

蟾毒灵对胃癌细胞侵袭转移的抑制作用*

王杰,陈超,张勇,邢立凯,许婕,左青松,蔡含,蒋一鸣,陈腾

(上海中医药大学附属普陀医院普外科,上海 200062)

摘要 目的 探讨蟾毒灵对胃癌细胞侵袭转移能力的影响及其机制。方法 体外培养人胃癌 AGS 细胞,分为阴性对照组、蟾毒灵组和奥沙利铂组,采用噻唑蓝(MTT)法观察蟾毒灵对胃癌细胞增殖的影响,采用划痕实验和 Transwell 小室实验观察一定量蟾毒灵作用后胃癌细胞迁移和侵袭能力的变化,Western blotting 检测蟾毒灵对侵袭转移相关钙粘附蛋白 E 和基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 的表达影响。结果 蟾毒灵可以抑制胃癌 AGS 细胞增殖,其抑制作用与剂量呈正相关;划痕实验和 Transwell 小室实验显示,与空白对照组比较蟾毒灵能够抑制胃癌细胞侵袭转移($P<0.05$),与奥沙利铂组比较差异无统计学意义($P>0.05$);Western-blotting 结果显示,与空白对照组比较蟾毒灵组 E-钙粘蛋白表达明显上调($P<0.05$),而 MMP-9 和 MMP-2 表达明显下调($P<0.05$),蟾毒灵组和奥沙利铂组比较差异无统计学意义。结论 蟾毒灵对胃癌细胞有显著的抗肿瘤作用,能够抑制胃癌细胞侵袭转移,调节侵袭转移相关基因的表达。

关键词 蟾毒灵;癌;胃;侵袭转移;基质金属蛋白酶;E-钙粘蛋白

中图分类号 R285.5;R735.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)08-0875-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.08.008

Inhibition Effect of Bufalin on Invasion and Metastasis of Gastric Cancer Cells

WANG Jie, CHEN Chao, ZHANG Yong, XING Likai, XU Jie, ZUO Qingshong, CAI Han, JIANG Yiming, CHEN Teng (Department of General Surgery, Putuo Affiliated Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

ABSTRACT Objective To study effect of bufalin on invasion and metastasis of gastric cancer cells and related mechanism. **Methods** AGS human gastric cancer cell line was used for *in vitro* experiments. Cultured cells were treated by negative control group, bufalin group and oxaliplatin group. Cell proliferation was determined by MTT. Invasion and metastasis were observed by Wound-Healing Assay and Transwell Assay. Expression levels of E-cadherin, matrix metalloproteinases (MMP)-2, MMP-9 were detected by Western blotting. **Results** Bufalin was found to significantly inhibit the proliferation of AGS cells in a dose and time dependent manner. Wound-Healing Assay and Transwell Assay showed that as compared with the blank control group, bufalin inhibited invasion and metastasis of AGS cells ($P<0.05$), but there was no statistically significant difference between bufalin group and oxaliplatin group ($P>0.05$). Western blotting showed the expression of E-cadherin was increased in bufalin group as compared with the blank control group while the expression levels of MMP-9 and MMP-2 were down-regulated ($P<0.05$), but there was no statistically significant difference between bufalin group and oxaliplatin group ($P>0.05$).

Conclusion Bufalin has anti-cancer activity on gastric cancer cells, and it has the ability of inhibiting cancer cell invasion and metastasis, and regulating the expression of some related gene.

KEY WORDS Bufalin; Cancer, gastric; Invasion; Metastasis; Matrix metalloproteinases; E-cadherin

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,位居恶性肿瘤的第2位,虽然最近几年胃癌的死亡率较前稍有下降,但其仍位居恶性肿瘤死亡率的第3位^[1]。侵袭转移是恶性肿瘤的主要特征之一,胃癌一旦进入晚期或转移性阶段,手术对于提高患者的生存率起效甚微。因此更透彻地揭示胃癌的发生及发展的机制,寻找新

的药物治疗靶点进行有针对性的治疗至关重要。蟾毒灵(bufalin)是从蟾酥中提取的多羟基甾体化合物,其分子式为 $C_{24}H_{34}O_4$,已有研究表明蟾毒灵能够在体外和体内选择性地对多种肿瘤具有杀伤及抑制作用,能够促进肿瘤细胞分化和诱导肿瘤细胞凋亡^[2-4]。但蟾毒灵抗胃癌的作用及其机制研究较少,特别对胃癌侵袭转移能力的影响笔者还未见报道。因此本研究通过体外培养胃癌细胞,初步观察蟾毒灵对胃癌增殖及侵袭转移能力的影响,并探索其机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和转染 人胃癌细胞株 AGS 购于中国科学院上海细胞库,用含有 10% 胎牛血清(Gibco 公司,批号:10099141),RPMI 1640 培养液中(Gibco 公司,批号:11875093),于 37℃,5% 二氧化碳(CO₂)细

收稿日期 2016-07-18 修回日期 2016-10-31

基金项目 *上海市教育委员会科研创新项目(13ZZ095);上海市市属博士学科点建设基金(B201403)

作者简介 王杰(1983-),男,河南开封人,主治医师,硕士,研究方向:中西医结合防治胃肠道消化肿瘤。电话:021-22233189, E-mail: wangjie4177@126.com。

通信作者 陈腾(1961-),男,福建南安人,主任医师,教授,博士生导师,从事胃肠消化道肿瘤的中西医结合临床及基础研究。电话:021-22233189, E-mail: tengchen8076@163.com。

胞培养箱中培养。蟾毒灵(Sigma公司,规格:每支10 mg,批号:B0261),奥沙利铂(赛诺菲制药有限公司,规格:每支50 mg,批号:J20100064);E-钙粘蛋白兔抗人单克隆抗体(美国CST公司,批号:5174)。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2(美国CST公司,批号:13132)、MMP-9兔抗人单克隆抗体(美国CST公司,批号:13667)。

1.2 MTT实验 取对数生长期人胃癌AGS细胞,0.25%胰酶消化,用细胞培养液制成 $1 \times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ 单细胞悬液接种于96孔板,每孔100 μL ,于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳(CO_2)及饱和湿度条件下培养12 h。实验设阴性对照组(正常细胞培养液);蟾毒灵组浓度分别为0, 50, 100, 200, 500, 1 000, 2 000 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$;奥沙利铂组(阳性对照组)浓度分别为0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,每组6个复孔。12 h后将阴性对照组换上新鲜培养液100 μL ,蟾毒灵组和奥沙利铂组去除细胞培养液后换上相应浓度的药物的培养液100 μL 。分别培养24, 48, 72 h后,吸去培养液,各孔加入MTT($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)20 μL ,继续培养4 h,吸去上层液体,加DMSO各120 μL ,振荡10 min,在酶标仪上读取490 nm处吸光度(A)值。细胞生长抑制率 $= (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / A_{\text{对照}}$ 。并用Bliss法计算半数抑制浓度(IC_{50}),作为后面细胞实验的药物浓度。

1.3 划痕实验 先用marker笔在6孔板背后,用直尺比着,均匀地划横线,每隔0.5~1 cm一道,横穿过孔,每孔至少穿过5条线。在孔中加入约 5×10^5 个细胞,接种原则为过夜后融合率达到100%。第2天用枪头比着直尺,尽量垂直于背后的横线划痕。PBS洗细胞3次,去除划下的细胞,加入无血清培养液,分为空白对照组、蟾毒灵($72 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)组、奥沙利铂($8.56 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组。放入37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱继续培养0, 24, 48 h,时间点取样拍照。

1.4 Transwell侵袭实验 取对数生长期的AGS细胞,分为空白对照组、蟾毒灵($72 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)组、奥沙利铂($8.56 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组。用无血清培养基调整浓度为 $10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 悬浮细胞;在下室加入600 μL 含20%血清的培养基。上室加入150 μL 细胞悬液,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、饱和湿度条件下继续培养48 h。用镊子小心取出chamber,吸干上室液体,移到预先加入约800 μL 甲醇的孔中,室温固定30 min。取出chamber,吸干上室固定液,移到预先加入约800 μL 结晶紫染液的孔中,室温染色30 min;轻轻用PBS冲洗浸泡数次,取出chamber,吸去上室液体,用湿棉棒小心擦去上室底部膜表面上的细胞。用小镊子小心揭下膜表面上的细

胞,底面朝上晾干,移至载玻片上用中性树脂封片;显微镜下取5个随机视野计数,统计结果。

1.5 免疫印迹(Western blotting)实验 取对数生长期的胃癌AGS细胞,分为空白对照组、蟾毒灵($72 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)组、奥沙利铂($8.56 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)组。细胞培养箱中培养48 h,加入100 μL 预冷的细胞裂解液,冰上裂解30 min,提取总蛋白,采用BCA蛋白浓度测定试剂盒,取50 μg 蛋白质100 $^{\circ}\text{C}$ 水溶变性后聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),半干法转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床过夜,TBST洗膜后二抗室温孵育1 h,TBST洗膜3次,滴加电化学发光(ECL)液暗室中X线光片显影,图像扫描。以GAPDH蛋白作表达作为内参照。

1.6 统计学方法 采用SPSS 19.0版统计分析软件进行分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析比较各组间差异,多重比较采用LSD-*t*检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

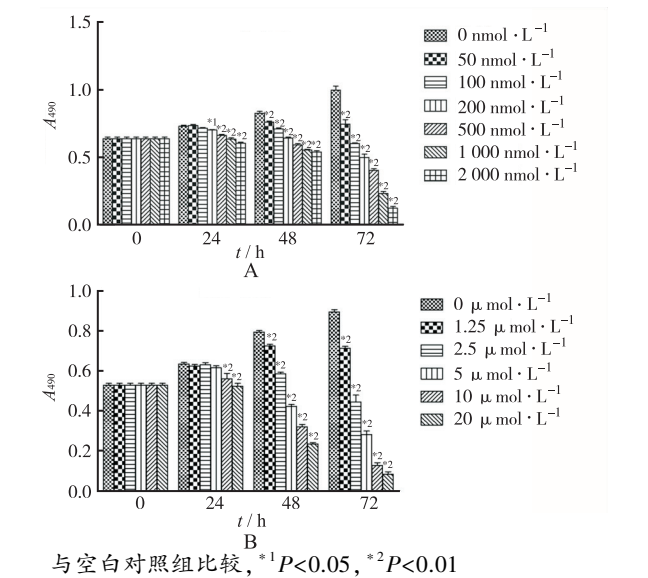
2.1 蟾毒灵对胃癌细胞增殖的影响 MTT结果显示,蟾毒灵和奥沙利铂均呈剂量和时间依赖性抑制胃癌细胞增殖(图1),蟾毒灵和奥沙利铂在作用48 h对AGS细胞的半数抑制浓度分别为72 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和8.56 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,作为后面实验用药物浓度。

2.2 蟾毒灵对细胞侵袭转移的影响 划痕实验结果显示,蟾毒灵组和奥沙利铂组胃癌细胞的迁移速度与空白对照组比较明显减慢,且以奥沙利铂组最为明显(图2)。Transwell实验结果显示空白对照组穿膜细胞数为 242.7 ± 13.0 ;蟾毒灵组为 120.0 ± 5.5 ,奥沙利铂组为 101.7 ± 6.5 ,与空白对照组比较蟾毒灵组与奥沙利铂组肿瘤细胞穿膜数明显减少(图3, $P < 0.05$),且奥沙利铂组与蟾毒灵组比较穿膜细胞数更少(图3, $P < 0.05$)。

2.3 蟾毒灵对侵袭转移相关基因蛋白表达的影响 Western-blot实验结果显示,与空白对照组比较蟾毒灵组和奥沙利铂组E-钙粘蛋白表达明显升高($P < 0.05$),但蟾毒灵组与奥沙利铂组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与空白对照组比较,蟾毒灵组和奥沙利铂组MMP9、MMP2蛋白表达明显下调($P < 0.05$),且蟾毒灵组与奥沙利铂组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图4。

3 讨论

蟾毒灵是从蟾酥中提取的有效生物活性成分,是目前已广泛用于临床抗肿瘤治疗药物华蟾素注射液的有效成分之一^[5-6]。许多研究表明,蟾毒灵能够通过诱导人肝癌细胞自噬作用,抑制肝癌细胞增殖^[7],通过调节EGFR1/VEGFR2/EG-FR/c-Met-Akt/p44/42/p38-



与空白对照组比较, *¹*P*<0.05, *²*P*<0.01

图 1 不同浓度蟾毒灵 (A) 和奥沙利铂 (B) 分别对胃癌 AGS 细胞增殖的比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Compared with blank control group, *¹*P*<0.05, *²*P*<0.01

Fig.1 Comparison of the inhibitory activity on AGS cells between bufalin at different concentration (A) and oxaliplatin (B) ($\bar{x}\pm s, n=3$)

NF-κB 信号通路来抑制肺癌细胞分化^[8], 调节凋亡相关基因 Survivin 表达诱导急性早幼粒细胞白血病细胞凋亡^[9]。已有研究发现蟾毒灵能够抑制胃癌细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 其机制与调节凋亡通路 PI3K/Akt 及凋亡相关基因表达有关^[4,10]。但是有关蟾毒灵对胃癌侵袭转移的抑制作用研究还比较少, 在笔者的研究中发现蟾毒灵能够抑制胃癌 AGS 细胞增殖, 蟾毒灵对胃癌细胞的 IC₅₀ 为 72 nmol · L⁻¹, 因此选择 72 nmol · L⁻¹蟾毒灵作为后面侵袭转移实验的药物浓度。划痕实验和 Transwell 小室实验结果均显示蟾毒灵组胃癌细胞的迁移速度与空白对照组比较明显减慢

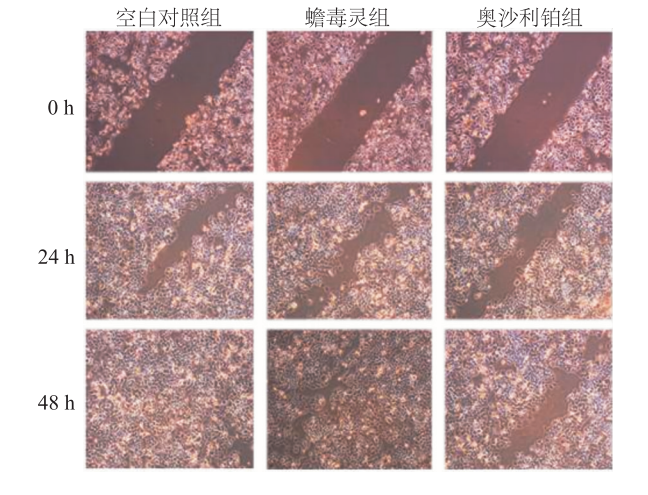
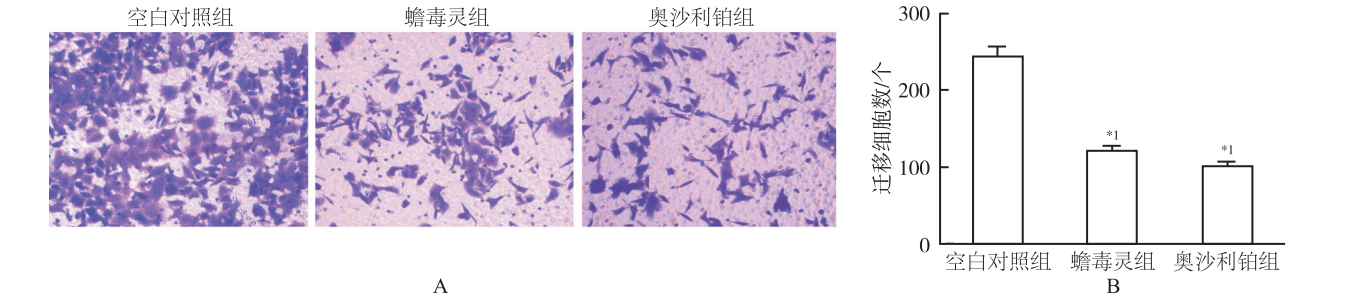


图 2 3 组胃癌 AGS 细胞迁移的病理切片图 (×100)

Fig.2 Pathology slices for cell invasion of three groups of AGS cells (×100)

(*P*<0.05), 穿膜细胞数 (*P*<0.05), 另外笔者采用临床常用抗胃癌药物奥沙利铂作为阳性对照组, 结果显示两组之间未见明显差异 (*P*>0.05)。

MMPs 是一种重要的蛋白水解酶家族, 可以降解细胞外基质和基底膜成分以及一些非基质成分, 从而改变肿瘤细胞的微环境, 促进肿瘤的侵袭和转移^[11]。研究表明 MMP-2、MMP-9 是作为 IV 型胶原酶的主要的细胞外基质降解蛋白酶。引起细胞外基质和基底膜降解, 从而促进肿瘤细胞的迁徙和转移^[12]。临床研究表明 MMP-2 和 MMP-9 与胃癌的进展相关^[13-14]。姬瑞等^[15]研究证实 MMP-9 表达的多少与胃癌组织的生成血管的情况相关, 其参与了胃癌发生、发展、浸润和转移, 且具有异质性, 在转移灶中表达更高, 是胃癌发生到晚期的主要作用原因。张金玲等^[16]也研究显示, MMP-2 在胃腺癌中表达的强弱与 TNM 分期、肿瘤浸润深度、淋巴转移与否呈正相关, 其表达增高可增强低



A.切片图;B.矩形图;与空白对照组比较, *¹*P*<0.05

图 3 3 组胃癌 AGS 细胞侵袭能力的比较

A.slice image;B.histogram;compared with blank control group, *¹*P*<0.05

Fig.3 Comparison of cell invasion among three groups of AGS cells

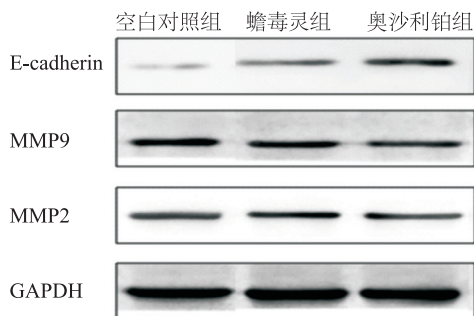


图4 3组胃癌 AGS 细胞 E-cadherin、MMP-9、MMP-2 蛋白表达的电泳图

Fig.4 Electrophoretogram for the protein expression of E-cadherin, MMP-9 and MMP-2 in three groups of AGS cells

分化胃癌细胞对周围组织和器官的浸润能力,有利于淋巴转移。为进一步研究蟾毒灵抑制胃癌侵袭转移的机制,笔者采用免疫印迹方法检测了蟾毒灵作用后胃癌细胞中 MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达,研究发现蟾毒灵能够下调胃癌细胞 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达 ($P<0.05$),蟾毒灵组与奥沙利铂组比较未见明显差异 ($P>0.05$)。笔者推测蟾毒灵抑制胃癌细胞侵袭转移与下调 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达有关。

E-钙粘蛋白为一种钙粘蛋白分子家族中跨膜糖蛋白,由 N 端胞外区、C 端胞内区及高度疏水的跨膜区构成其分子结构。N 端胞外区氨基酸末端与钙离子相结合,而胞内羧基末端则主要与细胞骨架蛋白的相互作用。E-钙粘蛋白在粘着连接处集中表达,可有效维持上皮细胞的完整性、极性,对保持上皮细胞形态和组织结构起重要作用。大多数上皮组织来源的恶性肿瘤,随着肿瘤恶性程度的加深,E-钙粘蛋白介导的肿瘤细胞与正常细胞相比,其粘附能力逐渐下降^[17]。E-钙粘蛋白在细胞分裂黏附和肿瘤早期浸润中有调控作用,其表达下调或缺失会导致肿瘤细胞失去接触抑制,增长和去分化不受控制,细胞之间的连接松散、容易脱落、排列紊乱、表现出较强的侵袭能力^[18]。因此,在很多来源于上皮组织的肿瘤中,E-钙粘蛋白的表达下调或缺失是造成肿瘤细胞具有高侵袭的关键因素之一。在本研究中蟾毒灵作用后胃癌细胞中 E-钙粘蛋白与空白对照组比较明显上调,且与奥沙利铂组达到了同样的效果。

综上所述,笔者初步研究显示蟾毒灵能够抑制胃癌细胞增殖,抑制肿瘤侵袭转移,其机制与抑制 MMP-2、MMP-9 表达并上调 E-钙粘蛋白表达有关。但有关其对侵袭转移相关信号通路的影响及其涉及的信号靶点还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 郑朝旭,郑荣寿,张思维,等.中国 2010 年胃癌发病与死亡分析[J].中国肿瘤,2014,23(10):795-800.
- [2] GAI Q, SHENG X, QIN J M, et al. The effect and mechanism of bufalin on regulating hepatocellular carcinoma cell invasion and metastasis via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2016, 48(1):338-348.
- [3] CHEN Y, LI M, LI Z, et al. Bufalin induces apoptosis in the U2OS human osteosarcoma cell line via triggering the mitochondrial pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(1):817-822.
- [4] ZHAO H Y, ZHAO D L, TAN G, et al. Bufalin promotes apoptosis of gastric cancer by down-regulation of miR-298 targeting bax[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(3):3420-3428.
- [5] MENG Z, YANG P, SHEN Y, et al. Pilot study of huachansu in patients with hepatocellular carcinoma, nonsmall-cell lung cancer, or pancreatic cancer[J]. Cancer, 2009, 115(22):5309-5318.
- [6] QIN T J, ZHAO X H, YUN J, et al. Efficacy and safety of gemcitabine-oxaliplatin combined with huachansu in patients with advanced gallbladder carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(33):5210-5216.
- [7] MIAO Q, BI L L, LI X, et al. Anticancer effects of bufalin on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells; roles of apoptosis and autophagy[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(1):1370-1382.
- [8] JIANG Y Y, ZHANG Y, LUAN J L, et al. Effects of bufalin on the proliferation of human lung cancer cells and its molecular mechanisms of action[J]. Cytotechnology, 2010, 62(6):573-583.
- [9] ZHU Z, LI E, LIU Y, et al. Bufalin induces the apoptosis of acute promyelocytic leukemia cells via the downregulation of survivin expression[J]. Acta Haematologica, 2012, 128(3):144-150.
- [10] LI D, QU X J, HOU K Z, et al. PI3K/Akt is involved in bufalin-induced apoptosis in gastric cancer cells[J]. Anti-Cancer Drugs, 2009, 20(1):59-64.
- [11] PATTERSON M L, ATJUBSIB S J, KNAUPER V, et al. Specific collagenolysis by gelatinase A, MMP-2, is determined by the hemopexin domain and not the fibronectin-like domain[J]. Febs Letters, 2001, 503(2-3):158-162.
- [12] HAGEDOM H G, BACHMEIER B E, NERLICH A G. Synthesis and degradation of basement membranes and extracellular matrix and their regulation by TGF-beta in invasive carcinomas[J]. Int J Oncol, 2001, 18(4):669-681.
- [13] ANATOLY P B, RINA I G, MARAT R G, et al. Stomach cancer: interconnection between the redox state, activity of MMP-2, MMP-9 and stage of tumor growth[J]. Cancer

- Microenviron, 2016, 9(1): 27-32.
- [14] GIALELI C, THEOCHARIS A D, KARAMANOS N K. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting[J]. Febs J, 2011, 278(1): 16-27.
- [15] 姬瑞, 周永宁, 任涛文, 等. MMP-9 在胃癌及其淋巴结组织中表达的临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(7): 377-380.
- [16] 张金玲, 费雁, 陈伟, 等. MMP-2、MMP-14、TIMP-2 在胃癌组织中的表达及意义[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2013, 42(2): 227-230.
- [17] EIDELMAN S, DAMSKY C H, WHELOCK M J, et al. Expression of the cell-cell adhesion glycoprotein cell-CAM120/80 in normal human tissues and tumors[J]. Am J Pathol, 1989, 135(1): 101-110.
- [18] HERMISTON M L, WONG M H, GORDON J I. Forced expression of E-cadherin in the mouse intestinal epithelium slows cell migration and provides evidence for nonautonomous regulation of cell fate in a self-renewing system[J]. Genes Dev, 1996, 10(8): 985-996.

基于伏立康唑血药浓度监测成功干预药物相互作用 3 例

余静洁^{1,2}, 杨四涛^{1,3}, 周星⁴, 陈桂英⁴, 杜光¹, 刘东¹, 张杨¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030; 2. 西安交通大学第二附属医院药学部, 西安 710004; 3. 云南省大理州人民医院药剂科, 大理 671000; 4. 华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030)

摘要 目的 通过对 3 例血液病患者伏立康唑与利福平联合用药的监护与干预, 探讨临床药师借助血药浓度监测(TDM)手段在治疗中发挥的作用。方法 监护 3 例血液恶性肿瘤患者的治疗, 基于伏立康唑和利福平两药联用前、联用中及停药后伏立康唑的血药浓度, 揭示药物相互作用程度, 评估联合用药风险, 寻找替代治疗方案。结果 3 例患者伏立康唑基线浓度均在正常范围。联用利福平 2~3 d 后, 伏立康唑浓度显著降低, 而利福平停药 8~10 d 后伏立康唑浓度才逐渐恢复至基线水平。结论 TDM 使药物相互作用的程度更加客观、可视化, 是临床药师参与优化药物治疗的有效技术手段。临床药师结合循证医学证据, 综合评估患者化疗后真菌感染和结核播散风险, 借助 TDM 手段成功干预了有临床意义的药物相互作用, 避免治疗风险。临床上这类患者应避免伏立康唑与利福平联用。

关键词 伏立康唑; 利福平; 血药浓度监测; 相互作用; 药物; 临床药师

中图分类号 R978.5; R969.3

文献标识码 B

文章编号 1004-0781(2017)08-0879-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.08.009

Three Cases of Drug-drug Interaction Intervened by Therapeutic Drug Monitoring for Voriconazole

YU Jingjie^{1,2}, YANH Sitao^{1,3}, ZHOU Xing⁴, CHEN Guiying⁴, DU Guang¹, LIU Dong¹, ZHANG Yang¹
(1. Department of Pharmacy, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 3. Department of Pharmacy, Dali People's Hospital, Yunnan Province, Dali 671000, China; 4. School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Objective To discuss the role of therapeutic drug monitoring (TDM) in pharmaceutical care by successful intervention of severe drug-drug interaction in 3 patients with hematological disease treated with voriconazole and rifampin.

Methods Three patients with hematological disease were monitored for the plasma concentration of voriconazole before, during, and after the concomitant use of rifampin. The severity of this drug interaction was revealed, risks for developing invasive fungal infection and tuberculosis dissemination after chemotherapy were evaluated based on the TDM results, and alternative regimens were recommended.

Results Voriconazole plasma concentration was normal at baseline but significantly depressed after combination with rifampin in all 3 cases. Concomitant use of rifampin leads to a rapid decline in plasma concentration of voriconazole in 2 - 3 days, and withdraw of this enzyme induction effect takes 8 - 10 days after discontinuation of rifampin.

Conclusion TDM is a helpful tool for providing pharmaceutical care, it helps to objectively visualize the degree of clinically important drug-drug interactions. Clinical evidence together with TDM results suggests high risk for developing invasive fungal infection and tuberculosis dissemination in hematology patients while using this combination therapy. Discontinuation of rifampin was suggested and accepted. For these patients, combination of voriconazole and rifampin should be avoided.

KEY WORDS Voriconazole; Rifampin; Therapeutic drug monitoring; Interaction, drug; Clinical pharmacist