

五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司血药浓度的影响与 CYP3A5 基因多态性的关系

蔡宜朋^{1,2}, 陈泉金², 谢培华², 宋洪涛^{2*}

- (1. 福建医科大学附属福州市第一医院药学部, 福建 福州 350009;
2. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院药学科, 福建 福州 350025)

摘要: 为明确五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司血药浓度的影响与细胞色素 P450 (cytochrom P450, CYP) 3A5 基因多态性的关系。本研究回顾性收集 2014 年 11 月至 2018 年 3 月于我院行肾移植术且术后应用他克莫司并联用地尔硫草 (30 mg, bid) 的患者病例共计 170 例, 根据患者术后是否换用五酯胶囊 (11.25 mg, bid) 分为观察组 (105 例) 与对照组 (65 例), 检测患者 CYP3A5*3 基因多态性, 比较不同 CYP3A5*3 基因型患者五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司血药浓度的影响, 研究方案均符合相关伦理学规范。结果表明, 五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司谷浓度/剂量 (C_0/D) 的提升幅度在自身对照及对照组对照中均与患者 CYP3A5*3 基因型显著相关, 观察组患者在由地尔硫草换用五酯胶囊后能够提升 CYP3A5 表达型患者他克莫司 C_0/D 约 76.8%, 但在 CYP3A5 非表达型患者中则几乎无这一作用。五酯胶囊较地尔硫草在 CYP3A5 表达型患者中对他克莫司血药浓度的提升作用更强。

关键词: 他克莫司; 五酯胶囊; 地尔硫草; 血药浓度; CYP3A5 基因多态性

中图分类号: R969 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)02-0272-04

Effect of wuzhi capsules on the blood concentration of tacrolimus relative to diltiazem and CYP3A5 gene polymorphisms

CAI Yi-peng^{1,2}, CHEN Quan-jin², XIE Pei-hua², SONG Hong-tao^{2*}

- (1. Department of Pharmacy, Affiliated Fuzhou First Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350009, China;
2. Department of Pharmacy, 900 Hospital of the Joint Logistics Team, Fuzhou 350025, China)

Abstract: To determine the relationship between the effect of wuzhi capsules on the blood concentration of tacrolimus as compared to diltiazem and with regard to cytochrome P450 (CYP)3A5 gene polymorphisms, 170 patients who underwent renal transplantation from November 2014 to March 2018 and used tacrolimus combined with diltiazem 30 mg bid were selected in this study retrospectively. Patients were divided into an observation group (105 patients) and a control group (65 patients) according to whether they used wuzhi capsules after the operation. The polymorphisms of CYP3A5*3 were determined and the effect of wuzhi capsules on the blood concentration of tacrolimus, as compared with that of diltiazem was determined in patients with different CYP3A5*3 genotypes. This study complies with relevant ethical norms. The results show that compared with diltiazem, an increase of tacrolimus C_0/D was significantly correlated with the patient's CYP3A5*3 genotype in both the self-control and the control group. CYP3A5 expressers in the observation group were able to increase the tacrolimus C_0/D by about 76.8% by replacing the wuzhi capsules with diltiazem, but this effect was not observed in CYP3A5 non-expressers. In CYP3A5 expressers wuzhi capsules had a greater ability relative to diltiazem to increase the

收稿日期: 2019-08-09; 修回日期: 2019-10-09.

基金项目: 福州总医院院立课题 (2016L13).

*通讯作者 Tel: 86-591-22859459, E-mail: sohoto@vip.163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0636

blood concentration of tacrolimus.

Key words: tacrolimus; Wuzhi capsule; diltiazem; blood concentration; CYP3A5 gene polymorphism

他克莫司 (tacrolimus, FK506) 作为一种钙调磷酸酶抑制剂 (calcineurin inhibitor, CNI) 型免疫抑制剂, 是于器官移植术后应用最为广泛的 CNI 之一^[1], 大部分器官移植术后的患者均需长期甚至终身应用他克莫司, 但他克莫司价格昂贵, 给患者带来沉重的经济负担。研究及临床实践表明, 五酯胶囊与地尔硫草均可提高他克莫司血药浓度, 降低其给药剂量, 提高用药经济性^[2-4], 因此被广泛应用于器官移植术后的患者中。作者亦曾开展研究证实五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司血药浓度的提升作用更大, 但存在极大的个体差异, 使患者用药风险增加^[5], 但其中原因至今仍不明确。CYP3A5*3 (rs776746) 基因多态性被多次证实为造成他克莫司血药浓度个体差异的关键因素^[6-10], 也分别有研究表明 CYP3A5*3 基因多态性能够影响五酯胶囊^[11]与地尔硫草^[12]对他克莫司血药浓度的作用。但截至目前, 鲜有在 CYP3A5*3 基因多态性指导下将五酯胶囊与地尔硫草对他克莫司血药浓度的作用进行比较, 以证实 CYP3A5*3 基因多态性是否在五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司血药浓度的提升作用个体差异中扮演重要角色的相关研究。故本研究拟在肾移植患者中开展回顾性分析, 为临床合理用药提供参考依据。

材料与方法

研究对象 回顾性收集于联勤保障部队第九〇〇医院行肾移植术且随访至今的患者, 肾移植时间为 2014 年 11 月~2018 年 3 月。纳入标准: ① 患者年龄≥18 岁; ② 首次移植; ③ 术后应用三联免疫抑制方案。排除标准: ① 患者入院前患有慢性乙肝、丙肝等肝脏疾病或各项肝功能指标异常; ② 给药前两周内服用 CYP3A 酶诱导剂或抑制剂的患者; ③ 患者因各种原因联用除五酯胶囊外其他明确能够影响他克莫司血药浓度的药物; ④ 患者因各种原因停用他克莫司、换用 CsA 或未严格按照实验设计用药方案用药; ⑤ 患者临床资料缺失或失访。研究方案均符合相关伦理学规范。

免疫抑制治疗方案 所有入组患者肾移植术后均应用三联免疫抑制方案: 他克莫司+吗替麦考酚酯/麦考酚钠+糖皮质激素。具体用药方案为: ① 他克莫司胶囊 (Astellas Ireland Co., Ltd.) 标准化给药 (0.08~0.12 mg·kg⁻¹·d⁻¹, bid), 术后第 1 天开始口服, 3 天后开始监测血药浓度, 之后根据血药浓度监测结果调整给药剂量, 要求患者他克莫司维持血药浓度控制在 5~15 ng·mL⁻¹ 之间; ② 吗替麦考酚酯片 (上海罗氏制药

有限公司, 0.5~2 g·d⁻¹, bid), 术后第 1 天开始口服; ③ 麦考酚钠肠溶片 (Novartis Pharma Schweiz AG, 360~1 440 mg·d⁻¹, bid), 术后第 1 天开始口服; ④ 糖皮质激素术中静脉注射甲泼尼龙琥珀酸钠 (Pfizer Manufacturing Belgium NV, 用量不超过 1 g); 术后 1~3 天, 静脉注射甲泼尼龙琥珀酸钠 200~500 mg·d⁻¹ 冲击治疗; 术后 4~30 天口服醋酸泼尼松片 (山东鲁抗医药集团赛特有限责任公司) 20~50 mg·d⁻¹; 术后 2~3 个月口服醋酸泼尼松片 10~20 mg·d⁻¹。

五酯胶囊及地尔硫草的给药方案 所有入组患者肾移植术后在应用他克莫司的同时立即联用地尔硫草 30 mg, bid。① 观察组患者经数次他克莫司剂量调整后他克莫司 C₀/D 仍低于预期, 即将地尔硫草改为五酯胶囊 (11.25 mg, bid), 并维持五酯胶囊联用方案仅调整他克莫司口服剂量直至出院; ② 对照组患者术后联用地尔硫草 (30 mg, bid) 即可达到目标浓度, 并维持地尔硫草联用方案仅调整他克莫司应用剂量直至出院。

临床资料记录 查阅患者住院病历, 记录如下资料: 人口学资料 (年龄、性别、身高及体重); 他克莫司初始给药剂量、初始给药 3 天后他克莫司 C₀ 及生化检查指标; 他克莫司维持剂量 (他克莫司的维持剂量是指在服用相同剂量下, 患者连续多次测定 C₀ 的值在其治疗窗之间, 且在患者出院前不再进行他克莫司剂量的调整)、术后获得他克莫司维持剂量的时间以及获得维持剂量时对应的他克莫司 C₀、五酯胶囊或地尔硫草的联用方案和剂量以及患者基因型 (检测方法为 Sequenom MassARRAY® SNP 检测系统)。计算患者他克莫司初始 C₀/D (患者术后首次应用他克莫司时 C₀/D)、维持 C₀/D (获得他克莫司维持剂量时所对应的 C₀/D) 及 C₀/D 提升幅度 (维持 C₀/D-初始 C₀/D)。

数据统计与分析 数据用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 统计分析使用 SPSS 22.0 软件。以 C₀/D 为主要评价指标。计量资料间比较, 首先进行正态分布和方差齐性检验。对于主要评价指标 C₀/D, 先应用配对样本 T 检验比较患者在获得他克莫司维持剂量时与应用初始剂量时数据的差异, 而后应用独立样本 T 检验 (满足方差齐性与正态分布) 或 Mann-Whitney U 检验 (不满足方差齐性与正态分布) 比较观察组与对照组的组间差异; 对于如患者年龄等其他指标直接应用独立样本 T 检验或 Mann-Whitney U 检验比较观察组与对照组的组间差异。

结果

1 肾移植患者临床资料比较

入组 170 例患者中, 观察组患者共计 105 例, 其中男性 79 例、女性 26 例。对照组患者共计 65 例, 其中男性 45 例、女性 20 例。两组患者间性别、年龄、身高、体重、体表面积差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 且入院时肌酐、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、红细胞计数、血红蛋白、红细胞比容、血小板计数、白细胞计数、粒细胞百分比、淋巴细胞百分比、白蛋白、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、总胆固醇、甘油三酯、血糖以及他克莫司初始剂量差异同样均无统计学意义 ($P>0.05$)。

2 基因型检测分析

经 Sequenom MassARRAY® SNP 检测系统分型, 105 例观察组患者中测得 *CYP3A5**1*1 型患者 9 例, *CYP3A5**1*3 型患者 56 例, *CYP3A5**3*3 型患者 40 例; 65 例对照组患者中测得 *CYP3A5**1*1 型患者 1 例, *CYP3A5**1*3 型患者 10 例, *CYP3A5**3*3 型患者 54 例。整体基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 检验。考虑中国人群 *CYP3A5**3 突变频率较高, 约为 77.8%^[13], 本研究纳入 *CYP3A5**1*1 型患者样本量较小, 代表性较差。故根据 *CYP3A5**3 突变将使 *CYP3A5* 酶丧失活性^[14], 将 *CYP3A5**1*1 与 *CYP3A5**1*3 型患者合称为 *CYP3A5* 表达者, 将 *CYP3A5**3*3 型患者称为 *CYP3A5* 非表达者。两组患者 *CYP3A5* 基因型分布存在显著差异 ($P<0.05$)。

3 五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司 C_0/D 的影响与 *CYP3A5**3 基因多态性的关系

经配对样本 T 检验分析, 观察组 *CYP3A5* 表达型的患者在由地尔硫草换用五酯胶囊后 C_0/D 有了极显著提高 ($P<0.01$), 而非表达型患者 C_0/D 较前无显著差异 ($P>0.05$)。在对照组中两种基因型患者获得维持剂量时他克莫司 C_0/D 较前均无显著变化 ($P>0.05$); 在组内不同基因型患者间差异方面, 经独立样本 T 检验或 Mann-Whitney U 检验分析, 观察组 *CYP3A5* 表达型患者的初始 C_0/D 显著低于非表达型患者 ($P<0.01$), 但在患者都换用了五酯胶囊后, 他克莫司维持 C_0/D 与非表达型无显著差异 ($P>0.05$), 他克莫司 C_0/D 提升幅度与非表达型患者有显著差异 ($P<0.01$); 在相同基因型患者的组间差异方面, 经独立样本 T 检验或 Mann-Whitney

U 检验分析, 基因型同为 *CYP3A5* 表达型, 观察组患者的初始 C_0/D 显著低于对照组 ($P<0.01$), 但在观察组患者换用了五酯胶囊后 C_0/D 反而显著高于对照组 ($P<0.05$)。观察组 *CYP3A5* 表达型患者由于换用五酯胶囊, C_0/D 的提升幅度与对照组有显著差异 ($P<0.01$), 但在 *CYP3A5* 非表达型患者中则无此现象, 详见表 1。

对患者他克莫司 C_0/D 提升幅度 (%) 作箱式图, *CYP3A5* 表达型患者在由地尔硫草换用五酯胶囊后他克莫司 C_0/D 提升幅度 (%) Me 约为 76.8%, *CYP3A5* 非表达型患者仅为约 15.2%, 详见图 1。

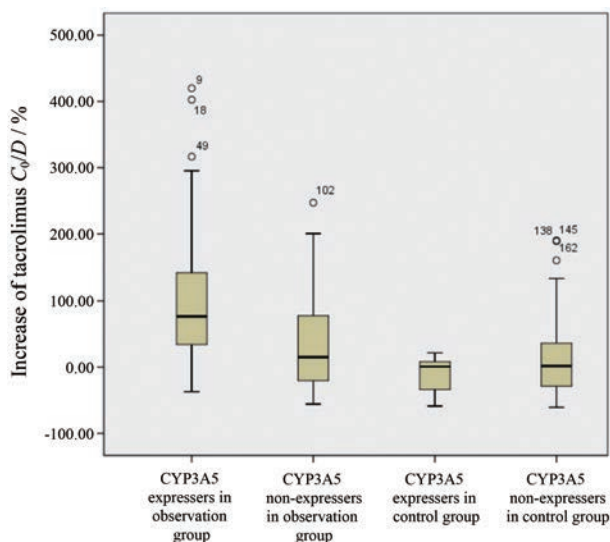


Figure 1 Increase of tacrolimus C_0/D (%) in patients with different *CYP3A5* genotypes between the observation and the control group

讨论

CYP3A5 作为 CYP 酶系重要的代谢酶之一, 参与多种药物的体内代谢。研究表明, 其表达在不同人群间存在很大的个体差异, 而这种差异主要是由于 *CYP3A5* 基因突变造成的。*CYP3A5* 基因位于 7q21.1~22.1, 它包含 13 个外显子, 全长 31.8 kb, 编码 502 个氨基酸。其中, 学者们普遍将第 3 内含子 6986A>G (rs776746) 突变称为 *CYP3A5**3 突变, 为 *CYP3A5* 基因最常见的突变, 同时也是决定 *CYP3A5* 酶活性个体差异的关键因素之一。他克莫司在人体内主要经过 *CYP3A5* 酶代谢, 五酯胶囊与地尔硫草也是通过抑制 *CYP3A5* 酶的

Table 1 Tacrolimus C_0/D in patients with different *CYP3A5* genotypes between the observation and the control group. $\bar{x} \pm s$. ^{aa} $P<0.01$, Initial dose vs Maintenance dose; ^b $P<0.05$, ^{bb} $P<0.01$, Expresser vs Non-expresser within each group; ^c $P<0.05$, ^{cc} $P<0.01$, Observation group vs Control group within same *CYP3A5* genotype

$C_0(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})/D(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	Observation group (n=105)		Control group (n=65)	
	<i>CYP3A5</i> expresser	<i>CYP3A5</i> non-expresser	<i>CYP3A5</i> expresser	<i>CYP3A5</i> non-expresser
Initial	66.81 ± 30.44 ^{bb cc}	111.47 ± 57.48	101.02 ± 31.69	131.06 ± 59.02
Maintenance	121.90 ± 54.02 ^{aa c}	132.09 ± 54.64	91.15 ± 25.26 ^b	130.15 ± 55.83
Increase	55.09 ± 49.48 ^{bb cc}	20.63 ± 72.20	-9.87 ± 31.07	-0.92 ± 63.52

作用从而能够提高他克莫司的血药浓度。由此可见, CYP3A5*3 基因多态性与五酯胶囊及地尔硫草对他克莫司血药浓度作用的关系十分值得关注。

本研究在检测了 170 例肾移植术后应用他克莫司患者的 CYP3A5*3 基因型后发现, 观察组基因型为 CYP3A5 表达型的患者占 61.9%, 而在对照组患者中仅占 16.9%, 观察组与对照组患者的 CYP3A5*3 基因型分布频率存在极显著差异 ($P < 0.01$)。由于在应用初始剂量的他克莫司联用地尔硫草时, 仅有他克莫司 C_0/D 低于预期的患者才在后期将联用地尔硫草改为五酯胶囊。且在本研究观察组患者中, 应用相同初始剂量的他克莫司, CYP3A5 表达型患者的 C_0/D 也显著低于非表达型患者。综合以上结果认为, 本研究中观察组 CYP3A5 表达型的患者分布频率显著高于对照组患者是造成观察组患者应用他克莫司初始剂量时 C_0/D 显著低于对照组患者的关键因素之一。

在根据 CYP3A5*3 基因型对五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司 C_0/D 的影响进行分析后发现, 五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司 C_0/D 的提升幅度在自身对照及对照组对照中均与患者 CYP3A5*3 基因型有显著相关, 观察组患者在由地尔硫草换用五酯胶囊后能够提升 CYP3A5 表达型患者他克莫司 C_0/D 约 76.8%, 但在 CYP3A5 非表达型患者中则几乎无这一作用。出现这一结果的原因可能是由于五酯胶囊能够通过抑制 CYP3A 酶对他克莫司的代谢作用, 从而提高他克莫司的血药浓度, 而 CYP3A5*3 突变能够使 CYP3A5 酶失去活性, 所以五酯胶囊可以显著抑制 CYP3A5 表达型患者 CYP3A5 酶的活性, 从而使其对他克莫司的代谢减弱, 但 CYP3A5 非表达型患者由于其 CYP3A5 酶活性本身很低, 故受五酯胶囊影响较小, 对他克莫司的代谢作用也没有显著改变。因此, 作者认为五酯胶囊较地尔硫草在 CYP3A5 表达型患者中对他克莫司血药浓度的提升作用更强, 肾移植术后应用他克莫司并联用地尔硫草的患者若他克莫司 C_0/D 仍处于较低水平可考虑检测患者 CYP3A5*3 基因多态性, 若患者为 CYP3A5 表达者则可将地尔硫草换为五酯胶囊, 若患者为 CYP3A5 非表达者, 则大部分只能依靠提高他克莫司的给药剂量来提高血药浓度。

但本研究在校正了 CYP3A5*3 的影响后发现, 基因型同为 CYP3A5 表达型, 观察组患者的他克莫司 C_0/D 仍然显著的低于对照组 ($P < 0.01$)。可见, 除 CYP3A5*3 基因多态性外, 仍有其他基因多态性等众多因素能够造成他克莫司血药浓度的个体差异。且本研究为回顾性分析, 五酯胶囊相较地尔硫草对他克莫司血药浓度的影响还望在纳入更多影响因素的大规模前瞻性随机对照研究中进一步明确。

References

- [1] Cai YP, Chen QJ, Xie PH, et al. Advances in genetic polymorphisms that affect tacrolimus concentration [J]. China Pharm (中国药房), 2016, 27: 3741-3744.
- [2] Xin HW, Wu XC, Li Q, et al. Effects of *Schisandra sphenanthera* extract on the pharmacokinetics of tacrolimus in healthy volunteers [J]. Br J Clin Pharmacol, 2007, 64: 469-475.
- [3] Xin HW, Li Q, Wu XC, et al. Effects of *Schisandra sphenanthera* extract on the blood concentration of tacrolimus in renal transplant recipients [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2011, 67: 1309-1311.
- [4] Regazzi M, Iacona I, Alessiani M, et al. Interaction between FK506 and diltiazem in an animal model [J]. Transplant Proc, 1996, 28: 1017-1018.
- [5] Cai YP, Chen QJ, Xie PH, et al. Effect of wuzhi capsules on the blood concentration and safety of tacrolimus compared with diltiazem [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与药物治疗学), 2019, 24: 910-915.
- [6] Cheng Y, Li H, Meng Y, et al. Effect of CYP3A5 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus and acute rejection in renal transplant recipients: experience at a single centre [J]. Int J Clin Pract Suppl, 2015, 4: 16-22.
- [7] Kagaya H, Niioka T, Saito M, et al. Prediction of tacrolimus exposure by CYP3A5 genotype and exposure of co-administered everolimus in Japanese renal transplant recipients [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19: 882.
- [8] AlvarezElías AC, GarcíaRoca P, VelásquezJones L, et al. CYP3A5 genotype and time to reach tacrolimus therapeutic levels in renal transplant children [J]. Transplant Proc, 2016, 48: 631-634.
- [9] Pallet N, Etienne I, Buchler M, et al. Long-term clinical impact of adaptation of initial tacrolimus dosing to CYP3A5 genotype [J]. Am J Transplant, 2016, 16: 2670-2675.
- [10] Yousef AM, Qosa H, Bulatova N, et al. Effects of genetic polymorphism in CYP3A4 and CYP3A5 genes on tacrolimus dose among kidney transplant recipients [J]. Iran J Kidney Dis, 2016, 10: 156.
- [11] Yang Y, Xin HW, Liu F, et al. Study on the association of synergistic effects of Wuzhi capsules on tacrolimus with CYP3A5*3 gene polymorphism [J]. China Pharm (中国药房), 2017, 28: 581-585.
- [12] Li JL, Wang XD, Chen SY, et al. Effects of diltiazem on pharmacokinetics of tacrolimus in relation to CYP3A5 genotype status in renal recipients: from retrospective to prospective [J]. Pharmacogenomics J, 2011, 11: 300-306.
- [13] Hua YF, He J, Zhou HH, et al. CYP3A5*3 and CYP3A4*18 single nucleotide polymorphisms in a Chinese population [J]. Clin Chim Acta, 2005, 353: 187-192.
- [14] Yu KS, Cho JY, Shin SG, et al. Effect of the CYP3A5 genotype on the pharmacokinetics of intravenous midazolam during inhibited and induced metabolic states [J]. Clin Pharmacol Ther, 2004, 76: 104-112.