

抗结核药物致肝损伤的发病机制

赵红, 程澄, 谢雯 (首都医科大学附属北京地坛医院 肝病中心, 北京 100015)

摘要: 结核病是当今世界上最普遍的人类传染病之一。异烟肼、利福平、吡嗪酰胺仍是世界卫生组织推荐的、不可替代的一线抗结核药物, 抗结核药物导致的肝损伤是常见的不良反应, 也是限制其应用的最严重问题, 对结核病的控制非常不利。探讨抗结核药物肝损伤的发病机制及药物之间的相互影响, 对于结核病患者进行个体化方案治疗及临床合理用药具有重要意义。

关键词: 抗结核药物; 药物性肝损伤; 发病机制

Pathogenesis of antituberculosis drugs induced liver injury

ZHAO Hong, CHENG Cheng, XIE Wen (Center of Liver Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Tuberculosis is one of widespread infectious diseases in the world today. Isoniazid, rifampicin and pyrazinamide are still the first line anti-TB drugs recommended by the World Health Organization. Antituberculosis drug-induced liver injury is a common adverse reaction, which restrict its application, bring difficulties to the control of tuberculosis. It is very important for the treatment of tuberculosis to investigate the pathogenesis and interaction of anti-tuberculosis drugs.

Key words: Antituberculosis drugs; Drug induced liver injury; Pathogenesis

由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 感染引起的结核病是严重危害人类健康的传染病之一。世界上约有1/3的人感染结核, 而且每年大约有300万人死于该病。中国是世界上22个结核病高发国家之一, 结核病患者数量居世界第2位。第4次全国结核病流行病学调查显示, 我国约有5.5亿人感染了结核菌, 现有活动性结核患者450万, 每年约25万人死亡^[1]。因此, 在很多国家结核病仍然是威胁公众健康的重大问题。异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、乙胺丁醇仍是世界卫生组织推荐的、不可替代的一线抗结核药物。其中异烟肼、利福平、吡嗪酰胺均具有潜在肝毒性, 肝毒性反应也是限制其应用的最严重问题, 对结核病的控制非常不利。随着基因组学、蛋白质组学、代谢组学的发展, 对于抗结核药物肝脏毒性发病机制的研究也有了较大进展。

1 抗结核药物致肝损伤的发病概况

抗结核药物肝损伤是指在抗结核药物使用过程中, 由于药物或其代谢产物引起的肝细胞毒性损害或肝脏对药物及其代谢产物的超敏反应所致的病理过程^[2]。由于多药联合应用, 药物性肝损伤的定义不同, 研究人口的差异性 & 监测方法等不同, 文献报道抗结核药物导致肝损伤发生率从2.0%~28.0%不等^[3,4]。种族、社会经济状况、地理位置、病毒性肝炎的流行等因素可能是造成发生率差异较大的原因^[5]。实际上, 很少研究是按照世界卫生组织规定进行的, 世界卫生组织规定将药物性肝损伤分为轻度 (血ALT < 5倍正常值上限), 中度

(血ALT为5~10倍正常值上限), 重度 (血ALT > 10倍正常值上限)。另外一个引起争论的问题是其他原因导致的肝损伤, 尤其是病毒性肝炎没有被严格的排除在外^[6,7]。此外, 抗结核药物引起肝损伤的发生率在发展中国家高于发达国家, 可能与发展中国家病毒性肝炎流行率及营养不良发生率较高有关。

2 抗结核药物致肝损伤的发病机制

2.1 异烟肼 异烟肼自1952年问世后一直广泛用于抗结核治疗, 对结核杆菌有抑制和杀灭作用, 异烟肼具有穿透性好、疗效佳、口服方便等特点, 被列为一线抗结核药物。肝脏毒性是异烟肼的主要不良反应, Garibaldi等^[8]的一项研究显示: 大约有10%的接受异烟肼单药治疗的患者中有血清转氨酶的异常 (通常 < 3倍正常值上限), 大多数病例无症状也未中途停止服药。1%的异烟肼单药病例发生严重的肝毒性, 甚至肝功能衰竭, 危及生命。

异烟肼导致肝毒性的发生机制尚未阐明。尽管代谢的特异质机制非常明显, 但是发病机制的问题仍未明确。异烟肼的主要代谢途径: 一是异烟肼在N-乙酰基转移酶2 (N-acetyltransferase 2, NAT2) 的作用下生成乙酰异烟肼 (acetylisoniazid), 乙酰异烟肼在酰胺酶的作用下水解为乙酰肼 (acetylhydrazine) 和异烟酸 (isonicotinic acid), 乙酰肼一部分在N-乙酰基转移酶2的作用下乙酰化成二乙酰肼 (diacetylhydrazine), 还有一部分乙酰肼在酰胺酶的作用下水解为肼 (hydrazine); 二是异烟肼可以在酰胺水解酶 (amidohydrolase, amidase) 作用下直接水解为异烟酸和肼, 其中一部分肼在N-乙酰基转移酶2作用下乙酰化为乙酰

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2015.04.005

基金项目: 中国肝炎防治基金会天晴肝病研究基金资助项目 (编号TQGB2011002)

通讯作者: 谢雯 Email: xiewen6218@163.com

肝。肝在动物模型中是被公认的肝毒性物质,可以直接与肝细胞发生过氧化反应引起肝毒性^[9]。而且,最受支持的异烟肼肝毒性的动物模型发病机制中就包括肝的转化。然而肝导致的毒性直接来源于异烟肼或者乙酰肼是不清楚的。目前认为异烟肼可能有两种肝毒性机制,多数接受异烟肼及其代谢产物的直接肝毒性与肝损伤有明显相关性的观点,其毒性损伤普遍认为是毒性中间产物引起肝细胞变性、坏死,也有认为机体对药物及其代谢产物发生了过敏反应,但尚缺乏直接的证据。

关于异烟肼导致肝损伤机制的研究已有30多年,目前国内及国外的多项研究显示,NAT2、细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)、谷胱甘肽S-转氨酶(glutathione S-transferase, GST)可能是影响抗结核药物肝损伤的主要环节。但目前仍然存在很多困惑,如异烟肼的代谢与快慢乙酰化之间的关系、药物代谢相关酶类在代谢过程中的作用等,这些方面尚未得到公认和肯定^[10]。

2.1.1 NAT2 NAT2是N-乙酰基转移酶的亚型,又称芳香胺N-乙酰化转移酶,表达于肝脏和肠道,是参与二相乙酰化反应的代谢酶,主要催化芳香胺进行乙酰化转移反应;与体内多种致癌性芳香胺、杂环胺类化合物及肝类化合物的代谢相关,参与其激活和灭活。同样,NAT2参与体内多种药物及毒物的代谢过程。近年来,由于药物及保健品不加节制的使用,药物性肝损伤的发病率逐年上升,研究发现NAT2基因多态性与药物在体内的激活及灭活过程密切相关,并引起大家的关注。

NAT2具有基因多态性,可以根据乙酰化表型的不同分为快型乙酰化代谢者、中间型乙酰化代谢者和慢性型乙酰化代谢者3种类型。研究发现在应用异烟肼抗结核治疗的人群中NAT2的基因多态性可能影响异烟肼的代谢过程^[11]。国内的研究表明慢乙酰化型患者使用异烟肼时更易出现较重肝损伤,其危险性是快乙酰化型的2.7倍^[12,13],与快乙酰化代谢者相比,慢乙酰化代谢者体内的异烟肼浓度相对较高,更容易产生不良反应。Bose和Cho等^[14,15]的研究结果也表明慢乙酰化型是异烟肼所致肝损伤的危险因素。但Yamada等^[16]研究未发现NAT2的基因多态性与异烟肼导致的肝损伤相关,但有趋势表明快乙酰化型患者使用异烟肼时更易出现较重肝损伤。因此,尚需要应用更为准确的方法,并充分考虑地域、种族、合并用药等相关因素,进一步验证NAT2的基因多态性是否与异烟肼导致的肝损伤相关。

2.1.2 细胞色素P450 2E1 细胞色素P450是一组基因编码的酶蛋白组成的超家族,由多个家族成员组成,是参与体内药物代谢的主要酶类。近年来,关于细胞色素P450在药物代谢中的作用越来越受到关注,研究发现细胞色素P450是药物代谢过程中的关键酶类,是药物及其代谢产物导致肝损伤的重要机制。CYP2E1是细胞色素P450超家族中的一员,存在基因多态性。CYP2E1参与异烟肼的代谢过程,其基因多态性可能是异烟肼导致肝损伤的危险因素之一。

研究发现,异烟肼在人体肝脏内的主要代谢产物肝和乙酰肼在肝脏经CYP 2E1氧化代谢后引起氧化应激,激活肝

脏内的抗氧化系统,导致还原型谷胱甘肽等抗氧化物质耗竭,使得肝脏的解毒能力下降,最终导致肝脏功能受损^[17]。CYP2E1的基因型不同,表达产物的活性存在差异,可以表现为机体对异烟肼导致肝损伤的易感性不同。目前国外有多项关于CYP2E1基因型与抗结核药物相关肝损伤的相关关系的研究,研究结果并不一致。Huang等^[18]的研究表明,CYP2E1基因型不同,出现抗结核药物相关肝损伤的发生风险不同,CYP2E1的基因多态性可以作为抗结核药物相关肝损伤的预测因素之一。与此相反,Chamorro等^[19]的研究则表明CYP2E1基因多态性与抗结核药物肝损伤之间不存在相关性。

2.1.3 谷胱甘肽S-转氨酶 谷胱甘肽S-转氨酶是一组主要存在于肝脏内的与肝脏解毒功能有关的酶类。GST是药物等外源化合物在细胞内进行生物转化的重要II相代谢酶之一,可以在机体代谢有毒化合物、保护细胞免受急性毒性化学物质攻击,因此GST是机体细胞重要的解毒防御系统之一。文献报道GST M1、GST T1基因的多态性与个体多种疾病的易感性相关。

研究发现当GST M1和GST T1发生基因纯合子缺失突变时,GST M1和GST T1的编码基因完全缺失,该基因不能表达相应蛋白,对应的酶活性丧失,进而导致药物的毒性代谢产物与还原型谷胱甘肽的结合发生障碍,与肝细胞结合增加,最终导致肝细胞的变性、坏死。因此,GST M1和GST T1的基因多态性可能与药物诱导的肝细胞毒性的易感性相关,可以作为抗结核药肝损伤的预测因素之一。向阳等曾对GST M1、T1基因多态性与抗结核药物所致肝损害易感性相关文献进行Meta分析,关于GST M1的基因多态性与抗结核药物导致药物性肝损伤关系的文献共有4篇,结果提示GST M1基因多态性与ATLI易感性有关,携带GST M1 null/null基因型患者发生肝损伤的危险性增加^[20-22],也有研究报道GST T1基因多态性与ATLI易感性无关,即GST T1 null/null基因型不能增加发生肝损伤的危险性。研究中涉及人群包括印度、中国台湾、高加索。安慧茹等^[23]的研究显示GST M1与抗结核药物肝损伤的发生没有直接关系,但GST M1缺失基因型却显著增加NAT2慢乙酰化基因型发生肝损伤的风险,GST T1基因多态性与肝损伤的发生没有关系。

2.2 利福平 利福平具有细胞内外杀菌作用。利福平肝毒性很难精确地确定,因为它常用作多药联合抗结核治疗的一部分进行治疗。利福平在肝脏中代谢,主要是脱乙酰化,然后糖脂化,以高浓度去乙酰基利福平的形式排入到胆汁中。利福平导致的潜在的肝损伤的发生机制还不明确。有过敏反应的可能性,但只占有所有病例的1%~3%。利福平的确可以一过性的引起血中胆红素的升高(大多为非结合胆红素),但是这与其竞争性抑制肝细胞膜上胆红素的摄取和排泄有关,并不提示有肝毒性。与成人相比,其在儿童中的作用更为明显。

在异烟肼的代谢机制中,活性代谢产物是通过微粒体中的CYP酶对肝进行氧化产生。利福平可以诱导微粒体中酶的产生,其理论上可以增加毒性代谢产物的生成。这也可以解释为什么异烟肼和利福平合用,肝损伤的发生会更快、更严

重。尽管这个假设具有吸引力,且有合理的发病机制,但仍然需要进一步证实。此外,利福平还诱导异烟肼酰胺酶的产生(尤其是慢乙酰化阶段),可影响异烟肼的代谢,导致肝的直接生成增加。尽管如此,异烟肼和利福平合用导致的肝毒性是叠加作用还是协同作用仍不确定。

2.3 吡嗪酰胺 吡嗪酰胺仅在细胞内具有杀菌活性,肝损伤是吡嗪酰胺治疗结核时出现的最常见和最严重的不良反应,可以产生和异烟肼相似的肝炎样损伤,而发热、关节痛、皮疹及嗜酸性粒细胞增加则较少见。自从1954年吡嗪酰胺开始用于抗结核治疗,用药剂量较大(40~50 mg/kg),无症状的血清转氨酶升高占患者总数的20%,有肝炎症状的患者占10%。也有报道出现致命性的暴发性肝炎的病例,导致一度被排除在一线抗结核药物之外。最近,因为结核发病率的增加,吡嗪酰胺再次被列为一线抗结核治疗范围以解决耐药菌株的问题。目前的治疗倾向是小剂量(30 mg/kg)、短疗程(2个月)应用。关于吡嗪酰胺单药治疗导致肝毒性的发生率的数据非常有限。在大多数报道肝毒性的病例中,吡嗪酰胺是多药联合治疗结核的一部分。有研究证明在异烟肼联合利福平治疗结核中加入吡嗪酰胺后肝毒性的危险性会增加^[24,25]。

吡嗪酰胺导致肝毒性缺少高敏性的标志和症状,不支持过敏表现。可能是药物的直接毒性作用,因为延长治疗时间和增加剂量可以增加肝毒性的危险性。目前,尚无数据支持利福平能增加吡嗪酰胺的毒性反应,因为吡嗪酰胺不是通过CYP系统代谢而是通过微粒体脱氢酶和黄嘌呤氧化酶(XO)途径代谢,利福平不能增加其中的任何一种酶。尽管如此,在治疗潜伏性结核病时,利福平和吡嗪酰胺联用仍然会增加肝毒性的危险性,目前已经不推荐使用。

需要注意的是,抗结核治疗往往需要接受多药联合治疗,患者的肝毒性发生率比接受单药治疗时明显增加,但是目前很难精确评估是每一种单药的毒性,抑或是不同药物毒性反应的叠加或是协同作用。研究抗结核药物肝损伤的易感基因,探讨其发病机制及药物之间的相互影响,为抗结核药物肝损伤高危人群的筛选及治疗靶点的探寻提供信息,对于结核病患者进行个体化方案治疗及临床合理用药具有重要意义。

参考文献

- [1] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志,2002,24:65-108.
- [2] 中华医学会结核病学分会,《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会. 抗结核药所致药物性肝损伤诊断与处理专家建议[J]. 中华结核和呼吸杂志,2013,36:732-736.
- [3] Yew WW, Leung CC. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity[J]. Respirology,2006,11:699-707.
- [4] Agal S, Baijal R, Pramanik S, et al. Monitoring and management of antituberculosis drug induced hepatotoxicity[J]. J Gastroenterol Hepatol,2005,20:1745-1752.
- [5] Baghaei P, Tabarsi P, Chitsaz E, et al. Incidence, clinical and epidemiological risk factors, and outcome of drug-induced hepatitis due to antituberculosis agent in new tuberculosis cases[J]. Am J Ther,2010,17:17-22.
- [6] Sarda P, Sharma SK, Mohan A, et al. Role of acute viral hepatitis as a confounding factor in antituberculosis treatment induced hepatotoxicity[J]. Indian J Med Res,2009,129:64-67.
- [7] Davern TJ, Chalasani N, Fontana RJ, et al. Drug-Induced liver injury network (DILIN). Acute hepatitis E infection accounts for some cases of suspected drug-induced liver injury[J]. Gastroenterology,2011,41:1665-1672.
- [8] Garibaldi RA, Drusin RE, Ferebee SH, et al. Isoniazid-associated hepatitis. Report of an outbreak[J]. Am Rev Respir Dis,1972,106:357-365.
- [9] 廖艳. 异烟肼与利福平肝毒性的代谢组学研究[D]. 四川大学,2005.
- [10] Huang YS, Chen HD, Su WJ, et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor of antituberculosis drug-induced hepatitis[J]. Hepatology,2002,35:883-889.
- [11] Blam M, Grant DM, McBride W. Human arylamine N-acetyltransferase gene: Isolation, chromosomal localization, and functional expression[J]. DNA Cell Bio,1990,9:193-203.
- [12] 陈冰, 许亦鸣, 曹晓梅. N-乙酰化酶2基因型对中国肺结核患者异烟肼代谢的影响[J]. 中国临床药理学,2008,17:35-38.
- [13] 郭宇美, 骆子义, 张红梅, 等. NAT2基因多态性与抗结核药物性肝损伤的相关性[J]. 中华肝脏病杂志,2010,18:467-469.
- [14] Bose PD, Sarma MP, Medhi S, et al. Role of polymorphic N-acetyl transferase2 and cytochrome P4502E1 gene in antituberculosis treatment-induced hepatitis[J]. J Gastroenterol Hepatol,2011,26:312-318.
- [15] Cho HJ, Koh WJ, Ryu YJ, et al. Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis[J]. Tuberculosis (Edinb),2007,87:551-556.
- [16] Yamada S, Tang M, Richardson K, et al. Genetic variations of NAT2 and CYP2E1 and isoniazid hepatotoxicity in a diverse population[J]. Pharmacogenomics,2009,10:1433-1445.
- [17] Preziosi P. Isoniazid: metabolic aspects and toxicological correlates[J]. Curr Drug Metab,2007,8:839-851.
- [18] Huang YS, Chen HD, Su WJ, et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis[J]. Hepatology,2003,37:924-930.
- [19] Chamorro JG, Castagnino JP, Musella RM, et al. Sex, ethnicity, and slow acetylator profile are the major causes of hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs[J]. J Gastroenterol Hepatol,2013,28:323-328.
- [20] Huang YS. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and the susceptibility to antituberculosis drug-induced liver injury[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol,2007,3:1-8.
- [21] Leiro V, Fernández-Villar A, Valverde D, et al. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population[J]. Liver Inter,2008,28:835-839.
- [22] 朱光泽. 抗结核药物肝损伤相关危险因素及其机制的研究[D]. 吉林大学,2004.
- [23] 安慧茹, 吴雪琼, 王仲元, 等. N-乙酰基转移酶2及谷胱甘肽S转移酶M1基因多态性与抗结核药物性肝损伤的关系研究[C]. 2013年结核病和呼吸疾病诊治进展及治疗中肝损害专题研讨会论文集,2013:158-164.
- [24] Chang KC, Leung CC, Yew WW, et al. Hepatotoxicity of pyrazinamide: cohort and case-control analyses[J]. Am J Respir Crit Care Med,2008,177:1391-1396.
- [25] Pasipanodya JG, Gumbo T. Clinical and toxicodynamic evidence that high-dose pyrazinamide is not more hepatotoxic than the low doses currently used[J]. Antimicrob Agents Chemother,2010,54:2847-2854.

收稿日期: 2015-08-26