

· 论 著 ·

# 1 例大剂量甲氨蝶呤治疗骨肉瘤的药代动力学监护

朱婷婷, 赵宇蕾, 齐谢敏, 芮建中, 周国华

**[摘要]** **目的** 总结 1 例骨肉瘤患者大剂量甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)化疗后血药浓度持续居高不下的情况及原因。**方法** 患者滴注 10 g MTX 后,测得 24、48、72 h 点血药浓度分别为 180.0  $\mu\text{mol/L}$ 、57.0  $\mu\text{mol/L}$ 、20.4  $\mu\text{mol/L}$ ,治疗过程中连续监测 MTX 血药浓度变化,指导以甲酰四氢叶酸钙(calcium folinate, CF)注射剂解救患者,并控制不良反应。通过文献总结,从 MTX 的体内代谢过程、药理作用、不良反应、影响血药浓度因素等方面,分析造成此现象的可能原因。**结果** 患者经过 CF 等解救药物的 18 d 治疗,肝肾功能、神志、精神、饮食恢复正常;给药后 432 h 点(18 d)MTX 血药浓度下降至 0.15  $\mu\text{mol/L}$ 。**结论** 通过及时的血药浓度测定和药代动力学监护,关注患者的严重不良反应,为临床救治提供了有效的技术支持。

**[关键词]** 甲氨蝶呤;骨肉瘤;药代动力学;监护

**[中图分类号]** R969.1 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2015.02.003

## Pharmacokinetic care of high-dose methotrexate in the treatment of osteosarcoma in 1 case

ZHU Ting-ting, ZHAO Yu-lei, QI Xie-min, RUI Jian-zhong, ZHOU Guo-hua. Department of Pharmacology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China

**[Abstract]** **Objective** To illustrate the reason for methotrexate (methotrexate, MTX) concentration in serum remained high after chemotherapy with high-dose in one patient with osteosarcoma. **Methods** After intravenous infusion of 10 g MTX, the plasma concentrations of MTX were 180  $\mu\text{mol/L}$ , 57.0  $\mu\text{mol/L}$  and 20.4  $\mu\text{mol/L}$  at 24, 48 and 72 h, respectively. We determined serum MTX concentration continuously and found that the concentration of MTX lasted high during the process of treatment. Then the calcium folinate (CF) injection was controlled to avoid the toxic and side-effect brought by MTX. We analyzed the possibilities of the phenomenon from the disposition, pharmacological effects, adverse reactions and the factors affecting serum MTX concentration. **Results** After 18 d treatment with CF and other rescue medicine, the patient had resumed normal liver and kidney function, consciousness and diet. The serum concentration decreased to 0.15  $\mu\text{mol/L}$  at 432 h (18 d) after the administration of MTX. **Conclusion** Pharmacists provide effective treatments and clinical benefits through timely monitoring of serum drug concentration and adverse drug reactions.

**[Key words]** methotrexate; osteosarcoma; pharmacokinetics; care

甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)是一种抗代谢类抗肿瘤药,属细胞周期特异性药物,主要作用于 S 期。MTX 亦为叶酸拮抗剂,可与二氢叶酸还原酶(DHFR)的催化部位结合,由于其亲和力很高,可用于抑制 DHFR 活性,阻止 DHFR 将二氢叶酸还原为四氢叶酸,使一碳单位转移过程受到抑制,脱氧尿苷酸不能变为合成 DNA 所必需的脱氧胸苷酸,嘌呤核苷酸合成的早期阶段也受抑制,使 DNA 及 RNA 合成均受阻。高浓度的 MTX 还可抑制叶酸进入细胞,并促进还原的叶酸外流,使肿瘤细胞内叶酸多聚谷氨酸池显著缩小,竞争性地减少肿瘤细胞内的叶酸供应。此外,MTX 也可抑制胸腺核苷酸合成酶,抑制体液免疫和细胞免疫。大剂量 MTX 对多种恶性

肿瘤疗效显著,如急性淋巴细胞白血病、骨肉瘤<sup>[1]</sup>、恶性淋巴瘤、头颈部恶性肿瘤、非霍奇金淋巴瘤等。但 MTX 选择性差,会带来严重不良反应,经大剂量 MTX 化疗后严重毒性反应的发生率可达 10% 以上<sup>[2]</sup>,不同患者或同一患者的不同轮次治疗时 MTX 血药浓度亦存在较大差异,根据血药浓度监测结果制定个体化治疗方案,既可最大限度地避免化疗产生的不良反应,也能保证抗肿瘤的治疗作用,降低复发率。

我院 1 例骨肉瘤经大剂量 MTX 化疗后出现血药浓度异常,通过及时的血药浓度测定和药代动力学监护,为临床救治提供了有效的技术支持,使患者恢复正常,现报告如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 患者男,15 岁,未婚,身高 180 cm,体重 75 kg,体质指数 23.1  $\text{kg/m}^2$ 。于外院行 MRI

**基金项目:** 江苏省第七批“六大人才高峰”资助项目(2010WSN-204)

**作者单位:** 210002 江苏南京,南京军区南京总医院药理科

**通讯作者:** 芮建中, E-mail: ruijianzhong@126.com

示:左股骨远端干骺端骨肿瘤。2014 年 2 月 24 日在我院联合腰麻下行“左股骨远端骨肉瘤切开活检术”,病理检查示“左股骨远端骨肉瘤”,高度侵袭性,肿瘤细胞侵犯骨外软组织。4 月 7 日因左股骨远端病理性骨折在同济医院行左大腿上段截肢术,术后恢复良好。

**1.2 治疗过程** 患者于 4 月 22 日第三次入我院,体重 63 kg,体质指数 19.4 kg/m<sup>2</sup>,肝肾功能正常。4 月 23 日行 MTX 注射剂(MTX 10 g 溶于 0.9% 氯化钠 500 mL 内静脉滴注 6 h)化疗,并辅以长期甲酰四氢叶酸钙(calcium folinate, CF)注射剂(25 mg/100 mL,4 次/d,静脉滴注)解毒,碳酸氢钠注射剂(250 mL/d,静脉滴注)碱化尿液,使入液量>4000 mL,并嘱其多饮水,使其尿量>3000 mL,尿 pH 值≥6.5。同时采用复方甘草单铵 S 注射剂(0.32 g,1 次/d,静脉滴注)保肝;核糖核酸注射剂、脱氧核苷酸钠注射剂、磷酸肌酸钠注射剂、复方三维 B 注射剂、能量合剂注射剂、门冬氨酸鸟氨酸注射剂、门冬酸钾镁注射剂、混合糖电解质注射剂、转化糖注射剂等维持营养、电解质平衡;雷莫司琼注射剂等用于止吐;托拉塞米注射剂、甘露聚糖肽注射剂、果糖注射剂用于利尿和改善微循环;小牛脾提取物注射剂提高机体免疫力;泮托拉唑注射剂(80 mg,1 次/d,静脉滴注)抗酸抗溃疡。

**1.3 检测仪器与试剂** MTX 血药浓度监测仪(Syva Viva-E 德国西门子公司),甲氨蝶呤试剂盒(德国西门子公司)。PCR 扩增仪(A200 Gradient Thermal cycler 中国 LongGene 公司),焦磷酸测序仪(PyroMark Q24 MDx 德国 QIAGEN 公司),DNA 提取试剂盒(美国 Promega 公司),焦磷酸测序试剂盒(德国 QIAGEN 公司)。药代动力学参数拟合使用 BAPP 3.1 软件自动拟合处理,计算药代动力学参数。

**1.4 方法** 静脉滴注 10 g MTX 后采取静脉血检测 24、48、72 h 的 MTX 血药浓度。以 PCR 法检测亚甲基四氧叶酸还原酶(MTHFR)677C>T 基因型。留取外周全血样本 2 mL,按 DNA 提取试剂盒说明书操作提取基因组 DNA。实验用 DNA 模板均以紫外分光光度法测定其浓度及纯度。PCR 反应体系包括 PCR-mix 43.5 μL[T-mix 12 μL(10×PCR 缓冲液:MgCl<sub>2</sub>:dNTP Mixture=5:3:4),蒸馏水 31.25 μL,rTaq 0.25μL],引物(正反向)4 μL,引物(上海 Invitrogen 公司合成)序列:上游引物:5'-GACTGT-CATCCCTATTGGCAGGTT-3',下游引物:5'-Biotin-CCCTCACCTGGATGGGAAAGA-3'。PCR 扩增反应条件:94℃ 5 min,94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,

共 35 个循环后 72℃ 再延伸 10 min。取 20 μL PCR 产物加入 Binding Mix 60 μL(Sepharose Beads 2 μL,蒸馏水 18 μL, Binding Buffer 40 μL),PyroMark Wash Buffer 24 μL,Denaturation Solution 1 μ,制备测序单链,加入测序引物退火,制备测序模板,测序引物序列:5'-GAGAAGGTGTCTGCGGGAG-3'。按焦磷酸测序试剂盒说明书操作进行测序,测序引物后序列:5'-C/T CGATTT-3' [3]。

2 结果

**2.1 患者 MTX 血药浓度-时间曲线** 滴注 10 g MTX 后持续监测该患者测得 24、48、72 h 点血药浓度分别为 180.0 μmol/L、57.0 μmol/L、20.4 μmol/L,给药后 18 d 内 MTX 血药浓度-时间曲线见图 1。

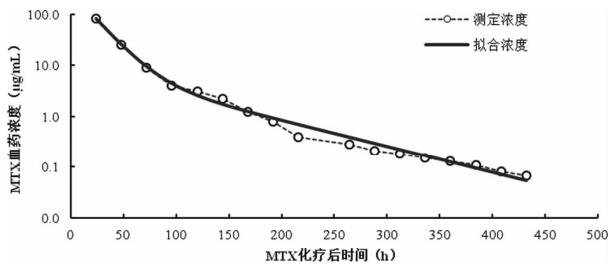


图 1 MTX 血药浓度-时间曲线图

**2.2 药代动力学参数** 该患者滴注用药后各时间点的血药浓度数据经 BAPP 3.1 自动拟合后,药物在体内动力学过程符合二室模型特征,药代动力学参数结果见表 1。

表 1 患者 10 g MTX 滴注后药代动力学参数

参数	结果
A(μg/mL)	231.375
α(/h)	0.054
B(μg/mL)	8.641
β(/h)	0.012
K10(/h)	0.048
K12(/h)	0.005
K21(/h)	0.013
AUC 拟合(μg·h/mL)	5033.970
Cmax(μg/mL)	206.086
Vc(L)	41.660

注:α 为分布速率常数,β 为消除速率常数,K10 为药物从中央室消除的一级速率常数

**2.3 MTHFR 677C>T 基因型** 本例患者的 MTHFR 677C>T 基因型为突变型(677TT)。

**2.4 不良反应及监护** 4 月 27 日、28 日患者出现呕吐、腹胀反应,29 日出现厌食、恶心反应,精神、食欲较差,口腔溃疡严重,给予复方洗必泰漱口液(200 mL,漱口)、西瓜霜喷剂(2.5 g,外用)治疗。4 月 29 日,丙氨酸氨基转移酶 259 U/L $\uparrow$ ,尿素 12.4 mmol/L $\uparrow$ ,肌酐 254  $\mu$ mol/L $\uparrow$ 。5 月 3 日,血小板计数  $93 \times 10^9$ /L $\downarrow$ 、白细胞计数  $1.5 \times 10^9$ /L $\downarrow$ 、红细胞计数  $3.06 \times 10^{12}$ /L $\downarrow$ 。5 月 6 日,血小板计数  $22 \times 10^9$ /L $\downarrow$ 、白细胞计数  $2.4 \times 10^9$ /L $\downarrow$ 、红细胞计数  $3.76 \times 10^{12}$ /L $\downarrow$ ,予以粒细胞刺激因子注射剂(200 g,皮下注射,2 次/d)提升白细胞,重组人白介素-11 注射剂(1.5 mg,皮下注射,1 次/d)提高血小板。5 月 8 日,单采血小板 1 治疗量,轻微过敏,静推 5 mg 地塞米松。5 月 11 日,血小板计数  $252 \times 10^9$ /L,白细胞计数  $17.2 \times 10^9$ /L $\uparrow$ ,红细胞计数  $3.36 \times 10^{12}$ /L $\downarrow$ ;肝肾功能无异常,血清 MTX(即用药后第 18 天)浓度为 0.15  $\mu$ mol/L,CF 解救停止。患者申请出院,嘱患者注意休息,加强营养,定期化疗。

### 3 讨论

目前临床较认同大剂量 MTX 化疗后中毒血药浓度即过量毒性反应上限为给药后 24 h  $> 10 \mu$ mol/L、48 h  $> 1 \mu$ mol/L、72 h  $> 0.1 \mu$ mol/L。本例患儿出现严重排泄延迟,用药后 72 h 的 MTX 浓度为 20.4  $\mu$ mol/L, $t_{1/2\beta}$ 长达 58.8 h,药师建议临床医生延长解救方案执行时间,并持续为患者进行血药浓度监测,跟踪血药浓度变化情况,用药后第 18 天 MTX 血药浓度达到临床安全值(0.15  $\mu$ mol/L)。

患者原计划行吡柔比星、顺铂、异环磷酰胺、甲氨蝶呤的交替化疗<sup>[4-5]</sup>。然而,MTX 化疗后血药浓度持续偏高,代谢缓慢,排泄延迟,肝肾功能受损,改行吡柔比星、顺铂、异环磷酰胺化疗交替进行,停用 MTX,避免 MTX 造成严重的毒性损害。

MTHFR 是叶酸代谢途径的关键酶,国内外研究 MTX 在人体内的代谢与 MTHFR 基因多态性的关系<sup>[6]</sup>,报道结果不一致,孟琳懿等<sup>[7]</sup>研究认为 677CC 型患儿可能出现更严重的药物毒性反应,说明携带 677CC 基因型的患儿对 HD-MTX 化疗更敏感,但有报道与孟琳懿的结果相反,李天媛等<sup>[8]</sup>认为突变型(677CT/TT)个体的 MTX 血药浓度高、毒性反应更大。导致 MTX 排泄延迟的危险因素有 MTX 用量、开始化疗后 24 h 内尿常规 pH 值、个体基因型、肝肾功能等<sup>[9]</sup>。本例患者 15 岁,截肢术后体质指数明显降低,MTHFR 677C  $>$  T 基因型为突变型(TT),而合用泮托拉唑注射剂(80 mg,1 次/d,静

滴),也可能增加血液中 MTX 浓度,增加不良反应风险<sup>[10-11]</sup>。

水化、尿液碱化和叶酸解救等手段极大地降低了患者死亡率,但是 HD-MTX 导致的肾功能损害仍是严重问题,通过监测 MTX 血药浓度并根据测定结果调整 CF 用量和次数已成临床专家共识,近年来也有学者试图从血液学、免疫学、常规生化的检验来预判 MTX 蓄积中毒性事件,以制定合理有效的救援方案,但发现影响因素多且不确定,目前无法定论。众多研究认为,以 48 h 点血药浓度对预测后期消除较为敏感,国内多数儿童治疗中心多以 48 h MTX 血药浓度是否  $> 1 \mu$ mol/L 来判断排泄延迟或消除异常。患儿接受 MTX 后,对解救适宜与否直接关系疗效与预后,若不能及时有效地进行救援易发生黏膜损伤、急性肝肾功损伤甚至衰竭、严重神经系统毒性等,但救援过度则会影响化疗效果甚至加重原疾病复发。患者对 MTX 的耐受程度、重要脏器功能(尤其是肾功能)以及病理分期等均影响 MTX 在体内的吸收、分布、代谢和排泄<sup>[12]</sup>,因而准确的药代动力学监测,及时发现患者的严重不良反应,对找出合理的 MTX 用量及 CF 解救时间、剂量,可及时为医生合理用药提供参考,为实现患者个体化给药提供重要依据<sup>[13]</sup>。

### 【参考文献】

- [1] 张娟,周庆丰,李青峰.大剂量甲氨蝶呤(MTX)治疗骨肉瘤病例报告[J].中国实用医药,2009,4(30):155.
- [2] Holmboe L, Andersen AM, Morkrid L, et al. High dose methotrexate chemotherapy: pharmacokinetics, folate and toxicity in osteosarcoma patients[J]. Br J Clin Pharmacol, 2009, 73(1):106-114.
- [3] 刘云龙,陈之遥,武海萍,等.全血直接扩增结合焦磷酸测序法测定亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性[J].分析化学,2012,40(7):1037-1042.
- [4] 施鑫.骨肉瘤诊断和治疗的现状及进展[J].医学研究生学报,2012,25(5):449-452.
- [5] Kudawara I, Aoki Y, Ueda T, et al. Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy with high-dose ifosfamide, doxorubicin, cisplatin and high-dose methotrexate in non-metastatic osteosarcoma of the extremities: a phase II trial in Japan[J]. J Chemother, 2013, 25(1):41-48.
- [6] 苑小历,游云鹏,潘士勇,等. MTHFR 基因多态性及同型半胱氨酸与老年冠心病的相关性[J].东南国防医药,2012,14(4):320-321.
- [7] 孟琳懿,田怀平,王小洁,等.亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性对儿童甲氨蝶呤化疗后毒副作用的影响[J].儿科药理学杂志,2013,19(2):1-4.
- [8] 李天媛,王斌,徐康康,等.急性淋巴细胞白血病患儿童亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性与甲氨蝶呤毒副作用的研究[J].南京医科大学学报:自然科学版,2010,30(3):386-404.

(下转第 172 页)

酒因素与 SAP 的关联,合并后的饮酒因素 OR = 675.44。从漏斗图分析可见,Meta 分析计算所得合并效应量稍倾向于高估研究因素的危险性。研究中存在一些局限性,如不同研究对饮酒的定义不尽相同,可能会对结果有一定影响,故本评价的结论仅供临床实践与研究参考。

漏斗图以干预效果的评估值或对数值为 X 轴,以每项研究的样本量或标准误倒数为 Y 轴绘制,漏斗图不对称说明存在发表偏倚的可能性。虽然我们常采用漏斗图对发表偏倚进行评价,但是发表偏倚并不是漏斗图不对称的唯一因素。实际上,很多因素都可以导致漏斗图不对称分布,如干预措施的异质性及方法学等因素。本研究中漏斗图稍呈不对称分布,说明可能存在发表偏倚,Meta 分析计算所得合并效应量倾向于高估危险因素的作用。

本研究结果提示男性、女性、老年人群以及普通人群中均存在饮酒增加脑卒中合并肺炎的发病风险,可供临床预防治疗工作参考。

## 【参考文献】

- [1] Maeshima S, Osawa A, Hayashi T, et al. Elderly age, bilateral lesions, and severe neurological deficit are correlated with stroke-associated pneumonia[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2014, 23(3): 484-489.
- [2] Watanabe S, Shimozato K, Oh-Shige H, et al. Examination of factors associated with aspiration pneumonia following stroke[J]. Oral Sci Int, 2014, 11(1): 15-21.
- [3] Masrur S, Smith EE, Saver JL, et al. Dysphagia screening and hospital-acquired pneumonia in patients with acute ischemic stroke: findings from get with the guidelines-stroke[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2013, 22(8): e301-e309.
- [4] Wilson RD. Mortality and cost of pneumonia after stroke for different risk groups[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2012, 21(1): 61-67.
- [5] 史晓红, 冀涛, 王芳芳, 等. 肺部感染患者军团菌感染的调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(4): 679-681.

- [6] 郇赛, 马跃文, 张延辉. 脑卒中相关性肺炎的研究进展[J]. 中国康复, 2013, 28(2): 142-145.
- [7] 吕一欣, 任南, 吴安华, 等. 脑卒中患者医院内获得性肺炎危险因素探讨[J]. 中华神经科杂志, 2005, 38(4): 258-260.
- [8] 李晨, 薛蓉. 急性脑卒中相关性肺炎临床特点及相关危险因素分析[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2011, 11(3): 356-357.
- [9] 于芳苹, 赵迎春, 高丹宇, 等. 老年患者脑卒中相关性肺炎的危险因素分析及防治措施[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(10): 1090-1092.
- [10] 肖静. 老年脑卒中患者相关性肺炎危险因素及临床特点分析[J]. 中国医药导报, 2013, 10(2): 78-80.
- [11] 周敏, 吴文军, 余子瑜, 等. 老年脑卒中患者相关性肺炎的危险因素分析[J]. 中国医药指南, 2013, 11(33): 31-33.
- [12] 张启新, 亓淑玲, 柏秀芳. 急性脑卒中并发肺部感染的危险因素分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(5): 435-437.
- [13] 陈艳. 急性脑卒中患者并发肺部感染的相关因素分析[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(9): 1595-1596.
- [14] 黄耀光, 罗秋玉, 李伟杰. 老年脑卒中患者相关性肺炎的危险因素分析[J]. 当代医学, 2013, 19(32): 61-62.
- [15] 李瑶宣, 李燕华, 王铁建, 等. 脑卒中患者医院内获得性肺炎危险因素分析[J]. 中国急救医学, 2006, 26(1): 1-4.
- [16] 冯智英, 李颖, 李焰生. 急性脑卒中后发生肺炎的危险因素分析[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2009, 29(10): 1230-1232, 1236.
- [17] 温汉春, 朱继金, 张志哲. 脑卒中获得性院内肺炎危险因素分析[J]. 中风与神经疾病杂志, 2004, 21(5): 53-55.
- [18] 白骥, 项荣. 老年急性脑卒中患者合并肺部感染的危险因素[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(23): 4678-4679.
- [19] 史莉, 董明驹. 脑卒中患者肺部感染 246 株革兰阴性杆菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(6): 1254-1255.
- [20] 李海燕, 张俭, 贺明红, 等. 集束化干预措施对脑卒中并发肺部感染的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(19): 4046-4048.
- [21] Brämer D, Hoyer D. Herzfrequenzvariabilität als Marker Schlaganfall-assoziiierter Infektionen [J]. Das Neurophysiologie-Labor, 2014, 36(1): 23-32.

(收稿日期: 2014-06-30; 修回日期: 2014-12-14)

(本文编辑: 齐名; 英文编辑: 王建东)

(上接第 121 页)

- [9] 顾敏, 李爽, 郝良纯, 等. 大剂量甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病的血药浓度及影响因素分析[J]. 中国医科大学学报, 2010, 42(6): 566-569.
- [10] 加拿大卫生部网站. 加拿大警示质子泵抑制剂与甲氨蝶呤的相互作用[N]. 中国医药报, 2013-01-17.
- [11] Suzuki K, Doki K, Homma M, et al. Co-administration of proton pump inhibitors delays elimination of plasma methotrexate in high-

dose methotrexate therapy[J]. Br J Clin Pharmacol, 2009, 67(1): 44-49.

- [12] 李林, 唐志立, 郭翠华. 大剂量甲氨蝶呤治疗骨肉瘤的药学监护[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(9): 760-761.
- [13] 费燕, 林雪玉, 陈尚瑜, 等. 神经科肠内营养支持治疗的药学监护[J]. 东南国防医药, 2014, 16(4): 404-406.

(收稿日期: 2015-01-04; 修回日期: 2015-01-28)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)