

**ASSOCIATION BETWEEN *NUDT15* GENOTYPES AND 6-MP
TOXICITY IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC
LEUKEMIA**



RAWIPORN TIYASIRICHOKCHAI

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (CLINICAL PATHOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright by Mahidol University

COPY RIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ASSOCIATION BETWEEN *NUDT15* GENOTYPES AND 6-MP TOXICITY IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

RAWIPORN TIYASIRICHOKCHAI 5837113 RACP / M

M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: APICHAYA PUANGPETCH, Ph.D.,
SAMART PAKAKASAMA, M.D., CHONLAPHAT SUKASEM, Ph.D.

ABSTRACT

NUDT15 is the dephosphatase enzyme that plays an important role in dephosphorylation of (d)GTP and 6-thio-(d)GTP to (d)GMP and 6-thio-(d)GMP. It has been reported that *NUDT15* variant is associated with 6-MP dose intolerance in ALL patients. Therefore, the aims of this study were to investigate the association between *NUDT15* genetic polymorphisms and 6MP-induced myelotoxicity. One-hundred children with RAMA ALL 001 protocol were recruited for collecting DNA and clinical data in the first 6 months of maintenance phase. *NUDT15* genotyping was classified into four diplotypes (*NUDT15** 1: wild-type, *NUDT15** 3: rs116855232, *NUDT15** 6: rs554405994 and *NUDT15** 2: rs116855232, rs554405994). The results showed that all *NUDT15* heterozygous and homozygous diplotypes were associated with leukopenia grade 3 ($P = 0.023$) or 4 ($P = 0.041$) and neutropenia grade 3 ($P = 0.017$) or grade 4 ($P = 3.12 \times 10^{-5}$) in the first 8 weeks while the grade 3 thrombocytopenia was related to those diplotypes in week 9-24. In addition, the median of WBC (WT 2,100/mm³ vs. Var 1,200/mm³, $P = 0.008$), ANC (WT 809/mm³ vs. Var 127/mm³, $P = 2.13 \times 10^{-4}$) and platelet count (WT 168,000/mm³ vs. Var 121,000/mm³, $P = 0.009$) in *NUDT15* variant was significantly lower than wild-type group. Moreover, the dose intensity of *NUDT15* variants is less than wild-type with $P = 0.056$ (dose intensity of WT 66.67% vs. heterozygous variant 48.8% vs. homozygous variant 16.67%) in week 9-24. The multivariate analysis showed that infections were associated with leukopenia ($P = 0.013$), neutropenia ($P = 0.010$) in week 9-24 and thrombocytopenia ($P = 0.039$) in the first 8 weeks. In addition, *NUDT15* variants had a significant difference of 6-MP dose tolerance lower than wild-type patients in the younger age group (age 1-9.9 years) with $P = 0.009$ unlike the age 10-15 years group.

This finding suggested that *NUDT15* variants particularly influenced 6MP-induced myelotoxicity in ALL children therefore the identification of *NUDT15* polymorphisms should be done for pre-emptive 6-MP or thiopurine drug administration and 6-MP dose adjustment would be concerned in *NUDT15* variants.

KEY WORDS: *NUDT15* POLYMORPHISMS / ALL / MYELOTXICITY / 6-MP

71 pages

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของ *NUDT15* กับอาการไม่พึงประสงค์ของยา 6-MP ในผู้ป่วยเด็กมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟบลาสแบบเฉียบพลัน

ASSOCIATION BETWEEN *NUDT15* GENOTYPES AND 6-MP TOXICITY IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

รวิพร ดิยะศิริ โสภคชัย 5837113 RACP / M

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: อภิชนา พวงเพชร, Ph.D., สามารถ ภกษมา, M.D., ชลภัทร สุขเกษม, Ph.D.

บทคัดย่อ

NUDT15 เป็นเอนไซม์สำคัญในการกำจัดหมู่ฟอสเฟต 2 หมู่ออกจากสาร (d)GTP เพื่อป้องกัน DNA ถูกทำลาย และ 6-thio-(d)GTP ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ของยา 6-MP การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* ทำให้คนไข้มีอาการไม่พึงประสงค์จากยา 6-MP และไม่สามารถใช้ปริมาณยาเท่ากับคนไข้ทั่วไปได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* กับภาวะพิษต่อเซลล์ในคนไข้เด็กมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟบลาสแบบเฉียบพลัน (ALL) โดยเก็บตัวอย่าง DNA และข้อมูลทางคลินิกในช่วงการรักษาระยะ maintenance นานอย่างน้อย 6 เดือน จากคนไข้เด็ก ALL ที่รักษาด้วย RAMA ALL 001 protocol จำนวน 100 คน จีโนไทป์ของยีน *NUDT15* จะถูกแบ่งเป็น 4 แบบ ดังนี้ *NUDT15*1: wild-type* (แบบปกติ) และแบบที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีน 3 แบบคือ *NUDT15*3: rs116855232*, *NUDT15*6: rs554405994* และ *NUDT15*2: rs116855232, rs554405994* ผลการศึกษาพบว่า จีโนไทป์ของยีน ทั้งแบบ heterozygous และ homozygous มีความสัมพันธ์กับภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำระดับ 3 ($P = 0.023$) หรือระดับ 4 ($P = 0.041$) และภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำระดับ 3 ($P = 0.017$) หรือระดับ 4 ($P = 3.12 \times 10^{-5}$) ในช่วง 8 สัปดาห์แรก ขณะที่จีโนไทป์ของยีนดังกล่าวสัมพันธ์กับภาวะเกล็ดเลือดต่ำระดับ 3 ในช่วงสัปดาห์ที่ 9-24 ยิ่งไปกว่านั้น ผลการเปรียบเทียบค่ากลางของค่าเม็ดเลือดขาว, เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล และเกล็ดเลือดระหว่างกลุ่มคนไข้ที่มียีน *NUDT15* ปกติและกลุ่มที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* พบว่า กลุ่มที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนมีค่าดังกล่าวน้อยกว่าอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ [WBC (WT 2,100/mm³ กับ Var 1,200/mm³, $P = 0.008$), ANC (WT 809/mm³ กับ Var 127/mm³, $P = 2.13 \times 10^{-4}$) และ platelet count (WT 168,000/mm³ กับ Var 121,000/mm³, $P = 0.009$)] นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนมีแนวโน้มที่จะได้ระดับยาน้อยกว่ากลุ่มยีนปกติในช่วงสัปดาห์ที่ 9-24 (ระดับเปอร์เซ็นต์ dose intensity กลุ่มยีนปกติ 66.67%, กลุ่ม heterozygous variant 48.8% และ กลุ่ม homozygous variant 16.67%, $P = 0.056$) ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกด้วยวิธีวิเคราะห์หัตถดอยพหุ พบว่า ภาวะคิดเชื่อสัมพันธ์กับภาวะเกล็ดเลือดต่ำระดับ 3 ($P = 0.039$) ในช่วง 8 สัปดาห์แรกส่วนช่วงสัปดาห์ที่ 9-24 สัมพันธ์กับภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำระดับ 4 ($P = 0.013$) และภาวะเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลต่ำระดับ 4 ($P = 0.010$) นอกจากนี้ คนไข้ที่มีความผิดปกติของยีน *NUDT15* ในกลุ่มช่วงอายุ 1-9.9 ปี จะมีระดับ 6-MP dose tolerance ต่ำกว่าคนที่มียีนปกติ ($P = 0.009$) แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับยา 6-MP dose tolerance ในกลุ่มอายุ 10-15 ปี

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีน *NUDT15* ส่งผลกระทบต่อภาวะเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อใช้ยา 6-MP ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟบลาสแบบเฉียบพลัน โดยเฉพาะเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 10 ปี ดังนั้นจึงควรตรวจจีโนไทป์ของยีน *NUDT15* ก่อนได้รับยา 6-MP และปรับระดับยาตามแต่ละชนิดของจีโนไทป์