

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01320

· 论 著 ·

CYP3A5 和 ABCB1 多态性对肾移植受者由环孢素转换为他克莫司个体化给药的影响

王学彬¹, 王卓^{1*}, 高申¹, 章玥¹, 高丽红¹, 尹东锋², 曹爱霖¹, 田涇¹, 张文静¹, 钱皎¹, 肖成武³, 杨庆^{3*}

1. 第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433
2. 兰州军区乌鲁木齐总医院药剂科, 乌鲁木齐 830000
3. 第二军医大学长海医院泌尿外科, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨 CYP3A5 和 ABCB1 基因多态性对肾移植受者将环孢素(cyclosporine A, CsA)转换为 他克莫司(tacrolimus, FK506)后的初始他克莫司个体化给药的影响。**方法** 利用聚合酶链反应(PCR)和限制性内切片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测 CYP3A5 * 3(A6989G)和 ABCB1 3 个位点 exon12 C1236T、exon21 G(A)2677T 和 exon26 C3435T 基因型;回顾性评价 CYP3A5 和 ABCB1 3 个位点基因型及单倍体型对由 CsA 转换为 他克莫司的肾移植受者他克莫司初始血药谷浓度/剂量比(concentration/dose, C₀/D)的影响。**结果** 对于由 CsA 转换为 他克莫司的肾移植受者,在转换后的第 7、14、21 和 28 天, CYP3A5 AA、AG 与 GG 组的他克莫司 C₀/D 之间差异有统计学意义(P<0.05);当第 28 天 CYP3A5 AA 组和 AG 组的他克莫司日剂量 D 分别达到 GG 组的 3.5 倍[(0.14±0.03) mg·kg⁻¹ vs (0.04±0.01) mg·kg⁻¹, P=0.00]和 1.75 倍[(0.07±0.03) mg·kg⁻¹ vs (0.04±0.01) mg·kg⁻¹, P=0.00]时, CYP3A5 不同基因型的他克莫司 C₀ 才达到同一靶浓度。对于由 CsA 转换为 他克莫司的 CYP3A5GG 肾移植受者, ABCB1C1236T、G(A)2677T 和 C3435T 基因型及其纯合子单倍体型对初始他克莫司 C₀/D 无影响(P>0.05)。**结论** 对于需将 CsA 转换为 他克莫司肾移植受者,应根据 CYP3A5 基因型选择他克莫司的初始给药日剂量,以期迅速达到有效免疫抑制效果。

[关键词] 细胞色素 P450 CYP3A5; P 糖蛋白; 环孢素; 他克莫司; 单核苷酸多态性; 肾移植

[中图分类号] R 699.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)12-1320-07

Impact of CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms on drug switching from cyclosporine to tacrolimus for individualized treatment of renal transplant recipients

WANG Xue-bin¹, WANG Zhuo^{1*}, GAO Shen¹, ZHANG Yue¹, GAO Li-hong¹, YIN Dong-feng², CAO Ai-lin¹, TIAN Jing¹, ZHANG Wen-jing¹, QIAN Jiao¹, XIAO Cheng-wu³, YANG Qing^{3*}

1. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Pharmacy, Urumqi General Hospital, PLA Lanzhou Military Area Command, Urumqi 830000, Xinjiang, China
3. Department of Urology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the impact of CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms on the initial individualized treatment with tacrolimus (FK506) in renal transplant recipients during switching from cyclosporine (CsA) to FK506. **Methods** Polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism method (PCR-RFLP) was employed to investigate CYP3A5 (A6989G) and ABCB1 (exon12[C1236T], exon21G[A]2677T and exon26[C3435T]) genotype data. The initial trough concentration/dose (C₀/D) values were compared among different CYP3A5 genotypes in renal transplant recipients switching from CsA to FK506 using one-way ANOVA. In addition, the initial C₀/D values were also compared among different ABCB1 (exon12[C1236T], exon21G[A]2677T and exon26[C3435T]) genotypes and their haplotypes using one-way ANOVA. **Results** The FK506 C₀/D values were significantly different between different CYP3A5 genotypes (AA, AG and GG) at the 7th, 14th, 21th and 28th day of conversion from CsA to FK506 in renal transplant recipients (P<0.05). Only on the 28th day of

[收稿日期] 2014-04-11 **[接受日期]** 2014-06-30

[基金项目] 国家科技部重大新药创制专项课题(2012ZX09303-011-002), 第二军医大学长海医院“1255”基金学科特色提升项目(CH125520400). Supported by Major Science and Technology Project of “Significant New Drug” of China (2012ZX09303-011-002) and “1255 Project” of Changhai Hospital of Second Military Medical University(CH125520400).

[作者简介] 王学彬, 硕士生, 临床药师. E-mail: binxuewang@126.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-31162299, E-mail: wangzhuo088@163.com; Tel: 021-31161721, E-mail: dryangq@gmail.com

conversion, when the FK506 D in CYP3A5AA group was 3.5-fold that of CYP3A5GG group ($[0.14 \pm 0.03] \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ vs $[0.04 \pm 0.01] \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, $P=0.00$) and the FK506 D in CYP3A5AG group was 1.75-fold that of CYP3A5GG group ($[0.07 \pm 0.03] \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ vs $[0.04 \pm 0.01] \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, $P=0.00$), the FK506 C_0 in different CYP3A5 genotypes reached the same target concentration. The initial FK506 C_0/D was not associated with different ABCB1 (exon12 [C1236T], exon21 G[A]2677T and exon26 [C3435T]) genotypes or their haplotypes in renal transplant recipients. **Conclusion** Appropriate initial daily dose of FK506 should be selected according to CYP3A5 genotype in order to quickly achieve the target immunosuppression in renal transplant recipients who are switching immunosuppressive regimen from CsA to FK506.

[Key words] cytochrome P-450 CYP3A5; P-glycoprotein; cyclosporine; tacrolimus; single nucleotide polymorphism; kidney transplantation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(12):1320-1326]

环孢素(cyclosporine, CsA)和他克莫司(tacrolimus, FK506)是应用于器官移植领域的两个重要的钙调磷酸酶抑制剂^[1]。CsA 的广泛应用大大降低了肾移植受者急性排异反应(acute rejection, AR)的发生率。然而,由于 CsA 免疫抑制强度仅为他克莫司的 1%~10%,其疗效不佳会导致 AR 的发生^[2]。此外,肾移植术后长期使用 CsA 过程中还会发生慢性移植肾肾病(chronic allograft nephropathy, CAN)^[3]、牙龈增生(gingival hyperplasia, GH)^[4]和药物性肝损(drug-induced liver injury, DILI)^[5-6]等药源性疾病(drug induced diseases, DIDs),严重影响肾移植受者长期生存质量。由于他克莫司具有免疫抑制作用强和肝肾毒性小等方面的优势,临床倾向于将 CsA 转换为他克莫司以改善或治愈与 CsA 相关的 DIDs^[7]。然而,和 CsA 相比,他克莫司有其独特的严重不良反应,如腹痛、腹泻、手臂震颤和高血糖等。此外,他克莫司药代动力学个体差异大,临床一般根据治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM)结果来优化他克莫司用药方案,但 TDM 具有一定滞后性^[8]。

Cytochrome P450 3A(CYP3A)是肝脏最丰富的代谢酶,参与机体 50%的药物在肝脏生物转运^[9]。P 糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)是多药耐药基因(multiple drug resistance gene, MDR1,又称为 ABCB1)的编码产物,主要分布于肠道,干扰药物的吸收^[10]。他克莫司是 CYP3A5 和 P-gp 的底物,CYP3A5(A6989G)基因多态性与肾移植受者术后一直使用他克莫司的初始血药浓度和维持血药浓度存在相关性,对 ABCB1 基因多态性的研究主要集中在其外显子(exon)12、21 和 26 上,ABCB1 exon12(C1236T)、exon21(G(A)2677T)和 exon26(C3435T)基因多态性与他克莫司代谢的研究结论存

在矛盾^[11-20]。但是,对于由 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者,CYP3A5 和 ABCB1 基因多态性对初始的他克莫司血药浓度和剂量的影响未见相关报道。

本研究通过测定 CYP3A5 和 ABCB1 基因型,回顾性研究 CYP3A5 和 ABCB1 基因多态性对肾移植受者由 CsA 转换为他克莫司后初始他克莫司血药谷浓度/剂量比(concentration/dose, C_0/D)的影响,便于以后通过 CYP3A5 和 ABCB1 基因型分析,直接干预需将 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者的他克莫司起始剂量,从而提供科学的个体化给药方案。

1 材料和方法

1.1 研究对象和基本特征 收集 1995 年 5 月至 2011 年 12 月在第二军医大学长海医院行同种异体肾移植的受者 69 例,均为汉族,其中男 43 例,女 26 例,平均年龄(42.0 ± 9.5)岁,平均体质量(62.0 ± 9.4)kg。入选标准:(1)肾移植术后初始免疫抑制剂方案为 CsA + 吗替麦考酚酯(MMF) + 醋酸泼尼松片(Pred);(2)在 CsA 治疗期间出现了 AR、CAN、DILI 或(和)GH 等,然后将免疫抑制剂方案由 CsA + MMF + Pred 转换为 FK506 + MMF + Pred;(3)在转换方案前后 1 周均未使用影响他克莫司代谢的药物(如地尔硫草、奥美拉唑、琥乙红霉素、伏利康唑、五酯胶囊和利福平等)。排除标准:(1)CsA 治疗期间移植肾出现了不可逆的病变;(2)CsA 治疗期间 GH 肾移植受者已经手术切除增生的牙龈;(3)转换方案 1 周前已使用影响他克莫司代谢的药物。遵循《世界医学协会赫尔辛基宣言》(V2000)的要求进行该课题的研究,研究方案通过第二军医大学生物医学研究伦理委员会认证,所有入选对象均签署知情同意书。

1.2 CsA 和他克莫司全血谷浓度测定 肾移植受者将 CsA 转换为他克莫司后,在第 7 天体内的 CsA

已基本排泄完毕,且他克莫司血药浓度已达到稳态。在转换方案当天(即第 0 天)和转换后第 7、14、21 和 28 天分别于服药前抽取静脉血 2 mL 置于 EDTA-K2 抗凝管中,采用雅培公司 TDx-FLX 仪和荧光偏振免疫法 (fluorescence polarization immunoassay, FPIA)测定 CsA 血药浓度;采用 IMX 仪器和微粒子酶免疫分析法 (microparticle enzyme-linked immunosorbent assay, MEIA)测定他克莫司血药浓度。统计时将他克莫司日剂量以体质量校正,根据他克莫司全血谷浓度计算 C_0/D ($\text{ng} \cdot \text{kg} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$),即全血药物浓度与每天每千克体质量用药剂量的比值。

1.3 CYP3A5 和 ABCB1 基因型分析

1.3.1 DNA 的提取 留取晨空腹静脉血 2 mL,置于 EDTA-K2 抗凝管中,冷冻于 -20°C 冰箱。由上

海欧易生物有限公司按照 TaKaRa 试剂盒说明书提取外周血基因组 DNA。

1.3.2 基因型确定 CYP3A5、ABCB1 exon12 (C1236T)、ABCB1 exon21(G(A)2677T)和 ABCB1 exon26(C3435T)等基因型测定均委托上海欧易生物有限公司完成,引物序列如表 1 所示。PCR 反应总体系:在 $200 \mu\text{L}$ 薄壁管内,以提取的 DNA ($1 \mu\text{L}$)为模板加入 $10 \times \text{rTaq}$ Buffer ($3 \mu\text{L}$)、 $50 \times \text{dNTP}$ mix ($0.5 \mu\text{L}$)、Primer Forward 与 Primer Reverse (各 $0.5 \mu\text{L}$)及 TaKaRa rTaq ($0.4 \mu\text{L}$),加 ddH₂O 至反应总体积 $30 \mu\text{L}$ 。在 ABI 9700 实时定量 PCR 仪器上进行反应: 95°C 预变性 2 min; 95°C 变性 20 s、 55°C 退火 20 s、 72°C 延伸 30 s,共 40 个循环;最后 72°C 再延伸 10 min。在 ABI 3730XL 测序仪上对 PCR 扩增产物进行测序以确定 SNP。

表 1 CYP3A5 和 ABCB1 基因型分析的引物序列

Tab 1 Primer sequences for genotyping of CYP3A5 and ABCB1

Variant gene name	rs No.	Prime sequence (5'-3')	Product length
CYP3A5 A6989G	rs776746	Forward: ACTGCCCTTGCAGCATTTA	393 bp
		Reverse: ACTGCCCTTGCAGCATTTA	
ABCB1 C1236T	rs1128503	Forward: ACTTCAGTTACCCATCTCG	500 bp
		Reverse: TTTCCCGTAGAAACCTTAC	
ABCB1 G(A)2677T	rs2032582	Forward: ATAGCAAATCTTGGGACAG	256 bp
		Reverse: GCATAGTAAGCAGTAGGGA	
ABCB1 C3435T	rs1045642	Forward: TGGCAGTTTCAGTGTAAAG	330 bp
		Reverse: CTCCCAGGCTGTTTATTTG	

1.4 统计学处理 采用 SHEsis 软件对 CYP3A5、ABCB1exon12 (C1236T)、ABCB1exon21 [G (A) 2677T]和 ABCB1exon26 (C3435T)等群体数进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,并分析 ABCB1 基因 3 个位点之间的连锁不平衡和单倍型。使用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,对于正态分布的参数采用单因素方差分析(One-way ANOVA)比较组间差异,对于偏态分布的参数采用两独立样本的非参数检验比较组间差异。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 CsA 转换为他克莫司肾移植受者的基本资料 69 例肾移植受者将 CsA 转换为他克莫司的主要原因因为急性排斥反应、慢性移植肾病、牙龈增生、药物性肝损伤,2 例患者为自行要求转换。相关患者的基本资料如表 2 所示。

2.2 CYP3A5 和 ABCB1 等位基因和基因型频率 CYP3A5 A6989G、ABCB1 C1236T、ABCB1 G(A) 2677T 和 ABCB1 C3435T 基因型分布均达到遗传平衡, χ^2 值分别为 0.189($P=0.664$)、0.002($P=0.958$)、0.774 ($P=0.379$)和 0.011($P=0.917$)。CYP3A5 和 ABCB1 等位基因和基因型频率如表 3 所示。

2.3 CYP3A5 多态性对他克莫司初始 C_0/D 的影响 69 例将 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者中, CYP3A5 基因型 GG 组和 AG 组分别与 AA 组相比,转换方案当天 CsA 的 C_0 、D 和 C_0/D 差异均无统计学意义($P>0.05$);转换方案后第 7、14 和 21 天的 CYP3A5 不同基因型之间的他克莫司 C_0 和 C_0/D 差异均有统计学意义($P<0.05$);第 28 天 CYP3A5 AA、AG 和 GG 组达到同样的他克莫司目标浓度 C_0 ,此时他克莫司 D 以及 C_0/D 之间差异有统计学意义($P<0.05$,表 4)。

表 2 CsA 转换为他克莫司肾移植受者的基本特征

Tab 2 Clinical data of renal transplant recipients switching from CsA to FK506

n=69

Reasons of switching	n(%)	Gender (femal/male)	Body mass	Age	Post transplantation
		n/n	m/kg, $\bar{x}\pm s$	(year, $\bar{x}\pm s$)	t/month, $\bar{x}\pm s$
AR	14(20.3)	7/7	56.8 \pm 10.7	39.1 \pm 9.3	0.4 \pm 0.2
CAN	34(49.3)	12/22	64.7 \pm 7.9	44.7 \pm 10.6	50.4 \pm 27.1
GH	4(5.8)	1/3	52.5 \pm 8.2	47.0 \pm 12.4	94.0 \pm 56.3
DILI	15(21.7)	5/10	63.6 \pm 11.3	43.9 \pm 12.9	48.7 \pm 18.4
Patients' own request	2(2.9)	1/1	60.0 \pm 13.0	41.0 \pm 5.0	95.0 \pm 68.6

CsA: Cyclosporine; FK506: Tacrolimus; AR: Acute rejection; CAN: Chronic allograft nephropathy; GH: Gingival hyperplasia; DILI: Drug-induced liver injury

表 3 CYP3A5 和 ABCB1 等位基因和基因型的频率

Tab 3 Allelic and genotypic frequencies of CYP3A5 and ABCB1

n(%)

Gene	Allele frequency n=138		Genotype frequency n=69		
	C(G/A)	T(G)	CC(GG/AA)	CT(G/AT)	TT(GG)
CYP3A5A6989G	36(26.09)	102(73.91)	4(5.80)	28(40.58)	37(53.62)
ABCB1C1236T	41(29.71)	97(70.29)	6(8.70)	29(42.03)	34(49.28)
ABCB1G(A)2677T	81(58.70)	57(41.30)	22(31.88) ^a	37(53.62) ^b	10(14.49)
ABCB1C3435T	86(62.32)	52(37.68)	27(39.13)	32(46.38)	10(14.49)

^a: Including 8 cases of GA genotype and 2 were AA genotype; ^b: Including 12 AT genotype cases

表 4 CYP3A5 多态性对肾移植受者他克莫司初始 C₀ 和 D 的影响Tab 4 Influence of CYP3A5 polymorphisms on initial C₀ and D of FK506 in renal transplant recipientsn=69, $\bar{x}\pm s$

Index	CYP3A5 genotype		
	AA	AG	GG
CsA (at the 0 day of conversion)			
C ₀ ρ _B (ng · mL ⁻¹)	120.77 \pm 46.09	142.71 \pm 68.21	145.39 \pm 54.67
D (mg · kg ⁻¹)	3.51 \pm 0.80	4.23 \pm 1.85	3.93 \pm 1.34
C ₀ /D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹)	35.58 \pm 4.79	38.54 \pm 12.19	41.89 \pm 18.00
FK506 (at the 7 th day of conversion)			
C ₀ (ng · mL ⁻¹)	3.54 \pm 1.21	6.11 \pm 2.61*	10.58 \pm 2.41**
D(mg · kg ⁻¹)	0.09 \pm 0.04	0.07 \pm 0.03	0.08 \pm 0.04
C ₀ /D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹)	35.39 \pm 9.96	88.51 \pm 26.65*	176.65 \pm 43.81**
FK506 (at the 14 th day of conversion)			
C ₀ ρ _B (ng · mL ⁻¹)	3.97 \pm 2.25	6.47 \pm 1.85*	9.81 \pm 3.16**
D (mg · kg ⁻¹)	0.09 \pm 0.02	0.07 \pm 0.03	0.07 \pm 0.03
C ₀ /D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹)	47.11 \pm 15.87	88.56 \pm 7.33*	156.97 \pm 21.93**
FK506 (at the 21 st day of conversion)			
C ₀ ρ _B (ng · mL ⁻¹)	6.15 \pm 1.87	6.78 \pm 2.10*	8.08 \pm 1.96**
D (mg · kg ⁻¹)	0.12 \pm 0.03	0.07 \pm 0.03*	0.05 \pm 0.02*
C ₀ /D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹)	53.26 \pm 18.70	91.01 \pm 11.50*	170.42 \pm 25.81**
FK506 (at the 28 th day of conversion)			
C ₀ ρ _B (ng · mL ⁻¹)	6.48 \pm 2.44	6.23 \pm 2.13	6.80 \pm 1.61
D (mg · kg ⁻¹)	0.14 \pm 0.03	0.07 \pm 0.03**	0.04 \pm 0.01**
C ₀ /D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹)	44.15 \pm 10.82	93.52 \pm 18.84**	159.26 \pm 26.82**

CsA: Cyclosporine; FK506: Tacrolimus; * P<0.05, ** P<0.01 vs AA genotype

2.4 *ABCB1* 多态性对他克莫司 C_0/D 的影响 运用 SHEsis 软件分析 *CYP3A5* GG 型肾移植受者的 *ABCB1* 基因 1236、2677 和 3435 3 个位点, 发现 *ABCB1* 基因 1236-2677 位点 $D' = 0.65$, 2677-3435 位点 $D' = 0.71$, 1236-3435 位点 $D' = 0.53$, 说明这 3 个位点之间没有明显的连锁不平衡。对 *ABCB1* 基因 1236、2677 和 3435 3 个位点 SNPs 同时进行基因型分析, *ABCB1* 基因 1236-2677-3435 3 个位点 12 种可能的单倍型中主要单倍型 CA(G)C、TA(G)C 和 TTT 频率分别为 32.3%、32.2% 和 30.8%。

由 CsA 转换为他克莫司的 37 例 *CYP3A5* GG 肾移植受者中, *ABCB1* C1236T 基因型 TT 和 CT 组与 CC 组比较、G(A)2677T 基因型 TT 组和 GT+AT 组与 GG+GA+AA 组比较、C3435T 基因型 TT 组和 CT 组与 CC 组比较, 他克莫司 C_0/D 在转换方案后第 7、14、21 和 28 天差异均无统计学意义。*ABCB1* C1236T、G(A)2677T 和 C3435T 纯合子单倍型 CGC-CGC、CGC-TTT 与 TTT-TTT 之间的 C_0/D 差异也无统计学意义(表 5)。

表 5 *ABCB1* 多态性对 *CYP3A5* GG 肾移植受者他克莫司初始 C_0 和 D 的影响

Tab 5 Influence of *ABCB1* polymorphisms on initial C_0 and D of FK506 in renal transplant recipients carrying *CYP3A5*GG genotype

<i>ABCB1</i> Genotype	N	CsA C_0/D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹) (At the 0 day of conversion)	FK506 C_0/D (ng · kg · mg ⁻¹ · mL ⁻¹)				$\bar{x} \pm s$
			At the 7 th day of conversion	At the 14 th day of conversion	At the 21 st day of conversion	At the 28 th day of conversion	
<i>C1236T</i>							
CC	4	45.23 ± 11.01	132.01 ± 35.29	164.66 ± 38.24	177.77 ± 37.81	187.70 ± 45.34	
CT	15	58.27 ± 9.14	137.17 ± 33.65	190.43 ± 39.61	200.42 ± 40.82	202.85 ± 43.58	
TT	18	48.07 ± 6.75	165.80 ± 29.86	204.84 ± 45.61	229.92 ± 48.79	226.19 ± 29.86	
<i>G(A)2677T</i>							
GG ^a	12	42.49 ± 9.29	170.35 ± 36.65	210.69 ± 58.45	229.70 ± 59.81	238.37 ± 61.33	
GT ^b	21	56.53 ± 16.90	182.24 ± 37.78	174.57 ± 33.08	184.69 ± 31.51	185.79 ± 35.53	
TT	4	45.72 ± 13.72	166.21 ± 26.39	208.556 ± 42.24	210.38 ± 47.72	201.77 ± 36.35	
<i>C3435T</i>							
CC	15	55.18 ± 10.07	142.86 ± 22.69	195.35 ± 65.72	241.21 ± 72.87	248.25 ± 77.51	
CT	18	41.48 ± 11.02	140.07 ± 25.57	172.17 ± 44.03	180.25 ± 41.37	202.93 ± 41.76	
TT	4	49.36 ± 3.34	166.21 ± 26.39	205.74 ± 41.30	218.64 ± 40.00	214.53 ± 36.04	
Haplotype							
CG(A)C-CG(A)C	4	52.01 ± 4.69	132.01 ± 29.96	146.66 ± 38.24	177.77 ± 37.81	187.70 ± 35.34	
CG(A)C-TTT	10	47.28 ± 7.18	133.83 ± 27.68	157.72 ± 32.77	168.17 ± 30.98	178.87 ± 36.08	
TTT-TTT	4	49.11 ± 10.01	166.21 ± 26.39	178.47 ± 23.43	176.49 ± 28.44	190.61 ± 22.03	

CsA; Cyclosporine; FK506; Tacrolimus; ^a: Including 8 cases of GA genotype and 2 were AA genotype; ^b: Including 12 cases of AT genotype

3 讨论

肾移植受者术后在以 CsA 为基础的“MMF + CsA + Pre”三联免疫抑制剂方案治疗的过程中, 可能发生与 CsA 相关的 AR、GH、DILI 和(或)CAN 等严重 DIDs^[3-6]。因他克莫司药动学个体差异大和治疗窗窄, 且 TDM 具有一定的滞后性, 故应根据

CYP3A5 和 *ABCB1* 的基因型制定他克莫司的初始给药方案, 再根据 TDM 结果优化之。然而, 对于需要将 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者, 目前临床主要根据前期使用 CsA 的 C_0 和 D 来制定他克莫司的给药方案, 其科学性值得深入研究。

对于由 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者, 未

见 CYP3A5 基因多态性对其他克莫司初始给药方案影响的报道。从表 4 可以看出, CYP3A5 多态性并不影响肾移植受者转换方案前 CsA 的 C_0 、D 和 C_0/D , 但影响他克莫司给药方案初始的 C_0 和 C_0/D , 说明对于同一 CYP3A5 基因型, CsA 与他克莫司血药浓度高低之间并无关系。CsA 转换为他克莫司后的第 7 天, 肾移植受者 CYP3A5 GG 和 CYP3A5 AG 组的他克莫司 C_0/D 分别是 CYP3A5 AA 组的 5.0 倍, 而且只有 CYP3A5 AG 组的他克莫司达到治疗靶浓度 ($3 \sim 8 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$), 而 CYP3A5 AA 和 CYP3A5 GG 组的他克莫司 C_0 分别低于和高于 CYP3A5 AG 组; 第 14、21 和 28 天 CYP3A5 不同基因型的他克莫司 C_0/D 之间差异也均有统计学意义 ($P < 0.05$)。另外, 临床医生根据 TDM 结果多次调整肾移植受者他克莫司用药方案, 当第 28 天 CYP3A5 AA 组和 CYP3A5 AG 组的他克莫司 D 分别是 CYP3A5 GG 组的 3.5 倍时, CYP3A5 不同基因型才达到同样的他克莫司治疗靶浓度。以上说明 CYP3A5 基因多态性影响由 CsA 转换为他克莫司肾移植受者的初始他克莫司给药方案。据此研究, 我们建议对于需将 CsA 转换为他克莫司的 CYP3A5 AA、AG 和 GG 基因型肾移植受者, 他克莫司的平均日剂量 D 应为 0.14、0.07 和 0.04 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 以期迅速达到靶浓度和有效免疫抑制效果。

对于由 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者, 同样未见 ABCB1 的 exon12 (C1236T)、exon21 (G/A 2677T) 和 exon26 (C3435T) 基因及其纯合子单倍体多态性对其他克莫司初始给药方案影响的报道。针对肾移植术后一直使用他克莫司抗排异的肾移植受者, ABCB1 基因多态性是否影响他克莫司代谢的研究在国内外已有开展, 但结论不尽相同。部分学者研究发现 ABCB1 C3435T 及 G(A)2677T 多态性与较高的他克莫司血药浓度及较低的日需剂量有关^[11-12], 但也有研究未发现 ABCB1 C1236T、C3435T 及 G(A)2677T 多态性对他克莫司药代动力学存在显著性影响^[13-18]。国外 Anglicheau 等^[12] 和 Mai 等^[15] 采用单倍体分析方法对此进行研究, 但结论尚有分歧。国内倪晓洁等^[19] 首次采用 ABCB1 单倍体型分析方法, 发现高表达单倍体型 3435CC-2677GG 携带者较低表达单倍体型 3435TT-2677TT 需要更高的 FK506 日剂量以维持移植肾功

能稳定。但这些研究均未排除 CYP3A5 基因多态性影响。2006 年 Wang 等^[20] 对 81 例 CYP3A5 GG 肺移植受者 ABCB1 C1236T、G(A)2677T 和 C3435T 3 个位点基因型和联合的单倍体型进行分析, 发现 ABCB1 单倍型 CGC-CGC、CGC-TTT 和 TTT-TTT 与他克莫司的 C_0/D 之间有很大相关性。针对由 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者, 该研究对 37 例 CYP3A5GG 型受者 ABCB1 基因 1236、2677 和 3435 3 个位点及其单倍型 [CG(A)C-CG(A)C、CG(A)C-TTT 和 TTT-TTT] 多态性对他克莫司初始给药方案的影响进行了探讨, 但发现 ABCB1 基因多态性对 C_0 和 C_0/D 值并无显著影响。

本研究还存在一定的缺陷: 纳入病例少; 部分患者体内残留的 CsA 可能与他克莫司的存在相互作用; 作为回顾性研究还无法很好地控制肾移植受者用药依从性和饮食对药物浓度的影响等问题。以上原因可能会导致 ABCB1 多态性与他克莫司血药浓度相关性的假阴性结果, 需进一步扩大样本量来验证本课题的研究结论。

总之, 对于需将 CsA 转换为他克莫司的肾移植受者, 他克莫司初始给药方案受 CYP3A5 基因型的调节。因此, 对于该类肾移植受者, 临床不应根据以往 CsA 给药方案, 而应依据 CYP3A5 基因型, 从而更科学地制定他克莫司的初始给药方案, 再根据 TDM 结果优化之。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Halloran P F. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation[J]. N Engl J Med, 2004, 351: 2715-2729.
- [2] Pillans P I, Rigby R J, Kubler P, Willis C, Salm P, Tett S E, et al. A retrospective analysis of mycophenolic acid and cyclosporin concentrations with acute rejection in renal transplant recipients[J]. Clin Biochem, 2001, 34: 77-81.
- [3] Nankivell B J, Borrows R J, Fung C L, O'Connell P J, Allen R D, Chapman J R. The natural history of chronic allograft nephropathy[J]. N Engl J Med, 2003, 349: 2326-2333.

- [4] Gau C H, Tu H P, Chin Y T, Chen R Y, Fu M M, Fu E. Can chlorhexidine mouthwash twice daily ameliorate cyclosporine-induced gingival overgrowth? [J]. *J Formos Med Assoc*, 2013, 112: 131-137.
- [5] Bohmer A E, Souza D G, Hansel G, Brum L M, Portela L V, Souza D O. Long-term cyclosporine treatment in non-transplanted rats and metabolic risk factors of vascular diseases[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 185: 53-58.
- [6] Wadei H M, Textor S C. Hypertension in the kidney transplant recipient [J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2010, 24: 105-120.
- [7] Ji S M, Li L S, Sha G Z, Chen J S, Liu Z H. Conversion from cyclosporine to tacrolimus for chronic allograft nephropathy[J]. *Transplant Proc*, 2007, 39: 1402-1405.
- [8] Ben Fredj N, Chaabane A, Chadly Z, Hammouda M, Aloui S, Boughattas N A, et al. Tacrolimus therapeutic drug monitoring in Tunisian renal transplant recipients: Effect of post-transplantation period[J]. *Transpl Immunol*, 2013, 28: 198-202.
- [9] Ren X, Mao X, Cao L, Xue K, Si L, Qiu J, et al. Nonionic surfactants are strong inhibitors of cytochrome P450 3A biotransformation activity in vitro and in vivo[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 36(4-5): 401-411.
- [10] Saitoh H, Saikachi Y, Kobayashi M, Yamaguchi M, Oda M, Yuhki Y, et al. Limited interaction between tacrolimus and P-glycoprotein in the rat small intestine[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 28(1-2): 34-42.
- [11] 罗儒超, 聂新民, 李伟芳, 桂 嵘, 黄竹英, 朱利军. CYP3A5 和多重耐药基因 1 多态性对肾移植患者他克莫司药代动力学参数的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31: 546-548.
- [12] Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, Becquemont L, Schlageter M H, Cassinat B, et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14: 1889-1896.
- [13] Akbas S H, Bilgen T, Keser I, Tuncer M, Yucetin L, Tosun O, et al. The effect of MDR1 (*ABCB1*) polymorphism on the pharmacokinetic of tacrolimus in Turkish renal transplant recipients [J]. *Transplant Proc*, 2006, 38: 1290-1292.
- [14] Tada H, Tsuchiya N, Satoh S, Kagaya H, Li Z, Sato K, et al. Impact of *CYP3A5* and MDR1 (*ABCB1*) C3435T polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients [J]. *Transplant Proc*, 2005, 37: 1730-1732.
- [15] Mai I, Perloff E S, Bauer S, Goldammer M, Johne A, Filler G, et al. MDR1 haplotypes derived from exons 21 and 26 do not affect the steady-state pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant patients [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2004, 58: 548-553.
- [16] Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, et al. Influence of *CYP3A5* and MDR1 (*ABCB1*) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients[J]. *Transplantation*, 2004, 78: 1182-1187.
- [17] 侯明明, 宋洪涛, 王庆华, 杨顺良, 谭建明. 肾移植受者 MDR1C3435T 基因多态性对他克莫司血药浓度/剂量比及疗效的影响[J]. *药学实践杂志*, 2010, 28: 29-31.
- [18] Rong G, Jing L, Deng-Qing L, Hong-Shan Z, Shai-Hong Z, Xin-Min N. Influence of *CYP3A5* and MDR1 (*ABCB1*) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42: 3455-3458.
- [19] 倪晓洁, 郑少玲, 陈必成, 傅 晶, 蔡 勇, 杨亦荣, 等. 肾移植受者 MDR1 基因多态性对他克莫司日需剂量及血药浓度的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35: 319-322.
- [20] Wang J, Zeevi A, McCurry K, Schuetz E, Zheng H, Iacono A, et al. Impact of *ABCB1* (MDR1) haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are *CYP3A5* *3/*3 nonexpressors[J]. *Transpl Immunol*, 2006, 15: 235-240.

[本文编辑] 孙 岩