华法林药效及INR的药物;(2)存在华法林禁忌症的患者;(3)肝肾功能异常者。

### 1.2 方法

**1.2.1 患者资料血液标本采集** 记录患者年龄、性别、华法林日常服用剂量。取患者晨起肘正中静脉血5 mL。将其中2 mL置于EDTA-Na抗凝管中,测定凝血酶原时间(PT)及INR值。

**1.2.2 华法林血药浓度测定** 取3 mL静脉血于EDTA抗凝管,2 200 r/min离心15 min,取上层血浆,-80℃冻存。采用UPLC/MS-MS法测定华法林血浆总浓度及游离浓度。

**1.2.3 基因型的检测** 取200 μL静脉血,采用IANGEN血液基因组提取试剂盒提取基因组DNA,美国ABI 3500 Genetic Analyzer测序,引物序列:CYP2C9(1061 A/C):5'-TGCACGAGGTCCAGAGGTAC-3',5'-CTATGAATTTGGGGACTTCG-3';

VKORC1(1639 G/A):5'-ACAGACGCCAGAGGAAGAG-3',5'-CAGGGTTCAAGTGGTTCTC-3';VKORC1(1173 C/T):5'-GAGAGGGGAGGATAGGGTC-3',5'-GGGTGGAACCAGGTTAGGAC-3'<sup>[4]</sup>。采用PCR-RFLP技术检测CYP2C9和VKORC1基因型。以CYP2C9(1061 A/C)为例,其纯合变异型(CC)经酶切后产生134 bp和18 bp两个片段,杂合子(AC)产生152 bp、134 bp和18 bp 3个片段,野生纯合型(AA)只有152 bp一个片段,18 bp片段太小不易被凝胶分辨。

### 1.3 统计学方法

处理本次研究中数据所用的统计学分析选用SPSS18.0软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的比较采用 $t$ 检验,计数资料均以百分率表示,组间比较选用 $\chi^2$ 比较。Spearman等级相关用于分析华法林剂量与年龄、性别以及不同CYP2C9、VKOR1基因型的关系,,多元线性回归用于分析华法林剂量与各变量之间的相关性, $\alpha=0.05$ 为检验水准。

## 2 结果

### 2.1 基因型分布

根据检测结果,在127名患者中,CYP2C9(1061 A/C)基因型AA 119例(93.70%),AC 8例(6.30%),无CC型患者;VKORC1(1639 G/A)基因型AA 108例(85.04%),AG 19例(14.96%),无GG型患者;VKORC1(1173 C/T)基因型TT 103例(81.10%),CT 24例(18.9%),无CC型患者。以上各基因型分布均符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律。不同性别各基因型的分布频率差异均无统计学意义。见表1。

### 2.2 不同基因型患者华法林日均服用剂量的比较

CYP2C9(1061A/C)基因型AA患者华法林日均服用剂量明显高于基因型AC患者,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );VKORC1(1639 G/A)基因型AA患者华法林日均服用剂量明显低于基因型AG患者,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );VKORC1(1173 C/T)基因型TT患者华法林日均服

表1 基因型分布

Table 1 Genotype distribution

| 基因                | 基因型 | 分布(n=127) |       | 男(n=62) |       | 女(n=65) |       |
|-------------------|-----|-----------|-------|---------|-------|---------|-------|
|                   |     | n/例       | 占比/%  | n/例     | 占比/%  | n/例     | 占比/%  |
| CYP2C9(1061 A/C)  | AA  | 119       | 93.70 | 57      | 91.94 | 62      | 95.38 |
|                   | AC  | 8         | 6.30  | 5       | 8.06  | 3       | 4.62  |
|                   | CC  | 0         | 0     | 0       | 0     | 0       | 0     |
| VKORC1(-1639 G/A) | AA  | 108       | 85.04 | 54      | 87.1  | 54      | 83.08 |
|                   | AG  | 19        | 14.96 | 8       | 12.90 | 11      | 16.92 |
|                   | GG  | 0         | 0     | 0       | 0     | 0       | 0     |
| VKORC1(1173 C/T)  | TT  | 103       | 81.10 | 51      | 82.26 | 52      | 80    |
|                   | CT  | 24        | 18.9  | 11      | 17.74 | 13      | 20    |
|                   | CC  | 0         | 0     | 0       | 0     | 0       | 0     |

用剂量明显低于基因型CT患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

### 2.3 不同基因型患者华法林血浆浓度的比较

CYP2C9(1061A/C)基因型AA患者华法林血浆总浓度及游离浓度与基因型AC患者对比差异均无统计学意义;VKORC1(1639 G/A)基因型AA患者华法林血浆总浓度及游离浓度明显低于基因型AG患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );VKORC1(1173 C/T)基因型TT患者华法林血浆总浓度及游离浓度明显低于基因型CT患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

### 2.4 不同性别、年龄的患者华法林日均服用剂量及血浆浓度比较

女性患者的华法林日均服用剂量明显低于男性患者,≥70岁和60~69岁患者明显低于60岁以下各年龄段,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ );不同性别、年龄的患者华法林血浆总浓度对比差异均无

统计学意义。见表3。

### 2.5 华法林日均服用剂量的影响因素直线相关分析

分别对年龄、性别、CYP2C9(1061A/C)、VKORC1(1639 G/A)、VKORC1(1173 C/T)与华法林日均服用剂量行直线相关分析显示,华法林日均服用剂量与患者的年龄、性别及不同的基因型有关( $P<0.05$ )。见表4。

### 2.6 华法林日均服用剂量影响因素多元回归分析

同时纳入患者年龄、性别、CYP2C9(1061A/C)、VKORC1(1639 G/A)、VKORC1(1173 C/T),行多元回归分析显示,华法林日均服用剂量与CYP2C9(1061A/C)、VKORC1(1639 G/A)、VKORC1(1173 C/T)和年龄、性别有关( $P<0.05$ )。见表5。

### 3 讨论

近年来,随着心脏瓣膜置换术在临床中的不断应用,作为需术后长期服用的药物,对于华法林的

表2 不同基因型患者华法林日均服用剂量及血浆浓度对比

Table 2 Comparison on daily dose and plasma concentration of Warfarin in different genotypes of patients

| 基因               | 基因型 | n/例 | 日均服用剂量/(mg·d <sup>-1</sup> ) | 血浆总浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 血浆游离浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|------------------|-----|-----|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| CYP2C9(1061A/C)  | AA  | 119 | 2.87±0.93                    | 671.4±323.2                  | 1.19±0.98                     |
|                  | AC  | 8   | 1.71±1.30*                   | 591.8±292.9                  | 0.95±0.54                     |
| VKORC1(1639 G/A) | AA  | 108 | 1.87±0.68                    | 607.2±253.7                  | 1.06±0.85                     |
|                  | AG  | 19  | 2.83±1.13 <sup>#</sup>       | 962.5±422.5 <sup>#</sup>     | 1.64±1.22 <sup>#</sup>        |
| VKORC1(1173 C/T) | TT  | 103 | 1.92±0.74                    | 616.9±273.2                  | 1.11±0.96                     |
|                  | CT  | 24  | 2.84±1.15 <sup>△</sup>       | 974.5±389.5 <sup>△</sup>     | 1.55±0.74 <sup>△</sup>        |

与CYP2C9(1061A/C)基因型AA相比: \* $P<0.05$ ; 与VKORC1(1639 G/A)基因型AA相比: <sup>#</sup> $P<0.05$ ; 与VKORC1(1173 C/T)基因型TT相比: <sup>△</sup> $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs CYP2C9(1061A/C) genotype AA; <sup>#</sup> $P<0.05$  vs VKORC1(1639 G/A) genotype AA; <sup>△</sup> $P<0.05$  vs VKORC1(1173 C/T) genotype TT

表3 不同性别、年龄的患者华法林日均服用剂量及血浆浓度对比

Table 3 Comparison on daily dose and plasma concentration of Warfarin in different sex and age patients

| 项目    |       | n/例 | 日均服用剂量/(mg·d <sup>-1</sup> ) | 血浆总浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|-------|-----|------------------------------|------------------------------|
| 性别    | 男     | 62  | 2.83±0.72                    | 906.46±401.33                |
|       | 女     | 65  | 2.24±1.22*                   | 731.22±374.47                |
| 年龄(岁) | ≥70   | 9   | 2.22±0.43 <sup>#</sup>       | 562.16±194.52                |
|       | 60~69 | 13  | 2.25±0.71 <sup>#</sup>       | 572.63±169.62                |
|       | 50~59 | 25  | 2.74±0.88                    | 658.21±198.27                |
|       | 40~49 | 33  | 2.32±0.36                    | 903.12±293.71                |
|       | 30~39 | 28  | 2.75±0.29                    | 823.95±337.08                |
|       | 20~29 | 9   | 2.69±0.63                    | 773.55±321.55                |
|       | ≤19   | 10  | 2.86±0.82                    | 743.28±153.62                |

与男性相比: \* $P < 0.05$ ; 与60岁以下各年龄段相比: <sup>#</sup> $P < 0.05$ \* $P < 0.05$  vs male group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs all age groups under 60 years of age

表4 华法林日均服用剂量的影响因素直线相关分析

Table 4 Linear correlation analysis of influencing factors on daily dose of warfarin

| 临床资料             | <i>r</i> | <i>P</i> |
|------------------|----------|----------|
| 年龄               | -0.277   | 0.001    |
| 性别               | -0.242   | 0.007    |
| CYP2C9(1061A/C)  | 0.322    | <0.001   |
| VKORC1(1639 G/A) | 0.315    | <0.001   |
| VKORC1(1173 C/T) | 0.297    | <0.001   |

研究受到越来越多的学者的关注。华法林是 $R$ -华法林和 $S$ -华法林组成的消旋异构体, $R$ -华法林主要经CYP1A1、1A2和3A4酶代谢, $S$ -华法林主要有CYP2C9酶代谢<sup>[5]</sup>。而就抗凝活性来说, $S$ -华法林是 $R$ -华法林的3~5倍,因此CYP2C9的基因多态性对代谢酶的活性有重要影响,从而影响华法林药效<sup>[6]</sup>。

目前发现的CYP2C9(1061A/C)存在AA、AC、CC 3种基因型,其中AA型最为常见<sup>[7]</sup>。在本研究中,根据检测结果,在127名患者中,CYP2C9(1061A/C)基因型AA 119例(93.70%),AC 8例(6.30%),无CC型患者。这与薛乾<sup>[8]</sup>的报道基本一致。本研

究结果还发现,CYP2C9(1061A/C)基因型AA患者华法林日均服用剂量明显高于基因型AC患者( $P < 0.05$ ),但二者的华法林血浆总浓度及游离浓度对比差异均无统计学意义。这就说明AC基因型的患者服用相对较低剂量的华法林即可达到AA型患者服用较多华法林所达到的效果。而二者间的血浆总浓度及游离浓度无差异可能是由于AA基因型编码酶活性较高,虽然服用华法林剂量大,但是代谢也较多,因此二者的华法林血液浓度相近<sup>[9]</sup>。

在华法林的药效方面,其发挥作用主要是通过抑制VKORC1的活性,从而阻断凝血因子II、VII、IX、X,达到抗凝目的<sup>[10]</sup>。目前VKORC1基因主要有1639 G/A和1173 C/T两个突变位点,而VKORC1(1639 G/A)存在AA、AG、GG 3种基因型,VKORC1(1173 C/T)存在TT、CT、CC 3种基因型<sup>[11]</sup>。在本研究中的127名研究对象中,VKORC1(1639 G/A)基因型AA 108例(85.04%),AG 19例(14.96%),无GG型患者;VKORC1(1173 C/T)基因型TT 103例(81.10%),CT 24例(18.9%)。高菲<sup>[12]</sup>研究发现AA基因型患者所需的华法林剂

表5 华法林日均服用剂量影响因素多元回归分析

Table 5 Multiple regression analysis of influencing factors on daily dose of warfarin

| 因素               | $\beta$ | S.E.  | Wald  | <i>P</i> 值 | OR(95%CI)         |
|------------------|---------|-------|-------|------------|-------------------|
| 年龄               | 0.592   | 0.253 | 4.628 | 0.032      | 1.787(1.54, 2.38) |
| 性别               | 0.521   | 0.302 | 8.254 | 0.025      | 1.592(1.22, 2.14) |
| CYP2C9(1061A/C)  | 0.579   | 0.234 | 8.253 | 0.017      | 1.642(1.37, 1.89) |
| VKORC1(1173 C/T) | 0.517   | 0.329 | 5.681 | 0.004      | 1.217(0.78, 1.52) |
| VKORC1(1173 C/T) | 0.614   | 0.287 | 7.382 | 0.012      | 1.565(1.12, 2.00) |



量( $3.00 \pm 1.03$ )mg/d显著低于AG基因型患者( $4.59 \pm 1.03$ )mg/d。这与本研究结果一致,VKORC1(1639 G/A)基因型AA患者华法林日均服用剂量明显低于基因型AG患者( $P < 0.05$ ),TT型患者明显低于CT型患者( $P < 0.05$ )。这都说明了AA型患者及TT型患者的华法林服用稳态剂量较低,且其所对应的华法林血浆总浓度及游离浓度也分别低于AG型患者及CT型患者,这与其服用剂量在体内的代谢是一致的<sup>[13]</sup>。

除上述遗传因素之外,华法林应用剂量的个体差异性与性别及年龄也有一定的关系<sup>[14]</sup>。本研究发现,女性患者的华法林日均服用剂量明显低于男性患者, $\geq 70$ 岁和60~69岁患者明显低于60岁以下各年龄段( $P < 0.05$ ),但不同性别、年龄的患者华法林血浆总浓度对比差异均无统计学意义。这与刘跃平的研究结果是一致的<sup>[15]</sup>。通过直线相关分析及多元回归分析,华法林日均服用剂量与CYP2C9(1061A/C)、VKORC1(1639 G/A)、VKORC1(1173 C/T)、年龄和性别有关。

综上所述,在临床应用华法林时应注意年龄及性别的区分。同时为获得最佳治疗方案,有必要检测患者的CYP2C9(1061A/C)、VKORC1(1639 G/A)、VKORC1(1173 C/T)基因型,从而指导华法林应用剂量。

#### 参考文献

- [1] 寇惠娟,邓捷,朱参战,等. CYP2C9和VKORC1基因多态性对华法林稳态治疗剂量及个体化抗凝疗效的影响[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(11): 1102-1107.
- [2] 刘锐,石鑫淼,潘晓冬,等. 北方地区老年患者VKORC1、CYP2C9、CYP4F2基因多态性对华法林抗凝效果的影响[J]. 临床药物治疗杂志, 2017, 15(3): 14-18.
- [3] 姜海涛,李文忠,王树林,等. 内蒙古地区蒙古族VKORC1-1639 G/A和CYP2C9基因多态性与华法林应用剂量关系的研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(20): 2340-2344.
- [4] 李国豪,杨娜,明凯华,等. 广州地区CYP2C9/VKORC1基因多态性及行个体化治疗患者凝血指标的改变[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(21): 1894-1897.
- [5] 张沂,费宇行,于春令,等. CYP2C9-1075A>C及VKORC1-1639G>A基因多态性在服用华法林汉族人群中分布特性及其与药动学-药效学相关性[J]. 解放军药学学报, 2016, 32(3): 206-210.
- [6] 张彦昂. CYP2C9和VKORC1基因多态性指导临床华法林初始抗凝的研究[J]. 中国实用医药, 2016, 11(16): 179-180.
- [7] 努尔子亚·曼那洪,帕提古丽·阿卜杜力,范芳芳,等. VKORC1与CYP2C9基因多态性对新疆维吾尔族患者华法林日稳定剂量的影响[J]. 中国医药导报, 2016, 13(15): 17-20, 43.
- [8] 薛乾,李伟,张宇峰,等. CYP2C9和VKORC1基因多态性对华法林抗凝强度的影响[J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(5): 640-644.
- [9] 张国强,刘俊,徐文科,等. 皖南某地汉族人群CYP2C9 1075A>C和VKORC1 1639G>A基因多态性研究[J]. 贵州医药, 2015, 39(11): 964-966.
- [10] Villegas T B, Sanchez G F, Jaramillo V K, et al. Genotype frequencies of VKORC1 and CYP2C9 in native and Mestizo populations from Mexico, potential impact for coumarin dosing [J]. Gene, 2015, 558(2): 235-240.
- [11] Gaikwad T, Ghosh K, Shetty S. VKORC1 and CYP2C9 genotypedistribution in Asian countries [J]. Thromb Res, 2014, 134(3): 537-544.
- [12] 高菲,宋洪涛,曾志勇,等. CYP2C9和VKORC1基因多态性对心脏瓣膜置换术后华法林维持剂量和抗凝效果的影响[J]. 中国药房, 2010, 21(22): 2053-2057.
- [13] 陈晓英,彭齐,胡大清,等. CYP2C9及VKORC1基因多态性对华法林稳态剂量和模型预测剂量的相关性研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2015, 44(1): 92-95.
- [14] An S H, Lee E, Chang B C, et al. Association of gene polymorphisms with the risk of warfarin bleeding complications at therapeutic INR in patients with mechanical cardiac valves [J]. J Clin Pharm Ther, 2014, 39(3): 314-318.
- [15] 刘跃平,杨翔,徐含青,等. CYP2C9、VKORC1基因多态性与华法林个体化用药研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(2): 163-168.