

文章编号 1006-8147(2021)04-0388-04

论 著

# CYP3A4 多态性对活体肝移植患儿术后早期他克莫司浓度/剂量比和个体内变异度的影响

宋学武<sup>1</sup>, 高慧儿<sup>2</sup>, 张飞雨<sup>1</sup>, 秦寅鹏<sup>2</sup>, 张弋<sup>2</sup>

(1.天津医科大学一中心临床学院,天津 300192;2.天津市第一中心医院药学部,南开大学医学院,天津 300192)

**摘要** 目的:探讨供、受者 CYP3A4 多态性对活体肝移植(LDLT)患儿术后 1 个月内他克莫司浓度/剂量比( $C_0/D$ )和个体内变异度(IPV)的影响。方法:收集 77 例活体肝移植患儿,化学发光免疫分析法测定他克莫司谷浓度( $C_0$ )。检测供、受者 CYP3A4\*18B 基因型,根据患者至少携带一个 CYP3A4\*1 基因将患者分为两组,即 CYP3A4 表达组(EX, CYP3A4\*1/\*1 或 CYP3A4\*1/\*18B)和 CYP3A4 非表达组(NEX, CYP3A4\*18B/\*18B)。分析 CYP3A4\*18B 多态性对不同基因型患者他克莫司  $C_0/D$  和 IPV 的影响。结果:对于供者 CYP3A4 多态性, CYP3A4 表达组他克莫司  $C_0/D$  在术后第 1 周( $Z=-4.694, P<0.001$ )、第 2 周( $Z=-4.469, P<0.01$ )和第 3 周( $Z=-2.205, P<0.05$ )均显著低于 CYP3A4 非表达组;对于受者 CYP3A4 多态性, CYP3A4 表达组他克莫司  $C_0/D$  在术后第 1 周( $Z=-4.976, P<0.001$ )和第 2 周( $Z=-3.054, P<0.01$ )均显著低于 CYP3A4 非表达组。此外,供、受者 CYP3A4 表达组与 CYP3A4 非表达组他克莫司 IPV 均无差异(均  $P>0.05$ )。结论: CYP3A4 多态性影响 LDLT 患儿术后早期他克莫司  $C_0/D$ , 对他克莫司 IPV 没有影响。

**关键词** 活体肝移植;他克莫司;CYP3A4;浓度/剂量比;个体内变异度

中图分类号 R781.4

文献标志码 A

## Effect of CYP3A4 polymorphism on tacrolimus concentration to dose ratio and intra-patient variability in the early postoperative period for infant patients with living donor liver transplantation

SONG Xue-wu<sup>1</sup>, GAO Hui-er<sup>2</sup>, ZHANG Fei-yu<sup>1</sup>, QIN Yin-peng<sup>2</sup>, ZHANG Yi<sup>2</sup>

(1. First Central Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China; 2. Department of Pharmacy, Tianjin First Central Hospital, School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300192, China)

**Abstract Objective:** To investigate the effect of donors' and recipients' CYP3A4 polymorphisms on tacrolimus concentration to dose ratio( $C_0/D$ ) and intra-patient variability(IPV) within one month for infant patients with living donor liver transplantation(LDLT). **Methods:** A total of 77 infant patients with LDLT were collected. Tacrolimus trough concentration( $C_0$ ) was determined by chemiluminescent microparticle immunoassay. The donors' and recipients' CYP3A4\*18B genotypes were detected. According to individuals with at least one CYP3A4\*1 allele, patients were divided into two groups including CYP3A4 expressers(EX, CYP3A4\*1/\*1 or CYP3A4\*1/\*18B) and CYP3A4 non-expressers(NEX, CYP3A4\*18B/\*18B). The effect of CYP3A4\*18B polymorphism on tacrolimus  $C_0/D$  and IPV in patients with different genotypes was analyzed. **Results:** For the donors' CYP3A4 polymorphism, tacrolimus  $C_0/D$  in CYP3A4 expressers was significantly lower than that in CYP3A4 non-expressers in the first week( $Z=-4.694, P<0.001$ ), second week( $Z=-4.469, P<0.01$ ), and third week( $Z=-2.205, P<0.05$ ) after transplantation. For the recipients' CYP3A4 polymorphism, tacrolimus  $C_0/D$  in CYP3A4 expressers was significantly lower than that in CYP3A4 non-expressers in the first week( $Z=-4.976, P<0.001$ ) and second week( $Z=-3.054, P<0.01$ ) after transplantation. In addition, there was no difference in tacrolimus IPV between CYP3A4 expressers and CYP3A4 non-expressers (all  $P>0.05$ ). **Conclusion:** The CYP3A4 polymorphism has an effect on tacrolimus  $C_0/D$  for infant patients with LDLT in the early postoperative period, but has no effect on tacrolimus IPV.

**Key words** living donor liver transplantation; tacrolimus; CYP3A4; concentration to dose ratio; intra-patient variability

他克莫司是一种大环内酯类钙调神经酶抑制剂,具有较强的免疫抑制特性,自 20 世纪 90 年代初引入临床以来,已广泛用于预防移植术后排斥反应的发生<sup>[1]</sup>。然而,他克莫司的治疗窗狭窄,药代动力

学特征存在较大的个体间和个体内差异<sup>[2]</sup>。研究发现,当给予他克莫司的标准剂量时,仍有超过 50% 的小儿肝移植患者可能出现急性排斥反应、肾毒性和神经毒性等不良反应<sup>[3]</sup>。而小于 1 岁的婴儿肝移植受者在移植术后 3 个月内急性排斥反应的发生率甚至高达 35.45%<sup>[4]</sup>。小儿患者由于病理生理特点不同于成人,因此术后早期他克莫司精准个体化方案的制订更为关键。

基金项目 白求恩·医学科学研究基金项目(TA201933);天津市卫生健康科技项目(KJ20226)

作者简介 宋学武(1995-),男,硕士在读,研究方向:临床药学;通信作者:张弋, E-mail: wing\_zh1821@sina.com。

他克莫司主要是由胃肠道和肝脏中的细胞色素 P<sub>450</sub>(cytochrome P<sub>450</sub>, CYP)3A 酶代谢<sup>[1]</sup>。有研究表明, CYP3A5 基因多态性对他克莫司的代谢有显著影响<sup>[5]</sup>, 并推荐根据基因型调整他克莫司的起始剂量。CYP3A4 也是他克莫司的代谢酶之一, 越来越多的研究显示其对于他克莫司体内暴露量的影响也是不可忽视的。此外, CYP3A4 多态性对他克莫司个体内变异度(intra-patient variability, IPV)的影响存在争议。因此, 本研究针对性地探索了中国人群突变较高的 CYP3A4\*18B(rs2242480)多态性在术后1个月内对活体肝移植(living donor liver transplantation, LDLT)患儿他克莫司浓度/剂量比(C<sub>0</sub>/D)和 IPV 的影响, 从而为他克莫司个体化给药方案的制订提供参考。

## 1 对象和方法

**1.1 研究对象** 2017年9月—2019年3月天津市第一中心医院1岁以下的诊断为胆道闭锁并行 LDLT 的患儿。纳入标准:(1)所有患者的原发疾病均为胆道闭锁, 且行肝移植术时年龄≤1岁。(2)供者均为受者的直系健康亲属。(3)术后采用以他克莫司为基础的免疫抑制方案且服用他克莫司至少1个月。排除标准:(1)研究期间漏服他克莫司或者改变免疫抑制方案者。(2)研究期间使用了与他克莫司有相互作用的药物(如伏立康唑等)。(3)患有精神疾病或数据不完整者。本研究得到了天津市第一中心医院伦理委员会的批准(审批号:2019N173KY)。

**1.2 免疫抑制方案** 他克莫司的初始剂量为 0.1~0.15 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 每日两次, 间隔 12 h。通过化学发光免疫分析法测定他克莫司谷浓度值(C<sub>0</sub>), 然后根据他克莫司 C<sub>0</sub> 调整剂量使其维持在 7~10 ng/mL 的范围内。根据 C<sub>0</sub> 和体重校正后的他克莫司日剂量(D, 单位 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)计算 C<sub>0</sub>/D(单位 ng·mL<sup>-1</sup>/mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)。使用以下公式计算他克莫司 IPV<sup>[6]</sup>:

$$IPV(\%) = \frac{(|X_{mean} - X_1| + |X_{mean} - X_2| + \dots + |X_{mean} - X_n|)}{n|X_{mean}|} \times 100$$

X<sub>mean</sub> 为每个患者他克莫司 C<sub>0</sub>/D 的平均值, 第1个他克莫司 C<sub>0</sub>/D 值记为 X<sub>1</sub>, 第2个记为 X<sub>2</sub>, 最后1个为 X<sub>n</sub>。

**1.3 基因型分析测定** 供、受者 CYP3A4\*18B 基因型引物序列: 5'-CACCCTGATGTCCAGCAGAACT-3'(正向引物)和 5'-AATAGAAAGCAGAT-GAACCAGAGCC-3'(反向引物)。CYP3A4 由 G 突变为 A 时会导致酶活性增加, 从而使他克莫司代谢加快。根据是否存在突变基因, 将 CYP3A4 的表型分为3种: 野生型 GG(\*18B/\*18B)、杂合突变型 AG(\*1/\*18B)和纯合突变型 AA(\*1/\*1)。根据患者至少携带

一个 CYP3A4 突变基因将患者分为两组, 即 CYP3A4 表达组(EX, CYP3A4\*1/\*1 或 CYP3A4\*1/\*18B)和 CYP3A4 非表达组(NEX, CYP3A4\*18B/\*18B)。

**1.4 统计学处理** 所有数据采用 SPSS25.0 进行统计分析, 符合正态分布的数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验; 不符合正态分布的数据以中位数(四分位数间距)表示, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验; 采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确检验评价基因分布。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者基本资料与 CYP3A4 基因型分布** 根据纳排标准共纳入 77 例 LDLT 患儿。其中男性 43 例, 女性 34 例, 平均年龄(6.8±1.8)月, 体重(6.8±1.2)kg。所有患者在研究时间内的常规生化指标见表1。

表1 LDLT 患儿的基本信息( $\bar{x} \pm s$ , M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>))

Tab 1 Basic information of the LDLT patients( $\bar{x} \pm s$ , M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>))

指标	数值
总蛋白(g/L)	54.7±7.2
红细胞(×10 <sup>12</sup> /L)	3.44(3.09, 3.82)
血红蛋白(g/L)	98.5±16.0
白蛋白(g/L)	39.0±4.9
谷丙转氨酶(U/L)	79.50(27.48, 232.15)
谷草转氨酶(U/L)	38.70(27.48, 78.88)
总胆红素(μmol/L)	18.30(8.68, 42.97)
尿素(mmol/L)	4.00(2.82, 5.71)
肌酐(μmol/L)	15.0(12.0, 18.0)

注: LDLT: 活体肝移植

77 例 LDLT 患儿供、受者 CYP3A4 基因型的分布情况见表2。供者 CYP3A4\*1 和 \*18B 的频率分别为 28.57% 和 71.43%, 受者 CYP3A4\*1 和 \*18B 的频率分别为 25.32% 和 74.68%。供、受者 CYP3A4 基因分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡(供者:  $\chi^2=5.727$ ,  $P=0.057$ ; 受者:  $\chi^2=0.001$ ,  $P=0.999$ )。

表2 77 例 LDLT 患儿供、受者 CYP3A4 基因型的分布情况

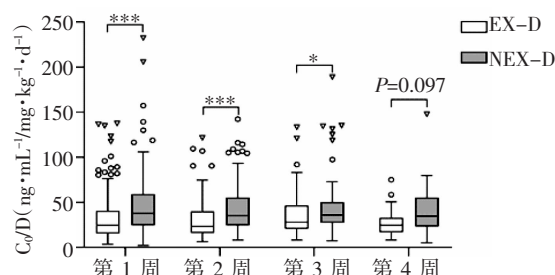
Tab 2 Distribution of CYP3A4 genotypes in donors and recipients of 77 infant patients with LDLT

供者 CYP3A4 基因型	受者 CYP3A4 基因型			n(%)
	*1/*1	*1/*18B	*18B/*18B	
*1/*1	0	2	0	2(2.60)
*1/*18B	5	20	15	40(51.95)
*18B/*18B	0	7	28	35(45.45)
n(%)	5(6.49)	29(37.66)	43(55.84)	77(100)

注: LDLT: 活体肝移植

**2.2 供者 CYP3A4 对他克莫司 C<sub>0</sub>/D 的影响** 与供者 CYP3A4 非表达组(NEX-D)相比, 供者 CYP3A4 表达组(EX-D)他克莫司 C<sub>0</sub>/D 在术后第1周(术后 1~7 d)( $Z=-4.694$ ,  $P<0.001$ )、第2周(术后 8~14 d)( $Z=-4.469$ ,  $P<0.001$ )和第3周(术后 15~21 d)( $Z=-2.205$ ,  $P<0.05$ )显著降低; 在术后第4周(术后

22~28 d)( $Z=-1.658, P=0.097$ )差异无统计学意义, 见图1。

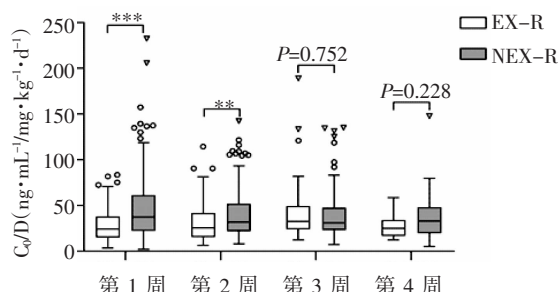


注:EX-D:供者 *CYP3A4* 表达组;NEX-D:供者 *CYP3A4* 非表达组;圆:异常值;三角:极端值;\*\*\* $P<0.001$ ,\*\* $P<0.05$

图1 供者 *CYP3A4* 多态性对他克莫司  $C_0/D$  的影响

Fig 1 Effects of the donors' *CYP3A4* polymorphism on tacrolimus  $C_0/D$

2.3 受者 *CYP3A4* 对他克莫司  $C_0/D$  的影响 与受者 *CYP3A4* 非表达组(NEX-R)相比,受者 *CYP3A4* 表达组(EX-R)他克莫司  $C_0/D$  在术后第1周( $Z=-4.976, P<0.001$ )和第2周( $Z=-3.054, P<0.001$ )显著降低;在术后第3周( $Z=-0.316, P=0.752$ )和第4周( $Z=-1.206, P=0.228$ )差异无统计学意义,见图2。

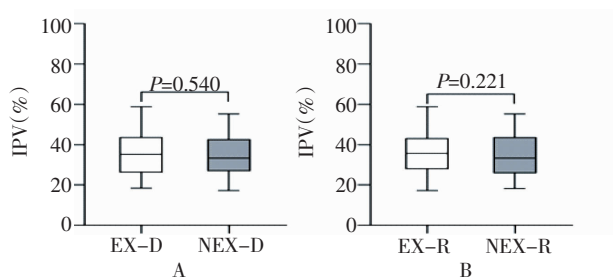


注:EX-R:受者 *CYP3A4* 表达组;NEX-R:受者 *CYP3A4* 非表达组;圆:异常值;三角:极端值;\*\*\* $P<0.001$ ;\*\* $P<0.01$

图2 受者 *CYP3A4* 多态性对他克莫司  $C_0/D$  的影响

Fig 2 Effects of the recipients' *CYP3A4* polymorphism on tacrolimus  $C_0/D$

2.4 *CYP3A4* 对他克莫司 IPV 的影响 NEX-D 组与 EX-D 组他克莫司 IPV 差异无统计学意义( $t=0.616, P=0.540$ );NEX-R 组与 EX-R 组他克莫司 IPV 差异无统计学意义( $t=1.234, P=0.221$ ),见图3。



注:EX-D:供者 *CYP3A4* 表达组;NEX-D:供者 *CYP3A4* 非表达组;EX-R:受者 *CYP3A4* 表达组;NEX-R:受者 *CYP3A4* 非表达组;IPV:个体内变异度;A:供者 *CYP3A4* 对 IPV 的影响;B:受者 *CYP3A4* 对 IPV 的影响

图3 供、受者 *CYP3A4* 多态性对他克莫司 IPV 的影响

Fig 3 Effect of donors' and recipients' *CYP3A4* polymorphism on tacrolimus IPV

### 3 讨论

肝移植是治疗胆道闭锁的主要手段之一。据统计,欧洲每年有15%~20%的儿童在等待肝移植过程中死亡<sup>[7]</sup>。对于儿童肝移植患者来说,亲体肝移植技术的发展缓解了世界性供肝短缺的紧张<sup>[8]</sup>。在移植术后,移植患者一般需要终生服用免疫抑制剂以预防可能发生的急、慢性排斥反应,国内外指南均推荐他克莫司作为首选的免疫抑制剂<sup>[9-10]</sup>。他克莫司的血药浓度波动较大,较多证据显示 *CYP3A5* 多态性影响他克莫司的血药浓度<sup>[11-12]</sup>,而对于 *CYP3A4* 的研究较少。尽管有研究发现 *CYP3A4\*22* 多态性影响他克莫司的代谢<sup>[13-14]</sup>,但是 *CYP3A4\*22* 在中国人群中的突变率较低,而 *CYP3A4\*18B* 在中国人群中突变率较高<sup>[15]</sup>。因此,笔者集中研究了供、受者 *CYP3A4\*18B* 多态性对他克莫司  $C_0/D$  和 IPV 的影响。在本研究中,供、受者 *CYP3A4\*1* 的频率分别为28.57%和25.32%,基因突变率均与之前的研究一致<sup>[16]</sup>。

对于供者 *CYP3A4\*18B* 多态性,表达组在移植术后的第1周、第2周和第3周,他克莫司  $C_0/D$  显著低于非表达组。而对于受者 *CYP3A4\*18B* 来说,这种差异只出现在术后第1周和第2周。他克莫司主要在肝脏代谢,因此,不同于其他实体器官移植,LDLT 患儿他克莫司的血药浓度可能更容易受到供体的影响,尤其是在移植术后早期。值得注意的是,在一项关于巴西肾移植受者的24个月的回顾性研究中发现,*CYP3A4\*18B* 多态性在术后第4个月会影响他克莫司的  $C_0/D$ <sup>[17]</sup>。然而,该研究针对的肾移植患者受供体影响较小,且研究对象存在种族差异。因此,笔者需要更多的研究来确定 *CYP3A4\*18B* 是否对我国 LDLT 患儿他克莫司  $C_0/D$  的影响具有长期作用。

年龄也是儿童实体器官移植术后他克莫司剂量的影响因素之一<sup>[18]</sup>,对于<6岁的儿童患者,他克莫司的清除率高于成人和年龄较大的儿童<sup>[19]</sup>。因此,本研究只纳入了1岁以下的婴儿患者。此外,笔者发现供、受者 *CYP3A4\*18B* 多态性对他克莫司 IPV 均无影响。为排除体重的影响,笔者使用了  $C_0/D$  来计算他克莫司 IPV,不同于一些研究<sup>[6,20]</sup>仅检测3次他克莫司  $C_0$  计算 IPV,纳入本研究的每个患者均至少检测了7次他克莫司  $C_0$ 。此外,本研究的数据也没有删除极端值和异常值。

本研究阐明了 *CYP3A4\*18B* 多态性对于 LDLT 患儿他克莫司  $C_0/D$  的影响,但仍存在一定的局限性。首先,患者的随访时间普遍较短,笔者无法确定移植一个月后 *CYP3A4\*18B* 多态性对他克莫司的影



响;其次,本研究没有讨论 *CYP3A4\*18B* 多态性是否对排斥反应的发生率有影响;此外,本研究也没有排除那些出现重度感染或排斥反应的患者。他克莫司在体内的药代动力学过程较为复杂, *CYP3A4\*18B* 和 *CYP3A5* 基因是否存在连锁失衡尚有争议,因此,为了阐明 *CYP3A4\*18B* 和 *CYP3A5* 等对他克莫司的影响能力,笔者还需要更大样本量的前瞻性对照试验,从而为实现基因导向的他克莫司个体化给药方案提供更加可靠的依据。

总之,在移植术后早期,供、受者 *CYP3A4\*18B* 多态性影响 LDLT 患儿他克莫司  $C_0/D$ , 对他克莫司 IPV 没有影响。可以考虑基因检测以辅助 LDLT 患儿他克莫司的个体化用药。

#### 参考文献:

- [1] Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A, et al. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus—personalized therapy: second consensus report[J]. *Ther Drug Monit*, 2019, 41(3):261
- [2] Shuker N, Shuker L, Van Rosmalen J, et al. A high inpatient variability in tacrolimus exposure is associated with poor long-term outcome of kidney transplantation[J]. *Transpl Int*, 2016, 29(11):1158
- [3] Musuamba F T, Guy-Viterbo V, Reding R, et al. Population pharmacokinetic analysis of tacrolimus early after pediatric liver transplantation[J]. *Ther Drug Monit*, 2014, 36(1):54
- [4] Kasahara M, Sakamoto S, Sasaki K, et al. Living donor liver transplantation during the first 3 months of life[J]. *Liver Transpl*, 2017, 23(8):1051
- [5] Liu B Y, Chen W Q, Chen Z G, et al. The effects of *CYP3A5* genetic polymorphisms on serum tacrolimus dose-adjusted concentrations and long-term prognosis in Chinese heart transplantation recipients[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(6):771
- [6] Pashaee N, Bouamar R, Hesselink D, et al. *CYP3A5* genotype is not related to the inpatient variability of tacrolimus clearance[J]. *Ther Drug Monit*, 2011, 33(3):369
- [7] Nadalin S, Capobianco I, Panaro F, et al. Living donor liver transplantation in Europe[J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2016, 5(2):159
- [8] Cuenca A G, Kim H B, Vakili K. Pediatric liver transplantation[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2017, 26(4):217
- [9] 中华医学会器官移植学分会, 中国医师协会器官移植医师分会. 中国儿童肝移植临床诊疗指南(2015版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32(7):1235
- [10] Birdwell K A, Decker B, Barbarino J M, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guidelines for *CYP3A5* genotype and tacrolimus dosing[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2015, 98(1):19
- [11] 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
- [12] Hendijani F, Azarpira N, Kaviani M. Effect of *CYP3A5\*1* expression on tacrolimus required dose after liver transplantation: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Transplant*, 2018, 32(8):e13306
- [13] Lloberas N, Elens L, Llaudó I, et al. The combination of *CYP3A4\*22* and *CYP3A5\*3* single-nucleotide polymorphisms determines tacrolimus dose requirement after kidney transplantation[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2017, 27(9):313
- [14] Abdel-Kahaar E, Winter S, Tremmel R, et al. The impact of *CYP3A4\*22* on tacrolimus pharmacokinetics and outcome in clinical practice at a single kidney transplant center[J]. *Front Genet*, 2019, 10:871
- [15] Werk A N, Cascorbi I. Functional gene variants of *CYP3A4*[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2014, 96(3):340
- [16] 朱琳, 宋洪涛, 王庆华, 等. *CYP3A4\*18B* 和 *CYP3A5\*3* 基因多态性对肾移植患者他克莫司剂量及浓度的影响[J]. *药学报*, 2012, 47(7):878
- [17] Tamashiro E Y, Felipe C R, Genvigir F, et al. Influence of *CYP3A4* and *CYP3A5* polymorphisms on tacrolimus and sirolimus exposure in stable kidney transplant recipients[J]. *Drug Metab Pers Ther*, 2017, 32(2):89
- [18] Gijzen 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
- [19] Przepiorka D, Blamble D, Hilsenbeck S, et al. Tacrolimus clearance is age-dependent within the pediatric population[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2000, 26(6):601
- [20] Cheung C Y, Chan K M, Wong Y T, et al. Impact of *CYP3A5* genetic polymorphism on inpatient variability of tacrolimus exposure in Chinese kidney transplant recipients[J]. *Transplant Proc*, 2019, 51(6):1754

(2021-01-14 收稿)