

CYP3A4 和 P 糖蛋白与药物的肠道处置

辛华雯

广州军区武汉总医院临床药理科, 武汉 430070, 湖北

摘要 肠 CYP3A4 介导的生物转化和 P 糖蛋白介导的药物主动泵出肠细胞是决定口服药物生物利用度的主要因素。有证据显示 CYP3A4 和 P 糖蛋白在小肠不是共同调节的, 但两者在药物肠道处置中的协同作用已得到体外试验和动物体内试验的证实。进一步了解两者的相互作用有助于改善 CYP3A4/P 糖蛋白底物的生物利用度。

关键词 CYP3A4; P 糖蛋白; 药物代谢; 肠道; 肝脏首过代谢; 生物利用度; 相互作用

中图分类号: R969.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2005)07-0721-05

在人类, CYP3A4 是最主要的 I 相药物代谢酶, 在肠道, 它位于人小肠的柱状上皮细胞, 而 P 糖蛋白几乎毫无例外地位于成熟肠细胞尖端表面的刷状缘^[1,2]。P 糖蛋白和 CYP3A4 在成熟肠细胞中接近的表达位置以及两者特异底物的广泛重叠, 提示它们在功能上可能是协同的, 形成一道口服药物肠道吸收的屏障^[3-5]。在临床中不难见到, 那些同时是 CYP3A4 和 P 糖蛋白底物的药物通常具有较低的口服生物利用度。因此, 进一步了解两者在药物肠道处置过程中的相互作用将有利于改善 CYP3A4/P 糖蛋白底物的生物利用度。

1 肠 CYP3A4 与药物首过代谢

CYP3A4 的底物非常广泛, 它参与约 50% 现有药物的代谢。CYP3A4 的主要表达部位在肝脏, 但是

肠细胞亦含大量 CYP3A4^[6]。不少研究表明, CYP3A4 介导的发生在肠壁的生物转化与大量药物的首过代谢有关^[7]。Lown 等证实小肠 CYP3A4 浓度与非洛地平的血浆峰浓度 (C_{max}) 成负相关^[8]。Thummel 等在健康志愿者进行的药动学研究显示, 口服 CYP3A4 底物咪达唑仑在肠道和肝脏的首过消除率类似, 分别为 43% 和 44%, 总的生物利用度约 30%^[9]。一个在健康志愿者中以多囊肠腔灌注进行的 CYP3A4 底物维拉帕米药动学试验也得到相似结果^[10]。但相反的结果亦有报道, 有研究显示, 肠道 CYP3A4 水平与环孢素的 C_{max} 和表观清除率没有关联, 因而推测环孢素的肠代谢并不依赖于肠道 CYP3A4 水平^[11]。

Tsukamoto 等总结了 10 种 CYP3A4 底物的药动学数据^[12], 当这些药物的肝脏固有清除率达 $100 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 它们通常由于肠道的首过效应而显示较低的生物利用度, 而且与它们是否是 P 糖蛋白的底物无关。这些药物与 CYP3A4 抑制剂或诱导剂合用时, 它们的肠道吸收明显增加或减少, 而且不依赖于肝脏血流量的大小。这似乎说明对许多药物来说, CYP3A4 在首过消除中占主导地位。

亦有人认为, 肠道药物代谢在首过效应中的作用被夸大了。一是因为现有的体内肠首过代谢测定方法存在一些问题, 二是因为与肝脏相比, 人小肠 CYP3A4 总含量较低。据报道, 肝脏 CYP3A4 含量是小肠的 2~5 倍。上述争议部分是由于肠 CYP3A4 表达水平因解剖位置不同所致^[13]。十二指肠及其空肠近段富含绒毛, 绒毛的柱状吸收上皮细胞富含 CYP3A4, 这个位置提供了口服药物代谢的初始场所, 但绒毛的杯状细胞或小肠腺上皮细胞却几乎不含 CYP3A4。最近有研究显示人的十二指肠或空肠粘膜的 CYP3A4 蛋白含量是肝中的 3 倍^[14]。这项研究似乎进一步支持了许多 CYP3A4 底物的首过消除主要归因于肠壁代谢的观点。

2005-05-08 收稿 2005-06-20 修回

湖北省自然科学基金资助课题 (No2002AB114)

辛华雯, 通讯作者, 女, 医学博士, 副主任医师, 主要从事临床药理学研究。

Tel: 027-68878689 E-mail: huawenxin2005@hotmail.com

2 肠糖蛋白与口服药物生物利用度

P 糖蛋白主要分布于细胞膜,它属于 ATP 结合盒(ABC)转运子超家族成员^[14], ABCB1 基因(即 MDR1)的编码产物即 P 糖蛋白。P 糖蛋白可以将生物毒性物质包括多种药物单向泵出细胞,从而使细胞内药物浓度下降。P 糖蛋白作为外来物质流出泵的意义最初是在癌细胞中发现的。一些表达 P 糖蛋白的癌细胞由于抗癌药物不断被排出肿瘤细胞外而对大量抗癌药物产生了耐药性。P 糖蛋白亦广泛分布于正常组织,它限制药物及其它外来物质在人体的吸收并促进其消除。

以前认为药物的吸收基本是一个被动过程,主要依赖于药物的生化特征如脂溶性。但大量现有研究证实,药物流出转运子如 P 糖蛋白可以降低药物吸收^[15]。位于肠上皮细胞顶端(肠腔一侧)的 P 糖蛋白是限制药物生物利用度的主要因素^[16, 17]。一项关于环孢素药动学的研究表明,肠道 P 糖蛋白的表达与环孢素的 C_{max} 成负相关,与环孢素的表现清除率成正相关,即肠道 P 糖蛋白水平愈高, C_{max} 愈低,表现清除率愈高^[11]。在肝移植受者中,肠细胞 P 糖蛋白表达的增强与环孢素生物利用度降低有关^[18]。

Masuda 等人对 46 例肝移植受者的研究表明^[19],肠道 MDR1 的 mRNA 水平与他克莫司的浓度/剂量比值呈明显负相关,对于肠道 CYP3A4 则没有观察到此种现象。该研究小组在小肠移植受者中也观察到了上述类似的结果^[20]。作者因此提出可根据肠道 MDR1 的 mRNA 水平来制定个体化的他克莫司给药剂量。一些临床研究提示持续腹泻可导致肾移植受者的血中他克莫司谷浓度明显增加^[21], Lemahieu 等人则证实在此类患者中肠道 P 糖蛋白活性降低了 50%,而 CYP3A4 则无变化^[22]。

酮康唑导致的环孢素生物利用度增加以及利福平导致的环孢素生物利用度降低,曾被认为归功于肠道 CYP3A4 的抑制或诱导,但目前一些研究推测 P 糖蛋白的抑制或诱导也是重要原因^[1, 23]。有研究表明人的十二指肠或空肠粘膜的 P 糖蛋白含量是肝中的 7 倍^[9],这似乎进一步表明了 P 糖蛋白在限制口服药物生物利用度方面扮演着重要角色。

3 肠 CYP3A4 和 P 糖蛋白的相互作用

一些研究显示肠道和肝脏的 CYP3A4 不是共同调节的^[11],P 糖蛋白似乎也如此^[9]。利福平对 CYP3A4 和 P 糖蛋白的诱导涉及常见的转录调节因

子如 orphan 核受体 PXR^[24],因此推测这两种蛋白在肠道的表达或许是共同调节的。但是在 25 例肾移植受者中未发现肠道 CYP3A4 和 P 糖蛋白水平存在关联^[11],这提示肠道 CYP3A4 和 P 糖蛋白是分别被调节的。当然这不排除在药物吸收过程中,CYP3A4 和 P 糖蛋白存在协同作用。

不少药物即是 CYP3A4 又是 P 糖蛋白的底物(表 1)。P 糖蛋白的功能使 CYP3A4 得以反复和延长接触它的底物分子^[25],换句话说,P 糖蛋白将部分外源物质从肠细胞泵回肠腔,这些物质可重新被肠细胞吸收,因而可再次暴露于 CYP3A4。而且 P 糖蛋白通过其外排作用,可进一步阻止由 CYP3A4 产生的代谢物与此酶的相互作用(可能导致酶的抑制)^[26]。

关于 CYP3A4 和 P 糖蛋白在限制口服药物生物利用度过程中的协同作用,已有为数不多的体外试验和动物试验的证据。很明显,要在人体内证明肠细胞中 CYP3A4 和 P 糖蛋白的功能是互补的确实很困难。Caco-2 细胞本身表达 P 糖蛋白,Cummins 等用 CYP3A4 转染的 Caco-2 细胞研究了 P 糖蛋白对依赖 CYP3A4 的药物代谢的影响^[27]。他们发现当 P 糖蛋白独自被 GG918 抑制时,K77(半胱氨酸蛋白酶抑制剂)这个 CYP3A4 和 P 糖蛋白双底物的代谢程度降低了,但 CYP3A4 专有底物非洛地平的代谢程度却没有变化。因此推断,P 糖蛋白通过控制药物接近细胞内药物代谢酶而发挥对 CYP3A4 的协同作用。Chan 等人应用 Caco-2 细胞的研究结果也证实,P 糖蛋白可促进肠细胞中 CYP3A4 介导的药物代谢^[28]。

应该注意到,由于 Caco-2 细胞表达多个药物流出转运子以及 CYP3A4 的含量较低,用其研究 CYP3A4 和 P 糖蛋白或许有些问题。亦有其它一些研究应用了体外肠模型,结果支持两者存在相互作用的推测^[7, 29]。与此相反,Mouly 等用表达 CYP3A4 的 Caco-2 细胞进行的研究表明:P 糖蛋白抑制剂 LY335979 增加沙奎那韦的主要 CYP3A4 代谢产物 M7 的生成^[30]。作者认为这是由于 P 糖蛋白介导的药物泵出减少而使细胞内沙奎那韦的含量增加之故。但这种解释未必完全合理,因为 M7 是 P 糖蛋白底物,而且会遭致 CYP3A4 的第 2 次和第 3 次代谢。不过,此研究表明了沙奎那韦的肠道首过消除既涉及 CYP3A4 又涉及 P 糖蛋白。免疫抑制剂西罗莫司的口服生物利用度极低,仅 20%,研究表明 CYP3A4 介导的代谢和 P 糖蛋白介导的药物泵出与

西罗莫司的首过代谢相关^[31]。Cummins 等后来用大鼠单通道肠灌注系统研究了在体内 P 糖蛋白对肠 CYP3A4 介导的药物代谢的调节作用^[32]。K77 和 GG918 再次被分别用来作为 CYP3A4/P 糖蛋白的底物和 P 糖蛋白抑制剂,咪达唑仑用做 CYP3A4 特异底物。其结果进一步证实了 P 糖蛋白在调节肠 CYP3A4 介导的生物转化中的作用。

很多体外研究和大鼠体内研究都依赖于应用同时为 CYP3A4/P 糖蛋白的底物和抑制剂,这排除了 CYP3A4 和 P 糖蛋白在肠道药物代谢中所起作用的差别。至少有一项人体的研究间接证实了 P 糖蛋白和 CYP3A4 在肠道的相互作用^[33]。这项研究在 8 个健康志愿者中以多囊腔灌注法进行,以奎尼丁注入小肠,奎尼丁是 CYP3A4 和 P 糖蛋白的双底物。结果证实了肠道 P 糖蛋白和 CYP3A4 对奎尼丁血浆浓度的重要性。剂量校正的血浆奎尼丁 AUC 既与肠道 P 糖蛋白又与 CYP3A4 含量成负相关,即两种蛋白含量高时,奎尼丁血浆浓度则低。这表明奎尼丁的口服生物利用度既被 P 糖蛋白介导的药物泵出所

限制,又被 CYP3A4 介导的肠代谢所限制。此外,剂量校正的肠腔内奎尼丁浓度与肠 P 糖蛋白的表达成正相关。

为了同时研究 CYP3A4 和 P 糖蛋白在药物首过代谢中的作用,寻找合适的 CYP3A4 和 P 糖蛋白体内探针显得十分重要。由于 CYP3A4 和 P 糖蛋白底物广泛的重叠性,故分别针对这两种蛋白质的探针极少。Kharash 等人的研究表明, CYP3A4 特异底物阿芬太尼和 P 糖蛋白特异底物非索非那定,可在体内联合应用以评价 CYP3A4 和 P 糖蛋白与药物首过代谢的联系^[34]。

值得指出的是 CYP3A4 和 P 糖蛋白的相互作用也可发生在肝脏,近来已有研究证实此点^[35]。研究者以大鼠肝脏灌注模型进行的试验发现,在以 P 糖蛋白抑制剂奎尼丁处理过的动物中地高辛的肝脏代谢明显增加。作者因此推测,奎尼丁是通过阻断 P 糖蛋白介导的地高辛的胆汁分泌而增加地高辛代谢的。

表 1 CYP3A4 和 P 糖蛋白的共同底物

种类	药物
钙通道阻断药	维拉帕米, 地尔硫卓, 米贝地尔
其它心血管药物	奎尼丁, 卡维地洛
免疫抑制剂	环孢素, 他克莫司, 西罗莫司
抗癌药	多西他赛, 依托泊苷, 伊马替尼, 紫杉醇, 替尼泊武, 长春花碱, 长春新碱
皮质类固醇药物	地塞米松, 甲基强的松龙
他汀类调脂药	阿伐他汀, 洛伐他汀
HIV 蛋白酶抑制剂	茚地那韦, 利托那韦, 安普那韦, 奈非那韦, 沙奎那韦
其它药物	利福平, 阿米替林, 伊曲康唑, 特非那丁, 吗啡, 红霉素

4 结论

虽然关于 CYP3A4 和 P 糖蛋白协同作用作为外源物质吸收屏障这一推测很引人注目,但其证据主要来源于为数不多的体外研究和动物试验,直接证据仍缺乏。而且 P 糖蛋白对药物肠吸收和 CYP3A4 介导的肠代谢的定量贡献目前也不清楚。由于有证据显示 CYP3A4 和 P 糖蛋白在小肠不是共同调节的,所以这两种蛋白可能的协同作用似乎不能延长到调节水平。毫无疑问,肠 CYP3A4 和 P 糖蛋白的相互作用仍需进一步研究。搞清楚这些问题不仅有助于更好地了解口服药物的吸收过程,也有利于克服新药开发过程中一些药物的低生物利用度问题。

参考文献

1 Hall SD, Thummel KE, Watkins PB, Lown KS, Benet LZ, Paine MF, *et al.* Molecular and physical mechanisms of first-pass extraction[J]. *Drug Metab Dispos*, 1999; 27: 161—6

2 Hsing S, Gatmaitan Z, Arias IM. The function of Gp170, the multidrug-resistance gene product, in the brush border of rat intestinal mucosa[J]. *Gastroenterology*, 1992; 102: 879—85

3 Fromm MF. The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002; 54: 1295—310

4 Marzolini C, Paus E, Budin T, Kim RB. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2004; 75: 13—33

5 Benet LZ, Izumi T, Zhang Y, Silverman JA, Wachter VJ. Intestinal MDR transport proteins and P-450 enzymes as barriers to oral drug delivery[J]. *J Control Release*, 1999; 62: 25—31

6 von Richter O, Burk O, Fromm MF, Thon KP, Eichelbaum M,

- Kivistö KT. Cytochrome P450 3A4 and *P*-glycoprotein expression in human small intestinal enterocytes and hepatocytes: a comparative analysis in paired tissue specimens[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2004; 75: 172—83
- 7 Wu CY, Benet LZ, Hebert MF, Gupta SK, Rowland M, Gomez DY, *et al.* Differentiation of absorption and first-pass gut and hepatic metabolism in humans: studies with cyclosporine [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1995; 58: 492—7
- 8 Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, Janardan SK, Adair CH, Fortlage LA, *et al.* Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression[J]. *J Clin Invest*, 1997; 99: 2545—53
- 9 Thummel KE, O' Shea D, Paine MF, Shen DD, Kunze KL, Perkins JD, *et al.* Oral first-pass elimination of midazolam involves both gastrointestinal and hepatic CYP3A-mediated metabolism[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1996; 59: 491—502
- 10 von Richter O, Greiner B, Fromm MF, Fraser R, Omari T, Barclay ML, *et al.* Determination of *in vivo* absorption, metabolism, and transport of drugs by the human intestinal wall and liver with a novel perfusion technique[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2001; 70: 217—27
- 11 Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, Hsiao HL, Tugeson DK, Schmiedlin-Ren P, *et al.* Role of intestinal *P*-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1997; 62: 248—60
- 12 Kato M, Chiba K, Hisaka A, Ishigami M, Kayama M, Mizuno N, *et al.* The intestinal first-pass metabolism of substrates of CYP3A4 and *P*-glycoprotein: quantitative analysis based on information from the literature[J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2003; 18: 365—72
- 13 Lin JH, Chiba M, Baillie TA. Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized[J]. *Pharmacol Rev*, 1999; 51: 135—58
- 14 Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003; 43: 285—307
- 15 Fromm MF. Importance of *P*-glycoprotein for drug disposition in humans [J]. *Eur J Clin Invest*, 2003; 33: 6—9
- 16 Kim RB, Fromm MF, Wandel C, Leake B, Wood AJ, Roden DM, *et al.* The drug transporter *P*-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors[J]. *J Clin Invest*, 1998; 101: 289—94
- 17 John A, Kopke K, Gerloff T, Mai I, Rietbrock S, Meisel C, *et al.* Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the *P*-glycoprotein MDR1 gene[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2002; 72: 584—94
- 18 Masuda S, Goto M, Kiuchi T, Uemoto S, Kodawara T, Saito H, *et al.* Enhanced expression of enterocyte *P*-glycoprotein depresses cyclosporine bioavailability in a recipient of living donor liver transplantation[J]. *Liver Transpl*, 2003; 9: 1108—13
- 19 Masuda S, Goto M, Okuda M, Ogura Y, Oike F, Kiuchi T, *et al.* Initial dosage adjustment for oral administration of tacrolimus using the intestinal MDR1 level in living-donor liver transplant recipients[J]. *Transplant Proc*, 2005; 10(7): 37: 1728—9
- 20 Masuda S, Uemoto S, Goto M, Fujimoto Y, Tanaka K, Inui K. Tacrolimus therapy according to mucosal MDR1 levels in small-bowel transplant recipients[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2004; 75: 352—61
- 21 Asano T, Nishimoto K, Hayakawa M. Increased tacrolimus trough levels in association with severe diarrhea: a case report [J]. *Transplant Proc*, 2004; 36: 2096—7
- 22 Lemahieu W, Maes B, Verbeke K, Rutgeerts P, Geboes K, Vanrenterghem Y. Cytochrome P450 3A4 and *P*-glycoprotein activity and assimilation of tacrolimus in transplant patients with persistent diarrhea[J]. *Am J Transplant*, 2005; 5: 1383—91
- 23 Wille RT, Lown KS, Huszco UR, Schmiedlin-Ren P, Watkins PB. Short term effect of medications on CYP3A4 and *P*-glycoprotein expression in human intestinal mucosa[J]. *Gastroenterology*, 1997; 112: A419
- 24 Fromm MF. Importance of *P*-glycoprotein at blood-tissue barriers[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2004; 25: 423—9
- 25 Zhang Y, Benet LZ. The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and *P*-glycoprotein [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2001; 40: 159—68
- 26 Hochman JH, Chiba M, Yamazaki M, Tang C, Lin JH. *P*-glycoprotein-mediated efflux of indinavir metabolites in Caco-2 cells expressing cytochrome P450 3A4[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001; 298: 323—30
- 27 Cummins CL, Jacobsen W, Benet LZ. Unmasking the dynamic interplay between intestinal *P*-glycoprotein and CYP3A4 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002; 300: 1036—45
- 28 Chan LM, Cooper AE, Dudley AL, Ford D, Hirst BH. *P*-glycoprotein potentiates CYP3A4-mediated drug disappearance during Caco-2 intestinal secretory detoxification[J]. *J Drug Target*, 2004; 12: 405—13
- 29 Johnson BM, Charman WN, Potter CJ. The impact of *P*-glycoprotein efflux on enterocyte residence time and enterocyte-based metabolism of verapamil[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001; 53: 1611—9
- 30 Mouly SJ, Paine MF, Watkins PB. Contributions of CYP3A4, *P*-glycoprotein, and serum protein binding to the intestinal first-pass extraction of saquinavir[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004; 308: 941—8
- 31 Paine MF, Leung LY, Watkins PB. New insights into drug absorption: studies with sirolimus[J]. *Ther Drug Monit*, 2004; 26: 463—7
- 32 Cummins CL, Salphati L, Reid MJ, Benet LZ. *In vivo* modulation of intestinal CYP3A metabolism by *P*-glycoprotein: studies using the rat single-pass intestinal perfusion model[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003; 305: 306—14
- 33 Drescher S, Glaeser H, Mordt T, Hitzl M, Eichelbaum M, Fromm MF. *P*-glycoprotein-mediated intestinal and biliary digoxin transport in humans[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2003; 73: 223—31
- 34 Kharasch ED, Walker A, Hoffer C, Sheffels P. Evaluation of first-pass cytochrome P4503A (CYP3A) and *P*-glycoprotein activities using alfentanil and fexofenadine in combination[J]. *J Clin Pharmacol*, 2005; 45: 79—88
- 35 Lau YY, Wu CY, Okochi H, Benet LZ. Ex situ inhibition of hepatic uptake and efflux significantly changes metabolism: hepatic enzyme-transporter interplay[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004; 308: 1040—5

Impact of CYP3A4 and *P*-glycoprotein on drug disposition in intestine

XIN Hua-wen

Department of Clinical Pharmacology, Wuhan General Hospital, Wuhan 430070, Hubei, China

ABSTRACT Intestinal CYP3A4-mediated biotransformation and active efflux of absorbed drug by *P*-glycoprotein are major determinants of bioavailability of orally administered drugs. The expression of CYP3A4 and *P*-glycoprotein in the intestine is not co-ordinately regulated. However, synergistic actions of CYP3A4 and *P*-glycoprotein in intestinal drug disposition have been confirmed by

in vitro and animal studies. Further understanding of this interaction would be potentially useful to improve oral bioavailability of CYP3A4/*P*-glycoprotein substrates.

KEY WORDS CYP3A4; *P*-glycoprotein; drug metabolism; intestine; liver; first-pass metabolism; bioavailability; drug interaction