

# CYP3A4/5、POR 基因多态性与中国成年心脏移植受者他克莫司血药浓度相关性的研究

周红<sup>1</sup>, 张菁<sup>2</sup>, 伍三兰<sup>1</sup>, 刘亚妮<sup>1</sup>, 师少军<sup>1</sup>, 张玉<sup>1</sup>, 韩勇<sup>1</sup> (1. 华中科技大学同济医学院附属协和医院药剂科, 武汉 430022; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院心血管外科, 武汉 430022)

**摘要:**目的 探讨 CYP3A4/5 和 POR 单核苷酸多态性 (SNP) 与中国成年心脏移植受者他克莫司剂量校正浓度 ( $\rho_0/D$ ) 的相关性, 为制定该人群个体化剂量调整方案提供参考。方法 共纳入 90 例中国成年心脏移植术后早期的受者, 采用焦磷酸测序法检测 CYP3A4\*1G/G>A(rs2242480), Sanger 法检测 CYP3A5\*3A>G(rs776746), POR\*28C>T(rs1057868), 酶放大免疫测定法 (EMIT) 测定他克莫司血药谷浓度。分析上述基因型与  $\rho_0/D$ 、达靶浓度时间和达靶浓度所需剂量的相关性。结果 CYP3A4\*1G、CYP3A5\*3、POR\*28 等位基因频率均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡。CYP3A5\*3/\*3 基因型心脏移植患者  $\rho_0/D$  比 \*1/\*1 和 \*1/\*3 携带者显著增加, 达靶浓度时间显著缩短, 达靶浓度所需剂量显著降低。CYP3A4\*1/\*1G 等位基因携带者  $\rho_0/D$  显著低于野生型。基于 CYP3A5 分层分析, 在 CYP3A5 表达与不表达组中, CYP3A4 和 POR 不同基因型均与他克莫司  $\rho_0/D$  无相关性。POR\*28/\*28 基因型受者达靶浓度时间显著延长。结论 中国成年心脏移植受者 CYP3A4\*1G 和 CYP3A5\*3 基因型与他克莫司  $\rho_0/D$  显著相关, 移植前进行检测将有助于他克莫司的临床个体化用药。

**关键词:** 他克莫司; CYP3A4/5; POR; 心脏移植

doi: 10.11669/cpj.2017.19.012 中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2017)19-1710-05

## Associations of CYP3A4/5 and POR Polymorphisms with Tacrolimus Concentrations in Chinese Adult Heart Transplant Recipients

ZHOU Hong<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>2</sup>, WU San-lan<sup>1</sup>, LIU Ya-ni<sup>1</sup>, SHI Shao-jun<sup>1</sup>, ZHANG Yu<sup>1</sup>, HAN Yong<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacy, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; 2. Department of Cardiovascular Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate associations between CYP3A4/5 and POR single nucleotide polymorphisms (SNPs) and tacrolimus dose-corrected concentrations ( $\rho_0/D$ ) in Chinese adult heart transplant recipients, providing individualized dose-adjustment for this population. **METHODS** A total of 90 Chinese adult heart transplant recipients in the early stage were enrolled. CYP3A4\*1G/G>A(rs2242480) genotype was assessed by pyrophosphate sequencing. CYP3A5\*3A>G(rs776746) and POR\*28C>T(rs1057868) genotype were determined by Sanger sequencing. Tacrolimus trough concentration ( $\rho_0$ ) was evaluated by enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT). Associations between genotypes and  $\rho_0/D$  as well as time and dose to get the target range were completely analyzed. **RESULTS** Allele frequencies of all the evaluated SNPs were consistent with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ). The  $\rho_0/D$  in CYP3A5\*3/\*3 carriers was considerably higher than that in \*1/\*1 and \*1/\*3 carriers. Moreover, time to get the target range was significantly shortened and required dosage was also significantly reduced in CYP3A5\*3/\*3 carriers. The  $\rho_0/D$  in CYP3A4\*1/\*1G carriers was remarkably decreased in comparison with the wild type. After stratification by CYP3A5\*3 genotypes, no associations were observed between CYP3A4\*1G and POR\*28 genotypes and tacrolimus  $\rho_0/D$ . POR\*28 was not related to  $\rho_0/D$ , but significantly prolonged time to target range. **CONCLUSION** This study demonstrates that CYP3A4\*1G and CYP3A5\*3 polymorphisms are associated with tacrolimus concentrations, the test of these genotypes before transplantation may be useful for individualized medicine of tacrolimus.

**KEY WORDS:** tacrolimus; CYP3A4/5; POR; heart transplant

基金项目: 华中科技大学自主创新研究基金重点专项资助(2015ZHYX014)

作者简介: 周红, 女, 药师 研究方向: 临床药理学, 治疗药物浓度监测 \* 通讯作者: 韩勇, 男, 副主任药师 研究方向: 临床药学, 药剂学 Tel: (027) 85726983 E-mail: xhhanyong@hotmail.com

他克莫司( tacrolimus ,FK-506) 是一种从土壤放线菌素中分离出来的免疫抑制剂 ,通过抑制钙调磷酸酶发挥作用。目前 ,他克莫司已成为实体器官移植术后预防排斥反应的一线用药。然而 ,他克莫司治疗窗窄 ,个体药动学差异大 ,药物作用影响因素多 ,常常导致个体间和个体内药物浓度波动大进而影响疗效<sup>[1]</sup>。他克莫司浓度过低容易导致排斥反应的发生 ,浓度过高则易导致感染、肿瘤以及慢性肾脏疾病的发生<sup>[2]</sup>。因此 ,临床常常需要开展治疗药物浓度监测( therapeutic drug monitoring ,TDM) 帮助调整治疗剂量<sup>[3]</sup>。但由于 TDM 是在患者服药后并达稳态时才进行测定 ,同时基于浓度值进行剂量调整也是依据经验 ,很难在短时间内达到治疗窗 ,大大提高了排斥反应发生的风险。因此 ,运用药物基因组学寻找能预测他克莫司给药剂量的生物标记物 ,对开展移植术后他克莫司个体化治疗具有重要意义。

他克莫司在体内主要经 CYP3A4 和 CYP3A5 酶代谢 ,再由 P 糖蛋白( P-gp) 转运 ,同时也是 P-gp 的底物<sup>[4]</sup> ,因此 ,影响 CYP3A4 ,CYP3A5 以及多药耐药基因 1( MDR1 ,编码 P-gp) 活性或表达的因素均可能会影响他克莫司的浓度<sup>[5]</sup>。目前 ,已明确 CYP3A5 \* 3 多态性与肝、肾移植受者他克莫司代谢相关性<sup>[6]</sup> ,但其对心脏移植受者的影响尚不明确。而 CYP3A4 对他克莫司浓度的影响尚存在争议。CYP450 氧化还原酶( cytochrome P450 oxidoreductase ,POR) 是所有肝微粒体 CYP450 氧化酶的唯一电子供体 ,决定了 CYP450 酶系的活性 ,在 CYP450 介导的药物代谢中发挥着重要作用<sup>[7]</sup>。POR \* 28 ( rs1057868) 是影响 POR 酶活性最重要一个位点<sup>[8]</sup> ,其突变导致 POR 酶活性显著增强 ,关于该基因位点与肾移植术后他克莫司代谢的相关研究已有报道 ,但尚未得出一致结论<sup>[9-10]</sup>。

自 1967 年全球首例心脏移植手术成功开展<sup>[11]</sup> ,经过多年发展心脏移植术后患者生存率得到显著提高 ,而限制心脏移植术后受者长期生存的一个重要因素就是免疫抑制剂不足或过量。目前 ,国外已有研究探讨了遗传因素如 CYP3A5 \* 3、CYP3A4 \* 22 等对心脏移植受者他克莫司剂量和浓度的影响<sup>[12-14]</sup>。然而 ,由于种族差异和免疫抑制治疗方案的区别 ,中国心脏移植受者难以直接利用现有研究结果实施个体化治疗。因此 ,我们十分迫切地需要针对中国心脏移植受者开展免疫抑制剂个体化治疗的遗传药理学研究 ,为提高心脏移植受者生存率奠定基础。近年来随着我院心脏移植数量逐年增加 ,

为本实验顺利开展提供了宝贵的资料。为此 ,本实验旨在首次探讨 CYP3A4 \* 1G、CYP3A5 \* 3、POR \* 28 基因多态性与中国成人心脏移植术后早期他克莫司血药谷浓度的相关性 ,为该人群他克莫司初始剂量预测和个体化剂量调整提供依据。

## 1 材料及方法

### 1.1 药品与试剂

他克莫司( 商品名普乐可复 ,日本安斯泰来制药有限公司 ,进口药品注册证号: H20090692 ,规格: 0.5 或 1 mg · 粒<sup>-1</sup>) ,吗替麦考酚酯( 商品名骁悉 ,瑞士罗氏制药有限公司 ,进口药品注册证号: H20040552 ,规格: 0.25 g · 粒<sup>-1</sup>) ,醋酸泼尼松( 浙江仙琚制药股份有限公司 ,批准文号: 国药准字 H33021207 ,规格: 5 mg · 片<sup>-1</sup>) ,他克莫司检测试剂盒( 德国 SIMEN 公司) ,他克莫司预处理液( 德国 SIMEN 公司) ,Magen 核酸提取试剂盒( 广州美基生物技术有限公司) 。

### 1.2 仪器

5810R 冷冻离心机( 德国 Eppendorf 公司) , Viva-E 血药浓度分析仪( 德国 SIMEN 公司) , StepOnePlus<sup>®</sup> 实时荧光定量 PCR 系统( 美国 ABI 公司) , PyroMark Q24 焦磷酸测序仪( 德国 Qiagen 公司) , ABI3730xl 测序仪( 美国 ABI 公司) 。

### 1.3 研究对象

本实验纳入 2014 年 7 月至 2015 年 12 月于华中科技大学同济医学院附属协和医院心血管外科进行心脏移植手术的患者 ,共 90 例( 男性 74 例 ,女性 16 例) ,年龄为 16 ~ 70 岁 ,平均年龄( 46 ± 16) 岁; 体重为 33 ~ 95 kg ,平均体重( 66.6 ± 12.6) kg ,移植前诊断为扩张型心肌病者 55 例 ,冠状动脉粥样硬化性心脏病者 15 例 ,其余 20 例为其他严重心脏疾病。患者均首次接受心脏移植手术 ,移植术后采用他克莫司 + 吗替麦考酚酯 + 醋酸泼尼松三联免疫疗法。排除肝肾功能障碍患者 ,发生急性排斥反应或急性感染者 ,开始免疫抑制治疗时合并使用对他克莫司代谢产生影响的药物( 如地尔硫卓、伊曲康唑、氟康唑、利福平、五酯胶囊等) 。本实验经华中科技大学同济医学院伦理委员会批准 ,所有患者均签署知情同意书。

### 1.4 他克莫司血药浓度测定

心脏移植受者一般术后 24 ~ 48 h 内给予他克莫司抗排异治疗 ,每日给药 2 次 ,连续服用同一剂量至少 3 d 后 ,于第 4 天清晨服药前采集静脉血 2 mL 置于 EDTA-Na<sub>2</sub> 抗凝真空管 ,采用酶增强免疫测定法( E-

MIT)测定全血他克莫司谷浓度<sup>[15]</sup>。为排除给药剂量、患者体重等对血药浓度影响,本实验对他克莫司的浓度进行剂量和体重校正。剂量校正浓度( $\rho_0/D$ ) =  $\frac{\text{血药谷浓度}}{\text{剂量/体重}}$  ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ per } \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )。

1.5 CYP3A4/5 和 POR 基因分型

取 EDTA-Na<sub>2</sub> 抗凝全血 200  $\mu\text{L}$ ,按 Magen 核酸提取试剂盒说明书提取患者基因组 DNA,于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。CYP3A4\* 1G 采用适当引物扩增,进行焦磷酸测序,CYP3A5\* 3 和 POR\* 28 基因检测由武汉友芝友生物技术有限公司采用 Sanger 测序法检测。PCR 扩增引物见表 1。

1.6 统计学分析

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。用  $\chi^2$  检验分析基因型是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。采用 Shapiro-Wilk W 检验对  $\rho_0/D$  进行正态分布检验,显示数据不符合正态分布;采用对数转换后数据符合正态分布,基因型与  $\rho_0/D$  之间采用  $t$  检验(2 组)或单因素方差分析(3 组)进行分析。基因型与达靶浓度所需时间和达靶浓度所需剂量采用 Mann-Whitney U (两组间)检验,Kruskal-Wallis H(多组间)检验进行比较。 $P < 0.05$  认为具有统计学差异。

2 结果

2.1 CYP3A4\* 1G、CYP3A5\* 3、POR\* 28 等位基因频率

90 例心脏移植受者 CYP3A4\* 1G、CYP3A5\* 3、POR\* 28 基因型频率及等位基因分布频率见表 2。对基因型进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡分析,结果显示  $P$  值均大于 0.05,符合遗传平衡,说明纳入研究的患者具有群体代表性。

2.2 CYP3A4\* 1G、CYP3A5\* 3、POR\* 28 基因型对他克莫司谷浓度的影响

90 例心脏移植受者首次接受相同剂量他克莫司连续治疗 3 d 后,剂量校正浓度与 CYP3A4\* 1G、

CYP3A5\* 3、POR\* 28 各基因型的分析见表 3。结果显示,CYP3A5\* 3/\* 3 基因型患者剂量校正浓度分别比\* 1/\* 1 和\* 1/\* 3 携带者显著增 2.02 倍( $P=0.005$ ) 1.28 倍( $P<0.001$ )。CYP3A4\* 1/\* 1G 和\* 1G/\* 1G 携带者剂量校正浓度分别比\* 1/\* 1 降低了 0.39 倍( $P=0.001$ ) 和 0.22 倍( $P=0.231$ )。POR\* 28 基因型他克莫司剂量校正浓度无显著性差异( $P=0.540$ )。

2.3 排除 CYP3A5\* 3 影响后 CYP3A4\* 1G 和 POR\* 28 基因型与他克莫司  $\rho_0/D$  相关性

鉴于 CYP3A5\* 3 是近年来唯一公认的影响他克莫司代谢的重要遗传因素,为排除这一因素的影响,我们将 CYP3A5\* 3 进行基因分层后进一步分析 CYP3A4\* 1G 和 POR\* 28 基因型与他克莫司浓度的相关性。以 CYP3A5\* 1/\* 1 和 CYP3A5\* 1/\* 3 作为 CYP3A5 表达组,CYP3A5\* 3/\* 3 作为非表达组。在 CYP3A5 表达和不表达组中,CYP3A4 和 POR 不同基因型均与他克莫司  $\rho_0/D$  不相关,见表 4。

2.4 CYP3A5\* 3、CYP3A4\* 1G、POR\* 28 基因型与他克莫司达靶浓度时间及所需剂量的相关性

心脏移植术后受者他克莫司能否在短时间内达靶浓度范围是决定急性排斥反应发生的关键。我们进一步分析受者 CYP3A5\* 3、CYP3A4\* 1G、POR\* 28 基因型是否与他克莫司达靶浓度(心脏移植术后 1 月靶浓度为  $10 \sim 15 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ <sup>[16]</sup>) 时间及剂量

表 1 CYP3A4\* 1G、CYP3A5\* 3 及 POR\* 28 等位基因扩增引物

Tab. 1 Primers for amplification of CYP3A4\* 1G, CYP3A5\* 3 and POR\* 28 alleles

SNP	Primer sequence
CYP3A4* 1G	F: 5'-CGTGGCCCAATCAATTATCT-3'
	R: 5'-TTCTCCTGGGAAGTGGTGAG-3'
CYP3A5* 3	F: 5'-CCATACAGGCAACATGACTTAG-3'
	R: 5'-CACAGGGAGTTGACCTTCATAC-3'
POR* 28	F: 5'-CAGAACCACTCCGGGAAG-3'
	R: 5'-TCCTGGATGAAGCCTATGAA-3'

表 2 基因型和基因分布频率

Tab. 2 Genotype and allele frequencies of the genes evaluated in this study

Variant	Genotype frequency			Allele frequency		$P$
	Wild/%	Hetero/%	Variant/%	$P$	$q$	
CYP3A5* 3						
rs776746( A > G)	7( 7. 8)	44( 48. 9)	39( 43. 3)	0. 68	0. 32	0. 26
CYP3A4* 1G						
rs2242480( G > A)	45( 54. 8)	37( 41. 1)	8( 8. 9)	0. 71	0. 29	0. 92
POR* 28						
rs1057868( C > T)	26( 28. 9)	51( 56. 7)	13( 14. 4)	0. 57	0. 43	0. 14

相关。为排除联合用药的干扰,我们排除达靶浓度前联合使用五酯胶囊、伏立康唑、氟康唑等的患者,最终纳入 54 例患者进行分析。结果(表 5)显示,*CYP3A5*\* 3/\* 3 基因型受者达靶浓度时间比携带\* 1 者显著缩短;*POR*\* 28/\* 28 基因型受者达靶浓度时间比携带\* 1 者显著延长;*CYP3A4* 基因型各组间无显著差异。*CYP3A5*\* 3/\* 3 基因型受者达靶浓度所需剂量显著低于\* 1 携带者,然而 *CYP3A4* 和 *POR* 基因型与他克莫司达靶浓度所需剂量无相关性。

### 3 讨论

心脏移植是治疗终末期心脏病最有效的方法,但移植术后排斥反应是导致心脏移植失败的主要原因。因此,免疫抑制药的合理应用成为影响心脏移植预后的关键因素。他克莫司是目前心脏移植术后常用的一线免疫抑制剂,但其药动力学差异大,主要与受者肝功能、肾功能、转运体和 *CYP3A* 酶活性、移植术后时间、相别、种族、红细胞压积、合并用药

表 3 *CYP3A5*\* 3、*CYP3A4*\* 1G、*POR*\* 28 基因型受者他克莫司  $\rho_0/D$  的比较

Tab. 3 Comparison of tacrolimus dose-corrected concentration in heart transplant recipients across *CYP3A5*\* 3, *CYP3A4*\* 1G and *POR*\* 28 genotypes

Genotype	<i>n</i>	$\rho_0/D$ ( ng • mL <sup>-1</sup> per mg • kg <sup>-1</sup> • d <sup>-1</sup> )	<i>P</i>
<i>CYP3A4</i>			0. 005
* 1/* 1	45	162. 51 ± 100. 20	
* 1/* 1G	37	99. 58 ± 63. 01	
* 1G/* 1G	8	127. 38 ± 123. 49	
<i>CYP3A5</i>			<0. 000 1
* 1/* 1	7	65. 69 ± 56. 16	
* 1/* 3	44	86. 87 ± 55. 96	
* 3/* 3	39	198. 32 ± 94. 91	
<i>POR</i>			0. 540
* 1/* 1	26	128. 65 ± 103. 37	
* 1/* 28	51	139. 28 ± 95. 07	
* 28/* 28	13	120. 71 ± 73. 04	

表 4 基于 *CYP3A5* 基因型分组后 *CYP3A4*\* 1G 和 *POR*\* 28 基因型与他克莫司浓度相关性

Tab. 4 Associations between *CYP3A4*\* 1G and *POR*\* 28 genotypes and tacrolimus dose-corrected concentration after stratification by *CYP3A5*\* 3 genotypes

Genotypes	<i>CYP3A5</i> expresser		<i>CYP3A5</i> non-expresser	
	<i>n</i>	$\rho_0/D$ ( ng • mL <sup>-1</sup> per mg • kg <sup>-1</sup> • d <sup>-1</sup> )	<i>n</i>	$\rho_0/D$ ( ng • mL <sup>-1</sup> per mg • kg <sup>-1</sup> • d <sup>-1</sup> )
<i>CYP3A4</i>				
* 1/* 1	14	72.54 ± 34.53	31	203.14 ± 93.42
/* 1G	37	88.28 ± 61.98	8	179.82 ± 104.70
<i>POR</i>				
* 1/* 1	16	82.46 ± 58.35	10	202.57 ± 118.93
/* 28	35	84.66 ± 55.62	29	211.76 ± 105.97

表 5 *CYP3A4*\* 1G、*CYP3A5*\* 3、*POR*\* 28 基因型他克莫司达靶浓度所需时间和剂量的相关性

Tab. 5 Associations between time and dosage for tacrolimus target concentration across *CYP3A4*\* 1G, *CYP3A5*\* 3 and *POR*\* 28 genotypes

Genotype	<i>n</i>	Time for targeted $\rho_0$	Dose for targeted $\rho_0$
		/d	/mg • kg <sup>-1</sup> • d <sup>-1</sup>
<i>CYP3A4</i>			
* 1/* 1	33	7.8 ± 4.3	0.060 ± 0.016
* 1/* 1G	17	10.9 ± 6.1	0.070 ± 0.020
* 1/* 1G	4	9.5 ± 3.7	0.064 ± 0.026
<i>CYP3A5</i>			
* 1/* 1	2	8.5 ± 3.5	0.082 ± 0.008
* 1/* 3	16	11.9 ± 5.0	0.079 ± 0.016
* 3/* 3	36	7.6 ± 4.6 <sup>1) 4)</sup>	0.057 ± 0.015 <sup>2) 3)</sup>
<i>POR</i>			
* 1/* 1	17	10.2 ± 5.4	0.068 ± 0.021
* 1/* 28	29	6.9 ± 3.0	0.061 ± 0.016
* 28/* 28	8	13.4 ± 6.7 <sup>1) 3)</sup>	0.071 ± 0.020

注:与野生型相比,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与突变杂合型相比,<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$

Note: compared with wild type, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; compared with heterozygous group, <sup>3)</sup>  $P < 0.05$  <sup>4)</sup>  $P < 0.01$

等因素相关<sup>[4,17]</sup>。然而,个体间遗传背景的差异可能导致他克莫司代谢酶以及转运体活性差异,成为影响他克莫司个体药动力学差异的关键因素。因此,研究遗传因素对他克莫司浓度、达靶浓度时间以及达靶浓度所需剂量的影响对指导其个体化治疗具有重要的临床意义。

本实验首次报道了中国成年心脏移植受者 *CYP3A4/5* 和 *POR* SNPs 与他克莫司浓度的关系。结果显示,*CYP3A5*\* 3/\* 3 基因型患者  $\rho_0/D$  比\* 1/\* 1 和\* 1/\* 3 携带者分别增加 2.02 和 1.28 倍,而达靶浓度时间显著缩短,达靶浓度剂量显著降低;*CYP3A4*\* 1G 与他克莫司  $\rho_0/D$  相关。由于 *CYP3A5* 对他克莫司的固有清除率高于 *CYP3A4*,为进一步明确两者对他克莫司血药浓度的影响,我们控制 *CYP3A5* 后对 *CYP3A4* 进行分析,发现在 *CYP3A5* 表达和不表达组中,*CYP3A4* 和 *POR* 不同基因型均与他克莫司  $\rho_0/D$  不相关。这说明 *CYP3A4*\* 1G 与他克莫司  $\rho_0/D$  的相关性依赖于 *CYP3A5*\* 3,推测 *CYP3A4*\* 1G 对他克莫司浓度的影响还是来自于与 *CYP3A5*\* 3 的连锁不平衡,其单独对他克莫司血药浓度没有影响,起作用的主要还是 *CYP3A5*。这一结果与国际遗传药理学/药物基因组学的研究结果一致<sup>[12,18]</sup>。本实验结果提示,*CYP3A5*\* 3 是决定心脏移植术后他克莫司浓度、剂量的关键因素。

Oneda 等<sup>[19]</sup> 研究显示,*POR*\* 28 突变将导致 *CYP3A* 酶系的活性显著升高。目前研究一致认为,

$POR^* 28$  突变者所需他克莫司剂量更高<sup>[14 20-21]</sup>。然而,我们的研究结果显示  $POR^* 28$  与他克莫司所需剂量无关。另外,De Jonge 等<sup>[21]</sup> 研究  $POR^* 28$  对肾移植受者他克莫司代谢的影响,发现在 CYP3A5 表达的受者中  $POR^* 28 T$  等位基因携带者与  $POR^* 28 CC$  基因型受者相比他克莫司  $\rho_0/D$  更低,达靶浓度所需时间更长;而在 CYP3A5 不表达者(  $CYP3A5^* 3/* 3$ ) 中  $POR^* 28$  与他克莫司代谢无关。说明  $POR^* 28$  对他克莫司代谢的影响依赖于 CYP3A5 的活性。本实验发现,  $POR^* 28$  与心脏移植受者他克莫司  $\rho_0/D$  无相关性,但显著延长他克莫司达靶浓度的时间,与 De Jonge 等研究结果存在差异,但与 Jannot 等的研究结果一致<sup>[9]</sup>。出现研究结果不一致的原因可能与本实验纳入样本数量有限有关,也可能是不同种族器官移植受者对药物代谢影响存在差异造成,具体原因需要进一步探讨。我们仍在持续收集心脏移植受者相关信息,期望未来能纳入更大的样本量深入阐释基因型对他克莫司浓度及剂量的影响,实现通过基因检测预测给药剂量,为推进我国心脏移植个体化治疗贡献力量。

综上所述,本实验首次在中国心脏移植患者中证实  $CYP3A5^* 3$  多态性是影响他克莫司血药浓度、达标时间和达标剂量的关键因素;  $CYP3A4^* 1G$  也是影响他克莫司浓度的因素,但该作用依赖于  $CYP3A5^* 3$  的影响;  $POR^* 28$  多态性将使受者他克莫司达标时间显著延迟。此研究结果为中国心脏移植受者他克莫司个体化用药提供了参考依据。基因型检测可以为他克莫司的个体化运用提供积极的指导作用。但由于他克莫司的体内过程是多种因素共同作用的结果,应结合遗传因素和心脏移植术后的临床特点,对其进行个体化给药,尽可能地减少急性和慢性排斥反应的发生率,提高患者的长期生存率和生存质量。

## REFERENCES

- [1] VENKATARAMANAN R, SWAMINATHAN A, PRASAD T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus [J]. *Clin Pharmacokinet* 1995 29(6): 404-430.
- [2] SODERLUND C, RADEGRAN G. Immunosuppressive therapies after heart transplantation—the balance between under- and over-immunosuppression [J]. *Transplant Rev (Orlando)* 2015 29(3): 181-189.
- [3] CATTANEO D, PERICO N, REMUZZI G. From pharmacokinetics to pharmacogenomics: a new approach to tailor immunosuppressive therapy [J]. *Am J Transplant* 2004 4(3): 299-310.
- [4] STAATZ C E, TETT S E. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation [J]. *Clin Pharmacokinet* 2004 43(10): 623-653.

- [5] VAN GELDER T, VAN SCHAIK R H, HESSELINK D A. Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs in solid organ transplantation [J]. *Nat Rev Nephrol* 2014 10(12): 725-731.
- [6] 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): 19-24.
- [7] MASTERS B S. The journey from NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase to nitric oxide synthases [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 338(1): 507-519.
- [8] HUANG N, PANDEY A V, AGRAWAL V, et al. Diversity and function of mutations in p450 oxidoreductase in patients with antley-Bixler syndrome and disordered steroidogenesis [J]. *Am J Hum Genet* 2005 76(5): 729-749.
- [9] JANNOT A S, VUILLEMIN X, ETIENNE I, et al. A lack of significant effect of  $POR^* 28$  allelic variant on tacrolimus exposure in kidney transplant recipients [J]. *Ther Drug Monit* 2016 38(2): 223-229.
- [10] ZHANG J J, LIU S B, XUE L, et al. The genetic polymorphisms of  $POR^* 28$  and  $CYP3A5^* 3$  significantly influence the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients [J]. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2015 53(9): 728-736.
- [11] BARNARD C N. The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town [J]. *S Afr Med J* 1967 41(48): 1271-1274.
- [12] DEININGER K M, VU A, PAGE R L, 2ND, et al. CYP3A pharmacogenetics and tacrolimus disposition in adult heart transplant recipients [J]. *Clin Transplant* 2016 30(9): 1074-1081.
- [13] GIJSEN V M, VAN SCHAIK R H, ELENIS L, et al.  $CYP3A4^* 22$  and CYP3A combined genotypes both correlate with tacrolimus disposition in pediatric heart transplant recipients [J]. *Pharmacogenomics* 2013 14(19): 1027-1036.
- [14] LESCHE D, SIGURDARDOTTIR V, SETOUD R, et al.  $CYP3A5^* 3$  and  $POR^* 28$  genetic variants influence the required dose of tacrolimus in heart transplant recipients [J]. *Ther Drug Monit* 2014 36(6): 710-715.
- [15] AKBAS S H, YAVUZ A, TUNCER M, et al. Evaluation of the new EMIT tacrolimus assay in kidney and liver transplant recipients [J]. *Transplant Proc* 2004 36(1): 86-88.
- [16] COSTANZO M R, DIPCHAND A, STARLING R, et al. The international society of heart and lung transplantation guidelines for the care of heart transplant recipients [J]. *J Heart Lung Transplant* 2010 29(8): 914-956.
- [17] SHUKER N, VAN GELDER T, HESSELINK D A. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: causes, consequences for clinical management [J]. *Transplant Rev (Orlando)* 2015 29(2): 78-84.
- [18] DIAZ-MOLINA B, TAVIRA B, LAMBERT J L, et al. Effect of CYP3A5, CYP3A4, and ABCB1 genotypes as determinants of tacrolimus dose and clinical outcomes after heart transplantation [J]. *Transplant Proc* 2012 44(9): 2635-2638.
- [19] ONEDA B, CRETTOLE S, JAQUENOUDSIROT E, et al. The P450 oxidoreductase genotype is associated with CYP3A activity in vivo as measured by the midazolam phenotyping test [J]. *Pharmacogenet Genomics* 2009 19(11): 877-883.
- [20] KUYPERS D R, DE LOOR H, NAESSENS M, et al. Combined effects of  $CYP3A5^* 1$ ,  $POR^* 28$ , and  $CYP3A4^* 22$  single nucleotide polymorphisms on early concentration-controlled tacrolimus exposure in de-novo renal recipients [J]. *Pharmacogenet Genomics* 2014 24(12): 597-606.
- [21] DE JONGE H, METALIDIS C, NAESSENS M, et al. The P450 oxidoreductase \* 28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients [J]. *Pharmacogenomics* 2011 12(9): 1281-1291.

(收稿日期:2017-03-18)