

## 【疾病状态下的代谢调控研究】

## 疾病状态下的药物代谢处置变化及其机制研究

张晓芳, 周 芳, 王广基\*, 张经纬\*

中国药科大学药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009

**摘 要:** 疾病状态下药物代谢酶和药物转运体的异常调控会引起药物动力学过程的变化, 进而影响药物疗效, 甚至增加不良反应发生的风险。代谢酶/转运体异常调控的机制主要涉及炎症相关的信号通路/核受体、表观遗传修饰和蛋白质翻译后修饰等。系统回顾并总结了几类主要常见疾病状态下的药物代谢酶/转运体的调控变化及相关机制, 同时介绍了生理药动学模型在指导疾病患者临床合理用药方面的应用, 以期为基于疾病状态下药物代谢酶/转运体的安全有效的个体化用药提供借鉴和思路。

**关键词:** 疾病; 代谢酶/转运体; 调控机制; 生理药动学模型; 合理用药

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 03-0369-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.03.001

## Changes and related mechanisms of drug metabolism and disposition under diseases status

ZHANG Xiaofang, ZHOU Fang, WANG Guangji, ZHANG Jingwei

Key Lab of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract:** Dysregulation of drug metabolizing enzymes and transporters(DMET) during diseases leads to altered pharmacokinetics. It has profound impact on drug safety and efficacy. The mechanisms of this dysregulation include inflammation associated signal pathway/nuclear receptor, epigenetic regulation and post-translational modification. This article reviews the regulation of DMET under disease status and its related mechanisms. The application of physiologically-based pharmacokinetic model in rational drug usage in patients is also summarized. Our work will benefit personalized medicine according to DMET phenotype.

**Key words:** disease; drug metabolizing enzyme and transporter; regulating mechanism; physiologically-based pharmacokinetic model; rational usage of medicines

从早期筛选、临床前研究,到临床研究、上市后再评价,药动学(pharmacokinetics, PK)贯穿新药研发的始终。然而,临床前PK数据主要来源于健康动物(抗肿瘤等特殊药物除外),而临床PK数据主要来源于健康受试者以及疾病患者。因此,从临床前到临床的转化,不仅有种属差异的转化,还有疾病状态的转化。近年来,疾病的发生发展过程中药物PK的变化正在被广泛研究并报道,主要涉及相

关的药物代谢酶和药物转运体(drug metabolizing enzymes and transporters, DMET)在病理过程中发生的异常调控<sup>[1-2]</sup>,以及由此引起的药效与毒性的改变。因此,疾病状态下的药动学研究具有重要的临床实际意义。本文系统回顾并总结了几类主要疾病状态下DMET表达和功能的变化及其相关机制,同时着重介绍了生理药动学(physiologically-based pharmacokinetic, PBPK)模型在指导疾病患者临床

收稿日期: 2018-12-24

基金项目: 国家自然科学基金(81573494, 81803625, 81573496); 江苏省自然科学基金(BK20160076, BK20180558)

第一作者: 张晓芳(1993—),女,河北省邯郸市人,硕士研究生,研究方向为药物代谢动力学。Tel: 15250957671 E-mail: xfang\_zhang@163.com

\*通信作者: 王广基,男,中国工程院院士,教授,博士生导师,研究方向为药物代谢动力学。

Tel: 025-83271128 E-mail: guangjiwang@hotmail.com

张经纬,男,副研究员,博士生导师,研究方向为药物代谢动力学。Tel: (025)83271176 E-mail: zhangjw\_cnnj@sina.com

合理用药方面的应用,期望为基于疾病状态下DMET的个体化安全有效用药提供借鉴与思路。

## 1 疾病的发生发展与药物代谢处置

大量体内外研究显示,与正常健康状态相比,疾病状态下DMET的表达和功能发生改变(表1),并且这种变化会受到疾病严重程度的影响,进而导致疾病发展过程中药物的药动学行为的改变,最终影响到药物的疗效和毒副作用。

### 1.1 “正常-肝炎-脂肪变性-脂肪肝-肝硬化”过程中的药物代谢

作为人体内最重要的代谢器官,肝脏的功能对药物的PK行为有重要影响。多项研究报道肝病发生以后机体的DMET发生较大改变。Chai等<sup>[3]</sup>发现胆汁淤积性肝病患者中,肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )介导的c-Jun氨基末端激酶(JNK)/应激活化蛋白激酶(SAPK)信号通路的激活显著诱导了人肝细胞膜蛋白MRP3的表达,与非胆汁淤积患者相比,胆汁淤积患者中MRP3的mRNA及蛋白水平分别升高了3.4倍和4.6倍。Nakai等<sup>[4]</sup>在慢性丙型肝炎肝硬化患者中观察到了CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4、OATP1B1和OCT1的基因表达较健康受试者显著降低。Cho等<sup>[5]</sup>的研究显示,非酒精性脂肪肝(NASH)状态下肝脏代谢酶的改变导致了药物代

谢的变化,NASH大鼠肝脏Cyp2b1的基因和蛋白水平均显著低于健康对照组,代谢活性也受到抑制,导致底物安非他酮的血浆暴露量显著升高,清除率显著降低,代谢产物羟基安非他酮的血浆暴露量显著降低。

那么,从正常健康状态到肝病的终末期这个过程中,DMET随着疾病的进程有哪些变化呢。Hardwick等<sup>[13]</sup>考察了非酒精性脂肪肝病(NAFLD)进展过程中II相代谢酶的变化。在正常、脂肪变性、脂肪肝NASH和肝硬化NASH患者中,随着病情的不断加重,大部分尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UGTs)和硫酸基转移酶(SULTs)的表达水平和代谢活性逐渐增加。与健康受试者相比,UGT1A9、UGT2B10和SULT1C4在脂肪变性患者中无明显改变,在NASH患者中则显著上调;UGT3A1在NASH患者中的基因表达显著高于脂肪变性患者;UGT1A1、UGT2B28和SULT2B1在肝硬化的NASH患者中的表达显著高于脂肪变性患者;SULT1A1和SULT4A1在肝硬化的NASH患者中的表达显著高于健康受试者、脂肪变性患者和脂肪肝NASH患者。值得注意的是,SULT1A1在脂肪变性患者中酶活性显著升高,但在NASH患者中却有所下降,导致NAFLD发展过程中,对乙酰氨基酚的磺化代谢

表1 疾病状态下代谢酶转运体的异常调控

Table 1 Dysregulation of drug metabolizing enzymes and transporters in diseases

| 疾病状态                        | 位置    | 基因                                                    | 蛋白                                | 活性                                              |
|-----------------------------|-------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|
| 胆汁淤积患者 <sup>[3]</sup>       | 肝脏    | MRP3 ↑                                                | MRP3 ↑                            |                                                 |
| HCV肝硬化患者 <sup>[4]</sup>     | 肝脏    | CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4, NTCP, OATP1B1, OCT1 ↓         |                                   |                                                 |
| NASH大鼠 <sup>[5]</sup>       | 肝脏    | Cyp2b1 ↓                                              | Cyp2b1 ↓                          | Cyp2b1 ↓                                        |
| 慢性肾脏病患者 <sup>[6]</sup>      | 肝脏    |                                                       |                                   | CYP3A4 ↓                                        |
| 2型糖尿病大鼠 <sup>[7]</sup>      | 肾脏    | Oct1, Octn2, Oatp2b1, Oatp1a5 ↓<br>Oat2, Mrp4, Bcrp ↑ |                                   |                                                 |
| 2型糖尿病大鼠 <sup>[7-8]</sup>    | 肝脏    | Oat2, Oatp2b1, Oatp1a5 ↓ Octn2, Oatp1a1, Mdr2 ↑       | Cyp4a ↑ Cyp2b1, Cyp2c11, Cyp2e1 ↓ | Cyp2e1, Cyp4a, Cyp2c ↑                          |
| 原发性硬化性胆管炎患者 <sup>[9]</sup>  | 肝脏    |                                                       | GST $\pi$ ↑ GST $\mu$ , GSTA4 ↓   | GST ↓                                           |
| 关节炎大鼠 <sup>[10]</sup>       | 心脏    | Oatp4a1, Mdr1a ↑                                      |                                   |                                                 |
| 关节炎大鼠 <sup>[10-11]</sup>    | 肝脏    | Cyp3a1, Cyp3a2, Cyp2b1, Cyp2b2, Oct1, Oatp4a1, Mrp1 ↓ | Cyp3a1, Cyp3a2, Cyp2b2 ↓          | Cyp3a, Cyp2b ↓                                  |
| 关节炎大鼠 <sup>[10]</sup>       | 肾脏    | Oatp2b1, Mrp, Bsep ↓                                  |                                   |                                                 |
| HBV阳性肝细胞癌患者 <sup>[12]</sup> | 肿瘤微粒体 | CYP1A2, CYP3A4 ↓                                      | CYP1A2, CYP3A4 ↓                  | CYP2C, CYP2D6, CYP2A6, CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4 ↓ |

发生紊乱。此外,I相代谢酶细胞色素 P450(CYPs)的调控也受到了NAFLD进程的影响。Li等<sup>[14]</sup>对不同疾病进程的NAFLD患者的CYPs表达进行研究,与健康受试者相比,CYP2C19的活性在脂肪变性患者中无明显改变,在NASH患者中显著降低。

## 1.2 “正常-慢性肾衰”过程中的肾“外”药物代谢

多种慢性肾脏疾病中,肾功能的损伤不仅影响药物的肾脏消除,还会引起肾外组织中DMET的改变,进而影响药物的非肾代谢。CYP3A4是人体内最重要的药物代谢酶,许多CYP3A4介导的药物代谢在肾病患者中都发生了变化。Volpe等<sup>[15]</sup>将人肝微粒体与血液透析患者的血清进行温孵后,CYP3A4介导的睾酮代谢被显著抑制;同时,尿毒素呋喃丙酸、马尿酸和对甲酚也能够在临床浓度下抑制CYP3A4的代谢,提示慢性肾衰患者的肝脏CYP3A4活性下调与尿毒素有关。临床研究中也发现了类似的结果,血液透析患者中咪达唑仑的系统暴露比健康受试者升高了6倍<sup>[6]</sup>。此外,其他药物代谢酶如CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9和CYP2D6等介导的代谢也在慢性肾炎患者中发生了较为明显的改变<sup>[16]</sup>。

多项研究显示,药物转运体的调控也受到了肾脏疾病的影响。Lu等<sup>[17]</sup>在体外实验中发现尿毒素可引起肠道乳腺癌耐药蛋白(BCRP)的表达升高。与临床慢性肾炎患者体内浓度相当的硫酸吡嗪酚也可以显著上调肠道Caco-2细胞中BCRP的基因、蛋白和活性。这与Yano等<sup>[18]</sup>的体内动物实验结果一致,在5/6肾切除的慢性肾脏疾病大鼠中,尿酸的肾清除率显著低于正常对照组,而尿酸转运体Bcrp的回肠表达则显著升高,提示慢性肾脏疾病状态下尿酸肾脏排泄减少并通过增加肠道排泄进行代偿。

## 1.3 “糖尿病-糖尿病肾病”进程中的药物代谢

糖尿病是一种常见的慢性疾病,由于长期糖代谢紊乱,导致机体多种DMET的表达和功能发生了变化。Wang等<sup>[7]</sup>对2型糖尿病大鼠中肝肾药物代谢酶和药物转运体的表达变化进行了较为全面的分析,结果显示,肝脏代谢酶CYP1a2、CYP2e1、CYP4a和CYP2c的活性显著增加,肝脏转运体Oat2、Oatp2b1和Oatp1a5及肾脏转运体Oct1、Octn2、Oatp2b1和Oatp1a5的mRNA水平显著降低,而肝脏转运体Octn2、Oatp3a1、Oatp1a1和Mdr2及肾脏转运体Oat2、Mrp4和Bcrp的基因表达则显著上调。

随着糖尿病的进一步发展,并发症逐渐出现,如糖尿病肾病。在这一疾病演变的进程中,机体的

DMET也受到不同程度的影响。Christina等<sup>[19]</sup>研究了淋巴细胞CYP2E1与糖尿病进程的相关性。在健康受试者、2型糖尿病患者和糖尿病肾病患者中,随着疾病的进展,CYP2E1的表达逐渐增加。与健康受试者相比,糖尿病患者中CYP2E1的表达显著上调,并且在糖尿病肾病患者中CYP2E1的上调水平高于一般糖尿病患者。此外,II相代谢酶的调控也受到糖尿病进程的影响。Noce等<sup>[20]</sup>的研究显示糖尿病肾病进展过程中红细胞谷胱甘肽巯基转移酶(GST)的酶活性与肾损伤的程度显著相关。对健康受试者、2型糖尿病患者和糖尿病肾病患者红细胞GST酶活进行研究,其中糖尿病肾病患者根据肾损伤程度分为4期。结果显示,糖尿病患者中红细胞GST酶活性显著高于健康受试者,并且随着疾病进程中肾功能的减弱酶的活性逐渐增加,糖尿病肾病4期GST酶活比健康对照组增加了90%。

## 1.4 肿瘤代谢与药物代谢

在肿瘤的增殖、浸润和转移过程中,随着恶性程度的增加,肿瘤会进行代谢重构以促进自身的进一步发展,进而引起药物代谢处置的改变。已有多项研究证实肿瘤进展过程中瘤组织中DMET的表达发生了显著变化。Wang等<sup>[21]</sup>研究了肿瘤自身的代谢重构与P糖蛋白(P-gp)相关的多药耐药的关系。结果显示,在MCF-7三维细胞模型及移植瘤模型中,随着瘤体积的增大,磷酸戊糖通路中的关键酶6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)的表达和活性逐渐降低,相关的内源性代谢物显著减少。这种代谢的变化引起了氧化还原的失衡,进而激活Chk2/p53/NF- $\kappa$ B,诱导P-gp的表达和活性,导致肿瘤的多药耐药。Karatas等<sup>[22]</sup>发现前列腺癌进展过程中多种转运体的调控发生了改变,与健康受试者相比,前列腺癌患者中ABCA5、ABCB6、ABCC1和ABCC2的表达均显著升高;当前列腺癌进展为复发性前列腺癌时,ABCB6和ABCC10的表达显著升高,而ABCC3则明显降低。此外,有研究显示,Gst- $\alpha$ 的表达调控与慢性髓系白血病的发生发展显著相关<sup>[23]</sup>。与健康受试者相比,慢性髓系白血病患者中Nrf-2/Gst- $\alpha$ 的表达显著升高,而在伊马替尼预后较差的患者中其表达进一步上调,这种上调介导了细胞内毒性物质4-羟基壬烯醛的快速清除,增强了细胞的解毒能力,是引起患者耐药的重要原因之一。

肿瘤组织中DMET的变化是影响化疗疗效的关键因素,研究显示,肝癌、肺癌、肾细胞癌、结肠癌和乳腺癌等多种肿瘤的发生发展中DMET的变化

直接影响了药物在靶点的累积,是导致化疗耐药的主要原因。因此,针对肿瘤组织的DMET调控是克服化疗耐药、改善化疗效果的重要策略之一。Fouquet等<sup>[24]</sup>对肝癌患者的耐药机制的研究发现,肝癌细胞和肝癌患者的癌组织中外排转运体MRP-1的表达较人原代肝细胞和患者癌旁组织显著升高,这种升高与SLAMF3在肿瘤的表达抑制显著相关。过表达SLAMF3可以显著抑制MRP-1的表达和功能,增加底物罗丹明在细胞中的累积,可能是提高肝癌耐药患者化疗敏感性的有效治疗策略。研究显示,一些酪氨酸激酶抑制剂与化疗药物联用,可以通过抑制外排转运蛋白,增加化疗药物的瘤内蓄积和抗肿瘤疗效,为临床逆转肿瘤耐药提供了新的思路<sup>[25]</sup>。此外,中医药在逆转肿瘤耐药方面的作用也日益受到关注,Jin等<sup>[26]</sup>的研究显示,中药益气养肺方与顺铂联用可以下调多药耐药相关基因MRP1和GST,并抑制成纤维细胞生长因子及其受体和PI3K/Akt/mTOR信号通路,从而提高肺癌耐药小鼠的化疗效果。

### 1.5 自身免疫性疾病与药物代谢

自身免疫性疾病(AID)是机体对自身抗原发生免疫反应而引起的一种慢性炎症性疾病,AID状态下药物代谢的改变已有广泛报道。Shearn等<sup>[9]</sup>的研究显示,在伴有炎症肠病的原发性硬化性胆管炎患者中,肝脏中GST各亚型的表达和功能受到了不同方式的调控,GST $\pi$ 的蛋白表达水平显著高于健康受试者,而GST $\mu$ 和GSTA4的表达则明显降低,同时GST的活性显著降低。此外,Hanafy等<sup>[10]</sup>在关节炎大鼠模型中发现,与健康对照组相比,炎症显著抑制了关节炎大鼠的肝脏转运体Oct1、Oatp4a1和Mrp1及肾脏转运体Oatp2b1、Mrp6和Bsep的基因表达,并能显著诱导心脏中Oatp4a1和Mdr1a的基因表达水平。

不仅如此,在AID状态的不断进展中,伴随着机体炎症环境的不断变化,DMET也发生着动态调控。Kusunoki等<sup>[27]</sup>对溃疡性结肠炎小鼠肝脏中CYP450酶的表达进行研究,采用葡聚糖硫酸钠造模10 d后停药40 d,随着疾病的恶化,CYP3a11、CYP1a2、CYP2c29、CYP2d9和CYP2e1的基因表达逐渐降低,第10天降至最低,停药后随着疾病的缓解,代谢酶的表达也逐渐恢复。Ufer等<sup>[28]</sup>对不同疾病活动度的溃疡性结肠炎患者的P-gp表达的研究显示,与健康受试者相比,P-gp的蛋白表达在轻度患者的肠道中无显著差异,在中重度患者中则显著

降低,疾病活动指数的分析也显示,ABCB1的表达与疾病活动程度呈负相关性,表明随着溃疡性结肠炎的进展,ABCB1的表达逐渐降低。而Agarwal等<sup>[29]</sup>在类风湿关节炎患者中却发现MDR-1的表达与疾病的严重程度呈正相关,可见药物转运体的变化受到疾病种类和疾病严重程度的多重调控。

综上所述,多种疾病在从无到有、从轻到重的发生发展过程中,均伴随着DMET的改变,导致了药物在疾病不同阶段的PK行为的复杂性,进而影响药物的安全性和有效性。

## 2 疾病状态下药物代谢处置的调控机制

体内外研究显示,疾病状态下DMET的变化受到多种因素的调控,主要包括细胞因子及相关信号通路、核受体,以及表观遗传修饰、翻译后修饰等对药物代谢酶与转运体的调控作用。

### 2.1 “细胞因子-信号通路-核受体”途径对代谢的调控

越来越多的研究表明,炎性细胞因子与DMET的表达调控有关,并且不同细胞因子对不同DMET亚型的作用不尽相同。

Mimura等<sup>[30]</sup>研究了细胞因子对人肝癌细胞中CYP3A4的表达调控作用,结果显示IL-6可显著抑制CYP3A4的基因表达和催化活性,增加化疗药物吉非替尼和紫杉醇的细胞毒作用。TNF- $\alpha$ 和白介素-1(IL-1)也有类似的作用,这与临床研究中的结果一致<sup>[31]</sup>。Park等<sup>[32]</sup>从细胞、动物和临床患者3个水平上研究了肝癌状态下IL-8对ABC转运蛋白的调节。结果显示,肝癌状态下IL-8水平显著升高,进而诱导了外排转运体的表达,降低了药物的敏感性。不仅如此,细胞因子对DMET还具有双重调控作用,取决于作用的时间和剂量。De-Oliveira等<sup>[33]</sup>的研究发现,给予小鼠不同剂量的脂多糖(LPS)后,低剂量LPS(0.025~2.0 mg/kg)可以抑制Cyp2a5、Cyp1a和Cyp2b的活性,但高剂量(>2 mg/kg)时LPS引起的NO的升高逆转了其对Cyp2a5的下调作用,而Cyp1a和Cyp2b的活性仍被抑制。

进一步研究发现,炎症相关的信号通路/核受体在细胞因子对DMET的调控中发挥着重要的作用,其中核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)是引起代谢酶转运体调控变化的主要信号通路。Keller等<sup>[34]</sup>发现IL-6通过激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和NF- $\kappa$ B信号通路,抑制维甲酸X受体 $\alpha$ (RXR $\alpha$ )与核受体组成型雄烷受体(CAR)、法尼醇X受体(FXR)、肝X受体(LXR)、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)、

孕烷X受体(PXR)和维生素D受体(VDR)的二聚化,从而导致多种药物代谢酶和转运体的转录抑制。Kusunoki等<sup>[35]</sup>发现结肠炎小鼠中,结肠炎症部位的LPS可引起肝脏的炎症反应,导致肝脏NF- $\kappa$ B的核转位增加,抑制PXR和CAR的mRNA表达及核转位,导致肝CYP的表达和活性下调,药物血浆浓度增加,不良反应的发生率升高。Liu等<sup>[36]</sup>通过体内外研究发现,胆汁淤积条件下,IL-18显著上升,激活了NF- $\kappa$ B信号通路,进而上调转录因子YY1,抑制核受体FXR的表达,最终导致FXR与MRP2启动子的结合减少,MRP2的表达降低。

## 2.2 表观遗传修饰对代谢的调控

表观遗传调控是不涉及DNA序列改变的基因组修饰,主要涉及DNA甲基化、组蛋白修饰与非编码RNA调控等几个主要的方面。研究表明,表观遗传机制参与了疾病过程中DMET的表达调控。

**2.2.1 DNA甲基化对代谢的调控** 基因启动子区超甲基化引起的基因沉默,是疾病患者DMET发生变化的原因之一。Mitsui等<sup>[37]</sup>的研究显示,前列腺癌细胞PC-3、LNCaP和DU145中CYP1A1的基因及蛋白表达上调,给予甲基化抑制剂后,表达进一步上调,同时前列腺癌组织样本中也观察到了CYP1A1启动子的低甲基化和CYP1A1的高表达,提示前列腺癌中DNA启动子的低甲基化诱导了CYP1A1的表达。Liu等<sup>[38]</sup>首次发现了DNA甲基化对肾细胞癌中OCT2的表达下调作用。研究发现,DNA甲基化抑制了MYC蛋白与E-box位点的结合,进而阻遏MYC对组蛋白甲基转移酶MLL1的招募,降低组蛋白H3K4的甲基化水平,最终抑制OCT2的基因转录。而DNA甲基转移酶抑制剂地西他滨可以增加肾癌组织中OCT2的表达水平,致使奥沙利铂在肾癌组织中积聚,从而发挥显著的抑瘤作用。

**2.2.2 组蛋白修饰对代谢的调控** 有研究表明,染色体的组蛋白修饰参与了疾病状态下DMET表达和功能的改变。甲基化抑制剂(5-Aza)和去乙酰化转移酶抑制剂(TSA)可上调人肺腺癌细胞中CYP24A1酶的基因及蛋白表达,表明人肺腺癌中CYP24A1基因的表达在一定程度上受到启动子的DNA甲基化和组蛋白修饰的调控<sup>[39]</sup>。Sike等<sup>[40]</sup>发现秋水仙碱耐药细胞中,ABCB1B的表达及活性的提高与其基因染色体的组蛋白修饰有关,给予TSA后,ABCB1B转录激活区组蛋白的乙酰化水平显著升高,ABCB1B的基因表达也明显上调。Ikehata

等<sup>[41]</sup>揭示了结肠癌细胞中药物摄取转运体的表观遗传调控机制。对人结肠癌细胞给予5-Aza和TSA,THTR2的基因表达在HT29和SW480细胞中被显著诱导,CNT2在HT29中表达升高,而正常结肠上皮细胞中摄取转运体的表达则无明显改变,表明DNA甲基化和组蛋白去乙酰化对结肠癌细胞中摄取转运体的表达有重要的调控作用。

**2.2.3 非编码RNA对代谢的调控** 非编码RNA(ncRNAs)是能够调节编码蛋白质的基因的功能性RNA分子,其中microRNAs是最具特征的ncRNAs,对疾病中DMET的调控有重要作用。Chang等<sup>[42]</sup>的研究显示,miR-200c抑制了肾细胞癌中CYP1B1的表达,并减弱了CYP1B1底物药物多西他赛的耐药性。在Wijayakumara<sup>[43]</sup>和Margaillan<sup>[44]</sup>的研究中,与正常组织相比,前列腺癌组织中miR-376c被抑制,而UGT2B15和UGT2B17的水平显著升高,提示miR-376c参与了UGT2B15和UGT2B17的下调。此外,Liang等<sup>[45]</sup>发现miR-326与转运体ABCC1的表达密切相关,与亲代MCF-7相比,阿霉素耐药的乳腺癌细胞中miR-326明显下调,ABCC1的表达显著升高,转染miR-326后ABCC1的表达减少,耐药细胞的敏感性增加。

## 2.3 蛋白质翻译后修饰对代谢的调控

蛋白质是执行细胞功能的基本功能单元,通常蛋白质在表达以后还需要经过一系列蛋白质翻译后修饰才能发挥功能。研究表明,疾病状态下蛋白质翻译后修饰的异常会引起DMET的功能改变。

**2.3.1 磷酸化对代谢的调控** 蛋白质磷酸化修饰是最常见的翻译后修饰,影响了人类细胞中包括DMET在内的超过1/3的蛋白质的功能。研究表明SULT2B1b酶Ser<sup>348</sup>的磷酸化与其活性显著相关,磷酸化后酶的催化活性升高了10倍,并且热稳定性显著增加,对底物的催化速率显著提高<sup>[46]</sup>。Katayama等<sup>[47]</sup>的研究显示,肿瘤细胞中PKA和PKC介导的P-gp蛋白661、667和671位丝氨酸残基的磷酸化可被PP5/PPP2R3C复合物去磷酸化,从而降低P-gp的表达及功能,敲除PP5或PPP2R3C后,P-gp的表达和转运活性增加,导致了长春新碱和阿霉素的化疗耐药。

**2.3.2 糖基化对代谢的调控** 糖基化参与了生命活动过程中多种蛋白功能的调节。多项研究表明,糖基化修饰与疾病状态下DMET的功能调控有关。卵巢和结肠直肠癌细胞中N-糖基化对P-gp和BCRP的表达和功能有重要影响,N-糖基化抑制剂衣霉素

处理的耐药细胞中,由于糖基化的缺失,BCRP和P-gp被泛素化降解,P-gp的细胞定位也由细胞膜转至细胞质中,导致化疗敏感性的增加<sup>[48]</sup>。对结肠癌特异性酶CYP2W1的研究显示,CYP2W1的N-糖基化位点Asn<sup>177</sup>突变后,CYP2W1的催化活性显著下降,提示糖基化可能与CYP2W1的功能有关<sup>[49]</sup>。

**2.3.3 泛素化对代谢的调控** 泛素是一种含76个氨基酸的多肽,具有标记待降解蛋白质的功能。多项研究证实泛素化参与了疾病状态下DMET的调控。Ishihara等<sup>[50]</sup>对心肌缺血时CYP的表达和活性进行研究时发现,缺血区域的氧化应激导致蛋白酶体活性减弱,泛素化CYP2C6的降解受到抑制,从而增加了缺血区域中CYP2C6的蛋白表达和代谢活性。此外,有研究表明FBXO15和Ube2r1参与了肿瘤细胞中P-gp的泛素化,FBXO15可以增加P-gp的泛素化水平,敲除FBXO15或Ube2r1抑制了P-gp的泛素化,导致P-gp的蛋白水平升高,P-gp底物罗丹明的外排和长春新碱的耐药增加<sup>[51]</sup>。

综上,疾病状态下炎症相关细胞因子、信号通路和核受体参与了DMET的转录调控,表观遗传修饰和翻译后修饰也通过不同的方式影响了DMET的表达和功能。

### 3 疾病状态下的合理用药

疾病状态下DMET的改变影响了药物的PK/PD行为,甚至增加了不良反应的发生风险。因此,要进行合理的临床试验设计和用药方案调整以保证患者的临床合理用药。目前,临床多根据患者器官功能的差异和PK/PD参数的变化进行用药方案的调整。近年来,生理药代动力学(physiologically based pharmacokinetic,PBPK)等建模与仿真技术的不断突破为新药的开发和临床应用提供了很大帮助。

#### 3.1 基于患者器官功能的合理用药

对于肝肾功能异常的患者,临床多根据其器官功能的损伤程度进行相应的剂量调整。Minami等<sup>[52]</sup>以天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP)为肝功能指标,对200例患不同癌症的患者进行多西他赛的剂量调整研究,结果显示对中重度肝损伤的癌症患者应给予适当的剂量下调。Benjamin等<sup>[53]</sup>以胆红素水平作为肝功能指标,下调中、重度肝损伤患者的多柔比星剂量,显著减轻了药物的毒性反应,但中度肝功能异常患者降低剂量后疗效也出现了降低<sup>[52]</sup>,因此其剂量调整的争议较大。顺铂对肾功能的损害已

有共识,国外根据肌酐清除率(CrCL)调整顺铂剂量,国际老年肿瘤学会(SIOG)推荐,对于使用80~120 mg/m<sup>2</sup>顺铂作为常规剂量的患者,CrCL低于90 mL/min时应调整顺铂用药剂量<sup>[54]</sup>。可见,多数临床实验根据AST、ALT、ALP和胆红素评价肝功能异常程度,根据CrCL评价肾脏功能,进行剂量调整。但是难以将多个临床指标进行综合考虑,导致了剂量调整的差异。

#### 3.2 基于PK/PD参数的合理用药

PK/PD参数是用药调整中的重要依据,在临床应用广泛。Rambiritch等<sup>[55]</sup>构建了南非2型糖尿病患者中格列本脲的群体药动学/药效学模型,以确定格列本脲的有效剂量。结果显示,格列本脲的有效剂量小于5 mg/d,而厂家建议的15 mg/d的剂量,并不能增强其降糖效果,反而可能会增加药物的不良反应。Berges等<sup>[56]</sup>以一期临床中肌萎缩侧索硬化患者骨骼肌中药物奥扎尼珠单抗与靶点Nogo-A结合的免疫组化数据作为药物疗效的替代指标,并结合药物的血浆浓度,构建PK/PD模型。模型预测结果与药物在患者中的PK行为和免疫组化数据高度吻合,可用于药物二期临床的剂量选择。

#### 3.3 基于PBPK模型的合理用药

PBPK模型是根据机体的解剖学、生理学及药物的理化特性建立的模型,通过整合药物的理化参数和机体的生理参数,模拟或预测药物在特定组织器官和机体中的转运过程<sup>[57]</sup>。通过定量整合不同患者的生理生化的差异,PBPK模型可以预测不同患者的PK变化,对患者用药方案进行有效调整和设计。目前多集中在肝肾功能异常患者的PK预测。此外,还可以将病理状态下代谢酶转运体的相关变化整合入PBPK模型以预测某类代谢或转运途径的药物在患者中的代谢处置过程。

Li等<sup>[58]</sup>构建了肝转运体底物的PBPK模型预测肝硬化发展进程中肝转运药物的PK行为。将肝硬化进展过程中相关的生理变化(肝转运体活性,血细胞比容,门静脉血流,肝动脉血流等)整合入已有的正常个体的PBPK模型中,可以准确模拟肝转运药物波生坦、奥美沙坦、瑞格列奈、替米沙坦在中轻度肝硬化患者中的PK行为。Emoto等<sup>[59]</sup>构建PBPK模型预测万古霉素在健康受试者、肾损伤患者和肝损伤患者中的处置情况。将肾清除作为重要的消除途径,并将CrCL等相关病理因素整合入PBPK模型中,结果显示,肾损伤和肝硬化患者血中峰浓度和药时曲线下面积的预测结果与临床数据高度一

致。PBPK模型不仅可以对药物的PK进行准确预测,还可进一步优化药物的给药方案,促进药物的临床合理用药。Rasool等<sup>[60]</sup>通过构建PBPK-卡维地洛-肝硬化模型,准确预测不同疾病阶段卡维地洛的PK变化,并提出应将轻、中、重度肝硬化患者的给药剂量由25 mg/d分别下调至9.375、4.68、2.3425 mg/d。

综上所述,目前PK/PD参数和器官的功能指标在疾病患者的临床用药中发挥着重要的指导作用。但是不同模型中PK/PD参数的差异和器官功能的评价标准的不统一,导致不同疾病阶段的患者的剂量调整差异较大。此外,这些参数指标并不能完全反映影响患者PK的诸多复杂因素,导致其在用药调整方面有诸多争议。而PBPK模型可以通过整合药物的理化性质和机体的生理病理状态,对疾病等不同生理状态下药物的PK行为进行更为准确的预测,从而优化患者的临床用药方案,提高药物的治疗效果降低不良反应的发生率。

#### 4 结语

与正常机体相比,疾病状态下机体的组织器官会受到不同程度的损伤。在这个过程中,药物代谢处置相关的各种代谢酶/转运体受各种因素的影响而发生异常调控,导致药物的PK行为改变,进而影响到药物的疗效,甚至会导致不良反应的发生。临床上可根据患者器官功能的损伤程度对患者的用药方案进行调整,此外,通过PK/PD参数和PBPK模型可以对药物在患者中的PK行为进行更为准确的预测,指导患者的临床合理用药。总之,应该充分认识到疾病状态下机体代谢功能的变化及其调控机制,优化药物的评价体系,为药物的合理使用及个体化治疗提供依据。

#### 参考文献

- [1] Atilano-Roque A, Roda G, Fogueri U, et al. Effect of disease pathologies on transporter expression and function [J]. *J Clin Pharmacol*, 2016, 56(S7): S205-S221.
- [2] Cobbina E, Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)-pathogenesis, classification, and effect on drug Metabolizing enzymes and transporters [J]. *Drug Metab Rev*, 2017, 49(2): 197-211.
- [3] Chai J, He Y, Cai S Y, et al. Elevated hepatic multidrug resistance-associated protein 3 / ATP-binding cassette subfamily C 3 expression in human obstructive cholestasis is mediated through tumor necrosis factor alpha and c-Jun NH2-terminal kinase / stress-activated protein kinase-signaling pathway [J]. *Hepatology*, 2012, 55(5): 1485-1494.
- [4] Nakai K, Tanaka H, Hanada K, et al. Decreased expression of cytochromes P450 1A2, 2E1, and 3A4 and drug transporters Na<sup>+</sup>-taurocholate-cotransporting polypeptide, organic cation transporter 1, and organic anion-transporting peptide-C correlates with the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(9): 1786-1793.
- [5] Cho S J, Kim S B, Cho H J, et al. Effects of nonalcoholic fatty liver disease on hepatic CYP2B1 and *in vivo* bupropion disposition in rats fed a high-fat or methionine/choline-deficient diet [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(27): 5598-5606.
- [6] Thomson B K, Nolin T D, Velenosi T J, et al. Effect of CKD and dialysis modality on exposure to drugs cleared by nonrenal mechanisms [J]. *Am J Kidney Dis*, 2015, 65(4): 574-582.
- [7] Wang J, Zhai T, Chen Y. Effects of honokiol on CYP450 activity and transporter mRNA expression in type 2 diabetic rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): 815.
- [8] Park S Y, Kim C H, Lee J Y, et al. Hepatic expression of cytochrome P450 in Zucker diabetic fatty rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2016, 96: 244-253.
- [9] Shearn C T, Orlicky D J, Petersen D R. Dysregulation of antioxidant responses in patients diagnosed with concomitant primary sclerosing cholangitis/inflammatory bowel disease [J]. *Exp Mol Pathol*, 2018, 104(1): 1-8.
- [10] Hanafy S, El-Kadi A O, Jamali F. Effect of inflammation on molecular targets and drug transporters [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2012, 15(3): 361-375.
- [11] Sanada H, Sekimoto M, Kamoshita A, et al. Changes in expression of hepatic cytochrome P450 subfamily enzymes during development of adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *J Toxicol Sci*, 2011, 36(2): 181-190.
- [12] Yan T, Lu L, Xie C, et al. Severely impaired and dysregulated cytochrome P450 expression and activities in hepatocellular carcinoma: implications for personalized treatment in patients [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(12): 2874-2886.
- [13] Hardwick R N, Ferreira D W, More V R, et al. Altered UDP - glucuronosyltransferase and sulfotransferase expression and function during progressive stages of human nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(3): 554-561.
- [14] Li H, Canet M J, Clarke J D, et al. Pediatric Cytochrome P450 activity alterations in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Drug Metab Dispos*, 2017, 45(12): 1317-1325.
- [15] Volpe D A, Tobin G A, Tavakkoli F, et al. Effect of uremic serum and uremic toxins on drug metabolism in

- human microsomes [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 68(2): 297-303.
- [16] Ladda M A, Goralski K B. The Effects of CKD on Cytochrome P450-Mediated Drug Metabolism [J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2016, 23(2): 67-75.
- [17] Lu Y, Nakanishi T, Hosomi A, et al. In-vitro evidence of enhanced breast cancer resistance protein-mediated intestinal urate secretion by uremic toxins in Caco-2 cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67(2): 170-177.
- [18] Yano H, Tamura Y, Kobayashi K, et al. Uric acid transporter ABCG2 is increased in the intestine of the 5/6 nephrectomy rat model of chronic kidney disease [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2014, 18(1): 50-55.
- [19] Christina G Y, Zaini A, Othman I. CYP2E1 level in peripheral lymphocytes correlates with early pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Biomed Res*, 2013, 24(1): 153-163.
- [20] Noce A, Fabrini R, Dessi M, et al. Erythrocyte glutathione transferase activity: a possible early biomarker for blood toxicity in uremic diabetic patients [J]. *Acta Diabetol*, 2014, 51(2): 219-224.
- [21] Wang W, Cai Q, Zhou F, et al. Impaired pentose phosphate pathway in the development of 3D MCF-7 cells mediated intracellular redox disturbance and multi-cellular resistance without drug induction [J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 253-265.
- [22] Karatas O F, Guzel E, Duz M B, et al. The role of ATP-binding cassette transporter genes in the progression of prostate cancer [J]. *Prostate*, 2016, 76(5): 434-444.
- [23] Wang X, Li Y, Chen W, et al. Nrf-2/Gst- $\alpha$  mediated imatinib resistance through rapid 4-HNE clearance [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 353(2): 72-78.
- [24] Fouquet G, Debuysscher V, Ouled-Haddou H, et al. Hepatocyte SLAMF3 reduced specifically the multidrug resistance protein MRP-1 and increases HCC cells sensitization to anti-cancer drugs [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (22): 32493-32503.
- [25] Kathawala R J, Gupta P, Ashby C R, Jr., et al. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade [J]. *Drug Resist Updat*, 2015, 18: 1-17.
- [26] Jin L, Xu M, Luo X H, et al. Stephania tetrandra and ginseng-containing Chinese herbal formulation NSENL reverses cisplatin resistance in lung cancer xenografts [J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(2): 385-401.
- [27] Kusunoki Y, Ikarashi N, Matsuda S, et al. Expression of hepatic cytochrome P450 in a mouse model of ulcerative colitis changes with pathological conditions [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30(11): 1618-1626.
- [28] Ufer M, Hasler R, Jacobs G, et al. Decreased sigmoidal ABCB1 (P-glycoprotein) expression in ulcerative colitis is associated with disease activity [J]. *Pharmacogenomics*, 2009, 10(12): 1941-1953.
- [29] Agarwal V, Mittal S K, Misra R. Expression of multidrug resistance-1 protein correlates with disease activity rather than the refractoriness to methotrexate therapy in rheumatoid arthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2009, 28(4): 427-433.
- [30] Mimura H, Kobayashi K, Xu L, et al. Effects of cytokines on CYP3A4 expression and reversal of the effects by anti-cytokine agents in the three-dimensionally cultured human hepatoma cell line FLC-4 [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2015, 30(1): 105-110.
- [31] Alexandre J, Rey E, Girre V, et al. Relationship between cytochrome 3A activity, inflammatory status and the risk of docetaxel-induced febrile neutropenia: a prospective study [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(1): 168-172.
- [32] Park S Y, Han J, Kim J B, et al. Interleukin-8 is related to poor chemotherapeutic response and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(2): 341-350.
- [33] De-Oliveira A C, Poca K S, Totino P R, et al. Modulation of cytochrome P450 2A5 activity by lipopolysaccharide: low - dose effects and non-monotonic dose-response relationship [J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0117842.
- [34] Keller R, Klein M, Thomas M, et al. Coordinating role of RXR $\alpha$  in downregulating hepatic detoxification during inflammation revealed by Fuzzy-Logic modeling [J]. *PLoS Comput Biol*, 2016, 12(1): e1004431.
- [35] Kusunoki Y, Ikarashi N, Hayakawa Y, et al. Hepatic early inflammation induces downregulation of hepatic cytochrome P450 expression and metabolic activity in the dextran sulfate sodium-induced murine colitis [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 54: 17-27.
- [36] Liu X C, Lian W, Zhang L J, et al. Interleukin-18 down-regulates multidrug resistance-associated protein 2 expression through farnesoid X receptor Associated with Nuclear Factor Kappa B and Yin Yang 1 in Human Hepatoma HepG2 Cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136215.
- [37] Mitsui Y, Chang I, Kato T, et al. Functional role and tobacco smoking effects on methylation of CYP1A1 gene in prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31): 49107-49121.
- [38] Liu Y, Zheng X, Yu Q, et al. Epigenetic activation of the drug transporter OCT2 sensitizes renal cell carcinoma to oxaliplatin [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(348): 348ra397.
- [39] Ramnath N, Nadal E, Jeon CK, et al. Epigenetic

- regulation of vitamin D metabolism in human lung adenocarcinoma [J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(4): 473-482.
- [40] Sike A, Nagy E, Vedelek B, et al. mRNA levels of related Abcb genes change opposite to each other upon histone deacetylase inhibition in drug-resistant rat hepatoma cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84915.
- [41] Ikehata M, Ueda K, Iwakawa S. Different involvement of DNA methylation and histone deacetylation in the expression of solute-carrier transporters in 4 colon cancer cell lines [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(3): 301-307.
- [42] Chang I, Mitsui Y, Fukuhara S, et al. Loss of miR-200c up-regulates CYP1B1 and confers docetaxel resistance in renal cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 7774-7787.
- [43] Wijayakumara D D, Hu D G, Meech R, et al. Regulation of human UGT2B15 and UGT2B17 by miR-376c in prostate cancer cell lines [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2015, 354(3): 417-425.
- [44] Margaillan G, Levesque E, Guillemette C. Epigenetic regulation of steroid inactivating UDP-glucuronosyltransferases by microRNAs in prostate cancer [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2016, 155(Pt A): 85-93.
- [45] Liang Z, Wu H, Xia J, et al. Involvement of miR-326 in chemotherapy resistance of breast cancer through modulating expression of multidrug resistance-associated protein 1 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79(6): 817-824.
- [46] Salman ED, He D, Runge-Morris M, et al. Site-directed mutagenesis of human cytosolic sulfotransferase (SULT) 2B1b to phospho-mimetic Ser348Asp results in an isoform with increased catalytic activity [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2011, 127(3/5): 315-323.
- [47] Katayama K, Yamaguchi M, Noguchi K, et al. Protein phosphatase complex PP5/PPP2R3C dephosphorylates P-glycoprotein/ABCB1 and down-regulates the expression and function [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345(1): 124-131.
- [48] Wojtowicz K, Januchowski R, Nowicki M, et al. Inhibition of protein glycosylation reverses the MDR phenotype of cancer cell lines [J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 74: 49-56.
- [49] Guo J, Thiess S, Johansson I, et al. Membrane topology and search for potential redox partners of colon cancer-specific cytochrome P450 2W1 [J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(3): 330-339.
- [50] Ishihara Y, Hamaguchi A, Sekine M, et al. Accumulation of cytochrome P450 induced by proteasome inhibition during cardiac ischemia [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 527(1): 16-22.
- [51] Katayama K, Noguchi K, Sugimoto Y. FBXO15 regulates P-glycoprotein/ABCB1 expression through the ubiquitin--proteasome pathway in cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(6): 694-702.
- [52] Minami H, Kawada K, Sasaki Y, et al. Population pharmacokinetics of docetaxel in patients with hepatic dysfunction treated in an oncology practice [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(1): 144-149.
- [53] Benjamin R S, Wiernik P H, Bachur N R. Adriamycin chemotherapy--efficacy, safety, and pharmacologic basis of an intermittent single high-dosage schedule [J]. *Cancer*, 1974, 33(1): 19-27.
- [54] Lichtman S M, Wildiers H, Launay-Vacher V, et al. International society of geriatric oncology (SIOG) recommendations for the adjustment of dosing in elderly cancer patients with renal insufficiency [J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(1): 14-34.
- [55] Rambiritch V, Naidoo P, Pillai G. Glibenclamide population pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in South African type 2 diabetic subjects [J]. *Clin Pharmacol*, 2016, 8: 141-153.
- [56] Berges A, Bullman J, Bates S, et al. Ozanezumab dose selection for amyotrophic lateral sclerosis by pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of immunohistochemistry data from patient muscle biopsies [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0117355.
- [57] Rowland M. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulations principles, methods, and applications in the pharmaceutical industry [J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2013, 2(7): 1-2.
- [58] Li R, Barton H A, Maurer T S. A mechanistic pharmacokinetic model for liver transporter substrates under liver cirrhosis conditions [J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2015, 4(6): 338-349.
- [59] Emoto C, Johnson T N, McPhail B T, et al. Using a vancomycin PBPK model in special populations to elucidate case-based clinical PK observations [J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2018, 7(4): 237-250.
- [60] Rasool M F, Khalil F, Laer S. Optimizing the clinical use of carvedilol in liver cirrhosis using a physiologically based pharmacokinetic modeling approach [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2017, 42(3): 383-396.