

文章编号 1006-8147(2016)02-0178-04

综述

苯达莫司汀代谢相关基因的单核苷酸多态性研究进展

徐辉 综述, 阎昭 审校

(天津医科大学肿瘤医院国家临床药物试验机构, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津 300060)

关键词 苯达莫司汀; 代谢; SNP; hOCT1; CYP1A2; GST

中图分类号 R968

文献标志码 A

苯达莫司汀, 4-[5-[双-(2-氯乙基) 氨基]-1-甲基-2-苯并咪唑基]-丁酸, 1963年由德国科学家合成, 是一种兼具烷化剂和抗代谢特性的低毒抗肿瘤药。苯达莫司汀有3个基团(烷基化基团、苯并咪唑环和丁酸侧链), 烷基化基团是功能基团, 发挥抗肿瘤活性; 苯并咪唑环起嘌呤类似物作用, 发挥抗代谢作用。在高浓度时, 苯达莫司汀主要表现出烷基化药物特性, 引起脱氧核糖核酸(DNA)交联作用, 直接抑制DNA复制、修复和转录。相比其它烷化剂, 例如美法仑、环磷酰胺、卡莫司汀, 在相同给药浓度时, 苯达莫司汀可诱导更多DNA双链交联, 而且, 这些交联作用比其它烷化剂作用更持久^[1-2]。目前苯达莫司汀主要用于治疗慢性淋巴细胞白血病(CLL)、利妥昔单抗耐药非霍奇金淋巴瘤(NHL), 但其对多发性骨髓瘤、乳腺癌等肿瘤疗效也显著^[3-8]。苯达莫司汀的药代动力学存在着明显个体差异。文献显示, 在相同的给药剂量下, 苯达莫司汀血浆峰浓度(C_{max})在3 494 ng/mL至9 137 ng/mL之间, 药时曲线下面积(AUC_{0-24})_h在5 322 ng·h/mL至14 039 ng·h/mL之间^[9]。苯达莫司汀毒副作用(口干、疲劳、血小板减少、恶心等)尤其是恶心, 与血药浓度密切相关^[10-11]。近年, 药物基因组学得到快速发展, 为从基因角度寻找苯达莫司汀药代动力学个体差异提供了可能。药物代谢酶、转运体以及药物作用靶点的多态性可以影响药物疗效和不良反应发生率, 对其进行研究希望达到药物最佳疗效, 从而实现个体化治疗目的^[12]。本文旨在综述人类有机阳离子转运蛋白1(hOCT1)、细胞色素P4501A2(CYP1A2)、谷胱甘肽巯基转移酶(GST)的单核苷酸基因多态性(SNP)研究进展。

1 苯达莫司汀体内代谢过程

临床上使用的苯达莫司汀是其盐酸盐, 其水溶

液不稳定, 临床上通常现配现用, 静脉滴注给药, 同时该药具有明显的首过效应^[13]。苯达莫司汀进入机体后, 首先与血浆蛋白结合(大部分与白蛋白结合), 血浆蛋白结合率大于95%, 结合率不受年龄、低浓度血清白蛋白(<31 g/L)的影响^[14]。苯达莫司汀不会置换与血浆蛋白结合率高的药物, 也不容易被置换。在人全血中, 苯达莫司汀的血液与血浆浓度比为0.84~0.86, 表明药物可以在人的红细胞中自由分布^[15]。在实体瘤中临床试验结果表明, 苯达莫司汀表观分布容积为18.3 L/m², 消除速率为265 mL/(min·m²), 并且与给药剂量无关^[16]。

苯达莫司汀在体内主要经过hOCT1转运体转运进入细胞, 代谢酶CYP1A2、GST催化代谢, 最终排出体外。苯达莫司汀在体内I相代谢主要通过水解代谢, 水解产物是两种没有活性的代谢产物(一羟基和二羟基苯达莫司汀); 另一途径是经CYP1A2酶代谢生成 γ -羟基苯达莫司汀(γ -hydroxy-bendamustine, M3)和N-去甲基苯达莫司汀(N-demethyl-bendamustine, M4), M3和M4血浆浓度分别相当于苯达莫司汀的10%和1%, M3的活性与苯达莫司汀相近, M4的活性弱于苯达莫司汀^[17]。在II相反应中, 与谷胱甘肽形成共轭物是重要的途径之一^[18]。消除主要通过肾脏(大约50%)和粪便(大约25%)^[19]。虽然苯达莫司汀是通过肝脏、肾脏代谢和消除的, 但是轻度到中度肝损伤或肾损伤并不会影响苯达莫司汀的药代动力学^[14]。

2 苯达莫司汀转运、代谢相关的基因单核苷酸多态性研究进展

2.1 hOCT1及其SNP

转运体是影响药物药代动力学重要因素之一。有机阳离子转运体(OCT)是备受关注的药物转运体, hOCT1是其家族中重要的成员, hOCT1主要分布于肝脏中、转运在生理pH环境下的阳离子。hOCT1的编码基因为SLC22A1, 位于染色体6q26上, 全长37 kb, 有11个外显子和10

基金项目 天津市卫生行业重点攻关项目基金资助(14KG140)

作者简介 徐辉(1989-), 男, 硕士在读, 研究方向: 临床药学; 通信作者: 阎昭, E-mail: yanzhao@tjmuch.com。

内含子。

Kerb 等^[20]对 57 名北高加索人的 SLC22A1 基因进行系统筛查,共筛查出 25 种基因突变,其中 5 种是引起氨基酸改变的错义突变,分别为 Arg61Cys、Cys88Arg、Phe160Leu、Gly401Ser 和 Met420del,其突变频率依次为 9.1%、0.6%、22%、3.2%和 16%。体外研究结果表明 Arg61Cys、Cys88Arg 和 Gly401Ser 这 3 种基因突变降低了 OCT1 的转运能力。继续研究结果表明 Arg61Cys、Gly220Val、Pro341Leu、Gly401Ser 和 Gly465Arg 这 5 种基因突变可以使转运能力降低或消失,Ser14Phe 可以增强其转运能力。在日本和韩国人群中,发现两个非同义 SNP (P283L and P341L)会导致转运活性降低^[21]。

SLC22A1 的 SNP 能够解释以 hOCT1 为转运体的药物疗效和不良反应的个体差异。伊马替尼治疗慢性粒细胞白血病(CML)具有很好的疗效,但仍有 30%~40%左右的耐药发生,有报道,伊马替尼治疗 M420del 的 CML 患者疗效差^[22];还有研究表明伊马替尼的血药浓度与疗效是相关的^[23]。在 CML 患者中,hOCT1 c.480C>G 显著降低伊马替尼清除速率,从而影响伊马替尼血药浓度^[24]。

hOCT1 是苯达莫司汀的转运体,体外培养原代 CLL 细胞,在人免疫球蛋白重链可变区(IGHV)未突变组中,苯达莫司汀对野生组杀伤作用比突变组(突变型对转运功能减弱)杀伤作用强^[25]。

2.2 CYP1A2 及其 SNP 细胞色素 P450 (CYP)是体内重要的 I 相代谢酶,在药物代谢中起着重要作用。CYP1A2 是 CYP 超家族的重要成员之一,主要在肝脏表达,约占 CYP 的 13%。其主要代谢芳香胺、N-杂环化合物,包括如咖啡因、氯丙咪唑、氯氮平、利多卡因等药物^[26]。CYP1A2 编码基因位于染色体 15q24.1 上,长度约为 7.8 kb,包括 7 个外显子和 6 个内含子。不同物种的 CYP1A2 基因第 2 至第 6 外显子 DNA 区域具有高度的保守性,提示该片段可能是 CYP1A2 的重要结构功能氨基酸的编码序列。

不同个体间 CYP1A2 酶的表达和活性存在 10~200 倍的差异,有研究证实,在人肝样本中 CYP1A2 的 mRNA 水平存在 15 倍的差异。有人预测,这些个体差异的 35%~75%是由基因造成的。至今为止,发现了至少 16 个等位基因,158 个 SNP 突变,26 个 SNP 突变造成氨基酸改变。在这些等位基因中 CYP1A2*1K 显著改变了酶的活性^[27]。对于同义 SNP 而言,虽然同义 SNP 不影响氨基酸序列,但可以干预 mRNA 转录和稳定性,从而影响蛋白的功能^[28]。不同民族的 SNPs 频率是不同的,在中国温州汉族

人群中检测到 2159G>A、3613T>C、5347C>T 位点有较大的突变频率^[29]。

CYP1A2 的 SNP 是造成药物药代动力学和疗效差异原因之一。例如:在中国健康男性受试者中,不同的 CYP1A2 SNP 受试者的阿戈美拉汀药代动力学存在明显的差异^[30];携带 CYP1A2 SNPs rs11636419 和 rs17861162 人群对罗哌卡因更敏感,对于此类患者,采用罗哌卡因麻醉时,需要减少给药剂量^[31]。

CYP1A2 是苯达莫司汀重要的 I 相代谢酶,可以影响苯达莫司汀药代动力学^[14]。目前,尚未明确不同的 CYP1A2 SNPs 患者苯达莫司汀药代动力学和疗效是否存在差异。

2.3 GST 及其 SNP GST 广泛分布于哺乳动物各组织中,是一个具有多功能的 II 相代谢酶家族。GST 是细胞抗损伤、抗癌变的重要解毒系统。GST 催化 GSH 的巯基与一些亲电子类物质结合,保护 DNA 及一些蛋白质免受损伤。

目前研究较多的有 GSTM1、GSTT1、GSTP1 的 SNP。GSTM1 基因位于人类染色体 1p13.3, GSTM1A、GSTM1B、GSTM1 null 是 GSTM1 的 3 种多态性。纯合子缺失型称 GSTM1 null 型,可造成 GSTM1 酶失活。GSTT1 基因定位于人类染色体 22q11.2, GSTT1 多态性由整个基因的缺失或部分缺失组成,导致 GSTT1 酶活性降低。GSTP1 基因定位于人类染色体 11q13,含有 6 个内含子和 7 个外显子,其中外显子 5、外显子 6 存在多态性,分别导致第 105 位密码子由 Ile→Val 和第 114 位密码子由 Ala→Val。

GST 的 SNP 能够影响药物疗效和不良反应。对于携带 GSTP1 rs1138272 骨肉瘤患者,接受顺铂化疗后,无病生存率降低和总生存数减少^[32]。一项关于急性髓性白血病(AML)meta 分析研究表明:在亚洲人群中,GSTT1 缺失型患者化疗后疗效差;GSTT1/GSTM1 双缺失型患者在化疗后疗效也很差^[33]。目前尚未明确 GST SNP 与苯达莫司汀的药代动力学和疗效之间的关系。

3 结语及展望

苯达莫司汀已经被美国食品药品监督管理局批准用于治疗 CLL 和惰性 B 细胞非霍奇金淋巴瘤(http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/fda_bendamustine-hydrochloride)。美国 CLL 发病率在 2.7/10 万人^[34],中国的发病率低于美国,约为 0.05/10 万人^[35]。在世界范围内,NHL 是男性第 8 位、女性第 10 位常见肿瘤。在我国的淋巴瘤患者中 85%~90%为 NHL,远高于欧美国家^[36],我国患者中 B 细胞非霍奇金淋巴瘤占所有的淋巴瘤 66.31%^[37]。FCR(氟达拉滨+环磷

酰胺+利妥昔单抗)是FDA推荐的标准治疗CLL方案, BR(苯达莫司汀+利妥昔单抗)在疗效方面不比FCR差, 毒性反应也更低^[38]。RCHOPR是一线治疗NHL方案, 临床上将该方案改为RCOPR/bendamustine, RCHOPR与RCOPR/bendamustine治疗费用分别为9 575欧元、8 014欧元, 可见用苯达莫司汀治疗NHL可以节约医疗费用^[39]。

虽然苯达莫司汀在治疗CLL和耐药NHL方面疗效好、费用低, 但作为传统的细胞毒药物, 毒性亦不容忽视。常见不良反应包括血液系统毒性, 如贫血、白细胞减少、中性粒细胞减少、血小板减少; 非血液系统毒性, 如呕吐、感染、头痛等。本文综述了影响苯达莫司汀代谢相关基因的单核苷酸多态性研究进展, 以期未来通过研究hOCT1、CYP1A2、GST的SNP对苯达莫司汀药代动力学、药效、不良反应影响, 达到根据患者基因型制定最佳给药方案, 从而实现药物治疗的最大疗效、最小毒副作用目的。

参考文献:

- [1] Leoni L M, Bailey B, Reifert J, et al. Bendamustine (Treanda) displays a distinct pattern of cytotoxicity and unique mechanistic features compared with other alkylating agents[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(1):309
- [2] Derenzini E, Zinzani P L, Cheson B D. Bendamustine: role and evidence in lymphoma therapy, an overview[J]. Leuk Lymphoma, 2014, 55(7):1471
- [3] Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(26):3209
- [4] Reichmann U, Bokemeyer C, Wallwiener D, et al. Salvage chemotherapy for metastatic breast cancer: results of a phase II study with bendamustine[J]. Ann Oncol, 2007, 18(12):1981
- [5] Berenson J R, Yellin O, Bessudo A, et al. Phase I/II trial assessing bendamustine plus bortezomib combination therapy for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 2013, 160(3):321
- [6] Maddocks K, Christian B, Jaglowski S, et al. A phase 1/1b study of rituximab, bendamustine, and ibrutinib in patients with untreated and relapsed/refractory non-Hodgkin lymphoma [J]. Blood, 2015, 125(2):242
- [7] Cheson B D, Crawford J. A phase I study of bendamustine, lenalidomide and rituximab in relapsed and refractory lymphomas [J]. Br J Haematol, 2015, 169(4):528
- [8] Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(26):3209
- [9] Fraser C, Brown P, Megason G, et al. Open-label bendamustine monotherapy for pediatric patients with relapsed or refractory acute leukemia: efficacy and tolerability[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2014, 36(4):e212
- [10] Owen J S, Melhem M, Passarelli J A, et al. Bendamustine pharmacokinetic profile and exposure-response relationships in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2010, 66(6):1039
- [11] van der Jagt R. Bendamustine for indolent non-Hodgkin lymphoma in the front-line or relapsed setting: a review of pharmacokinetics and clinical trial outcomes[J]. Expert Rev Hematol, 2013, 6(5):525
- [12] Efferth T, Volm M. Pharmacogenetics for individualized cancer chemotherapy[J]. Pharmacol Ther, 2005, 107(2):155
- [13] Gandhi V. Metabolism and mechanisms of action of bendamustine: rationales for combination therapies[J]. Semin Oncol, 2002, 29(4 Suppl 13):4
- [14] Hsiao L T, Tien H F, Kuo C Y, et al. Pharmacokinetic profile and first preliminary clinical evaluation of bendamustine in Taiwanese patients with heavily pretreated indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma[J]. Hematol Oncol, 2014 [Epub ahead of print]
- [15] 王晓坤. 新型抗肿瘤药物—苯达莫司汀[J]. 齐鲁药事, 2009(9):573
- [16] Rasschaert M, Schrijvers D, Van den Brande J, et al. A phase I study of bendamustine hydrochloride administered day 1+2 every 3 weeks in patients with solid tumours[J]. Br J Cancer, 2007, 96(11):1692
- [17] Teichert J, Baumann F, Chao Q, et al. Characterization of two phase I metabolites of bendamustine in human liver microsomes and in cancer patients treated with bendamustine hydrochloride[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2007, 59(6):759
- [18] Teichert J, Sohr R, Baumann F, et al. Synthesis and characterization of some new phase II metabolites of the alkylator bendamustine and their identification in human bile, urine, and plasma from patients with cholangiocarcinoma[J]. Drug Metab Dispos, 2005, 33(7):984
- [19] Dubbelman A C, Rosing H, Darwish M, et al. Pharmacokinetics and excretion of ¹⁴C-bendamustine in patients with relapsed or refractory malignancy[J]. Drugs R D, 2013, 13(1):17
- [20] Kerb R, Brinkmann U, Chatskaia N, et al. Identification of genetic variations of the human organic cation transporter hOCT1 and their functional consequences[J]. Pharmacogenetics, 2002, 12(8):591
- [21] Du Plessis M, Pearce B, Jacobs C, et al. Genetic polymorphisms of the organic cation transporter 1 gene (SLC22A1) within the Cape Admixed population of South Africa[J]. Mol Biol Rep, 2015, 42(3):665
- [22] Giannoudis A, Wang L, Jorgensen A L, et al. The hOCT1 SNPs M420del and M408V alter imatinib uptake and M420del modifies clinical outcome in imatinib-treated chronic myeloid leukemia[J]. Blood, 2013, 121(4):628
- [23] Vine J, Cohen S B, Ruchlemer R, et al. Polymorphisms in the human organic cation transporter and the multidrug resistance gene: correlation with imatinib levels and clinical course in patients with chronic myeloid leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 2014, 55(11):2525
- [24] Di Paolo A, Polillo M, Capecci M, et al. The c.480C>G polymorphism of hOCT1 influences imatinib clearance in patients affected by chronic myeloid leukemia[J]. Pharmacogenomics J, 2014,

- 14(4):328
- [25] Arimany-Nardi C, Montraveta A, Lee-Verges E, et al. Human organic cation transporter 1 (hOCT1) as a mediator of bendamustine uptake and cytotoxicity in chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells [J]. *Pharmacogenomics J*, 2015, 15(4):363
- [26] 周宏灏,肖鹏. 细胞色素氧化酶 CYP1A2 的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(5):456
- [27] Zhou S F, Wang B, Yang L P, et al. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2[J]. *Drug Metab Rev*, 2010, 42(2):268
- [28] Sauna Z E, Kimchi-Sarfaty C, Ambudkar S V, et al. Silent polymorphisms speak: how they affect pharmacogenomics and the treatment of cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(20):9609
- [29] 倪丽艳,李珊珊,严杨艳. 温州地区汉族正常人群 CYP1A2 基因多态性分布特征[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(7):14
- [30] Song L, Du Q, Jiang X, et al. Effect of CYP1A2 polymorphism on the pharmacokinetics of agomelatine in Chinese healthy male volunteers [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2014, 39(2):204
- [31] Liu J, Xi H, Jiang Y, et al. Association of CYP450 single nucleotide polymorphisms with the efficacy of epidural ropivacaine during mastectomy[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2015, 59(5):640
- [32] Goricar K, Kovac V, Jazbec J, et al. Genetic variability of DNA repair mechanisms and glutathione-S-transferase genes influences treatment outcome in osteosarcoma[J]. *Cancer Epidemiol*, 2015, 39(2):182
- [33] Xiao Q, Deng D, Li H, et al. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms predict treatment outcome for acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Hematol*, 2014, 93(8):1381
- [34] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013[J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(1):11
- [35] 张晓波,杨崇礼. 全国白血病发病情况调查[J]. 中国医学科学院学报, 1992, 14(1):12
- [36] Alexander D D, Mink P J, Adami H O, et al. The non-Hodgkin lymphomas: a review of the epidemiologic literature[J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(Suppl 12):1
- [37] 朱雄增,李小秋,李甘地. 中国淋巴瘤亚型分布:国内多中心性病例 10002 例分析[J]. 诊断学理论与实践, 2012, 11(2):111
- [38] Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine combined with rituximab in patients with relapsed and/or refractory chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(26):3559
- [39] Soini E J, Martikainen J A, Vihervaara V, et al. Economic evaluation of sequential treatments for follicular non-hodgkin lymphoma [J]. *Clin Ther*, 2012, 34(4):915
- (2015-08-28 收稿)

.....

(上接第 177 页)

- 2011, 31(12): 719
- [3] Cheng Y, Cheung G S, Bian Z, et al. Incidence and factors associated with endodontic inter-appointment emergency in a dental teaching hospital in China [J]. *J Dent*, 2006, 34(7): 516
- [4] 四川大学华西口腔医院牙体牙髓病科. 根管治疗技术规范与疗效评价标准 [J]. 华西口腔医学杂志, 2004, 22(3): 196
- [5] 徐琼,樊明文,范兵,等. 机用镍钛器械预备弯曲根管的临床应用[J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23(4): 286
- [6] 魏振辉,杜原宏,张鹏,等. MTWO 镍钛根管预备系统在磨牙根管治疗中的应用分析[J]. 中国实用口腔科杂志, 2009, 2(5):289
- [7] Hülsmann M, Stryga F. Comparison of root canal preparation using different automated devices and hand instrumentation[J]. *J Endod*, 1993, 19(3):141
- [8] Wu M K, Fan B, Wesslink P R. Leakage along apical root fillings in curved root canals, part I: Effects of apical transportation on seal of root fillings [J]. *J Endod*, 2000, 26(4): 210
- [9] Esposito P T, Cunningham C J. A comparison of canal preparation with nickel-titanium and stainless steel instruments[J]. *J Endod*, 1995, 21(4): 173
- [10] 韦曦,凌均荣,张顺彬. 三种镍钛机动器械预备后牙弯曲根管的成形效果 [J]. 中华口腔医学杂志, 2002, 37(5): 333
- [11] 冯春月,贾智,刘大勇,等. PathFile 镍钛根管预备技术在弯曲根管治疗中的临床疗效[J]. 天津医科大学学报, 2014, 20(3):224
- [12] Gergi R, Rjeily J A, Sader J, et al. Comparison of canal transportation and centering ability of twisted files, pathfile -protaper system, and stainless steel hand K-files by using computed tomography[J]. *J Endod*, 2010, 36(5): 904
- (2015-09-08 收稿)