

· 论 著 ·

类风湿性关节炎患者 GGH-401C > T 基因多态性与甲氨蝶呤有效性和毒性相关性 meta 分析

刘立平^{1,2}, 尹雨桐^{1,2}, 刘亦韦³, 赵立波³, 顾健^{1*}

(1. 北京大学人民医院 药剂科, 北京 100044; 2. 北京大学药学院 药事管理与临床药理学系, 北京 100191; 3. 首都医科大学附属北京儿童医院 药剂科, 北京 100045)

【摘要】目的: 探讨类风湿性关节炎患者 GGH-401C>T 基因多态性与甲氨蝶呤有效性和毒性的相关性。方法: 系统检索中国生物医学文献数据库, 中国期刊全文数据库, 维普数据库, 万方数据库, Pubmed, Embase 和 Cochrane library 数据库, 检索文献截至 2017 年 11 月。筛选与类风湿性关节炎患者 GGH 基因多态性与甲氨蝶呤有效性和毒性相关的研究, 纳入符合标准的研究并进行数据提取和质量评价, 应用 Revman5.3 软件进行 meta 分析。结果: 共纳入 5 篇研究。Meta 分析结果显示在甲氨蝶呤有效性方面, GGH-401C>T 等位基因 C/T 的合并 OR 值为 0.94 (95%CI: 0.72~1.21), $P=0.61$, 差异无统计学意义; 基因型的隐性、显性和超显性对照模型分析结果显示, 差异均无统计学意义。在毒性方面, GGH-401C>T 等位基因 C/T 的合并 OR 值为 1.19 (95%CI: 0.92~1.55), $P=0.19$, 差异无统计学意义; 基因型的隐性和超显性对照模型分析结果显示, 差异也无统计学意义, 但在显性对照模型中显示出统计学趋势 ($P=0.09$), 剔除 Lima 的研究后, 差异有统计学意义 ($P=0.05$)。结论: GGH-401C>T 多态性与类风湿性关节炎患者甲氨蝶呤应答的相关性不明显, 但 CC 型患者的不良反应发生率可能高于 CT 型和 TT 型患者。

【关键词】 类风湿性关节炎; 甲氨蝶呤; GGH-401C>T; 多态性

【中图分类号】 R593.22; R979.12

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-3384(2018)02-0034-05

doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2018.02.009

The association between GGH-401C>T polymorphism and methotrexate efficacy and toxicity in rheumatoid arthritis: a meta-analysis

LIU Li-ping^{1,2}, YIN Yu-tong^{1,2}, LIU Yi-wei³, ZHAO Li-bo³, GU Jian^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China; 2. Department of Pharmacy Administration and Clinical Pharmacy, Peking University School of Pharmaceutical Sciences, Beijing 100191, China; 3. Department of Pharmacy, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China)

【Abstract】Objective: To evaluate the association of GGH-401C>T polymorphism with the responsiveness to and toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis with a meta analysis. **Methods:** CBM, CNKI, VIP, Wanfang, Pubmed, Embase and Cochrane library databases were systematically searched up to November 2017 with two independent reviewers screened the relevant literatures. The studies met our inclusion criteria were included for data extraction and quality assessment. The meta-analysis was conducted with RevMan 5.3 software. **Results:** A total of 5 studies were included. meta-analysis showed no association between GGH-401C>T polymorphism and methotrexate responsiveness ($OR=0.94$, 95%CI: 0.72~1.21), $P=0.61$. And no association could be detected in the analysis of MTX-related toxicity ($OR=1.19$, 95%CI: 0.92~1.55), $P=0.19$. However, a marginal power in the dominant model was observed (CC vs CT+TT: $OR=1.49$, 95%CI: 0.94~2.36), $P=0.09$, and when the study of Lima was removed, it showed a statistical significance with $OR=2.39$, 95%CI: 1.02~5.59, $P=0.05$. **Conclusion:** Our meta-analysis showed no significant association between GGH-401C>T polymorphism and the efficacy of methotrexate but there was a slight trend that CC genotype might result in a higher incidence of adverse events compared with CT and TT carriers.

【Key words】 rheumatoid arthritis; methotrexate; GGH-401C>T; polymorphism

[收稿日期] 2018-01-18

[作者简介] 刘立平, 女, 硕士在读; 研究方向: 药物临床评价与合理用药; Tel: (010)82816999-2015; E-mail: liuliping@163.com

[通讯作者] *顾健, 主任药师; 研究方向: 药物临床评价与合理用药; Tel: (010)82816999-2015; E-mail: gujian201302@sina.cn

类风湿性关节炎是一种全身性自身免疫性疾病,主要表现为关节软骨的侵蚀,病变可累及所有含滑膜的关节。随着病情的进展,多数患者会出现关节的破坏变形,活动能力丧失,造成永久性残疾。甲氨蝶呤是类风湿性关节炎的一线治疗药物,常作为起始单药治疗的首选^[1],但临床上,不同患者对甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)的应答及不良反应事件的发生存在差异。近年来的研究显示,与甲氨蝶呤代谢相关的基因多态性可能是引起这些差异的重要原因之一^[2]。

目前对甲氨蝶呤基因多态性的相关研究涉及到吸收、代谢和排泄多个方面^[2],主要集中在还原性叶酸转运体(RFC1)和亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)的单核苷酸多态性^[3-4]。本文研究的 γ -谷氨酸水解酶(GGH)是一种溶酶体酶,可以水解甲氨蝶呤多聚谷氨酸盐(MTXPGs),使之重新转变为原形MTX,流出胞外^[5]。其编码基因位于8号染色体,全长24 kb。理论上,GGH单核苷酸的多态性可能会影响甲氨蝶呤的活性,从而影响甲氨蝶呤的临床应答及不良反应的发生。其中GGH-401C>T突变位于启动子区,Chave等的研究推测该突变可使GGH酶活性增强,加快MTXPGs的分解,导致其在胞内滞留时间缩短,减弱了免疫抑制和抗炎反应^[6]。但Lima等的233人的研究结论与此相反,其结果显示与CT型相比,GGH-401C>T的野生CC型患者甲氨蝶呤未应答风险更高^[7]。在不良反应方面,Yamamoto的研究结果显示两者的关联性并无统计学意义^[8],Dervieux的研究认为CC型患者的不良反应发生率高于CT型和TT型患者^[9],而Ghodke-Puranik的研究显示TT型患者的不良反应发生率更高^[10]。有鉴于此,本文对2017年11月之前发表的相关研究进行meta分析,为临床上合理使用甲氨蝶呤,预测其有效性和不良反应的发生提供依据。

1 资料与方法

1.1 检索策略

系统检索截至2017年11月公开发表于中国生物医学文献数据库,中国期刊全文数据库,维普数据库,万方数据库,Pubmed,Embase和Cochrane library的中外文献。中文检索关键词:“GGH或 γ -谷氨酰水解酶”、“类风湿性关节炎”和“甲氨蝶呤”,英文检索关键词:RA or rheumatoid arthritis,

methotrexate or MTX, GGH or γ -glutamyl hydrolase。

1.2 文献纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 ①研究疾病为类风湿性关节炎;②关于GGH-401C>T单核苷酸多态性与甲氨蝶呤有效性和毒性相关性的研究;③患者年龄>18周岁;④文献类型为病例对照研究;⑤文献报道了或可推算出各基因型完整数据。

1.2.2 排除标准 ①重复研究;②数据不完整的研究;③其他位点的研究。

1.3 文献筛选

由2名研究者根据制定的纳入和排除标准独立完成,对于有异议的文献由第三人裁决,最终达成一致。将各数据库检索结果导入文献管理软件Endnote进行查重。查重后先根据标题和摘要进行初筛,初筛条件应适当放宽,仅排除明显不相关研究,对于不确定研究进入下一步的全文筛查。全文筛查后根据纳入标准纳入相关研究。

1.4 数据提取

数据提取由2名研究者独立完成。需提取的数据包括:第一作者,发表时间,研究方法,研究人群,样本量,结局指标及其定义标准,各基因型数据和结论。

1.5 文献质量评价

根据Newcastle-Ottawa Scale (NOS)文献质量评价量表对纳入各文献进行评价,分值范围0~9分,得分越高表示文献质量越好。

1.6 统计学分析

采用RevMan 5.3软件对资料进行分析。计数资料计算比值比(odds ratio, OR)及其95%CI。对研究结果进行异质性检验,根据P值和 I^2 衡量异质性大小。若 $P>0.10$, $I^2\leq 50\%$,可认为各研究具有同质性,采用固定效应模型;若 $P\leq 0.10$, $I^2>50\%$,可认为多个研究异质性较大,此时分析异质性来源并进行亚组分析。若异质性仍然存在,可使用随机效应模型。

2 结果

2.1 纳入文献

共检索到99篇文献,其中英文97篇,中文2篇。经标题和摘要初筛剔除46篇,查重34篇,剩余19篇;经全文筛查后剔除14篇,最终纳入5篇研究,见表1。

表 1 纳入文献特征

作者	年份	种族	样本量	甲氨蝶呤剂量 mg/周	随访时间 (月)	结论	质量评价得分
Lima ^[7]	2016	高加索人	233	10	6	CC 型较 CT 型不应答率高	8
Yamamoto ^[8]	2016	亚洲人	271	8.1	3	无统计学意义	7
Ghodke-Puranik ^[10]	2015	亚洲人	217	15.0±3.9	12	TT 型毒性高	8
Świerkot ^[11]	2015	高加索人	240	10.0~15.0	6	CT 型和 TT 型不良事件减少	7
Niveditha ^[12]	2013	泰米尔人	245	16.3±4.0	-	无统计学意义	6

2.2 GGH-401C>T 多态性与甲氨蝶呤的有效性

选取各研究的随访时间内的临床应答人数作为有效性结局指标。应答的定义根据美国风湿学会 (ACR) 或欧洲抗风湿病联盟 (EULAR) 的评分标准确定^[13]。用药后 6 个月, ΔDAS28 (28 关节疾病活动度分数) >0.6 或达到 20% 的 ACR 标准 (ACR20) 且 12 个月达到 50% 的 ACR 标准 (ACR50) 定义为应答, ΔDAS28 ≤ 0.6 定义或未达到 ACR20 和 ACR50 定义为未应答。异质性分析结果显示, 各基因型及等位基因 C/T 的研究的 I^2 均小于 50%, 因此可采用固定效应模型计算合并效应量。C/T 等位基因与甲氨蝶呤有效性的合并 OR 值为 0.94 (95%CI: 0.72~1.21), $P=0.61$, 差异无统计学意义 (见图 1)。此外, 隐性、显性和超显性对照模型结果显示, 各组差异均无统计学意义 (见表 2)。

表 2 GGH-401C>T 多态性与甲氨蝶呤有效性的 meta 分析

基因型	统计值			异质性	
	OR	95%CI	P 值	I^2 (%)	P 值
C vs T	0.94	0.72~1.21	0.61	0	0.54
CC vs CT+TT	0.88	0.58~1.33	0.55	0	0.73
CT vs CC+TT	1.06	0.75~1.50	0.74	0	0.89
TT vs CC+CT	1.04	0.70~1.54	0.84	0	0.69

2.3 GGH-401C>T 多态性与甲氨蝶呤的毒性

毒性结局指标选择各研究在随访时间内发生不良反应的人数。不良反应的定义和分类参考常见不良反应事件评价标准 (CTCAE)^[14], 根据患者主诉, 查体及实验室检查指标确定并记录。异质性分析结果显示, 各基因型及等位基因 C/T 的研究的 I^2 均小于 50% (见表 3), 因此可采用固定效应模型计算合并效应量。C/T 等位基因与甲氨蝶呤毒性的合并 OR 值为 1.19 (95%CI: 0.92~1.55), $P=0.50$, 结果无统计学意义 (见图 2)。此外, 隐性和超显性对照模型结果显示各组差异也无统计学意义 (见表 3)。但在显性对照模型中显示出统计学趋势 ($P=0.09$) (见图 3), 剔除 Lima 的研究后, 结果表现出统计学差异 ($P=0.05$)。

表 3 GGH-401C>T 多态性与甲氨蝶呤毒性的 meta 分析

基因型	统计值			异质性	
	OR	95%CI	P 值	I^2 (%)	P 值
C vs T	1.19	0.92~1.55	0.19	0	0.50
CC vs CT+TT	1.49	0.94~2.36	0.09	3	0.36
CT vs CC+TT	0.87	0.62~1.22	0.41	33	0.23
TT vs CC+CT	0.92	0.64~1.31	0.63	7	0.34

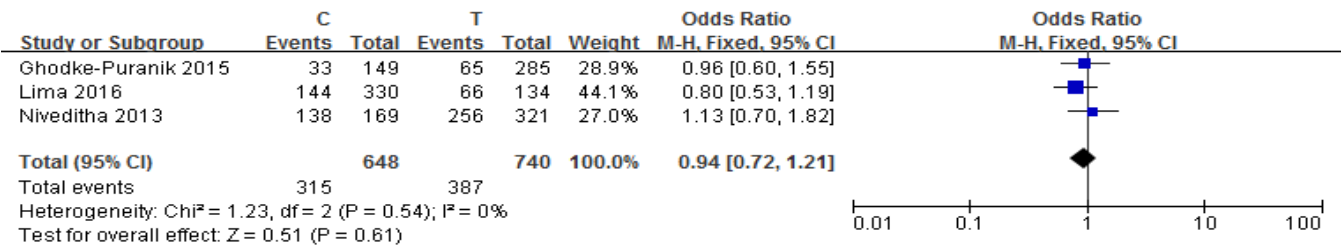


图 1 等位基因 C vs T 与甲氨蝶呤应答人数的 meta 分析

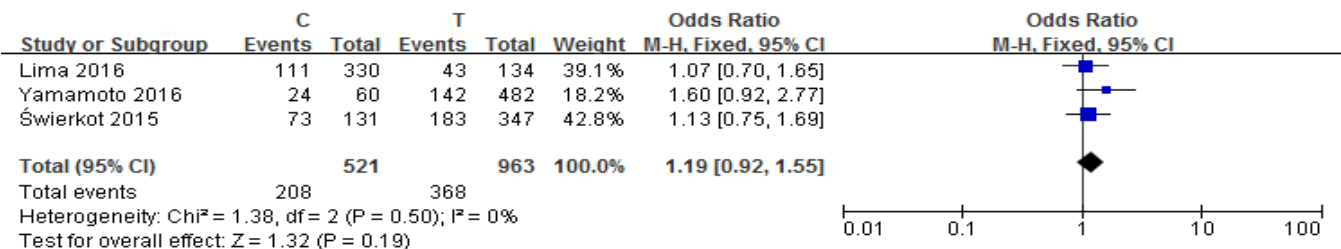


图 2 等位基因 C vs T 与甲氨蝶呤不良反应的 meta 分析

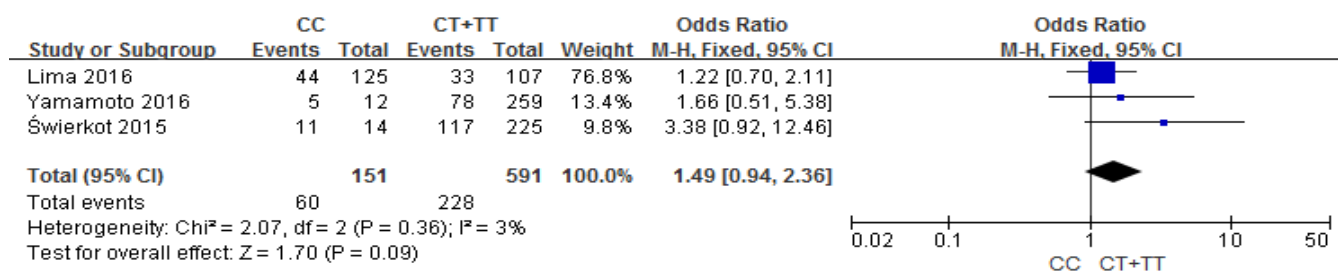


图3 显性对照模型 CC vs CT+TT 与甲氨蝶呤不良反应的 meta 分析

3 讨论

本研究是第一篇有关于类风湿性关节炎患者 GGH-401C>T 多态性与甲氨蝶呤有效性和毒性相关性的 meta 分析。

我们认为 GGH-401C>T 的研究的临床意义主要有以下几点: ①基于甲氨蝶呤在临床治疗中的重要地位。甲氨蝶呤是治疗类风湿性关节炎的一线药物。多年来的临床应用结果证实甲氨蝶呤是性价比最高的 DMARDs; 除在风湿免疫疾病的应用外, 在血液疾病如急性淋巴细胞白血病的治疗中也至关重要。②基于 GGH 在甲氨蝶呤代谢途径中的关键位置, 甲氨蝶呤药效和毒性的影响因素较复杂。在血液疾病的临床治疗中我们观察到, 相同水化碱化方案, 相同给药剂量(体表面积)和同等护理条件下, 不同患者的甲氨蝶呤血药浓度和不良反应的严重程度存在差异。个体基因的表达差异可能是原因之一。甲氨蝶呤的代谢途径中涉及多种转运体和代谢酶, 甲氨蝶呤经 SLC 家族转运体转运入胞后, 在 FPGS 的作用下聚合多个谷氨酸形成长链 MTXPGs, 再经 GGH 水解转变为游离 MTX, 转运出胞^[2]。与游离形式相比, MTXPGs 作用于嘌呤从头合成途径和叶酸代谢途径中的多种关键酶, 是甲氨蝶呤抑制嘌呤合成, 干扰叶酸代谢的主要有效形式。研究认为胞内 MTXPGs 水平可作为预测甲氨蝶呤有效性和毒性的指标之一。Thierry Dervieux^[9] 研究显示胞内低水平 MTXPGs 将导致甲氨蝶呤的有效应答率降低, 而胞内 MTXPGs 的水平取决于 FPGS 和 GGH 两种酶活性的平衡结果。GGH 启动子区 -401C>T 突变可导致 GGH 酶活性增强, 加快胞内 MTXPGs 水解, 进而引起甲氨蝶呤抵抗^[15]。与突变型相比, CC 型患者可能因胞内更高的 MTXPGs 水平而具有更高的不良反应发生率^[11], 这也与我们的 meta 分析结果一致。③虽然目前的研究主要集中于 MTHFR 1298A>C 和 MTHFR677C>T 这两个位点, 但考虑

到甲氨蝶呤代谢途径的复杂性, 我们认为尚不能排除其他代谢酶基因位点对甲氨蝶呤有效性和毒性的影响。GGH-401C>T 的研究是其中的重要一环, 明确的研究结论将为甲氨蝶呤的临床治疗策略提供更全面的参考, 保证患者的治疗效果和用药安全。

我们的研究也存在一些局限性。首先, 关于 GGH-401C>T 基因多态性的研究文献数量较少, 使得纳入研究的样本量偏小, 且未能针对种族、性别等因素进行亚组分析。其次纳入的研究文献均为观察性研究, 虽然文献的异质性很小, 但各研究的随访时间长短不同, 对不良反应事件的记录不够详细等, 这也降低了所能提供的证据等级。因此我们谨慎地初步推测与 CT 和 TT 型患者相比, 在 CC 型患者中不良事件的发生率更高。更明确的定量分析以及对不同类型不良反应的影响程度, 现有的研究尚不能得出结论。因此需要针对这些问题, 进行进一步的研究, 并证实我们得出的初步结论。

4 结论

Meta 分析结果显示 GGH-401C>T 多态性与甲氨蝶呤的应答并无相关性, 但与 CT 型和 TT 型患者相比, CC 型患者的不良反应发生率可能更高。考虑到本研究的局限性, 需要更多更大规模和更高质量的临床研究来确定结论的可靠性。此外, 国内目前尚未报道此方面的相关研究, 由于存在种族之间的基因频率差异, 华人的研究将会使结论更具完整性和适用性。

【参考文献】

- [1] Singh J A, Saag K G, Jr B S, et al. 2015 American college of rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2016, 68(1):1-25.
- [2] Romão V C, Lima A, Bernardes M, et al. Three decades of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis: can we predict toxicity? [J]. Immunologic Research, 2014, 60(2/3):289-310.

- [3] Qiu Q, Huang J, Shu X, et al. Polymorphisms and pharmacogenomics for the clinical efficacy of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis[J]. Scientific Reports, 2017, 7:44015.
- [4] Li X, Hu M, Li W, et al. The association between reduced folate carrier-1 gene 80G/A polymorphism and methotrexate efficacy or methotrexate related-toxicity in rheumatoid arthritis: a meta-analysis[J]. Int Immunopharmacol, 2016, 9(38):8-15.
- [5] Schneider E, Ryan T J. Gamma-glutamyl hydrolase and drug resistance[J]. Clinica Chimica Acta, 2006, 374(1/2):25-32.
- [6] Chave K J, Ryan J J, Chmura S E, et al. Identification of single nucleotide polymorphisms in the human gamma-glutamyl hydrolase gene and characterization of promoter polymorphisms[J]. Gene, 2003, 319(1):167.
- [7] Lima A, Bernardes M, Azevedo R, et al. Moving toward personalized medicine in rheumatoid arthritis: SNPs in methotrexate intracellular pathways are associated with methotrexate therapeutic outcome[J]. Pharmacogenomics, 2016, 17(15):1649.
- [8] Yamamoto T, Shikano K, Nanki T, et al. Folylpolyglutamate synthase is a major determinant of intracellular methotrexate polyglutamates in patients with rheumatoid arthritis[J]. Sci Rep, 2016, 6:35615.
- [9] Dervieux T, Greenstein N, Kremer J. Pharmacogenomic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(10):3095.
- [10] Ghodke Puranik Y, Puranik A S, Shintre P, et al. Folate metabolic pathway single nucleotide polymorphisms: a predictive pharmacogenetic marker of methotrexate response in Indian (Asian) patients with rheumatoid arthritis[J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(18):2019-2034.
- [11] Swierkot J, Slezak R, Karpinski P, et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms of RFC-1, GGH, MTHFR, TYMS, and TCII genes and the efficacy and toxicity of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis[J]. Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej, 2015, 125(3):152-161.
- [12] Muralidharan N, Negi V S. Non association of gamma glutamyl hydrolase gene polymorphisms with treatment response in south Indian tamil patients with rheumatoid arthritis[J]. Indian Journal of Rheumatology, 2013, 938(1):3.
- [13] Aletaha D, Neogi T, Silman A, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(9):2569-2581.
- [14] National institute of cancer. Common terminology criteria for adverse events (CTCAE) [J]. NIH Publication, 2009, 1-71.
- [15] Dervieux T, Kremer J, Lein Do, et al. Contribution of common polymorphisms in reduced folate carrier and gamma-glutamylhydrolase to methotrexate polyglutamate levels in patients with rheumatoid arthritis[J]. Pharmacogenetics, 2004, 14(11):733-739.