

抗血小板基因治疗在冠心病治疗中的研究进展

刘 畅¹, 范康钧², 程前进^{2*}

¹济宁医学院临床医学院, 山东 济宁

²济宁医学院附属医院心脏外科, 山东 济宁

收稿日期: 2025年7月14日; 录用日期: 2025年8月8日; 发布日期: 2025年8月15日

摘 要

冠心病(Coronary Heart Disease, CHD)是全球心血管疾病死亡的首要原因, 每年的发病率和死亡率也在逐年上升。其病理核心是动脉粥样硬化斑块破裂后血小板活化介导的血栓形成。传统抗血小板药物(如阿司匹林、P2Y₁₂抑制剂)虽能有效降低血栓事件, 但存在个体疗效差异、出血风险高和患者依从性差等缺陷。基因治疗通过靶向调控血小板功能相关基因的表达, 为实现精准、长效且局部化的抗栓治疗提供了革命性策略。本文系统综述抗血小板基因治疗的关键基因、递送载体、临床前研究进展及转化医学挑战, 并结合最新技术趋势展望其未来发展方向。

关键词

基因治疗, 抗血小板, 冠心病, 文献综述

Research Progress of Antiplatelet Gene Therapy in the Treatment of Coronary Heart Disease

Chang Liu¹, Kangjun Fan², Qianjin Cheng^{2*}

¹Clinical Medical College, Jining Medical University, Jining Shandong

²Department of Cardiac Surgery, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining Shandong

Received: Jul. 14th, 2025; accepted: Aug. 8th, 2025; published: Aug. 15th, 2025

Abstract

Coronary Heart Disease (CHD) is the leading cause of death from cardiovascular disease worldwide, and the annual morbidity and mortality are also increasing year by year. Its pathological core is

*通讯作者。

文章引用: 刘畅, 范康钧, 程前进. 抗血小板基因治疗在冠心病治疗中的研究进展[J]. 临床个性化医学, 2025, 4(4): 294-302. DOI: 10.12677/jcpm.2025.44447

platelet activation-mediated thrombosis after atherosclerotic plaque rupture. Traditional antiplatelet drugs (such as aspirin, P2Y₁₂ inhibitors) can effectively reduce thrombotic events, but there are some defects such as individual differences in efficacy, high risk of bleeding and poor patient compliance. Gene therapy provides a revolutionary strategy for achieving accurate, long-term and localized antithrombotic therapy by targeting the expression of platelet function-related genes. This article systematically reviews the key genes, delivery vectors, preclinical research progress and translational medicine challenges of antiplatelet gene therapy, and looks forward to its future development direction in combination with the latest technological trends.

Keywords

Gene Therapy, Antiplatelet, Coronary Heart Disease, Literature Review

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

冠心病是全球范围内致死率和致残率最高的疾病之一，由于冠状动脉粥样硬化斑块的形成和破裂，进而引发血小板活化、聚集和血栓形成，最终导致心肌缺血或梗死。全球每年新增冠心病患者人数不断上升，全球每年因冠心病死亡人数也在逐年增加[1]，已经成为目前人类健康的主要杀手之一。中国 2021 年 CHD 死亡率延续 2012 年以来的上升趋势，尤其是农村地区上升明显，到 2016 年已超过城市水平，并且随着年龄增长，CHD 患病率呈现快速升高趋势[2]。尽管近年来介入治疗和药物治疗已经取得了显著进展，但冠心病仍然是全球公共卫生领域的重大挑战。抗血小板治疗作为冠心病二级预防的基石，在预防血栓形成和降低心血管事件的风险方面发挥了重要作用。因此，深入研究抗血小板治疗对于改善冠心病患者的预后具有重要意义。然而，传统抗血小板药物(如阿司匹林、P2Y₁₂ 抑制剂)在实际应用中仍面临诸多局限性。

2. 抗血小板治疗革新

2.1. 传统抗血小板治疗的现状与困境

首先，个体反应差异大是传统抗血小板治疗面临的主要问题之一。不同患者对抗血小板药物的反应存在显著差异。例如，氯吡格雷作为一种广泛使用的 P2Y₁₂ 受体拮抗剂，其疗效受到 CYP2C19 基因多态性的显著影响[3]。研究表明，相当一部分人群携带至少一个 CYP2C19 功能缺失等位基因[4]，个体间 CYP2C19 基因多态性的存在，导致部分患者对氯吡格雷的代谢能力较差，抗血小板作用减弱，从而影响药效，增加不良事件风险[5] [6]。这种个体反应差异不仅给临床医生的治疗决策带来了极大的困扰，也严重影响了患者的治疗效果和预后。

其次，出血风险难以控制也是传统抗血小板治疗的一大难题。出血是抗血小板治疗最常见的不良反应之一。长期使用抗血小板药物(尤其是双联抗血小板治疗 DAPT)在抑制血小板功能的同时，也会增加出血的风险。这不仅会导致患者住院时间延长、医疗费用增加，还可能危及患者的生命。临床数据显示，DAPT 治疗 1 年后，可导致主要出血事件的发生率的增加[7]以及出血量的增加[8]。对于一些高龄、合并有其他疾病(如胃肠道疾病、肾功能不全等)的患者，出血风险更是明显增加[9]。在临床诊疗中，如何在有效预防血栓形成的同时，尽可能降低出血风险，也是临床医生面临的一个重要挑战。

此外,患者依从性差也是传统抗血小板治疗面临的重要问题。冠心病患者往往需要长期甚至终身服用抗血小板药物。由于需要每日服药,部分患者对疾病的认识不足、药物不良反应的困扰或者经济因素等原因中断治疗,是迄今为止抑制作用不足的主要原因[10]。越南国家心脏研究所的数据显示患者在1个月时抗血小板治疗的依从性相当高,但随着时间增加,患者服药的依从性也在不断下降[11]。

传统抗血小板治疗虽然在冠心病的治疗中发挥了重要作用,但由于存在个体反应差异大、出血风险难以控制以及患者依从性差等问题,其治疗效果受到了一定的限制。因此,如何克服抗血小板治疗的个体差异,实现精准治疗,是当前冠心病治疗领域亟待解决的重要问题,迫切需要寻找一种更加精准、安全、有效的治疗方法,以满足临床治疗的需求,而基因治疗作为一种新兴的革命性治疗手段,为解决这些问题提供了新的思路 and 方向。

2.2. 基因治疗的优势与潜力

基因治疗为解决传统抗血小板治疗所面临的困境带来了全新的希望。基因治疗是指将外源正常基因导入靶细胞,以纠正或补偿缺陷和异常基因引起的疾病,以达到治疗目的。其核心优势在于能够从基因层面进行精准干预,这与传统抗血小板的治疗模式形成了鲜明对比。与传统小分子药物相比,基因治疗具有以下独特优势:

1) 长效性:传统抗血小板治疗需要患者长期甚至终身服用药物,不仅给患者带来了极大的不便,还容易出现因患者依从性差而导致治疗效果不佳的问题。而基因治疗一旦成功实施,有可能使患者获得长期甚至永久性的治疗效果。Rasko JEJ 使用重组腺相关病毒载体(Adeno-Associated Virus, AAV)递送 FIX-Padua 基因可使血友病 B 患者维持 6 年以上的凝血因子活性,且无严重不良反应[12]。该研究为冠心病抗血小板基因治疗的长效性提供了载体安全性和持久性的参考。这不仅可以提高患者的生活质量,还能在一定程度上减轻患者的经济负担和医疗资源的消耗。

2) 精准性:基因治疗可以根据患者特定的基因缺陷或表达异常,设计并实施高度个性化的治疗方案。针对某些患者体内特定的基因变异导致抗血小板药物代谢异常的情况,可以直接对这些变异基因调节用药,从而使患者体内的血小板功能得到精准调节,既有效降低血栓形成的风险,又能避免因药物过度反应而导致的出血等不良反应。例如替格瑞洛和普拉格雷导致 CYP2C19 携带功能缺失等位基因的患者的缺血事件显著减少[13],改用替格瑞洛可使非体外循环冠状动脉旁路移植术后发生心房颤动的风险显著降低[14]。这种精准性是传统抗血小板治疗难以企及的,它为实现冠心病抗血小板治疗的“因人而异”提供了可能。

基因治疗为冠心病抗血小板治疗开辟了一条全新的道路,它有可能突破传统治疗的瓶颈,解决个体差异导致的疗效和安全性问题,为冠心病患者带来更加有效、安全和个性化的治疗方案。

3. 抗血小板的关键基因与递送策略

3.1. 关键代谢基因的遗传变异

3.1.1. CYP2C19 基因

在冠心病抗血小板治疗的研究中,基因与血小板功能之间存在着紧密而复杂的联系,其中细胞色素 P450 酶系中的 CYP2C19 基因多态性对血小板功能和抗血小板药物代谢的影响尤为显著。CYP2C19 基因存在多种变异,包括单核苷酸多态性(SNP)和基因剪接变异等。其中,最常见的 SNP 是 CYP2C192 和 CYP2C193,它们分别由 CYP2C19 基因中的 C-to-T 和 G-to-A 突变引起。这些突变导致了 CYP2C19 酶的活性降低或完全丧失,从而极大地影响了药物的代谢过程,产生较差的临床结果[3][5][6]。CYP2C19 是氯吡格雷活化的关键酶,其功能缺失等位基因(2, 3)显著降低活性代谢产物水平[15]。在亚洲人群中,

CYP2C19 基因 2 和 3 的携带率分别为 28.4%和 5.5%[16], 导致氯吡格雷抵抗发生率显著增加; 而其中同时携带 2 个功能缺失等位基因的患者, 发生 MACE 的风险显著增加[17]。

3.1.2. PON1 基因

PON1 可以水解氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)中的磷脂氢过氧化物, 减少 ox-LDL 的生成, 从而抑制其对血管内皮细胞的损伤, 在动脉粥样硬化的发生发展过程中起到一定的保护作用。PON1 基因存在多个单核苷酸多态性(SNP)位点, 常见的有 Q192R (rs662)和 L55M (rs854560)等。这些多态性位点可导致 PON1 的氨基酸序列发生改变, 进而影响其酶活性和功能。有研究表明, PON1 192R 纯合基因型和携带至少 1 个 PON1 192R 等位基因更容易发生血小板高反应性[18]; 与具有 PON1 RR192 或 QR192 基因型的患者相比, 具有 QQ192 基因型的患者表现出更高的死亡风险[19]。

3.1.3. ABCB1 基因

ABCB1 基因编码的 P-糖蛋白(P-gp)是一种重要的药物外排转运体, 广泛分布于人体的多个组织和器官, 包括肠道上皮细胞、肝细胞、血脑屏障等。在血小板中, P-gp 主要位于血小板膜上, 参与药物的跨膜转运过程。ABCB1 发生突变可能降低氯吡格雷肠道吸收效率。北京天坛医院王拥军教授团队研究发现, ABCB1 基因多态性与轻度缺血性卒中或短暂性脑缺血发作患者中氯吡格雷联合阿司匹林治疗效果降低有关。研究团队还发现, ABCB1 基因与 CYP2C19 基因多态性对氯吡格雷疗效具有联合影响, 即同时携带有 CYP2C19 功能缺失基因位点与 ABCB1-154 TC/CC 或 3435 CT/TT 基因位点的患者, 氯吡格雷疗效进一步降低[20]。ABCB1 基因多态性还可能通过影响药物在其他组织和器官中的分布和代谢, 间接影响抗血小板治疗的效果。

3.2. 基因治疗的递送策略

3.2.1. 靶向递送技术

CRISPR/Cas9 系统凭借其高度的精准性和强大的可操作性, 在冠心病抗血小板基因治疗中展现出巨大的潜力。CRISPR/Cas9 系统的核心组成部分包括向导 RNA (gRNA)和 Cas9 核酸酶。gRNA 能够通过碱基互补配对的方式, 精准地识别并结合到目标基因的特定序列上, 而 Cas9 核酸酶则在 gRNA 的引导下, 对目标基因的 DNA 双链进行切割, 造成双链断裂。细胞自身的 DNA 修复机制会对断裂的双链进行修复, 在修复过程中, 通过引入特定的核苷酸序列, 或者利用细胞自身的修复错误, 实现对目标基因的定点突变、敲除或插入等操作[21][22]。北京大学基础医学院孙金鹏教授团队与铁璐教授团队通过 CRISPR-Cas9 技术构建 β -arrestin2 K296R 敲入小鼠, 团队证实该突变可逆转高同型半胱氨酸血症对血小板活化的促进作用, 且显著延缓动脉血栓形成[23]。

锌指核酸酶(ZFNs)和转录激活样效应因子核酸酶(TALENs)也是重要的基因编辑工具。ZFNs 由锌指蛋白 DNA 结合结构域和核酸酶结构域组成, 锌指蛋白可以特异性地识别并结合目标 DNA 序列, 核酸酶结构域则负责切割 DNA [24]。TALENs 的作用原理与之类似, 它由转录激活样效应因子(TALE)的 DNA 结合结构域和核酸酶结构域构成, TALE 能够识别并结合特定的 DNA 序列, 核酸酶结构域实现 DNA 的切割[25]。这两种技术在早期的基因治疗研究中发挥了重要作用, 它们能够对特定的基因进行精确编辑, 为冠心病抗血小板基因治疗提供了多样化的选择。然而, 与 CRISPR/Cas9 系统相比, ZFNs 和 TALENs 的设计和构建过程相对复杂, 成本较高, 并且在特异性和效率方面存在一定的局限性[26], 这在一定程度上限制了它们的广泛应用。

3.2.2. 病毒载体

腺病毒载体具有高效的基因转导能力, 能够感染多种类型的细胞, 并且可以携带较大片段的基因,

越来越广泛地用作基因治疗的载体[27]。Christian Goepfert 构建了重组复制缺陷型腺病毒载体,抑制了对细胞外 ATP 作出反应的血管性血友病因子的分泌,为腺病毒递送相关基因抑制血小板活化提供了理论和实验依据[28]。然而,腺病毒载体具有较强的免疫原性,可能会引发机体的免疫反应,导致载体被免疫系统清除,影响基因治疗的效果,同时也可能带来发热、炎症等不良反应[29]。

腺相关病毒载体则具有低免疫原性、安全性高以及能够实现长期稳定基因表达等优点[30]。研究表明,利用 AAV 载体将抗血小板基因递送至小鼠体内,能够在不引起明显免疫反应的情况下,有效降低了肝脏中凝血因子 XII(FXII)mRNA 的表达和蛋白质的翻译,从而表现出抗血栓形成作用[31]。AAV 载体也存在一些局限性,如载体的包装容量有限,难以携带较大的基因片段[32],中和抗体免疫识别影响其治疗效果[33]以及生产成本较高[34]等问题。

4. 面临的挑战与限制

4.1. 基因检测技术的瓶颈

基因检测技术作为冠心病抗血小板基因治疗的关键基础,在当前的临床应用中仍存在诸多瓶颈,并且这些问题严重制约了基因治疗的广泛开展和效果提升。

4.1.1. 基因检测的准确性

基因检测的准确性是首要面临的挑战。尽管现代基因检测技术取得了显著进步,但仍难以达到绝对的精准。目前常见的基因检测方法,如聚合酶链式反应(PCR)、高通量测序等,都存在一定的误差率[35]。以 PCR 技术为例,在扩增过程中可能会出现碱基错配[36]、引物二聚体形成[37]等问题,从而影响检测结果的准确性。在对 CYP2C19 基因进行检测时,由于该基因存在多个多态性位点,若 PCR 引物设计不合理或扩增条件控制不佳,就可能导致某些突变位点的漏检或误检。这意味着部分患者可能会因不准确的基因检测结果而接受不恰当的治疗,从而影响治疗效果,甚至带来严重的不良后果。

4.1.2. 检测范围的局限性

目前,虽然已经明确了一些与冠心病抗血小板治疗密切相关的基因,如 CYP2C19、ABCB1 等,但冠心病的发病机制复杂,涉及众多基因和信号通路的相互作用,除了已知的关键基因外,可能还有许多尚未被发现的新基因参与其中[38][39]。当前的基因检测技术往往只能针对已知的部分基因进行检测,无法全面涵盖所有可能影响抗血小板治疗效果的基因变异。一些罕见的基因变异或基因-基因相互作用可能对血小板功能和抗血小板治疗效果产生重要影响,但由于检测技术的限制,这些因素难以被及时发现和评估。

4.2. 基因治疗的安全性

4.2.1. 基因治疗引发免疫反应

在基因治疗过程中,无论是病毒载体还是导入的外源基因,都有可能成为机体免疫系统识别的异物,从而引发免疫反应。免疫系统中的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞会被迅速激活, T 淋巴细胞可以直接攻击被病毒载体感染的细胞,而 B 淋巴细胞则会产生特异性抗体,这些抗体可以与病毒载体结合,促进其被吞噬细胞清除[33][40]。使得导入的基因无法在体内持续表达,从而降低基因治疗的效果。免疫反应还可能引发炎症反应,导致发热、乏力、局部组织损伤等不良反应,严重时甚至会危及患者的生命。有研究表明,在一些使用腺病毒载体进行基因治疗的临床试验中,部分患者出现了严重的免疫介导的不良反应,如器官功能衰竭等[41]。所以开发有效的应对策略对于扩大基因治疗的适用人群至关重要。如优化载体设计、改变给药途径、抑制免疫反应等均可在一定程度上减轻载体植入所引发的宿主的免疫反应[42]。

4.2.2. 基因突变

当使用逆转录病毒载体或其他能够整合到宿主基因组的载体进行基因治疗时,可能会导致插入位点附近的基因发生突变,从而影响基因的正常功能。如果插入位点位于关键的抑癌基因或生长调控基因附近,可能会导致这些基因的功能丧失或异常激活,进而引发细胞的癌变[43]。在一项针对重症联合免疫缺陷症(SCID)的基因治疗研究中,使用逆转录病毒载体将正常基因导入患者的造血干细胞中,结果部分患者在接受治疗后数年出现了白血病,进一步研究发现,这是由于逆转录病毒载体随机插入到宿主基因组中,激活了原癌基因,导致造血干细胞发生恶性转化[44]。即使是相对较为安全的腺相关病毒载体,虽然其整合到宿主基因组的概率较低,但也不能完全排除基因插入突变的风险[45]。

4.2.3. 脱靶效应

CRISPR/Cas9 系统虽然已经取得了显著的成果,但仍存在一定的脱靶效应,这限制了其在临床治疗中的广泛应用。Cas9 蛋白在非预期的基因组位点进行切割,从而导致非目标基因发生改变的现象。Cas9 蛋白对 sgRNA 与基因组 DNA 之间的错配具有一定的容忍度,通常允许 3 个左右的碱基错配,这使得一些与靶位点相似的非靶位点也可能被识别和切割[46]。脱靶编辑可能会影响治疗的安全性和有效性,导致治疗失败或产生不良反应。脱靶突变可能破坏抑癌基因功能,使细胞恶性转化,增加患癌症的风险,存在很大安全隐患[47]。目前还不确定生物体是否会无限期受到影响,以及这种纠正是否会遗传,可能会对后代产生不可预测的影响,涉及人类遗传基因库的安全性等问题[48]。为了降低脱靶效应的发生, *Nature Biotechnology* 首次验证了通过双切口酶系统来解决脱靶效[49],为进一步改造提供了具体参考。中山大学生命科学学院李剑峰课题组提出了拆分式碱基编辑器(SAF 策略)以抑制脱靶编辑并提高在靶性能[50]。

5. 结论

本研究深入探讨冠心病抗血小板基因治疗,具有重要的理论与实践意义。在理论层面,揭示了基因与血小板功能的内在联系,明确了 CYP2C19、PON1、ABCB1 等基因多态性对血小板功能和抗血小板药物代谢的影响机制。这不仅丰富了冠心病发病机制和抗血小板治疗的理论体系,还为进一步探索基因与疾病治疗之间的关系提供了新的方向和思路。通过对基因治疗作用途径和策略的研究,阐述了基因编辑、基因传递载体等技术在调节血小板功能中的作用原理,为基因治疗技术的发展和應用奠定了坚实的理论基础。在未来,基因治疗有望成为冠心病抗血小板治疗的重要手段之一,为广大冠心病患者带来更有效的治疗方案和更好的生活质量。

参考文献

- [1] Roth, G.A., Mensah, G.A., Johnson, C.O., *et al.* (2020) Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update from the GBD 2019 Study. *Journal of the American College of Cardiology*, **76**, 2982-3021.
- [2] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等. 《中国心血管健康与疾病报告 2023》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2024, 29(4): 305-324.
- [3] Lee, C.R., Luzum, J.A., Sangkuhl, K., Gammal, R.S., Sabatine, M.S., Stein, C.M., *et al.* (2022) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, **112**, 959-967.
- [4] Ned, R.M. (2010) Genetic Testing for CYP450 Polymorphisms to Predict Response to Clopidogrel: Current Evidence and Test Availability. Application: Pharmacogenomics. *PLOS Currents*, **2**, RRN1180. <https://doi.org/10.1371/currents.rn1180>
- [5] Rothenbacher, D., Hoffmann, M.M., Breitling, L.P., Rajman, I., Koenig, W. and Brenner, H. (2013) Cytochrome P450 2C19*2 Polymorphism in Patients with Stable Coronary Heart Disease and Risk for Secondary Cardiovascular Disease Events: Results of a Long-Term Follow-Up Study in Routine Clinical Care. *BMC Cardiovascular Disorders*, **13**, Article No. 61. <https://doi.org/10.1186/1471-2261-13-61>

- [6] Xi, Z., Fang, F., Wang, J., AlHelal, J., Zhou, Y. and Liu, W. (2017) CYP2C19 Genotype and Adverse Cardiovascular Outcomes after Stent Implantation in Clopidogrel-Treated Asian Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Platelets*, **30**, 229-240. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1413178>
- [7] Palmerini, T., Bruno, A.G., Gilard, M., Morice, M., Valgimigli, M., Montalescot, G., *et al.* (2019) Risk-Benefit Profile of Longer-Than-1-Year Dual-Antiplatelet Therapy Duration after Drug-Eluting Stent Implantation in Relation to Clinical Presentation. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, **12**, e007541. <https://doi.org/10.1161/circinterventions.118.007541>
- [8] Palmerini, T., Bruno, A.G., Redfors, B., Valgimigli, M., Taglieri, N., Feres, F., *et al.* (2021) Risk-Benefit of 1-Year DAPT after DES Implantation in Patients Stratified by Bleeding and Ischemic Risk. *Journal of the American College of Cardiology*, **78**, 1968-1986. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.08.070>
- [9] 中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组, 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会, 等. 冠心病双联抗血小板治疗中国专家共识[J]. 中华心血管病杂志, 2021, 49(5): 432-454.
- [10] LaRosa, A.R., Swabe, G.M. and Magnani, J.W. (2022) Income and Antiplatelet Adherence Following Percutaneous Coronary Intervention. *International Journal of Cardiology Cardiovascular Risk and Prevention*, **14**, Article 200140. <https://doi.org/10.1016/j.ijcrp.2022.200140>
- [11] Luu, N.M., Dinh, A.T., Nguyen, T.T.H. and Nguyen, V.H. (2019) Adherence to Antiplatelet Therapy after Coronary Intervention among Patients with Myocardial Infarction Attending Vietnam National Heart Institute. *BioMed Research International*, **2019**, Article ID: 6585040.
- [12] Rasko, J.E.J., Samelson-Jones, B.J., George, L.A., Giermasz, A., Ducore, J.M., Teitel, J.M., *et al.* (2025) Fidanacogene Elaparvovec for Hemophilia B—A Multiyear Follow-Up Study. *New England Journal of Medicine*, **392**, 1508-1517. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2307159>
- [13] Pereira, N.L., Rihal, C., Lennon, R., Marcus, G., Shrivastava, S., Bell, M.R., *et al.* (2021) Effect of CYP2C19 Genotype on Ischemic Outcomes during Oral P2Y₁₂ Inhibitor Therapy: A Meta-Analysis. *JACC: Cardiovascular Interventions*, **14**, 739-750. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2021.01.024>
- [14] Jiang, Q., Huang, K., Yin, L., Kong, H., Yang, Z. and Hu, S. (2024) Effect of Ticagrelor versus Clopidogrel after Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting on Postoperative Atrial Fibrillation: A Cohort Study. *Journal of the American Heart Association*, **13**, e035424. <https://doi.org/10.1161/jaha.124.035424>
- [15] 龚磊. CYP2C19: 氯吡格雷代谢的关键酶? [J]. 心血管病学进展, 2017, 38(2): 222-225.
- [16] 张爱玲, 杨莉萍, 胡欣. 亚洲健康人群 CYP2C19 等位基因发生率的合并分析[J]. 中国循证医学杂志, 2013, 13(12): 1431-1439.
- [17] Bhat, K.G., Pillai, R.K.J., Lodhi, H., Guleria, V.S., Abbot, A.K., Gupta, L., *et al.* (2023) Pharmacogenomic Evaluation of CYP2C19 Alleles Linking Low Clopidogrel Response and the Risk of Acute Coronary Syndrome in Indians. *The Journal of Gene Medicine*, **26**, e3634. <https://doi.org/10.1002/jgm.3634>
- [18] 曹银银, 潘其扬, 李健, 等. 川崎病合并冠状动脉病变患儿氯吡格雷抵抗与基因变异性的关系[J]. 中华儿科杂志, 2024, 62(10): 981-988.
- [19] Bhattacharyya, T., Nicholls, S.J., Topol, E.J., *et al.* (2008) Relationship of Paraoxonase 1 (PON1) Gene Polymorphisms and Functional Activity with Systemic Oxidative Stress and Cardiovascular Risk. *JAMA*, **299**, 1265-1276. <https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1265>
- [20] Pan, Y., Chen, W., Wang, Y., Li, H., Johnston, S.C., Simon, T., *et al.* (2019) Association between ABCB1 Polymorphisms and Outcomes of Clopidogrel Treatment in Patients with Minor Stroke or Transient Ischemic Attack: Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurology*, **76**, 552-560. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.4775>
- [21] Asmamaw Mengstie, M., Teshome Azezew, M., Asmamaw Dejenie, T., Teshome, A.A., Tadele Admasu, F., Behaile Teklemariam, A., *et al.* (2024) Recent Advancements in Reducing the Off-Target Effect of CRISPR-Cas9 Genome Editing. *Biologics: Targets and Therapy*, **18**, 21-28. <https://doi.org/10.2147/btt.s429411>
- [22] Kato-Inui, T., Takahashi, G., Hsu, S. and Miyaoka, Y. (2018) Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (Crispr)/Crispr-Associated Protein 9 with Improved Proof-Reading Enhances Homology-Directed Repair. *Nucleic Acids Research*, **46**, 4677-4688. <https://doi.org/10.1093/nar/gky264>
- [23] Zhang, L., Che, C., Du, Y., Han, L., Wang, J., Zhang, C., *et al.* (2025) N-Homocysteinylation of β -Arrestins Biases GPCR Signaling and Promotes Platelet Activation. *Blood*, **145**, 2374-2389. <https://doi.org/10.1182/blood.2024025593>
- [24] Urnov, F.D., Rebar, E.J., Holmes, M.C., Zhang, H.S. and Gregory, P.D. (2010) Genome Editing with Engineered Zinc Finger Nucleases. *Nature Reviews Genetics*, **11**, 636-646. <https://doi.org/10.1038/nrg2842>

- [25] Christian, M., Cermak, T., Doyle, E.L., *et al.* (2010) Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics*, **186**, 757-761. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.120717>
- [26] Gupta, R.M. and Musunuru, K. (2014) Expanding the Genetic Editing Tool Kit: ZFNs, TALENs, and CRISPR-Cas9. *Journal of Clinical Investigation*, **124**, 4154-4161. <https://doi.org/10.1172/jci72992>
- [27] 徐学武, 俞卫锋. 第三代腺病毒载体的研究进展[J]. 生物技术, 2005, 15(3): 79-82.
- [28] Goepfert, C., Imai, M., Brouard, S., Csizmadia, E., Kaczmarek, E. and Robson, S.C. (2000) CD39 Modulates Endothelial Cell Activation and Apoptosis. *Molecular Medicine*, **6**, 591-603. <https://doi.org/10.1007/bf03401797>
- [29] Muruve, D.A. (2004) The Innate Immune Response to Adenovirus Vectors. *Human Gene Therapy*, **15**, 1157-1166. <https://doi.org/10.1089/hum.2004.15.1157>
- [30] Naso, M.F., Tomkowicz, B., Perry, W.L. and Strohl, W.R. (2017) Adeno-Associated Virus (AAV) as a Vector for Gene Therapy. *BioDrugs*, **31**, 317-334. <https://doi.org/10.1007/s40259-017-0234-5>
- [31] Li, F., Yang, X., Liu, J., Shu, K., Shen, C., Chen, T., *et al.* (2019) Antithrombotic Effect of ShRNA Target F12 Mediated by Adeno-Associated Virus. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, **16**, 295-301. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.026>
- [32] McClements, M.E. and Maclaren, R.E. (2017) Adeno-Associated Virus (AAV) Dual Vector Strategies for Gene Therapy Encoding Large Transgenes. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, **90**, 611-23.
- [33] Costa Verdera, H., Kuranda, K. and Mingozi, F. (2020) AAV Vector Immunogenicity in Humans: A Long Journey to Successful Gene Transfer. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, **28**, 723-746. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.12.010>
- [34] Fu, Q., Polanco, A., Lee, Y.S. and Yoon, S. (2023) Critical Challenges and Advances in Recombinant Adeno-Associated Virus (rAAV) Biomanufacturing. *Biotechnology and Bioengineering*, **120**, 2601-2621. <https://doi.org/10.1002/bit.28412>
- [35] Pfeiffer, F., Gröber, C., Blank, M., Händler, K., Beyer, M., Schultze, J.L., *et al.* (2018) Systematic Evaluation of Error Rates and Causes in Short Samples in Next-Generation Sequencing. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 10950. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29325-6>
- [36] 王国华, 吕军鸿, 雷晓玲, 等. 单分子 PCR 产物错误率分析[J]. 生物化学与生物物理进展, 2004, 31(2): 159-162.
- [37] 刘姗姗, 岳素文, 江洪, 等. 一种新的引物二聚体形成机制[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(1): 53-58.
- [38] Nikpay, M., Goel, A., Won, H.H., *et al.* (2015) A Comprehensive 1000 Genomes-Based Genome-Wide Association Meta-Analysis of Coronary Artery Disease. *Nature Genetics*, **47**, 1121-1130. <https://doi.org/10.1038/ng.3396>
- [39] The Coronary Artery Disease (C4D) Genetics Consortium (2011) A Genome-Wide Association Study in Europeans and South Asians Identifies Five New Loci for Coronary Artery Disease. *Nature Genetics*, **43**, 339-344. <https://doi.org/10.1038/ng.782>
- [40] Huang, X. and Yang, Y. (2009) Innate Immune Recognition of Viruses and Viral Vectors. *Human Gene Therapy*, **20**, 293-301. <https://doi.org/10.1089/hum.2008.141>
- [41] Lek, A., Wong, B., Keeler, A., *et al.* (2023) Unexpected Death of a Duchenne Muscular Dystrophy Patient in an N-of-1 Trial of rAAV9-Delivered CRISPR-Transactivator. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2023.05.16.23289881>
- [42] Dhungel, B.P., Winburn, I., da Fonseca Pereira, C., Huang, K., Chhabra, A. and Rasko, J.E.J. (2024) Understanding AAV Vector Immunogenicity: From Particle to Patient. *Theranostics*, **14**, 1260-1288. <https://doi.org/10.7150/thno.89380>
- [43] Fan, H. and Johnson, C. (2011) Insertional Oncogenesis by Non-Acute Retroviruses: Implications for Gene Therapy. *Viruses*, **3**, 398-422. <https://doi.org/10.3390/v3040398>
- [44] van der Loo, J.C.M., Swaney, W.P., Grassman, E., Terwilliger, A., Higashimoto, T., Schambach, A., *et al.* (2012) Critical Variables Affecting Clinical-Grade Production of the Self-Inactivating Gamma-Retroviral Vector for the Treatment of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency. *Gene Therapy*, **19**, 872-876. <https://doi.org/10.1038/gt.2012.37>
- [45] Tenenbaum, L., Lehtonen, E. and Monahan, P. (2003) Evaluation of Risks Related to the Use of Adeno-Associated Virus-Based Vectors. *Current Gene Therapy*, **3**, 545-565. <https://doi.org/10.2174/1566523034578131>
- [46] Guo, C., Ma, X., Gao, F. and Guo, Y. (2023) Off-Target Effects in CRISPR/Cas9 Gene Editing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **11**, Article ID: 1143157. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1143157>
- [47] Zuo, E., Sun, Y., Wei, W., Yuan, T., Ying, W., Sun, H., *et al.* (2019) Cytosine Base Editor Generates Substantial Off-Target Single-Nucleotide Variants in Mouse Embryos. *Science*, **364**, 289-292. <https://doi.org/10.1126/science.aav9973>
- [48] Brokowski, C. and Adli, M. (2019) CRISPR Ethics: Moral Considerations for Applications of a Powerful Tool. *Journal of Molecular Biology*, **431**, 88-101. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.05.044>

-
- [49] Ran, F.A., Hsu, P.D., Lin, C., Gootenberg, J.S., Konermann, S., Trevino, A.E., *et al.* (2013) Double Nicking by RNA-Guided CRISPR Cas9 for Enhanced Genome Editing Specificity. *Cell*, **154**, 1380-1389. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.021>
- [50] Xiong, X., Liu, K., Li, Z., Xia, F., Ruan, X., He, X., *et al.* (2023) Split Complementation of Base Editors to Minimize Off-Target Edits. *Nature Plants*, **9**, 1832-1847. <https://doi.org/10.1038/s41477-023-01540-8>