

· 学术探讨 ·

从遗传药理学的近期发展谈中药证治药动学前景 \*

毕晶珠 蒋文跃 黄 熙

1892 年加拿大著名医学教育家 William Osler 曾感叹 :由于个体之间的差异使得医学与其说是科学 ,不如说是艺术。或许遗传药理学近年的迅速发展会使医学有望真正成为科学。遗传药理学( Pharmacogenetics )正是研究机体遗传变异如何影响患者药物反应( 药代( 动 ) 药效和毒副反应性等 ) 差异的学科 ,并针对患者的遗传结构差异设计最佳药物治疗。中医药所治对象以“ 证 ”为主 ;“ 证 ”从本质内涵来说是对疾病特定阶段特定个体( 或个体群 ) 病理的概括。不同体质对相同病因会产生不同的反应 ,从而决定医生运用不同的治法与药物。中医学这一“ 个体化用药 ”思想与遗传药理学“ 量体用药 ”目标不谋而合。因此 ,利用遗传药理学的方法研究各种证型间的遗传差异 ,并进而阐明与中药药效、药代、毒性间的关系应是中西医结合一个很好的切合点。

遗传药理学的进展

早在 19 世纪后半叶 ,从一些缺失特异酶而引起的遗传病现象中 ,科学家注意到遗传决定药物代谢转化。但遗传药理学作为药理学的一个正式分支 ,始于 20 世纪 50 年代 ,当时主要起因于一些药物的异常反应和机体特异酶缺损。80 年代以前 ,遗传药理学主要研究个体及家系或种族人群中药效动力学和药代动力学差异 ,并探讨相关酶的特性。近 20 年来 ,由于分子生物学的发展 ,这一学科产生了巨大进展 ,如不但纯化主要药物代谢酶细胞色素 P450( Cytochrome P450 , CYP ) 超家族中系列酶 ,并发现大量的特异性底物 ,更主要是从基因水平上阐明核苷酸的突变及相应蛋白质及活性的变异对药物作用的影响<sup>(1)</sup>。随基因工程和人类基因组测序的进行和完成 ,并随之衍变成研究基因变异与药物作用关系的药物基因组学。

药物效应和毒性的差异源于药物代谢酶、转运蛋白、药物受体和其他药物作用靶点的多态性。这种多态性可表现在染色体、蛋白质及核苷酸及其基因等不同水平上。所谓多态性指 :自然界中 ,一群同种生物常在某些方面有所不同 ,存在两种以上变异。遗传药理

学多态性是由同一健康人群中的同一基因位点具有多个等位基因引起及进而出现所编码蛋白活性改变 ,并由此导致药物和机体的相互反应出现多种表型。

1 大多数药物代谢酶表现有遗传多态性并伴有基因型的变化 ,进而使得药代( 动 ) 药效和毒副反应出现显著个体差异 CYP450 多种亚型皆参与药物代谢 ,如 CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4 等。三环抗抑郁药阿米替林、氯米帕明和四环化合物马普替林、米安舍林都由 CYP2D6 催化代谢 ,慢代谢表型者服用推荐剂量可因血药浓度堆积致不良反应 ,超快代谢表型者则因血药浓度过低致治疗失败。选择性 5-羟色胺再吸收抑制剂类抗抑郁药帕罗西汀、氟赴沙星、氟西汀部分由 CYP2D6 代谢 ,并能有效竞争抑制 CYP2D6 ,破坏其对其他底物如三环抗抑郁药的清除 ,并呈 CYP2D6 表型依赖性<sup>(2)</sup>。N-乙酰基转换酶、双氢吡啶脱氢酶无活性基因突变、谷胱甘肽转换酶及其他代谢相关酶多态性导致血药浓度不同 ,从而引起药代( 动 ) 药效和毒副反应差异<sup>(2~5)</sup>。再如编码硫代嘌呤 S-甲基转移酶的等位基因多态性与治疗儿童急性淋巴细胞白血病所需硫唑嘌呤剂量相关<sup>(6)</sup>。

药物高效和无毒副反应是临床治疗的理想境界 ,但 90 年代末的一项研究表明 :美国住院病人中 6.7% 有药物副反应 ,0.32% 有致死性副反应 ,每年有 100 000 病人死于致死性副反应 ,为住院病人致死原因的第 4~6<sup>(7)</sup>。上述现象主要归因于药酶的多态性 ,一些药酶的多态性及对药物副反应的影响见表 1<sup>(2)</sup>。

表 1 临床重要药酶的多态性及其对药物副反应的影响

| 酶            | 多态性发生率          | 药物         | 药物副反应                          |
|--------------|-----------------|------------|--------------------------------|
| CYP2C9       | 14%~28%( 杂合体 )  | 华法令        | 出血 <sup>(8)</sup>              |
|              |                 | 苯妥英        | 苯妥英毒性 <sup>(9)</sup>           |
| CYP2D6       | 0.2%~1%( 纯合体 )  | 洛沙坦        | 降低抗高血压效果 <sup>(10)</sup>       |
|              | 5%~10%( 弱代谢者 )  | 抗抑郁药       | 弱代谢者毒性反应快代谢者无效 <sup>(11)</sup> |
| CYP2C19      | 1%~10%( 超快代谢者 ) | 抗精神病药      | 迟缓的运动障碍 <sup>(11)</sup>        |
|              | 3%~6%( 白种人 )    | 安定         | 镇静时间延长 <sup>(11)</sup>         |
|              | 8%~23%( 亚洲人 )   |            |                                |
| 血浆假胆碱酯酶      | 1.5%            | 司可林( 肌松药 ) | 呼吸暂停时间延长 <sup>(11)</sup>       |
| N-乙酰基转移酶     | 40%~70%( 白种人 )  | 磺胺类药物      | 过敏 <sup>(11)</sup>             |
|              | 10%~20%( 亚洲人 )  | 普鲁卡因       | 药物诱导的红斑狼疮 <sup>(11)</sup>      |
| UPD 葡萄糖醛基转移酶 | 10%~15%         | 依立替康       | 痢疾骨髓抑制 <sup>(12)</sup>         |

\* 北京大学 985 课题项目  
北京大学中医药现代研究中心 北京大学基础医学院中西医结合教学研究室( 北京 100083 )

2 其他药物代谢相关物质 药物被组织吸收、摄取及在某些特殊部位如突触间隙转运都需要膜转运蛋白参与。研究发现,多药耐药基因(Multidrug Resistance Gene, MDR1) 26 号外显子沉默突变与肠道 ATP- 依赖跨膜输出泵(P- 糖蛋白)的表达水平和功能相关。P- 糖蛋白将细胞内多种物质包括药物转运到细胞外,防止毒性物质和代谢产物在细胞内堆积。纯合子 MDR1 突变个体口服地高辛后血浆浓度可达正常的 4 倍。P- 糖蛋白的底物还包括化疗药物、环孢菌素 A、特非那定、HIV 蛋白酶抑制剂等。因此,MDR1 突变对调节个体化用药剂量非常重要。其他转运蛋白,尤其与 5-羟色胺、多巴胺再摄取相关的转运蛋白突变研究正在进行<sup>(2,5)</sup>。

3 药物作用靶点:受体、离子通道蛋白、疾病相关基因等 受体多样性对合理选择药物和剂量非常重要。在重组细胞中, $\beta$ -肾上腺素受体精氨酸 16(Arg16)功能突变影响受体稳定性,甘氨酸 16(Gly16)异体在很大程度上下调受体对配体的反应性。儿童哮喘应用沙丁胺醇时,Arg16 基因表型病人支气管扩张的发生率增加,因为此表型不能像 Gly16 表型一样下调反应性<sup>(5,13)</sup>。血管紧张素转换酶基因类似突变导致血管紧张素转换酶抑制剂个体反应差异<sup>(14)</sup>。高亲和力和磺脲受体基因的两个联合突变使甲苯磺丁脲胰岛素反应下降 40%<sup>(15)</sup>。5-羟色胺基因受体 HTR2A 多态性与精神分裂病人对氯氮平的反应相关<sup>(16)</sup>。分别编码心脏离子通道 5 个亚基的 5 个基因突变引发药物诱导 QT 间期延长综合症,进而引起无器质性心脏病的青年患者发生猝死。此 5 个基因影响钠离子、钾离子运输,并受抗心律失常药及其他药物影响<sup>(17)</sup>。在一些疾病中,不同患者的表型也许相似,但其内在机制却不尽相同。如 Alzheimer 病有 3 种基因突变,编码载脂蛋白 E(ApoE)的基因是常见 Alzheimer 病的易变基因,而  $\beta$ -淀粉样前蛋白(APP)或早老因子基因的突变是引起另两种罕见 Alzheimer 病的原因<sup>(18,19)</sup>。临床上这 3 种突变病人的表型非常相似,但因机制不同,所以针对常见基因突变治疗方式却难于对所有病人起效,尤其是特殊基因突变的病人。同样对特殊基因突变病人有效的治疗,却对普通病人无效<sup>(20)</sup>,这就要求我们针对不同的病人进行不同的治疗。

利用简短核苷酸多态性连锁不平衡图谱的技术可以更高效、更价廉地筛选出对某种药物可能起有效反应或可能有副反应的患者<sup>(20)</sup>。另外,差异基因表达(DGE)和蛋白组测定是能够测定组织中基因和蛋白表达的不同水平和/或不同模式的筛选技术。DGE 技术

可以使我们将疾病与组织联系起来,深入到组织的差异表达来阐述其机理<sup>(21-23)</sup>。DNA 芯片技术可对数百至几千个 SNP 进行精确基因分型<sup>(24)</sup>,每个芯片包含一组简短核苷酸多态性连锁不平衡图谱,用以针对筛选具有同一临床指证的多种药物,这样可以根据单一血样选择针对某一患者该适应症的最佳药物<sup>(18)</sup>。

#### 证治药动学的提出与实验研究

1985 年,日本学者首次建立 HPLC 测定服用中药复方的血药浓度方法,并发现不同证的大黄酸的血液浓度有差异<sup>(25)</sup>。1991 年,黄熙<sup>(26)</sup>等提出同一药物的不同证的药动学参数有显著差别的“辨证药动学”假说。此后用 HPLC 法研究脾虚血瘀大鼠川芎嗪的药动学(PK)参数具有显著差异<sup>(27)</sup>,此后的类似研究初步验证该假说<sup>(28-31)</sup>。如任平等发现脾虚大鼠与非脾虚大鼠的川芎嗪(TMPP)的 PK 特征不同,且与脾虚时所表现出的血液流变性、肠道菌群及胃动素(MOT)的含量等的异常改变有关。四君子汤对此有调整作用<sup>(27-31)</sup>。中医学中,脾主运化水谷,广义也包括药。任平等<sup>(32)</sup>后提出“脾主药动学”观点。脾虚证及不同脾虚时期对甘草甜素药代动力学影响的研究结果进一步给予实验证据<sup>(33,34)</sup>。

中医病证基因组学和中药遗传药理学和基因组学的发展前景展望

遗传药理学所证明的个体之间差异可引起药物作用和副反应的差异无疑为中医“因人制宜”、“辨证论治”等理论的正确性提供很好的旁证。目前中药证治药理学尚属起步阶段,运用遗传药理学方法探讨其本质更是空白。从理论上讲,理想的途径是首先必须阐明同一疾病不同证型之间是否确实遗传学变异,其变异在基因结构上具体如何?目前均是未知领域。这也就是新兴的基因组学与古老的中医辨证思想融会而产生的中医病证基因组学。而研究不同证的遗传多态性和中药药效、药物代谢及药物毒性间相关性的学科即是中药遗传药理学的内容。中药遗传药理学同时有着自己独特性。如“证”所表现的症状群是很好的表型线索,由此入手会事半功倍,因为距离完全阐明疾病相关基因尚需相当时间。再者,不同证状态下中药及其已知单体的药动学和药效学差异更是一个良好的模式。由此更能深入从基因水平研究其机制,这也应是未来中药证治学的发展方向之一。

#### 参 考 文 献

1. 周宏灏主编. 遗传药理学. 北京: 科学出版社, 2001:3—4.
2. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions.

- Lancet 2000 ;356:1667—1671.
3. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. Science 1999 ; 286:487—491.
  4. Meyer UA, Zanger UM. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. J Annu Rev Pharmacol Toxicol 1997 ;37:269—296.
  5. Ingelman-Sundberg M. Genetic and environmental causes for interindividual variability in drug pharmacokinetics. International Congress Series 2001 ;1220:175—186.
  6. Grant SF. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: tailored drug therapy for the 21st century. Trends in Pharmacological Sciences 2000 22:3—4.
  7. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA 1998 279:1200—1205.
  8. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, et al. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. Lancet 1999 ;353:717—719.
  9. Kidd RS, Straughn AB, Meyer MC, et al. Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, lipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CYP2C9\*3 allele. Pharmacogenetics 1999 9:71—80.
  10. Miners JP, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. Br J Clin Pharmacol 1998 ;45:525—538.
  11. Meyer UA. Drugs in special patient groups: clinical importance of genomics in drug effects. In: Carruthers GS, Hoffmann BB, Melmon KL, Nierenberg DW, eds. New York: McGrawHill, 2000:1179—1205.
  12. Lyster L, Ratain MJ. Pharmacogenetics and cancer chemotherapy. Eur J Cancer 1998 ;34:1493—1499.
  13. Liggett SB. The pharmacogenetics of beta2-adrenergic receptors: relevance to asthma. J Allergy Clin Immunol 2000 ; 105:487—492.
  14. Navis G, Vander Kleij FG, De Zeeuw D, et al. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism and renal disease. J Mol Med 1999 ;77:781—791.
  15. Hansen T, Echwald SM, Hansen L, et al. Decreased tolbutamide-stimulated insulin secretion in healthy subjects with sequence variants in the high-affinity sulfonylurea receptor gene. Diabetes 1998 ;47:598—605.
  16. Arranz MJ, Munro J, Sham P, et al. Meta-analysis of studies on genetic variation in 5-HT2A receptors and clozapine response. Schizophr Res 1998 32:93—99.
  17. Priori SG, Barhanin J, Hauer RN, et al. Genetic and molecular basis of arrhythmias: impact on clinical management parts I and II. Circulation 1999 ;99:518—528.
  18. Roses AD. Pharmacogenetics and the practice of medicine. Nature 2000 ;405:857—865.
  19. Roses AD. Apolipoprotein E affects the rate of Alzheimer disease expression: beta-amyloid burden is a secondary consequence dependent on APOE genotype and duration of disease. J Neuropathol. Exp Neurol 1994 ;53:429—437.
  20. Roses AD. Pharmacogenetics and future drug development and delivery. Lancet 2000 ;355:1358—1361.
  21. Blackstock WP, Weir MP. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. Trends Biotechnol 1999 ;17: 121—127.
  22. Kozian DH, Kirschbaum BJ. Comparative gene-expression analysis. Trends Biotechnol 1999 ;17:73—78.
  23. Rockett JC, Esdaile DJ, Gibson GG. Differential gene expression in drug metabolism and toxicology: practicalities problems and potential. Xenobiotica 1999 29:655—691.
  24. Hacia JG. Determination of ancestral alleles for human single-nucleotide polymorphisms using high-density oligonucleotide arrays. Nature Genet 1999 22:164—167.
  25. 田中茂. 血中浓度测定法对汉方方剂的“证”与疗效决定法的开发. 国外医学中医中药分册 1998 ;10(3):58.
  26. 黄熙, 马援, 蒋永培, 等. “证治药理学”假说的科学依据与前景. 陈可冀主编. 迈向 21 世纪的中西医结合. 北京: 中国医学科技出版社, 1991:207—216.
  27. 黄熙, 任平, 文爱东, 等. 脾虚大鼠的川芎嗪药动力学特征与血液流变研究. 中国中西医结合杂志 1994 ;14(3): 159—161.
  28. 任平, 黄熙, 马援, 等. 脾虚血瘀大鼠肠道菌群和川芎嗪的药动力学特征初探. 中药药理与临床 1994 ;(2): 40—42.
  29. 任平, 黄熙, 蒋永培, 等. 四君子汤对脾虚大鼠胃动素及川芎嗪药动力学特征的影响. 中国中西医结合杂志 1997 ;17(1):45—47.
  30. 黄熙, 蒋永培, 臧益民, 等. 心血瘀阻大鼠的川芎嗪药动力学特征的影响. 中国中西医结合杂志 1996 ;16(6):352—354.
  31. 文爱东, 宋岭, 黄熙, 等. 阿魏酸在脾虚血瘀证大鼠体内的药代动力学. 第四军医大学学报 1995 ;16(2):140—141.
  32. 任平, 李月彩, 黄熙. 试论“脾主药理学”的科学依据. 中国医药学报 1999 ;10(5):23—35.
  33. 任平, 黄熙, 张莉, 等. 脾虚证大鼠甘草甜素药动力学特征与胃肠动力学的关系研究. 安徽中医学院学报 2000 ;19(4):47—49.
  34. 任平, 黄熙, 张莉, 等. 不同脾虚时期大鼠甘草甜素药动力学特征及其机制的探讨. 成都中医药大学学报 2000 23(2):30—32.