

# MTRR 基因多态性与颅内肿瘤患儿甲氨蝶呤血药浓度及不良反应的相关性研究<sup>Δ</sup>

赵丹琪<sup>1,2\*</sup>, 李 苗<sup>3</sup>, 时正媛<sup>1,4</sup>, 续茜桥<sup>1,4</sup>, 王淑梅<sup>1,4#</sup>(1.首都医科大学附属北京世纪坛医院药学部,北京 100038;2.首都医科大学药学院临床药理学系,北京 100069;3.首都医科大学附属北京世纪坛医院儿科,北京 100038;4.临床合理用药生物特征谱学评价北京市重点实验室,北京 100038)

中图分类号 R969 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)21-2646-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.21.12



**摘要** 目的 考察颅内肿瘤患儿甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)rs10380 C>T 基因多态性对甲氨蝶呤(MTX)血药浓度、不良反应和预后的影响。方法 收集颅内肿瘤患儿的外周血,提取基因组DNA,用基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱法分析*MTRR* rs10380 C>T 基因型,分析*MTRR* rs10380 C>T 基因多态性与 MTX 血药浓度和剂量之间的比值(C/D 比值)、不良反应、肿瘤复发和转移的相关性。基于生物信息学分析探索 rs10380 基因型与*MTRR* 基因表达的关系及其可能机制。结果 研究共纳入患儿 75 例,rs10380 野生 CC 基因型和 C 等位基因的分布频率分别为 62.67% 和 81.33%,变异 CT 基因型和 T 等位基因的分布频率分别为 37.33% 和 18.67%,符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P>0.05$ )。CC 基因型患儿的电解质紊乱发生率(51.06%)和肿瘤转移率(57.45%)显著高于 CT 基因型患儿( $P<0.05$ )。两种基因型患儿的 24 h 和 42 h C/D 比值、复发率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。生信分析结果显示,*MTRR* 蛋白主要与 MMAA 等 10 种蛋白协同发挥作用,并参与了含硫氨基酸生物合成等多种生物过程。结论 *MTRR* rs10380 CC 基因型可能是颅内肿瘤患儿 MTX 化疗后电解质紊乱和肿瘤转移的危险因素。

**关键词** 颅内肿瘤;甲氨蝶呤;甲硫氨酸合成酶还原酶;基因多态性;不良反应;预后

## Associations of *MTRR* gene polymorphism and methotrexate plasma concentration and adverse drug reaction in children with intracranial tumors

ZHAO Danqi<sup>1,2</sup>, LI Miao<sup>3</sup>, SHI Zhengyuan<sup>1,4</sup>, XU Xiqiao<sup>1,4</sup>, WANG Shumei<sup>1,4</sup>(1. Dept. of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. Dept. of Clinical Pharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 3. Dept. of Pediatrics, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 4. Beijing Key Laboratory of Bio-characteristic Profiling for Evaluation of Rational Drug Use, Beijing 100038, China)

**ABSTRACT OBJECTIVE** To investigate the impact of the methionine synthase reductase (*MTRR*) rs10380 C>T gene polymorphism on methotrexate (MTX) plasma concentration, adverse drug reaction, and prognosis in children with intracranial tumors. **METHODS** Peripheral blood was collected from children with intracranial tumors, and genomic DNA was extracted. The *MTRR* rs10380 C>T genotype was analyzed using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. The association of the *MTRR* rs10380 C>T gene polymorphism with the ratio of MTX plasma concentration to dose (C/D ratio), adverse drug reaction, tumor recurrence, and metastasis was analyzed. Bioinformatics analysis was used to explore the association of the rs10380 genotype and *MTRR* gene expression and its possible mechanisms. **RESULTS** A total of 75 children were included in the study. The distribution frequencies of the wild-type CC genotype and C allele of rs10380 were 62.67% and 81.33%, respectively, while the distribution frequencies of the variant CT genotype and T allele were 37.33% and 18.67%, respectively,

<sup>Δ</sup> 基金项目 国家自然科学基金项目(No.81872926);临床合理用药生物特征谱学评价北京市重点实验室项目(No.BZ0439);首都医科大学附属北京世纪坛医院科研基金项目(No.2023-c01);首都医科大学附属北京世纪坛医院青年基金项目(No.2022-q19)

\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:神经系统疾病临床药理学。E-mail:celeste\_2937@163.com

# 通信作者 主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:临床药理学和遗传药理学。电话:010-63926368。E-mail:13811830809@126.com

which were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ). The incidence of electrolyte disorders (51.06%) and tumor metastasis rate (57.45%) in children with the CC genotype were significantly higher than those with the CT genotype ( $P<0.05$ ). No significant differences were observed in the 24-hour and 42-hour C/D ratios and recurrence rates between the two genotypes of children ( $P>0.05$ ).

Bioinformatics analysis showed that MTRR protein mainly works in conjunction with 10 proteins, including MMAA, and was involved in various biological processes such as sulfur amino acid biosynthesis. **CONCLUSIONS** The *MTRR* rs10380 CC genotype may be a risk factor for electrolyte disorders and tumor metastasis in children with intracranial tumors after MTX chemotherapy.

**KEYWORDS** intracranial tumors; methotrexate; methionine synthase reductase; genetic polymorphism; adverse reaction; prognosis

中枢神经系统(central nervous system, CNS)肿瘤包括颅内肿瘤与脊髓肿瘤,其已成为我国儿童群体中最为常见的实体肿瘤类型。国家儿童肿瘤监测中心编制的《国家儿童肿瘤监测年报(2022)》显示,我国儿童中男孩CNS肿瘤的发病率为19.84/百万,女孩为17.37/百万,可见,CNS肿瘤是儿童健康的一大威胁。在针对儿童颅内肿瘤的治疗中,甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)作为一种叶酸类似物,因其独特的抗肿瘤机制而备受关注,即MTX通过竞争性抑制二氢叶酸还原酶活性,干扰DNA合成过程,进而发挥显著的抗肿瘤效果<sup>[1]</sup>。作为儿童颅内肿瘤治疗中的常用药物,MTX的疗效和安全性一直是医学研究的热点<sup>[2]</sup>。然而,MTX的代谢过程涉及多个转运体和代谢酶的参与,这些酶和转运体编码基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可能导致MTX在药代动力学过程中出现个体差异,进而影响患者的疗效和不良反应<sup>[3]</sup>。其中,甲硫氨酸合成酶还原酶(methionine synthase reductase, MTRR)作为叶酸代谢中的关键酶,在MTX的代谢中扮演着重要角色。

MTRR的主要功能是维持甲硫氨酸合成酶(methionine synthase, MTR)的活性。MTR以维生素B<sub>12</sub>为甲基载体,催化同型半胱氨酸甲基化为甲硫氨酸。然而,随着维生素B<sub>12</sub>的氧化,MTR的活性降低,此时MTRR通过还原被氧化的维生素B<sub>12</sub>来保持MTR的活性<sup>[4]</sup>。以往研究表明,*MTRR* rs1801394 A>G的突变会导致MTRR活性降低,进而影响叶酸的代谢<sup>[5]</sup>。考虑到叶酸在MTX代谢中的重要性,作者推测*MTRR*基因可能还存在其他影响MTX代谢过程的SNP位点。有研究显示,rs10380位点是位于*MTRR*编码区内的错义突变,在中国北方汉族人群中变异率较高、SNP功能评分高、与rs1801394相关性系数低,该位点多态性可能对颅内肿瘤患儿使用MTX化疗的有效性和安全性造成影响<sup>[6]</sup>。本研究探讨了*MTRR* rs10380 C>T多态性在颅内肿瘤患儿中的分布特点,并分析了其与MTX血药浓度、不良反应和预后的相关性,以期MTX在颅内肿瘤患儿中的个体化用药提供理论依据,从而提高治疗效果和安全性,保障患儿合理用药。

## 1 研究对象

本研究为回顾性研究,以2019年4月至2021年12月在首都医科大学附属北京世纪坛医院(以下简称“本院”)儿科进行MTX化疗的颅内肿瘤患儿为研究对象,通过医院电子病历系统收集患儿年龄、性别、瘤种、MTX

剂量、不良反应、预后等资料。本研究获得本院科学研究伦理委员会的批准,伦理批号:sjtkyll-ix-2023(053)。

本研究的纳入标准:(1)2019年4月至2021年12月就诊于本院儿科;(2)符合世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类(第五版)中关于颅内肿瘤的诊断标准<sup>[7]</sup>;(3)年龄不超过18周岁,性别不限;(4)治疗方案包含MTX化疗;(5)测定了给药后24 h和42 h MTX血药浓度。本研究的排除标准:(1)MTX化疗剂量<1 g/m<sup>2</sup>;(2)*MTRR* rs10380 C>T基因分型不成功;(3)病历资料不完整。

## 2 方法

### 2.1 外周血基因组DNA提取

收集患儿常规诊疗剩余的废弃血样,按照作者团队前期建立的方法<sup>[8]</sup>,提取外周血基因组DNA,经1.5%琼脂糖凝胶电泳鉴定所提取DNA的完整性。

### 2.2 基因型检测

采用基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)法进行基因型检测<sup>[7]</sup>,该法分为聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增、碱性磷酸酶(shrimp alkaline phosphatase, SAP)消化反应、单碱基延伸反应、MALDI-TOF-MS法检测多个环节,实验过程如下。

#### 2.2.1 PCR扩增

采用Assay Designer 3.1软件设计PCR引物。上、下游扩增引物分别为5'-ACGTTGGATGGATGAGTTAAGATCCCATGC-3'和5'-ACGTTGGATGGACAACCTTTAGTGATCC-3'。PCR反应体系为6 μL,包括去离子水1.8 μL、PCR缓冲液0.5 μL、MgCl<sub>2</sub> 0.4 μL、脱氧核糖核苷三磷酸0.1 μL、HotStart Taq酶0.2 μL、上下游引物各1 μL、DNA模板1 μL。PCR扩增程序:95 °C预变性2 min;95 °C变性30 s,56 °C退火30 s,72 °C延伸1 min,共45个循环;72 °C延伸5 min。

#### 2.2.2 SAP消化反应

SAP消化反应体系为2 μL,包括去离子水1.53 μL、SAP缓冲液0.17 μL、SAP 0.3 μL。反应程序:37 °C 40 min,85 °C 5 min。延伸引物为5'-TTCAGAAAAGAGCTCAGAC-3'。

#### 2.2.3 单碱基延伸反应

单碱基延伸反应体系为2 μL,包括三蒸水0.619 μL、iPLEX缓冲液0.2 μL、终止混合液0.2 μL、引物0.94 μL、单碱基延伸酶0.041 μL。反应程序:94 °C预变性30 s;

94 °C变性5 s, 52 °C退火5 s, 80 °C延伸5 s, 内部5个循环, 持续外部40个循环; 最后72 °C延伸3 min。

### 2.2.4 MALDI-TOF-MS法检测

向反应产物的384孔板中加入16 μL三蒸水, 以2 000 r/min离心3 min; 加入6 mg树脂, 在反转摇匀仪上进行树脂纯化反应35 min脱盐; 反应完成后再次以2 000 r/min离心3 min。将脱盐处理后的样品点在样品靶上, 自然结晶; 采用MALDI-TOF-MS法检测, 以Typer 4.0软件检测质谱峰, 根据质谱峰图判读各样本目标位点的基因型。

## 2.3 指标观察

### 2.3.1 MTX血药浓度指标

本研究以MTX血药浓度和剂量之间的比值(concentration-to-dose ratios, C/D比值)考察MTRR rs10380 C>T基因型对MTX血药浓度的影响。C/D比值=给药后24 h或42 h测定的MTX血药浓度/MTX给药剂量。

### 2.3.2 MTX不良反应判定

本研究MTX不良反应包括在MTX化疗周期内观察到的血液学、肝、电解质、心脏、呼吸、皮肤和黏膜、凝血等方面的不良反应, 依据常见药物不良反应术语评定标准5.0版<sup>[9]</sup>进行不良反应判定。计算MTX不良反应发生率, 不良反应发生率(%)=发生不良反应例数/总例数×100%。

### 2.3.3 预后指标

本研究分析的预后指标包括随访期内颅内肿瘤患儿的复发率和转移率。复发率(%)=随访期内复发例数/总例数×100%; 转移率(%)=随访期内发生转移例数/总例数×100%。

## 2.4 生物信息学分析

采用3DSNP v2.0 (<https://omic.tech/3dsnpv2/>)<sup>[10]</sup>和HaploReg v4.2 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>)<sup>[11]</sup>数据库对rs10380进行功能注释, 采用GTEX数据库(<https://www.gtexportal.org/home/index.html>)对rs10380进行表达数量性状基因座分析, 采用STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)对MTRR进行蛋白互作网络分析, 对MTRR相互作用蛋白进行基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。

## 2.5 统计学处理

采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析, 统计分析均基于双尾, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。年龄、剂量、C/D比值等计量资料不满足正态分布, 以中位数(四分位间距) $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示; 计数资料以例数或率(%)表示。采用 $\chi^2$ 检验或Fisher's精确检验分析MTRR rs10380 C>T基因多态性分布是否符合Hardy-Weinberg平衡以及不同基因型间的颅内肿瘤复发率、转移率、MTX不良反应发

生率等。采用Mann-Whitney U检验分析不同基因型间的MTX血药浓度差异。

## 3 结果

### 3.1 一般资料

本研究共纳入颅内肿瘤患儿75例(男43例、女32例), 其中髓母细胞瘤48例, 室管膜瘤21例, 星形细胞瘤3例, 中分化松果体实质瘤、原始性神经外胚瘤和低级别脑胶质瘤各1例; 患儿就诊时的年龄为2(2, 6)岁, MTX的剂量为4.63(4.37, 4.87)g/m<sup>2</sup>。

### 3.2 MTRR rs10380 C>T基因型在颅内肿瘤患儿中的分布

在75例颅内肿瘤患儿中, 野生CC和变异CT基因型的分布频率分别为62.67%和37.33%, C和T等位基因的分布频率分别为81.33%和18.67%, 均符合Hardy-Weinberg平衡( $P>0.05$ ), 具有群体代表性。

### 3.3 C/D比值

CC基因型患儿的24 h和42 h C/D比值均高于CT基因型患儿, 但差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结果见表1。

表1 MTRR rs10380基因型对颅内肿瘤患儿MTX C/D比值的影响 $[M(P_{25}, P_{75}), (\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2)/(\text{L}\cdot\text{g})]$

基因型	患儿例数	24 h C/D比值	42 h C/D比值
CC	47	25.28(20.37, 28.84)	0.14(0.10, 0.19)
CT	28	22.72(17.38, 32.36)	0.13(0.10, 0.17)
P		0.76	0.83

### 3.4 不良反应发生率

CC基因型患儿的电解质紊乱发生率显著高于CT基因型患儿( $P<0.05$ )。CC基因型患儿中黏膜炎、呼吸系统反应、白细胞减少症的发生率低于CT基因型患儿, 肝功能损害、胃肠道反应、骨髓抑制、贫血和血小板减少症的发生率高于CT基因型患儿, 但以上不良反应发生率差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结果见表2。

表2 MTRR rs10380基因型对颅内肿瘤患儿MTX不良反应的影响[例数(%)]

不良反应	CC(n=47)	CT(n=28)	P
黏膜炎	19(40.43)	12(42.86)	0.84
肝功能损害	27(57.45)	10(35.71)	0.07
电解质紊乱	24(51.06)	7(25.00)	0.03
胃肠道反应	26(55.32)	12(42.86)	0.30
呼吸系统反应	12(25.53)	13(46.43)	0.07
骨髓抑制	24(51.06)	14(50.00)	0.93
白细胞减少症	40(85.11)	25(89.29)	0.61
贫血	36(76.60)	21(75.00)	0.88
血小板减少症	19(40.43)	8(28.57)	0.30

### 3.5 转移率和复发率

共34例患儿伴有转移, 其中CC基因型27例、CT基因型7例, CC基因型患儿的转移率显著高于CT基因型患儿( $P<0.05$ )。共15例患儿在随访期内复发, 其中CC基因型9例、CT基因型6例, CC基因型患儿的复发率低于CT基因型患儿, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结果见表3。

表3 *MTRR* rs10380 基因型对颅内肿瘤患儿预后的影响[例数(%)]

基因型	CC(n=47)	CT(n=28)	P
是否发生转移			<0.001
否	20(42.55)	21(75.00)	
是	27(57.45)	7(25.00)	
是否复发			0.81
否	38(80.85)	22(78.57)	
是	9(19.15)	6(21.43)	

### 3.6 生物信息学分析结果

3DSNP v2.0 和 HaploReg v4.2 数据库分析结果显示,rs10380 的功能注释为错义突变,位于转录因子结合位点内,有结合转录因子 CTCF 和 YY1 的实验证据,提示该位点可能通过影响转录因子与靶基因的结合能力,调控 *MTRR* 基因表达。表达数量性状基因座分析结果显示,rs10380 基因型与脑皮层和额叶皮层 BA9 区组织中的 *MTRR* 基因表达显著相关,CT 基因型的 *MTRR* 基因表达显著高于 CC 基因型( $P < 0.05$ )。蛋白互作网络分析结果显示,*MTRR* 蛋白主要与 MMAA、CYP4F8、SHMT1、MTR、MMADHC、MTHFD1、CBS、CBSL、MTHFR、LMBRD1 等蛋白协同发挥作用。结果见图 1、图 2。

对以上分子进行 GO 功能富集分析,结果显示,生物过程条目富集的前 5 条通路分别为含硫氨基酸生物合成过程(sulfur amino acid biosynthetic process)、水溶性维生素代谢过程(water-soluble vitamin metabolic process)、维生素 B<sub>12</sub> 代谢过程(cobalamin metabolic process)、 $\alpha$ -氨基酸生物合成过程(alpha-amino acid biosynthetic process)和细胞氨基酸生物合成过程(cellular amino acid biosynthetic process);分子功能条目富集的前 5 条通路分别为四吡咯结合(tetrapyrrole binding)、维生素结合(vitamin binding)、维生素 B<sub>12</sub> 结合(cobalamin binding)、以 NAD 或 NADP 为受体作用于供体 CH—NH 基团的氧化还原酶活性(oxidoreductase activity, acting on the CH—NH group of donors, NAD or NADP as acceptor)和作用于供体 CH—NH 基团的氧化还原酶活性(oxidoreductase activity, acting on the CH—NH group of donors),具体见图 3A。KEGG 通路富集分析结果显示,富集的前 5 条通路分别为一碳单位库(one carbon pool by folate)、氨基酸生物合成(biosynthesis of amino acids)、半胱氨酸和蛋氨酸代谢(cysteine and methionine metabolism)、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(glycine, serine and threonine metabolism)和抗叶酸药耐药(antifolate resistance),具体见图 3B。

## 4 讨论

*MTRR* 基因位于人类 5 号染色体上,全长达 2 094 个碱基对,*MTRR* rs10380 是在 *MTRR* 基因外显子 14 上发生的错义突变,这一突变导致第 1 783 个碱基由 C 变为 T,使得第 595 个氨基酸由组氨酸变为酪氨酸<sup>[12]</sup>。有研究

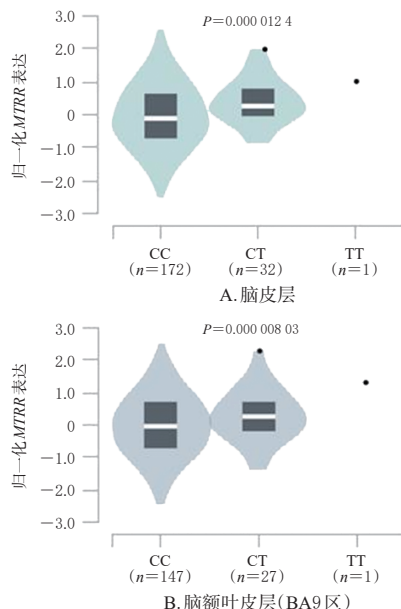
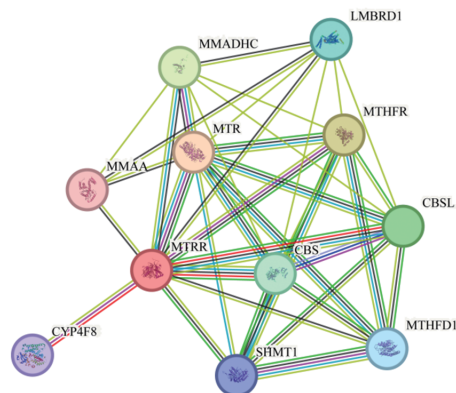


图1 *MTRR* rs10380 基因型与脑组织中 *MTRR* 基因表达的相关性小提琴图



MMAA: 线粒体甲基丙二酸血症 A 型蛋白; CYP4F8: 细胞色素 P450 家族 4 亚家族 F 肽 8; SHMT1: 丝氨酸羟甲基转移酶 1; MMADHC: 线粒体甲基丙二酸血症和高胱氨酸血症 D 型蛋白; MTHFD1: 亚甲基四氢叶酸脱氢酶、环化水解酶和甲酰四氢叶酸合成酶 1; CBS: 胱硫醚  $\beta$  合成酶; CBSL: 胱硫醚  $\beta$  合成酶样蛋白; MTHFR: 亚甲基四氢叶酸还原酶; LMBRD1: 人类可能的溶酶体钴胺素转运蛋白。

图2 *MTRR* 蛋白互作网络分析图

表明,*MTRR* rs162049 与 rs10380 的风险单倍体型能够显著提高同型半胱氨酸水平,且其蛋白表达量低于野生型<sup>[6]</sup>。这一发现为作者团队推测 *MTRR* 基因多态性与 MTX 药效及不良反应之间的关系提供了线索。尽管目前已有研究关注于 *MTRR* rs1801394 位点的多态性,但关于 *MTRR* rs10380 位点多态性与颅内肿瘤患儿 MTX 血药浓度及不良反应相关性的研究仍然较为缺乏,因此本研究探讨了颅内肿瘤患儿中 *MTRR* rs10380 C>T 多态性的分布特点及其与 MTX 血药浓度、不良反应和预后的相关性,旨在为此类人群安全应用 MTX 提供理论依据。

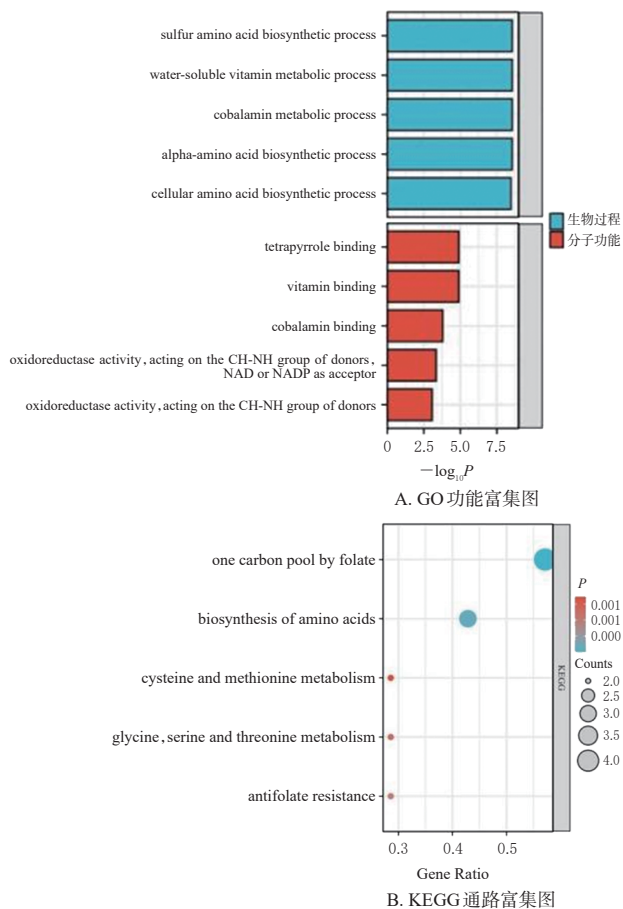


图3 GO功能和KEGG通路富集分析图

#### 4.1 *MTRR* rs10380 C>T 基因型在颅内肿瘤患儿中的分布

许多肿瘤的发生是遗传因素和环境因素共同作用的结果,表现出一定的遗传易感性。在叶酸代谢网络中,多种转运体和代谢酶的编码基因一旦发生多态性变异,可能会导致整个叶酸代谢网络的失衡,进而影响到DNA的合成和DNA甲基化过程。这种失衡状态可能直接关联到多种疾病的发生和发展<sup>[13]</sup>。例如,已有研究揭示了*MTRR* rs10380 T等位基因与胰腺癌之间的潜在联系,提示这一基因多态性可能是胰腺癌的易感因素之一<sup>[6]</sup>。在作者团队之前的研究中,测得140例急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)患儿*MTRR* rs10380 CC、CT和TT基因型的分布频率分别为78.57%、18.57%和2.86%<sup>[14]</sup>。将本研究测得的*MTRR* rs10380在颅内肿瘤患儿中的基因型频率与作者团队之前测得的该位点在ALL患儿中的基因型频率进行比较,发现颅内肿瘤患儿中CC基因型频率显著低于ALL患儿,而CT基因型频率显著高于ALL患儿( $P=0.004$ ),这一发现提示该SNP位点可能是颅内肿瘤患儿独特的遗传标志,为未来的研究和治疗提供了新的方向。

#### 4.2 *MTRR* rs10380 C>T 基因型与颅内肿瘤患儿MTX血药浓度的相关性

寻找与血药浓度或不良反应相关的SNP,有助于阐明药物反应个体差异发生机制,便于开展基因导向的MTX个体化治疗,保障患儿的治疗效果和用药安全。本研究结果未发现*MTRR* rs10380 CC基因型患儿和CT基因型患儿MTX血药浓度的24 h C/D比值和42 h C/D比值有显著差异,可能与该人群中C/D比值的个体间差异较大有关。此外,另一研究结果也未发现*MTRR* rs10380 C>T与ALL患儿的MTX血药浓度有相关性<sup>[14]</sup>,表明这一SNP位点并非是决定MTX血药浓度的关键因素。

#### 4.3 *MTRR* rs10380 C>T 基因型与MTX不良反应的相关性

MTX所致的药物不良反应通常使患者用药依从性下降,导致剂量减小或提前终止治疗,是患者病情进展或恶化的原因之一<sup>[15]</sup>。从基因多态性角度寻找可能与不良反应发生相关的SNP位点,有助于临床上MTX不良反应高危人群的筛选,对提升患者的治疗效果和减少不良反应的发生具有重要意义。已有研究发现,使用MTX化疗的肿瘤患者中*MTRR* rs1801394 A等位基因与肾毒性<sup>[16]</sup>和肝功能受损<sup>[17]</sup>的发生显著相关。本研究结果显示,*MTRR* rs10380 CC基因型患儿的电解质紊乱发生率显著高于CT基因型患儿,提示CC基因型可能是颅内肿瘤患儿MTX化疗后电解质紊乱发生的危险因素。但这个发现仍需开展大样本、多中心的前瞻性研究来证实。

#### 4.4 *MTRR* rs10380 C>T 基因型与颅内肿瘤患儿预后的相关性

SNP也与许多疾病的预后显著相关<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,CC基因型患儿肿瘤转移率显著高于CT基因型患儿,提示CC基因型可能是颅内肿瘤发生转移的危险因素;但二者的复发率没有统计学差异,可能与本研究纳入的病例数少、随访时间较短有关。

#### 4.5 rs10380 基因型与*MTRR* 表达关系的生物信息学分析

本研究采用生物信息学分析方法对rs10380基因型与*MTRR*表达关系进行探讨,发现变异CT基因型脑组织中的*MTRR*基因表达显著高于野生CC基因型,发生机制可能与该SNP影响转录因子结合有关。蛋白互作网络分析和富集分析结果进一步解释了*MTRR*蛋白在体内发挥的功能,如主要与MMAA等10种蛋白协同发挥作用、参与含硫氨基酸生物合成过程等,可以为rs10380基因型影响颅内肿瘤发生发展、MTX代谢和毒性等表型提供解释。

#### 4.6 本研究局限性

首先,本研究是一项单中心回顾性研究,纳入的病例数较少,不可避免地存在选择偏倚。另外,由于随访时间短,不良反应、复发和转移的数据收集不够充分,可能影响更多有统计学意义指标的检出。

综上所述,使用MTX化疗的CC基因型颅内肿瘤患儿的电解质紊乱发生率和肿瘤转移率显著高于CT基因型患儿,提示CC基因型可能是电解质紊乱和肿瘤转移的危险因素。

#### 参考文献

- [1] NERADIL J, PAVLASOVA G, VESELSKA R. New mechanisms for an old drug; DHFR- and non-DHFR-mediated effects of methotrexate in cancer cells[J]. *Klin Onkol*, 2012, 25(Suppl. 2): S87-S92.
- [2] PANETTA J C, ROBERTS J K, HUANG J, et al. Pharmacokinetic basis for dosing high-dose methotrexate in infants and young children with malignant brain tumors[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2020, 86(2): 362-371.
- [3] 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.  
SONG Z W, LIU S, ZHAO R S, et al. Interpretation for *Evidence-based Practice Guideline of Medication Therapy of High-dose Methotrexate in China*[J]. *China Pharm*, 2022, 33(16): 2032-2039.
- [4] LECLERC D, WILSON A, DUMAS R, et al. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(6): 3059-3064.
- [5] 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.  
WANG L K, ZHANG C D, TIAN D D, et al. The influence of MTRR gene polymorphisms on the efficacy of oral folic acid in the treatment of hyperhomocysteinemia [J]. *Mod Prev Med*, 2016, 43(6): 1134-1137.
- [6] OHNAMI S, SATO Y, YOSHIMURA K, et al. His595Tyr polymorphism in the methionine synthase reductase (MTRR) gene is associated with pancreatic cancer risk [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(2): 477-488.
- [7] LOUIS D N, PERRY A, WESSELING P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(8): 1231-1251.
- [8] LI M, KONG X Y, WANG S M. Effects of splicing-regulatory polymorphisms in ABCC2, ABCG2, and ABCB1 on methotrexate exposure in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2023, 91(1): 77-87.
- [9] U.S. Department of Health and Human Services. Common terminology criteria for adverse events (CTCAE) version 5.0[EB/OL]. (2017-11-27) [2024-09-10]. [https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic\\_applications/docs/CTCAE\\_v5\\_Quick\\_Reference\\_8.5x11.pdf](https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11.pdf).
- [10] QUAN C, PING J, LU H, et al. 3DSNP 2.0: update and expansion of the noncoding genomic variant annotation database[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D950-D955.
- [11] WARD L D, KELLIS M. HaploReg: a resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 (Database issue): D930-D934.
- [12] FONG C S, SHYU H Y, SHIEH J C, et al. Association of MTHFR, MTR, and MTRR polymorphisms with Parkinson's disease among ethnic Chinese in Taiwan[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(3/4): 332-338.
- [13] 马利敏,阮林海,刘洪超,等. MTRR 基因 A66G 多态性与儿童急性淋巴细胞白血病关系的 Meta 分析[J]. *肿瘤防治研究*, 2015, 42(8): 824-828.  
MA L M, RUAN L H, LIU H C, et al. MTRR gene A66G polymorphism and pediatric acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis[J]. *Cancer Res Prev Treat*, 2015, 42(8): 824-828.
- [14] LI M, KONG X Y, WANG S M. Analysis of the frequency distribution of five single-nucleotide polymorphisms of the MTRR gene in a Chinese pediatric population with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pharmacotherapy*, 2022, 42(6): 442-452.
- [15] LI M, WANG S M, WU W S, et al. Frequency distribution of five SNPs in human GGH gene and their effects on clinical outcomes of Chinese pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pharmazie*, 2020, 75(4): 142-146.
- [16] PITAKKITNUKUN P, PONGPITAKMETHA T, SUTTICHET T B, et al. Genetic polymorphisms and clinical parameters associated with renal toxicity in Thai hematologic malignancy patients receiving high dose methotrexate[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 9695.
- [17] 何霞,姚平立,吴宇,等. 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[J]. *中国药房*, 2019, 30(24): 3428-3433.  
HE X, YAO P L, WU Y, et al. Study on relationships of gene polymorphism of MTRR and SLCO1B1 with blood concentration of MTX and HD-MTX-induced ADR in ALL children[J]. *China Pharm*, 2019, 30(24): 3428-3433.
- [18] ASNAFI A A, BEHZAD M M, GHANAVAT M, et al. Single nucleotide polymorphisms in osteosarcoma: pathogenic effect and prognostic significance[J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 106: 63-77.  
(收稿日期:2024-07-08 修回日期:2024-10-06)  
(编辑:舒安琴)