

基因多态性指导华法林给药临床研究

李爱桂¹, 吴婷婷^{2,3}, 陈文君^{2,3}, 夏霄彤^{2,3}, 傅静兰^{2,3}, 张进华^{2,3*} (1.福建宁德市医院, 福建 宁德 352100; 2.福建医科大学附属协和医院药理学部, 福州 350001; 3.福建医科大学药学院, 福州 350108)

摘要: 目的 观察基因多态性指导静脉血栓患者华法林个体化给药方案的临床疗效和安全性。方法 采用前瞻性的队列研究方法, 分别建立基因给药组和固定剂量组 2 个队列。基因给药组病例的华法林初始剂量根据该患者华法林相关基因多态性检测结果, 采用 IWPC 模型制定华法林初始给药方案; 固定剂量组初始给药方案为华法林 3 mg·d⁻¹。收集入组病例病理生理指标, 并随访 3 个月。比较 2 组病例的临床疗效和不良反应的发生情况。结果 基因给药组华法林治疗后达到目标国际标准化比值(international standardization ratio, INR)的时间[(5.65±2.30)d]比固定剂量组[(8.51±3.97)d]快($P<0.001$)。使用华法林 2 周及 4 周后基因给药组时间百分比(time in therapeutic range, TTR)分别达到 73.00%和 78.26%, 显著高于固定剂量组[TTR 百分比值分别为 58.11% ($P=0.001$)和 64.67% ($P<0.001$)]；但 4 周后 TTR 在 2 组之间的差异不具有统计学意义。基因给药组小出血事件发生率比固定剂量组少($P<0.05$), 但异常 INR 值($INR\geq 4.0$)以及主要的出血事件差异无统计学意义。结论 基因给药组华法林的临床疗效优于固定剂量组, 同时小出血事件发生率较固定剂量组少。

关键词: 基因; 静脉血栓; 华法林; 个体化给药

中图分类号: R969.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2020)17-2129-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.17.015

引用本文: 李爱桂, 吴婷婷, 陈文君, 等. 基因多态性指导华法林给药临床研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(17): 2129-2132.

Gene Polymorphism Guided the Clinical Study of Warfarin Administration

LI Aigui¹, WU Tingting^{2,3}, CHEN Wenjun^{2,3}, XIA Xiaotong^{2,3}, FU Jinglan^{2,3}, ZHANG Jinhua^{2,3*} (1.Fujian Ningde Municipal Hospital, Ningde 352100, China; 2.Department of Pharmacy, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou 350001, China; 3.College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the clinical efficacy and safety of gene polymorphism guiding the individualized administration of warfarin in patients with venous thrombosis. **METHODS** A prospective cohort study was conducted to establish two cohorts, the genotyped guided group and fixed dose group. The initial warfarin dose of the patients in the genotyped guided group was based on the results of warfarin-related gene polymorphism detection, and IWPC model was used to formulate initial warfarin administration plan. The initial warfarin dose of the fixed dose group was 3 mg·d⁻¹. Pathophysiological parameters of the enrolled patients were collected and a three-months follow-up was carried out. The clinical efficacy and adverse reactions were compared between the two groups. **RESULTS** The time to reach the target international standardization ratio(INR) after warfarin treatment in the gene administration group[(5.65±2.30)d] was faster than that in the fixed dose group[(8.51±3.97)d] ($P<0.001$). After 2 weeks and 4 weeks of warfarin use, the time in therapeutic range(TTR) of the gene administration group reached 73.00% and 78.26%, respectively, significantly higher than that of the fixed dose group(TTR 58.11% and 64.67%) ($P=0.001$, $P<0.001$). However, the difference of TTR after 4 weeks between the two groups was not statistically significant. The incidence of minor bleeding events in the gene administration group was lower than that in the fixed dose group($P<0.05$), but the differences of major bleeding events and the abnormal INR value($INR\geq 4.0$) were not statistically significant. **CONCLUSION** The clinical efficacy of warfarin in gene administration group is better than that in fixed dose group, and the incidence of small bleeding events was less than that in fixed dose group.

KEYWORDS: gene; venous thrombus; warfarin; individualized drug administration

华法林是临床上常用的口服抗凝剂, 广泛应用于防治血栓性疾病^[1]。但华法林由于治疗窗较窄, 个体差异大, 影响因素多等特点, 容易导致抗凝过度或抗凝不足, 临床上通常应用国际标准化比值(international standardization ratio, INR)来

进行华法林的剂量调整^[2-3]。

研究表明细胞色素 p450 2C9(CYP2C9)和维生素 K 环氧化物还原酶复合物亚基 1(VKORC1)的基因多态性与华法林剂量相关, 此外临床变量, 如年龄、体质量、合并疾病和合并用药也会影响华

基金项目: 福建省科技计划引导性项目(2018Y0037)

作者简介: 李爱桂, 女, 副主任药师

Tel: (0593)2822522

E-mail: 865096510@qq.com

*通信作者: 张进华, 女, 博士, 副主任药师, 副教授, 硕士

Tel: (0591)83357896

E-mail: pollyzhang2006@126.com

法林的剂量^[4-6]。目前,国内外已发表了众多华法林给药剂量的预测模型,预测准确率大多在 40%~60%^[7]。其中,2009 年国际华法林药理学联盟(International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, IWPC)开展研究的样本量最大,所建立的模型应用最为广泛^[7]。但根据基因多态性指导华法林给药的临床应用仍然存在争议^[8]。本研究旨在通过前瞻性的队列研究比较基因给药组与固定剂量组静脉血栓患者华法林临床应用的安全性和有效性。

1 材料、对象和方法

1.1 研究对象

采用前瞻性的队列研究方法,分别建立基因给药组和固定剂量组 2 个队列,非随机入组,纳入 2016 年 1 月—2019 年 3 月初次服用华法林的静脉血栓病例,并随访 3 个月。本研究经福建医科大学附属协和医院伦理委员会批准,伦理审查批件:2016KY036。患者均签署知情同意书。

纳入标准:①诊断为下肢深静脉血栓或肺栓塞患者;②初次服用华法林的患者;③有 *VKORC1* 和 *CYP2C9* 基因多态性检测结果;④服用华法林至少 3 个月。

排除标准:①严重肝功能不全;②严重感染、呼吸衰竭;③严重心力衰竭;④恶性肿瘤;⑤血液疾病;⑥重度肺动脉高压;⑦甲状腺功能异常。

通过电子病历系统、院内门诊及电话随访收集患者病理生理指标及不良反应事件等。① *VKORC1*-1639G>A 和 *CYP2C9**3A>C 基因型;②人口学特征:性别、年龄、身高、体质量等;③每日华法林服用剂量及每次监测的 INR 值;④吸烟史;⑤合并疾病(如高血压、糖尿病、高脂血症、痛风等);⑥合并药物(如胺碘酮、利福平、巴比妥类及唑类抗真菌药物等);⑦血栓和出血不良反应等。

1.2 评价指标

疗效的主要评价指标为第一次达标时间和华法林抗凝治疗达标率。第一次达标时间定义为华法林开始使用之日起至第一个 INR 到达治疗范围内的时间。华法林抗凝治疗的达标率用 INR 在治疗目标范围内的时间百分比(time in therapeutic range, TTR)表示。不良反应的主要评估指标为 INR 异常高值(INR $\geq$ 4.0)、出血和血栓事件。

1.3 基因型检测方法

检测分为 4 个步骤:①DNA 提取:采外周静脉血 2 mL(EDTA 抗凝),用人全血 DNA 提取试剂

盒(上海百傲科技股份有限公司)提取基因组 DNA 并存放在-20℃冰箱中。②PCR 扩增:在 PCR 扩增仪(Veriti Dx 96 Well Thermal Cycler, Life Technologies Holdings Pte Ltd)上扩增 *CYP2C9**2(rs1799853), *CYP2C9**3(rs1057910) 和 *VKORC1*(rs9923231) 3 个位点,分别对应试剂为扩增液 1、扩增液 2、扩增液 3。PCR 反应条件:50℃,5 min 预变性;94℃,5 min 变性;35 个循环(94℃,30 sec;59℃,30 sec;72℃,30 sec);72℃,5 min 延伸。③杂交反应:按照 Baio 杂交显色试剂盒说明书,在全自动杂交仪(Baio e-Hyb, 上海百傲科技股份有限公司)进行杂交反应。④显色反应:PCR 扩增产物经杂交显色反应结束后,取出芯片,将芯片放入生物芯片识读仪中,用 Baio 基因芯片图像分析软件(Baio Array Doctor V2.0, 上海百傲科技股份有限公司)进行图像扫描与数据分析。

1.4 华法林剂量调整方案

固定剂量组:华法林初始剂量 3 mg qd(INR 目标值 2.0~2.5)。基因给药组根据 IWPC 模型推荐剂量 $\times$ 150%作为华法林初始剂量^[9]。基因给药组和固定剂量组 2 个队列初始给药剂量不同,INR 检测及华法林剂量调整方法相同,具体如下:服药第 3 天监测 INR,若 INR<1.8,增加每天 0.75 mg(0.25 片);若 INR 为 1.8~2.7,维持原剂量;若 INR 为 2.7~3.0,减少每天 0.75 mg(0.25 片);若 INR>3.0,暂停用药 1 d,次日复查 INR,若 INR $\leq$ 3.0,减少每天 0.75 mg(0.25 片),重复上述过程;若 INR 仍>3.0,继续暂停用药直至 INR $\leq$ 3.0。在华法林用量不变前提下连续 2 次 INR 维持 2.0~2.5 认为稳定。INR 检测时间:第一次达标后每周 1 次,连续 2 次稳定后可改为 2 周 1 次,之后继续 2 次稳定可改为 1 个月 1 次,最长不超过 1 个月。若华法林剂量需要调整,则恢复到 3~7 d 查血 1 次。并重复上述过程直到剂量再次稳定。

1.5 数据统计与分析

数据用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料用独立样本 *t* 检验比较,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用卡方检验或 Fisher 精确检验比较,结果用率表示。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

研究共纳入研究对象 127 例,其中有 2 例肝

功能异常, 4 例曾经用过华法林, 23 例仅使用华法林几天后换其他口服抗凝药物。最终纳入符合入选标准的病患 98 例, 其中 43 例根据基因多态性检测结果, 采用 IWPC 模型制定华法林给药方案; 55 例采用固定剂量给药方案(华法林 3 mg, qd)。2 组患者的一般资料差异均无统计学意义, 结果见表 1。

表 1 研究对象的临床特点

Tab. 1 Clinical characteristics of the subjects

一般资料	基因给药组 (n=43)	固定剂量组 (n=55)	P 值
年龄/岁	59.88±14.53	56.93±11.26	0.259
男性/%	46.5	43.6	0.776
体表面积/m ²	1.67±0.20	1.63±0.20	0.265
吸烟/%	18.6	12.7	0.423
胺碘酮/%	14.0	10.9	0.648
静脉血栓类型			0.851
肺栓/%	25.6	27.3	
深静脉血栓/%	74.4	72.7	
肺栓合并深静脉血栓/%	0	0	
合并疾病			
高血压/%	20.9	23.6	0.750
糖尿病/%	11.6	14.5	0.673
VKORC1 基因型			0.700
AA/%	74.4	70.9	
AG/%	25.6	29.1	
GG/%	0	0	
CYP2C9 基因型			1.000
*1/*1/%	97.7	96.4	
*1/*3/%	2.3	3.6	
*3/*3/%	0	0	

2.2 疗效评价

基因给药组华法林治疗后达到目标 INR 时间[(5.65±2.30)d]比固定剂量组[(8.51±3.97)d]快, 差异具有统计学意义($P<0.001$)。同时, 使用华法林第 4~14 天期间基因给药组 TTR 达到 73.00%, 显著高于固定剂量组(TTR=58.11%), 差异具有统计学意义($P=0.001$)。使用华法林第 15~28 天期间基因给药组 TTR 达到 78.26%, 显著高于固定剂量组(TTR=64.67%), 差异具有统计学意义($P<0.001$)。使用华法林第 29~56 天期间 2 组的 TTR 差异无统计学意义(59.62% vs 57.90%, $P=0.712$); 第 57~90 天期间 2 组的 TTR 差异也无统计学意义(55.56% vs 54.70%, $P=0.851$)。结果见表 2。

2.3 安全性评价

研究随访期间, 固定剂量组有 4 例患者各发生过 1 次 INR ≥ 4.0 , 1 例患者发生消化道出血, 7

例患者出现小的出血事件(牙龈出血 3 例、皮下紫癜 2 例、月经增多 1 例, 鼻出血 1 例)。基因给药组 1 例患者发生消化道出血, 1 例患者发生过 1 次 INR ≥ 4.0 , 无小出血事件的病例。基因给药组和固定剂量组之间的小出血事件发生率差异具有统计学意义($P<0.05$), 但 INR 异常高值、主要的出血事件差异无统计学意义。结果见表 2。

表 2 疗效和安全性结果

Tab. 2 Efficacy and safety outcomes

项目	基因给药组(n=43)	固定剂量组(n=55)	P 值
达标时间/d	5.65±2.30	8.51±3.97	<0.001
TTR/%(第 4~14 天) ¹⁾	73.00±17.50	58.11±26.71	0.001
TTR/%(第 15~28 天)	78.26±12.87	64.67±22.32	<0.001
TTR/%(第 29~56 天)	59.62±21.58	57.90±24.40	0.712
TTR/%(第 57~90 天)	55.56±22.46	54.70±22.84	0.851
INR ≥ 4.0 /%	2.3	7.3	0.381
大出血/%	2.3	1.8	1.000
小出血/%	0	12.7	0.017

注: ¹⁾INR 在治疗目标范围内的 TTR。

Note: ¹⁾TTR of INR within the treatment target range.

3 讨论

深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)是血液在深静脉内不正常凝结引起的静脉回流障碍性疾病, 常发生于下肢^[8]。血栓脱落可引起肺动脉栓塞(pulmonary embolism, PE), DVT 与 PE 统称为静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE), 是同种疾病在不同阶段的表现形式。抗凝药物治疗是 VTE 的基本治疗措施, 可抑制血栓蔓延、利于血栓自溶和管腔再通, 降低 VTE 发生率和病死率^[10]。华法林是 VTE 长期抗凝治疗的主要口服药物。

基因多态性是影响华法林疗效和出血不良反应的主要因素之一^[3]。2007 年, 美国食品药品监督管理局批准了更新的华法林说明书, 建议要考虑基因多态性对不同患者个体化剂量差异的影响。该说明书于 2010 年再次被更新, 建议在患者服用华法林之前做基因检测, 并且提供了不同基因型组合的华法林初始剂量范围。之后, 众多国家地区建立了华法林给药剂量的预测模型。IWPC 纳入了超过 5 000 例服用华法林患者, 由 9 个国家 21 个研究小组一起完成了模型构建和验证。该模型包括了高加索、非洲、亚洲人群, 应用范围较广。

研究结果显示, 相对于固定剂量组, 基因给

药组达标时间更短,缩短了大约 3 d 的时间,与 Johnson 和 Jin 的研究结果相似^[3,10],但与 Wen 的研究结果不同^[11],Wen 的研究中固定剂量组初始剂量给的是负荷剂量(中国人群, 5 mg·d⁻¹),这有可能是差异的原因之一。服用华法林后较快地达到目标 INR 范围具有以下优点:①达标后 INR 的检测次数可能会减少,从而在减少检测费用的同时提高了生活质量;②华法林治疗初始常与低分子肝素联合使用,达标 24 h 后停低分子肝素,继续华法林治疗。缩短达标的时间可以减少低分子肝素的使用时间,节约医疗费用。研究结果显示,相对于固定剂量组,基因给药组服用华法林 28 d 内的 TTR 值更高,与 Wen 和 Pirmohamed 的研究结果相似^[11-12],但与 Gage 和 Kimmel 的研究结果不同^[13-14]。各个不同的研究之间采用不同的初始剂量、后续剂量调整方案、不同的基因给药模型等可能是差异产生的原因之一。研究表明 TTR>65%才能确保达到应有的抗凝效果^[15],较高的 TTR 有利于改善 VTE 症状,防止血栓扩展从而减少 PE 的发生率和 DVT 的复发率。该研究结果表明基于基因型华法林给药模式有助于提高临床 VTE 抗凝治疗效果,减少小出血发生率,同时也表明 IWPC 模型适合用于 VTE 中国人群确定初始给药剂量。但本研究存在一定的局限性:样本量较少,随访时间较短,单中心研究。因此,期待有多中心的随机对照研究能更好地阐明基因多态性指导静脉血栓患者华法林个体化给药的意义。

REFERENCES

- [1] KEARON C, AKL E A, ORNELAS J, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease: CHEST guideline and expert panel report [J]. *Chest*, 2016, 149(2): 315-352.
- [2] CAO H, WU J, ZHANG J. Outcomes of warfarin therapy managed by pharmacists via hospital anticoagulation clinic versus online anticoagulation clinic [J]. *Int J Clin Pharm*, 2018, 40(5): 1072-1077.
- [3] JOHNSON J A, CAUDLE K E, 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.

- [4] PELLAGATTI T, TERNELLI M, FRASCIO D, et al. Warfarin personalized dosage: Re-compounding for a more suitable therapy and better compliance [J]. *Int J Pharm Compd*, 2017, 21(3): 247-250.
- [5] PI T, XIANG Y Y, XIA H Y, et al. Influence of VKORC1-1639 G/A, CYP2C93* polymorphism on warfarin dose [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2019, 36(20): 2580-2583.
- [6] ZHANG J H, PENG W X, DONG J, et al. Individualized medication of warfarin by quantitative pharmacology [J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2018, 53(19): 1703-1708.
- [7] KIMMEL S E. Warfarin pharmacogenomics: Current best evidence [J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13: S266-S271.
- [8] 李晓强, 张福先, 王深明. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南(第三版)[J]. *中国血管外科杂志(电子版)*, 2017, 9(4): 250-257.
- [9] WEN M S, CHANG K C, LEE T H, et al. Pharmacogenetic dosing of warfarin in the Han-Chinese population: A randomized trial [J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18(3): 245-253.
- [10] JIN H, JIANG F, WEI J, et al. CYP2C9 and VKORC1 genotype-guided individualized warfarin therapy in Chinese patients with acute pulmonary thromboembolism: A randomized controlled clinical study [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2017, 10(3): 5595-5602.
- [11] WEN M S, CHANG K C, LEE T H, et al. Pharmacogenetic dosing of warfarin in the Han-Chinese population: A randomized trial [J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18(3): 245-253.
- [12] PIRMOHAMED M, BURNSIDE G, ERIKSSON N, et al. a randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(24): 2294-2303.
- [13] GAGE B F, BASS A R, 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]. *J Vasc Surg: Venous Lymphatic Disord*, 2018, 6(1): 134.
- [14] KIMMEL S E, FRENCH B, KASNER S E, et al. A pharmacogenetic versus a clinical algorithm for warfarin dosing [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(24): 2283-2293.
- [15] HART R G, PEARCE L A, AGUILAR M I. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation [J]. *Ann Intern Med*, 2007, 146(12): 857-867.

收稿日期: 2019-08-16

(本文责编: 沈倩)