

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.07.010

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190128.0901.016.html(2019-01-29)

## IL-4 和 IL-10 基因多态性与肾移植受者环孢素致肝损伤的相关性研究\*

艾阳文<sup>1,2</sup>, 刘飞<sup>2</sup>, 李维亮<sup>2</sup>, 陈晓华<sup>2</sup>, 熊磊<sup>2</sup>, 余爱荣<sup>2</sup>, 辛华雯<sup>1,2△</sup>

(1. 南方医科大学药学院, 广州 510515; 2. 中部战区总医院临床药理科, 武汉 430070)

**[摘要]** **目的** 探讨肾移植受者白细胞介素(IL)-4 和 IL-10 基因多态性与环孢素(CsA)致肝损伤易感性的相关性。**方法** 将入组的 188 例肾移植受者分为肝损伤组(16 例)和对照组(172 例),采用多重 PCR 技术和高通量二代测序技术对 IL-4 基因的 2 个单核苷酸多态性(SNP)位点(rs2070874,rs2243250)及 IL-10 基因的 3 个 SNP 位点(rs1800871,rs1800872,rs1800896)进行基因分型,并比较以上位点的等位基因、基因型及单倍型在肝损伤组和对照组间的分布差异。**结果** IL-4 的 rs2070874,rs2243250 位点等位基因及基因型在两组间的分布频率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。IL-10 的 rs1800871,rs1800872,rs1800896 位点等位基因及基因型在两组间的分布频率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。IL-10 的 C-A-A 单倍型是 CsA 致肝损伤组的危险因素( $OR=10.68, P=0.013$ ),而 IL-10 其余单倍型及 IL-4 各单倍型与 CsA 所致肝损伤无明显相关性( $P>0.05$ )。IL-4 rs2070874 和 rs2243250 位点相加模型及隐性模型的 CsA 血药浓度在术后 1 个月有明显差异( $P^{Add}=0.0023, P^{Rec}=0.0032; P^{Add}=0.0207, P^{Rec}=0.0376$ );在术后 3 个月,IL-10 rs1800872 位点显性模型的 CsA 血药浓度有明显差异( $P^{dom}=0.0479$ );而在移植术后其余时间点,IL-4、IL-10 基因多态性对 CsA 血药浓度无明显影响( $P>0.05$ )。**结论** IL-10 的 C-A-A 单倍型是 CsA 致肝损伤组的危险因素;IL-4 和 IL-10 位点多态性对少数 CsA 血药浓度有影响。

**[关键词]** 环孢素;肝损伤;白细胞介素-4;白细胞介素-10;多态性,单核苷酸

**[中图分类号]** R969.4

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2019)07-1118-06

### Association of IL-4 and IL-10 polymorphisms with cyclosporine drug-induced hepatotoxicity in Chinese renal transplant recipients\*

AI Yangwen<sup>1,2</sup>, LIU Fei<sup>2</sup>, LI Weiliang<sup>2</sup>, CHEN Xiaohua<sup>2</sup>, XIONG Lei<sup>2</sup>, YU Airong<sup>2</sup>, XIN Huawen<sup>1,2△</sup>

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University,

Guangzhou, Guangdong 510515, China; 2. Department of Clinical Pharmacology, Wuhan General Hospital of Central Theater Command, Wuhan, Hubei 430070, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the association between interleukin (IL)-4 and IL-10 gene polymorphisms and susceptibility to liver injury induced by cyclosporine (CsA) in renal transplant recipients. **Methods** A total of 188 renal transplant recipients were divided into two groups: the liver injury group (16 cases) and the control group (172 cases). Two single nucleotide polymorphism (SNP) sites (rs2070874, rs2243250) of IL-4 gene and three SNP sites (rs1800871, rs1800872, rs1800896) of IL-10 gene were identified by multiplex PCR and high-throughput second-generation sequencing technology. The distributions of alleles, genotypes and haplotypes of the above sites were compared between the liver injury group and the control group. **Results** There was no significant difference in the frequencies of rs2070874 and rs2243250 alleles and genotypes of IL-4 between the liver injury group and the control group ( $P>0.05$ ). There was no significant difference in the frequencies of rs1800871, rs1800872, rs1800896 alleles and genotypes of IL-10 between the liver injury group and the control group ( $P>0.05$ ). The C-A-A haplotype of IL-10 was a risk factor for CsA-induced liver injury ( $OR=10.68, P=0.013$ ). There was no significant correlation of remaining haplotypes of IL-10 and all haplotypes of IL-4 with liver injury induced by CsA ( $P>0.05$ ). There was a significant difference in the plasma concentration of CsA between the IL-4 rs2070874 and rs2243250 loci plus model and the recessive model at 1 month postoperatively ( $P^{Add}=0.0023, P^{Rec}=0.0032; P^{Add}=0.0207, P^{Rec}=0.0376$ ); 3 months after surgery, significant difference was observed in the plasma concentration of CsA on IL-10 rs1800872 loci

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81573506)。 作者简介:艾阳文(1993-),初级药师,硕士,主要从事临床药理的研究。 △ 通

信作者, E-mail: huawenxin@163.com。

dominant model ( $P^{\text{dom}}=0.0479$ ); and at the rest time of post-transplantation, IL-4 and IL-10 gene polymorphisms had no significant effect on plasma concentration of CsA ( $P>0.05$ ). **Conclusion** IL-10 C-A-A haplotype is a risk factor for CsA-induced liver injury; IL-4 and IL-10 gene polymorphisms have a small effect on CsA plasma concentrations.

[Key words] cyclosporine; liver injury; interleukin-4; interleukin-10; polymorphism, single nucleotide

环孢素(cyclosporine, CsA)是肾移植术中常用的免疫抑制剂,由于具有治疗指数窄、个体间生物利用度差异较大的特点,不良反应时有发生,CsA在临床广泛应用的同时,其所致不良反应,尤其是肝功能异常损伤也引起了关注<sup>[1]</sup>。近年来,随着药物基因组学研究和药物基因组学研究的深入,认为年龄、性别、药物相互作用等许多非遗传因素会造成药动学的差异,但20%~95%药物反应的个体差异却是由遗传因素引起<sup>[2]</sup>。白细胞介素(IL)-4和IL-10均为体内的多效抗炎细胞因子,参与调节机体的免疫反应和炎症反应<sup>[3]</sup>。IL-10可以通过抑制T淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突细胞、肥大细胞等细胞介导的免疫应答,抑制促炎细胞因子mRNA的表达,从而抑制促炎因子的合成和释放,维持体内免疫反应与炎症反应平衡。已有研究报道IL-4和IL-10与多种肝脏疾病,如慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、酒精性肝炎等免疫性肝损伤及部分药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)相关,但IL-4和IL-10基因多态性是否与肾移植受者CsA所致肝损伤相关目前国内外尚未见报道。因此,本研究选取了IL-4基因的rs2070874、rs2243250,以及IL-10基因的rs1800871、rs1800872、rs1800896位点作为研究对象,旨在探究上述基因多态性与肾移植术后CsA所致肝毒性的相关性,为寻求肾移植术后肝损伤的易感基因及术后合理用药提供参考依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取在中部战区总医院进行同种异体肾移植术3年以上并服用CsA的患者。年龄、性别不限,无严重心脏疾病,随访资料齐全。入选患者均使用CsA+吗替麦考酚酯(MMF)+泼尼松的三联免疫治疗方案。本研究经中部战区总医院伦理委员会审核通过,所有受试对象均了解本研究的目的及实施方案且均签署知情同意书。排除标准:排除术后失访、术后第1周死亡、术后第1个月移植肾失功、使用他克莫司或使用西罗莫司的患者,排除有其他致肝功能异常的因素(如病毒或细菌感染、胆道疾患、其他药物所致肝功能异常等)、移植术后3年内肝功能资料不全的患者。共有188例患者入组,男126例、女62例。将患者分为CsA所致肝损伤组(16例)和肝功能正常的对照组(172例)。分组标准:对照组术前丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TB)、直接胆红素(DB)正常,术后服用CsA等免疫抑制剂后,随访期间AST、ALT小于40 U/L,且TB<20 μmol/L、DB<5 μmol/L。CsA所致肝损

伤组:(1)术前ALT、AST、TB、DB均正常,术后服用CsA后,ALT、AST峰值大于或等于3 ULN(临床正常上限)或TB、DB大于3 ULN;(2)减少CsA给药剂量或撤药后肝损伤减轻或恢复正常;(3)排除其他致肝功能异常的因素(如病毒或细菌感染、胆道疾患、其他药物所致肝功能异常等)。两组在性别组成、移植时年龄、体质量、体质量指数(BMI),以及移植术后7 d、1个月、3个月、6个月、1年、2年、3年的CsA口服日剂量上比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

## 1.2 方法

**1.2.1 观察指标** 统计所有受试对象的性别、移植时年龄、身高、体质量、BMI、肾源(尸肾或亲属移植)、原发肾疾病、移植时间、吸烟史、乙型肝炎和丙型肝炎感染史、结核病史、高血压病史、糖尿病史、有无急性排异等一般临床资料,以及移植术后7 d、1个月、3个月、6个月、1年、2年、3年的CsA口服日剂量及血药浓度、肝肾功能、空腹血糖(FPG)、血脂、血常规、血压等实验室检测结果。

**1.2.2 CsA血药浓度检测** 采用荧光偏振免疫法在TDx(美国Abbott Laboratories公司)分析仪上检测全血中CsA水平。所有检测试剂、标准品和质控均购自美国雅培公司。CsA在150~800 μg/L范围内日内和日间变异小于4%,最低检测限25 μg/L。

**1.2.3 基因型检测** 采集肾移植受者血样1 mL,采用Maxwell® RSC Whole Blood DNA Kit(美国Promega公司)提取血液中基因组DNA,并利用紫外分光光度计进行质量控制。IL-4、IL-10各单核苷酸多态性(SNP)位点信息,见表1。rs2070874,rs2243250,rs1800871,rs1800872,rs1800896位点引物设计见表2。

**1.2.4 PCR片段测序** 采用多重PCR技术结合高通量二代测序技术对IL-4、IL-10的各SNP位点进行测序。在单管内进行多重PCR扩增,纯化后的PCR产物于Ion torrent PGM测序仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)上测序。

表1 IL-4、IL-10各SNP位点信息

基因	SNP位点	位置	突变类型	核酸变异
IL-4	rs2070874	Chromosome 5;132009710	5'UTR	T>C
	rs2243250	Chromosome 5;132009154	5' near gene	T>C
IL-10	rs1800871	Chromosome 1;206946634	5' near gene	T>C
	rs1800872	Chromosome 1;206946407	5' near gene	A>C
	rs1800896	Chromosome 1;206946897	5' near gene	A>G

**1.2.5 PCR片段测序** 采用多重PCR技术结合高通量二代测序技术对IL-4、IL-10的各SNP位点进行

测序。在单管内进行多重 PCR 扩增,纯化后的 PCR 产物于 Ion torrent PGM 测序仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)上测序。

表 2 引物序列

基因	SNP 位点	引物序列
IL-4	rs2070874	F:5'-AGCATTGCATCGTTAGCTTCT-3' R:5'-GGGAAGCAGTTGGGAGGT-3'
	rs2243250	F:5'-CCTCACCTGATACGACCTGT-3' R:5'-AACAGGCAGACTCTCCTACC-3'
IL-10	rs1800871	F:5'-TGGTGTACAGTAGGGTGAGG-3' R:5'-TTTTATAGTGAGCAAACCTGAGGC-3'
	rs1800872	F:5'-GGTAAAGGAGCCTGGAACAC-3' R:5'-CCAAGCAGCCCTTCCATTTT-3'
	rs1800896	F:5'-TCCAAGACAACACTACTAAGGCT-3' R:5'-AAGGAAAAGAAGTCAGGATTTCA-3'

F:正向引物;R:反向引物

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用两独立样本  $t$  检验;计数资料采用例数或百分率表示,运用  $\chi^2$  检验分析各个多态位点的等位基因、基因型及显性基因模型、隐性基因模型、相加基因模型在两组间的差异,并计算等位基因、基因型的优势比(OR)及其 95%置信区间(CI)。运用 SHEsis 遗传分析软件(<http://analysis.bio-x.cn>)进行 Hardy-Weinberg 平衡检验、连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)分析、单倍型分析。运用非参数检验分析各个多态位点的

显性基因模型、隐性基因模型、相加基因模型对 CsA 不同时间点血药浓度的影响。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般临床资料比较** 188 例肾移植者中 CsA 致肝损伤患者 16 例,肝损伤发生率为 8.5%,其中男性患者发生率为 9.5%(12/126),女性患者发生率为 6.4%(4/62),差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.504, P = 0.478$ )。

**2.2 IL-4 和 IL-10 基因各 SNP 位点的等位基因分布** IL-4、IL-10 各 SNP 位点的等位基因分布频率见表 3。IL-4 rs2070874 位点 C 等位基因在肾移植受者中突变率为 22.3%(83/372),肝损伤组为 12.5%(4/32),对照组为 23.2%(79/340)。IL-4 rs2243250 位点 C 等位基因在肾移植受者中突变率为 18.5%(69/372),肝损伤组为 9.4%(3/32),对照组为 19.4%(66/340)。IL-10 rs1800871 位点 C 等位基因在肾移植受者中突变率为 28.0%(104/372),肝损伤组为 25.0%(8/32),对照组为 28.2%(96/340)。IL-10 rs1800872 位点 C 等位基因在肾移植受者中突变率为 27.1%(102/376),肝损伤组为 21.9%(7/32),对照组为 27.6%(95/344)。IL-10 rs1800896 位点 G 等位基因在肾移植受者中突变率为 6.6%(24/364),肝损伤组为 3.1%(1/32),对照组为 6.9%(23/332)。以上各 SNP 位点等位基因在肝损伤组与对照组间分布频率比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 3 IL-4 和 IL-10 基因各 SNP 位点的等位基因分布[n(%)]

基因	SNP 位点	等位基因	肝损伤组(n=16)	对照组(n=172)	P	OR(95%CI)
IL-4	rs2070874	T	28(87.5)	261(76.8)	0.163	0.471(0.16~1.386)
		C	4(12.5)	79(23.2)		
	rs2243250	T	29(90.6)	274(80.6)	0.162	0.429(0.126~1.452)
		C	3(9.4)	66(19.4)		
IL-10	rs1800871	T	24(75.0)	244(71.8)	0.696	0.847(0.367~1.951)
		C	8(25.0)	96(28.2)		
	rs1800872	A	25(78.1)	249(72.4)	0.484	0.733(0.307~1.753)
		C	7(21.9)	95(27.6)		
	rs1800896	A	31(96.9)	309(93.1)	0.407	0.433(0.056~3.319)
		G	1(3.1)	23(6.9)		

**2.3 IL-4 和 IL-10 基因各 SNP 位点的基因型分布** IL-4、IL-10 各 SNP 位点基因型频率在 CsA 致肝损伤组和对照组中符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P > 0.05$ )。经  $\chi^2$  检验,IL-4 rs2070874、rs2243250 位点及 IL-10 rs1800871、rs1800872、rs1800896 位点各基因型在两组间分布频率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );IL-4 和 IL-10 各 SNP 位点的显性、隐性、相加模型在两组间分布频率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 4。

**2.4 单倍型分析** 运用 SHEsis 在线分析软件(<http://analysis.bio-x.cn>)对 IL-4 和 IL-10 的 SNP 位

点进行连锁不平衡分析,结果发现,IL-4 基因的 rs2070874 与 rs2243250 位点存在强连锁不平衡( $D' = 0.981, r = 0.763$ );IL-10 基因的 rs1800871、rs1800872、rs1800896 位点间存在完全连锁不平衡( $D' = 1.000, r > 0.184$ )。进一步对 IL-4、IL-10 的 SNP 位点进行单倍型分析,结果显示,IL-10 的 C-A-A 单倍型在两组间的分布比较,差异有统计学意义( $OR = 10.68, P = 0.013$ ),使 CsA 致肝损伤发生风险提高 10.68 倍,而 IL-10 其余单倍型及 IL-4 各单倍型与 CsA

表 4 IL-4 和 IL-10 基因各 SNP 位点的基因型分布[n(%)]

基因	SNP 位点	基因型	肝损伤组 (n=16)	对照组 (n=172)	基因型		模型	
					OR(95%CI)	P	模型	P
IL-4	rs2070874(T>C)	TT	12(75.00)	103(60.59)			Add	0.181
		CT	4(25.00)	55(32.35)	0.624(0.192~2.027)	0.430	Dom	0.272
		CC	0	12(7.06)	0.896(0.841~0.953)	0.603	Rec	0.257
	rs2243250(T>C)	TT	13(81.25)	116(68.24)			Add	0.202
		CT	3(18.75)	42(24.71)	0.637(0.173~2.348)	0.765	Dom	0.272
		CC	0	12(7.06)	0.906(0.857~0.958)	0.603	Rec	0.280
IL-10	rs1800871(T>C)	TT	10(62.50)	87(51.18)			Add	0.698
		CT	4(25.00)	70(41.18)	0.497(0.150~1.653)	0.247	Dom	0.496
		CC	2(12.55)	13(7.65)	1.338(0.263~6.805)	0.662	Rec	0.386
	rs1800872(A>C)	AA	11(68.75)	90(52.33)			Add	0.491
		AC	3(18.75)	69(40.12)	0.356(0.096~1.324)	0.110	Dom	0.208
		CC	2(12.50)	13(7.56)	1.259(0.250~6.329)	0.675	Rec	0.485
	rs1800896(A>G)	AA	15(93.75)	143(86.14)			Add	0.391
		AG	1(6.25)	23(13.86)	0.414(0.052~3.290)	0.699	Dom	0.391
		GG	0	0	—	—	—	—

Dom: 显性模型; Rec: 隐性模型; Add: 相加模型; —: 无数据

表 5 两组 IL-4、IL-10 的单倍型分布比较[n(%)]

基因	单倍型	肝损伤组(n=16)	对照组(n=172)	$\chi^2$	OR(95%CI)	P
IL-4 (rs2070874-rs2243250)	T-T	28(87.5)	260(76.5)	1.966	2.127(0.724~6.248)	0.161
	C-C	3(9.4)	65(19.1)	1.873	0.436(0.129~1.477)	0.171
	C-T	1(3.1)	14(4.1)	0.078	0.747(0.095~5.870)	0.781
	T-C	0	1(0.3)	—	—	—
IL-10 (rs1800871-rs1800872-rs1800896)	T-A-A	24(75.0)	239(72.0)	0.132	1.167(0.506~2.691)	0.716
	C-A-A	1(3.1)	1(0.3)	6.193	10.680(1.079~105.710)	0.013
	C-C-A	6(18.8)	69(20.8)	0.074	0.433(0.057~3.320)	0.407
	C-C-G	1(3.1)	23(6.9)	0.685	0.433(0.057~3.320)	0.716

所致肝损伤无明显相关性( $P < 0.05$ )。IL-4、IL-10 的单倍型在 CsA 致肝损伤组和对照组间分布, 见表 5。

**2.5 IL-4、IL-10 基因多态性对 CsA 血药浓度的影响** IL-4、IL-10 各位点基因多态性对 CsA 血药浓度的影响见表 6。结果显示: 术后 1 个月, IL-4 rs2070874、rs2243250 位点相加模型和隐性模型的

CsA 血药浓度比较, 差异有统计学意义( $P^{Add} = 0.0023$ ,  $P^{Rec} = 0.0032$ ;  $P^{Add} = 0.0207$ ,  $P^{Rec} = 0.0376$ ); 术后 3 个月, IL-10 rs1800872 位点显性模型的 CsA 血药浓度有显著性差异( $P^{Dom} = 0.0479$ ); 而在移植术后其余时间点, IL-4、IL-10 基因多态性对 CsA 血药浓度无明显影响( $P > 0.05$ )。

表 6 IL-4、IL-10 基因多态性对 CsA 血药浓度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

基因	SNP 位点	基因型	CsA 水平(ng/mL)						
			术后 7 d	术后 1 个月	术后 3 个月	术后 6 个月	术后 1 年	术后 2 年	术后 3 年
IL-4	rs2070874	CC	185.44±117.68	261.04±119.84	228.28±32.64	172.1±13.47	105.06±64.46	79.29±42.84	133.79±27.93
		CT	206.18±77.76	270.31±102.77	253.22±80.62	182.89±52.53	173.27±60.86	130.24±29.45	128.30±42.32
		TT	182.24±62.93	257.00±87.48	249.78±102.01	210.16±51.18	173.08±59.48	136.69±42.10	120.32±37.43
		$P^{Add}$	0.3272	0.0023	0.1826	0.4082	0.5723	0.2353	0.2386
		$P^{Dom}$	0.6452	0.0807	0.6856	0.9258	0.1613	0.4071	0.1481
		$P^{Rec}$	0.3185	0.0032	0.1353	0.2798	0.9768	0.2819	0.4329
	rs2243250	CC	185.44±117.68	261.04±119.84	228.28±32.64	172.1±13.47	105.06±64.46	79.29±42.84	133.79±27.93
		CT	193.32±72.42	262.41±85.15	262.86±86.82	190.01±57.23	182.61±65.27	134.54±30.33	128.00±42.24
		TT	189.44±68.19	261.25±95.51	247.10±97.57	204.40±51.46	170.08±57.83	134.48±40.65	121.43±38.23
	$P^{Add}$	0.8182	0.0207	0.1669	0.6443	0.8181	0.6342	0.4898	
	$P^{Dom}$	0.6452	0.0807	0.6856	0.9258	0.1613	0.4071	0.1481	
	$P^{Rec}$	0.9539	0.0376	0.1076	0.5192	0.6773	0.8539	0.8535	

续表 6 IL-4、IL-10 基因多态性对 CsA 血药浓度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

基因	SNP 位点	基因型	CsA 水平(ng/mL)						
			术后 7 d	术后 1 个月	术后 3 个月	术后 6 个月	术后 1 年	术后 2 年	术后 3 年
IL-10	rs1800871	CC	197.25±64.99	280.39±153.16	220.09±55.51	173.65±43.36	170.18±37.17	137.23±54.36	120.10±79.06
		CT	187.54±72.75	265.06±84.77	261.54±82.01	204.56±57.00	170.91±60.44	134.61±45.58	122.43±31.35
		TT	191.63±69.23	254.70±88.94	244.58±108.19	200.19±48.72	171.33±64.95	130.22±29.31	124.86±36.30
		$P^{Add}$	0.559 9	0.804 1	0.127 4	0.679 6	0.628 6	0.481 1	0.285 2
		$P^{Dom}$	0.871 8	0.476 1	0.620 8	0.099 8	0.505 4	0.724 4	0.128 3
	rs1800872	AA	190.71±68.75	254.13±88.03	244.49±106.98	200.17±48.18	170.32±64.59	129.65±29.24	123.95±36.42
		AC	188.43±73.37	265.91±85.58	262.03±82.92	204.69±57.67	171.98±60.73	135.31±45.87	123.36±31.11
		CC	197.25±64.99	280.39±153.16	220.09±55.51	173.65±43.36	170.18±37.17	137.23±54.36	120.10±79.06
		$P^{Add}$	0.449 5	0.821 4	0.076 1	0.697 5	0.633 3	0.354 9	0.330 5
		$P^{Dom}$	0.390 2	0.926 7	0.047 9	0.701 1	0.814 2	0.328 3	0.696 6
	rs1800896	AA	190.83±63.61	262.73±90.90	250.67±94.62	199.88±53.28	173.23±60.32	133.64±37.33	123.39±39.66
		AG	193.48±101.6	257.45±108.19	228.38±34.25	199.22±48.97	162.49±56.08	131.44±44.22	121.83±37.68
		$P^{Add}$	0.275 2	0.267 6	0.413 2	0.668 6	0.444 6	0.756 3	0.592 1
		$P^{Dom}$	0.275 2	0.267 6	0.413 2	0.668 6	0.444 6	0.756 3	0.592 1
		$P^{Rec}$	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

$P^{Add}$ :相应基因型在相加模型中两组血药浓度比较; $P^{Dom}$ :相应基因型在显性模型中两组血药浓度比较; $P^{Rec}$ :相应基因型在隐性模型中两组血药浓度比较;NA:未分析

### 3 讨 论

DILI 包括药物及其代谢产物引起直接的细胞应激(内源性途径)及触发免疫反应介导的肝损伤(外源性途径)<sup>[4]</sup>。其中促炎因子与抗炎因子之间的平衡决定了肝损伤的易感性及严重程度。

IL-4、IL-10 是介导免疫性肝损伤的重要细胞因子,在慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、酒精性肝炎、自身免疫性肝炎等的发生、发展中起关键作用。IL-4 和 IL-10 与 DILI 相关。王兰等<sup>[5]</sup>对 3 种肝损伤患者 IL-10 的表达水平研究发现,IL-10 的表达在慢性乙型肝炎组、自身免疫性肝炎组、药物性肝炎组均有降低,提示 IL-10 在以上肝损伤模型中可能存在相似的作用机制,即抑制免疫细胞对肝细胞的破坏作用。动物实验研究表明,IL-10 具有抗炎和抑制免疫反应的功能,从而发挥肝脏保护作用。赵亚朴等<sup>[6]</sup>研究发现,IL-10+CD8<sup>+</sup>T 对 Con A 诱导的小鼠急性肝损伤有保护作用。程剑等<sup>[7]</sup>构建携带人 IL-10 基因的腺病毒载体 Ad5-hIL-10,发现采用 Ad5-hIL-10 进行预防性干预可以有效预防四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导的肝细胞损伤,提高肝细胞在损伤诱导剂存在情况下的存活率。IL-10 预防肝损伤主要是通过抑制 T 淋巴细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)、巨噬细胞等细胞介导的免疫应答,抑制炎症因子 mRNA 的表达,从而下调炎症因子的合成和释放<sup>[8]</sup>。因此,IL-10 可以减轻肝脏炎症反应,并降低各种肝损伤物质对肝细胞的毒性。IL-4 在 DILI 中具有双重作用,抑制对 CYP2E1 自身抗原的调节应答发挥抗炎作用,同时诱导对药物半抗原的促炎反应<sup>[9]</sup>。动物模型中发现,IL-4 介导双氯西林<sup>[10]</sup>、麻醉剂氟烷<sup>[11]</sup>、甲硫咪唑(MTZ)<sup>[12]</sup>诱导的小鼠肝损伤,并且在麻醉剂 DILI 中具有双重作用<sup>[13]</sup>。JARUGA

等<sup>[14]</sup>研究表明,IL-4/STAT6 通过增强肝细胞和窦内皮细胞中嗜酸细胞活化趋化因子的表达,并诱导 IL-5 表达,在 Con A 诱导的肝炎中起关键作用,从而促进嗜酸性粒细胞和嗜中性粒细胞向肝脏转移并导致肝炎。

IL-10 基因位于第 1 号染色体,包括 5 个外显子和 4 个内含子。对 IL-10 多态性的研究主要集中在启动子区的 IL-10-1082(G/A)、IL-10-819(C/T)、IL-10-592(C/A),其他大部分主要位于非编码区的内含子,IL-4 基因位于第 5 号染色体上。LIANG 等<sup>[15]</sup>研究表明,IL-10-592 A/C AA 基因型和 IL-10-819 T/C TT 基因型的遗传多态性会增加乳腺癌患者多西他赛诱导的肝损伤的发生率。WANG 等<sup>[16]</sup>研究表明,IL-4 和 IL-10 基因多态性与抗结核药物所致的肝毒性有明显相关性。IL-4、IL-10 的多态性可能导致其 mRNA 表达水平不同,从而产生不同的调节效应。

本课题组的系列研究是筛选 CsA 致肝损伤的易感基因,课题组前期已完成了针对 339 例服用 CsA 的肾移植受者 CYP3A4、CYP3A5、ABCB1、ABCC2、HLA-B 多态性与 CsA 药物肝损伤的关联性的研究,从药物代谢、转运及免疫调控等方面探究 CsA 致肝损伤的发病机制。前期研究表明,ABCC2 rs717620 的 AA 基因型是肾移植术后 CsA 肝功能异常发生的保护性因素;ABCC2 rs717620 的 GG 基因型、CYP3A5 \* 3、CYP3A4 \* 18B 的 \* 1/\* 1 基因型、ABCC2 的 GG/GG 和 ABCC2 的 GG/GA 单倍体基因型是肾移植术后发生 CsA 肝功能异常的危险基因因素;而 HLA-B \* 1502、ABCB1 1236C>T、ABCB1 2677G>T/A 和 ABCB1 3435C>T 多态性与 CsA 所致的肝损伤无明显相关性<sup>[17-19]</sup>。细胞因子在 DILI 的产生中发挥重要的调控作用,且移植

术后缺血再灌注损伤、免疫激活、内环境紊乱等可触发机体炎性反应,产生大量细胞因子。目前 CsA 致肝损伤是否与细胞因子相关国内外均未见报道,CsA 致肝损伤的机制是否与 IL-4、IL-10 相关尚不明确。因此,本课题在前期研究的基础上,继续探讨 IL-4、IL-10 与 CsA 致肝损伤的相关性,以期从多方面阐明 CsA 致肝损伤的发病机制。

本研究探讨 IL-4、IL-10 基因多态性与肾移植受者 CsA 所致肝损伤的相关性。研究结果显示,IL-4 的 rs2070874、rs2243250 位点和 IL-10 的 rs1800871、rs1800872、rs1800896 位点等位基因及基因型分布在 CsA 所致的肝损伤组与对照组间无明显差异,IL-10 的 C-A-A 单倍型是 CsA 致肝损伤组的危险因素( $P=0.013$ ),可使 CsA 致肝损伤的发生风险提高 10.68 倍,而 IL-10 其余单倍型及 IL-4 各单倍型与 CsA 所致肝损伤无明显相关性( $P>0.05$ )。IL-4 rs2070874 和 rs2243250 位点相加模型及隐性模型的 CsA 血药浓度在术后 1 个月有明显差异( $P^{\text{Add}}=0.0023$ , $P^{\text{Rec}}=0.0032$ ;  $P^{\text{Add}}=0.0207$ , $P^{\text{Rec}}=0.0376$ );在术后 3 个月,IL-10 rs1800872 位点显性模型的 CsA 血药浓度有显著性差异( $P^{\text{dom}}=0.0479$ );而在移植术后其余时间点,IL-4、IL-10 基因多态性对 CsA 血药浓度无明显影响( $P>0.05$ )。

综上所述,本研究探究 IL-4 基因的 rs2070874、rs2243250 位点及 IL-10 基因的 rs1800871、rs1800872、rs1800896 位点的基因多态性与肾移植术后 CsA 所致肝毒性的相关性,为寻求肾移植术后肝损伤的易感基因因素及术后合理用药提供参考依据。

## 参考文献

- [1] SALEM N A, SALEM E A, MAAROUF A M, et al. Protective effect of trapidil and L-arginine against renal and hepatic toxicity induced by cyclosporine in rats[J]. Ren Fail, 2010, 32(8): 959-968.
- [2] DE JONGE H, NAESSENS M, KUYPERS D R. New insights into the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the calcineurin inhibitors and mycophenolic acid possible consequences for therapeutic drug monitoring in solid organ transplantation[J]. Ther Drug Monit, 2009, 31(4): 416-435.
- [3] PACHKORIA K, LUCENA M I, CRESPO E, et al. Analysis of IL-10, IL-4 and TNF- polymorphisms in drug-induced liver injury (DILI) and its outcome[J]. J Hepatol, 2008, 49(1): 107-114.
- [4] 滕光菊, 孙颖, 常彬霞, 等. 药物性肝损伤的致病机制及影响因素[J]. 肝脏, 2011, 16(6): 497-500.
- [5] 王兰, 杨瑞宁. IL-9、IL-10 在免疫性肝损伤中的作用及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(20): 3011-3014.
- [6] 赵亚朴, 郭永亮. IL-4 诱导 CD8<sup>+</sup> T 细胞分化为 IL-10 分泌性 CD8<sup>+</sup> T 细胞[J]. 解放军预防医学杂志, 2014, 32(4): 296-298.
- [7] 程剑, 沈晓洁, 刘艳. 携带人 IL-10 基因的腺病毒载体的构建及其对大鼠肝细胞损伤的保护作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2013, 57(4): 477-480.
- [8] 胡良凯, 陈颖伟, 李定国. 白介素-10 在抗肝纤维化中的作用[J]. 国际消化病杂志, 2004, 24(4): 210-212.
- [9] NJOKU D B, LI Z, WASHINGTON N D, et al. Suppressive and pro-inflammatory roles for IL-4 in the pathogenesis of experimental drug-induced liver injury[J]. Eur J Immunol, 2009, 39(6): 1652-1663.
- [10] HIGUCHI S, KOBAYASHI M, YOSHIKAWA Y, et al. IL-4 mediates dicloxacillin-induced liver injury in mice[J]. Toxicol Lett, 2011, 200(3): 139-145.
- [11] PROCTOR W R, CHAKRABORTY M, FULLERTON A M, et al. Thymic stromal lymphopoietin and interleukin-4 mediate the pathogenesis of halothane-induced liver injury in mice[J]. Hepatology, 2014, 60(5): 1741-1752.
- [12] NIOKU D B. Suppressive and pro-inflammatory roles for IL-4 in the pathogenesis of experimental drug-induced liver injury: a review[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2010, 6(5): 519-521.
- [13] KOBAYASHI M, HIGUCHI S, IDE M, et al. Th2 cytokine-mediated methimazole-induced acute liver injury in mice[J]. J Appl Toxicol, 2012, 32(10): 823-833.
- [14] JARUGA B, HONG F, SUN R, et al. Crucial role of IL-4/STAT 6 in T cell-mediated hepatitis: up-regulating eotaxins and IL-5 and recruiting leukocytes[J]. J Immunol, 2003, 171(6): 3233-3244.
- [15] LIANG X, ZHANG J, ZHU Y, et al. Specific genetic polymorphisms of IL10-592 AA and IL10-819 TT genotypes lead to the key role for inducing docetaxel-induced liver injury in breast cancer patients[J]. Clin Transl Oncol, 2013, 15(4): 331-334.
- [16] WANG J, CHEN R, TANG S, et al. Interleukin-4 and interleukin-10 polymorphisms and antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Chinese population[J]. J Clin Pharm Ther, 2015, 40(2): 186-191.
- [17] 辛华雯, 刘慧明, 李元启, 等. ABCB1 基因多态性与肾移植受者环孢素所致肝功能异常的相关性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 27(5): 778-785.
- [18] 辛华雯, 熊磊, 刘慧明, 等. ABCC2 基因多态性与肾移植受者环孢素所致肝功能异常的相关性研究[C]//第十届全国药物和化学异物代谢学术会议暨第三届国际 ISSX/CSSX 联合学术会议论文集. 南京: 中国药理学会, 2012: 81-82.
- [19] XIN H W, LIU H M, LI Y Q, et al. Association of CYP3A4 \* 18B and CYP3A5 \* 3 polymorphism with cyclosporine-related liver injury in Chinese renal transplant recipients[J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2014, 52(6): 497-503.