

• 综 述 •

CPY1A2 基因多态性对药物代谢的影响

辛 勤¹综述,梁国威¹,刘会臣^{2△}审核

(北京航天中心医院:1. 检验科;2. 临床药理室,北京 100049)

关键词: CYP1A2; 基因多态性; 药物代谢

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 24. 053

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)24-3378-03

人类细胞色素 P450 酶 1A2(CYP1A2)是肝脏中重要的 CYP 酶之一,约占肝脏中 CYP 酶的 13%~15%。CYP1A2 参与咖啡因、茶碱、华法林、普萘洛尔、美西律、维拉帕米、硝苯地平等多种药物的代谢,而且许多前致癌物如多环芳烃、杂环胺类、芳香胺类化合物、黄曲霉毒素等均由其代谢活化^[1]。CYP1A2 酶活性的个体差异大,可受吸烟、药物、基因等因素的影响。研究发现,基因突变可导致 CYP1A2 酶活性改变^[2],从而引起代谢药物产生个体差异。因此,研究 CYP1A2 基因多态性对临床上个体化用药具有积极的意义。

1 CYP1A2 基因结构及多态性

1.1 CYP1A2 基因结构及表达调控 人 CYP1A2 基因位于 15 号染色体上,全长 7.8 kb,包括 7 个外显子和 6 个内含子。CYP1A2 基因的表达式是体内和体外多种因素相互作用的结果,主要调控步骤包括转录、转录后加工、翻译、翻译后修饰等^[3]。目前 CYP1A2 基因表达调控的详细过程尚不十分清楚,但部分 CYP1A2 调控元件已被破译。这些元件可与相关调控因子相互作用,通过转录激活或转录抑制来调控 CYP1A2 的表达。

在 CYP1A2 基因转录区上游,存在一些参与转录调控的序列,包括-29 bp 处的 TATA 盒、-39 bp 处的 5-GGGCGG-3 序列以及-52 bp 处的 CCAAT 元件。在 CYP1A2 基因 5'侧翼远端区,存在 2 个参与调控该基因诱导表达的顺式作用元件,分别是位于-2 532~-2 423 bp 的外源性物质应答元件 X1 和位于-2 259~-1 987 bp 的外源性物质应答元件 X2,其中 X1 可与 3-甲基胆蒎和芳香烃受体(AhR)的复合物结合,进而诱导 CYP1A2 的表达,而 X2 不与 AhR 结合^[4]。

在 CYP1A2 基因-2 352~-2 094 bp 间有一段长 259 bp 的片段,这一区段中包括 3 个蛋白结合位点,分别是-2 283~-2 243 bp 的活化剂蛋白-1 结合区(PRA)、-2 218~-2 187 bp 的核因子-E1.7 结合区(PRB)以及-2 124~-2 098 bp 的肝细胞核因子-1 结合带(PRC),缺失突变转染实验表明,PRB 包含正性调控元件,而 PRC 包含负性调控元件^[5]。

1.2 CYP1A2 基因多态性 有学者应用聚合链反应-限制片段多态性技术(PCR-RFLP)证实了 CYP1A2 的基因多态性^[6]。通过同工酶活性测定得出,CYP1A2 基因有 2 处容易发生移位,分别是 5'侧翼区-3860 位点的 G→A 突变(CYP1A2* 1C)和内含子 1 的-163 位点的 C→A 突变(CYP1A2* 1F)。这两个位点的突变是最具功能性且发生率较高的突变。其次为-2467delT(CYP1A2* 1D)、5347C>T(CYP1A2* 1B)、-739T>G(CYP1A2* 1E)、-3113G>A 等位点的突变。CYP1A2* 1F(-163C>A)位于内含子 1,其发生率在各种族人群中差异不明显;CYP1A2* 1C 于 1999 年由 Nakajima 等首先发现,该点突变位于转录起始点上游-2 964 bp 处,由鸟嘌呤(G)突变为腺嘌呤(A)^[3],CYP1A2* 1C 的发生率具有种族差异,亚洲人的发生频率为 0.22~0.267,明显高于欧洲人和非洲人;CYP1A2* 1D(-2467delT)和 CYP1A2* 1C 同样位于 CYP1A2 的 5'侧翼区,-2467delT(* 1D)发生率的差异最为显著,其中土耳其人(0.92)和韩国人(0.707)的发生频率较高,而英国人(0.048)和突尼斯人(0.075)的发生频率则较低;5347T>C(* 1B)发生于外显子 7,英国人的发生频率为 0.382,高于中国人(0.20)和日本人(0.09);-739T>G(* 1E)发生频率的差异也较大,突尼斯人为 0.13,土耳其人为 0.01,中国人为 0.09;CYP1A2* 1J(-163C>A;-739T>G)和* 1K(-163C>A;-739T>G;-729C>T)都是内含子 1 的变异,-739T>G 在日本人的发生频率为 3.2%,而-729C>T 在日本人中未发现^[7]。CYP1A2* 1W 包含-3113 G>A,-2467delT,-739T>G 和-163C>A^[8]。-3113G>A 位于 5'转录调控区,在中国人群中发生的频率为 10%^[9];其他变异如 CYP1A2* 1G,* 1H,* 1L,* 1M,* 1N,* 1P,* 1Q,* 1R,* 1S,* 1T,* 1U,* 1V 等相对少见^[7-8,10];另外 CYP1A2* 2-16^[7,10-13],以及最近发现的 CYP1A2* 17-21^[14]等位点的突变均比较少见,这里不做过多陈述。

2 CYP1A2 基因多态性对药物代谢的影响

CYP1A2 是细胞色素 P450(CYP450)酶重要的组成成员。肝脏中 CYP1A2 酶活性表达水平的个体间差异可达 10~200 倍^[15],这种差异是导致由该酶代谢的药物个体间差异的主要原因。目前已经发现越来越多的药物由 CYP1A2 催化代谢,如咖啡因的 N-3、N-1、N-7 去甲基化、非那西丁的 O-去乙基化、氯氮平的 N-去甲基化,以及普萘洛尔的侧链氧化等均由 CYP1A2 主要代谢。

2.1 咖啡因 咖啡因化学结构为 1,3,7-三甲基黄嘌呤(137X),是一种从茶叶、咖啡果中提炼出来的生物碱,在临床上用作中枢兴奋药。几乎 90%以上的咖啡因由 CYP1A2 转化代谢。咖啡因首先通过去甲基生成三种二甲基代谢产物:次黄嘌呤(17X)、可可碱(37X)和茶碱(13X);二甲基嘌呤代谢产物可进一步代谢生成一甲基代谢产物:1X、3X 和 7X。咖啡因及其所有去甲基代谢产物均可发生 8-位羟化生成相应的尿酸:137U(1,3,7-三甲基尿酸)、17U、37U、13U 等。此外,17X 还可发生乙酰化反应生成 5-乙酰胺-6-甲酰胺-3 甲基尿嘧啶(AF-MU),AFMU 化学性质不稳定,定量分析时常加碱促使其转化为稳定的 5-乙酰胺-6-胺基-3 甲基尿嘧啶(AAMU),然后再进行测定。在咖啡因的代谢途径中,3-位去甲基生成 17X 是最主要的途径,约占整个代谢的 80%(去甲基代谢的 84%)。目前已确定口服咖啡因后第 6h 血浆或涎液中的 17X/137X 是目前用于反映 CYP1A2 活性的最理想指标,是 CYP1A2 活性测

定的常用探针药物,采用咖啡因作为探针药的实验表明,基因突变是产生 CYP1A2 活性差异的主要原因^[16]。

2.2 茶碱 茶碱(13X)是种支气管扩张药,广泛用于治疗哮喘及慢性阻塞性肺炎。茶碱在生物体内约有 90% 经肝微粒体 CYP450 酶代谢。CYP1A2 酶特异性地催化 13X 发生 1 位去甲基代谢生成 3-甲基黄嘌呤(3X),并与 CYP1A1、CYP2E1 和 CYP3A4 一道介导 13X 代谢生成 1-甲基黄嘌呤(1X)以及 1,3-二甲基尿酸(13U),因此,13X 的 3 位去甲代谢可用于反映体内 CYP1A2 酶的活性。研究发现,在哮喘患者中,−2964(G/G)型患者的茶碱清除率要显著高于−2964(G/A)或−2964(A/A)的患者^[17]。

2.3 非那西丁 非那西丁为一种解热镇痛药,在人体内 75%~80% 的非那西丁经 O-去乙酰基代谢生成醋氨酚,20%~25% 经去乙酰基反应生成对氨基乙醚,后者进一步氧化转变为毒性代谢产物对氨酚和亚氨基。研究表明非那西丁去乙酰基酶即是 CYP1A2^[13]。早期常采用非那西丁氧去乙酰基代谢来反映人体的 CYP1A2 酶活性。但由于非那西丁的潜在毒性,该药现已不再作为人体内 CYP1A2 酶活性测定的探针药物,仅用于在体外肝微粒体中测定 CYP1A2 酶的活性。

2.4 氯氮平 氯氮平是一种抗精神病药。氯氮平的体内代谢主要依靠 CYP1A2 催化的去甲基化反应,生成去甲氯氮平。滕建荣等研究发现,在使用氯氮平治疗的精神分裂症患者中,吸烟组与非吸烟组比较,吸烟组血浆氯氮平浓度低,去甲氯氮平/氯氮平高($P<0.05$, $P<0.01$);非吸烟患者间比较,去甲氯氮平/氯氮平在 CYP1A2*1C 纯合子(G/G)个体和非纯合子(G/A, A/A)个体间差异无统计学意义($P>0.05$);吸烟患者间比较,纯合子个体的去甲氯氮平/氯氮平要高于非纯合子个体($P<0.05$);在吸烟患者和非吸烟患者的纯合子个体间比较,吸烟患者 CYP1A2*1C 纯合子个体的去甲氯氮平/氯氮平明显高于非吸烟患者 CYP1A2*1C 纯合子个体($P<0.01$)。这表明吸烟可诱导 CYP1A2 的活性加快体内氯氮平的代谢,当 CYP1A2−2964 位点发生 G→A 突变时,会明显降低吸烟的诱导作用^[18]。

2.5 其他药物 奥氮平是一种抗精神病药,作用于多巴胺和五羟色胺(5-HT)等多种受体,在体内主要通过 CYP1A2 代谢。最近有学者报道 CYP1A2*1F 基因型的受试者奥氮平的血药浓度要比 CYP1A2*1A 基因型受试者低 22%,显示 CYP1A2*1F 对奥氮平浓度有影响^[19]。褪黑素是一类主要由松果体细胞分泌的肽类激素,有对抗抑郁症的作用。研究发现,在给药 6 mg 褪黑素后,−163A/A 和−163C/A 基因型的血药浓度要低于−163C/C 基因型,当和咖啡因合用时,咖啡因对非吸烟者以及−163A/A 基因型个体的褪黑素有明显抑制作用^[20]。某些抗精神病药物如氯丙嗪,奋乃静,三氟拉嗪,硫利达嗪在治疗精神分裂症时,携带−163A/A 基因型的患者的药物代谢率低于携带−163A/C 和−163C/C 的患者,导致与心血管毒性相关的高血药浓度,而所有这些药物都部分由 CYP1A2 代谢^[21]。另外,在精神病治疗中,要达到同样的血药浓度,携带 CYP1A2*1F 等位基因的吸烟者所需要的硫利达嗪剂量(9.07 mg/d)要高于非吸烟者(5.23 mg/d)^[22]。

3 CYP1A2 酶活性的影响因素

3.1 基因多态性 研究表明,CYP1A2 活性的变化主要由遗传因素引起^[15]。到目前为止,许多 CYP1A2 基因多态性已经被确认并且会影响酶的活性和稳定性,但大多数基因多态性在 CYP1A2 酶活性上的个体和种族的差异还不能完全解释。目

前已报道 CYP1A2*1F 可在体内诱导 CYP1A2 酶活性增强,导致酶活性降低的基因型包括 CYP1A2*1C、*1K、*3、*4、*7。CYP1A2*1F 对酶活性的影响可被诱导,Sachse 等^[23]研究发现,在吸烟人群中,基因型−163A/A 酶活性约为−163C/A 和−163C/C 酶活性的 1.6 倍($P=0.008$),而在非吸烟人群中,三个基因型之间无显著差异。Ghotbi 等^[8]的研究也证实了这一结论,并且发现 CYP1A2*1F 只有单独发生时才对酶活性有诱导作用,与 CYP1A2*1C 或 CYP1A2*1D 同时发生时,对酶活性无显著影响。另外在中国人群中−3113G>A 与 CYP1A2 酶活性的降低相关^[9]。

3.2 其他因素 吸烟能增加肝脏微粒体内有活性的 CYP1A2 酶蛋白数量,从而加快咖啡因、非那西丁、氯氮平等 CYP1A2 底物的代谢。多环芳烃摄入及服用某些药物(如奥美拉唑、利福平、苯巴比妥等)可使肝细胞内 CYP1A2 的含量增高,导致体内 CYP1A2 活性增高;某些药物(如氟伏沙明、维拉帕咪、西咪替丁、喹诺酮类抗菌药物及口服避孕药等)可以抑制 CYP1A2 酶活性;低蛋白饮食、肝硬化、妊娠可以使肝脏内 CYP1A2 的合成减少,从而导致体内 CYP1A2 的活性降低,另外有研究发现,在中国人中,男性的 CYP1A2 酶活性要高于女性^[24]。

4 总 结

CYP1A2 是一种重要的 P450 系氧化代谢酶,参与多种药物尤其是精神药物的氧化代谢。同时 CYP1A2 能被多种药物竞争性抑制,且具有基因多态性,这是造成药物作用个体差异的最重要因素之一,因此对它的研究具有非常重要的临床意义。通过研究 CYP1A2 基因多态性对有 CYP1A2 参与催化的药物代谢的影响,对临床医生根据患者的基因型选择合理药物和施用最佳剂量,减少和避免不良反应的发生,提高临床用药的有效性都具有重大意义。

参考文献

- [1] Estabrook RW, Faulkner KM, Shet MS, et al. Application of electrochemistry for P450-catalyzed reactions methods[J]. *Methods Enzymol*, 1996, 272: 44-51.
- [2] Zhou SF, Liu JP, Chowbay B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact[J]. *Drug Metab Rev*, 2009, 41(2): 89-295.
- [3] Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, et al. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans[J]. *J Biochem*, 1999, 125(4): 803-808.
- [4] Quattrochi LC, Vu T, Tukey RH. The human CYP1A2 gene and induction by 3-methylcholanthrene. A region of DNA that supports AH-receptor binding and promoter-specific induction[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(9): 6949-6954.
- [5] Chung I, Bresnick E. Regulation of the constitutive expression of the human CYP1A2 gene: cis elements and their interactions with proteins[J]. *Mol Pharmacol*, 1995, 47(4): 677-685.
- [6] 韩兴梅, 陈小平, 吴启南, 等. 中国人群中 CYP1A2 基因 G-2964A 和 C734A 多态性分布[J]. *中国药理学报*, 2000, 21(11): 1031.
- [7] Soyama A, Saito Y, Hanioka N, et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes of CYP1A2 in a Japanese population[J]. *Drug Metab Pharmacokin*, 2005, 20(1): 24-33.
- [8] Ghotbi R, Christensen M, Roh HK, et al. Comparisons of CYP1A2 genetic polymorphisms, enzyme activity and the genotype-phenotype relationship in Swedes and Koreans[J]. *Euro J Clin Pharma-*

col,2007,63(6):537-546.

[9] Chen X, Wang L, Zhi L, et al. The G-113A polymorphism in CYP1A2 affects the caffeine metabolic ratio in a Chinese population[J]. Clin Pharmacol Ther, 2005, 78(3): 249-259.

[10] Chevalier D, Cauffiez C, Allorge D, et al. Five novel natural allelic variants-951A> C, 1042G> A (D348N), 1156A> T (I386F), 1217G> A (C406Y) and 1291C> T (C431Y)-of the human CYP1A2 gene in a French Caucasian population [J]. Hum Mutat, 2001, 17(4): 355-356.

[11] Huang JD, Guo WC, Lai MD, et al. Detection of a novel cytochrome P-450 1A2 polymorphism (F21L) in Chinese [J]. Drug Metab Dispos, 1999, 27(1): 98-101.

[12] Allorge D, Chevalier D, Lo-Guidice J M, et al. Identification of a novel splice-site mutation in the CYP1A2 gene [J]. Br J Clin Pharmacol, 2003, 56(3): 341-344.

[13] Murayama N, Soyama A, Saito Y, et al. Six novel nonsynonymous CYP1A2 gene polymorphisms; catalytic activities of the naturally occurring variant enzymes [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2004, 308(1): 300-306.

[14] Browning SL, Tarekegn A, Bekele E, et al. CYP1A2 is more variable than previously thought: a genomic biography of the gene behind the human drug-metabolizing enzyme [J]. Pharmacogenet Genomics, 2010, 20(11): 647-664.

[15] Gunes A, Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications; influence of environmental factors and genetic polymorphisms [J]. Pharmacogenomics, 2008, 9(5): 625-637.

[16] Rasmussen BB, Brix TH, Kyvik KO, et al. The interindividual differences in the 3-demthylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors [J]. Pharmacogenetics, 2002, 12(6): 473-478.

[17] Obase Y, Shimoda T, Kawano T, et al. Polymorphisms in the CYP1A2 gene and theophylline metabolism in patients with asthma [J]. Clin Pharmacol Ther, 2003, 73(5): 468-474.

[18] 滕建荣, 张顺泉, 陈岳明, 等. 氯氮平在体内代谢与细胞色素 P4501A2-2964 位点多态性的关系 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2003, 8(2): 176-179.

[19] Laika B, Leucht S, Heres S, et al. Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2* 1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome [J]. Pharmacogenomics J, 2010, 10(1): 20-29.

[20] Härtter S, Nordmark A, Rose DM, et al. Effects of caffeine intake on the pharmacokinetics of melatonin, a probe drug for CYP1A2 activity [J]. Br J Clin Pharmacol, 2003, 56(6): 679-682.

[21] Tay J K X, Tan CH, Chong SA, et al. Functional polymorphisms of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene and prolonged QTc interval in schizophrenia [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2007, 31(6): 1297-1302.

[22] Dorado P, Berecz R, Penas-Lledó EM, et al. No effect of the CYP1A2* 1F genotype on thioridazine, mesoridazine, sulforidazine plasma concentrations in psychiatric patients [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2007, 63(5): 527-528.

[23] Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, et al. Functional significance of a C→A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine [J]. Br J Clin Pharmacol, 1999, 47(4): 445-449.

[24] Ou-Yang DS, Huang SL, Wang W, et al. Phenotypic polymorphism and gender-related differences of CYP1A2 activity in a Chinese population [J]. Br J Clin Pharmacol, 2000, 49(2): 145-151.

(收稿日期: 2013-09-20)

• 综 述 •

胞外 DNA 在细菌生物膜形成中的作用

黄 炎¹综述, 徐元宏^{2△}审校

(1. 伦敦大学学院感染免疫系, 英国伦敦 WC1E 6BT; 2. 安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽合肥 230032)

关键词: 胞外 DNA; 细菌生物膜; 综述
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 24. 054 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2013)24-3380-03

细菌生物膜是微生物在生长过程中为了适应生存环境而形成的与浮游细胞相对应的存在形式^[1]。细菌生物膜的特殊结构及其对耐药性的影响是造成很多慢性顽固性感染的原因^[2]。胞外 DNA 来自于死亡细菌体裂解释放或活菌主动分泌, 是细菌生物膜胞外基质中的重要成分之一。在多数种类的细菌生物膜中, 尤其是致病菌所形成的生物膜, 胞外 DNA 起到了促进生物膜形成的作用^[3] (如铜绿假单胞菌^[1]、表皮葡萄球菌^[4]、金黄色葡萄球菌^[5]、肺炎链球菌^[6]、脑膜炎奈瑟菌^[7]、淋病奈瑟菌^[8]、单核细胞增多性李斯特菌^[9]和部分真菌如白色念珠菌^[10])。然而, 近几年对新月柄杆菌的研究提示, 某些细菌所形成的生物膜或者在某些特定情况下, 胞外 DNA 亦可限制生物膜的形成, 这可能与胞外 DNA 的片段长度有关, 亦或者是由于新月柄杆菌的特定生活周期所致^[11]。生物膜中的活菌可摄取基质中的胞外 DNA 并整合入其染色体 DNA, 这是生

物膜中水平基因转移的主要方式, 如毒力因子和耐药基因的传播。而不能用于基因转化的异源性 DNA 可作为细菌生长的营养物质。本文旨在总结生物膜中胞外 DNA 的结构作用, 以及胞外 DNA 的来源和去路 (基因转化、营养作用)。

1 胞外 DNA 对生物膜结构的影响

1.1 胞外 DNA 介导了起始黏附并稳定已成熟的生物膜 继 2002 年对铜绿假单胞菌生物膜中胞外 DNA 作用的研究之后, 一些类似研究, 如对金黄色葡萄球菌 (2006)、肺炎链球菌 (2006)、表皮葡萄球菌 (2007)、脑膜炎奈瑟菌 (2010)、以及单核细胞增多性李斯特菌 (2010) 的研究相继出现。虽然有细微差异, 总体来说这些研究均表明胞外 DNA 是介导起始黏附和稳定已成熟生物膜的必要组分。

胞外 DNA 在细菌生物膜形成的起始黏附阶段起到了菌体表面间、菌体与菌体间的黏合剂作用。在上述所有病原菌菌