

ABCB1 与氯吡格雷抵抗的研究进展

路英杰 王立峰 张旭昌 王晓云[△]

(哈尔滨医科大学附属第四医院心内科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 氯吡格雷和阿司匹林双联抗血小板已是急性冠状动脉综合征和经皮冠脉介入术后的标准治疗,因此氯吡格雷抵抗越来越受到人们的关注,但焦点更多的集中在氯吡格雷氧化代谢基因(P2Y12、CYP3A4 等)多态性方面,而对氯吡格雷吸收方面基因多态性的关注相对较少,本文就调控氯吡格雷在肠道吸收的基因(ABCB1)进行综述,并探讨其多态性与氯吡格雷抵抗的关系。

关键词 ABCB1; 氯吡格雷; 氯吡格雷抵抗

中图分类号 R54, R96 文献标识码 A 文章编号:1673-6273(2012)10-1989-03

Clopidogrel Resistance with ABCB1

LU Ying-jie, WANG Li-feng, ZHANG Xu-chang, WANG Xiao-yun[△]

(Department of Cardiology The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Harbin, 150001, China)

ABSTRACT: Clopidogrel and aspirin thermodynamic antiplatelet is a postoperative standard treatment of acute coronary syndrome and percutaneous coronary intervention (pci). People pay more and more attention to clopidogrel resistance, but more focus is concentrated on clopidogrel oxidative metabolism of genes (P2Y12 CYP3A4 etc.) polymorphism, gene polymorphism on absorption is few concerned. The gene (ABCB1) which regulates clopidogrel in intestinal absorption will be reviewed in this article, and discuss the relationship between the polymorphism of ABCB1 and clopidogrel resistance.

Key words: ABCB1; Clopidogrel; Clopidogrel resistance

Chinese Library Classification(CLC): R54, R96 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)10-1989-03

多项大规模临床研究结果显示,氯吡格雷联合阿司匹林相比单用阿司匹林可显著降低患者的死亡率和严重心血管事件的发生率。因此治疗指南将氯吡格雷和阿司匹林作为急性冠脉综合征或者经皮冠脉支架置入术(PCI)后的常规治疗方案。但目前多项临床研究显示,即使给予急性冠脉综合征或者 PCI 术后患者标准的治疗,仍有部分患者出现氯吡格雷无反应或者低反应,从而造成临床心血管事件的发生。相应地氯吡格雷抵抗的研究越来越多。有报道提示氯吡格雷抵抗的发生率 5%~30%。

1 氯吡格雷的药代动力学

氯吡格雷是一种新型噻吩吡啶类的抗血小板药物,氯吡格雷为药物前体(prodrug),本身无活性,氯吡格雷约 50%经胃肠道吸收后在肝脏内迅速代谢,血浆中原形药物浓度极低。氯吡格雷在小肠的吸收受到 ABCB1 基因编码的质子泵 P 糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)调控,大部分药物前体通过酯酶代谢为无活性物质(主要是 SR-26334),进入体内经肝脏细胞色素 P450 氧化酶(CYP450 酶)系(主要是 CYP3A4、CYP3A5、CYP2C19)氧化产生具有活性的代谢物(主要是 SR-6334),该活性代谢产物不可逆的阻断血小板膜上的 ADP 受体从而发挥抗血小板作用。

2 氯吡格雷抵抗的定义

虽然多项研究已经证实氯吡格雷抵抗的存在,但目前仍然缺乏明确、统一的定义,并且多为实验性和经验性。最早有研究采用标准氯吡格雷疗法(300 毫克负荷量,随后 75 毫克维持量)不能保护患者减少或避免缺血性血管事件的发生,并且实验室检测血小板聚集功能未得到有效抑制,此种描述得到多数人的认可^[1]。随后利用血小板聚集试验检测 96 例 PCI 术后患者术前标准氯吡格雷疗法的血小板聚集能力,对于 $<5 \mu\text{mol/L}$ ADP 诱导的血小板聚集的抑制 $<10\%$,定义为氯吡格雷药物抵抗^[2]。在服用 600mg 负荷剂量氯吡格雷 4 小时内,对于不同剂量 ADP 诱导的血小板聚集抑制 $<10\%$ 称为无反应者,抑制 10%~29%为半反应者^[3]。同样有人将在治疗的任何时间内血小板活性均相对较高($>50\%$)定义为氯吡格雷抵抗^[4]。

3 氯吡格雷抵抗的机制及临床意义

对氯吡格雷抵抗的机制目前尚未完全阐明,但已经明确与多种因素密切相关,主要分为内因和外因两方面。患者的依从性差、药物的剂量不足、药物之间的相互作用等为主要的外因因素,而内因主要包括个体差异、基因多态性、ADP 的释放增加、其他血小板通路的激活等,有研究显示遗传药理学上个体代谢的差异性导致了氯吡格雷药效作用的不同^[5]。越来越多的研究结果显示机体对氯吡格雷的低反应性可能由于氯吡格雷的药代动力学的变异,例如肠道的吸收和肝脏中的代谢,二者都是由基因多态性引起的,其中包括影响药物吸收(ABCB1)的基因、影响药物代谢活性(CYP3A4 和 CYP2C19)及药物生

作者简介:路英杰(1983-)男,硕士研究生,研究方向:冠心病介入治疗, Tel:15104575773, E-mail:yuequanxiaoming2008@126.com
[△]通讯作者:王晓云,主任,研究方向:冠心病介入治疗, Tel:0451-82576786 E-mail:wxy@medmail.com.cn
(收稿日期:2011-08-27 接受日期:2011-09-23)

物学活性(P2Y₁₂和ITGB3)的基因。氯吡格雷抵抗的患者代表一群高危患者,他们具有很高的心血管死亡、脑卒中、非致死性再次心梗或严重缺血的终点事件发生率。氯吡格雷抵抗也是导致经皮冠状动脉内支架术(PCI)后发生急性或亚急性支架内血栓的重要原因之一,有研究显示氯吡格雷抵抗的患者初级临床终点事件发生率明显增高。通过氯吡格雷对血小板抑制作用的测定与评估,有助于在临床中发现氯吡格雷抵抗的患者,并及时采取相应的措施以求达到比较理想的抗血小板疗效,减少血栓栓塞事件的发生,提高患者的生活质量,延长患者的寿命。

4 ABCB1 的基因多态性

ABCB1 转运蛋白家族(ATP binding cassette transporter family)是一类跨膜蛋白,其主要功能是利用ATP水解产生的能量将其结合的底物等主动转出质膜,ABCB1基因在人类多药耐药基因族中起主导作用,其表达受各种因素的影响,属于可调控基因。有研究显示与ABCB1的基因表达、蛋白结合能力影响较大的3个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)分别为:ABCB1 C1236T、G2677T/A、C3435T^[6]。ABCB1定位于人类7号染色体q21.1,其cDNA全长4669bp,由28个外显子组成,可转录得到4.5kb的mRNA,编码一个170kDa的跨膜糖蛋白-P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp),后者是在研究具有多耐药性表型的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中发现的一种与耐药程度正相关的高分子糖蛋白^[7]。它是人体内重要的转运蛋白之一,一般在胃肠道、肝脏、肾脏、脑等重要组织器官广泛分布,参与多种药物的吸收、分布及分泌和排泄。P糖蛋白一般含有两个疏水性跨膜结构域TMD1和TMD2(trans-membrane domain),由6~11个跨膜的 α -螺旋结构组成,特异性的识别底物;同时含有两个亲水性核酸结合折叠区(nucleotide-binding folds, NBFs),NBFs含有特征性的基团Walker A和B,它们间隔90~120个氨基酸,存在于所有ATP结合蛋白中,NBFs基团定位于胞质侧,传递能量以转运底物穿过细胞膜。当Pgp底物与TMD结合后,两个NBFs相互靠近并与ATP结合,中心部分形成孔道结构,Pgp的构象发生改变促使中心孔道开放,直接将疏水药物经中心孔道泵出细胞外^[8,9]。因此药物转运是给药后个体差异及药物相互作用的重要环节之一,也是导致多种药物耐药的重要因素。

5 ABCB1 基因多态性与氯吡格雷抵抗的关系

有研究表明ABCB1基因第26外显子C3435T、第21外显子G2677T/A及第12外显子C1236T的基因多态性,具有重要的功能意义, β 者存在连锁不平衡关系^[10]。实验研究P糖蛋白对氯吡格雷吸收的影响时发现,含有两个ABCB1 C3435T等位基因变异体可降低氯吡格雷的血药浓度,并首次报道了ABCB1的基因多态性与氯吡格雷药代动力学之间的关系^[11]。有研究者在白种人中研究时发现,携带3435TT突变型纯合子基因型个体的P-gp的表达量,比正常野生型个体低51%^[11]。FAST-MI研究显示:携带两个ABCB1 C3435T等位基因的患者比没有携带的主要终点事件(死亡、非致命性卒中、心肌梗死等)的风险高^[12]。有体外研究显示下调P-gp信使RNA的表达后氯吡格雷的浓度会增加^[13]。另外通过对波兰人ABCB1基因

多态性与氯吡格雷口服生物利用度和对心肌梗死患者的愈后的研究发现C3435T多态性影响了患者血小板反应性^[14]。

在法国急性抬高型和非抬高型心肌梗死注册入院的2208例患者并接受氯吡格雷治疗,评估氯吡格雷吸收代谢过程中的等位基因变异体的关系的研究中^[15]显示携带ABCB1变异等位基因(TT和CT)相比野生型等位基因(CC)患者1年内的心血管事件发生率相对较高,且携带两个变异等位基因型(TT)患者的死亡、急性心梗等心血管事件发生率显著增高(15.5%:10.7%; HR:1.72; CI:1.2~2.47)。同时携带ABCB1变异等位基因和CYP2C19(*2, *3, *4, or *5)功能丢失基因的患者与携带ABCB1野生型等位基因和CYP2C19野生型等位基因的患者亦明显增高(21.5%:13.3%; HR:1.98; CI:1.10~3.58)。

把[1]PCI术的高加索患者随机分组分别服用300、600、900mg负荷剂量,在300mg和600mg剂量组均发现3435TT型患者体内氯吡格雷及代谢产物浓度,明显低于CT型和TT型患者。服药4h后检测血小板聚集度抑制率,CC型和CT型患者体内氯吡格雷和代谢产物量及血小板抑制率,按300mg和600mg负荷剂量,成比例增加,900mg剂量组不再增加,但是TT型患者体内药物量和血小板抑制率,呈现出持续的增加。研究结果表明,ABCB1 3435T基因多态性影响了氯吡格雷的药代动力学和抗血小板作用。

入选TRITON-TIMI 38实验中2932例急性冠脉综合征PCI后给予氯吡格雷和普拉格雷ABCB1基因型的患者,随访15个月评估ABCB1 3435C→T与主要事件终点的关系^[16]。研究显示在接受氯吡格雷治疗的患者中,ABCB1 3435C→T基因型与心血管死亡、心肌梗死及卒中等事件风险呈显著相关(P=0.0064),与ABCB1 3435CT/CC基因携带者相比,TT纯合子携带者主要终点事件风险增加72%。在健康人群中,3435TT纯合子携带者应用氯吡格雷后血小板最大聚集率出现绝对降低,但降幅较CT/CC携带者减小7.3%(P=0.0127)。ABCB1 3435TT基因型携带者降低了对血小板的抑制,且在氯吡格雷治疗期间复发性缺血事件的风险有所增加。同时该研究还显示:ABCB1变异等位基因和CYP2C19功能缺失等位基因之间无显著的交互作用,但当同时携带这两种变异基因会有更高的风险;但同时显示携带两个CYP2C19功能缺失等位基因的患者发生终点事件的风险是未携带患者的3.58倍。

通过对阿米希健康人群的研究发现^[17]3435C>T基因多态性与氯吡格雷抗血小板活性无明显关联。同时抗血小板干预的药物遗传学的研究证实,ABCB1基因型与氯吡格雷对血小板聚集的影响无显著相关性。现在C3435T位点多态性对P-gp的影响仍存在较多分歧。

6 展望

目前针对氯吡格雷抵抗的基因多态性的实验研究越来越多,同时也证实了基因多态性在氯吡格雷抵抗的多种因素中的举足轻重的地位。但是对ABCB1的基因多态性对氯吡格雷抵抗的大规模临床实验较少,同时有的结果缺乏较高的一致性,因此需要更多更大规模的前瞻性研究和功能实验来明确,同时进一步研究多位点基因多态性所构成的不同单倍型及其对氯吡格雷疗效的影响。

参考文献(References)

- [1] Taubert D, von Beckerath N, Glimmerly G, et al. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption [J]. Clin Pharmacol, 2006, 80: 486-501
- [2] Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, et al. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity[J]. Circulation, 2003, 107(23): 2908
- [3] Muller I, Besta F, Schulz C, et al. Effects of statins on platelet inhibition by a high loading dose of clopidogrel [J]. Circulation, 2003, 108 (18) : 2195-2197
- [4] Barragan P, Bouvier JL, Roquer PO, et al. Resistance to thienopyridines: clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator stimulated phosphotyrosine phosphorylation [J]. Catheter Cardiovasc Interv, 2003, 59(3) : 295-302
- [5] Peters, Harmsze, ten Berg, et al. CYP2C19 and ABCB1 genes and individualized treatment with clopidogrel [J]. Pharmacogenomics, 2011, 12(2): 141-144
- [6] Hamidovic A, Hahn K, Kolesar J. Clinical significance of ABCB1 genotyping in Oncology [J]. J Oncol Pharm Pract, 2010, 16(1): 39
- [7] Juliao R L, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants [J]. Biochim Biophys Acta, 1976, 455(1) : 152-162
- [8] Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Targeting multidrug resistance in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2006, 5: 219-234
- [9] Stephen GA, Jodie Y, Andrew W, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding [J]. Science, 2009, 323: 1718-1722
- [10] Tang K, Ngoi SM, Gwee PC, et al. Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian population [J]. Pharmacogenetics, 2002, 12: 437-450
- [11] Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo [J]. Proc Natl Acad Sci, 2000, 97: 3473-3478
- [12] Kathryn M. Momary, Pharm.D., Michael P, et al. Genetic Causes of Clopidogrel Nonresponsiveness: Which Ones Really Count? [J]. Pharmacotherapy, 2010, 30(3): 265-274
- [13] Paul A Gurbel, Mark J Antonino, Udaya S Tantry. Recent developments in clopidogrel pharmacology and their relation to clinical outcomes [J]. Expert Opin. Drug Metab. Toxicol, 2009, 5 (8): 989-1004
- [14] Spiewak M, Matek TA, Kostrzewa G, et al. Influence of C3435T multidrug resistance gene-1 (MDR-1) polymorphism on platelet reactivity and prognosis in patients with acute coronary syndromes [J]. Kardiol Pol, 2009, 67: 827-834
- [15] Tabassome Simon, Celine Verstuyft, Murielle Mary-Krause, et al. Genetic Determinants of Response to Clopidogrel and Cardiovascular Events [J]. N Engl J Med, 2009, 360: 363-375
- [16] Tabassome Simon, Stephen D Wiviott, Elliott M Antman, et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis [J]. Lancet, 2010, 376: 1312-1319
- [17] Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy [J]. JAMA, 2009, 302: 849-857

(上接第 1997 页)

- [24] Levin LI, Munger KL, O'Reilly EJ, et al. Primary infection with the Epstein-Barr virus and risk of multiple sclerosis [J]. Ann Neurol, 2010, 67(6): 824-830
- [25] Kim BS, Palma JP, Kwon D, et al. Innate immune response induced by Theiler's murine encephalomyelitis virus infection [J]. Immunol Res, 2005, 31(1): 1-12
- [26] 曾年菊, 金益强, 梁清华. 多发性硬化的病毒感染及发病机制研究进展 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 26(03): 263-268
Zeng Nian-ju, Jin Yi-qiang, Liang Qing-hua. Progress in etiopathogenesis and nosogenesis of multiple sclerosis [J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2006, 26(03): 263-268
- [27] Szczuciński A, Losy J. CCL5, CXCL10 and CXCL11 chemokines in patients with active and stable relapsing-remitting multiple sclerosis [J]. Neuroimmunomodulation, 2011, 18(1): 67-72
- [28] Kidd BA, Ho PP, Sharpe O, et al. Epitope spreading to citrullinated antigens in mouse models of autoimmune arthritis and demyelination [J]. Arthritis Res Ther, 2008, 10(5): R119
- [29] Kuerten S, Pauly R, Rottlaender A, et al. Myelin-reactive antibodies mediate the pathology of MBP-PLP fusion protein MP4-induced EAE [J]. Clin Immunol, 2011, 140(1): 54-62
- [30] 张深义, 卢宏. 病毒感染与多发性硬化的发病机制研究进展 [J]. 中国现代医生, 2008, 46 (02): 145-147
Zhang Shen-yi, Lu Hong. Progress in Virus Infection and Etiopathogenesis of Multiple Sclerosis [J]. China Modern Doctor, 2008, 2008, 46 (02): 145-147
- [31] Junker A, Ivanidze J, Malotka J, et al. Multiple sclerosis: T-cell receptor expression in distinct brain regions [J]. Brain, 2007, 130 (Pt 11): 2789-2799
- [32] Chastain EM, Duncan DS, Rodgers JM, et al. The role of antigen presenting cells in multiple sclerosis [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1812(2): 265-274