

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.09.018

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230328.1146.022.html\(2023-03-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230328.1146.022.html(2023-03-28))

探索 1 例依非韦伦相关药物性肝损伤的遗传代谢因素

孙 铭,谭朝霞,吴 峰,夏 杰,李露锋[△]

(陆军军医大学第一附属医院感染病科,重庆 400038)

[摘要] **目的** 探索 1 例依非韦伦(EFV)相关药物性肝损伤的获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者在停药 2 个月后仍进展为重度肝炎的遗传代谢因素。**方法** 回顾性分析该院收治的 1 例已接受 2 个月 EFV 治疗(600 mg/d,口服)且停药后仍进展为重度肝炎的 AIDS 患者资料,对其细胞色素氧化酶 P450 亚型 CYP2B6 基因的外显子进行一代测序。**结果** 患者 CYP2B6 基因存在 c.516G>T 的杂合变异。**结论** CYP2B6 基因 c.516G>T 的杂合变异患者高剂量服用 EFV 可进展为重度肝炎,临床需重视患者基因型并个性化给药。

[关键词] 依非韦伦;药物性肝损伤;CYP2B6;第一代测序技术;慢代谢型;药物蓄积

[中图分类号] R969 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)09-1368-05

Exploring the genetic and metabolic factors of a case of

efavirenz-related drug-induced liver injury

SUN Ge,TAN Zhaoxia,WU Feng,XIA Jie,LI Lufeng[△]

(Department of Infectious Diseases,First Hospital Affiliated to Army

Medical University,Chongqing 400038,China)

[Abstract] **Objective** To explore the genetic and metabolic factors of severe hepatitis progression in an acquired immune deficiency syndrome (AIDS) patient with efavirenz-related (EFV) drug-induced liver injury after two months of the drug withdrawal. **Methods** The retrospective analysis was performed on the data of an AIDS patient who had been treated with EFV for two months (600 mg/d, orally) and still progressed to severe hepatitis after the drug withdrawal, and the exon of cytochrome oxidase P450 subtype CYP2B6 gene was detected by the first generation sequencing. **Results** The CYP2B6 gene of the patient had heterozygous variation of c.516G>T. **Conclusion** Patients with heterozygous variation of CYP2B6 gene c.516G>T can progress to severe hepatitis after high-dose administration of EFV. Clinical attention should be paid to the genotype of patients and personalized drug administration.

[Key words] efavirenz; drug-induced liver injury; CYP2B6; first generation sequencing techniques; poor metabolisers; drug accumulation

依非韦伦(efavirenz, EFV)是一种非核苷类逆转录酶抑制剂,于 1998 年被批准使用,通常与另外两种核苷类逆转录酶抑制剂联合,用于治疗人类免疫缺陷病毒-1(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)感染患者。研究发现,神经系统反应、变态反应和肝损伤通常成为患者更换 EFV 的主要原因,其中 EFV 的神经系统反应是目前关注和研究最多的内容,不少文献也报道了其发生机制和个体化治疗指导意见^[1-3]。然而,关于 EFV 相关肝损伤的文献报道却很少,这部分患者通常因自身存在的肝脏疾病或 EFV

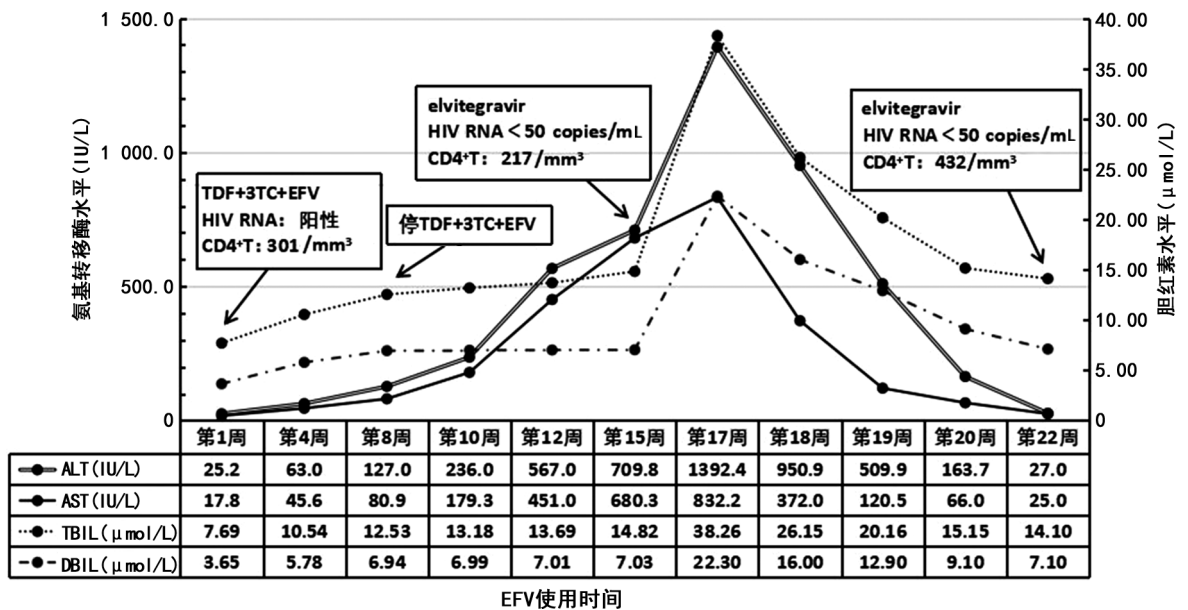
相关肝毒性而对其使用受限,极少数患者会发生急性肝衰竭甚至死亡。本文报道了 1 例发生 EFV 相关肝损伤的 40 岁男性获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)患者,该病例停药长达 2 个月后仍进展为重度肝炎,为探究其发病原因,利用药物基因检测的方法对患者细胞色素氧化酶 P450 亚型 CYP2B6 基因中 c.516G>T 的突变情况进行筛查,现报道如下。

1 临床资料

1.1 病例资料

患者男,46 岁,因“服用抗病毒药物[替诺福韦(TDF)+拉米夫定(3TC)+EFV]2 个月,肝功能异常 4 月余”于 2021 年 12 月 6 日收入本院。患者有冶游史,多次与不同性工作者发生无保护性行为,无饮酒及其他药物使用史。2021 年 7 月于当地医院体检时查 HIV 抗体阳性,送检至当地疾病预防控制中心行确证试验诊断为 HIV 感染,HIV RNA 具体不详,CD4⁺T 淋巴细胞为 301/mm³,给予“TDF 300 mg/d、3TC 300 mg/d、EFV 600 mg/d”抗逆转录病毒治疗(antiretroviral therapy,ART)。4 周后(2021 年 8 月),患者出现乏力、纳差,查肝功能提示氨基转移酶轻度升高,谷氨酸氨基转移酶(ALT)为 63.0 IU/L、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)为 45.6 IU/L、>1~<2 倍正常值上限(the upper limit of normality,ULN),总胆红素(total bilirubin,TBIL)正常,继续给予“TDF+3TC+EFV”治疗,同时给予“水飞蓟宾胶囊、谷胱甘肽片”保肝治疗。ART 8 周后(2021 年 9 月)复查肝功能提示氨基转移酶较前有所升高,ALT 为 127.0 IU/L,AST 为 80.9 IU/L,>2 ULN,TBIL 仍正常,停止 ART,继续给予保

肝治疗。患者分别于 ART 后第 10 周(2021 年 10 月)、第 12 周(2021 年 11 月)复查肝功能提示氨基转移酶进一步升高,TBIL 仍正常,ALT 分别为 236.0、567.0 IU/L,AST 分别为 179.3、451.0 IU/L,>5~<10 ULN,继续保肝治疗。ART 后第 15 周(2021 年 11 月 24 日)患者出现尿黄,到本院门诊就诊,查肝功能提示氨基转移酶重度升高,ALT 为 709.8 IU/L,AST 为 680.3 IU/L,>10 ULN,TBIL 为 14.82 μmol/L,HIV RNA <50 copies/mL,CD4⁺T 淋巴细胞为 217/mm³,腹部彩超无门静脉增宽、脾大等明显肝硬化表现,给予“艾考恩丙替片 510 mg/d”抗病毒治疗及“甘草酸二铵肠溶胶囊、熊去氧胆酸胶囊”保肝治疗,并于 ART 后第 17 周(2021 年 12 月 6 日)收入院治疗,查肝功能提示氨基转移酶较前进一步升高,ALT 为 1 392.4 IU/L,AST 为 832.2 IU/L,>20 ULN,TBIL 为 38.26 μmol/L,直接胆红素(direct bilirubin,DBIL)为 22.30 μmol/L,凝血酶原时间(prothrombin time,PT)为 11.7 s,患者患病期间氨基转移酶及胆红素水平变化情况见图 1。



elvitegravir:艾考恩丙替片。

图 1 患者患病期间氨基转移酶及胆红素水平变化情况

患者入本院后完善乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、戊型肝炎病毒(HEV)、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、巨细胞病毒等病毒标志物检测均阴性,抗核抗体、抗平滑肌抗体和抗线粒体抗体等自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎相关自身抗体检测均阴性。免疫球蛋白 G、铜蓝蛋白、α-1 抗胰蛋白酶、转铁蛋白等遗传代谢性肝病相关指标均正常。完善肝脏病理活检及免疫组织化学

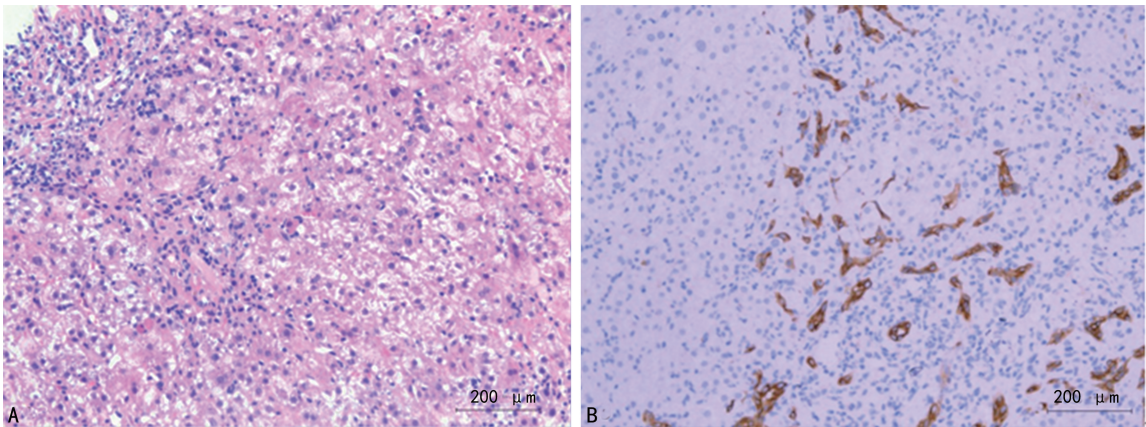
病理检查,病理活检提示:穿刺一条肝组织,可见 10 个完整汇管区,肝小叶结构紊乱,肝细胞可见中重度水肿。个别细胞呈羽毛样变性,可见界面炎,即碎片状坏死,和散在点灶状的小叶炎。坏死区周围较多淋巴细胞及浆细胞浸润,未见明显肝细胞玫瑰花结形成,未见明显脂肪变性。小叶间小动脉伴行的胆管显著增生,可见细胆管反应,并见淋巴细胞及散在浆细胞浸润。免疫组织化学病理检查提示:IgG(少许+),

IgG4(－),CK7(胆管＋),CD38(个别＋),CD138(个别＋),细胞增殖相关核抗原(Ki-67,10%＋),CD68(＋)。组织化学结果:抗酸染色(ACB)阴性,见图2。结合上述结果考虑慢性中度肝炎G2S1,目前自身免疫性肝炎诊断依据不足,结合用药史,考虑药物性肝损伤可能。因此,主要考虑诊断“药物性肝损伤,肝细胞损伤型,急性,Roussel Uclaf 因果关系评价表(RU-CAM)4分(可能),严重程度3级;AIDS”。继续给予“艾考恩丙替片”抗病毒治疗,同时给予“乙酰半胱氨酸注射液、异甘草酸镁注射液、丁二磺酸腺苷蛋氨酸注射液”保肝治疗。患者病情恢复顺利,复查肝功能显示氨基转移酶及胆红素水平逐渐下降并趋于正常,ART后第20周(2021年12月26日)查肝功能显示ALT为163.7 IU/L,AST为66.0 IU/L,TBIL正常,出院。

1.2 基因检测

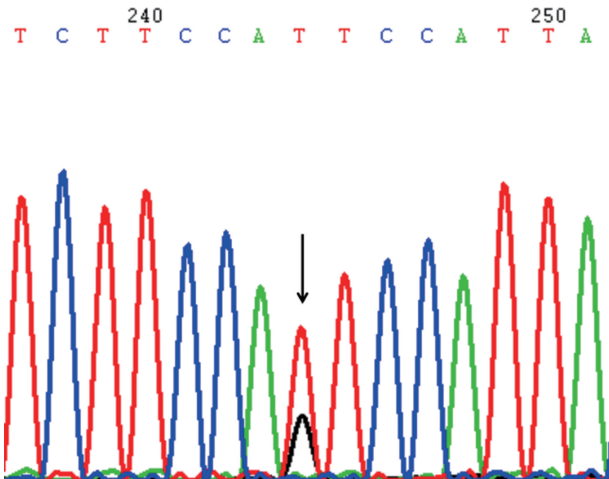
患者于2022年3月8日行基因检测。(1)引物

设计与合成。引物序列分别为3745274-正向:TTA CTC AGC CTC TCG GTC TG,3745274-反向:GGC CGA ATA CAG AGC TGA TG,由深圳华大基因有限公司合成。(2)基因组DNA制备及PCR扩增。采用Wizard Genomic DNA纯化试剂组(美国Promega公司)从5 mL新鲜全血中提取DNA。按DNA Taq聚合酶(北京鼎国长生生物技术有限公司)说明书配制成50 μL PCR反应体系,扩增引物用Primer3.0(美国马萨诸塞州怀海德研究所)设计,扩增条件:95℃ 2 min后,以94℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 40 s进行35个循环。(3)PCR产物纯化和测序。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳鉴定后,纯化特异性片段并使用原PCR扩增引物测序。(4)CYP2B6基因分型。测序结果采用BLAST程序及PolyPhred软件(<http://www.genome.washington.edu>)进行比对分析。(5)基因检测结果。该患者的CYP2B6基因中存在c.516G>T的杂合变异,即患者为GT型基因型,见图3。



A:苏木素-伊红染色;B:免疫组织化学染色。

图2 患者肝组织病理检查结果



箭头所示:突变位点。

图3 基因测序结果

1.3 治疗与随访

患者出院后继续使用“艾考恩丙替片”抗病毒治疗,口服“谷胱甘肽片、甘草酸二铵肠溶胶囊”保肝治疗。ART后第22周(2022年1月)门诊随访,查HIV RNA<50 copies/mL,CD4⁺T淋巴细胞数量为432/mm³,肝功能提示正常,ALT为27.0 IU/L,AST为25.0 IU/L,TBIL正常。

2 文献检索

在中国知网、万方、维普、百度学术、谷歌学术、PubMed、Elsevier、Web of Science、Embase等数据库检索“依非韦伦”“药物性肝损伤”“遗传多态性”“efavirenz”“drug-induced liver injury”“gene polymorphism”“CYP2B6”等关键词,检索到文献[1-17],并对EFV使用流程进行归纳及总结,见图4。

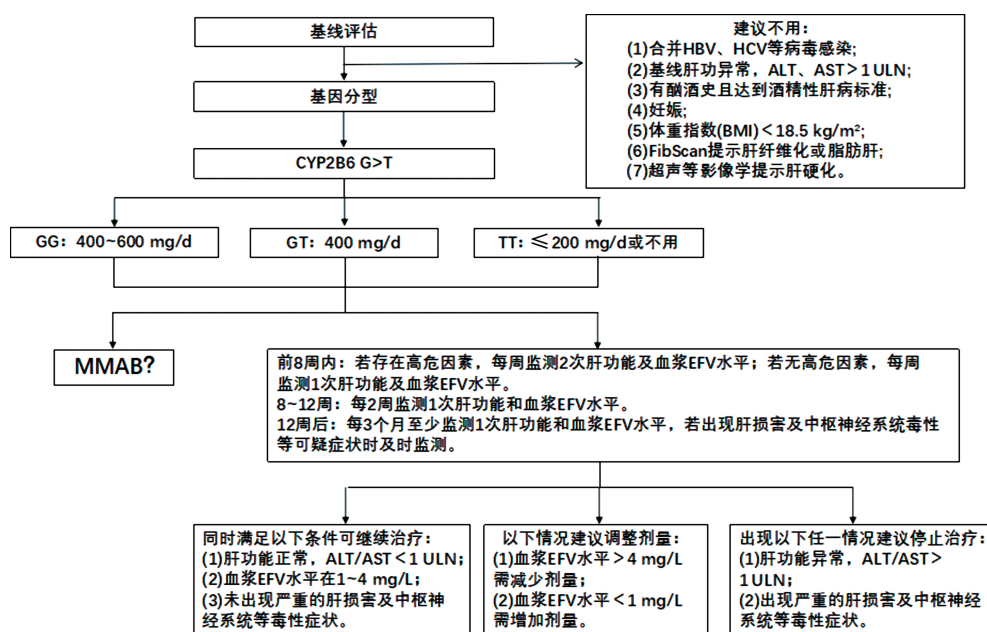


图 4 EFV 使用流程归纳与总结

3 讨 论

多项研究均报道接受 EFV 治疗的 AIDS 患者出现肝损伤通常是在开始治疗的前 8 周内,并可在 8 周内发展为重度肝损伤(ALT>5 ULN)^[4-5]。因此,前 8 周内密切监测血清氨基转移酶水平,对于早期识别和治疗肝损伤尤为重要。本文报道的病例在开始服用 EFV 4 周后即检测到肝功能异常,与上述文献报道相符,但在总病程第 17 周时(即停用 EFV 9 周后),才进展为重度肝损伤,考虑与患者基因组中 CYP2B6 基因存在 c. 516G>T 的杂合变异而导致药物蓄积及清除延迟相关。

HBV、HCV 等肝炎病毒合并感染是 EFV 相关肝损伤的主要危险因素,其他危险因素还包括同时合用蛋白酶抑制剂、酗酒、无症状性丙氨酸氨基转移酶和(或)AST 升高、体重指数(BMI)<18.5 kg/m²等^[6-8]。而最新研究表明,CYP2B6 基因的 c. 516G>T 变异所致药物代谢减慢是发生 EFV 相关肝损伤的最主要因素^[9]。EFV 在多种酶的作用下生成 8-羟化依非韦伦、8,14-二羟依非韦伦和 7-羟化依非韦伦等肝内代谢中间产物,然后在尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶(UGT)的作用下与葡萄糖醛酸结合经肾脏排泄出体外。在代谢过程中 CYP2B6 起到主要作用,而其他酶如 CYP3A4、CYP3A5、CYP1A2 和 CYP2A6 等作用甚微^[10]。CYP2B6 基因的 c. 516G>T 变异是 EFV 血药浓度个体差异的关键决定因素,可作为 EFV 初始剂量选择的依据^[11-12]。此外,若血浆 EFV 水平高于 4 mg/L,将增加中枢神经系统相关毒性的发生风险;若血浆 EFV 水平低于 1 mg/L,又将达不到抗病毒的治疗效果^[13]。研究发现,当 EFV 初始使用剂量为 400~600 mg 时,GG 基因型患者的血浆

EFV 水平为 1~4 mg/L;而对于 GT 基因型患者,使用小剂量(350~400 mg)EFV 其血浆水平仍能达到 1~4 mg/L,但如果使用大剂量(600 mg)EFV,则会有高达 85%的患者血浆 EFV 水平超过 4 mg/L(超出安全窗范围)。对于 TT 基因型患者则更甚之,当 EFV 初始使用剂量为 600 mg 时,几乎所有患者血浆 EFV 水平都超过 5 mg/L,且其中 85%的患者超过 15 mg/L,大大超出了安全范围;即便每天使用小剂量(400 mg),85%的患者血浆 EFV 水平仍超过 10 mg/L,另外 15%的患者血浆 EFV 水平也在 5 mg/L 左右;只有当减量至 100 mg 时,EFV 血浆水平才控制在 1~4 mg/L 的安全窗内^[9]。因此,建议 TT 基因型患者选择初始剂量为 200 mg,若出现相关毒性且治疗药物监测显示血浆 EFV 水平高于 4 mg/L 时,则可以进一步减少剂量至每天 100 mg^[9]。本文报道的病例每天 EFV 使用剂量为 600 mg,测序后证实其为 GT 型,该患者在存在 CYP2B6 c. 516G>T 变异的情况下使用了 600 mg 大剂量 EFV 是其发生肝损伤的根本原因。

中国汉族人群中 CYP2B6 基因 c. 516G>T 变异的突变频率高达 21%^[14]。另有研究报道,接受 EFV 的 HIV 感染者中 GG、GT 和 TT 基因型的比例分别为 46.9%(45/96)、45.8%(44/96)和 7.3%(7/96),GT 及 TT 基因型占比超过一半^[15]。因此,个体化使用 EFV 具有重要意义,根据包括 CYP2B6 的基因分型结果和血药浓度监测,进行 EFV 初始剂量的选择和使用过程中药物剂量的调整,可以防范和减少 EFV 相关药物不良反应的发生^[16]。此外,最新研究表明,EFV 在损伤肝细胞线粒体的过程中可使 MMAB[mitochondrial precursor Cob(I)yrinic acid a,c-diamide

adenosyltransferase]水平特异性升高,有望成为特异性诊断工具^[17]。

综上所述,EFV 相关肝损伤在使用者中不仅有一定的发生率,而且多个报道显示其可以进展为重度肝损伤,并且可导致患者出现肝衰竭甚至死亡。因此,对于接受 EFV 治疗,尤其是具有相关危险因素的患者,早期密切监测肝功能及定期复查血浆 EFV 水平对预防 EFV 相关肝损伤至关重要。在条件允许时,可对 CYP2B6 基因的 c. 516G>T 变异情况进行筛查,并根据患者基因型使用不同的初始剂量。

参考文献

- [1] 曹明雪,黄琳,封宇飞. 依非韦伦不良反应的文献分析[J]. 临床药物治疗杂志,2021,19(3):31-35.
- [2] 秦川,李爽,夏玉朝,等. 依非韦伦治疗艾滋病发生药物不良反应的回顾性分析[J]. 河南医学研究,2021,30(18):3305-3308.
- [3] 韩成钰,王欣,李侗曾. 依非韦伦中枢神经系统不良反应的发生机制和个体化治疗[J]. 中国病毒病杂志,2020,10(3):232-237.
- [4] SULKOWSKI M S, THOMAS D L, MEHTA S H, et al. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections[J]. Hepatology,2002,35(1):182-189.
- [5] YIMER G, AMOGNE W, HABTEWOLD A, et al. High plasma efavirenz level and CYP2B6 * 6 are associated with efavirenz-based HAART-induced liver injury in the treatment of naïve HIV patients from Ethiopia: a prospective cohort study[J]. Pharmacogenomics J,2012,12(6):499-506.
- [6] 彭文绣,付强,杜小莉,等. HBV/HCV 共感染对依非韦伦在 HIV/AIDS 患者血药浓度、疗效及肝毒性的影响[J]. 中国药理学杂志,2019,54(14):1162-1168.
- [7] DRAGOVIC G, NIKOLIC K, DIMITRIJEVIC B, et al. Severe hepatotoxicity induced by efavirenz in a treatment-naïve, low body mass index HIV-infected, female patient with no hepatitis and other virus co-infections[J]. Ultrastruct Pathol,2019,43(4/5):220-223.
- [8] BUDIMAN B, HARTANTRI Y, SUSANDI E, et al. Low body mass index as a risk factor for antiretroviral drug-related liver injury among HIV patients[J]. Acta Med Indones,2019,51(3):214-219.
- [9] HUI K H, LEE S S, LAM T N. Dose optimization of efavirenz based on individual CYP2B6 polymorphisms in Chinese patients positive for HIV[J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol,2016,5(4):182-191.
- [10] MCDONAGH E M, LAU J L, ALVARELLOS M L, et al. PharmGKB summary: efavirenz pathway, pharmacokinetics[J]. Pharmacogenet Genomics,2015,25(7):363-376.
- [11] 彭文绣,李太生,杜小莉. 基因多态性对 HIV/AIDS 患者依非韦伦血药浓度的影响[J]. 中国药师,2018,21(4):700-704.
- [12] NGAYO M O, OLUKA M, KWENA Z A, et al. Effects of cytochrome P450 2B6 and constitutive androstane receptor genetic variation on efavirenz plasma concentrations among HIV patients in Kenya[J/OL]. PLoS One,2022,17(3):e0260872[2022-05-21]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260872>.
- [13] KWARA A, LARTEY M, SAGOE K W, et al. CYP2B6 (c. 516G->T) and CYP2A6 (*9B and/or *17) polymorphisms are independent predictors of efavirenz plasma concentrations in HIV-infected patients[J]. Br J Clin Pharmacol,2009,67(4):427-436.
- [14] GUAN S, HUANG M, CHAN E, et al. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2B6 gene in Han Chinese[J]. Eur J Pharm Sci,2006,29(1):14-21.
- [15] ORTÍZ-RODRÍGUEZ M A, OAXACA-NAVARRO J, PATIÑO-CAMACHO S I, et al. Plasma levels of efavirenz and frequency of the CYP2B6 516G>T polymorphism in people living with HIV-1 in Mexico[J]. Pharmazie,2022,77(6):191-195.
- [16] DESTA Z, GAMMAL R S, GONG L, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for CYP2B6 and efavirenz-containing antiretroviral therapy[J]. Clin Pharmacol Ther,2019,106(4):726-733.
- [17] TAN Z, JIA X, MA F, et al. Increased MMAB level in mitochondria as a novel biomarker of hepatotoxicity induced by efavirenz[J/OL]. PLoS One,2017,12(11):e0188366[2022-05-21]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188366>.