

รายงานผู้ป่วย

ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำยาวนานและการติดเชื้อรุนแรงจากการได้รับยา 6-mercaptopurine ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่มีโฮโมไซกัสของยีน Inosine Triphosphate Pyrophosphatase (ITPA) ที่ตำแหน่ง 94 C>A

วรภรณ กลมเกลา เจษฎา บัวบุญนำ ปริญญ์ ศิริประภาภัสร์ อัจจิมา ตรีสุคนธ์ ณัฏวีร์ วัฒนา

นัทธี นาคบุญนำ กมล เพ็ญเพชร กลีบสไบ สรรพกิจ และ ชญามณ ทักษะประดิษฐ์

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ มีการศึกษาถึงความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรม (polymorphism) ของเอนไซม์ที่ช่วยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงของยาในกลุ่ม thiopurine อย่างแพร่หลายและเป็นที่รู้จัก เช่น thiopurine methyltransferase (TPMT) รวมถึงการศึกษาเอนไซม์ที่สำคัญอีกชนิดคือ inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA) โดยพบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นปัจจัยที่สำคัญในการพยากรณ์อุบัติการณ์การเกิดภาวะไขกระดูกถูกกด (myelosuppression) ได้อย่างชัดเจนในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาจำพวก azathioprine mercaptopurine และ thioguanine ข้อแตกต่างที่สำคัญคือคนเชื้อชาติเอเชียจะพบความชุกของ ITPA variant allele ได้มากกว่า TPMT variant allele เมื่อมีการเปรียบเทียบกับชาวคอเคเซียน อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมของ ITPA ในประเทศไทย ผู้พิมพ์ได้รายงานกรณีศึกษาเด็กหญิงไทยอายุ 14 ปี ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด acute lymphoblastic leukemia และมีการติดเชื้อรารุนแรงที่ปอดชนิดแอสเปอร์จิซิลลัส (invasive pulmonary aspergillosis) ร่วมกับพบเชื้อวัณโรคในปอด รวมถึงผลเลือดแสดงภาวะไขกระดูกถูกกดยาวนานหลายสัปดาห์ ในช่วงที่ได้รับยา mercaptopurine ทุกวัน แม้ว่าจะได้รับการปรับลดขนาดยาลงเหลือครึ่งหนึ่งของยาที่ควรจะใช้รักษาแล้วก็ตาม ผลการตรวจเลือดพบ TPMT polymorphism เป็น wild type แต่ตรวจพบโฮโมไซกัส (homozygous) ITPA 94 C>A (AA genotype) รายงานผู้ป่วยชี้ให้เห็นถึงความสำคัญในการศึกษาถึงความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมของยีน ITPA และผลข้างเคียงต่อระบบโลหิตวิทยาจากการได้รับยาในกลุ่ม thiopurine และควรศึกษาอุบัติการณ์ของ ITPA ในกลุ่มประชากรไทย

Keywords : ● Inosine triphosphate pyrophosphatase ● Mercaptopurine ● Hematological toxicities

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2557;24:283-8.

บทนำ

การรักษาผู้ป่วยเด็กมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด acute lymphoblastic leukemia (ALL) ในปัจจุบันมีความก้าวหน้าอย่างมาก อัตรารอดชีวิตที่ 5 ปีสูงถึงร้อยละ 60-70¹ อย่างไรก็ตามภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นจากยาเคมีบำบัด เช่น ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำและการติดเชื้อรุนแรง มีผลทำให้ผลการรักษาไม่ดีเท่าที่ควร ในปัจจุบันการศึกษาทางเภสัชพันธุศาสตร์ (pharmacogenomics) ทำให้สามารถพยากรณ์โอกาสที่จะเกิดภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวจากยาเคมีบำบัด เช่น ยาในกลุ่ม thiopurine ได้อย่างแม่นยำ รวมถึงสามารถปรับขนาดยาได้อย่าง

เหมาะสม แต่อุปสรรคที่สำคัญคือกลไกในการ metabolism ของยาในกลุ่ม thiopurine มีความซับซ้อนและมีเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับกลไกนี้ นอกจากนี้ความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรม (polymorphism) ของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์เหล่านี้มีความแตกต่างตามเชื้อชาติ ผู้พิมพ์ได้รายงานผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด ALL หนึ่งรายที่มีการติดเชื้อราและเชื้อวัณโรคที่ปอด ร่วมกับมีเม็ดเลือดขาวต่ำในขณะที่ได้รับการรักษาด้วยยา 6-mercaptopurine (6-MP) และตรวจพบโฮโมไซกัสที่ตำแหน่ง 94 ของยีน inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA) C>A (AA genotype)

รายงานผู้ป่วย

เด็กหญิงไทย อายุ 11 ปี มาด้วยอาการไข้เรื้อรัง ไอและหอบ

ได้รับต้นฉบับ 22 พฤษภาคม 2557 รับลงตีพิมพ์ 7 กรกฎาคม 2557

ต้องการสำเนาต้นฉบับ ติดต่อ ชญามณ ทักษะประดิษฐ์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

ภาพรังสีวินิจฉัยหรงอกแรกพบก้อนขนาดใหญ่ การตรวจเลือดพบว่าฮีมาโตคริต 31%, เม็ดเลือดขาว 2,520 เซลล์/ลบ.มม., blast 24%, เกล็ดเลือด 128,000 เซลล์/ลบ.มม. การตรวจไขกระดูกพบ lymphoblast 70% ผล immunophenotype เข้าได้กับ T-cell ALL เริ่มให้การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด high risk ALL protocol (TPOG 02-05) หลังจบช่วง induction ก้อนในหรงอกยุบจนเป็นปกติ ตรวจประเมินไขกระดูกพบว่าโรคสงบดี จึงเริ่มให้ยาในช่วง consolidation ด้วยยา methotrexate (MTX) ขนาดสูง ร่วมกับ 6-MP หลังได้รับยา 3 สัปดาห์ มีไข้ในภาวะนิวโทรฟิลต่ำ (febrile neutropenia) ได้รับยาปฏิชีวนะทางหลอดเลือด และหยุดยา 6-MP นานติดต่อกันเป็นเวลา 2 เดือน เนื่องจากจำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำตลอด ได้ส่งตรวจทางอณูพันธุศาสตร์ของยีน thiopurine methyltransferase (TPMT) gene polymorphism พบว่าเป็นแบบ wild type ไม่พบ TPMT*2, *3A, *3B, *3C, *6

ในระหว่างได้รับยาช่วง interim maintenance (6-MP 50 มก./ตร.ม./วัน ทางปาก MTX 20 มก./ตร.ม./วัน ทางปาก 1 วัน/สัปดาห์ vincristine 1.5 มก./ตร.ม. ทางหลอดเลือด/เดือน prednisolone 40 มก./ตร.ม./วัน 5 วันติดต่อกัน/เดือน) ผู้ป่วยมีภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำร่วมกับไข้ 4 สัปดาห์ ภาพรังสีวินิจฉัยหรงอก (Figure 1) พบ ground glass appearance ที่ปอดด้านซ้ายบน และภาพคอมพิวเตอร์ของหรงอก (Figure 2) พบ consolidation with peripheral ground-glass appearance ที่ยอดปอดด้านซ้าย ซึ่งเข้าได้กับการติดเชื้อราแอสเพอร์จิลลัส (aspergillus) ในปอด ผล serum galactomannan ให้ผลลบ ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยา voriconazole ทางหลอดเลือด

ดำ และหยุดให้ยาเคมีบำบัดทั้งหมดนานติดต่อกัน 2 เดือน การตรวจติดตามรอยโรคที่ปอดพบว่าไม่ตอบสนองต่อการให้ยาต้านเชื้อรา จึงทำการผ่าตัดกลีบปอดซ้ายออก ผลทางพยาธิวิทยาพบเชื้อแอสเพอร์จิลลัส และเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* หลังการผ่าตัดผู้ป่วยได้รับยาต้านเชื้อราและยาต้านวัณโรคอย่างต่อเนื่อง เมื่ออาการผู้ป่วยดีขึ้นจึงกลับมารับยาในช่วง maintenance โดยได้รับยา 6-MP 50 มก./ตร.ม./วัน แต่ไม่สามารถรับยาอย่างต่อเนื่องได้ เนื่องจากมีปัญหา pancytopenia ต้องหยุดให้ยานาน

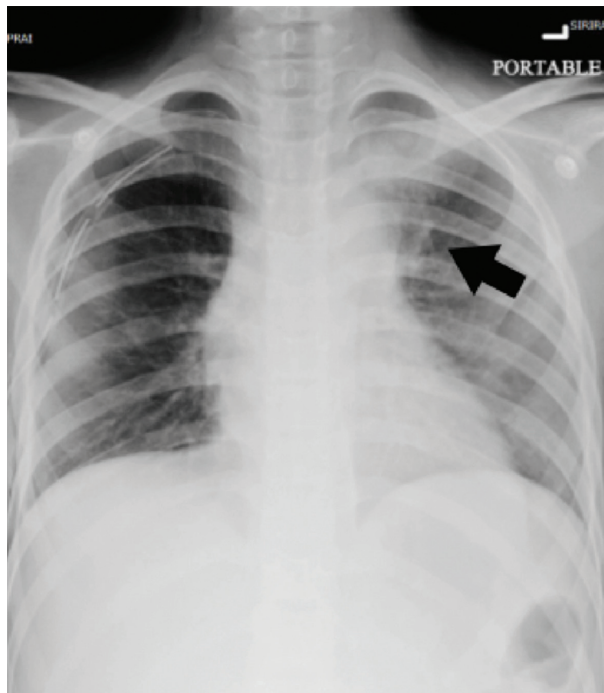


Figure 1 Chest radiograph showing patchy infiltration at left upper lung field

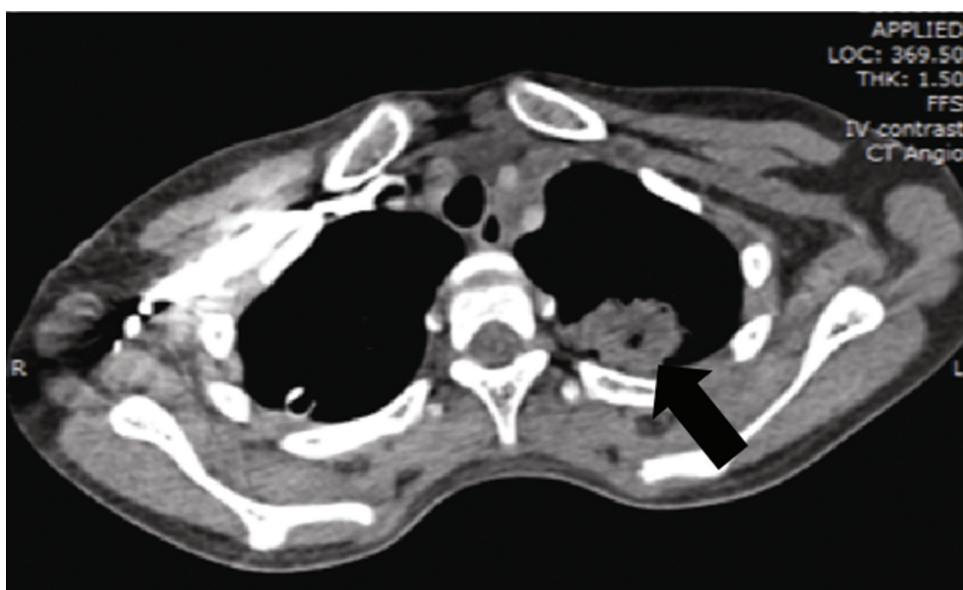
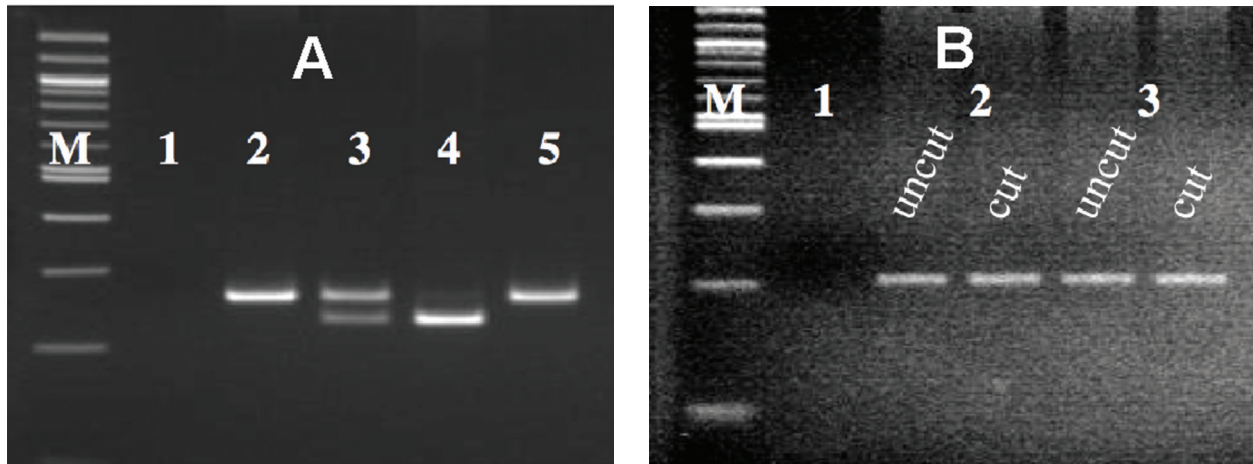


Figure 2 Pulmonary CT showing consolidation with peripheral ground-glass appearance at apico-posterior segment of LUL

3 เดือน ตรวจประเมินไขกระดูกพบว่ามี severe hypocellular marrow แต่ไม่พบการกลับมาเป็นซ้ำของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว ได้ปรับลดขนาดยา 6-MP ลงเหลือร้อยละ 80 ของขนาดยาปกติ ผู้ป่วยยังคงมีปัญหา pancytopenia อย่างต่อเนื่องร่วมกับมีภาวะ febrile neutropenia เป็นระยะ จึงปรับลดขนาดยา 6-MP ลง

อีกเหลือร้อยละ 50 ของขนาดยาปกติ และพิจารณาตรวจทางอณูพันธุศาสตร์ของยีนของ *ITPA*² พบว่าโฮโมไซกัสที่ตำแหน่ง codon 94 C>A (AA genotype) (Figure 3 และ 4) หลังจากปรับลดขนาดยาลงเหลือครึ่งหนึ่งของขนาดยาปกติ ผู้ป่วยสามารถรับยาเคมีบำบัดได้อย่างต่อเนื่องและผลเลือดอยู่ในเกณฑ์ดี (Figure 5)



A: *ITPA* 94 C>A detection. *Xmn*I digested wild-type allele into 228 and 28 bp fragments and uncleaved (256 bp) the mutant allele. M = standard DNA-size markers; 100 bp ladder, lane 1 = no template control, lane 2 = homozygous *ITPA* 94 AA genotype (homozygous variant), lane 3 = heterozygous *ITPA* 94 CA genotype, lane 4 = *ITPA* 94 CC genotype (wild type), lane 5 = patient's result showed homozygous *ITPA* 94 AA genotype

B: *ITPA* IVS2+21A>C detection. *Xmn*I uncleaved (204 bp) wild-type allele and digested the mutant allele into 175 bp and 29 bp fragments. M = standard DNA-size markers; 100 bp ladder, lane 1 = no template control, lane 2 = uncut and cut of *ITPA* IVS2+21AA genotype (wild type), lane 3 = uncut and cut of patient's PCR products showed *ITPA* IVS2+21AA genotype

Figure 3 Detection of *ITPA* variant using PCR-RFLP

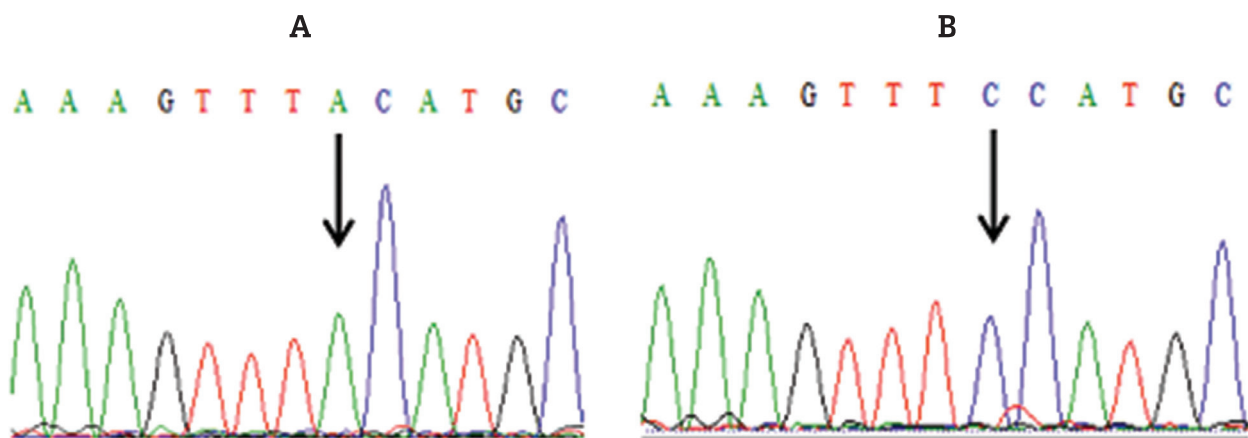


Figure 4 (A) DNA sequence confirmed *ITPA* 94C>A homozygous (AA genotype) in patient compared with (B) wild-type sequence (CC genotype)

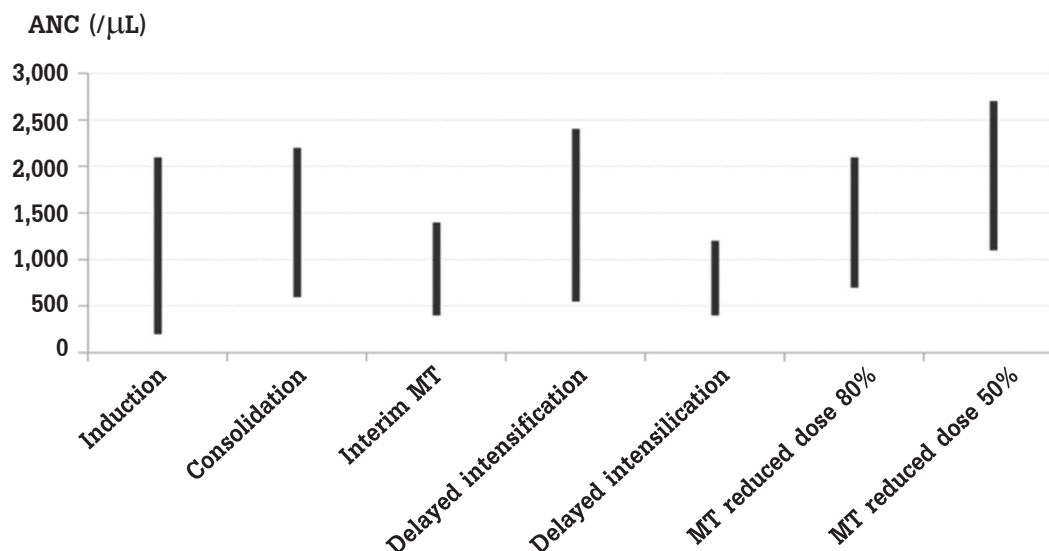


Figure 5 Absolute neutrophil count (ANC) range of this patient during chemotherapy

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ศึกษาความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรม (polymorphism) ของยีน *ITPA* ตำแหน่ง IVS2+21 และ 94 ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ด้วย primer ที่เคยมีรายงาน² และย่อย PCR product ด้วยเอนไซม์ *Xmn* I รวมทั้งยืนยันผลการตรวจด้วย DNA sequencing

อภิปราย

6-MP เป็นยาหลักในการรักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันในเด็กชนิด ALL เมื่อยา 6-MP ถูกดูดซึมเข้าร่างกาย จะถูกเปลี่ยนเป็น thio inosine monophosphate โดย hypoxanthine methyltransferase และจะถูกเปลี่ยนโดย inosine monophosphate dehydrogenase และ guanosine monophosphate synthase ไปเป็นสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ในขณะที่บางส่วนจะถูกเปลี่ยนเป็น thiouric acid และ methylmercaptapurine ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์โดย xanthine oxidase และ thiopurine methyltransferase ตามลำดับ ในขณะที่บางส่วนของ thio inosine monophosphate จะถูกเปลี่ยนไปเป็น thio inosine triphosphate (Thio ITP) ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อเซลล์ และถูก metabolize โดย *ITPA* ไปเป็น thio inosine monophosphate ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีพิษต่อเซลล์ จึงมีการตั้งสมมติฐานว่าหน้าที่ของ *ITPA* คือป้องกันการสะสมของ nucleotide ที่เป็นพิษต่อเซลล์^{3,4}

ในปัจจุบันพบความแตกต่างของลักษณะทางพันธุกรรมของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ทำลายยา 6-MP เช่น *TPMT* และ *ITPA* เป็นต้น^{5,6} สัมพันธ์กับการเกิดภาวะเม็ดเลือด

ขาวต่ำในผู้ป่วยที่ได้รับยา 6-MP มีการศึกษาเรื่องความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมของ *TPMT* รายงานจากประเทศต่างๆ รวมทั้งประเทศไทย^{7,8} พบว่าความชุกของ variant allele ของยีน *TPMT* ประมาณร้อยละ 10 เป็น *TPMT**3C มากที่สุด และสัมพันธ์กับการเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำร้อยละ 60-100 ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ได้รับยา 6-MP อย่างต่อเนื่อง⁶ ดังนั้นผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องได้รับยา 6-MP ร่วมกับตรวจพบชนิด polymorphism ของ *TPMT* ที่จำเพาะ จำเป็นต้องมีการปรับลดขนาดยาในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อป้องกันการเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ โดยพบว่าถ้าผู้ป่วยมี *TPMT* polymorphism ชนิดโฮโมไซกัส (*TPMT**2, *3A, *3B, *3C, *6) ควรปรับลดขนาดยา 6-MP ลงเหลือประมาณร้อยละ 10 ของขนาดยาปกติโดยแบ่งให้เพียง 3 วันต่อสัปดาห์ เพื่อลดภาวะการกดของไขกระดูกที่มักเกิดตามมาภายหลังได้⁹

ในขณะที่ความชุกของ variant allele ของยีนที่ควบคุมการสร้าง *ITPA* พบได้ประมาณร้อยละ 11-20 ในคนเชื้อชาติเอเชีย ซึ่งสูงกว่าเชื้อชาติอื่นโดยเฉพาะชนิด *ITPA* 94 C>A และ *ITPA* IVS2+21 A>C^{6,10} ซึ่งพบว่าโอกาสเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำพบได้ประมาณร้อยละ 30-80^{11,12} และยังสามารถทำให้เกิดภาวะตับอักเสบจากการใช้ยา 6-MP ได้อีกด้วย¹² บางรายงานพบว่ามีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำโดยไม่สัมพันธ์กับภาวะไขกระดูกถูกกด⁶ ในบางรายงานพบว่า variant allele ของยีน *ITPA* สัมพันธ์กับการเกิดเม็ดเลือดขาวต่ำแต่มีผลน้อยกว่ายีนกลุ่ม *TPMT*¹³ แต่ในผู้ป่วยที่รายงานนี้พบมีภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำมากและนานในช่วงที่ได้รับยา 6-MP ขนาดปกติ ร่วมกับการติดเชื้อราและวัณโรคช่องปอด

การตรวจความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมของยีนที่ควบคุมการสร้าง ITPA พบ variant allele ชนิดโฮโมไซกัสที่ตำแหน่ง 94 C>A (AA genotype) ทำให้แพทย์สามารถวางแผนการรักษาได้ดีขึ้นในการปรับลดขนาดยา 6-MP ลง และผู้ป่วยคงระดับผลเลือดในเกณฑ์ดีที่ขนาดยา 6-MP ร้อยละ 50 ของขนาดยาปกติ

อย่างไรก็ตาม การตรวจหา variant allele ของยีน ITPA หรือแนวทางในการปรับลดยา mercaptopurine ในขนาดที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่มี variant allele ของยีน ITPA ที่จำเพาะในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันในเด็ก ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความชุกของ variant allele ของยีน ITPA และความสัมพันธ์กับผลข้างเคียงจากยาในประเทศไทยที่ได้รับยาในกลุ่ม thiopurine จะช่วยให้สามารถบริหารยาได้อย่างเหมาะสมและป้องกันผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำได้

เอกสารอ้างอิง

1. Thamprisan P, Khiewyoo J, Sripraya P, Wiangnon S. Relapse-free rate with childhood acute lymphoblastic leukemia treated under the Thai national protocol. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14:1127-30.
2. Maeda T, Sumi S, Ueta A, Ohkubo Y, Ito T, Marinaki AM, et al. Genetic basis of inosine triphosphate pyrophosphohydrolase deficiency in the Japanese population. *Mol Genet Metab* 2005;85:271-9.
3. Sumi S, Marinaki AM, Arenas M, Fairbanks L, Shobowale-Bakre M, Rees DC, et al. Genetic basis of inosine triphosphate pyrophosphohydrolase deficiency. *Hum Genet* 2002;111:360-7.
4. Bierau J, Lindhout M, Bakker JA. Pharmacogenetic significance of inosine triphosphatase. *Pharmacogenomics* 2007;8:1221-8.
5. Stanulla M, Schaeffeler E, Flohr T, Cario G, Schrauder A, Zimmermann M, et al. Thiopurine methyltransferase (TPMT) genotype and early treatment response to mercaptopurine in childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA* 2005;293:1485-9.
6. Kim H, Kang HJ, Kim HJ, Jang MK, Kim NH, Oh Y, et al. Pharmacogenetic analysis of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia: a possible association between survival rate and ITPA polymorphism. *PLoS One* 2012;7:24.
7. Feng Q, Vannaprasaht S, Peng Y, Angsuthum S, Avihingsanon Y, Yee VC, et al. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: functional characterization of a novel rapidly degraded variant allozyme. *Biochem Pharmacol* 2010;79:1053-61.
8. Srimartpirom S, Tassaneeyakul W, Kukongviriyapan V. Thiopurine S-methyltransferase genetic polymorphism in the Thai population. *Br J Clin Pharmacol* 2004;58:66-70.
9. 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;89:387-91.
10. Marsh S, King CR, Ahluwalia R, McLeod HL. Distribution of ITPA P32T alleles in multiple world populations. *J Hum Genet* 2004;49:579-81.
11. Dorababu P, Nagesh N, Linga VG, Gundeti S, Kutala VK, Reddanna P, et al. Epistatic interactions between thiopurine methyltransferase (TPMT) and inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA) variations determine 6-mercaptopurine toxicity in Indian children with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68:379-87.
12. Tanaka Y, Manabe A, Nakadate H, Kondoh K, Nakamura K, Koh K, et al. The activity of the inosine triphosphate pyrophosphatase affects toxicity of 6-mercaptopurine during maintenance therapy for acute lymphoblastic leukemia in Japanese children. *Leuk Res* 2012;36:560-4.
13. Stocco G, Cheok MH, Crews KR, Dervieux T, French D, Pei D, et al. Genetic polymorphism of inosine triphosphate pyrophosphatase is a determinant of mercaptopurine metabolism and toxicity during treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85:164-72.

Prolonged Neutropenia and Severe Infections Caused by 6-Mercaptopurine in a Thai Acute Lymphoblastic Leukemia Patient with Homozygous Inosine Triphosphate Pyrophosphatase 94 C>A: A Case Report

Waraporn Glomglao, Jassada Buaboonnam, Preeyanun Siraprapapat, Ajjima Treesucon, Nassawee Vathana, Nattee Narkbunnam, Kamon Phuakpet, Kleebsabai Sanpakit and Chayamon Takpradit

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok

Abstract: The genetic polymorphism studies of the multistep enzymes involving in the thiopurine metabolism pathway such as thiopurine methyltransferase (TPMT), which is the widely studied and well characterized, and to a lesser extent inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA), significantly prognosticate the myelosuppressive toxicities of patients treated with azathioprine, mercaptopurine and thioguanine. Contrary to Caucasian population, the prevalence of ITPA variant allele is more common than that of TPMT variant allele in Asian population. To our knowledge, the research study regarding genetic polymorphism of ITPA in Thailand has never been conducted. Herein, we report a 14-year-old girl with acute lymphoblastic leukemia who experienced invasive pulmonary aspergillosis, pulmonary tuberculosis and multiple episodes of severe bone marrow suppression during daily mercaptopurine treatment. She consequently required the dose adjustment to a half therapeutic dosage. The TPMT polymorphism was investigated and found to be wide type. The further study revealed the homozygous ITPA 94 C>A polymorphism. Our reported case substantiates the importance of the research in genetic heterogeneity of ITPA and its effect on hematological toxicities induced by thiopurine, and further large cohort study in Thai population is warranted.

Keywords : ● Inosine triphosphate pyrophosphatase ● Mercaptopurine ● Hematological toxicities

J Hematol Transfus Med 2014;24:283-8.