

儿童造血干细胞移植后环孢素 A 血药浓度监测

王翔岩^a, 钟旭丽^a, 宋泽亮^a, 宋远^{a*}, 师晓东^{b*}

(首都儿科研究所附属儿童医院药学部, 北京 100020)

【摘要】 目的: 儿童造血干细胞移植术后环孢素 A 血药峰浓度与急性移植物抗宿主病不良反应之间的相关性。方法: 采用化学发光法定期检测患者环孢素 A 的谷浓度和峰浓度, 同时监测患者急性移植物抗宿主病发生情况及用药期间的肝、肾功能, 根据检测结果比较环孢素 A 谷浓度和峰浓度与急性移植物抗宿主病及不良反应之间的相关性。结果: 患者环孢素 A 谷浓度达 $360 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、峰浓度 $> 1500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 患者出现了丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的升高, 随着环孢素 A 谷浓度及峰浓度逐渐降低, ALT 和 AST 逐渐下降, 该患者未发生急性移植物抗宿主病。结论: 环孢素 A 血药谷浓度和峰浓度与急性抑制物抗宿主病及不良反应间均有一定相关性, 二者哪个相关性更好还需要加大样本量进一步的研究。

【关键词】 儿童; 造血干细胞移植; 急性移植物抗宿主病; 环孢素 A; 血药浓度; 谷浓度; 峰浓度; 不良反应

【中图分类号】 R979.5

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-3384(2015)06-0021-04

doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2015.06.005

Therapeutic drug monitoring of cyclosporine A in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation

WANG Xiang-yan^a, ZHONG Xu-li^a, SONG Ze-liang^a, SONG Yuan^{a*}, SHI Xiao-dong^{b*}

(*a, Department of Pharmacy, b, Department of Hematology, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China*)

【Abstract】 Objective: To investigate the correlation of cyclosporin A (CsA) blood concentrations with acute graft-versus-host-disease (aGVHD) and its adverse reaction (ADR) in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. **Methods:** Chemiluminescent immunoassay was applied to determining peak and trough concentrations of CsA in whole blood, while the incidence of aGVHD as well as liver and renal functions were monitored. Based on the results, the correlation of peak or trough concentrations of CsA with aGVHD and ADR are discussed. **Results:** when the CsA trough concentration (C_0) reached $360 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and the peak concentration was $> 1500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST) increased gradually, the children's hepatic function become abnormal. However, as the decrease of peak and trough concentration, ALT and AST also fall off, and the patient does not develop aGVHD. **Conclusion:** There is a correlation between both peak and trough concentrations of CsA in whole blood with aGVHD or ADR, but it is unclear which one is more significant, more samples were needed to confirm it.

【Keywords】 children; hematopoietic stem cell transplantation; Acute graft-versus-host-disease (aGVHD); cyclosporine A; blood concentration; trough concentration; peak concentration; adverse drug reaction (ADR)

急性移植物抗宿主病 (acute graft-versus-host-disease aGVHD) 是异基因造血干细胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation HSCT) 后死亡的主要原因, 并且对日后的发病率和生活质量有重大影响^[1]。钙调神经磷酸酶抑制剂 (环孢素或他克莫司) 结合短疗程的甲氨蝶呤或糖皮质激素是预防 aGVHD 最常用的方案。环孢素是一个

亲脂性很强的多肽, 溶解度低, 药代动力学参数难以预测, 治疗窗窄^[2-4], 所以应通过环孢素的治疗药物监测来实现个体化给药^[5]。环孢素治疗药物监测的探讨和演变已持续了近 30 年, 一直以来, 12 h 浓度 - 时间曲线下面积 (12 hour area under the concentration-time curve $\text{AUC}_{0-12\text{h}}$) 是评估每一个患者全身药物暴露的最好的参数^[6]。因此, 测定

[收稿日期] 2015-11-19

[作者简介] 王翔岩, 女, 主管药师, 研究方向: 临床药学, Tel: 13520023932, E-mail: 13520023932@163.com

[通讯作者] * 师晓东, 女, 医学博士, 主任医师, 研究方向: 儿童白血病的诊断和治疗, Tel: 13911601076, E-mail: xsusan28@sina.com

* 宋远, 女, 主管药师, 研究方向: 医院药学, Tel: 13701162073, E-mail: songyuan5371@sina.com

AUC_{0-12h} 是优化环孢素给药剂量的最理想的方法^[6]。但是测定此参数需要多个血液样本并进行分析, 这需要花费大量的时间、成本, 在实际的临床中难以实现^[6-7]。目前国内无论是在实体器官移植还是在异体造血干细胞移植患者中常规监测环孢素全血谷浓度 (trough concentration C₀) 来实现环孢素剂量个体化。然而有证据显示谷浓度 (C₀) 与急性移植抗宿主病 (aGVHD) 之间的相关性有限并且多变^[8]。例如有报道称环孢素谷浓度 (C₀) 的目标值应在 85~500 μg·L⁻¹ 之间^[9-13]。结果对于最佳的 C₀ 目标范围没有达成一致, 在不同情况下目标值的变化较大^[14]。近年来有国内外文献报道: 给药后 2h 的血药浓度即 C₂ 与 AUC 的相关性更好^[15-17]。为了保证儿童这一特殊群体的用药安全, 我们在常规监测环孢素全血谷浓度 (C₀) 的基础上对 C₂ 进行监测, 考察二者与 GVHD 及不良反应之间的相关性。

1 材料

1.1 仪器设备

德国西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪。

1.2 试剂

环孢霉素测定试剂盒 (化学发光法), 西门子医学诊断产品有限公司。

2 方法

2.1 病例资料

选择 2014 年 10 月—2015 年 7 月在首都儿科研究所附属儿童医院血液科行造血干细胞移植术的患者 2 例, 基本情况见表 1。二者均采用环孢素、吗替麦考酚酯 (霉酚酸酯, MMF) 和短程甲氨蝶呤 (MTX) 联用的免疫抑制方案: 自术前 7 d 起以输注泵恒速输注环孢素注射液 (商品名新山地明, 瑞士诺华制药有限公司, 批号: S0069、S0073, 250 mg: 5 mL/支) 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 至术后 30 d 或消化道反应消失后改为口服环孢素软胶囊, 杭州中美华东制药有限公司, 批号: 141054; 吗替麦考酚酯 (商品名: 骁悉, 上海罗氏制药有限公司, 批号: SH0059), 同时予注射用甲氨蝶呤 (0.5g/支, 辉瑞制药有限公司, 批号: HW57B、JA59C), 术后第 1 天给药 15 mg·m⁻², 第 3、6、11 天各给药 10 mg·m⁻², 用甲氨蝶呤的第 2 天静脉注射亚叶酸钙

表 1 入选病例基本情况

患者	性别	年龄	原发病
1	女	9 岁 10 月	急性淋巴细胞白血病
2	女	3 岁 3 月	骨髓增生异常综合症

(25 mg/支, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号: 14072417、14120617) 5 mg。移植后至患者出院每星期监测两次环孢素的血药浓度, 同时观察患者的临床表现及生化指标的变化。

2.2 环孢素剂量和监测

患者 2 例于移植前 1 d 开始以 2.5mg·kg⁻¹·d⁻¹ (分两次: 早 7 点和晚 7 点) 持 2 h 恒速输注环孢素注射液。定期监测全血中 CsA 浓度, 使 CsA 的有效 C₀ 维持在 100~140 ng·mL⁻¹。血液样本通过外周静脉采集 1~2 mL 置于抗凝管中测定, 每次采集时间 t=0 (早晨给药前) 和 t=2 (2 h 输注泵恒速输注结束时), 具体样本采集时间与理想采集时间相差 10 min 以内均认为合格。共采集样本 28 个。

2.3 GVHD 与药品不良反应 (ADR) 的判断标准

GVHD 分级 按西雅图会议制定的标准^[18]进行分级诊断。ADR 判定标准: 肝功能异常的判断标志是: 血胆红素 ≥ 19 μmol/L, 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 或天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 升高, 乙肝、丙肝特异性抗体阴性, 排除其他肝功能异常的因素 (如病毒或细菌感染、胆道疾病、其他药物对肝造成的损害等), 环孢素减量后血胆红素、ALT、AST 恢复正常。肾功能异常的判断标志是: 血肌酐缓慢升高, 但尿量无明显减少, 排除血管栓塞、尿路梗阻和急性排异反应, 环孢素减量后增高的血肌酐下降。

3 结果

3.1 用药后不同时段 CsA 血药浓度

对 2 例骨髓移植患者不同时间段的全血 CsA 的 C₀ 和 C₂ 进行测定, 共计 28 例次, 见表 2 和表 3。

由表 2 可以看出患者 1 应用 CsA 第一个月谷浓度 C₀ 波动在 97.1~447.0 μg·L⁻¹ 之间, 平均谷浓度 C₀ 为 198.9 μg·L⁻¹, 峰浓度 C₂ 最低 388.3 μg·L⁻¹, 最高大于 1500 μg·L⁻¹, 平均峰浓度 C₂ 为 788.0 μg·L⁻¹, 谷浓度 C₀ 与峰浓度 C₂ 的相关系数 γ²=0.50。

由表 3 可以看出患者 2 在用药的最初两周平均谷浓度 C₀ 为 87.8 μg·L⁻¹, 平均峰浓度 C₂ 为 571.8 μg·L⁻¹。

3.2 术后不同浓度范围发生 GVHD 与 ADR 的情况

3.2.1 患者1未发生GVHD 患者2发生GVHD I度。

3.2.2 应用CsA后患者肝肾功能变化(表4和表5)

表2 患者1用药后不同时段CsA的C₀和C₂(μg·L⁻¹)

项目	第4天	第8天	第11天	第15天	第18天	第22天
谷浓度C ₀ (μg·L ⁻¹)	97.1	100.2	123.5	111.9	360.1	221.8
峰浓度C ₂ (μg·L ⁻¹)	388.3	927.5	906.4	1 093.6	>1 500	>1 500
用药天数	第23天	第26天	第30天	第32天	第36天	(x±s)
谷浓度C ₀ (μg·L ⁻¹)	447.0	267.3	225.7	124.4	108.7	198.9±118.5
峰浓度C ₂ (μg·L ⁻¹)	1 407.9	659.3	445.1	611.6	652.5	788.0±326.8

表3 患者2用药后不同时段CsA的C₀和C₂

用药天数	第5天	第8天	第12天	(x±s)
谷浓度C ₀ (μg·L ⁻¹)	52.3	88.8	122.4	87.8±35.1
峰浓度C ₂ (μg·L ⁻¹)	113.4	406.2	1195.7	571.8±559.8

表4 患者1应用CsA后肝肾功能变化

用药天数	用药前	第4天	第8天	第11天	第18天	
总胆红素(TBIL) (μmol·L ⁻¹)		7.4	7.3	9.1	17.1	17.4
丙氨酸氨基转移酶 (ALT)(U·L ⁻¹)		7.6	18.4	18.3	23.3	16.6
天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)(U·L ⁻¹)		18.5	30.2	19.3	21.3	17.6
肌酐(CREA) (μmol·L ⁻¹)		33.0	27.6	28.0	28.0	31.8
用药天数	第22天	第24天	第26天	第32天	第36天	
总胆红素(TBIL) (μmol·L ⁻¹)	12.2	10.1	11.5	8.2	6.7	
丙氨酸氨基转移酶 (ALT)(U·L ⁻¹)	12.3	12.7	190.9↑	122.3↑	73.8↑	
天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)(U·L ⁻¹)	27.9	28.3	346.5↑	100.2↑	61.1↑	
肌酐(CREA) (μmol·L ⁻¹)	40.0	43.0	44.0	37.0	41.0	

表5 患者2应用CsA后肝肾功能变化

用药天数	用药前	第3天	第5天	第7天	第12天	第15天
总胆红素(TBIL) (μmol·L ⁻¹)	7.9	11.1	7.5	8.7	7.5	10.4
丙氨酸氨基转移酶 (ALT)(U·L ⁻¹)	20.1	14.2	46.6↑	29.7	24.6	24.8
天门冬氨酸氨基转 移酶(AST)(U·L ⁻¹)	31.5	29.2	58.8↑	27.8	32.9	32.2
肌酐(CREA) (μmol·L ⁻¹)	24.0	20.8	27.0	28.6	26.0	33.6

表4可以看出患者1在用药第26天其丙氨酸氨基转移酶(ALT)(U/L)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)(U/L)急剧升高,后逐渐下降,肾功能未见异常。

4 讨论

4.1 环孢素A谷浓度(C₀)的监测

目前,国内对CsA血药浓度的监测都是测定其服药前的浓度,即C₀,认为C₀在造血干细胞移植抗排斥反应与不良反应(ADR)监测中具有极其重要的地位^[19-20]。而C₀的最佳范围目前尚无统一规定,文献报道多在100~400μg·L⁻¹^[19-20]。我院异基因骨髓造血干细胞移植术预防GVHD环孢素应用初期血药浓度通常控制在150~250μg·L⁻¹。本试验中患者1环孢素A平均谷浓度C₀为198.9μg·L⁻¹,其未发生GVHD。该患者在应用环孢素A的第18天C₀骤升至360.1μg·L⁻¹,并且这种较高的C₀状态持续约一周,随后在用药第26天,其丙氨酸氨基转移酶(ALT)(U/L)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)(U/L)急剧升高;随着C₀逐渐降低及常规的保肝治疗,患者的ALT和AST也逐渐降低。由此可见,在患者1中C₀与不良反应之间有一定相关性。

4.2 环孢素A峰浓度(C₂)的监测

近年来有文献报道认为环孢素A峰浓度(C₂)与AUC_{0-12h}相关性更好^[15-16,21],而AUC_{0-12h}与GVHD及不良反应密切相关。为了考察C₂与GVHD及不良反应之间的相关性,我们在监测C₀的同时对C₂进行了监测。结果发现患者1在应用环孢素A的第18天C₂骤升至>1 500μg·L⁻¹,并且在约一周的时间里C₂值均在1 400μg·L⁻¹以上,随后在用药第26天,该患者的丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)急剧升高;随着C₂逐渐降低及常规的保肝治疗,患者的ALT和AST也逐渐降低。由此可见,在患者1中C₂与不良反应之间亦有一定相关性。

4.3 环孢素A血药浓度监测

对于环孢素A的血药浓度监测,国内的文献报道多倾向于对C₀进行常规监测,而实际的临床应用中也确实如此。少量的国内文献报道应对C₂进行监测,但这一观点并未被广泛接受。

国外文献关于环孢素A的血药浓度监测普遍认为AUC_{0-12h}对更好的预防GVHD及不良反应发

生实现个体化给药更有意义。但传统的 AUC_{0-12h} 监测需要对同一患者在多个时间点进行样本采集, 这需要花费大量的时间、成本, 在实际的临床中难以实现^[6-7]。于是近年来有研究机构提出通过有限样本策略来预测 AUC_{0-12h} ^[21-22]。此方法通过测定 3 个不同时间点的血药浓度即可较精确的预测 AUC_{0-12h} ($\gamma > 0.9$)。同时, 在这些研究中发现单个时间点的血药浓度与 AUC_{0-12h} 之间的相关性 C_2 较 C_0 更好。在本试验中, 未发现 C_0 和 C_2 与 GVHD 及不良反应更相关, 这可能与样本量不足有关, 今后应对相关病例继续进行研究分析, 以得到确定结论, 为环孢素 A 个体化给药提供依据。

【参考文献】

- [1] Jacobsohn D A. Acute graft-versus-host disease in children.[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 41(2):215-221.
- [2] Jorga A, Holt D W, Johnston A. Therapeutic drug monitoring of cyclosporine.[J]. Transplant Proc, 2004, 36(2):396S-403S.
- [3] Willemze A J, Cremers S C, Schoemaker R C, et al. Cyclosporin kinetics in children after stem cell transplantation[J]. Br J Clin Pharmacol, 2008, 66(4):539-545.
- [4] 朱愿超, 梁良, 赵明, 等. 再生障碍性贫血患者环孢素 A 血药浓度监测的回顾性分析 [J]. 临床药物治疗杂志, 2015, 13(5):20-24
- [5] Citterio F. Evolution of the therapeutic drug monitoring of cyclosporine Transplant.[J]. Proc, 2004,36(2):420S-425S
- [6] Jaiswal J, Gupta S K, Dash S C, et al. Neoral monitoring by limited sampling area under the concentration time curve in stable Indian renal transplant recipients.[J]. Transplant Proc, 2003, 35(4):1298-1299.
- [7] Wang C H, Ko W J, Chou N K, et al. A limited sampling strategy for the estimation of 12-hour cyclosporine neoral area under the curve in Chinese cardiac transplant recipients[J]. Transplant Proc, 2004, 36(8):2390-2392.
- [8] Schrauder A, Saleh S, Sykora K W, et al. Pharmacokinetic monitoring of intravenous cyclosporine A in pediatric stem-cell transplant recipients. The trough level is not enough[J]. Pediatric Transplantation, 2009, 13(4):444-450
- [9] Punnett A, Sung L, Price V, et al. Achievement of target cyclosporine concentrations as a predictor of severe acute GvHD in children receiving cyclosporine and methotrexate prophylaxis[J]. Ther Drug Monit, 2007, 29(6):750-757.
- [10] Martin P, Bleyzac N, Souillet G, et al. Clinical and pharmacological risk factors for acute graft-versus-host disease after paediatric bone marrow transplantation from matched-sibling or unrelated donors[J]. Bone Marrow Transplant, 2003, 32(9):881-887.
- [11] Kanda Y, Hyo R, Yamashita T, et al. Effect of blood cyclosporine concentration on the outcome of hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched sibling donor[J]. Am J Hematol, 2006, 81(11): 838-844.
- [12] Ram R, Storer B, Mielcarek M, et al. Association between calcineurin inhibitor blood concentration and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2012, 18(3): 414-422.
- [13] Malard F, Szydlo R, Brissot E, et al. Impact of cyclosporine-A concentration on the incidence of severe acute graft-versus-host-disease after allogeneic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(1):28-34.
- [14] Ruutu T, Niederwieser D, Gratwohl A, Apperley JF. A survey of the prophylaxis and treatment of acute GVHD in Europe: a report of the European Group for Blood and Marrow, Transplantation (EBMT). Chronic Leukaemia Working Party of the EBMT[J]. Bone Marrow Transplant, 1997, 19(8):759-764.
- [15] 范芳, 谢瑞祥, 吴国森. 改良反相高效液相色谱法测定非骨髓性异基因干细胞移植患者全血中环孢素 A 的 C_2 浓度 [J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(5):282-283
- [16] Oellerich M, Armstrong V W, Streit F, et al. Immunosuppressive drug monitoring of sirolimus and cyclosporine in pediatric patients[J]. Clin Biochem, 2004, 37(6):424-428.
- [17] Schrauder A, Saleh S, Sykora K W, et al. Pharmacokinetic monitoring of intravenous cyclosporine A in pediatric stem-cell transplant recipients. The trough level is not enough[J]. Pediatr Transplant, 2009, 13(4):444-450.
- [18] Sullivan K M. Graft-versus-host disease. In: Thomas ED. Hematopoietic cell transplantation[M]. 2nd ed. Malden: Blackwell Science Inc, 1999:515-536.
- [19] 王羽, 裴云萍, 方芸. 造血干细胞移植中环孢素血药浓度与其不良反应的相关性研究 [J]. 药学服务与研究, 2008, 8(1):21-23
- [20] 贾暖, 孙成春, 董玉波. 骨髓移植患者术后环孢素血药浓度监测 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2002, 12(5):436-437
- [21] Wilhelm A J, de Graaf P, Veldkamp A I, et al. Population pharmacokinetics of cyclosporin in haematopoietic allogeneic stem cell transplantation with emphasis on limited sampling strategy[J]. Br J Clin Pharmacol, 2012, 73(4):553-563
- [22] Dupuis L L, Seto W, Teuffel O, et al. Prediction of Area under the cyclosporine Concentration Versus Time Curve in Children Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2013, 19(3):418-423.