REVIEW ARTICLE

Pharmacogenetics of Thiopurine Drugs: Role of Thiopurine S-Methyltransferase and Nucleoside Diphosphate-Linked Moiety X Motif 15 Genetic Polymorphisms on Drugs-induced Myelosuppression

Kanyarat Khaeso[1], Nontaya Nakkam[1], Sirimas Kanjanawart[1], Suda Vannaprasaht[1], Patcharee Komvilaisak[2], Wichittra Tassaneeyakul[1]

[1] *Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand*
[2] *Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand*

Received: 3 April 2019; **Revised:** 22 May 2019
Accepted: 13 June 2019

Abstract

Thiopurine drugs including 6-mercaptopurine (6-MP), 6-thioguanine (6-TG), and azathioprine (AZA) are widely used for treatment of cancers such as acute lymphoblastic leukemia, chronic myeloid leukemia, acute myeloid leukemia, lymphoblastic lymphoma as well as several autoimmune and inflammatory diseases. However, critical toxicity of these drugs particularly myelosuppression is well recognized. To date, genetic polymorphisms of thiopurine S-methyltransferase (*TPMT*) and nucleoside diphosphate-linked moiety X-type motif 15 (*NUDT15*) have been reported to be strongly associated with thiopurine-induced myelosuppression. TPMT and NUDT15 are major enzymes involved in the metabolism of thiopurine drugs. This article reviewed the genetic variation of these enzymes and their relation to thiopurine-induced myelosuppression, focus on ethnicity differences.

Keywords: Myelosuppression, thiopurine S-methyltransferase (TPMT), nucleoside diphosphate-linked moiety X-type motif 15 (NUDT15), 6-mercapto-purine (6-MP), azathioprine (AZA), 6-thioguanine (6-TG)

Address correspondence and reprint request to: Wichittra Tassaneeyakul, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.
E-mail address: wichittra.tassaneeyakul@gmail.com

เภสัชพันธุศาสตร์ของยากลุ่ม Thiopurines: บทบาทของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน Thiopurine S-Methyltransferase และยีน Nucleoside Diphosphate-Linked Moiety X Motif 15 ต่อการกดไขกระดูกของยา

กันยารัตน์ แข้โส[1], นนทญา นาคคำ[1], ศิริมาศ กาญจนวาศ[1], สุดา วรรณประสาท[1], พัชรี คำวิลัยศักดิ์[2], วิจิตรา ทัศนียกุล[1]

[1] *ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย*
[2] *ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย*

รับบทความ: 3 เมษายน 2562; **แก้ไข:** 22 พฤษภาคม 2562
ตอบรับ: 13 มิถุนายน 2562

บทคัดย่อ

ยากลุ่ม thiopurines ได้แก่ 6-mercaptopurine (6-MP), 6-thioguanine (6-TG) และ azathioprine (AZA) เป็นยาที่ใช้อย่างแพร่หลายในการรักษาโรคมะเร็ง เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดลิมโฟบลาสติก มะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิดมัยอีลอยด์ มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง รวมไปถึงใช้ในการรักษาโรคภูมิต้านเนื้อเยื่อของตนเองและโรคที่เกิดจากการอักเสบ อย่างไรก็ตาม เป็นที่ทราบกันดีว่ายาในกลุ่มนี้ทำให้เกิดพิษรุนแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะกดไขกระดูก ปัจจุบัน มีรายงานว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน thiopurine S-methyltransferase (*TPMT*) และ nucleoside diphosphate-linked moiety X-type motif 15 (*NUDT15*) มีความสัมพันธ์อย่างมากกับการเกิดภาวะกดไขกระดูกของยากลุ่มนี้ ซึ่ง TPMT และ NUDT15 เป็นเอนไซม์หลักที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเมแทบอลิซึมของยา thiopurines บทความนี้เป็นการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ และความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines โดยเน้นถึงความแตกต่างกันในประชากรแต่ละเชื้อชาติ

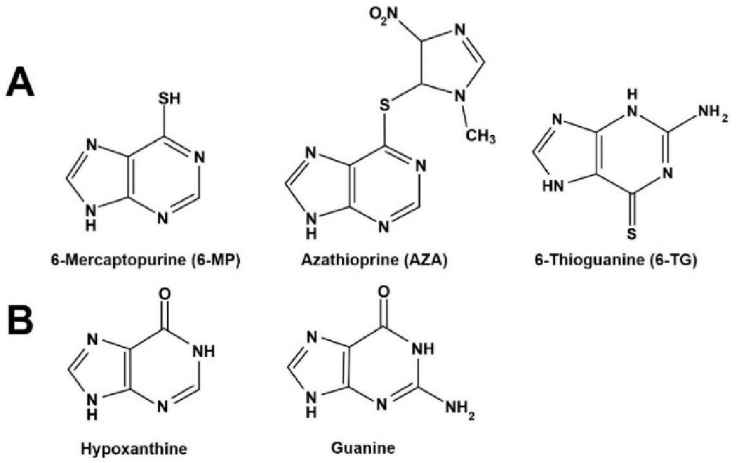
คำสำคัญ: พิษกดไขกระดูก, thiopurine S-methyltransferase (TPMT), nucleoside diphosphate-linked moiety X-type motif 15 (NUDT15), 6-mercaptopurine (6-MP), azathioprine (AZA), 6-thioguanine (6-TG)

บทนำ

ยากลุ่ม thiopurines เป็นยาที่มีสูตรโครงสร้างเคมีคล้ายคลึงกับเบสพิวรีน (purine base) ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของสายดีเอ็นเอในร่างกาย (รูปที่ 1) ยากลุ่มนี้ที่ใช้ในทางคลินิกปัจจุบัน ได้แก่ 6-mercaptopurine (6-MP), azathioprine (AZA) และ 6-thioguanine (6-TG) โดย 6-MP และ 6-TG นิยมใช้ในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดลิมโฟบลาสติก (acute lymphoblastic leukemia, ALL), มะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิดมัยอีลอยด์ (chronic myeloid leukemia, CML), มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ (acute myeloid leukemia, AML) และมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoblastic lymphoma) ส่วน AZA นิยมใช้ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน เช่น Crohn's disease และ ulcerative colitis[1]

ถึงแม้ว่ายากลุ่ม thiopurines จะมีประโยชน์ทางการแพทย์ แต่ก็มีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์หรืออาการพิษรุนแรงถึงแก่ชีวิตได้ โดยเฉพาะการเกิดพิษกดการทำงานของไขกระดูก (myelosuppression) ส่งผลทำให้เกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (leucopenia), ภาวะเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลต่ำ (neutropenia) หรือภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia) รวมทั้งเพิ่มโอกาสการติดเชื้อของผู้ป่วย นอกจากนี้ยังอาจรบกวนการทำงานของ กระเพาะอาหารและลำไส้ รวมทั้งมีพิษต่อตับด้วย ปัจจุบันมีหลักฐานจากการวิจัยที่พบว่าการเกิดพิษของยากลุ่มนี้ โดยเฉพาะพิษกดการทำงานของไขกระดูกเกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน thiopurine S-methyltransferases (*TPMT*) ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ TPMT และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน nucleoside diphosphate-linked moiety X motif 15 (*NUDT15*) ซึ่งควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยา dephosphorylation ของสารกลุ่ม nucleoside diphosphate[2]

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับบทบาทหน้าที่ของเอนไซม์ TPMT และ NUDT15 ชนิดของความหลากหลายทางพันธุกรรม รวมทั้งผลการวิจัยที่สำคัญที่เป็นหลักฐานแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของยีนเหล่านี้กับการเกิดพิษของยากลุ่ม thiopurines



รูปที่ 1 โครงสร้างของ (A) ยากลุ่ม thiopurines และ (B) เบสพิวรีนที่คล้ายคลึงกัน[1]

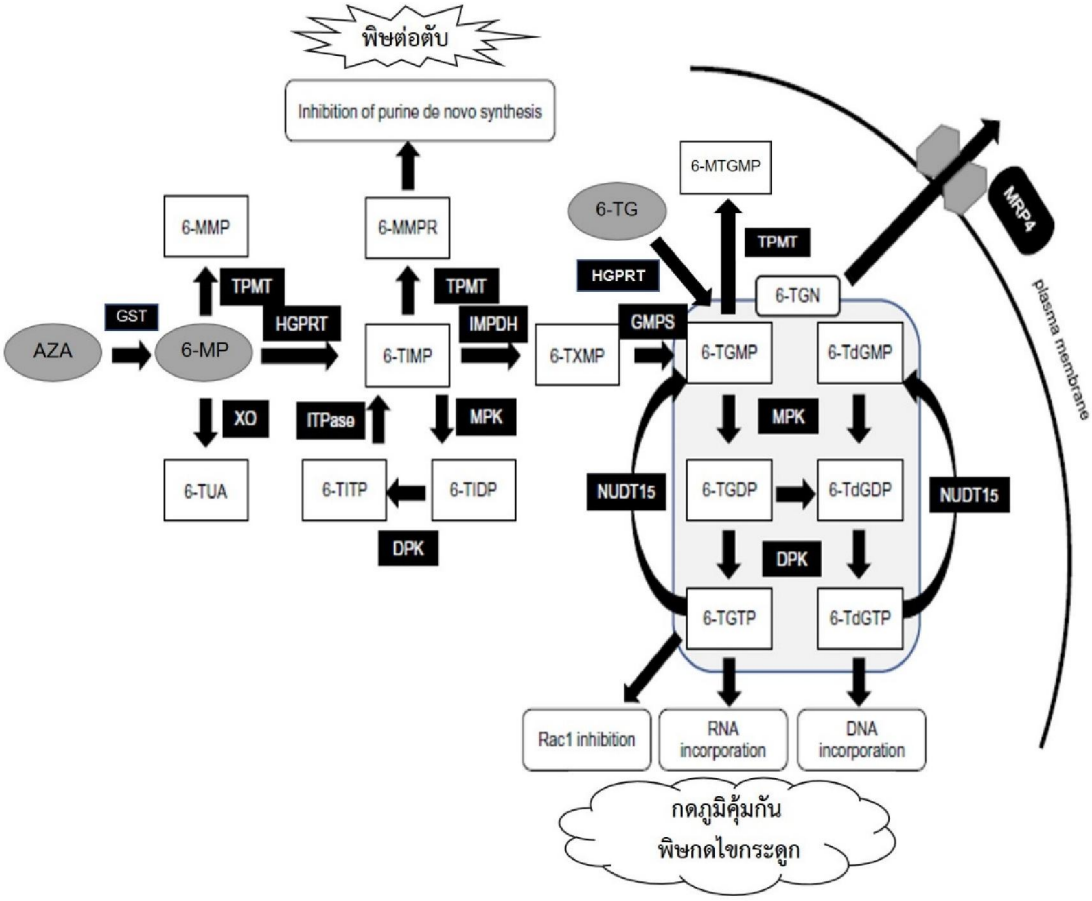
กลไกการออกฤทธิ์และเมแทบอลิซึมของยากลุ่ม thiopurines

ยากลุ่ม thiopurines เองนั้นไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แต่เมื่อเข้าสู่เซลล์จะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์หลายขั้นตอน โดย AZA จะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วในร่างกายโดยอาศัยเอนไซม์ glutathione S-transferase (GST) ให้เป็น 6-MP สำหรับ 6-MP และ 6-TG จะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT) เป็น 6-thioinosine-5′-monophosphate (6-TIMP) และ 6-thioguanosine-5′-monophosphate (6-TGMP) ตามลำดับ จากนั้น 6-TIMP จะถูกเปลี่ยนต่อโดยเอนไซม์ inosine 5-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) และ guanosine monophosphate synthetase (GMPS) ให้เป็น 6-thioxanthosine-5′-monophosphate (TXMP) และ 6-TGMP ตามลำดับ จากนั้น 6-TGMP ซึ่งเป็น thioguanine nucleotide (6-TGN) ตัวแรกจะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น 6-thioguanosine-5′-triphosphate (6-TGTP) หรือ 6-thiodeoxy-guanine triphosphate (6-TdGTP) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถแทรกเข้าไปอยู่ในโครงสร้างของ DNA และ RNA ได้ ทั้งนี้การออกฤทธิ์ของ 6-MP ขึ้นกับปริมาณของ 6-TIMP ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่จะถูกเปลี่ยนต่อให้เป็นสารในกลุ่ม 6-TGN ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ต่าง ๆ 6-MP จะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยเปลี่ยนเป็น 6-methylmercaptopurine (6-MMP) โดยเอนไซม์ TPMT นอกจากนี้ 6-MP ยังถูกเปลี่ยนให้เป็น thiouric acid (6-TUA) ได้โดยเอนไซม์ xanthine oxidase (XO) ซึ่งทั้ง 6-MMP และ 6-TUA นี้เป็นเมแทบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สำหรับ 6-TGN ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจะสามารถถูกขนส่งออกจากเซลล์ได้โดยผ่านทาง multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4) ส่งผลให้ 6-TGN ในเซลล์ลดลง[3] (รูปที่ 2)

เภสัชพันธุศาสตร์ของ *TPMT* กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน TPMT ยีน *TPMT* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ประกอบด้วย 10 exons ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ TPMT โดยทั่วไปมักพบเอนไซม์นี้ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ตับ ไต หัวใจ รก ตับอ่อน ลำไส้ รวมทั้งเม็ดเลือดแดงด้วย ปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดถึงบทบาทของเอนไซม์ TPMT ในการเมแทบอลิซึมสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติในร่างกาย (endogenous substrate) แต่พบว่าเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการเมแทบอลิซึมของยากลุ่ม thiopurines ให้กลายเป็นเมแทบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา โดยเอนไซม์ TPMT จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา *S*-methylation ของยากลุ่ม thiopurines รวมทั้งเมแทบอไลต์ของยาเหล่านี้ด้วย (รูปที่ 2)[4]

จากการศึกษาของ Weinshilboum และคณะ[5] ในปี ค.ศ. 1980 พบว่าความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ TPMT ถูกควบคุมโดยลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* แบบ autosomal codominant โดยสามารถแบ่งประชากรเป็น 3 กลุ่มตามความสามารถของเอนไซม์ TPMT (TPMT phenotype) คือ กลุ่มที่เอนไซม์ TPMT มีความสามารถในการทำงานสูง (high activity) ซึ่งเป็นผลมาจากการมีลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* (TPMT genotype) แบบ homozygous wild-type allele (*TPMT*1/*1*), กลุ่มที่เอนไซม์ TPMT มีความสามารถในการ



รูปที่ 2 กลไกการออกฤทธิ์และเมแทบอลิซึมของยากลุ่ม thiopurines (ดัดแปลงจาก Kakuta และคณะ[6] ภายใต้สัญญาอนุญาตครีเอทีฟคอมมอนส์ 4.0, [http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/])

ชื่อยาแสดงด้วยวงรีสีเทา: AZA, azathioprine; 6-MP, 6-mercaptopurine; 6-TG, 6-thio-guanine; **เมแทบอไลต์ของยาแสดงด้วยกล่องสีขาว:** 6-MMP, 6-methylmercaptopurine; 6-TUA, 6-thiouric acid; 6-MMPR, 6-methylmercaptopurine ribonucleotides; 6-TIMP, 6-thioinosine monophosphate; 6-TIDP, 6-thioinosine diphosphate; 6-TITP, 6-thioinosine triphosphate, 6-TXMP, 6-thioxanthosine monophosphate; 6-TGMP, 6-thioguanine monophosphate; 6-TGDP, 6-thioguanine diphosphate; 6-TGTP, 6-thioguanine triphosphate; 6-TdGMP, 6-thiodeoxyguanine monophosphate; 6-TdGDP, 6-thiodeoxyguanine diphosphate; 6-TdGTP, 6-thiodeoxyguanine triphosphate; 6-MTGMP, 6-methylthioguanine monophosphate; 6-TGN, 6-thioguanine nucleotides;

เอนไซม์หรือตัวขนส่งยาแสดงด้วยกล่องสีดำ: GST, glutathione S-transferase; XO, xanthine oxidase; TPMT, thiopurine S-methyl transferase; HGPRT, hypoxanthine phosphoribosyl transferase; IMPDH, inosine monophosphate dehydrogenase; GMPS, guanosine monophosphate synthetase; NUDT15, nucleoside diphosphate-linked moiety X motif 15; MPK, monophosphate kinase; DPK, diphosphate kinase; ITPase, inosine triphosphate pyrophosphatase; MRP4, multidrug resistance-associated protein 4

ทำงานปานกลาง (intermediate activity) ซึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นแบบ heterozygous variant allele และกลุ่มที่เอนไซม์ TPMT มีความสามารถในการทำงานต่ำหรือบกพร่อง (TPMT deficiency) ซึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นแบบ homozygous variant allele ปัจจุบันพบว่ายีน *TPMT* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่า 30 แอลลีล โดยความหลากหลายทางพันธุกรรมส่วนใหญ่เป็นการเกิด single nucleotide polymorphism (SNP) ของยีน *TPMT* เพียง 1-2 ตำแหน่ง แต่ทำให้เอนไซม์ TPMT ที่สังเคราะห์ขึ้นมามีกรดอะมิโนผิดแผกไป ซึ่งส่งผลทำให้เอนไซม์ TPMT มีความสามารถในการทำงานลดลง สำหรับแอลลีลผิดแผกที่พบมากที่สุดในประชากรชาวเอเชีย รวมทั้งชาวไทย ได้แก่ *TPMT*3C* โดยพบความชุกของประชากรไทยที่มียีน *TPMT*3C* มีค่าสูงถึงร้อยละ 10[7] สำหรับประชากรคอเคเชียนมักพบความผิดแผกชนิด *TPMT*3A*, *TPMT*2* ร่วมกับ *TPMT*3C* ด้วย[8] โดยรายละเอียดของความผิดแผกทางพันธุกรรมและความถี่แอลลีลของ *TPMT* ชนิดที่เป็นแอลลีลหลักที่พบในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 รายละเอียดของแอลลีล *TPMT* ที่พบมากในประชากร[9,10]

แอลลีล	dbSNP	นิวคลีโอไทด์ที่ผิดแผก	ตำแหน่งที่มีความผิดแผก	กรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลง	ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์
*TPMT*1*	-	Wild-type	-	-	ปกติ
*TPMT*2*	rs1800462	238G>C	Exon 5	Ala80Gln	ลดลง
*TPMT*3A*	rs1800460 rs1142345	460G>A 719A>G	Exon 7 Exon 10	Ala154Thr Tyr240Cys	ลดลง
*TPMT*3B*	rs1800460	460G>A	Exon 7	Ala154Thr	ลดลง
*TPMT*3C*	rs1142345	719A>G	Exon 10	Tyr240Cys	ลดลง

ตารางที่ 2 ความถี่ของแอลลีล *TPMT* ในประชากรแต่ละเชื้อชาติ

ประชากร	จำนวนคนที่เข้าร่วมการศึกษา	ความถี่แอลลีล			
		**1*	**2*	**3A*	**3C*
ไทย[7]	200	0.950	0	0	0.050
ญี่ปุ่น[11]	522	0.984	0	0	0.016
จีน[11]	701	0.989	0	0.001	0.010
ไต้หวัน[12]	249	0.994	0	0	0.006
เอเชียตะวันตก[13]	99	0.990	0	0.010	0
เอเชียตะวันออกเฉียงใต้[12]	300	0.990	0	0	0.010
เกาหลี[14]	812	0.990	0	0	0.010
ยุโรป[15]	191	0.927	0.005	0.057	0.008
อเมริกัน[16]	1028	0.952	0.009	0.029	0.009
แอฟริกัน[16]	1146	0.943	0.001	0.002	0.048
ตะวันออกกลาง[16]	2403	0.970	0.007	0.011	0.006

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน TPMT กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมของ *TPMT* กับความเข้มข้นของ 6-TGN ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญของยากลุ่ม thiopurines ในประชากรยุโรป พบว่าความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ TPMT สัมพันธ์แบบผกผันกับความเข้มข้นของ 6-TGN ในเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยผู้ป่วย ALL ที่มีการทำงานของเอนไซม์ TPMT บกพร่อง เมื่อได้รับยา 6-MP ในขนาดปกติมักมีความเข้มข้นของ 6-TGN ในเซลล์เม็ดเลือดแดงสูงกว่าผู้ป่วยรายอื่น ๆ ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำขั้นรุนแรง[17] ในทางตรงกันข้ามผู้ป่วยที่มีเอนไซม์ TPMT ชนิดที่มีความสามารถในการทำงานของสูง เมื่อได้รับยา 6-MP จะมีความเข้มข้นของ 6-TGN ในเซลล์เม็ดเลือดแดงค่อนข้างต่ำและมีโอกาสสูงที่จะกลับเป็นโรคซ้ำ[18] นอกจากนี้ยังพบว่า มีผู้ป่วย ALL ที่มีการทำงานของเอนไซม์ TPMT บกพร่องเกิดอาการพิษอย่างรุนแรงหลังจากได้รับยา 6-MP แม้ว่าจะได้รับยาในขนาดปกติ และเมื่อทำการปรับลดขนาดยา 6-MP ลงมาเป็นร้อยละ 6-25 ของขนาดยาปกติ พบว่าผู้ป่วยตอบสนองต่อการรักษาดี โดยไม่เกิดอาการพิษจากยา[19-21] ทั้งนี้มีรายงานว่าการได้รับยา 6-MP อย่างต่อเนื่องยังเกี่ยวข้องกับการกลับเป็นซ้ำของโรค ALL ด้วย โดยผู้ป่วยที่ได้รับยา 6-MP อย่างต่อเนื่องจะมีโอกาสกลับเป็นซ้ำของโรคน้อยกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา 6-MP อย่างต่อเนื่อง[22] จากรายงานต่อมาพบว่าถึงแม้ผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของ *TPMT* แบบ homozygous wild-type (**1/*1*) และ heterozygous mutant (**1/*3A* หรือ **1/ *3C*) มีช่วงเวลาที่ต้องงดการใช้ยา 6-MP ถึงร้อยละ 11 และร้อยละ 9.5 ของช่วงเวลาของการให้ยาแบบ maintenance phase เนื่องจากเกิดภาวะพิษต่อระบบเลือด แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นที่น่าสังเกตว่ามีผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ homozygous *TPMT*3A/*3A* หนึ่งรายที่เกิดภาวะพิษต่อระบบเลือดค่อนข้างรุนแรง เป็นผลให้แพทย์จำเป็นต้องสั่งงดการใช้ 6-MP เป็นเวลากว่าร้อยละ 50 ของช่วงเวลาการให้ยาช่วง maintenance phase[23] จากการศึกษาของ Evan และคณะ[24] พบว่ากลุ่มผู้ป่วย ALL ที่เกิดพิษจากยา 6-MP มีความถี่ของแอลลีล *TPMT* ผิดแผกสูงกว่าในประชากรปกติอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าผู้ป่วย ALL ที่มีความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ TPMT ต่ำมีความถี่ของการเข้าพักรักษาในโรงพยาบาล การได้รับเกล็ดเลือด และการงดยาเคมีบำบัดมากกว่าผู้ป่วย ALL ที่มีความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ TPMT ปานกลางและสูง จากรายงานการวิจัยในประชากรที่อาศัยในสหราชอาณาจักร ซึ่งประกอบด้วยผู้ป่วยเชื้อชาติต่าง ๆ จำนวน 1,334 ราย พบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของ *TPMT* แบบ heterozygous variant เกิดภาวะเม็ดเลือดต่ำ (cytopenia) และต้องการการปรับขนาดยาบ่อยกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของ *TPMT* แบบ homozygous wild-type[25] สำหรับในประเทศไทย มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *TPMT* กับการเกิดพิษของยา 6-MP ในผู้ป่วยเด็ก ALL ชาวไทย จำนวน 47 ราย พบว่าผู้ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous *TPMT*1/ *3C* มีความเสี่ยงต่อการเกิดพิษอย่างรุนแรงจาก 6-MP (absolute neutrophil count, ANC ต่ำกว่า 500 เซลล์/มม.^{3} และเข้าพักรักษาภายในโรงพยาบาลในช่วง 6 เดือนแรกของ maintenance phase มากกว่า 2 ครั้ง) เพิ่มขึ้น 7.6 เท่า (95% CI: 1.08, 54.90)[26]

นอกจากการเกิดพิษจากยา 6-MP แล้วพบว่าการเกิดพิษจากยา AZA ซึ่งเป็นสารตั้งต้น (parent drug) ของยา 6-MP มีความสัมพันธ์สูงกับลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* ของผู้ป่วยด้วย โดยในปี ค.ศ. 1996 Schutz และคณะ[27] ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ 6-TGN กับผลการรักษาและการเกิดพิษจากยา AZA ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายหัวใจ โดยพบว่าความเข้มข้นของ 6-TGN ในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยแต่ละรายแตกต่างกัน ผู้ป่วยที่มีความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ TPMT ต่ำมีโอกาสเกิดพิษจากยา AZA สูง นอกจากนี้ยังมีรายงานในผู้ป่วยชาวไทยที่มีการผ่าตัดเปลี่ยนไต พบว่าผู้ที่มียีน *TPMT*3C* มีโอกาสเกิดพิษกดไขกระดูกจากยา AZA สูงกว่าคนที่เป็น homozygous wild-type ถึง 14 เท่า[28] และจากการศึกษาในผู้ป่วยโรคผิวหนังบางชนิดที่ได้รับยา AZA พบว่าผู้ป่วยที่เป็น heterozygous variant จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดพิษต่อไขกระดูกมากกว่ากลุ่มที่เป็น homozygous wild-type[29] เช่นเดียวกับผู้ป่วย rheumatoid arthritis ที่เกิดพิษจากการใช้ยา AZA พบว่ามีความสามารถในการทำงานของ TPMT ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เกิดอาการข้างเคียง[30]

อย่างไรก็ตาม เมื่อไม่นานมานี้ จากรายงานการศึกษาของ Takatsu และคณะ[31] ในผู้ป่วย inflammatory bowel disease (IBD) ชาวญี่ปุ่น 147 รายที่ได้รับยา AZA พบว่า ในกลุ่มผู้ป่วยที่เกิดพิษจากยา มีถึงร้อยละ 33 ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* เป็นแบบ homozygous wild-type และร้อยละ 16 ของกลุ่มผู้ป่วยที่ถึงแม้เอนไซม์ TPMT ยังทำงานได้ปกติแต่ก็ยังได้รับพิษจากยา ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาในประชากรชาวจีนที่พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* ไม่มีความสัมพันธ์กับเกิดพิษต่อระบบเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[32]

สำหรับ 6-TG เป็นยาที่นิยมใช้น้อยกว่า 6-MP ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ยานี้สามารถเปลี่ยนแปลงให้เป็น 6-TGN ได้โดยตรง ส่งผลให้มีการสะสมของ 6-TGN ภายในเซลล์ได้มากกว่า จึงมีความเสี่ยงต่อการเกิดพิษสูงโดยเฉพาะการกดไขกระดูก[33,34] จากรายงานกรณีศึกษาในผู้ป่วยเด็ก ALL ชาวคอเคเชียนที่ได้รับยา 6-TG ในระยะ consolidation พบว่ามีผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ *TPMT*3A/*3A* เกิดพิษกดไขกระดูกคือ มีภาวะเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลต่ำ (230 เซลล์/มม.^{3}) และภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (54,000 เซลล์/มม.^{3}) หลังจากได้รับยาเป็นเวลา 10 วัน[35]

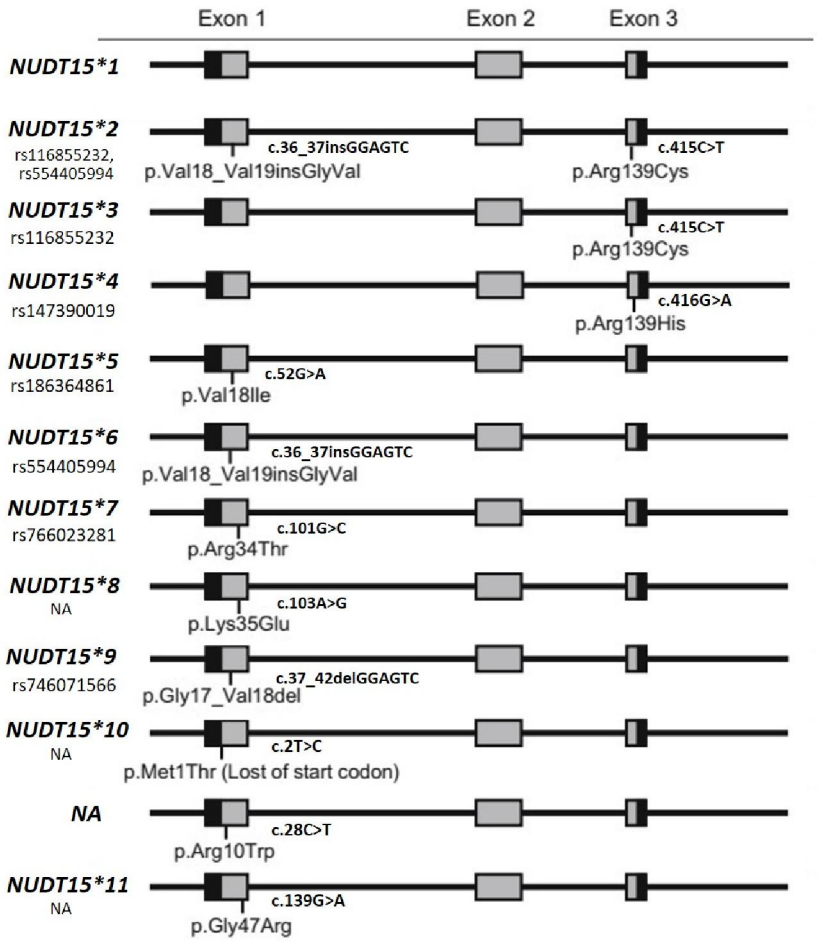
เป็นที่น่าสังเกตว่า ถึงแม้ว่าความถี่ของแอลลีลผิดแผกของยีน *TPMT* ในประชากรชาวเอเชีย (ร้อยละ 1-3) มีค่าต่ำกว่าที่พบในประชากรชาวคอเคเชียนมาก (ร้อยละ 10) แต่อัตราการเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำจากยากลุ่ม thiopurines ในประชากรชาวเอเชียมีค่าสูงถึงร้อยละ 35 ดังนั้นจึงเชื่อว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นนอกเหนือจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *TPMT* ที่มีผลต่อการเกิดพิษของยากลุ่ม thiopurines ในประชากรชาวเอเชีย

เภสัชพันธุศาสตร์ของ *NUDT15* กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน NUDT15 ยีน *NUDT15* หรือ MutT homologue 2 (*MTH2*) เป็นยีนที่ตั้งอยู่บนโครโมโซม 13 ประกอบด้วย 3 exons ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ nucleoside diphosphatase โดยเอนไซม์นี้พบในทุกเซลล์ของมนุษย์ ปัจจุบันพบว่าเอนไซม์ NUDT15 ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา dephosphorylation ของสารกลุ่ม

nucleoside diphosphate ที่มีอยู่ในร่างกาย รวมทั้งสาร 8-oxo-dGTP ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา oxidation ของกรดนิวคลิอิกภายในเซลล์[36] เมื่อเร็ว ๆ นี้พบว่าเอนไซม์ NUDT15 มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยา dephosphorylation ของ 6-TGTP หรือ 6-TdGTP ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่สำคัญของยากลุ่ม thiopurines จากรูปที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาให้กลายเป็น 6-TGMP หรือ 6-TdGMP ซึ่งสามารถถูกเปลี่ยนแปลงต่อโดยเอนไซม์ TPMT ให้เป็นเมแทบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (รูปที่ 2)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* เท่าที่มีรายงานในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ ทั่วโลกในปัจจุบันมีมากกว่า 10 แอลลีล ส่วนใหญ่เป็นผลจากการเกิด SNP และการที่มีลำดับเบส GGAGTC แทรกเข้าไปใน exon 1 หรือ exon 3 ของยีน (รูปที่ 3) ทำให้เอนไซม์ NUDT15 มีลำดับกรดอะมิโนผิดแผกไปจากเดิม ส่งผลให้ความสามารถในการทำงานต่ำลงหรือบกพร่อง แอลลีลผิดแผก *NUDT15* ที่พบมากในประชากร ได้แก่ *NUDT15*3* และ *NUDT15*5* ซึ่งความถี่แอลลีลเหล่านี้ในประชากรเชื้อชาติต่าง ๆ มีความแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3



รูปที่ 3 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน NUDT15
(ดัดแปลงจาก Kakuta และคณะ[6] ภายใต้สัญญาอนุญาตครีเอทีฟคอมมอนส์ 4.0, [http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/])

ตารางที่ 3 ความถี่ของแอลลีล *NUDT15* ในประชากรแต่ละเชื้อชาติ

ประชากร	*ความถี่แอลลีล*		
	1	***3***	***5***
ไทย[37]	0.899	0.090	0.011
ไทย[38]	0.915	0.085	NA
ญี่ปุ่น[6]	0.885	0.105	0.009
เกาหลี[6]	0.867	0.069	0.011
จีน[6]	0.847	0.083	0.012
ยุโรป[39]	0.998	0.002	NA

NA = ไม่มีข้อมูล

เป็นที่น่าสังเกตว่า *NUDT15**3 ที่มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurine นั้น มีค่าความถี่แอลลีลที่สูงในประชากรชาวไทยเมื่อเทียบกับชาวคอเคเชียน นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับประชากรชาวจีน เกาหลี ญี่ปุ่น หรือคอเคเชียน พบว่าประชากรชาวไทยเป็นกลุ่มประชากรที่มีความชุกของ *TPMT*3C* และ *NUDT15*3* ซึ่งเป็นแอลลีลที่สัมพันธ์กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines สูงทั้งสองแอลลีล

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน NUDT15 กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* กับการเกิดพิษจากยากลุ่ม thiopurines ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 2014 โดย Yang และคณะ[40] จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนต่าง ๆ จำนวน 95,405 SNP ในผู้ป่วยโรค Crohn's disease ชาวเกาหลีที่เกิดพิษกดไขกระดูกจากยา AZA เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้ยาแต่ไม่เกิดพิษ โดยมีผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย 978 ราย พบว่าภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำจากยาเป็นผลจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* กล่าวคือ ผู้ป่วยที่มียีน *NUDT15*3* มีความเสี่ยงในการเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำสูงถึง 35.6 เท่า ($p = 4.88\times10^{-94}$) เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มียีน *NUDT15*1* ต่อมาในปี ค.ศ. 2015 Tanaka และคณะ[41] ได้ทำศึกษาในผู้ป่วยเด็กโรค ALL ชาวญี่ปุ่น จำนวน 92 คน พบว่าผู้ป่วยที่มียีน *NUDT15*3* มีโอกาสเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำมากกว่าผู้ป่วยที่มียีน *NUDT15*1* ถึง 7 เท่า และได้รับยา 6-MP ในขนาดที่ต่ำกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มียีน *NUDT15*1* ถึง 2 เท่า ผลการวิจัยต่อมาในผู้ป่วยชาวเกาหลีและชาวญี่ปุ่นได้ยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* กับการเกิดพิษกดไขกระดูกของยากลุ่ม thiopurines[42,43] นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยในผู้ป่วยชาวจีนที่ยืนยันถึงความสัมพันธ์ระหว่างความผิดแผกของยีน *NUDT15* กับการเกิดพิษของยากลุ่ม thiopurines เช่นเดียวกับที่มีรายงานในผู้ป่วยชาวเกาหลีและญี่ปุ่นด้วย[32,44]

จากการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ พบว่าความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ NUDT15 มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* โดยสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เอนไซม์ NUDT15 มีความสามารถในการทำงานปกติ (*NUDT15*1/*1*), กลุ่มที่เอนไซม์ NUDT15 มีความสามารถในการทำงานปานกลาง (*NUDT15*1/*2*, **1/*3*, **1/*4*, **1/*5*)

และกลุ่มที่เอนไซม์ NUDT15 มีความสามารถในการทำงานต่ำ (*NUDT15*2/*3*, *3/*3, *3/*5) จากการวิจัยในผู้ป่วย ALL ชาวกัวเตมาลา ชาวสิงคโปร์ และชาวญี่ปุ่นที่ได้รับการรักษาด้วยยา 6-MP พบว่า ขนาดยา 6-MP ที่เหมาะสมในการรักษาโรคโดยไม่ทำให้เกิดพิษกดไขกระดูกในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการทำงานของเอนไซม์ NUDT15 ต่ำ มีขนาดที่ต่ำกว่ากลุ่มที่เอนไซม์ NUDT15 ทำงานได้ปกติ หรือทำงานได้ปานกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[2]

จากผลการศึกษาแบบ meta-analysis ที่รวบรวมผลการวิจัยความสัมพันธ์ของยีน *NUDT15* กับการเกิดพิษจากยากลุ่ม thiopurines ในประชากรชาวเชื้อชาติต่าง ๆ พบว่ายีน *NUDT15*3*, *NUDT15*5* และ *NUDT15*6* มีความสัมพันธ์กับการเกิดพิษต่อระบบเลือดจากยา 6-MP หรือ AZA สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีแอลลีลผิดแผกดังกล่าวมีความเสี่ยงในการเกิดพิษจากยากลุ่มนี้เพิ่มขึ้น 2.7-8.4 เท่า[45] สำหรับยา 6-TG เนื่องจากมีความนิยมใช้ทางคลินิกค่อนข้างน้อย จากการสืบค้นฐานข้อมูลในปัจจุบันจึงยังไม่พบรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ระหว่างพิษกดไขกระดูกของยานี้กับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15*

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* กับการเกิดพิษของยากลุ่ม thiopurines ในประชากรไทยเท่าที่สืบค้นจากการตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศมีเพียงฉบับเดียว โดยคณะผู้วิจัยจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของแอลลีลผิดแผก *NUDT15*3* กับการเกิดพิษต่อระบบเลือดในผู้ป่วยเด็ก ALL ที่ได้รับยา 6-MP จำนวน 82 ราย และพบว่าผู้ป่วยที่มี *NUDT15*3* มีความเสี่ยงในการเกิดพิษต่อระบบเลือดเพิ่มมากขึ้น 7 เท่า และค่ามัธยฐาน (median) ของขนาดยา 6-MP ที่เหมาะสมของผู้ป่วยกลุ่มนี้มีขนาดต่ำกว่าผู้ป่วยที่มียีนปกติถึง 10 เท่า[38] อย่างไรก็ตาม การศึกษาดังกล่าวเป็นการศึกษาความผิดแผกของ *NUDT15*3* เพียงแอลลีลเดียวเท่านั้น ไม่ได้ศึกษาแอลลีลผิดแผกของ *NUDT15* ชนิดอื่น

สรุป

หลักฐานจากการศึกษาในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของยากลุ่ม thiopurines ได้แก่ ยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ TPMT และยีน *NUDT15* มีความสัมพันธ์กับการเกิดพิษของยากลุ่มนี้ โดยเฉพาะพิษกดการทำงานของไขกระดูก โดยที่ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนทั้งสองนี้ในประชากรแต่ละเชื้อชาติมีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับประชากรคอเคเชียนพบว่าประชากรชาวเอเชียมีความถี่ของแอลลีลผิดแผกของยีน *TPMT* ต่ำกว่า แต่มีความถี่แอลลีลผิดแผก *NUDT15* มากกว่า สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *TPMT* และ *NUDT15* กับการเกิดพิษของยา 6-MP ในประชากรชาวไทยเท่าที่มีรายงานยังมีค่อนข้างจำกัด แต่เป็นที่น่าสังเกตคือ ประชากรชาวไทยมีความชุกของ *TPMT*3C* และ *NUDT15*3* สูง ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากประชากรชาวคอเคเชียน จีน เกาหลี หรือญี่ปุ่น ดังนั้น จึงเป็นที่น่าสนใจว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของทั้งสองยีนนี้จะสัมพันธ์กับการเกิดพิษของยากลุ่มนี้ในประชากรไทยมากน้อยเพียงใด

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (เลขที่โครงการ IN61306) และทุนวิจัยสำหรับคณาจารย์บัณฑิตศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีการศึกษา 2561

เอกสารอ้างอิง

1. Coulthard S, Hogarth L. The thiopurines: an update. Invest New Drugs. 2005 Dec;23(6):523-32.
2. Moriyama T, Nishii R, Perez-Andreu V, Yang W, Klussmann FA, Zhao X, et al. *NUDT15* polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity. Nat Genet. 2016 Apr;48(4):367-73.
3. Ritter CA, Jedlitschky G, Meyer zu Schwabedissen H, Grube M, Kock K, Kroemer HK. Cellular export of drugs and signaling molecules by the ATP-binding cassette transporters MRP4 (ABCC4) and MRP5 (ABCC5). Drug Metab Rev. 2005;37(1):253-78.
4. Deininger M, Szumlanski CL, Otterness DM, Van Loon J, Ferber W, Weinshilboum RM. Purine substrates for human thiopurine methyltransferase. Biochem Pharmacol. 1994 Nov 29;48(11):2135-8.
5. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. Am J Hum Genet. 1980 Sep;32(5):651-62.
6. Kakuta Y, Kinouchi Y, Shimosegawa T. Pharmacogenetics of thiopurines for inflammatory bowel disease in East Asia: prospects for clinical application of NUDT15 genotyping. J Gastroenterol. 2018 Feb;53(2):172-80.
7. Srimartpirom S, Tassaneeyakul W, Kukongviriyapan V, Tassaneeyakul W. Thiopurine S-methyltransferase genetic polymorphism in the Thai population. Br J Clin Pharmacol. 2004 July;58(1):66-70.
8. Ameyaw MM, Collie-Duguid ES, Powrie RH, Ofori-Adjei D, McLeod HL. Thiopurine methyltransferase alleles in British and Ghanaian populations. Hum Mol Genet. 1999 Feb;8(2):367-70.
9. Salavaggione OE, Wang L, Wiepert M, Yee VC, Weinshilboum RM. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: variant allele functional and comparative genomics. Pharmacogenet Genomics. 2005 Nov;15(11):801-15.
10. Wang L, Pelleymounter L, Weinshilboum R, Johnson JA, Hebert JM, Altman RB, et al. Very important pharmacogene summary: thiopurine S-methyltransferase. Pharmacogenet Genomics. 2010 Jun;20(6):401-5.
11. Kumagai K, Hiyama K, Ishioka S, Sato H, Yamanishi Y, McLeod HL, et al. Allelotype frequency of the thiopurine methyltransferase (*TPMT*) gene in Japanese. Pharmacogenetics. 2001 Apr;11(3):275-8.

12. Chang JG, Lee LS, Chen CM, Shih MC, Wu MC, Tsai FJ, et al. Molecular analysis of thiopurine S-methyltransferase alleles in South-east Asian populations. Pharmacogenetics. 2002 Apr;12(3):191-5.
13. Collie-Duguid ES, Pritchard SC, Powrie RH, Sludden J, Collier DA, Li T, et al. The frequency and distribution of thiopurine methyltransferase alleles in Caucasian and Asian populations. Pharmacogenetics. 1999 Feb;9(1):37-42.
14. Cheon JH, Kim JH, Kim BY, Kim SW, Hong SY, Eun CS, et al. Allele frequency of thiopurine methyltransferase and inosine triphosphate pyrophosphatase gene polymorphisms in Korean patients with inflammatory bowel diseases. Hepatogastroenterology. 2009 Mar-Apr;56(90):421-3.
15. Spire-Vayron de la Moureyre C, Debuysere H, Mastain B, Vinner E, Marez D, Lo Guidice JM, et al. Genotypic and phenotypic analysis of the polymorphic thiopurine S-methyltransferase gene (*TPMT*) in a European population. Br J Pharmacol. 1998 Oct;125(4):879-87.
16. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. Clin Pharmacol Ther. 2011 Mar;89(3):387-91.
17. Lennard L, Van Loon JA, Lilleyman JS, Weinshilboum RM. Thiopurine pharmacogenetics in leukemia: correlation of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity and 6-thioguanine nucleotide concentrations. Clin Pharmacol Ther. 1987 Jan;41(1):18-25.
18. Lennard L, Lilleyman JS, Van Loon J, Weinshilboum RM. Genetic variation in response to 6-mercaptopurine for childhood acute lymphoblastic leukaemia. Lancet. 1990 Jul 28;336(8709):225-9.
19. Evans WE, Horner M, Chu YQ, Kalwinsky D, Roberts WM. Altered mercaptopurine metabolism, toxic effects, and dosage requirement in a thiopurine methyltransferase-deficient child with acute lymphocytic leukemia. J Pediatr. 1991 Dec;119(6):985-9.
20. Lennard L, Gibson BE, Nicole T, Lilleyman JS. Congenital thiopurine methyltransferase deficiency and 6-mercaptopurine toxicity during treatment for acute lymphoblastic leukaemia. Arch Dis Child. 1993 Nov;69(5):577-9.
21. McLeod HL, Miller DR, Evans WE. Azathioprine-induced myelosuppression in thiopurine methyltransferase deficient heart transplant recipient. Lancet. 1993 May 1;341(8853):1151.
22. Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro RC, Krynetski EY, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. J Natl Cancer Inst. 1999 Dec 1;91(23):2001-8.
23. McLeod HL, Coulthard S, Thomas AE, Pritchard SC, King DJ, Richards SM, et al. Analysis of thiopurine methyltransferase variant alleles in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol. 1999 Jun;105(3):696-700.
24. Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M, Janco R, et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. J Clin Oncol. 2001 Apr15;19(8):2293-301.

25. Lennard L, Cartwright CS, Wade R, Vora A. Thiopurine dose intensity and treatment outcome in childhood lymphoblastic leukaemia: the influence of thiopurine methyltransferase pharmacogenetics. Br J Haematol. 2015 Apr;169(2):228-40.
26. Srimartpirom S. Genetic polymorphism of thiopurine S-methyltransferase in a northeastern Thai population [master's thesis]. Khon Kaen, Khon Kaen University; 2002.
27. Schutz E, Gummert J, Mohr FW, Armstrong VW, Oellerich M. Should 6-thioguanine nucleotides be monitored in heart transplant recipients given azathioprine? Ther Drug Monit. 1996 Jun;18(3):228-33.
28. Vannaprasaht S, Angsuthum S, Avihingsanon Y, Sirivongs D, Pongskul C, Makarawate P, et al. Impact of the heterozygous TPMT*1/*3C genotype on azathioprine-induced myelosuppression in kidney transplant recipients in Thailand. Clin Ther. 2009 Jul;31(7):1524-33.
29. Snow JL, Gibson LE. The role of genetic variation in thiopurine methyltransferase activity and the efficacy and/or side effects of azathioprine therapy in dermatologic patients. Arch Dermatol. 1995 Feb;131(2):193-7.
30. Stolk JN, Boerbooms AM, de Abreu RA, de Koning DG, van Beusekom HJ, Muller WH, et al. Reduced thiopurine methyltransferase activity and development of side effects of azathioprine treatment in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1998 Oct;41(10):1858-66.
31. Takatsu N, Matsui T, Murakami Y, Ishihara H, Hisabe T, Nagahama T, et al. Adverse reactions to azathioprine cannot be predicted by thiopurine S-methyltransferase genotype in Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol. 2009 July;24(7):1258-64.
32. Zhu X, Wang XD, Chao K, Zhi M, Zheng H, Ruan HL, et al. NUDT15 polymorphisms are better than thiopurine S-methyltransferase as predictor of risk for thiopurine-induced leukopenia in Chinese patients with Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther. 2016 Nov;44(9):967-75.
33. Vora A, Mitchell CD, Lennard L, Eden TO, Kinsey SE, Lilleyman J, et al. Toxicity and efficacy of 6-thioguanine versus 6-mercaptopurine in childhood lymphoblastic leukaemia: a randomised trial. Lancet. 2006 Oct 14;368(9544): 1339-48.
34. Erb N, Harms DO, Janka-Schaub G. Pharmacokinetics and metabolism of thiopurines in children with acute lymphoblastic leukemia receiving 6-thioguanine versus 6-mercaptopurine. Cancer Chemother Pharmacol. 1998;42(4):266-72.
35. McBride KL, Gilchrist GS, Smithson WA, Weinshilboum RM, Szmulanski C. Severe 6-thioguanine-induced marrow aplasia in a child with acute lymphoblastic leukemia and inherited thiopurine methyltransferase deficiency. J Pediatr Hematol Oncol. 2000 Sep-Oct;22(5):441-5.
36. Maki H, Sekiguchi M. MutT protein specifically hydrolyses a potent mutagenic substrate for DNA synthesis. Nature. 1992 Jan 16;355(6357):273-5.

37. Khaeso Kanyarat, Komwilaisak Patcharee, Nakkam Nontaya, Kanjanawart Sirimas, Vannaprasaht Suda, Tassaneeyakul W. Genetic polymorphism of Genes involved in 6-mercaptopurine-induced hematopoietic toxicity in Thai children with acute lymphoblastic leukemia. In: Phumala Morales Noppawan, Pornpun V, editors. The 40th Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting; 2018 April 26-28; Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand; 2018. p. 40-8.
38. Chiengthong K, Ittiwut C, Muensri S, Sophonphan J, Sosothikul D, Seksan P, et al. *NUDT15* c.415C>T increases risk of 6-mercaptopurine induced myelo-suppression during maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. Haematologica. 2016 Jan;101(1):e24-6.
39. Yang JJ, Landier W, Yang W, Liu C, Hageman L, Cheng C, et al. Inherited *NUDT15* variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia. J Clin Oncol. 2015 Apr 10;33(11):1235-42.
40. Yang SK, Hong M, Baek J, Choi H, Zhao W, Jung Y, et al. A common missense variant in *NUDT15* confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia. Nat Genet. 2014 Sep;46(9):1017-20.
41. Tanaka Y, Kato M, Hasegawa D, Urayama KY, Nakadate H, Kondoh K, et al. Susceptibility to 6-MP toxicity conferred by a *NUDT15* variant in Japanese children with acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol. 2015 Oct;171(1): 109-15.
42. Lee YJ, Hwang EH, Park JH, Shin JH, Kang B, Kim SY. *NUDT15* variant is the most common variant associated with thiopurine-induced early leukopenia and alopecia in Korean pediatric patients with Crohn's disease. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2016 Apr;28(4):475-8.
43. Asada A, Nishida A, Shioya M, Imaeda H, Inatomi O, Bamba S, et al. *NUDT15* R139C-related thiopurine leukocytopenia is mediated by 6-thioguanine nucleotide-independent mechanism in Japanese patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol. 2016 Jan;51(1):22-9.
44. Liang DC, Yang CP, Liu HC, Jaing TH, Chen SH, Hung IJ, et al. *NUDT15* gene polymorphism related to mercaptopurine intolerance in Taiwan Chinese children with acute lymphoblastic leukemia. Pharmacogenomics J. 2016 Nov; 16(6):536-9.
45. Cargnin S, Genazzani AA, Canonico PL, Terrazzino S. Diagnostic accuracy of *NUDT15* gene variants for thiopurine-induced leukopenia: a systematic review and meta-analysis. Pharmacol Res. 2018 Sep;135:102-11.