

- 药检测中的应用[J]. 中国实用医药, 2015, 10(7): 195-196.
- [14] 邹自英, 朱冰, 汤雪晴, 等. 结核杆菌的细菌学、分子生物学和免疫学检测方法评价[J]. 四川医学, 2011, 32(5): 756-758.
- [15] 刘倩颖, 王心静, 林明贵. 血清结核杆菌抗体检测在结核病的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(7): 1105-1107.
- [16] Van Maaren PJ. Fighting the tuberculosis epidemic in the Western Pacific region: current situation and challenges ahead[J]. Kekkaku, 2010, 85(1): 9-16.
- [17] 李晓月, 安军, 李琦. 痰聚合酶链反应和血清结核抗体检测等指标在菌阴性肺结核诊断中的临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(3): 543-544.
- [18] Bae W, Park KU, Song EY, et al. Comparison of the sensitivity of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and T-SPOT. TB according to patient age[J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0156917.
- [19] Xu H, Li Y, Qian JM. A meta-analysis of the accuracy of interferon- γ release assays in differentiating intestinal tuberculosis from Crohn's disease in Asia[J]. Zhonghua Nei Ke Za Zhi, 2016, 55(7): 535-540.
- [20] 雷少妮, 刘家云, 梁洁, 等. 结核杆菌 T 细胞斑点试验在克罗恩病与肠结核鉴别诊断中的应用价值[J]. 中华消化杂志, 2011, 31(10): 677-680.
- [21] 刘小伟, 李学锋, 邹益友, 等. Logistic 回归分析对克罗恩病和肠结核鉴别指标的筛选[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(6): 621-627.
- (收稿日期: 2016-04-29 修回日期: 2016-07-07)
- 综 述 •

硫嘌呤甲基转移酶检测在临床个体化治疗中的意义和研究进展*

江 雪 综述, 钱思宇, 史丙俊, 刁庆春 审校

(重庆市皮肤病研究所/重庆市中医院/重庆市第一人民医院皮肤科 400011)

关键词: 硫嘌呤甲基转移酶; 精准医疗; 基因检测

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 18. 032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)18-2589-03

硫嘌呤甲基转移酶(TPMT)是存在于人体内的 1 种非金属胞质酶,能催化体内芳烃和杂环含巯基化合物上的 S-甲基,这类化合物包括 6-巯基嘌呤(6-MP)、硫唑嘌呤(AZA)和 6-巯鸟嘌呤(6-TG)^[1]。TPMT 活性受多因素影响,导致酶活性基因型和表现型不能完全统一。TPMT 遗传具有单基因共显性遗传特征,目前发现的突变类型超过 35 种,由专门的 TPMT 命名委员会进行命名^[2]。常见类型为: TPMT * 2、TPMT * 3A、TPMT * 3B、TPMT * 3C(占总突变的 95%以上)^[3]。

目前, TPMT 检测作为实验室的常规检测项目被广泛运用。早在 2005 年 FDA 已将给药前的 TPMT 基因型检测列入 AZA/6-MP 的药品说明书中^[4]。在欧洲, 硫嘌呤类药物处方前的 TPMT 检测已成为常规临床辅助手段^[5-6]。英国国家药典建议在使用巯基嘌呤类药物前应进行 TPMT 检测。英国的 1 份调查显示, 67% 的英国临床医生会在开出硫唑嘌呤前进行 TPMT 的检测^[7]。在这项检测推行的初期, 皮肤科医生很快地接受了 TPMT 检测, 而胃肠科医生却并没有特别的推荐这项筛查。但在随后的临床实践中, TPMT 检测逐渐受到胃肠科医生重视, 大量临床相关文献都指出 TPMT 监测在炎症肠炎中的重要性。并且 TPMT 检测还作为儿童白血病服用 6-MP 前的强制性检查。

1 TPMT 在临床上的影响

硫嘌呤类药物在临床上主要作为抗癌药用于急性白血病的化疗, 或免疫抑制剂用于器官移植, 以及风湿病、克隆病、炎症肠炎等疾病的免疫抑制治疗。也作为皮肤科慢性日光性皮炎、天疱疮、类天疱疮等疾病的特殊用药。包括抗肿瘤药物 6-巯基嘌呤和 6-巯鸟嘌呤, 和免疫抑制剂硫唑嘌呤, 这类药物已知有确切的骨髓抑制作用。

TPMT 催化芳香环巯基复合物上的 S-甲基, 是肝外药酶之一, 在硫嘌呤类药物的体内代谢中起着关键作用。硫嘌呤类药物在体内有 3 条代谢途径, 分别是: (1) 黄嘌呤氧化酶(XO)途径, 通过黄嘌呤氧化酶催化 6-MP 氧化成硫尿酸, 最终形成尿酸排出体外; (2) 次黄嘌呤磷酸核糖转移酶(HPRT)途径, 催化初级形式的核苷酸; (3) TPMT 途径, 利用 S-腺苷-L 甲硫氨酸(SAM)特异性催化杂环和芳香环巯基的甲基化反应。这 3 条代谢途径是竞争关系, TPMT 活性与 TGNs 产物浓度相关^[8]。TPMT 的缺失使鸟嘌呤核苷酸(TGNs)产物堆积过剩, 进入细胞内 DNA 引发 DNA、RNA 损伤, 细胞凋亡^[8-9]。因此, TPMT 活性水平与药物疗效及不良反应密切相关。

大多数抗肿瘤药的治疗指数低, 药代动力学在患者个体间存在较大的差异, 且具有较高毒性。TPMT 具有遗传多态性, 活性水平与药物的疗效、不良反应密切相关, 且个体代谢差异很大。在临床运用中, 给予常规剂量的硫唑嘌呤后, 部分 TPMT 缺乏的患者会出现不同程度的骨髓抑制, 肝功能损害、感染、药疹甚至机体死亡等不良反应, 而部分 TPMT 活性高的患者则会出现疗效低, 维持治疗期间会导致疾病复发。即使是中等活性 TPMT(杂合子)在服用标准剂量的 6-MP 时也可能出现骨髓毒性。TPMT 的个体差异严重影响了临床医生对安全、有效治疗方案的制订。

近年来, 药物遗传学和药物基因组学研究的迅速发展, 使临床医生更加重视个体化用药治疗方案。TPMT 活性和遗传多态性与硫嘌呤类药物药效及不良反应间的密切联系已被证实。TPMT 活性和基因型的检测在国外已逐渐作为硫嘌呤类药物使用前的常规检查, 而在国外皮肤科医生中这种检测的利用率更高^[1, 10]。

* 基金项目: 重庆市中医院院内项目(2209014313)。

2 检测 TPMT 的方法

硫嘌呤类药物用于临床 TPMT 的个体差异最早是由 Weinshiboum 等^[1]于 1970 年代末在人红细胞中发现的。随后他们展开了一系列的研究,在淋巴细胞、肝组织、肾组织中均发现了 TPMT 活性水平的差异。用药后的治疗药物监测存在滞后性,不能从根本上解决 TPMT 缺乏导致的一系列不良反应。因此,首次给药前的 TPMT 检测在临床制订给药方案中显得更为安全、有效。

TPMT 检测最早只局限于大学实验室,并没有在临床上得到普遍的运用。在 2000~2010 年间,TPMT 检测逐渐被部分专家作为常规检测,直到现在被广泛运用^[5-6,10]。尽管 TPMT 检测被作为巯基嘌呤类药物使用前的推荐检测,但在实际运用中并没有被普遍接受,主要原因还是对 TPMT 检测结果的解释和应用不够清楚明确。

早期,实验室研究人员利用放射化学法测定红细胞裂解液 TPMT 的活性。随着检测技术的发展,1994 年研究人员使用高效液相色谱法(HPLC)代替了放射化学法的检测。HPLC 是在经典液相色谱法的基础上,于 60 年代后期引入了气相色谱理论而迅速发展起来的。试验中,在 37℃ 条件下,每小时、每毫升红细胞催化生成的 1 nmol 6-甲基巯基嘌呤来表示 TPMT 活性单位。国内外文献中对 TPMT 活性检测正常值有一些差异。魏红等^[11]在对硫嘌呤甲基转移酶的个体化治疗研究中报道,男性正常 TPMT 活性值为 7.92~24.49 nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹(中位数 16.12),女性正常 TPMT 活性值为 7.85~24.87 nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹(中位数 15.09)。Maria 等^[12]在研究中报道,男性正常 TPMT 活性值为 6.9~43.6 nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹(中位数 22.8),女性正常 TPMT 活性值为 6.0~45.8 nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹(中位数 23.3)。有报道,在对 199 例临床血液样本中检测 TPMT 活性值为 1.1~59.9 nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹(中位数 35.8)^[13]。国内认为 ≤10 U/mL(nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹)为低活性者,平均活性(16.6±4.5)U/mL(nmol 6-mMP·g⁻¹Hb·h⁻¹)。

在随后的检测中,临床医生和检验人员发现部分患者的 TPMT 活性值与实际用药后的临床表现不完全吻合。一些 TPMT 活性在正常范围内的患者在服用标准剂量药物后也出现了与 TPMT 活性降低或缺失相同的不良反应。在健康人群中,儿童的 TPMT 活性比成人的更高,年龄越小 TPMT 活性越高^[14-15]。此外,TPMT 活性还受种族、疾病类型、药物治疗以及输血等因素的影响^[13]。TPMT 活性不能完全代表 TPMT 的代谢能力。而在随后的十几年,随着 TPMT 基因测序完成,TPMT 个体间的差异从表现型发展到了基因水平层面。

TPMT*2、TPMT*3A、TPMG*3B 和 TPMG*3C 这四型突变占 TPMT 基因突变型的 95%以上^[4,16-17]。中国汉族人口在已报道的文献中未发现 TPMT*2 和 TPMT*3A,而 TPMT*3C(2.3%)为主要突变类型^[18]。不同种族的突变类型有所不同,美国白人 TPMT*3A(3.2%)为最常见类型,而美国黑人则是 TPMT*3C(2.4%)^[18]。目前常见的基因检测方法有限制性长度片段多态性分析、Taqman 分析技术、LightCycle 分析技术、热解序列分析技术等。

3 对 TPMT 检测的正确认识和合理运用

2011 年,美国临床遗传药物学行业协会在 Nature 上颁布了 TPMT 基因型检测和巯基嘌呤用量的指南^[19]。该指南的目的在于为临床 TPMT 基因型检测做出解释,以便其能有效

地指导巯基嘌呤用药。在指南公布之后,美国临床遗传药物学行业协会在其官网和 PharGKB 上持续开放接受临床医生、研究人员等各方面的反馈,并在 2013 年对指南进行了反馈报道。以 MP 为例,野生型纯合子(正常,高活性人群),起始剂量为普通剂量[例:75 mg/(m²·d)或 1.5 mg/(kg·d)],2 周达到治疗窗;杂合子(中等活性人群),起始剂量为普通剂量的 30%~70%[例:50 mg/(m²·d)或 0.75 mg/(kg·d)],服药过程中根据骨髓抑制程度进行药物剂量调整[例:出现骨髓抑制的患者可调整至 44 mg/(m²·d)],2~4 周达到治疗窗;突变纯合子(低活性或活性缺失人群),仅针对部分恶性肿瘤患者使用,起始剂量为每日剂量的 1/10,1 周服用 3 次[例:10 mg/(m²·d),每周 3 次],4~6 周达到治疗窗,条件允许的情况下,建议考虑非硫嘌呤类的免疫抑制疗法替代^[20]。

如果患者在初次服用硫嘌呤类药物,未进行 TPMT 检测前应服用最低治疗剂量的药物,之后再根据检测结果对药物剂量进行调整^[5]。

4 TPMT 检测的成本效益

尽管硫嘌呤类药物使用过程中发生骨髓抑制、不良反应的情况很少见,但一旦发生就会直接威胁生命。TPMT 活性缺失的住院患者因硫唑嘌呤用药不当产生的护理花费是 1 次 TPMT 活性检测的 400 倍^[21]。在 TPMT 检测上的花费能够被改善 TPMT 缺陷患者的疗效和生活质量所抵消。

5 对 TPMT 使用和检测的建议

在首次给药前进行 TPMT 检测,有助于医生制订最合适的给药方案,使血药浓度尽早达到治疗窗,有效地控制疾病,降低严重急性骨髓抑制的发生^[22-23]。但该检测仍有一些潜在的风险存在。一部分杂合子患者可能在一段时间内服用的巯基嘌呤会低于其本身的药物耐受范围,因为杂合子患者中仅有 30%~60%左右会在服用普通剂量巯基嘌呤药物后出现严重的骨髓抑制反应。但是,药物达到稳定期剂量的时间是 2~4 周,短期的“药物量不足”不会对疾病疗效产生较大影响,大量试验研究已在急性淋巴细胞白血病和肠炎患者中得到证实^[24]。

TPMT 基因型和表型也不完全一致。在健康志愿者中,基因型和表型的一致性达到 98.4%,而在中等活性人群中基因型和表型的一致性降至 86.0%^[25]。这种一致性的降低可能与疾病、环境、人种以及未发现的新突变类型等因素相关。无论是基因型或是表型,都很难用单一检测方法对 TPMT 缺失的个体做出精确的判断。两种检测方法联合使用,能有效降低 TPMT 缺失的漏检率^[26]。研究人员更推荐将基因型作为用药前的初始检测,基因型检测能够降低将 TPMT 缺失误检为 TPMT 中等活性的风险^[27]。因 TPMT 活性过高需要增加用药剂量以达到疗效的患者,和部分基因型正常但酶中等活性的人群则需要表型检测才能知道。TPMT 检测只能预测硫嘌呤类药物在治疗过程中可能出现的情况,而实时的药物代谢物(TGNs)监测则更能准确地反映患者在治疗过程中 TPMT 的状态^[28]。

目前研究仍存在问题,如研究目的代谢酶单一(近年已有文献报道除 TPMT 外,ITPA、HPRT、XO、IMPDH 等酶与硫嘌呤类药物代谢相关),TPMT 未知突变位点等,接下来的研究中还需进一步扩大样本量的前瞻性研究,为硫嘌呤类药物的个体化应用做出贡献。

参考文献

[1] Weinshiboum RM,Sladek SL. Mercaptopurine pharmaco-

- genetics; monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity[J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(5):651-652.
- [2] Appell ML, Berg J, Duley J, et al. Nomenclature for alleles of the thiopurine methyltransferase (TPMT) gene[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2013, 23(4):242-248.
- [3] McLeod HL, Siva C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus-implication for clinical pharmacogenomics[J]. *Pharmacogenomics*, 2002, 3(1):89-98.
- [4] Wang L, Weinshiloum R. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: insights, challenges and future directions[J]. *Oncogene*, 2006, 25(11):1629-1638.
- [5] Ford LT, Berg JD. Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) assessment prior to starting thiopurine drug treatment; a pharmacogenomic test whose time has come[J]. *J Clin Pathol*, 2010, 63(4):288-295.
- [6] Holme SA, Duley JA, Sanderson J, et al. Erythrocyte thiopurine methyltransferase assessment prior to azathioprine use in the UK[J]. *Q J Med*, 2002, 95(7):439-444.
- [7] Fargher EA, Tricker K, Newman W, et al. Current use of pharmacogenetic testing: a national survey of thiopurine methyltransferase testing prior to azathioprine prescription[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2007, 32(2):187-195.
- [8] Karran P. Thiopurines, DNA damage, DNA repair and therapy-related cancer[J]. *Br Med Bull*, 2006, 79(1):153-170.
- [9] Tidd DM, Paterson ARP. A biochemical mechanism for the delayed cytotoxic reactions of 6-mercaptopurine[J]. *Cancer Res*, 1974, 34(4):738-746.
- [10] Flockhart DA, Skaar T, Klein TE, et al. Clinically available pharmacogenomics tests[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2009, 86(1):109-113.
- [11] 魏红, 李成荣, 李智毅, 等. 硫嘌呤甲基转移酶遗传多态性检测在 6-MP 个体化治疗中的意义[J]. *中国医院药学杂志*, 2007, 27(5):5-7.
- [12] Maria C, Marta K, Danuta JL, et al. Thiopurine S-methyltransferase Phenotype-genotype correlation in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Drug Bio*, 2012, 69(3):405-410.
- [13] Lennard L, Chew TS, Lilleyman JS. Human thiopurine methyltransferase activity varies with red blood cell age[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2001, 52(5):539-546.
- [14] Serpe L, Calvo PL, Muntoni E, et al. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics in a large-scale healthy Italian-Caucasian population; differences in enzyme activity[J]. *Pharmacogenomics*, 2009, 10(56):1753-1765.
- [15] McLeod HL, Krynetski EY, Williams JA, et al. Higher activity of polymorphic thiopurine S-methyltransferase in erythrocytes from neonates compared to adults[J]. *Pharmacogenetics*, 1995, 5(5):281-286.
- [16] Dervieux T, Meyer G, Barham R, et al. Liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of erythrocyte thiopurine nucleotides and effects of thiopurine methyltransferase gene variants on these metabolites in patients receiving azathioprine/6-mercaptopurine therapy[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(11):2074-2084.
- [17] Schaeffeler E, Fisher C, Brockmeier D, et al. Comprehensive analysis of thiopurine S-methyltransferase phenotype-genotype correlation in a large population of german-caucasians and identification of novel TPMT variants[J]. *Pharmacogenetics*, 2004, 14(7):407-417.
- [18] Collie-Duguid ESR, Pritchard SC, Powrie RH, et al. The frequency and distribution of thiopurine methyltransferase alleles in Caucasian and Asian populations[J]. *Pharmacogenetics*, 1999, 9(1):37-42.
- [19] Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, et al. Clinical pharmacogenetics implementation Consortium guidelines for thiourine methyltransferase genotype and thiopurine dosing[J]. *Nature*, 2011, 89(3):387-391.
- [20] Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, et al. Clinical pharmacogenetics implementation Consortium guidelines for thiourine methyltransferase genotype and thiopurine dosing; 2013 Update[J]. *Nature*, 2013, 93:324-325.
- [21] Gardiner S, Gearry RB, Barclay ML, et al. Two cases of thiopurine methyltransferase (TPMT) deficiency-a lucky save and a near miss with azathioprine[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2005, 62(32):473-476.
- [22] Schmiegelow K, Forestier E, Kristinsson J, et al. Thiopurine methyltransferase activity is related to the risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia; results from the NOPHO ALL-92 study[J]. *Leukemia*, 2009, 23(3):557-564.
- [23] Schmiegelow K, Ehellebostad Ft. Long-term results of NOPHO ALL-92 and ALL-2000 studies of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2010, 24(2):345-354.
- [24] Meggitt SJ, Gray JC, Reynolds NJ. Azathioprine dosed by thiopurine methyltransferase activity for moderate-to-severe atopic eczema: a double-blind, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2006, 367(9513):839-846.
- [25] Booth RA, Ansari MT, Loit E, et al. Assessment of thiopurine S-methyltransferase activity in patients prescribed thiopurines: a systematic review[J]. *Ann Intern Med*, 2011, 154(12):814-823.
- [26] Ford L, Kampanis P, Berg J. Thiopurine S-methyltransferase genotype-phenotype concordance; used as a quality assurance tool to help control the phenotype assay[J]. *Ann Clin Biochem*, 2009, 46(2):152-154.
- [27] Hindorf U, Appell ML. Genotyping should be considered the primary choice for pre-treatment evaluation of thiopurine methyltransferase function[J]. *J Crohn's Colitis*, 2012, 6(6):655-659.
- [28] Lennard L, Cartwright CS, Wade R, et al. Thiopurine methyltransferase genotype-phenotype discordance, and thiopurine active metabolite formation, in childhood acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2013, 76(1):125-136.