

NUDT 15 基因多态性与巯嘌呤类药物耐受性及其所致白细胞减少的研究进展

王瑞丽^{1,2}, 李佳朋¹, 赵立波^{1*} (1.首都医科大学附属北京儿童医院临床研究中心, 北京 100045; 2.首都医科大学药学院, 北京 100069)

摘要: 目的 综述 NUDT 15 基因多态性与巯嘌呤类药物耐受性及其所致白细胞减少的研究, 以期为巯嘌呤类药物在临床中的应用提供参考。方法 检索国内外相关文献, 进行整理和综合分析。结果 研究人群主要集中在亚洲, 大多为韩国和日本人, 在中国儿童急性淋巴细胞白血病患者中仅有 2 个人群的研究, 在中国炎症性肠病患者中有 3 个相关研究。大多数研究显示在亚洲人群中 NUDT 15 c.415 C>T 位点突变与巯嘌呤类药物的耐受性及相关白细胞减少有关, 此外多个在炎症性肠患者群中的研究发现 c.415 C>T 纯合突变可能与严重脱发有关。结论 大多数研究显示亚洲人群 NUDT 15 c.415 C>T 位点突变与巯嘌呤类药物的耐受性及相关白细胞减少有关, 该位点的测定可能会优化巯嘌呤类药物在临床中的应用, 但其他 NUDT 15 基因位点突变相关的研究较少, 还需要进一步探究。

关键词: 巯嘌呤; NUDT 15; 基因多态性; 耐受性; 白细胞减少; 骨髓抑制

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)03-0377-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.03.025

引用本文: 王瑞丽, 李佳朋, 赵立波. NUDT 15 基因多态性与巯嘌呤类药物耐受性及其所致白细胞减少的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(3): 377-383.

Research Progress on the Association Between NUDT 15 Polymorphism and Intolerance of Thiopurine and Thiopurine-induced Leukopenia

WANG Ruili^{1,2}, LI Jiapeng¹, ZHAO Libo^{1*} (1.Clinical Research Center, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China; 2.School of Pharmaceutical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To review researches on the association between NUDT 15 polymorphism and tolerance of thiopurine, thiopurine-induced leukopenia, hoping which can provide some help for its better clinical application. **METHODS** Searched domestic and foreign related literature, organized and comprehensive analyzed. **RESULTS** The people studied were mainly Asian, especially Korean and Japanese. However, there was only two studies in child acute lymphoblastic leukemia and 3 studies in inflammatory bowel disease in China. Most studies revealed that NUDT 15 c.415 C>T mutation was strongly associated with intolerance of thiopurines and thiopurine-induced leukopenia especially in Asians. Besides, several studies in inflammatory bowel disease also found that patients with c.415 C>T homozygous mutation were easier to develop severe hair loss. **CONCLUSION** Most studies have revealed that NUDT 15 c.415 C>T mutation is strongly associated with intolerance of thiopurines and thiopurine-induced leukopenia especially in Asians. Genotyping c.415 C>T genotype might provide help for a better clinical reaction. Whereas, researches on NUDT 15 other variants is few and need to explore further their.

KEYWORDS: thiopurine; NUDT 15; polymorphism; tolerance; leukopenia; myelosuppression

6-巯鸟嘌呤(6-thioguanine, 6-TG)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)及硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)均为巯嘌呤类衍生物, 在儿童急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)、淋巴母细胞型淋巴瘤(Lymphoblastic Lymphoma, LBL)、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)等疾病中发挥着

重要作用^[1-3]。然而, 巯嘌呤的不良反应不容忽视, 包括骨髓抑制、感染、肝毒性等, 其中以严重的白细胞减少较为常见, 很多患者由于严重的白细胞减少而不得不减量或停止使用巯嘌呤。研究发现亚洲人群对巯嘌呤的耐受性较差, 与亚洲人群的 NUDT 15 基因突变率高有密切关系。本文对近年来国内外 NUDT 15 基因多态性与巯嘌呤耐受性

基金项目: 北京市自然科学基金项目(7171004)

作者简介: 王瑞丽, 女, 硕士生 Tel: 13021297899
Tel: (010)59616379 E-mail: libozhao2011@163.com

E-mail: wrlzhm@163.com

*通信作者: 赵立波, 男, 博士, 主任药师, 副教授

及其诱导的白细胞减少的研究进行综述, 以期对巯嘌呤在临床中的应用提供参考。

1 巯嘌呤类药物

1.1 巯嘌呤类药物的代谢与作用机制

巯嘌呤类药物代谢过程见图 1。巯嘌呤类药物在体内通过一系列代谢酶的作用代谢为 6-TGNs[包括: 6-T(d)GMP、6-T(d)GDP 和 6-T(d)GTP], 其中, 6-TdGTP 和 6-TGTP 分别被整合到 DNA 和 RNA 中, 抑制核苷酸和蛋白质的合成, 最终抑制淋巴细胞的增殖, 从而发挥细胞毒性和免疫抑制作用^[4-5]。另外, 6-TGTP 通过阻断 Vav-Rac 信号通路而诱导 T 细胞凋亡, 抑制依赖 T 细胞的致病性免疫应答^[6-8]。

1.2 巯嘌呤类药物的代谢与作用机制

在巯嘌呤的代谢过程中, TPMT 将代谢过程中的多种代谢产物甲基化, 如: 将 6-MP 转化为 6-MMP, 6-TIMP/TIDP/TITP 转化为 6-MMPN, 6-TGNs 转化为 6-MTGN。高活性 TPMT 者甲基化产物浓度较高, 可增加肝毒性的发生率; 低活性 TPMT 者 6-TGNs 浓度较高, 增加骨髓毒性的发生率^[9]。研究证实 TPMT 基因突变与标准剂量下巯嘌呤

诱导的白细胞减少显著相关^[10], TPMT 基因型的测定可使个体化治疗能够最大限度地减少不良反应的发生, 美国食品药品监督管理局(FDA)已推荐在使用巯嘌呤药物前进行 TPMT 基因测定^[11]。相比于高加索人群 TPMT 的突变频率(约 10%), 亚洲人群(约 3%)较低, 但对巯嘌呤类药物更不耐受。亚洲人群的耐受性较差并不能由 TPMT 基因突变很好地解释, 这表明可能存在其他因素影响巯嘌呤的耐受性^[11-12]。

MRP4 也被称为 ABCC4, 在巯嘌呤代谢过程中负责将 6-TGNs 外排至细胞外, MRP4 基因突变易致 6-TGNs 蓄积, 进而导致骨髓中毒^[13], 1 项日本的研究发现 MRP4 G2269A(rs3765534)突变可增加巯嘌呤诱导的白细胞减少的发生率^[14]。

2 NUDT15 基因

NUDT15 也被称为 MTH2(MutH homologue 2), 属于 Nudix(nucleoside diphosphate to another moiety X)水解酶家族, 可水解在氧化应激下产生的异常核苷酸, 阻止其掺入 DNA 链, 提高 DNA 复制的准确性和稳定性^[15-17]。在巯嘌呤类药物代

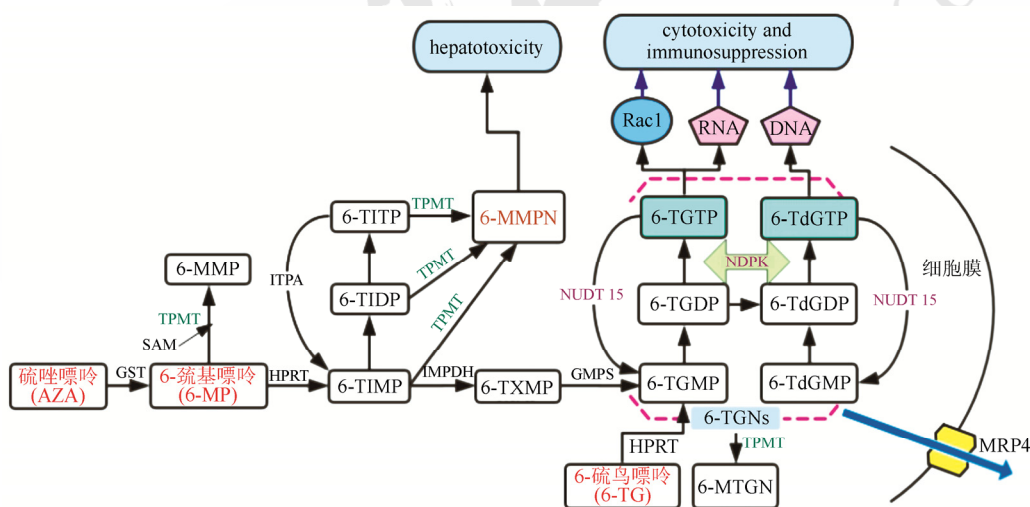


图 1 巯嘌呤类药物的代谢路线^[4-5,8]

TPMT-巯嘌呤甲基转移酶; GST-谷胱甘肽转硫酶; 6-MMP-6-甲基巯嘌呤; HPRT-次黄嘌呤磷酸核糖转移酶; 6-TIMP/6-TIDP/6-TITP-6-巯基次黄嘌呤核苷单/二/三磷酸; ITPA-三磷酸肌苷焦磷酸酶; 6-MMPN-6-甲基化巯基次黄嘌呤核苷磷酸盐; IMPDH-次黄嘌呤核苷酸脱氢酶; 6-TXMP-6-巯基次黄嘌呤核苷单磷酸; GMPS-鸟苷合成酶; 6-T(d)GMP/T(d)GDP/T(d)GTP-6-硫鸟嘌呤(脱氧)核苷单/二/三磷酸; 6-TGNs-6-硫鸟苷酸; 6-MTGN-6-甲基-硫鸟嘌呤核苷酸; NDPK-核苷二磷酸激酶; MRP4-多药耐药蛋白 4。

Fig. 1 Metabolic routes of mercaptopurines

TPMT-thiopurine S-methyltransferase; GST-glutathione s-transferases; 6-MMP-6-methylmercaptapurine; HPRT-Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase; 6-TIMP/6-TIDP/6-TITP-6-thioinosine mono/di/triphosphate; ITPA-inosine triphosphate pyrophosphatase; 6-MMPN-6-methylmercaptapurine nucleotides; IMPDH-inosine monophosphate dehydrogenase; 6-TXMP-6-thioxanthine monophosphate; GMPS-guanosine monophosphate synthetase; 6-T(d)GMP/T(d)GDP/T(d)GTP-6-thioguanosine(deoxy-)monophosphate/6-thioguanosine(deoxy-) diphosphate/6-thioguanosine(deoxy-)triphosphate; 6-TGNs-6-thioguanine nucleotides; 6-MTGN-6-methyl-thioguanine nucleotides; NDPK-nucleoside diphosphate kinase; MRP4-mutidrug resistance associated protein 4.

谢过程中, *NUDT 15* 将巯嘌呤的活性代谢产物 6-T(d)GTP 转化为 6-T(d)GMP, 阻止 6-T(d)GTP 插入 DNA 或 RNA, 避免因 6-T(d)GTP 的累积造成严重的骨髓毒性。但在 *NUDT 15* 基因突变时, 标准剂量的巯嘌呤可因 6-T(d)GTP 累积而造成严重的骨髓抑制^[17]。2014 年, 韩国学者 Yang^[11]首次在 IBD 患者中发现 *NUDT 15* c.415 C>T 位点突变可能与巯嘌呤诱导的白细胞减少相关。随后 *NUDT 15* 基因多态性与巯嘌呤耐受性之间的关系逐渐成为研究的热点。*NUDT 15* 基因分布有种族特异性, 目前 *NUDT 15* 基因突变位点主要有 4 种, 在各个种族间的突变频率差异较大, 见表 1^[18-19]。

表 1 *NUDT 15* 基因突变位点^[18-19]

Tab. 1 Sites of *NUDT 15* gene mutation

rs ID	转录序列	蛋白序列	突变频率/%					
			总 体	非 洲	美 洲	东 亚	欧 洲	南 亚
rs116855232	c.415 C>T	p.Arg139Cys	4.0	0.1	4.5	9.5	0.2	7.0
rs554405994	c.36_37ins GGAGTC	p.Val18_ Val19insGlyVal	1.6	0.2	3.9	4.8	0.3	0.2
rs186364861	c.52 G>A	p.Val18Ile	0.3	0.0	0.0	1.4	0.0	0.1
rs147390019	c.416 G>A	p.Arg139His	0.1	0.0	0.7	0.1	0.0	0.0

东亚人群 *NUDT 15* 突变频率最高的是 c.415 C>T, 其次为 c.36_37insGGAGTC。4 个突变位点具体突变位置见图 2^[18], 其中 p.Arg139Cys 和 p.Val18_Val19insGlyVal 存在连锁不平衡现象, 在世界范围内各种族间的基因型突变频率见表 2^[18], 其中正常酶活性的基因型为 *1/*1, 中等酶活性基因型有 *1/*2, *1/*3, *1/*4, *1/*5, *1/*6, 低酶活性的基因型有 *2/*3, *3/*3, *2/*5, *3/*6 东亚和南亚人群的基因突变频率较高。

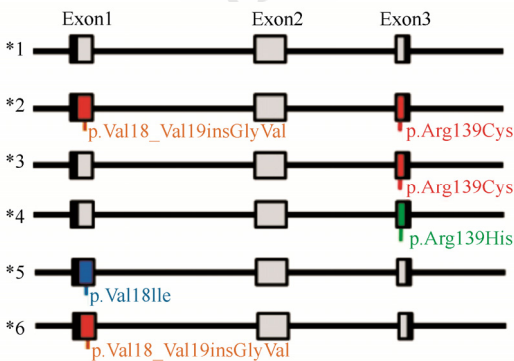


图 2 世界范围内人类 *NUDT 15* 基因突变种类^[18]

Fig. 2 *NUDT 15* diplotypes in worldwide populations

表 2 世界范围内 *NUDT 15* 基因型突变频率^[18]

Tab. 2 *NUDT 15* diplotype frequency in worldwide population

基因型 频率	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*1/*4	*1/*5	*1/*6	*2/*3	*2/*5	*3/*3	*3/*6
非洲	99.5	0.0	0.2	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
美洲	90.0	6.7	0.9	1.5	0.0	0.3	0.6	0.0	0.0	0.0
东亚	77.4	5.8	9.7	0.2	2.6	2.4	1.0	0.2	0.6	0.2
欧洲	99.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0
南亚	86.4	0.0	12.6	0.0	0.2	0.4	0.0	0.0	0.4	0.0

3 *NUDT 15* 基因多态性在儿童 ALL 人群中的研究

巯嘌呤在儿童 ALL 的整个维持治疗期发挥着至关重要的作用, 但常因严重的不良反应而导致治疗中断, 影响治疗结局。目前的研究主要关注 *NUDT 15* c.415 C>T(rs116855232, p.Arg139Cys)与巯嘌呤的耐受性、巯嘌呤诱导的白细胞减少及预后的关系。少数研究探究了 *NUDT 15* 基因的多个位点突变及巯嘌呤其他代谢基因对巯嘌呤治疗反应的影响。

3.1 巯嘌呤耐受性及其诱导的白细胞减少

汤燕静^[20]、Liang^[21]、Yang^[12]、Tanaka^[22]等多个研究均显示 c.415 C>T 突变会使巯嘌呤的耐受剂量显著降低, 其中 CC 型患者、TC 型患者、TT 型患者耐受剂量依次降低, 研究数据见表 3。

Suzuki^[23]在日本人群的 1 个小样本研究($n=51$)中, 亦考虑了患儿的年龄因素, 结果显示 c.415 C>T 在 <7 岁儿童中, 野生型耐受剂量较杂合突变者高, 组间有统计学差异($P=0.04$), 在 ≥ 7 岁儿童中野生型(CC)和杂合突变(TC)间的耐受剂量无统计学差异($P=0.42$), 见表 3, 在 2 组人群中均未观察到 c.415 C>T 突变与巯嘌呤所致的血液毒性有关($P=0.96, 0.25$)。Tanaka^[14]在日本人群中的 1 个研究($n=95$)显示 c.415 C>T 基因型 CC, TC, TT 患儿分别有 70, 18, 7 例, 其中分别有 19, 13, 6 例发生了白细胞减少, c.415 C>T 突变与巯嘌呤诱导的白细胞减少显著相关($P=5.24 \times 10^{-9}$)。

Yi^[24]在韩国人群($n=182$)中亦对 *NUDT 15* 基因多个突变位点进行检测, 正常酶活性组(*1/*1)有 131 例, 中等酶活性组(*1/*2, *1/*3, *1/*4, *1/*5, *1/*6)有 46 例低酶活性组(*2/*3, *3/*3, *3/*5)有 5 例, 耐受剂量依次减少, 平均耐受剂量分别为(31.1 ± 8.7), (24.4 ± 7.7), (7.5 ± 3.0) $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ ($P<0.01$)。研究者还发现低酶活性组中性白细胞减

表 3 儿童 ALL 人群中 *NUDT 15* c.415 C>T 位点突变与巯嘌呤耐受剂量的相关研究

Tab. 3 Studies of association between *NUDT 15* c.415 C>T gene mutation and thiopurine tolerated dose in children ALL patients

研究	人群	样本量	各基因型数			6-MP 耐受剂量/mg·m ⁻² ·d ⁻¹			<i>P</i>
			<i>CC</i>	<i>TC</i>	<i>TT</i>	<i>CC</i>	<i>TC</i>	<i>TT</i>	
汤燕静 ^[20]	中国汉族	566	428	128	10	34.91	29.11	9.11	0.041
Liang ^[21]	中国台湾	404	315	84	5	44.1±15.3	30.7±11.7	9.4±5.7	<0.000 1
Yang ^[12]	欧洲、非洲、	657(discovery cohort)	624	31	2	62.3±16.8	47.3±19.1	6.2±5.25	8.8×10 ⁻⁹
	西班牙、东亚	362(replication cohort)	362	9	0	60.1±14.2	46.9±11.1	—	0.002 4
Tanaka ^[22]	日本	92	68	18	6	40.7	29.3	8.8	—
Suzuki ^[23]	日本<7 岁	31	24	7	0	32.7(14.0~51.8)	22.3(16.7~39.0)	—	0.04
	≥7 岁	20	17	3	0	28.8(9.3~52.1)	37.9(28.9~43.1)	—	0.42

少发生频率最高(80%), 中等酶活性组次之(15.2%), 正常酶活性组最低(14.6%)($P<0.01$)。Moriyama^[18]在危地马拉人($n=159$)、新加坡人($n=79$)、日本人($n=32$)中也得到类似结果, 在 3 种人群中正常酶活性组($n=139, 60, 22$), 中等酶活性组($n=19, 17, 9$), 低酶活性组($n=1, 2, 1$)耐受剂量依次降低, 组间均有统计学差异($P=0.021, 2.1\times 10^{-5}, 0.005 4$)。

在以上研究中, Yang^[12]还发现 *TPMT* (c.719 A>G)和 *NUDT 15*(c.415 C>T)基因同时突变的人群巯嘌呤耐受剂量较突变一个的人群更低($P=0.018$)。Moriyama^[18]的研究发现 *TPMT* (c.719 A>G)与 *NUDT 15*(c.415 C>T)基因对巯嘌呤耐受性的影响相互独立。Tanaka^[14]发现 *MRP4* G2269A(rs3765534)与 *NUDT 15*(c.415 C>T 或 c.52 G>A)同时突变者的白细胞减少风险更高, 时间更早, 在维持治疗期的第 168 天, 分别有 100% 同时突变者($n=7$)、90% *NUDT 15* 低酶活性者($n=8$)、40% *NUDT 15* 中等酶活性者($n=13$)、36% *MRP4* 突变者($n=12$)、18%野生型($n=54$)发生了白细胞减少($P=5.57\times 10^{-7}$)。

3.2 与 ALL 预后的关系

NUDT 15 基因多态性与巯嘌呤的耐受性及其诱导的白细胞减少密切相关, 但与 ALL 预后的关系尚不明确, Tanaka^[22]和 Liang^[21]的研究均显示, ALL 复发率和 5 年无事件生存率在 *NUDT 15* 各基因型患儿间无统计学差异。

4 *NUDT 15* 基因多态性在 IBD 人群中的研究

IBD 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[3]。巯嘌呤类药物是激素依赖的 IBD 患者用于维持减少激素用量及维持无激素缓解的最常用药物^[25]。在 IBD 人

群中的研究主要集中在成人, 且巯嘌呤药物剂量使用标准不同于儿童 ALL。

4.1 巯嘌呤诱导的白细胞减少

2014 年 Yang^[11]首次在韩国 IBD 人群($n=978$)中报道了 *NUDT 15* c.415 C>T 突变与巯嘌呤诱导的早期(0~8 周)及晚期(≥ 8 周)白细胞减少均有关, 其中纯合突变者更易发生早期白细胞减少, 14 例纯合突变均发生了早期白细胞减少, 杂合突变患者(*TC*)比野生型患者(*CC*)发生早期白细胞减少的风险高 88 倍($P=2.96\times 10^{-38}$)。Zhu^[26]在中国人群($n=253$)中的研究显示 c.415 C>T 突变与巯嘌呤诱导的早期(0~8 周)和晚期(≥ 8 周)白细胞减少均有关, *CC* 型、*TC* 型、*TT* 型患者发生白细胞减少的风险依次递增($P=7.65\times 10^{-17}$), 早期(0~8 周)白细胞减少的风险依次递增($P=1.78\times 10^{-12}$), 晚期发生白细胞减少的比例依次为 8.7%, 39.6%和 0%($P=0.018$)。其中, 4 名纯合突变者均发生了严重脱发, 杂合突变和野生型均未发生。Asada^[27]在日本 IBD 人群($n=161$)的研究中, c.415 C>T 亦得到相似结论, *CC* 型、*TC* 型和 *TT* 型患者发生白细胞减少的风险依次增加($P=1.7\times 10^{-5}$), 发生早期(0~8 周)白细胞减少的风险也依次增加($P=1.03\times 10^{-4}$), 发生晚期(≥ 8 周)白细胞减少的风险分别为 18.1%, 50.0%和 0%($P=4.3\times 10^{-4}$), 其中, 2 名纯合突变者均发生了严重脱发, 杂合突变和野生型患者均未发生。而 Kakuta^[28]、Chao^[29]、Sato^[30]、Lee^[31]等研究均得到与上述相似的研究结果, 见表 4, *CC* 型、*TC* 型、*TT* 型患者发生白细胞减少的风险依次升高, *TT* 型主要在早期发生白细胞减少, 且严重脱发主要集中在 *TT* 型患者。而脱发的机制可能是巯嘌呤通过抑制 DNA 合成和 DNA 修复而导致快速分裂的细胞(如毛发基质细胞)不适当的过度凋亡, 但还需要

进一步的验证^[28]。

Asada^[27]和 Kakuta^[28]研究中的 Logistic 回归分析结果显示 c.415 C>T 突变是在多种影响因素中唯一一个与巯嘌呤诱导的白细胞减少有关的危险因素。Wang^[32]在中国人群($n=219$)的研究中 Logistic 回归分析显示,除 c.415 C>T 突变是与巯嘌呤诱导白细胞减少的危险因素外,激素的使用与巯嘌呤诱导的白细胞减少存在负相关关系,即巯嘌呤合并激素使用时可能降低白细胞减少的风险。

Chao^[29]、Sato^[30]、Sutiman^[33]研究也对 *NUDT 15* c.36_37insGGAGTC 和 c.52 G>A 位点突变与巯嘌呤类药物相关的白细胞减少间的关系进行了探究。其中 c.36_37insGGAGTC 位点的研究结果见表 5,从 3 个研究结果中可得

c.36_37insGGAGTC 位点使突变者发生白细胞减少的发生率升高,在统计学上有差异;在 c.52 G>A 位点的研究结果见表 6,从中可以看出,3 个研究结论不一致,c.52 G>A 位点与白细胞减少是否有关还需要进一步的探究。

Lee^[34]在韩国儿童 IBD 人群($n=81$)中的研究显示:c.415 C>T 野生型 74 例,杂合突变(TC)3 例,纯合突变(TT)者有 3 例,其中 3 例纯合突变(TT)者均在 8 周内(分别在 12, 28, 47 天)发生了白细胞减少,且均发生了严重脱发,3 例杂合突变(TC)分别在 29, 42, 61 天发生了白细胞减少,1 例 c.416 G>A 突变者(GA)在第 37 天发生了白细胞减少,野生型患者(GG)中的 2 例分别在第 57 天、846 天发生了白细胞减少。

表 4 IBD 人群中 *NUDT 15* c.415 C>T 位点突变与巯嘌呤类药物诱导的白细胞减少的相关研究

Tab. 4 Studies of association between *NUDT 15* c.415 C>T gene mutation and thiopurine-induced leukopenia in IBD patients

研究	人群	样本量	基因型数量			白细胞减少人数			<i>P</i>	早期白细胞减少人数			<i>P</i>	晚期白细胞减少人数			<i>P</i>
			CC	TC	TT	CC	TC	TT		CC	TC	TT		CC	TC	TT	
Yang ^[11]	韩国	978	788	176	14	199	133	14	a.6.29×10 ⁻⁹ b.1.97×10 ⁻³⁵	7	45	14	a.1.19×10 ⁻²³ b.2.96×10 ⁻³⁸	192	88	0	a. — b.9.37×10 ⁻²¹
Zhu ^[26]	中国	253	196	53	4	25	36	4	7.65×10 ⁻¹⁷	8	15	4	1.78×10 ⁻¹²	17	21	0	0.018
Asada ^[27]	日本	161	127	32	2	25	18	2	1.7×10 ⁻⁵	2	2	2	1.03×10 ⁻⁴	23	16	0	4.3×10 ⁻⁴
Kakuta ^[28]	日本	135	107	23	5	19	10	5	1.61×10 ⁻⁵	1	4	5	1.92×10 ⁻¹⁶	18	6	0	0.314
Chao ^[29]	中国	732	557	164	11	90	76	11	1.81×10 ⁻²⁰	27	32	11	2.52×10 ⁻²⁰	63	38	0	0.001
Sato ^[30]	日本	149	109	33	7	29	24	6	<0.000 1	3	8	5	<0.000 1	26	16	1	0.000 6
Lee ^[31]	韩国	165	131	28	6	18	14	6	—	1	7	6	—	17	7	0	—

注:早期定义为<8周;晚期定义为≥8周;a-TT vs CC; b-TC vs CC。

Note: Early defined as <8 weeks; late defined as ≥8 weeks; a-TT vs CC; b-TC vs CC.

表 5 IBD 人群中 *NUDT 15* c.36_37insGGAGTC 位点突变与巯嘌呤类药物诱导的白细胞减少的相关研究

Tab. 5 Studies of association between *NUDT 15* c.36_37insGGAGTC gene mutation and thiopurine-induced leukopenia in IBD patients

研究	人群	样本量	基因型数量			白细胞减少人数			<i>P</i>	早期白细胞减少人数			<i>P</i>	晚期白细胞减少人数			<i>P</i>
			-/-型	-/ins	ins/ins	-/-型	-/ins	ins/ins		-/-型	-/ins	ins/ins		-/-型	-/ins	ins/ins	
Chao ^[29]	中国	732	649	83	1	135	41	1	4.74×10 ⁻⁸	52	18	0	1.00×10 ⁻⁶	83	23	1	3.3×10 ⁻⁴
Sato ^[30]	日本	149	139	10	—	52	7	—	0.051 2	14	2	—	0.162 9	38	5	—	0.111 3
Sutiman ^[33]	中国、印度等	129	118	11	—	7	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 6 IBD 人群中 *NUDT 15* c.52 G>A 位点突变与巯嘌呤类药物诱导的白细胞减少的相关研究

Tab. 6 Studies of association between *NUDT 15* c.52 G>A gene mutation and thiopurine-induced leukopenia in IBD patients

研究	人群	样本量	基因型数量		白细胞减少人数		<i>P</i>	早期白细胞减少人数		<i>P</i>	晚期白细胞减少人数		<i>P</i>
			GG	GA	GG	GA		GG	GA		GG	GA	
Chao ^[29]	中国	732	715	17	169	8	0.04	64	6	0.004	105	2	0.184
Sato ^[30]	日本	149	147	2	57	2	0.155 2	16	0	—	41	2	0.102 9
Sutiman ^[33]	中国、印度等	129	127	2	0	0	—	0	0	—	0	0	—

4.2 硫嘌呤耐受性

在 IBD 患者中探究 *NUDT 15* 基因多态性与硫嘌呤耐受性关系的研究较少, 在以上研究中, Chao^[29]在中国人群($n=732$)中的研究显示野生型($*1/*1$)($n=315$)的 AZA 耐受剂量为 $1.6 [0.3\sim 3.3] \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 与其相比, 杂合突变体 $*1/*2$ ($n=26$)的耐受剂量为 $1.0 [0.7\sim 2.0] \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P=0.003$)、 $*1/*3$ ($n=48$)的耐受剂量为 $1.0 [0.4\sim 2.4] \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P<0.0001$)、 $*1/*5$ ($n=7$)的耐受剂量为 $1.0 [0.8\sim 2.0] \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P=0.31$)、 $*1/*6$ ($n=9$)的耐受剂量为 $1.0 [0.8\sim 2.0] \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P=0.19$)。Sato^[30]在日本人群($n=160$)中的研究显示 *c.415 C>T* 杂合突变者的耐受剂量显著低于野生型, 平均耐受剂量分别为 0.77 和 $1.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P=0.0296$)。Kakuta^[28]在日本人群中的研究显示维持治疗期 *c.415 C>T* 野生型($n=84$)和杂合突变者($n=12$)的 AZA 耐受剂量分别为 (1.03 ± 0.425) 和 $(0.574\pm 0.316) \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P=6.21\times 10^{-4}$)。而 Asada^[27]在日本人群中($n=161$)的研究显示 *c.415 C>T* 野生型($n=127$)、杂合突变者($n=32$)和纯合突变者($n=2$)AZA 耐受剂量分别 (0.86 ± 0.04) , (0.80 ± 0.07) 和 $0.75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ($P=0.27$)。3 组人群间的耐受剂量无统计学差异。

5 展望

硫嘌呤类药物在儿童 ALL、儿童 LBL、IBD 等疾病中发挥着重要作用, 但由于其严重的不良反应尤其是以白细胞减少为主的骨髓抑制的影响, 临床上需要严格把握硫嘌呤类药物剂量。*NUDT 15 c.415 C>T* 突变与亚洲人群的硫嘌呤剂量耐受性差关系密切。然而已有的研究人群主要集中在儿童 ALL 和 IBD 患者中, 且研究多为单中心, 样本量不高, 主要集中在日本、韩国等国家和地区。已有的大部分研究集中在韩国、日本, 我国大陆仅有 2 例个案^[35-36]及 3 项在 IBD 人群^[26,29,32]和 2 项在儿童 ALL 人群^[20-21]中的研究报道。考虑到种族差异, 国外的研究数据无法直接用于评估我国患儿的基因多态性和硫嘌呤耐受性之间的关系。

综上, 未来还需要我国多中心、大样本的临床研究, 并需要检测验证 *NUDT 15* 其他位点对硫嘌呤耐受性的影响, 以确定 *NUDT 15* 基因突变与硫嘌呤耐受性及其诱导的白细胞减少之间的关系, 建立准确可靠的不良反应预测模型, 为临床合理应用硫嘌呤提供科学依据。

REFERENCES

- [1] 中华医学会儿科学分会血液学组. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第四次修订)[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(9): 641-644.
- [2] 中华医学会儿科学分会血液学组. 儿童非霍奇金淋巴瘤诊疗建议[J]. 中华儿科杂志, 2011, 49(3): 186-192.
- [3] MATSUOKA K, KOBAYASHI T, UENO F, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for inflammatory bowel disease [J]. J Gastroenterol, 2018, 53(3): 305-353.
- [4] MOON W, LOFTUS E J. Review article: recent advances in pharmacogenetics and pharmacokinetics for safe and effective thiopurine therapy in inflammatory bowel disease [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2016, 43(8): 863-883.
- [5] KAKUTA Y, KINOUCHI Y, SHIMOSEGAWA T. Pharmacogenetics of thiopurines for inflammatory bowel disease in East Asia: prospects for clinical application of *NUDT15* genotyping [J]. J Gastroenterol, 2018, 53(2): 172-180.
- [6] NEURATH M F, KIESSLICH R, TEICHGRABER U, et al. 6-thioguanosine diphosphate and triphosphate levels in red blood cells and response to azathioprine therapy in Crohn's disease [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2005, 3(10): 1007-1014.
- [7] POPPE D, TIEDE I, FRITZ G, et al. Azathioprine suppresses ezrin-radixin-moesin-dependent T cell-APC conjugation through inhibition of Vav guanine exchange activity on Rac proteins [J]. J Immunol, 2006, 176(1): 640-651.
- [8] KARNER S, SHI S, FISCHER C, et al. Determination of 6-thioguanosine diphosphate and triphosphate and nucleoside diphosphate kinase activity in erythrocytes: novel targets for thiopurine therapy? [J]. Ther Drug Monit, 2010, 32(2): 119-128.
- [9] ROBERTS R L, BARCLAY M L. Update on thiopurine pharmacogenetics in inflammatory bowel disease [J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(8): 891-903.
- [10] MEI L, ONTIVEROS E P, GRIFFITHS E A, et al. Pharmacogenetics predictive of response and toxicity in acute lymphoblastic leukemia therapy [J]. Blood Rev, 2015, 29(4): 243-249.
- [11] YANG S K, HONG M, BAEK J, et al. A common missense variant in *NUDT15* confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia [J]. Nat Genet, 2014, 46(9): 1017-1020.
- [12] YANG J J, LANDIER W, YANG W, et al. Inherited *NUDT15* variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 2015, 33(11): 1235-1242.
- [13] KRISHNAMURTHY P, SCHWAB M, TAKENAKA K, et al. Transporter-mediated protection against thiopurine-induced hematopoietic toxicity [J]. Cancer Res, 2008, 68(13): 4983-4989.
- [14] TANAKA Y, NAKADATE H, KONDOH K, et al. Interaction between *NUDT15* and *ABCC4* variants enhances intolerance of 6-mercaptopurine in Japanese patients with childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Pharmacogenomics J, 2018, 18(2): 275-280.
- [15] TAKAGI Y, SETOYAMA D, ITO R, et al. Human MTH3 (*NUDT18*) protein hydrolyzes oxidized forms of guanosine and deoxyguanosine diphosphates: comparison with MTH1 and MTH2 [J]. J Biol Chem, 2012, 287(25): 21541-21549.
- [16] VALERIE N C, HAGENKORT A, PAGE B D, et al. *NUDT15* hydrolyzes 6-thio-deoxyGTP to mediate the anticancer

- efficacy of 6-thioguanine [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(18): 5501-5511.
- [17] SINGH M, BHATIA P, KHERA S, et al. Emerging role of NUDT15 polymorphisms in 6-mercaptopurine metabolism and dose related toxicity in acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Leuk Res*, 2017, 62: 17-22.
- [18] MORIYAMA T, NISHII R, PEREZ-ANDREU V, et al. NUDT15 polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(4): 367-373.
- [19] EMBI-EBI. Ensembl Project [EB/OL]. [2018-04-01]. <http://asia.ensembl.org/index.html>.
- [20] 汤燕静, 陈儒, 张然然, 等. 中国汉族急性淋巴细胞白血病患儿 NUDT15 基因多态性与巯嘌呤治疗耐受性的关系[C]. 第十三届江浙沪儿科学术会议暨 2016 年浙江省医学会儿科学学术年会论文汇编. 湖州: 2016.
- [21] LIANG D C, YANG C P, LIU H C, et al. NUDT15 gene polymorphism related to mercaptopurine intolerance in Taiwan Chinese children with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Pharmacogenomics J*, 2015, 16(6): 536-539.
- [22] TANAKA Y, KATO M, HASEGAWA D, et al. Susceptibility to 6-MP toxicity conferred by a NUDT15 variant in Japanese children with acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 2015, 171(1): 109-115.
- [23] SUZUKI H, FUKUSHIMA H, SUZUKI R, et al. Genotyping NUDT15 can predict the dose reduction of 6-MP for children with acute lymphoblastic leukemia especially at a preschool age [J]. *J Hum Genet*, 2016, 61(9): 797-801.
- [24] YI E S, CHOI Y B, CHOI R, et al. NUDT15 variants cause hematopoietic toxicity with low 6-TGN levels in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cancer Res Treat*, 2018, 50(3): 872-882.
- [25] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 建立全国通用的炎症性肠病诊治过程的关键性质量控制指标的共识意见 [J]. *中华炎性肠病杂志: 中英文*, 2017, 1(1): 12-19.
- [26] ZHU X, WANG X D, CHAO K, 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 [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 44(9): 967-975.
- [27] ASADA A, NISHIDA A, SHIOYA M, et al. NUDT15 R139C-related thiopurine leukocytopenia is mediated by 6-thioguanine nucleotide-independent mechanism in Japanese patients with inflammatory bowel disease [J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51(1): 22-29.
- [28] KAKUTA Y, NAITO T, ONODERA M, et al. NUDT15 R139C causes thiopurine-induced early severe hair loss and leukopenia in Japanese patients with IBD [J]. *Pharmacogenomics J*, 2015, 16(3): 280-285.
- [29] CHAO K, WANG X, CAO Q, et al. Combined Detection of NUDT15 variants could highly predict thiopurine-induced leukopenia in Chinese patients with inflammatory bowel disease: a multicenter analysis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(9): 1592-1599.
- [30] SATO T, TAKAGAWA T, KAKUTA Y, et al. NUDT15, FTO, and RUNX1 genetic variants and thiopurine intolerance among Japanese patients with inflammatory bowel diseases [J]. *Intest Res*, 2017, 15(3): 328-337.
- [31] LEE J H, KIM T J, KIM E R, et al. Measurements of 6-thioguanine nucleotide levels with TPMT and NUDT15 genotyping in patients with Crohn's disease [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e188925.
- [32] WANG H H, HE Y, WANG H X, et al. Comparison of TPMT and NUDT15 polymorphisms in Chinese patients with inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(8): 941-948.
- [33] SUTIMAN N, CHEN S, LING K L, et al. Predictive role of NUDT15 variants on thiopurine-induced myelotoxicity in Asian inflammatory bowel disease patients [J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 19(1): 31-43.
- [34] LEE Y J, HWANG E H, PARK J H, et al. NUDT15 variant is the most common variant associated with thiopurine-induced early leukopenia and alopecia in Korean pediatric patients with Crohn's disease [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 28(4): 475-478.
- [35] AILING Z, JING Y, JINGLI L, et al. Further evidence that a variant of the gene NUDT15 may be an important predictor of azathioprine-induced toxicity in Chinese subjects: a case report [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2016, 41(5): 572-574.
- [36] 周琰, 吴炯, 郭玮, 等. NUDT15 基因突变致巯嘌呤治疗克罗恩病并发严重骨髓抑制 1 例[J]. *复旦学报(医学版)*, 2017, 44(4): 542-544.

收稿日期: 2018-05-10

(本文责编: 李艳芳)