

别嘌醇超敏反应研究进展

陈泽娜 古洁若

【摘要】 别嘌醇作为临床上最常用的降尿酸药物,也是最常见引起药物严重不良反应的药物。药物遗传学和免疫学研究发现,HLA-B*58:01 与别嘌醇严重不良反应关系密切,但在不同人群中存在较大差异,且 HLA-B*58:01 并非别嘌醇发生超敏反应的充分、必要条件。目前,临床通过检测 HLA-B*58:01 预警别嘌醇发生超敏反应,但是其临床应用价值仍需要进一步研究,为此该文总结了近年别嘌醇超敏反应的药物遗传学和免疫学研究进展。

【关键词】 别嘌醇;超敏反应;HLA-B*58:01

Research progress of allopurinol-induced hypersensitivity Chen Zena, Gu Jieruo. Department of Rheumatology and Immunology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author, Gu Jieruo, E-mail: gujieruo@163.com

【Abstract】 Allopurinol is one of the most common drugs for decreasing the serum uric acid, and also highly likely to cause severe adverse reactions. Based upon pharmacogenetics and immunological findings, HLA-B*58:01 was intimately correlated with serious allopurinol-induced adverse reaction, which significantly differed among different populations. In addition, HLA-B*58:01 gene was neither a sufficient nor necessary factor for allopurinol-related supersensitivity. Currently, HLA-B*58:01 detection was utilized to predict the incidence of allopurinol-related supersensitivity. However, the application value remains to be further elucidated. In this article, pharmacogenetics and immunological studies related to allopurinol-related supersensitivity were summarized.

【Key words】 Allopurinol; Hypersensitivity; HLA-B*58:01

别嘌醇是一种黄嘌呤氧化酶抑制剂,通过抑制尿酸生成途径的关键酶,达到降低血尿酸作用,是抑制尿酸生成的药物之一。随着人民生活水平的提高,高尿酸血症(HUA)和痛风患病率逐年升高,且 HUA 可带来严重的后果,人们也意识到尿酸降至合适范围的重要性,对降尿酸药的需求增大^[1]。作为一种廉价、有效的抑制尿酸生成药物,别嘌醇有突出优势,但其严重过敏反应也屡见报道,是引起过敏反应的最常见药物之一。严重的皮肤不良反应(SCAR)是最严重的药物过敏反应,患者往往伴有生命危险。根据病情严重程度和受累器官、系统不同,SCAR 分为药物超敏反应综合征(HSS)、表皮坏死松解症(TEN)和 Stevens-Johnson 综合征(SJS)等。其中 SJS 和 TEN 只是病情严重程度不同而已,皮肤松解面积<10% 诊断为 SJS、>30% 则诊断为 TEN、10%~30% 为 SJS-TEN 重叠状态。

HSS 则有明显血液、肝、肾等器官受累表现^[2]。为了避免别嘌醇引致严重的药物相关不良反应,研究者开始寻找其危险因素和预警方法。近十年来,越来越多的研究表明,药物相关的严重不良反应与 HLA 基因多态性相关^[3-4]。HLA-B 基因位于第 6 号染色体短臂上,是一个庞大、复杂的基因,编码人类主要组织相容性抗原(MHC),是人体免疫系统重要的组成部分,在机体免疫过程中起着关键作用。目前已有研究表明 HLA-B*58:01 基因与别嘌醇的 SJS/TEN 密切相关^[5]。本文将对国内外别嘌醇过敏反应的相关研究进展做一综述。

一、HLA-B*58:01 在不同人群中的研究

2005 年 Huang 等首次报道,在台湾的汉族人中纳入了 51 例别嘌醇相关 SCAR、135 例别嘌醇耐受和 93 名健康人的病例对照研究,通过初步进行 823 个单核苷酸多态性(SNP)检测,发现大部分

与疾病相关的 SNP 位于 HLA 基因上。随后进行的 HLA 基因分型研究结果发现, 51 例别嘌醇相关 SCAR 患者均携带 HLA-B * 58:01 等位基因, 而在别嘌醇耐受组中仅有 15% 携带 HLA-B * 58:01 等位基因, 在健康对照组中阳性率为 20%。在泰国的类似病例对照研究同样发现, 100% SCAR 患者携带 HLA-B * 58:01 等位基因, 而仅有 12.96% 别嘌醇耐受者携带 HLA-B * 58:01 等位基因, 携带者发生 SCAR 的风险较高 ($OR = 348.3$, $95\% CI: 19.2 \sim 6336.9$, $P < 0.001$)。2008 年 Kaniwa 等回顾性分析了 2006 ~ 2008 年日本多中心 58 例药物相关 SJS/TEN 患者 (包括 10 例别嘌醇相关 SJS/TEN) 的 HLA-B 基因, 结果发现 58 例患者中有 5 例携带 HLA-B * 58:01 等位基因, 其中 4 例为别嘌醇相关的 SJS/TEN 患者, 因而认为 HLA-B58:01 基因与可能 SJS/TEN 的发生有关。2013 年在日本人群中再次验证 HLA-B * 58:01 基因与别嘌醇诱导的 SJS/TEN 有关^[6]。中国大陆及香港的相关研究也提示 HLA-B58:01 基因与 SJS/TEN 的发生有关^[7-10]。

虽然在东南亚地区人群中已经发现 HLA-B * 58:01 等位基因与别嘌醇超敏反应有关, 但在欧美地区两者之间的关联性明显降低。Christine 等^[11]报道, 在高加索人群中仅有 55% 别嘌醇相关 SJS/TEN 患者携带 HLA-B * 58:01 等位基因 ($OR = 80.0$, $95\% CI: 34 \sim 187$, $P < 0.001$)。2013 年在葡萄牙的一项研究进一步验证了 Christine 等的研究结果^[12]。

二、HLA-B * 58:01 等位基因的检测技术研究

由于 HLA-B * 58:01 等位基因与别嘌醇相关 SJS/TEN 密切相关, HLA-B * 58:01 等位基因的检测对临床用药有较高的指导意义。基因测序技术迅猛发展, 但是直接测序实验时间较长、设备要求也较高, 使其不可能在临床上推广。因此, 东南亚地区研究者正努力开发能够快速检测 HLA-B * 58:01 等位基因技术以解决临床上的检测难题。

HLA-B * 57 和 HLA-B * 58 与多种药物的超敏反应相关。2011 年, Kostenko 等^[13]报道了一种针对血清型 HLA-B17 的单克隆抗体 (mAb), 该抗体能简单、快速地筛选出 HLA-B * 57 和 HLA-B * 58。在高危人群中可先使用该方法初筛, 阳性患者再进行基因分型检测。Kwok 等^[14]用环介导等温扩增法 (LAMP) 检测 HLA-B * 58:01。LAMP 是一种特异性高、扩增速度快的方法, 在半小时内可以扩增 $10^8 \sim 10^9$ 倍, 而且其扩增结果通过荧光染色可以用

肉眼直接观察。Kwok 等针对 HLA-B * 58:01 基因上的外显子 2 和外显子 3 分别设计了 2 组引物, 对 HLA-B * 58:01 等位基因进行扩增, 在 20 例痛风患者外周血 DNA 中得到确证。虽然 LAMP 方法特异、高效, 但是引物设计仍是目前限制其广泛应用的关键。

2013 年日本的一项全基因组关联分析 (GWAS) 研究纳入 14 例别嘌醇相关 SJS/TEN 患者和 991 名健康人, 进行全基因组 SNP 测序, 将 890 321 个 SNP 与别嘌醇相关 SJS/TEN 进行关联性分析, 结果发现 6 号染色体的 SNP 多态性与全基因组相关。其中关联最强的 SNP 有 3 个, 即 BAT1 的 rs2734583, HCP5 上的 rs3094011 和 MICC 上的 GA005234。此外, 银屑病易感基因 1 候选基因 1 (PSORS1C1) 上的 rs9263726 也与别嘌醇相关 SJS/TEN 密切相关, 且其与 HLA-B * 58:01 等位基因关联。SNP 的检测较基因测序方便、经济、快速。Tohkin 等^[15]认为, rs9263726 可能成为临床上预测别嘌醇相关 SJS/TEN 的标志物之一。另外, 熊艳^[16]也发现中国大陆人群中 HLA-B * 58:01 等位基因与别嘌醇的 SCAR 发生风险强相关, 而且 HLA-B * 58:01 等位基因与 rs9263726 存在连锁不平衡, 认为 rs9263726 可用于预测别嘌醇过敏反应。

三、HLA-B * 58:01 在别嘌醇相关 SJS/TEN 发病中的作用

小分子物质诱导免疫过程被认为是通过一种“半抗原”模式, 即小分子物质或其代谢产物与体液中的大分子蛋白等共价结合, 导致结构发生变化, 获得免疫原性, 从而激活机体免疫细胞。但也有研究发现有些非共价小分子药物在体内并没有发生反应, 也能激活免疫反应。直至 2002 年 Pichler 等提出的一种新的“药物-受体”直接作用模式 (P-i 模式), 该理论认为小分子药物可以通过与 MHC 分子限制性结合, 而 MHC 分子又特异性与 T 细胞受体 (TCR) 结合; 这样, 小分子药物位于两者之间, 形成了与 TCR 直接的、非共价结合, 参与激活 T 细胞免疫过程^[17]。

近年研究发现, 别嘌醇超敏反应过程中起主要作用的是其代谢产物——羟嘌呤醇。提取别嘌醇超敏反应患者外周血 T 细胞, 分别加入不同浓度的别嘌醇或羟嘌呤醇作用于 T 细胞, 结果发现 T 细胞被激活, 而不需要通过内源性抗原提呈途径, 而且在 HLA-B * 58:01 阴性状态下也有此现象。而

且, 药物浓度越高 (尤其在羟嘌呤醇组), 特异性 T 细胞激活越明显, 这似乎与原先认为超敏反应与药物浓度无关相悖。进一步研究发现, 羟嘌呤醇与 HLA-B * 58:01 分子的亲和力高于别嘌醇。这解释了上述疑问, 也解释了一部分临床现象: 在大剂量应用别嘌醇或者存在肾功能不全、药物等降低别嘌醇排泄因素、HLA-B * 58:01 阳性患者中发生 SJS/TEN 的风险明显增高^[18-20]。

如果 HLA-B * 58:01 分子与药物结合激活了 T 细胞, 引发免疫过程, 那么免疫系统又是怎样导致全身广泛皮肤受损? SJS/TEN 皮肤病理检查显示: 大量角质细胞发生凋亡, 从而导致大面积皮肤剥离、脱落。免疫学研究不断进展, 参与角质细胞凋亡途径的分子和通路逐渐被阐明, 细胞毒性 T 细胞和自然杀伤细胞在免疫过程起着关键作用, Fas-FasL、穿孔素、颗粒酶是介导凋亡的关键途径。IL-10、TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子在此过程中也有着重要作用^[21]。近年来, Chung 等^[22-23] 发现了一种重要的分子——颗粒溶解素, 他们认为颗粒溶解素才是介导 SJS/TEN 角质细胞凋亡的关键介质。

四、临床检测 HLA-B * 58:01 的意义

综合近十年来的研究发现, HLA-B * 58:01 与别嘌醇发生 SJS/TEN 风险度在不同人群中差异很大。健康人群中大约仅 15% 携带 HLA-B * 58:01 的人对别嘌醇过敏。此外, HLA-B * 58:01 在不同种族人群中的基因频率各异, 根据 MHC 数据库的数据显示, 东南亚地区的 HLA-B * 58:01 基因频率高于欧洲 (0.055 *vs.* 0.008)。基于以上考虑, 检测 HLA-B * 58:01 对于发生别嘌醇超敏的阳性预测值只有 1.5%, 而阴性预测值将近 100%。因此, 是否有必要对需要别嘌醇降尿酸的患者进行基因检测存在争议^[24]。最近泰国学者从经济学角度出发, 进行了一项前瞻性队列研究, 该研究纳入 401 例 HUA 合并肾功能不全患者, 在进行降尿酸治疗前进行 HLA-B * 58:01 检测。HLA-B * 58:01 阳性者采用起始小剂量再逐渐加量的诱导免疫耐受的用药方案或者采用其他降尿酸药, 而检测阴性者仍按照别嘌醇常规剂量治疗。连续观察 3 个月, 无一例出现皮肤不良反应。将此结果与既往的病例对照研究相比, 研究者认为, 在 HLA-B * 58:01 与别嘌醇发生 SJS/TEN 强相关、且人群中 HLA-B * 58:01 频率较高的地区中, 于使用别嘌醇降尿酸前检测 HLA-B * 58:01 防止发生严重不良反应经济、有效。同样, 在东南亚其他地区的研究者也认为, 在

亚太地区检测 HLA-B * 58:01 是防止别嘌醇严重不良反应的经济、有效方法^[25-27]。

虽然研究者们并不认可临床检测欧美地区人群 HLA-B * 58:01 的意义, 但 2012 年美国风湿病学会痛风治疗指南中指出: 在检测条件允许下, 年龄大、肾功能不全或为来自东南亚地区的高尿酸患者使用别嘌醇前最好检测 HLA-B * 58:01, 检测阳性者应该避免使用别嘌醇或采用诱导免疫耐受的用药方案^[28]。

五、总 结

别嘌醇曾经作为一个抑制尿酸生成的药物被人们所推崇, 但也曾因严重不良反应让人们望而生畏。近十年来随着药物遗传学和免疫学的研究进展, 别嘌醇相关严重不良反应的影响因素逐渐被发现。HLA-B * 58:01 是研究最多、也比较公认的与别嘌醇严重不良反应相关的等位基因, 目前也有其成熟的快速检测方法。对于高危患者, 我们可以通过检测该基因来指导选择药物, 从而尽量减少甚至避免发生严重不良反应。但是, 综合现有的研究结果, 可推测出 HLA-B * 58:01 不是别嘌醇诱导超敏反应的唯一条件, 其他可能的因素尚需要进一步研究发现, 逐步揭开药物超敏反应的神秘面纱, 为临床用药安全奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Abeles AM. Hyperuricemia, gout, and cardiovascular disease: an update. *Curr Rheumatol Rep*, 2015, 17 (3): 13.
- [2] Phillips EJ, Chung WH, Mockenhaupt M, Roujeau JC, Mallal SA. Drug hypersensitivity: pharmacogenetics and clinical syndromes. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127 (3 Suppl): S60-S66.
- [3] Daly AK. Human leukocyte antigen (HLA) pharmacogenomic tests: potential and pitfalls. *Curr Drug Metab*, 2014, 15 (2): 196-201.
- [4] Karlin E, Phillips E. Genotyping for severe drug hypersensitivity. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2014, 14 (3): 418.
- [5] Brockow K. Advances in our understanding of drug hypersensitivity. *Clin Exp Allergy*, 2013, 43 (11): 1200-1201.
- [6] Niihara H, Kaneko S, Ito T, Sugamori T, Takahashi N, Kohno K, Morita E. HLA-B * 58:01 strongly associates with allopurinol-induced adverse drug reactions in a Japanese sample population. *J Dermatol Sci*, 2013, 71 (2): 150-152.
- [7] Chiu ML, Hu M, Ng MH, Yeung CK, Chan JC, Chang MM, Cheng SH, Li L, Tomlinson B. Association between HLA-B * 58:01 allele and severe cutaneous adverse reactions with allopurinol in Han Chinese in Hong Kong. *Br J Dermatol*, 2012, 167 (1): 44-49.
- [8] Cao ZH, Wei ZY, Zhu QY, Zhang JY, Yang L, Qin SY, Shao

- LY, Zhang YT, Xuan JK, Li QL, Xu JH, Xu F, Ma L, Huang HY, Xing QH, Luo XQ. HLA-B * 58:01 allele is associated with augmented risk for both mild and severe cutaneous adverse reactions induced by allopurinol in Han Chinese. *Pharmacogenomics*, 2012, 13 (10): 1193-1201.
- [9] 邓智远. 中国大陆汉族人群别嘌醇严重不良反应与 HLA-B * 5801 等位基因的相关性研究. 广州医学院, 2012.
- [10] 邓智远, 杨健, 杨文林. 中国大陆汉族别嘌醇重症药疹病人 HLA-B * 5801 等位基因的检测. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2013, 20 (6): 379-382.
- [11] Lonjou C, Borot N, Sekula P, Ledger N, Thomas L, Halevy S, Naldi L, Bouwes-Bavinck JN, Sidoroff A, de Toma C, Schumacher M, Roujeau JC, Hovnanian A, Mockenhaupt M; RegiSCAR study group. A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. *Pharmacogenet Genomics*, 2008, 18 (2): 99-107.
- [12] Gonçalves M, Coutinho I, Teixeira V, Gameiro AR, Brites MM, Nunes R, Martinho A. HLA-B * 58:01 is a risk factor for allopurinol-induced DRESS and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in a Portuguese population. *Br J Dermatol*, 2013, 169 (3): 660-665.
- [13] Kostenko L, Kjer-Nielsen L, Nicholson I, Hudson F, Lucas A, Foley B, Chen K, Lynch K, Nguyen J, Wu AH, Tait BD, Holdsworth R, Mallal S, Rossjohn J, Bharadwaj M, McCluskey J. Rapid screening for the detection of HLA-B*57 and HLA-B*58 in prevention of drug hypersensitivity. *Tissue Antigens*, 2011, 78 (1): 11-20.
- [14] Kwok J, Kwong KM. Detection of HLA-B * 58:01, the susceptible allele for allopurinol-induced hypersensitivity, by loop-mediated isothermal amplification. *Br J Dermatol*, 2013, 168 (3): 526-532.
- [15] Tohkin M, Kaniwa N, Saito Y, Sugiyama E, Kurose K, Nishikawa J, Hasegawa R, Aihara M, Matsunaga K, Abe M, Furuya H, Takahashi Y, Ikeda H, Muramatsu M, Ueta M, Sotozono C, Kinoshita S, Ikezawa Z; Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium. A whole-genome association study of major determinants for allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. *Pharmacogenomics J*, 2013, 13 (1): 60-69.
- [16] 熊艳. 中国人群别嘌醇致严重皮肤不良反应的遗传标志物研究. 中南大学, 2014.
- [17] Yun J, Adam J, Yerly D, Pichler WJ. Human leukocyte antigens (HLA) associated drug hypersensitivity: consequences of drug binding to HLA. *Allergy*, 2012, 67 (11): 1338-1346.
- [18] Yun J, Marcaida MJ, Eriksson KK, Jamin H, Fontana S, Pichler WJ, Yerly D. Oxypurinol directly and immediately activates the drug-specific T cells via the preferential use of HLA-B * 58:01. *J Immunol*, 2014, 192 (7): 2984-2993.
- [19] Yun J, Mattsson J, Schnyder K, Fontana S, Largiadèr CR, Pichler WJ, Yerly D. Allopurinol hypersensitivity is primarily mediated by dose-dependent oxypurinol-specific T cell response. *Clin Exp Allergy*, 2013, 43 (11): 1246-1255.
- [20] Somkruea R, Eickman EE, Saokaew S, Lohitnavy M, Chaiyakunapruk N. Association of HLA-B * 5801 allele and allopurinol-induced Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med Genet*, 2011, 12: 118.
- [21] Galbiati V, Papale A, Galli CL, Marinovich M, Corsini E. Role of ROS and HMGB1 in contact allergen-induced IL-18 production in human keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 2014, 134 (11): 2719-2727.
- [22] Chung WH, Hung SI. Genetic markers and danger signals in stevens-johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Allergol Int*, 2010, 59 (4): 325-332.
- [23] Chung WH, Hung SI. Recent advances in the genetics and immunology of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrosis. *J Dermatol Sci*, 2012, 66 (3): 190-196.
- [24] Singh JA. Crystal arthritis: Is HLAB genotyping the future of gout pharmacogenomics? *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9 (4): 200-202.
- [25] Kannagara DR, Ramasamy SN, Ray JE, Jones G, Graham GG, Williams KM, Day RO. An audit of a therapeutic drug monitoring service for allopurinol therapy. *Ther Drug Monit*, 2013, 35 (6): 863-866.
- [26] Thurston MM, Phillips BB, Bourg CA. Safety and efficacy of allopurinol in chronic kidney disease. *Ann Pharmacother*, 2013, 47 (11): 1507-1516.
- [27] Yeo SI. HLA-B * 5801: utility and cost-effectiveness in the Asia-Pacific Region. *Int J Rheum Dis*, 2013, 16 (3): 254-257.
- [28] Khanna D, Fitzgerald JD, Khanna PP, Bae S, Singh MK, Neogi T, Pillinger MH, Merill J, Lee S, Prakash S, Kaldas M, Gogia M, Perez-Ruiz F, Taylor W, Lioté F, Choi H, Singh JA, Dalbeth N, Kaplan S, Niyar V, Jones D, Yarows SA, Roessler B, Kerr G, King C, Levy G, Furst DE, Edwards NL, Mandell B, Schumacher HR, Robbins M, Wenger N, Terkeltaub R; American College of Rheumatology. 2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 1: systematic non-pharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2012, 64 (10): 1431-1446.

(收稿日期: 2015-10-28)

(本文编辑: 林燕薇)