

# 单核苷酸多态性对原发性中枢神经系统淋巴瘤患者甲氨蝶呤化疗所致骨髓抑制的影响

武卓<sup>1</sup>, 姚心<sup>2</sup>, 丁天凌<sup>3</sup>, 王斌<sup>1</sup>, 钟明康<sup>1</sup>, 邱晓燕<sup>1</sup>

1. 复旦大学附属华山医院药剂科 (上海 200040)

2. 上海健康医学院药学院 (上海 201318)

3. 复旦大学附属华山医院血液科 (上海 200040)

**【摘要】**目的 探讨甲氨蝶呤作用通路上 6 个相关基因 *SLCO1B1*、*SLC19A1*、*ABCC2*、*ABCBI*、*FPGS*、*GGH* 的单核苷酸多态性对原发性中枢神经系统淋巴瘤患者使用甲氨蝶呤化疗所致骨髓抑制不良反应的影响。方法 采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法对 121 例原发性中枢神经系统淋巴瘤患者的 DNA 样本进行基因分型。从电子病历系统获取患者的人口学及相应的临床资料, 采用  $\chi^2$  检验及多因素 Logistic 回归分析探讨单核苷酸多态性对患者化疗后骨髓抑制的影响。结果 121 例患者共经历了 508 个疗程, 其中 186 个疗程 (36.6%) 发生了骨髓抑制不良反应。单因素分析结果显示, *SLCO1B1* rs2306283 及 *GGH* rs2305558 位点的单核苷酸多态性对甲氨蝶呤所致骨髓抑制的发生率均有影响 ( $P < 0.05$ )。Logistic 回归分析显示, *SLCO1B1* rs2306283 位点单核苷酸多态性仍然对甲氨蝶呤所致骨髓抑制的发生率有影响 [OR=1.542, 95%CI (1.040, 2.287),  $P=0.031$ ]。结论 *SLCO1B1* rs2306283 GG 基因型可作为甲氨蝶呤所致骨髓抑制的独立危险因素, 为甲氨蝶呤的个体化给药提供依据。

**【关键词】**甲氨蝶呤; 原发性中枢神经系统淋巴瘤; 骨髓抑制; 单核苷酸多态性; 个体化给药

## Effect of single nucleotide polymorphisms on methotrexate-induced myelosuppression in patients with primary central nervous system lymphoma

Zhuo WU<sup>1</sup>, Xin YAO<sup>2</sup>, Tian-Ling DING<sup>3</sup>, Bin WANG<sup>1</sup>, Ming-Kang ZHONG<sup>1</sup>, Xiao-Yan QIU<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

2. School of Pharmacy, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201318, China

3. Department of Hematology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Corresponding author: Xiao-Yan QIU, Email: xyqiu@fudan.edu.cn

**【Abstract】**Objective To investigate the effect of single nucleotide polymorphisms of six related genes *SLCO1B1*, *SLC19A1*, *ABCC2*, *ABCBI*, *FPGS*, and *GGH* in the pathway of methotrexate (MTX) action on the adverse effects of myelosuppression caused by MTX in patients with primary central nervous system lymphoma (PCNSL). Methods DNA samples

DOI: 10.19960/j.issn.1005-0698.202310001

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82003863); 上海市卫生健康委员会卫生行业临床研究专项 (202040424); 上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划-临床药师项目 [沪卫人事 (2021) 99]

通信作者: 邱晓燕, 博士, 主任药师, 硕士研究生导师, Email: xyqiu@fudan.edu.cn

<https://ywlxhx.whuzhmedj.com/>

from 121 patients with PCNSL were genotyped by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Patient demographics and corresponding clinical information were obtained from the electronic medical record system. The  $\chi^2$  test and multivariate logistic regression analysis were used to explore the effect of single nucleotide polymorphisms on the patients' myelosuppression after chemotherapy, respectively. **Results** In 121 patients with a total of 508 courses, 186 courses (36.6%) experienced myelosuppressive adverse reactions. Single factor analysis showed that the single nucleotide polymorphisms of *SLCO1B1* rs2306283 and *GGH* rs2305558 had an effect on the incidence of myelosuppression due to MTX ( $P < 0.05$ ). Logistic regression analysis showed that the SNP of *SLCO1B1* rs2306283 still had an effect on the incidence of MTX-induced myelosuppression (OR=1.542, 95%CI: 1.040 to 2.287,  $P=0.031$ ). **Conclusion** The GG genotype of *SLCO1B1* rs2306283 may serve as an independent risk factor for predicting MTX-induced myelosuppression and provide basis for individualized drug therapy of MTX.

**【Keywords】** Methotrexate; Primary central nervous system lymphoma; Myelosuppression; Single nucleotide polymorphism; Individualized drug therapy

甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 是一种叶酸拮抗剂, 可通过抑制二氢叶酸还原酶发挥抗肿瘤作用<sup>[1]</sup>。目前, 大剂量 MTX ( $> 500 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ ) 仍是原发性中枢神经系统淋巴瘤 (primary central nervous system lymphoma, PCNSL) 的一线治疗方案<sup>[2]</sup>。体内, MTX 通过溶质载体转运体 19 家族 1 (*SLC19A1*) 或溶质载体有机阴离子转运体 1B1 家族 (*SLCO1B1*) 进入细胞。在胞浆中, 叶酸聚谷氨酸合成酶 (FPGS) 和谷氨酰水解酶 (GGH) 可分别促进 MTX 的滞留及排泄。最后 MTX 在细胞内可由多药耐药蛋白 (ABCB1) 及多药耐药相关蛋白 2 (ABCC2) 转运出胞。研究<sup>[3-4]</sup>发现, 上述 MTX 作用通路上蛋白或酶的编码基因单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 可影响 MTX 的体内消除, 进而影响胞内 MTX 的浓度, 而 MTX 浓度被证明与疗效及不良反应相关。

目前, 关于 SNP 对 MTX 不良反应的研究主要集中在亚甲基四氢叶酸还原酶基因 (*MTHFR*)。研究<sup>[5-6]</sup>证实, *MTHFR* rs1801133 基因多态性与 MTX 所致肝毒性、肾毒性与口腔黏膜炎相关。多项研究<sup>[7-8]</sup>发现 *MTHFR* rs1801133 基因多态性与 MTX 所致骨髓抑制亦有关。Han 等<sup>[8]</sup>同时还发现 *MTHFR* rs1801131 基因多态性与 MTX 所致骨髓抑制相关。此外, 在儿童成熟 B 细胞淋巴瘤患者中, *SLCO1B1* rs11045879 基因多态性也被证

实与 MTX 所致骨髓抑制相关<sup>[5]</sup>。本研究旨在考察 MTX 作用通路上 *SLCO1B1*、*SLC19A1*、*ABCC2*、*ABCB1*、*FPGS*、*GGH* 等 6 个基因上的 13 个 SNP 对 MTX 所致骨髓抑制的影响, 以探讨影响 MTX 骨髓抑制个体差异的遗传因素, 为 MTX 的个体化用药提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

采用回顾性研究方法, 选取 2017 年 1 月—2021 年 7 月在复旦大学附属华山医院初诊为 PCNSL 的患者作为研究对象。本研究的执行符合《赫尔辛基宣言》及其补充条款, 研究方案获得复旦大学附属华山医院伦理委员会审查通过 (批件号: 2021-974), 由于本研究是回顾性研究, 所有患者均已豁免知情同意。

纳入标准: ①依据 2016 年世界卫生组织淋巴瘤分类标准<sup>[9]</sup>初诊为 PCNSL; ②性别不限, 年龄  $> 18$  岁; ③均接受以 MTX 单药或联合的治疗方案, MTX (澳大利亚辉瑞制药公司, 规格:  $10 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ , 批号: AF6925、CY6728 等)  $3.5 \sim 8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ , ivd, 3 h 内完成; 肝肾功能正常情况下, MTX 的剂量为  $8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ , 否则, 将根据肌酐清除率和总胆红素调整 MTX 的剂量, 联用药物包括阿糖胞苷、多柔比星脂质体、依托泊苷、长春地辛、利妥昔单抗等。

排除标准：①人类免疫缺陷病毒阳性和免疫抑制相关的中枢神经系统淋巴瘤；②开始治疗前血小板计数 (Plt)  $< 80 \times 10^9 \cdot L^{-1}$  和 (或) 血红蛋白 (Hb) 水平  $< 90 g \cdot L^{-1}$  者。

## 1.2 骨髓抑制临床终点事件判定标准

化疗前未发生骨髓抑制时，骨髓抑制临床终点事件判定标准：①化疗后血小板减少，即 Plt  $< 100 \times 10^9 \cdot L^{-1}$ ；②化疗后中性粒细胞计数减少，即中性粒细胞计数  $< 2 \times 10^9 \cdot L^{-1}$ ；③化疗后贫血，即 Hb  $< 110 g \cdot L^{-1}$ ，上述3种情况发生其一，则认为患者发生了骨髓抑制<sup>[10]</sup>。

化疗前已经存在骨髓抑制时，需根据不同情况判定 MTX 致骨髓抑制临床终点事件。若化疗前和化疗后的骨髓抑制分级相同，则认为患者未发生骨髓抑制；若化疗后骨髓抑制程度加重，如由 I 级骨髓抑制加重为 II 级骨髓抑制，则认为患者发生了骨髓抑制。骨髓抑制分级标准采用常见不良事件评价标准 (Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE) 5.0 版<sup>[10]</sup>，具体的分级标准包括：① Plt 减少，1 级  $[(75 \sim 100) \times 10^9 \cdot L^{-1}]$ 、2 级  $[(50 \sim 75) \times 10^9 \cdot L^{-1}]$ 、3 级  $[(25 \sim 50) \times 10^9 \cdot L^{-1}]$ 、4 级  $( < 25 \times 10^9 \cdot L^{-1} )$ ；② 中性粒细胞计数减少，1 级  $[(1.5 \sim 2) \times 10^9 \cdot L^{-1}]$ 、2 级  $[(1.0 \sim 1.5) \times 10^9 \cdot L^{-1}]$ 、3 级  $[(0.5 \sim 1.0) \times 10^9 \cdot L^{-1}]$ 、4 级  $( < 0.5 \times 10^9 \cdot L^{-1} )$ ；③ Hb 减少：1 级  $(100 \sim 110 g \cdot L^{-1})$ 、2 级  $(80 \sim 100 g \cdot L^{-1})$ 、3 级  $( < 80 g \cdot L^{-1} ; \text{需要输血治疗} )$ 、4 级 (危及生命；需要紧急治疗)。

## 1.3 基因型分析

取 2 mL 患者血样，使用血液基因组 DNA 提取试剂盒 (北京天根生物科技公司，货号：DP318) 参照说明书进行抽提。采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法对 MTX 作用通路上 6 个基因的 13 个位点进行基因分型。

主要实验流程包括：聚合酶链式反应扩增目标基因片段，单碱基延伸反应，产物纯化后采用 Nanodispenser SpectroCHIP 芯片点样，并使用 MassARRAY Analyzer Compac 质谱检测，最后采用 TYPER 4.0 软件分析实验结果，获得分型数据。

## 1.4 统计学分析

使用 Microsoft Excel 2020 软件录入数据，采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。等位基因及基因型频率采用 SHEsis 在线软件 (<http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>) 进行计算。Hardy-Weinberg 平衡检验采用 Pearson  $\chi^2$  检验。计量资料的

正态性采用 Kolmogorov-Smirnov 检验；符合正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示，两组比较采用独立样本  $t$  检验。计数资料以  $n (%)$  表示，组间比较采用  $\chi^2$  检验。用  $\chi^2$  检验考察 SNP 对化疗后骨髓抑制的影响；采用多因素 Logistic 回归模型分析纳入临床及人口学因素等协变量后基因型对骨髓抑制的影响。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

最终选取 121 例以大剂量 MTX 使用为基础化疗方案的 PCNSL 患者。其中，男性 80 例 (66.1%)，女性 41 例 (33.9%)，患者平均年龄  $(57.5 \pm 12.1)$  岁，身高  $(167.6 \pm 7.8)$  cm，体重  $(64.7 \pm 10.5)$  kg。Hb、MTX 单位体表面积剂量对骨髓抑制存在影响 ( $P < 0.01$ )，见表 1。

121 例 PCNSL 患者使用 MTX 进行化疗，共进行了 508 个疗程。186 个化疗疗程 (36.6%) 后发生了骨髓抑制不良反应，其中 30 个疗程后发生中性粒细胞减少，59 个疗程后发生血小板减少，150 个疗程后发生贫血。82 个疗程 (16.1%) 后发生了 2 级及以上不良反应，其中 15 个疗程后发生中性粒细胞减少，35 个疗程后发生血小板减少，56 个疗程后发生贫血，见表 2。

### 2.2 基因型与位点频率分布

共检测了 MTX 作用通路上 6 个基因包括 *SLCO1B1*、*SLC19A1*、*ABCC2*、*ABCB1*、*FPGS*、*GGH* 上的共 13 个位点的基因型。该 13 个 SNP 位点在染色体的分布及等位基因频率信息见表 3。所有位点的分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。

### 2.3 SNP 对 MTX 导致骨髓抑制的影响

由于存在某种基因型患者人数较少的情况，为便于统计，本研究对各位点的基因型分别进行了如下合并：将纯合子次要等位基因型和杂合子等位基因型归为一类，将纯合子主要等位基因型归为一类。单因素分析结果显示，*SLCO1B1* rs2306283 与 *GGH* rs2305558 位点的 SNP 均对患者使用 MTX 后骨髓抑制的发生率存在影响 ( $P < 0.05$ )，见表 4。

将单因素分析结果  $P < 0.1$  的变量 (MTX 单位体表面积剂量、化疗前血小板计数是否正

常、化疗前 Hb 是否正常) 及年龄、性别等协变量同 *SLCO1B1* rs2306283 和 *GGH* rs2305558 基因型共同纳入多因素 Logistic 回归模型。结果发现, *SLCO1B1* rs2306283 位点的 SNP 仍然对甲氨蝶呤所致骨髓抑制的发生率有影响, *SLCO1B1* rs2306283 GG 基因型的 PCNSL 患者使用 MTX 后

发生骨髓抑制的风险是 A 等位基因携带者的 1.542 倍 [95%CI (1.040, 2.287),  $P=0.031$ ]。除此之外, 未发现其他 SNP 对患者使用 MTX 后是否发生骨髓抑制存在影响。并且本研究发现, 年龄、性别这两个人口学因素对患者使用 MTX 后是否发生骨髓抑制也存在影响 ( $P=0.001$ ,  $P=0.020$ )。见表 5。

表1 121例 (508个疗程) 原发性中枢神经系统淋巴瘤患者化疗前的临床特征 [ $n(\%)$ ,  $\bar{x} \pm s$ ]

Table 1. Clinical features of 121 patients (508 treatment courses) with primary central nervous system lymphoma before chemotherapy [ $n(\%)$ ,  $\bar{x} \pm s$ ]

项目	总体 ( $n_{\text{疗程}}=508$ )	骨髓抑制		$t/\chi^2$	$P$
		未发生 ( $n_{\text{疗程}}=322$ )	发生 ( $n_{\text{疗程}}=186$ )		
丙氨酸氨基转移酶				0.467	0.494
正常	424 (83.5)	266 (62.7)	158 (37.3)		
异常	84 (16.5)	56 (66.7)	28 (33.3)		
肌酐清除率				0.423	0.516
正常	497 (97.8)	314 (63.2)	183 (36.8)		
异常	11 (2.2)	8 (72.7)	3 (27.3)		
中性粒细胞计数				0.389	0.533
正常	430 (84.6)	275 (64.0)	155 (36.0)		
异常	78 (15.4)	47 (60.3)	31 (39.7)		
血小板计数				3.571	0.059
正常	495 (97.4)	317 (64.0)	178 (36.0)		
异常	13 (2.6)	5 (38.5)	8 (61.5)		
血红蛋白				8.737	0.003
正常	451 (88.8)	296 (65.6)	155 (34.4)		
异常	57 (11.2)	26 (45.6)	31 (54.4)		
MTX剂量 ( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ )	$5.3 \pm 2.1$	$5.5 \pm 2.2$	$4.9 \pm 2.0$	3.255	0.004
初始化疗方案				1.194	0.550
单独使用MTX	71 (14.0)	48 (67.6)	23 (32.4)		
MTX联合化疗	83 (16.3)	55 (66.3)	28 (33.7)		
MTX联合靶向治疗	354 (69.7)	219 (61.9)	135 (38.1)		
并发慢性疾病				1.205	0.272
有	185 (36.4)	123 (66.5)	62 (33.5)		
无	323 (63.6)	199 (61.6)	124 (38.4)		

表2 121例 (508个疗程) 原发性中枢神经系统淋巴瘤患者的骨髓抑制不良事件 [ $n, n(\%)$ ]

Table 2. Adverse events in 121 patients (508 treatment courses) with primary central nervous system lymphoma [ $n, n(\%)$ ]

不良事件	药品不良反应等级				$\geq 1$ 级	$\geq 2$ 级
	1级	2级	3级	4级		
骨髓抑制*	104	57	13	12	186 (36.6)	82 (16.1)
中性粒细胞减少	15	9	4	2	30 (5.9)	15 (3.0)
血小板减少	24	17	8	10	59 (11.6)	35 (6.9)
贫血	94	46	10	0	150 (29.5)	56 (11.0)

注: \*中性粒细胞减少、血小板减少、贫血等3个事件只要发生其一则认为患者发生骨髓抑制

表3 13个单核苷酸多态性位点在染色体的分布及等位基因频率

Table 3. Distribution of 13 single nucleotide polymorphic loci in chromosomes and allele frequencies

序号	基因	染色体	rs编号	等位基因	<i>P</i> of HWE <sup>a</sup>	Maf(m) <sup>b</sup>	Maf(h) <sup>c</sup>	基因区域
1	<i>SLCO1B1</i>	Chr 12	rs2306283	A/G	0.068	A:0.259	A:0.156	外显子错义突变
2	<i>SLCO1B1</i>	Chr 12	rs4149056	C/T	0.725	C:0.102	C:0.156	外显子错义突变
3	<i>SLC19A1</i>	Chr 21	rs1051266	T/C	0.790	T:0.489	T:0.512	外显子错义突变
4	<i>ABCC2</i>	Chr 10	rs717620	T/C	0.879	T:0.199	T:0.222	5' UTR
5	<i>ABCB1</i>	Chr 7	rs1045642	A/G	0.811	A:0.410	A:0.400	外显子同义突变
6	<i>ABCB1</i>	Chr 7	rs2032582	G/T/A	0.590	T:0.173	T:0.155	外显子错义突变
7	<i>FPGS</i>	Chr 9	rs10106	T/C	0.922	T:0.350	T:0.291	3' UTR
8	<i>FPGS</i>	Chr 9	rs10987742	T/C	0.990	T:0.301	T:0.221	内含子
9	<i>FPGS</i>	Chr 9	rs1544105	C/T	0.777	C:0.350	C:0.322	基因上游
10	<i>GGH</i>	Chr 8	rs2736683	A/T	0.275	A:0.086	A:0.156	内含子
11	<i>GGH</i>	Chr 8	rs13268472	A/G	0.534	A:0.192	A:0.256	内含子
12	<i>GGH</i>	Chr 8	rs13248452	G/A	0.699	G:0.406	G:0.302	内含子
13	<i>GGH</i>	Chr 8	rs2305558	T/C	0.969	T:0.323	T:0.349	内含子

注: <sup>a</sup>Hardy-Weinberg平衡检验; <sup>b</sup>本研究中该等位基因的最小等位基因频率; <sup>c</sup>HAPMAP数据库中我国汉族人群该等位基因的最小等位基因频率

表4 121例 (508个疗程) PCNSL患者中单核苷酸多态性对骨髓抑制不良反应影响的单因素分析 [*n* (%) ]

Table 4. Univariate analysis of gene polymorphisms on MTX-induced myelosuppression in 121 patients with PCNSL (508 treatment courses) [*n*(%)]

SNP	等位基因 <sup>a</sup>	未发生骨髓抑制 ( <i>n</i> <sub>疗程=322</sub> )		发生骨髓抑制 ( <i>n</i> <sub>疗程=186</sub> )		$\chi^2$	<i>P</i>
		11+12 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>	11+12 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>		
<i>SLCO1B1</i>							
rs2306283	A/G	149 (46.3)	173 (53.7)	63 (33.9)	123 (66.1)	7.458	0.006
rs4149056	C/T	63 (19.6)	259 (80.4)	29 (15.6)	157 (84.4)	1.255	0.263
<i>SLC19A1</i>							
rs1051266	T/C	234 (72.7)	88 (27.3)	128 (68.8)	58 (31.2)	0.855	0.355
<i>ABCC2</i>							
rs717620	T/C	108 (33.5)	214 (66.5)	75 (40.3)	111 (59.7)	2.353	0.125
<i>ABCB1</i>							
rs1045642	A/G	217 (67.4)	105 (32.6)	123 (66.1)	63 (33.9)	0.085	0.771
rs2032582	G/T/A <sup>c</sup>	111 (34.5)	211 (65.5)	58 (31.2)	128 (68.8)	0.575	0.448
<i>FPGS</i>							
rs10106	T/C	185 (57.5)	137 (42.5)	101 (54.3)	85 (45.7)	0.476	0.490
rs10987742	T/C	166 (51.6)	156 (48.4)	85 (45.7)	101 (54.3)	1.616	0.204
rs1544105	C/T	190 (59.0)	132 (41.0)	100 (53.8)	86 (46.2)	1.323	0.250
<i>GGH</i>							
rs2736683	A/T	52 (16.1)	270 (83.9)	37 (19.9)	149 (80.1)	1.143	0.285
rs13268472	A/G	102 (31.7)	220 (68.3)	66 (35.5)	120 (64.5)	0.772	0.380
rs13248452	G/A	203 (63.0)	119 (37.0)	107 (57.5)	79 (42.5)	1.509	0.219
rs2305558	T/C	149 (46.3)	173 (53.7)	108 (58.1)	78 (41.9)	6.558	0.010

注: <sup>a</sup>“前一个碱基是指低频率等位基因, 后者是指高频率等位基因; <sup>b</sup>“11、12、22”中的1、2是指每个SNP的低频率等位基因和高频率等位基因; <sup>c</sup>对于具有3个SNPs G/T/A的rs2032582, 11+12为含有G等位基因的单倍型, 22为仅含有A或T等位基因的单倍型

表5 121例PCNSL患者(508个疗程)中单核苷酸多态性对骨髓抑制不良反应影响的Logistic回归分析  
Table 5. Logistic regression analysis of gene polymorphisms on MTX myelosuppression  
in 121 patients with PCNSL (508 treatment courses)

因素	B	SE	Wald $\chi^2$	OR (95%CI)	P
年龄(岁)*	0.036	0.010	11.942	1.037 (1.016, 1.058)	0.001
性别					
女				1.000	
男	0.482	0.207	5.428	1.619 (1.079, 2.427)	0.020
单位体表面积剂量( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ )*	-0.075	0.050	2.216	0.928 (0.841, 1.024)	0.137
化疗前血小板是否正常					
异常				1.000	
正常	0.616	0.626	0.969	1.851 (0.543, 6.312)	0.325
化疗前Hb是否正常					
异常				1.000	
正常	0.578	0.299	3.735	1.783 (0.992, 3.206)	0.053
<i>SLCO1B1</i> rs2306283 A/G					
AA+AG				1.000	
GG	0.433	0.201	4.649	1.542 (1.040, 2.287)	0.031
<i>GGH</i> rs2305558 T/C					
TT+TC				1.000	
CC	-0.275	0.198	1.942	0.759 (0.516, 1.118)	0.163
常量	-3.126	0.758	16.998	0.044	<0.001

注:\*计量资料

### 3 讨论

本研究通过探讨PCNSL患者中,MTX作用通路上基因的SNP与MTX化疗所致骨髓抑制的相关性,试图寻找引起化疗后骨髓抑制毒性发生与否的遗传因素,便于临床医师对患者进行个体化给药。

本研究共纳入了13个MTX作用通路相关的基因多态性,分别位于*SLCO1B1*、*SLC19A1*、*ABCC2*、*ABCB1*、*FPGS*、*GGH*等基因。研究结果显示,*SLCO1B1* rs2306283基因型可作为判断化疗后骨髓抑制发生与否的独立标志物,具有*SLCO1B1* rs2306283 GG基因型的患者使用MTX后发生骨髓抑制的风险是A等位基因携带者的1.542倍。

*SLCO1B1* rs2306283位于基因的外显子区,外显子发生突变后会造成员码区氨基酸组成的变化,从而使基因结构或表达发生变化,进而对基因功能产生影响<sup>[11]</sup>。关于*SLCO1B1* rs2306283基因多态性对疾病的影响,Shahrure等<sup>[12]</sup>研究发

现,*SLCO1B1* rs2306283基因多态性是约旦糖尿病患者发生他汀类药物诱导的肌病的危险因素。Liu ykevicieni等<sup>[13]</sup>研究*SLCO1B1* rs2306283基因多态性对早期渗出性年龄相关性黄斑变性患者的影响,然而并未发现该SNP与渗出性年龄相关性黄斑变性具有相关性。以上研究提示不同的疾病中*SLCO1B1* rs2306283的作用也不尽相同。本研究中,由于*SLCO1B1* rs2306283 A>G的基因突变是一种错义突变,推测因编码氨基酸的密码子经碱基替换后导致多肽链的氨基酸种类和序列发生改变,*SLCO1B1*基因表达改变,最终导致细胞内MTX浓度升高,使造血干细胞分化为髓系祖细胞及成熟血细胞的过程受抑制,破坏了骨髓内血细胞的增殖、成熟和释放与外周血细胞的衰老死亡、破坏和排出的平衡,出现红细胞、粒细胞和血小板减少的情况,从而导致骨髓抑制<sup>[14]</sup>。

MTX引起骨髓抑制的同时,其他化疗药物如阿糖胞苷、长春地辛等也可以引起骨髓抑制。Salamoon等<sup>[15]</sup>研究发现,同时使用大剂量阿糖胞苷的PCNSL患者更易发生4级骨髓抑制;本课题

组<sup>[16]</sup>研究发现, MTX 联用长春地辛亦可加重骨髓抑制。然而, 本研究仅对 MTX 单用、联用化疗或靶向药等不同的治疗方案所致骨髓抑制存在的影响进行考察, 且并未发现上述 3 种 MTX 化疗方式对骨髓抑制存在影响。考虑到临床化疗联合用药的多样性及样本量的局限性, 本研究未具体分析联用不同的化疗药对骨髓抑制的影响。这是本研究的一个局限, 收集化疗方案更加统一的患者进行分析将是未来研究的重点。

总之, 本研究发现 *SLCO1B1* rs2306283 位点 SNP 对甲氨蝶呤所致骨髓抑制的发生率有影响, 但这一研究结果可否应用到临床, 尚需要多中心、更大样本的研究来验证。

### 参考文献

- 1 Kanderi T, Chan Gomez J, Puthenpura MM, et al. Pancytopenia as a complication of low-dose methotrexate in a septuagenarian: a rare presentation[J]. *Cureus*, 2020, 12(6): e8492. DOI: 10.7759/cureus.8492.
- 2 王振华, 袁燕, 吴婷, 等. 安全使用大剂量甲氨蝶呤治疗原发性中枢神经系统淋巴瘤 1 例分析 [J]. *上海医药*, 2021, 42(15): 3-4, 64. [Wang ZH, Yuan Y, Wu T, et al. Safe administration of high-dose methotrexate in treatment of a patient with primary central nervous system lymphoma[J]. *Shanghai Medical & Pharmaceutical Journal*, 2021, 42(15): 3-4, 64.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-1533.2021.15.002.
- 3 Fox E, Busch C, Debernardo A, et al. A pharmacologically-based approach to high dose methotrexate administration to investigate nephrotoxicity and acute kidney injury biomarkers in children and adolescents with newly diagnosed osteosarcoma[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2021, 87(6): 807-815. DOI: 10.1007/s00280-021-04248-8.
- 4 Lui G, Treluyer JM, Fresneau B, et al. A pharmacokinetic and pharmacogenetic analysis of osteosarcoma patients treated with high-dose methotrexate: data from the OS2006/Sarcoma-09 trial[J]. *J Clin Pharmacol*, 2018, 58(12): 1541-1549. DOI: 10.1002/jcph.1252.
- 5 Huang S, Jin L, Yang J, et al. Study on relationships of tumor status and gene polymorphism with blood concentration of mtx and toxicities in 63 pediatric mature B cell lymphoma in Chinese population[J]. *Technol*

- Cancer Res Treat*, 2021, 20: 1533033821995288. DOI: 10.1177/1533033821995288.
- 6 Chang X, Guo Y, Su L, et al. Influence of *MTHFR* C677T polymorphism on high-dose methotrexate-related toxicity in patients with primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2021, 21(2): 91-96. DOI: 10.1016/j.clml.2020.08.020.
- 7 Choi YJ, Park H, Lee JS, et al. Methotrexate elimination and toxicity: *MTHFR* 677C>T polymorphism in patients with primary CNS lymphoma treated with high-dose methotrexate[J]. *Hematol Oncol*, 2017, 35(4): 504-509. DOI: 10.1002/hon.2363
- 8 Han J, Liu L, Meng L, et al. Effect of polymorphisms of *ABCB1* and *MTHFR* on methotrexate-related toxicities in adults with hematological malignancies[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 759805. DOI: 10.3389/fonc.2021.759805.
- 9 Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms[J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2375-2390. DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569.
- 10 National Institutes of Health, National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v 5.0. 2017[EB/OL]. (2017)[2021-07-01]. [https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic\\_applications/docs/CTCAE\\_v5\\_Quick\\_Reference\\_5x7.pdf](https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf).
- 11 Bruno A, Boisselier B, Labreche K, et al. Mutational analysis of primary central nervous system lymphoma[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(13): 5065-5075. DOI: 10.18632/oncotarget.2080.
- 12 Shahrure ZM, Irshaid YM, Mustafa KN, et al. *SLCO1B1* gene polymorphisms (rs2306283 and rs4149056) and statin-induced myopathy in Jordanian diabetics[J]. *Curr Rev Clin Exp Pharmacol*, 2021, 16(3): 281-288. DOI: 10.2174/1574884715666200827105612.
- 13 Liuykeviciene R, Vilkeviciute A, Slavinskaite A, et al. Evaluation of serum *SLCO1B1* levels and genetic variants of *SLCO1B1* rs4149056 and rs2306283 in patients with early and exudative age-related macular degeneration[J]. *Gene*, 2018, 676: 139-145. DOI: 10.1016/j.gene.2018.07.031.
- 14 Gonzalez-ibarra F, Eivaz-mohammadi S, Surapaneni S, et al. Methotrexate induced pancytopenia[J]. *Case Rep Rheumatol*, 2014, 2014: 679580. DOI:

10.1155/2014/679580.

- 15 Salamoon M, Hussein T, Kenj M, et al. High-dose methotrexate, high-dose cytarabine and temozolomide for the treatment of primary central nervous system lymphoma (PCNSL)[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 690. DOI: 10.1007/s12032-013-0690-9.
- 16 Sun K, Tao HW, Ding TL, et al. Risk factors for high-dose

methotrexate associated toxicities in patients with primary central nervous system lymphoma[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2022, 47(12): 2196-204.

收稿日期: 2023年02月20日 修回日期: 2023年08月09日  
本文编辑: 杨燕 钟巧妮