

CYP3A5 基因多态性与晚期非小细胞肺癌紫杉醇化疗敏感性关系的研究

马洁云,王建红,张一心,胡晓莉,杨磊
(南通市肿瘤医院,江苏 南通 226361)

摘要: [目的] 探讨 CYP3A5 基因多态性与晚期非小细胞肺癌紫杉醇化疗敏感性的关系。[方法] 对接受以紫杉醇为基础化疗方案进行化疗的 60 例晚期非小细胞肺癌患者,采用 PCR-RFLP 方法检测外周血 CYP3A5 *1/*3 基因多态性,比较不同基因型之间紫杉醇化疗近期疗效的差异。[结果] 60 例患者中,CYP3A5 基因为 *1/*1、*1/*3 和 *3/*3 型的患者数分别有 6 例(10.00%)、20 例(33.33%)和 34 例(56.67%)。*1/*1 和 *1/*3 基因型患者的有效率为 19.23%,*3/*3 基因型患者的有效率为 55.88%,*1/*1 和 *1/*3 基因型患者的有效率明显低于 *3/*3 基因型患者($P=0.004$)。[结论] 对非小细胞肺癌患者治疗前进行 CYP3A5 基因型的测定,可预测紫杉醇的化疗疗效。
关键词: CYP3A5; 基因多态性; 紫杉醇; 非小细胞肺癌; 化疗敏感性
中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2014)10-0869-04
doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2014.10.A017

The Relationship between CYP3A5 Gene Polymorphisms and Sensitivity to Paclitaxel-based Chemotherapy in Advanced Non-small Cell Lung Cancer

MA Jie-yun, WANG Jian-hong, ZHANG Yi-xin, et al.
(Nantong Tumor Hospital, Nantong 226361, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the relationship between CYP3A5 gene polymorphisms and sensitivity to paclitaxel-based chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). [Methods] Sixty cases with advanced NSCLC undergoing paclitaxel-based chemotherapy were enrolled. CYP3A5 genotypes were determined by PCR-RFLP, and the short term response was compared in patients with different CYP3A5 genotypes. [Results] The *1/*1, *1/*3 and *3/*3 genotypes were presented in 6 patients(10.00%), 20 patients(33.33%) and 34 patients(56.67%), respectively. The response to paclitaxel-based chemotherapy was 19.23% in patients with CYP3A5 *1/*1 and *1/*3, and 55.88% in patients with CYP3A5 *3/*3. Patients with CYP3A5 *3/*3 genotype had a higher response than that with CYP3A5 *1/*1 and *1/*3($P=0.04$). [Conclusion] CYP3A5 may be as an indicator for sensitivity to paclitaxel-based chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer.

Key words: CYP3A5; gene polymorphism; paclitaxel; non-small cell lung cancer; chemosensitivity

紫杉醇是一种天然抗肿瘤药物, 具有独特的抗肿瘤机制。以紫杉醇联合铂类为主的两药方案是目前晚期非小细胞肺癌患者一线标准化疗方案^[1,2]。早有文献认为 CYP3A5 可催化紫杉醇的代谢解毒^[3], CYP3A5 基因 *1/*3 多态性可明显影响 CYP3A5 的表达和酶活性^[4], 这提示 CYP3A5 基因 *1/*3 多态性可能与不同个体间紫杉醇化疗疗效差异有关。但是, 频繁发生的耐药问题一直未能够得到很好解决。

收稿日期: 2014-04-12; 修回日期: 2014-06-12
通讯作者: 王建红, E-mail: YWK_WJH@163.com

我们在 2009 年 5 月至 2012 年 10 月间研究了以紫杉醇为基础化疗方案的晚期非小细胞肺癌患者的 CYP3A5 基因多态性, 探讨其与紫杉醇耐药的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

江苏省南通市肿瘤医院接受以紫杉醇为基础化

疗方案化疗的晚期非小细胞肺癌患者 60 例。其中ⅢB 期 23 例,Ⅳ期 37 例;男性 47 例,女性 13 例;年龄 39~75 岁(中位年龄 60 岁);肺鳞癌 34 例,肺腺癌 26 例;病例均经病理组织学确诊,具有可测量病灶、可以明确化疗近期疗效、目的病灶 3 个月以内未接受放疗及 3 个月以内未接受新分子靶点治疗。

1.2 临床用药及疗效评价

所有患者均接受紫杉醇为基础的化疗方案化疗,紫杉醇用量为每天 135mg/m²,化疗 2 个周期后复查 CT,按照 RECIST 标准评定患者的近期疗效。分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)、进展(PD),有效率(CR+PR)=病例数/所有病例数×100%。

1.3 CYP3A5 基因多态性分析

所有患者化疗前留取外周血 2ml,EDTA-Na2 抗凝,于-80℃冰箱保存备用。试剂盒法抽提外周血白细胞基因组 DNA。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态(PCR-RFLP)法分析 CYP3A5 基因 *1/*3 多态性。参照文献^[5]设计引物,上游引物:5'-CTT TAA AGA GCT CTT TTG TCT CTC A-3'下游引物:5'-CCA GGA AGC CAG ACT TTG AT-3'。PCR 反应条件:94℃预变性 6min 后,于 94℃ 50s,55℃ 50s 和 72℃ 50s,进行 36 个循环,最后 72℃延伸 5min,最后置于 4℃终止反应。取 PCR 扩增产物 5μl,Dde I 1.5μl 等配制成 20μl 反应体系,混合液于 37℃条件下消化 12h,CYP3A5 *3/*3 基因经 Dde I 酶酶切后得到 107bp、71bp、22bp 三个片段,酶切产物于 2% 琼脂糖凝胶中进行电泳分离,并在凝胶成像系统中观察及照相保存。

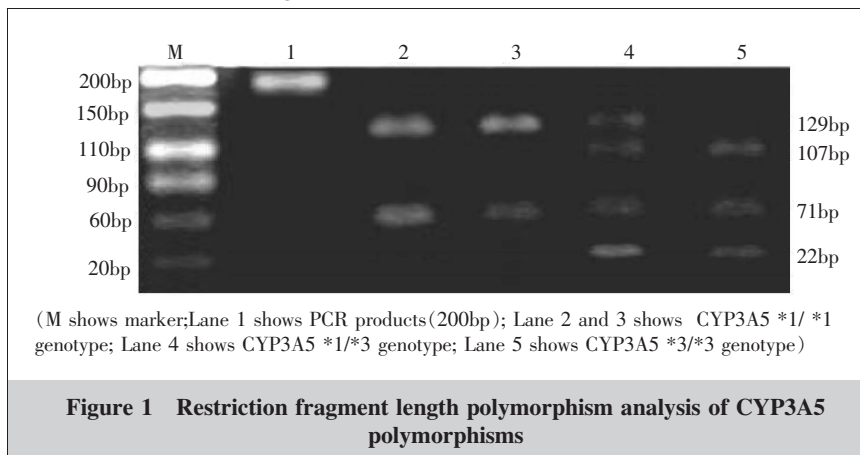
1.4 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析。CYP3A5 基因型分布采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验。运用 χ^2 检验分析 CYP3A5 不同基因型与紫杉醇近期疗效的相关性及各基因型与患者临床病理特征的关系。Logistic 回归模型计算相对危险度采用比值比(OR)和 95%可信区间(CI)。双侧检验 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 酶切结果

CYP3A5 *1/*1 基因型经 Dde I 酶酶切后得到 129bp、71bp 两个条带;CYP3A5*1/*3 基因型酶切后得到 129bp、107bp、71bp、22bp 四个条带;CYP3A5*3/*3 基因型酶切后得到 107bp、71bp、22bp 三个条带。见 Figure 1。



2.2 基因型分布

60 例患者中 CYP3A5 基因为 *1/*1、*1/*3 和 *3/*3 型的患者数分别有 6 例 (10.00%)、20 例 (33.33%)、34 例 (56.67%),*1、*3 基因频率为 26.7%、73.3%。本研究群体 CYP3A5 基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,具有群体代表性 ($\chi^2=1.309,P=0.253$)。

2.3 CYP3A5 各基因型与患者临床病理特征的关系

CYP3A5 各基因型与患者的发病年龄、性别、病理类型及临床分期之间无相关性(Table 1)。

2.4 化疗疗效

60 例晚期非小细胞肺癌患者中,CR 1 例 (1.67%),PR 23 例 (38.33%),SD 22 例 (36.67%),PD 14 例 (23.33%),总有效率(CR+PR)为 40.00%。

2.5 CYP3A5 基因多态性与紫杉醇化疗近期疗效的关系

将 CYP3A5 *1/*1 野生纯合子患者和 CYP3A5 *1/*3 杂合子患者合并为 1 组,为非突变纯合子组(*1/*1 和 *1/*3),与突变纯合子组(*3/*3)比较,*1/*1 和 *1/*3 基因型患者的有效率为 19.23%(5/26),*3/*3 基因型患者的有效率为 55.88%(19/34),*1/*1 和 *1/*3 基因型患者的有效率明显低于*3/*3

Table 1 The relationship between CYP3A5 genotypes and clinicopathological features

Clinicopathological features	n	CYP3A5 genotype			χ^2	P
		* 3/*3 (%)	*1/*1 (%)	* 1/*3 (%)		
Age(years)						
≥55	43	4(9.30)	15(34.88)	24(55.81)	0.203	0.903
<55	17	2(11.76)	5(29.41)	10(58.82)		
Gender						
Male	47	5(10.64)	16(34.04)	26(55.32)	0.196	0.907
Female	13	1(7.69)	4(30.77)	8(61.54)		
Pathological type						
Squamous	34	3(8.82)	11(32.35)	20(58.82)	0.195	0.907
Adenocarcinoma	26	3(11.54)	9(34.62)	14(53.85)		
Clinical stage						
Ⅲ B stage	23	3(13.04)	8(34.78)	12(52.18)	0.494	0.781
Ⅳ stage	37	3(8.11)	12(32.43)	22(59.46)		

Table 2 The relationship between clinicopathological features and the efficacy of chemotherapy

Pathological index	n	Response rate(%)	OR	95% CI	P
Age(years)					
≥55	43	39.53(17/43)	1.131	0.307-4.169	0.853
<55	17	41.17(7/17)			
Gender					
Male	47	38.29(18/47)	3.002	0.640-14.074	0.163
Femal	13	46.15(6/13)			
Pathological type					
Squamous	34	41.18(14/36)	1.893	0.562-6.379	0.303
Adenocarcinoma	26	38.46(10/26)			
Clinical stage					
Ⅲ B stage	23	43.47(10/23)	1.516	0.441-5.212	0.509
Ⅳ stage	37	37.83(14/37)			
CYP3A5 genotype					
*1/*1 and *1/*3	26	19.23(5/26)	0.149	0.041-0.541	0.004
*3/*3	34	55.88(19/34)			

基因型患者($\chi^2=8.247, P=0.004$)。Logistic 多因素回归分析显示,患者的年龄、性别、病理类型及临床分期均与紫杉醇化疗疗效无相关性,而 CYP3A5 基因型与疗效相关(Table 2)。

3 讨论

紫杉醇是一种三环二萜类化合物^[6],具有独特的抗肿瘤机制。其广泛的抗癌谱和确切的临床疗效已得到人们的重视,以紫杉醇联合铂类为主的两药方案是目前晚期 NSCLC 患者一线标准化疗(standard chemotherapy, SC)方案^[1,2],但是,紫杉醇类药

物具体的耐药机制还不是十分清楚,它是一个多因素参与的复杂过程。以往研究认为紫杉醇耐药与多药耐药(MDR)机制、 β 微管蛋白同型表达的改变、 β 微管蛋白的突变、p53 基因等有关^[7],但药物代谢与紫杉醇耐药的相关研究还较少。紫杉醇主要在肝脏中代谢,CYP3A5 催化紫杉醇的代谢解毒^[3]。CYP3A 有 4 个成员参与药物代谢:CYP3A4、CYP3A5、CYP3A7 及 CYP3A43^[8]。CYP3A4 是成人肝脏的主要表达形式,CYP3A5 则主要在肠壁、肾以及前列腺、胰腺和肺等肝外组织中表达。CYP3A5 的表达和活性有明显的个体差异。单核苷酸的多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)导致了 CYP3A5 活性的差异。Kuehl 等^[4]研究发现位于 3 号内含子的 6986 密码子 A>G 突变,导致了不适当的 mRNA 剪接,大大降低了有功能的 CYP3A5 蛋白的翻译合成,从而降低了 CYP3A5 酶的活性。在中国人群中只检测到 CYP3A5*3 变异基因,所以 CYP3A5*3 基因突变是决定中国人群个体间 CYP3A5 表达和活

性差异的主要因素。本研究群体中 CYP3A5*3 等位基因频率为 73.3%,与 Xie^[9]等所报道的中国人群 CYP3A5*3 基因突变发生率 71%~76%相符合。在 CYP3A5 各基因型与患者临床病理特征相关性分析中,我们发现 CYP3A5 各基因型与患者的发病年龄、性别、病理类型及临床分期之间均无相关性($P>0.05$)。

Lajos 等^[10]曾指出,多个基因的单核苷酸多态性联合检测对预测多药方案的疗效及毒副反应具有一定的指导意义。Barker 等^[11]研究发现 CYP3A5 *1 的患者多西他赛(TXT)清除率较其他患者高。周心娜等^[12]对 93 例接受多西他赛联合塞替派化疗的转移性乳腺

癌患者进行了 *CYP3A5* 基因多态性与近期疗效关系的研究, 结果显示 *3/*3 基因型的患者化疗后疾病控制率(DCR)较 *1/*1 和 *1/*3 基因型患者更高。本研究发现, *CYP3A5* *1/*3 多态性与紫杉醇化疗近期疗效有相关性。*1/*1 和 *1/*3 型患者的疗效明显低于 *3/*3 型患者的疗效 ($P=0.004$)。不表达 *CYP3A5* 的患者(*3/*3)对紫杉醇为基础化疗方案化疗的敏感性要明显优于表达 *CYP3A5* 的患者(*1/*1 和 *1/*3)。原因可能是: 基因突变可引起 *CYP3A5* 酶的活性和数量的变异, *CYP3A5**1 基因型可使 *CYP3A5* 表达增加, 从而对化疗药产生较高的清除率, 使其生物利用度降低, 因此患者对药物常规剂量的药效可能较差, 出现耐药现象。而 *CYP3A5**3 基因型使 *CYP3A5* 表达降低, 化疗药物清除较慢, 所以治疗效果往往较好, 但容易出现较大的毒副作用。因此, 对 *3/*3 型的患者在应用紫杉醇时应较常规减少用药剂量并注意并发症的发生, 而 *1/*1 和 *1/*3 型患者应适当增加用药剂量以保证疗效。

综上所述, *CYP3A5* 基因 *1/*3 多态性与晚期非小细胞肺癌紫杉醇化疗近期疗效具有相关性。但真正揭示其分子机制还需要将更多的关联基因纳入研究范畴。相信随着药物基因组学在化疗药物作用机制等方面研究的不断深入, 研究样本量的不断扩大, 细胞色素 *P4503A5* 基因多态性与化疗药药效的关系将获得突破性的进展, 从而为肿瘤的个体化治疗提供理论依据。

参考文献:

- [1] Spira A, Ettinger DS. Multidisciplinary management of lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(4): 379-392.
- [2] Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, et al. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: update 2003 [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(2): 330-353.
- [3] van Schaik RH, van der Heiden IP, van den Anker JN, et al. *CYP3A5* variant allele frequencies in dutch caucasians [J]. *Clin Chem*, 2002, 48(10): 1668-1671.
- [4] Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in *CYP3A* promoters and characterization of the enetic basis of polymorphic *CYP3A5* expression [J]. *Nat Genet*, 2001, 27(4): 383-391.
- [5] Fukuen S, Fukuda T, Maune H, et al. Novel detection assay by PCR-RFLP and frequency of the *CYP3A5* SNPs, *CYP3A5** 3 and * 6, in a Japanese population [J]. *Pharmacogenetics*, 2002, 12(4): 331-334.
- [6] Xiao CH. Chinese medicine chemistry [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1997. 461-463. [肖崇厚. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997. 461-463.]
- [7] Wang F, Han R. Development of research for drug-resistance mechanism of taxol [J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2002, 21(4): 439-442. [王芳, 韩锐. 紫杉醇耐药机理研究进展 [J]. 癌症, 2002, 21(4): 439-442.]
- [8] Lv SL, Huang Y. Drug metabolism in *CYP3A* gene [J]. *Foreign Medical Sciences: SCI*, 2001, 28(5): 307-308. [吕水利, 黄英. 药物代谢中的 *CYP3A* 基因 [J]. 国外医学: 药学分册, 2001, 28(5): 307-308.]
- [9] Xie HG, Wood AJ, Kim RB, et al. Genetic variability in *CYP3A5* and its possible consequences [J]. *Pharmacogenomics*, 2004, 5(3): 243-272.
- [10] Lajos P, Symmans FW, Hortobagyi GN. Development of pharmacogenomic markers to select preoperative chemotherapy for breast cancer [J]. *Breast Cancer*, 2005, 12(2): 73-85.
- [11] Baker SD, Verweij J, Cusatis GA, et al. Pharmacogenetic pathway analysis of docetaxel elimination [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2009, 85(2): 155-163.
- [12] Zhou XN, Dong NN, Yu J, et al. Study on the polymorphisms of *CYP3A5* and *GSTP1* genes in the prediction of short-term efficacy of docetaxel plus thiotepa for patients with metastatic breast cancer [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2012, 47(2): 127-131. [周心娜, 董宁宁, 余靖, 等. *CYP35* 和 *GSTP1* 基因多态性与多西他塞联合塞替派治疗转移性乳腺癌近期疗效的相关性研究 [J]. 中国药物学杂志, 2012, 47(2): 127-131.]