

·临床研究·

中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 *TPMT* 基因突变与硫唑嘌呤所致毒副反应的关系

舒崖清, 王玉鸽, 黄艳露, 李蕊, 陆正齐, 胡学强, 邱伟

(中山大学附属第三医院神经内科, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】探讨中枢神经系统脱髓鞘疾病患者硫代嘌呤甲基转移酶(*TPMT*)基因突变与硫唑嘌呤(*AZA*)所致的毒副反应之间的关系。【方法】选择自2012年至2014年在中山大学附属第三医院就诊的224例患者(包括135例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者和89例非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者)进行前瞻性研究;给予中枢神经系统脱髓鞘疾病患者*AZA*口服(25~100 mg/d),观察2个月后出现的毒副反应情况;同时采用PCR-SNaPshot方法检测224例患者4种常见的*TPMT*突变等位基因*TPMT**2(G238C)、*TPMT**3A(A719G/G460A)、*TPMT**3B(G460A)、*TPMT**3C(A719G),比较中枢神经系统脱髓鞘疾病患者与非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者的基因突变率,以及观察服用*AZA*后不同基因型患者的毒副反应发生率。【结果】①224例患者中*TPMT**3C杂合子患者共9例(其中5例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者,4例非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者),野生型基因纯合子共215例(其中130例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者,85例非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者),未检测到*TPMT**2、*TPMT**3A、*TPMT**3B型突变。中枢神经系统脱髓鞘疾病患者*TPMT*基因突变率(3.7%)与非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者*TPMT*基因突变率(4.49%)比较差异无统计学意义($P>0.05$)。②130例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者中有16例出现毒副反应,其中11例肝脏毒性、4例血液毒性、1例肝脏及血液毒性;5例*TPMT**3C杂合子患者服*AZA*后均出现毒副反应(5/5),而基因纯合子的脱髓鞘患者服*AZA*后出现毒副反应发生率为8.8%(11/125)。【结论】*TPMT**3C杂合子突变类型的中枢神经系统脱髓鞘疾病患者服用*AZA*具有更高的毒副反应风险。对于需服用*AZA*的患者在服药前检测*TPMT*基因是非常有必要的。

关键词:脱髓鞘疾病;硫唑嘌呤;硫代嘌呤甲基转移酶;毒副反应

中图分类号:R74

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2016)04-0556-06

Association between Metabolic Enzyme Genotype of Azathioprine and Azathioprine Related Drug Side Effect in Patients with Demyelinating Diseases in Central Nervous System

SHU Ya-qing, WANG Yu-ge, HUANG Yan-lu, LI Rui, LU Zheng-qi, HU Xue-qiang, QIU Wei

(Department of Neurology, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510630, China)

Corresponding to: QIU Wei, E-mail: qw9406@gmail.com

Abstract:【Objective】To discuss the relationship between the genotype of thiopurinomethyltransferase (*TPMT*) and azathioprine (*AZA*) tolerance in the patients with demyelinating diseases in the central nervous system (CNS).【Methods】Mutation alleles of *TPMT* in 224 patients included 135 demyelinating diseases in CNS and 89 non-demyelinating diseases in CNS were detected by polymerase chain reaction (PCR)-SNaPshot. *TPMT* mutation rate between demyelinating diseases and non-demyelinating diseases and the incidence of adverse drug reactions between *TPMT* mutation and non-mutation group with *AZA* were compared by χ^2 . 130 patients with demyelinating diseases were treated with *AZA* (25-100 mg/d) and finished 2 months' follow-up.【Results】In 224 patients, 9 cases of heterozygote of *TPMT**3C were detected including 5 demyelinating diseases and 4 non-demyelinating diseases, but no mutation of *TPMT**2, *3A or *TPMT**3B was found. The difference of *TPMT* mutation rate between demyelinating diseases and non-demyelinating diseases was not significant. Patients in *TPMT* mutation group all had adverse drug reactions after *AZA* treatment,

收稿日期:2016-01-27

基金项目:国家自然科学基金(81100886)

作者简介:舒崖清,硕士,主治医师,研究方向:神经免疫,E-mail:shuyaqing@126.com;邱伟,通信作者,副教授,研究方向:神经免疫,E-mail:qw9406@gmail.com

while the incidence of adverse drug reactions in non-mutation group was 8.8%. In 130 patients who used AZA, 11 of which suffered impaired liver function, 4 of which were complicated with hematopoietic system and 1 of which had impaired liver function and hematopoietic system. And 4 patients suffered impaired liver function, 1 patient suffered hematopoietic system in 5 cases of heterozygote of *TPMT* * 3C. 【Conclusions】 The demyelinating patients with *TPMT* mutation had high side-effective risk when they used AZA. To detect the *TPMT* genotype before using AZA is significant to improve the therapeutic safety.

Key words: demyelinating disease; azathioprine; thiopurinemethyltransferase; side effect

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2016, 37(4):556-561]

视神经脊髓炎 (neuromyelitis optica, NMO)、多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是临床上常见的中枢神经系统脱髓鞘疾病。硫唑嘌呤 (Azathioprine, AZA) 等免疫抑制剂在脱髓鞘疾病患者治疗中的应用日益被临床医生所重视, 但是仍有少数患者在治疗过程中出现严重的副作用如肝损害、骨髓抑制等, 而其中作用机制目前仍不十分清楚。随着对该药物作用机制和代谢过程的研究深入, 发现硫代嘌呤甲基转移酶 (thiopurinemethyltransferase, *TPMT*) 在其中起关键性作用。国外有研究表明, AZA 的毒副作用与 *TPMT* 基因突变及 *TPMT* 酶活性水平关系密切^[1]。本研究探讨了中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 *TPMT* 基因突变与 AZA 所致毒副反应的关系, 以期对神经科医生的临床安全用药提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择自 2012 年至 2014 年在中山大学附属第三医院就诊的 224 例患者, 其中中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 135 例 (包括 NMO 114 例、MS 21 例), 非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 89 例 (包括周围神经病 25 例、重症肌无力 23 例、血管炎 9 例、多系统萎缩 6 例、系统性红斑狼疮 8 例、皮肌炎 3 例、硬皮病 1 例、白血病 14 例)。

NMO 及 MS 患者均符合各自相关的诊断标准 (NMO 患者符合 2006 年 Wingerchuk 等^[2]诊断标准, MS 患者符合 2005 年修订版多发性硬化诊断标准^[3]), 既往未用过 AZA, 且入组时有使用 AZA 的指征。同时, 所有患者在 3 个月内无输血史, 采血前 2 周内未用过硫嘌呤类药物、干扰素、激素、利尿剂及抑制骨髓作用的药物, 入组时血常规、肝功能均在正常范围。本研究取得中山大学附属第三医院伦理委员会同意及患者知情同意。

1.2 治疗方法

所有研究对象均在入组后即采集静脉血 3

mL, 用于 *TPMT* 基因型测定。同时实验组研究对象起始时口服 AZA (德国 Heumann Pharma GmbH, 批准文号 H20050132), 剂量 25 mg/d, 后视患者反应逐渐加量至 100 mg/d, 观察 2 个月。期间的其他治疗如激素、丙种球蛋白等依据患者病情需要决定。AZA 治疗期间定期复查患者肝功能、血常规。血液毒性不良反应标准为白细胞计数 $< 4 \times 10^9/L$ 或血小板计数 $< 100 \times 10^9/L$ 。肝脏毒性不良反应标准为谷草转氨酶 (AST) $> 45 U/L$ 、谷丙转氨酶 (ALT) $> 45 U/L$ 、谷氨酰转肽酶 (GGT) $> 50 U/L$ 、碱性磷酸酶 (ALP) $> 150 U/L$ 。

1.3 *TPMT* 基因的检测

采用 PCR-SNaPshot 技术检测 *TPMT* 基因, 所有 DNA 标本依次检测 *G238C*、*G460A*、*A719G* 突变。只检测到 *G238C* 突变的等位基因为 *TPMT* * 2, 只检测到 *G460A* 突变的等位基因为 *TPMT* * 3B, 只检测到 *A719G* 突变的等位基因为 *TPMT* * 3C, 能同时检测到 *G460A* 和 *A719G* 突变的等位基因为 *TPMT* * 3A, 没有检测到 *G238C*、*G460A* 和 *A719G* 突变的等位基因为 *TPMT* * 1, 亦称野生型 *TPMT* 基因。

① DNA 提取: DNA 提取所用的试剂盒为 TIANamp DNA Kit [Cat#DP318, 天根生化科技 (北京) 有限公司], 具体步骤按试剂盒操作说明书进行。DNA 浓度为 $50 \sim 100 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。② *TPMT* 多重 PCR 扩增: *TPMT* 基因外显子 PCR 扩增引物名称及序列如下: *TPMT*-X5 上游: 5'-CCTGCATGTTC TTTGAAACCCTATGAA-3', *TPMT*-X5 下游: 5'-CTTGAGTACAGAGAGGCTTTGACCTC-3', 目的扩增片段大小为 507 bp。 *TPMT*-X7 上游: 5'-CTCCACACCCAGGTCCACACATT-3', *TPMT*-X7 下游: 5'-CTAGAACCCAGAAAAAGTATAG-3', 目的扩增片段大小为 306 bp。 *TPMT*-X10 上游: 5'-AA TCCCTGATGTCATTCTTCATAGTATTT-3', *TPMT*-X10 下游: 5'-CATCCATTACATTTT CAGGCTTTA GCATAAT-3', 目的扩增片段大小为 251 bp。PCR

检测引物由美国 Life 公司合成。PCR 反应条件为: 98 °C 预变性 3 min, 然后进行 35 次循环(98 °C 变性 10 s, 58 °C 退火 30 s 和 72 °C 延伸 1 min), 最后 72 °C 延伸 5 min。PCR 扩增产物纯化: 取 2 μ L 的 PCR 回收产物加 3 μ L 的双氧水配置酶混合物, 按 5 μ L 分装到新的 200 μ L EP 管。每管加入 PCR 扩增产物 2 μ L, 混匀微离, 按以下程序进行 PCR(37 °C 15 min, 80 °C 15 min, 4 °C 扩增)。SNaPshot 延伸反应: SNE 引物(由美国 Life 公司合成)包括: SNE_TPMT_238G>C: 5'-AATGTATGATTTTATGCAGGT TT-3', SNE_TPMT_460G>A: 5'-AAAAAAAAA AA AAAAAAAAAA ACATGATTTGGGATAGAGGA -3', SNE_TPMT_719A>G: 5'-GATCAAAATTGAC TGTCTTTTGGAAAAGTTAT -3'。使用 SNaPshot (ABI) 试剂盒进行单碱基延伸反应, 反应体系(总体积 9 μ L)包括: SNaPshot 预混物 2.5 μ L, 5 $\times$ 测序缓冲液 1 μ L, 引物混合物 2 μ L, 去离子水 3.5 μ L, 加入 1 μ L 纯化产物后, 混匀微离, 按以下程序进行 PCR: 预变性 96 °C 10 s, 退火 50 °C 5 s, 延伸 60 °C 30 s, 循环 25 次; SNE 产物纯化, 最后电泳结束。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件包对数据进行统计学分析。中枢脱髓鞘患者与非中枢脱髓鞘患者 *TPMT*

基因突变率比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

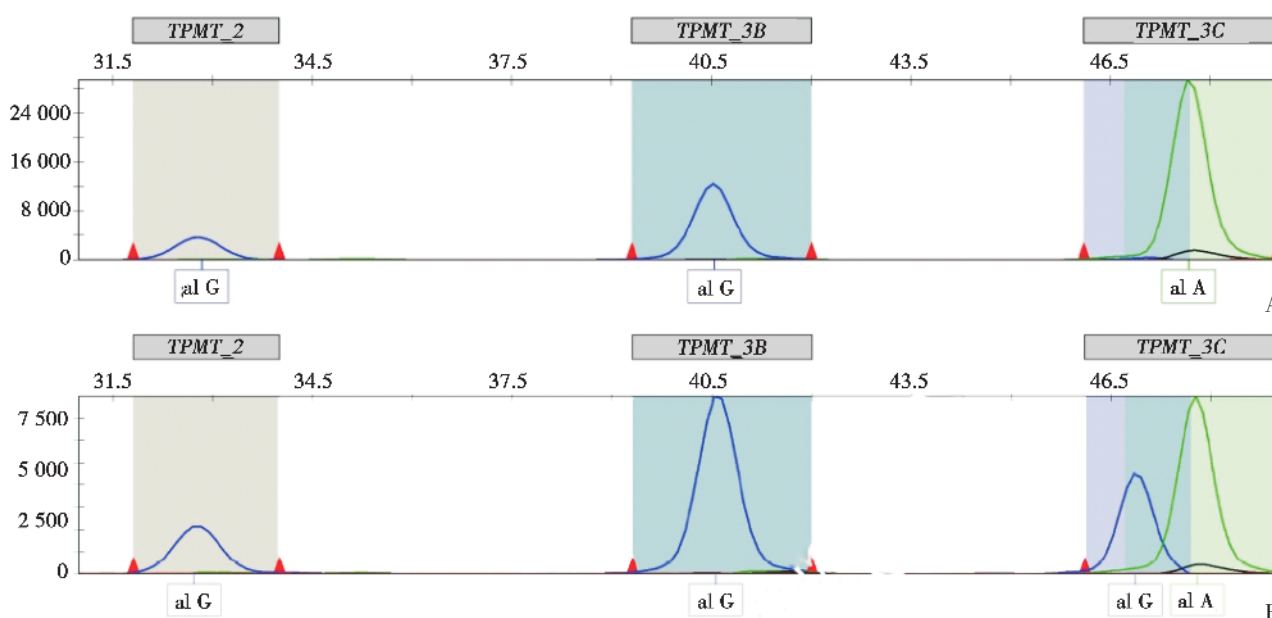
2 结 果

2.1 NMO 与 MS 患者基本资料

114 例 NMO 患者中男性 13 例, 女性 101 例; 年龄 9 ~ 70 岁, 平均 39.4 岁; 病程 1 ~ 120 月, 平均 33.7 月; 扩展残疾状态评分(EDSS)为 1.0 ~ 8.5 分, 平均 5.0 分。21 例 MS 患者中男性 7 例, 女性 14 例; 年龄 17 ~ 54 岁, 平均 35.2 岁; 病程 0.5 ~ 72 月, 平均 28.5 月; EDSS 评分为 1.0 ~ 7.0 分, 平均 4.2 分。89 例非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者中男性 50 例, 女性 39 例; 年龄 2 ~ 85 岁, 平均 47.9 岁(表 1)。

2.2 *TPMT* 基因型检测结果

本研究中 224 例患者中 *TPMT* * 3C 杂合子(基因突变, 图 1B)患者共 9 例(其中 5 例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者, 4 例非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者), 野生型纯合子(基因未突变, 图 1A)共 215 例(其中 130 例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者, 85 例非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者), 未检测到 *TPMT* * 2、*TPMT* * 3A、*TPMT* * 3B 基因突变。



A: No mutation of *TPMT* * 2, 3B, 3C; B: *TPMT* * 3C mutation

图 1 *TPMT* * 2、*TPMT* * 3A、*TPMT* * 3B、*TPMT* * 3C 基因检测结果

Fig.1 Results of *TPMT* * 2, *TPMT* * 3A, *TPMT* * 3B, *TPMT* * 3C gene detection

表 1 NMO 和 MS 患者临床资料
Table 1 Characteristics of the studied population cases or [mean (range)]

	Demyelinating disease (135)		Non-demyelinating disease (89)
	NMO	MS	
Patients	114	21	89
Sex (Female; Male)	101;13	14;7	39;50
Age/years	39.4 (9~70)	35.2 (17~54)	47.9 (2~85)
Duration/month	33.7 (1~120)	28.5 (0.5~72)	-
EDSS score	5.0 (1~8.5)	4.2 (1~7.0)	-
AZA-related side effects			
Hematotoxicity	4	0	-
Hepatotoxicity	8	3	-
Combination	1	0	-
TPMT allelic genes			
<i>TPMT</i> * 1	225	40	174
<i>TPMT</i> * 2 (238G>C)	0	0	0
<i>TPMT</i> * 3A (460G>A/719A>G)	0	0	0
<i>TPMT</i> * 3B (460G>A)	0	0	0
<i>TPMT</i> * 3C (719A>G)	3	2	4

NMO: neuromyelitisoptica; MS: multiple sclerosis; EDSS: expanded disability status scale; AZA: azathioprine; *TPMT*: thiopurinemethyltransferase.

在 9 例 *TPMT* * 3C 杂合子个体中, 中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 5 例 (NMO 3 例, MS 2 例), 非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 4 例, *TPMT* * 3C 基因突变率在中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 (5/135 = 3.7%) 与非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 (4/89 = 4.49%) 间比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.087, P = 0.768$, 表 2)。

表 2 中枢脱髓鞘组与非中枢脱髓鞘组患者基因突变率比较
Table 2 Comparison of *TPMT* mutation rate between demyelinating diseases and non-demyelinating diseases (cases)

Group	<i>TPMT</i> genotype		
	<i>TPMT</i> * 3C heterozygote	Homozygote	Total
Demyelinating disease	5	130	135
Non-demyelinating disease	4	85	89
Total	9	215	224

$\chi^2 = 0.087, P = 0.768$.

中枢神经系统脱髓鞘疾病患者基因型频率如下: 野生型基因 *TPMT* * 1 为 96.3% (130/135), *TPMT* * 3C 为 3.7% (5/135)。TPMT 总的等位基因突变频率为 1.85% (5/270)。

2.3 AZA 所致的不良反应与 *TPMT* 基因型的相关性

135 例中枢神经系统脱髓鞘疾病患者中 5 例因病情变化而中途退出, 其余 130 例完成 2 月随访观察, 其中 16 例出现不良反应, 包括血液毒性+肝脏毒性 1 例, 血液毒性 4 例, 肝脏毒性 11 例 (表 3)。

1 例既有血液毒性又有肝脏毒性患者的 *TPMT* 基因型为野生型纯合子 (NMO 患者), 4 例出现血液毒性患者中有 3 例野生型纯合子基因型及 1 例 *TPMT* * 3C 杂合子 (均为 NMO 患者), 11 例出现肝脏毒性患者中有 4 例 *TPMT* * 3C 杂合子 (2 例 MS, 2 例 NMO)、7 例野生型纯合子 (1 例 MS, 6 例 NMO; 表 3)。

表 3 16 例出现毒副作用的患者 *TPMT* 基因型
Table 3 The *TPMT* genotypes of 16 patients with azathioprine side effects

Patients	Age/Sex	Diagnosis	Genotype of <i>TPMT</i>	Side effects
1	33 /Female	MS	<i>TPMT</i> * 3C HTZ	HPT
2	43/Female	MS	<i>TPMT</i> * 3C HTZ	HPT
3	36/Female	NMO	<i>TPMT</i> * 3C HTZ	HPT
4	37/Female	NMO	<i>TPMT</i> * 3C HTZ	HPT
5	49/Female	NMO	<i>TPMT</i> * 3C HTZ	HMT
6	10/Male	NMO	HMZ	HMT
7	47/Female	NMO	HMZ	HMT
8	50/Female	NMO	HMZ	HMT
9	48/Female	NMO	HMZ	HPT
10	40/Female	NMO	HMZ	HPT
11	25/Female	NMO	HMZ	HPT
12	34/Female	NMO	HMZ	HPT
13	18/Female	NMO	HMZ	HPT
14	26/Female	NMO	HMZ	HPT
15	40/Female	MS	HMZ	HPT
16	40/Female	NMO	HMZ	HMT and HPT

NMO: neuromyelitisoptica; MS: multiple sclerosis; *TPMT*: thiopurinemethyltransferase; heterozygote: HTZ; homozygote: HMZ; hematotoxicity: HMT; hepatotoxicity: HPT

5 例 *TPMT* * 3C 基因杂合子 (基因突变) 中枢脱髓鞘患者服药后均出现毒副反应 (且均服用小剂量 AZA 25 mg/d), 而 125 例基因纯合子 (基因未突变) 脱髓鞘患者, 即完成试验的 130 例脱髓鞘

患者减去 5 例基因杂合子(基因突变)的脱髓鞘患者,服药后出现不良反应有 11 例,故基因纯合子(基因未突变)的脱髓鞘患者服药后出现毒副反应的发生率为 8.8%(11/125)。

3 讨 论

AZA 是一种临床上常用于治疗神经免疫性疾病如 MS、NMO 等的免疫调节剂。由于患此类疾病的患者病程长,需长期服药,家庭经济负担较重,而 AZA 相对于其他免疫调节剂更经济实惠,故多数患者乐于使用 AZA。但 AZA 的副作用相对较多,而且 AZA 的毒副反应的机制目前尚不十分明确。因此,探索中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 *TPMT* 基因型与硫唑嘌呤(AZA)所致的毒副反应之间的关系非常重要。

TPMT 是 AZA 代谢过程中的关键酶之一,目前其遗传药理学研究日益引起人们的重视。研究证明 *TPMT* 基因突变后 *TPMT* 酶活性下降导致活性代谢产物增加从而引起药物毒副反应^[1]。目前国内外研究已发现风湿免疫类、炎性肠病及白血病患者 *TPMT* 基因突变与 AZA 毒副作用存在相关^[4-8],但尚少见中枢神经系统脱髓鞘患者 *TPMT* 基因突变与 AZA 毒副反应的关系的报道。

TPMT 基因包含 10 个外显子和 9 个内含子,其中有 8 个外显子参与编码 *TPMT* 蛋白。研究表明,*TPMT* 基因读码框区域多种导致酶活性下降或缺失的点突变是 *TPMT* 遗传突变的基础^[9]。迄今为止,已发现 28 种突变等位基因与 *TPMT* 活性降低有关,发生频率较高的突变等位基因有 *TPMT* * 2 (G238C)、*TPMT* * 3A (G460A/A719G)、*TPMT* * 3B (G460A)、*TPMT* * 3C (A719G)。以上 4 种突变等位基因代表了不同人种的 *TPMT* 突变等位基因的 80% ~ 95%,且可以解释 95% 以上的 *TPMT* 酶活性下降^[9]。Kham 等^[10]报道 *TPMT* * 3C 是亚洲人群中最常见的突变等位基因,其中中国人群突变率为 4.7%、马来西亚人突变率 4.4%、印度人突变率 2.7%。而张建萍等^[11]对我国 225 例健康汉族人群的 *TPMT* 基因进行分析,检测了 *TPMT* * 2、*TPMT* * 3A、*TPMT* * 3B、*TPMT* * 3C,结果没有找到 *TPMT* * 2、*TPMT* * 3A、*TPMT* * 3B,仅发现 6 例 *TPMT* * 3C 杂合子突变,总的 *TPMT* 突变等位基因频率为 1.33%。本研究发现 135 例中枢神经系统

脱髓鞘患者中仅 5 例 *TPMT* * 3C 杂合子,130 例野生型纯合子,亦未检测到 *TPMT* * 2、*TPMT* * 3A、*TPMT* * 3B,等位基因突变频率为 1.85%(5/270),与国内学者报道基本一致。此外,本研究发现中枢神经系统脱髓鞘疾病患者 *TPMT* 基因突变率与非中枢神经系统脱髓鞘疾病患者间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.087, P = 0.768$),说明 *TPMT* 基因突变可能仅与人种有关,而与同一人种的不同疾病发生无关。

本研究重点观察了 *TPMT* 基因型与 AZA 的毒副反应的关系,发现 5 例 *TPMT* * 3C (A719G) 杂合子基因型患者服用 AZA 后均出现毒副反应(100%),而 125 例野生型基因纯合子患者服用 AZA 后有 11 例出现毒副反应(8.8%, 11/125)。从以上结果推断 AZA 的毒副作用可能取决于两方面:*TPMT* 基因型及 AZA 代谢酶的活性。杂合子患者服用 AZA 后出现毒副反应可能与其 *TPMT* 基因突变有关,*TPMT* * 3C 突变所编码的蛋白水解增强、稳定性降低,继而酶的活性降低或缺乏。而 *TPMT* 基因未突变的纯合子型患者服用 AZA 后出现毒副反应可能与其中的代谢酶活性低有关,当然,其具体机制有待今后进一步研究。

进一步对 16 例出现毒副反应的患者进行分析,发现有 11 例出现肝脏毒性,其中 *TPMT* * 3 杂合子 4 例,野生型纯合子为 7 例。那么,肝脏毒性与 *TPMT* 突变是不是相关呢?目前针对这一点是存在较大争议的。Alves 等^[12]认为 AZA 的肝脏毒性与 *TPMT* 杂合突变有关,而 Lennard 等^[13]则认为肝脏毒副反应可能由甲基巯基嘌呤(6-MMP, AZA 甲基化后的代谢产物)浓度升高所致。本研究结果虽更倾向于 Alves 等^[12]的观点,但由于目前的样本量太少,需进一步增大样本量方可证实。当然,谷丙转氨酶(ALT)异常升高还与肝脏代谢酶 p450 基因突变有关,故本研究中 7 例 *TPMT* 基因未突变患者亦出现肝脏毒性可能与此有关,这是药物基因组学需要进一步探讨的问题。

本研究还发现 3 例 *TPMT* 纯合子及 1 例杂合子患者出现血液毒性。关于 AZA 血液毒性的机制目前仍未完全阐明。Lennard 等^[13]认为 AZA 血液毒性可能与活性代谢产物 6-TGNs 和 6'-甲基-5'磷酸-硫代肌苷水平非正常增加有关,同时他们还认为 AZA 血液毒性可能与 AZA 的剂量有关。但董显文等^[14]对 8 项研究(1 322 例炎症性肠病(IBD))

患者)进行荟萃分析后发现,AZA 毒副反应与 AZA 剂量无关。本研究亦发现部分杂合子基因型患者即使服用小剂量 (25 mg/d)AZA 亦可出现毒副作用,而对 AZA 耐受患者服用 100 mg/d 也未出现毒副反应,故本研究更倾向于 AZA 毒副反应与 AZA 剂量无关。Zelinkova 等^[15]则报道发生血液毒性反应的炎症肠炎患者 *TPMT* 基因突变率显著高于无血液毒性反应的患者,而本研究中 4 例出现血液毒副反应患者中有 1 例 *TPMT* 杂合突变。当然,由于本研究样本量较少,故难以比较。

本研究存在一些缺陷:首先,本研究没有对 *TPMT* 酶活性进行检测,故 *TPMT* 基因型与表观型的关系并不清楚;其次,由于技术限制,本研究仅检测了 4 种常见突变等位基因(*TPMT* * 2、* 3A、* 3B、* 3C),还有其他与 *TPMT* 酶活性有关的突变基因并未检测;再次,本文缺少对照组(正常人群基因突变率);最后,本研究样本少,后续实验需进一步增加样本量进行分析。

总之,本研究证实了我国南方部分中枢神经脱髓鞘疾病患者 *TPMT* 突变等位基因最常见为 *TPMT* * 3C 杂合突变,而 *TPMT* 杂合突变基因患者的 AZA 毒副反应发生率明显较 *TPMT* 野生纯合型高。今后,对于此类患者有必要检测 *TPMT* 基因,尤其是 *TPMT* * 3C 基因,以对服用 AZA 的中枢神经系统脱髓鞘疾病患者提供一定的临床指导作用。

参考文献:

- [1] WEINSHILBOUM R. Thiopurine pharmacogenetics: clinical and molecular studies of thiopurine methyltransferase[J]. Drug Metab Dispos, 2001, 29(4 Pt 2): 601-605.
- [2] WINGERCHUK DM, LENNON VA, PITTOCK SJ, et al. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica[J]. Neurology, 2006, 66(10): 1485-1489.
- [3] POLMAN CH, REINGOLD SC, EDAN G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria"[J]. Ann Neurol, 2005, 58(6): 840-846.
- [4] BOONSIRIRAT U, ANGSUTHUM S, VANNAPRASAHT S, et al. Azathioprine-induced fatal myelosuppression in systemic lupus erythematosus patient carrying *TPMT* * 3C polymorphism[J]. Lupus, 2008, 17(2): 132-134.
- [5] GEARRY RB, BARCLAY ML, BURT MJ, et al. Thiopurine s-methyltransferase (*TPMT*) genotype does not predict adverse drug reactions to thiopurine drugs in patients with inflammatory bowel disease [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2003, 18(4): 395-400.
- [6] LOUIS E. Thiopurine metabolites and *TPMT* activity measurement in inflammatory bowel disease[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 34(9): 1138-1140.
- [7] ZHU Q, CAO Q. Thiopurine methyltransferase gene polymorphisms and activity in Chinese patients with inflammatory bowel disease treated with azathioprine[J]. Chin Med J (Engl), 2012, 125(20): 3665-3670.
- [8] FAKHOURY M, ANDREU-GALLIEN J, MAHR A, et al. Should *TPMT* genotype and activity be used to monitor 6-mercaptopurine treatment in children with acute lymphoblastic leukaemia?[J]. J Clin Pharm Ther, 2007, 32(6): 633-639.
- [9] MCLEOD HL, SIVA C. The thiopurine s-methyltransferase gene locus --implications for clinical pharmacogenomics [J]. Pharmacogenomics, 2002, 3(1): 89-98.
- [10] KHAM SK, SOH CK, LIU TC, et al. Thiopurine s-methyltransferase activity in three major Asian populations: a population-based study in Singapore[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2008, 64(4): 373-379.
- [11] 张建萍,关永源,吴珏珩,等. 健康汉族人硫唑嘌呤甲基转移酶遗传多态性研究[J]. 癌症, 2003, 22(4): 385-388.
ZHANG JP, GUAN YY, WU JH, et al. Genetic polymorphism of the thiopurine s-methyltransferase of healthy han Chinese[J]. Chin J Cancer, 2003, 22(4): 385-388.
- [12] ALVES S, PRATA MJ, FERREIRA F, et al. Thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: alternative molecular diagnosis and preliminary data from Northern Portugal[J]. Pharmacogenetics, 1999, 9(2): 257-261.
- [13] LENNARD L. Clinical implications of thiopurine methyltransferase --optimization of drug dosage and potential drug interactions[J]. Ther Drug Monit, 1998, 20(5): 527-531.
- [14] 董显文,郑青,沈骏,等. *TPMT* 基因多态性与炎症性肠病治疗中硫唑嘌呤毒副反应相关性的荟萃分析[J]. 胃肠病学, 2010, 15(7): 400-404.
DONG XW, ZHENG Q, SHEN J, et al. Correlation between *TPMT* polymorphisms and azathioprine toxicity in the treatment of inflammatory bowel disease: a meta analysis[J]. Chin J Gastroenterol, 2010, 15(7): 400-404.
- [15] ZELINKOVA Z, DERIJKS LJ, STOKKERS PC, et al. Inosine triphosphate pyrophosphatase and thiopurine s-methyltransferase genotypes relationship to azathioprine-induced myelosuppression [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006, 4(1): 44-49.

(编辑 徐杰)