

肾移植患者 *SLCO1B3* 基因多态性与他克莫司血药浓度相关性研究

张函舒¹, 宋沧桑^{1*}, 李兴德¹, 杨金伟², 毛盼盼¹, 王国徽¹, 马雪娇¹(1.昆明市第一人民医院药学部, 昆明 650000; 2.昆明医科大学附属甘美医院, 昆明 650000)

摘要: 目的 探究肾移植患者 *SLCO1B3* 基因多态性与术后早期他克莫司血药浓度的相关性。方法 选取昆明市第一人民医院 68 例肾移植患者为研究对象, 运用化学免疫发光法监测他克莫司血药浓度, 同时采用聚合酶链反应法检测 *CYP3A5**3、*SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性, 并进行基因分型, 分析各基因型与他克莫司血药浓度的相关性。结果 *CYP3A5**3 不同基因型对术后他克莫司血药浓度和标准化血药浓度有影响, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因位点不同基因型对术后他克莫司血药浓度和标准化血药浓度无影响, 差异均无统计学意义。结论 与 *CYP3A5**3/*3 基因型相比, *CYP3A5**1 等位基因携带者达到相同的他克莫司浓度需要增加他克莫司给药剂量。*SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性对肾移植术后早期他克莫司血药浓度无影响。

关键词: 肾移植; 他克莫司; 血药浓度; *SLCO1B3*; 基因多态性

中图分类号: R969.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)23-3297-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20224301

引用本文: 张函舒, 宋沧桑, 李兴德, 等. 肾移植患者 *SLCO1B3* 基因多态性与他克莫司血药浓度相关性研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(23): 3297-3300.

Correlation Between *SLCO1B3* Gene Polymorphism and Plasma Concentration of Tacrolimus in Renal Transplant Recipients

ZHANG Hanshu¹, SONG Cangsang^{1*}, LI Xingde¹, YANG Jinwei², MAO Panpan¹, WANG Guohui¹, MA Xuejiao¹(1.Department of Pharmacy, the First Hospital of Kunming, Kunming 650000, China; 2.Affiliated Ganmei Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the correlation between *SLCO1B3* gene polymorphisms and early postoperative tacrolimus concentrations in renal transplant recipients. **METHODS** A total of 68 patients who underwent kidney transplantation in the First Hospital of Kunming were selected, tacrolimus plasma concentrations were monitored by chemoluminescence, *CYP3A5**3, *SLCO1B3* T334G and G699A gene polymorphisms were detected by polymerase chain reaction, and genotyping was performed to analyze the correlation between each genotype and tacrolimus plasma concentrations. **RESULTS** Different genotypes of *CYP3A5**3 had significant effects on postoperative tacrolimus plasma concentration and standardized plasma concentration ($P < 0.05$), and different genotypes of *SLCO1B3* T334G and G699A gene loci had no significant effect on postoperative tacrolimus plasma concentration and standardized plasma concentration. **CONCLUSION** Compared with *CYP3A5**3/*3 genotype, *CYP3A5**1 allele carriers need to reach the same tacrolimus concentration to increase tacrolimus dose. *SLCO1B3* T334G and G699A gene polymorphisms has no effect on tacrolimus plasma concentration in the early stage after renal transplantation.

KEYWORDS: renal transplant; tacrolimus; blood concentration; *SLCO1B3*; polymorphisms

他克莫司(tacrolimus, Tac)是一种钙调磷酸酶抑制剂, 是广泛用于预防同种异体移植排斥反应和提高肾移植后患者生存的免疫抑制剂之一^[1]。Tac 治疗窗窄, 治疗剂量接近于中毒剂量, 且个体间差异显著, 给药剂量难以掌握, 药品说明书、临床指南和文献研究普遍推荐临床应进行血药浓度监测, 并根据监测结果进行给药剂量的调整, 从而在一定时间内尽快达到目标血药浓度。但血

药浓度监测存在局限性, 无法确定最初给药剂量。部分器官移植受者即使增加给药剂量, 血药浓度也难以达到有效范围, 其临床症状及相关生化指标也难以改善; 部分受者即使血药浓度处于正常范围内, 但移植物排斥反应发生率仍较高, 且受者生存率下降^[2]。

Tac 主要在肝脏和小肠被细胞色素氧化酶 P450 (cytochrome P450, CYP)3A 家族代谢, 其血药浓

基金项目: 云南省器官移植临床医学中心开放课题(2020SYZ-Z-023); 云南省卫生健康委员会医学领军人才培养计划(L-2018012); 云南省临床药理学中心建设项目; 昆明市春城计划高层次创新创业团队专项(2022SCP002)

作者简介: 张函舒, 女, 硕士, 药师 E-mail: 602407137@qq.com *通信作者: 宋沧桑, 女, 主任药师 E-mail: songcs163@163.com

度与代谢酶的活性高度相关。CYP3A5 是 CYP3A 主要的代谢酶。目前已鉴定 9 个不同的 CYP3A5 等位基因, 其中 CYP3A5*3 和*1 的研究最多, CYP3A5 酶活性很大程度上取决于 CYP3A5*3 基因多态性, 即其第 3 内含子 6 986 位碱基 A 突变为 G, 进而翻译出无功能的 CYP3A5 蛋白, 导致 CYP3A5 酶活性降低。已有相关指南推荐检测 CYP3A5 基因多态性以指导调整 Tac 给药剂量^[3-4]。但 CYP3A5 基因多态性尚不足以解释所有 Tac 药动学的个体差异, 药物转运蛋白基因多态性成为新的研究热点。有研究报道, Tac 药动学除与药物代谢酶密切相关外, 转运蛋白同样是重要的影响因素^[5]。

有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptide, OATP)是溶质转运体超家族(superfamily of solute carriers, SLC)中的一员, 属于摄入型转运体, 广泛存在于血脑屏障、肝细胞、小肠上皮细胞等人体正常组织中, 介导多种内源物质及临床常用药物的吸收转运过程^[6]。其中 OATP1B3 是 OATP 家族最重要的成员之一, 而 Tac 作为 OATP1B3 的底物之一, 其体内转运及代谢极有可能会受到 *SLCO1B3* 基因多态性的影响。T334G 和 G699A 对 OATP1B3 的转运活性影响最大, 是目前 *SLCO1B3* 研究较多的基因多态性位点^[7]。目前国内外关于 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性与肾移植患者术后 Tac 血药浓度相关性的研究较少, 尤其是针对 T334G 在中国人群中的研究鲜有报道, *SLCO1B3* 基因多态性对 Tac 血药浓度的影响尚无明确定论。综上, 本研究将探讨肾移植患者 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性分布特征及其与 Tac 血药浓度的相关性, 为 Tac 个体化用药提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2021 年 1 月—2022 年 10 月昆明市第一人民医院 68 例肾移植住院患者为研究对象, 且肾移植手术后采用 Tac、吗替麦考酚酯(mycophenolate mofetil, MMF)和激素三联用药为免疫抑制方案, 所有入选对象均为汉族。该研究得到昆明某一家三甲医院伦理委员会的批准(伦理批号: YLS2021-18), 研究对象均自愿参加该研究, 并签署知情同意书。

1.2 纳入标准

①首次或二次行同种异体肾移植的患者; ②所

有患者术后免疫抑制治疗方案均采用 Tac、吗替麦考酚酯和激素三联用药, 且肝功能指标正常。

1.3 排除标准

①行多器官联合移植者; ②移植术后由其他免疫抑制剂更换为 Tac 或由 Tac 更换为其他免疫抑制剂者; ③移植术后发生移植肾无功能或发生移植肾急性排而达不到研究要求者; ④使用地尔硫草、五酯胶囊、红霉素、维拉帕米以及其他对 Tac 血药浓度有显著影响药物的患者。

1.4 血药浓度监测

Tac 血药浓度监测时间点为患者连续服用同一剂量 Tac \geq 3 d 后, 在术后第 4 天清晨服药前采集静脉血 2 mL 置于 EDTA 抗凝真空管, 采用化学免疫发光法监测 Tac 血药浓度。为便于比较, 对 Tac 的浓度进行剂量校正, 即剂量校正谷浓度(C_0/D)=Tac 血药浓度/千克体质量日剂量。

1.5 基因型检测

采集患者外周静脉血 3 mL, 参照 TIANamp Blood DNA Kit 试剂盒(Tiagen, 批号: DP304)使用说明书进行血液样品基因组 DNA 提取。引物由北京擎科生物科技股份有限公司提供, 引物序号见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer Sequence

序号	引物名称	引物序列(5' to 3')	长度/bp
引物 1	RS776746-F	ACTGTTCTGATCACGTCGGG	746
	RS776746-R	AGAGGGGCTAGAGGTTTGGT	
引物 2	RS4149117-F	GGAAGGTACAATGTCTTGGGC	602
	RS4149117-R	TGTACAGCAGCAGGTGAAGT	
引物 2	RS7311358-F	GGTCCAGTCATTGGCTTTGC	707
	RS7311358-R	GCCTGAAGTCGAGGCAGATA	

1.6 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 计数资料采用 χ^2 检验进行统计, 计量资料符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验用于两组间比较, 方差分析用于多组间比较。不符合正态分布的进行变量转换, 采用非参数检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般资料

共纳入 68 例肾移植患者, 其中男性 42 例, 女性 26 例, 平均年龄(40.72 \pm 9.77)岁, 基本资料见表 2。

表 2 基本资料

Tab. 2 Basic information

项目	计数
性别/例	
男	42
女	26
年龄/岁	40.72±9.77
身高/cm	164.90±7.54
体质量/kg	59.30±10.81
移植前透析时间/月	39.72±20.75
透析方式/例	
血液透析	59
腹膜透析	6
腹膜透析转血液透析	3

2.2 研究对象基因型和等位基因的分布频率

*CYP3A5**3、*SLCO1B3* T334G、*SLCO1B3* G699A 的突变频率分别为 65.44%，79.41%和 80.15%，基因型及等位基因频率见表 3。均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P>0.05$)，研究资料具有群体代表性。

表 3 基因型和等位基因分布频率

Tab. 3 Genotype and allele distribution frequencies

基因	例数/例	等位基因	例数/例	χ^2	P
<i>CYP3A5</i> *3					
*1/*1	9	*1	47	0.222	0.79
*1/*3	29	*3	89		
*3/*3	30				
<i>SLCO1B3</i> T334G					
TT	3	T	28	0.008	1.00
TG	22	G	106		
GG	43				
<i>SLCO1B3</i> G699A					
GG	3	G	27	0.059	1.00
GA	21	A	109		
AA	44				

2.3 不同基因型患者基本情况的比较

68 例肾移植术后患者人口统计学(性别、身高、体质量)及临床资料(丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、总胆红素、白蛋白、肾小球滤过率、血清肌酐、红细胞压积)在不同基因型之间差异均无统计学意义。

2.4 *CYP3A5**3、*SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性与 Tac 血药浓度的关系

2.4.1 不同基因型对 Tac 血药浓度的影响
*CYP3A5**3 基因位点不同基因型对术后 Tac 血药浓度 C_0 和剂量校正谷浓度 C_0/D 有影响，差异均具

有统计学意义($P<0.05$)。由于 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 野生基因型较少，本研究将野生纯合型和突变杂合型合并，与突变纯合型组相比，以此更好探究 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性对 Tac 血药浓度的影响。研究发现 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 不同基因型组对术后 Tac 血药浓度和标准化血药浓度无影响，差异均无统计学意义。结果见表 4。

表 4 不同基因型对 Tac 血药浓度的影响

Tab. 4 Effect of different genotypes on Tac plasma concentration

基因	基因型	$C_0/\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	P	C_0/D	P
<i>CYP3A5</i> *3	*1/*1	2.81±1.24	<0.01	62.41±30.93	<0.01
	*1/*3	4.64±1.83		93.24±52.02	
	*3/*3	7.37±3.39		151.90±73.88	
<i>SLCO1B3</i> T334G	TT	6.44±1.23	0.58	152.98±91.40	0.45
	TG	5.98±3.76		122.22±73.46	
	GG	5.35±2.77		108.72±66.19	
	TT+TG	6.04±3.53	0.50	125.91±74.31	0.35
<i>SLCO1B3</i> G699A	GG	5.35±2.77		108.72±66.19	
	GG	6.44±1.23	0.49	152.98±91.40	0.41
	GA	6.14±3.78		124.63±74.37	
	AA	5.29±2.77		107.87±65.65	
	GG+GA	6.18±3.54	0.33	128.17±75.02	0.28
	AA	5.29±2.77		107.87±65.65	

2.4.2 *CYP3A53 分层下 *SLCO1B3* 基因多态性与 Tac 血药浓度的相关性** 为排除 *CYP3A5**3 基因型作为混杂因素影响分析结果，以 *CYP3A5**3 基因型分层后再探讨 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 对 Tac 血药浓度的影响。将野生纯合型和突变杂合型合并，与突变纯合型进行比较。研究发现无论在 *CYP3A5* 表达型组(*CYP3A5**1/*1 和 *CYP3A5**1/*3)或非表达型组(*CYP3A5**3/*3)中，*SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性对 Tac 血药浓度和标准化血药浓度差异均无统计学意义，见表 5。

表 5 *CYP3A5**3 分层下 *SLCO1B3* 基因多态性对 Tac 血药浓度的影响Tab. 5 Effect of *SLCO1B3* gene polymorphism on Tac plasma concentration stratified by *CYP3A5**3

基因型	$C_0/\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$		C_0/D	
	表达型组	非表达型组	表达型组	非表达型组
TT+TG	4.17±1.85	8.06±3.87	104.02±66.40	149.62±77.84
GG	4.23±1.91	6.90±3.06	76.54±35.70	153.42±73.39
P	0.85	0.37	0.21	0.85
GG+GA	4.17±1.85	8.55±3.65	104.02±66.40	156.72±77.46
AA	4.23±1.91	6.68±3.12	76.54±35.70	149.11±73.75
P	0.85	0.16	0.21	0.80

3 讨论

Tac 在体内个体差异大,需要对其进行血药浓度监测,尤其术后早期是排斥反应发生的高发期,对 Tac 在体内暴露量要求高,需反复监测调整 Tac 血药浓度,维持在合适的浓度范围,但 Tac 血药浓度易受多种因素的影响,其中遗传因素是影响 Tac 血药浓度最重要的因素。*CYP3A5*3* 基因型与 Tac 浓度密切相关,是目前遗传药理学/药物基因组学研究一致的结论,*CYP3A5*1* 等位基因能增强 *CYP3A5* 酶活性,若以 *CYP3A5*3* 替换 *CYP3A5*1*, *CYP3A5* 酶活性降低, Tac 在体内代谢减慢。*CYP3A5*3* 等位基因频率,非洲人群约为 3%,亚洲人群约为 67%,欧洲人群约为 93%^[8]。本研究中, *CYP3A5*3* 等位基因频率为 65.44%,与亚洲人群突变率接近。

在本研究中 *SLCO1B3* T334G 基因 T 等位基因频率为 20.59%, G 等位基因的频率为 79.41%; *SLCO1B3* G699A 基因 G 等位基因频率为 19.85%, A 等位基因的频率为 80.15%。*SLCO1B3* T334G 和 G699A 在中国人群中研究较少,但本研究发现其基因突变率在肾移植患者中较高, *SLCO1B3* T334G 基因突变率(79.10%)高于武多娇等^[9]研究(67.60%); *SLCO1B3* G699A 基因突变率(80.15%)远高于吴萍等^[10]研究(31.1%)。基因多态性在不同地区、不同人群存在显著差异,本研究中 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因在肾移植患者中突变率较高,值得进一步深入地探讨。

本研究发现 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性对肾移植术后早期 Tac 血药浓度和标准化血药浓度均无影响。以 *CYP3A5*3* 基因型分层后,对纯合突变型患者与野生纯合型和杂合突变型患者 Tac 血药浓度和标准化血药浓度进行分析,研究显示均无统计学差异。Boivin 等^[11]对加拿大 28 例肾移植受者的研究显示,在肾移植术后 1 周内, *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性与 Tac 血药浓度密切相关, T334G 和 G699A 基因突变受者的 Tac 血药浓度升高,该研究首次发现 *SLCO1B3* 基因多态性与肾移植术后早期 Tac 暴露有关。在对中国肾移植患者术后药物浓度及基因型分析研究中,同样发现 *SLCO1B3* 基因多态性与 Tac 代谢有关, *SLCO1B3* 699AA 纯合子突变受者术后 Tac 血药浓度较高,推测 699AA 基因突变型者达到 Tac 有效血药浓度范围所需要的 Tac 剂量较小^[12]。以上研究结果与本研究结果不一致,造成以上研究结论不一的原因可能与种族、地域差异、样本量及实验方案

设计等有关。其次由于本研究中 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因野生纯合型患者较少,具体相关性需进一步扩大样本量进行深入研究证实。

综上,本研究发现 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 在本研究人群中突变率较高,但并未发现 *SLCO1B3* T334G 和 G699A 基因多态性与肾移植术后早期 Tac 血药浓度的相关性,研究仅显示 *CYP3A5*3* 基因多态性对肾移植术后早期 Tac 血药浓度有影响,肾移植术后早期患者可根据 *CYP3A5* 基因型调整 Tac 的初始给药剂量,同时监测血药浓度,以指导 Tac 在肾移植患者中的个体化用药。

REFERENCES

- [1] OBERBAUER R, BESTARD O, FURIAN L, et al. Optimization of tacrolimus in kidney transplantation: New pharmacokinetic perspectives[J]. *Transplant Rev*, 2020, 34(2): 100531.
- [2] PAN Y H, LIU J E, LI Z H, et al. Effects of Tacrolimus on serum creatinine levels in heart transplantation recipients in postoperative early stage[J]. *Pharm Today(今日药学)*, 2021, 31(5): 388-391.
- [3] 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.
- [4] 周宏灏, 陈小平, 张伟, 等. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)[EB/OL]. [2015-07-29] [2022-12-28]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s3593/201507/fca7d0216fed429cac797cdafa2ba466.shtml>.
- [5] TRON C, ALLARD M, PETITCOLLIN A, et al. Tacrolimus diffusion across the peripheral mononuclear blood cell membrane: Impact of drug transporters[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2019, 33(1): 113-121.
- [6] LI T T, AN J X, XU J Y, et al. Overview of organic anion transporters and organic anion transporter polypeptides and their roles in the liver[J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7(23): 3915-3933.
- [7] ALAM K, CROWE A, WANG X Y, et al. Regulation of organic anion transporting polypeptides(OATP) 1B1- and OATP1B3-mediated transport: An updated review in the context of OATP-mediated drug-drug interactions[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): 855.
- [8] CHEN W Q, ZHANG L, ZHANG Y, et al. Expert consensus on individualized treatment of tacrolimus in solid organ transplantation[J]. *Pract J Organ Transplant(实用器官移植电子杂志)*, 2022, 10(4): 301-308.
- [9] WU D J, XU M, WANG X C, et al. Influence of organic anion transporting polypeptide(*SLCO1B1* and *SLCO1B3*) genetic polymorphisms on mycophenolic acid in Chinese kidney transp[J]. *Chin J Org(中华器官移植杂志)*, 2011, 32(7): 393-395.
- [10] WU P, ZOU S L, NI X F. Study on the relationship between *SLCO1B3* gene polymorphism and docetaxel-induced neutropenia in patients with gastric cancer[J]. *Chin J Clin Ration Drug Use(临床合理用药)*, 2017, 10(26): 5-7.
- [11] BOIVIN A A, CARDINAL H, BARAMA A, et al. Influence of *SLCO1B3* genetic variations on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients[J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2013, 28(3): 274-277.
- [12] LI C X. Effect of *MDR1*, *SLCO1B3* gene polymorphism on postoperative tacrolimus requirements in renal transplant recipients[D]. Changsha: Central South University, 2014.

收稿日期: 2022-12-28
(本文责编: 曹粤锋)