

臺北醫學大學藥學系碩士班

碩士論文

Master Program in School of Pharmacy

Taipei Medical University

Master Thesis

酵素基因多型性對重型海洋性貧血病人鐵螯合
治療及生化營養的影響

Impact of Genetic Enzyme Variants on Iron
Chelation Therapy Outcomes and Biochemical
Nutrition Status in Thalassemia Major Patients

研究生：蔡宛芙 (Wan-Fu Tsai)

指導教授：吳姿樺 博士 (Tzu-Hua Wu, Ph.D.)

民國一百零九年一月

臺北醫學大學碩士學位考試委員審定書

論文題目

酵素基因多型性對重型海洋性貧血病人鐵螯合治療及生化營養的影響

Impact of Genetic Enzyme Variants on Iron Chelation Therapy Outcomes and Biochemical Nutrition Status in Thalassemia Major Patients

本論文係蔡宛芙君(學號 M301106032)於臺北醫學大學藥學院藥學系碩士班完成之碩士學位論文，承下列委員審查通過及口試及格，特此證明。

學位考試委員：

召集人簽名

林凱隆

委員簽名

卓雨婕

指導教授簽名

吳安樟

中 華 民 國 1 0 9 年 1 月 1 0 日

國家圖書館學位論文延後公開申請書

編號：

Application for Embargo of Thesis/Dissertation

申請日期：民國 109 年 01 月 10 日

申請人姓名 Applicant Name	蔡宛芙	學位類別 Graduate Degree	☒ 碩士 Master ☐ 博士 Doctor	畢業年月 Graduation Date (YYYY/MM)	民國 109 年 1 月
學校名稱 University	臺北醫學大學 Taipei Medical University	系所名稱 School/Department	藥學系碩士班		
論文名稱 Thesis / Dissertation Title	酵素基因多型性對重型海洋性貧血病人鐵整合治療及生化營養的影響				
延後公開原因 Reason for embargo	☐ 申請專利並檢附證明，專利申請案號： Filing for patent registration. Registration number: ☒ 準備以上列論文投稿 Submission for publication. ☐ 涉及國家機密 Contains information pertaining to the national secret. ☐ 依法不得提供，請說明： Withheld according to the law. Please specify.			公開日期 Delayed Until	民國 114 年 1 月 30 日

申請人簽名：

Applicant Signature:

蔡宛芙

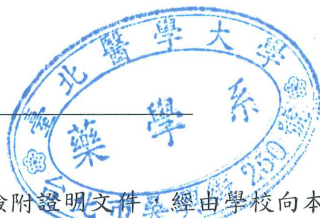
指導教授簽名：

Advisor Signature:

吳孝樺

學校認定/審議單位章戳：

Seal of the Authorization Institute:



【說明】

1. 以上所有欄位請據實填寫並檢附證明文件，經由學校向本館提出申請，缺項或簽章不全，恕不受理。
2. 論文尚未送交國家圖書館，請於提送論文時，夾附親筆簽名申請書1份。
3. 論文已送達國家圖書館，請將親筆簽名申請書一式2份掛號郵寄10001臺北市中山南路20號國家圖書館館藏發展及書目管理組，並於信封註明「學位論文延後公開申請書」。

【Notes】

1. Please fill in all blanks and deliver to your university. The application form will not be accepted for processing until all information, signatures, and stamps are included.
2. If the thesis or dissertation is not yet submitted to the NCL, please attach the signed application form to the thesis or dissertation.
3. If the thesis or dissertation has been submitted to the NCL, please send a registered letter with 2 copies of the signed application form attached. The letter should be addressed to "Collection Development Division", National Central Library with a note in the envelope indicating "Application for delay of public release" to the following address. No.20, Zhongshan S. Rd., Zhongzheng District, Taipei City 10001, Taiwan (R.O.C.)

(以下由國圖填寫 For Internal Use)

承辦單位_館藏組：_____ 日期/處理狀況：

典藏地：_____ 登錄號：_____ 索書號：

會辦單位_知服組：_____ 日期：_____ ☐移送並註記，原上架日期：

論文系統：_____ 日期：

謝誌

日月如梭，轉眼間，這趟精彩的碩士旅程即將結束，在這路途上充滿恩賜，遇到了許多貴人也結交知心朋友。在北醫的這兩年半雖然有各種不同挑戰，但在專業學術、行政領導、為人處事上，我都成長許多，回顧一切總覺得是開心美好的，在此誠心感謝幫助過我的每個人們。

首先，最感謝的是我的指導老師吳姿樺教授，這段期間除了研究上提點指導外，也訓練我成為處事能力更完全的人，且教授也時常關心我的健康，給予很大的溫暖。同時，也感謝兩位口試委員：林凱信教授以及卓爾婕老師，在論文方面給予寶貴的意見，激盪我思考更為周全。此外，感謝罕病基金會提供博碩士論文獎助，在經濟上給予我很大援助。非常感謝臺大兒醫盧孟佑醫師、麗慧姐、治療室每位護理人員、臺大公衛陳院長及菁英學姐的幫忙與協助，以及每位病友的配合，沒有你們，就不會有這份研究成果，謝謝你們。

再來也要感謝實驗室的夥伴及學長姊們：Nailis、佳德、建升、書勤、慶鵬、凱仁、張瑄、君蕙、治平，謝謝大家平時的互相幫忙，尤其感謝廷浩學長的傳承，真的在我的研究上幫助非常大。也謝謝同屆夥伴的加油打氣，備感溫馨。還有 102 的大家和天家的學弟妹們在這兩年多來，各種關心與打氣！

最後要感謝我最親愛的家人還有夜景、阿明，謝謝你們時時刻刻的陪伴，支持著我的每個決定，給我歡笑給我依靠，讓我每天都是充滿光亮與盼望。感謝這兩年多曾經出現在我生命中的每個人，因為你們，豐富了我的碩士生涯。未來我也會繼續努力，為愛我的你們成為更好的自己！

宛芙 謹誌

中國民國一〇九年一月

目錄

圖目錄	IV
表目錄	V
附錄目錄	VI
縮寫表	VII
縮寫表 (續)	VIII
摘要	IX
Abstract.....	X
第一章 緒論.....	1
第一節 β 型海洋性貧血.....	2
壹、 海洋性貧血簡介.....	2
貳、 流行病學.....	2
參、 臨床分型與症狀.....	3
第二節 重型海洋性貧血之治療.....	6
壹、 骨髓移植.....	6
貳、 輸血.....	6
參、 鐵螯合治療.....	7
肆、 鐵質沉積指標.....	8
伍、 DFX 藥物基因多型性	11
第三節 重型海洋性貧血病人異常之生化營養數值	12
壹、 營養狀態與併發症	12
第四節 研究動機與目的.....	14
第二章 實驗材料與方法	15

第一節	重型海洋性貧血病人生化值檢測.....	16
壹、	藥品試劑與儀器設備	16
貳、	研究對象.....	17
參、	試驗設計與進行方法	17
第二節	重型海洋性貧血病人基因多型性檢測.....	19
壹、	藥品、試劑、分析材料與儀器設備	19
貳、	去氧核糖核酸(DNA)萃取方法.....	19
參、	基因多型性檢測	20
肆、	統計方法.....	20
第三章	研究結果.....	21
第一節	生化值檢測結果.....	22
壹、	血清鐵蛋白濃度	22
貳、	血清鋅濃度	23
第二節	基因多型性檢測結果.....	24
壹、	<i>UGTs</i> 基因多型性對鐵螯合治療的影響.....	24
貳、	<i>CYPs</i> 基因多型性對鐵螯合治療的影響.....	25
參、	<i>UGTs</i> 與 <i>CYP</i> 基因多型性對生化營養的影響.....	27
肆、	<i>PON1</i> 基因多型性對鐵螯合治療及生化營養的影響	28
第四章	討論.....	29
第一節	生化值檢測結果之探討	30
壹、	血清鐵蛋白濃度與維他命 D 的相互影響.....	30
貳、	病人血清鋅濃度的探討.....	32
第二節	基因多型性檢測結果之探討	34
壹、	<i>UGTs</i> 與 <i>CYPs</i> 基因多型性對 DFX 療效影響的探討.....	34
貳、	<i>PON1</i> 基因多型性對鐵螯合治療及生化營養影響探討 ..	36

第五章 結論與展望	37
第六章 圖表	40
參考文獻	57
附錄	68



圖目錄

圖一、本研究收案流程	41
圖二、海洋性貧血病人血鐵蛋白濃度與劑量、療效指標、生化營養數值之 關聯性.....	42
圖三、海洋性貧血病人血鐵蛋白濃度高低其 Vitamin D 濃度之差異	43
圖四、海洋性貧血病人血鐵蛋白濃度高低其 PON1 活性之差異	44
圖五、海洋性貧血病人帶有不同酵素基因多型性之血鐵、心鐵指標之差異	45
圖六、海洋性貧血病人帶有不同酵素基因多型性之血鋅、PON1 活性之差 異	46



表目錄

表一、海洋性貧血病人基本資料.....	47
表二、海洋性貧血病人各項血清生化檢測平均數值.....	48
表三、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間血鐵控制成效 之人數分布.....	49
表四、血鋅缺乏之海洋性貧血病人之人數分布及其基本資料及各項生化數 值.....	50
表五、海洋性貧血病人基因多型性基本資料.....	51
表六、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同 UGTs 基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異.....	52
表七、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同 CYPs 基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異.....	53
表八、海洋性貧血病人不同 UGTs, CYPs 基因多型性群組之血清鋅及 PON1 活性差異.....	54
表九、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同 PON1 基因多型性群組之鐵質指標、DFX 劑量、營養值之差異.....	55
表十、本研究所檢測病人之單核苷酸多型性變異發生率與其他地區之比較	56

附錄目錄

附錄一、「第 21 屆罕見疾病博碩士論文獎助學金」獎助致謝	69
附錄二、臨床試驗核准函	70
附錄圖一、海洋性貧血疾病發生全球分布	71
附錄圖二、維他命 D 代謝路徑.....	72
附錄圖三、維他命 D 與鐵的代謝路徑關係	73
附錄圖四、飲食對血鋅的影響.....	74



縮寫表

Abbreviation	全名
1-OHase	25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase
24-OHase	25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase
BMT	Bone marrow transplantation
CHB	Han Chinese in Beijing, China
CMR	Cardiac magnetic resonance imaging
CYP	Cytochrome P450
DFO	Deferoxamine, Desferal®
DFP	Deferiprone, Kelfer®
DFS	disease-free survival
DFX	Deferasirox, Exjade®
E2	Estradiol
E3	Estriol
EAR	estimated average requirement
FFQ	Food Frequency Questionnaire
Hb Bart's	hemoglobin Bart's
HbH	hemoglobin H
HDL	high-density lipoprotein
ICL670	Deferasirox, Exjade®
L1	Deferiprone, Kelfer®
LDL	low- density lipoprotein
LIC	Liver iron concentration
MCV	mean corpuscular volume

縮寫表（續）

Abbreviation	全名
NTBI	nontransferrin bound iron
PON1	Paraoxonase-1
ROS	reactive oxygen species
SF	Serum ferritin
SI	Serum iron
SQUID	Superconducting Quantum Interference Device
TGCT	testicular germ cell tumours
TI	β -thalassemia intermedia
TIBC	Total iron-binding capacity
TM	β -thalassemia major
TS	transferrin saturation
TSI	Toscani in Italy
UGT	Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase
VDBP	vitamin D-binding protein

摘要

重型海洋性貧血為罕見疾病，為避免輸血所導致的鐵沉積因而需接受鐵螯合劑之長期治療。過去文獻提出 *UGTs* 的多型性基因變異(single nucleotide polymorphism; SNP)與否對輸血依賴型海洋性貧血病人服用 deferasirox (DFX)鐵螯合療效有影響；因此，本研究目的在釐清臺灣族群酵素基因多型性對 DFX 鐵螯合治療療效及生化營養的影響。**研究方法：**收錄服用 DFX 之重型海洋性貧血病人，檢測其 *UGT1A1*、*CYP1A1*、*CYP1A2*、*CYP1A3*、*PON1* 等酵素基因多型性，探討不同基因族群血液鐵螯合療效指標(包含血清鐵蛋白、心鐵值 T2*、血清鐵、TIBC、運鐵蛋白飽和度)、生化營養相關指標(必要營養元素鋅、維生素 D、PON-1 酵素活性、性賀爾蒙)之影響。**研究結果：**本研究共收錄 44 位長期輸血合併 DFX 治療之重型海洋性貧血病人，酵素基因多型性對 *UGT1A1* 未變異 rs887829, *CYP1A1* 未變異 rs4646421, rs3826041, rs4646903, rs7495708 的血清鐵蛋白、PON-1 未變異 rs662 的運鐵蛋白飽和度及 DFX 劑量有負向顯著影響，對 *CYP1A2* 有變異 rs2470890 (19%)的心鐵值 T2*有正向顯著影響，有較佳的療效。對 *UGT1A1* 未變異, *UGT1A3* 未變異 rs3806596, rs6706232、*CYP1A2* 有變異的血鋅值及 *UGT1A3* 未變異, *PON-1* 未變異的 PON-1 活性有正向顯著影響，病人有較良好的營養狀態。**結論：**本篇結果與過去高加索人研究 *UGTs* 基因變異對 DFX 療效影響的趨勢是相反的。本篇結果顯示不同 *UGTs*, *CYPs*, *PON1* 基因變異對海洋性貧血族群其血鋅、PON1 活性具顯著影響，未來可探討這些 SNPs 個別位點對整體 DFX 療程反應不佳或無法忍受副作用之影響貢獻，以利於及早預測病人用藥成效與營養需求。

關鍵字：重型海洋性貧血、藥物基因多型性、鐵螯合治療影響因子、營養失調風險

Abstract

Beta-thalassemia major is a rare disease in Taiwan. In addition to lifelong blood transfusion, patients also need long-term iron chelation therapy. Previous study indicated that *UGTs* single nucleotide polymorphism (SNP) had pharmacogenomics differences in beta-thalassemia major patients undergoing regular Deferasirox (DFX) therapy. Therefore, the aim of this study was to identify the impact of genetic enzyme variants on iron chelation therapy outcomes and biochemical nutrition status in Taiwanese thalassemia major patients. **Method:** Beta-thalassemia major patients undergoing regular DFX therapy were recruited. *UGT1A1*、*CYP1A1*、*CYP1A2*、*CYP1A3*、*PON-1* polymorphism in patients had been tested and their necessary metal element content, vitamin D, PON-1 enzyme activity and sex hormones had been monitored. **Result:** 44 Taiwanese beta-thalassemia major patients were included. *UGT1A1* rs887829, *CYP1A1* rs4646421, rs3826041, rs4646903, rs7495708, *PON-1* rs662 without SNPs had positive impact on serum ferritin, transferrin saturation and DFX dose. *CYP1A2* rs2470890 (19%) with SNPs had positive impact on cardiac T2* value. All of the above showed better outcome in iron chelation therapy. On the other hand, *UGT1A1*, *UGT1A3* rs3806596, rs6706232 without SNPs and *UGT1A2* with SNPs; *UGT1A3*, *PON-1* without SNPs had positive impact on serum zinc level and PON-1 activity, respectively. All of the above indicated a better biochemical nutrition status. **Conclusions:** In contrast to previous Caucasian studies, SNPs on *UGTs* had opposite effects on DFX therapy outcomes compared to current study patients. This study firstly indicated that patients with various *UGTs*, *CYPs* polymorphisms had different serum zinc level and PON-1 activity in thalassemia major patients. In the future, the different contributions of patients' genetic variability in *UGT1A1*, *UGT1A3*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *PON1* should be weighed out in order to predict patients with inadequate response or intolerance undergoing DFX therapy and nutrition supplementation needs.

Keywords: beta-thalassemia major, pharmacogenomics, factors affecting iron chelation therapy, risks of malnutrition



第一章 緒論

第一節 β 型海洋性貧血

壹、海洋性貧血簡介

海洋性貧血(Thalassemia)為常見的體染色體隱性遺傳血色素病變(hemoglobinopathies)疾病，因為正常的血紅蛋白鏈(globin chain)生合成減少或無法合成所導致的。此疾病最早在 1927 年由 Cooley and Lee 等人提出¹，而”Thalassemia”這個名稱則最早在 1932 年被使用²，源自於希臘文中「大海」的意思。由於不同的血紅蛋白基因(globin gene)突變或缺陷，該疾病分為 α 型及 β 型。海洋性貧血的病人臨床表徵差異很大，有些病人幾乎沒有症狀，而有些卻嚴重到需要終生輸血且伴隨不同器官的併發症。治療方面目前主要仍然是紅血球的輸注，也因此需要排鐵劑的服用³。在臺灣，重型海洋性貧血為罕見疾病，其鐵質沉積及排鐵劑用藥情形、併發症、生化檢驗數值異常等整體健康醫療評估，是需要被特別個人化關注的。

貳、流行病學

海洋性貧血的盛行率(prevalence)在過去瘧疾流行的區域(malaria-endemic regions)最高，包含：地中海(Mediterranean)、撒哈拉以南的非洲(sub-Saharan Africa)、中東(Middle East)、亞洲印度次大陸(Asian-Indian subcontinent)和東南亞(Southeast Asia)³，其全球分布狀態如附錄圖一⁴。全世界約有 5%的人口帶有變異的血紅蛋白基因⁴⁻⁷，而約有 1.5%的人口(8000-9000 萬人)為 β 型海洋性貧血帶因者，每年約有 6 萬個 β 型海洋性貧血新生兒出生，其大多數發生在開發中國家⁸。根據海洋性貧血國際協會(Thalassaemia International Federation)的資料顯示， β 型海洋性貧血帶因率最高的國家為馬爾地夫(Maldives) (18%)，其次分別為賽普勒斯(Cyprus) (14%)、薩丁尼亞島(Sardinia) (10.3%)和東南亞 Southeast Asia (3-5%)，而全

球重型海洋性貧血患者約有 20 萬人^{9,10}。

在臺灣，國人海洋性貧血的帶因率約為 6%，近年來，隨著不同種族通婚、東南亞外勞及外籍新娘的引進，提高了新生兒的致病機率。截止至 108 年臺灣衛福部國民健康署的統計，全國重型海洋性貧血累計個案共 383 人^{11,12}。

參、 臨床分型與症狀

甲、 α 型海洋性貧血¹³

α 型海洋性貧血是由 α 血紅蛋白鏈(α -globin chains)的缺失或製造減少所致。其製造是受第 16 對染色體上共四個基因($\alpha\alpha / \alpha\alpha$)所控制，通常是基因缺失(deletion)所造成的。一個基因缺失為靜止型帶因者(silent carriers)，臨床上不會有症狀且不需治療；兩個基因缺失為輕型 α 型海洋性貧血(alpha thalassemia minor)，通常不會有貧血，但可能有平均紅血球體積(mean corpuscular volume, MCV)減少的現象；三個基因缺失為中間型 α 型海洋性貧血(alpha thalassemia intermedia)，又稱為血紅素 H 症(HbH disease)，過量的 β 血紅蛋白鏈形成血紅素 H (hemoglobin H, HbH)，會引起溶血性貧血(hemolytic anemia)及脾臟腫大(splenomegaly)；四個基因缺失為重型 α 型海洋性貧血(alpha thalassemia major)， γ 血紅蛋白鏈會自行結合為異常血紅素，稱作巴氏血紅素(hemoglobin Bart's, Hb Bart's)，通常會導致致命性的胎兒水腫(hydrops fetalis)，在子宮中即死亡。

乙、 β 型海洋性貧血¹⁴

β 型海洋性貧血是由 β 血紅蛋白鏈(β -globin chains)的無法製造(β^0)或合成不足(β^+)所致，大多是因為第十一對染色體上的一對 β 基因發生點突變(point mutation)，僅少數為基因缺失(deletion)所造成¹³，目前已知的突變點有 200 個以上。臨床上依嚴重程度分為：輕型(β -thalassemia minor)、中間型(β -thalassemia intermedia (TI))及重型海洋性貧血(β -thalassemia major (TM))。

輕型 β 型海洋性貧血 β -thalassemia minor

輕型 β 型海洋性貧血又稱為帶因者(β -thalassemia carrier)，為單一 β 基因缺損。通常臨床上不會有症狀，但有時候會有輕微貧血。

中間型 β 型海洋性貧血 β -thalassemia intermedia

中間型 β 型海洋性貧血定義上為不需要或僅偶爾需要輸血的患者，且貧血症狀較重型患者輕微，有病人時候甚至到成人之前都是完全沒症狀的。臨床症狀包含蒼白、輕度至中度黃疸、膽石病、肝脾腫大、中度至重度骨質改變、腿部潰瘍、髓外造血所產生的腫塊，且有發生骨質缺乏(osteopenia)、骨質疏鬆(osteoporosis)及血栓併發症的傾向。心臟症狀主要為肺動脈高壓及高輸出量型心衰竭(high-output heart failure)，通常保有正常的左心室收縮功能(preserved systolic left ventricle function)¹⁵。非輸血型患者的鐵質負荷(iron overload)主要是由於大量擴張卻無效的紅血球生成導致腸道的鐵吸收增加^{16,17}。雖然中間型海洋性貧血的病人鐵質負荷的速度比重型患者慢，但中間型患者最終仍可能發生與重型患者類似的併發症，包含肝臟、內分泌和心臟的功能障礙¹⁸。非輸血依賴型的中間型患者甚至也可能因為肝臟的鐵質負荷而生成肝癌^{14,19}。

重型 β 型海洋性貧血 β -thalassemia major

重型 β 型海洋性貧血又稱為庫利氏貧血(Cooley's anemia)，病患臨床症狀約在出生後 6 至 24 個月會出現，使嬰兒無法正常生長而逐漸變蒼白。餵食問題、腹瀉、煩躁、反復發燒及由脾臟腫大所引起的腹部逐漸增大之現象可能會發生，病患這時便需要開始接受定期規律性的輸血治療。然而在一些開發中國家沒有長期輸血的醫療資源，病患會有症狀包含：生長遲緩、蒼白、黃疸、皮膚褐色色素沉澱、肌肉無力、膝外翻(genu valgum)、肝脾腫大、腿部潰瘍、髓外造血所產生的腫塊及骨髓擴張所引起的骨骼改變，骨骼改變包括腿部的長骨畸形、典型的顱面變形和骨質疏鬆症，這些沒有定期輸血的病人通常死於高輸出量型心衰竭。如果病人一開始便接受規律的輸血維持血紅素(hemoglobin, Hb)濃度在 9.0 to 10.5 g/dl，正常的生長及發育便可長達 10 至 12 年。然而長期輸血的病人依據他們螯合治療(chelation therapy)的順從性好壞，可能產生鐵質負荷相關的併發症，在孩童時期包括生長遲緩和失敗的性成熟；而在成人則有肝臟(纖維化、硬化)、心臟(擴張性心肌病、心律不整)、內分泌(甲狀腺、副甲狀腺、性腺、腎上腺(較少見)功能不足及糖尿病)等的併發症。其他併發症則包括脾功能亢進、慢性肝炎(B 型和/或 C 型肝炎)、HIV 感染、靜脈血栓形成和骨質疏鬆症。

第二節 重型海洋性貧血之治療

海洋性貧血唯一能夠治癒的方法就是接受骨髓移植，除此之外便是終身定期輸血並配合鐵螯合治療，然而臨床上有部分病人雖已使用高劑量的鐵螯合劑，其療效卻始終不彰；另有病人因為鐵螯合劑的使用而造成不堪負荷的副作用因而停藥，因此對於這群罕病病人，其治療療效的評估是值得被研究與重視的。

壹、 骨髓移植

接受骨髓移植(Bone marrow transplantation, BMT)是唯一能夠治癒的方法。其結果與移植前臨床情況有關，尤其是肝腫大、肝纖維化及鐵質沉積的程度²⁰。在沒有前述危險因子的孩童中，無病存活率(disease-free survival, DFS)大於 90%；而成人因為疾病進程較為晚期治癒率則約為 65%²¹。

貳、 輸血

輕型海洋性貧血患者一般不需要介入治療；中間型患者則需依照臨床狀況來評估是否需要輸血；而重型患者最早從出生後六個月就要開始定期和終身的輸血治療。輸血的目標為改善貧血、抑制紅血球生成和因其導致的胃腸道鐵吸收。建議重型海洋性貧血患者 2-5 週輸血一次，並維持輸血前血紅素濃度在 9.0–10.5 g/dl 以上，以達到正常的生長和身體活動、減少鐵質沉積並抑制骨髓擴張²²。一天輸注的紅血球量不宜超過 15-20 ml/kg，輸注速率不宜超過 5 ml/kg/h，以避免血容量迅速增加¹⁴。

參、鐵螯合治療

因為人體缺乏排出多餘鐵的機制，長期輸血不可避免得會產生輸血型血鐵質沉著症(transfusional hemosiderosis)，造成心衰竭、肝硬化、生長遲緩和多種內分泌異常，因此需要使用鐵螯合劑(Iron Chelators)，以排除體內多餘的鐵。當體內鐵質指標血清鐵蛋白(Serum ferritin, SF)濃度 $>2,500$ ng/mL時，與存活率降低有關，如能將鐵蛋白濃度維持在 $1,000$ ng/mL 臨床效益將更加顯著²³。臺灣目前核准用於鐵螯合治療的排鐵藥物共三種^{14,24}：

Deferoxamine (DFO, Desferal[®], 除鐵能)

DFO 是第一個明確證實能排除體內多餘鐵質的螯合劑，臨床上應用至今已長達五十多年²³，在臺灣於民國 88 年核准上市。DFO 屬於 Hexadentate 類藥物，與鐵離子以 1:1 的方式結合再經由尿液及糞便排除。因為屬於大分子藥物，口服生體可用率很低且半衰期短 (約 20~30 分鐘)，因此需要長時間緩慢皮下或靜脈注射給予，劑量 $25\sim50$ mg/kg/day 輸注 8~12 小時，每週 5~7 天。副作用包含：眼耳毒性、生長遲緩，和少見的腎損傷及間質性肺炎。因為給藥方式的不便，導致病患服藥順從性低，因此研發口服排鐵劑的重要性無可比擬。

Deferiprone (L1, DFP, Kelfer[®], 康鐵寧)

L1 為第一個口服的鐵螯合劑，在臺灣於民國 91 年核准作為第二線用藥，適應症為：重型海洋性貧血病人，使用 DFO 治療不理想或無法接受時；或在醫師嚴格監測不良反應 (如:白血球數目、肝功能狀況等...)下，與 DFO 合併使用。L1 屬於 Bidentate 類藥物，與鐵離子以 3:1 的方式結合。因為藥物半衰期短(約 2~3 小時)，所以一天要服用 3 次，建議劑量為 $75\sim100$ mg/kg/day。研究顯示 L1 保護心臟的效果比 DFO 佳，使用 L1 治療的病患

有較佳的心肌 MRI 結果，且發生心臟疾病或惡化的可能性較低²⁵⁻²⁷。副作用包含：顆粒性白血球缺乏症(agranulocytosis)、嗜中性白血球減少症(neutropenia)、關節病變、胃腸道不適、肝功能異常、血清鋅濃度低，因此服藥後須密切注意並定期追蹤血球計數、血清鋅濃度、肝功能等，且每 1~3 個月追蹤鐵蛋白以評估排鐵狀況。

Deferasirox (ICL670, DFX, Exjade[®], 易解鐵)

DFX 為本研究對象大部分所使用的藥物。此藥為新型的口服鐵螯合劑，在臺灣於民國 96 年核准上市，屬於 Tridentate 類藥物，與鐵離子以 2:1 的方式結合。因為半衰期長(約 8~16 小時)，一天僅需服用一次，因此病人服藥順從性較高，為六歲以上病人第一線用藥，建議劑量為 20~40 mg/kg/day。常見副作用包含胃腸道不適、皮疹和血清肌酸酐(Creatinine)濃度輕微增加，而較嚴重的包含肝衰竭、腎衰竭、血球減少、消化道出血等個案則在上市後被報導，因此服藥後須密切注意並定期追蹤病人肝腎功能及血球計數，且每 1~3 個月追蹤鐵蛋白以評估排鐵狀況。

DFX 吸收快速，其身體可用率(bioavailability)大約 70%，大於 99%的藥物會與血清蛋白結合，其分部體積適中^{28,29}。DFX 主要經由葡萄糖醛酸化(glucuronidation)在肝臟代謝，並透過肝膽排泄(hepatobiliary excretion)於糞便排除，主要的代謝酵素為 UGT1A1；次要為 UGT1A3，少部分經由 CYP450 代謝(約 8%)；包含 CYP1A、CYP2D6²⁹⁻³²。

肆、鐵質沉積指標

海洋性貧血病人須定期監測其鐵質沉積的情形，如此不僅可作為鐵螯合劑療效的指標，同時也可以預防鐵質過度負荷所造成的併發症發生或惡化。目前臨床上最常使用的指標為血清鐵蛋白、肝臟鐵濃度及心臟核磁共振造影，而其他指標則包含：非運鐵蛋白結合的鐵、運鐵蛋白飽和度、鐵

質濃度、運鐵蛋白濃度、儲鐵蛋白濃度等等，以下將針對臨床效益較大的指標加以介紹。

血清鐵蛋白(Serum ferritin, SF)

SF 是臨床上最常使用的鐵質沉積指標，建議每一至三個月追蹤一次，其檢驗相對簡單且便宜，可以透過 SF 的數值趨勢得知病人體內鐵質儲存的情形，並進一步針對其鐵螯合劑量做調整，是一個不錯的鐵螯合療效指標⁹。過去多個研究皆證實控制 SF 與病人預後有所關聯^{23,33-35}。然而其敏感度與專一性較差，當 SF 呈上升或下降的趨勢並不能完全代表實際況狀，例如病人的 SF 數值如果呈現上升的趨勢，除了代表體內鐵質負荷在增加當中，也有可能是因為發炎或組織損傷所造成的，因此臨床工作者在判讀病人 SF 趨勢時，需要更周全的將各種因素考慮進去以做正確的診斷⁹。

將 SF 濃度保持低於 1000 (ng/mL)與較低的發病率和死亡率相關，因此該閾值常用於判斷是否需要開始接受鐵螯合治療；若 SF 持續高於 2500(ng/mL)會增加心臟及內分泌疾病的風險，因此該閾值常用於判斷是否需要改變劑量或變更鐵螯合治療^{9,35-37}。對於 SF 量已達目標值(通常介在 500- 1,000 ng/mL)的輸血依賴型海洋性貧血病人，應考慮以 5- 10 mg/kg 逐步降低 DFX 劑量，以維持 SF 量於目標範圍內。如果 SF 持續下降到低於 500 μ g/L，應考慮中止治療³⁸。

肝臟鐵濃度(Liver iron concentration, LIC)

肝臟是儲存鐵的主要器官，因此 LIC 是個很好的指標，可透過活體組織切片(Biopsy)、核磁共振造影(MRI)及超導量子干涉儀(Superconducting Quantum Interference Device, SQUID) 三種方式測得。一般建議控制 LIC 小於 7 毫克/每公克肝臟乾重量，並每年追蹤一次⁹。

心臟核磁共振造影 Cardiac magnetic resonance imaging (CMR)

CMR 為利用 T2*影像來評估心臟含鐵量的工具，臨床上定義鐵質過度負荷為 T2*數值小於 20 ms，而當 T2*數值小於 10 ms 時，則為嚴重鐵質過度負荷。一般建議每年追蹤一次⁹。

非運鐵蛋白結合的鐵 (nontransferrin bound iron, NTBI)

NTBI 這種型式的鐵是造成組織器官損傷的主要原因，它可通過細胞膜而進到細胞內，並進一步產生活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)而造成毒性^{39,40}，可預期 NTBI 濃度與組織受損程度的相關性，因此 NTBI 可作為重要的生化指標，因為排除這種有毒型式的鐵，才是最主要的治療目標。

正常人偵測不到 NTBI⁴¹，而在 Piga et al.的研究當中⁴²，83.3%海洋性貧血病人血液中檢測出 NTBI，其平均值為 2.01 ± 1.38 mcM。然而目前 NTBI 的檢驗方法不一，不同實驗室與檢驗方法之間的結果有所差別，尚未有一個黃金標準檢驗流程被建立，因此它的臨床效益尚待釐清⁴³。

運鐵蛋白飽和度(transferrin saturation, TS)

TS 的計算方式為： $SI/TIBC \times 100\%$ 。其中 SI 為血清鐵濃度(Serum iron)；TIBC 為總鐵結合能力(Total iron-binding capacity)。過去 Esther M.G. Jacobs 等人⁴³比較不同的 NTBI 檢驗方法，結果皆跟 TS 呈現正向線性相關，因此可以利用 TS 預測 NTBI 的存在量，以作為 NTBI 的替代指標。而 TS 除了作為鐵質負荷程度的參考，也可用於海洋性貧血的鑑別診斷當中⁴⁴。

TS 大於 75%為鐵質過度沉積的指標，在海洋性貧血患者當中，TS 可能高達 80-100%，或甚至更高⁴⁵。SI 的正常值為：60–180 μ g/dl；而 TIBC 正常值則為：155–300 μ g/dl。

伍、 DFX 藥物基因多型性

臨床上發現，定期使用鐵螯合劑 DFX 的乙型重型海洋性貧血病人當中，有一部份病人即使使用高劑量的 DFX，對於鐵質沉積控制情形仍成效不彰，過去 Lu et al.⁴⁶ 針對臺灣重型海洋性貧血病人的研究當中，即有 36% 的病人對原本 DFX 療程反應不佳或無法忍受副作用。因此有學者提出其藥物療效可能受單核苷酸多型性(single nucleotide polymorphism, SNP)影響⁴⁷。Allegra et al.研究室發現，*UGT1A1* C>T rs887829 位點帶有 TT 基因型的病人，其血清鐵蛋白較帶有 CC/CT 基因型之病人低；而 *UGT1A3* A>G rs3806596 位點帶有 GG 基因型的病人，其血清鐵蛋白同樣較帶有 AA/AG 基因型之病人低，顯示其鐵質沉積情形控制較穩定，有較佳的藥物療效⁴⁸。另一方面，*CYP1A1* 1189 rs4646903 位點帶有 CC 基因型的病人，其心臟鐵質沉積指標 T2*數值則較帶有 TT/TC 基因型病人低，顯示其鐵質沉積情形較為嚴重，藥物控制療效不佳⁴⁹。

然而上述 Allegra et al.及 Cusato et al.的研究對象多為義大利人，其基因多型性的分布與臺灣人並不相同，在不同族群之間的變異頻率(minor allele frequency, MAF)有所差異。

對於長期輸血病人來說，鐵螯合治療是不可或缺的，然而劑量的正確調整卻是一大課題，如何達到有效排除體內過多鐵質，同時不過量以減低副作用發生是非常值得關注的，影響藥物作用及代謝的因子很多，其中也包含基因多型性的影響，因此針對不同病患的個案管理給予合適的劑量，才能達到最佳的鐵螯合療效。然而目前尚未有研究團隊釐清臺灣重型海洋性貧血其基因多型性對鐵螯合療效的影響，因此建立臺灣族群預測療效指標的研究刻不容緩。

第三節 重型海洋性貧血病人異常之生化營養數值

壹、 營養狀態與併發症

過去文獻指出，海洋性貧血的病人鋅缺乏之盛行率大約介於 26%(北美⁵⁰⁾至 80%(伊朗⁵¹、斯里蘭卡⁵²)，鋅缺乏(Hypozincemia)的定義為血清鋅濃度小於 700 mcg/L，鋅是多種酵素的輔助因子，在人類的骨質生長代謝、免疫、傷口癒合及胰島素生成當中扮演著至關重要的角色^{53,54}。鋅缺乏可能造成生長遲緩、性腺功能低下、糖尿病、感染抵抗力低下等問題^{52,55-57}。日常飲食中鋅與鐵共存，因此有少部分病人會因營養攝取不足而鋅缺乏^{58,59}，然而最主要的原因可能還是因為生長需求增加、接受鐵螯合治療造成鋅於尿液的排除量增加所致^{60,61}。鋅並沒有儲存的形式，因此在生長、壓力或生病狀態下，海洋性貧血病人體內鋅濃度可能在短時間內低於正常值，進而產生相關併發症⁶²。

過去研究顯示，居住在北美的海洋性貧血病人中，維他命 D 缺乏的盛行率高達 82%⁶³，其定義為血液中 25-OH-vitamin D 濃度小於 20 ng/mL⁶⁴。維他命 D 從飲食攝取後，在肝臟及腎臟會被代謝成具活性的 1,25-OH-vitamin D，它在骨骼健康中扮演著重要的角色。若維他命 D 缺乏，攝取的鈣僅有 10-15%的量會被人體吸收⁶⁵，可能會加劇骨頭異常的症狀。造成維他命 D 缺乏的原因除了日常飲食攝取不足外⁵⁸，也可能是因為鐵質過度負荷、肝臟鐵質沉積及功能不全導致於肝臟的維他命 D 羥化作用(hydroxylation)減少、黃疸或鐵引起的色素沉澱干擾皮膚維他命的製造⁶⁶。

除此之外，長期輸血的病人，因為鐵質負荷造成細胞損傷，進而產生活性含氧物(reactive oxygen species, ROS)，造成氧化壓力(oxidative stress)⁶⁷，而這些自由基(free radical)也會損害核酸(nucleic acid)、脂質(lipid)和蛋白質(protein)⁶⁸。過去文獻指出，重型海洋性貧血患者血清中的抗氧化酵素 PON1

(Paraoxonase-1)之活性較健康人低^{69,70}。PON1 酵素是一種醣蛋白(glycoprotein)，在肝臟被製造並會被分泌到血清當中⁷¹，它具有對氧磷酶(paraoxonase)、芳基酯酶(arylesterase)和重氮酮酶(dyazoxonase)的活性⁷²，可透過水解(hydrolyze)脂質過氧化產物來調節 ROS 的濃度⁷³，它與血液中的高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)相關⁷⁴，過去文獻認為血清中的 PON1 酵素活性低下，可能與低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)氧化的敏感性增加、動脈粥樣硬化(atherosclerosis)及心血管疾病風險有關^{75,76}。Dardiotis et al.⁷⁷指出 *PON1* rs662 A > G 基因變異會影響催化效率，GG, GA, AA 基因型分別與高、中、低血清 PON1 活性相關⁷⁸。在飲食攝取或營養補充品方面，綠茶、石榴汁、藍莓、葡萄籽萃取物、槲皮素(quercetin)可能幫助提升體內 PON1 酵素的含量⁷⁹。

綜合以上文獻，我們可以知道鐵螯合劑之療效可能受基因多型性影響，然而過去研究對象大多為高加索人，因此針對亞洲族群基因多型性對藥物的影響目前仍有待研究。而另一方面，從上述文獻可知重型海洋性貧血病人除了針對特定營養成分可能攝取不足外，也可能因為疾病本身及所接受的鐵螯合治療造成重要金屬元素、維他命及抗氧化酵素等等之體內含量減少，進而可能造成生長、性腺功能、骨骼、代謝及心血管疾病等方面的併發症。然而過去卻未曾有臺灣的研究團隊針對國內的重型海洋性貧血病人進行這方面的評估，鑒於不同人種及整體飲食文化的差異，在臨床上並無法給予準確的醫療建議。

第四節 研究動機與目的

重型海洋性貧血在臺灣為公告罕見疾病，患者需接受終身輸血，為避免輸血所導致的鐵沉積因而需接受鐵螯合劑之長期治療。過去 Lu et al.⁴⁶ 針對臺灣重型海洋性貧血病人的研究當中，即有 36% 的病人對原本 DFX 療程反應不佳或無法忍受副作用。過去 Allegra et al.^{48,49} 的研究室發現，在義大利重型海洋性貧血病人於接受 DFX 治療穩定期間，rs887829 位點帶有 TT 基因型及 rs3806596 位點帶有 GG 基因型之病人，有較佳的藥物療效；而 rs4646903 位點帶有 CC 基因型的病人，則藥物控制療效不佳。然而這些研究對象為高加索人，因此目前仍不清楚基因多型性對亞洲族群病人鐵螯合療效的影響。而病人生化營養方面，文獻指出接受鐵螯合治療可能增加鋅的排除^{60,61}，且鐵過度負荷會造成海洋性貧血病人生化營養素^{50-52,66} 或抗氧化酵素的失衡^{69,70}，而這些營養失衡是否也源自不同基因型所致尚待釐清。

因此本篇針對臺灣的重型海洋性貧血病人進行研究評估以釐清不同酵素基因多型性對病人的鐵螯合治療及生化營養的影響。主要是收錄因輸血而產生鐵質過度負荷的重型海洋性貧血病人，檢測其 *UGT1A1*, *UGT1A3*, *CYP1A1*, *CYP1A2* 酵素基因多型性對其鐵螯合治療(DFX)療效及生化營養包含血液中必要金屬元素含量、維他命 D、PON 1 酵素活性、性腺賀爾蒙等的影響。期許未來能提供帶有特殊基因多型性的病人個人化醫療建議如藥物所需服用劑量、營養攝取指引作為預防醫學的依據，以提升病人生活品質。



第二章 實驗材料與方法

本研究為釐清臺灣 β 型重型海洋性貧血病人基因多型性對鐵螯合療效、營養及併發症的影響；繼而針對帶有特殊基因多型性的病人，提供相對應的個人化醫療建議如營養攝取指引作為預防醫學的依據，以提升病人生活品質，因而進行本臨床試驗，針對病人生化值及基因多型性做檢測。

第一節 重型海洋性貧血病人生化值檢測

壹、藥品試劑與儀器設備

藥品、試劑與儀器設備	廠牌
藥品與試劑	
EnzChek® Paraoxonase Assay Kit	Invitrogen
儀器設備	
深藍紅標真空採血管 (BD Vacutainer® Catalog no. 368380)	BD
紫頭真空採血管 (BD Vacutainer® Catalog no. 366643)	BD
黃頭真空採血管 (BD Vacutainer® Catalog no. 367986)	BD
震盪器(Vortex Mixer)	Fine PCR
乾浴加熱器(Fire Fox Dry Bath)	PANTECH
全波長式多功能微盤分析儀	Thermo Varioskan Flash

貳、 研究對象

受試者納入條件：

- (1) 14 歲以上的男性或女性患者。
- (2) 重度海洋型貧血的病史，且需要持續的輸血正在接受常規的易解鐵(DFX)或康鐵寧的治療(L1)。

受試者排除條件：

- (1) 懷孕婦女。
- (2) 不再接受常規的易解鐵或康鐵寧的治療。

參、 試驗設計與進行方法

本臨床試驗已通過臺灣大學醫學院附設醫院研究倫理委員會之人體試驗申請；計劃名稱：鐵沈積與螯合治療反應之臨床轉譯研究，研究倫理委員會編號：201401095RINC。

針對符合受試者選擇標準的病人，參照受試者同意書向β型重型海洋性貧血病人詳盡說明試驗內容，並在取得病人簽名同意加入試驗後安排後續抽血時間，試驗抽血當天會先確認病人前一周的服藥情形並抽取病人服藥前血液，後續將對其血液檢體做基因型檢測、生化檢驗，以進行藥物療效、營養及併發症評估。

療效評估方面，將檢測 serum ferritin, serum iron, TIBC, cardiac T2*；營養狀態評估將檢測其必要金屬元素（鈣、鋅、鐵）含量、維他命 D、PON-1 酵素活性；併發症方面將檢測其性腺賀爾蒙濃度(testosterone, estrogen, FSH, LH)、特定蛋白質指標(osteocalcin, pro-peptide type I procollagen)，同時對照肝、心等臟器核磁共振檢查結果。

依檢驗項目使用不同之真空採血管共三種，針對基因多型性檢測採用紫頭添加 EDTA 之採血管；檢測鋅則需要使用深藍紅標採血管(微量元素

專用)；其餘檢驗項目皆使用含促凝劑(Clots activator；Silicone coated interior)及聚合物凝膠(polymer gel)的黃頭採血管，抽血後 30 分鐘至兩個小時間離心，分離出血清避免運送震動造成溶血^{80,81}。經離心後的樣品，保存於 2-8°C 送至台北聯合醫事檢驗所進行檢驗。

肆、 PON-1 酵素活性檢測

病人之 PON-1 酵素活性檢測參考 Huali Zhou 等人發表文獻⁸²，使用 EnzChek[®] Paraoxonase Assay Kit，該試劑套組對 PON1 的有機磷酸酶(organophosphate)活性的螢光檢測(fluorometric assay)具有高度靈敏性。參照廠商所提供的說明，配製螢光標準品濃度：0.1uM(0.01nmol), 0.2uM(0.02nmol), 0.4uM(0.04nmol), 0.6uM(0.06nmol), 0.8 uM (0.08 nmol), 1uM(0.1nmol), 2 uM (0.2nmol), 4uM(0.4 nmol), 6uM(0.6 nmol)，建立螢光標準品檢量線。

配製受質溶液(Paraoxonase substrate working solution)，加到血清樣品反應，在溫度 37°C 下置入全波長式多功能微盤分析儀，激發光(excitation)及散發光(emission)設定值分別為 360nm 及 450nm，數據結果採用 SkanItTM Software 進行螢光強度分析。

第二節 重型海洋性貧血病人基因多型性檢測

壹、藥品、試劑、分析材料與儀器設備

藥品、材料與與儀器設備	廠牌
藥品與試劑	
Iqama DNA Blood Mini Kit (50)	QIAGEN
TaqMan™ Genotyping Master Mix	Thermo Fisher Scientific
TaqMan™ Genotyping Master Assay	Thermo Fisher Scientific
儀器設備	
震盪器(Vortex Mixer)	Fine PCR
分光光度計(ES-2)	Malcom
離心機(Centrifuge)	Hermle
超微量分光光度計 (Nano Drop 1000 Spectrophotometer)	Thermo Fisher Scientific
即時聚合酶連鎖反應器 (7900HT Fast Real-Time PCR System)	Thermo Fisher Scientific

貳、去氧核糖核酸(DNA)萃取方法

利用 DNA 萃取檢驗套組(QIAamp DNA Blood Mini Kit)從病人的白血球層(buffy coat)萃取出 DNA，並透過分光光度計測量 DNA 的品質， $A_{260/280}$ 用來預估檢體中的 DNA 純度，理想值介於 1.7~1.9； $A_{260/230}$ 則表示是否有鹽類殘留之污染，理想值介於 2.0~2.4。

參、 基因多型性檢測

根據過往研究，排鐵劑 DFX 主要代謝酵素基因 *UGT1A1* 及 *UGT1A3*⁸³ 及次要代謝酵素基因 *CYP1A2* 皆具有基因多型性⁴⁸，與血中藥物濃度及療效反應有關。除此之外，Dardiotis et al.⁷⁷ 指出 *PON1* 基因變異與血清 PON1 活性相關。因此本研究選取這四個酵素相關基因位點做為候選基因。基因多型性檢測方法參考陳建翰等人發表文獻⁸⁴，基因型鑑定使用試劑 TaqMan™ Genotyping Master Mix 及 TaqMan™ SNP Genotyping Assay，在即時聚合酶連鎖反應器下進行，操作軟體及基因型判讀軟體為 Applied Biosystems Sequence Detection Systems Version 2.4.1。

肆、 統計方法

本研究數據統計分析使用 GraphPad Prism 第 6 版統計軟體之 t test-Unpaired、One-way ANOVA 等統計方法來檢定不同組別之間的差異性，並定義 $P \text{ value} < 0.05$ ，視為有統計上的顯著差異。



第三章 研究結果

第一節 生化值檢測結果

本研究之生化值檢測結果，包含：鐵螯合療效指標、營養及性腺荷爾蒙數值。收案流程如圖一，自 2014 年至 6 月至 2019 年 2 月，於臺灣大學醫學院附設醫院兒童醫院，收錄了共 54 位長期輸血合併鐵螯合治療之重型海洋性貧血病人，其中排除 3 位無法追蹤之病人、7 位合併使用 DFX 及 DFP(L1)之病人(因無法釐清基因多型性對藥物的個別影響)，最後共 44 位病人進行臨床數據之研究。病人基本資料如表一，包含：性別、年齡、體重、血清鐵蛋白濃度、心臟核磁共振造影 T2*值、DFX 服藥劑量。病人各項血清生化檢測平均數值如表二，包含鐵螯合療效指標(心臟核磁共振造影 T2*值、鐵蛋白、鐵、TIBC、運鐵蛋白飽和度)、營養(鋅、磷、Vitamin D、PON1)及性腺荷爾蒙(FSH, LH, Estradiol (E2), Estrinol (E3), Testosterone)。

壹、血清鐵蛋白濃度

海洋性貧血病人於接受 DFX 治療穩定期間血鐵控制成效之人數分布如表三，本研究所收錄之 44 位病人血清鐵蛋白濃度平均值為 2845.2 ± 4171.6 (ng/mL)，其中近三成病人(13 位)血清鐵蛋白濃度小於 1000 (ng/mL)，四成病人(18 位)血清鐵蛋白濃度介於 1000 至 2500 間，剩下近三成(13 位)病人其血清鐵蛋白濃度大於 2500，其平均數值分別為： 657.2 ± 162.8 ； 1468.5 ± 440.9 ； 6939.5 ± 5988.9 。

病人血清鐵蛋白濃度數值與鐵螯合劑投與劑量及療效指標皆呈顯著線性相關，包含：每日總劑量($r=0.33, p=0.03$)、每日單位體重劑量($r=0.32, p=0.04$)、心臟核磁共振造影 T2*值($r=-0.43, p<0.01$)、TIBC ($r=-0.35, p=0.02$)、TS ($r=0.32, p=0.03$)。賀爾蒙方面，SF 與 E3 呈線性負相關($r=-0.33, p=0.03$)。營養方面雖然皆未呈現顯著線性相關，但 SF 與鋅、PON1, Vitamin D 皆有負相關的趨勢($r=-0.02, -0.14, -0.11$)，如圖二。

過去文獻指出，當 SF 濃度 $>2,500$ ng/mL 時，與存活率降低有關，如能將 SF 濃度維持在 $1,000$ ng/mL 臨床效益將更加顯著²³。因此本研究依照病人的 SF 濃度數值以兩種方式分組進行數據分析，(一)：分為 $SF \leq 1,000$ ng/mL 及 $SF > 1,000$ ng/mL 兩組；(二)：分為 $SF \leq 2,500$ ng/mL 及 $SF > 2,500$ ng/mL 兩組。此兩種分組方法除了鐵螯合劑投與劑量及療效指標組別間呈現顯著差異外，第(一)種分組方法的結果中， $SF \leq 1,000$ 組的 Vitamin D 濃度顯著高於 $SF > 1,000$ 組(21.3 ± 9.3 vs. 14.9 ± 4.6 ; $p < 0.01$)，如圖三；而第(二)種分組方法的結果中， $SF > 2,500$ 組的 PON1 活性顯著低於 $SF \leq 2,500$ 組(6.4 ± 1.9 vs. 7.7 ± 1.7 ; $p = 0.03$)，如圖四。

貳、血清鋅濃度

本研究所收錄的 44 位病人，其血清鋅濃度平均值為 787.6 ± 126.5 (mcg/L)，有 9 位病人(20%)為鋅缺乏者(Hypozincemia)；35 位病人(80%)為鋅濃度正常者(Normozincemia)。

本研究將病人依照血清鋅濃度正常與否分為兩組：鋅缺乏組($Zn < 700$ mcg/L)及鋅濃度正常組($Zn \geq 700$ mcg/L)，血鋅缺乏之海洋性貧血病人之人數分布及其基本資料及各項生化數值如表四。鋅缺乏組 Zn 濃度平均值為 628.0 ± 41.9 (min-max: 557-692) (mcg/L)；而鋅濃度正常組則為 828.6 ± 106.6 (min-max: 700-1204)。所有男性病人當中，僅有 1 位病人為鋅缺乏者(6%)，而女性病人當中，則有 8 位是鋅缺乏者(29%)。在鐵螯合劑投與劑量及療效指標方面，兩組之間並未有顯著差異；而在性腺賀爾蒙方面，各項生化數值兩組間也未有顯著差異。

過去研究指出，鋅缺乏可能造成性腺功能低下^{52,55-57}，而其缺乏的原因可能與接受鐵螯合治療有關^{60,61}。因此本研究分析了全部 44 位病人之鋅濃度與鐵螯合劑投與劑量療效指標及各項性腺賀爾蒙之線性關係，結果皆未顯著。本研究也將病人依照 DFX 投與劑量分為三組： $DFX \text{ dose} \leq 20$

(mg/kg/day) (n= 5)、 $20 < \text{DFX dose} \leq 30$ (n= 17)、 $\text{DFX dose} > 30$ (n= 22)，三組的血清鋅濃度並未有顯著差異(736.0 ± 69.0 , 812.6 ± 150.5 , 780.0 ± 115.8 ; $p=0.47$)。

第二節 基因多型性檢測結果

由於 DFX 主要經由葡萄糖醛酸化在肝臟代謝，並透過肝膽排泄於糞便排除，主要的代謝酵素為 UGT1A1；次要為 UGT1A3，少部分經由 CYP1A²⁹⁻³²，因此本研究檢測病人的 UGTs 及 CYP1As 基因多型性，以釐清 DFX 藥物代謝相關酵素之單核苷酸多型性對藥物療效的影響。病人基因多型性基本資料如表五，列出所收錄的 44 位病人，各個基因位點帶有野生型 (Wild-type)、異型合子 (Heterozygous) 及同型合子 (Homozygous) 各自的人數及比例。海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同酵素基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異總覽如圖五；而不同酵素基因多型性群組之血清鋅、PON1 活性差異總覽如圖六。

壹、UGTs 基因多型性對鐵螯合治療的影響

海洋性貧血病人於接受 DFX 治療穩定期間，不同 UGTs 基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異如表六，rs88782932 CC 群組之 SF 顯著低於 CT/TT 群組；rs3806596 不同基因多型性群組之間在血鐵、心鐵監測指標皆無顯著差異。

UGT1A1 C>T rs887829

本研究所收錄的 44 位病人，在 rs88782932 位點上，共有 32 位病人帶有 CC 基因型；10 位帶有 CT 基因型；2 位帶有 TT 基因型。將病人分為兩組：CC 組及 CT/TT 組，結果顯示，CC 組之 SF 顯著低於帶有變異基因的

CT/TT 組[1178.5 (805.9- 2553.7) vs. 1528.1 (832.4- 6779.2); $p=0.05$]，鐵質沉積情形控制較穩定。然而心臟核磁共振造影 T2*值部分，兩組之間並無顯著差異[44.0 (31.3- 60.0) vs. 39.0 (23.0- 55.0); $p=0.39$]。

UGT1A3 T>C rs3806596

本研究所收錄的 44 位病人，在 rs3806596 位點上，共有 14 位病人帶有 TT 基因型；11 位帶有 TC 基因型；10 位帶有 CC 基因型；9 位病人檢測不出此位點，由於無法確認病人是該基因位點缺失抑或是檢體受損，因此分析此位點時將此 9 位病人數據排除。數據分析分為兩組：TT/TC 組及 CC 組，分析結果針對血清鐵蛋白濃度及心臟核磁共振造影 T2*值，兩組之間皆未有顯著差異。

貳、CYPs 基因多型性對鐵整合治療的影響

海洋性貧血病人於接受 DFX 治療穩定期間，不同 CYPs 基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異如表七，其結果顯示針對 SF 部分，在 *CYP1A1* rs4646903, *CYP1A1* rs4646421, *CYP1A1* rs3826041, *CYP1A1* rs7495708 這 4 個位點，帶有完全變異基因型的病人，他們的 SF 顯著高於帶有野生型或異型合子的病人；相反地，*CYP1A2* rs2470890 帶有野生型基因卻有顯著較低的 Cardiac T2*值，鐵質控制較不穩定。

CYP1A1 A>G rs4646903

本研究所收錄的 44 位病人，在 rs4646903 位點上，共有 15 位病人帶有 AA 基因型；19 位帶有 AG 基因型；9 位帶有 GG 基因型；1 位病人檢測不出此位點，排除掉此位病人進行分組：AA/AG 組及 GG 組。結果顯示 GG 組的 SF 顯著高於 AA/AG 組[1619.7 (1143.1- 11502.5) vs. 1283.0 (777.3- 2709.0); $p<0.01$]。

CYP1A1 G>A rs4646421

本研究所收錄的病人在 rs4646421 位點上，共有 15 位病人帶有 GG 基因型；19 位帶有 GA 基因型；10 位帶有 AA 基因型。將病人依照基因型分為 GG/GA 組及 AA 組，結果顯示 AA 組的 SF 顯著高於 GG/GA 組[1449.9 (1109.4- 11058.8) vs. 1283.0 (777.3- 2709.0); $p<0.05$]。

CYP1A1 A>C rs3826041

本研究所收錄的病人在 rs3826041 位點上，共有 7 位病人帶有 AA 基因型；25 位帶有 AC 基因型；12 位帶有 CC 基因型。將病人依照基因型分為 AA/AC 組及 CC 組，結果顯示 CC 組的 SF 顯著高於 AA/AC 組[1449.9 (1108.5- 8948.6) vs. 1283.0 (749.6- 2553.7); $p<0.05$]。

CYP1A1 T>C rs7495708

本研究所收錄的病人在 rs3826041 位點上，共有 7 位病人帶有 TT 基因型；25 位帶有 TC 基因型；12 位帶有 CC 基因型。將病人依照基因型分為 TT/TC 組及 CC 組，結果顯示 CC 組的 SF 顯著高於 TT/TC 組[1449.9 (1108.5- 8948.6) vs. 1283.0 (749.6- 2553.7); $p<0.05$]。

CYP1A2 C>T rs2470890

本研究所收錄的病人在 rs3826041 位點上，共有 36 位病人帶有 CC 基因型；6 位帶有 CT 基因型；2 位帶有 TT 基因型。將病人依照基因型分為 CC 組及 CT/TT 組，結果顯示帶有野生基因型 CC 組的 Cardiac T2*值顯著低於 CT/TT 組[39.0 (22.0- 57.0) vs. 51.5 (39.5- 71.3); $p<0.05$]。

參、 *UGTs* 與 *CYP* 基因多型性對生化營養的影響

海洋性貧血病人不同 *UGTs*, *CYPs* 基因多型性群組之血清鋅及 PON1 活性差異如表八，其中在 *UGT1A1* rs887829, *UGT1A3* rs3806596, *UGT1A3* rs6706232 這 3 個位點帶有變異基因，其血清鋅濃度皆顯著較低；而相反地，在 *CYP1A2* rs2470890 位點帶有變異基因，其血清鋅濃度則顯著較高。而在 *UGT1A3* rs6706232 位點帶野生基因型，除了血清鋅濃度顯著較高之外，血清 PON1 活性也顯著較高。

UGT1A1 C>T rs887829

本研究依照病人 rs4646903 位點上的基因型分為兩組：CC/CT 組及 TT 組，有九成五的病人為 CC/CT 組；而有 5%病人為 TT 組。結果顯示 TT 組的血清鋅濃度顯著低於 CC/CT 組(620.5 ± 31.8 vs. 795.5 ± 123.8 ; $p = 0.05$)。

UGT1A3 T>C rs3806596

本研究依照病人 rs3806596 位點上的基因型分為兩組：TT/TC 組及 CC 組，有近六成的病人為 TT/TC 組，兩成多的病人為 CC 組，剩下兩成病人因為該位點無法檢測出來而排除。結果顯示，CC 組的血清鋅濃度顯著低於 TT/TC 組(712.5 ± 88.6 vs. 832.0 ± 136.5 ; $p < 0.05$)。

UGT1A3 G>A rs6706232

本研究依照病人 rs6706232 位點上的基因型分為兩組：GG 組及 GA/AA 組，有近四成的病人帶有野生型基因 GG，結果顯示，GG 組的血清鋅濃度顯著高於 GA/AA 組(839.0 ± 142.0 vs. 755.2 ± 106.1 ; $p < 0.05$)。而 GG 組的血清 PON1 活性同樣也顯著高於 GA/AA 組(8.1 ± 1.7 vs. 6.9 ± 1.8 ; $p < 0.05$)。

CYP1A2 C>T rs2470890

本研究依照病人 rs2470890 位點上的基因型分為兩組：CC/CT 組及 TT 組，有九成五的病人為 CC/CT 組；而有 5%病人為 TT 組。結果顯示 TT 組的血清鋅濃度顯著高於 CC/CT 組(1031.0 ± 244.7 vs. 776.0 ± 110.9 ; $p < 0.01$)。

肆、 *PON1* 基因多型性對鐵螯合治療及生化營養的影響

本研究依照病人 rs662 A>G 位點上的基因型分為兩組：AA/AG 組及 GG 組，有六成的病人為 AA/AG 組；而有近四成病人為基因變異 GG 組。結果顯示基因變異 GG 組整體鐵螯合療效較不佳，其 SF 雖然差異不顯著但有較 AA/AG 組高的趨勢；而其 TS 則是顯著高於 AA/AG 組[75 (44- 88) vs. 42 (35- 61); $p < 0.01$]; 且 DFX 劑量方面不論是每日總劑量[1750.0 (1562.5- 2062.5) vs. 1500.0 (1125.0- 1750.0); $p = 0.01$]或是每日單位體重劑量[35.3 (27.9- 37.6) vs. 25.0 (21.3- 32.3); $p < 0.01$]也是顯著高於 AA/AG 組。而生化營養影響方面，GG 組血清鋅雖然差異不顯著但有較 AA/AG 組低的趨勢；而血清 PON1 活性方面，GG 組則是顯著較 AA/AG 組低(6.2 ± 1.4 vs. 8.1 ± 1.7 ; $p < 0.01$)，如表九。



此章節將針對本研究的結果進行討論，主要分為兩大部分：(一)生化值檢測結果之探討，包含：血清鐵蛋白濃度與維他命 D 的相互影響、病人血清鋅濃度的探討；(二)基因多型性檢測結果之探討

第一節 生化值檢測結果之探討

壹、 血清鐵蛋白濃度與維他命 D 的相互影響

在 Exjade® (易解鐵)的藥物仿單中³⁸ 及 Taher et al.³⁷ 提到，鐵螯合療效的治療目標通常在 SF 小於 1000 (ng/mL)；若 SF 持續高於 2500(ng/mL)則會增加心臟及內分泌疾病的風險，需要改變劑量或變更鐵螯合治療。本研究所收錄之 44 位病人當中，只有近三成病人(13 位)的血清鐵蛋白濃度達到目標值(≤ 1000 ng/mL)，剩下七成病人皆是鐵質控制較不佳者，可見此族群占大多數，且有近三成病人(13 位)為需要改變劑量或變更鐵螯合治療者(>2500 ng/mL)，如表三。因此這群病人他們鐵質過度沉積對於整體健康數值的影響是值得被關注的。

本研究將所收錄的病人依照 SF 濃度分組，結果發現 SF $> 1,000$ ng/mL 組的血清維他命 D 濃度顯著較低(如圖三)，可見 SF 與 Vitamin D 濃度之間存在著相互的影響。

在過去多項不同的研究中，結果顯示重型海洋性貧血的病人，其血清維他命 D 濃度嚴重缺乏^{66,85-87}，雖然確切原因不明，但推測其可能原因除了腸胃吸收減少、黃疸或鐵引起的色素沉澱干擾皮膚維他命的製造外，也有可能是因為肝臟鐵質沉積及功能不全導致於肝臟的維他命 D 羥化作用減少^{85,88}，然而本研究並未針對病人的肝功能狀態進行調查，倘若能夠搭配上病人的肝功能結果，便可釐清血清維他命缺乏之病人，其肝功能是否較為不佳，以確認其因果關係。

在先前研究中，Napoli et al.⁶⁶ 便曾提出鐵質過度負荷可能造成維他命

D 缺乏，因為其研究結果發現維他命 D 與 SF 呈現負相關，此結果與本研究結果相符。維他命 D 會隨著食物吸收或是在皮膚製造，並在血液中隨著維他命 D 結合蛋白(vitamin D-binding protein, VDBP)運送至肝臟，透過 CYP vitamin D 25-hydroxylases (CYP2R1)代謝形成 25(OH)D，並再隨著 VDBP 運送至腎臟，藉由 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase (1-OHase) (CYP27B1) 代謝形成具有生物活性型式的維他命 D [1,25(OH)₂D]。接著這個具有活性的維他命 D 會被 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (24-OHase) (CYP24A1) 分解代謝為可水解且無活性的 calcitric acid，並在膽汁中排除，如附錄圖二^{64,89}。Kell et al.⁹⁰ 的研究說明了維他命 D 對血清鐵的影響，活性的維他命 D [1,25(OH)₂D]會影響 hepcidin 濃度，接著提高 Active ferroportin 含量，最終降低血清鐵濃度(附錄圖三)。因此可以回推，當血清鐵濃度過高時，會造成 ferroportin-hepcidin 調節失衡，而導致維他命 D 的濃度降低。除此之外，鐵質過度負荷所產生的過量 ROS 會造成多重系統的損傷，而肝臟因為是主要儲存鐵的地方，因此首當其衝地遭受攻擊，透過纖維化造成肝臟結構或功能損傷，進而讓肝臟代謝製造維他命 D 的能力降低而導致血中濃度缺乏^{91,92}。

鑒於以上的基礎，Allegra et al.^{49,93} 針對長期輸血且合併鐵螯合治療的重型海洋性貧血病人，研究其維他命 D 代謝路徑中的參與酵素 *CYP11A1*, *ABCG2*, *CYP24A1* and *VDR* 基因多型性，對鐵螯合療效的影響。結果顯示 *CYP24A1* 8620 GG 及 *CYP24A1* 3999 CC 病人，其 DFX C_{trough} 濃度皆較低；*CYP27B1*-1260 GT/TT 病人，其肝臟硬度數值(liver stiffness values)較高；而 *CYP11A1**1189 CC, *ABCG2* 421 GA, *CYP24A1* 8620 GG 病人，其心臟 T2*數值皆較低；*VDR* TaqI CC 病人，其心臟 T2*數值則較高。可見維他命 D 代謝途徑的酵素基因多型性，是會對病人整體鐵螯合療效造成影響的，然而本研究並未針對病人此部分的基因做檢測，因此尚無法釐清維他命 D 代謝路徑的酵素基因多型性對臺灣族群病人藥物療效的影響。

貳、 病人血清鋅濃度的探討

本研究所收錄的 44 位病人，其平均血清鋅濃度為 787.6 ± 126.5 (mcg/L)，其中有 9 位病人(20%)為鋅缺乏者($Zn < 700$ mcg/L)，與過去其他國家的研究比較：北美研究⁵⁰(806 ± 163 mcg/L; 缺乏者 26%)；伊朗研究⁵¹(546 ± 40 mcg/L; 缺乏者 80%)；斯里蘭卡⁵²(450 ± 240 mcg/L; 缺乏者 80%)。相較之下，臺灣族群鋅缺乏比例與北美先進國家相近且較低，雖然平均略低於北美族群，但整體平均值仍在正常範圍(≥ 700 mcg/L)；而在伊朗及斯里蘭卡的研究中，那些族群的鋅缺乏者比例皆相當高，且濃度平均值皆小於 700，整體鋅狀態控制並不佳，同為亞洲國家相比之下，臺灣族群在血清鋅濃度方面控制良好。

過去研究指出，服用鐵螯合劑可能造成血清鋅濃度降低^{60,61}，而血清鋅缺乏會有性腺功能低下之併發症⁵⁵。然而本研究將病人依照血清鋅濃度正常與否分為兩組，結果顯示不管在鐵螯合劑服用劑量、療效方面，或是性腺賀爾蒙數值方面，兩組之間皆未有差異(表四)。由於部分病人有接受賀爾蒙補充療法，為了避免可能由於服用藥物所導致的誤差，本研究進而將服用賀爾蒙藥物之病人排除後再進一步分析，然而結果仍與原先所有病人納入分析的結果一致。而針對鐵螯合劑對鋅的影響部分，本研究進一步再將病人依照 DFX 服用劑量分為三組，其三組之間的鋅濃度經 ANOVA 檢定並無顯著差異，由此可推測，本研究族群的鋅缺乏，可能並非因接受鐵螯合治療所致。

過去文獻指出有部分病人會因營養攝取不足而鋅缺乏^{58,59}，Goldberg et al.⁹⁴ 曾針對北美重型海洋性貧血患者做飲食攝取調查，讓病人填寫食物攝取頻率問卷(Block 2005© Food Frequency Questionnaire, FFQ)，包含多種食物項目，請病人勾選食用頻率，例如：從未使用，一個禮拜一次，每天一次等，接著換算病人各個營養素平均攝取量，並與美國國家學院提供的營

養建議攝取量(estimated average requirement, EAR)去做對照，以確認病人的攝取量是否達到建議量，而該建議量是根據年齡與性別設定的。其研究結果顯示，針對所有病人的鋅攝取量有近五成的病人皆未達到建議攝取量；有 41%的病人為鋅缺乏者，其中有 50%病人同時為鋅攝取量不足者，如附錄圖四，因此病人鋅缺乏原因也可能是本身攝取量不足所致。然而本研究並未針對病人飲食攝取做調查，因此無法釐清臺灣族群重型海洋性貧血病人，其血清鋅缺乏的確切原因，若能做此部分的問卷調查，尤其針對鋅缺乏者，便能釐清飲食攝取對病人的影響，進而給予病人更為合適的營養補充建議。



第二節 基因多型性檢測結果之探討

本研究針對多個 DFX 藥物代謝相關基因做檢測，結果顯示部份位點在 SF 及 Cardiac T2*都有顯著的影響，可見基因多型性確實會造成不同病人之間有療效上的差異。過去雖然有針對 DFX 藥物代謝基因體學的研究，然而文獻卻不多，且大多源自同一團隊，更缺乏亞洲族群的研究，因此本研究為第一次探討臺灣族群重型海洋性貧血病人的 DFX 藥物代謝基因體學。在研究結果中，*UGT1A1* C>T rs887829、*UGT1A3* T>C rs3806596、*CYP1A1* A>G rs4646903 及 *CYP1A2* C>T rs2470890 已有 DFX 相關的國外文獻可與本研究結果做比較探討；而 *CYP1A1* A>C rs3826041、*CYP1A1* T>C rs7495708 及 *CYP1A1* G>A rs4646421 過去雖然有關於疾病及其他藥物的研究，但並未有針對 DFX 的文獻，因此本研究第一次發現這些位點基因多型性對 DFX 的療效影響。

壹、*UGTs* 與 *CYPs* 基因多型性對 DFX 療效影響的探討

將本研究與其他文獻做比較，在 rs887829 上，本研究病人帶有野生基因型 CC，其 SF 顯著較低；而 Allegra et al.⁴⁸ 的結果則是顯示，帶有變異型基因 TT 的病人，其 SF 顯著較低，此結果可看出在這個位點上，SNP 對 DFX 的影響在義大利族群與臺灣族群之間存在差異，根據 Ensembl Project⁹⁵ 及 Taiwan Biobank⁹⁶ 所提供的資料，該位點之 MAF 在臺灣、漢族群(Han Chinese in Beijing, China, CHB)與義大利族群(Toscani in Italy, TSI)分別為 12.3%；11.2%；27.1%，如表十。

在 rs3806596 上，本研究帶有變異型基因 CC 的病人，SF 有較高的趨勢但並不顯著；而 Allegra et al.⁴⁸ 的研究中，帶有 CC 基因型的病人，SF 卻顯著較低，此結果同樣與臺灣族群相反，該位點之 MAF 在臺灣與義大利分別為 34.4%；44.4%。

在 rs4646903 上，本研究帶有變異型基因 GG 的病人，其 SF 顯著較高，而 Cardiac T2*有較低的趨勢但並不顯著；雖然沒有針對此位點其他文獻的 SF 可以相較，不過 Allegra et al.⁴⁹ 的研究結果顯示，帶有 GG 基因型的病人，其 Cardiac T2*顯著較低，因此可以看出在這個位點上，基因多型性對 DFX 療效影響兩族群之間相似，該位點之 MAF 在臺灣與義大利分別為 41.2%；12.1%。

在 rs2470890 上，本研究帶有野生型基因 CC 的病人，其 Cardiac T2*顯著較低，可見鐵質沉積較為嚴重；雖然沒有針對此位點其他研究 Cardiac T2*數值可以相較，不過在 Cusato et al.⁹⁷ 的研究結果中，帶有變異型基因 TT 的病人，其 DFX C_{trough} levels 顯著較低，該位點之 MAF 在臺灣與義大利分別為 12.5%；51.4%。

在 *CYP1A1* rs3826041 上，本研究帶有變異型基因 CC 的病人，其 SF 顯著較高。Luo et al.⁹⁸ 的研究指出，恰當的 warfarin 維持劑量受多項因素影響，包含性別、年齡、合併藥物及基因多型性，其中便包含 rs3826041。在計算維持劑量時，若病人帶有 CC 基因型，其劑量需再加上 0.22 (mg per day)。CYP1A1 參與了 R-warfarin 的代謝，當 rs3826041 的基因產生變異時影響 *CYP1A1* 的表現，進而增加 R-warfarin 的代謝，因此需要增加 warfarin 的維持劑量。Luo et al.⁹⁸ 該篇文獻研究對象為中國人，其基因多型性的結果可能與臺灣族群相近。而 CYP1A 同樣參與了 DFX 的代謝，因此可推測當病人帶有 CC 基因型時，CYP1A1 增加了 DFX 的代謝，因此療效不佳造成 SF 顯著較高。

在 *CYP1A1* rs7495708 上，本研究帶有變異型基因 CC 的病人，其 SF 顯著較高。Chia et al.⁹⁹ 的研究指出帶有 GA/AA 基因型的男性，得到睪丸生殖細胞腫瘤(testicular germ cell tumours, TGCT)的風險，會受到 trans-nonachlor 及 total chlordanes 的暴露量影響；相對地，帶 AA 基因型的男性其 TGCT 的風險並不受 trans-nonachlor 及 total chlordanes 暴露量影響。

貳、 *PON1* 基因多型性對鐵螯合治療及生化營養影響探討

本研究收錄的 44 位海洋性貧血病人，從他們於接受 DFX 治療穩定期間，不同 *PON1* 基因多型性群組之鐵質監測指標、服藥劑量與營養狀態差異結果可以看到，帶有變異型同型合子 GG 基因型群組病人，整體鐵質控制不佳且 DFX 服藥劑量也較高，在血清 PON1 活性方面也較低。

過去研究指出，PON1 酵素在肝臟被製造並會被分泌到血清當中⁷¹，它具有對氧磷酶、芳基酯酶和重氮酮酶的活性⁷²，可透過水解脂質過氧化產物來調節 ROS 的濃度⁷³。而對於長期輸血的病人來說，鐵質負荷造成細胞損傷，進而產生 ROS，造成氧化壓力⁶⁷，而這些自由基也會損害核酸、脂質和蛋白質⁶⁸。因此針對在 *PON1* rs662 帶有變異型同型合子 GG 基因型群組病人，本研究結果顯示他們的 PON1 活性較低，推測他們對於 ROS 調節的能力也會因而較低，對於鐵質過度負荷的調控便會較不佳，TS 較高，而鐵螯合劑 DFX 的劑量需求相對也會較高。

Dardiotis et al.⁷⁷ 指出 *PON1* rs662 A>G 基因變異會影響催化效率，GG, GA, AA 基因型分別與高、中、低血清 PON1 活性相關，Dardiotis et al. 所引用的文獻是針對一群長期暴露在農藥中的南非果農所做的研究⁷⁸；而在另一份 Ichikawa et al.¹⁰⁰ 針對患有慢性腎臟病的日本女性研究當中，結果同樣顯示帶有變異基因型 GG 的 PON1 活性最高。本研究結果顯示，rs662 對於收錄之長期輸血合併 DFX 治療之臺灣重型海洋性貧血病人的 PON1 活性影響，與過去其他族群人種有所差異。這也是第一次有研究發現 *PON1* 基因多型性對於臺灣重型海洋性貧血病人鐵螯合治療及生化營養的影響。



第五章 結論與展望

本研究透過收錄長期輸血合併鐵螯合治療的病人，做生化營養數值及基因的檢測，以瞭解臺灣族群病人整體疾病狀態，並釐清病人基因多型性對其鐵螯合療效及生化營養的影響。總結如下：

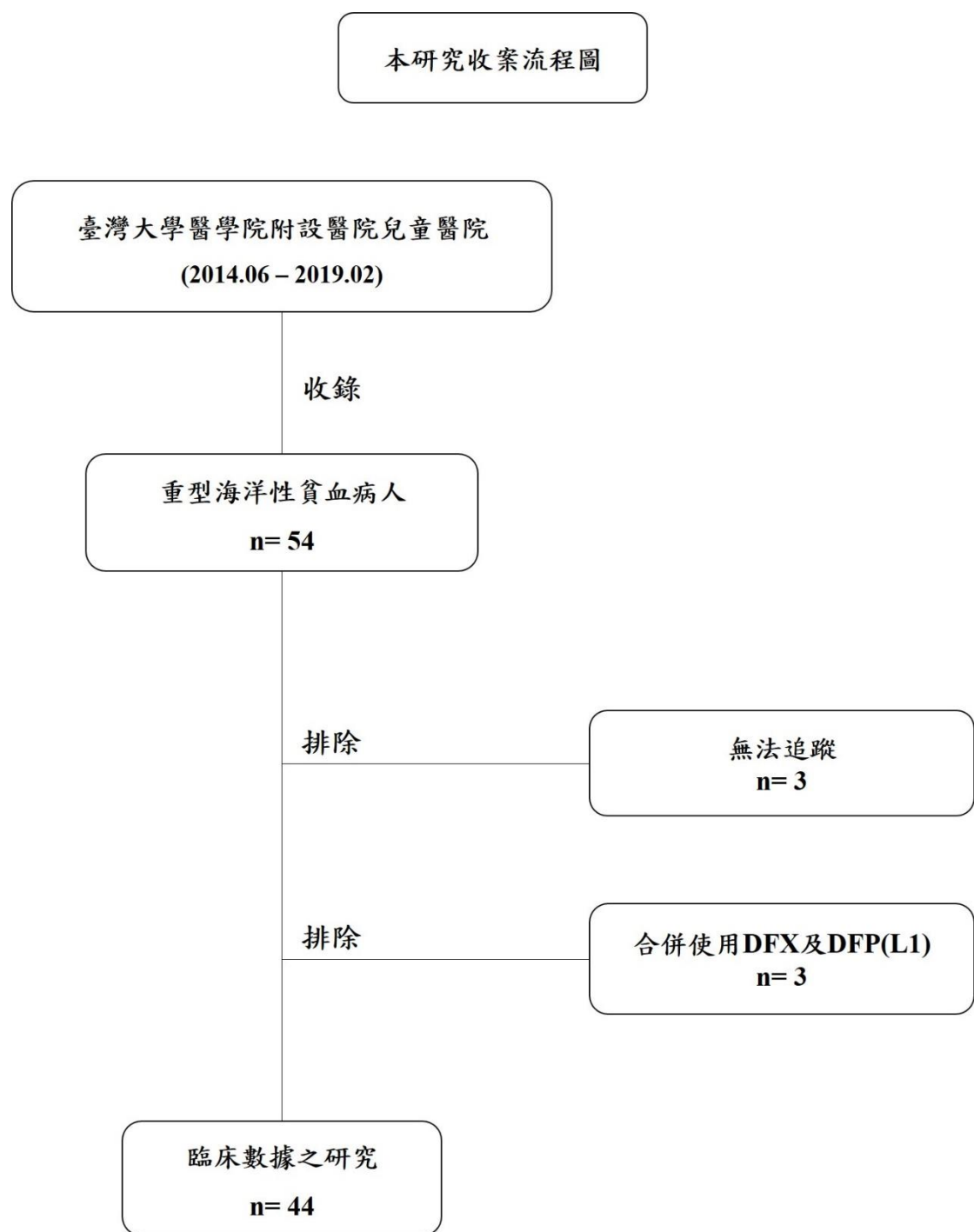
- (1) **血清鐵蛋白濃度：** A) 本研究有七成病人皆是鐵質控制較不佳未達治療目標者(SF>1000 ng/mL)，且有近三成病人為併發症風險高族群需變更螯合治療(>2500 ng/mL)，因此病人鐵質過度沉積對於整體健康數值的影響值得被關注。 B) 依照病人 SF 濃度分組，結果顯示 SF> 1,000 ng/mL 組的血清維他命 D 濃度顯著較低，SF 與 Vitamin D 濃度之間存在著相互的影響。
- (2) **血清鋅濃度：** A) 本研究病人血清鋅濃度為 787.6 ± 126.5 (mcg/L)，僅有兩成病人為鋅缺乏者，相較其他國外研究鋅濃度控制良好。 B) 本研究依血清鋅濃度正常與否分兩組，兩組之間的鐵螯合服用劑量、鐵質過度負荷程度及性腺賀爾蒙數值皆未呈現差異，可推測鋅缺乏成因並非螯合劑所致，且鋅與性腺功能低下無直接相關性。
- (3) **基因多型性對鐵螯合治療的影響：** 酵素基因多型性對 *UGT1A1*, *CYP1A1* 未變異的血鐵、*PON-1* 未變異的運鐵蛋白飽和度及 DFX 劑量有負向顯著影響，對 *CYP1A2* 變異的心鐵值 T2*有正向顯著影響，有較佳的療效。本篇結果與過去高加索人研究 *UGTs* 基因變異對 DFX 療效影響的趨勢其結果則是相反的。
- (4) **基因多型性對生化營養的影響：** 酵素基因多型性對 *UGT1A1*, *UGT1A3* 未變異、*UGT1A2* 有變異的血鋅值及 *UGT1A3*, *PON-1* 未變異的 *PON-1* 活性有正向顯著影響，病人有較良好的營養狀態。過去並未有報告顯示不同 *UGTs*, *CYPs*, *PON1* 基因變異的海洋性貧血族群其血鋅、*PON1* 活性具顯著影響。

未來展望

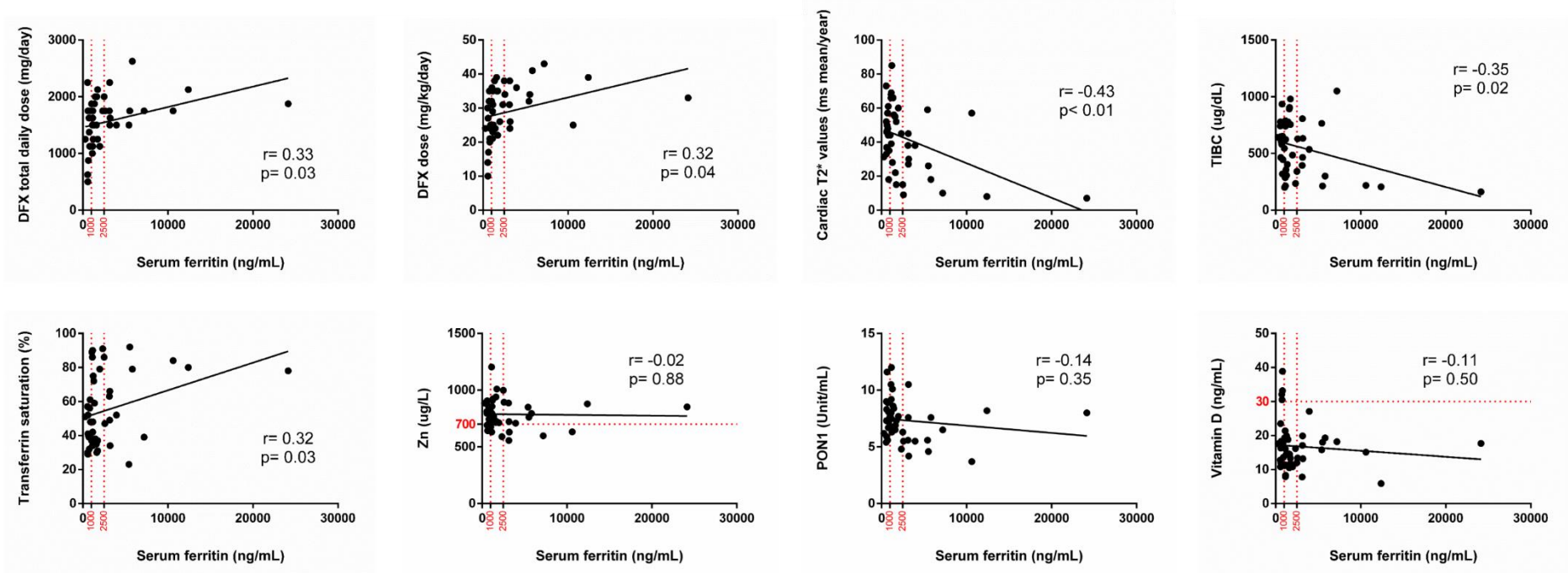
- (1) 過去文獻指出維他命 D 代謝路徑的酵素 *ABCG2*, *CYP24A1* and *VDR* 基因多型性，會對鐵螯合療效造成影響，然而本研究並未針對這些基因做檢測。未來可檢測病人維他命 D 代謝路徑之參與酵素的基因多型性，釐清其對臺灣族群病人鐵螯合療效的影響。
- (2) 過去文獻在先進已開發國家北美的研究指出，有一半的鋅缺乏者本身飲食鋅攝取並不足夠，然而本研究並未對病人飲食習慣做調查。未來可進行病人日常飲食問卷調查，以釐清鋅缺乏的主要原因，確認是否因為病人本身營養攝取不足所致，進而給予更合適的營養補充建議。
- (3) 未來可進行介入性研究提供不同營養補充劑進行組別對照，以釐清各營養素如維他命 D、*PON1*、鋅與鐵螯合療效之間的相互影響。
- (4) 未來可監測病人鐵螯合劑藥物血中濃度做藥物動力學研究，並針對更多病人 *UGTs*, *CYPs*, *PON1* 尤其 *CYP1A2* C>T rs2470890 CC 及 *PON1* A>G rs662 GG 兩位點進行檢測，以探討個別位點對整體 DFX 療程反應不佳或無法忍受副作用之影響貢獻。



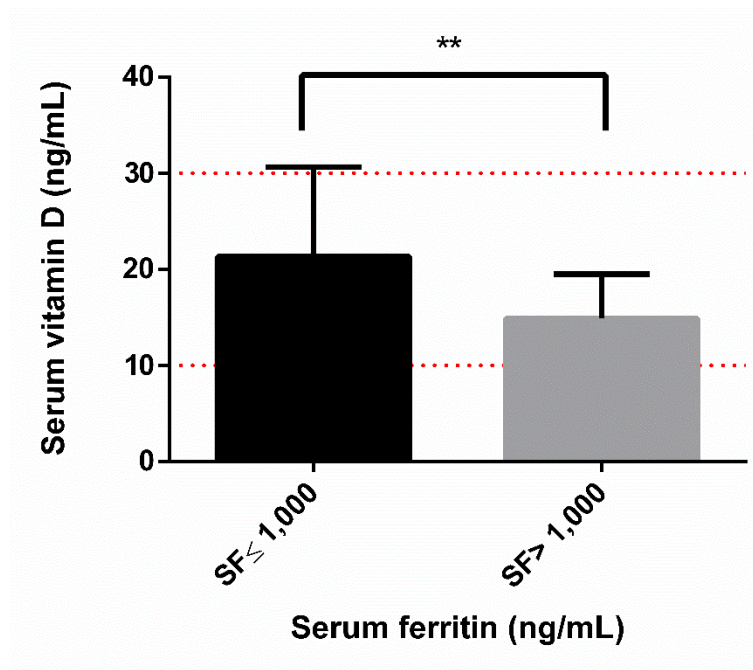
第六章 圖表



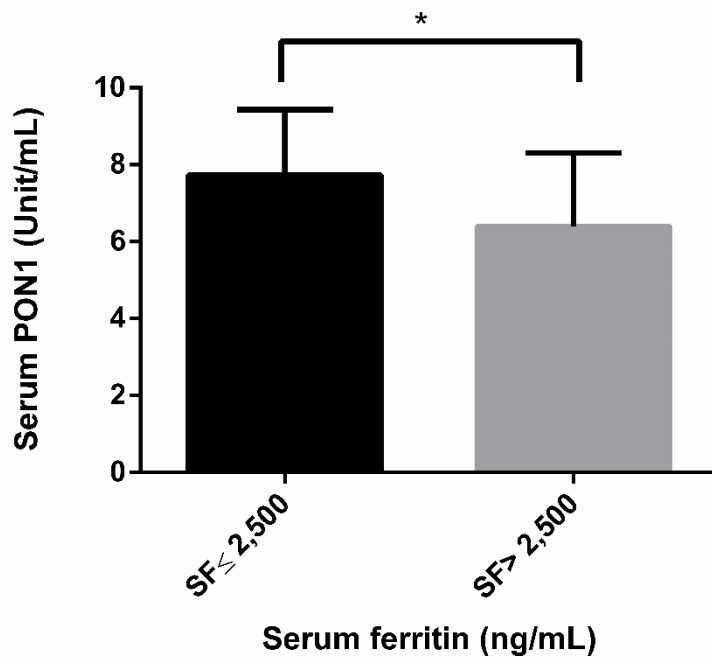
圖一、本研究收案流程



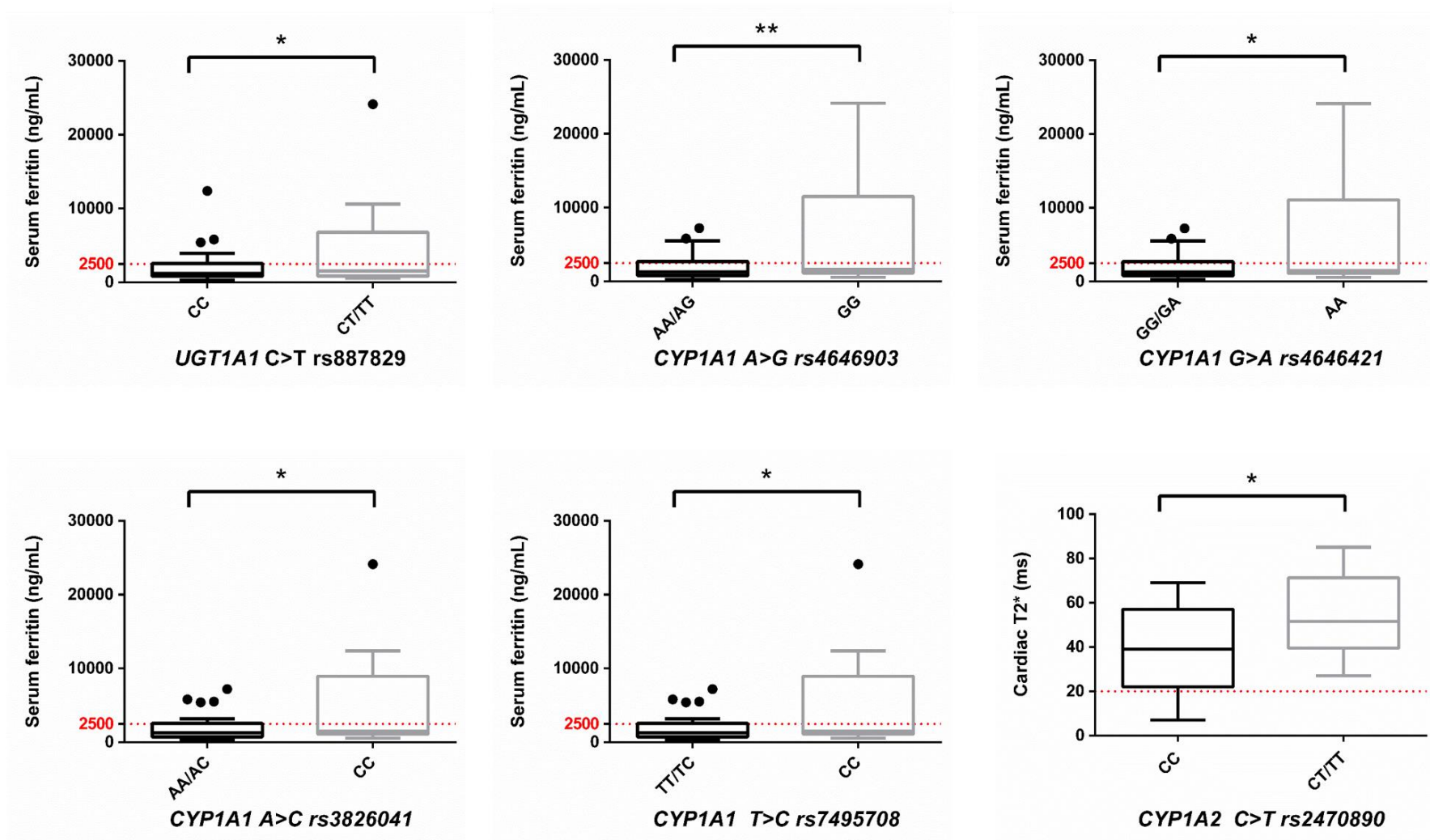
圖二、海洋性貧血病人血鐵蛋白濃度與劑量、療效指標、生化營養數值之關聯性



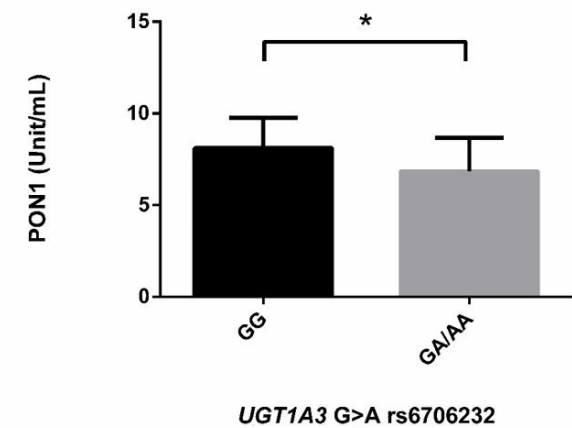
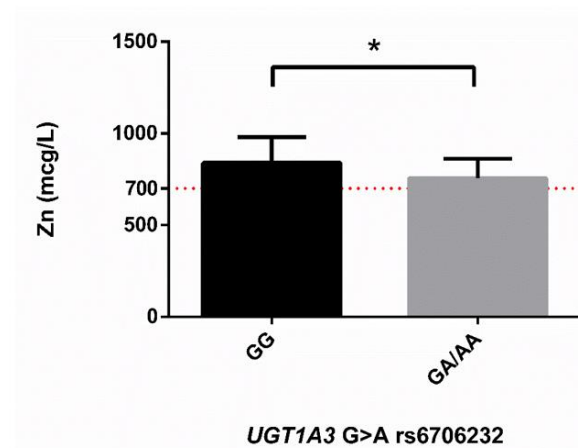
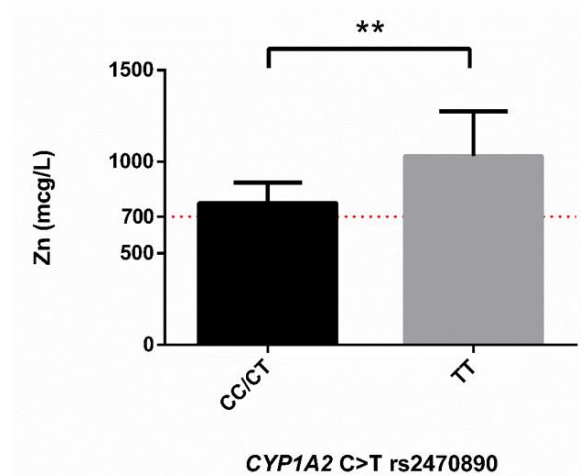
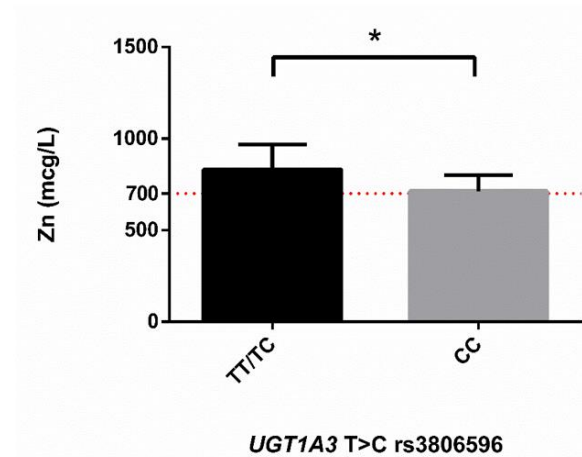
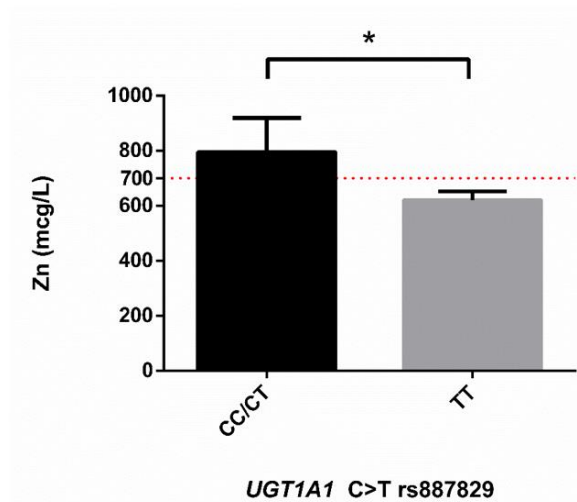
圖三、海洋性貧血病人血鐵蛋白濃度高低其 Vitamin D 濃度之差異



圖四、海洋性貧血病人血鐵蛋白濃度高低其 PON1 活性之差異



圖五、海洋性貧血病人帶有不同酵素基因多型性之血鐵、心鐵指標之差異



圖六、海洋性貧血病人帶有不同酵素基因多型性之血鋅、PON1 活性之差異

表一、海洋性貧血病人基本資料

Characteristics	
Number of patients, n	44
Sex [n (%)]	
Male	21 (48)
Female	23 (52)
Age (year)	33.4± 6.9
Weight (kg)	54.5± 9.2
Serum ferritin [median (IQR)] (ng/mL)	1320.8 (805.9- 3134.4)
Cardiac T2* values [median (IQR)] (ms)	44.0 (27.0- 57.0)
DFX dose [median (IQR)] (mg/kg/day)	30.3 (23.9- 35.3)
DFX total daily dose [median (IQR)] (mg/day)	1625.0 (1250.0- 1843.8)
Abbreviations: DFX, deferasirox; IQR, interquartile range	

表二、海洋性貧血病人各項血清生化檢測平均數值

Serum Values	Mean $\pm$ SD	Range (Min-Max)
Number of patients, n	44	
Monitoring of chelation therapy		
Cardiac T2* values (ms)	42.1 $\pm$ 19.9	7.0- 85.0
Ferritin (ng/mL)	2845.2 $\pm$ 4171.6	276.4- 24146.2
Iron (mcg/dL)	262.0 $\pm$ 67.8	126.0- 421.0
TIBC (mcg/dL)	555.0 $\pm$ 243.5	162.0- 1051.0
Transferrin saturation (%)	55 $\pm$ 21	23- 92
Nutrition		
Zn (mcg/L)	787.6 $\pm$ 126.5	557.0- 1204.0
P (mg/dl)	4.1 $\pm$ 0.7	2.9- 6.2
Vitamin D (ng/mL)	16.8 $\pm$ 6.9	5.9- 38.9
PON1 (Unit/mL)	7.3 $\pm$ 1.9	3.7- 12.0
Sex hormones		
FSH (mIU/mL)	5.9 $\pm$ 5.4	0.3- 26.7
LH (mIU/mL)	4.2 $\pm$ 6.8	0.1- 42.9
Estradiol (E2) (pg/mL)	58.0 $\pm$ 56.3	11.8- 358.3
Estriol (E3) (ng/mL)	0.093 $\pm$ 0.052	0.020- 0.243
Testosterone (ng/dL)	178.8 $\pm$ 244.6	8.9- 784.8
聯合醫事檢驗所提供之正常值參考區間：Zn: 700-1200; P: 2.4-5.1; Vitamin D: 30-100; FSH: M: 1.4-18.1, F: 1.5-33.4; LH: M: 1.5-9.3, F: 0.5-76.3; E2: M: < 39.8, F: 19.5-356.7; E3: 0.017-0.066; Testosterone: M: 241-827, F: 14-76;		

表三、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間血鐵控制成效之人數分布

	達到治療目標 SF ≤ 1000 (ng/mL)	未達治療目標 1000 < SF ≤ 2500 (ng/mL)	需變更螯合治療 SF > 2500 (ng/mL)
N= 44	13 (29.5%)	18 (40.9%)	13 (29.5%)
Male (n= 21)	9	10	2
Female (n= 23)	4	8	11
SF (Mean± SD)	657.2± 162.8	1468.5± 440.9	6939.5± 5988.9
Abbreviation: SF, Serum ferritin			

表四、血鋅缺乏之海洋性貧血病人之人數分布及其基本資料及各項生化數值

	Hypozincemia	Normozincemia	<i>p</i>
Number of patients, [n (%)]	9 (20)	35 (80)	
Sex [n (%)]			
Male	1 (6)	15 (94)	
Female	8 (29)	20 (71)	
Age (year)	33.4± 7.8	33.4± 6.8	0.98
Zn (mcg/L)	628.0± 41.9 ^a	828.6± 106.6 ^b	< 0.01
Monitoring of chelation therapy			
Cardiac T2* values [median (IQR)] (ms)	45.0 (31.5- 53.5)	41.5 (25.0- 59.3)	0.95
Ferritin [median (IQR)] (ng/mL)	2331.0 (831.1- 5197.1)	1280.2 (791.3- 2575.1)	0.71
DFX total daily dose [median (IQR)] (mg/day)	1750.0 (1187.5- 1812.5)	1625.0 (1250.0- 1875.0)	0.88
DFX dose [median (IQR)] (mg/kg/day)	29.4 (21.1- 34.9)	31.0 (23.8-35.3)	0.71
Serum sex hormones			
FSH (mIU/mL)	8.0± 5.5	5.4± 5.3	0.19
LH (mIU/mL)	4.4± 2.3	4.2± 7.6	0.92
Estradiol (E2) (pg/mL)	62.4± 20.6	56.9± 62.5	0.80
Estriol (E3) (ng/mL)	0.101± 0.059	0.091± 0.051	0.61
Testosterone (ng/dL)	80.1± 185.7	204.2± 253.5	0.18
a: min-max: 557-692; b: min-max: 700-1204; Abbreviations: DFX, deferiasirox; IQR, interquartile range			

表五、海洋性貧血病人基因多型性基本資料

Gene	rs	Alleles	Wild-type [n (%)]	Heterozygous [n (%)]	Homozygous [n (%)]	Undetermined [n (%)]
<i>UGT1A1</i>	rs887829	C>T	32 (73)	10 (23)	2 (5)	-
<i>UGT1A3</i>	rs3806596	T>C	14 (32)	11 (25)	10 (23)	9 (20)
<i>UGT1A3</i>	rs6706232	G>A	17 (39)	14 (32)	13 (30)	-
<i>CYP1A1</i>	rs4646421	G>A	15 (34)	19 (43)	10 (23)	-
<i>CYP1A1</i>	rs3826041	A>C	7 (16)	25 (57)	12 (27)	-
<i>CYP1A1</i>	rs4646903	A>G	15 (34)	19 (43)	9 (20)	1 (2)
<i>CYP1A1</i>	rs7495708	T>C	7 (16)	25 (57)	12 (27)	-
<i>CYP1A2</i>	rs2470890	C>T	36 (82)	6 (14)	2 (5)	-
<i>PON1</i>	rs662	A>G	10 (23)	17 (39)	17 (39)	-

表六、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同 *UGTs* 基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異

Gene	rs	Genotypes	n (%)	Serum ferritin (ng/mL) [median (IQR)]	<i>p</i>	Cardiac T2* (ms) [median (IQR)]	<i>p</i>
<i>UGT1A1</i>	C>T	rs887829					
		CC	32 (73)	1178.5 (805.9- 2553.7)	0.05*	44.0 (31.3- 60.0)	0.39
		CT/TT	12 (27)	1528.1 (832.4- 6779.2)		39.0 (23.0- 55.0)	
<i>UGT1A3</i>	T>C	rs3806596					
		TT/TC	25 (57)	1280.2 (839.5- 3149.2)	0.57	44.0 (26.5-59.0)	0.70
		CC	10 (23)	1508.0 (689.4- 4315.9)		50.0 (28.0-59.5)	
		Undetermined	9 (20)	-		-	

表七、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同 CYPs 基因多型性群組之血鐵、心鐵監測指標差異

Gene		rs	Genotypes	n (%)	Serum ferritin (ng/mL)	p	Cardiac T2* (ms)	p
CYP1A1	A>G	rs4646903						
			AA/AG	34 (77)	1283.0 (777.3- 2709.0)	<0.01**	44.5 (30.2- 57.5)	0.46
			GG	9 (20)	1619.7 (1143.1- 11502.5)		30.0 (15.0- 61.5)	
			Undetermined	1 (2)	-		-	
CYP1A1	G>A	rs4646421						
			GG/GA	34 (77)	1283.0 (777.3- 2709.0)	0.01*	44.5 (30.2- 57.5)	0.46
			AA	10 (23)	1449.9 (1109.4- 11058.8)		30.0 (15.0- 61.5)	
CYP1A1	A>C	rs3826041						
			AA/AC	32 (73)	1283.0 (749.6- 2553.7)	0.02*	44.5 (28.1- 56.8)	0.74
			CC	12 (27)	1449.9 (1108.5- 8948.6)		38.0 (22.0- 66.0)	
CYP1A1	T>C	rs7495708						
			TT/TC	32 (73)	1283.0 (749.6- 2553.7)	0.02*	44.5 (28.1- 56.8)	0.74
			CC	12 (27)	1449.9 (1108.5- 8948.6)		38.0 (22.0- 66.0)	
CYP1A2	C>T	rs2470890						
			CC	36 (82)	1398.9 (859.2- 3134.4)	0.37	39.0 (22.0- 57.0)	<0.05*
			CT/TT	8 (18)	1152.3 (749.6- 2763.1)		51.5 (39.5- 71.3)	

表八、海洋性貧血病人不同 *UGTs*, *CYPs* 基因多型性群組之血清鋅及 PON1 活性差異

Gene	rs	Genotypes	n (%)	Zn (mcg/L)	<i>p</i>	PON1 (Unit/mL)	<i>p</i>	
UGT1A1	C>T	rs887829	CC/CT	42 (95)	795.5± 123.8	0.05*	7.3± 1.8	0.18
			TT	2 (5)	620.5± 31.8		9.1± 3.7	
UGT1A3	T>C	rs3806596	TT/TC	25 (57)	832.0± 136.5	0.02*	7.6± 1.9	0.21
			CC	10 (23)	712.5± 88.6		6.7± 2.0	
			Undetermined	9 (20)	-		-	
UGT1A3	G>A	rs6706232	GG	17 (39)	839.0± 142.0	0.03*	8.1± 1.7	0.03*
			GA/AA	27 (61)	755.2± 106.1		6.9± 1.8	
CYP1A2	C>T	rs2470890	CC/CT	42 (95)	776.0± 110.9	<0.01**	7.2± 1.8	0.06
			TT	2 (5)	1031.0± 244.7		9.7± 1.1	

表九、海洋性貧血病人於接受 DEFERASIROX 治療穩定期間，不同 *PON1* 基因多型性群組之鐵質指標、DFX 劑量、營養值之差異

Genotypes	AA/AG	GG	<i>p</i>
n (%)	27 (61)	17 (39)	
Ferritin [median (IQR)] (ng/mL)	1152.3 (791.3- 1731.5)	2489.6 (885.8- 5659.3)	0.31
Transferrin saturation[median (IQR)] (%)	42 (35- 61)	75 (44- 88)	<0.01**
DFX total daily dose [median (IQR)] (mg/day)	1500.0 (1125.0- 1750.0)	1750.0 (1562.5- 2062.5)	0.01*
DFX dose [median (IQR)] (mg/kg/day)	25.0 (21.3- 32.3)	35.3 (27.9- 37.6)	<0.01**
Zn (Mean± SD) (mcg/L)	807.0± 124.2	756.7± 127.6	0.20
PON1(Mean± SD) (Unit/mL)	8.1± 1.7	6.2± 1.4	<0.01**

表十、本研究所檢測病人之單核苷酸多型性變異發生率與其他地區之比較

Gene	rs		MAF (Taiwan) ^a	MAF (CHB) ^b	MAF (TSI) ^b
UGT1A1	rs887829	C>T	12.3%	11.2%	27.1%
UGT1A3	rs3806596	T>C	34.4%	26.7%	44.4%
CYP1A1	rs4646903	T>C	41.2%	43.7%	12.1%
CYP1A2	rs2470890	C>T	12.5%	11.2%	51.4%

Abbreviation: MAF, minor allele frequency; CHB: Han Chinese in Beijing, China; TSI: Toscani in Italy

a: 中央研究院生物醫學科學研究所- Taiwan BioBank; b: Ensembl GRCh37



參考文獻

- 1 COOLEY, T. B., WITWER, E. R. & LEE, P. ANEMIA IN CHILDREN: WITH SPLENOMEGALY AND PECULIAR CHANGES IN THE BONES REPORT OF CASES. *American Journal of Diseases of Children* **34**, 347-363, doi:10.1001/archpedi.1927.04130210022002 %J American Journal of Diseases of Children (1927).
- 2 WHIPPLE, G. H. & BRADFORD, W. L. RACIAL OR FAMILIAL ANEMIA OF CHILDREN: ASSOCIATED WITH FUNDAMENTAL DISTURBANCES OF BONE AND PIGMENT METABOLISM (COOLEY-VON JAKSCH). *American Journal of Diseases of Children* **44**, 336-365, doi:10.1001/archpedi.1932.01950090074009 %J American Journal of Diseases of Children (1932).
- 3 Martin, A. & Thompson, A. A. Thalassemias. *Pediatric clinics of North America* **60**, 1383-1391, doi:10.1016/j.pcl.2013.08.008 (2013).
- 4 Weatherall, D. J. The definition and epidemiology of non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood reviews* **26 Suppl 1**, S3-6, doi:10.1016/s0268-960x(12)70003-6 (2012).
- 5 Modell, B. & Darlison, M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization* **86**, 480-487 (2008).
- 6 Olivieri, N. F., Pakbaz, Z. & Vichinsky, E. Hb E/beta-thalassaemia: a common & clinically diverse disorder. *The Indian journal of medical research* **134**, 522-531 (2011).
- 7 Cohen, A. R., Galanello, R., Pennell, D. J., Cunningham, M. J. & Vichinsky, E. Thalassemia. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 14-34, doi:10.1182/asheducation-2004.1.14 (2004).
- 8 Galanello, R. & Origa, R. Beta-thalassemia. *Orphanet journal of rare diseases* **5**, 11, doi:10.1186/1750-1172-5-11 (2010).
- 9 Maria Domenica Cappellini, A. C., John Porter, Ali Taher, and Vip Viprakasit. in *Guidelines for the Management of Transfusion Dependent Thalassaemia (TDT), 3rd edition* (ed Revised nd) (Thalassaemia International Federation, 2014).
- 10 Cappellini, M. D. *et al.* in *Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia* (ed Revised nd) (Thalassaemia International Federation (c) 2008).
- 11 衛生福利部國民健康署。帶因夫妻孕期接受檢查，防治重型海洋性貧血兒，
<<https://www.hpa.gov.tw/Pages/Detail.aspx?nodeid=1137&pid=7325>> (2017).

- 12 衛生福利部國民健康署. 108 年 2 月罕見疾病通報個案統計表, <<https://www.hpa.gov.tw/Pages/Detail.aspx?nodeid=3811&pid=10459>> (2019).
- 13 Muncie, H. L., Jr. & Campbell, J. Alpha and beta thalassemia. *American family physician* **80**, 339-344 (2009).
- 14 Origa, R. beta-Thalassemia. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* **19**, 609-619, doi:10.1038/gim.2016.173 (2017).
- 15 Aessopos, A., Tsironi, M., Andreopoulos, A. & Farmakis, D. Heart disease in thalassemia intermedia. *Hemoglobin* **33 Suppl 1**, S170-176, doi:10.3109/03630260903351676 (2009).
- 16 Origa, R. *et al.* Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica* **92**, 583-588, doi:10.3324/haematol.10842 (2007).
- 17 Origa, R. *et al.* Differences in the erythropoiesis-hepcidin-iron store axis between hemoglobin H disease and beta-thalassemia intermedia. *Haematologica* **100**, e169-171, doi:10.3324/haematol.2014.115733 (2015).
- 18 Taher, A., Isma'eel, H. & Cappellini, M. D. Thalassemia intermedia: revisited. *Blood cells, molecules & diseases* **37**, 12-20, doi:10.1016/j.bcmd.2006.04.005 (2006).
- 19 Maakaron, J. E., Cappellini, M. D., Graziadei, G., Ayache, J. B. & Taher, A. T. Hepatocellular carcinoma in hepatitis-negative patients with thalassemia intermedia: a closer look at the role of siderosis. *Annals of hepatology* **12**, 142-146 (2013).
- 20 Lucarelli, G. *et al.* Marrow transplantation in patients with thalassemia responsive to iron chelation therapy. *The New England journal of medicine* **329**, 840-844, doi:10.1056/nejm199309163291204 (1993).
- 21 Isgro, A., Gaziev, J., Sodani, P. & Lucarelli, G. Progress in hematopoietic stem cell transplantation as allogeneic cellular gene therapy in thalassemia. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1202**, 149-154, doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05543.x (2010).
- 22 Cazzola, M. *et al.* A moderate transfusion regimen may reduce iron loading in beta-thalassemia major without producing excessive expansion of erythropoiesis. *Transfusion* **37**, 135-140 (1997).
- 23 Borgna-Pignatti, C. *et al.* Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* **89**, 1187-1193 (2004).

- 24 Brittenham, G. M. Iron-chelating therapy for transfusional iron overload. *The New England journal of medicine* **364**, 146-156, doi:10.1056/NEJMct1004810 (2011).
- 25 Borgna-Pignatti, C. *et al.* Cardiac morbidity and mortality in deferoxamine- or deferiprone-treated patients with thalassemia major. *Blood* **107**, 3733-3737, doi:10.1182/blood-2005-07-2933 (2006).
- 26 Anderson, L. J. *et al.* Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassaemia. *Lancet (London, England)* **360**, 516-520, doi:10.1016/s0140-6736(02)09740-4 (2002).
- 27 Pennell, D. J. *et al.* Randomized controlled trial of deferiprone or deferoxamine in beta-thalassemia major patients with asymptomatic myocardial siderosis. *Blood* **107**, 3738-3744, doi:10.1182/blood-2005-07-2948 (2006).
- 28 Hershko, C. *et al.* ICL670A: a new synthetic oral chelator: evaluation in hypertransfused rats with selective radioiron probes of hepatocellular and reticuloendothelial iron stores and in iron-loaded rat heart cells in culture. *Blood* **97**, 1115-1122, doi:10.1182/blood.v97.4.1115 (2001).
- 29 EPAR, E. (ed Novartis Pharmaceuticals Corporation: East Hanover) (NJ, 2007).
- 30 Cappellini, M. D. *et al.* A phase 3 study of deferiasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* **107**, 3455-3462, doi:10.1182/blood-2005-08-3430 (2006).
- 31 Waldmeier, F. *et al.* Pharmacokinetics, metabolism, and disposition of deferiasirox in beta-thalassemic patients with transfusion-dependent iron overload who are at pharmacokinetic steady state. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* **38**, 808-816, doi:10.1124/dmd.109.030833 (2010).
- 32 Bruin, G. J. *et al.* Pharmacokinetics, distribution, metabolism, and excretion of deferiasirox and its iron complex in rats. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* **36**, 2523-2538, doi:10.1124/dmd.108.022962 (2008).
- 33 Davis, B. A., O'Sullivan, C., Jarritt, P. H. & Porter, J. B. Value of sequential monitoring of left ventricular ejection fraction in the management of thalassemia major. *Blood* **104**, 263-269, doi:10.1182/blood-2003-08-2841 (2004).
- 34 Gabutti, V. & Piga, A. Results of long-term iron-chelating therapy. *Acta haematologica* **95**, 26-36, doi:10.1159/000203853 (1996).

- 35 Olivieri, N. F. *et al.* Survival in medically treated patients with homozygous beta-thalassemia. *The New England journal of medicine* **331**, 574-578, doi:10.1056/nejm199409013310903 (1994).
- 36 Belhoul, K. M. *et al.* Serum ferritin levels and endocrinopathy in medically treated patients with beta thalassemia major. *Annals of hematology* **91**, 1107-1114, doi:10.1007/s00277-012-1412-7 (2012).
- 37 Taher, A. T., Weatherall, D. J. & Cappellini, M. D. Thalassaemia. *Lancet (London, England)* **391**, 155-167, doi:10.1016/s0140-6736(17)31822-6 (2018).
- 38 Pharma, N. EXJADE® (deferasirox) 125mg Dispersible Tablets [package insert]. (Norvatis Pharma AG, Basel, Switzerland, 2018).
- 39 Di Maggio, R. & Maggio, A. The new era of chelation treatments: effectiveness and safety of 10 different regimens for controlling iron overloading in thalassaemia major. *British journal of haematology* **178**, 676-688, doi:10.1111/bjh.14712 (2017).
- 40 Brissot, P., Ropert, M., Le Lan, C. & Loreal, O. Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *Biochimica et biophysica acta* **1820**, 403-410, doi:10.1016/j.bbagen.2011.07.014 (2012).
- 41 al-Refaie, F. N., Wickens, D. G., Wonke, B., Kontoghiorghes, G. J. & Hoffbrand, A. V. Serum non-transferrin-bound iron in beta-thalassaemia major patients treated with desferrioxamine and L1. *British journal of haematology* **82**, 431-436, doi:10.1111/j.1365-2141.1992.tb06441.x (1992).
- 42 Piga, A. *et al.* High nontransferrin bound iron levels and heart disease in thalassemia major. *American journal of hematology* **84**, 29-33, doi:10.1002/ajh.21317 (2009).
- 43 Jacobs, E. M. *et al.* Results of an international round robin for the quantification of serum non-transferrin-bound iron: Need for defining standardization and a clinically relevant isoform. *Analytical biochemistry* **341**, 241-250, doi:10.1016/j.ab.2005.03.008 (2005).
- 44 Bruce R Bacon, M. & Janet L Kwiatkowski, M., MSCE. *Approach to the patient with suspected iron overload*. (UptoDate, 2019).
- 45 Perifanis, V., Vlachaki, E., Tsatra, I., Hasapopoulou, E. & Metaxa, M. A.-. Almost Normal Transferrin Saturation in Thalassemic Patients on Deferasirox May Predict Better Outcome. *Blood* **112**, 3891-3891, doi:10.1182/blood.V112.11.3891.3891 (2008).
- 46 Lu, M. Y. *et al.* Deferasirox-Iron Complex Formation Ratio as an

- Indicator of Long-term Chelation Efficacy in beta-Thalassemia Major. *Therapeutic drug monitoring* **39**, 185-191, doi:10.1097/ftd.0000000000000378 (2017).
- 47 Chirnomas, D. *et al.* Deferasirox pharmacokinetics in patients with adequate versus inadequate response. *Blood* **114**, 4009-4013, doi:10.1182/blood-2009-05-222729 (2009).
- 48 Allegra, S. *et al.* Deferasirox pharmacogenetic influence on pharmacokinetic, efficacy and toxicity in a cohort of pediatric patients. *Pharmacogenomics* **18**, 539-554, doi:10.2217/pgs-2016-0176 (2017).
- 49 Allegra, S. *et al.* Role of CYP1A1, ABCG2, CYP24A1 and VDR gene polymorphisms on the evaluation of cardiac iron overload in thalassaemia patients. *Pharmacogenetics and genomics* **28**, 199-206, doi:10.1097/fpc.0000000000000348 (2018).
- 50 Fung, E. B. *et al.* Zinc supplementation improves bone density in patients with thalassemia: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *The American journal of clinical nutrition* **98**, 960-971, doi:10.3945/ajcn.112.049221 (2013).
- 51 Shamshirsaz, A. A. *et al.* Bone mineral density in Iranian adolescents and young adults with beta-thalassemia major. *Pediatric hematology and oncology* **24**, 469-479, doi:10.1080/08880010701533702 (2007).
- 52 Karunaratna, A., Ranasingha, J. G. S. & Mudiyanse, R. M. Zinc Status in Beta Thalassemia Major Patients. *Biological trace element research* **184**, 1-6, doi:10.1007/s12011-017-1158-0 (2018).
- 53 El Dib, R. *et al.* Zinc supplementation for the prevention of type 2 diabetes mellitus in adults with insulin resistance. *The Cochrane database of systematic reviews*, Cd005525, doi:10.1002/14651858.CD005525.pub3 (2015).
- 54 Prasad, A. S. Zinc: an overview. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* **11**, 93-99 (1995).
- 55 Brown, K. H., Peerson, J. M., Rivera, J. & Allen, L. H. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition* **75**, 1062-1071, doi:10.1093/ajcn/75.6.1062 (2002).
- 56 Jansen, J., Karges, W. & Rink, L. Zinc and diabetes--clinical links and molecular mechanisms. *The Journal of nutritional biochemistry* **20**, 399-417, doi:10.1016/j.jnutbio.2009.01.009 (2009).
- 57 Prasad, A. S. Impact of the discovery of human zinc deficiency on health.

- Journal of the American College of Nutrition* **28**, 257-265, doi:10.1080/07315724.2009.10719780 (2009).
- 58 Fung, E. B. *et al.* Inadequate dietary intake in patients with thalassemia. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* **112**, 980-990, doi:10.1016/j.jand.2012.01.017 (2012).
- 59 Fung, E. B. Nutritional deficiencies in patients with thalassemia. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1202**, 188-196, doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05578.x (2010).
- 60 Arcasoy, A. & Cavdar, A. O. Changes of trace minerals (serum iron, zinc, copper and magnesium) in thalassemia. *Acta haematologica* **53**, 341-346, doi:10.1159/000208203 (1975).
- 61 Erdogan, E., Canatan, D., Ormeci, A. R., Vural, H. & Aylak, F. The effects of chelators on zinc levels in patients with thalassemia major. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)* **27**, 109-111, doi:10.1016/j.jtemb.2012.10.002 (2013).
- 62 Fung, E. B. The importance of nutrition for health in patients with transfusion-dependent thalassemia. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1368**, 40-48, doi:10.1111/nyas.13003 (2016).
- 63 Vogiatzi, M. G. *et al.* Differences in the prevalence of growth, endocrine and vitamin D abnormalities among the various thalassaemia syndromes in North America. *British journal of haematology* **146**, 546-556, doi:10.1111/j.1365-2141.2009.07793.x (2009).
- 64 Holick, M. F. Vitamin D deficiency. *The New England journal of medicine* **357**, 266-281, doi:10.1056/NEJMr070553 (2007).
- 65 Soliman, A., De Sanctis, V. & Yassin, M. Vitamin d status in thalassemia major: an update. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases* **5**, e2013057, doi:10.4084/mjhid.2013.057 (2013).
- 66 Napoli, N. *et al.* Low serum levels of 25-hydroxy vitamin D in adults affected by thalassemia major or intermedia. *Bone* **38**, 888-892, doi:10.1016/j.bone.2005.11.018 (2006).
- 67 Walter, P. B. *et al.* Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with beta-thalassaemia or sickle cell disease. *British journal of haematology* **135**, 254-263, doi:10.1111/j.1365-2141.2006.06277.x (2006).
- 68 Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization journal* **5**, 9-19, doi:10.1097/WOX.0b013e3182439613 (2012).

- 69 Cakmak, A., Soker, M., Koc, A. & Erel, O. Paraoxonase and arylesterase activity with oxidative status in children with thalassemia major. *Journal of pediatric hematology/oncology* **31**, 583-587, doi:10.1097/MPH.0b013e3181acd93d (2009).
- 70 Zohaib, M., Ansari, S. H., Hashim, Z., Shamsi, T. S. & Zarina, S. Serum Paraoxonase Activity and Malondialdehyde Serum Concentrations Remain Unaffected in Response to Hydroxyurea Therapy in beta-Thalassemia Patients. *Journal of clinical pharmacology* **56**, 869-874, doi:10.1002/jcph.675 (2016).
- 71 La Du, B. N., Adkins, S., Kuo, C. L. & Lipsig, D. Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chemico-biological interactions* **87**, 25-34, doi:10.1016/0009-2797(93)90022-q (1993).
- 72 Selek, S., Aslan, M., Horoz, M., Gur, M. & Erel, O. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clinical biochemistry* **40**, 287-291, doi:10.1016/j.clinbiochem.2006.10.028 (2007).
- 73 TK., A. k. & O., B. u. u. in *Oxidative Stress - Molecular Mechanisms and Biological Effects* (ed Dr. Volodymyr Lushchak) 145– 154 (2012).
- 74 Blatter, M. C., James, R. W., Messmer, S., Barja, F. & Pometta, D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *European journal of biochemistry* **211**, 871-879, doi:10.1111/j.1432-1033.1993.tb17620.x (1993).
- 75 Mackness, B. *et al.* Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation* **107**, 2775-2779, doi:10.1161/01.Cir.0000070954.00271.13 (2003).
- 76 Canales, A. & Sanchez-Muniz, F. J. [Paraoxonase, something more than an enzyme?]. *Medicina clinica* **121**, 537-548, doi:10.1016/s0025-7753(03)74011-1 (2003).
- 77 Dardiotis, E. *et al.* Paraoxonase-1 genetic polymorphisms in organophosphate metabolism. *Toxicology* **411**, 24-31, doi:10.1016/j.tox.2018.10.012 (2019).
- 78 Lee, B. W., London, L., Paulauskis, J., Myers, J. & Christiani, D. C. Association between human paraoxonase gene polymorphism and chronic symptoms in pesticide-exposed workers. *Journal of occupational and environmental medicine* **45**, 118-122, doi:10.1097/01.jom.0000052953.59271.e1 (2003).
- 79 Costa, L. G., Giordano, G. & Furlong, C. E. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: the hunt

- goes on. *Biochemical pharmacology* **81**, 337-344, doi:10.1016/j.bcp.2010.11.008 (2011).
- 80 Cornelis, R. *et al.* Sample collection guidelines for trace elements in blood and urine. IUPAC Commission of Toxicology. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)* **10**, 103-127 (1996).
- 81 Gunter, E. W. & McQuillan, G. Quality control in planning and operating the laboratory component for the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *The Journal of nutrition* **120 Suppl 11**, 1451-1454, doi:10.1093/jn/120.suppl_11.1451 (1990).
- 82 Zhou, H., Tan, K. C., Shiu, S. W. & Wong, Y. Increased serum advanced glycation end products are associated with impairment in HDL antioxidative capacity in diabetic nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* **23**, 927-933, doi:10.1093/ndt/gfm631 (2008).
- 83 Lee, J. W. *et al.* Pharmacogenetic study of deferasirox, an iron chelating agent. *PloS one* **8**, e64114, doi:10.1371/journal.pone.0064114 (2013).
- 84 Chen, C. H. *et al.* Environmental tobacco smoke and male sex modify the influence of IL-13 genetic variants on cord blood IgE levels. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* **23**, 456-463, doi:10.1111/j.1399-3038.2012.01278.x (2012).
- 85 Dimitriadou, M. *et al.* A 2-year prospective densitometric study on the influence of Fok-I gene polymorphism in young patients with thalassaemia major. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* **27**, 781-788, doi:10.1007/s00198-015-3264-1 (2016).
- 86 Moulas, A., Challa, A., Chaliasos, N. & Lapatsanis, P. D. Vitamin D metabolites (25-hydroxyvitamin D, 24,25-dihydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D) and osteocalcin in beta-thalassaemia. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* **86**, 594-599, doi:10.1111/j.1651-2227.1997.tb08940.x (1997).
- 87 Wood, J. C. *et al.* Vitamin D deficiency, cardiac iron and cardiac function in thalassaemia major. *British journal of haematology* **141**, 891-894, doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07135.x (2008).
- 88 Allegra, S. *et al.* Effect of pharmacogenetic markers of vitamin D pathway

- on deferasirox pharmacokinetics in children. *Pharmacogenetics and genomics* **28**, 17-22, doi:10.1097/fpc.0000000000000315 (2018).
- 89 Lindh, J. D., Bjorkhem-Bergman, L. & Eliasson, E. Vitamin D and drug-metabolising enzymes. *Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* **11**, 1797-1801, doi:10.1039/c2pp25194a (2012).
- 90 Kell, D. B. & Pretorius, E. No effects without causes: the Iron Dysregulation and Dormant Microbes hypothesis for chronic, inflammatory diseases. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* **93**, 1518-1557, doi:10.1111/brv.12407 (2018).
- 91 Bajoria, R., Rekhi, E., Almusawy, M. & Chatterjee, R. Hepatic Hemosiderosis Contributes to Abnormal Vitamin D-PTH Axis in Thalassemia Major. *Journal of pediatric hematology/oncology* **41**, e83-e89, doi:10.1097/mp.0000000000001261 (2019).
- 92 Angelucci, E. *et al.* Effects of iron overload and hepatitis C virus positivity in determining progression of liver fibrosis in thalassemia following bone marrow transplantation. *Blood* **100**, 17-21, doi:10.1182/blood.v100.1.17 (2002).
- 93 Allegra, S. *et al.* The effect of vitamin D pathway genes and deferasirox pharmacogenetics on liver iron in thalassaemia major patients. *The pharmacogenomics journal* **19**, 417-427, doi:10.1038/s41397-019-0071-7 (2019).
- 94 Goldberg, E. K., Neogi, S., Lal, A., Higa, A. & Fung, E. Nutritional Deficiencies Are Common in Patients with Transfusion-Dependent Thalassemia and Associated with Iron Overload. *Journal of food and nutrition research (Newark, Del.)* **6**, 674-681, doi:10.12691/jfnr-6-10-9 (2018).
- 95 Project, E. *Human* (GRCh37.p13), <http://grch37.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index> (2000).
- 96 BioBank, T. *Taiwan* BioBank <<https://taiwanview.twbiobank.org.tw/index>> (2003).
- 97 Cusato, J. *et al.* Influence of single-nucleotide polymorphisms on deferasirox C trough levels and effectiveness. *The pharmacogenomics journal* **15**, 263-271, doi:10.1038/tpj.2014.65 (2015).
- 98 Luo, Z. *et al.* Identification of novel variants associated with warfarin stable dosage by use of a two-stage extreme phenotype strategy. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **15**, 28-37, doi:10.1111/jth.13542

- (2017).
- 99 Chia, V. M. *et al.* Effect modification of endocrine disruptors and testicular germ cell tumour risk by hormone-metabolizing genes. *International journal of andrology* **33**, 588-596, doi:10.1111/j.1365-2605.2009.00975.x (2010).
- 100 Ichikawa, K. *et al.* Genetic polymorphisms of paraoxonase-1 are associated with chronic kidney disease in Japanese women. *Kidney international* **76**, 183-189, doi:10.1038/ki.2009.97 (2009).





附錄

本研究榮獲財團法人罕見疾病基金會
「第21屆罕見疾病博碩士論文獎助學金」獎助
謹於此特別致謝

附錄一、「第 21 屆罕見疾病博碩士論文獎助學金」獎助致謝

國立臺灣大學醫學院附設醫院C研究倫理委員會

Research Ethics Committee C
National Taiwan University Hospital
7, Chung-Shan South Road, Taipei, Taiwan 100, R.O.C
Phone: 2312-3456 Fax: 23951950

臨床試驗/研究許可書

許可日期：2018 年 4 月 30 日

倫委會案號：201401095RINC

計畫名稱：鐵沉積與螯合治療反應之臨床轉譯研究。

試驗機構：國立臺灣大學醫學院附設醫院

部門/計畫主持人：小兒部 盧孟佑醫師

上述計畫持續審查申請業經 2018 年 4 月 30 日本院 C 研究倫理委員會第 103 次會議審查同意，符合研究倫理規範。本委員會的運作符合優良臨床試驗準則及政府相關法律規章。

本臨床試驗許可書之有效期限自 2018 年 5 月 12 日起至 2019 年 5 月 11 日止，計畫主持人須依國內相關法令及本院規定通報嚴重不良反應事件及非預期問題，並應於到期日至少 6 週前提出持續審查申請表，本案需經持續審查，方可繼續執行。

主任委員

蔡甫昌

Clinical Trial /Research Approval

Date of approval: Apr 30, 2018

NTUH-REC No. : 201401095RINC

Title of protocol : Clinical and Translational study on Iron overload and Response of Chelation Treatments.

Trial/Research Institution : National Taiwan University Hospital

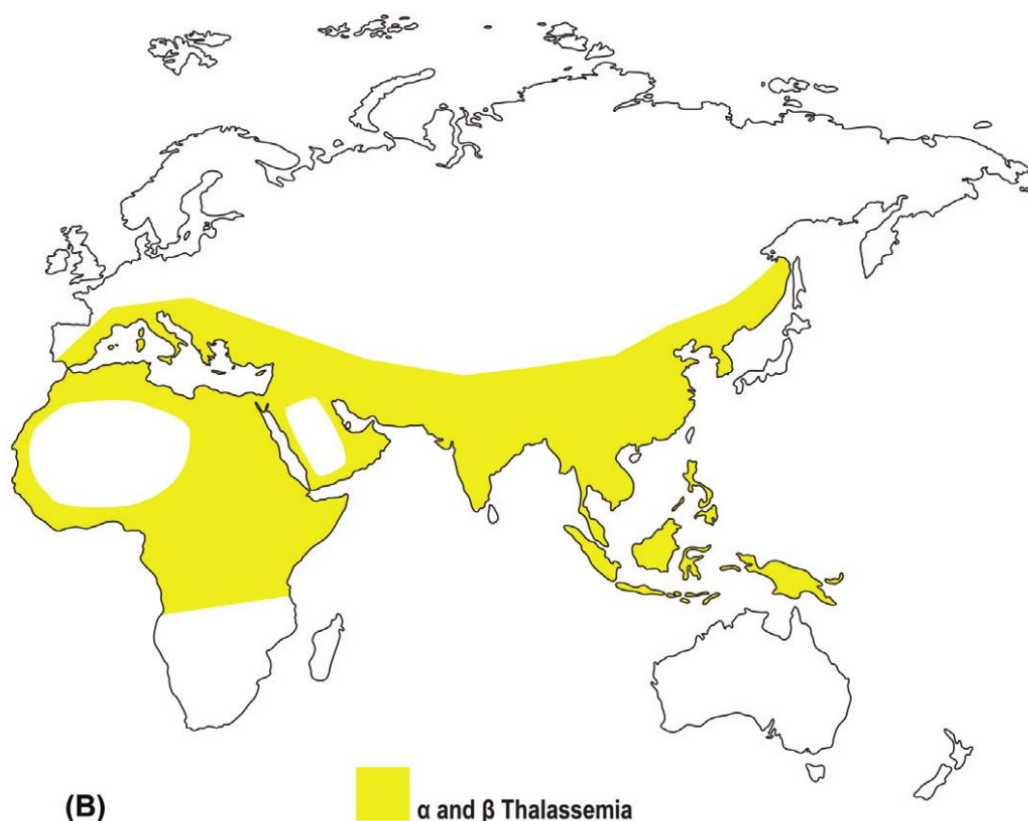
Department/ Principal Investigator : Department of Pediatrics / Dr. MengYao Lu

The continuing review of the protocol has been approved by the 103rd meeting of Research Ethics Committee C of the National Taiwan University Hospital on Apr 30, 2018. The committee is organized under, and operates in accordance with, the Good Clinical Practice guidelines and governmental laws and regulations.

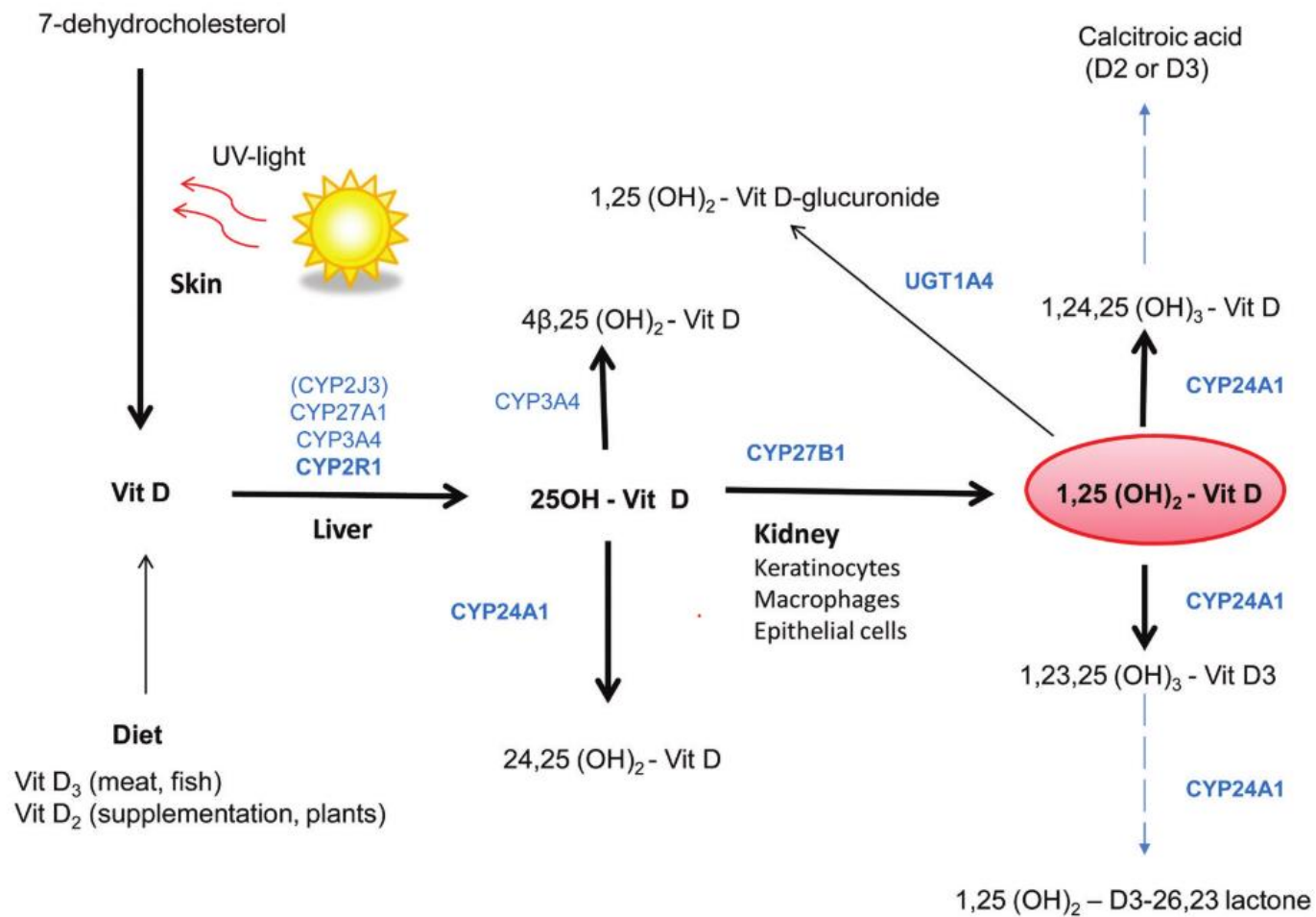
The duration of this approval is from May 12, 2018 to May 11, 2019. The investigator is required to report serious adverse events and unanticipated problems in accordance with the governmental laws and regulations and NTUH requirements and apply for a continuing review not less than six weeks prior to the approval expiration date.

Daniel Fu-Chang Tsai, M.D.
Chairman
Research Ethics Committee C

Daniel Fu-Chang Tsai



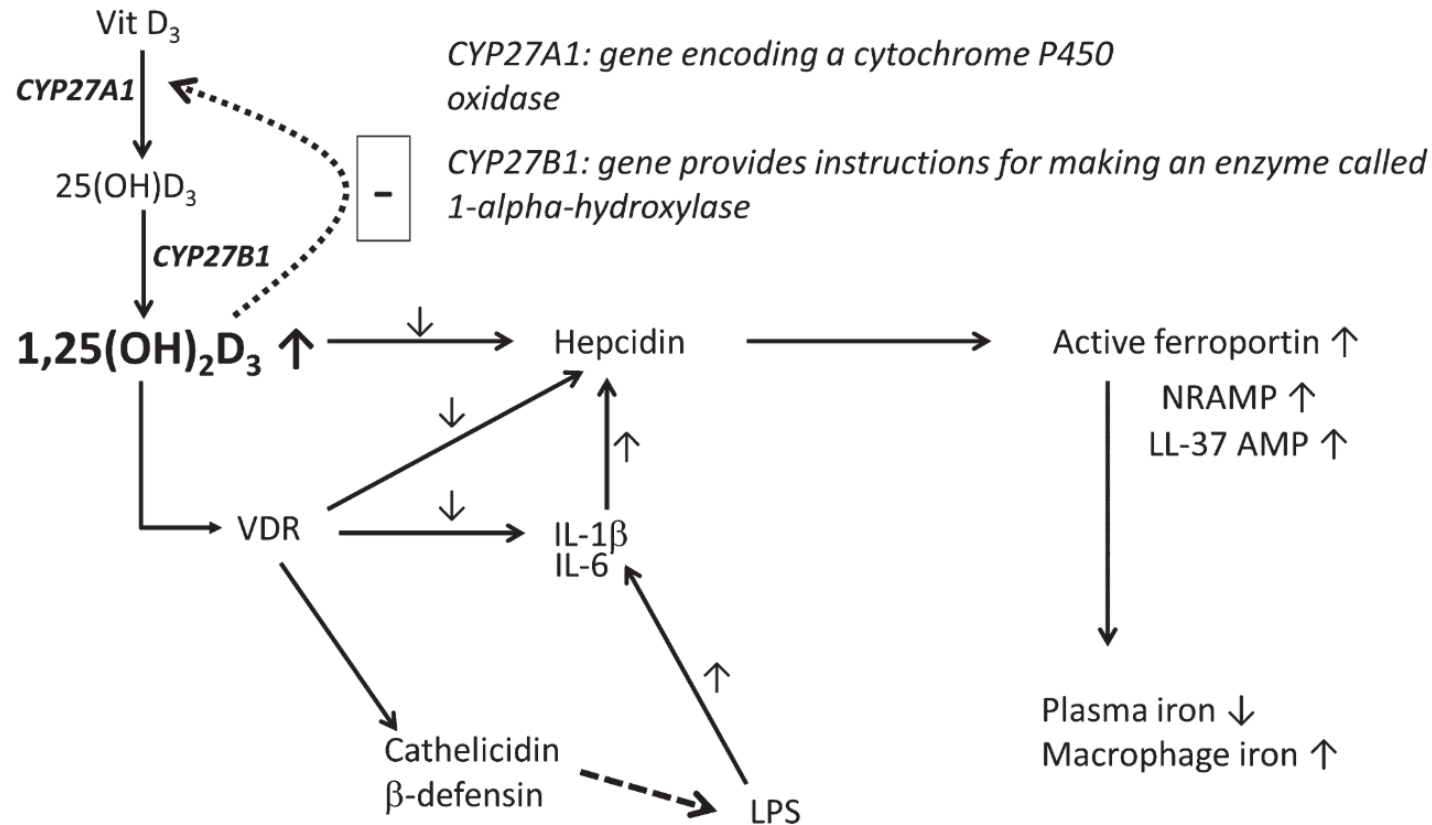
附錄圖一、海洋性貧血疾病發生全球分布
Blood Rev. 2012 Apr;26 Suppl 1:S3-6.



附錄圖二、維他命 D 代謝路徑

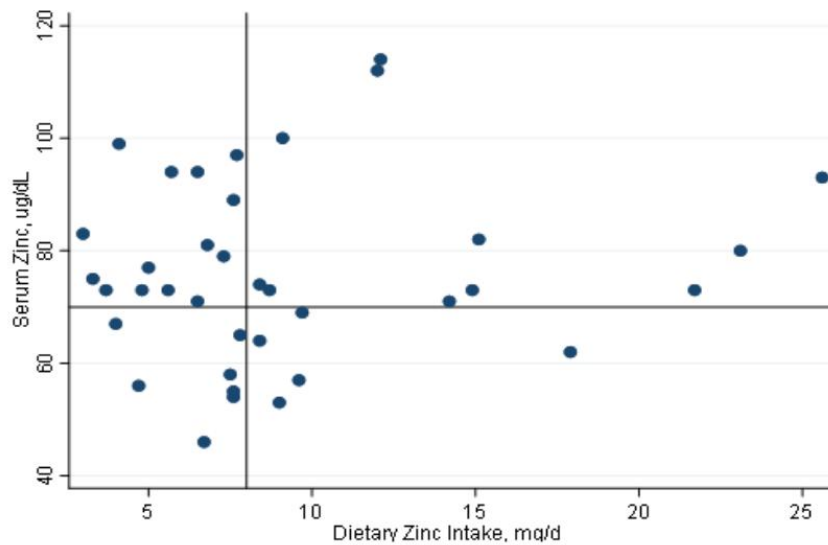
Photochem Photobiol Sci. 2012 Dec;11(12):1797-801.

Vitamin D, cytokines and iron metabolism



附錄圖三、維他命 D 與鐵的代謝路徑關係

Biol Rev Camb Philos Soc. 2018 Aug;93(3):1518-1557.



a.

41% of all subjects had low serum zinc (<70 ug/dL). Half of those (50%) with low plasma zinc also had low dietary zinc intake (< 8 mg/day). Vertical line represents recommended dietary intake for females >8 years (8 mg/day). Horizontal line represents hypozincemia or low serum zinc concentration (<70 ug/dL).

附錄圖四、飲食對血鋅的影響

J Food Nutr Res (Newark). 2018;6(10):674-681.