

甲氨蝶呤遗传药理学研究进展

鄢欢*,张 觅,蒋巧俐,程 虹(武汉大学中南医院临床药理学室,武汉 430000)

中图分类号 R968 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)02-0284-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.02.39

摘要 目的:了解甲氨蝶呤(MTX)的遗传药理学研究进展。方法:查阅近年来国内外相关文献,就MTX遗传药理学研究进展进行归纳和总结。结果与结论:MTX不能自由跨过细胞膜,须借助还原性叶酸载体1进入胞内发挥药理作用;细胞上的三磷酸腺苷结合盒转运体可将进入胞内的MTX转出细胞;有机阴离子转运介导两亲性物质的摄取,上述转运体基因多态性会影响MTX的疗效。多聚谷氨酰胺合成酶、 γ -谷氨酰水解酶、二氢叶酸还原酶、亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)、胸苷酸合成酶、5-氨基咪唑-4-甲酰胺-核苷酸甲酰转移酶、蛋氨酸合成酶和蛋氨酸合成还原酶等的基因多态性会直接影响MTX的代谢、疗效和不良反应。目前能够用于临床的基因多态性位点仅为MTHFR 677C>T和MTHFR 1298A>C,可通过筛查其单核苷酸基因多态性来指导非霍奇金淋巴瘤患者的大剂量MTX化疗。MTX的作用受多种基因及其相互作用调控,可能还存在种族等其他因素作用,需对与MTX相关的基因多态性位点进行更深入的综合研究。

关键词 甲氨蝶呤;基因多态性;二氢叶酸还原酶;亚甲基四氢叶酸还原酶;遗传药理学

甲氨蝶呤(MTX)是一种叶酸拮抗药,临床常用于白血病、恶性肿瘤和自身免疫性疾病的治疗。二价的MTX阴离子通过细胞表面的还原性叶酸载体1(RFC1,也称SLC19A1)进入细胞,转入胞内的MTX在多聚谷氨酰胺合成酶(FPGS)的催化下形成MTX多聚谷氨酸聚合物(MTX-PGs)并在细胞内发挥作用。同时,MTX-PGs可被 γ -谷氨酰水解酶(GGH)水解为MTX单体。MTX的药理活性主要取决于其胞内浓度,其主要的靶向目标为二氢叶酸(DHF)还原酶(DHFR)、胸苷酸合成酶(TS)和5-氨基咪唑-4-甲酰胺-核苷酸甲酰转移酶(ATIC)。MTX抑制DHFR,致DHF无法还原成四氢叶酸(THF),使嘌呤和嘧啶核苷酸的生物合成受到阻滞。胞内的MTX可被细胞表面的三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运蛋白[如多药耐药蛋白(MRP)、乳癌耐药蛋白(BCRP)和P糖蛋白(P-gp)]转运出细胞,导致其胞内浓度降低^[1]。MTX的转运在某些组织中还与有机阴离子转运肽(OATP)有关。临床给予不同患者同等剂量MTX后,患者消除相血药浓度个体差异大,耐受性和不良反应也有差异。与上述通路有关的基因遗传多态性会直接影响MTX的代谢、疗效和毒性^[2],导致MTX临床治疗中明显的个体差异。鉴于此,笔者查阅近年来国内外相关文献,就MTX遗传药理学研究进展进行归纳和总结,以期为其安全、有效的临床应用提供参考。

1 转运体

1.1 RFC1

MTX不能自由跨过细胞膜,须借助RFC1进入胞内发挥药理作用。RFC1基因位于第21号染色体,唐氏综合征患者体内RFC1水平较高,故同等剂量的MTX在其

体内发生药品不良反应的几率比在正常人群中大^[3]。与MTX相关性最大的RFC1突变是27位组氨酸和精氨酸(80G>A)的替换,组氨酸替换精氨酸后导致受体亲和力下降,影响MTX的跨膜转运。A等位基因可使MTX跨膜转运量减少,导致血液中MTX浓度升高,引起药品不良反应。同时,A等位基因携带者MTX化疗后感染和胃肠毒性的风险增加,而MTX化疗后发生肝毒性和呕吐则与G等位基因有关^[4]。Gregers J等^[5]的研究纳入186例急性淋巴细胞白血病(ALL)患者,对患者基因分型发现RFC1 AA基因型患者给予大剂量MTX化疗后骨髓毒性的发生率高于RFC1 GG或RFC1 GA基因型患者,但对RFC1 GG基因型患者的肝毒性更严重。国内研究结果也发现,RFC1 80G>A基因型与大剂量MTX化疗的不良反映有关,王捷等^[6]的研究显示,RFC1 GG基因型患者较RFC1 AA基因型患者MTX化疗后血小板下降更明显;RFC1 AG和RFC1 GG基因型患者较RFC1 AA型患者MTX化疗后丙氨酸转氨酶升高更明显;RFC1 AG和RFC1 GG基因型患者发生肝功能损伤的频率较RFC1 AA型高。Shimasaki N等^[7]的研究观察ALL患者RFC1基因多态性与MTX维持化疗毒性的相关性时发现,RFC1 80G>A基因与其治疗毒性相关。Leyva-Vazquez MA等^[8]的研究发现,RFC1位点基因突变还与ALL患者MTX化疗后的生存率和复发率相关,RFC1 GA和RFC1 AA基因型患者生存率较低且复发率较高。

1.2 ATP结合盒转运体

细胞上的ATP结合盒转运体可将进入胞内的MTX转出细胞,MRP和BCRP的表达增强可导致患者对MTX产生耐药性。MRP2介导胆汁中葡萄糖苷酸胆红素向胆汁中排泄,MRP2存在于正常的近端肾小管刷状缘细胞膜上,与MTX的代谢有关^[9]。Vlaming ML等^[10]的研

* 药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:027-67813199。E-mail:sqcd@163.com

究采用 *MRP2* 和 *MRP3* 基因敲除鼠观察这 2 个转运蛋白对 MTX 和 7-OH-MTX 体内消除的影响,结果发现 *MRP2* 基因敲除鼠 MTX 在血液中的浓度-时间曲线下面积 (AUC) 是野生型基因组的 2 倍,7-OH-MTX 在血液中的 AUC 是野生型基因组的 6 倍,MTX 的胆汁排泄率则比野生型基因组降低 27%,7-OH-MTX 的胆汁排泄率比野生型基因组降低 83%,进一步证明了 ATP 结合盒转运蛋白和 MTX 的代谢相关。目前,临床研究的与 MTX 相关 *MRP2* 基因突变位点主要为 1271A>G、-24C>T 和 *IVS* 23+56 T>C。其中,1271A>G 基因突变导致 *MRP2* 的转运功能丧失,使 MTX 的半衰期由 5.0~15.0 h 延长至 29.3 h,引起不可逆的肾毒性^[11]; -24C>T 的表达量具有性别选择性,且与 MTX 的血药浓度相关,携带有 T 等位基因的女性患者给予 MTX 化疗时,其血药浓度是 AA 基因型女性患者的 2 倍,故需要高剂量的亚叶酸进行解救才能缓解 MTX 的毒性反应^[12];携带 *IVS* 23+56 T>C 突变基因的高加索人群给予 MTX 治疗类风湿性关节炎 (RA) 时,其脱发和胃肠毒性的发生率高于野生型和杂合型患者^[13]。也有学者探究了 *P-gp* 3435C>T 基因突变对 MTX 的影响,但研究结果尚存在争议。*P-gp* 3435C>T 基因突变不会改变蛋白质序列,但会使 *P-gp* 的表达量减少,*P-gp* 3435C>T 基因多态性与 ALL 患儿血清 MTX 浓度和化疗毒性无关。然而,Hoffmeyer S 等^[14]的研究发现 3435C>T 基因突变导致 *P-gp* 在小肠的表达量减少,致 MTX 的生物利用度改变。Kim IW 等^[15]研究显示干细胞移植后 *P-gp* 3435C/T 的表达量减少。王淑梅等^[16]研究基因多态性对 MTX 的群体药动力学的影响时发现,CC 和 CT 基因型患者 MTX 的清除率均显著高于 TT 基因型患者。

1.3 OATP(*SLCO* 基因)

OATP 广泛分布于肝、肾、肠细胞和血管内皮细胞,介导两亲性物质的摄取。MTX 是 *OATP1A2*、*OATP1B1* 和 *OATP1B3* 的底物,故 OATP 基因多态性是 MTX 治疗产生个体差异的原因。Badagnani I 等^[17]的研究检测了 *OATP1A2* 在不同人种之间的 12 种蛋白质变异,发现 *Ile13Thr* (38T/C)、*Arg168Cys* (502C/T)、*Glu172Asp* (516A/C) 和 *Asn278Del* (833A) 基因突变会影响 MTX 转运,携带 38CC 等位基因的美国人 MTX 转运率较不携带该等位基因的人群增加了 2 倍,且 MTX 在肾末端小管的重吸收明显增加,但 MTX 的全身性毒性也增加。携带 516CC 等位基因的患者 MTX 的吸收率较携带 38CC 等位基因的患者降低 40%,MTX 的重吸收减少,导致其在远曲小管蓄积形成结晶尿,产生肾毒性。Lopez-Lopez E 等^[18]的研究探讨 ALL 患儿 *OATP1B1* 基因多态性与 MTX 化疗毒性的相关性,结果显示 *rs11045879* CC 基因型患者 MTX 血药浓度较高,且该基因突变与 MTX 清除

率和毒性相关。*rs4149081* 和 *rs4149056* 基因多态性也与 MTX 清除率和巩固治疗的毒性有关,*rs4149056* 基因的该项作用弱于前两个基因位点。

2 酶

2.1 FPGS 和 GGH

FPGS 和 GGH 催化 MTX 的多聚谷氨酰基化及其解离,因此细胞内的 MTX-PGs 的浓度由 FPGS 和 GGH 的活性决定。MTX-PGs 的多聚谷氨酰长度与其在细胞内的停留时间和 MTX 与靶分子的亲和性有关。赵霞等^[19]的研究表明,FPGS 的活性降低是肿瘤细胞对 MTX 产生耐药的原因之一;mRNA 剪切过程中的突变也可导致 FPGS 失活,对 MTX 产生耐药。FPGS 的基因多态性可以影响癌症患者 MTX 化疗疗效,但还需进一步的临床研究加以证实。

GGH 可将 MTX-PGs 水解为 MTX 单体,促使 MTX 转出细胞。目前,研究得比较多的 *GGH* 基因突变位点主要为 452C>T 和 401C>T。452C>T 基因位于 *GGH* 基因的 5 号外显子,突变基因使苏氨酸被异亮氨酸取代,导致 GGH 活性下降,使 MTX-PGs 在细胞内蓄积,增加 MTX 的细胞毒性^[20]。Ranganathan P^[21]的研究显示,452T 等位基因与 MTX 化疗后 II 度血小板减少的发生率相关。401C>T 基因突变则能增强 GGH 活性,加速 MTX-PGs 的分解。携带有 401CT 和 CC 基因的 RA 患者 MTX-PGs 浓度是 TT 基因型患者的 4.8 倍。此外,Koomdee N 等^[22]的研究还发现,401CT 和 CC 基因会增加 MTX 化疗后产生血小板和白细胞减少 (III~IV 级) 的风险。

2.2 DHFR 和亚甲基 THF 还原酶 (MTHFR)

DHFR 是 MTX 的作用靶点之一,MTX 抑制其活性,使核苷酸合成受阻最终导致细胞凋亡。Goto Y 等^[23]于 2001 年首次发现 *DHFR* 829C>T 的 T 等位基因能增加 DHF 的表达。Mishra PJ 等^[24]的研究表明,携带 *DHFR* 829T 等位基因的白血病患者 *DHFR* 的 mRNA 表达上调,对 MTX 的耐药性增强。Gomez-Gomez Y 等^[25]的研究发现,携带 *DHFR* 829T 等位基因的 ALL 患儿给予 MTX 化疗后,其生存率较低,且复发风险较携带 *DHFR* 829A 等位基因的患者增加 14 倍。Koomdee N 等^[22]的研究表明,*DHFR* 829A 等位基因与 ALL 患儿 MTX 化疗毒性不存在相关性。另一个研究得比较多的 *DHF* 基因多态性位点是 317A/G。Milic V 等^[26]的研究观察 *DHF* 基因与 RA 患者对 MTX 的应答时发现,携带 AA 等位基因的患者对 MTX 的应答较差。*DHF* 基因位点也与 ALL 患儿 MTX 化疗后的生存率和复发率有关。此外,*DHFR* 基因 19 bp 缺失也是目前的一项研究热点。*DHFR* 基因的缺失导致 *DHFR* mRNA 表达量改变,血浆叶酸浓度下降,半胱氨酸浓度升高。Ongaro A 等^[27]的研究发现,19 bp 杂合型的 ALL 患者给予 MTX 化疗后肝毒性发生率比野生型基因

患者增加2.07倍,纯合型患者肝毒性发生率则比野生型增加4.57倍。

MTHFR 基因位于1p36.3,整个编码区长1 980 bp,包含11个外显子和10个内含子,可催化叶酸循环中的5,10-亚甲基THF转化为5-甲基THF,可维持细胞内叶酸平衡。学者们在*MTHFR*基因上发现了至少15个基因多态性位点,研究主要集中在677C>T和1298A>C。其中,677C/T基因突变导致*MTHFR* 667位丙氨酸被缬氨酸替代,*MTHFR*的活性降低,使细胞内同型半胱氨酸的浓度升高,叶酸分布发生改变。与野生型(CC基因)相比,*MTHFR* 677CT基因型*MTHFR*活性降低30%,*MTHFR* 677TT基因型*MTHFR*活性降低60%。*MTHFR*基因多态性与MTX的不良反应密切相关。El-Khodary NM等^[28]对*MTHFR*基因多态性和大剂量MTX化疗的不良反应的相关性进行了较全面的研究,结果显示携带*MTHFR* 677TT和CT基因的ALL患儿血清丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶和胆红素的浓度明显高于CC基因型患儿,可见*MTHFR* 677T基因突变导致MTX化疗肝毒性增加;携带*MTHFR* 677TT和CT基因的患儿血清 α 1-微球蛋白和肌酐含量也较高,肾小球滤过率明显降低,可见*MTHFR* 677T基因突变也导致MTX化疗肾毒性增加;该研究还发现,*MTHFR* 677T基因会导致MTX化疗后机体的血液、肠胃和中枢神经系统毒性增加。D'Angelo V等^[29]的研究显示,*MTHFR* 677T基因携带者的MTX化疗毒性较不携带者增加12倍,且*MTHFR* 677CT基因多态性还与MTX化疗RA的不良发应相关,其T等位基因增加了不良反应发生率。*MTHFR* 1298A碱基被C碱基替换后,改变429位密码子,使*MTHFR* 429位谷氨酸被丙氨酸替代,*MTHFR*活性降低。携带*MTHFR* 1298AA基因型的ALL患者使用大剂量的MTX化疗的毒副作用大于携带突变基因型(AC+CC)的患者,且其骨髓抑制、消化道症状、黏膜损害和肝损害的发生率均较大。携带*MTHFR* 677TT基因型同时携带*MTHFR* 1298AA基因型者毒副反应发生率最高,是*MTHFR* 677CC基因型同时携带*MTHFR* 1298TT基因者的16.5倍,可见两种基因型联合可极大地降低酶活性^[30],使MTX的对细胞的毒性增加。

2.3 TS和ATIC

TS是核苷生物合成的关键酶,可催化脱氧尿嘧啶核苷酸(d-UMP)转化为脱氧胸腺嘧啶核苷(d-TMP),而d-TMP是体内嘧啶合成的唯一原料。TS活性或数量降低均会导致碱基错配率增加,DNA合成受阻。TS基因5'-非翻译区(5'-UTR)含有可变的串联重复序列,该串联重复区域有类似增强子的功能,该序列有2~9次重复(TS 2R~TS 9R)的多态性,其中最常见基因型为TS 3R/3R、TS 3R/2R、TS 2R/2R,重复序列能增加TS mRNA

表达和酶活性,如3R的mRNA表达较2R增加2.6倍,而对MTX产生影响。Dervieux T等^[31]的研究发现,MTX对TS 2R/2R基因携带者的疗效较好。Bohanec GP等^[32]对213例类RA患者5'-UTR基因多态性的研究也发现,TS 2R/2R基因携带者疾病活动度较低,较低剂量的MTX即可产生较好疗效;TS 3R/3R基因携带者产生MTX诱导的骨髓毒性风险较高。此外,TS 3'-UTR的1 494 bp处存在6 bp TTAAAG核苷酸片段缺失或插入多态性,而6 bp基因缺失使mRNA稳定性下降,TS表达量下降。Kumagai K等^[33]的研究表明,3'-UTR 6 bp等位基因缺失者的MTX疗效较未缺失者更加显著($P=0.033$);以C反应蛋白(CRP)作为MTX治疗RA疗效评价指标,6 bp等位基因缺失者CRP水平改善程度较未缺失者更明显($P=0.024$)。

ATIC主要与MTX的抗炎作用有关,MTX作用于ATIC,减少腺苷和腺苷酸的分解,使其细胞内浓度增加,腺苷酸脱磷酸后使细胞外腺苷浓度增加,从而发挥抗炎效应。ATIC基因位于2q35,ATIC 347CG多态性致密码子116苏氨酸替换为丝氨酸,其基因突变后会影响MTX对RA患者的疗效。Dervieux T等^[33]研究108例RA患者ATIC基因多态性与服用MTX(3个月)后疗效的相关性时发现,MTX对携带ATIC 347GG基因型的患者疗效较好。Weisman MH等^[34]的研究发现,ATIC 347GG基因与MTX治疗RA的胃肠道副反应相关。但是,Wessels JA等^[35]的研究则发现,携带ATIC 347CC基因的RA患者服用MTX的疗效比携带ATIC 347TT的患者好。因此,ATIC基因多态性与MTX疗效的关系还需进一步论证。

2.4 蛋氨酸合成酶(MTR)和蛋氨酸合成还原酶(MTRR)

MTR是叶酸代谢途径中的关键酶,参与一碳单位的代谢,影响核酸的合成,其参与的蛋氨酸循环是体内腺苷来源之一。MTRR是MTR的辅助因子,可催化甲基钴胺再生,间接参与体内甲基化过程。MTR A2756G和MTRR A66G基因变异可能影响酶的活性,并影响MTX的药效。Gemmati D等^[36]的研究纳入120例非霍奇金淋巴瘤患者,对其*MTHFR* 677C>T和*MTRR* 66A>G基因多态性研究时发现,同时携带有*MTHFR* 677TT和*MTHFR* 66GG基因型的患者,细胞增殖的时间是其他基因型患者的4.2倍。Dervieux T等^[37]的研究表明,MTR和MTRR的基因突变与MTX疗效无相关性,但和不良反应相关,携带MTR 2756AA或MTRR 66GG的患者胃肠道不良反应发生率较携带其他基因型患者高。Berkun Y等^[38]的研究也认为,MTR基因变异与MTX的不良反应相关,携带MTR 2756GG基因型患者更容易出现MTX诱导的风湿性结节。

3 结语

患者的基因多态性会导致MTX的疗效和不良反应发生个体差异,MTX遗传药理学研究的最终目标是通过对患者靶基因的筛查,制订个体化给药法案,提高MTX疗效,降低其不良反应发生率。由于研究标准(如种族、体内叶酸水平和入组标准等)不一致,MTX遗传药理学研究仍然存在一些争议,且基因多态性(如RFC1 80GA、DHFR 19 bp缺失、ATIC 347C>G、MRP2 1271A>G)的研究大多是体外研究,临床研究相对较少。目前,能够用于临床的基因多态性位点仅为MTHFR 677C>T和MTHFR 1298A>C,可通过筛查其单核苷酸基因多态性来指导非霍奇金淋巴瘤患者的大剂量MTX化疗。此外,MTX的作用不可能仅受单基因因素影响,而是受多种基因及其相互作用调控,可能还存在种族等其他因素作用。因此,需对与MTX相关的基因多态性位点进行更深入的综合研究,提高MTX遗传药理学的临床价值,达到精准医疗的目的。

参考文献

- [1] Castaldo P, Magi S, Nasti AA, *et al.* Clinical pharmacogenetics of methotrexate[J]. *Curr Drug Metab*, 2011, 12(3): 278-286.
- [2] Windsor RE, Strauss SJ, Kallis C, *et al.* Germline genetic polymorphisms may influence chemotherapy response and disease outcome in osteosarcoma: a pilot study[J]. *Cancer*, 2012, 118(7): 1856-1867.
- [3] Liu XY, Matherly LH. Analysis of membrane topology of the human reduced folate carrier protein by hemagglutinin epitope insertion and scanning glycosylation insertion mutagenesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1564(2): 333-342.
- [4] Davidsen ML, Dalhoff K, Schmiegelow K. Pharmacogenetics influence treatment efficacy in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2008, 30(11): 831-849.
- [5] Gregers J, Christensen IJ, Dalhoff K, *et al.* The association of reduced folate carrier 80G>A polymorphism to outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia interacts with chromosome 21 copy number[J]. *Blood*, 2010, 115(23): 4671-4677.
- [6] 王捷, 王建华, 赵军, 等. SLC19A1 遗传多态性与大剂量甲氨蝶呤化疗不良反应相关性的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2013, 29(6): 406-409.
- [7] Shimasaki N, Mori T, Torii C, *et al.* Influence of MTHFR and RFC1 polymorphisms on toxicities during maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia or lymphoma[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2008, 30(5): 347-352.
- [8] Leyva-Vazquez MA, Organista-Nava J, Gomez-Gomez Y, *et al.* Polymorphism G80A in the reduced folate carrier gene and its relationship to survival and risk of relapse in acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Investig Med*, 2012, 60(7): 1064-1067.
- [9] Masereeuw R, Notenboom S, Smeets PH, *et al.* Impaired renal secretion of substrates for the multidrug resistance protein 2 in mutant transport-deficient (TR-) rats[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(11): 2741-2749.
- [10] Vlaming ML, Pala Z, van Esch A, *et al.* Impact of Abcc2 (MRP2) and Abcc3 (MRP3) on the in vivo elimination of methotrexate and its main toxic metabolite 7-hydroxymethotrexate[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(24): 8152-8160.
- [11] Hulot JS, Villard E, Maguy A, *et al.* A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2005, 15(5): 277-285.
- [12] Rau T, Erney B, Gores R, *et al.* High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: impact of ABCC2 polymorphisms on plasma concentrations[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2006, 80(5): 468-476.
- [13] Ranganathan P, Culverhouse R, Marsh S, *et al.* Methotrexate (MTX) pathway gene polymorphisms and their effects on MTX toxicity in Caucasian and African American patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(4): 572-579.
- [14] Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, *et al.* Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(7): 3473-3478.
- [15] Kim IW, Yun HY, Choi B, *et al.* ABCB1 C3435T genetic polymorphism on population pharmacokinetics of methotrexate after hematopoietic stem cell transplantation in Korean patients: a prospective analysis[J]. *Clin Ther*, 2012, 34(8): 1816-1826.
- [16] 王淑梅, 孙露露, 曾蔚欣. 多药耐药 1C3435T 基因多态性与 ALL 患儿血清 MTX 浓度的相关性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(1): 20-23.
- [17] Badagnani I, Castro RA, Taylor TR, *et al.* Interaction of methotrexate with organic-anion transporting polypeptide 1A2 and its genetic variants[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318(2): 521-529.
- [18] Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, Ballesteros J, *et al.* Polymorphisms of the SLC01B1 gene predict methotrexate-related toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2011, 57(4): 612-619.
- [19] 赵霞, 方勇飞. 多聚谷氨酸化甲氨蝶呤-甲氨蝶呤细胞内

代谢物研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(13): 1118-1120.

- [20] Hayashi H, Fujimaki C, Inoue K, *et al.* Genetic polymorphism of C452T (T127I) in human gamma-glutamyl hydrolase in a Japanese population[J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(4): 839-841.
- [21] Ranganathan P. An update on methotrexate pharmacogenetics in rheumatoid arthritis[J]. *Pharmacogenomics*, 2008, 9(4): 439-451.
- [22] Koomdee N, Hongeng S, Apibal S, *et al.* Association between polymorphisms of dihydrofolate reductase and gamma glutamyl hydrolase genes and toxicity of high dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(7): 3461-3464.
- [23] Goto Y, Yue L, Yokoi A, *et al.* A novel single-nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the human dihydrofolate reductase gene with enhanced expression[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(7): 1952-1956.
- [24] Mishra PJ, Humeniuk R, Longosorbello GSA, *et al.* A miR-24 microRNA binding-site polymorphism in dihydrofolate reductase gene leads to methotrexate resistance[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(33): 13513-13518.
- [25] Gomez-Gomez Y, Organista-Nava J, Saavedra-Herrera MV, *et al.* Survival and risk of relapse of acute lymphoblastic leukemia in a Mexican population is affected by dihydrofolate reductase gene polymorphisms[J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(4): 665-672.
- [26] Milic V, Jekic B, Lukovic L, *et al.* Association of dihydrofolate reductase (DHFR) -317AA genotype with poor response to methotrexate in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2012, 30(2): 178-183.
- [27] Ongaro A, De Mattei M, Della PM, *et al.* Gene polymorphisms in folate metabolizing enzymes in adult acute lymphoblastic leukemia: effects on methotrexate-related toxicity and survival[J]. *Haematologica*, 2009, 94(10): 1391-1398.
- [28] El-Khodary NM, El-Haggar SM, Eid MA, *et al.* Study of the pharmacokinetic and pharmacogenetic contribution to the toxicity of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(3): 2053-2062.
- [29] D' Angelo V, Ramaglia M, Iannotta A, *et al.* Influence of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms on the outcome of pediatric patients with non-Hodgkin lymphoma treated with high-dose methotrexate[J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(12): 2639-2644.

- [30] 刘晶霞, 陈洁平, 谭文, 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毒副反应的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2008, 16(3): 488-492.
- [31] Dervieux T, Furst D, Lein DO, *et al.* Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(9): 2766-2774.
- [32] Bohanec GP, Logar D, Lestan B, *et al.* Genetic determinants of methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients: a study of polymorphisms affecting methotrexate transport and folate metabolism[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2008, 64(11): 1057-1068.
- [33] Kumagai K, Hiyama K, Oyama T, *et al.* Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Int J Mol Med*, 2003, 11(5): 593-600.
- [34] Weisman MH, Furst DE, Park GS, *et al.* Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(2): 607-612.
- [35] Wessels JA, Kooloos WM, De Jonge R, *et al.* Relationship between genetic variants in the adenosine pathway and outcome of methotrexate treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(9): 2830-2839.
- [36] Gemmati D, Ongaro A, Scapoli GL, *et al.* Common gene polymorphisms in the metabolic folate and methylation pathway and the risk of acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma in adults[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004, 13(5): 787-794.
- [37] Dervieux T, Greenstein N, Kremer J. Pharmacogenomic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(10): 3095-3103.
- [38] Berkun Y, Abou AI, Rubinow A, *et al.* 2756GG genotype of methionine synthase reductase gene is more prevalent in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate and is associated with methotrexate-induced nodulosis[J]. *J Rheumatol*, 2007, 34(8): 1664-1669.

(收稿日期: 2016-04-07 修回日期: 2016-11-21)

(编辑: 陶婷婷)