

# 甲氨蝶呤及 7-羟基甲氨蝶呤浓度监测 在儿童急性淋巴细胞白血病药物 延迟排泄中的应用

罗国菊<sup>1</sup> 王磊<sup>2</sup> 胡高峰<sup>3</sup> 李臣宾<sup>3</sup> 刘红星<sup>2</sup> 彭明婷<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心 北京协和医学院研究生院, 北京 100730; <sup>2</sup>河北燕达陆道培医院检验科, 廊坊 065201; <sup>3</sup>北京医院 国家老年医学中心 国家卫生健康委临床检验中心, 北京 100730

罗国菊和王磊对本文有同等贡献

通信作者: 彭明婷, Email: mtpeng@nccl.org.cn

**【摘要】** 目的 探讨甲氨蝶呤(MTX)及其代谢产物 7-羟基甲氨蝶呤(7-OHMTX)浓度监测在儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)患者 MTX 延迟排泄中的临床应用。方法 横断面研究。选择 2019 年 4 至 8 月河北燕达陆道培医院 97 例 ALL 患儿, 所有患儿共进行了 192 次大剂量 MTX 治疗。采集患儿大剂量 MTX 治疗后停药 0、24、48 h 外周血标本, 用高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)检测 MTX 和 7-OHMTX 的浓度。根据判断延迟排泄的浓度标准, 分为正常排泄组( $n=149$ )和延迟排泄组( $n=43$ )。根据年龄分为 0~9 岁组( $n=95$ )、10~14 岁组( $n=50$ )、15~18 岁组( $n=47$ )。分析正常排泄组和延迟排泄组之间、不同年龄组之间在停药后不同监测时间点 MTX 和 7-OHMTX 浓度差异。根据停药后 0 h 时 MTX 和 7-OHMTX 浓度的受试者工作特征(ROC)曲线, 将曲线上约登指数最大一点对应的浓度值设定为预警延迟排泄的警示值。分析大剂量 MTX 治疗后延迟排泄与不良反应的相关性, 以及各种不良反应的发生率。结果 延迟排泄组在不同监测时间点的 MTX 和 7-OHMTX 浓度均高于正常排泄组, 差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ )。在本研究使用的治疗方案下, 可将 0 h 时 MTX 浓度( $C_{\text{MTX-0h}}$ ) $>148.8 \mu\text{mol/L}$  和 7-OHMTX 浓度( $C_{7\text{-OHMTX-0h}}$ ) $>17.8 \mu\text{mol/L}$  作为警示值, 预警 ALL 患儿可能发生 MTX 延迟排泄的敏感度分别为 72.1% 和 97.7%, 特异度分别为 84.6% 和 54.4%。MTX 延迟排泄与不良反应的发生率呈正相关( $r=0.58$ ,  $P<0.01$ )。延迟排泄组肝功能损伤和肾功能损伤发生率分别为 32.6%、37.2%, 高于正常排泄组的 12.8%、3.4%, 差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ ), 其他类型不良反应的发生率在两组之间差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )。不同年龄组间在不同监测时间点的 MTX 浓度差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ ), 而 7-OHMTX 浓度差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )。结论 使用 HPLC-MS/MS 法同时监测血浆中 MTX 及 7-OHMTX 浓度可以为 ALL 患儿大剂量 MTX 治疗时临床个体化用药和药代动力学研究提供参考。

**【关键词】** 白血病, 淋巴样; 甲氨蝶呤; 药物监测; 儿童

基金项目: 国家自然科学基金(81772254); 国家重点研发计划(2017YFC0910003)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200424-01305

## Clinical application of the simultaneous detection of methotrexate and 7-hydroxymethotrexate in the delayed elimination for pediatric acute lymphoblastic leukemia

Luo Guoju<sup>1</sup>, Wang Lei<sup>2</sup>, Hu Gaofeng<sup>3</sup>, Li Chenbin<sup>3</sup>, Liu Hongxing<sup>2</sup>, Peng Mingting<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Beijing Hospital, National Center of Gerontology, National Center for Clinical Laboratories, Graduate School of Peking Union Medical College, Beijing 100730, China; <sup>2</sup>Laboratory Medicine Division, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang 065201, China; <sup>3</sup>Beijing Hospital, National Center of Gerontology, National Center for Clinical Laboratories, Beijing 100730, China

Luo Guoju and Wang Lei contributed equally to the article

Corresponding author: Peng Mingting, Email: mtpeng@nccl.org.cn

**【Abstract】 Objective** To discuss the application value of the simultaneous determination of methotrexate (MTX) and 7-hydroxymethotrexate (7-OHMTX) in the delayed elimination of MTX for pediatric

acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods** Cross sectional study. A total of 97 children who received 192 high-dose MTX treatments cycles in Lu Daopei Hospital from April to August 2019 were enrolled. The peripheral blood was collected at 0, 24, 48 h after the end of MTX infusion and analyzed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). One hundred and ninety-two MTX treatments were divided into a normal MTX elimination group ( $n=149$ ) and delayed elimination group ( $n=43$ ) according to the standard of delayed elimination and divided into 0-9 year old group ( $n=95$ ), 10-14 group ( $n=50$ ), 15-18 group ( $n=47$ ) according to age. The comparisons of the  $C_{MTX}$ ,  $C_{7-OHMTX}$  between normal and delayed group was conducted as well as among different age groups. Receiver operator characteristic curve (ROC) of  $C_{MTX-0h}$  and  $C_{7-OHMTX-0h}$  was analyzed and the concentration corresponding to the maximum of the Youden index on the ROC was set as the warning value for delayed elimination. Correlation between the delayed elimination after the end of MTX infusion and toxicity was investigated and the percentage of delayed elimination was also analyzed. **Results** The concentrations of MTX and 7-OHMTX were significantly higher in the delayed elimination group than the normal group. Immediately after infusion (0 h), a  $C_{7-OHMTX-0h}$  of  $>17.8 \mu\text{mol/L}$  (sensitivity 97.7%, specificity 54.4%) and a  $C_{MTX-0h}$  of  $>148.8 \mu\text{mol/L}$  (sensitivity 72.1%, specificity 84.6%) were found to be warning predictors of delayed elimination under the MTX treatment protocol. MTX delayed elimination was positively correlated with methotrexate-induced toxicities ( $r=0.58$ ,  $P<0.01$ ). The percentage of hepatotoxicity and nephrotoxicity was 32.6% and 37.2% in the delayed elimination group, which was significantly higher than normal group of 12.8% and 3.4% ( $P<0.05$ ). No significant difference was found in other toxicities. There was significant difference in  $C_{MTX}$  among different age groups but no significant difference in  $C_{7-OHMTX}$ . **Conclusion** Simultaneously determination of MTX and 7-OHMTX in plasma by HPLC-MS/MS in childhood ALL patients can provide a reference for clinical individualized medicine and pharmacokinetic research.

**【Key words】** Leukemia, lymphoid; Methotrexate; Drug monitoring; Child

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China(81772254); National Key Research and Development Program (2017YFC0910003)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200424-01305

急性淋巴细胞白血病(ALL)是儿童常见恶性肿瘤,大剂量甲氨蝶呤(MTX)常用于ALL强化巩固化疗期的治疗<sup>[1]</sup>,MTX在体内蓄积时间过长或浓度过高可引起严重的不良反应,如血液学毒性、肝功能损伤、肾功能损伤、胃肠道反应和皮肤黏膜损伤等<sup>[2-4]</sup>,且儿童独特的生理和快速的生长速度使他们的药代动力学不同于成人<sup>[5]</sup>,为减少MTX不良反应的发生,同时维持大剂量MTX的疗效,对患儿进行MTX治疗性药物监测具有特殊的意义。国内外不同指南和共识中<sup>[3,6-8]</sup>,应用大剂量MTX治疗ALL的药物监测时间点选择和浓度范围的标准不同。研究报道<sup>[9]</sup>,7-羟基甲氨蝶呤(7-OHMTX)作为MTX主要代谢产物,与MTX不良反应的关系最为密切,可同时监测MTX和7-OHMTX浓度。本研究旨在探讨采用高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)同时检测ALL患儿血浆中MTX及7-OHMTX浓度在MTX延迟排泄中的临床应用价值,为个体化用药提供参考。

## 对象与方法

1. 对象:本研究为横断面研究。经河北燕达陆道培医院伦理委员会审批通过[道培伦审批(2020)

第13号],所有患儿监护人均签署知情同意书。选择2019年4至8月河北燕达陆道培医院97例ALL患儿,年龄0.6~18岁,平均年龄( $8\pm 4$ )岁;其中男67例,女30例。纳入研究的患儿均经形态学、免疫学、细胞遗传学及分子生物学分型诊断为ALL,且已达到完全缓解。97例患儿共进行了192次大剂量MTX治疗,治疗前的外周血细胞计数、血红蛋白浓度、肝功能、肾功能指标均正常,且无胃肠道反应或皮肤黏膜损伤等异常情况。

2. MTX治疗方案:患儿缓解后强化巩固期化疗采用中国儿童白血病协作组(CCLG)-ALL 2008推荐方案,使用MTX的单位剂量为 $0.5\sim 5.0 \text{ g/m}^2$ ,用药方法采取静脉滴注,持续时间为12 h。亚叶酸钙解救于MTX停药后12 h开始,剂量为 $10\sim 15 \text{ mg/m}^2$ ,每3~6小时静脉注射1次,持续6~8次。

3. 分组:根据MTX血药浓度监测时间点及判断延迟排泄的浓度标准,将192次大剂量MTX治疗分为正常排泄组( $n=149$ )和延迟排泄组( $n=43$ )。不同指南建议的MTX监测时间点并不相同,国内共识<sup>[3]</sup>认为MTX血药浓度的监测时间点可以根据需要有所不同,建议至少必须24 h监测1次,推荐两种方案:第一种是监测MTX用药开始后24、48、72 h的血药浓度;第二种是监测MTX停药后0、24、

48 h 的血药浓度。本研究采用静脉持续滴注 12 h 的用药方法,为了研究浓度指标在早期预警延迟排泄方面的应用,故选择监测停药后 0、24、48 h 的 3 个时间点;在判断延迟排泄的浓度标准方面,本研究综合国内外指南共识<sup>[6-8]</sup>,将停药后 24 h 的 MTX 浓度 ( $C_{\text{MTX-24h}}$ )  $>1 \mu\text{mol/L}$  或停药后 48 h 的 MTX 浓度 ( $C_{\text{MTX-48h}}$ )  $>0.1 \mu\text{mol/L}$  作为判断延迟排泄的标准。根据美国国立综合癌症网络(NCCN)指南危险度划分中提及的年龄节点<sup>[10]</sup>,将 192 次大剂量 MTX 治疗分为 3 组:0~9 岁( $n=95$ )、10~14 岁( $n=50$ )、15~18 岁( $n=47$ )。

4. 仪器与试剂:Jasper<sup>TM</sup> 高效液相色谱仪、SCIEX 4500 串联四极杆质谱仪、电喷雾(ESI)离子源以及 Analyst MD Version 1.6.2 分析软件均购自美国 SCIEX 公司,色谱柱 Waters XBridge BEH C18 柱购自美国 Waters 公司。MTX 购于中国食品药品检定研究院;7-OHMTX、内标 MTX-d3 和 7-OHMTX-d3 均购于加拿大 Toronto Research Chemicals 公司;甲醇、甲酸、乙酸铵(色谱纯)购于美国 Fisher Scientific 公司。

5. 标本采集与检测:分别采集 ALL 患儿 192 次大剂量 MTX 治疗停药 0、24、48 h 时外周血标本,采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA- $\text{K}_2$ )抗凝,用 HPLC-MS/MS 法检测血浆中 MTX 及 7-OHMTX 浓度。

6. 观察指标:参照美国国立癌症研究所的常规毒性判断标准(NCI-CTCAE 5.0)以及国内共识<sup>[3]</sup>,根据临床症状、体征和相关实验室指标(全血细胞计数、肝功能、肾功能指标等)判断患儿用药 7 d 内是否出现血液学毒性(包括白细胞减少、贫血和血小板减少),肝功能损伤,肾功能损伤,胃肠道反应和皮肤黏膜损伤等不良反应。

7. 统计学分析:使用 SPSS 25.0 和 MedCalc 15.8 进行统计学分析。用 Shapiro-Wilk 方法检验连续定量数据的正态性,MTX 及 7-OHMTX 浓度指标为非正态分布,采用  $M(P_{25} \sim P_{75})$  表示,正常排泄组和延迟排泄组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验。3 个不同年龄组间比较采用 Kruskal Wallis 秩和检验,进一步两两比较采用 Bonferroni 法。计数资料采用百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,单元格期望频数  $<5$ ,用 Fisher 精确概率法计算。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,将 ROC 曲线上约登指数最大一点对应的浓度值设为警示值。用 Kendall 秩相关系数分析延迟排泄与不良反应发生的相关性、不同监测时间点 MTX 和 7-OHMTX 浓度与不良反应发生的相关性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. MTX 和 7-OHMTX 浓度监测结果:正常排泄组和延迟排泄组停药后 0、24、48 h 血浆 MTX 和 7-OHMTX 浓度见表 1。停药后 0 h 延迟排泄组和正常排泄组之间 MTX 和 7-OHMTX 的浓度就已经开始出现差异,延迟排泄组所有监测时间点的 MTX 及 7-OHMTX 浓度均高于正常排泄组(均  $P < 0.05$ )。

2. ROC 曲线分析结果:停药后 0 h, MTX 的浓度  $>148.8 \mu\text{mol/L}$  时,患儿可能在 24 h 后或 48 h 后判断为 MTX 延迟排泄,敏感度为 72.1% [95% 置信区间(CI): 51.5%~80.9%], 特异度为 84.5% (95%CI: 78.5%~90.5%), 曲线下面积(AUC)为 0.691 (95%CI: 0.593~0.789), 阳性预测值为 57.4% (95%CI: 43.2%~70.8%), 阴性预测值为 91.3% (95%CI: 85.3%~95.4%)。停药后 0 h, 7-OHMTX 浓度  $>17.8 \mu\text{mol/L}$  时, 敏感度为 97.7% (95%CI: 87.7%~99.9%), 特异度为 54.4% (95%CI: 46.0%~62.5%), AUC 为 0.815 (95%CI: 0.750~0.880), 阳性预测值为 38.2% (95%CI: 29.1%~47.9%), 阴性预测值为 98.8% (95%CI: 93.4%~99.9%)。上述结果说明,可以将停药后 0 h 时 MTX 和 7-OHMTX 浓度作为警示值,尽早预警可能发生的 MTX 延迟排泄,指导临床医师及时调整亚叶酸钙解救方案。在本研究所使用的治疗方案中,可将  $C_{\text{MTX-0h}} > 148.8 \mu\text{mol/L}$  和  $C_{7\text{-OHMTX-0h}} > 17.8 \mu\text{mol/L}$  设定为警示值(图 1)。

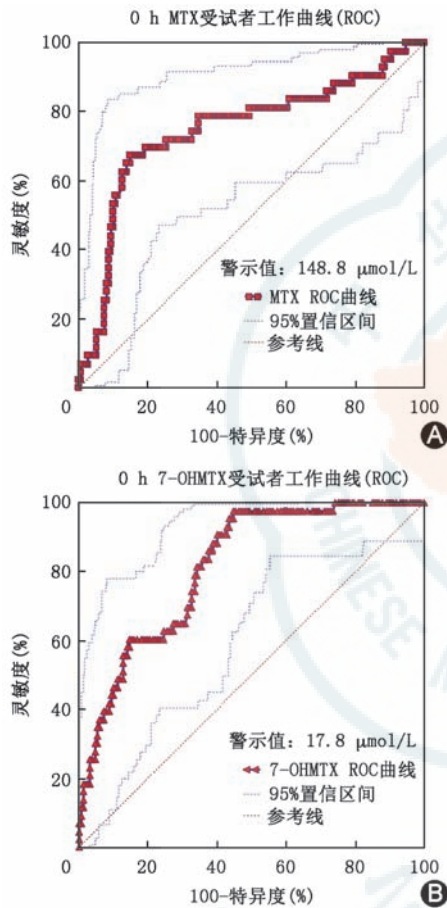
3. 不良反应发生率: Kendall 秩相关系数分析显示, MTX 延迟排泄与不良反应发生率呈正相关 ( $r=0.58$ ,  $P < 0.01$ )。延迟排泄组总不良反应发生率为 97.7%, 高于正常排泄组的 28.9%, 差异有统计学意义 (Fisher 精确概率法,  $P=0.001$ )。在各种类型不良反应中, 延迟排泄组肝功能损伤和肾功能损伤发生率高于正常排泄组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 其他类型不良反应发生率差异均无统计学意义(表 2)。进一步分析不同监测时间点 MTX 和 7-OHMTX 浓度与不良反应发生率的相关性, 发现仅  $C_{\text{MTX-24h}}$  和  $C_{7\text{-OHMTX-24h}}$  与总不良反应发生率 ( $r=0.400$ 、 $0.478$ , 均  $P < 0.05$ ) 和肾功能损伤发生率 ( $r=0.401$ 、 $0.435$ , 均  $P < 0.05$ ) 具有相关性, 其余仅有极弱相关性或相关性分析结果不具有统计学意义。上述结果提示临床若发生延迟排泄, 需要密切关注肝、肾功能损伤的发生。

4. 不同年龄组 MTX 和 7-OHMTX 浓度比较: 不同年龄组患儿不同监测时间点 MTX 和 7-OHMTX

**表 1** 正常排泄组和延迟排泄组患儿不同监测时间点 MTX 和 7-OHMTX 浓度比较 [ $\mu\text{mol/L}$ ,  $M(P_{25}\sim P_{75})$ ]

组别	MTX			7-OHMTX		
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
正常排泄组 ( $n=149$ )	127.60(83.19~146.50)	0.31(0.20~0.49)	0.04(0.03~0.08)	16.50(10.04~37.29)	1.71(1.12~2.95)	0.36(0.21~0.53)
延迟排泄组 ( $n=43$ )	153.10(141.90~188.00)	3.88(1.76~6.19)	0.25(0.15~0.50)	48.20(29.36~82.20)	6.70(4.72~8.99)	1.28(0.83~1.98)
Z 值	-4.96	-9.95	-9.69	-6.29	-8.02	-7.82
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: MTX 为甲氨蝶呤; 7-OHMTX 为 7-羟基甲氨蝶呤



**图 1** 甲氨蝶呤 (MTX) 和 7-羟基甲氨蝶呤 (7-OHMTX) 判断 MTX 延迟排泄的受试者工作特征 (ROC) 曲线: A: 停药后 0 h 时 MTX 的 ROC 曲线; B: 停药后 0 h 时 7-OHMTX 的 ROC 曲线

浓度见表 3。15~18 岁组患儿停药后 0 h, MTX 浓度低于 0~9 岁组; 停药后 24 h, MTX 浓度高于 0~9 岁组和 10~14 岁组; 停药后 48 h, MTX 浓度高于 0~

9 岁组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。在不同监测时间点, 不同年龄组间 7-OHMTX 浓度差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。说明与 MTX 浓度相比, 7-OHMTX 浓度不受年龄因素的影响。15~18 岁组患儿停药后 0 h, MTX 浓度低于 0~9 岁组患儿, 但是经过 24 h 的代谢和排泄后, 15~18 岁组患儿 MTX 浓度反而高于 0~9 岁组患儿, 并且在停药后 48 h 时, MTX 浓度仍高于 0~9 岁组患儿。

### 讨 论

儿童 ALL 采用大剂量 MTX 化疗后, 不同的指南和共识在监测血药浓度并判断延迟排泄方面尚没有完全统一的标准, 传统方法多采用停药后 24 h 和 (或) 48 h MTX 浓度来判断<sup>[3,6-8]</sup>。本研究探讨了使用 HPLC-MS/MS 法同时监测血浆中 MTX 及其代谢产物 7-OHMTX 的浓度在药物延迟排泄中的应用, 发现 MTX 浓度受年龄因素影响, 而代谢产物浓度则不受该因素影响, 同时检测代谢产物对临床更有帮助; 且停药后 0 h, MTX 和 7-OHMTX 浓度可作为预警延迟排泄的早期指标, 通过设定合理的警示值, 能够预警可能出现的 MTX 延迟排泄, 为临床医师及时调整用药提供参考。

MTX 浓度警示值的设定方法和设定的数值将直接影响该指标的临床应用。不同的研究采用不同的方法设定警示值, 如 Skärby 等<sup>[11]</sup>将  $C_{\text{MTX-0h}} > 150 \mu\text{mol/L}$  设定为警示值, 敏感度为 27%, 特异度为 97%; Schmidt 等<sup>[12]</sup>将延迟排泄组停药 0 h 时 MTX 浓度  $> 70 \mu\text{mol/L}$  作为警示值, 敏感度为 89.7%, 特异

**表 2** 正常排泄组和延迟排泄组患儿各种类型不良反应发生率比较 [例 (%)]

组别	例数	白细胞减少	贫血	血小板减少	肝功能损伤	肾功能损伤	胃肠道反应	皮肤黏膜损伤
正常排泄组	149	42(28.2)	32(21.5)	32(21.5)	19(12.8)	5(3.4)	14(9.4)	14(9.4)
延迟排泄组	43	14(32.6)	12(27.9)	12(27.9)	14(32.6)	16(37.2)	5(11.6)	3(7.0)
$\chi^2$ 值		0.308	0.781	0.781	9.197	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>
P 值		0.579	0.377	0.377	0.002	<0.001	0.772	0.766

注: <sup>a</sup>采用 Fisher 精确概率法

表 3 不同年龄组患儿不同监测时间点 MTX 和 7-OHMTX 浓度比较 [ $\mu\text{mol/L}$ ,  $M(P_{25}\sim P_{75})$ ]

组别	MTX			7-OHMTX		
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
0~9 岁组 ( $n=95$ )	140.28(104.50~154.40)	0.30(0.21~0.42)	0.04(0.03~0.09) <sup>b</sup>	23.30(14.32~48.14)	2.55(1.50~3.99)	0.44(0.25~0.65)
10~14 岁组 ( $n=50$ )	128.37(74.74~152.38)	0.38(0.22~1.31)	0.08(0.04~0.11)	20.90(8.43~48.71)	2.13(1.12~5.16)	0.38(0.23~0.91)
15~18 岁组 ( $n=47$ )	103.40(62.48~147.10) <sup>a</sup>	0.66(0.51~2.92) <sup>ab</sup>	0.09(0.05~0.15) <sup>a</sup>	16.90(7.89~35.90)	1.56(1.06~3.81)	0.40(0.20~0.83)
<i>H</i> 值	9.990	30.882	15.050	5.623	3.768	0.890
<i>P</i> 值	0.007	0.001	0.001	0.055	0.152	0.641

注: MTX 为甲氨蝶呤; 7-OHMTX 为 7-羟基甲氨蝶呤; 与 0~9 岁组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与 10~14 岁组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$

度为 52.9%; Fabresse 等<sup>[13]</sup>则绘制了停药 0 h 时 MTX 浓度的 ROC 曲线, 在保证特异度 >50% 的情况下, 选择敏感度最高时所对应的浓度为警示值, 即将停药 0 h 时 MTX 浓度 >65  $\mu\text{mol/L}$  设定为警示值, 得出其敏感度为 75%, 特异度为 52%。在本研究中, 也曾尝试使用文献中的方法, 但均不适用, 因为 0 h MTX 作为早期的警示值主要起到预警作用, 应尽量保证较高的敏感度。将延迟排泄组 0 h MTX 浓度中位数 (153.14  $\mu\text{mol/L}$ ) 作为警示值时, 敏感度仅为 48%, 特异度为 84%, 此方法得出的警示值并不能达到预期的敏感度要求; 另一种方法, 在保证特异度 >50% 的情况下, 敏感度最高为 74.4%, 此时的警示值为 >127.9  $\mu\text{mol/L}$ , 但与本研究的方法相比, 如果将警示值降低 20.9  $\mu\text{mol/L}$ , 敏感度仅提高 2.3%, 而特异度却损失了 34.3%, 因此该方法也不适用本研究 (数据未在结果中展示)。鉴于以上原因, 本研究最终采用 ROC 曲线上约登指数最大一点对应值设定为警示值。MTX 浓度警示值在临床实际应用时需要强调两点: (1) 不同年龄组患儿可能需要不同的 0 h MTX 浓度作为警示值, 同一警示值预警不同年龄组患儿的延迟排泄时会有不同的敏感度和特异度。例如若将 0 h MTX 浓度 >148.8  $\mu\text{mol/L}$  设定为警示值, 对于纳入研究的全部 0~18 岁患儿预警延迟排泄的敏感度为 72.1%, 对于 0~9 岁组患儿的敏感度为 80.0%, 对于 15~18 岁组患儿的敏感度为 53.3% (数据未在结果中展示), 这可能会对临床决策造成影响, 虽然本研究也尝试分年龄组设定警示值, 但年龄分组之后, 每组的样本例数并未达到通过敏感度预估出的最小样本例数, 因此本研究只报道了总体样本计算出的警示值作为参考, 并将在随后的研究中扩大样本量进一步完善。目前尚未有研究报道在应用大剂量 MTX 治疗儿童 ALL 过程中, 依据患儿年龄不同设定不同的 0 h MTX 浓度警示值。(2) 因为停药后 0 h MTX 浓度受用药方案影响, 本研究设定警示值仅对采用类似

大剂量 MTX 治疗方案的患儿的血药浓度监测和延迟排泄的预警具有参考意义。

同时监测 7-OHMTX 浓度对预警 ALL 患儿延迟排泄更有帮助, 因为 0 h 7-OHMTX 浓度不受年龄的影响, 且 7-OHMTX 是与大剂量 MTX 治疗过程中的不良反应如肾功能损伤等关系最为密切的代谢产物<sup>[9]</sup>。同样通过 ROC 曲线和约登指数的方法, 将 0 h 7-OHMTX 浓度 >17.8  $\mu\text{mol/L}$  设为警示值, 敏感度高达 97.7%。目前已发表的文献中, 仅有一篇文献报道了同时监测 0 h MTX 和 7-OHMTX 浓度并设定警示值。Fabresse 等<sup>[13]</sup>将停药后 0 h 7-OHMTX >27  $\mu\text{mol/L}$  设定为警示值, 敏感度为 63%, 特异度为 52%, 但该研究纳入研究的样本量较少, 在分析延迟排泄时仅纳入了 23 例患儿共 54 次大剂量 MTX 治疗。本研究在扩大样本量的基础上, 将 0 h 时 7-OHMTX >17.8  $\mu\text{mol/L}$  设定为警示值, 预测延迟排泄具有较高的敏感度, 且比 0 h MTX 浓度具有更大的 AUC 值。虽然联合两种或多种指标进行预警或诊断是临床常见的方法, 但因为 0 h MTX 受年龄影响, 本研究不建议现阶段联合两个指标共同预警, 若在未来的研究中能够得出不同年龄段的 0 h MTX 警示值, 则可以尝试进行联合预警。临床医师可以根据实际需要, 综合 MTX 和 7-OHMTX 的检测结果及患儿临床风险, 选择敏感度高或者特异度高的指标预警延迟排泄, 及时调整水化碱化或亚叶酸钙方案。

MTX 和 7-OHMTX 浓度除了能够预警延迟排泄, 也与不良反应相关, 即  $C_{\text{MTX-24h}}$ 、 $C_{\text{7-OHMTX-24h}}$  与总不良反应、肾功能损伤的发生呈正相关。在大剂量 MTX 治疗儿童 ALL 常见的各种不良反应中, 肝、肾功能损伤发生率在延迟排泄组显著增加, 这可能与 MTX 的代谢途径相关。大剂量输注 MTX 后, 其在肝脏代谢, 可造成急性肝损伤, 代谢产物 7-OHMTX 约 70% 以原型经肾脏排出<sup>[9]</sup>, 而 7-OHMTX 溶解性比 MTX 低 3~5 倍, 可在肾小管结晶形成尿路结石, 导致肾功能损伤。延迟排泄与不良反应的关系也

再一次提示临床,早期预警延迟排泄有助于临床密切关注患儿是否发生不良反应,以便及早采取干预措施。

综上所述,MTX 浓度受年龄因素影响,传统方法仅监测 MTX 浓度具有一定的局限性,使用 HPLC-MS/MS 法同时监测血浆中 MTX 及其代谢产物 7-OHMTX 的浓度对临床更有帮助,可以为 ALL 患儿大剂量 MTX 治疗时临床个体化用药和药代动力学研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(16): 1541-1552. DOI: 10.1056/NEJMra1400972.
- [2] Howard SC, McCormick J, Pui CH, et al. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate[J]. *Oncologist*, 2016, 21(12):1471-1482. DOI:10.1634/theoncologist.2015-0164.
- [3] 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.1000-8179.2019.151.748.
- [4] 程敏,薛莲,李永杰,等.白血病患者鞘内注射化疗药物后急性截瘫六例临床分析[J].*中华医学杂志*,2018,98(5):362-364. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.05.009.
- [5] Macleod S. Therapeutic drug monitoring in pediatrics: how do children differ? [J]. *Ther Drug Monit*, 2010, 32(3): 253 - 256. DOI:10.1097/FTD.0b013e3181dd51ef.
- [6] Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, et al. Consensus

- guideline for use of glucarpidase in patients with high-dose methotrexate induced acute kidney injury and delayed methotrexate clearance[J]. *Oncologist*, 2018, 23(1): 52-61. DOI: 10.1634/theoncologist.2017-0243.
- [7] 中华医学会儿科学分会临床药理学组.儿童治疗性药物监测专家共识[J].*中华儿科杂志*,2015,53(9):650-659. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2015.09.005.
- [8] Le Guellec C, Blasco H, Benz I, et al. Therapeutic drug monitoring of methotrexate after its administration in high-dose protocols[J]. *Therapie*, 2010, 65(3): 163-169. DOI: 10.2515/therapie/2010016.
- [9] Widemann BC, Adamson PC. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity[J]. *Oncologist*, 2006, 11(6): 694-703. DOI: 10.1634/theoncologist.11-6-694.
- [10] National Comprehensive Cancer Network. Pediatric acute lymphoblastic leukemia[M].New York:Harborside Press,2020: 1-3.
- [11] Skärby T, Jönsson P, Hjorth L, et al. High-dose methotrexate: on the relationship of methotrexate elimination time vs renal function and serum methotrexate levels in 1164 courses in 264 Swedish children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL) [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2003, 51(4): 311-320. DOI: 10.1007/s00280-002-0552-1.
- [12] Schmidt D, Kristensen K, Schroeder H, et al. Plasma creatinine as predictor of delayed elimination of high-dose methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia: a danish population-based study[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2019, 66(6): e27637. DOI: 10.1002/pbc.27637.
- [13] Fabresse N, Devictor B, Pissier C, et al. Plasma 7-hydroxymethotrexate levels versus methotrexate to predict delayed elimination in children receiving high-dose methotrexate[J]. *Ther Drug Monit*, 2018, 40(1): 76-83. DOI: 10.1097/FTD.0000000000000445.

(收稿日期:2020-04-24)

(本文编辑:张媛)

·读者·作者·编者·

## 关于参考文献著录格式要求

参考文献著录格式基本参照此行GB/T7714-2005《文后参考文献著录规则》,采用顺序编码制著录,依照文献在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。将参考文献按引用先后顺序(用阿拉伯数字标出)全部排列于文末。参考文献中的作者,1~3名全部列出,3名以上只列前3名,后加“等”或其他与之相应的文字,如“et al.”。著录作者姓名时将姓放在前,名缩写放在姓后面。外文期刊名称用缩写,以《Index Medicus》中的格式为准;中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页码。文献题名项后需标注文献类型标志项目。作者必须将参考文献与其原文核对无误。举例如下。

[1]孙宏斌,夏术阶,唐孝达.前列腺移行带和外周带差异基

因表达研究[J].*中华医学杂志*,2005,85(9):610-613. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2005.09.012.(期刊格式)

[2]Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(9): 793-795. DOI: 10.1056/NEJMp1500523.(期刊格式)

[3]汪敏刚.支气管哮喘[A]//戴自英.实用内科学.8版.北京:人民卫生出版社,1991:833-840.(专著中析出文献格式)

[4]Sodeman WA Jr, Sodeman WA. Pathologic physiology: mechanisms of disease [M]. 8th ed. Philadelphia: Saunders, 1974:457-472.(书籍格式)