

合用5-氨基水杨酸对炎症性肠病患者硫嘌呤类药物个体化应用的影响及其机制研究进展

冯 静^{1*}, 王雪丁², 杨 健¹, 宋金春^{1#} (1. 武汉大学人民医院药学部, 武汉 430060; 2. 中山大学药学院临床药理研究所, 广州 510080)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3886-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.48

摘要 目的:为临床合用5-氨基水杨酸(5-ASA)与硫嘌呤类药物治疗炎症性肠病(IBD)提供参考。方法:通过检索PubMed、Web of Science、万方数据库、维普数据库和中国知网等相关专业数据库十多年来有关合用5-ASA对IBD患者应用硫嘌呤类药物的疗效和不良反应影响的研究文献,整理、归纳和综述二者合用对后者个体化应用的影响及其机制。结果与结论:5-ASA和硫嘌呤类药物是治疗IBD的常用药物,二者合用会升高后者活性代谢产物浓度,从而增强疗效,同时增大不良反应发生风险。其作用机制研究主要关注5-ASA对硫嘌呤类药物相关代谢酶和转运体活性的影响以及遗传因素与上述影响的相关性,但尚无统一结论。合用5-ASA对IBD患者硫嘌呤类药物个体化应用的影响及其机制仍有待于多中心、大样本的前瞻性研究加以证实。

关键词 5-氨基水杨酸;硫嘌呤类药物;合用;个体化应用;影响;机制

炎症性肠病(Inflammatory bowel disease, IBD)是指一类病因不明的慢性肠道炎症性疾病。IBD主要包括两种独立的疾病:溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),其临床症状主要表现为腹泻、腹痛和黏液脓血便等。硫嘌呤类药物,包括硫唑嘌呤(Azathioprine, AZA)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)和6-硫鸟嘌呤(6-thioguanine, 6-TG),如今在CD和UC稳定期的诱导和维持治疗中发挥着重要作用。而5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)也是用于治疗IBD的一线药物,且常与硫嘌呤类药物合用。有大量研究表明,合用5-ASA可能影响硫嘌呤类药物的代谢,从而对其疗效和不良反应产生影响。因此,笔者通过检索PubMed、Web of Science、万方数据库、维普数据库和中国知网等相关专业数据库十多年来有关合用5-ASA对IBD患者应用硫嘌呤类药物的疗效和不良反应的影响的研究文献,整理、归纳和综述二者合用对后者个体化应用的影响及其机制,旨在为临床合用二者治疗IBD提供参考。

1 合用5-ASA对硫嘌呤类药物活性代谢产物浓度及不良反应的影响

AZA和6-MP作为免疫抑制剂,无论对活动期还是稳定期的IBD患者均有效。然而,其严重的甚至危及生命的不良反应的发生率高达9%~25%,如骨髓抑制、肝功能损害、胰腺炎、恶心、呕吐、皮疹、发热等^[1]。AZA进入体内后经复杂的代谢过程转化为活性代谢产物6-硫鸟苷酸(6-Thioguanine nucleotides, 6-TGNs)和非活性代谢产物6-甲基巯嘌呤核苷酸(6-Methylmercaptopurine ribonucleotide, 6-MMPR)、6-硫尿酸(6-Thiouric acid, 6-TUA)。6-TGNs主要包括6-巯基鸟嘌呤单磷酸盐(6-Thioguanine monophosphate, 6-TGMP)、6-巯基鸟嘌呤二磷酸盐(6-Thioguanine diphosphate, 6-TGDP)和6-巯基鸟嘌呤三磷酸盐(6-Thioguanine triphosphate, 6-TGTP),其可作为鸟嘌呤核苷的拮抗药插入到DNA和RNA分子中,通过抑制

DNA的复制和RNA的表达,生成无功能的核酸和核苷酸,从而导致细胞凋亡,产生药理活性^[2]。很多研究者提倡,在硫嘌呤类药物治疗过程中要对红细胞中的6-TGNs浓度进行监测,以便优化药物治疗,提高疗效^[3-4]。

5-ASA进入体内后主要经肠和肝中的乙酰化酶1转化为非活性代谢产物N-乙酰化-5-氨基水杨酸(N-acetyl-5-aminosalicylate, 即N-acetyl-5-ASA)。5-ASA常用于UC稳定期的诱导和维持治疗,也被认为可用于CD缓解期的诱导和术后预防^[5]。尽管5-ASA治疗IBD的具体作用机制目前尚不清楚,但有研究认为其一方面是通过抑制环氧酶和脂氧合酶的活性以减少前列腺素、白三烯和自由基的合成;另一方面通过抑制肠道黏膜免疫反应而发挥局部抗炎作用^[6]。

合并用药是IBD治疗中的常见现象,而在IBD治疗中目前报道的已确定或者可能存在相互作用的药物有激素、甲氨蝶呤(Methotrexate, MTX)、5-ASA/柳氮磺吡啶、硫嘌呤类药物以及生物制剂等^[7-8]。很多研究表明,5-ASA与AZA或6-MP合并使用会升高6-TGNs浓度,从而增强疗效,同时也会增大不良反应的发生风险^[7,9-10]。de Boer NK等^[10]对26例IBD患者进行自身对照研究后发现,5-ASA对AZA和6-MP的活性代谢产物6-TGNs浓度的影响呈剂量依赖性,即在合并使用5-ASA(2 g/d)4周后6-TGNs浓度比合用前提高约40%,而在5-ASA剂量增加到4 g/d且合用4周后,6-TGNs浓度比合用前提高70%左右。该研究结果也经Tack GJ等^[7]通过临床案例得以证实。de Graaf P等^[9]对22例IBD患者的前瞻性研究结论也与上述结果一致。其结果显示,合用5-ASA可以增加活性代谢产物6-TGNs的浓度,但6-MMPR浓度及6-MMPR/6-TGNs浓度比值会降低。而Nguyen TM等^[11]为期1年的研究结果也表明,合用氨基水杨酸盐(5-ASA)会提高6-TGNs的浓度,同时增加不良反应(尤其是骨髓抑制)的发生风险,但对IBD疾病缓解率的影响不大。尽管如此,以上各项研究的样本量仍偏小,且研究样本存在局限性,所以相关影响还需要进一步扩大样本量的前瞻性研究加以证实。

2 合用5-ASA对硫嘌呤类药物相关代谢酶和转运体的影响

* 药师,硕士。研究方向:药物代谢、药物基因组学。电话:027-88047471。E-mail:fengj163@163.com

通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:临床药物新剂型。电话:027-88047471。E-mail:songjc1234@126.com

AZA 进入体内后,在胃肠道迅速经谷胱甘肽硫转移酶(Glutathione S-transferase, GST)转化为 6-MP,然后经次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase, HPRT)、次黄苷三磷酸焦磷酸酶(Inosine triphosphate pyrophosphatase, ITPA)转化为活性代谢产物 6-TGNs,经硫嘌呤甲基转移酶(Thiopurine S-methyltransferase, TPMT)和黄嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase, XO)分别转化为非活性代谢物 6-MMPR 和 6-TUA。而合用 5-ASA 对 IBD 患者应用硫嘌呤类药物的剂量、疗效以及不良反应产生影响的具体机制目前尚不清楚,硫嘌呤类药物代谢酶之一的 TPMT 一直是相关研究的热点。Szumlanski CL 等^[12]早在 1995 年就通过体外实验表明柳氮磺吡啶及 5-ASA 衍生物可以抑制 TPMT 的活性。Xin H 等^[13]和 Bermejo F 等^[14]也分别报道,5-ASA 会抑制 TPMT 的活性,引起 6-TGNs 浓度升高及骨髓抑制发生风险增大。但亦有研究显示 5-ASA 未引起 TPMT 代谢途径的代谢产物 6-MMPR 的浓度变化及 TPMT 的活性改变^[15]。上述研究均采用随机对照试验,目前仅发现两项研究是采用的自身对照研究^[10,16]。de Boer NK 等^[10]考察了合用两种剂量的 5-ASA(2 g/d 和 4 g/d)对 AZA 和 6-MP 活性代谢产物的影响,发现合用 5-ASA 后 6-TGNs 浓度是以 5-ASA 剂量依赖的方式提高,但 TPMT 活性变化却不显著。而 Gilissen LP 等^[16]对 17 例应用 6-MP 治疗的 CD 患者先撤除 5-ASA 后以及再加上 5-ASA 的情况下分别考察了 6-TGNs 及 6-MMPR 的浓度变化,也未发现 TPMT 活性在这两个阶段有改变。因此,基于研究例数以及试验设计的限制,其结论并不统一。合用 5-ASA 对硫嘌呤类药物相关代谢酶 TPMT 的影响还有待进一步的研究。

在 AZA 和 6-MP 的代谢过程中,除 TPMT 外,HPRT、XO、GST、ITPA、次黄嘌呤核苷酸脱氢酶(Inosine monophosphate dehydrogenase, IMPDH)、鸟苷酸合成酶(Guanosine monophosphate synthetase, GMPS)等也扮演着重要角色。Ding L 等^[8]通过对 120 例 IBD 患者的回顾性研究发现,合用 5-ASA 未引起 HPRT 酶活性的改变。而合用 5-ASA 对代谢通路中的其他代谢酶如 GST、XO、ITPA、IMPDH、GMPS 的影响目前尚未有文献报道。但 IMPDH 和 GMPS 两个酶可以直接将 6-巯基次黄嘌呤单磷酸盐(6-thioinosine monophosphate, 6-TIMP)转化成 6-TGNs,所以这两步反应中并没有 6-甲基硫嘌呤(6-thioinosine monophosphate, 6-MMP)及 6-MMPR 产生。并且,de Boer NK 等^[10]也提出 5-ASA 可能通过提高 IMPDH 及 GMPS 的活性来提高 6-TGNs 的浓度,从而增强 AZA 和 6-MP 的作用。所以,这两个酶也有可能参与 5-ASA 与硫嘌呤类药物的相互作用,此方面的影响也还有待于进一步的研究。

虽然代谢酶的活性改变被认为是影响硫嘌呤类药物疗效和不良反应个体差异的主要因素,但有研究发现,转运体如 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、多药耐药相关蛋白 4(Multi-resistant related protein 4, MRP4)、多药耐药相关蛋白 5(Multi-resistant related protein 5, MRP5)均在硫嘌呤类药物的分布和代谢中发挥着重要作用^[17-18]。然而,目前关于 5-ASA 对硫嘌呤类药物相关转运体活性的影响却未有报道。虽然 de Boer NK 等^[10]通过自身对照研究发现合并应用 5-ASA 前后 TPMT 的活性变化不明显,并由此提出与硫嘌呤类药物药理学相关的转运体(如 MRP4、MRP5)可能会参与 5-ASA 对硫嘌呤类药物的作用过程,却未有进一步的论证。

3 遗传因素与上述影响的相关性

药物反应的个体差异是引起药物疗效及不良反应差异的重要因素。药物代谢酶的基因多态性可以部分解释药物血浆

浓度个体差异,而相关转运体的表达和活性也影响着药物的吸收、分布、代谢和排泄。由于转运蛋白在表达和功能上有很大的差异,所以转运蛋白的遗传差异也可以解释药物的药理学及临床疗效的个体差异。当 AZA 或 6-MP 与 5-ASA 合用时,会升高 6-TGNs 的浓度。然而 5-ASA 与硫嘌呤类药物的相互作用机制一直不清楚^[10]。已有发现表明,代谢酶 TPMT 的基因多态性与 AZA 和 6-MP 引起的不良反应尤其是骨髓抑制的发生相关^[19]。且迄今为止,已发现超过 30 种突变等位基因,其中 TPMT * 2(G238C)、TPMT * 3A(G460A/A719G)、TPMT * 3B(G460A)、TPMT * 3C(A719G)是最常见的突变类型。大约 10% 的高加索人携带 TPMT 突变杂合子基因,其 TPMT 活性为正常酶活性的一半,而约 1/300 的高加索人携带 TPMT 突变纯合子基因,其 TPMT 活性很低或者几乎没有^[20]。而在其他种族中 TPMT 的突变频率可能不同,如在亚洲人群中其突变率仅 2% 左右,因此 TPMT 基因多态性对亚洲患者的影响甚微^[3]。目前,仅有一篇文献报道了在 AZA 或 6-MP 与 5-ASA 合用时,TPMT 基因多态性对 AZA 或 6-MP 活性代谢产物的影响。Uchiyama K 等^[21]对 TPMT 基因中的众多单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNPs)进行了研究,发现 TPMT 基因型与 6-TGNs 浓度/AZA 剂量比值之间无相关性,但 TPMT * 2、TPMT * 3B、TPMT * 3C、TPMT * 4 突变型与 6-TGNs 浓度的升高以及肝毒性的发生有关。而对于其他代谢酶基因多态性的影响,目前尚未有文献报道。

目前,国内外关于转运体的遗传多态性在 5-ASA 对硫嘌呤类药物作用过程中影响的报道很少。虽然 Ban H 等^[22]的研究中所有入选 IBD 患者(235 例)均使用了 5-ASA,其中有 130 例合并使用了 5-ASA 和 AZA 或 6-MP,但只综合分析了 MRP4 G2269A 基因型与疗效的关系,并未对合并用药与否进行分层分析。仅 Uchiyama K 等^[21]的研究表明,溶质运载蛋白(Solute carriers, SCLs)家族的 SLC38 A9 转运体中的 4 个 SNPs(rs3846502、rs3761769、rs16884434 和 rs6897117)与 6-TGNs 浓度/AZA 剂量比值有关。该研究通过基因表达分析方法鉴定得到的这些 SNPs 是预测 AZA 或 6-MP 与 5-ASA 合用时 6-TGNs 浓度的重要基因生物标记物,因此对于优化 IBD 患者二者合用治疗具有重要意义。然而,SLC38 A9 的 SNPs 究竟如何影响 6-TGNs 浓度却未见报道,因此接下来还有待进一步研究 SLC38 A9 的 SNPs 是如何影响 AZA 或 6-MP 的代谢。

此外,已有的研究表明,过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)中的 PPAR α 和 PPAR γ 亚型的激动药 5-ASA 可以通过抑制 PPARs 的表达,从而促进细胞凋亡以及抗细胞增殖,最终发挥抗炎和免疫抑制作用^[23]。而 Aleksunes LM 等^[24]通过体外实验研究指出,PPAR α 激动药氯贝丁酯可以通过 PPARs 依赖的方式诱导 MRP4 基因和蛋白的表达。所以,5-ASA 是否会通过 PPARs 影响转运蛋白的表达及活性,从而影响硫嘌呤类药物的药理学过程也有待于进一步研究。

4 结语

5-ASA 与硫嘌呤类药物常合用于治疗 IBD,但其具体的作用机制目前尚不清楚。目前,国内外对于合用 5-ASA 对 AZA 或 6-MP 疗效和不良反应的影响以及其具体的机制进行了大量研究,但都存在不同程度的缺陷(如:采用的是回顾性研究;纳入研究的样本量有限;所纳入人群种族具有局限性以及其生活方式如吸烟、饮酒等资料不详等),因此还需要更大规模的多中心前瞻性试验来进一步阐述。进而,在此基础上系统地评价合用 5-ASA 对 IBD 患者应用硫嘌呤类药物的药理学、

药效学和临床预后的影响,阐明此种影响的物质基础和遗传因素,为临床合理地合用5-ASA与硫嘌呤类药物提供循证医学证据和试验依据,从而提高临床治疗水平,降低不良反应发生率。

参考文献

- [1] Chaparro M, Ordás I, Cabré E, *et al.* Safety of thiopurine therapy in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 3931 patients[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013,19(7):1 404.
- [2] Osterman MT, Kundu R, Lichtenstein GR, *et al.* Association of 6-thioguanine nucleotide levels and inflammatory bowel disease activity: a meta-analysis[J]. *Gastroenterology*, 2006,130(4):1 047.
- [3] Ding L, Zhang FB, Liu H, *et al.* Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase activity is related to 6-thioguanine nucleotide concentrations and thiopurine-induced leukopenia in the treatment of inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18(1):63.
- [4] Nguyen TV, Vu DH, Nguyen TM, *et al.* Exploring associations of 6-thioguanine nucleotide levels and other predictive factors with therapeutic response to azathioprine in pediatric patients with IBD using multilevel analysis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013,19(11):2 404.
- [5] Travis SP, Stange EF, Lemann M, *et al.* European evidence-based Consensus on the Management of ulcerative colitis: Current management[J]. *J Crohns Colitis*, 2008, 2(1):24.
- [6] Lodowska J, Gruchlik A, Wolny D, *et al.* The effect of sulfasalazine and 5-aminosalicylic acid on the secretion of interleukin 8 by human colon myofibroblasts[J]. *Acta Pol Pharm*, 2015,72(5):917.
- [7] Tack GJ, Waayenberg P, de Boer NK. Beneficial pharmacological interaction between thiopurine and mesalazine—never change a winning team[J]. *J Crohns Colitis*, 2014, 8(12): 1 743.
- [8] Wong DR, Pierik M, Seinen ML, *et al.* The pharmacokinetic effect of adalimumab on thiopurine metabolism in Crohn's disease patients[J]. *J Crohns Colitis*, 2014, 8(2): 120.
- [9] de Graaf P, de Boer NK, Wong DR, *et al.* Influence of 5-aminosalicylic acid on 6-thioguanosine phosphate metabolite levels: a prospective study in patients under steady thiopurine therapy[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(5):1 083.
- [10] de Boer NK, Wong DR, Jharap B, *et al.* Dose-dependent influence of 5-aminosalicylates on thiopurine metabolism [J]. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102(12):2 747.
- [11] Nguyen TM, Le Gall C, Lachaux A, *et al.* High thiopurine metabolite concentrations associated with lymphopenia in inflammatory bowel disease (IBD) pediatric patients receiving aminosalicylates combined with azathioprine[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2010, 48(4):275.
- [12] Szumlanski CL, Weinsilboum RM. Sulphasalazine inhibition of thiopurine methyltransferase: possible mechanism for interaction with 6-mercaptopurine and azathioprine[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1995, 39(4): 456.
- [13] Xin H, Fischer C, Schwab M, *et al.* Effects of aminosalicylates on thiopurine S-methyltransferase activity: an ex vivo study in patients with inflammatory bowel disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2005, 21(9): 1105.
- [14] Bermejo F, Gisbert JP. Usefulness of salicylate and thiopurine coprescription in steroid-dependent ulcerative colitis and withdrawal strategies[J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2010, 1(3):107.
- [15] Daperno M, Sostegni R, Canaparo R, *et al.* Prospective study of the effects of concomitant medications on thiopurine metabolism in inflammatory bowel disease[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2009, 30(8):843.
- [16] Gilissen LP, Bierau J, Derijks LJ, *et al.* The pharmacokinetic effect of discontinuation of mesalazine on mercaptopurine metabolite levels in inflammatory bowel disease patients[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2005, 22(7):605.
- [17] Zeng H, Lin ZP, Sartorelli AC. Resistance to purine and pyrimidine nucleoside and nucleobase analogs by the human MDR1 transfected murine leukemia cell line L1210/VMDRC.06[J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68(5):911.
- [18] Chen ZS, Lee K, Krub GD. Transport of cyclic nucleotides and estradiol 17-beta-D-Glucuronide by multidrug resistance protein 4. Resistance to 6-mercaptopurine and 6-thioguanine[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(36):33 747.
- [19] Zabala-Fernández WI, Barreiro-de Acosta M, Echarri A, *et al.* A pharmacogenetics study of TPMT and ITPA genes detects a relationship with side effects and clinical response in patients with inflammatory bowel disease receiving Azathioprine[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2011, 20(3): 247.
- [20] Serpe L, Calvo PL, Muntoni E, *et al.* Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics in a large-scale healthy Italian-caucasian population: differences in enzyme activity[J]. *Pharmacogenomics*, 2009, 10(11):1 753.
- [21] Uchiyama K, Takagi T, Iwamoto Y, *et al.* New genetic biomarkers predicting azathioprine blood concentrations in combination therapy with 5-aminosalicylic acid[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e95080.
- [22] Ban H, Andoh A, Imaeda H, *et al.* The multidrug-resistance protein 4 polymorphism is a new factor accounting for thiopurine sensitivity in Japanese patients with inflammatory bowel disease[J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45(10): 1 014.
- [23] Schwab M, Reynders V, Loitsch S, *et al.* PPARgamma is involved in mesalazine-mediated induction of apoptosis and inhibition of cell growth in colon cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(7):1 407.
- [24] Aleksunes LM, Klaassen CD. Coordinated regulation of hepatic phase I and II drug-metabolizing genes and transporters using AhR-, CAR-, PXR-, PPARα-, and Nrf2-null mice[J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40(7):1 366.

(收稿日期:2015-10-03 修回日期:2016-08-19)

(编辑:周 箐)