

CYP3A5 基因多态性与肝移植术后早期他克莫司浓度/剂量比的关系

王新^{1,2*}, 王华光³, 邱葵³, 艾超², 刘丽宏^{4#} (1. 首都医科大学药学院, 北京 100069; 2. 清华大学附属北京清华长庚医院药理学部/清华大学临床医学院, 北京 102218; 3. 首都医科大学附属北京朝阳医院药事部, 北京 100020; 4. 中日友好医院药理学部, 北京 100029)

中图分类号 R979.5 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)01-0055-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.01.012

摘要 目的:探讨供受体 CYP3A5 基因多态性对肝移植术后早期他克莫司浓度/剂量比(C/D)的影响。方法:回顾性收集 2020 年在清华大学附属北京清华长庚医院首次接受肝移植的患者 71 例,记录其术后 2 周、3 周和 4 周时服用的他克莫司剂量及相应时间点的血药浓度(C),得到每千克日剂量(D),分别计算 C/D 。采用荧光原位杂交技术测定供受体 CYP3A5 的基因型,根据基因型进行分组,将 $CYP3A5 * 1/ * 1$ 和 $CYP3A5 * 1/ * 3$ 归为表达组,将 $CYP3A5 * 3/ * 3$ 归为非表达组,分别分析并联合分析供受体基因型对于 C/D 的影响,同时联合分析供受体基因型对于肝移植术后肝功能恢复正常率的影响。结果:术后 2 周、3 周和 4 周时,供体和受体表达组的他克莫司 C/D 均低于非表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。供受体联合分析结果显示,供体非表达/受体非表达组的他克莫司 C/D 高于供体表达/受体表达组、供体表达/受体非表达组和供体非表达/受体表达组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。术后 1 个月内,供体表达/受体表达组、供体表达/受体非表达组、供体非表达/受体表达组和供体非表达/受体非表达组间肝功能恢复正常率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:供受体 CYP3A5 基因多态性均是影响肝移植术后患者他克莫司 C/D 的遗传因素,携带 $CYP3A5 * 3/ * 3$ 基因型的患者,在达到相同目标的血药浓度时可能需要更低的剂量,用药前进行基因型检测能够更有效地指导他克莫司的临床应用。

关键词 肝移植; CYP3A5; 他克莫司; 基因多态性; 浓度/剂量比

Correlation Between CYP3A5 Gene Polymorphism and Tacrolimus Concentration/Dose Ratio in the Early Postoperative Period After Liver Transplantation

WANG Xin^{1,2}, WANG Huaguang³, QIU Kui³, AI Chao², LIU Lihong⁴ (1. School of Pharmaceutical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Dept. of Pharmacy, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, School of Clinical Medicine, Tsinghua University, Beijing 102218, China; 3. Dept. of Pharmacy, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China; 4. Dept. of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the effect of donor-recipient CYP3A5 gene polymorphisms on the tacrolimus concentration/dose ratio (C/D) in the early postoperative period after liver transplantation. **METHODS:** Seventy-one patients who received liver transplantation for the first time at Beijing Tsinghua Changgung Hospital, School of Clinical Medicine, Tsinghua University in 2020 were retrospectively collected. Tacrolimus dose at 2, 3 and 4 weeks after surgery and blood concentration (C) at corresponding time points were recorded to obtain daily dose per kilogram (D), and C/D value was calculated respectively. The genotypes of donor-recipient CYP3A5 were determined by fluorescence in situ hybridization, and $CYP3A5 * 1/ * 1$ and $CYP3A5 * 1/ * 3$ were grouped according to genotype, and $CYP3A5 * 3/ * 3$ were grouped as the expression group and $CYP3A5 * 3/ * 3$ were grouped as the non-expression group, the effects of donor-recipient genotype on C/D value were analyzed separately and jointly, meanwhile, the donor-recipient genotypes were analyzed to compare the normal recovery rate of liver function after liver transplantation. **RESULTS:** At 2, 3 and 4 weeks after surgery, C/D values were lower in both donor and recipient expressing group than in the non-expressing group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). C/D values of donor non-expression/receptor non-expression group were higher than those of donor expression/receptor expression group, donor expression/receptor non-expression group and donor non-expression/receptor expression group, the

* 主管药师。研究方向:药事管理、临床药学。E-mail:wxa00898@bitch.edu.cn

通信作者:主任药师。研究方向:药物基因组学、临床药学和药事管理。E-mail:hongllh@126.com

difference was statistically significant ($P < 0.05$). At 1 month after surgery, there was no significant difference in the normal rate of liver function between donor expression/receptor expression group, donor expression/receptor non-expression group, donor non-expression/receptor expression group and donor non-expression/receptor non-expression group ($P > 0.05$). **CONCLUSIONS:** Both donor-recipient CYP3A5 gene polymorphisms are genetic factors affecting tacrolimus C/D in patients after liver transplantation. Patients carrying CYP3A5 *3/*3 may require a lower dose to achieve the same target blood concentration, Genotype testing before medication can more effectively guide the clinical application of tacrolimus.

KEYWORDS Liver transplantation; CYP3A5; Tacrolimus; Gene polymorphism; Concentration/dose ratio

他克莫司是一种具有大环内酯类结构的新型强力免疫抑制剂,其免疫抑制强度为环孢素的10~100倍,是目前肝移植术后免疫治疗方案的主体^[1-3]。但其具有治疗窗窄、药动学个体差异大等特点,因此,不同个体间很难制定统一的给药剂量。目前,通过血药浓度检测调整给药剂量,对于肝移植术后早期他克莫司给药剂量的制定具有一定的滞后性。研究表明,他克莫司的主要代谢酶CYP3A5基因多态性可能是影响他克莫司血药浓度的重要因素,其中CYP3A5第3内含子的突变会使得终止密码子提前出现,进而使得携带基因型为CYP3A5 *3/*3基因型的人不能表达CYP3A5酶的活性^[4-8]。而目前国内外的一些研究对于肝移植供受体CYP3A5基因型对他克莫司血药浓度的影响以及影响时间尚无统一的定论,因此,本研究采用回顾性分析方法,拟探究肝移植供受体CYP3A5基因多态性对于肝移植术后早期他克莫司血药浓度以及肝功能恢复正常率的影响,旨在为临床更好地应用他克莫司提供参考。

1 资料与方法

1.1 资料来源

回顾性收集2020年在清华大学附属北京清华长庚医院首次接受肝移植的患者71例。纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 周岁;(2)首次进行肝移植的患者;(3)术后免疫方案均采用他克莫司+吗替麦考酚酯/麦考酚钠+糖皮质激素;(4)供受体术前均接受CYP3A5基因多态性检测。排除标准:(1)剔除严重感染者;(2)同时服用红霉素、氟康唑和伏立康唑等可能影响他克莫司代谢的药物者;(3)出现移植体抗宿主反应者;(4)死亡的患者。共收集得到符合标准的71对供受体的数据资料,其中受体男性56例,女性15例,平均年龄为(53 \pm 19)岁,平均体重为(66.7 \pm 12.1)kg,受体具体临床资料见表1。

1.2 方法

所有入组患者均采用他克莫司+吗替麦考酚酯/麦考酚钠+糖皮质激素三联免疫治疗方案,他克莫司的初始剂量为0.1~0.15 mg/(kg·d),餐前1h或餐后2h服用,于移植术后第2、3日开始服用,然后根据患者的临床生化指标、血药谷浓度调整给药剂量;吗替麦考酚酯的剂量为0.5~2 g/d,麦考酚钠的剂量为720~1440 mg/d,于术后第2、3日开始服用;注射用甲泼尼龙琥珀酸钠的用法为术中给予500 mg静脉输入,术后第1日给予200 mg,1日40 mg递减,5d后减至口服醋酸泼尼松片维持量20 mg。

表1 71例肝移植受体的临床资料

Tab 1 Clinical data of 71 recipients of liver transplantation

项目	数值
性别/例(%)	
男性	56 (78.9)
女性	15 (21.1)
年龄/($\bar{x}\pm s$,岁)	53 \pm 19
体重/($\bar{x}\pm s$,kg)	66.7 \pm 12.1
血型/例(%)	
A型	13 (18.3)
B型	23 (32.4)
AB型	4 (5.6)
O型	31 (43.7)
原发疾病/例(%)	
肝癌	16 (22.5)
肝硬化	43 (60.6)
酒精性肝硬化	7 (9.9)
肝衰竭	13 (18.3)
其他	9 (12.7)
慢性疾病/例(%)	
高血压	9 (12.7)
糖尿病	14 (19.7)
冠心病	9 (12.7)

1.3 临床资料记录

查阅患者病历资料,记录相关临床资料:入院基线资料(年龄、性别、身高及体重);入院及术后1个月内的生化检查指标(白细胞计数、红细胞计数、血红蛋白、血小板计数、粒细胞百分比、淋巴细胞百分比、红细胞比容、白蛋白、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、总胆固醇、三酰甘油、总胆红素、丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、肌酐和血糖);患者的原发疾病、血型和手术日期等情况。

1.4 CYP3A5基因多态性检测

将收集好的用EDTA抗凝管处理的供受体外周血采用荧光原位杂交技术方法进行CYP3A5基因型检测。首先按照核酸纯化试剂说明书(华夏时代基因科技发展有限公司)进行外周血DNA的提取、富集和纯化,将外周血经过混匀、离心、乙醇化后,将样本与测序反应试剂混匀离心,置于检测设备中,进行基因型检测。

1.5 他克莫司全血谷浓度的检测

所有受者在早晨服药前1h抽取外周抗凝血1 mL,采用电化学发光免疫法检测他克莫司全血谷浓度,计算术后2、3和4周时全血谷浓度(C)与每千克体重日剂量(D)的比值(C/D , mg/kg)。

1.6 统计学方法

所有数据均采用 SPSS 24.0 统计学软件进行分析,其中年龄、体重和他克莫司 C/D 等计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组之间比较采用 Kruskal-Wallis 检验,其中两两比较采用 Mann-Whitney *U* 检验;性别、血型 and 原发疾病等计数资料以率 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP3A5 基因型分析结果

71 对供受体 CYP3A5 基因分型分布结果见表 2,基因型分布符合遗传规律,各基因型比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 供受体 CYP3A5 基因型与他克莫司 C/D 之间的关系

Tab 3 Correlation between donor and recipient CYP3A5 genotype and tacrolimus C/D ratio

时间	受体的他克莫司 C/D/(mg/kg)			供体的他克莫司 C/D/(mg/kg)		
	*1/*1, *1/*3	*3/*3	<i>P</i>	*1/*1, *1/*3	*3/*3	<i>P</i>
术后 2 周	95.65±40.22	145.92±11.58	0.01	102.27±49.57	124.51±33.71	0.04
术后 3 周	121.40±52.33	155.80±70.96	0.03	117.26±50.37	159.34±64.77	0.01
术后 4 周	118.18±50.48	146.47±41.43	0.03	120.34±57.22	149.13±42.23	0.04

2.2 供受体 CYP3A5 基因型与他克莫司 C/D 之间的关系

按照供受体基因型分为四组,分别为供体表达型/受体表达型(*1*1, *1*3/*1*1, *1*3)、供体表达型/受体非表达型(*1*1, *1*3/*3*3)、供体非表达型/受体表达型(*3*3/*1*1, *1*3)以及供体非表达型/受体非表达型(*3*3/*3*3),比较其他克莫司 C/D。结果显示,术后 2 周、3 周时,四组间他克莫司 C/D 的差异具有统计学意义($P < 0.05$);其中供体非表达型/受体非表达型组的他克莫司 C/D 与其他三组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 供受体 CYP3A5 基因型与他克莫司 C/D 之间的关系

Tab 4 Correlation between donor and recipient CYP3A5 genotype and tacrolimus C/D ratio

时间	他克莫司 C/D/(mg/kg)			
	供体表达型/受体表达型	供体表达型/受体非表达型	供体非表达型/受体表达型	供体非表达型/受体非表达型
术后 2 周	82.52±39.40 ^a	102.59±48.47 ^a	105.83±37.71 ^a	156.26±73.61
术后 3 周	91.06±38.65 ^a	112.43±48.74 ^a	121.81±44.83 ^a	189.67±93.36
术后 4 周	96.56±39.68 ^a	101.58±45.37 ^a	117.85±46.06	162.64±66.77

注:与供体非表达型/受体非表达型比较,^a $P < 0.05$

Note: vs. donor non-expression/receptor non-expression group, ^a $P < 0.05$

2.4 供受体 CYP3A5 基因型与术后肝功能恢复正常率之间的关系

同样按照基因表达情况,将供受体基因分为四组,分别为供体表达型/受体表达型、供体表达型/受体非表达型、供体非表达型/受体表达型和供体非表达型/受体非表达型,将肝功能恢复正常定义为同时满足丙氨酸转氨酶 < 40 U/L、天冬氨酸转氨酶 < 40 U/L 和总胆红素 $< 20 \mu\text{mol/L}$ ^[8],比较四组间肝功能恢复正常率的差异。结果显示,术后 2 周、3 周和 4 周,四组间肝功能恢复正常率的差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 5。

3 讨论

他克莫司属于钙调磷酸酶抑制剂,其免疫抑制机制主要是

表 2 肝移植供受体基因型分布情况(对)

Tab 2 Distribution of donor and recipient genotype in liver transplantation (pairs)

受体 CYP3A5 基因型	供体 CYP3A5 基因型			合计
	*1/*1	*1/*3	*3/*3	
*1/*1	0	3	3	6
*1/*3	4	9	16	29
*3/*3	2	10	24	36
合计	6	22	43	71

2.2 供受体 CYP3A5 基因型与他克莫司 C/D 之间的关系

术后 2 周、3 周和 4 周时,供体、受体表达组(CYP3A5 *1/*1, CYP3A5 *1/*3)的他克莫司 C/D 均低于非表达组(CYP3A5 *3/*3),差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 5 供受体 CYP3A5 基因型与肝功能恢复正常率之间的关系

Tab 5 Correlation between CYP3A5 genotype and normal rate of liver function

时间	肝功能恢复正常率/例(%)				χ^2	<i>P</i>
	供体表达型/受体表达型 (n=16)	供体表达型/受体非表达型 (n=12)	供体非表达型/受体表达型 (n=19)	供体非表达型/受体非表达型 (n=24)		
术后 2 周	4 (5.63)	4 (5.63)	2 (2.81)	5 (7.04)	2.500	0.48
术后 3 周	6 (8.45)	7 (9.86)	5 (7.04)	13 (18.31)	4.698	0.21
术后 4 周	8 (11.27)	8 (11.27)	10 (14.08)	11 (15.49)	1.428	0.73

通过与 T 淋巴细胞内的他克莫司受体结合蛋白 12 结合,形成复合物,进而抑制如白细胞介素 2、白细胞介素 3 及 γ 干扰素等淋巴因子的生成,抑制白细胞介素 2 受体的表达和 T 细胞的活化,发挥免疫抑制的作用。他克莫司在体内主要通过肝脏和肠道内的细胞色素 P450 酶系代谢,主要为 CYP3A 家族,即 CYP3A5 和 CYP3A4。有研究表明,CYP3A5 基因多态性能够较大程度地解释肝移植患者他克莫司的需求剂量以及清除率。目前已经发现的 CYP3A5 等位基因多达 25 种,其中 CYP3A5 第 3 内含子的突变是最有功能价值的,该基因型在中国人群中的突变率为 65%~76%,在白种人群中的突变率为 80%~85%,在非洲人群中变异较低,约为 40%^[9-12]。因此,探讨肝移植患者 CYP3A5 基因多态性对他克莫司血药浓度的影响,对于术后患者的存活情况等至关重要。

本研究通过分析 71 对肝移植供受体 CYP3A5 基因多态性在术后 2 周、3 周和 4 周时与他克莫司 C/D 之间的关系发现,供体基因多态性是影响他克莫司血药浓度的因素,即携带 CYP3A5 *3/*3 基因型的患者相对于携带 CYP3A5 *1 的患者来说,具有更高的他克莫司 C/D。在分析受体基因型的影响时,得到了相同的结果,即术后 1 个月内,受体基因型同样是影响他克莫司血药浓度的因素,受体基因型为 CYP3A5 *3/*3 的患者相对于 CYP3A5 *1 的患者,具有更高的他克莫司 C/D。

在联合分析供受体基因型的影响中发现,术后1个月内,与供受体均为非表达型比较,无论供受体,只要一方携带表达型 *CYP3A5* * 1 基因,则具有较低的他克莫司 *C/D*。因此,对于供受体均为慢代谢型患者,在临床应用他克莫司时,在达到相同的目标血药浓度时可能需要更低的剂量,与部分文献报道一致^[13-17]。本研究还分析了供受体 *CYP3A5* 基因多态性对肝移植术后2周、3周和4周时肝功能恢复正常率的影响,结果显示,不同基因型间肝功能恢复正常率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

基因检测技术能够在肝移植术后早期指导临床更好地应用他克莫司,提高治疗效果,降低他克莫司产生不良反应的概率^[18-21]。术前进行基因检测,能够更好地实现个体化用药,为精准化治疗提供了一种新思路,未来可能会在更多的领域发挥重要作用。

参考文献

[1] 张洪涛,李霄,陶开山.中国肝移植免疫抑制治疗与排斥反应诊疗规范(2019版)[J].器官移植,2021,12(1):8-14,28.

[2] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines; liver transplantation[J].J Hepatol,2016,64(2):433-485.

[3] THERVET E, LORRIOT M A, BARBIER S, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing [J]. Clin Pharmacol Ther, 2010, 87(6): 721-726.

[4] SHI Y Y, LI Y, TANG J T, et al. Influence of *CYP3A4*, *CYP3A5* and *MDR-1* polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics and early renal dysfunction in liver transplant recipients [J]. Gene, 2013, 512(2): 226-231.

[5] 许建文,黄品芳,韩文迪,等.*CYP3A5* * 3 基因多态性与他克莫司血药浓度及临床疗效的相关性研究[J].中国现代应用药学,2020,37(18):2236-2240.

[6] DURAND P, DEBRAY D, KOLACI M, et al. Tacrolimus dose requirement in pediatric liver transplantation: influence of *CYP3A5* gene polymorphism[J]. Pharmacogenomics, 2013, 14(9): 1017-1025.

[7] CHO J H, YOON Y D, PARK J Y, et al. Impact of cytochrome P450 3A and ATP-binding cassette subfamily B member 1 polymorphisms on tacrolimus dose-adjusted trough concentrations among Korean renal transplant recipients[J]. Transplant Proc, 2012, 44(1): 109-114.

[8] GIJSEN V, MITAL S, VAN SCHAIK R H, et al. Age and *CYP3A5* genotype affect tacrolimus dosing requirements after transplant in pediatric heart recipients[J]. J Heart Lung Transplant, 2011, 30(12): 1352-1359.

[9] 何莉,栗光明,林栋栋,等.根据 *CYP3A5* * 1 基因多态性指导肝移植术后他克莫司个体化用药的前瞻性对照研究[J].器官

移植,2020,11(4):455-460.

[10] 廖珂,敖建华,赵冠人,等.汉族肾移植受者稳定期 *CYP3A5* * 3 基因多态性与血西罗莫司浓度的相关性[J].中华器官移植杂志,2013,34(5):260-264.

[11] ROJAS L E, HERRERO M J, BOSÓ V, et al. Meta-analysis and systematic review of the effect of the donor and recipient *CYP3A5* 6986A>G genotype on tacrolimus dose requirements in liver transplantation[J]. Pharmacogenet Genomics, 2013, 23(10): 509-517.

[12] 杨甜,吴斌,李丹,等.*CYP3A5* 基因多态性与他克莫司血药浓度以及有效性与安全性的系统评价[J].中国医院药学杂志,2020,40(3):322-328.

[13] ITOHARA K, YANO I, TSUZUKI T, et al. A minimal physiologically-based pharmacokinetic model for tacrolimus in living-donor liver transplantation: perspectives related to liver regeneration and the cytochrome P450 3A5 (*CYP3A5*) genotype [J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol, 2019, 8(8): 587-595.

[14] LIU J Y, OUYANG Y B, CHEN D X, et al. Donor and recipient P450 gene polymorphisms influence individual pharmacological effects of tacrolimus in Chinese liver transplantation patients[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 57: 18-24.

[15] WANG L, LI N, WANG M X, et al. Benefits of minimizing immunosuppressive dosage according to cytochrome P450 3A5 genotype in liver transplant patients: findings from a single-center study [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 3191-3199.

[16] KATO H, USUI M, MURAKI Y, et al. Long-Term influence of *CYP3A5* gene polymorphism on pharmacokinetics of tacrolimus and patient outcome after living donor liver transplantation [J]. Transplant Proc, 2016, 48(4): 1087-1094.

[17] JI E, CHOI L, SUH K S, et al. Combinational effect of intestinal and hepatic *CYP3A5* genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in recipients of living donor liver transplantation [J]. Transplantation, 2012, 94(8): 866-872.

[18] 刘其雨,李立,李晓延,等.*CYP3A5* 基因多态性检测对肝移植患者术后他克莫司用药的指导作用[J].山东医药,2011,51(34):9-11.

[19] 杨兵,郭庆军,田大治,等.成人肝移植供受体 *CYP3A5* 基因分型对术后他克莫司临床个体化用药的应用价值探讨[J].中国普外基础与临床杂志,2020,27(9):1084-1088.

[20] 张阳,宋沧桑,李兴德,等.*CYP3A5* 基因多态性与肝移植患者他克莫司血药浓度关系的 Meta 分析[J].中国药物评价,2015,32(6):358-365.

[21] 廖建华,李常灿,王兆文,等.*CYP3A5* 和补体 C5 的基因多态性对肝移植术后早期血他克莫司浓度的影响[J].中华器官移植杂志,2017,38(5):292-296.

(收稿日期:2021-07-09 修回日期:2021-08-08)

(上接第54页)

[20] 邵泳尧,莫平,沈智文,等.麻醉诱导前及全麻维持期静脉泵注右美托咪啶对结肠癌患者术后肝脏缺血再灌注损伤及机体氧化应激的影响[J].中国医师杂志,2019,21(10):1563-1567.

[21] 彭晨媚,冷玉芳,张广儒,等.右美托咪啶对大鼠内脏痛的影响

影响:蓝斑核 $\alpha 2$ 肾上腺素能受体在其中的作用[J].中华麻醉学杂志,2018,38(10):1227-1229.

[22] 何国尊,卜宁,高媛,等.右美托咪啶负荷量对腹腔镜结肠切除术患者肠功能恢复的影响[J].国际麻醉学与复苏杂志,2020,41(10):955-960.

(收稿日期:2021-07-16 修回日期:2021-11-11)