

论著·基础研究

CYP2C19 基因多态性与丙戊酸血药浓度相关性及其个体化用药研究*

朱中梁¹, 汪宏良^{1△}, 曹雄彬², 尹贵斌¹

(鄂东医疗集团黄石市中心医院/湖北理工学院附属医院:1. 医学检验科;2. 神经内科, 湖北黄石 435000)

摘要:目的 观察分析 CYP2C19 基因多态性与癫痫患者丙戊酸血药浓度的个体差异, 并为临床个体化用药提供参考依据。方法 选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月于该院就诊的癫痫患者 148 例, 采用实时荧光聚合酶链反应(PCR)技术检测 148 例患者的 CYP2C19 基因分型, 同时给予丙戊酸治疗, 分析 CYP2C19 基因多态性与丙戊酸血药浓度的相关性。结果 不同 CYP2C19 基因型的癫痫患者丙戊酸血药浓度存在很大的个体差异, 其中 148 例癫痫患者等位基因和基因型分布频率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); CYP2C19 * 2 位点的 AA 基因型服药 2、4、8 h 后丙戊酸血药浓度水平显著高于 CYP2C19 * 2 位点 GG 基因型, 差异有统计学意义($P<0.05$); CYP2C19 * 3 位点 AA 基因型服药 8 h 后丙戊酸血药浓度水平显著高于 8 h 后丙戊酸血药浓度水平 CYP2C19 * 3 位点 GG 基因型, 差异有统计学意义($P<0.05$); 其他基因型丙戊酸血药浓度水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 癫痫患者的 CYP2C19 基因具有多态性, 且与服用丙戊酸治疗的癫痫患者血液浓度具有相关性。因此, 在采用丙戊酸治疗癫痫患者时, 可检测患者 CYP2C19 基因分型, 以指导癫痫患者的临床个体化治疗。

关键词: CYP2C19; 基因多态性; 丙戊酸; 癫痫**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.01.004**中图法分类号:** R973.28**文章编号:** 1673-4130(2018)01-0014-03**文献标识码:** A**Study on correlation between CYP2C19 gene polymorphism with serum valproic acid concentration and individualized medication***ZHU Zhongliang¹, WANG Hongliang^{1△}, CAO Xiongb², YIN Guibin¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Neurology, Huangshi Municipal Central Hospital of Edong Medical Group/Affiliated Hospital, Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei 435000, China)

Abstract: Objective To observe and analyze the difference of CYP2C19 gene polymorphism and serum valproic acid concentration in the patients with epilepsy to provide reference for clinical individualized medication. **Methods** A total of 148 patients with epilepsy in the hospital from January 2015 to December 2016 were selected and their CYP2C19 genotypes were detected by adopting the real-time fluorescence polymerase chain reaction, meanwhile the cases were given the valproic acid treatment. Then the correlation between CYP2C19 gene polymorphism and serum valproic acid concentration was analyzed. **Results** There was great individual differences in serum valproic acid concentration difference among CYP2C19 genotypes, in which the alleles and genotypes distribution frequency had no statistically significant difference among 148 cases of epilepsy ($P>0.05$); Serum valproic acid concentrations at 2, 4, 8 h after medication in the patients with AA genotype at CYP2C19 * 2 locus were significantly higher than those in the patients with GG genotype at CYP2C19 * 2 locus, the difference was statistically significant ($P<0.05$); Serum valproic acid concentrations at 8 h after medication in the patients with AA genotype at CYP2C19 * 3 was significantly higher than that in the patients with GG genotype at CYP2C19 * 3 locus, the difference was statistically significant ($P<0.05$); Serum valproic acid concentration had no statistically significant difference among other genotypes ($P>0.05$). **Conclusion** The CYP2C19 gene in the patients with epilepsy has polymorphism, moreover which is correlated with the patient's blood concentration of vaproic acid. Therefore, treating the patients with epilepsy by using valproic acid can detect the CYP2C19 genotyping in the patients in order to guide their individualized treatment.

* 基金项目: 湖北省黄石市卫生和计划生育委员会基金资助项目(2013015)。

作者简介: 朱中梁, 男, 副主任技师, 主要从事分子生物学检验与遗传学检验研究。△ 通信作者, E-mail: 3057521810@qq.com。

本文引用格式: 朱中梁, 汪宏良, 曹雄彬, 等. CYP2C19 基因多态性与丙戊酸血药浓度相关性及其个体化用药研究[J]. 国际检验医学杂志,

Key words:CYP2C19; gene polymorphism; valproic acid; epilepsy

癫痫俗称为“羊角风”，是由于大脑神经元同步化异常放电引起的慢性反复发作性短暂脑功能障碍的一种慢性疾病，是临床上常见的神经系统疾病之一，具有发作性、短暂性、重复性、刻板性的特点，患病率较高，仅次于脑卒中，临床上多采用抗癫痫药物治疗^[1]。丙戊酸是一种不含氮的广谱抗癫痫药物，但丙戊酸血药浓度在不同个体之间的治疗效果差异较大。且有研究表明，CYP2C19 基因多态性对癫痫患者丙戊酸血药浓度的影响较大，从而对治疗效果产生影响^[2]。因此，本研究对 CYP2C19 基因多态性与癫痫患者丙戊酸血药浓度的个体差异进行观察分析，以期 为 临 床 治 疗 提 供 参 考 依 据，现 报 道 如 下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月于本院就诊的癫痫患者 148 例作为研究对象，其中男 82 例，女 66 例，年龄 6 个月至 52 岁，平均年龄(23.17±2.44)岁；平均体质量(35.76±7.22)kg。纳入标准：所有患者均经过检查符合癫痫的诊断标准，均为汉族，且无血缘关系，均单独采用丙戊酸抗癫痫治疗；本研究征得院医学伦理委员会及患者的同意，并与患者签署知情同意书。排除标准：癫痫家族史、精神疾病、意识障碍、肝肾功能异常等患者。

1.2 CYP2C19 基因分型检测方法 采集癫痫患者静脉血液 1 mL，采用乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)抗凝并提取 DNA，同步处理阴阳对照品，试剂自带内标以评估整个提取及检测流程的效率。实验方法为实时荧光 PCR 技术，仪器为 ABI 公司提供 ABI 7500 基因扩增仪，试剂采用苏州旷远公司的 CYP2C19 实时荧光检测试剂盒。扩增条件为反应体系 25 μL、扩增液与反应液共 20 μL、DNA 模板 5 μL，95 ℃预变性 5 min、94 ℃变性 20 s、53 ℃退火 30 s、72 ℃延伸 30 s（此步骤末端检测荧光）、40 个循环，72 ℃延伸 5 min。扩增完毕，通过仪器的分析实验所得的荧光曲线，得

出各患者的基因型别。

1.3 丙戊酸血药浓度检测方法 在癫痫患者服用丙戊酸 3 d 后，丙戊酸血药浓度达到稳定时，在第 4 天服药后 2、4、8 h 采集患者的静脉血液 4 mL，EDTA 抗凝，于 3 000 r/min 离心机中离心 20 min，采取上清液 100 μL，采用美国 Abbott 公司提供的 TDxFLx 荧光偏振免疫测定仪及配套试剂盒测定丙戊酸血药浓度。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 进行统计学分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较行 *t* 检验，计数资料用“%”表示，组间比较行 χ^2 检验，行 Hardy-Weinberg 定律吻合度检验，检验个等位基因频率是否符合遗传学规律，*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CYP2C19 基因分型 CYP2C19 * 2 分型为 GG 基因型(120、49 bp 2 条片段)、GA 基因型(169、120、49 bp 3 条片段)、AA 基因型(169 bp 1 条片段)。CYP2C19 * 3 分型为 GG 基因型(137、96 bp 2 条片段)、GA 基因型(233、137、96 bp 3 条片段)、AA 基因型(233 bp 1 条片段)。

2.2 癫痫患者等位基因与基因型分布 148 例癫痫患者体内 CYP2C19 基因分型分布频率比较，差异无统计学意义(*P* > 0.05)，且符合 Hardy-Weinberg 平衡定律检验，见表 1。

2.3 CYP2C19 基因型对癫痫患者丙戊酸血药浓度的影响 CYP2C19 * 2 位点的 AA 基因型服药 2、4、8 h 后丙戊酸血药浓度水平显著高于 CYP2C19 * 2 位点 GG 基因型，差异有统计学意义(*P* < 0.05)；CYP2C19 * 3 位点 AA 基因型服药 8 h 后丙戊酸血药浓度水平显著高于 CYP2C19 * 3 位点 GG 基因型服药 8 h 后丙戊酸血药浓度水平，差异有统计学意义(*P* < 0.05)；其他基因型丙戊酸血药浓度水平比较，差异无统计学意义(*P* > 0.05)，见表 2。

表 1 癫痫患者等位基因与基因型分布[n(%)]

单核苷酸多态性(SNP)	基因型频率			等位基因频率	
	GG	GA	AA	G(*1)	A(*3)
CYP2C19 * 2	66(44.59)	52(35.14)	30(20.27)	93(62.84)	55(37.16)
CYP2C19 * 3	117(79.05)	20(13.51)	11(7.43)	127(85.81)	21(14.19)

表 2 CYP2C19 基因型对癫痫患者丙戊酸血药浓度的影响($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$)

单核苷酸多态性	基因型频率	2 h	4 h	8 h
CYP2C19 * 2	GG	57.24±16.44	52.77±16.78	47.74±13.22
	GA	65.13±17.62	58.72±17.67	49.56±12.78
	AA	77.24±18.39*	68.73±17.69*	58.62±13.74*
CYP2C19 * 3	GG	55.74±13.34	44.61±14.81	38.62±11.27
	GA	57.33±14.83	48.72±15.33	41.13±12.05
	AA	74.66±17.82	52.91±16.71	48.75±12.14*

注：与同位点 GG 基因型比较，* *P* < 0.05

3 讨 论

丙戊酸是临床上常用的治疗癫痫的一种药物,其抗癫痫谱广,是原发性大发作与失神小发作的首选抗癫痫药物,能够增加癫痫患者的氨基丁酸合成,减少氨基丁酸的降解,从而达到抑制性神经递质 γ -氨基丁酸的浓度,从而降低神经元的兴奋性,抑制癫痫发作,具有治疗效果良好,价格低廉的优点^[3-4]。但由于采用丙戊酸治疗癫痫后,患者体内的血药浓度及药动学个体差异性较大,且长期服用丙戊酸会损伤癫痫患者的消化系统、血液系统及肝脏,严重者甚至会出现致死性肝坏死^[5]。有研究表明,丙戊酸主要经过 CYP2C19 代谢,这会导致其活性存在显著的个体差异,这为研究丙戊酸个体化应用提供了参考意见^[6-7]。CYP2C19 具有很多单核苷酸多态性位点,在人类细胞色素 P450 等位基因命名法委员会有详尽的总结。最常见的是 CYP2C19 * 2 和 CYP2C19 * 3。CYP2C19 * 2 会导致转录蛋白的剪切突变失活,而 CYP2C19 * 3 能构成一个终止子,破坏转录蛋白的活性^[8]。CYP2C19 具有药物代谢作用,其活性与基因多态性、药物均有关系^[9-10]。

本研究中,不同 CYP2C19 基因型的癫痫患者丙戊酸血药浓度存在很大的个体差异,其中 148 例癫痫患者体内 CYP2C19 基因分型分布频率比较差异无统计学意义($P>0.05$);CYP2C19 * 2 位点的 AA 基因型服药 2、4、8 h 后丙戊酸血药浓度水平显著高于 CYP2C19 * 2 位点 GG 基因型,差异有统计学意义($P<0.05$);CYP2C19 * 3 位点 AA 基因型服药 8 h 后丙戊酸血药浓度水平显著高于 CYP2C19 * 3 位点 GG 基因型服药 8 h 后丙戊酸血药浓度水平,差异有统计学意义($P<0.05$)^[11-12];其他基因型丙戊酸血药浓度水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。研究结果表明,CYP2C19 * 2 基因多态性存在与癫痫患者丙戊酸血药浓度密切相关,其最终影响癫痫患者的治疗效果,这与一些研究报道结果一致^[13-14]。因此,在采用丙戊酸治疗癫痫时,对于代谢快的 CYP2C19 * 2/* 3GG 基因型患者应提高给药剂量,对于 CYP2C19 * 2/* 3AA 基因型患者可适当减少给药剂量^[15]。

综上所述,癫痫患者的 CYP2C19 基因具有多态性,且与服用丙戊酸治疗的癫痫患者血液浓度具有相关性。因此,在采用丙戊酸治疗癫痫患者时,可检测患者 CYP2C19 基因分型,根据基因多态性以指导癫痫患者的临床个体化治疗,通过选择药物和调整剂量达到疗效最大、不良反应最少及费用最低的效果。

参考文献

[1] 廖清船,史菁菁,张永,等. 细胞色素 P450 酶 2A6、2B6、

2C9 及 2C19 基因多态性对丙戊酸钠血药浓度的影响[J]. 中华神经科杂志,2013,46(2):82-86.

[2] 谭喜莹,张宇,王淑云,等. CYP2C9 与 CYP2C19 基因多态性与癫痫患者丙戊酸血药浓度关系研究[J]. 药学与临床研究,2011,19(2):123-126.

[3] 韩瑞玲,李艳,吴薇,等. 癫痫患者 CYP2C19 基因多态性对丙戊酸钠血药浓度的影响[J]. 神经损伤与功能重建,2015,21(4):295-297.

[4] 冯亚娟,周建华,刘科兰,等. 丙戊酸代谢相关 CYP2C19 基因多态性在癫痫患儿体内的分布及治疗个体化研究[J]. 中国实用神经疾病杂志,2015,20(5):49-52.

[5] 刘强. CYP2C19 基因多态性对癫痫患儿丙戊酸的药浓度和临床疗效的影响[J]. 中外健康文摘,2013,32(21):198-199.

[6] 陈建平,林裕龙. CYP2C19 基因多态性对老年精神科患者血药浓度的影响[J]. 中国老年学杂志,2016,36(22):5706-5707.

[7] ZHANG Y, LI W, YAN T, et al. Early detection of lesions of dorsal artery of foot in patients with type 2 diabetes mellitus by high-frequency ultrasonography[J]. J Tech Med Sci, 2011, 29(3):387-390.

[8] FOLEY R N, PARFREY P S, SARNAK M J. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 9(12):16-23.

[9] MALYSZKO J. Mechanism of endothelial dysfunction in chronic kidney disease[J]. Clin Chim Acta, 2010, 41(19/20):1412-1420.

[10] IZUMI S, MUANO T, MORI A, et al. Common carotid artery stiffness, cardiovascular function and lipid metabolism after menopause[J]. Life Sci, 2012, 78(15):1696-1701.

[11] KODITHUW S P, PANG R T. Decoction in treating phlegm blocking collateral type stroke sequela in 50 cases[J]. Labor Invest, 2013, 31(1):121-123.

[12] CHEUNG NY. Law treatment of acute period of stroke: clinical observation of 98 cases[J]. Labor Invest, 2014, 32(8):21.

[13] HOEGH A, LINDHOLT J S. Vascular dis-tensibility as a predictive tool in the management of small asymptomatic abdominal aortic aneurysms[J]. Vasc Endovascular Surg, 2013, 43(4):333-338.

[14] SHINGU Y, SHIYA N, JOOKA T, et al. Augmentation index is elevated in aortic aneurysm and dissection[J]. Ann Thorac Surg, 2014, 87(5):1373-1377.

[15] VARADY E, FEHER E, LEVAI A, et al. Estimation of vessel age and early diagnose of atherosclerosis in progeria syndrome by using echo-tracking[J]. Clin Hemorheol Micro, 2014, 44(4):297-301.