

中图分类号: R969.3; R971.4 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)14-0059-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.14.013



新疆多民族使用拉莫三嗪双相情感障碍患者 HLA - B*1502 基因多态性研究*

赵婷, 李红健, 王婷婷, 冯杰, 张惠兰, 于鲁海[△]

(新疆维吾尔自治区人民医院药学部, 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 分析新疆维吾尔自治区使用拉莫三嗪的汉族、维吾尔族、哈萨克族、回族双相情感障碍患者的 HLA - B*1502 基因多态性。方法 采用荧光染色原位杂交技术检测 HLA - B*1502TA 和 HLA - B*1502TB 基因多态性, 并分析其临床应用效果。结果 HLA - B*1502TA (C > G) GG 型, 以及 HLA - B*1502TB (C > T) 的 CC 型和 CT 型及其 C 和 T 等位基因的频率在 4 个民族患者中均有显著差异 ($P < 0.05$)。5 例 (19.23%) 回族患者 HLA - B*1502 基因检测为阳性 (包含纯合突变与杂合突变), 明显少于汉族的 82 例 (34.75%)、维吾尔族的 70 例 (38.04%)、哈萨克族的 31 例 (48.44%), 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 但后 3 个民族患者间无显著差异 ($P > 0.05$); 且杂合突变型均多于纯合突变型。对于 HLA - B*1502 基因, 322 例野生型患者续用拉莫三嗪, 用药期间未发生皮肤不良反应; 8 例纯合突变型患者调整为其他作用机制的双相情感障碍治疗药物; 180 例杂合突变型患者中 37 例续用拉莫三嗪, 其中用药 3 周内发生斑丘疹 3 例, 中毒性表皮坏死松解症 1 例。结论 新疆维吾尔自治区内 4 个民族使用拉莫三嗪双相情感障碍患者的 HLA - B*1502 基因多态性有一定差异, 且与皮肤不良反应的发生有一定关联, 故有必要在用药前检测该基因多态性, 以及时评估并降低患者该皮肤不良反应的发生风险。

关键词: 新疆维吾尔自治区; 多民族; 双相情感障碍; 拉莫三嗪; 皮肤不良反应; HLA - B*1502 基因; 基因多态性

HLA - B*1502 Gene Polymorphism in Multiethnic Patients with Bipolar Disorder Using Lamotrigine in Xinjiang

ZHAO Ting, LI Hongjian, WANG Tingting, FENG Jie, ZHANG Huilan, YU Luhai

(Department of Pharmacy, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous, Urumqi, Xinjiang, China 830001)

Abstract: Objective To analyze the HLA - B*1502 gene polymorphism in Han, Uygur, Kazak and Hui patients with bipolar disorder using lamotrigine in Xinjiang Uygur Autonomous. **Methods** The HLA - B*1502TA and HLA - B*1502TB gene polymorphisms were tested by the fluorescence in situ hybridization (FISH), and their clinical application effects were analyzed. **Results** There were significant differences in HLA - B*1502TA (C > G) GG type, HLA - B*1502TB (C > T) CC type and CT type, HLA - B*1502TB C and T allele frequency distribution among the four ethnic groups ($P < 0.05$). There were five cases (19.23%) with positive HLA - B*1502 gene (including homozygous and heterozygous mutations) in the Hui nationality, which was significantly less than 82 cases (34.75%) in the Han nationality, 70 cases (38.04%) in the Uygur nationality and 31 cases (48.44%) in the Kazak nationality, with significant difference ($P < 0.01$), while those in the last three ethnic groups were similar ($P > 0.05$). Moreover, the heterozygous mutants of HLA - B*1502 gene were more than its homozygous mutants. For HLA - B*1502 gene, 322 patients with wild type continued to use lamotrigine, and no adverse skin reaction occurred during the medication; eight patients with homozygous mutant were adjusted to drugs with other mechanisms in the treatment of bipolar disorder; 37 of the 180 patients with heterozygous mutant continued to use lamotrigine, and three patients occurred maculopapule and one patient occurred toxic epidermal necrolysis within three weeks of medication. **Conclusion** The HLA - B*1502 gene polymorphism in patients with bipolar disorder using lamotrigine from the four ethnic groups in Xinjiang Uygur Autonomous is somewhat different, and is associated with the occurrence of adverse skin reactions. Therefore, it is necessary to perform the HLA - B*1502 gene polymorphism testing before medication to timely evaluate and reduce the risk of adverse skin reactions in patients.

Key words: Xinjiang Uygur Autonomous; multiethnic; bipolar disorder; lamotrigine; adverse skin reaction; HLA - B*1502 gene; gene polymorphism

双相情感障碍为严重的慢性情绪障碍, 以躁狂和抑郁交替或混合发病^[1], 患者起病年龄较小, 发作频繁, 自杀率高^[2-3]。拉莫三嗪 (LTG) 为新型广谱抗惊厥药

物, 主要用于双相情感障碍抑郁发作期及维持期治疗, 其中对抑郁发作的疗效更突出^[4]。临床发现, 患者服用拉莫三嗪常见皮疹、镇静、头晕、共济失调、嗜睡等不良

* 基金项目: 国家自然科学基金 [81460571]。

第一作者: 赵婷, 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为药物分析与临床药学, (电子信箱) 445839342@qq.com。

[△] 通信作者: 于鲁海, 男, 硕士, 主任药师, 研究方向为医院药学与药物分析, (电子信箱) 1523264450@qq.com。

反应,甚至发生药物超敏综合征(DIHS)、Steven Johnson综合征(SJS)和中毒性表皮坏死松解症(TEN)等严重危及生命的致死性不良反应^[5]。该不良反应属B型变态反应(与遗传有关),是目前有关遗传因素与药物过敏反应研究的焦点^[6]。人类白细胞抗原(HLA)是一组位于第6号染色体短臂6p21.3上的基因,分布具有明显的种群特性^[7]。国内外多项研究显示,HLA-B*1502基因与芳香族抗癫痫药物诱发的皮肤不良反应具有强相关性,且存在种族差异性^[7-8]。新疆多民族聚集,受地域因素的影响,居民饮食和生活习惯与其他地区存在差异^[9]。本研究中通过测定新疆维吾尔自治区内人口较多的4个民族(汉族、哈萨克族、维吾尔族、回族)双相情感障碍患者HLA-B*1502等位基因频率,评估患者使用拉莫三嗪诱发严重皮肤不良反应的风险,为其临床安全用药提供理论依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入标准:根据《国际疾病分类(第10版)》(ICD-10)诊断为双相情感障碍;已行HLA-B*1502基因多态性检测并出具基因检测报告;治疗方案中拉莫三嗪为初次使用。本研究经医院医学伦理委员会批准(伦理批件号2014037),患者及其家属均签署知情同意书。

排除标准:相关研究资料缺失;未进行基因检测或未检测HLA-B*1502TA(C>G)与HLA-B*1502TB(C>T)2个位点;已使用拉莫三嗪治疗2个月以上。

病例选择与分组:选取医院2019年1月至2022年8月收治的双相情感障碍且在初次服用拉莫三嗪前测定HLA-B*1502基因多态性的患者510例(涉及新疆维吾尔自治区人口较多的4个民族),根据该基因检测结果,将阴性、阳性结果患者分别作为未突变组和突变组(后者又分为杂合突变组和纯合突变组)。不同民族患者的年龄、性别无显著性差异($P>0.05$),但体质量指数(BMI)存在显著差异($P<0.05$)。详见表1。

1.2 仪器与试剂

仪器:Qubit 3.0型超微量核酸定量仪(美国Life

Invitrogen公司);TL 998A型荧光检测仪(西安天隆科技有限公司);荧光染色原位杂交及染色体核型分析系统(北京华夏时代基因科技发展有限公司)。

试剂:DNA提取试剂盒(北京天根生化公司,批号DP319-02);测序反应试剂盒,PHARM-GENE 01 SNP分析保存液(耀金保,规格为每瓶10 mL),PHARM-GENE 200 SNP分析样本处理试剂(耀金分,规格为每支25 μ L),均购自北京华夏时代基因科技发展有限公司。

1.3 样本采集与处理

抽取患者晨起后空腹外周静脉血2~3 mL,置乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管,提取DNA,测定DNA浓度和光密度比,质量浓度为30~40 ng/ μ L,光密度比(A_{260}/A_{280})为1.70~1.80,将DNA产物置-80℃冰箱保存,备用。

1.4 HLA-B*1502基因分析

PCR扩增:反应体系,扩增液22 μ L,反应液1.0 μ L,样本DNA 2.0 μ L。反应条件,95℃ 10 min;95℃ 10 min,95℃ 30 s,62℃ 75 s(50个循环);72℃ 5 min。

基因分型:采用荧光染色原位杂交检测方法,通过探针进行HLA-B*1502基因分型。吸取上述DNA样本2.0 μ L,分别加入HLA-B*1502TA(C>G)和HLA-B*1502TB(C>T)基因位点测序反应试剂,充分混匀,置荧光检测仪中,设置杂交程序,运行3.5 h,采用荧光原位杂交技术进行图像扫描与数据分析。

结果识读:采用荧光检测仪分析系统图像,得出各通道的信号值。以纯合/杂合的域值(2.5)分析判断基因型:野生型探针与突变型探针信号平均值比值(信号值小的/信号值大的)小于2.5,判定该检测点为杂合子;比值大于2.5,判定该检测点为信号值大的探针所对应的纯合子。

1.5 统计学处理

采用SPSS 25.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较行单因素方差分析。基因型频率和等位基因频率采用基因计数法计算,利用SHE sis-online软件(<http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>)进行Hardy-Weinberg平衡检验,数据以率(%)表示,组间比较行 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因与基因型频率

HLA-B*1502基因型频率和等位基因频率分布均符合Hardy-Weinberg平衡定律($P>0.05$)。其中HLA-B*1502TA(C>G)和HLA-B*1502TB(C>T)基因型频率和等位基因频率见表2。可见,HLA-B*1502TA GG基因型及HLA-B*1502TB CC和CT基因型

表1 不同民族患者一般资料比较

Tab.1 Comparison of the general data of patients from different ethnic groups

族别	性别(男/女,例)	年龄($\bar{X} \pm s$,岁)	BMI($\bar{X} \pm s$,kg/m ²)
汉族(n=236)	38/198	21.52 \pm 11.39	19.59 \pm 4.46
维吾尔族(n=184)	18/166	20.23 \pm 8.48	18.19 \pm 3.39
哈萨克族(n=64)	4/60	19.89 \pm 9.79	19.41 \pm 4.25
回族(n=26)	5/21	25.50 \pm 12.27	19.41 \pm 2.53
χ^2/F 值	7.696	2.446	4.547
P值	0.053	0.063	0.004

表2 HLA - B*1502基因型及等位基因频率分布[例(%)]

Tab. 2 Frequency distribution of HLA - B*1502 genotypes and alleles [case (%)]

基因	基因型/ 等位基因	汉族	维吾尔族	哈萨克族	回族	χ^2 值	P值
HLA - B*1502TA (C>G)	CC	211(89.41)	157(85.33)	50(78.12)	22(84.62)	4.729	0.193
	CG	25(10.59)	25(13.59)	12(18.75)	3(11.54)	3.156	0.368
	GG	0(0)	2(1.09)	2(3.12)	1(3.85)	86.653	<0.01
	C	447(94.70)	339(92.12)	112(87.50)	47(90.38)	4.055	0.256
HLA - B*1502TB (C>T)	CC	177(75.00)	139(75.54)	44(68.75)	24(92.31)	16.900	<0.01
	CT	54(22.88)	43(23.37)	19(29.69)	2(7.69)	15.552	<0.01
	TT	5(2.12)	2(1.09)	1(1.56)	0(0)	2.228	0.526
	C	408(86.44)	321(87.23)	107(83.59)	50(96.15)	8.173	0.043
	T	64(13.56)	47(12.77)	21(16.41)	2(3.85)		

频率在4个民族患者间有显著差异($P < 0.05$), HLA - B*1502TB C和T等位基因频率有显著差异($P < 0.05$)。

2.2 不同民族患者 HLA - B*1502 基因多态性比较

患者 HLA - B*1502 基因检测结果主要分为3种类型:未突变型(阴性), HLA - B*1502TA (C > G) CC型且 HLA - B*1502TB (C > T) CC型;杂合突变型(阳性), HLA - B*1502TA (C > G) CG型且 HLA - B*1502TB (C > T) CC型, HLA - B*1502TA (C > G) CC型且 HLA - B*1502TB (C > T) CT型, HLA - B*1502TA (C > G) CG型且 HLA - B*1502TB (C > T) CT型;纯合突变型(阳性), HLA - B*1502TA (C > G) GG型且 HLA - B*1502TB (C > T) CC型, HLA - B*1502TA (C > G) 为 CC型且 HLA - B*1502TB (C > T) TT型; HLA - B*1502TA (C > G) GG型且 HLA - B*1502TB (C > T) TT型。

基因多态性分析结果见表3。回族 HLA - B*1502 基因检测阴性结果频率显著高于其他3个民族($P < 0.01$), 阳性结果(仅杂合突变型)频率显著低于其他3个民族($P < 0.01$)。且其他3个民族 HLA - B*1502 基因检测阴性结果、阳性结果频率均无显著差异($P > 0.05$)。

表3 不同民族患者 HLA - B*1502 基因多态性分析(例/%)

Tab. 3 Analysis of HLA - B*1502 gene polymorphism in patients from different ethnic groups (case / %)

族别	阴性结果	阳性结果		
		合计	杂合突变型	纯合突变型
汉族(n=236)	154/65.25	82/34.75	80/33.90	2/0.85
维吾尔族(n=184)	114/61.96	70/38.04	68/36.96	2/1.09
哈萨克族(n=64)	33/51.56	31/48.44	28/43.75	3/4.69
回族(n=26)	21/80.77	5/19.23	4/15.38	1/3.85
χ^2/F 值	16.108	19.077	14.948	4.767
P值	0.001	<0.001	0.002	0.190

2.3 HLA - B*1502 基因检测阳性情况

不同民族患者的性别、年龄及BMI对 HLA - B*1502 基因检测阳性率均无显著影响($P > 0.05$)。详见表4。

表4 不同民族患者 HLA - B*1502 基因阳性情况比较

Tab. 4 Comparison of the positive testing result of HLA - B*1502 gene in patients with different ethnic groups

族别	基因检测结果	性别 (男/女,例)	年龄 ($\bar{X} \pm s$,岁)	BMI ($\bar{X} \pm s$,kg/m ²)
汉族	阳性(n=82)	15/67	21.23 ± 10.95	19.76 ± 4.55
	阴性(n=154)	23/131	21.67 ± 11.65	19.50 ± 4.42
	χ^2/t 值	0.327	-0.286	0.413
	P值	0.568	0.776	0.680
维吾尔族	阳性(n=70)	6/64	18.93 ± 7.17	18.62 ± 3.83
	阴性(n=114)	12/102	21.04 ± 9.13	17.92 ± 3.07
	χ^2/t 值	0.222	-1.740	1.300
	P值	0.637	0.084	0.196
哈萨克族	阳性(n=31)	2/29	19.61 ± 7.33	19.65 ± 3.78
	阴性(n=33)	2/31	20.15 ± 11.76	19.20 ± 4.69
	χ^2/t 值	0.000	-0.221	0.426
	P值	1.000	0.826	0.672
回族	阳性(n=5)	1/4	21.20 ± 2.17	18.81 ± 1.67
	阴性(n=21)	4/17	26.52 ± 13.48	19.56 ± 2.70
	χ^2/t 值	0.032	-1.719	-0.792
	P值	0.858	0.099	0.447

2.4 基因多态性的临床应用

研究期间对患者的拉莫三嗪个体化治疗进行指导,随访3个月以上。322例 HLA - B*1502 野生型(阴性)患者继续服用拉莫三嗪,用药期间均未发生DIHS、SJS、TEN和斑丘疹等皮肤不良反应;8例 HLA - B*1502 纯合突变型患者经干预后均停用拉莫三嗪,并调整为舍曲林、阿立哌唑和艾司西酞普兰等与拉莫三嗪作用机制不同的药物;已建议180例 HLA - B*1502 杂合突变型患者在临床治疗中避免使用拉莫三嗪,其中143例患者调整为其他作用机制的药物,但仍有37例患者继续使用拉莫三嗪。后者服药3周内4例发生皮肤不良反应,其中3例(汉族2例,维吾尔族1例)为斑丘疹,1例(维吾尔族)为TEN,均立即停药并对症处理,尚未发现致死病例。

3 讨论

目前,临床治疗双相情感障碍的首要方法是服用药物,必要时需住院治疗,这不仅严重降低了患者的生活质量,也给患者家庭和社会造成了严重的经济负担。目前拉莫三嗪已在本院开始用于双相情感障碍患者的治疗。其虽有生物利用度高、药物相互作用小、药物代谢动力学良好的特点^[4],但发生药品不良反应的概率亦较高,以皮肤不良反应较常见^[10],严重影响患者的健康,尤其

是SJS, TEN等严重危及生命的皮肤不良反应,在临床表现为急性进行性水疱样皮疹,伴紫斑和靶器官损害,躯干及四肢皮肤剥脱,可累及黏膜和内脏器官^[11]。

美国和中国的药品监督管理机构均已要求诺华制药公司在卡马西平药品说明书上加注警示语,要求亚裔患者人群在开始卡马西平治疗前可进行HLA-B*1502基因筛查,除非明确显示治疗效益大于风险,否则该等位基因检测结果为阳性者不得使用卡马西平治疗。拉莫三嗪、奥卡西平、苯妥英、苯巴比妥等药物因与卡马西平均属芳香族药物,化学结构相似,导致临床使用中出现的交叉反应,故均具有导致皮肤不良反应发生的风险。

近年来的多项研究也证实了HLA-B*1502基因与卡马西平和拉莫三嗪诱发SJS/TEN存在强相关性^[12-15]。但多个研究已证实HLA-B*1502等位基因频率与卡马西平和拉莫三嗪所致皮疹无明显相关性^[16-18],综合考虑,服用卡马西平、拉莫三嗪发生SJS/TEN等严重危及生命的皮肤不良反应风险与HLA基因多态性之间存在相关性,并具有明显的种族差异。本研究结果也证实了HLA-B*1502基因的种族差异性。

本研究纳入的4个民族患者HLA-B*1502基因检测阴性结果均明显多于阳性结果。HLA-B*1502阳性结果患者使用拉莫三嗪后存在发生皮肤不良反应的风险(尤其是杂合突变型风险较高),相应患者应避免使用拉莫三嗪。因此,前述4个民族人群有必要在使用拉莫三嗪前检测HLA-B*1502基因多态性。HLA-B*1502基因检测阴性患者在使用拉莫三嗪过程中DIHS, SJS, TEN, 斑丘疹等皮肤不良反应的发生风险较低,虽不排除轻度可控发生风险,但随访3个月以上,未见皮肤不良反应发生。根据该结果已建议患者可正常使用拉莫三嗪。同时,根据HLA-B*1502基因检测阳性结果患者皮肤不良反应发生情况,已建议HLA-B*1502杂合突变型患者在临床治疗中避免使用拉莫三嗪(其中37例继续使用拉莫三嗪,有3例在用药3周内发生斑丘疹,1例发生TEN),HLA-B*1502纯合突变型患者调整为其他作用机制的药物。

此外,510例患者中,180例(35.29%)有1个风险因子(HLA-B*1502TA和HLA-B*1502TB基因型分别为GC/CC或CC/CT),8例(1.57%)有2个风险因子(HLA-B*1502TA和HLA-B*1502TB基因型分别为GC/CT、GC/TT、GG/CT或GG/TT),使用拉莫三嗪过程中发生HSS, SJS, TEN, 斑丘疹等皮肤不良反应的风险均较高。根据基因检测结果,已建议前者避免使用拉莫三嗪,如已使用,则应严密观察皮肤反应,如出现,应予以停药和对症处理,并已建议后者禁用拉莫三嗪。

综上所述,本研究中将HLA-B*1502基因检测结果实际应用于临床治疗方案的制订,用药前严重不良反应的评估,具有较重要的临床意义。在今后临床使用拉莫三嗪治疗双相情感障碍患者的过程中,有必要继续对该药进行HLA-B*1502基因多态性检测,以便为临床安全用药提供理论依据。同时,后续研究中也将继续扩大样本量,深入探讨其发生机制。

参考文献

- [1] CARVALHO AF, FIRTH J, VIETA E. Bipolar Disorder [J]. N Engl J Med, 2020, 381(1): 58-66.
- [2] 王应谈, 卢喆, 寻广磊. 拉莫三嗪在精神科临床应用的研究进展[J]. 精神医学杂志, 2019, 32(6): 475-480.
- [3] 赵宣, 赵栋, 张佳, 等. 碳酸锂联合无抽搐电休克治疗对童年创伤双相情感障碍患者认知功能及社会行为的影响[J]. 中国药业, 2020, 29(20): 67-69.
- [4] 韩晶晶, 高鸿云. 心境稳定剂在治疗儿童精神障碍中的应用[J]. 上海医药, 2014(19): 5-8.
- [5] MARSON AG, AL-KHARUSI AM, ALWAIDH M, et al. The SANAD study of effectiveness of carbamazepine, gabapentin, lamotrigine, oxcarbazepine, or topiramate for treatment of partial epilepsy: an unblinded randomised controlled trial [J]. Lancet, 2007, 369(9566): 1000-1015.
- [6] WONG A, MALVESTITI AA, HAFNER MF. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review [J]. Rev Assoc Med Bras, 2016, 62(5): 468-473.
- [7] CHEN CB, HSIAO YH, WU T, et al. Risk and association of HLA with oxcarbazepine-induced cutaneous adverse reactions in Asians [J]. Neurology, 2017, 88(1): 78-86.
- [8] CHANG CC, TOO CL, WURAD S, et al. Association of HLA-B*1502 allele with carbamazepine-induced toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome in the multi-ethnic Malaysian population [J]. Int J Dermatol, 2011, 50(2): 221-224.
- [9] 于鲁海, 李红健, 赵婷, 等. 新疆癫痫患者HLA-B基因多态性与奥卡西平所致斑丘疹的相关性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(1): 13-16.
- [10] TOLEDANO R, GIL-NAGEL A. Adverse effects of anti-epileptic drugs [J]. Semin Neurol, 2008, 28(3): 317-327.
- [11] ZHAO T, WANG TT, JIA L, et al. The Association Between HLA-A*03:01 and HLA-B*07:02 Alleles and Oxcarbazepine-induced Maculopapular Eruption in the Uighur Chinese Population [J]. Seizure, 2020, 81: 43-46.
- [12] SHAFENG N, HAN DF, MA YF, et al. Association between the HLA-B*1502 gene and mild maculopapular exanthema induced by antiepileptic drugs in Northwest China [J]. BMC Neurol, 2021, 21(1): 340.
- [13] SARGENT B, JUHASZ MLW, JOE VC, et al. Carbamazepine-induced toxic epidermal necrolysis: the importance of HLA-B*1502 testing in at-risk populations prior to therapy