·不良反应与监测·

CYP3A5(6986A>G)基因多态性与多西他赛不良反应的相关性$^{\Delta}$

祝伟伟*,郭晨煜,张　雷,李康琪,王　婧,孙永旭,陆丛笑#(青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院药学部,山东烟台　264000)

中图分类号　R969.3;R979.1+1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408(2016)14-1929-03

DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2016.14.17

摘　要　目的:分析细胞色素P_{450}酶(CYP)3A5(6986A>G)基因多态性与多西他赛不良反应(ADR)之间的相关性,为减少多西他赛所致ADR提供有效建议。方法:采用前瞻性队列研究,用焦磷酸测序的方法检测患者的CYP3A5(6986A>G)基因型,建立显性遗传模型,并使用SPSS 20.0评估基因型与该药所致ADR之间的相关性。结果:共纳入117例患者,其中野生型(AA)3例、突变杂合型(AG)30例、突变纯合型(GG)84例。显性遗传模型的统计分析结果显示,CYP3A5(6986A>G) GG组的周围神经毒性和指/趾甲毒性发生率显著高于(AA+AG)组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:CYP3A5(6986A>G)GG基因型显著增加了多西他赛所致周围神经毒性和指/趾甲毒性的发生风险。

关键词　细胞色素P_{450}酶3A5;基因多态性;多西他赛;不良反应

Correlation between CYP3A5(6986A>G)Gene Polymorphism and ADRs Caused by Docetaxel

ZHU Weiwei,GUO Chenyu,ZHANG Lei,LI Kangqi,WANG Jing,SUN Yongxu,LU Congxiao(Dept. of Pharmacy, Yantai Yuhuangding Hospital Affiliated to Qingdao University School of Medicine, Shandong Yantai 264000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE: To analyze the correlation between CYP3A5(6986A>G) gene polymorphism and ADRs caused by docetaxel in order to provide suggestions for reducing the ADR caused by docetaxel. METHODS: In prospective cohort study, pyrosequencing was adopted to detect CYP3A5 genotype (6986A>G). Dominant genetic model was established, and the correlation between genotype and ADR caused by docetaxel was evaluated by SPSS 20.0. RESULTS: 117 patients were included. Among them, the number of wild type (AA), mutation heterozygous type (AG), mutation homozygous type (GG) was 3, 30 and 84 respectively. Dominant genetic model showed that the incidence of peripheral neurotoxicity and finger/toe nail toxicity in group GG was significantly higher than that of (AA+AG) group, with statistical significance ($P<0.05$). CONCLUSIONS: CYP3A5 (6986A>G) GG genotype significantly increase the incidence of peripheral neurotoxicity and finger/toe nail toxicity caused by docetaxel.

KEYWORDS　CYP3A5; Gene polymorphism; Docetaxel; ADR

北京:人民卫生出版社,2015:730-731.
[5] Clinical and Laboratory Standard Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-First informational supplement*[S].2011-01-30.
[6] 张秀珍,朱德妹.临床微生物检验问与答[M].2版.北京:人民卫生出版社,2014:325.
[7] 鲁梅华,洪永富.脑膜炎败血黄杆菌致恶性肿瘤患者下呼吸道感染的临床分析[J].中国微生态学杂志,2014,26(8):935.
[8] 黄庆宁,刘丁,陈萍,等.脑膜败血伊丽莎白菌引发成年患者下呼吸道感染的危险因素及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2012,22(14):3 028.
[9] 吴朝霞,方寅飞.重症患者继发脑膜败血伊丽莎白菌感染的临床病因与耐药性[J].中国微生态学杂志,2016,28(1):72.
[10] 陈杏春,农生洲.脑膜败血伊丽莎白菌研究进展[J].检验医学与临床,2013,10(23):3 213.
[11] 陈杏春,农生洲,赵丽,等.脑膜败血伊丽莎白菌耐药性和耐药表型研究[J].中国临床新医学,2014,7(12):1 113.
[12] 杨佰侠,林祥宏,李涛,等.脑膜炎败血黄杆菌体外抗药活性及金属β-内酰胺酶基因型研究[J].临床输血与检验,2008,10(2):114.
[13] 孙桂芹,李蒙,王蕾,等.脑膜炎败血伊丽莎白金菌感染的临床分布及耐药性分析[J].中国微生态学杂志,2014,26(5):540.
[14] 于涛,马芸,姜晓冰.医院环境分离脑膜败血伊丽莎白菌耐药性及同源性分析[J].中国卫生检验杂志,2014,24(19):2 821.
[15] 罗勇.脑膜炎败血性黄杆菌肺部感染1例[J].中国感染与化疗杂志,2013,13(5):393.

(收稿日期:2016-01-12　修回日期:2016-03-12)
(编辑:张元媛)

Δ 基金项目:山东省药学会临床药学奥赛康中青年科研资助项目(No.Sdpa-ask-2012-01)

＊主管药师。研究方向:临床药学。电话:0535-6679498。E-mail:75016153@ qq.com

通信作者:主任药师。研究方向:临床药学。电话:0535-6679498。E-mail:lcx711@aliyun.com

www.china-pharmacy.com 中国药房网

多西他赛是第二代紫杉烷类药物，主要通过阻止微管蛋白解聚、维持微管结构稳定，使细胞内积累大量微管，从而干扰细胞的各种功能，抑制有丝分裂，诱导细胞凋亡[1]。相比紫杉醇，多西他赛与微管结合部位的亲和力和抑制微管解聚和促进微管合成的能力更高，有更好的水溶性和更低的毒副作用，与多种化疗药物具有协同抗癌作用[2]，近年来逐渐成为一线化疗药物，在临床上广泛应用于乳腺癌和卵巢癌，对肺癌、头颈部癌和胃癌等也有一定的疗效[3]。目前研究表明，肿瘤患者对于该药物的敏感性和毒副作用存在明显的个体差异，临床化疗有效率仅为30%～40%，患者在接受化疗过程中和化疗后可出现多种毒副反应，包括骨髓抑制、神经毒性、消化道反应、低血压休克等。细胞色素 P_{450} 酶（CYP）3A5是多西他赛重要的代谢酶，其基因多态性会影响药物的体内代谢，从而导致个体药物效应和不良反应（ADR）的差异[4-11]。本研究选取CYP3A5（6986A>G）来探索药物代谢酶的基因多态性与多西他赛ADR之间的关系，采用前瞻性队列研究的方法，直接测序，判断117例使用多西他赛患者的CYP3A5（6986A>G）基因型，并分析该基因型对多西他赛所致ADR的影响，探索多西他赛ADR发生的遗传因素，以期为临床用药的安全性提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2013年12月－2015年5月在我院接受多西他赛治疗的患者117例，所有纳入患者均详细记录一般人口学资料，包括年龄、性别、身高、体质量、吸烟史、饮酒史等，采用住院期间随访和电话随访相结合的方式，详细记录和评估患者的ADR。本研究方案经医院医学伦理委员会批准，所有入组患者或其家属均自愿签署知情同意书。

1.2 仪器

TC-96/G/H(b)C聚合酶链反应（PCR）仪（杭州博日科技有限公司），Q24焦磷酸测序仪（德国Qiagen公司）。Magen血液DNA小量提取试剂盒（广州美基生物科技有限公司）；焦磷酸测序试剂盒（德国Qiagen公司），由于分多次测序所以试剂盒的批号较多无法一一列举。

1.3 研究方法

1.3.1 DNA提取　采用乙二胺四乙酸（EDTA）抗凝管采集外周血2.0 ml，使用血液DNA小量提取试剂盒提取基因组DNA。

1.3.2 PCR扩增　反应体系（50 μl）：10* Buffer 5 μl，25 mmol /L氯化镁（$MgCl_2$）3 μl，三磷酸脱氧核糖核苷（dNTPs）3 μl，前、反向引物各1 μl，Taq DNA聚合酶0.5 μl，DNA模板 2 μl。反应条件：PCR反应参数为95 ℃ 5 min；95 ℃ 30 s，61 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，35个循环；72 ℃ 7 min。

1.3.3 测序　采用Qiagen公司的Q24焦磷酸测序仪进行直接测序。

1.3.4 队列研究　根据测序结果将患者分为野生型（AA）组、突变杂合型（AG）组、突变纯合型（GG）组，并选择适当的遗传学模型开展研究；参照世界卫生组织（WHO）化疗毒副作用分级标准对ADR进行分级[12]，选取Ⅱ级以上毒性反应的发生率作为研究指标。

1.4 统计学方法

（1）对CYP3A5（6986A>G）基因分型结果进行 χ^2 检验，检验水准 $\alpha=0.05$，判断等位基因分布是否符合Hardy-Weinberg（H-W）遗传平衡。$P>0.05$ 时认为样本人群该基因频率处于H-W遗传平衡状态，具有恒定性。

（2）通过软件SPSS 20.0分析数据，应用 χ^2 检验，检验水准 $\alpha=0.05$，判断不同组间ADR发生率的差异。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

（3）多因素分析采用Logistic回归分析，检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 CYP3A5（6986A>G）基因分型结果

应用焦磷酸测序技术对CYP3A5（6986A>G）进行有效等位基因分型，该位点具有A和G两种等位基因。其中，AA型3例（2.6%），AG型30例（25.6%），GG型84例（71.8%），A、G等位基因频率分别为15.4%、84.6%，样本分布符合H-W遗传平衡（$\chi^2=0.026\ 86$，$P=0.986\ 66$）。

2.2 不同CYP3A5（6986A>G）等位基因与ADR发生率的关系

在入组的117例患者当中，发生Ⅱ级以上骨髓抑制42例、恶心呕吐15例、口腔问题6例、腹泻21例、神志问题6例、周围神经毒性30例、便秘6例、心功能异常3例、肺功能异常9例、皮肤毒性9例、脱发9例、指/趾甲毒性40例。建立显性遗传模型，采用SPSS 20.0对结果进行 χ^2 分析。结果显示，GG组患者的周围神经毒性和指/趾甲毒性显著高于（AA+AG）组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。不同CYP3A5（6986A>G）基因型与多西他赛各类ADR的发生率见表1。

表1　不同CYP3A5（6986A>G）基因型与多西他赛各类ADR的发生率[n（%）]

Tab 1　CYP3A5（6986A>G）genetypes and docetaxel related ADR[case（%）]

ADR类型	CYP3A5（6986A>G）		P
	AA+AG（n=33）	GG（n=84）	
骨髓抑制	12（36.36）	30（35.71）	1.000
恶心呕吐	3（9.09）	12（14.29）	0.552
口腔问题	3（9.09）	3（3.57）	0.349
腹泻	3（9.09）	18（21.43）	0.180
神志问题	3（9.09）	3（3.57）	0.349
周围神经毒性	3（9.09）	27（32.14）	0.010
便秘	3（9.09）	3（3.57）	0.349
心功能异常	0（0）	3（3.57）	0.558
肺异常	3（9.09）	6（7.14）	0.710
皮肤毒性	3（9.09）	6（7.14）	0.710
脱发	3（9.09）	6（7.14）	0.710
指/趾甲毒性	6（18.18）	34（40.48）	0.030

2.3 Logistic回归分析

2.3.1 周围神经毒性　通过SPSS 20.0软件对患者的周围神经毒性进行多因素Logistic回归分析，结果显示基因型是患者服用多西他赛发生周围神经毒性的独立危险因素[比值比（OR）=4.611，$P<0.05$]。周围神经毒性的多因素Logistic回归结果见表2。

表2　周围神经毒性的多因素Logistic回归结果

Tab 2　Results of multinomial Logistic regression of peripheral neurotoxicity

因素	回归系数	标准误	Wald	P	OR
性别	－0.739	1.153	0.411	0.520	0.478
年龄	0.013	0.024	0.300	0.584	1.013
身高	－0.002	0.020	0.015	0.903	0.998
体质量	－0.050	0.034	2.252	0.133	0.951
吸烟	－0.492	1.128	0.190	0.663	0.612
饮酒	0.742	0.885	0.704	0.402	2.101
基因型（AA+AG vs. GG）	1.529	0.642	5.669	0.017	4.611

中国药房网 www.china-pharmacy.com

2.3.2　指/趾甲毒性　通过软件SPSS 20.0对患者的指/趾甲毒性进行多因素Logistic回归分析，结果显示基因型是患者服用多西他赛发生指/趾甲毒性的独立危险因素（OR＝3.788，$P<0.05$）。指/趾甲毒性的多因素Logistic回归结果见表3。

表3　指/趾甲毒性的多因素Logistic回归结果

Tab 3　Results of multinomial Logistic regression of finger/toe nail toxicity

因素	回归系数	标准误	Wald	*P*	OR
性别	－1.648	1.299	1.611	0.204	0.192
年龄	0.026	0.023	1.342	0.247	1.026
身高	－0.022	0.019	1.403	0.236	0.978
体质量	－0.001	0.029	0.000	0.984	0.999
吸烟	2.416	1.257	3.694	0.055	11.202
饮酒	－1.181	0.804	2.154	0.142	0.307
基因型(AA+AG vs. GG)	1.332	0.536	6.184	0.013	3.788

3　讨论

ADR的发生受许多因素的影响，而遗传因素起到关键作用，探索应用个体遗传信息预测ADR是个性化治疗的核心问题。近年来药物基因组学研究越来越广泛和深入，然而仅有少数基因多态性/突变得到明确结论，仍有很多相关基因多态性对药物有效性和安全性的预测价值有待进一步确定。

Baker SD等[13]报道，CYP3A5（6986A＞G）等位基因A携带者酶活性较G携带者高，代谢快，因此ADR的发生率比较低。笔者对多西他赛ADR与药物代谢酶CYP3A5（69 86A＞G）之间的相关性进行研究，入组117例患者均用焦磷酸测序方法检测其基因型，随访化疗后出现的ADR；根据基因型的分布情况，选择建立显性遗传模型。结果显示，基因型是患者服用多西他赛发生周围神经毒性的独立危险因素（OR＝4.611，$P<0.05$），GG组与（AA+AG）组比较，发生Ⅱ级以上周围神经毒性的风险显著增高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。有研究报道，CYP3A5（6986A＞G）基因型与紫杉醇神经毒性有关[14–15]，因此推测CYP3A5（6986A＞G）基因多态性与抗微管类药物的神经毒性相关。同时，本研究还对患者的指/趾甲毒性进行分析，基因型也是患者服用多西他赛发生指/趾甲毒性的独立危险因素（OR＝3.788，$P<0.05$），GG组与（AA+AG）组比较，发生Ⅱ级以上指/趾甲毒性的风险显著增高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。而目前尚未见指/趾甲毒性与CYP3A5（6986A＞G）基因多态性之间关系的相关报道。

可见，CYP3A5（6986A＞G）GG基因型显著增加了多西他赛所致周围神经毒性和指/趾甲毒性的发生风险，等位基因G可能与多西他赛的周围神经毒性和指/趾甲毒性反应相关。

本文研究结果对多西他赛化疗的ADR有预测价值，但是没有排除合并用药的干扰，因此有必要开展更多针对合并用药的分层研究，同时增大样本量，从而为临床个体化用药提供可靠的指导依据。

参考文献

[1]　Symmans WF，Volm MD，Shapiro RL，*et al*. Paclitaxel induced apoptosis and mitotic arrest assessed by serial fine needle aspiration：implication for early prediction of breast cancer response to neoadjuvant treatment[J]. *Clin Cancer Res*，2000，6(12)：4 610.

[2]　Moons PJ，Fitzpatrick FA. Taxane-mediated gene induction is independent of microtubule stabilization：induction of transcription regulators and enzymes that modulate inflammation and apoptosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*，1998，95(7)：3 896.

[3]　Fitzpatrick FA，Wheeler R. The immunopharmacology of paclitaxel（taxol），docetaxel（taxotere），and related agents [J]. *Int Immunopharmacol*，2003，3(13/14)：1 699.

[4]　Poppel V，Recent H. Docetaxel studies establish a new standard of care in hormone refractory prostate cancer[J]. *Can J Urol*，2005，12(1)：81.

[5]　Marre F，Sanderlink GJ，de Sousa G，*et al*. Hepatic biotransformation of docetaxel（taxotere）in vitro：involvement of the CYP3A subfamily in humans[J]. *Cancer Res*，1996，56(6)：1 296.

[6]　van Zuylen L，Verweij J，Nooter K，*et al*. Role of intestinal P-glycoprotein in the plasma and fecal disposition of docetaxel in humans[J]. *Clin Cancer Res*，2000，6(7)：2 598.

[7]　Lee JI，Chaves-Gnecco C，Amico JA，*et al*. Application of semisimultaneous midazolam administration for hepatic and intestinal cytochrome P_{450} 3A phenotyping[J]. *Clin Pharmacol Ther*，2002，72(6)：718.

[8]　Goh BC，Lee SC，Wang LZ，*et al*. Explaining interindividual variability of docetaxel pharmacokinetics and pharmacodynamics in Asians through phenotyping and genotyping strategies[J]. *J Clin Oncol*，2002，20(1)：3 683.

[9]　Bosch TM，Huitema AD，Doodeman VD，*et al*. Pharmacogenetic screening of CYP3A and ABCB1 in relation to population pharmacokinetics of docetaxel[J]. *Clin Cancer Res*，2006，12(19)：5 786.

[10]　Allen JD，Brinkhuis RF，van Deemter L *et al*. Extensive contribution of the multidrug transporters P-glycoprotein and Mrp1 to basal drug resistance[J]. *Cancer Res*，2000，60(20)：5 761.

[11]　Tran A，Jullien V，Alexandre J，*et al*. Pharmacokinetics and toxicity of docetaxel：role of CYP3A，MDR1，and GST polymorphisms[J]. *Clin Pharmacol Ther*，2006，79(6)：570.

[12]　孙燕，石远凯.临床肿瘤内科手册[M].5版.北京：人民卫生出版社，2007：142.

[13]　Baker SD，Verweij J，Cusatis GA，*et al*. pharmacogenetic pathway analysis of docetaxel elimination[J]. *Clin Pharmacol Ther*，2009，85(2)：155.

[14]　Leskel S，Jara C，Leandro-Garcia L，*et al*. Polymorphisms in cytochromes P_{450} 2C8 and 3A5 are associated with paclita-xel neurotoxicity[J]. *Pharmacogenomics J*，2010，11(2)：121.

[15]　Hertz DL，Dees EC，Motsinger-Reif AA，*et al*. Interrogation of polymorphisms in drug metabolism or transport genes and eripheral neuropathy during paclitaxel treatment [J]. *J Clin Oncol*，2012，30（15）：10 515.

（收稿日期：2015-08-28　修回日期：2016-03-18）

（编辑：李　劲）

中国药房网 www.china-pharmacy.com