

1 例基因多态性与瑞舒伐他汀疗效个体差异的病例分析

廉洪¹, 朱逢佳¹, 关业勃², 刘炜^{1*} (1.浙江医院药剂科, 杭州 310013; 2.浙江大学城市学院医学院, 杭州 310015)

摘要: 目的 探讨一患者服用瑞舒伐他汀后短期降脂疗效减弱的可能原因。方法 焦磷酸测序技术检测患者 ATP 结合转运蛋白超家族成员 2 (ABCG2) 及有机阴离子转运体 1B1 (SLCO1B1) 基因多态性。结果 患者为 ABCG2 c.421 CA 杂合子, SLCO1B1 c.388GG 纯合子, SLCO1B1 c.521TT 纯合子。结论 SLCO1B1 c.388G 突变有可能与瑞舒伐他汀短期降脂疗效减弱有关。

关键词: 基因多态性; 个体差异; 瑞舒伐他汀

中图分类号: R968

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)06-0745-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.027

A Case Study of the Association Between Genetic Polymorphisms and Interindividual Variation of Response to Rosuvastatin

LIAN Hong¹, ZHU Fengjia¹, GUAN Yeqing², LIU Wei^{1*} (1. Department of Pharmacy, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China; 2. Zhejiang University City College, School of Medicine, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the possible reason of that a patient had decreased short-term lipid-lowering response to rosuvastatin. **METHODS** The patient's ATP-binding cassette G2 (ABCG2) and organic anion transporter 1B1 (SLCO1B1) gene polymorphisms was detected. Pyrosequencing technology was used to detect gene polymorphisms. **RESULTS** The patient was ABCG2 c.421 CA heterozygous, SLCO1B1 c.388GG homozygous, SLCO1B1 c.521TT homozygous. **CONCLUSION** SLCO1B1 c.388G mutation may be related to decreased short-term lipid-lowering response to rosuvastatin.

KEY WORDS: genetic polymorphism; interindividual variation; rosuvastatin

他汀类药物又叫羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂, 现已广泛应用于高胆固醇血症、脑卒中和动脉粥样硬化性疾病的防治。2013 年 11 月 12 日美国心脏病学会 (ACC) 和美国心脏协会 (AHA) 发布了最新版降低心血管风险临床实践指南: 不再推荐具体的血脂治疗目标值, 建议同时评估 10 年和终生心血管疾病风险, 以及在估算心血管疾病风险时将卒中纳入考虑范围。新指南充分肯定了他汀类药物, 尤其是强化他汀治疗在降低低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平和防治动脉粥样硬化性心血管疾病中的作用, 提倡采用中等剂量他汀将 LDL-C 降低 30%~49%, 或强化他汀治疗将 LDL-C 降低 50%, 将 LDL-C 的降低幅度提高到最重要的地位。他汀的疗效存在个体差异, 有些患者服用他汀后血脂降低不明显, 未达到目标值或所需幅度。降脂疗效不佳时通常会增加他汀的剂

量或联用胆固醇吸收抑制剂等调脂药物, 而部分患者由于药物疗效不佳、经济负担、担心不良反应等原因, 用药依从性变差甚至停止用药。对他汀类药物疗效的个体差异的研究可促进个体化的合理用药, 并提高用药的依从性。

除药品质量、用药依从性和生活方式等外部因素外, 基因多态性是导致他汀类药物降脂疗效个体差异的重要原因^[1-4]。笔者发现一名高脂血症患者服用瑞舒伐他汀 8 周后降脂幅度较小, 16 周的降脂幅度明显增大, 而说明书指出瑞舒伐他汀 6 周就可发挥最大调脂作用。为探寻其中的可能原因, 在取得患者知情同意后, 留取其血样检测基因多态性。

1 资料与方法

1.1 病例概况

患者, 男, 汉族, 40 岁, 身高 175 cm, 体质

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划课题 (2010KYB016)

作者简介: 廉洪, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0571)81595229
药师 Tel: (0571)81595179 E-mail: zjyylw@163.com

E-mail: Honglian1978@163.com *通信作者: 刘炜, 女, 硕士, 主任

量 85 kg, 体质量指数 $27.8 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$, 因体检发现混合型高脂血症遵照医嘱每晚服用瑞舒伐他汀钙片 10 mg, 服药 8 周及 16 周后, 复查空腹血生化, LDL-C, 总胆固醇(TC), 甘油三酯(TG), 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C), 检验结果见表 1。复查转氨酶、肌酸激酶、肌酐、血糖、血常规、尿常规结果均无明显异常, 回访患者用药依从性佳, 饮食、运动等生活方式保持一致, 无肌痛、无力、体质量下降等不良反应, 体检未发现甲状腺功能异常等其他疾病, 未服用影响血脂的药物、保健品及膳食补充剂。

表 1 治疗前后血脂

Tab 1 Results of blood lipids concentration before and after treatment

检验结果	服药前	服药 8 周后	服药 16 周后
LDL-C($0.80\sim 3.64 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	2.07	1.74	0.96
LDL-C 变化率/%		-15.9	-53.6
TC($3.40\sim 5.72 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	6.52	4.14	4.23
TC 变化率/%		-36.5	-35.1
TG($0.40\sim 1.70 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	5.00	2.33	2.01
TG 变化率/%		-53.4	-59.8
HDL-C($0.91\sim 1.94 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	1.67	1.9	1.63
HDL-C 变化率/%		13.8	-2.4

1.2 焦磷酸测序检测基因多态性

1.2.1 试剂及仪器 三磷酸脱氧核糖核苷酸(dNTPs, 上海诺百生物科技有限公司); DNA Marker(上海诺百生物科技有限公司); Taq 酶(美国 KAPA Biosystems); 引物(上海生工生物工程技术有限公司合成); ABI 9700 PCR System(美国 Applied Biosystems); 台式高速离心机、Nanodrop 分光光度计均来自美国 Thermo; PowerPac 3000 电源及 DNA 水平电泳槽(美国 BIO RAD); 凝胶成像系统 GIS-1600(上海天能科技有限公司); PyroMark Q96 ID 焦磷酸测序仪(德国 QIAGEN)。

1.2.2 方法 取患者 EDTA 抗凝静脉血约 2 mL, 苯酚/氯仿法提取外周血基因组 DNA, 焦磷酸测序技术检测测定患者的 ATP 结合转运蛋白超家族成员 2(ABCG2) c.421C>A(rs2231142); 有机阴离子转运体 1B1(SLCO1B1) c.521T>C(rs4149056); SLCO1B1 c.388A>G(rs2306283)基因型。扩增及焦磷酸测序引物序列用 PyroMark Assay Design 2.0 设计, ABCG2 c.421C>A 正向引物(5'-3'): ATGATGTTGTGATGGGCACTC; 反向引物: TTG

CAAGCCGAAGAGCTG; 测序引物: GAAGAGCTGCTGAGAACT。OATP1B1 c.521T>C 正向引物: CATCTTCCGCCATGATTGT; 反向引物: GCGAAATCATCAATGTAAGAAAGC; 测序引物: AAGCATATTACCCATGAAC。OATP1B1 c.388A>G 正向引物: TGGATAAGGTTCGATGTTGAATT; 反向引物: TAATGGTGCAAATAAAGGGGATA; 测序引物: ATGTTGAATTTTCTGATGA。PCR 反应体系($50 \mu\text{L}$): $5\times$ PCR buffer $10 \mu\text{L}$, dNTP ($10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ each)及上下游引物($50 \text{ pmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$)各 $1 \mu\text{L}$, 模板 DNA $2 \mu\text{L}$, Taq 酶($5 \text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) $0.2 \mu\text{L}$, 加去离子水 $34.8 \mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 3 min, $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, $51 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 1 min, 40 个循环, $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 7 min。PCR 产物通过琼脂糖凝胶电泳鉴定产物片段大小和特异性。在 PCR 反应板中加入反应结合珠 $2 \mu\text{L}$, 结合缓冲液 $38 \mu\text{L}$, PCR 产物 $40 \mu\text{L}$, 室温下充分混匀 10 min。开启真空泵吸取结合珠及 PCR 产物混悬液, 依次浸入 70% 乙醇, $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 和冲洗缓冲液中各 5 s; 关闭真空泵, 后将探头上结合珠及 PCR 产物置入 $40 \mu\text{L}$ 退火缓冲液(含测序引物 $1.5 \mu\text{L}$), $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 2 min, 冷却至室温, 使引物与模板退火杂交。根据焦磷酸测序软件序列设计信息所计算出剂量, 在试剂舱中依次加入底物混合物、酶混合物及 4 种 dNTP(QIAGEN), 将试剂舱及 96 孔反应板放入焦磷酸测序检测仪检测舱进行反应。

2 结果

该患者为 ABCG2 c.421 CA 杂合子, SLCO1B1 c.388GG 纯合子, SLCO1B1 c.521TT 纯合子, 由于 SLCO1B1 c.388A>G 和 SLCO1B1 c.521T>C 为非同义突变, 并构成 4 种单倍型: *1a(388A 521T)、*1b(388G 521T)、*5(388A 521C)、*15(388G 521C), 故其 SLCO1B1 基因型为 *1b/*1b。

3 讨论

瑞舒伐他汀中国注册临床研究协作组^[5]的研究显示, 服用瑞舒伐他汀 10 mg 的高胆固醇血症患者治疗 6 周时已经发挥最大降脂作用, 并持续到 12 周, LDL-C 平均降低 45.6%。8 周时此患者 LDL-C 降低 15.9%, 较 45.6% 差距较大, 因 LDL-C 已达到中国成人血脂异常防治指南的极高危目标值($<2.07 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 8 周复诊时未增大瑞舒伐他汀剂量, 16 周后 LDL-C 降低 53.6%, 可以认定此患者 8 周时瑞舒伐他汀未达最大调脂作用。

JUPITER 试验是在特定人群(男性 ≥ 50 岁,女性 ≥ 60 岁, LDL-C < 3.37 mmol·L⁻¹, 超敏 C 反应蛋白 hsCRP ≥ 2.0 mg)随机接受瑞舒伐他汀 20 mg 或安慰剂的一项临床试验, JUPITER 试验的 3 523 例欧洲人群的基因水平的研究发现: ABCG2 (rs2199936)、SLCO1B1(rs4149056、rs4363657、rs12317268)、脂蛋白 a 基因(LPA, rs10455872)、载脂蛋白 E 基因(APOE, rs71352238)等的基因多态性可不同程度地影响瑞舒伐他汀的 LDL-C 降低值及幅度, 其中 ABCG2 基因多态性对 LDL-C 的影响最大^[1]。在 305 例香港汉族人群的高胆固醇血症患者的实验中发现: 服用瑞舒伐他汀 10 mg 12 周后, LDL-C 降低幅度与 ABCG2(rs2231142, rs2231142 与 rs2199936 存在强连锁不平衡)有关, c.421CC 野生型为 50.2%, c.421CA 杂合型为 54.3%, c.421AA 突变型为 57.0%, c.421AA 突变型患者的 LDL-C 降低幅度较 c.421CC 野生型患者强 6.8%^[2], 该患者 16 周的 LDL-C 降低幅度为 53.6%, 与 ABCG2 c.421CA 杂合型 54.3% 的幅度较吻合。

OATP1B1 是分布在肝细胞膜上的一种摄入型转运体, 由 SLCO1B1 基因编码, SLCO1B1 的单核苷酸多态性 c.388A>G 和 c.521T>C 可引起 OATP1B1 蛋白的某些氨基酸改变及转运体的功能发生改变, 影响他汀类药物的药效。巴西人群的 SLCO1B1 c.388G 突变与脂溶性的辛伐他汀和阿托伐他汀的降脂疗效增强有关^[3-4]。辛伐他汀观察期限为 6 个月, 阿托伐他汀观察期限为 4 周, 为何巴西人群的 SLCO1B1 c.388G 突变降脂疗效增强, 而本研究中 SLCO1B1 c.388G 突变患者瑞舒伐他汀的降脂疗效减弱, 笔者推测可能与种族差异、使用他汀种类不同等因素有关。有研究显示 SLCO1B1 基因多态性可导致普伐他汀的短期疗效减弱^[6]: 日本的高胆固醇血症患者服用普伐他汀 8 周后, SLCO1B1 *15 杂合子患者的 LDL-C 降幅弱于不携带 SLCO1B1 *15 基因型的患者(14.1% vs 28.9%), 1 年后不同基因型间的 LDL-C 降幅差异消失, 即 SLCO1B1 c.388G c.521C 突变者普伐他汀短期疗效减弱。本例患者服用 8 周他汀后的短期疗效减弱但长期疗效不变, 携带有 SLCO1B1 c.388G 突变, 他汀短期降脂疗效减弱而长期降脂疗效不变的现象与上述研究结果类似, 分析其共同点主要有 3 点: ①病例都属于亚洲人种; ②使

用的普伐他汀和瑞舒伐他汀都是水溶性他汀; ③短期疗效减弱的患者都携带有 SLCO1B1 c.388G 突变。近期陈旭娇等^[7]报道了一例中国老年女性患者使用 10 mg 瑞舒伐他汀的短期血脂降低不明显, 增加到 20 mg 后, 前期的 LDL-C 降幅仍不大, 改用 20 mg 阿托伐他汀后 LDL-C 短期降低则较明显, 检测其 ABCG2、SLCO1B1、CYP2C19、CYP2C9 基因多态性仅发现了 SLCO1B1 c.388GA 杂合型突变。本患者 SLCO1B1 基因是 388G 纯合子, 与上述患者的共同点是都携带有 SLCO1B1 c.388G 突变, 且瑞舒伐他汀短期疗效都减弱。综合文献及突变位点的结果分析, 笔者认为 SLCO1B1 c.388G 突变可能与瑞舒伐他汀短期降脂疗效减弱有关, 可进一步在中国人群中进行大样本、多位点的基因多态性研究以明确该现象是否广泛存在, 是否确与 SLCO1B1 c.388G 突变有关。如果后续研究确证了基因多态性与他汀个体疗效差异有关, 可在促进临床合理用药, 提高用药依从性, 节约药品费用 3 个方面发挥积极作用: ①他汀降脂治疗前检测患者的相关基因位点, 药师对突变患者给予用药教育, 告知患者短期血脂下降不多是正常现象, 长期服药后即可达标, 减少患者觉得药效不明显而停药的机率; ②医师使用他汀时加量、加药及换药的策略也可改善, 增加他汀的剂量、加药及换药的减少将降低他汀的不良反应发生率, 减轻患者的经济负担, 进一步提高用药依从性; ③药物使用量的减少可降低社会医疗保险的药费支出。

致谢: 浙江医院检验科的叶雄伟老师在实验血样标本收集保管方面给予我们大力的帮助与支持, 特此致谢!

REFERENCES

- [1] CHASMAN D I, GIULIANINI F, MACFADYEN J, et al. Genetic determinants of statin-induced low-density lipoprotein cholesterol reduction: the Justification for the Use of statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER) trial [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2012, 9(5): 257-264.
- [2] LEE H K, HU M, LUI S S, et al. Effects of polymorphisms in ABCG2, SLCO1B1, SLCO10A1 and CYP2C9/19 on plasma concentrations of rosuvastatin and lipid response in Chinese patients [J]. *Pharmacogenomics*, 2013, 14(11): 1283-1294.
- [3] SORTICA V A, FIEGENBAUM M, LIMA L O, et al. SLCO1B1 gene variability influences lipid-lowering efficacy on simvastatin therapy in Southern Brazilians [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2012, 50(3): 441-448.
- [4] RODRIGUES A C, PERRIN P M, PURIM S G, et al. Pharmacogenetics of OATP transporters reveals that

SLCO1B1 c.388A>G variant is determinant of increased atorvastatin response [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(9): 5815-5827.

- [5] China Registered Cooperative Group of Rosuvastatin Clinical Trail. Randomized double blind multicenter clinical trail of rosuvastatin's efficacy and safety in Chinese patients with hypercholesterolemia [J]. *Chin J Cardiol(中华心血管病杂志)*, 2007, 35(3): 207-211.

[6] TAKANE H, MIYATA M, BURIOOKA N, et al. Pharmacogenetic determinants of variability in lipid-lowering response to pravastatin therapy [J]. *J Hum Genet*, 2006(51): 822-826.

[7] CHEN X J, CHENG L, CHU J J, et al. Rosuvastatin escape in a Chinese elderly with hyperlipidemia [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(18): 3578-3579.

收稿日期: 2013-11-14

“隐性肾损”对卡培他滨治疗晚期结直肠癌安全性和有效性的影响

李晴宇¹, 陈建², 王刚¹ (1.杭州市第一人民医院, 杭州 310006; 2.浙江大学附属第一医院, 杭州 310003)

摘要: 目的 考察“隐性肾损”(肿瘤患者血清肌酐值正常, 但肌酐清除率明显下降的现象)对卡培他滨治疗晚期结直肠癌安全性和有效性的影响。方法 回顾性抽取 2010 年 8 月—2012 年 8 月杭州市第一人民医院血清肌酐正常、以卡培他滨治疗的晚期结直肠癌患者资料, 以 Cockcroft-Gault 公式计算肌酐清除率(CrCL), 分为“隐性肾损”组(CrCL \leq 60 mL \cdot min⁻¹)和对照组(CrCL $>$ 60 mL \cdot min⁻¹), 比较 2 组不良反应和疗效指标。结果 共 143 例患者纳入研究, 34.9%患者发生“隐性肾损”。“隐性肾损”组较对照组 1~2 度骨髓抑制、腹泻、口腔炎和手足综合征发生较高, 化疗反应率和疾病进展时间较小 ($P<0.05$), 生存时间差异无统计学意义。结论 “隐性肾损”影响卡培他滨治疗晚期结直肠癌的安全性和有效性, 临床上应以肌酐清除率对患者进行肾功能筛查及必要剂量调整。

关键词: 隐性肾损; 卡培他滨; 结直肠癌

中图分类号: R969.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)06-0748-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.06.028

Impact of Unrecognized Renal Insufficiency on the Safety and Efficacy of Capecitabine for Metastatic Colorectal Cancer Patients

LI Qingyu¹, CHEN Jian², WANG Gang¹ (1. Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, China; 2. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the impact of unrecognized renal insufficiency(URI) on safety and efficacy of chemotherapy in metastatic colorectal cancer (mCRC). **METHODS** Medical records of mCRC patients with normal SCr started on capecitabine plus oxaliplatin(XELOX) were retrospectively reviewed. CrCL was estimated using the Cockcroft-Gault formula. The patients were divided into URI group and control group, and the toxicities and effectiveness of therapy were compared between the two groups. **RESULTS** A total of 143 patients were enrolled, in which 34.9% experienced URI. The URI group developed significantly more grade 1-2 toxicities including myelosuppression, diarrhea, stomatitis and hand-foot syndrome. The response rate and TTP were significantly lower in URI group, whereas the OS was similar in two groups. **CONCLUSION** URI can increase the toxicity and decrease the survival of XELOX-treated mCRC patients. Renal function screening via CrCL estimation is required for all mCRC patients before initial chemotherapy.

KEY WORDS: unrecognized renal insufficiency; capecitabine; colorectal cancer

肾功能不全在肿瘤中经常发生, 其产生机制可能与免疫学介导、肿瘤直接侵犯等相关^[1-2]。虽然肌酐值是临床最常用的判断肾功能的指标, 但肿瘤患者的肌酐水平受到营养、体质等各种因素影响, 很多肿瘤患者血清肌酐正常, 但肌酐清除

率已明显下降^[3-4], 即“隐性肾损”。然而, 临床现仍多习惯以血清肌酐值评估肾功能, 致忽略“隐性肾损”, 影响药物治疗安全性和有效性。

卡培他滨联合奥沙利铂(XELOX)已被推荐用于晚期结直肠癌患者的一线治疗^[5-6]。卡培他滨体

作者简介: 李晴宇, 女, 副主任药师 Tel: 13429665858
13588811307 E-mail: 88485534@163.com

E-mail: lqy2899@sohu.com *通信作者: 王刚, 男, 主任药师 Tel: