

抗血小板药物治疗反应多样性与对 氧磷酶 1/血小板内皮聚集受体 1 基因相关性研究进展

杨家慧, 罗霄鹏, 包正军, 唐兰英, 黄亮, 赵真

中南大学湘雅医院学院附属株洲医院神经内科, 湖南 株洲 412000

摘要: 抗血小板聚集药物是脑梗死患者的标准化治疗方案主要药物之一, 在二级预防中占重要地位。但是, 抗血小板药物疗效有很大个人差异, 即抗血小板药物治疗反应多样性 (VPR), 其可能导致缺血性脑血管病的复发。影响 VPR 的因素有很多, 其中遗传因素发挥重要作用。近年来有两个基因位点研究较多, 对氧磷酶 1 (PON1) 基因 Q192R 位点和血小板内皮聚集受体 1 (PEAR1) 基因 rs12041331 位点, 基因多态性和甲基化共同控制 PON1 酶和 PEAR1 受体的浓度或数量水平, 从而影响药物代谢。该文拟对以上两个基因位点的基因多态性及其甲基化分别与 VPR 和缺血性不良事件的相关性进行综述, 旨在为抗血小板药物治疗相关研究提供新的依据。

关键词: 缺血性脑卒中; 血小板药物治疗反应多样性; 基因多态性; 甲基化

中图分类号: R743.33

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2020.05.020

Research advances in the association between variability in response to antiplatelet drugs and paraoxonase-1/platelet endothelial aggregation receptor-1 genes

YANG Jia-Hui, LUO Xiao-Peng, BAO Zheng-Jun, TANG Lan-Ying, HUANG Liang, ZHAO Zhen. Department of Neurology, Zhuzhou Hospital Affiliated to Xiangya Medical College, CSU, Zhuzhou 412000, Hunan, China

Corresponding author: ZHAO Zhen, Email: hijenny@126.com

Abstract: Antiplatelet drugs have been used in the standardized treatment of cerebral infarction and play an important role in secondary prevention of this disease. However, the interindividual variability in response to antiplatelet drugs (VPR) is likely to cause recurrence of ischemic cerebrovascular disease. The genetic factor is one of many key factors influencing VPR. Two genetic loci, Q192R in the paraoxonase-1 (PON1) gene and rs12041331 in the platelet endothelial aggregation receptor-1 (PEAR1) gene, have been extensively studied in recent years. Gene polymorphisms and methylation co-regulate the concentration or number of PON1 and PEAR1 and finally have an impact on drug metabolism. In order to provide new insights into treatment with antiplatelet drugs, this article reviews the association of gene polymorphisms and methylation at the above two genetic loci with VPR and ischemic events.

Key words: ischemic cerebral infarction; variability in response to antiplatelet drugs; gene polymorphisms; methylation

抗血小板药物在抑制血小板的程度上存在相当大的异质性, 这种患者接受抗血小板药物治疗时对药物的反应性差异很大的现象, 称为抗血小板药物治疗反应多样性 (diversity of platelet reactions, VPR)。最早将低反应或无反应者称为药物“抵

抗”, 现用抗血小板治疗后血小板高反应性 (high on-treatment platelet reactivity, HPR) 取代“抵抗”一词^[1]。影响 VPR 的遗传因素受到广泛关注, 包括编码抗血小板药物吸收代谢过程的酶的基因多态性、编码血小板膜上受体的基因多态性及其编码基

基金项目: 湖南省卫生计生委 2017 年度科研计划课题项目 (B2017158)

收稿日期: 2020-07-14; 修回日期: 2020-09-15

作者简介: 杨家慧 (1994-), 女, 硕士研究生在读, 研究方向: 脑血管病。

通信作者: 赵真 (1970-), 女, 神经内科副主任, 主任医师, 硕士学位, 主要从事脑血管疾病、神经免疫、神经变性疾病相关研究。Email: hijenny@126.com。

因发生 DNA 甲基化等。DNA 甲基化是指 DNA 5' 端的 CpG 位点内的胞嘧啶被甲基修饰,修饰后 DNA 基因碱基序列没有改变而功能发生变化,是目前研究最充分的表观遗传修饰形式,尽管近年表观遗传相关研究不断增加,但在脑血管病领域的研究不多。基因多态性及表观遗传均可引起在药物代谢酶、作用靶点和药物转运蛋白水平影响药物代谢及药效动力学,发生药物反应个体遗传差异。

氯吡格雷和阿司匹林是最常用于脑梗死患者的抗血小板药物,本文将对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, PON1) 与血小板内皮聚集受体 1 (platelet endothelial aggregation receptor 1, PEAR1) 基因多态性及其甲基化与以上两种抗血小板药物的反应性的相关性研究进展做一综述。

1 PON1 Q192R 基因多态性与 VPR

PON1 酶是在肝脏中合成并存在于血清中的一种酯酶,也是氯吡格雷生物活性的关键酶,其催化 2-氧氯吡格雷(氯吡格雷中间体)合成具有药理活性的硫醇代谢物。并且 PON1 酶具有抑制低密度脂蛋白 (LDL) 的氧化修饰、维持高密度脂蛋白 (HDL) 的功能以及抑制合成胆固醇等抗动脉粥样硬化的作用^[2-3]。

PON1 酶由 PON1 基因编码,Bouman 等^[4]首先提出 PON1 Q192R 基因型可以决定氯吡格雷的抗血小板疗效,PON1 192 QQ 基因型携带者的 PON-1 酶水平更低,能显著降低氯吡格雷的抗血小板作用并诱导 HPR,从而增加主要不良心血管事件 (major adverse cardiovascular events, MACE) 风险。但是这一发现受到随后的独立研究的质疑,随后的研究认为 PON1 Q192R 多态性对血小板反应性,以及氯吡格雷治疗患者发生缺血事件的风险没有影响^[5-7],或者认为 R 等位基因才是影响氯吡格雷疗效的因素^[8]。导致结论不一致的原因可能与种族差异或者研究的具体实施方案不同,比如标本处理及对 VPR 的界定标准不同,如 Bouman 等^[4]的检测标本使用了 EDTA 抗凝血浆,而该血浆本身对 PON1 酶活性有抑制作用。Bouman 等^[4]的研究是用氯吡格雷治疗前后血小板反应性的差值来评估 VPR,而后续研究没有治疗前后血小板反应性的对比,只检测治疗中某一时刻的血小板反应性,而其通常是由与急性动脉粥样硬化血栓形成相关的潜在的血小板高反应性引起的,而不能反映真正的氯吡格雷的药理反应性。不仅是氯吡格雷,服用阿司匹林的受试对象体内的

PON1 酶也具有更高的血清活性和浓度^[9]。

2 PON1 Q192R 基因多态性与缺血性脑卒中

脑梗死最常见的两大病理机制就是动脉粥样硬化和血管神经系统炎症。有研究表明,PON1 基因多态性与颈动脉的内膜厚度和狭窄程度相关^[8],PON1 酶在中枢神经系统缺氧-再氧化损伤中可起保护作用^[10],这为探讨 PON1 Q192R 与脑梗死的联系奠定了基础。早有研究^[11]提出,PON1 Q192R 可能成为缺血性卒中的危险因素,并且 RR 基因型与年轻人非致命性急性脑梗死风险的增加是独立相关的,多项研究^[12-13]支持以上观点。但是孙文珊等^[14]却提出 Q 等位基因携带者再发缺血性脑血管事件的风险更高。但是后者研究的是缺血性脑卒中复发事件,脑梗死初发和复发的发病影响因素本身就有差异,影响复发的因素受多种因素影响。尽管一些研究对 PON1 Q192R 多态性与脑梗死患者 VPR 的联系提出质疑^[15-16],仍有不少 meta 分析^[17-18]得出阳性结论。

3 PON1 基因甲基化

一些研究对需抗血小板药物治疗的冠心病患者的 PON1 基因启动子区域的 DNA 甲基化水平进行测定,发现 PON1 的 CpG 甲基化程度越高会导致 PON1 基因的 mRNA 表达水平越低,从而导致阿司匹林及氯吡格雷耐药性的发生^[19-20]。基于脑梗死人群的研究^[21-22]发现,PON1 启动子区高甲基化与脑梗死发病率有关,是脑梗死发病的危险因素。但是该研究^[22]认为 PON1 甲基化影响脂类和葡萄糖代谢从而影响脑梗死发病率,未提到本文关注的血小板反应性。目前关于 PON1 基因甲基化与血小板反应性以及脑梗死发病率或临床复发风险的关联的相关研究较少,仍需大规模的研究来进一步验证上述结论。

4 PEAR1 基因 rs1204133 多态性与 VPR

血小板内皮聚集受体 1 (PEAR1) 在 2005 年首次被 Nanda 等^[23]描述,是血小板相互接触作用的识别受体,血小板通过他们之间的相互接触或激动剂的刺激而被激活。PEAR1 通过维持血小板整合素 $\alpha IIb\beta 3$ 的激活,从而稳定血小板聚集。PEAR1 受体经 PEAR1 基因编码,PEAR1 基因变异是血小板反应性变异的因素之一。

诸多研究报告了 PEAR1 常见的遗传变异对血小板功能变异很重要^[24-27]。Wurtz 等^[28]在冠心病患者中开展的研究中发现,PEAR1 rs12041331 A 等

位基因携带者血小板聚集率减少,但是其发生 MACE 的风险却增高,可能原因是 A 等位基因介导的血小板 PEAR1 受体表达降低虽然会导致体内血小板聚集量减少,但体内形成的不稳定血栓却增加,从而导致了心血管事件的发生率增高。另一方面,也可能是由于 A 等位基因显著影响内皮细胞的迁移,进而促进血栓形成^[29]。

5 PEAR1 rs12041331 基因多态性与缺血性脑卒中

国内有不少研究探究了 PEAR1 rs12041331 位点基因多态性与缺血性脑卒中的联系。陈静静等^[30]对 148 例缺血性脑卒中服用阿司匹林的人群进行基因和血小板反应性检测,发现 PEAR1 基因 rs12041331 位点的 A 等位基因与缺血性脑卒中患者阿司匹林 HPR 的风险增加有关。和另一项在进展性脑梗死患者人群中进行的研究的结论一致^[31]。李建设等^[32]研究了 PEAR1 基因与脑梗死复发性的关系,认为 PEAR1 rs12041331 等位基因变异与长期服用阿司匹林脑梗死卒中复发相关,PEAR1 基因纯合突变(AA)患者脑梗死复发的风险更高。另一项同样研究脑梗死复发与 PEAR1 的关系的研究支持上述观点^[33]。上述研究和前面提及的多篇基于冠心病人群的文献一样,认为相较于 AA 基因型,GG 基因型患者对阿司匹林抗血小板聚集疗效敏。以上研究都仅仅只是提及了基因型与脑梗死患者复发的相关性,而没有深入研究药物反应性及其内在机制,没有将血小板反应性联系起来。但是,无论在冠心病或脑梗死人群中,都有不同的结论^[34-35],因此,PEAR1 基因相关研究需进一步深入。

6 PEAR1 甲基化

PEAR1 基因 rs12041331 的 G 等位基因是一种内含子胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸-单核苷酸多态性(CpG-SNP),关于 CpG-SNPs 在调节血小板表型中的作用的研究仍然比较少。最早在 2016 年^[36]就提出 PEAR1 基因 rs12041331 是第一个与血小板功能相关的功能性 CpG-SNP,PEAR1 受体的表达受 DNA 甲基化的驱动,甲基化水平与 PEAR1 受体表达呈正相关平行增长,血小板反应性随之升高。该研究还发现,A 等位基因携带者在 CGI1 位点的 DNA 甲基化水平显著低于 GG 纯合子,这和 Faraday 等^[24]之前报道过 PEAR1 rs12041331 A 等位基因与 PEAR1 受体低表达相关的结论相符。虽然传统意义上来说,高甲基化可导致基因沉默从而抑制基

因的表达,低甲基化则可激活基因促进其表达,即 DNA 甲基化与基因表达水平呈负相关,但是 DNA 甲基化促进基因表达的例子近年来也有报道^[37]。Izzi 等^[38]最近通过对两个独立队列的分析,发现表观基因调控(PEAR1 甲基化)与炎症依赖的血小板生物学、功能变异性之间有重要联系。他们还在内皮细胞和巨核细胞中发现 1 个 PEAR1 基因的细胞特异性甲基化敏感区,可介导染色体相互作用,可将同一染色体上的远距离增强子和启动子连接起来,激活或抑制基因表达^[39]。这种 PEAR1 基因甲基化相关的远程相互作用是否可以影响血小板的数量及功能表达、改变抗血小板药物的血小板反应多样性,从而导致心脑血管病变风险增加也是未来的研究方向之一。

7 总结

脑血管病发病率逐年升高,脑梗死的抗血小板药物的个体化使用将是今后脑梗死及二级预防精准治疗的方向,但抗血小板药物对不同人群血小板抑制作用存在较大差异,并由此提出了 VPR 的概念。人群对抗血小板药物的低反应性与缺血性脑血管病复发具有相关性。与 VPR 相关的 PON1、PEAR1 基因多态性是影响心脑血管发病及 VPR 的重要因素,其表观遗传如 DNA 甲基化也逐步得到重视。因此,进一步探究抗血小板药物反应性基因多态性与缺血性卒中发病、脑梗死患者血小板反应性的联系很有必要,可为抗血小板治疗药物的选择提供新的依据,给脑梗死治疗带来新的突破。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.抗血小板药物治疗反应多样性临床检测和处理的专家建议[J].中华心血管病杂志,2014,42(12):986-991.
- [2] Gugliucci A, Menini T. Paraoxonase 1 and HDL maturation[J]. Clin Chim Acta, 2015, 439: 5-13.
- [3] Chistiakov DA, Melnichenko AA, Orekhov AN, et al. Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases[J]. Biochimie, 2017, 132: 19-27.
- [4] Bouman HJ, Schömig E, van Werkum JW, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy[J]. Nat Med, 2011, 17(1): 110-116.
- [5] Sibbing D, Koch W, Massberg S, et al. No association of paraoxonase-1 Q192R genotypes with platelet response to clopidogrel and risk of stent thrombosis after coronary stenting[J]. Eur Heart J, 2011, 32(13): 1605-1613.

- [6] Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, et al. Paraoxonase-1 Q192R polymorphism and antiplatelet effects of clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(4): 429-436.
- [7] Erathi HV, Durgaprasad R, Velam V, et al. Evaluation of on-clopidogrel platelet reactivity overtime, SYNTAX SCORE, genetic polymorphisms and their relationship to one year clinical outcomes in STEMI patients undergoing PCI [J]. *Minerva Cardioangiol*, 2018, 66(1): 16-25.
- [8] Ma W, Liang Y, Zhu J, et al. Relationship of paraoxonase-1 Q192R genotypes and in-stent restenosis and re-stenting in Chinese patients after coronary stenting [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 251: 305-310.
- [9] Blatter-Garin MC, Kalix B, De Pree S, et al. Aspirin use is associated with higher serum concentrations of the anti-oxidant enzyme, paraoxonase-1 [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(4): 593-594.
- [10] Caraballo JC, Borcherdig J, Rector M, et al. Role of PON in anoxia-reoxygenation injury: a *Drosophila melanogaster* transgenic model [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84434.
- [11] Voetsch B, Benke KS, Damasceno BP, et al. Paraoxonase 192 Gln->Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults [J]. *Stroke*, 2002, 33(6): 1459-1464.
- [12] Ranade K, Kirchgessner TG, Iakoubova OA, et al. Evaluation of the paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism in the paraoxonase 1 gene is associated with increased risk of stroke [J]. *Stroke*, 2005, 36(11): 2346-2350.
- [13] 周静,章成国,王玉凯,等. 对氧磷酶 1 基因 Q192R 多态性与中国汉族人缺血性卒中的相关性 [J]. *国际脑血管病杂志*, 2014, 22(9): 641-644.
- [14] 孙文珊,李军荣,李永坤,等. 对氧磷酶 1Q192R 和 L55M 基因多态性与缺血性卒中再发的相关性研究 [J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(1): 13-17.
- [15] Martínez-Salazar MF, Soriano-Martínez ML, Juantorena-Ugas A, et al. Paraoxonase-1 polymorphisms and cerebral ischemic stroke: a pilot study in Mexican patients [J]. *Colomb Med (Cali)*, 2018, 49(3): 223-227.
- [16] 董婧,石国华,黄澍,等. CYP2C19/ABCB1 和 PON1 基因多态性与氯吡格雷抑制血小板聚集作用的相关性研究 [J]. *中国医院药学杂志*, 2018, 38(23): 2464-2468.
- [17] Wei LK, Au A, Menon S, et al. Polymorphisms of MTHFR, eNOS, ACE, AGT, ApoE, PON1, PDE4D, and ischemic stroke: meta-analysis [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(11): 2482-2493.
- [18] Rodríguez-Esparragón F, López-Fernández JC, Buset-Ríos N, et al. Paraoxonase 1 and 2 gene variants and the ischemic stroke risk in Gran Canaria population: an association study and meta-analysis [J]. *Int J Neurosci*, 2017, 127(3): 191-198.
- [19] Lei HP, Yu XY, Wu H, et al. Effects of PON1 gene promoter DNA methylation and genetic variations on the clinical outcomes of dual antiplatelet therapy for patients undergoing percutaneous coronary intervention [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2018, 57(7): 817-829.
- [20] Su J, Li J, Yu Q, et al. Association of PON1 gene promoter DNA methylation with the risk of Clopidogrel resistance in patients with coronary artery disease [J]. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(5): e22867.
- [21] Gómez-Uriz AM, Goyenechea E, Campión J, et al. Epigenetic patterns of two gene promoters (TNF- α and PON) in stroke considering obesity condition and dietary intake [J]. *J Physiol Biochem*, 2014, 70(2): 603-614.
- [22] 肖健豪,袁倩,张斯淼,等. 外周血 PON1 基因高甲基化、端粒长度变短与脑梗死发病相关 [J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(5): 1002-1009.
- [23] Nanda N, Bao M, Lin H, et al. Platelet endothelial aggregation receptor 1 (PEAR1), a novel epidermal growth factor repeat-containing transmembrane receptor, participates in platelet contact-induced activation [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(26): 24680-24689.
- [24] Faraday N, Yanek LR, Yang XP, et al. Identification of a specific intronic PEAR1 gene variant associated with greater platelet aggregability and protein expression [J]. *Blood*, 2011, 118(12): 3367-3375.
- [25] Lewis JP, Ryan K, O'connell JR, et al. Genetic variation in PEAR1 is associated with platelet aggregation and cardiovascular outcomes [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2013, 6(2): 184-192.
- [26] Backman JD, Yerges-Armstrong L M, Horenstein R B, et al. Prospective evaluation of genetic variation in platelet endothelial aggregation receptor 1 reveals aspirin-dependent effects on platelet aggregation pathways [J]. *Clin Transl Sci*, 2017, 10(2): 102-109.
- [27] Li M, Hu Y, Wen Z, et al. Association of PEAR1 rs12041331 polymorphism and pharmacodynamics of ticagrelor in healthy Chinese volunteers [J]. *Xenobiotica*, 2017, 47(12): 1130-1138.
- [28] Würtz M, Nissen PH, Grove EL, et al. Genetic determinants of on-aspirin platelet reactivity: focus on the influence of PEAR1 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e111816.
- [29] Fisch AS, Yerges-Armstrong LM, Backman JD, et al. Genetic variation in the platelet endothelial aggregation receptor 1 gene results in endothelial dysfunction [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138795.

- [30] 陈静静,田京辉,徐炳欣,等. PEAR1 基因多态性与缺血性脑卒中患者阿司匹林反应相关性研究[J]. 食品与药品, 2019, 21(3): 195-198.
- [31] 杨阿莉,胡亚梅,向莉,等. 进展性缺血性脑卒中与阿司匹林抵抗及 PEAR1 基因型的相关性研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(1): 1-5.
- [32] 李建设,孟轲,赵剑婷,等. PEAR1 基因多态性对长期服用阿司匹林脑梗死患者复发的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20(20): 26-29.
- [33] Zhao J, Chen F, Lu L, et al. Effect of 106PEAR1 and 168PTGS1 genetic polymorphisms on recurrent ischemic stroke in Chinese patient [J]. Medicine, 2019, 98 (29): e16457.
- [34] Yao Y, Tang XF, Zhang JH, et al. Association of PEAR1 genetic variants with platelet reactivity in response to dual anti-platelet therapy with aspirin and clopidogrel in the Chinese patient population after percutaneous coronary intervention [J]. Thromb Res, 2016, 141: 28-34.
- [35] Peng LL, Zhao YQ, Zhou ZY, et al. Associations of MDR1, TBXA2R, PLA2G7, and PEAR1 genetic polymorphisms with the platelet activity in Chinese ischemic stroke patients receiving aspirin therapy [J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(11): 1442-1448.
- [36] Izzi B, Pistoni M, Cludts K, et al. Allele-specific DNA methylation reinforces PEAR1 enhancer activity [J]. Blood, 2016, 128(7): 1003-1012.
- [37] Uhm TG, Lee SK, Kim BS, et al. CpG methylation at GA-TA elements in the regulatory region of CCR3 positively correlates with CCR3 transcription [J]. Exp Mol Med, 2012, 44(4): 268-280.
- [38] Izzi B, Gianfagna F, Yang WY, et al. Variation of PEAR1 DNA methylation influences platelet and leukocyte function [J]. Clin Epigenetics, 2019, 11(1): 151.
- [39] Izzi B, Noro F, Cludts K, et al. Cell-Specific PEAR1 methylation studies reveal a locus that coordinates expression of multiple genes [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(4): 1069.