

Sự đa hình của một số gen liên quan đến quá trình dược động học của 6-mercaptopurin trên quần thể người Kinh Việt Nam

Phùng Thanh Hương^{1*}, Nguyễn Thế Thịnh¹, Võ Sỹ Nam²

¹ Trường Đại học Dược Hà Nội

² Viện Big Data, VinGroup

Summary

6-mercaptopurine (6-MP) is a chemotherapy with well-known severe toxicity on bone marrow. Various studies reported the associations between the toxicity of 6-MP with the polymorphism of four genes relating to 6-MP pharmacokinetics, including TPMT, ITPA, ABCC4 and NUDT15. A number of guidelines on adjustment of 6-MP dosage for certain polymorphic genotype of those genes in order to minimize adverse drug reactions. Application of such guidelines in clinical setting requires data on genetic polymorphisms of each population. In this article, we analyzed whole genome sequencing data from the 1000 genomes project to study the polymorphism of these 4 genes in Vietnamese Kinh population and evaluate the difference in allele frequencies with some other human populations. 42 polymorphic alleles of the 4 genes TPMT, ITPA, ABCC4, NUDT15 were found in Vietnamese Kinh people, of which some variants of the ABCC4 had very high frequencies of more than 0.8. There was no significant difference in variant frequencies between the Vietnamese Kinh population and the East Asian and South Asian populations. These results are necessary data for the implementation of personalized medicines in Vietnam.

Keywords: 6-mercaptopurine, TPMT, ITPA, ABCC4, NUDT15, Vietnamese Kinh population.

Đặt vấn đề

6-mercaptopurin (6-MP), là một loại thuốc hóa trị được sử dụng cho các bệnh ung thư và tự miễn dịch như bệnh bạch cầu dòng lympho cấp (ALL), bệnh bạch cầu mạn tính dòng tủy (CML), bệnh Crohn... 6-MP có nhiều tác dụng phụ như độc tính trên hệ tiêu hóa và đặc biệt là độc tính trên tủy xương, có thể gây tử vong.

Đã có nhiều nghiên cứu trên thế giới về vai trò của sự đa hình một số gen mã hóa các protein liên quan đến quá trình chuyển hóa hoặc vận chuyển của 6-MP, từ đó, làm thay đổi nồng độ của thuốc và các sản phẩm chuyển hóa. Trong số đó, có 4 gen quan trọng nhất là TPMT mã hóa enzym thiopurine-S-methyltransferase, NUDT15 mã hóa enzym nucleoside

diphosphate-linked moiety X motif, ITPA mã hóa enzym inosine triphosphate và ABCC4 mã hóa ATP Binding Cassette Subfamily C Member 4 (còn có tên gọi khác là multidrug resistance-associated protein 4 - MRP4), một protein vận chuyển thuốc qua màng tế bào. Những người mang các biến thể khác nhau của các gen này có thể có nồng độ 6-MP và/hoặc các sản phẩm chuyển hóa trong máu/ tế bào khác nhau, dẫn đến sự khác biệt về đáp ứng điều trị^[1, 2].

Một số hướng dẫn lâm sàng đã đưa ra khuyến cáo cần thay thuốc hoặc điều chỉnh liều với những bệnh nhân mang một số biến thể nhất định của gen TPMT và NUDT15 nhằm giảm thiểu nguy cơ độc tính cho bệnh nhân^[5]. Tuy nhiên, mỗi quần thể có đặc điểm di truyền khác nhau, dẫn đến mang những biến thể gen đặc trưng và với tần suất khác nhau. Việc triển khai các xét nghiệm sàng lọc gen này trong thực tế lâm sàng tại mỗi quốc gia tùy thuộc vào đặc điểm di truyền của quần thể dân tộc ở đó. Chính vì vậy, dữ liệu di truyền của mỗi quần thể là điều kiện quan trọng cho việc áp dụng xét nghiệm

Chịu trách nhiệm: Phùng Thanh Hương

Email: huongpt@hup.edu.vn

Ngày nhận: 21/7/2021

Ngày phân biên: 31/7/2021

Ngày duyệt bài: 25/10/2021

gen trong cá thể hóa điều trị nhằm lựa chọn đúng thuốc, đúng liều, đúng thời điểm cho từng bệnh nhân.

Trong bài báo này, chúng tôi đánh giá sự khác biệt về tần suất các alen của 4 gen *TPMT*, *ITPA*, *ABCC4*, *NUDT15* giữa quần thể người Kinh Việt Nam và một số quần thể người khác trên thế giới đồng thời phân tích mức độ đa hình của các gen này.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Dữ liệu trình tự gen được lấy từ cơ sở dữ liệu mở của dự án “1000 genomes”. Dự án được thực hiện bởi tổ chức Nguồn mẫu gen quốc tế (IGSR: International Gene Sample Resource) tại địa chỉ: <https://www.internationalgenome.org/data>. Số liệu được trích xuất từ giai đoạn 3 của dự án “1000 genomes” (kéo dài từ 2008 - 2015).

Phương pháp xác định các biến thể gen trong quần thể

Sử dụng các công cụ vcfTools, bcftools để lọc ra các biến thể nằm trên vùng exon của các gen. Vị trí các vùng exon trên nhiễm sắc thể của 4 gen được lấy từ: <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables>. Dữ liệu về các biến thể gen được thu thập trong quần thể người Kinh Việt Nam (KHV) và các quần thể so sánh, bao gồm người gốc Đông Á (EAS), người gốc Nam Á (SAS), người gốc châu Phi (AFR), người gốc châu Âu (EUR), người gốc châu Mỹ (AMR).

Xác định biến thể đa hình

Các đa hình được định nghĩa là các biến thể có tần suất > 0,01^[2]. Sử dụng công cụ vcfTools, bcftools để lọc ra các biến thể đa hình trên bộ

dữ liệu người Kinh Việt Nam. Xác định biến thể mới thông qua truy vấn trong cơ sở dữ liệu của Trung tâm Thông tin sinh học quốc gia Hoa Kỳ (NCBI).

Phương pháp so sánh tần suất alen

F_{ST} là chỉ số thể hiện sự khác biệt về tần suất của một alen giữa 2 quần thể khác nhau, nằm trong khoảng từ 0 - 1. Tần suất alen được xem là khác biệt giữa 2 quần thể khi $F_{ST} > 0,15$ ^[2]. Chỉ số F_{ST} giữa quần thể KHV so với lần lượt các quần thể khác sẽ được tính toán bằng công cụ bcftools, vcfTools trên tất cả các biến thể nằm trong vùng exon của 4 gen mã hóa các enzyme tham gia vào quá trình dược động học của 6-MP.

Kết quả nghiên cứu

Phân tích sự đa hình của 4 gen trong quần thể người Kinh Việt Nam

Các biến thể được coi là biến thể đa hình khi xuất hiện với tần suất trên 0,01 trong quần thể^[2]. Trong quần thể người Kinh Việt Nam, có 42 biến thể đa hình được ghi nhận (bảng 1), trong đó số lượng biến thể đa hình lớn nhất thuộc về gen *ABCC4* với 31 biến thể. Các gen còn lại có số lượng biến thể đa hình được ghi nhận không nhiều: *TPMT* (4), *NUDT15* (2), *ITPA* (5). Có 18 alen đa hình có tần suất lớn hơn alen nguyên thủy là alen mang nucleotid tham chiếu. Trong đó, một số alen đa hình có tần suất rất cao > 0,8 như rs1751034, rs1189466, rs1678339, rs899494 (gen *ABCC4*).

Không tìm thấy đa hình nào mới ở người Kinh Việt Nam khi truy vấn trong cơ sở dữ liệu của NCBI. Trong số các biến thể ghi nhận, có 1 biến thể kiểu xóa 1 nucleotid (rs4148552), còn lại là các biến thể dạng thay thế 1 nucleotid (SNP) là dạng biến thể đa hình thường gặp nhất.

Bảng 1. Các biến thể đa hình trong quần thể người Kinh Việt Nam

<i>rsID</i>	<i>Nucleotid tham chiếu</i>	<i>Tần suất alen nguyên thủy</i>	<i>Nucleotid thay thế</i>	<i>Tần suất alen đa hình</i>	<i>Loại đa hình</i>
<i>Gen TPMT</i>					
<i>rs7886</i>	T	0,242	A	0,758	SNP
<i>rs1142378</i>	T	0,222	G	0,778	SNP
<i>rs1142345</i>	T	0,975	C	0,025	SNP
<i>rs2842934</i>	G	0,238	A	0,763	SNP
<i>Gen NUDT15</i>					
<i>rs116855232</i>	C	0,939	T	0,061	SNP
<i>rs17071169</i>	T	0,919	G	0,081	SNP

Gen ABCC4					
rs3770	G	0,525	A	0,475	SNP
rs558773807	C	0,985	T	0,015	SNP
rs9516519	T	0,985	G	0,015	SNP
rs9516520	T	0,985	C	0,015	SNP
rs1059751	A	0,490	G	0,510	SNP
rs9516521	T	0,985	C	0,015	SNP
rs4148553	C	0,490	T	0,510	SNP
rs546378962	A	0,990	T	0,010	SNP
rs4148551	T	0,525	C	0,475	SNP
rs3742106	A	0,525	C	0,475	SNP
rs143080903	C	0,990	T	0,010	SNP
rs9302044	A	0,899	G	0,101	SNP
rs1189448	C	0,904	T	0,096	SNP
rs9561773	C	0,687	T	0,313	SNP
rs9561774	C	0,692	T	0,308	SNP
rs1751034	C	0,172	T	0,828	SNP
rs1189466	A	0,157	G	0,843	SNP
rs1189468	C	0,359	A	0,641	SNP
rs1678339	T	0,157	C	0,843	SNP
rs6650282	T	0,783	C	0,217	SNP
rs3765534	C	0,970	T	0,030	SNP
rs4148499	T	0,899	C	0,101	SNP
rs2274405	T	0,460	C	0,540	SNP
rs2274406	T	0,460	C	0,540	SNP
rs2274407	C	0,813	A	0,187	SNP
rs899494	A	0,111	G	0,889	SNP
rs11568658	C	0,884	A	0,116	SNP
rs11568689	G	0,990	C	0,010	SNP
rs11568681	G	0,960	T	0,040	SNP
rs3751333	G	0,833	A	0,167	SNP
rs4148552	AT	0,475	A	0,525	Xóa 1 nucleotid
Gen ITPA					
rs1127354	C	0,808	A	0,192	SNP
rs8362	G	0,359	A	0,641	SNP
rs4815576	G	0,404	C	0,596	SNP
rs9101	G	0,510	A	0,490	SNP
rs13830	G	0,803	A	0,197	SNP

(SNP: single nucleotide polymorphism – đa hình đơn nucleotid)

So sánh tần suất các biến thể giữa quần thể người Việt Nam và một số quần thể khác

Việc so sánh tần suất các biến thể của các gen liên quan đến quá trình dược động học của 6-MP giữa quần thể người Việt Nam với các quần thể đã áp dụng nhiều hướng dẫn trên lâm sàng là những tiền đề cần thiết cho việc từng bước triển khai áp dụng xét nghiệm gen trong sử dụng thuốc ở Việt Nam. Kết quả so sánh

(bảng 2) cho thấy sự khác biệt lớn về tần suất các biến thể chủ yếu là khi so với quần thể châu Phi (10). Các quần thể còn lại có số lượng biến thể khác biệt tương đối ít: Người Nam Á (2), châu Âu (3), châu Mỹ (4). Giữa quần thể người Kinh Việt Nam và quần thể người gốc Đông Á (EAS) không có biến thể nào thể hiện sự khác biệt về tần suất alen có ý nghĩa.

Bảng 2. Các biến thể có tần suất khác biệt với các quần thể khác trên thế giới

Tên gen chứa biến thể	Quần thể so sánh	Tên biến thể	F_{ST}	Tần suất trên người Kinh Việt Nam
ABCC4	AFR	rs1189448	0,290	0,096
	AFR	rs1189468	0,224	0,614
	AFR	rs6650282	0,353	0,217
	AFR	rs4148499	0,262	0,101
	AFR	rs1557070	0,193	0,000
	AFR	rs3751333	0,425	0,167
	AMR	rs1189448	0,178	0,096
	AMR	rs3751333	0,207	0,167
	EUR	rs1189448	0,248	0,096
	SAS	rs1189448	0,178	0,096
	SAS	rs3751333	0,164	0,167
	AFR	rs11568658	0,337	0,116
NUDT15	AFR	rs116855232	0,182	0,061
ITPA	AFR	rs1127354	0,155	0,192
	AFR	rs9101	0,450	0,490
	AFR	rs13830	0,160	0,197
	AMR	rs8362	0,204	0,641
	AMR	rs13830	0,166	0,197
	EUR	rs8362	0,210	0,641
TPMT	AFR	rs9465100	0,288	0,000

Bàn luận

Tần suất các biến thể gen phụ thuộc vào nguồn gốc tổ tiên, vùng địa lý [2]. Với 6-MP, mối quan hệ giữa độc tính khi sử dụng thuốc và tần suất alen của các gen liên quan đến quá trình dược động học đã được thiết lập từ lâu tại nhiều quốc gia, nhiều quần thể trên thế giới và được ứng dụng trong các hướng dẫn lâm sàng để điều chỉnh liều, thay thế thuốc phù hợp cho các nhóm bệnh nhân có kiểu gen khác nhau [1, 5]. Ví dụ như theo Hiệp hội Thực hành Gen Dược trong lâm sàng (CPIC), những người mang biến thể làm mất hoạt tính enzym TPMT cần giảm liều 6-MP xuống 10 lần để giảm độc tính [5]. Để ứng dụng xét nghiệm gen trong cá thể hóa điều trị, điều kiện tiên quyết là cần có những dữ liệu về mức độ đa hình của gen cần quan tâm trong quần thể và các biến thể có tần suất cao, có ý nghĩa lâm sàng để lựa chọn đưa vào xét nghiệm. Cho đến nay, có rất ít công bố về sự đa hình các gen liên quan đến dược động học của 6-MP trên quần thể người Việt Nam. Nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được 42 biến thể đa hình của 4 gen *TPMT*, *ITPA*, *ABCC4*, *NUDT15*

trong quần thể người Kinh Việt Nam. Đây là nghiên cứu đầu tiên thiết lập được danh sách này. Trước đó, các nghiên cứu về các gen này trên quần thể người Việt Nam chủ yếu là nghiên cứu bệnh chứng, tập trung vào một số biến thể nhất định, ví dụ rs1142345, rs1800460 (gen *TPMT*), rs1127354 (gen *ITPA*), rs1800462, rs1800460, rs75543815, rs1142345 (gen *TPMT*) [4, 8]. Một điều đáng chú ý là tồn tại khá nhiều đa hình có tần suất lớn hơn so với alen nguyên thủy trên hệ gen tham chiếu. Điều này khẳng định tính đặc trưng về quần thể trong các gen liên quan tới quá trình dược động học của 6-MP của người Kinh Việt Nam. Những dữ liệu về sự đa hình gen này là cơ sở quan trọng cho việc lựa chọn các biến thể gen ứng viên cho các nghiên cứu bệnh chứng nhằm đánh giá ý nghĩa lâm sàng và khả năng đưa vào ứng dụng trong thực tế để cá thể hóa điều trị.

Hiện nay, nhiều nghiên cứu và hướng dẫn lâm sàng đã được đưa ra để giúp lựa chọn đúng thuốc, đúng liều cho từng cá thể mang kiểu gen nhất định, nhằm đạt được hiệu quả và giảm thiểu tác dụng không mong muốn [1, 7].

Mỗi hướng dẫn lâm sàng này là kết quả của những nghiên cứu trên những quần thể khác nhau. Việc áp dụng một hướng dẫn lâm sàng của một quần thể nhất định sẽ chỉ có giá trị thực sự khi áp dụng với những chủng tộc có đặc điểm di truyền tương tự. Chính vì vậy, việc so sánh tần suất các biến thể của các gen liên quan đến quá trình dược động học của 6-MP giữa quần thể người Việt Nam với các quần thể đã áp dụng nhiều hướng dẫn trên lâm sàng là những tiền đề cần thiết cho việc từng bước triển khai áp dụng xét nghiệm gen trong sử dụng thuốc ở Việt Nam.

Kết quả so sánh tần suất các alen của 4 gen liên quan đến quá trình dược động học của 6-MP trên quần thể người Việt Nam với 5 quần thể lớn khác cho thấy có sự tương đồng cao về tần suất với quần thể Đông Á và sau đó là Nam Á. Trong khoảng 10 năm gần đây, có nhiều nghiên cứu về mối liên quan giữa các đa hình gen *TPMT*, *NUDT15*, *ABCC4* và *ITPA* với độc tính khi dùng 6-MP ở người Đông Á và Nam Á [3,4,6,9]. Như vậy, các biến thể trong các nghiên cứu này có thể là những ứng viên phù hợp cho những nghiên cứu bệnh chứng trên quần thể người Việt Nam để xác định những chỉ dấu di truyền có thể ứng dụng trong cá thể hóa khi dùng 6-MP trên người Việt Nam. Đặc biệt là các biến thể có tần suất cao trong nghiên cứu của chúng tôi và đã được khẳng định mối liên hệ với độc tính thuốc trong y văn như rs8362 (0,641), rs9101 (0,490) nằm trên gen *ITPA* [3,9].

Kết luận

Đã xác định được 42 biến thể đa hình của 4 gen *TPMT*, *ITPA*, *ABCC4*, *NUDT15* trong quần thể người Kinh Việt Nam. Trong đó, một số biến thể đa hình có tần suất rất cao (> 0,8) như rs1751034, rs1189466, rs1678339, rs899494 thuộc gen *ABCC4*. Tần suất của các biến thể có sự tương đồng cao với quần thể người Đông Á và Nam Á.

Tài liệu tham khảo

1. Alice Matimba (2014), "Thiopurine pharmacogenomics: Association of SNPs with clinical response and functional validation of candidate genes", *Pharmacogenomics*, 15 (4), pp. 433-447.
2. Hartl D. L. (1997), *Principles of Population Genetics*, Sinauer Associates Inc. Publisher, Sunderland-Massachusetts-USA, pp.109.
3. Kim H. (2012), "Pharmacogenetic analysis of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia: A possible association between survival rate and itpa polymorphism", *Plos one*, 7 (9), e45558, pp. 3-4.
4. Lee S. S. (2008), "Duplex pyrosequencing of the *TPMT**3C and *TPMT**6 alleles in Korean and Vietnamese populations", *Clinica Chimica Acta*, 398(1-2), pp. 82-85.
5. Mary V. Relling (2019), "Clinical pharmacogenetics implementation consortium (cpic) guideline for thiopurine dosing based on *TPMT* and *NUDT15* genotypes: 2018 update", *Clin. Pharmacol. Ther. May*, 105 (5), pp. 1095–1105.
6. Nagamine A. (2012), "Effect of genetic polymorphisms on effectiveness of low-dose azathioprine in Japanese patients with systemic lupus erythematosus", *American Journal of Health-System Pharmacy*, 69, pp. 2075.
7. Tiphaine Adam de Beaumais (2012), "Pharmacogenetic determinants of mercaptopurine disposition in children with acute lymphoblastic leukemia", *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 68 (9), pp.1233-1242.
8. Vu H. P. T. (2015), "Comparative pharmacogenetic analysis of risk polymorphisms in Caucasian and Vietnamese children with acute lymphoblastic leukemia: Prediction of therapeutic outcome", *British Journal of Clinical Pharmacology*, 79 (3), pp. 429-440.
9. Zhou H. (2018), "Optimal predictor for 6-mercaptopurine intolerance in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia: *NUDT15*, *TPMT*, or *ITPA* genetic variants?", *BMC cancer*, 18 (1), pp. 516.