doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2505148

论著·临床研究

*MTHFR*基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病氨甲蝶呤药物代谢的关联性分析

王晓丹　李晋文　章萍　竺晓凡　杨文钰

［中国医学科学院血液病医院（中国医学科学院血液学研究所），血液与健康全国重点实验室，国家血液系统疾病临床医学研究中心，细胞生态海河实验室，天津医学健康研究院，天津　300020］

［摘要］**目的**　氨甲蝶呤（methotrexate, MTX）血清浓度和*MTHFR*基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病（acute lymphoblastic leukemia, ALL）大剂量MTX延迟代谢及不良反应的关联性。**方法**　纳入2021年8月—2023年12月中国医学科学院血液病医院收治的ALL患儿214例，均检测第1次大剂量MTX用药后的血清浓度和*MTHFR* C677T和A1298C多态性，回顾性分析患儿数据。**结果**　214例ALL患儿中，C677T的TT基因型发生延迟代谢的比率高于CT基因型，CC基因型高于CT基因型。携带A1298C的AC基因型发生Ⅰ级及以上中性粒细胞减少的比率高于AA基因型。MTX的较高浓度和发生Ⅱ级及以上的肾损伤、胃肠道反应和高胆红素血症密切关联。疾病分层为中/高危、年龄>14岁、体重指数≥17 kg/m²是延迟代谢的危险因素；相对于*MTHFR* C677T CC基因型，C677T CT发生延迟代谢的风险降低；TT与CC相比，对延迟代谢的影响没有显著性差异。**结论**　MTX浓度可作为MTX相关毒性的客观标志物，而在充分解救治疗与浓度监测下，单一*MTHFR*多态性可能不足以指导剂量调整，因此应以浓度监测为主、基因为辅的联合治疗策略。　［中国当代儿科杂志，2026，28（2）：234-241］

［关键词］急性淋巴细胞白血病；氨甲蝶呤；亚甲基四氢叶酸还原酶；基因多态性；不良反应；儿童

Association of *MTHFR* gene polymorphisms with methotrexate metabolism in children with acute lymphoblastic leukemia

WANG Xiao-Dan, LI Jin-Wen, ZHANG Ping, ZHU Xiao-Fan, YANG Wen-Yu. State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin Institutes of Health Science, Tianjin 300020, China (Yang W-Y, Email: yangwenyu@ihcams.ac.cn)

Abstract: Objective　To evaluate the associations of serum methotrexate (MTX) concentrations and *MTHFR* gene polymorphisms with delayed metabolism of high-dose MTX and adverse reactions in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods**　Children with ALL treated at the Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, between August 2021 and December 2023 were included (*n*=214). Serum MTX concentrations after the first HD-MTX administration and *MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms were determined. Clinical data were retrospectively analyzed. **Results**　Among 214 children with ALL, the C677T TT genotype had a higher rate of delayed metabolism than the CT genotype, and the CC genotype had a higher rate than the CT genotype. For A1298C, the AC genotype was associated with a higher incidence of grade I or higher neutropenia than the AA genotype. Higher MTX concentrations were closely associated with grade II or higher renal injury, gastrointestinal reactions, and hyperbilirubinemia. Intermediate/high-risk disease category, age >14 years, and body mass index ≥17 kg/m² were risk factors for delayed metabolism. Compared with the C677T CC genotype, the CT genotype had a reduced risk of delayed metabolism, whereas no significant difference was observed between TT and CC. **Conclusions**　Serum MTX concentration serves as an objective marker of MTX-related toxicity. Under adequate rescue

［收稿日期］2025-05-30；［接受日期］2025-12-17
［基金项目］中国医学科学院临床与转化医学研究专项（2023-12M-C&T-B-106）。
［作者简介］王晓丹，女，学士，副主任药师。
［通信作者］杨文钰，女，主任医师。Email：yangwenyu@ihcams.ac.cn。

therapy and concentration monitoring, a single *MTHFR* polymorphism appears insufficient to guide dose adjustment. A combined strategy is recommended, with concentration monitoring as the primary approach and genetic factors as an adjunct.
[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2026, 28(2): 234-241]

Key words: Acute lymphoblastic leukemia; Methotrexate; Methylenetetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism; Adverse reaction; Child

氨甲蝶呤（methotrexate, MTX）是儿童急性淋巴细胞白血病（acute lymphoblastic leukemia, ALL）治疗的重要药物，可有效降低髓外复发率并提高患儿长期生存率。然而，大剂量氨甲蝶呤（high-dose methotrexate, HD-MTX）在体内的延迟代谢会引发患儿不同程度的毒副作用，表现为口腔溃疡、消化道溃疡、出血、发热、皮肤损害、骨髓抑制、肝脏损害等，严重时危及儿童生命，HD-MTX 代谢呈现出显著的个体差异[1]。而代谢差异可能与 MTX 代谢酶与转运体的基因多态性有关，有研究考察了影响体内 MTX 关键通路的各种相关的单核苷酸多态性，但并未有统一结论[2-6]，已有较多研究显示亚甲基四氢叶酸还原酶（methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*）活性重度减低[7]，可能会导致 HD-MTX 用药风险增加，但 *MTHFR* 基因突变导致的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms, SNPs）是否一定会引起 MTX 代谢延迟目前尚存在争议。因此本研究对 ALL 患儿基因多态性和 MTX 浓度与 HD-MTX 化疗后延迟代谢和不良反应进行关联分析，并对发生延迟代谢的影响因素进行分析，为儿童 ALL 治疗中 HD-MTX 剂量优化及毒副作用管理提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2021 年 8 月—2023 年 12 月在中国医学科学院血液病医院适合规范治疗的 ALL 患儿。本研究方案通过中国医学科学院血液病医院伦理委员会批准（批件号：CAMSCRF2023011-EC-1），并且所有患儿监护人签署知情同意书。

纳入标准：（1）年龄 1 个月到 18 岁；（2）骨髓形态学及免疫学分型诊断为 ALL。排除标准：（1）其他继发性白血病；（2）先天性免疫缺陷病或代谢性疾病；（3）先天性心脏病伴心功能不全；（4）入组前 1 个月内使用糖皮质激素≥14 d，或 ABL 激酶抑制剂超过 7 d，或前 3 个月内有任何化疗、放疗史者。

1.2 给药方案

依据中国抗癌协会小儿肿瘤专业委员会（Chinese Children's Cancer Group, CCCG）ALL 方案。氨甲蝶呤（低危组 3 g/m^2，中/高危组 5 g/m^2），以 MTX 总量的 1/10 0.5 h 内静脉滴注；余量 23.5 h 内均匀滴注；监测用药后 18 h、42 h MTX 浓度。巯嘌呤（25 mg/m^2，1 次/晚）连续服药 14 d。亚叶酸钙：MTX 开始后 42 h 起根据 MTX 浓度调整解救剂量，直至 MTX 浓度低于 0.1 μmol/L 时，停止解救。36 h 前出现明显毒性反应者，解救应提前到 36 h。

WBC 计数≥1.8×10^9/L，中性粒细胞计数≥0.3×10^9/L 且血小板计数>75×10^9/L 才能开始新的 HD-MTX 疗程；但若 WBC 计数≥1.8×10^9/L 而中性粒细胞计为 0.3×10^9/L~0.5×10^9/L 或血小板计数为 75×10^9/L~100×10^9/L，HD-MTX 可以开始但应暂停使用巯嘌呤；丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase, ALT）>正常值 5 倍或总胆红素（total bilirubin, TBIL）>34 mmol/L，直接胆红素（direct bilirubin, DBIL）>24 mmol/L 或有黏膜炎时 HD-MTX 治疗须推迟。

1.3 氨甲蝶呤血药浓度测定

采集患儿静脉血 2~3 mL 置于真空采血管中，离心取上层血浆，采用酶放大免疫分析法测定氨甲蝶呤血药浓度。分别于氨甲蝶呤静脉滴注后第 18、42、66 h 采集静脉血，以 MTX 给药后 42 h 血药浓度≥1 μmol/L 作为延迟代谢的标准，每 24 h 监测 1 次 MTX 浓度直至≤0.1 μmol/L。为避免由于剂量调整带来的 MTX 浓度和不良反应的偏差，故只收集第 1 个疗程的 MTX 血药浓度数据。

1.4 基因型的检测

采集患儿静脉血 2~3 mL，置于真空采血管中。取 200 μL 血浆加入 1 mL 氯化铵溶液中，翻摇混匀，静置，离心，留取白色沉淀；同法离心 3 次；将核酸纯化剂加入白色沉淀物中，混匀后静置；取 1.5 μL 于试剂盒测样管中，置于微量荧光检测仪中进行检测。

1.5 不良反应的收集

采用对患儿 *MTHFR* 基因型和 MTX 浓度均不知情的情况下系统性收集 HD-MTX 第 1 疗程期间的不

良反应数据。通过实验室参数收集骨髓抑制、肝肾毒性的相关数据，通过随访记录患儿黏膜损伤、恶心呕吐、发热、腹泻等不良反应。不良反应分级采用美国国立癌症研究中心常规毒性判定标准（第五版）[1]。

1.6 统计学分析

采用IBM SPSS Statistics 24.0软件进行数据分析。满足正态分布的数据用均值±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用独立样本t检验。非正态分布计量资料采用中位数（范围）表示，组间比较采用Mann-Whitney U检验。计数资料采用例数和百分率（%）表示，组间比较采用卡方检验或Fisher确切概率法（期望频数<5时）。*MTHFR*基因型与代谢延迟及不良反应的关联性采用皮尔逊卡方检验或连续性修正法或Fisher确切概率法，P<0.05表示有显著性差异。多因素分析时先使用二分类logistic回归对各变量分别进行单因素分析，筛选出P<0.1者纳入最终回归模型，再进行多因素logistic回归，关联性采用风险比（odds ratio, *OR*）表示。

2 结果

2.1 一般资料

本研究共纳入ALL患儿214例，其中男性125例，女性89例；中位年龄7（范围：0.67~17）岁；中位体重指数（body mass index, BMI）为15.5（范围：11.1~39.2）kg/m^2；初诊中位WBC计数3.15（范围：0.84~55.58）×10^9/L；19 d和46 d微小残留病（minimal residual disease, MRD）以及免疫分型的基本情况见表1，将*MTHFR* C677T和A1298C分别按照野生型和突变型进行分组，对比患儿的基线资料发现除*MTHFR* C677T的组间46 d微小残留病变值（P=0.013）和A1298C的组间年龄（P=0.032）有差异有统计学意义外，其余基线值差异均无统计学意义。见表1。

表1 两组基因型的患儿临床基本资料和实验检查结果的比较

基本信息	*MTHFR* C677T (n=214)				*MTHFR* A1298C (n=214)			
	野生型(CC) (n=42)	突变型 (CT+TT) (n=172)	t/χ^2值	P值	野生型(AA) (n=162)	突变型 (AC+CC) (n=52)	t/χ^2值	P值
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	8±4	7±4	0.630	0.529	7±4	7±4	1.135	0.258
身高 ($\bar{x} \pm s$, cm)	130±27	127±27	0.745	0.457	127±27	127±24	1.265	0.207
体重 ($\bar{x} \pm s$, kg)	31±18	29±17	1.005	0.316	29±17	29±17	0.798	0.426
性别 [n(%)]								
男性	25(59.5)	100(58.1)	0.027	0.870	88(54.3)	37(71.2)	4.591	0.032
女性	17(40.5)	72(41.9)			74(45.7)	15(28.8)		
初诊WBC计数 ($\bar{x} \pm s$, ×10^9/L)	3.7±2.3	3.9±4.4	–0.229	0.819	3.8±4.5	4.1±2.3	–1.355	0.177
初诊血小板计数 ($\bar{x} \pm s$, ×10^9/L)	318±190	324±142	–0.208	0.835	324±148	317±166	–0.720	0.472
免疫分型 [n(%)]								
B细胞型	38(90.5)	145(84.3)	1.039	0.308	137(84.6)	46(88.5)	0.482	0.488
T细胞型	4(9.5)	27(15.7)			25(15.4)	6(11.5)		
19 d MRD [n(%)]								
<0.01	9(21.4)	69(40.1)	6.097	0.172	60(37.0)	18(34.6)	4.986	0.270
0.01~0.09	10(23.8)	27(15.7)			29(17.9)	8(15.4)		
0.1~0.99	9(21.4)	31(18.0)			31(19.1)	9(17.3)		
≥1	13(31.0)	42(24.4)			41(25.3)	14(27.0)		
无数据	1(2.4)	3(1.7)			1(0.6)	3(5.7)		
46 d MRD [n(%)]								
<0.01	30(71.4)	152(88.4)	8.055	0.013	143(88.3)	39(75.0)	5.663	0.051
≥0.01	9(21.4)	12(7.0)			13(8.0)	8(15.4)		
无数据	3(7.1)	8(4.6)			6(3.7)	5(9.6)		
疾病分层 [n(%)]								
低危	13(31.0)	63(36.7)	0.475	0.491	55(34.0)	21(40.4)	0.712	0.399
中/高危	29(69.0)	109(63.3)			107(66.0)	31(59.6)		

注：［WBC］白细胞；［MRD］微小残留病。

2.2 *MTHFR*基因多态性分布

在 214 例 ALL 患儿中，*MTHFR* 基因 C677T 位点 CC、CT 和 TT 型分别占 19.6%、46.7% 和 33.6%，A1298C 位点 AA、AC 和 CC 型分别占 75.7%、23.4% 和 0.9%，各基因型均符合 Hardy-Weinberg 平衡（P>0.05），提示该样本符合遗传平衡，即具有群体代表性，具体如表 2 所示。

2.3 两种基因型患儿 MTX 延迟代谢的比较

214 例患儿中共有 78 例患儿在第 1 次 HD-MTX 静脉滴注后发生延迟代谢，发生率为 36.4%，*MTHFR* C677T 和 A1298C 各基因型患儿之间 MTX 延迟代谢的发生率见表 3。分别对 C677T 和 A1298C 的任意两种基因型间发生延迟代谢与否的频次进行四格表卡方检验，结果显示，C677T 的 TT 基因型发生延迟代谢的比率高于 CT 基因型（P<0.05），CC 基因型高于 CT 基因型（P<0.05），但 CC 和 TT 相比、A1298C 的 AA 和 AC 相比差异均无统计学意义（P>0.05）。

2.4 两种基因型患儿 MTX 不良反应的比较

根据是否发生Ⅰ级或Ⅱ级及以上不良反应，分析不同基因型之间差异是否具有统计学意义。结果显示携带 A1298C 的 AC 基因型的患儿Ⅰ级及以上中性粒细胞减少的发生率高于 AA 基因型（P<0.05），其余各基因型在骨髓抑制、肝肾功能损伤的组间不良反应发生率比较，差异均无统计学意义（表 4 和表 5）。

表 2 *MTHFR*基因多态性分布及 Hardy-Weinberg 平衡性检验 （n=214）

*MTHFR*基因型	实际频数	理论频数	χ^2值	P值
C677T				
CC 型	42	40		
CT 型	100	105	0.197	0.91
TT 型	72	70		
A1298C				
AA 型	162	163		
AC 型	50	47	0.294	0.86
CC 型	2	3		

表 3 患儿基因多态性与 MTX 延迟代谢的相关性 ［n（%）］

基因型	例数[n]	≥1 μmol/L	<1 μmol/L	χ^2值	P值
MTHFR C677T					
CC 型	42	22(52.4)	20(47.6)		
CT 型	100	26(26.0)	74(74.0)	10.383	0.006
TT 型	72	30(41.7)	42(58.3)		
MTHFR A1298C					
AA 型	162	60(37.0)	102(63.0)		
AC 型	40	18(36.0)	32(64.0)	1.176	0.556
CC 型	2	0(0)	2(100)		

注：TT 与 CT 比较（P=0.031，χ^2=4.679），CC 与 CT 比较（P=0.002，χ^2=9.199）。

表 4 两种基因型患儿Ⅰ级及以上 MTX 不良反应的比较 ［n/N（%）］

基因型	WBC 减少	血小板减少	贫血	中性粒细胞减少	肾功能损伤	肝功能损伤
MTHFR C677T						
CC 型	22/42(52.4)	8/42(19.1)	10/42(23.8)	22/42(52.4)	5/42(11.9)	11/28(39.3)
CT 型	44/100(44.0)	15/100(15.0)	20/100(20.0)	41/100(41.0)	8/100(8.0)	16/53(30.2)
TT 型	36/72(50.0)	16/72(22.2)	13/72(18.1)	31/72(43.1)	10/72(13.9)	13/39(33.3)
χ^2值	0.939	1.787	0.596	1.594	1.912	0.682
P值	0.816	0.618	0.897	0.661	0.591	0.711
MTHFR A1298C						
AA 型	74/162(45.7)	33/162(20.4)	34/162(21.0)	65/162(40.1)	14/162(8.6)	28/89(31.5)
AC 型	25/50(50.0)	6/50(12.0)	9/50(18.0)	28/50(56.0)	9/50(18.0)	12/31(38.7)
CC 型	2/2(100)	0/2(0)	0/2(0)	2/2(100)	0/2(0)	0/2(0)
χ^2值	2.179	1.874	0.384	6.010	3.711	1.194
P值	0.353	0.426	0.898	0.024	0.149	0.559

注：［n/N］阳性例数/检测例数。［WBC］白细胞。

表5　两种基因型患儿Ⅱ级及以上 MTX不良反应的比较　［*n*/*N*（%）］

基因型	WBC减少	血小板减少	贫血	中性粒细胞减少	肾功能损伤	肝功能损伤
MTHFR C677T						
CC型	16/42(38.1)	4/42(9.5)	8/42(19.1)	20/42(47.6)	2/42(4.8)	4/28(14.3)
CT型	37/100(37.0)	6/100(6.0)	19/100(19.0)	34/100(34.0)	6/100(6.0)	6/53(11.3)
TT型	31/72(43.1)	6/72(8.3)	12/72(16.7)	28/72(38.9)	7/72(9.7)	7/39(18.0)
χ^2值	0.812	0.681	0.210	2.342	1.644	0.987
*P*值	0.847	0.878	0.976	0.505	0.645	0.804
MTHFR A1298C						
AA型	62/162(38.3)	12/162(7.4)	32/162(19.8)	57/162(35.2)	10/162(6.2)	12/89(13.5)
AC型	20/50(40.0)	4/50(8.0)	7/50(14.0)	24/50(48.0)	5/50(10.0)	5/31(16.1)
CC型	2/2(100)	0/2(0)	0/2(0)	1/2(50)	0/2(0)	0/2(0)
χ^2值	2.729	0.570	0.940	3.055	1.526	0.456
*P*值	0.248	1.000	0.606	0.205	0.441	0.828

注：*n*/*N*中*n*代表阳性病例，*N*代表相应基因病例。［WBC］白细胞。

2.5　不同时间点MTX浓度的不良反应比较

表6显示了不同时间点MTX浓度的不良反应比较。结果显示，18 h、42 h或者66 h较高的浓度水平更易发生Ⅱ级及以上的肌酐升高、呕吐和高胆红素血症（*P*<0.05）的不良反应。与此同时，66 h MTX较高的浓度水平也更易发生Ⅱ级及以上的贫血（*P*=0.030），42 h MTX较高的浓度水平更易发生Ⅱ级及以上的血小板减少（*P*=0.002）。

表6　不同时间点MTX浓度的不良反应比较　［M（P_{25}，P_{75}）］

不良反应	<Ⅱ级的不良反应		≥Ⅱ级的不良反应		*Z*值	*P*值
	例数	MTX浓度 [中位值(范围)]	例数	MTX浓度 [中位值(范围)]		
WBC减少						
18 h	130	50.76(15.84~144.72)	84	60.12(15.48~190.08)	−1.468	0.142
42 h	130	0.70(0.21~88.56)	84	0.72(0.23~48.24)	−0.829	0.407
66 h	75	0.22(0.06~29.52)	51	0.46(0.08~24.12)	−1.480	0.139
中性粒细胞减少						
18 h	132	54.90(15.48~190.08)	82	54.00(15.84~149.04)	−0.248	0.805
42 h	132	0.70(0.27~39.60)	82	0.82(0.21~88.56)	−0.400	0.689
66 h	77	0.24(0.06~11.52)	50	0.36(0.09~29.52)	−1.292	0.196
血小板减少						
18 h	198	52.56(15.48~190.08)	16	61.20(30.96~99.36)	−0.913	0.361
42 h	198	0.69(0.21~88.56)	16	3.48(0.3~27.36)	−3.134	0.002
66 h	113	0.24(0.06~29.52)	14	0.60(0.14~9.90)	−2.043	0.041
贫血						
18 h	175	52.20(15.48~190.08)	39	59.76(20.88~120.96)	−1.235	0.217
42 h	175	0.70(0.21~88.56)	39	0.86(0.29~47.16)	−1.572	0.116
66 h	102	0.23(0.06~29.52)	32	0.80(0.10~11.52)	−2.171	0.030
肌酐升高						
18 h	199	51.66(15.48~190.08)	15	90.72(42.48~146.88)	−3.855	<0.001
42 h	199	0.68(0.21~23.04)	15	30.60(3.18~88.56)	−6.268	<0.001
66 h	112	0.21(0.06~9.42)	15	7.92(1.08~29.52)	−5.999	<0.001
谷丙转氨酶升高						
18 h	103	55.08(17.64~190.08)	17	60.30(21.96~138.24)	−0.297	0.766
42 h	103	0.83(0.21~88.56)	17	0.69(0.27~3.48)	−1.577	0.115
66 h	68	0.33(0.07~29.52)	12	0.16(0.07~0.60)	−2.356	0.018

表6（续）

不良反应	<Ⅱ级的不良反应		≥Ⅱ级的不良反应		*Z*值	*P*值
	例数	MTX浓度 [中位值(范围)]	例数	MTX浓度 [中位值(范围)]		
谷草转氨酶升高						
18 h	107	55.44(17.64~190.08)	13	59.76(25.56~138.24)	−0.042	0.966
42 h	107	0.73(0.21~88.56)	13	0.81(0.27~3.48)	−0.726	0.468
66 h	70	0.32(0.07~29.52)	9	0.26(0.07~0.60)	−1.562	0.118
胆红素升高						
18 h	114	52.02(17.64~190.08)	6	71.64(69.12~116.64)	−2.505	0.012
42 h	114	0.71(0.21~48.24)	6	11.88(1.51~88.56)	−3.131	0.002
66 h	73	0.25(0.07~24.12)	6	2.94(0.29~29.52)	−2.440	0.015
呕吐						
18 h	155	47.50(15.48~149.04)	59	66.60(19.08~190.08)	−4.382	<0.001
42 h	155	0.60(0.21~88.56)	59	2.85(0.37~48.24)	−6.017	<0.001
66 h	77	0.20(0.06~29.52)	50	1.08(0.07~24.12)	−4.243	<0.001
口腔黏膜损伤						
18 h	87	56.88(15.48~190.08)	123	54.90(17.64~149.04)	−0.122	0.903
42 h	87	0.82(0.21~47.16)	123	0.70(0.27~88.56)	−1.185	0.236
66 h	51	0.43(0.08~24.12)	48	0.23(0.06~29.52)	−1.697	0.090

2.6 MTX延迟代谢的多因素分析

对HD-MTX给药后影响延迟代谢的多个因素采用二分类logistic回归进行单因素初筛，分析结果显示，年龄（*P*<0.001）、BMI（*P*<0.001）、疾病分层（*P*<0.001）、*MTHFR* C677T（*P*=0.007）这些自变量对延迟代谢发生组与不发生组分布差异有统计学意义；性别、*MTHFR* A1298C、巯嘌呤代谢的基因*NUDT15*（c.415C>T）、TPMT*3C这些自变量在延迟代谢发生组与不发生组分布差异无统计学意义（*P*>0.05）。

将上述筛选出的变量纳入多因素logistic回归分析，霍斯默–莱梅肖拟合优度检验显示*P*>0.05，说明模型的拟合优度效果较好，同时多重共线性诊断显示各自变量的方差膨胀因子均小于10，说明不存在共线性问题。结果如表7所示，疾病分层为中/高危（*OR*=3.620，95%*CI*：1.768~7.413，*P*<0.001）、年龄>14岁（*OR*=4.099，95%*CI*：1.033~16.269，*P*=0.045）、BMI≥17 kg/m^2（*OR*=1.937，95%*CI*：1.007~3.723，*P*=0.047）是延迟代谢的危险因素，同时相对于*MTHFR* C677T CC基因型，CT基因型发生延迟代谢的风险降低（*OR*=0.300，95%*CI*：0.133~0.676，*P*=0.004），TT基因型与CC基因型相比，对延迟代谢的影响差异无统计学意义（*P*=0.256）。

表7 HD-MTX后发生延迟代谢的多因素分析

变量	*B*	*SE*	Waldχ^2	*P*	*OR*	95%*CI*
中/高危	1.287	0.366	12.378	<0.001	3.620	1.768~7.413
年龄>14岁	1.411	0.703	4.023	0.045	4.099	1.033~16.269
BMI≥17 kg/m^2	0.661	0.334	3.928	0.047	1.937	1.007~3.723
*MTHFR*677 (C>T)*						
CC型						
CT型	−1.204	0.415	8.432	0.004	0.300	0.133~0.676
TT型	−0.476	0.419	1.290	0.256	0.621	0.273~1.413
常量	−1.090	0.434	6.293	0.012	0.336	

注：*示以CC型为参照，CT/TT型分别与之进行比较；其他变量均为二分类变量。［BMI］体重指数。

3 讨论

近些年关于药物代谢对血液系统肿瘤HD-MTX安全性的研究非常广泛，但是结论却各不相同[2, 8]。本研究主要涉及氨甲蝶呤代谢途径中具有重要意义的2个基因，即*MTHFR* 677 C>T和*MTHFR* 1298 A>C。*MTHFR*是细胞内叶酸稳态和代谢的关键酶，*MTHFR*基因677和1298位点突变可导致*MTHFR*酶活性下降15%~85%不等[9]。对多靶点基因的分析发现，*MTHFR* 677突变的患儿中，48 h血药浓度高于1 μmol/L的患儿比例超过40%，而TT型患儿中，比例达到55%[10]。上述研究提示突变患儿血药浓度过高风险显著增加；而黄建权等[11]和马乐等[12]研究却显示，*MTHFR* 677位点（CT及TT）型携带者MTX排泄延迟发生率与CC携带者无显著差异。故近年来关于*MTHFR*多态性与MTX血药浓度及延迟代谢的关联性研究尚无统一结论。

关于*MTHFR*多态性与MTX相关毒性的研究结果也不尽相同。最早追溯至2012年，国内有Meta分析显示*MTHFR* C677T与肝脏毒性、骨髓抑制、口腔黏膜炎、胃肠道毒性和皮肤毒性的发生风险显著关联[13]。Esmaili等[8]研究发现*MTHFR* 677TT基因型与骨髓抑制存在关联，而*MTHFR* 1298 AC基因型与肝毒性降低有关。王婷[14]的Meta分析显示，在ALL患儿中，*MTHFR* C677T的突变基因增加了MTX化疗中肝毒性、胃肠道毒性的发生风险，而*MTHFR* A1298C多态性与之无相关性。2020年，刘爽等[15]进行的Meta分析显示，*MTHFR* C677T突变型可能增加HD-MTX血液毒性的发生风险；而*MTHFR* A1298C突变型则可能降低其血液毒性发生风险。

但也有研究显示，*MTHFR* A1298C的次要等位基因携带者则更容易发生中性粒细胞减少症[16]。白小红等[3]研究显示，*MTHFR* A1298C基因多态性与ALL患儿HD-MTX化疗后的ADR有关。但也有多项研究显示，*MTHFR* C677T/A1298C基因多态性与患儿的毒性无显著关联[1, 9, 17]。所以目前而言，关于*MTHFR*基因多态性与MTX毒性是否存在关联性还不确定，还需要进一步研究确认。

本研究发现，虽然C677T的TT基因型发生延迟代谢的比率高于CT基因型，但CC基因型高于CT基因型，且CC基因型和TT基因型相比无显著性差异，同时除携带A1298C的AC基因型的患儿Ⅰ级及以上中性粒细胞减少的发生率高于AA基因型以外，其余各基因型的不良反应发生率均无差异。究其原因，可能跟样本量少有关，尤其是发生纯合突变的样本量过少。此外，在临床实践中会给予延迟代谢患儿更大的亚叶酸钙解救剂量和频次以保证患儿的用药安全，一定程度上或许会消除基因多态性的作用[17-19]。既往也有多项研究与我们关于血液学毒性的结论相一致[3, 20]。此外，治疗过程中其他合并药物（如巯嘌呤等）混杂因素可能也有影响[21]。

本研究发现，MTX的相关毒性与18 h、42 h和66 h时MTX浓度存在显著关联。既往的研究中也有提到长期高MTX浓度水平和肾功能不全有关[22]，胃肠道反应和高胆红素血症在韩国ALL患儿群体中也有体现[4]。由此可见，高MTX浓度水平与整体MTX毒性存在一定关联，MTX浓度可以作为MTX相关毒性的客观标志物[23]。

本研究的不足之处在于样本量少，目前能够检测的MTX代谢基因有限，缺乏对可能影响MTX清除的联合用药的分析与排查，无法全面反映MTX代谢与药物浓度及副作用的关联性，仍需进一步扩大样本量，开展基础的MTX代谢基因多态性研究，进一步探究MTX代谢与疗效、不良反应的关联。

作者贡献声明：王晓丹负责数据分析、论文撰写；李晋文负责数据收集、整理和分析；章萍、竺晓凡、杨文钰负责文章的构思、设计与修改。

利益冲突声明：所有作者均声明无利益冲突。

［参 考 文 献］

[1] Ebid AIM, Hossam A, El Gammal MM, et al. High dose methotrexate in adult Egyptian patients with hematological malignancies: impact of *ABCB1* 3435C>T rs1045642 and *MTHFR* 677C>T rs1801133 polymorphisms on toxicities and delayed elimination[J]. J Chemother, 2022, 34(6): 381-390. PMID: 34895107. DOI: 10.1080/1120009X.2021.2009723.

[2] Liao C, Nie J, Xu XJ, et al. The effect of the plasma methotrexate concentration during high-dose methotrexate therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 2024, 65(1): 91-99. PMID: 37820046. DOI: 10.1080/10428194.2023.2266075.

[3] 白小红, 牛佳慧, 倪美艳, 等. *MTHFR*基因多态性与大剂量甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病的临床疗效及药物不良反应的相关性分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(22):

3056-3059. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2021.22.010.

[4] Chae H, Kim M, Choi SH, et al. Influence of plasma methotrexate level and *MTHFR* genotype in Korean paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia[J]. J Chemother, 2020, 32(5): 251-259. PMID: 32431230. DOI: 10.1080/1120009X.2020.1764280.

[5] 李琰, 张文靓, 姚敏, 等. *MTHFR* 基因多态性与急性淋巴细胞白血病患儿大剂量甲氨蝶呤血药浓度和不良反应的相关性研究[J]. 中国药物应用与监测, 2022, 19(1): 4-7. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8157.2022.01.002.

[6] Tan Y, Kong Q, Li X, et al. Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and methotrexate drug metabolism and toxicity[J]. Transl Pediatr, 2023, 12(1): 31-45. PMID: 36798930. PMCID: PMC9926134. DOI: 10.21037/tp-22-671.

[7] 宋再伟, 刘爽, 赵荣生, 等. 《中国大剂量甲氨蝶呤循证用药指南》解读[J]. 中国药房, 2022, 33(16): 2032-2039. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.16.21.

[8] Esmaili MA, Kazemi A, Faranoush M, et al. Polymorphisms within methotrexate pathway genes: Relationship between plasma methotrexate levels, toxicity experienced and outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Iran J Basic Med Sci, 2020, 23(6): 800-809. PMID: 32695297. PMCID: PMC7351433. DOI: 10.22038/ijbms.2020.41754.9858.

[9] Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, Ballesteros J, et al. A systematic review and meta-analysis of *MTHFR* polymorphisms in methotrexate toxicity prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Pharmacogenomics J, 2013, 13(6): 498-506. PMID: 23089671. DOI: 10.1038/tpj.2012.44.

[10] Imanishi H, Okamura N, Yagi M, et al. Genetic polymorphisms associated with adverse events and elimination of methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia and malignant lymphoma[J]. J Hum Genet, 2007, 52(2): 166-171. PMID: 17180579. DOI: 10.1007/s10038-006-0096-z.

[11] 黄建权, 杨巧玲, 李红. 急性淋巴细胞白血病患儿亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与甲氨蝶呤血药浓度和不良反应的相关性[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(9): 1242-1246. DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20232943.

[12] 马乐, 韩佳, 吕冬梅. *MTHFR* 与 *ABCB1* 基因多态性对血液系统恶性肿瘤患儿大剂量甲氨蝶呤排泄延迟和肝肾毒性的影响[J]. 中国药业, 2021, 30(6): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn.1006-4931.2021.06.011.

[13] Yang L, Hu X, Xu L. Impact of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) polymorphisms on methotrexate-induced toxicities in acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis[J]. Tumor Biology, 2012, 33(5): 1445-1454. PMID: 22528943. DOI: 10.1007/s13277-012-0395-2.

[14] 王婷. *MTHFR*、*SLC19A1* 基因多态性与急性淋巴细胞白血病化疗中甲氨蝶呤毒性相关性的meta分析[D]. 大理: 大理大学, 2021.

[15] 刘爽, 宋再伟, 易湛苗, 等. 血液恶性肿瘤患儿中 *MTHFR* 基因多态性与大剂量甲氨蝶呤血液毒性相关性的Meta分析[J]. 中国药房, 2020, 31(7): 850-858. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.07.17.

[16] Yousef AM, Farhad R, Alshamaseen D, et al. Folate pathway genetic polymorphisms modulate methotrexate-induced toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2019, 83(4): 755-762. PMID: 30684021. DOI: 10.1007/s00280-019-03776-8.

[17] Yao P, He X, Zhang R, et al. The influence of *MTHFR* genetic polymorphisms on adverse reactions after methotrexate in patients with hematological malignancies: a meta-analysis[J]. Hematology, 2019, 24(1): 10-19. PMID: 30024839. DOI: 10.1080/10245332.2018.1500750.

[18] Cerminara Z, Duffy A, Nishioka J, et al. A single center retrospective analysis of a protocol for high-dose methotrexate and leucovorin rescue administration[J]. J Oncol Pharm Pract, 2019, 25(1): 76-84. PMID: 28942720. DOI: 10.1177/1078155217729744.

[19] 中国临床肿瘤学会（CSCO）, 中国临床肿瘤学会抗白血病联盟, 中国临床肿瘤学会抗淋巴瘤联盟. 大剂量甲氨蝶呤亚叶酸钙解救疗法治疗恶性肿瘤专家共识[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(15): 761-767. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2019.15.748.

[20] Erčulj N, Kotnik BF, Debeljak M, et al. Influence of folate pathway polymorphisms on high-dose methotrexate-related toxicity and survival in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Leuk Lymphoma, 2012, 53(6): 1096-1104. PMID: 22074251. DOI: 10.3109/10428194.2011.639880.

[21] Relling MV, Schwab M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for thiopurine dosing based on *TPMT* and *NUDT15* genotypes: 2018 update[J]. Clin Pharmacol Ther, 2019, 105(5): 1095-1105. PMID: 30447069. PMCID: PMC6576267. DOI: 10.1002/cpt.1304.

[22] Yanagimachi M, Goto H, Kaneko T, et al. Influence of pre-hydration and pharmacogenetics on plasma methotrexate concentration and renal dysfunction following high-dose methotrexate therapy[J]. Int J Hematol, 2013, 98(6): 702-707. PMID: 24241962. DOI: 10.1007/s12185-013-1464-z.

[23] Treviño LR, Shimasaki N, Yang W, et al. Germline genetic variation in an organic anion transporter polypeptide associated with methotrexate pharmacokinetics and clinical effects[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(35): 5972-5978. PMID: 19901119. PMCID: PMC2793040. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.4156.

[24] 谌雅青. 大剂量甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病的不良反应及影响因素分析[D]. 武汉: 华中科技大学, 2021.

（本文编辑：张辉）

（©《中国当代儿科杂志》编辑部，开放获取CC BY-NC-ND 4.0协议）
（© Editorial Office of *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. OA under CC BY-NC-ND 4.0 license）