

CYP2D6 基因多态性对阿立哌唑血药浓度及临床疗效的影响^Δ

张璇^{1,2*}, 杨叶雅^{1,2}, 齐立国^{1,2} (1. 深圳市精神卫生中心, 广东深圳 518020; 2. 深圳市心理健康重点实验室, 广东深圳 518020)

中图分类号 R971⁺.3; R969.3; R968 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)18-1660-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.18.11

摘要 目的: 探讨细胞色素P₄₅₀酶亚型CYP2D6的基因多态性对阿立哌唑血药浓度及临床疗效的影响, 以为抗精神病药物个体化给药提供依据。方法: 84例符合诊断标准的精神分裂症患者接受阿立哌唑为期4周的治疗, 应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法(PCR-RFLP)检测84例患者CYP2D6 exon I C/T188位点的基因多态性; 采用反相高效液相色谱法测定阿立哌唑的谷血药浓度; 并在治疗第0、2、4周分别进行阳性和阴性综合征量表(PANSS)评分。结果: 在84例患者中, C/C型7例(8.3%), C/T型43例(51.2%), T/T型34例(40.5%)。CYP2D6 exon I C/T188位点基因型可影响血药浓度/剂量比, C/C型血药浓度/剂量比最高, C/T型次之, T/T型最低。3种不同的基因型中, 第2周末阿立哌唑的疗效差异无统计学意义, 而第4周末时阿立哌唑疗效差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: CYP2D6 exon I C/T188基因多态性可影响阿立哌唑的血药浓度及临床疗效。对于T/T型患者采用阿立哌唑治疗时可以加大起始剂量, 若加大起始剂量仍不能达到有效治疗浓度应考虑改用其他治疗方案; C/C型患者应给予相对较小的起始剂量就能达到治疗浓度, 减少由于血药浓度过高导致的药物毒性及不良反应。

关键词 阿立哌唑; CYP2D6; 基因多态性; 精神分裂症; 血药浓度

Influence of CYP2D6 Gene Polymorphisms on the Blood Concentration of Aripiprazole and Therapeutic Efficacies

ZHANG Xuan^{1,2}, YANG Ye-ya^{1,2}, QI Li-guo^{1,2} (1. Shenzhen Mental Health Center, Guangdong Shenzhen 518020, China; 2. Shenzhen Key Lab for Psychological Healthcare, Guangdong Shenzhen 518020, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To explore the influence of cytochrome P₄₅₀ CYP2D6 gene polymorphisms on the blood concentration and therapeutic efficacies of aripiprazole, and to provide reference for individual administration of antipsychotic drug. METHODS: 84 schizophrenia patients received treatment of aripiprazole for 4 weeks. The gene polymorphism of CYP2D6 exon I C/T188 in 84 patients were detected with PCR-RFLP. Trough concentration of aripiprazole was measured by RP-HPLC; and the therapeutic efficacies were evaluated with PANSS after 0, 2 and 4 weeks. RESULTS: Among 84 patients, there were 7 patients with C/C genotype (8.3%), 43 patients with C/T (51.2%), and 34 patients with T/T (40.5%). Blood concentration-dose ratios could be influenced by genotype of CYP2D6 exon I C/T188. The blood concentration-dose ratio of C/C genotype was the highest, those of T/T were the lowest and those of C/T were moderate. There was no significant difference in therapeutic efficacies among 3 genotypes after the treatment of aripiprazole for 2 weeks, but statistical significances were detected at 4th week ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: The gene polymorphisms of CYP2D6 exon I C/T188 may be associated with both blood concentration of aripiprazole and therapeutic efficacies. Patients with T/T genotype might choose higher initial dose; therapeutic regimen should be changed if efficaciesive concentration could not be reached even at higher initial dose. Patients with C/C genotype might choose lower initial dose, so as to reduce drug toxicity and adverse drug reaction owing to too much high concentration.

KEY WORDS Aripiprazole; CYP2D6; Gene polymorphism; Schizophrenia; Blood concentration

阿立哌唑是2002年美国上市的新型抗精神病药物, 国内2004年开始使用阿立哌唑片剂。体外研究表明^[1], 阿立哌唑主要是通过细胞色素P₄₅₀(CYP)的亚型CYP2D6和CYP3A4代谢的, 故该酶的多态性可能是导致药物作用个体差异的重要原因。为此, 本文研究了CYP2D6 exon I C/T188基因突变对阿立哌唑血药浓度及临床疗效的影响, 试图探讨中国人群中CYP2D6酶基因突变可否作为阿立哌唑药物反应的标记物, 代谢酶基因分型能否用来预测药物的临床疗效, 此研究将为阿立哌唑的个体化给药提供依据。

Δ 基金项目: 广东省医学科研基金资助项目(No.B2011285)

* 副主任药师, 博士。研究方向: 医院药学。电话: 0755-25533749。E-mail: zhangxuan0222@163.com

1 仪器与材料

1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); SmartSpec plus型核酸蛋白测定仪、T100型PCR仪、Gel Doc XR型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司); 5418台式高速离心机(德国Eppendorf公司)。

1.2 药品与试剂

阿立哌唑口腔崩解片(规格5 mg×20片, 国药准字H20060523)为成都康弘制药有限公司提供; 甲醇(色谱纯, 美国Fisher scientific公司); 冰醋酸、正戊烷(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂); 四甲基乙二胺(生化试剂, 美国Sigma公司)。

1.3 研究对象

研究对象共84例,为深圳市精神卫生中心2010—2012年收治的精神分裂症患者。入组标准:(1)汉族;(2)年龄18~65岁;(3)符合美国精神障碍诊断标准与统计手册第4版(DSM-IV)中精神分裂症的诊断标准,且无合并其他精神疾病;(4)阳性和阴性综合征量表(The positive and negative syndrome scale, PANSS)评分总分60分以上。排除标准:(1)患有严重的躯体疾病;(2)近2周服用过长效抗精神病药物;(3)孕期或哺乳期妇女;(4)实验室检查有明显异常,如肝、肾功能异常,超过正常标准上限1.5倍;(5)HIV病毒感染者或药物滥用者。本研究得到深圳市精神卫生中心医学伦理委员会批准,所有的受试者或其合法监护人均签署知情同意书。

2 方法

2.1 阿立哌唑给药方案

患者经过1周的洗净期后进行治疗前基线评定,随后单一应用阿立哌唑治疗,疗程共4周。初始剂量为10 mg/d,每隔1~3天增量1次,增量幅度为5 mg/d,推荐剂量范围为10~30 mg/d。整个观察期间可根据患者的病情和耐受情况适当调整剂量,最大剂量为30 mg/d,剂量大时可分为每日2次服用。观察期间不合并其他抗精神病药物及电休克治疗,必要时可合并苯二氮草类药物和抗震颤麻痹药物。

2.2 阿立哌唑血药浓度的测定

血药浓度的检测严格规范患者服药时间和采血时间。患者于前日20:00服用阿立哌唑,次日早晨8:00服药前抽取非抗凝血5 ml,采用反相高效液相色谱法测定血清中阿立哌唑的谷血药浓度。色谱条件:色谱柱为Agilent ODS C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水-四甲基乙二胺-冰醋酸(63:37:0.44:0.36);流速为1 ml/min;柱温为40 ℃;检测波长为254 nm;进样体积为20 μl。样品处理:取血清1 ml,加安定内标溶液5 μl,用0.1 mol/L NaOH 100 μl碱化,摇匀,加萃取溶剂正戊烷5 ml,一次涡旋振荡提取1 min,静置或离心2 min,取上层有机相置50 ℃水浴中挥干,残留物用100 μl流动相涡旋复溶,取20 μl注入色谱仪。阿立哌唑血药浓度在10~800 ng/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系。萃取回收率及方法回收率均大于90%,日内、日间相对标准差均小于15%。

2.3 CYP2D6/C188T基因多态性的分析

抽取静脉血5 ml,乙二胺四乙酸抗凝,4 ℃条件保存,1周内用酚-氯仿法提取外周血基因组DNA。参考文献^[2-3]采用聚合酶链反应(PCR)和限制性内切片段多态性(RFLP)方法分析CYP2D6/C188T的多态性。引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成,上游引物5'-TCGGTGTGCTGAGAGT-GTCCT-3',下游引物5'-TGTTTCACCCACCATCCAT-3',产物片段长度为355 bp。PCR反应体系25 μl,含基因组DNA 2 μl、上下游引物(25 pmol/μl)各1 μl、2.5 mmol/L dNTP 2.5 μl、10×PCR Buffer 2.5 μl、Taq酶2 U,加灭菌双蒸水(ddH₂O)使总体积达到25 μl。PCR反应条件:95 ℃预变性10 min,95 ℃变性45 s,61 ℃退火45 s,72 ℃延伸1 min,35个循环,72 ℃延伸10 min。酶切反应体系20 μl,含PCR扩增产物10 μl、限制性内切酶Hph I 10 U、10×缓冲液2 μl,37 ℃水浴16 h。

2.4 临床疗效的评定

治疗前后均进行PANSS评分,以PANSS减分率=[(治疗前评分-治疗后评分)/(治疗前评分-基线30)×100%]来评价疗效。PANSS减分率≥30%为有效,<30%则为无效^[4]。

2.5 统计分析

以SPSS 13.0软件进行统计分析。采用 χ^2 检验各基因位点是否符合Hardy-Weinberg平衡;各基因型组间计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用方差分析;各基因型与阿立哌唑疗效的比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 PCR-RFLP结果

对84例患者样本进行CYP2D6/C188T位点的基因多态性分析,结果见图1。野生型含1个Hph I酶切识别位点,酶切产物有287、68 bp 2个片段;突变纯合子因碱基C被T替换,产生新的酶切位点,酶切产物有187、100、68 bp 3个片段;突变杂合子则有287、187、100、68 bp 4个片段。

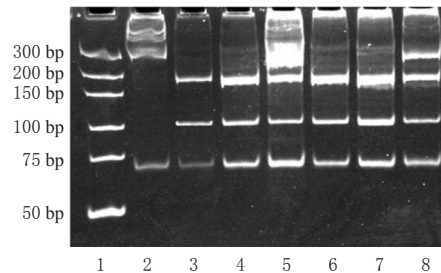


图1 CYP2D6/C188T位点扩增产物的酶切分析结果

1. DNA marker; 2. 野生型; 3, 4, 6, 7. 突变纯合子; 5, 8. 突变杂合子

Fig 1 Results of restriction digestion of the amplification products containing CYP2D6/C188T

1. DNA marker; 2. wild type; 3, 4, 6, 7. mutation homozygotes; 5, 8. mutation heterozygous

3.2 基线资料比较

84例阿立哌唑治疗4周的精神分裂症患者中野生型C/C、突变纯合子T/T、突变杂合子C/T的基因型发生频率分别为8.3%、51.2%、40.5%,等位基因分布符合Hardy-Weinberg平衡($P > 0.05$),不同组别患者的性别、年龄、体质量及PANSS基线评分比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 3组基因型之间基线资料比较

Tab 1 Comparison of basic information among 3 genotype groups

项目	CYP2D6/C188T基因型		
	C/C(n=7)	C/T(n=43)	T/T(n=34)
性别(男/女),例	4/3	24/19	20/14
年龄($\bar{x} \pm s$),岁	34.8 ± 8.3	36.4 ± 10.8	34.2 ± 5.3
体质量($\bar{x} \pm s$),kg	53.2 ± 12.5	56.3 ± 10.3	57.7 ± 11.8
PANSS评分($\bar{x} \pm s$),分	72.2 ± 6.7	69.2 ± 10.8	73.6 ± 7.5

3.3 CYP2D6/C188T基因型与阿立哌唑血药浓度/剂量比的关系

患者组分别于服药2周末和4周末测定血药浓度,分析CYP2D6/C188T基因多态性与血药浓度/剂量比的关系可见,阿立哌唑血药浓度/剂量比从高到低的顺序依次为C/C型、C/T型、T/T型,结果差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

3.4 CYP2D6/C188T基因型与阿立哌唑疗效的比较

分别在治疗第2周末和第4周末分析患者的CYP2D6/C188T 3个基因型与临床疗效的相关性,见表3。结果表明,对于3组不同的基因型,在2周末时阿立哌唑的疗效差异无统计

表2 CYP2D6/C188T不同基因型患者阿立哌唑血药浓度($\mu\text{g/L}$)/剂量[$\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$]比($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparison of blood concentration ($\mu\text{g/L}$)/dose[$\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$] ratio of aripiprazole among various genotypes of CYP2D6/C188T($\bar{x}\pm s$)

基因型	例数	第2周末	第4周末
C/C	7	191.9 \pm 53.6	231.1 \pm 70.0
C/T	43	186.8 \pm 63.1	202.1 \pm 61.6
T/T	34	153.3 \pm 45.3	158.1 \pm 69.3
P		0.017	0.003

学意义($\chi^2=0.848, P=0.655$);而第4周末时,各组间疗效有显著性差异($\chi^2=6.094, P=0.047$)。C/C型的有效率为85.7%、C/T型的有效率为76.7%,而T/T型的有效率仅为52.9%。

表3 CYP2D6/C188T基因型与阿立哌唑疗效评价[例(%)]

Tab 3 Comparison of therapeutic effect of aripiprazole among various genotypes of CYP2D6/C188T [case (%)]

基因型	例数	第2周末		第4周末	
		有效	无效	有效	无效
C/C	7	4(57.1)	3(42.9)	6(85.7)	1(14.3)
C/T	43	26(60.5)	17(39.5)	33(76.7)	10(23.3)
T/T	34	17(50.0)	17(50.0)	18(52.9)	16(47.1)

4 讨论

CYP2D6又称异喹啉4-羟化酶,最早于1984年从快代谢者的肝微粒体中纯化出来,主要分布在肝脏、小肠和脑组织中。CYP2D6基因总长为7 kb,含有9个外显子和8个内含子,编码碱基序列全长149 bp,编码497个氨基酸。抗精神病药物的代谢主要由CYP催化,其中,CYP2D6参与了许多抗精神病药物的催化代谢^[5]。Zhang JP等^[6]研究表明,CYP2D6是利培酮、阿立哌唑、氯丙嗪、奋乃静等的主要代谢途径,CYP2D6的基因多态性在不同个体中的差异明显,因而对临床疗效产生了较大影响。Kirchheiner J等^[7]进行了荟萃分析,揭示了大约50%的常用抗精神病药物的剂量取决于CYP2D6基因型。Kang RH等^[8]研究了64例韩国精神分裂症患者经利培酮治疗后,CYP2D6和CYP3A5基因型对血浆中利培酮及9-羟基利培酮浓度的影响,发现CYP2D6基因型对药物浓度影响显著。

本研究应用PCR-RFLP法分析CYP2D6基因22号染色体上第一外显子188位C-T突变位点的基因型,对84例患者研究发现,有7例为野生型(未发生突变)、43例为突变杂合子、34例为突变纯合子。考察CYP2D6/C188T基因突变对血药浓度及临床疗效的影响,结果表明,CYP2D6 exon I C/T188基因突变可影响阿立哌唑血药浓度/剂量比,从高到低的顺序依次为C/C型、C/T型、T/T型。提示基因突变可能使代谢酶的活性增加,从而使血药浓度降低。此研究结果与文献报道相一致^[9-10]。

在第2周末和第4周末分别考察了基因型对临床疗效的影响,结果显示,随着治疗时间的延长,有效的患者数增加,3种基因型第4周末均比第2周末的有效患者数增加。3种不同的基因型中,第2周末阿立哌唑的疗效差异无统计学意义,而第4周末时阿立哌唑疗效差异有统计学意义($P<0.05$)。但鉴于P值接近0.05,要明确两者的关系,还需进一步扩大样本,进

行重复性验证试验。

综上,可根据CYP2D6/C188T位点的基因多态性作为阿立哌唑个体化给药的依据,在给药初始剂量时就作出调整,使阿立哌唑尽快达到治疗浓度。具体而言,对于T/T型患者采用阿立哌唑治疗时可以加大起始剂量,若加大起始剂量仍不能达到有效治疗浓度应考虑改用其他治疗方案;C/C型患者应给予相对较小的起始剂量就能达到治疗浓度,减少由于血药浓度过高导致的药物毒性及不良反应。由此可变被动监测为主动预测,根据药物代谢酶相关基因多态性对血药浓度的影响,选择适宜的初始剂量。本研究将为抗精神病药物的个体化给药提供一定的科学依据。

(致谢:感谢成都康弘制药有限公司为本研究提供的大力支持。)

参考文献

- [1] Swainston Harrison T, Perry CM. Aripiprazole: a review of its use in schizophrenia and schizoaffective disorder[J]. *Drugs*, 2004, 64(15): 1 715.
- [2] 燕贞,吴逸明,吴拥军.CYP2D6*10多态性与肺癌易感性[J]. *中国医学科学院学报*, 2008, 30(5): 564.
- [3] Pan JH, Han JX, Wu JM, et al. CYP₄₅₀ polymorphisms predict clinic outcomes to vinorelbine-based chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *Acta Oncol*, 2007, 46(3): 361.
- [4] 黄颀,刘协和,许珂,等.精神分裂症患者细胞色素P₄₅₀ 2D6酶基因多态性与利培酮治疗效应的关系[J]. *中华精神科杂志*, 2002, 35(2): 103.
- [5] 陈丽芳,姜建石.与细胞色素P₄₅₀ 2D6相关的药物相互作用研究[J]. *中国药房*, 2008, 19(29): 2 300.
- [6] Zhang JP, Malhotra AK. Pharmacogenetics and antipsychotics: therapeutic efficacy and side effects prediction[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2011, 7(1): 9.
- [7] Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response[J]. *Mol Psychiatry*, 2004, 9(5): 442.
- [8] Kang RH, Jung SM, Kim KA, et al. Effects of CYP2D6 and CYP3A5 genotypes on the plasma concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in Korean schizophrenic patients[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2009, 29(3): 272.
- [9] 张新建,关晓峰,张森.细胞色素P₄₅₀ 2D6/C188T酶基因多态性与阿立哌唑治疗效应的关系[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2007, 41(4): 359.
- [10] Mas S, Gassò P, Alvarez S, et al. Intuitive pharmacogenetics: spontaneous risperidone dosage is related to CYP2D6, CYP3A5 and ABCB1 genotypes[J]. *Pharmacogenomics J*, 2012, 12(3): 255.

(收稿日期:2013-01-09 修回日期:2013-02-04)