

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.24.011
文章编号: 1005-8982 (2019) 24-0060-04

综述

急性淋巴细胞性白血病患者甲氨蝶呤相关的药物 代谢酶和转运体基因多态性研究进展*

刘亚会, 杨跃煌, 黄体龙

(昆明市儿童医院 血液科, 云南 昆明 650228)

摘要: 甲氨蝶呤 (MTX) 是儿童急性淋巴细胞白血病治疗的重要药物。MTX 相关的药物代谢酶及转运体基因多态性与 MTX 疗效及不良反应密切相关。尽管近年来化疗方案在不断改进, MTX 的毒副作用仍可能影响患儿的生存质量, 甚至危及生命。检测 MTX 相关代谢酶及转运体基因多态性, 可增加临床治疗的安全性, 有助于为临床合理用药和个体化治疗提供理论依据。

关键词: 多态性, 单核苷酸; 甲氨蝶呤; 白血病, 双表型, 急性

中图分类号: R739.4

文献标识码: A

Advances in methotrexate-related drug metabolic enzymes and transporter gene polymorphisms in children with ALL*

Ya-hui Liu, Yue-huang Yang, Ti-long Huang

(Department of Hematology, Kunming Children's Hospital, Kunming, Yunnan 650228, China)

Abstract: Methotrexate is one of the important drugs for the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. The genetic polymorphisms of methotrexate metabolizing enzymes and transporter are closely related to its effects and adverse reactions. Despite the improvement of chemotherapy regimens in recent years, the toxicity of methotrexate may still affect the quality of life of children, even life-threatening. Detecting gene polymorphisms of methotrexate metabolism-related enzyme and transporter gene in order to guide clinical treatment will increase the safety of treatment, provide a theoretical basis for clinical rational use of drugs and personalize treatment.

Keywords: polymorphism, single nucleotide; methotrexate; leukemia, biphenotypic, acute

急性淋巴细胞性白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 是最常见小儿恶性肿瘤, 占儿童急性白血病的 80%。大剂量甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 在 ALL 的维持治疗和髓外白血病的防治中发挥着重要作用, 能显著降低 ALL 患儿的复发率^[1]。然而, 由于个体遗传基因的差异, 对药物疗效及不良反应不同, 部分患儿出现了一些严重的不良反应, 严重影响患儿的治疗及预后。笔者就 MTX 相关代谢酶及转运体基

因多态性与 ALL 患儿应用大剂量 MTX 后不良反应的相关性进行综述。

1 MTX 作用机制

MTX 广泛应用于白血病、淋巴瘤、头颈部肿瘤、骨肉瘤及多种自身免疫性疾病。MTX 结构与叶酸类似, 为抗叶酸类抗肿瘤药, 主要选择性地作用于细胞分裂 S 期^[2]。MTX 可竞争性地抑制细胞中二氢叶酸还

收稿日期: 2019-06-15

* 基金项目: 云南省卫生科技计划项目 (No: 2016NS126); 云南省卫生和计划生育委员会医学后备人才培养计划 (No: H-2017070); 昆明市卫生和计划生育委员会医药卫生科技计划项目 (No: 2018-06-01-014)

[通信作者] 黄体龙, E-mail: htl99-2@163.com; Tel: 13095311231

原酶 (dihydrofolate reductase, DHFR) 活性, 阻止二氢叶酸还原为四氢叶酸, 使四氢叶酸产生受阻, 一碳单位形成减少, 影响核酸和蛋白质的合成。MTX 主要通过还原叶酸载体 -1 进入细胞内, 在多聚谷氨酸盐合成酶的作用下, 形成活性形式 MTX 多聚谷氨酸, MTX 多聚谷氨酸被 γ -谷氨酰基水解酶水解, 经转运体家族流出细胞^[3]。

2 MTX 代谢相关酶的基因多态性

2.1 亚甲基四氢叶酸还原酶基因

亚甲基四氢叶酸还原酶 (methyl tetrahydrofolate reductase, MTHFR) 是叶酸代谢过程的关键酶。MTX 主要通过影响核酸代谢来发挥细胞毒作用, 其疗效与胞内 5, 10-亚甲基四氢叶酸浓度呈正相关。人类 *MTHFR* 基因定位于 1p36.3, 该基因具有多态性, 其活性直接影响 5, 10-亚甲基四氢叶酸浓度, 从而影响 MTX 的疗效和不良反应。*MTHFR* 基因突变率较高的位点为 C677T 和 A1298C。C677T 突变可产生不耐热的酶变体, 引起 MTX 化疗后体内同型半胱氨酸水平快速上升, 造成肝功能损伤^[4]。有研究表明, 与野生 677CC 基因型比, 677CT 基因型患儿血浆中半胱氨酸和 MTX 水平明显升高, 肝肾和胃肠道反应毒性增加^[5]。在 1 个 98 例 ALL 儿童的研究中, 61 例患儿有基因变异, 突变基因的数目与肝、肾功能损害有关, 肝功能损害率为 23.47%, 肾功能损害率为 15.31%, 胃肠道反应率为 48.98%, 黏膜病变率为 46.94%, 表明 *MTHFR* C677T 基因变异可明显增加患儿的 MTX 不良反应^[6]。对 93 例 ALL 患者的研究表明, *MTHFR* 677CT/TT 基因型者发生口腔黏膜损害的风险是 CC 型者的 2.81 倍, TT 型是 CC 型的 5.53 倍, 且发生 > II 级骨髓抑制的风险是 CC 型的 3.75 倍^[7]。在 1 个 144 例 ALL 患儿的研究表明, *MTHFR* 中 rs377966 和 rs3513728 多态性与血清 MTX 浓度有关, 提示 miRNAs 可能参与 *MTHFR* 的转录后调控^[8]。

2.2 二氢叶酸还原酶基因

DHFR 基因位于人染色体 5q11.2 ~ q13.2, 其编码的 DHFR 是二氢叶酸转化为 5, 10-亚甲基四氢叶酸的关键酶, 为 MTX 作用的主要靶点, MTX 进入体内后竞争性抑制 DHFR, 引起甲基化及 DNA 合成异常^[9]。*DHFR* 基因水平提高引起酶活性升高是 MTX 获得性耐药的一个重要原因。有研究发现, 高危组患者与 A680C、A317G 和 C35T 多态性相关, 单倍型的携带

者比非携带者无事件生存率更低^[10]。*DHFR* 启动子区域 680AA 患儿对 MTX 更敏感, 起始剂量是标准剂量的 66%, 更容易保持足够的骨髓抑制水平, 复发率更低, 但严重中性粒细胞减少的发生率较高, 肝毒性更大^[11]。提示 *DHFR* 基因多态性可为 MTX 剂量的选择提供依据。南印度人群中, *DHFR*-317A>G ALL 患儿复发风险增加与总体生存率降低相关, *DHFR*-317AA 和 -680CA 与 MTX 引起的严重白细胞减少症相关^[12]。

2.3 胸苷酸合成酶基因

胸苷酸合成酶 (thymidylate synthase, TS) 基因位于 18p11.32 上, 是三磷酸脱氧胸苷合成的关键酶。MTX 可直接抑制 TS 活性, 导致 DNA 合成受限。常见的基因型为 2R/2R、2R/3R 及 3R/3R^[13]。不同 TS 基因型 ALL 患儿化疗后大剂量 MTX 不良反应发生率无显著差异, 与化疗后血浆 MTX 浓度的变化无关^[14]。即 TS 基因多态性对儿童大剂量 MTX 相关毒性的发生无影响。有研究报道, TS 2R/3R/4R 突变的土耳其 ALL 患者 MTX 水平更高, 白血病儿童可以耐受大剂量 MTX, 从而降低白血病复发^[15]。这些研究中相互矛盾的结果可能与种族、样本量大小、MTX 剂量、毒性等级或药物组合的差异有关。

3 MTX 转运体的基因多态性

3.1 还原叶酸载体 1

还原叶酸载体 -1 又称 *SLC19A1*, 位于染色体 21q22.3 区域, G80A 是其常见的多态性位点, 该突变可导致转运蛋白对叶酸或 MTX 的亲和力下降, 使叶酸或 MTX 转运减少。其编码蛋白 SLC19A1 是 MTX 进入细胞并发挥抗癌作用的主要转运载体^[16]。*SLC19A1* 单核苷酸多态性与大剂量 MTX 毒性相关, rs2838958 TT 基因型的患者发生黏膜炎的概率更高, 单倍型 TGTTC CG (H4) 患者大剂量 MTX 治疗期间不良事件发生的风险显著降低^[17]。有研究表明, miR-595 通过与 *SLC19A1* 的 3' 非翻译区结合, 抑制 SLC19A1 的表达, 增加血浆中 MTX 浓度^[18]。此外, 在 ALL 患儿中 miR-5189 和 miR-6083 可能影响 SLC46A1 和 SLC01A2 转运体的功能, 影响患者的 MTX 水平^[19]。ALL 患者中 *SLC19A1* 基因减少的 G80A 单核苷酸多态性与预后较差相关, CANDELARIA 等^[20]研究发现, 存在 *SLC19A1* 80G>A SNP 的 ALL 患者无复发生存率和总生存率均较低。LIU 等^[21]研究发现, *SLC19A1* rs2838958 基因多态性与 ALL 患儿微小残留病变显著相关, *SLC19A1*

rs2838958 AA 基因型 ALL 患儿 5 年无事件生存率 (78.5%) 显著低于 G 基因携带患儿 (92.2%)。

3.2 有机阴离子转运体编码

有机阴离子转运多肽 1B1 (*SLC01B1*) 由基因编码, 是体内主要的摄取转运体, 主要分布在肝脏、肾脏、脑及小肠等组织器官, 将 MTX 从血液向肝细胞的跨膜转运。研究较多的位点主要为 rs11045879、rs4149081、rs4149056 及 rs2306283 等。rs4149081 与 rs11045879 位点均位于 *SLC01B1* 基因非编码区, 不参与氨基酸的编码, 可能通过参与 mRNA 剪接修饰而调节其功能^[22-23]。对 48 例儿童 ALL 研究发现, *SLC01B1* rs4149056 和 rs11045879 患儿对 MTX 耐受能力差, 不耐受 MTX 的患儿开始剂量应低于标准剂量, 可作为个体化 MTX 给药的重要遗传标记^[24]。一项 322 例大剂量 MTX 治疗的中国 ALL 儿童研究中发现, *SLC01B1* rs10841753 与血浆 MTX 水平显著相关, rs10841753 CC 基因型比 TC 或 TT 患者血浆 MTX 水平低^[21]。280 例 B-ALL 患者研究发现, rs11045879 CC 基因型和 rs4149081 AA 基因型患儿血浆 MTX 浓度显著增加。A-C 单体型携带者的 MTX 清除延迟, 但 G-T 单体型者 MTX 延迟清除的风险较低^[25]。

3.3 ATP 结合盒式蛋白超家族

ATP 结合盒式蛋白是一类 ATP 驱动泵, 其转运蛋白超家族可分为 ABCA ~ ABCG 7 个亚家族, 其中 ABCB1、ABCC1-4 和 ABCG2 在 MTX 流出细胞中起到重要作用。ABCC2 rs374065 A>G 多态性可使 ABCC 活性显著降低, 引起细胞内 MTX 水平显著升高, 产生毒性和耐药性^[26]。ABCC4 C934A 可降低 MTX 的流出, 故患儿所需 MTX 剂量较低, 并且血小板减少, 血清中乳酸脱氢酶升高等血液学不良反应发生率升高。表明 ABCC4 基因突变的患儿对 MTX 比较敏感^[27]。对 70 例 ALL 患儿的研究表明, ABCB1 C3435T 位点基因多态性与 ALL 患儿大剂量 MTX 化疗后 MTX 血药浓度及 ALL 患儿大剂量 MTX 化疗后发生口腔黏膜损害和肝脏损害的发生率存在相关性^[28]。

4 问题与展望

ALL 在儿童白血病中最为常见, MTX 是儿童 ALL 缓解后治疗的关键药物。MTX 的药物代谢和药物疗效个体间差异大, 影响因素复杂, MTX 药物代谢酶及转运体基因多态性与 MTX 疗效、不良反应密切相关, 可能成为预测 MTX 毒性反应的遗传学标志。临床开

展 MTX 药物代谢酶与转运体基因多态性检测有助于指导大剂量 MTX 的个体化用药, 可以减少药物相关不良反应的发生, 进一步提高 ALL 患儿的疗效。

参 考 文 献:

- [1] FOSTER J H, THOMPSON P A, BERNHARDT M B, et al. A prospective study of a simple algorithm to individually dose high-dose methotrexate for children with leukemia at risk for methotrexate toxicities[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2019, 83(2): 349-360.
- [2] SHAO Y, TAN B, SHI J, et al. Methotrexate induces astrocyte apoptosis by disrupting folate metabolism in the mouse juvenile central nervous system[J]. Toxicol Lett, 2019, 301: 146-156.
- [3] HARDY K K, EMBRY L, KAIRALLA J A, et al. Neurocognitive functioning of children treated for high-risk b-acute lymphoblastic leukemia randomly assigned to different methotrexate and corticosteroid treatment strategies: a report from the children's oncology group[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(23): 2700-2707.
- [4] CORNET D, COHEN M, CLEMENT A, et al. Association between the MTHFR-C677T isoform and structure of sperm DNA[J]. J Assist Reprod Genet, 2017, 34(10): 1283-1288.
- [5] MAHMOUD L B, MDHAFFAR M, FRIKHA R, et al. Use of MTHFR C677T polymorphism and plasma pharmacokinetics to predict methotrexate toxicity in patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. Adv Clin Exp Med, 2018, 27(8): 1061-1068.
- [6] 李菲, 尹邨丹, 周小兰, 等. 急性淋巴细胞白血病患者 GSTP1 及 MTHFR 基因多态性对大剂量甲氨蝶呤不良反应的影响 [J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(3): 723-728.
- [7] 李静, 王捷, 郁长治, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与急性淋巴细胞白血病患者甲氨蝶呤化疗药物不良反应的相关性研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(17): 1634-1636.
- [8] WANG S M, ZENG W X, WU W S, et al. Association between MTHFR microRNA binding site polymorphisms and methotrexate concentrations in Chinese pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. J Gene Med, 2017, 19(11): 353-359.
- [9] VEJNOVIC D, MILIC V, POPOVIC B, et al. Association of C35T polymorphism in dihydrofolate reductase gene with toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis patients[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2019, 15(3): 253-257.
- [10] CEPPI F, GAGN V, DOUYON L, et al. DNA variants in DHFR gene and response to treatment in children with childhood B ALL: revisited in AIEOP-BFM protocol[J]. Pharmacogenomics, 2018, 19(2): 105-112.
- [11] GERVASINI G, DE MURILLO S G, JIM NEZ M, et al. Dihydrofolate reductase genetic polymorphisms affect methotrexate dose requirements in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia on maintenance therapy[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2017, 39(8): 589-595.
- [12] KODIDELA S, PRADHAN S C, DUBASHI B, et al. Influence of dihydrofolate reductase gene polymorphisms rs408626 (-317A>G) and rs442767 (-680C>A) on the outcome of

- methotrexate-based maintenance therapy in South Indian patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2015, 71(11): 1349-1358.
- [13] OOSTEROM N, BERREVOETS M, DEN HOED M A H, et al. The role of genetic polymorphisms in the thymidylate synthase (TYMS) gene in methotrexate-induced oral mucositis in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2018, 28(10): 223-229.
- [14] 朱秀娟, 贺湘玲, 伍艳鹏, 等. 胸苷酸合成酶基因多态性对甲氨蝶呤治疗急性淋巴细胞白血病患儿不良反应的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2015, 17(1): 11-14.
- [15] YAZICIÖĞLU B, KAYA Z, GÜNTEKİN ERGUN S, et al. Influence of folate-related gene polymorphisms on high-dose methotrexate-related toxicity and prognosis in turkish children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Turk J Haematol*, 2017, 34(2): 143-150.
- [16] ZHAO R, ALURI S and GOLDMAN I D. The proton-coupled folate transporter (PCFT-SLC46A1) and the syndrome of systemic and cerebral folate deficiency of infancy: Hereditary folate malabsorption[J]. *Mol Aspects Med*, 2017, 53: 57-72.
- [17] KOTNIK B F, JAZBEC J, GRABAR P B, et al. Association between SLC19A1 gene polymorphism and high dose methotrexate toxicity in childhood acute lymphoblastic leukaemia and non hodgkin malignant lymphoma: introducing a haplotype based approach[J]. *Radiol Oncol*, 2017, 51(4): 455-462.
- [18] WANG S M, SUN L L, WU W S, et al. MiR-595 suppresses the cellular uptake and cytotoxic effects of methotrexate by targeting SLC19A1 in CEM/C1 cells[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2018, 123(1): 8-13.
- [19] IPARRAGUIRRE L, GUTIERREZ-CAMINO A, UMEREZ M, et al. MiR-pharmacogenetics of methotrexate in childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2016, 26(11): 517-525.
- [20] CANDELARIA M, OJEDA J, GUTIÉRREZ-HERNÁNDEZ O, et al. G80A single nucleotide polymorphism in reduced folate carrier-1 gene in a mexican population and its impact on survival in patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Rev Invest Clin*, 2016, (68): 154-162.
- [21] LIU S G, GAO C, ZHANG R D, et al. Polymorphisms in methotrexate transporters and their relationship to plasma methotrexate levels, toxicity of high-dose methotrexate, and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(23): 37761-37772.
- [22] DURMUS S, VAN HOPPE S, SCHINKEL A H. The impact of organic anion-transporting polypeptides (OATPs) on disposition and toxicity of antitumor drugs: Insights from knockout and humanized mice[J]. *Drug Resist Updat*, 2016, 27: 72-88.
- [23] HOOSAIN N, PEARCE B, JACOBS C, et al. Mapping SLC01B1 genetic variation for global precision medicine in understudied regions in africa: a focus on zulu and cape admixed populations[J]. *OMICS*, 2016, 20(9): 546-554.
- [24] ELDEM İ, YAVUZ D, CUMAOĞULLARI Ö, et al. SLC01B1 polymorphisms are associated with drug intolerance in childhood leukemia maintenance therapy[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2018, 40(5): e289-e294.
- [25] LI J, WANG X R, ZHAI X W, et al. Association of SLC01B1 gene polymorphisms with toxicity response of high dose methotrexate chemotherapy in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(4): 6109-6113.
- [26] RUDIN S, MARABLE M, HUANG R S. The promise of pharmacogenomics in reducing toxicity during acute lymphoblastic leukemia maintenance treatment[J]. *Genomics Proteomics & Bioinformatics*, 2017, 15(2): 82-93.
- [27] GERVASINI G, DE MURILLO S G, JIMENEZ M, et al. Effect of polymorphisms in transporter genes on dosing, efficacy and toxicity of maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Gene*, 2017, 628: 72-77.
- [28] 朱影, 楼一层, 刘萌萌, 等. ABCB13435C>T 基因多态性对急性淋巴细胞白血病患儿大剂量甲氨蝶呤血药浓度及不良反应的影响[J]. *中国药师*, 2017, 20(6): 1058-1061.

(李科 编辑)