

基于孕烷X受体基因多态性指导肾移植受者他克莫司的个体化用药[△]

王金平*,李澎灏#,李雯,李璐(深圳市第二人民医院药剂科,广东深圳 518035)

中图分类号 R979.5;R969.3;R968 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)22-2049-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.22.12

摘要 目的:研究肾移植受者孕烷X受体(PXR-C24381A)基因多态性与他克莫司(FK506)给药剂量的关系。方法:采用聚合酶链反应(PCR)产物直接测序法对60例肾移植术后受者进行PXR-C24381A基因分型,采用酶联免疫吸附分析法(ELISA法)测定FK506的血药浓度,比较不同基因型患者FK506血药浓度与给药剂量比值(C/D值)的差异。结果:肾移植受者PXR-C24381A等位基因C的频率为75%,A的频率为25%。C/A基因型与C/C基因型患者C/D值显著高于A/A基因型患者($P<0.05$)。结论:肾移植受者PXR-C24381A基因多态性与FK506血药浓度具有相关性,A/A基因型患者拟取得相似的血药浓度需要比C/A和C/C基因型患者服用更高剂量的FK506。

关键词 他克莫司;基因多态性;血药浓度;剂量

Guidance for Individual Administration of Tacrolimus in Kidney-transplanted Patients According to Pregnane X Receptor Genetic Polymorphism

WANG Jin-ping, LI Peng-hao, LI Wen, LI Lu (Dept. of Pharmacy, Shenzhen Second People's Hospital, Guangdong Shenzhen 518035, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the relationship between pregnane X receptor (PXR-C24381A) genetic polymorphism and dosage of tacrolimus (FK506) in kidney-transplanted patients. METHODS: The PXR genotypes of 60 kidney-transplanted patients were determined by PCR- direct sequencing. Blood concentration of FK506 was measured by ELISA. The blood concentration of FK506 in patients with different genotypes was compared with dosage (C/D ratio). RESULTS: The frequency of PXR-C24381A allele C was 75%, and that of allele A was 25%. C/D ratio of patients with A/A genotype was significantly lower than those with C/A genotype or C/C genotype ($P<0.05$). CONCLUSIONS: PXR-C24381A polymorphism is correlated with the blood concentration of FK506 in kidney-transplanted patients. If the same blood concentration of FK506 is presented in three genotypes, patients with A/A genotype should take higher dosage than those with C/C and C/A genotypes.

KEY WORDS Tacrolimus; Genetic polymorphism; Blood concentration; Dosage

他克莫司(FK506)在心、肝、肾等各种器官移植的抗排斥反应治疗中有很好的疗效^[1-3]。因其作用强大且不良反应较环孢素少等,临床上正逐渐取代环孢素而成为器官移植和自身免疫性疾病的首选药,在移植领域具有广阔的应用前景^[4-6]。FK506在临床上常见的毒副作用主要有肾毒性、神经毒性以及糖尿病等。由于其治疗窗窄,常在治疗浓度范围内出现毒性反应;此外在药动学和药效学上存在着明显的个体差异,且血药浓度与给药剂量间相关性不佳,给临床治疗增加了相当的难度。随着研究的深入,人们发现患者个体遗传特征极大地影响了该药的药动学,目前已肯定对FK506药动学有影响的基因只有药物代谢酶细胞色素P₄₅₀3A5(CYP3A5)。孕烷X受体基因(NR1H2)作为关键的转录调控因子,参与CYP3A5基因诱导表达,影响药物的代谢。但关于肾移植受者孕烷X受体(PXR-C24381A)基因多态性对FK506药动学影响的研究国内、外未见报道。为此,本研究拟采用聚合酶链反应(PCR)产物直接测序法对60例肾移植受者进行PXR-C24381A基因分型,监测患者服用FK506后的血药浓度,分析肾移植受者

PXR-C24381A基因多态性对FK506血药浓度的影响,从而为FK506的个体化用药提供指导。

1 资料与方法

1.1 病例资料

选择2011年9月至2012年9月在我院门诊就诊的肾移植受者60例,其中男性39例,女性21例,年龄24~59岁,平均40.1岁,平均体质量57.9 kg。所有入选病例均签署知情同意书。病例入选标准:(1)能够保证口服药物与随访依从性;(2)均采用FK506+吗替麦考酚酯(MMF)+醋酸泼尼松(Pred)三联免疫抑制方案;(3)均不使用红霉素、利福平等对FK506血药浓度有显著影响的药物;(4)如患者术后1个月内出现严重的排异反应或并发重症感染均作为排除对象,不包括在本次试验中。

1.2 PXR-C24381A基因型检测

按照AxyPrep血基因组DNA小量试剂盒说明书,提取60例肾移植术后受者外周血基因组DNA。采用PCR产物直接测序法对60例患者进行PXR-C24381A基因分型。PCR引物为:上游引物5'-CCC CTT TTC CTG TGT TTT TG-3',下游引物5'-CAA CAT TAA GTG ATT GTT TTC ATGC-3'。PCR扩增条件为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸1 min,循环35次;最后72℃延伸5 min。PCR产物用1.0%琼脂糖凝胶分析后,经纯化用ABI 377测序仪直接测序。

1.3 FK506的血药浓度检测

△基金项目:深圳市科技计划资助项目(No.201203053)

*主管药师。研究方向:临床药学及药物基因组学。电话:0755-83366388-2297。E-mail: wjphappy89@yahoo.com.cn

#通信作者:副主任药师。研究方向:临床药学及药物基因组学。电话:0755-83366388-2229。E-mail: lphxxm_szb@126.com

患者于前一日晚 20:00 服用 FK506, 次日早晨 8:00 服药前抽血 1 ml (肝素抗凝), 采血后 3 h 内即对样本进行测试。采用酶联免疫吸附分析法 (ELISA 法) 测定 FK506 的血药浓度。根据个体服药剂量计算出血药浓度与给药剂量比值 (C/D 值)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组之间比较用 *t* 检验; 计数资料以频数表示, 各组之间比较用卡方检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Sanger 检测图谱

图中箭头所指的即为 PXR-C24381A 检测位点, 如果出现双峰提示有突变, 见图 1。

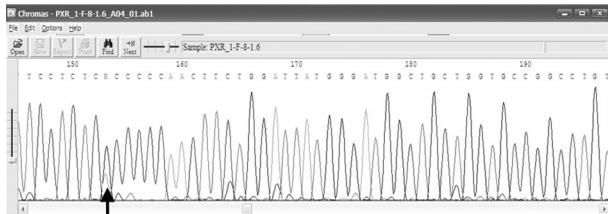


图 1 PXR-C24381A 检测位点

Fig 1 The detection sites of PXR-C24381A

2.2 PXR-C24381A 基因分型结果

60 例肾移植受者中 PXR 基因 24381C→A 的基因多态性中, 野生型纯合子 (C/C 基因型) 43 例, 占总例数的 71.67%; 突变型纯合子 (A/A 基因型) 13 例, 占总例数的 21.67%; 突变型杂合子 (C/A 基因型) 4 例, 占总例数的 6.67%。等位基因 C 的频率为 75%, A 的频率为 25%。

2.3 血药浓度和服药剂量比

不同的基因型患者 FK506 血药浓度/剂量比值 (C/D, $\mu\text{g/L}$ per mg/kg) 不同。A/A 基因型患者 C/D 值最低, C/A 基因型和 C/C 基因型患者的 C/D 值接近, 均明显高于 A/A 基因型患者 ($P < 0.05$)。A/A 基因型患者拟取得相同的血药浓度要比 C/A 基因型和 C/C 基因型患者服用更高剂量的 FK506, 见图 2。

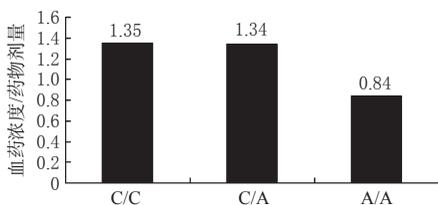


图 2 肾移植受者不同基因型间 FK506 C/D 值比较

Fig 2 Comparison of C/D ratio and blood concentration among kidney-transplanted patients with different genotypes

3 个体化给药的指导

根据基因测定结果, 结合 FK506 的药动学参数, 调整给药方案。对于 A/A 基因型的患者, 当服药量已到 7 mg/d 或 8 mg/d, 血药浓度检测结果仍然在 3~4 ng/ml 之间 (参考值范围: 5~10 ng/ml) 时, 临床药师会向患者告知遗传因素对血药浓度的影响, 同时和医师沟通, 建议患者可以继续增加药物剂量 0.01 mg/(kg·d)。对于 C/A 和 C/C 基因型的患者, 当服药剂量已到

7 mg/d 或者 8 mg/d, 血药浓度检测结果也在 3~4 ng/ml 时, 首先临床药师会询问患者的合并用药情况、服用药物时间、饮食及有无腹泻等, 告知患者要在医师的指导下服用和 FK506 有相互作用的药物, 每日的药物分 2 次投予, 最好是在空腹或至少进食前 1 h 或进食后 2~3 h 服用胶囊; 关注可影响 FK506 血药浓度的其他情况, 如肝肾功能变化等, 而不建议直接增加药物剂量。

4 讨论

随着肾移植技术的不断完善, 终末期肾病的治疗方法主要是通过肾移植疗法, 对于肾移植患者来说, 是需要终身服用免疫抑制剂的。FK506 是一种脂溶性的免疫抑制剂, 主要通过抑制白介素 2 (IL-2) 的释放, 全面抑制 T 淋巴细胞的作用, 是肾移植术后的首选药。目前, 临床上一直对 FK506 进行常规的治疗药物检测 (TDM), 根据药物浓度给患者调整用药剂量^[1]。但这个做法的弱点是血药浓度与给药剂量间相关性不佳, 有的患者每日服药量已达到最大推荐日剂量, 但血药浓度仍然偏低, 这种情况下该不该加药成为临床治疗的一个困惑。

本研究发现, A/A 基因型患者 FK506 的 C/D 值低于 C/A 基因型和 C/C 基因型患者, 肯定了 PXR-C24381A 基因多态性是影响 FK506 血药浓度的重要因素。PXR-C24381A 基因多态性可以作为免疫抑制剂个体化用药的依据, 有助于结合血药浓度的检测结果调整 FK506 的剂量, 有效降低肾移植术后急性排斥反应 (AR) 的发生率和药物的毒性及不良反应, 进一步提高移植肾的存活率。

参考文献

- [1] 侯明明, 侯颖, 宋洪涛, 等. 肾移植患者 CYP3A4 基因多态性对他克莫司疗效和不良反应的影响[J]. 中国药房, 2010, 21(26): 2428.
- [2] Connor A, Prowse A, MacPhee I, et al. Generic tacrolimus in renal transplantation: trough blood concentration as a surrogate for drug exposure[J]. *Transplantation*, 2012, 93(12): 45.
- [3] Ogawa Y, Okamoto S, Kuwana M, et al. Successful treatment of dry eye in two patients with chronic graft-versus-host disease with systemic administration of FK506 and corticosteroids[J]. *Cornea*, 2001, 20(4): 430.
- [4] Ashavaid TF, Raje HS, Shah BV, et al. Design of allele specific PCR for rapid detection of CYP3A5 (A6986G) and Mdr-1 (C3435T) polymorphisms[J]. *Indian J Clin Biochem*, 2011, 26(1): 18.
- [5] Siddiqi N, Marfo K. Clinically significant drug-drug interaction between tacrolimus and phenobarbital: the price we pay[J]. *J Pharm Pract*, 2010, 23(6): 585.
- [6] Tanaka K, Lake J, Villamil F, et al. Comparison of cyclosporine microemulsion and tacrolimus in 39 recipients of living donor liver transplantation[J]. *Liver Transpl*, 2005, 11(11): 1395.
- [7] 丁春雷, 刘丽宏, 马萍, 等. 他克莫司治疗药物监测研究进展[J]. 中国药房, 2008, 19(20): 1580.

(收稿日期: 2013-02-01 修回日期: 2013-03-13)