

# Nye styringsverktøy for tiopuriner i leukemi- og transplantasjonsbehandling

**Bakgrunn.** Cytostatika er tradisjonelt blitt administrert med doseringsregimer nær opp mot det toksiske.

**Materiale og metode.** I denne artikkelen gir vi en oversikt over tilgjengelig kunnskap om tiopuriner og de kliniske implikasjonene som følge av genetisk polymorfisme i tiopurin-S-metyltransferase (TPMT).

**Resultater.** Tiopuriner, for eksempel 6-merkaptopurin (6-MP), metaboliseres intracellulært via en anabol metabolismevei til cytotoxiske 6-tioguanin-nukleotider (6-TGN), som inkorporeres i DNA eller RNA. Den konkurrerende metabolismeveien er S-metylering av 6-MP og initiale metabolitter ved TPMT. Hos barn med akutt lymfatisk leukemi er det en korrelasjon mellom høye erytrocyttkonsentrasjoner av 6-TGN og grad av leukopeni og god prognose, mens lave konsentrasjoner synes å være forbundet med høyere risiko for tilbakefall. I de fleste populasjonsundersøkelser som er foretatt frem til i dag, har ca. 10% av befolkningen intermedieær TPMT-aktivitet på grunn av heterozygositet i TPMT-locus, mens 1/300 ikke har TPMT-aktivitet på grunn av mutasjoner i begge TPMT-allelene.

**Fortolkning.** Ved hjelp av fenotyping eller genotyping er det mulig å identifisere pasienter med defekt eller intermedieær tiopurinmetabolisme, for så å foreslå henholdsvis uttalt eller moderat reduksjon av dosen for å unngå hematopoetisk toksisitet.

Tiopurinene ble oppdaget og tatt i klinisk bruk for 50 år siden (1) I Norge er det nå to tiopuriner i klinisk bruk: azatioprin (AZA; Imurel) og 6-merkaptopurin (6-MP; PuriNethol). Det viktigste indikasjonsområdet for AZA, som er en prodrug til 6-MP, er immunsuppresjon ved organtransplantasjoner, mens 6-MP anvendes i kombinasjon med metotreksat til vedlikeholdsbehandling av akutt lymfatisk leukemi hos barn. Her i landet er azatioprin dessuten godkjent til bruk ved inflammatoriske autoimmune sykdommer, for eksempel Crohns sykdom og ulcerøs kolitt (2).

**Thrina Loennechen**

thrinal@farmasi.uit.no

**Roy Andre Lysaa**

**Trude Giverhaug**

Avdeling for farmakologi

Institutt for farmasi

**Ingebrigt Sylte**

Farmakologisk avdeling

Institutt for medisinsk biologi

**Lars-Eirik Mathiesen**

Avdeling for farmakologi

Institutt for farmasi

**Jarle Aarbakke**

Farmakologisk avdeling

Institutt for medisinsk biologi

Universitetet i Tromsø

9037 Tromsø

Loennechen T, Lysaa RA, Giverhaug T, Sylte I, Mathiesen L-E, Aarbakke J.

## New techniques for optimization of thiopurine therapy in leukaemia and transplantation.

*Tidsskr Nor Lægeforen 2002; 122: 1107–10.*

**Background.** The majority of chemotherapeutic agents are administered at fixed doses that are close to those maximally tolerated.

**Material and methods.** This review is based on current knowledge about the metabolism of thiopurines and the clinical implications of genetic polymorphism in thiopurine-S-methyltransferase (TPMT).

**Results.** Intracellularly thiopurines, e.g. 6-MP, are anabolized to cytotoxic 6-thioguanine nucleotides (6-TGN) that are incorporated into DNA and RNA. A competing pathway is S-methylation of 6-MP and its initial nucleotide metabolites by TPMT. In childhood acute lymphocytic leukaemia, high erythrocyte concentrations of 6-TGN correlate with the degree of leukopenia and a good prognosis, while low concentrations appear to be associated with higher risk of relapse. In most populations studied, approximately 10% have intermediate TPMT activity and 1/300 lacks TPMT activity due to one or two mutant TPMT alleles, respectively.

**Interpretation.** Phenotyping or genotyping may be used to identify patients as deficient or intermediate thiopurine metabolizers. This suggests that they should receive a profound or moderate reduction in dosage to avoid haematopoietic toxicity.

Tiopuriner brukes ved tilstander der det tar tid (måned) før man kan evaluere ønskede kliniske effekter og bivirkninger (3). De alvorligste bivirkningene, slik som beinmargshemming, er potensielt livstruende. Avstanden mellom en dose som gir ønsket klinisk effekt og en dose som gir livstruende bivirkninger, er liten. På grunn av interindividuelle variasjoner i metabolismen av tiopuriner kan en og samme dose være subterapeutisk for en pasient og livstruende for en annen. Inntil for få år siden ble tiopurinbehandling utelukkende styrt på grunnlag av tellinger av leukocytter og blodplater og av kliniske funn, noe som tidligst gir mulighet for korrigerende av dosen ca. en uke etter behandlingsstart. Man ønsket seg derfor diagnostiske tester som kunne forutsi den enkelte pasients evne til tiopurinmetabolisme.

I denne artikkelen vil vi gi en oversikt over ny viten innen feltet farmakogenetikk som ligger til grunn for utviklingen av mer rasjonell tiopurinterapi (4).

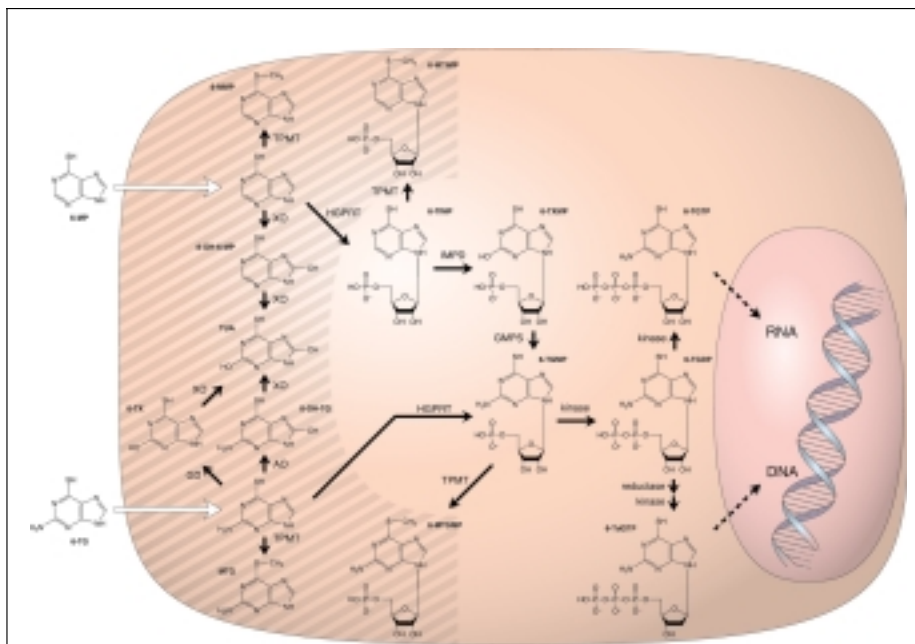
## Metabolisme og virkningsmekanismer

Tiopuriner er antimetabolitter og følger samme metabolismeveier som endogene puriner (fig 1) (3).

Den første metabolismeveien for 6-MP er ribofosorylering ved enzymet hypoxantinguanin-fosforibosyl-transferase (HGPRT), som gir 6-TGN, en gruppe aktive metabolitter som inkluderer mono-, di- og trifosorylerte ribo- og deoksyribonukleotider av 6-tioguanin. I celler med cellekjerne vil 6-TGN bli inkorporert i DNA og RNA som falske nukleotider og representerer på den måten det aktive prinsipp (5).

Den andre metabolismeveien for 6-MP er metylering ved tiopurinmetyltransferase (TPMT), som gir vesentlig inaktive, men også noen aktive metabolitter (fig 1). Forbruket av metyldonoren S-adenosylmetionin ved metylering av tiopuriner kan føre til hypometylering av DNA, hvilket igjen kan gi endringer i transkripsjon av gener og påvirke cellereplikasjon (5). Både 6-MP og metylerede tiopurinmetabolitter kan for øvrig hemme de novo purinribonukleotidsyntese via feedbackkontroll (5) eller påvirke ATP- og GTP-konsentrasjoner (6), med de følger dette kan ha for celleveksten.

Den tredje metabolismeveien, oksidasjon av 6-MP til tiourinsyre ved xantinoksidase, er en inaktiverende metabolismevei (fig 1).



**Figur 1** De viktigste intracellulære metabolismeveiene for tiopuriner. Det stripe området markerer katabolske og/eller detoksifiseringsruiter som inaktiverer tiopurinene fra inkorporering i nukleinsyrene DNA og RNA. Det ikke-stripe området dekker anabole metabolismeveier som fører til aktivisering av tiopurinene via enzymet hypoxantin-guanylribosyl-transferase (HGPRT) og inkorporering i nukleinsyrene DNA og RNA, hovedårsaken til at tiopurinene har cytotoxisk effekt (AO, aldehydoksidase; DNA, deoksiribonukleinsyre; GD, guanindeaminase; GMPS, guanylat-monofosfat-syntetase; IMPD, inosinmonofosfat-dehydroksylase; 6-MMP, 6-(S-metyl)merkaptopurin; 6-MP, 6-merkaptopurin; MTG, 6-(S-metyl)tioguanin; 6-MTGMP, 6-(S-metyl)tioguanosin monofosfat; 6-MTIMP, 6-(S-metyl)tiioinosin monofosfat; 8-OH-6-MP, 8-hydrokxy-6-merkaptopurin; 8-OH-TG, 8-hydrokxy-tioguanin; RNA, ribonukleinsyre; 6-TdGTP; 6-tiodehydrokxyguanosin trifosfat; 6-TG, 6-tioguanin; 6-TGDP, 6-tioguanosin difosfat; 6-TGMP, 6-tioguanosin monofosfat; 6-TGN, 6-tioguanin nukleotider; 6-TGTP, 6-tioguanosin trifosfat; 6-TIMP, 6-tiioinosin monofosfat; TPMT, tiopurin metyltransferase; 6-TX, 6-tioxantin; 6-TXMP; 6-tioxantoin monofosfat; TUA, 6-tiourinsyre; XO, xantinoksidase.)

Enzymet har høyest aktivitet i tarm og lever (3), en lokalisering som fører til høy «first-pass»-effekt (det vil si metabolisme av legemidlet i lever før det når systemisk kretsløp) og følgelig lav biotilgjengelighet av tiopuriner gitt oralt.

### TPMT – et nøkkelenzym

Metylering av 6-MP via TPMT og ribosyforlyring via HGPRT av tiopuriner er konkurrerende metabolismeveier (fig 1). Det er vist sammenheng mellom TPMT-aktivitet og klinisk resultat av tiopurinbehandling (3), og kunnskap om TPMT og dets funksjon blir derfor viktig når det gjelder forståelse av det kliniske resultatet av tiopurinbehandling.

### Biokjemiske egenskaper

TPMT (EC 2.1.1.67) er et S-adenosyl-L-metionin (AdoMet)-avhengig cytoplasmatisk enzym som fortrinnsvis katalyserer S-metylering av aromatiske og heterosykliske sulfhydrylforbindelser, som tiopurinene 6-MP, AZA og 6-TG (7). En relativt bred substratspesifisitet og det forhold at ingen endogene substrater er kjent for TPMT, gjør at dets

prinsipielle biologiske rolle fremstår som en generelt detoksifiserende, liksom andre xenobiotikametaboliserende enzymer (7). TPMT er påvist i de fleste humane vev. TPMT-aktiviteten i røde blodceller korrelerer godt med aktiviteten av enzymet i andre vev, noe som gjør erythrocytter egnet for måling av denne enzymaktiviteten hos mennesker. Videre vil 6-TGN være de metabolske endeproduktene av tiopuriner i celler uten cellekjerne. De vil blant annet akkumuleres i erythrocytter, noe man alternativt kan benytte seg av ved terapeutisk monitorering av 6-MP.

### Genetisk polymorfisme

Aktiviteten av TPMT viser store interindividuelle variasjoner og er kontrollert bl.a. ved genetisk polymorfisme. Flere store populasjonsstudier har vist en trimodal frekvensfordistribusjon av TPMT-aktivitet i erythrocytter. Weinshilboum & Sladek viste at 88,6% av befolkningen hadde høy TPMT-aktivitet, 11,1% intermedieær aktivitet og 0,3% (én av 300 individer) ingen påviselig aktivitet (8). Familiestudier har bekreftet at TPMT-akti-

viteten nedarves som en autosomal kodominant egenskap.

Genet for TPMT, som er klonet og lokalisert til kromosom 6p22.3 (9), har en størrelse på 34 kilobaser. Det består av ti eksoner og ni introner og koder for et lite protein med 245 aminosyrer. Det er inntil nå rapportert 13 ulike TPMT-alleler, hvorav 11 muterte alleler er assosiert med nedsatt TPMT-aktivitet (10).

Figur 2 viser forskjellige alleler. Alle unntatt villtype (wt)-alleler og alleler med stille mutasjoner gir opphav til ikke-funksjonelt protein eller gjør at proteinet blir tilgjengelig for proteolytisk aktivitet (10). Transkripsjon og translasjonshastigheter for *TPMT*\*2-, \*3A-, \*3B- og \*3C-allelene er sammenliknbare med wt-allelet, men proteinet som kommer fra de muterte allelene, har kortere halveringstid og dermed lavere TPMT-aktivitet. I USA og Europa er de vanligste muterte TPMT-allelene *TPMT*\*3A-, \*3C- og \*2 (fig 2). I Afrika og Asia, liksom i den samiske befolkning, er \*3C-allelet det vanligste (10, 11).

I promotorregionen i 5' ende av TPMT-genet finner man i tillegg en annen type genetisk polymorfisme (12) forårsaket av et «variabelt antall tandemrepetisjoner» (VNTR), varierende fra fire til åtte repeterende enheter. Hver repeterende enhet består av 17 eller 18 basepar og inneholder et potensielt bindingssted for transkripsjonsfaktoren Sp 1. Det er vist en negativ korrelasjon mellom det totale antall repeterende enheter og TPMT-aktivitet.

### Ikke-genetiske faktorer som påvirker TPMT-aktivitet

TPMT-aktivitet varierer også med faktorer som kjønn, alder, kronisk sykdom, etnisk bakgrunn og legemiddelbruk (3–5). I noen studier har man ikke klart å påvise kjønnsforskjell i TPMT-aktivitet, i andre er det vist at menn har en høyere enzymaktivitet enn kvinner (13). Det er 50% høyere aktivitet hos nyfødte i forhold til hos voksne, og ca. 10% høyere aktivitet hos barn under fem år i forhold til dem over fem år. Kronisk sykdom som uremi er blitt forbundet med høy TPMT-aktivitet (14). I kliniske studier er det indikasjoner på at 6MP og azatioprin inducerer aktiviteten av TPMT, mens TPMT-aktiviteten varierer lite over tid hos friske frivillige individer (15). Langtidsbehandling med diuretika øker aktiviteten av TPMT (16), mens akutt in vitro-hemming er observert med de samme substansene i erythrocytter in vitro (17). En rekke farmaka hemmer TPMT-aktiviteten, deriblant salisylsyre, sulfasalazin, S-adenosylhomocystein og sinefungin (18).

### Aktuelle metoder for predikering av evne til tiopurinomdannning

#### Fenotyping av TPMT

Fenotyping av TPMT gjøres ved å bestemme TPMT-aktiviteten i erythrocytter isolert

fra helblod (19). Denne prosedyren er tidkrevende og er uegnet dersom pasienten har fått blodoverføring i løpet av de 2–3 siste månedene (10).

### Genotyping

Kunnskap om sammenheng mellom mutasjoner og enzymaktivitet gjør det mulig å forutsi pasientens individuelle metaboliseringskapasitet. Påvisning av A719G-mutasjonen, som er felles for både TPMT\*3A (A719G og G460A) og -\*3C (A719G), identifiserer 100 % av den delen av en samisk og ca. 90 % av en hvit kaukasisk befolkning som må ha lavere tiopurindoser enn øvrige 90 % av de respektive befolkningene for å unngå alvorlig beinmargshemming (11).

Genotyping er enklere å utføre enn fenotyping. Det kreves 1 µl DNA, som tilsvarer 100 µl helblod. Metoden er rask og billig og resultatet er ikke påvirket av blod fra tidligere transfusjoner.

### Måling av intracellulære metabolitter

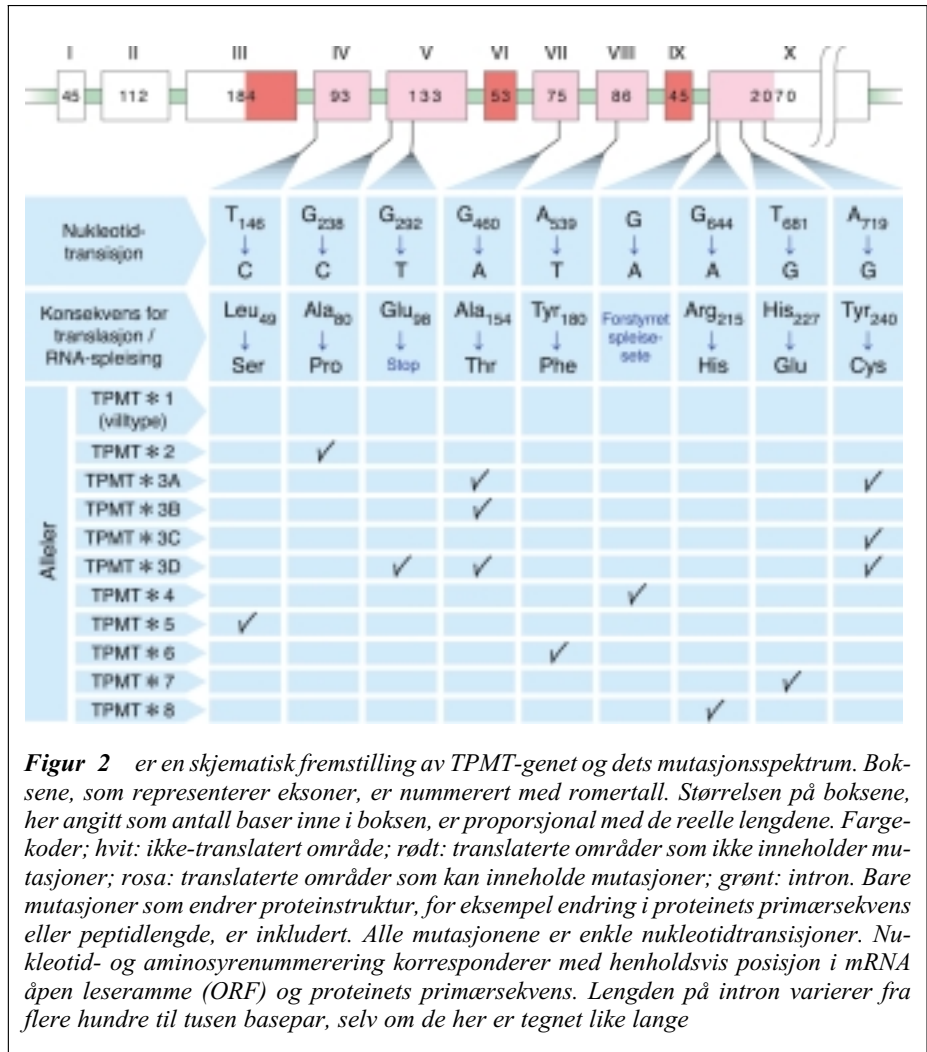
Rasjonalt for måling av 6-TGN er at inkorporering i målcellenes DNA utgjør et første trinn i virkningsmekanismen for tiopuriner (fig 1) og er relatert til effekt/bivirkning. 6-TGN er det metabolske endeproduktet i celler uten cellekjerne, og kan måles i erytrocytter (20).

TPMT er sentral i metabolismen av tiopuriner på ulike nivåer i metabolismekartet (3) (fig 1), og både 6-MP-, 6-TG- og 6-MP-nukleosider og nukleotider er substrater for TPMT. Metylerede metabolitter er dels inaktive og dels aktive, blant annet i hemming av de novo-purinsyntese (5). Intracellulære metylerte 6-MP-metabolitter (6MMP) kan måles ved hjelp av ulike høytrykksvæske kromatografiske (HPLC) metoder etter hydrolyse av cellelysat (20).

### Styring av tiopurindosering ved akutt lymfatisk leukemi

Peroralt 6-MP benyttes i ambulant vedlikeholdsbehandling av akutt lymfatisk leukemi etter oppnådd remisjon (21). En standarddose av 6-MP gir uttalt og langvarig nøytropeni og dermed dårlig behandlingsresultat hos pasienter med lav TPMT-aktivitet (21). Pasienter med intermedieær TPMT-aktivitet utgjør ca. 10 % av befolkningen, noe som tilsier at det vil være lønnsomt å gjøre TPMT-fenotyping eller -genotyping før behandling av barn med akutt lymfatisk leukemi.

Det er vist at plasma-6-TGN-verdier > 275 pmol  $8 \cdot 10^{-8}$  i erytrocytter gir betydelig leukopeni (22). En alternativ strategi i forhold til fenotyper eller genotyping før behandling vil derfor være å gi en testdose 6-MP med påfølgende måling av 6-TGN-nivåer for å unngå beinmargshemming. Pasienter med lav eller intermedieær TPMT-aktivitet vil da ha høye 6-TGN-verdier, fordi mindre tiopurin går langs den konkurrerende metabolismeveien. Dette gjelder også pa-



**Figur 2** er en skematisk fremstilling av TPMT-genet og dets mutasjonsspektrum. Boksene, som representerer eksoner, er nummerert med romertall. Størrelsen på boksene, her angitt som antall baser inne i boksen, er proporsjonal med de reelle lengdene. Fargekoder; hvit: ikke-translatert område; rødt: translaterede områder som ikke inneholder mutasjoner; rosa: translaterede områder som kan inneholde mutasjoner; grønt: intron. Bare mutasjoner som endrer proteinstruktur, for eksempel endring i proteinets primærsekvens eller peptidlengde, er inkludert. Alle mutasjonene er enkle nukleotidtransisjoner. Nukleotid- og aminosyrenummerering korresponderer med henholdsvis posisjon i mRNA åpen leseramme (ORF) og proteinets primærsekvens. Lengden på intron varierer fra flere hundre til tusen basepar, selv om de her er tegnet like lange

sienter som får behandling med 6-tioguanin (ikke registrert i Norge), ettersom dette også er substrat for TPMT (23).

Det er viktig at man også tar hensyn til en variasjon på opptil 5–7 ganger i TPMT-aktivitet innen gruppen individer med høy aktivitet (21). Fenotyping av TPMT i erytrocytter gir i så måte et øyeblikksbilde av TPMT-aktiviteten hos pasienten.

Videre vil dosering av 6-MP til pasienter innen de respektive gruppene høy, intermedieær og lav med hensyn på TPMT-aktivitet også kunne veiledes ved bestemmelser av erytrocyttnivå av 6-MP-metabolitter. Måling av både 6-TGN og 6-MMP er den beste måten å teste om legemidlet 6-MP er inntatt, dvs. som kontroll av etterlevelse (compliance) (24).

Det er rapportert en mulig sammenheng mellom lav TPMT-aktivitet og høye nivåer av 6-TGN og metylerte metabolitter etter 6-MP-behandling av pasienter med akutt lymfatisk leukemi som senere har utviklet hjer-netumorer (25), akutt myelogen leukemi og myelodysplasi.

I en felles nordisk protokoll har man også sett at dersom metotreksat (MTX) og 6-MP gis samtidig, vil metotreksat forsterke om-

danningen av 6-MP til aktive metabolitter, samtidig som de to medikamentene gjensidig forsterker hverandres effekt på celler i deling.

### Styring av tiopurindosering ved nyretransplantasjoner

Standard trippelbehandling ved nyretransplantasjon har lenge vært ciklosporin, steroider og azatioprin (26). Azatioprin omdannes raskt til 6-MP in vivo. Ved fenotyping og genotyping av TPMT identifiseres pasienter som trenger betydelig dosereduksjon av azatioprin. Farmakokinetikken til stoffet ved nyretransplantasjonskirurgi karakteriseres for øvrig av betydelig interindividuell og intraindividuell variabilitet. Det er derfor behov for teknikker utover TPMT-tester for å styre doseringen.

### Styring av tiopurindosering ved behandling av andre tilstander

Hos hjertetransplanterte (27), hos pasienter med revmatologiske lidelser, inflammatorisk tarmsykdom (28), dermatologiske (29) og hematologiske lidelser (22) er det også vist en sammenheng mellom høy TPMT-ak-



tiviteten og betydelig beinmargshemming ved standard azatioprin-dosering. Hos pasienter med inflammatoriske tarmsykdommer er TGN-nivå  $> 235$  pmol per  $8 \cdot 10^{-8}$  erytrocytter forbundet med bedre terapeutisk respons. Det er også vist mindre hepatotoksitet med 6-MMP-nivåer som er under 5 700 pmol per  $8 \cdot 10^{-8}$  erytrocytter (30).

### Konklusjon

Tiopurinterapi styres i dag primært ved hjelp av klinisk bilde, måling av nøytrofile granulocytter og blodplater. Genotyping eller fenotyping av TPMT vil kunne identifisere en liten, men viktig gruppe pasienter som må ha betydelig dosereduksjon for å unngå uttalt beinmargshemming. Testing bør derfor gjøres før start av tiopurinbehandling. Ytterligere optimalisering av behandlingen kan oppnås ved monitorering av intracellulære erytrocytt-purinmetabolitter, hvilket i tillegg kan fungere som en viktig kontroll av pasientetterlevelse.

### Litteratur

1. Aarbakke J. Nobelprisen i fysiologi og medisin 1988. Tidsskr Nor Lægeforen 1988; 108: 3180–1.
2. Thomsen MK, Vilien M, Gerner CU. Azathioprinbehandling af Crohns sygdom. Ugeskr Læger 2000; 162: 323–6.
3. Aarbakke J, Janka-Schaub G, Elion GB. Thiopurine biology and pharmacology. Trends Pharmacol Sci 1997; 18: 3–7.
4. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. Science 1999; 286: 487–91.
5. Krynetski EY, Tai H-L, Yates CR, Fessing MY, Loennechen T, Schuetz JD et al. Genetic polymorphism of thiopurine S-methyltransferase: clinical importance and molecular mechanisms. Pharmacogenetics 1996; 6: 279–90.
6. Weigel G, Griesmacher A, DeAbreu RA, Wolner E, Mueller M. Azathioprine and 6-mercaptopurine alter the nucleotide balance in endothelial cells. Thromb Res 1999; 94: 87–94.
7. Weinshilboum RM, Otterness DM, Szumlanski CL. Methylation pharmacogenetics: catechol O-methyltransferase, thiopurine methyltransferase and histamine N-methyltransferase. Ann Rev Pharm Tox 1999; 39: 19–52.
8. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. Am J Hum Genet 1980; 32: 651–62.
9. Szumlanski C, Otterness D, Her C, Lee D, Brandriff B, Kelsell D et al. Thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: human gene cloning and characterization of a common polymorphism. DNA Cell Biol 1996; 15: 17–30.
10. McLeod AL, Krynetski EY, Evans WE. Genetic polymorphism of thiopurine methyltransferase and its clinical relevance for childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 2000; 14: 567–72.
11. Loennechen T, Utsi E, Hartz I, Lysaa R, Kildalsen H, Aarbakke J. Detection of one single mutation predicts thiopurine S-methyltransferase activity (TPMT) in a population of Saami in Northern Norway. Clin Pharm Ther 2001; 70: 183–8.
12. Yan L, Zhang S, Eiff B, Szumlanski CL, Powers M, O'Brien JF et al. Thiopurine methyltransferase polymorphic tandem repeat: genotype-phenotype correlation analysis. Clin Pharmacol Ther 2000; 68: 210–9.
13. Klemetsdal B, Wist E, Aarbakke J. Gender difference in red blood cell thiopurine methyl-

transferase activity. Scand J Clin Lab Invest 1993; 53: 747–9.

14. Pazmiño PA, Sladek SL, Weinshilboum RM. Thiol S-methylation in uremia: erythrocyte enzyme activities and plasma inhibitors. Clin Pharmacol Ther 1980; 28: 356–67.
15. Giverhaug T, Klemetsdal B, Lysaa R, Aarbakke J. Intraindividual variability in red blood cell thiopurine methyltransferase activity. Eur J Clin Pharmacol 1996; 50: 217–20.
16. Klemetsdal B, Straume B, Wist E, Aarbakke J. Identification of factors regulating thiopurine methyltransferase activity in a Norwegian population. Eur J Clin Pharm 1993; 44: 147–52.
17. Lysaa RA, Giverhaug T, Wold HL, Aarbakke J. Inhibition of human thiopurine methyltransferase by furosemide bendroflumethiazide and trichlormethiazide. Eur J Clin Pharmacol 1996; 49: 393–6.
18. Deininger M, Szumlanski CL, Otterness DM, Van Loon J, Ferber W, Weinshilboum RM. Purine substrates for human thiopurine methyltransferase. Biochem Pharmacol 1994; 48: 2135–8.
19. Weinshilboum RM, Raymond FA, Pazmiño PA. Human erythrocyte thiopurine methyltransferase: radiochemical microassay and biochemical properties. Clin Chim Acta 1978; 85: 323–33.
20. Giverhaug T, Bergan S, Loennechen T, Rugstad HE, Aarbakke J. Analysis of methylated 6-mercaptopurine metabolites in human red blood cells: comparison of two methods. Ther Drug Monit 1997; 19: 663–8.
21. Relling MV, Hancock ML, Boyett JM, Pui C-H, Evans WE. Prognostic importance of 6-mercaptopurine dose intensity in acute lymphoblastic leukemia. Blood 1999; 93: 2817–23.
22. Lennard L. Therapeutic drug monitoring of antimetabolic cytotoxic drug. Br J Clin Pharmacol 1999; 47: 131–43.
23. McBride KL, Gilchrist GS, Smithson WA, Weinshilboum RM, Szumlanski CL. Severe 6-thioguanine-induced marrow aplasia in a child with acute lymphoblastic leukemia and inherited thiopurine methyltransferase deficiency. J Pediatr Haematol Oncol 2000; 22: 441–5.
24. Lilleyman JS, Lennard L. Non-compliance with oral chemotherapy in childhood leukemia. An overlooked and costly cause of late relapse. BMJ 1996; 313: 1219–20.
25. Relling MV, Rubnitz JE, Rivera GK, Boyett JM, Hancock ML, Felix CA et al. High incidence of secondary brain tumours after radiotherapy and antimetabolites. Lancet 1999; 354: 34–9.
26. Bergan S. Optimisation of azathioprine immunosuppression after organ transplantation by pharmacological measurements. BioDrugs 1997; 8: 446–56.
27. Sebbag L, Boucher P, Davelu P, Boissonnat P, Champsaur G, Ninet J et al. Thiopurine S-methyltransferase gene polymorphism is predictive of azathioprine-induced myelosuppression in heart transplant recipients. Transplantation 2000; 69: 1524–7.
28. Black AJ, McLeod HL, Capell HA, Powrie RH, Matowe LK, Pritchard SC et al. Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. Ann Intern Med 1998; 129: 716–8.
29. Snow JL, Lawrence ChB, Gibson E. The role of genetic variation in thiopurine methyltransferase activity and the efficacy and/or side effects of azathioprine therapy in dermatologic patients. Arch Dermatol 1995; 131: 193–7.
30. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sennett D, Théorêt Y et al. Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2000; 118: 705–13.

○