

华法林抗凝治疗与 CYP2C9 基因多态性的研究

王东旭

(中国医学科学院/北京协和医学院/国家心血管病中心/阜外医院心内科,北京 100037)

摘要:华法林是一种口服抗凝药物,其可抑制维生素 K 依赖的凝血因子合成,改变血液高凝状态,预防血栓形成,适用于防治血栓栓塞性疾病。华法林稳态剂量受多种遗传和非遗传因素影响,其中遗传因素是影响华法林抗凝效果的最重要因素。CYP2C9 基因的遗传多态性最为丰富,且研究发现,CYP2C9 基因变异对华法林稳态剂量有着重要影响。本文就 CYP2C9 基因对华法林的药物代谢的影响及 CYP2C9 基因多态性在华法林抗凝治疗中的意义作一综述,以期临床上基因指导华法林治疗提供依据。

关键词:华法林;CYP2C9;药物基因组学

中图分类号:R973+.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.02.039

文章编号:1006-1959(2023)02-0176-04

Research in Warfarin Anticoagulant Treatment and Genetic Polymorphisms of CYP2C9

WANG Dong-xu

(Department of Cardiology,Chinese Academy of Medical Sciences/Peking Union Medical College/
National Center for Cardiovascular Diseases/Fuwai Hospital,Beijing 100037,China)

Abstract: Warfarin is an oral anticoagulant drug, which can inhibit the synthesis of vitamin K-dependent coagulation factors, change the hypercoagulable state of blood, prevent thrombosis, and is suitable for the prevention and treatment of thromboembolic diseases. The steady-state dose of warfarin is affected by many genetic and non-genetic factors, among which genetic factors are the most important factors affecting the anticoagulant effect of warfarin. The genetic polymorphism of CYP2C9 gene is the most abundant, and the study found that CYP2C9 gene mutation has an important influence on the steady-state dose of warfarin. This article reviews the effect of CYP2C9 gene on warfarin metabolism and the significance of CYP2C9 gene polymorphism in warfarin anticoagulation therapy, in order to provide a basis for clinical gene guidance of warfarin therapy.

Key words: Warfarin;CYP2C9;Pharmacogenomics

华法林(warfarin)是临床上应用最广泛的口服抗凝药物,虽然近年来新型口服抗凝药(novel oral anticoagulant,NOAC)的临床应用逐渐增加,但华法林因其临床适应证广泛、临床证据更为充分,且价格低廉、易于拮抗,仍是治疗和预防多种疾病血栓事件的一线药物^[1-3]。与此同时,华法林也有较多缺点,如治疗窗窄、剂量个体差异大、抗凝效果受到基因、药物、饮食等多种因素影响,使得患者需在治疗期间频繁抽血以监测国际标准化比值(international normalized ratio,INR)^[4,5]。在世界范围内,华法林是导致患者因药物不良事件而入院治疗的主要原因之一^[6,7]。据估计^[8],每年每 100 例接受华法林抗凝治疗的患者中会发生 8 起不良出血事件。因此,如何快速、准确地确定患者的华法林剂量需求,将 INR 控制在

目标范围内,减少出血风险,是华法林抗凝治疗的关键。遗传因素是华法林抗凝效果的最重要影响因素^[5,9]。携带不同基因型的患者对华法林敏感性不同。CYP2C9、VKORC1、CYP4F2 是华法林重要的遗传多态性^[10-13]。其中,CYP2C9 基因的遗传多态性最为丰富。CYP2C9*2 和 CYP2C9*3 是研究最多的 CYP2C9 等位基因变异,但其在我国汉族人群中相对少见,然而近年来发现了多种罕见 CYP2C9 变异^[14-16],这些变异对患者的华法林稳态剂量可能有着重要影响。本文在当前 CYP2C9 基因多态性研究成果的基础上,就 CYP2C9 基因对华法林的药物代谢的影响及 CYP2C9 基因多态性在华法林抗凝治疗中的意义进行综述,以期患者的华法林给药剂量提供参考。

1 CYP2C9 基因对华法林的药物代谢的影响

CYP2C9 酶是细胞色素 P450 超家族中最重要的成员之一,其可以羟基化多种不同性质的药物,参与临床上约 16%的药物代谢(如双氯芬酸、华法林、氯沙坦、甲苯磺丁脲等)^[17]。华法林是由 R 和 S 两种

作者简介:王东旭(1994.5-),男,黑龙江哈尔滨人,博士,住院医师,主要从事心律失常的诊治研究

构型的对映体混合成的外消旋体,两种对映体均经由肝脏代谢。S-对映体在人体内的药理活性为 R-对映体的 3~5 倍,且 80%~85% 的 S-华法林通过 CYP2C9 酶代谢为 6-羟基华法林和 7-羟基华法林^[12]。CYP2C9 基因具有丰富的遗传多态性,在药物代谢方面,不同等位基因变异所产生酶的代谢活性也存在明显差异^[18],这可能会影响患者所需药物的剂量水平。由此可见,编码 CYP2C9 酶的 CYP2C9 基因是华法林代谢过程中重要的基因多态性,与抗凝治疗中患者的华法林稳态剂量的个体差异密切相关。

2 CYP2C9 基因多态性在华法林抗凝治疗中的意义

2.1 常见 CYP2C9 基因变异对华法林抗凝治疗的影响 到目前为止,药物基因变异(pharmacogene variation, PharmVar)联盟已命名了超过 70 种 CYP2C9 等位基因变异(www.pharmvar.org/gene/CYP2C9)。各种 CYP2C9 等位基因在不同种族中的频率分布有着显著区别^[10]。CYP2C9*2 和 CYP2C9*3 是最常被研究的 CYP2C9 等位基因变异,这两种等位基因在欧洲人群中最为常见,基因频率分别为 10%~13% 和 7%,其次为拉美人群,等位基因频率分别为 7% 和 4%,但其在亚洲和非洲人群中相对罕见;在非洲人群中,CYP2C9*2 占比约为 2%,而 CYP2C9*3 较为罕见(<1%);CYP2C9*3 是亚洲人群中最常见的等位基因,基因频率约为 4%,但在亚洲人群中,CYP2C9*2 几乎不存在^[10,17]。体外研究发现^[19],当以 S-华法林为底物时,CYP2C9*2 和 CYP2C9*3 分别可将酶代谢活性降低 30%~40% 和 80%~90%。与野生型相比,CYP2C9*1/*2、*1/*3、*2/*2、*2/*3 和 *3/*3 的患者所需的华法林剂量分别应下调 19.6%、33.7%、36.0%、56.7% 和 78.1%^[20]。CYP2C9*2 和 *3 变异携带者在华法林治疗过程中过度抗凝(INR \geq 4)和出血风险更高,通常需要较低的剂量以达到相似的抗凝水平^[20]。相比于 CYP2C9*1/*1,CYP2C9*1/*2 和 CYP2C9*1/*3 基因型携带者的出血风险分别增加 91% 和 77%。在不同研究中,这两种等位基因变异可以解释 5%~12% 的个体间剂量变异性,略低于 VKORC1 基因的预测能力^[9,10]。然而,相比于 VKORC1 基因,CYP2C9 变异基因常提示着更高的出血风险,可能由于 CYP2C9 变异与患者对华法林的敏感性有关^[17]。

2.2 罕见 CYP2C9 变异对华法林抗凝治疗的影响 由于等位基因 CYP2C9*2 和 *3 在非洲和亚洲人群中较为罕见,仅检测这两种 CYP2C9 等位基因不能充分说明 CYP2C9 基因多态性的影响,也不能很好地预测非洲和亚洲患者的华法林剂量需求。因此,近年来除了 *2 和 *3 以外的罕见 CYP2C9 等位基因变异也逐渐受到重视。研究表明^[21,22],CYP2C9*5、CYP2C9*6、CYP2C9*8 和 CYP2C9*11 是非洲人群中罕见的 CYP2C9 变异。在体外试验中,这些基因突变可以降低 60~80% 的对 S-华法林的代谢活性。Cavallari LH 等^[23]研究发现,CYP2C9*5、*6、*8 和 *11 等位基因携带者的华法林维持剂量明显低于野生型。如果在剂量预测模型中加入这些罕见 CYP2C9 等位基因,能够多解释 6% 的患者间剂量需求变化。因此,在决定非洲裔患者的华法林用药剂量时,如果未能测序这些 CYP2C9 等位基因变异,将会导致多数患者服用药物过量,增加出血风险。基于以上证据,2017 年发布的临床药物遗传学实施联盟(Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, CPIC)指南建议,对于携带 CYP2C9*5、*6、*8 或 *11 这些罕见等位基因的患者,应下调 15%~30% 的华法林给药剂量,对于携带两个等位基因变异的患者,则需要降低更多的剂量(20%~40%)^[17]。

相比之下,关于其他罕见 CYP2C9 变异对华法林稳态剂量影响的研究相对较少,这些突变仅见于病例报道,尚缺乏系统性的研究。O'Brien TJ 等^[24]的一项研究中首次报道了 CYP2C9*12 等位基因携带者的华法林剂量水平,该研究中发现了 4 名欧洲裔杂合突变携带者,这些患者的平均华法林日剂量较野生型降低约 30%。Kim HS 等^[25]在对韩国患者的研究中发现,罕见等位基因 CYP2C9*13 和 CYP2C9*14 可以导致患者 INR 达标的时间延长,华法林稳态剂量降低。CYP2C9*14 携带者的低稳态剂量水平也在 1 例印度裔患者的研究中得到了证实^[26]。Ciccacci C 等^[27]通过对 1 例极低剂量(0.32 mg/d)的意大利患者 CYP2C9 基因测序分析发现了等位基因 CYP2C9*35,该突变与有着 CYP2C9*14 相同位点的氨基酸改变,可能预示着相似缺陷的代谢表型。在 2021 年发表的针对南亚人群的研究中,Nizamuddin S 等^[16]使用 SIFT 和 Polyphen 软件预测罕见 CYP2C9 变异的功能,结果发现大多数变异会

导致 CYP2C9 酶代谢活性显著降低;且进一步的三维结构分析表明,罕见变异会导致 CYP2C9 酶的空间构型稳定性及其与底物结合力降低,这与各项研究中相关罕见变异携带者的华法林剂量水平较低的结果相吻合。

2.3 我国汉族人群 CYP2C9 基因多态性对华法林抗凝治疗的影响 近年来,在我国汉族人群中开展了一系列大型研究,试图探究除 CYP2C9*2 和 *3 之外的罕见 CYP2C9 等位基因的分布特征。在 2014 年, Dai DP 等^[14]对 2127 名我国汉族健康受试者 CYP2C9 基因的所有外显子、外显子-内含子连接区和启动子区进行了直接测序分析,发现了 35 种 CYP2C9 等位基因变异,其中包括 14 种既往报道过的等位基因,以及 21 种新的等位基因(CYP2C9*36~*56),建立了我国汉族人群中最大规模的 CYP2C9 等位基因数据库。在该研究中,常见变异 CYP2C9*2、*3 的等位基因频率分别为 0.14% 和 2.94%,而罕见 CYP2C9 等位基因的总频率则达到了 2.44%。以上研究结果表明,我国汉族人群存在着丰富的 CYP2C9 基因多态性,非 *2 和 *3 的 CYP2C9 等位基因变异并不少见。而罕见变异往往伴随着 CYP2C9 基因华法林代谢活性的减低。Ji Y 等^[28]研究表明,在以甲苯磺丁脲为底物的条件下,31 种突变的内在清除率明显低于野生型;而当以氯沙坦为底物时,33 种突变也表现出了较低的内在清除率。在体内研究方面,Hu GX 等^[29]通过测定受试者血浆和尿液中甲苯磺丁脲及其代谢产物的浓度水平来评价 13 种 CYP2C9 突变蛋白的体内催化活性,结果发现其中 9 种等位基因变异可导致体内酶的代谢活性下降。Chen H 等^[15]在 2 例服用低维持剂量的华法林汉族患者测序中发现了等位基因 CYP2C9*60 和 *62,并进行了相应的体外和体内功能学研究,结果显示这两种新突变在体外和体内均能使 CYP2C9 酶的活性显著降低,实现了从体外和体内功能缺陷到低华法林稳态剂量的联系。Wang D 等^[30]研究也得出, CYP2C9*13、*16 和 *60 与我国患者较低的华法林稳定剂量相关。Wang F 等^[31]研究表明,在我国人群中使用遗传信息指导华法林给药剂量有助于改善华法林抗凝治疗的有效性和安全性。然而在使用基因型指导患者的华法林给药剂量时,仍有约 40% 的个体间华法林剂量差异无法被现有研究结果所解

释^[9],考虑因为罕见 CYP2C9 变异可能在其中起到一定作用。Wang D 等^[30]在我国汉族患者中将多种罕见 CYP2C9 等位基因作为遗传变量,纳入华法林稳态剂量预测模型,研究表明纳入罕见 CYP2C9 等位基因可以提升 3.7% 的华法林给药算法的预测能力,说明检测罕见 CYP2C9 基因突变在提升对患者华法林给药剂量预测能力方面有着重要作用。

3 总结与展望

CYP2C9 基因存在着丰富的遗传多态性,不同种族间 CYP2C9 等位基因分布存在着明显的差异。近年来对除 CYP2C9*2 和 *3 以外的罕见 CYP2C9 等位基因变异的关注逐渐增加。在我国汉族人群中发现了多种罕见 CYP2C9 变异,且一系列体内和体外研究表明,这些等位基因变异往往与酶代谢活性明显下降相关,这可能会对许多患者的华法林稳态剂量水平产生重要影响。虽然罕见等位基因的频率相对较少,但考虑到我国汉族人口规模,探究罕见 CYP2C9 等位基因变异的分布特征及其对华法林稳态剂量的影响对指导患者精准化、个体化抗凝治疗有着重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Li X, Li D, Wu JC, et al. Precision dosing of warfarin: open questions and strategies[J]. *Pharmacogenomics J*, 2019, 19(3): 219-229.
- [2] Catterall F, Ames PR, Isles C. Warfarin in patients with mechanical heart valves[J]. *BMJ*, 2020, 371: m3956.
- [3] Bai Y, Deng H, Shantsila A, et al. Rivaroxaban Versus Dabigatran or Warfarin in Real-World Studies of Stroke Prevention in Atrial Fibrillation: Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Stroke*, 2017, 48(4): 970-976.
- [4] Tan CSS, Lee SWH. Warfarin and food, herbal or dietary supplement interactions: A systematic review[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, 87(2): 352-374.
- [5] Ruff CT. Pharmacogenetics of Warfarin Therapy[J]. *Clin Chem*, 2018, 64(11): 1558-1559.
- [6] Arwood MJ, Deng J, Drozda K, et al. Anticoagulation endpoints with clinical implementation of warfarin pharmacogenetic dosing in a real-world setting: A proposal for a new pharmacogenetic dosing approach[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2017, 101(5): 675-683.
- [7] Gage BF, Bass AR, Lin H, et al. Effect of Genotype-Guided Warfarin Dosing on Clinical Events and Anticoagulation Control Among Patients Undergoing Hip or Knee Arthroplasty: The GIFT Randomized Clinical Trial[J]. *JAMA*, 2017, 318(12): 1115-

1124.

[8]Budnitz DS,Lovegrove MC,Shehab N,et al.Emergency hospitalizations for adverse drug events in older Americans[J].N Engl J Med,2011,365(21):2002–2012.

[9]Asiimwe IG,Zhang EJ,Osanlou R,et al.Warfarin dosing algorithms:A systematic review [J].Br J Clin Pharmacol,2021,87(4):1717–1729.

[10]Kaye JB,Schultz LE,Steiner HE,et al.Warfarin Pharmacogenomics in Diverse Populations [J].Pharmacotherapy,2017,37(9):1150–1163.

[11]Tang W,Shi QP,Ding F,et al.Impact of VKORC1 gene polymorphisms on warfarin maintenance dosage:A novel systematic review and meta-analysis of 53 studies [J].Int J Clin Pharmacol Ther,2017,55(4):304–321.

[12]Waring RH.Cytochrome P450:genotype to phenotype [J].Xenobiotica,2020,50(1):9–18.

[13]Takeuchi M,Kobayashi T,Biss T,et al.CYP2C9,VKORC1, and CYP4F2 polymorphisms and pediatric warfarin maintenance dose:a systematic review and meta-analysis[J].Pharmacogenomics J,2020,20(2):306–319.

[14]Dai DP,Xu RA,Hu LM,et al.CYP2C9 polymorphism analysis in Han Chinese populations:building the largest allele frequency database[J].Pharmacogenomics J,2014,14(1):85–92.

[15]Chen H,Dai DP,Zhou S,et al.An identification and functional evaluation of a novel CYP2C9 variant CYP2C9*62 [J].Chem Biol Interact,2020,327:109168.

[16]Nizamuddin S,Dubey S,Singh S,et al.CYP2C9 Variations and Their Pharmacogenetic Implications Among Diverse South Asian Populations [J].Pharmacogenomics Pers Med,2021,14:135–147.

[17]Johnson JA,Caudle KE,Gong L,et al.Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Pharmacogenetics –Guided Warfarin Dosing:2017 Update [J].Clin Pharmacol Ther,2017,102(3):397–404.

[18]Kumondai M,Ito A,Gutiérrez Rico EM,et al.Functional Assessment of 12 Rare Allelic CYP2C9 Variants Identified in a Population of 4773 Japanese Individuals [J].J Pers Med,2021,11(2):94.

[19]Sridharan K,Sivaramakrishnan G.A network meta-analysis of CYP2C9,CYP2C9 with VKORC1 and CYP2C9 with VKORC1 and CYP4F2 genotype –based warfarin dosing strategies compared to traditional [J].J Clin Pharm Ther,2021,46(3):640–648.

[20]Lindh JD,Holm L,Andersson ML,et al.Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements—a systematic review and meta-analysis[J].Eur J Clin Pharmacol,2009,65(4):365–375.

[21]Asiimwe IG,Zhang EJ,Osanlou R,et al.Genetic Factors Influencing Warfarin Dose in Black–African Patients:A Systematic Review and Meta-Analysis[J].Clin Pharmacol Ther,2020,107(6):1420–1433.

[22]Lindley KJ,Lindi NA,Cavallari LH,et al.Warfarin Dosing in Patients With CYP2C9*5 Variant Alleles [J].Clin Pharmacol Ther,2022,111(4):950–955.

[23]Cavallari LH,Langaee TY,Momary KM,et al.Genetic and clinical predictors of warfarin dose requirements in African Americans[J].Clin Pharmacol Ther,2010,87(4):459–464.

[24]O'Brien TJ,Kidd RS,Richard CA,et al.First report of warfarin dose requirements in patients possessing the CYP2C9*12 allele[J].Clin Chim Acta,2013,424:73–75.

[25]Kim HS,Lee SS,Oh M,et al.Effect of CYP2C9 and VKORC1 genotypes on early-phase and steady-state warfarin dosing in Korean patients with mechanical heart valve replacement[J].Pharmacogenet Genomics,2009,19(2):103–112.

[26]Lee YM,Eggen J,Soni V,et al.Warfarin dose requirements in a patient with the CYP2C9*14 allele [J].Pharmacogenomics,2014,15(7):909–914.

[27]Ciccacci C,Falconi M,Paolillo N,et al.Characterization of a novel CYP2C9 gene mutation and structural bioinformatic protein analysis in a warfarin hypersensitive patient [J].Pharmacogenet Genomics,2011,21(6):344–346.

[28]Ji Y,Chen S,Zhao L,et al.In vitro assessment of 39 CYP2C9 variants found in the Chinese population on the metabolism of the model substrate fluoxetine and a summary of their effects on other substrates[J].J Clin Pharm Ther,2015,40(3):320–327.

[29]Hu GX,Pan PP,Wang ZS,et al.In vitro and in vivo characterization of 13 CYP2C9 allelic variants found in Chinese Han population[J].Drug Metab Dispos,2015,43(4):561–569.

[30]Wang D,Dai DP,Wu H,et al.Effects of rare CYP2C9 alleles on stable warfarin doses in Chinese Han patients with atrial fibrillation[J].Pharmacogenomics,2020,21(14):1021–1031.

[31]Wang F,Guo J,Zhang A.Efficacy and Safety of Genotype –Guided Warfarin Dosing in the Chinese Population:A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials [J].J Cardiovasc Pharmacol,2019,73(3):127–135.

收稿日期:2022-03-25;修回日期:2022-04-08

编辑/杜帆