

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：急性淋巴细胞白血病儿童 SHMT1 rs1979277 位点遗传多态性对甲氨蝶呤血清浓度和不良反应的影响

作者：孟令嘉，刘思涵，李苗，王淑梅

网络首发日期：2025-12-08

引用格式：孟令嘉，刘思涵，李苗，王淑梅. 急性淋巴细胞白血病儿童 SHMT1 rs1979277 位点遗传多态性对甲氨蝶呤血清浓度和不良反应的影响[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251208.0842.002>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 急性淋巴细胞白血病儿童 *SHMT1* rs1979277 位点遗传多态性对甲氨蝶呤血清浓度和不良反应的影响

孟令嘉<sup>1</sup>, 刘思涵<sup>1,2</sup>, 李 苗<sup>1,3</sup>, 王淑梅<sup>1</sup>

(首都医科大学附属北京世纪坛医院<sup>1</sup>药学部,<sup>3</sup>儿科, 北京 100038; <sup>2</sup>首都医科大学药学院临床药理学系, 北京 100069)

**摘要 目的** 探讨急性淋巴细胞白血病(ALL)儿童丝氨酸羟甲基转移酶 1(*SHMT1*)rs1979277 位点遗传多态性对甲氨蝶呤(MTX)药代动力学特征和临床预后的影响。**方法** 应用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱平台完成 rs1979277 基因型检测, 临床资料收集包括 MTX 血药浓度、MTX 化疗不良事件和 ALL 复发情况, 分析 *SHMT1* rs1979277 G>A 基因型与剂量校正的 MTX 浓度比值(C/D 比值)、不良事件和复发的相关性, 基于生物信息学分析探索 rs1979277 基因型与 *SHMT1* 表达的关系。**结果** 在纳入的 146 例 ALL 患儿群体中, rs1979277 GG 纯合型占比 85.62% (125/146), GA 杂合型占比 14.38% (21/146); G 等位基因占比达 92.81% (271/292), 而 A 等位基因仅占 7.19% (21/292)。GG 纯合型患儿的 24 h 中位 C/D 比值[12.06 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2$ )/(L·g)]高于 GA 杂合型患儿[10.96 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2$ )/(L·g)], 复发率 (12.80%) 也高于 GA 杂合型患儿 (9.52%), 但以上差异均无统计学意义 (均  $P>0.05$ )。GA 杂合型儿童中呼吸系统反应 (19.05%) 和肝功能损害 (33.33%) 的发生率显著高于 GG 纯合型儿童 (分别为 4.00% 和 12.00%,  $P<0.05$ ), 其余不良事件的发生率差异均无统计学意义。生物信息学分析结果显示, rs1979277 的 A 等位基因显著增加胫动脉、胰腺、肾上腺等多种组织中的 *SHMT1* 表达 ( $P<0.05$ )。**结论** *SHMT1* rs1979277 GA 基因型可能是 ALL 患儿发生呼吸系统不良反应和肝功能损害的危险因素。

**关键词** 急性淋巴细胞白血病; 丝氨酸羟甲基转移酶 1; 基因变异; 甲氨蝶呤; 不良事件; 预后

中图分类号 R 968

文献标志码 A

Effects of *SHMT1* rs1979277 genetic polymorphisms on serum concentrations and adverse reactions of methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (编号: 81872926); 首都医科大学附属北京世纪坛医院医院院基金项目 (编号: 2023-c01)

**作者简介:** 孟令嘉, 男, 学士, 药师;

王淑梅, 女, 博士研究生, 主任药师, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: wangshumei1980@126.com

Meng Lingjia<sup>1</sup>, Liu Sihan<sup>1,2</sup>, Li Miao<sup>1,3</sup>, Wang Shumei<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pharmacy, <sup>3</sup>Department of Pediatrics, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038; <sup>2</sup>Department of Clinical Pharmacy, College of Pharmacy, Capital Medical University, Beijing 100069)

**Abstract Objective** To explore the effects of serine hydroxymethyltransferase 1 (*SHMT1*) rs1979277 polymorphisms on pharmacokinetic characteristics and clinical prognosis of methotrexate (MTX) in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods** Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry was used for *SHMT1* rs1979277 genotyping. Clinical data including serum MTX concentrations, incidences of adverse events, and ALL relapse after chemotherapy with MTX were collected. The associations of *SHMT1* rs1979277 G>A genotypes with dose-adjusted serum concentrations (C/D ratios), adverse events of MTX, and relapse were analyzed. The associations between rs1979277 genotypes and *SHMT1* expression were explored based on Bioinformatics methods. **Results** Among the 146 children with ALL included, the rs1979277 GG homozygous genotype accounted for 85.62% (125/146), while the GA heterozygous genotype accounted for 14.38% (21/146). The frequency of the G allele was 92.81% (271/292), while the A allele was only 7.19% (21/292). Children with the GG homozygous genotype had higher median C/D ratios of MTX in 24 h [ $12.06 (\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2)/(\text{L}\cdot\text{g})$ ] and higher relapse rates (12.80%) than those in GA heterozygous genotype carriers [ $10.96 (\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2)/(\text{L}\cdot\text{g})$ , and 9.52%, respectively]. However, none of the above differences were statistically significant (all  $P>0.05$ ). The incidences of respiratory (19.05%) and liver disorders (33.33%) in children with the GA heterozygous genotype were significantly higher than those in GG homozygous genotype carriers (4.00% and 12.00%, respectively,  $P<0.05$ ). There were no statistically significant differences in the incidences of other adverse events. Bioinformatics analysis showed that the rs1979277 A allele was significantly associated with higher *SHMT1* expression in multiple tissues, such as the tibial artery, pancreas, and adrenal gland ( $P<0.05$ ). **Conclusion** *SHMT1* rs1979277 GA genotype may be a risk factor for respiratory and liver disorders in ALL children treated with MTX.

**Key words** acute lymphoblastic leukemia; serine hydroxymethyltransferase 1; genetic variation; methotrexate; adverse event; prognosis

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 81872926); Foundation of

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 是儿童时期最常见的恶性肿瘤, 严重威胁患儿的生命健康<sup>[1]</sup>。大剂量甲氨蝶呤 (high-dose methotrexate, HD-MTX) 化疗是目前 ALL 治疗的核心手段, 能显著提高患儿的生存率和治愈率<sup>[2]</sup>。然而, 临床应用 HD-MTX 所致毒性反应存在显著的个体差异, 严重影响治疗效果和患者生活质量, 遗传多态性可能是这种差异的一个关键因素<sup>[3]</sup>。

丝氨酸羟甲基转移酶 1 (serine hydroxymethyltransferase 1, *SHMT1*) 是叶酸代谢通路中的关键酶, 催化丝氨酸和四氢叶酸反应生成甘氨酸和 5,10-亚甲基四氢叶酸, 为一碳单位代谢和 DNA 合成提供必需原料<sup>[4]</sup>。研究<sup>[5]</sup>表明, *SHMT1* 基因多态性可通过影响叶酸代谢水平, 干扰甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 的代谢过程及药物毒性, 导致化疗疗效和不良反应的个体差异。但目前 *SHMT1* 基因多态性与 MTX 血药浓度及化疗毒性间的关联尚不明确, 且现有研究结果存在不一致性。因此, 本研究拟通过检测 ALL 患儿 *SHMT1* 基因多态性位点, 探讨其对 MTX 血清浓度及化疗相关毒性的影响, 旨在为 MTX 个体化治疗及临床预后评估提供新的分子标志物和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料

本研究是一项经过首都医科大学附属北京世纪坛医院科学研究伦理委员会批准的回顾性研究, 伦理批号为 sjtkyll-lx-2020 (59)。研究以 2009 年 8 月至 2022 年 7 月期间, 在首都医科大学附属北京世纪坛医院儿科接受 MTX 化疗的 ALL 儿童为研究对象。通过医院的电子病历系统, 收集了这些患儿的关键医疗信息, 包括年龄、性别、MTX 给药方案、血药浓度、不良事件及预后等。

本研究的纳入标准设定为: ① 在 2009 年 8 月至 2022 年 7 月时间段内于本院儿科就诊; ② 符合国际 ALL 诊断标准<sup>[6]</sup>; ③ 年龄不超过 18 周岁, 性别不限; ④ 治疗方案包含 MTX 化疗, 且已测定给药后 24 h 和 42 h 的 MTX 血药浓度。本研究的排除标准设定为: ① MTX 化疗剂量不足 1 g/m<sup>2</sup>; ② *SHMT1* rs1979277 G>A 基因分型不成功; ③ 病历资料不完整。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 化疗方案

基于骨髓细胞形态学、白血病细胞免疫表型、细胞遗传学及分子生物学特征, 结合患儿发病年龄、起病时的白细胞计数等进行危险度分层, 分别给予 MTX 3~5 g/m<sup>2</sup>高强度方案 (高

危组)、2~3 g/m<sup>2</sup>常规剂量(中危组)和<2 g/m<sup>2</sup>低暴露剂量(标危组)。首先将 1/6 量的药物(不超过 0.5 g)在 30 min 内快速滴注,余量则在接下来的 23.5 h 内以均匀持续的速度进行静脉泵入。

### 1.2.2 基因组 DNA 提取

按照既定方法<sup>[7]</sup>,所用样本为 MTX 化疗后进行浓度测定剩余的血液,从中提取基因组 DNA。采用紫外分光光度法测定 DNA 浓度和纯度,用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性,进行双维度核酸质量控制。

### 1.2.3 *SHMT1* rs1979277 G>A 基因型检测

本研究应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)平台完成 SNP 分型检测<sup>[7]</sup>,所用引物分别为 ACGTTGGATGGGAGGAGGTTGAGAGCTTC、ACGTTGGATGAGAGTGGGCCCGCTCCTTTA 和 gggaCAGGCAGAGGGAAGA,其余实验细节同既往研究<sup>[7]</sup>。

### 1.2.4 MTX 血药浓度指标计算

本研究采用荧光偏振免疫法测定 MTX 血药浓度,通过 MTX 血药浓度与剂量之间的比值(concentration-to-dose ratios, C/D 比值),考察 *SHMT1* rs1979277 G>A 基因型对 MTX 血药浓度的影响。C/D 比值的计算公式为:给药后 24 h 和 42 h 测定的 MTX 血药浓度( $\mu\text{mol/L}$ )/MTX 给药剂量( $\text{g/m}^2$ )。

### 1.2.5 MTX 不良事件判定

本研究分析的 MTX 不良事件包括在 MTX 治疗过程中观察到的血液系统、凝血系统、呼吸系统、胃肠道系统、电解质、心脏、肝脏、皮肤和黏膜等方面的不良事件,依据当前通用的药物不良事件术语评定标准 5.0 版<sup>[8]</sup>进行判定。

### 1.2.6 收集 ALL 儿童复发情况

本研究重点关注了 ALL 儿童随访期内的复发情况。复发的定义是经过形态学、细胞遗传学或分子生物学检查,在任何部位诊断出的白血病复发。

### 1.2.7 生物信息学分析

本研究采用 RegulomeDB v2.2 (<https://www.regulomedb.org/regulome-search/>)<sup>[9]</sup>和 VannoPortal(<http://www.mulinlab.org/vportal>)<sup>[10]</sup>数据库对 rs1979277 进行了功能注释。同时,自 UCSC Xena 平台下载了 ALL 患者(132 例)和健康对照(337 例)的 RNA 测序数据,对每个表达值进行了  $\text{Log}_2(x+0.001)$  变换,以分析 *SHMT1* 基因在 ALL 与正常对照中的表达差异。此外,基于 TARGET 数据库临床预后数据,探究 *SHMT1* 基因表达与 ALL 患者无病生

存期（disease free survival, DFS）的关联。借助 STRING v12.0 数据库（置信度阈值 $\geq 0.7$ ）提取 SHMT1 蛋白相互作用网络，结合基因本体（gene ontology, GO）功能层级富集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，进行初步分子机制探索。

### 1.2.8 统计学处理

本研究采用了 Graphpad Prism 9.0 版本和 R 软件 4.2.1 版本进行统计分析。所有统计分析均基于双尾检验，检验水准  $\alpha$  设定为 0.05。对于不满足正态分布的定量数据，如年龄、MTX 剂量和血药浓度等，以中位数（四分位间距） $[M(P_{25}, P_{75})]$  进行表示。对于计数资料，则以  $n(\%)$  的形式呈现。采用  $\chi^2$  检验或 Fisher's 精确检验分析 SHMT1 rs1979277 G>A 基因变异分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡，以及 GG 与 GA 基因型间 MTX 不良反应发生率和 ALL 复发率的差异。同时，分别采用多元线性回归和多元 Logistic 回归分析包括基因型等因素对 MTX C/D 比值和 ALL 复发的影响。采用 Kaplan-Meier 法绘制 ALL 患儿生存曲线，通过 Log-rank 检验比较 SHMT1 高、低表达组之间的生存差异。

## 2 结果

### 2.1 研究对象一般资料

如表 1 所示，本研究共纳入 ALL 患儿 146 例（男童 89 例、女童 57 例），标危、中危、高危儿童分别为 92、32、22 例，就诊年龄为 6（4.00, 10.25）岁，MTX 的剂量为 2.50（2.00, 2.50）g/m<sup>2</sup>。

### 2.2 SHMT1 rs1979277 G>A 多态性在 ALL 患儿中的分布结果

在 146 例 ALL 患儿中，rs1979277 GG 纯合型占比 85.62%（125/146），GA 杂合型占比 14.38%（21/146），未见 AA 基因型。G 等位基因占比达 92.81%（271/292），A 等位基因仅占 7.19%（21/292），符合 Hardy-Weinberg 平衡（ $P>0.05$ ），提示研究人群在该位点处于遗传平衡状态，具有一定群体代表性。SHMT1 rs1979277 GG 与 GA 基因型组间的基线特征无显著差异（表 1）。

表 1 ALL 患儿基线特征  $[n(\%), M(P_{25}, P_{75})]$

Tab. 1 Baseline characteristics of ALL children  $[n(\%), M(P_{25}, P_{75})]$

| Characteristics              |            | Total              | GG                 | GA                 | Z/ $\chi^2$ value | P value |
|------------------------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------|
| Number                       |            | 146 (100.00)       | 125 (85.62)        | 21 (14.38)         |                   |         |
| Age (y)                      |            | 6.00 (4.00, 10.25) | 6.00 (4.00, 10.00) | 7.00 (4.00, 11.00) | -0.27             | 0.78    |
| Gender                       |            |                    |                    |                    |                   |         |
| Male                         |            | 89 (60.96)         | 76 (60.80)         | 13 (61.90)         |                   |         |
| Female                       |            | 57 (39.04)         | 49 (39.20)         | 8 (38.10)          | 0.01              | 0.55    |
| Ethnic Group                 |            |                    |                    |                    |                   |         |
| Han                          |            | 141 (96.58)        | 121 (96.80)        | 20 (95.24)         |                   |         |
| Minorities                   |            | 5 (3.42)           | 4 (3.20)           | 1 (4.76)           | -                 | 0.72    |
| Risk                         |            |                    |                    |                    |                   |         |
| Standard                     |            | 92 (63.01)         | 78 (62.40)         | 14 (66.67)         |                   |         |
| Middle                       |            | 32 (21.92)         | 28 (22.40)         | 4 (19.05)          |                   |         |
| High                         |            | 22 (15.07)         | 19 (15.20)         | 3 (14.28)          | 0.15              | 0.93    |
| Immunotype                   |            |                    |                    |                    |                   |         |
| B lineage                    |            | 114 (78.08)        | 98 (78.40)         | 16 (76.19)         |                   |         |
| T lineage                    |            | 14 (9.59)          | 12 (9.60)          | 2 (9.52)           |                   |         |
| Mixed                        |            | 2 (1.37)           | 2 (1.60)           | 0 (0)              |                   |         |
| Unknown                      |            | 16 (10.96)         | 13 (10.40)         | 3 (14.29)          | 0.60              | 0.90    |
| MTX dose (g/m <sup>2</sup> ) |            | 2.50 (2.00, 2.50)  | 2.40 (1.70, 5.50)  | 2.20 (1.75, 4.20)  | -0.09             | 0.93    |
| Concomitant drug             |            |                    |                    |                    |                   |         |
| Furosemide                   |            | 62 (42.47)         | 52 (41.60)         | 10 (47.62)         | 0.27              | 0.61    |
| Intensive                    | Leucovorin | 6 (4.11)           | 5 (4.00)           | 1 (4.76)           | -                 | 1.00    |
| Rescue                       |            |                    |                    |                    |                   |         |

2.3 C/D 比值

将年龄、性别、民族、危险度、免疫分型、*SHMT1* rs1979277 基因型、合并用药纳入 MTX C/D 比值回归方程中，多元线性回归分析显示，合并用呋塞米促排泄和加强亚叶酸钙解救对 24 h C/D 比值影响显著( $P<0.05$ )，加强亚叶酸钙解救对 42 h C/D 比值影响显著(均  $P<0.05$ )。GG 基因型儿童的中位 24 h C/D 比值[12.06 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2$ )/(L·g)]高于 GA 基因型儿童[10.96 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2$ )/(L·g)]，两种基因型儿童的中位 42h C/D 比值相同[0.08 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2$ )/(L·g)]，对 MTX

C/D 比值无显著影响（表 2）。

表 2 多元线性回归分析剂量校正的 MTX 血清浓度影响因素

Tab. 2 Multiple linear regression analysis of factors affecting dose-adjusted serum MTX concentrations

| Variables                   | C/D in 24h |      |                |         | C/D in 42h |      |            |         |
|-----------------------------|------------|------|----------------|---------|------------|------|------------|---------|
|                             | $\beta$    | SE   | 95% CI         | P value | $\beta$    | SE   | 95% CI     | P value |
| Intercept                   | 10.82      | 1.17 | 8.51–13.13     | <0.01   | 0.20       | 0.07 | 0.07–0.33  | <0.01   |
| Age                         | 0.10       | 0.16 | - 0.21–0.42    | 0.54    | - 0.01     | 0.01 | -0.03–0.01 | 0.25    |
| Female                      | - 0.46     | 0.95 | - 2.34–1.41    | 0.63    | - 0.08     | 0.05 | -0.18–0.03 | 0.16    |
| Minorities                  | 1.19       | 2.52 | - 3.79–6.17    | 0.64    | 0.02       | 0.14 | -0.27–0.30 | 0.91    |
| High risk                   | -1.88      | 2.07 | - 5.97– - 2.21 | 0.36    | - 0.02     | 0.12 | -0.26–0.21 | 0.85    |
| Middle risk                 | 0.48       | 1.54 | - 2.57–3.53    | 0.76    | - 0.01     | 0.09 | -0.20–0.16 | 0.90    |
| T lineage                   | 0.97       | 2.47 | - 3.92–5.85    | 0.70    | - 0.16     | 0.14 | -0.44–0.12 | 0.26    |
| Unknown lineage             | 0.07       | 1.47 | - 2.85–2.96    | 0.97    | - 0.04     | 0.08 | -0.20–0.12 | 0.62    |
| Mixed lineage               | -3.91      | 4.01 | - 11.85–4.02   | 0.33    | 0.08       | 0.23 | -0.37–0.54 | 0.71    |
| GA genotype                 | 0.05       | 1.28 | - 2.49–2.58    | 0.97    | 0.01       | 0.07 | -0.14–0.15 | 0.93    |
| Furosemide                  | 3.10       | 0.95 | 1.22–4.99      | <0.01   | 0.03       | 0.05 | -0.08–0.14 | 0.55    |
| Intensive leucovorin rescue | 8.54       | 2.36 | 3.88–13.20     | <0.01   | 1.91       | 0.13 | 1.65–2.18  | <0.01   |

2.4 GG 基因型和 GA 基因型患儿不良事件发生率

如表 3 所示，GA 基因型患儿中呼吸系统反应和肝功能损害的发生率显著高于 GG 基因型患儿（均  $P<0.05$ ）。GA 基因型患儿中血液学不良反应、凝血功能异常、胃肠道反应、电解质紊乱、心功能异常的发生率高于 GG 基因型患儿，GA 基因型患儿的皮疹和黏膜炎发生率低于 GG 基因型患儿，但以上不良反应发生率差异均无统计学意义（均  $P>0.05$ ）。

表 3 SHMT1 rs1979277 G>A 基因多态性对 ALL 患儿 MTX 不良事件的影响

Tab. 3 The effects of SHMT1 rs1979277 G>A polymorphism on adverse events of MTX in

| ALL children            |            |           |                |         |
|-------------------------|------------|-----------|----------------|---------|
| Adverse event           | GG (n=125) | GA (n=21) | $\chi^2$ value | P value |
| Hematological disorders | 37 (29.60) | 7 (33.33) | 0.12           | 0.73    |
| Coagulation disorders   | 2 (1.60)   | 2 (9.52)  | -              | 0.10    |
| Respiratory disorders   | 5 (4.00)   | 4 (19.05) | -              | 0.03    |

|                         |            |           |      |      |
|-------------------------|------------|-----------|------|------|
| Digestive disorders     | 25 (20.00) | 5 (23.80) | 0.16 | 0.69 |
| Electrolyte disorders   | 15 (12.00) | 3 (14.29) | -    | 0.73 |
| Cardiac disorders       | 5 (4.00)   | 2 (9.52)  | -    | 0.27 |
| Hepatic disorders       | 15 (12.00) | 7 (33.33) | 6.39 | 0.01 |
| Skin rash and mucositis | 6 (4.80)   | 1 (4.76)  | -    | 1.00 |

## 2.5 复发率

在中位随访 17（11，26）个月的观察期内，共记录到 18 例 ALL 复发事件，其中 GG 纯合型占 88.9%（16/18），GA 杂合型仅占 11.1%（2/18）。将年龄、性别、民族、危险度、免疫分型、*SHMT1* rs1979277 基因型、合并用药纳入 ALL 复发回归方程中，多元 Logistic 回归分析显示其对 ALL 复发风险均无显著影响（ $P>0.05$ ）。

表 4 多元 Logistic 回归分析 ALL 复发风险因素

Tab. 4 Multiple Logistic regression analysis of ALL relapse risk factors

| Variable                    | $\beta$ | SE    | OR   | 95% CI     | P value |
|-----------------------------|---------|-------|------|------------|---------|
| Intercept                   | - 2.35  | 0.69  | 0.10 | 0.02–0.34  | <0.01   |
| Age                         | 0.02    | 0.10  | 1.02 | 0.85–1.24  | 0.85    |
| Female                      | 0.28    | 0.53  | 1.33 | 0.45–3.78  | 0.60    |
| Minorities                  | 1.66    | 1.02  | 5.25 | 0.59–38.88 | 0.10    |
| High risk                   | - 0.43  | 0.834 | 0.65 | 0.11–3.07  | 0.60    |
| Middle risk                 | - 1.19  | 1.08  | 0.30 | 0.03–2.07  | 0.27    |
| Non-B lineage               | 1.04    | 0.63  | 2.83 | 0.79–9.62  | 0.10    |
| GA genotype                 | - 0.49  | 0.82  | 0.62 | 0.09–2.56  | 0.55    |
| Furosemide                  | 0.15    | 0.55  | 1.16 | 0.38–3.40  | 0.78    |
| Intensive leucovorin rescue | 0.31    | 1.22  | 1.36 | 0.06–11.44 | 0.80    |

## 2.6 生物信息学分析结果

### 2.6.1 rs1979277 功能注释

RegulomeDB v2.2 数据库分析结果显示，rs1979277 的功能评级为 1f，提示该 SNP 位点为表达数量性状位点（expression quantitative trait locus, eQTL）、转录因子结合位点或 DNA 酶 I 超敏感位点，调控功能较强。VannoPortal 数据库分析结果显示，rs1979277 的功能注释为错义突变，G 变为 A 导致第 474 号氨基酸由亮氨酸变为脯氨酸，显著增加胫动脉、胰腺、肾上腺等多种组织中的 *SHMT1* 表达，结果见表 5。表 6 显示该 SNP 位点位于 CHD1、EP300、

IRF1、IRF2、GABPA、MAZ、WRNIP1、TAF1、TAF2、SPI1、TAL1、ZEB1、CHD2、SP2、SP1、ZBTB7A 等转录调控因子的基序结合位点内，会影响转录调控因子的结合亲和力，这可能是 rs1979277 G>A 多态性调控 *SHMT1* 组织表达的机制。

表 5 rs1979277 G>A 多态性与 *SHMT1* 组织表达的显著相关性

Tab. 5 The significant associations of the rs1979277 G>A polymorphism with *SHMT1*

| expression in tissues               |                  |         |      |          |
|-------------------------------------|------------------|---------|------|----------|
| Tissue                              | Effective allele | $\beta$ | SE   | P value  |
| Tibial artery                       | A                | 0.61    | 0.03 | 1.08E-58 |
| Pancreas                            | A                | 0.51    | 0.06 | 7.15E-18 |
| Adrenal gland                       | A                | 0.50    | 0.06 | 2.95E-13 |
| Esophagus muscularis                | A                | 0.46    | 0.03 | 4.10E-35 |
| Aorta artery                        | A                | 0.40    | 0.04 | 8.80E-21 |
| Left ventricle                      | A                | 0.40    | 0.05 | 1.14E-14 |
| Prostate                            | A                | 0.39    | 0.07 | 5.81E-08 |
| Esophagus gastroesophageal junction | A                | 0.38    | 0.04 | 1.89E-19 |
| Ovary                               | A                | 0.36    | 0.08 | 8.32E-06 |
| Tibial nerve                        | A                | 0.36    | 0.03 | 1.07E-29 |
| Skeletal muscle                     | A                | 0.35    | 0.03 | 2.79E-24 |
| Sigmoid colon                       | A                | 0.35    | 0.05 | 7.73E-12 |
| Pituitary                           | A                | 0.34    | 0.05 | 3.26E-09 |
| Atrial appendage                    | A                | 0.33    | 0.04 | 6.63E-14 |
| Whole blood                         | A                | 0.31    | 0.04 | 1.24E-15 |
| Caudate basal ganglia               | A                | 0.30    | 0.07 | 1.91E-05 |
| Thyroid                             | A                | 0.30    | 0.03 | 4.49E-22 |
| Stomach                             | A                | 0.27    | 0.04 | 8.57E-11 |
| Transverse colon                    | A                | 0.24    | 0.03 | 1.19E-15 |
| Coronary artery                     | A                | 0.24    | 0.04 | 3.50E-09 |
| Terminal ileum                      | A                | 0.21    | 0.04 | 8.46E-08 |
| Lung                                | A                | 0.21    | 0.02 | 1.14E-21 |

|                            |   |      |      |          |
|----------------------------|---|------|------|----------|
| Esophagus mucosa           | A | 0.15 | 0.03 | 2.20E-08 |
| Subcutaneous adipose       | A | 0.11 | 0.02 | 8.54E-07 |
| Sun exposed lower leg skin | A | 0.10 | 0.03 | 0.0003   |

$\beta$  is the regression coefficient based on the effect allele, and  $\beta > 0$  indicates that the effect allele upregulates gene expression.

表 6 rs1979277 G>A 多态性影响的转录基序

Tab.6 Regulatory motifs altered by the rs1979277 G>A polymorphism

| Motif ID | Factor affected | Motif binding site   | Binding strand | Affinity changes | Log-odds |
|----------|-----------------|----------------------|----------------|------------------|----------|
| HM10064  | CHD1            | 17:18232084-18232098 | -              | - 7.93- 0        | 7.93     |
| HM10123  | EP300           | 17:18232087-18232100 | +              | - 7.54-0         | 7.54     |
| HM01056  | IRF1            | 17:18232084-18232096 | -              | - 7.18-0         | 7.18     |
| HM01057  | IRF2            | 17:18232084-18232096 | -              | - 7.01-0         | 7.01     |
| HM06048  | GABPA           | 17:18232087-18232096 | +              | - 6.94-0         | 6.94     |
| HM03155  | MAZ             | 17:18232089-18232096 | +              | - 6.76-0         | 6.76     |
| HM10643  | WRNIP1          | 17:18232090-18232101 | +              | 0- - 6.53        | 6.53     |
| HM10336  | MAZ             | 17:18232084-18232100 | +              | - 6.46-0         | 6.46     |
| HM05285  | MAZ             | 17:18232083-18232104 | -              | - 6.38-0         | 6.38     |
| HM05396  | TAF1            | 17:18232088-18232103 | -              | 0- - 6.27        | 6.27     |
| HM07219  | TAF2            | 17:18232088-18232097 | +              | 0- - 6.10        | 6.10     |
| HM00111  | SPI1            | 17:18232084-18232097 | -              | 0- - 6.08        | 6.08     |
| HM02681  | TAL1            | 17:18232088-18232096 | +              | - 6.08-0         | 6.08     |
| HM00958  | ZEB1            | 17:18232092-18232100 | +              | 0- -6.05         | 6.05     |
| HM02778  | CHD2            | 17:18232090-18232097 | -              | 0- -6.04         | 6.04     |
| HM10565  | SP2             | 17:18232082-18232098 | -              | -6.00 - 0        | 6.00     |
| HM02819  | SP1             | 17:18232090-18232097 | -              | -7.10 - -10.77   | 3.67     |
| HM02801  | ZBTB7A          | 17:18232089-18232096 | -              | -6.02 - -8.96    | 2.93     |

### 2.6.2 SHMT1 基因在 ALL 中的差异表达和预后价值分析

如图 1 所示, ALL 组 ( $n=132$ ) *SHMT1* 基因的中位数为 3.25 (1.54, 5.34), 显著高于正常对照 [ $n=337$ , 0.81 (-0.11, 1.70),  $Z=-11.77$ ,  $P<0.01$ ]. 设置最小分组样本数大于 25%, 最

大样本数分组小于 75%，使用 R 软件包 *maxsta* 计算得出 *SHMT1* 的最佳截断值为 3.62，将患者分成 *SHMT1* 高表达组 ( $n=75$ , 56.8%) 和低表达组 ( $n=57$ , 43.2%)。通过 Kaplan-Meier 生存分析发现, *SHMT1* 高表达组患者的中位 DFS 为 4.82 年, 显著优于低表达组的 2.77 年, Log-rank 检验显示组间生存曲线差异显著 ( $P=0.03$ )。结果见图 2。

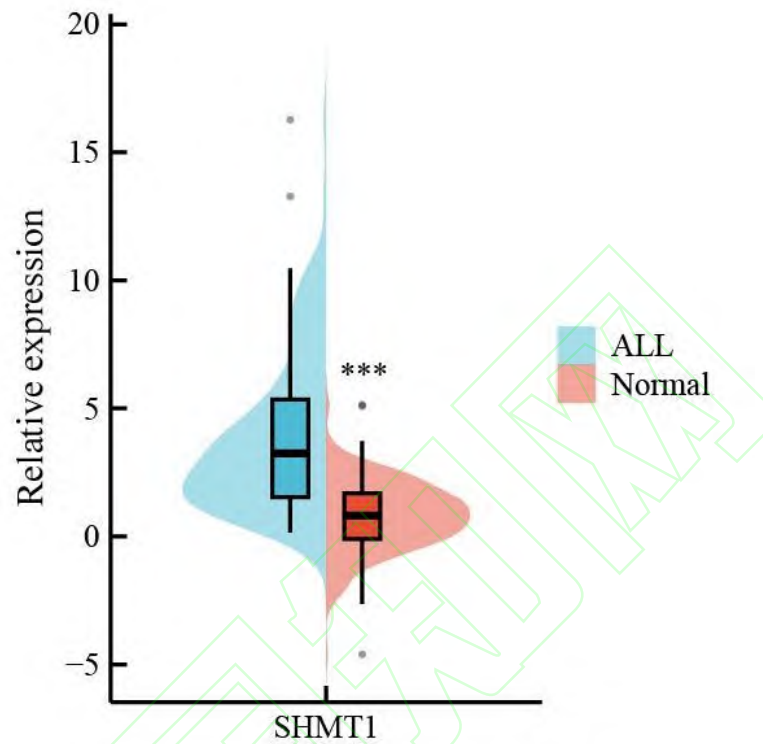


图 1 *SHMT1* 在 ALL 中显著高表达

Fig. 1 The significantly high expression of *SHMT1* in ALL

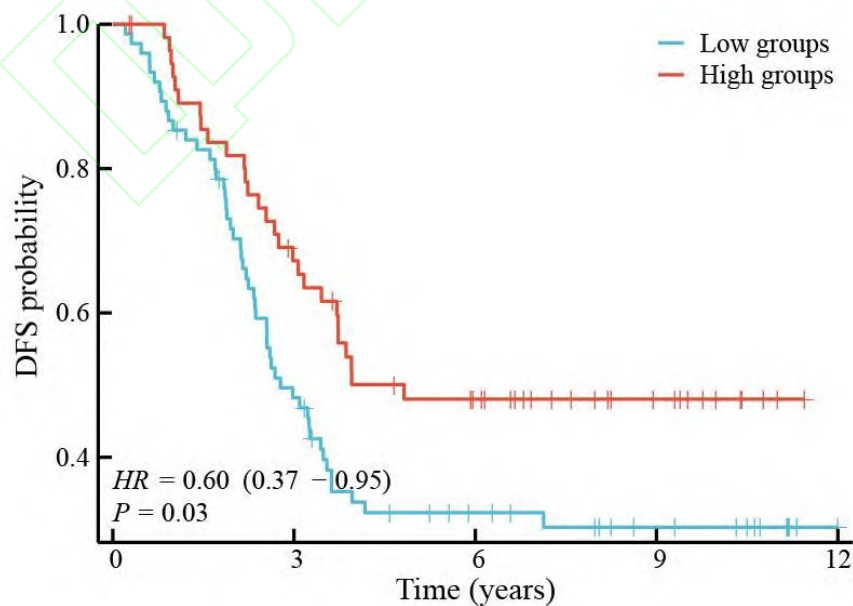
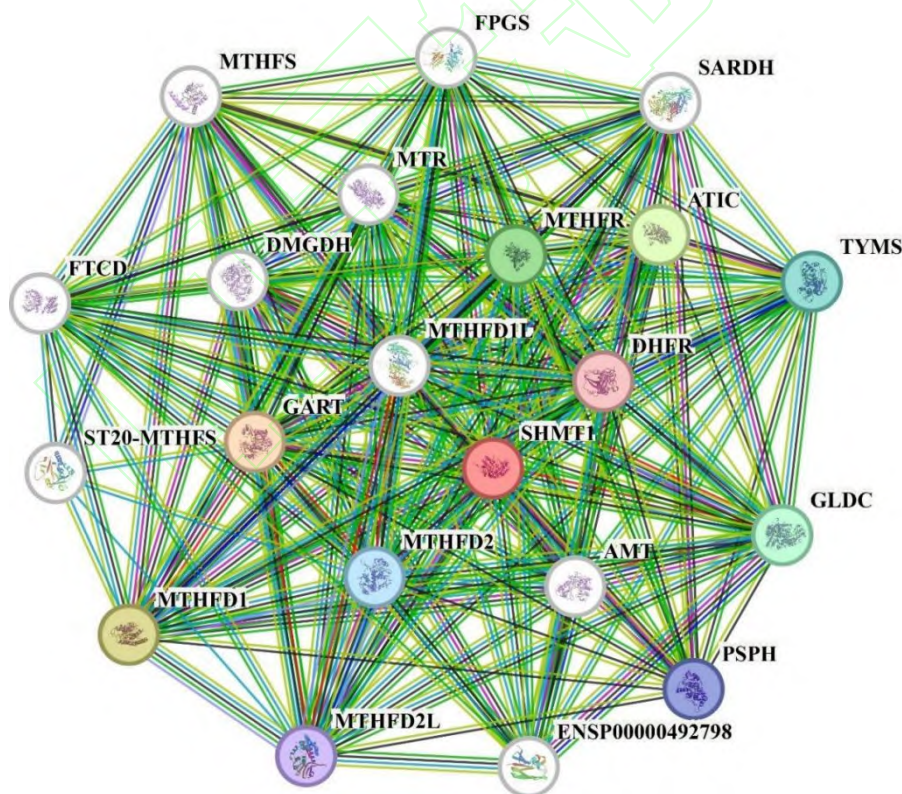


图 2 *SHMT1* 基因表达对 ALL 患者 DFS 的影响

**Fig.2 The effects of *SHMT1* expression on DFS of ALL patients**

### 2.6.3 *SHMT1* 通过蛋白互作网络调控一碳代谢

蛋白互作网络分析结果显示，*SHMT1* 主要与 *DHFR*、*MTHFR*、*MTHFD1*、*MTHFD2*、*MTHFD2L*、*GART*、*ATIC*、*GLDC*、*TYMS*、*PSPH* 等蛋白协同发挥作用。结果见图 3。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 条通路分别为含嘌呤化合物代谢过程、含叶酸化合物代谢过程、四氢叶酸代谢过程、四氢叶酸相互转化、一碳代谢过程（图 4A）；分子功能条目富集的前 5 条通路分别为作用于供体 CH—NH 基团的氧化还原酶活性、以 NAD 或 NADP 为受体作用于供体 CH—NH 基团的氧化还原酶活性、羟甲基、甲酰基及相关转移酶活性、亚甲基四氢叶酸脱氢酶（NADP<sup>+</sup>）活性和环水解酶活性（图 4B）；细胞组分条目富集的通路分别为线粒体基质、线粒体和甘氨酸裂解酶复合物（图 4C）。KEGG 通路富集分析，结果显示，富集的前 5 条通路分别为叶酸一碳库、抗叶酸药耐药、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、代谢通路和碳代谢（图 4D）。



**图 3 *SHMT1* 蛋白互作网络分析图**

**Fig. 3 Protein-protein interaction network of *SHMT1***

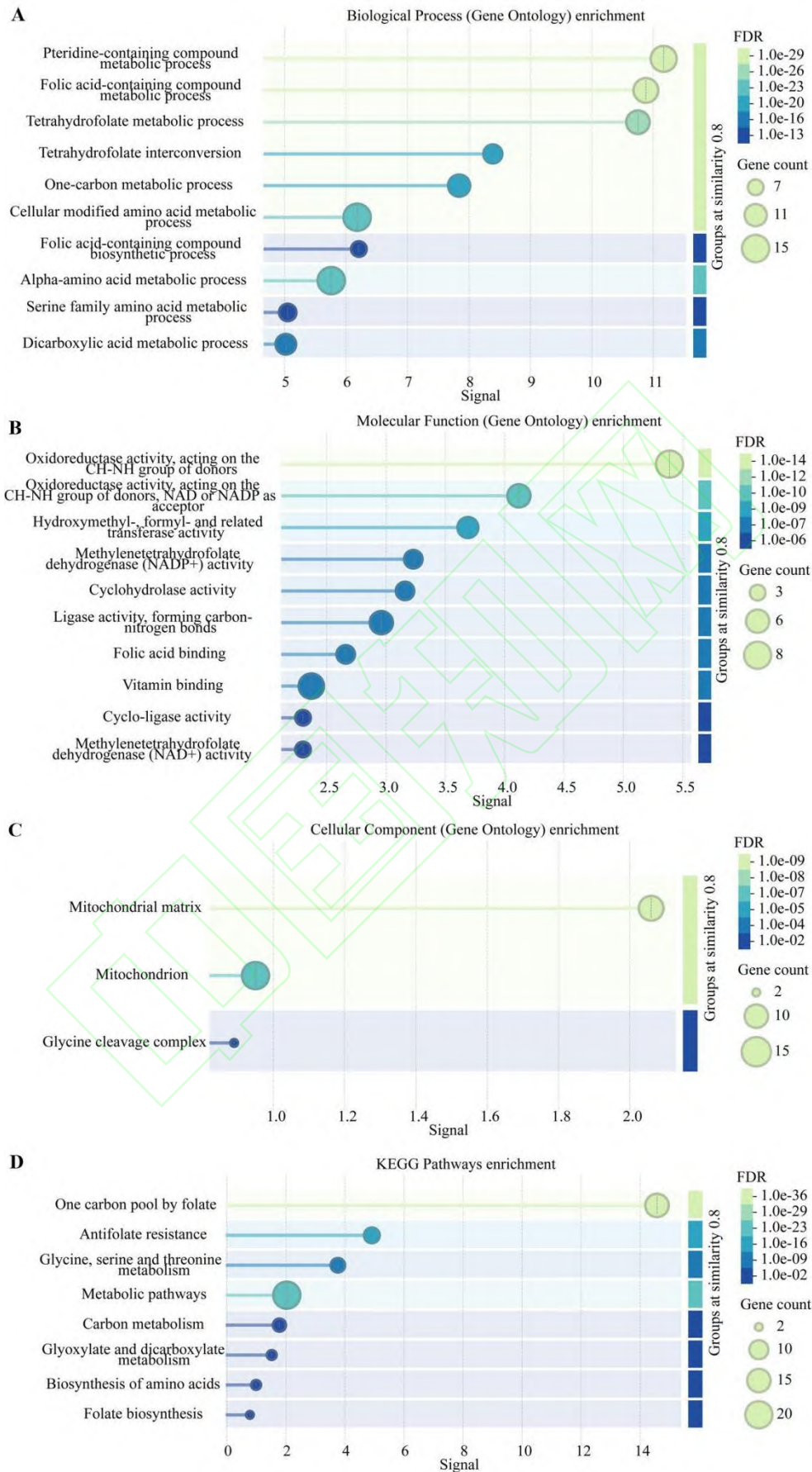


图4 GO功能和KEGG通路富集分析图

Fig. 4 GO function and KEGG pathway enrichment analyses

A: Biological process enrichment; B: Molecular function enrichment; C: Cell component enrichment; D: KEGG pathways enrichment.

### 3 讨论

MTX 是儿童 ALL 巩固和维持治疗的重要组成部分,对预防中枢神经系统白血病和髓外复发具有关键作用<sup>[1]</sup>。因其治疗指数低、药代动力学个体差异大,常需个体化给药<sup>[11]</sup>。*SHMT1* 作为 MTX 抗叶酸通路上的靶点,其基因变异可能通过影响酶活性及表达水平,干扰 MTX 代谢与应答<sup>[5]</sup>。本研究从 MTX 血药浓度、不良反应及预后等角度,探讨了 *SHMT1* rs1979277 G>A 多态性对 ALL 患儿的影响。

本研究显示, *SHMT1* rs1979277 基因型和等位基因频率与深圳地区数据一致<sup>[12]</sup>,无显著地域差异,但变异基因型和变异等位基因的分布频率显著低于欧洲人群<sup>[13]</sup>,提示该多态性分布存在种族差异,中国 ALL 儿童对 MTX 的代谢可能与高加索/黑人群体不同,需关注标准剂量下的毒性或疗效差异。本研究未测得 AA 基因型,可能与 A 等位基因在 ALL 患儿中的分布频率低以及本研究样本量有限有关。该多态性与肿瘤风险的关系因种族和癌种而异。一项涵盖 2 971 例病例和 3 521 例对照的荟萃分析表明,其在亚洲和高加索人群中均与 ALL 发病风险无显著相关<sup>[14]</sup>;而另一项包括 3 232 例病例和 4 077 例对照的研究则显示,该位点与非霍奇金淋巴瘤风险显著相关<sup>[15]</sup>,但这些结论尚需更大样本验证。

MTX 血药浓度受多个基因多态性调控,涉及药物转运、代谢酶及叶酸途径相关基因,如介导 MTX 进入细胞的还原型叶酸载体编码基因 *SLC19A1* rs1051266 GG 基因型可导致血浆 MTX 浓度升高<sup>[16]</sup>,而介导 MTX 外排的 P-糖蛋白编码基因 *ABCB1* rs1045642 TT 基因型可延缓药物清除<sup>[17]</sup>。本研究未发现 *SHMT1* rs1979277 多态性对 MTX 血药浓度存在显著影响,推测因 *SHMT1* 不直接参与 MTX 转运与代谢过程。

在毒性方面,既往研究<sup>[18]</sup>提示 rs1979277 多态性与肝功能损害相关。本研究中,GA 基因型患儿肝功能损害发生率显著高于 GG 基因型 (33.33% vs 12.00%,  $P<0.05$ ),呼吸系统反应发生率也较高 (19.05% vs 4.00%,  $P<0.05$ ),提示该基因型患儿需加强肝功能及呼吸系统症状监测。血液学及胃肠道毒性组间无显著差异,可能与样本量不足或混杂因素如剂量调整、合并用药有关。

尽管 GA 基因型患儿复发率略低于 GG 型,但差异无统计学意义。生物信息学提示

SHMT1 高表达组的中位 OS 显著优于低表达组，表明该基因可能具有预后意义。对 GA 型患儿，在确保疗效前提下或可考虑调整化疗强度以减轻毒性，但其与生存的确切关联需长期随访验证。

机制方面，rs1979277 被注释为功能显著的 eQTL 位点，A 等位基因与多种组织中 *SHMT1* 表达上调相关。该 SNP 位于 CHD1、EP300、IRF1 等转录因子结合域内，可能通过影响结合亲和力调控 *SHMT1* 转录。蛋白互作及富集分析显示，SHMT1 与叶酸代谢关键酶发挥协同作用，于一碳单位代谢中处于核心地位，为该多态性通过调控 *SHMT1* 表达影响 MTX 疗效和毒性提供了理论依据，但其具体调控机制仍需功能实验验证。

本研究存在一定局限性：GA 基因型仅 21 例，可能掩盖部分真实效应；未校正其他遗传或非遗传混杂因素；随访时间较短，预后数据需进一步积累；生物信息学预测缺乏实验验证。

综上所述，本研究初步揭示了 *SHMT1* rs1979277 G>A 多态性在 ALL 患儿中的分布特征及其潜在临床意义，有望为个体化化疗方案的制定提供理论依据，还有助于优化 HD-MTX 化疗的应用策略，提升其安全性和有效性，但需进一步深入转化研究推动临床应用。

### 参考文献

- [1] Pagliaro L, Chen S J, Herranz D, et al. Acute lymphoblastic leukaemia[J]. Nat Rev Dis Primers, 2024, 10: 41. doi: 10.1038/s41572-024-00525-x.
- [2] Rahmayanti S U, Amalia R, Rusdiana T. Systematic review: genetic polymorphisms in the pharmacokinetics of high-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2024, 94(2): 141-55. doi: 10.1007/s00280-024-04694-0.
- [3] 李 洁, 程筱雯, 许 翔, 等. 安徽汉族心脑血管疾病患者 SLCO1B1 和 ApoE 基因多态性分析[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(4): 619-23. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.005.
- [3] Li J, Cheng X W, Xu X, et al. Analysis of SLCO1B1 and ApoE genetic polymorphisms in patients of Han ethnic group with cardiovascular and cerebrovascular diseases from Anhui Province[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(4): 619-23. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.04.005.
- [4] Meng H, Xiao Z, Wang Q, et al. Genetic variations in amino acid metabolism-related genes are associated with risk of papillary thyroid carcinoma: a case-control study[J]. BMC Endocr Disord,

2025, 25(1): 214. doi: 10.1186/s12902-025-02034-8.

[5] Pikman Y, Ocasio-Martinez N, Alexe G, et al. Targeting serine hydroxymethyltransferases 1 and 2 for T-cell acute lymphoblastic leukemia therapy[J]. *Leukemia*, 2022, 36(2): 348-60. doi: 10.1038/s41375-021-01361-8.

[6] Shah B, Mattison R J, Abboud R, et al. Acute lymphoblastic leukemia, version 2.2024, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2024, 22(8): 563-76. doi: 10.6004/jnccn.2024.0051.

[7] 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. doi: 10.1007/s00280-022-04498-0.

[8] U.S. Department of Health and Human Services. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 5.0 [EB/OL]. (2017-11-27)[2025-09-10]. [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).

[9] Dong S, Zhao N, Spragins E, et al. Annotating and prioritizing human non-coding variants with RegulomeDB v.2[J]. *Nat Genet*, 2023, 55(5): 724-6. doi: 10.1038/s41588-023-01365-3.

[10] Huang D, Zhou Y, Yi X, et al. VannoPortal: multiscale functional annotation of human genetic variants for interrogating molecular mechanism of traits and diseases[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D1408-16. doi: 10.1093/nar/gkab853.

[11] Braidotti S, Zudeh G, Franca R, et al. The role of candidate polymorphisms in drug transporter genes on high-dose methotrexate in the consolidation phase of the AIEOP-BFM ALL 2009 protocol[J]. *Clin Transl Sci*, 2025, 18(2): e70136. doi: 10.1111/cts.70136.

[12] 丁 慧, 岳丽杰, 于 洁, 等. 丝氨酸羟甲基转移酶 1 基因 C1420T 位点和 3' -非翻译区 3 个位点单核苷酸多态性与儿童急性白血病易感性的关系[J]. *临床检验杂志*, 2013, 31(10): 778-81. doi: 10.13602/j.cnki.jcls.2013.10.023.

[12] Ding H, Yue L J, Yu J, et al. Correlations of single nucleotide polymorphisms of C1420T and 3 loci located in 3'-untranslated region of serine hydroxymethyl transferase 1 gene with susceptibility to pediatric acute leukemia[J]. *Chin J Clin Lab Sci*, 2013, 31(10): 778-81. doi: 10.13602/j.cnki.jcls.2013.10.023.

[13] Lightfoot T J, Thomas Johnston W, Painter D, et al. Genetic variation in the folate metabolic

pathway and risk of childhood leukemia[J]. *Blood*, 2010, 115(19): 3923-9. doi: 10.1182/blood-2009-10-249722.

[14] Yang Q Q, Zhang Y, Yang J. Association between SHMT1 rs1979277 polymorphism and risk of acute lymphoblastic leukemia: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2022, 44(3): e616-22. doi: 10.1097/MPH.0000000000002173.

[15] Wang Y W, Zhang S D, Xue W J, et al. SHMT1 C1420T polymorphism contributes to the risk of non-Hodgkin lymphoma: evidence from 7309 patients[J]. *Chin J Cancer*, 2015, 34(12): 573-82. doi: 10.1186/s40880-015-0065-z.

[16] Karpa V, Kalinderi K, Gavrilaki E, et al. Association of SLC19A1 gene polymorphisms and its regulatory miRNAs with methotrexate toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2024, 46(10): 11537-47. doi: 10.3390/cimb46100685.

[17] Gurieva O D, Savelyeva M I, Valiev T T, et al. Pharmacogenetic aspects of efficacy and safety of methotrexate treatment in pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. *Drug Metab Pers Ther*, 2023, 38(4): 349-57. doi: 10.1515/dmpt-2023-0079.

[18] 丁 慧, 岳丽杰, 于 洁, 等. SHMT1 多态性与 ALL 儿童 HD-MTX 不良反应的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(3): 162-5.

[18] Ding H, Yue L J, Yu J, et al. Correlations between the polymorphisms of serine hydroxymethyltransferase 1 gene and the adverse reactions of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Chin J Clin Oncol*, 2014, 41(3): 162-5.