

MTRR 和 SLCO1B1 基因多态性与 ALL 患儿 MTX 血药浓度及 HD-MTX 致不良反应的相关性研究[△]

何霞^{1,2*}, 姚平立³, 吴宇³, 侯正尧³, 李星星³, 陈璐^{1,2,3}, 张丽娟^{1,2}, 杨思芸^{4,5}, 肖洪涛^{1,2,3}, 童荣生^{1,2,3}[#](1.四川省医学科学院/四川省人民医院药学部, 成都 610072; 2.四川省医学科学院/四川省人民医院个体化药物治疗四川省重点实验室, 成都 610072; 3.电子科技大学医学院, 成都 611731; 4.南充市中心医院药学部, 四川南充 637900; 5.个体化药物治疗南充市重点实验室, 四川南充 637900)

中图分类号 R968 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)24-3428-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.21

摘要 目的:研究 MTRR 基因 rs1801394 位点、SLCO1B1 基因 rs11045879 位点多态性与急性淋巴细胞白血病(ALL)患儿甲氨蝶呤(MTX)血药浓度及大剂量甲氨蝶呤(HD-MTX)致不良反应的相关性。方法:回顾性收集 2015 年 10 月—2018 年 9 月四川省人民医院收治的接受 HD-MTX 治疗且处于巩固化疗期的四川地区汉族 ALL 住院患儿 70 例,采用均相酶扩大免疫法检测患儿给药后 48、72 h 时的血药浓度,采用实时荧光定量聚合酶链反应法检测其基因分型;分析 MTRR、SLCO1B1 基因多态性与 MTX 血药浓度[剂量校正浓度(c_{48h}/D , 48 h)、不同血药浓度范围(≤ 0.1 、 $> 0.1 \mu\text{mol/L}$)患儿比例(72 h)]及不良反应(骨髓抑制、肝功能损害、胃肠道反应、黏膜损伤、皮疹等)的相关性;采用 Wald 渐进法对不同影响因素(基因多态性、MTX 血药浓度、免疫分型、体质量指数等)与不良反应的相关性进行二元 Logistic 回归分析。结果:共检出 MTRR 基因 AA、AG、GG 型患儿 31、32、7 例,SLCO1B1 基因 TT、TC、CC 型患儿 23、37、10 例,各基因型频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$)。MTRR 和 SLCO1B1 各基因型患儿 c_{48h}/D (48 h)以及不同血药浓度范围患儿比例(72 h)比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。MTRR 各基因型患儿肝功能损害发生率差异显著($P < 0.05$),且 AA 型显著高于 AG+GG 型($P < 0.05$);而 MTRR 基因多态性与其他不良反应发生率,SLCO1B1 基因多态性与各不良反应发生率均不相关($P > 0.05$)。二元 Logistic 回归分析结果显示,ALL 患儿肝功能损害与 MTRR 基因多态性相关,胃肠道反应与 72 h 血药浓度 $> 0.1 \mu\text{mol/L}$ 与否相关,黏膜损伤与患儿免疫分型和体质量指数相关,皮疹与患儿体质量相关($P < 0.05$)。结论: MTRR 基因 rs1801394 位点多态性可能与 ALL 患儿 HD-MTX 致肝功能损害的发生相关,但该多态性和 SLCO1B1 基因 rs11045879 位点多态性均与患儿体内 MTX 的血药浓度无关。

关键词 急性淋巴细胞白血病;儿童;MTRR 基因;SLCO1B1 基因;单核苷酸多态性;甲氨蝶呤;血药浓度;不良反应

Study on Relationships of Gene Polymorphism of MTRR and SLCO1B1 with Blood Concentration of MTX and HD-MTX-induced ADR in ALL Children

HE Xia^{1,2}, YAO Pingli³, WU Yu³, HOU Zhengyao³, LI Xingxing³, CHEN Lu^{1,2,3}, ZHANG Lijuan^{1,2}, YANG Siyun^{4,5}, XIAO Hongtao^{1,2,3}, TONG Rongsheng^{1,2,3} (1. Dept. of Pharmacy, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China; 2. Personalized Drug Therapy Key Laboratory of Sichuan Province, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan People's Hospital, Chengdu 610072, China; 3. School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 611731, China; 4. Dept. of Pharmacy, Nanchong Municipal Central Hospital, Sichuan Nanchong 637900, China; 5. Nanchong Key Laboratory of Individualized Drug Therapy, Sichuan Nanchong 637900, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the relationships of polymorphism of MTRR gene rs1801394 locus and SLCO1B1 gene rs11045879 locus with drug concentration of methotrexate (MTX) and high-dose MTX (HD-MTX)-induced ADR in acute lymphoblastic leukemia (ALL) children. METHODS: From Oct. 2015 to Sept. 2018, 70 ALL hospitalized children of Han nationality in Sichuan area who received HD-MTX treatment and were in consolidation chemotherapy were selected retrospectively

[△] 基金项目:四川省科学技术厅重点研发项目(No.2019YFS0514);四川省科技计划项目(No.2016JY0192);四川省医学会医学科研课题(No.S17062、S16068);四川省医学科学院/四川省人民医院青年基金资助项目(No.2015QN08)

* 副主任药师, 硕士。研究方向:药物基因组学和个体化用药。
E-mail: yaan_hbx@163.com

[#] 通信作者:主任药师, 博士生导师, 博士。研究方向:临床药学、医院药学。电话:028-87393405。E-mail: tongrs@126.com

from Sichuan People's Hospital. The blood concentration of MTX at 48 and 72 hours after administration was measured by EMIT. The genetic typing of MTRR gene rs1801394 locus and SLCO1B1 gene rs11045879 locus were detected with real-time PCR. The relationships of the polymorphism of MTRR gene and SLCO1B1 gene with MTX blood concentration [dose-corrected concentration (c_{48h}/D , 48 h), the proportion of children with different concentration of MTX (≤ 0.1 , > 0.1

$\mu\text{mol/L}$] and ADR (such as myelosuppression, liver function damage, gastrointestinal response, mucosal damage, rash, etc.) were analyzed. Binary Logistic regression analysis for the correlation of ADR with different influencing factors (gene polymorphism, blood concentration of MTX, immunophenotyping, body mass index, etc.) was carried out by Wald method. RESULTS: Totally 31, 32, 7 children with *MTRR* gene AA, AG and GG genotype, while 23, 37, 10 children with *SLCO1B1* gene TT, TC and CC genotype were detected. The distribution of each genotype in 70 children conformed to Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). There was no significant difference in $c_{48\text{h}}/D(48\text{ h})$ of children and the proportion of children with different concentration of MTX (72 h) among different genotypes of *MTRR* and *SLCO1B1* gene ($P > 0.05$). There was statistical significance in the incidence of liver function injury in children with different genotypes of *MTRR* gene ($P < 0.05$), and the AA genotype was significantly higher than the AG+GG genotype ($P < 0.05$). There was no correlation of *MTRR* gene polymorphism with the incidence of other ADR, neither *SLCO1B1* gene polymorphism with the incidence of ADR ($P > 0.05$). The results of Binary Logistic regression analysis showed that liver function damage in ALL children was related to the gene polymorphism of *MTRR*; gastrointestinal reaction was related to whether the plasma concentration was more than $0.1\ \mu\text{mol/L}$ at 72 h; mucosal damage was related to the immune type and BMI of children; the occurrence of skin allergy was correlated with body weight of children ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: Gene polymorphism of *MTRR* rs1801394 locus may associated with the occurrence of HD-MTX-induced liver function injury in ALL children, but its polymorphism and gene polymorphism of *SLCO1B1* rs11045879 locus are not related to MTX blood concentration in ALL children.

KEYWORDS Acute lymphoblastic leukemia; Children; *MTRR* gene; *SLCO1B1* gene; Single nucleotide polymorphism; Methotrexate; Blood concentration; ADR

急性淋巴细胞白血病(Acute lymphoblastic leukemia, ALL)是B系或T系淋巴细胞在骨髓内异常增生所导致的一种恶性肿瘤,患者常出现发热、出血或贫血等症状。儿童是ALL的高发人群,其治愈率及远期生存率逐年升高,近5年的总生存率在85%以上^[1]。大剂量甲氨蝶呤(High-dose methotrexate, HD-MTX)用药方案被广泛用于ALL患儿的临床治疗,但该方案在获得良好效果、提升治愈率的同时,也会导致骨髓抑制、胃肠道反应等不良反应的发生,且个体差异较大,严重影响患儿的用药依从性^[2]。甲氨蝶呤(Methotrexate, MTX)是一种细胞周期特异性的二氢叶酸还原酶抑制剂,可抑制肿瘤细胞DNA的合成,从而影响其生长与繁殖;其代谢过程有诸多转运体和酶系参与,如还原性叶酸载体、多药耐药相关蛋白家族、有机阴离子转运体家族等,而这些转运体和酶系编码基因的单核苷酸多态性(SNP)是造成MTX致不良反应的主要原因^[3-5]。其中,甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)是叶酸代谢的关键酶,在同型半胱氨酸再甲基化为甲硫氨酸的过程中起着重要作用,其编码基因 *MTRR* rs1801394(A/G)位点突变会导致 *MTRR* 酶活性显著降低,继而造成叶酸代谢障碍,从而影响MTX的体内代谢过程^[6]。有机阴离子转运多肽(*OATP1B1*)由定位于人第12号染色体上的 *SLCO1B1* 基因编码,参与多种药物从血液向肝细胞的跨膜转运,MTX是其底物之一^[7]。有研究指出,该基因rs11045879(T/C)位点多态性与MTX药动学特征相关,可影响后者的药-时曲线下面积(AUC)和清除率(CL)^[8]。在现有文献的基础上,本研究初步分析了 *MTRR*、*SLCO1B1* 基因的SNP与巩固化疗期ALL患儿应用HD-MTX后血药浓度分布及不良反应的相关性,旨在为ALL患儿安全应用HD-MTX、减少其化疗致不良反应发生提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性收集2015年10月—2018年9月四川省医学科学院/四川省人民医院(以下简称“我院”)收治的70例接受HD-MTX治疗的1~16岁四川地区汉族ALL住院患儿的病例资料。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:确诊为ALL,应用中国儿童白血病协作组2008(以下简称“CCLG 2008”)化疗方案^[9]且处于巩固化疗期的汉族患儿。排除标准:其他少数民族或者合并其他类型血液疾病、肝肾疾病、胃肠道功能紊乱、黏膜炎、皮肤病等疾病的患儿。本研究通过我院医学伦理委员会审核批准[批件号:伦审(研)2015年第52号],中国临床实验中心注册号:ChiCTR1800015307),患儿监护人均已同意诊疗方案并签署知情同意书。

1.3 治疗方法

所有患儿均参照《儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第4次修订)》中所推荐的CCLG 2008化疗方案^[9],根据其危险度分级使用注射用甲氨蝶呤(江苏恒瑞医药股份有限公司,批准文号:国药准字H32026197,规格:1 g) $2\sim 5\ \text{g/m}^2$:先以总给药量的1/10作为突击剂量于30 min内快速静脉滴注,余量于23.5 h内匀速静脉滴注。密切监测患儿的各项临床指征(包括血细胞分析、肝肾功能检查等),并予以碳酸氢钠片(上海信谊天平药业有限公司,批准文号:国药准字H31020474,规格:0.5 g)口服进行充分水化和尿液碱化(pH为7.0~8.0),准备足量注射用亚叶酸钙(江苏恒瑞医药股份有限公司,批准文号:国药准字H32022391,规格:按 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_7$ 计为100 mg)于MTX开始滴注后42 h时以 $15\ \text{mg/m}^2$ 进行解救,并依据

MTX 血药浓度调整亚叶酸钙剂量。

1.4 考察指标

1.4.1 基本信息 记录70例ALL患儿的性别、年龄、身高、体质量等信息,并根据《儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第4次修订)》中的诊疗规范^[9]对患儿进行细胞形态学-免疫学-细胞遗传学-分子生物学(MICM)诊断分型、微小残留病(MRD)水平以及临床危险度分级。

1.4.2 MTX 血药浓度 于给药后48、72 h采集患儿上肢静脉血2 mL,置于抗凝管中,以4 000 r/min离心5 min,取上清液适量,采用均相酶扩大免疫法(EMIT)以Viva-E型全自动分析仪(德国Siemens公司)测定,整个测定过程需避光操作。MTX检测血药浓度的线性范围为0.1~2.0 μmol/L,定量下限为0.1 μmol/L,精密度、准确度等方法学经本课题组前期考察均符合要求^[10]。因48 h时可检测到血药浓度的具体数值,而72 h时的血药浓度大多未达到定量标准(0.1 μmol/L),缺乏具体数值,故综合考虑,48 h时的血药浓度以剂量校正浓度(c_{48h}/D ,即48 h时MTX的血药浓度与患儿给药剂量的比值)、72 h时的血药浓度以不同血药浓度范围(≤ 0.1 、 > 0.1 μmol/L)的患儿比例来进行分析^[11]。

1.4.3 基因分型 采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)法检测患儿基因分型。首先,采用血液基因组柱式小量提取试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司),严格按照其说明书方法提取患儿外周血DNA,采用NanoDrop 2000型核酸浓度测定仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)检测其DNA浓度和纯度[DNA浓度为10~30 ng/μL;纯度(A_{260nm}/A_{280nm})为1.6~2.0]。采用MTRR和MTHFR基因检测试剂盒(武汉友芝友医疗科技股份有限公司),严格按其说明书方法以7500型实时定量PCR仪(美国Thermo Fisher Scientific公司,下同)检测MTRR基因rs1801394位点的分型,引物由武汉友芝友医疗科技股份有限公司设计、合成,上、下游序列分别为5'-AGGCAAAGGCCATCGCAGAAGAAAT-3'、5'-TGTGAGCAAGCTGTGGTACATGGAT-3'。反应体系(共25 μL):DNA模板1 μL和扩增试剂(含PCR缓冲液、dNTPs、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq酶、UNG酶等)24 μL。反应条件:37℃预处理10 min;95℃预变性5 min,95℃变性15 s,60℃退火60 s,共40个循环。采用SLCO1B1 Taqman SNP基因分型试剂盒(美国Applied Biosystem公司),严格按其说明书方法以7500型实时定量PCR仪检测SLCO1B1基因rs11045879位点的分型,引物由美国Applied Biosystem公司设计、合成,上、下游序列分别为5'-TTCTTTGATGATATATATGAAGATG-3'、5'-TTGATTCTGTTATATTAACCCTGGA-3'。反应体系(共25 μL):DNA模板1 μL、Master Mix 12.5 μL、20×TaqMan SNP Genotypin Assay工作液1.25 μL,用ddH₂O补足25 μL。反应条件:60℃预处理20 s;95℃预变性5 min,95℃变性5 s,60℃退火60 s,共40个循环;60℃延伸5 min。使用7500型实时定量PCR仪直接测序,并按

照相应试剂盒说明书判定其基因分型。

1.4.4 不良反应 巩固化疗期ALL患儿首次应用HD-MTX后7 d,按照美国国立癌症研究所常见不良反应评价标准(NCI-CTCAE)4.0对患儿进行不良反应分级,当分级 ≥ 2 时,可认为发生了临床相关的化疗毒副作用^[9]。主要评价指标^[9]——①骨髓抑制:白细胞计数 $< 3.0 \times 10^9 L^{-1}$,外周血中性粒细胞计数 $< 1.5 \times 10^9 L^{-1}$,淋巴细胞计数 $< 0.8 \times 10^9 L^{-1}$,血小板计数 $< 75.0 \times 10^9 L^{-1}$,血红蛋白 < 810.0 g/dL。②肝功能损害:丙氨酸转氨酶 $> 3.0 \sim 5.0$ 倍正常值上限,天冬氨酸转氨酶 > 3.0 倍正常值上限。③胃肠道反应:经口摄食减少但无明显的体质量下降,出现脱水或营养不良的恶心且24 h内发作3~5次(间隔5 min)的呕吐和食欲下降。④黏膜损伤:以中度疼痛、不影响经口摄食、需要调整饮食的口腔黏膜炎为主。⑤皮疹:皮肤表层出现红点、伴或不伴瘙痒。⑥继发感染:化疗后机体抵抗力低下致需口服药物治疗的感染。⑦神经系统毒性:出现嗜睡、言语障碍等现象。⑧肾功能损害:以急性肾损伤(尿肌酐 > 164 μmol/L)为主。

1.5 统计学方法

采用Excel 2010对数据进行整理,采用SPSS 24.0软件进行统计分析。采用 χ^2 检验分析各基因型是否符合Hardy-Weinberg遗传平衡。采用Shapiro-Wilk法对计量资料进行正态性检验,符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;不符合正态分布的数据以中位数(四分位间距)表示,组间比较采用Kruskal-Wallis秩和检验。计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用Wald渐进法对各影响因素与患儿不良反应的相关性进行二元Logistic回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿一般资料

70例患儿中,男性45例(64.29%)、女性25例(35.71%),其一般信息详见表1。

2.2 基因分型检测结果

本研究共检出MTRR基因型3种,分别为AA、AG、GG型,各31、32、7例;共检出SLCO1B1基因型3种,分别为TT、TC、CC型,各23、37、10例。各基因型分布频率均符合Hardy-Weinberg平衡(χ^2 分别为0.09、0.63, $P > 0.05$),详见表2;等位基因频率(A、G、T、C等位基因频率分别为0.671、0.329、0.593、0.407)与国际遗传药理学数据库(PharmGKB, <https://www.pharmgkb.org>)中我国南方汉族人群的等位基因频率(样本量为210例,A、G、T、C等位基因频率分别为0.748、0.252、0.548、0.452)相近。

2.3 基因多态性与患儿血药浓度的相关性

MTRR和SLCO1B1各基因型ALL患儿的性别、年龄、身高、体质量、体表面积、体质量指数、分型、危险度等一般资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,详见表1。各基因型患儿 c_{48h}/D (48 h)以及不同

表1 患儿的一般资料

Tab 1 General information of children

指标	数据	MTRR 基因 rs1801394 位点			SLCO1B1 基因 rs11045879 位点		
		AA型	AG型	GG型	TT型	TC型	CC型
性别,例(%)							
男性	45(64.29)	20(44.44)	21(46.67)	4(8.89)	14(31.11)	24(53.33)	7(15.56)
女性	25(35.71)	11(44.00)	11(44.00)	3(12.00)	9(36.00)	13(52.00)	3(12.00)
年龄($\bar{x}\pm s$),岁	8.27±4.65	8.32±4.62	8.66±4.91	6.29±3.40	7.70±5.12	8.35±4.50	9.30±4.27
身高($\bar{x}\pm s$),cm	126.03±29.88	126.84±28.92	127.66±32.74	115.00±19.82	123.13±33.98	125.51±28.99	138.30±21.55
体质量($\bar{x}\pm s$),kg	30.05±16.98	29.51±14.53	32.10±20.13	23.03±9.21	29.71±18.43	29.32±17.46	33.50±12.06
体表面积($\bar{x}\pm s$),m ²	1.00±0.39	1.00±0.36	1.04±0.45	0.84±0.24	0.98±0.44	0.98±0.39	1.12±0.28
体质量指数($\bar{x}\pm s$),kg/m ²	17.37±2.64	17.20±2.34	17.67±3.10	16.77±1.43	17.80±2.70	17.24±2.80	16.89±1.85
MICM分型,例(%)							
T系	12(17.14)	3(25.00)	7(58.33)	2(16.67)	4(33.33)	6(50.00)	2(16.67)
B系	44(62.86)	22(50.00)	19(43.18)	3(6.82)	15(34.09)	23(52.27)	6(13.64)
其他	14(20.00)	6(42.86)	6(42.86)	2(14.28)	4(28.57)	8(57.14)	2(14.29)
临床危险度,例(%)							
低危	3(4.29)	3(100)	0(0)	0(0)	2(66.67)	1(33.33)	0(0)
中危	18(25.71)	8(44.44)	8(44.44)	2(11.11)	6(33.33)	9(50.00)	3(16.67)
高危	49(70.00)	20(40.82)	24(48.98)	5(10.20)	15(30.61)	27(55.10)	7(14.29)

血药浓度患儿比例(72 h)比较差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表3。

表2 MTRR 基因 rs1801394 位点和 SLCO1B1 基因 rs11045879 位点基因型分布[例(%)]

Tab 2 Distribution of the genotypes of MTRR rs1801394 locus and SLCO1B1 rs11045879 locus[case (%)]

基因	位点	基因型	实测值	理论值
MTRR	rs1801394	AA	31(44.29)	31.55(45.07)
		AG	32(45.71)	30.88(44.11)
		GG	7(10.00)	7.55(10.79)
SLCO1B1	rs11045879	TT	23(32.86)	24.06(4.37)
		TC	37(52.86)	33.79(48.27)
		CC	10(14.29)	11.60(16.57)

表3 MTRR 基因 rs1801394 位点和 SLCO1B1 基因 rs11045879 位点多态性与患儿血药浓度的相关性

Tab 3 Relationship of gene polymorphism of MTRR rs1801394 locus and SLCO1B1 rs11045879 locus with blood concentration

基因	基因型	n	48 h		72 h		χ^2	P	
			C_{0-4}/D [中位数(四分位间距)],($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2$)/(L·g)	H	P	$\leq 0.1 \mu\text{mol/L}$, 例(%)			$> 0.1 \mu\text{mol/L}$, 例(%)
MTRR	AA	31	0.092(0.179)	5.065	0.079	16(22.86)	15(21.43)	0.243	0.886
	AG	32	0.156(0.211)			17(24.29)	15(21.43)		
	GG	7	0.155(0.220)			3(4.29)	4(5.71)		
SLCO1B1	TT	23	0.120(0.177)	0.306	0.858	13(18.57)	10(14.29)	2.179	0.336
	TC	37	0.133(0.152)			20(28.57)	17(24.29)		
	CC	10	0.108(0.295)			3(4.29)	7(10.00)		

2.4 基因多态性与患儿不良反应的相关性

MTRR 不同基因型患儿肝功能损害发生率差异显著($P<0.05$),且 AA 型患儿肝功能损害的发生率显著高于 AG+GG 型患儿($P<0.05$)。而 MTRR 不同基因型患儿其他不良反应发生率以及 SLCO1B1 不同基因型患儿所有不良反应的发生率组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$),详见表4、表5。

表4 MTRR 基因 rs1801394 位点和 SLCO1B1 基因 rs11045879 位点多态性与患儿不良反应的相关性[例(%)]

Tab 4 Relationships of gene polymorphism of MTRR rs1801394 locus and SLCO1B1 rs11045879 locus with ADR [case (%)]

基因	基因型	n	骨髓抑制	肝功能损害	胃肠道反应	黏膜损伤	皮疹	继发感染	神经系 统毒性	肾功能 损害
MTRR	AA	31	15(48.39)	16(51.61)	4(12.90)	15(48.39)	2(6.45)	11(35.48)	0(0)	1(3.23)
	AG	32	20(62.50)	4(12.50)	8(25.00)	10(31.25)	3(9.38)	16(50.00)	3(9.38)	1(3.13)
	GG	7	3(42.86)	3(42.86)	3(42.86)	2(28.57)	0(0)	2(28.57)	1(14.29)	0(0)
χ^2			1.673	11.272	3.490	2.280	0.801	1.897	3.629	0.229
P			0.433	0.004	0.175	0.320	0.670	0.387	0.163	0.892
SLCO1B1	TT	23	1(4.35)	7(30.43)	3(13.04)	13(56.52)	3(13.04)	12(52.17)	1(4.35)	0(0)
	TC	37	19(51.35)	15(40.54)	9(24.32)	11(29.73)	1(2.70)	14(37.84)	3(8.11)	2(5.41)
	CC	10	4(40.00)	1(10.00)	3(30.00)	3(20.00)	1(10.00)	3(30.00)	0(0)	0(0)
χ^2			2.058	3.419	1.581	4.659	2.430	1.829	1.079	1.836
P			0.357	0.181	0.454	0.097	0.297	0.401	0.583	0.399

表5 MTRR 基因野生型与突变型患儿肝功能损害发生情况比较

Tab 5 Comparison of the occurrence of liver function injury between wild type and mutant type of MTRR gene

基因型	n	占比, %	χ^2	P
AA	16	69.57	8.872	0.003
AG+GG	7	30.43		

2.5 HD-MTX 致不良反应的相关因素分析

回归分析结果显示,ALL 患儿肝功能损害的发生与 MTRR 基因 rs1801394 位点的多态性有关($P<0.05$),这与表5的统计结果相对应;但 AG 型与 AA 型、GG 型与 AA 型患儿两两比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。此外,胃肠道反应的发生与患儿 72 h 时血药浓度 $> 0.1 \mu\text{mol/L}$ 与否则有关,黏膜损伤与患儿免疫分型和体质量指数有关($P<0.05$);且与 B 系患儿相比, T 系患儿更易发

生黏膜损伤的($P<0.05$);皮疹的发生与患儿体质量有关($P<0.05$),详见表6。

表6 HD-MTX致不良反应的相关因素分析结果

Tab 6 Analysis results of relevant factors affecting HD-MTX-induced ADR

不良反应	相关因素	比值比(OR)	95%置信区间(CI)	P
肝功能损害	MTRR			0.007
	MTRR(1)	1.422	0.272, 7.438	0.676
	MTRR(2)	0.190	0.031, 1.184	0.075
胃肠道反应	72 h血药浓度 $>0.1 \mu\text{mol/L}$	0.167	0.042, 0.659	0.011
黏膜损伤	免疫分型			0.016
	免疫分型(1)	6.459	1.292, 32.299	0.023
	免疫分型(2)	0.792	0.093, 6.746	0.831
	体质量指数	1.320	1.059, 1.645	0.013
皮疹	体质量	1.052	1.002, 1.105	0.043

注: MTRR(1)表示AG型与AA型比较; MTRR(2)表示GG型与AA型比较;免疫分型(1)表示T系与B系比较;免疫分型(2)表示其他等与B系比较

Note: MTRR(1) indicates comparison of AG genotype and AA genotype; MTRR(2) indicates comparison of GG genotype and AA genotype; immune typing(1) indicates comparison of type T and type B; immune typing(2) indicates comparison of other immune types and type B

3 讨论

MTRR基因位于人第5号染色体上,全长2 094 bp;其中,rs1801394是目前研究较为全面的位点之一,该位点A→G突变可导致编码的蛋氨酸突变为异亮氨酸,从而影响MTRR酶活性,造成叶酸代谢障碍,最终影响药物的代谢过程^[6]。SLCO1B1基因位于人第12号染色体上,全长10.86 bp;其中,rs11045879位点可发生T→C突变,虽不引起编码氨基酸的改变,但可影响编码转运体的立体结构,从而改变转运体的活性,影响底物的跨膜转运^[7-8]。本研究通过回顾性分析应用HD-MTX治疗的70例巩固化疗期ALL患儿的临床资料,初步探讨了MTRR和SLCO1B1基因多态性与其血药浓度及不良反应的相关性。

本研究采用实时荧光定量PCR法共检出MTRR基因3种分型:AA型(31例)、AG型(32例)、GG型(7例);共检出SLCO1B1基因3种分型:TT型(23例)、TC型(37例)、CC型(10例)。上述基因各基因型频率均符合Hardy-Weinberg平衡($P>0.05$),等位基因频率与PharmG-KB数据库中的我国南方汉族人群的等位基因频率相近,提示本研究受试人群具有群体代表性。

有研究显示,SLCO1B1基因rs11045879位点CC型与MTX血药浓度有关,该位点突变是影响ALL患儿MTX药动学行为的重要因素,与MTX的清除率密切相关,MTX清除率大小依次为TT型 $>$ CT型 $>$ CC型,该位点多态性可影响患儿临床疗效和安全性,还与MTX的胃肠道毒性相关^[3,12];但同时也有相关研究表明,rs11045879位点多态性与患儿体内24、48 h时的MTX血药浓度无关,但与MTX的不良反应发生有关^[13]。本研究未观察到SLCO1B1基因rs11045879位点多态性与

MTX血药浓度及HD-MTX致不良反应发生的相关性,可能与受试人群人种及样本量有关。

本研究结果显示,MTRR基因rs1801394位点多态性虽与患儿MTX血药浓度无关,但与患儿肝功能损害的发生密切相关($P<0.05$);且与G等位基因携带者比较,AA型患儿更易发生肝功能损害($P<0.05$)。但Logistic回归分析并未发现GG型与AA型、AG型与AA型患儿肝功能损害发生率的不同,笔者认为可能与回归分析纳入的其他因素(如患儿年龄、体质量、体表面积等)有关。甲硫氨酸的活性形式S-腺苷甲硫氨酸是一种良好的肝脏营养剂,可通过质膜磷脂和蛋白质的甲基化来影响肝脏细胞的流动性和微黏性,并通过转甲基化增加肝内谷胱甘肽、硫酸根和牛磺酸水平,可保护肝脏免受药物的损害^[14]。MTRR也是同型半胱氨酸代谢的重要酶,同型半胱氨酸水平的升高可导致细胞中氧化物和过氧化物增加,从而造成肝脏损害;MTRR基因突变后,MTRR酶活性有所降低,继而可能造成S-腺苷甲硫氨酸合成降低、同型半胱氨酸水平升高,使得患儿肝功能受损。Huang L等^[15]发现,MTRR基因rs1801394位点的多态性可能是引发口腔黏膜受损的风险因素之一,相比AA型,GG型、AG型患者发生口腔黏膜损伤的风险较高。但本研究并未发现类似结果,可能与纳入人群、样本量或者各基因多态性相互影响与其他遗传、临床或环境因素共同作用有关,尚需进一步研究证实。有文献表明,荧光偏振免疫分析法(FPIA)或HPLC法检测的48 h血药浓度 $>1.0 \mu\text{mol/L}$ 和(或)72 h血药浓度 $>0.1 \mu\text{mol/L}$ 被认定为MTX排泄延迟,而排泄延迟将会导致骨髓抑制以及口腔黏膜损害等不良反应的增加,同时还会增加胃肠道反应的风险^[16]。本研究结果表明,患儿胃肠道反应与72 h血药浓度 $>0.1 \mu\text{mol/L}$ 有关($P<0.05$),与上述文献结果^[16]基本一致。此外本研究还发现,ALL免疫分型可能是患儿黏膜损伤发生的影响因素之一。有研究表明,ALL的不同免疫分型会影响患儿白血病肿瘤细胞内的MTX及其胞内代谢物多聚谷氨酸化甲氨蝶呤(MTX-PGs)的蓄积浓度,进而影响MTX的药效,最终导致黏膜损伤等MTX相关不良反应的发生^[17]。本研究还发现,皮疹的发生与患儿体质量有关,但目前尚未见同类研究,相关机制有待深入探讨。

综上所述,MTRR基因rs1801394位点多态性可用于预测ALL患儿使用HD-MTX化疗所致肝功能损害,但和SLCO1B1基因rs11045879位点多态性均与患儿体内MTX的血药浓度无关。由于纳入的样本量有限,故本研究尚存在一定局限性,后续可增大样本量开展更多相关研究。

参考文献

- [1] MAUDE SL, LAETSCH TW, BUECHNER J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5):

中医辨证个体化疗法治疗胃癌前病变的临床观察[△]

梁静秋*, 谭婧宇, 陈琪, 王维[#], 张海燕[#] (重庆大学附属肿瘤医院/重庆市肿瘤研究所/重庆市肿瘤医院, 重庆 400030)

中图分类号 R27;R969 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)24-3433-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.24.22

摘要 目的:为临床治疗胃癌前病变提供参考。方法:选择2018年1—12月在我院治疗的胃癌前病变患者共685例,其中治疗组455例患者采用中医辨证的个体化中医药物治疗,7d为1个疗程,共治疗4个疗程;对照组230例患者接受叶酸片治疗,每次5mg,tid,连续用药2个月。比较两组患者接受治疗前后胃蛋白酶原比值(PG I/PG II)、胃泌素17(G-17)、幽门螺杆菌(Hp)水平的变化情况,以及相关不良反应的发生情况。结果:治疗后,治疗组患者总有效率为90.3%,显著高于对照组的68.6%;治疗组患者的PG I/PG II较治疗前显著上升,且显著高于对照组;两组患者的G-17水平均较治疗前显著下降($P<0.05$),而两组患者Hp水平治疗前后比较差异无统计学意义($P>0.05$)。两组患者不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:中医辨证个体化治疗方案可显著延缓胃癌前病变的发展,且安全性良好。

关键词 中医辨证;胃癌前病变;胃蛋白酶原比;胃泌素17;幽门螺杆菌

439-448.

[2] 杨小英,毛凯,张浩. ALL患儿HD-MTX血药浓度对疗效及不良反应的影响[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(10): 1124-1127.

[3] 何霞,杜素雅,黄鑫,等. 药物基因组学在甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病中的应用进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2017, 36(11): 634-639.

[4] 鄢欢,张觅,蒋巧俐,等. 甲氨蝶呤遗传药理学的研究进展[J]. 中国药房, 2017, 28(2): 284-288.

[5] VENTER JC, SMITH HO, ADAMS MD. The sequence of the human genome[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(9): 1207-1208.

[6] 王连珂,张程达,田丹丹,等. MTRR基因多态性对口服叶酸治疗HHcy效果的影响[J]. 现代预防医学, 2016, 43(6): 1134-1137.

[7] 高萍,张华年. SLCO1B1基因多态性对甲氨蝶呤治疗的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(8): 730-732.

[8] 湛敏,张洲,李学娟,等. SLCO1B1突变致1例甲氨蝶呤清除延迟患儿的药学监护[J]. 儿科药学杂志, 2016, 22(9): 34-37.

[9] 中华医学会儿科学分会血液学组.《中华儿科杂志》编辑委员会.儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议:第4次修订[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(9): 641-644.

[10] 陈璐,涂碎萍,张丽娟,等. EMIT法监测甲氨蝶呤血药浓度在儿童恶性肿瘤和急性淋巴细胞性白血病的应用[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(11): 17-18.

[11] 王淑梅,孙路路,曾蔚欣,等. CYP2C19基因多态性与急性淋巴细胞白血病易感性及甲氨蝶呤血清浓度的关系[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(7): 577-580.

[12] STOCO G, YANG W, CREWS KR, et al. PACSIN2 polymorphism influences TPMT activity and mercaptopurine-related gastrointestinal toxicity[J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(21): 4793-4804.

[13] AVIVI I, ZUCKERMAN T, KRIVOY N, et al. Genetic polymorphisms predicting methotrexate blood levels and toxicity in adult non-Hodgkin lymphoma[J]. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55(3): 565-570.

[14] 付志平,杨卫平,邱伟华. S腺苷甲硫氨酸在肝脏疾病中的研究进展及应用[J]. 外科理论与实践, 2014, 19(2): 165-169.

[15] HUANG L, TISSING WJE, JONGE RD, et al. Polymorphisms in folate-related genes: association with side effects of high-dose methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2008, 22(9): 1798-1800.

[16] 魏盈盈,焦微微,程思,等. 大剂量甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病的血药浓度与不良反应的相关性[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(22): 1915-1918.

[17] 王玉成,顾龙君. 甲氨蝶呤多聚谷氨酸盐在甲氨蝶呤治疗急性白血病中的作用及耐药机制研究进展[J]. 中国当代儿科杂志, 2000, 2(5): 361-363.

△ 基金项目:重庆市卫生计生委中医药科技项目(No.ZY2017020-41);重庆市教育委员会科学技术研究项目(No.KJQN201800104)

* 护师。研究方向:慢性病的防治。电话:023-65079396。E-mail:lx19853005@163.com

#a 通信作者:副主任医师,博士。研究方向:中医治疗肿瘤。E-mail:810704141@qq.com

#b 通信作者:主任护师。研究方向:肿瘤筛查与防治。E-mail:243201344@qq.com

(收稿日期:2018-12-10 修回日期:2019-09-25)

(编辑:张元媛)