

临床患者检测卡马西平药物基因位点在预防 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症中的应用*

程晓东, 张莹, 胡玉皎, 王昊, 周铁成, 郝晓柯

(空军军医大学第一附属医院全军临床检验中心, 西安 710032)

摘要:目的 检测卡马西平药物的耐药位点, 为使用卡马西平药物治疗的患者提供精准的用药指导, 避免 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的出现。方法 收集 148 例血液样本, 使用荧光探针原位杂交技术对卡马西平药物的耐药位点 HLA-B*1502TA(C>G) 和 HLA-B*1502TB(C>T) 进行检测和结果分析, 评估不同患者卡马西平药物使用的可行性。结果 148 例患者中, HLA-B*1502TA(C>G) 位点检测结果为 CC(野生型) 的患者 126 例(85.14%), 检测结果为 CG(杂合突变型) 的患者 21 例(14.19%), 检测结果为 GG(纯合突变型) 的患者 1 例(0.67%); HLA-B*1502TB(C>T) 位点检测结果为 CC(野生型) 的患者 109 例(73.65%), 检测结果为 CT(杂合突变型) 的患者 37 例(25.00%), 检测结果为 TT(纯合突变型) 的患者 2 例(1.35%)。39.19%(58/148) 的患者使用卡马西平有出现 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的风险。结论 在使用卡马西平治疗前给患者作卡马西平化学药物基因检测, 根据检测结果合理精准用药, 可使 39.19% 患者避免出现 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的风险, 为患者提供安全用药指导。

关键词:卡马西平; Steven-Johnson 综合征; 中毒性表皮坏死松解症; HLA-B*1502TA(C>G); HLA-B*1502TB(C>T)

中图分类号: R394.6; R758.2 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)04-015-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.04.004

Clinical Application of Carbamazepine Drug Gene Locus in the Prevention of Steven-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis

CHENG Xiao-dong, ZHANG Ying, HU Yu-jiao, WANG Hao, ZHOU Tie-cheng, HAO Xiao-ke

(Center of Clinical Laboratory Medicine,

the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To detect the drug resistance site of carbamazepine and provide accurate medication guidance for patients treated with carbamazepine to avoid the occurrence of Steven-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. **Methods** A total of 148 blood samples were collected and the carbamazepine-resistant sites HLA-B*1502TA (C>G) and HLA-B*1502TB (C>T) were detected and analyzed by fluorescence probe in situ hybridization. To assess the use of carbamazepine in different patients. **Results** Of the 148 patients, 126 (85.14%) patients with HLA-B*1502TA (C>G) were found to have CC, and 21 patients (14.19%) with CG, one patient (0.67%) with GG, and 109 patients (73.65%) with HLA-B*1502TB (C>T) site test results for CC, 37 patients (25.00%) with CT, and 2 patients (1.35%) with TT. 39.19% (58/148) of patients had a risk of developing Steven-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis using carbamazepine. **Conclusion** Before the treatment with carbamazepine, the carbamazepine chemotherapeutic gene test was performed in patients. According to the results of reasonable and accurate drug use, 39.19% of patients can avoid the risk of Steven-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Patients provide safe medication guidance.

Keywords: carbamazepine; steven-johnson syndrome; toxic epidermal necrolysis; HLA-B*1502TA (C>G); HLA-B*1502TB (C>T)

卡马西平(carbamazepine, CBZ)是精神运动性癫痫的首选药物, 也可用于抗惊厥、抗神经性疼痛、抗躁狂-抑郁症等疾病的治疗。但是通过对中国汉族患者的回顾性研究发现, Steven-Johnson 综合征(steven johnson syndrome, SJS)和中毒性表皮坏死松解症(toxic epidermal necrolysis, TEN)风险的发生与使用卡马西平以及患者体内携带人白细胞抗原(HLA)-B*1502 等位基因的突变存在着很强的相关性, HLA-B*1502 是卡马西平诱导

SJteven-Tohnson 综合征/中毒性表皮坏死松解症已知的生物学标志物^[1-2], 因此首次使用卡马西平的患者在治疗前应进行 HLA-B*1502 等位基因的筛查。

本文使用数字化荧光检测仪和荧光染色原位杂交, 实现小片段测序和 SNP 分型, 对卡马西平耐药位点 HLA-B*1502TA (C>G) 和 HLA-B*1502TB (C>T) 进行检测, 根据不同患者的基因型特性进行合理用药, 达到提高药效、避免或减少毒

* 作者简介:程晓东(1972—),男,硕士,副主任医师,主要从事临床生化检验, E-mail: xjyzyk@fmmu.edu.cn.

副作用和不良反应发生的风险,为使用卡马西平药物的患者提供精准的用药指导。

1 材料与方法

1.1 研究对象 我院2016年8月~2018年12月接受卡马西平耐药位点 HLA-B*1502TA(C>G)和 HLA-B*1502TB(C>T)检测的患者148例,其中男性62例,女性86例,平均年龄57.05±15.30岁。

1.2 试剂和仪器 试剂:10×NH₄Cl 预处理液,处理血液样本时用于裂解红细胞;耀金保(核酸纯化试剂),用于在进行 SNP 分析前对标本进行保存;耀金分(测序反应通用试剂盒),数字荧光分子杂交实验和化学药物用药指导项目的样本分析试剂;软件设定液,用于制备标准曲线;阳性对照监测仪器状态是否在控。所有试剂购于北京华夏时代基因科技发展有限公司。

仪器:荧光检测仪(西安天隆科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 试验样本:静脉全血,使用 EDTA 抗凝紫帽管采集,4℃低温保存,保存时间不宜超过24 h。

1.3.2 标本前处理:在1.5 ml 离心管中加入1.0 ml 1×NH₄Cl 预处理液,吸取200 μl 混匀的全血,室温静置5~10 min,红细胞完全破裂,离心管中液体变为澄清的红色后离心5 min。

吸取上层透明的红色液体后,向管底富集的白细胞团块中加入30 μl 耀金保使白细胞的胞膜破裂。充分混匀,为了更好地使细胞核内的核酸游离出来,室温静置30~60 min,等待检测。

1.3.3 检测过程:样本检测:吸取1.5 μl 处理后的白细胞样本加到相应的试剂中上机检测。阳性对照:吸取1.5 μl 的阳性质控品分别加到对应的软件设定液中。阴性对照:吸取1.5 μl 耀金保保存液,加到试剂中。

1.3.4 质控结果分析:阴性对照用以监测实验室和前处理过程中是否存在污染,检出结果应为“重测”;阳性对照用以监测实验能否正常检出阳性标本,检出结果应为阳性质控品的基因型。

1.4 统计学分析 收集记录相关数据,录入 SPSS 统计学软件,对数据进行分析处理。定性资料以百分率(%)表示, $P<0.05$ 为对比组之间的差异有统计学意义, $P>0.05$ 为对比组之间差异无统计学意义。

2 结果

2.1 卡马西平化学药物基因位点检测结果 HLA-B*1502TA(C>G)位点检测结果为 CC 的患者126例,占总人数的85.14%;检测结果为 CG 的患者21例,占总人数的14.19%;检测结果为

GG 的患者1例,占总人数的0.67%。HLA-B*1502TB(C>T)位点检测结果为 CC 的患者109例,占总人数的73.65%;检测结果为 CT 的患者37例,占总人数的25.00%;检测结果为 TT 的患者2例,占总人数的1.35%,HLA-B*1502TA(C>G)位点与 HLA-B*1502TB(C>T)位点检测结果比较,差异无统计学意义($\chi^2=6.855$, $P=0.192$)。

2.2 卡马西平化学药物各个基因位点检测结果对临床的指导 见表1。对于 HLA-B*1502 基因,HLA-B*1502TA(C>G)和 HLA-B*1502TB(C>T)基因均为野生型时,卡马西平类药物可以使用;HLA-B*1502TA(C>G)和 HLA-B*1502TB(C>T)基因有杂合突变型基因58例(38.19%),卡马西平类药物慎用;任何一个耐药位点突变成纯合突变,无论另一个耐药基因是野生型、杂合突变、纯合突变,卡马西平类药物均为禁用。

表1 卡马西平化学药物各个基因位点检测结果对临床的指导

基因型		n	百分比 (%)	化学药 物使用
HLA-B*1502TA	HLA-B*1502TB			
CC	CC	90	60.81	可以使用
CC	CT	34	22.97	慎用
CG	CC	19	12.84	慎用
CG	TC	2	1.35	慎用
CC	TT	2	1.35	禁用
GG	TC	1	0.68	禁用

3 讨论 卡马西平主要被肝脏的酶催化代谢成各种代谢产物,其中芳羟氧化物需被肝脏产生的环氧化物水解酶水解后才能由肾脏排出。若药物代谢过程中的关键酶结构发生变化,酶功能缺陷,药物在体内产生的代谢产物就不能被正常排出体外,这些代谢产物会对角质形成细胞产生细胞毒性作用,细胞毒性作用主要发生在 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的早期。Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症是同一种疾病的不同阶段,根据疾病所累及的皮肤和黏膜的面积进行分类,剥脱皮肤的体表面积小于10%的患者称 Steven-Johnson 综合征;剥脱皮肤的体表面积大于30%的患者称中毒性表皮坏死松解症;剥脱皮肤的体表面积介于10%~30%之间的患者称重叠的 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症。Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的风险与使用卡马西平以及患者体内携带(HLA)-B*1502 等位基因的突变存在很强的相关性,且具有种族差异性。HLA 基因是人类目前

已知的最复杂的基因,位于人类染色体 6p21.3。HLA 基因是由一组紧密连锁的复等位基因位点组成,具有高度多态性,主要功能是将药物及其代谢产物包装,呈递给 T 细胞,使 T 胞活化,细胞毒性 T 细胞使自身淋巴细胞或皮肤角质形成细胞发生死亡。目前已发现了多个与 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症密切相关的 HLA 基因,HLA-B * 1502 等位基因的相关性最强^[6]。

通过回顾性研究发现,不仅中国汉族患者使用卡马西平治疗后 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症风险的发生与体内携带(HLA)-B * 1502 等位基因的突变存在着很强的相关性^[3],马来西亚、泰国、新加坡等国家^[4-5,7]的学者对这些国家的患者进行研究,也发现 HLA-B * 1502 等位基因的突变不仅增加了 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的风险,还会发生严重皮肤药物反应以及药物诱导的过敏皮疹伴嗜酸性粒细胞增多和全身症状,HLA-B * 1502 也被称作是公认的疤痕风险因素。

有学者研究了 27 例使用卡马西平治疗的亚洲癫痫患者,其中 6 例患者患有卡马西平诱发的 Steven-Johnson 综合征,11 例患者患有卡马西平诱发的皮疹。对 HLA-B * 1502 基因检测结果进行分析,6 例 Steven-Johnson 综合征患者 HLA-B * 1502 基因检测结果阳性;另外 11 例患有卡马西平诱发皮疹的患者中,有 4 例患者 HLA-B * 1502 基因检测结果阳性。进一步证明对于亚洲人群,Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的风险与使用卡马西平以及患者体内携带(HLA)-B * 1502 等位基因的突变存在很强的相关性^[7]。通过研究汉族和白种人 HLA-B * 1502 阳性的患者淋巴细胞毒性试验,中国人淋巴细胞毒性试验检测均为阴性,而白种人患者均为阳性。这些结果强烈提示不同种族背景患者卡马西平诱导的不同超敏反应的机制途径不止一个,而汉族人与 HLA-B * 1502 等位基因的阳性结果强相关^[8]。所以对于我国患者,首次使用卡马西平治疗前应进行 HLA-B * 1502 等位基因的筛查。

本实验室对准备使用卡马西平治疗的 148 例患者进行 HLA-B * 1502TA(C > G)基因位点检测。HLA-B * 1502TA(C > G)基因纯合突变的患者 3 例,这类患者禁止使用卡马西平以及卡马西平类药物,这类患者发生 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症的风险极高。HLA-B * 1502TA(C > G)基因杂合突变的患者 58 例,这类患者慎用卡马西平以及卡马西平类药物,患者具有发生 Steven-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松

解症以及卡马西平诱发皮疹的风险,在疗效大于风险的条件下密切观察用药后的不良反应。患者在使用药前进行 HLA-B * 1502 等位基因的筛查可以避免 38.19% 的患者发生卡马西平相关 Steven-Johnson 综合征、中毒性表皮坏死松解症和卡马西平诱发皮疹的发生,为患者提供安全的用药指导。

参考文献:

- [1] OU G J, WANG J, JI X, et al. A study of HLA-B * 15:02 in 9 different Chinese ethnics: Implications for carbamazepine related SJS/TEN[J]. HLA, 2017, 89(4):225-229.
- [2] HE Xiaojing, JIAN Lingyan, HE Xiaolin, et al. Association between the HLA-B * 15:02 allele and carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in Han individuals of northeastern China[J]. Pharmacological Reports, 2013, 65(5): 1256-1262.
- [3] HSIAO Y H, HUI RC, WU T, et al. Genotype-phenotype association between HLA and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions: strength and clinical correlations[J]. Journal of Dermatological Science, 2014, 73(2):101-109.
- [4] CHONG K W, CHAN D W, CHEUNG Y B, et al. Association of carbamazepine-induced severe cutaneous drug reactions and HLA-B * 1502 allele status, and dose and treatment duration in paediatric neurology patients in Singapore[J]. Archives of Disease in Childhood, 2014, 99(6):581-584.
- [5] KULKANTRAKORN K, TASSANEYAKUL W, TIAMKAO S, et al. HLA-B * 1502 strongly predicts carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Thai patients with neuropathic pain[J]. Pain Pract, 2012, 12(3): 202-208.
- [6] 高婷婷, 龙琴. Stevens-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症发病机制的研究进展[J]. 中华眼科杂志, 2016, 52(9):708-713.
GAO Tingting, LONG Qin. Recent progress in research of pathogenesis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis[J]. Chin J Ophthalmol, 2016, 52(9):708-713.
- [7] THEN SM, RANI ZZ, RAYMOND AA, et al. Frequency of the HLA-B * 1502 allele contributing to carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in a cohort of Malaysian epilepsy patients[J]. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology, 2011, 29(3): 290-293.
- [8] ELZAGALLAAI AA, GARCIABOURNISSEN F, FINKELESTEIN Y, et al. Severe bullous hypersensitivity reactions after exposure to carbamazepine in a Han-Chinese child with a positive HLA-B * 1502 and negative in vitro toxicity assays: evidence for different pathophysiological mechanisms[J]. J Popul Ther Clin Pharmacol, 2011, 18(1):e1-9.

收稿日期:2019-03-21

修回日期:2019-04-08