

## 肾移植受者他克莫司剂量 / 浓度个体差异影响因素及其变化规律

付绍杰<sup>1</sup>, 王彦斌<sup>2</sup>, 于立新<sup>1</sup>, 李强<sup>3</sup>, 王亦斌<sup>1</sup>, 肖露露<sup>4</sup>(南方医科大学南方医院<sup>1</sup>器官移植科,<sup>3</sup>检验科,<sup>4</sup>组织配型中心, 广东 广州 510515;<sup>2</sup>中国人民解放军第474医院肾移植中心, 新疆 乌鲁木齐 830011)

**摘要:**目的 探讨肾移植受者他克莫司剂量 / 浓度个体差异影响因素及其变化规律。方法 观察 118 例肾移植术后早期(3、7、14、30 d)、103 例术后 3 月、75 例术后 6 月、119 例稳定期( $\geq 1$  年)口服他克莫司 + 霉酚酸酯 + 泼尼松三联免疫抑制抗排斥的受者, 记录性别、年龄、身高、体质量、他克莫司剂量、激素剂量、腹泻、血脂、肝功、肾功、白蛋白、红细胞比容, 测定每个受者 CYP3A5 和 MDR1 3435、2677、1236 位点基因多态性及不同时期他克莫司药物浓度。然后以他克莫司浓度 / 剂量 $\times$ 体表面积为因变量分别进行多元线性回归分析。结果 肾移植术后早期多元线性回归模型拟合度偏低, 术后 3 月明显增高, 术后 6 月进一步增高并逐渐趋于稳定; 影响他克莫司剂量 / 浓度的因素在术后早期较多且变化剧烈, 术后 3 月以后逐渐趋于稳定。从药物基因组学角度来看, 影响他克莫司剂量 / 浓度的主要因素是 MDR1 3435、MDR1 2677、MDR1 1236 且术后早期变化剧烈, CYP3A5 作用相对较弱且仅在稳定期入选, 稳定期影响他克莫司代谢的主要因素是 MDR1 3435。除药物基因组学因素外, 年龄、肝功值、白蛋白和红细胞比容与他克莫司浓度 / 剂量 $\times$ 体表面积呈正相关, 是个体差异的重要原因。结论 肾移植术后他克莫司剂量 / 浓度影响因素的变化规律与肾移植临床特点相吻合, 不同时期他克莫司剂量 / 浓度个体差异的影响因素不同。药物基因组学是影响他克莫司剂量 / 浓度个体差异的重要因素, 临床用药应尽量避免对他克莫司代谢干扰大的药物。年龄、肝功、白蛋白、红细胞比容和激素剂量也是他克莫司剂量 / 浓度个体差异的重要原因。

**关键词:** 他克莫司; 血药浓度; 细胞色素 P450 3A5; 多药耐药基因 1; 基因多态性  
中图分类号: R692 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2008)12-2161-04

## Factors responsible for inter-individual variations in dosage/concentration of tacrolimus in renal transplant recipients

FU Shao-jie<sup>1</sup>, WANG Yan-bin<sup>2</sup>, YU Li-xin<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>3</sup>, WANG Yi-bin<sup>1</sup>, XIAO Lu-lu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Organ Transplantation, <sup>3</sup>Department of analysis, <sup>4</sup>Center of Tissue Typing, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; <sup>2</sup>Center of Renal Transplantation, 474 Hospital of PLA, Urumqi 830011, China

**Abstract: Objective** To identify the factors responsible for the inter-individual variations in the dosage/concentration of tacrolimus in renal transplant recipients. **Methods** This study involved renal transplant recipients receiving immunosuppressive therapy with the tacrolimus, mycophenolate and prednisone regimen after the operation. The gender, age, height, body weight, tacrolimus dosage, hormone dosage, diarrhea, blood lipids, liver function, renal function, albumin, and hematocrit of the patients were recorded at different time points, namely in early stage (3, 7, 14, and 30 days postoperatively, 118 cases), at 3 months (103 cases), 6 months (75 cases) and over one year (119 cases) after the operation. The concentrations of tacrolimus and gene polymorphisms at CYP3A5, MDR1 3435, MDR1 2677 and MDR1 1236 were also determined in these patients. Multiple linear regression was used for analysis of these factors with tacrolimus concentration/dosage $\times$ body surface area as the independent variable. **Results** Patients in early stage following renal transplantation showed rather poor fitting of the stepwise regression model, which increased obviously 3 months after the operation and further increased till reaching a stable level at 6 months. Multiple factors were found to affect tacrolimus concentration/dosage in the early postoperative stage, during which period these factors underwent drastic variations and became stable 3 months later. In terms of pharmacogenomics, the major factors affecting tacrolimus concentration/dosage included MDR1 3435, MDR1 2677 and MDR1 1236 polymorphisms, which vastly varied between the patients early after the operation. Of these polymorphic sites, CYP3A5 produced only minor effects on tacrolimus concentration/dosage, and was not included as an active factor until the stable phase (over 1 year) following the transplantation; MDR1 3435 was found to be the predominant factor affecting tacrolimus metabolism in the stable phase. Age, liver function, albumin and hematocrit were found to be positively correlated to the independent variable tacrolimus concentration/dosage $\times$ body surface area, and identified as important factors responsible for the intra-individual variation of tacrolimus dosage/concentration. **Conclusion** The variations in the factors affecting

tacrolimus dosage/concentration after renal transplantation are consistent with the clinical features of the patients, and these factors vary with the postoperative stages. Pharmacogenomic factors produce the most conspicuous effect on tacrolimus dosage/concentration, and agents that

收稿日期: 2008-10-29

基金项目: 广东省医学科研基金(A2006387)

作者简介: 付绍杰(1963-), 男, 副主任医师, 电话: 020-61641785, E-mail: fusaoj@medmail.com.cn

may interfere with tacrolimus metabolism should be avoided after the operation. Age, liver function, albumin and hematocrit are also important factors responsible for the variation of tacrolimus dosage/concentration.

**Key words:** tacrolimus; concentration; CYP3A5; MDR1; gene polymorphism

他克莫司(TAC)的应用使肾移植的临床疗效发生了根本改善,但 TAC 较窄的治疗指数和不同个体间的高度差异一直是困扰临床医师的问题。影响 TAC 的生物利用有许多因素,我们紧密结合肾移植术后不同时期临床特点,采用多元线性回归分析方法对不同时期的肾移植术后受者进行研究,以探讨肾移植受者 TAC 剂量/浓度个体差异的原因,报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

观察对象:在我中心行肾移植手术及门诊复查的口服 TAC+ 霉酚酸酯+泼尼松三联免疫抑制抗排斥的受者。入选标准:截至各随访日期,术后 3 月以上的受者服用 TAC 时间 $\geq$ 2 月。剔除标准:(1)移植肾功能异常,血清肌酐(Cr) $>300 \mu\text{mol/L}$ ;(2)1 月内因感染等因素使用过抗感染药物,尤其是大环内酯类抗生素,酮康唑、氟康唑、克霉唑等抗真菌药物;(3)患有结核疾病需要服用利福平;(4)服用葡萄柚汁,或者地尔硫唑等药物以提高 TAC 浓度。依据上述入选及剔除标准,共纳入 118 例术后早期(3、7、14、30 d)、103 例术后 3 月、75 例术后 6 月、119 例稳定期( $\geq$ 1 年)的肾移植受者。

### 1.2 观察指标

临床指标:对符合研究要求的受者按术后 3、7、14、30 d 和 3、6 个月及 $\geq$ 1 年收集记录性别、年龄、身高、体质量、服药量、激素剂量、腹泻、血脂(TG、CHOL、HDL、LDL、VLDL)、红细胞比容(HCT)、白蛋白(ALB)、肝功(AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL)、Cr。

实验室指标:对符合研究要求的受者严格规范服药时间和采血时间,患者于前一日晚 20:00 服用 TAC,次日早晨 8:00 服药前抽血 2 ml,加入 EDTA 抗凝备用;TAC 全血谷浓度检测采用美国 IMX 药物浓度检测仪检测;细胞色素 P450-3A5(CYP3A5),多药耐药基因(MDR1) 3435、2677、1236 基因多态性检测用自行设计的引物(表 1),提取血标本 DNA 后,PCR 法扩增(反应体系 50  $\mu\text{l}$ ,反应条件为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min,94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,58  $^{\circ}\text{C}$  退火 20 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 40 s,共 35 个循环,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  充分延伸 10 min),变性高效液相色谱技术检测。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件,以 TAC 浓度/剂量 $\times$ 体表面积(许文生氏公式计算)为因变量,其他指标为

自变量,进行多元线性回归分析, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 术后不同时期回归方程(表 2)

### 2.2 模型拟合度及影响因素变化规律

肾移植术后早期多元线性回归模型拟合度偏低,3 月明显增高,6 月进一步增高并逐渐趋于稳定;影响因素在术后早期较多且变化剧烈,术后 3 月以后逐渐趋于稳定。

### 2.3 药物基因组学因素及变化规律

主要因素是 MDR1 3435、MDR1 2677、MDR1 1236 且术后早期变化剧烈,CYP3A5 作用相对较弱且仅在稳定期入选,稳定期影响 TAC 代谢的主要因素是 MDR1 3435;由 Beta 值得不同个体达到相同 TAC 浓度所需剂量,突变型纯合子 $<$ 杂合子 $<$ 野生型纯合子。

### 2.4 非药物基因组学因素及变化规律

年龄、肝功值、红细胞比容和白蛋白与 TAC 浓度/剂量 $\times$ 体表面积呈正相关,是个体差异的重要原因;年龄和肝功始终起作用,红细胞比容和白蛋白分别在术后 3 月和 6 月影响个体差异;激素剂量在术后早期(7 和 14 d)是个体差异的原因之一。

表 1 CYP3A5,MDR1 3435、2677、1236 基因多态性引物表  
Tab.1 Primers for detecting polymorphisms at CYP3A5, MDR1 3435, 2677 and 1236

Gene polymorphism	Primer array (5'-3')	Size (bp)
CYP3A5* 3-6986	FP:CCCCTAGTTGTACGACACACAGC	441
	RP:GCCCTTGCAGCATTTAGTCCT	443
MDR1 C3435T	FP:GGCCAGAGAGGCTGCCACA	455
	RP:CTGCCTACCACATGCATACATCAGAAAC	434
MDR1 G2677T/A	FP:GAGTCCAAGAAGTGGCTTTGCTACTTTCTG	462
	RP:GCAGGCTATAGGTTCCAGGCTTGCT	469
MDR1 C1236T	FP:GTGGGGTCATAGAGCCTCTGCAT	468
	RP:GTCTGAGTTGGCCATCTATCCACCT	475

## 3 讨论

目前 TAC 药物代谢动力学差异的具体机制尚未完全明确。国内外学者做了大量研究,认为 TAC 的代谢与 CYP3A4、CYP3A5 和 MDR1 基因多态性关系密切,不同个体 TAC 所需剂量为突变型纯合子 $<$ 杂合

表 2 术后不同时期的逐步回归方程

Tab.2 Stepwise regression equations in different stages after renal transplantation

Time	Stepwise regression equation	Adjusted R <sup>2</sup>	Internalized independent variables (Beta: from max to min)	Independent variables with statistical significance
3 days	-1.776+0.023*Age+0.506*HDL+0.066*ALB-0.084*IBIL+0.218*DBIL+0.714*MDR1 3435 <sub>(1)</sub> +0.018*MDR1 2677 <sub>(1)</sub> -0.608*MDR1 2677 <sub>(2)</sub> +0.479*MDR1 1236 <sub>(1)</sub> +0.265*MDR1 1236 <sub>(2)</sub>	0.284	MDR1 3435 <sub>(1)</sub> (0.228), Age (0.211), DBIL (0.210), IBIL (-0.210), ALB (0.191), MDR1 2677 <sub>(2)</sub> (-0.179), MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (0.168), HDL (0.163), MDR1 1236 <sub>(2)</sub> (0.058), MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (0.006)	Age (P=0.011) HDL (P=0.049) ALB (P=0.022)
7 days	-3.697+0.031*Age - 0.003*Dosage of hormone+0.116* ALB+0.003*Cr+1.167*MDR1 1236 <sub>(1)</sub>	0.267	MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (0.326), ALB (0.274), Age (0.224), Cr (0.223), Dosage of hormone (-0.169)	MDR1 1236(1) (P=0.000) ALB (P=0.000), Age (P=0.003), Cr (P=0.019)
14 days	1.062+0.005*Dosage of hormone+0.015*AST+0.977*MDR1 2677(1)+0.799*MDR1 1236 <sub>(1)</sub>	0.417	MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (0.316), Dosage of hormone (0.270), MDR1 1236(1) (0.268), AST (0.190)	MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (P=0.001) Dosage of hormone (P=0.001) MDR1 1236(1) (P=0.004) AST (P=0.014)
30 days	1.799+1.230*MDR1 2677 <sub>(1)</sub> +0.722*MDR1 1236 <sub>(1)</sub>	0.324	MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (0.404), MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (0.245)	MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (P=0.000) MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (P=0.011)
3 months	-1.064+0.014*Age+9.250*HCT-0.070*IBIL-0.006*Cr+1.386*MDR1 2677 <sub>(1)</sub> +0.868*MDR1 1236 <sub>(1)</sub> -0.445*MDR1 1236 <sub>(2)</sub>	0.553	MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (0.449), MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (0.283), HCT (0.255), IBIL (-0.160), Cr (-0.147), Age (0.118), MDR1 1236 <sub>(2)</sub> (-0.080)	MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (P=0.000) MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (P=0.002) HCT (P=0.002), IBIL (P=0.041), Cr (P=0.049)
6 months	-0.777+0.016*Age+0.061*ALB+1.250*MDR1 3435 (1)+0.968*MDR1 2677 <sub>(1)</sub> +1.130*MDR1 1236 <sub>(1)</sub> -0.821*MDR1 1236 <sub>(2)</sub>	0.731	MDR1 3435 <sub>(1)</sub> (0.332), MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (0.315), MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (0.273), ALB (0.132), Age (0.126), MDR1 1236 <sub>(2)</sub> (-0.124)	MDR1 1236 <sub>(1)</sub> (P=0.000) MDR1 3435 <sub>(1)</sub> (P=0.007) MDR1 2677 <sub>(1)</sub> (P=0.032) ALB (P=0.050)

CYP3A5(1, MDR1 3435(1, MDR1 2677<sub>(1)</sub> and MDR1 1236<sub>(1)</sub> are mute variables, and the subscript (1) indicates mutant homozygote. CYP3A5(2), MDR1 3435(2), MDR1 2677(2) and MDR1 1236(2) are also mute variables and the subscript (2) indicate wide type homozygote.

子 < 野生型纯合子<sup>[1-5]</sup>。目前国内外相关研究存在以下问题: (1) 未见全面、紧密结合肾移植临床特点的针对 CYP3A、MDR1 与 TAC 剂量 / 浓度关系的研究; (2) 研究指标均采用 TAC 浓度 / 剂量 × 体质量, 仅仅考虑了体质量因素而没有考虑体型因素和 TAC 高度脂溶性的特点; (3) 研究方法基本都是采用按不同基因型分组后进行 TAC 浓度 / 剂量 × 体质量的均数比较, 统计方法采用组间比较 *t* 检验。但实际上影响 TAC 药代动力学的因素很多, 如肝功能、肠道代谢、ALB、HCT、种族、合并用药等<sup>[6]</sup>, 所以单纯按基因型分组的方法欠科学, 没有综合考虑上述各种影响 TAC 药代动力学的因素, 各组间可比性有待进一步探讨。对于高度脂溶性的 TAC 而言, 科学的给药剂量应以体表面积为计算依据, 这样既考虑了体质量因素, 又考虑了体型因素<sup>[7]</sup>。我们在全面考虑了患者体质量、体型和 TAC 脂溶性的特点后重新选择衡量指标, 即采用 TAC 浓度 / 剂量 × 体表面积作为指标, 并且国内外首次紧密结合肾移植术后不同时期的临床特点, 综合了性别、年龄、血脂、肝功、肾功、ALB、HCT 及合并用药等情况后, 与 CYP3A5、MDR1 一起对肾移植术后不同时期口服 TAC 的受者进行多元线性回归分析, 选取指标科学, 考虑因素全面, 统计方法恰

当, 能够客观且较全面的反应肾移植术后不同时期 TAC 剂量 / 浓度个体差异的原因。

考虑到中国人中 CYP3A4 基因变异的发生频率非常低 (0.5%~2%)<sup>[8]</sup>, 对其进行分析意义有限, 另外一个更重要的原因是多元线性回归分析的统计学方法特点, CYP3A4 的纳入与否对其他指标的统计学影响微乎其微, 故未选择 CYP3A4 不同基因型纳入试验研究。MDR1 2677G>T/A 功能相同, 即都是导致 893 位点 Ala 变成 Ser, 故在多元线性回归分析时将两者合并<sup>[9]</sup>。

多元线性回归模型拟合度反应回归方程解释该现象的百分比。肾移植术后不同时期需要用大量不同种类的药物, 包括大量的激素、抗生素、抗病毒药物、预防血栓形成、保护肝脏、制酸药物、护胃药物等等, 很多患者还需要用降压及降糖药物, 而且不同时期用药种类和剂量差别非常大, 绝大部分需要肝脏代谢, 且尿毒症患者本身体质差, 又经历了大手术的打击、术后 2~3 d 的禁食禁水、液体出入量较大等等, 内环境变化非常剧烈。此后各项指标及内环境才逐步恢复正常并趋于稳定, 但在恢复过程中, 随着血糖、血脂、血压等的不断变化, 合并用药又在不断变化。上述情况我们在临床是无法控制的, 所以本研究所得的结论

与肾移植术后不同时期的临床特点非常吻合,并说明肾移植术后不同时期 TAC 剂量 / 浓度个体差异的影响因素不同。

从药物基因组学角度来看,国内外研究已证实 MDR1 和 CYP3A 与 TAC 代谢密切相关,本研究发现不同个体达到相同 TAC 浓度所需剂量不同,即突变型纯合子 < 杂合子 < 野生型纯合子,这与国内外研究结果一致<sup>[1-5]</sup>。但该结果完全解释临床现象力度有限,尤其是肾移植术后早期大量用药且种类和剂量变化剧烈,术后随着病情的恢复新问题如血糖、血脂、血压等的不断变化,合并用药也在不断变化的情况时。所以术后临床用药应尽量避免对 TAC 代谢干扰大的药物。

从非药物基因组学角度来看,(1) 年龄和肝功值始终是影响肾移植术后受体 TAC 浓度 / 剂量个体差异的重要因素;(2) 红细胞比容和白蛋白分布在术后 3 月和 6 月发挥作用。国外研究结果表明在血浆中,绝大多数 TAC 结合到血浆蛋白上(98.8%),主要为白蛋白和  $\alpha$ 1- 酸性糖蛋白<sup>[10]</sup>,体循环内 TAC 牢固结合在红细胞上,导致全血 / 血浆的浓度分布率大致为 20:1<sup>[11]</sup>。肾移植术后早期白蛋白和 HCT 较低导致未结合的 TAC 增加可能加快 TAC 的清除<sup>[12]</sup>,而移植后期 TAC 清除率的变化也与白蛋白和 HCT 水平有关<sup>[13]</sup>;(3) 激素剂量在术后早期(7、14 d)是个体差异的原因之一,国外研究结果发现皮质激素能诱导 P 糖蛋白(P-gp)与细胞色素酶 P450 的表达<sup>[14]</sup>,肾移植术后使用大剂量激素的受者 TAC 需要量显著高于中低剂量组,原因可能与小肠 P-gp 表达上调有关<sup>[15]</sup>。我中心在激素使用方案中不同医师和不同患者在术后 1、2 周时有一定差别,所以本研究结果和临床实际及国外报道一致。

综上所述,我们得出如下结论:(1) 肾移植术后 TAC 剂量 / 浓度影响因素的变化规律与肾移植临床特点相吻合,不同时期 TAC 剂量 / 浓度个体差异的影响因素不同;(2) 药物基因组学是影响 TAC 剂量 / 浓度个体差异的重要因素,临床用药应尽量避免对 TAC 代谢干扰大的药物;(3) 除药物基因组学因素外,年龄、肝功、白蛋白、红细胞比容和激素剂量也是 TAC 剂量 / 浓度个体差异的重要原因。

#### 参考文献:

- [1] Ferrarresso M, Tirelli A, Ghio L, et al. Influence of the CYP3A5 genotype on tacrolimus pharmacokinetics and pharmacodynamics in young kidney transplant recipients [J]. *Pediatr Transplant*, 2007, 11 (3): 296-300.
- [2] Renders L, Frisman M, Ufer M, et al. CYP3A5 genotype markedly influences the pharmacokinetics of tacrolimus and sirolimus in kidney transplant recipients [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2007, 81(2): 228-34.
- [3] Roy JN, Barama A, Poirier C, et al. Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients [J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2006, 16(9): 659-65.
- [4] Macphee AM, Fredericks S, Tai T, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and p-glycoprotein correlate with dose requirement [J]. *Transplantation*, 2002, 74(11): 1486-9.
- [5] 张鑫,刘志红,郑敬民,等. 细胞色素 P450 3A5 和多药耐药基因 1 基因多态性在肾移植患者他克莫司血药浓度监测中的应用 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2004, 13(4): 313-7.
- [6] 郑克立. 临床肾移植学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2006: 151.
- [7] 杨世杰. 药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 37-41.
- [8] Hsieh KP, Lin YY, Cheng CL, et al. Novel mutations of CYP3A4 in Chinese [J]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29(3): 268-73.
- [9] 胡永芳,周宏灏. CYP3A4, CYP3A5 和 MDR1 基因多态性对环孢素处置的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(3): 257-61.
- [10] Venkataramanan R, Jain A, Warty VS, et al. Pharmacokinetics of FK 506 in transplant patients [J]. *Transplant Proc*, 1991, 23 (6): 2736-40.
- [11] Beysens AJ, Wijene RM, Beuman GH, et al. FK 506: monitoring in plasma or whole blood? [J]. *Transplant Proc*, 1991, 23(6): 2745-7.
- [12] Mekki Q, Lee C, Aweeka F, et al. Pharmacokinetics of tacrolimus (FK 506) in kidney transplant patients [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1993, 53(3): 238.
- [13] Undre NA, Schafer A. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus in the first year after renal transplantation [J]. *Transplant Proc*, 1998, 30(4): 1261-3.
- [14] El-Sankary W, Plant NJ, Gibson GG, et al. Regulation of the CYP3A4 gene by hydrocortisone and xenobiotics: role of the glucocorticoid and pregnane X receptors [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28(5): 493-6.
- [15] Anglicheau D, Flamant M, Schlageter MH, et al. Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2003, 18 (11): 2409-14.