

甲氨蝶呤血药浓度和基因检测在治疗低危妊娠滋养细胞肿瘤中的价值研究[△]

唐红波^{1*}, 冯欣^{1#}, 段微^{2#}, 阴赓宏¹, 康海利², 张雪艳¹, 韩朝宏¹, 王鹤尧^{1,3}, 崔刚³, 张相林³ (1. 首都医科大学附属北京妇产医院药事部, 北京 100026; 2. 首都医科大学附属北京妇产医院妇科肿瘤科, 北京 100026; 3. 中日友好医院药学部, 北京 100029)

中图分类号 R979.1 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)03-0370-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.03.026

摘要 目的: 为甲氨蝶呤对低危妊娠滋养细胞肿瘤(low-risk gestational trophoblastic neoplasia, LRGTN)的个体化治疗提供研究基础和依据。方法: 观察甲氨蝶呤治疗后出现明显不良反应的3例LRGTN患者的临床症状, 检测甲氨蝶呤的血药浓度、亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)和ATP结合盒B亚家族成员1转运蛋白(ATP binding cassette subfamily B member 1 transporter, ABCB1)的基因型, 将血药浓度、基因多态性结合治疗效果和不良反应进行探讨分析。结果: 肌肉注射后2~24 h, 甲氨蝶呤血药浓度在1.132~0.012 μmol/L范围内。MTHFR C677T基因型方面, 有2例患者为CT型, 其ABCB1 T3435C基因型为杂合突变型, 不良反应表现为发热、骨髓抑制、肝功能指标升高以及耐药; 另外1例患者为CC型, 不良反应表现为发热和皮疹。3例患者的MTHFR A1298C基因型均为野生型。结论: 该研究对甲氨蝶呤个体化治疗LRGTN提供了参考和依据。甲氨蝶呤治疗LRGTN时, 其血药浓度均处于无显著差异的较低水平, 血药浓度检测的意义尚待进一步明确, 血药浓度与基因多态性之间未见明显的相关性, MTHFR C677T和ABCB1 T3435C基因多态性检测对于甲氨蝶呤的选择、不良反应的预测和处理具有重要意义。

关键词 甲氨蝶呤; 低危妊娠滋养细胞肿瘤; 血药浓度; 基因检测; 个体化治疗

Research on the Value of Blood Concentration and Gene Detection of Methotrexate in the Treatment of Low-Risk Gestational Trophoblastic Neoplasia[△]

TANG Hongbo¹, FENG Xin¹, DUAN Wei², YIN Chenghong¹, KANG Haili², ZHANG Xueyan¹, HAN Chaohong¹, WANG Heyao^{1,3}, CUI Gang³, ZHANG Xianglin³ (1. Dept. of Pharmacy, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100026, China; 2. Dept. of Gynecologic Oncology, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100026, China; 3. Dept. of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To provide research basis and references for individual treatment of low-risk gestational trophoblastic disease (LRGTN) with methotrexate. **METHODS:** The clinical symptoms of 3 LRGTN patients with obvious adverse reactions after the treatment of methotrexate were observed, the blood concentration of methotrexate, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and ATP binding cassette subfamily B member 1 transporter (ABCB1) genotype were detected, discussion and analysis were conducted on blood concentration and gene polymorphism combined with therapeutic effect and adverse drug reactions. **RESULTS:** At 2-24 hours after intramuscular injection, the blood concentration of methotrexate was ranged from 1.132-0.012 μmol/L. In terms of the MTHFR C677T genotype, 2 patients were of CT type, and their ABCB1 T3435C genotype was heterozygous mutant, with the adverse drug reactions were fever, bone marrow suppression, elevated liver function indicators and drug resistance; the other patient was CC type, with the adverse drug reactions were fever and rash. The MTHFR A1298C genotypes of 3 patients were all wild-type. **CONCLUSIONS:** This study provides reference and basis for the individualized treatment of LRGTN

△ 基金项目: 北京市科学技术委员会首都临床特色应用研究项目 (No. Z141107002514146); 北京市医院管理中心临床医学发展专项经费资助 (No. ZYLX202119)

* 副主任药师, 博士。研究方向: 医院药学。E-mail: tanghongbo@ccmu.edu.cn

通信作者 1: 主任药师, 硕士, 副教授。研究方向: 医院药学。E-mail: fengxin1115@ccmu.edu.cn

通信作者 2: 主任医师, 硕士, 副教授。研究方向: 妇科肿瘤。E-mail: wduan@ccmu.edu.cn

with methotrexate. When methotrexate was used to treat LRGTN, its blood concentration was at a low level with no significant difference, and the significance of blood concentration detection needs to be further clarified, there is no obvious correlation between blood concentration and gene polymorphism, the gene polymorphism detection of MTHFR C677T and ABCB1 T3435C is of great significance for the selection of methotrexate, the prediction and management of adverse drug reactions.

KEYWORDS Methotrexate; Low-risk gestational trophoblastic neoplasia; Blood concentration; Gene detection; Individualized treatment

妊娠滋养细胞肿瘤 (gestational trophoblastic neoplasia, GTN)是由妊娠滋养细胞异常发育及增殖所致的与妊娠相关的肿瘤,分为低危妊娠滋养细胞肿瘤 (low-risk gestational trophoblastic neoplasia, LRGTN)和高危妊娠滋养细胞肿瘤。LRGTN的一线治疗药物有甲氨蝶呤和放线菌素 D^[1]。甲氨蝶呤费用相对低,单药化疗方案使用广泛,但是不良反应较常见,部分患者甚至出现严重不良反应和耐药^[2]。已有的研究结果显示,影响药物代谢、转运和作用靶标的基因的多态性不仅与甲氨蝶呤的疗效相关,也与其不良反应密切相关,但不同研究间结果的差异较大,目前还无法利用血药浓度和基因多态性精准指导甲氨蝶呤针对 LRGTN 的个体化治疗^[3]。为了进一步提高 LRGTN 治疗的有效性、安全性和经济性,减少甲氨蝶呤引起的不良反应和耐药,避免延误病情,本课题组在前期研究^[4]基础上,初步探讨甲氨蝶呤血药浓度监测及代谢、转运相关基因多态性检测作为 LRGTN 个体化治疗的依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

选择 2017 年 4—7 月于首都医科大学附属北京妇产医院就诊的 3 例 LRGTN 患者。第 1 次化疗前进行国际妇产科联合会 (international federation of gynecology and obstetrics, FIGO) 预后评分。纳入标准:血常规、肝肾功能均正常。患者均首选甲氨蝶呤化疗方案,单次剂量为 0.4 mg/(kg·d),每日同一时间肌内注射,连续给药 5 d 为 1 个疗程。化疗期间监测血常规、肝肾功能、人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG) 水平和药品不良反应。不良反应分级参照世界卫生组织《抗癌药物常见毒副反应分级标准》,分为轻度、中度和重度^[5]。

1.2 甲氨蝶呤血药浓度测定

应用 EDTA-抗凝管采集患者静脉血 2 ml,以 3 000 r/min

离心 15 min 后取血浆,应用免疫荧光法测定甲氨蝶呤浓度。

1.3 染色体核型分析

应用 EDTA-抗凝管采集患者静脉血 2 ml,分离纯化获得白细胞悬液。应用多重数字荧光分子杂交及杂交测序;当寡核苷酸与染色体杂交时,其所携带的荧光基团会对染色体进行标记;利用荧光检测设备,即可直接检测杂交染色的结果,从而完成目标序列的检测。应用测序反应通用试剂盒,在荧光检测仪上完成自动化分析。检测的基因包括:亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) C677T 和 A1298C 以及编码 P 糖蛋白的 ATP 结合盒 B 亚家族成员 1 转运蛋白基因 (ATP binding cassette subfamily B member 1 transporter, ABCB1)/多药耐药基因 1 (multi-drug resistance 1, MDR1) T3435C。

2 结果

2.1 患者基本情况

3 例患者均首先应用甲氨蝶呤进行化疗,1 例患者出现中度发热和皮疹,1 例患者出现发热、Ⅲ度骨髓抑制 (粒细胞群绝对值最低值为 0.88) 和耐药 (甲氨蝶呤化疗 2 个疗程后血 HCG 水平由 49.2 IU/L 升至 93.5 IU/L),1 例患者出现发热、Ⅱ度骨髓抑制 (血红蛋白为 94 g/L,粒细胞群绝对值最低值为 1.14)、肝功能指标升高 [丙氨酸转氨酶 (ALT) 为 43 IU/L,天冬氨酸转氨酶 (AST) 为 74 IU/L] 和耐药 (甲氨蝶呤化疗 3 个疗程,血 HCG 水平降低不明显)。上述 3 例患者均更换化疗方案继续治疗,至血 HCG 水平降至正常,患者未出现复发和明显的不良反应。患者各项指标情况见表 1。

2.2 甲氨蝶呤的血药浓度

3 例患者第 1 个疗程末次给药后 24 h 的甲氨蝶呤血药浓度分别为 0.012、0.021 和 0.012 μmol/L;第 3 例患者于第 1

表 1 患者各项指标情况
Tab 1 Various indicators of patients

序号	年龄/ 岁	民族	FIGO 预后评 分/分	化疗前 HCG 水平/ (IU/L)	HCG 降低情况	不良反应	诊疗过程和结局	甲氨蝶呤 浓度/ (μmol/L)	染色体核型分析		
									ABCB1 T3435C	MTHFR C677T	MTHFR A1298C
1	31	汉族	5	13 619.7	第 1 个疗程后为 602.7 IU/L	中度发热、 皮疹	甲氨蝶呤化疗 1 个疗程后更换为放线菌素 D, 5 个疗程后 HCG 水平降至正常	0.012	N	CC	AA
2	38	汉族	2	342.9	第 1 疗程后为 49.2 IU/L, 第 2 个疗程后为 93.5 IU/L	低热、Ⅲ度 骨髓抑制 和耐药	甲氨蝶呤化疗 2 个疗程后更换为放线菌素 D 化疗 2 个疗程,博来霉素、依托泊苷和顺铂化 疗 4 个疗程后 HCG 水平降至正常	0.021	TC	CT	AA
3	27	汉族	3	5 720.9	第 1 个疗程后为 949.1 IU/L,第 2 个疗程后 为 439.0 IU/L,第 3 个 疗程后为 225.3 IU/L	低热、肝功 能指标升高、 Ⅱ度骨髓抑 制和耐药	甲氨蝶呤化疗 3 个疗程后更换为放线菌素 D, 3 个疗程后 HCG 水平降至正常	0.012	TC	CT	AA

次化疗的1、3、5次给药后2和24 h取血测甲氨蝶呤浓度,血药浓度分别为0.953、0.016、1.132、0.012、0.934和0.012 $\mu\text{mol/L}$ 。

2.3 甲氨蝶呤相关基因多态性

本研究测定了甲氨蝶呤代谢相关的基因多态性 MTHFR C677T、MTHFR A1298C 以及与甲氨蝶呤转运相关的基因 ABCB1 T3435C,结果见表1。MTHFR C677T 基因型方面,不良反应较轻的1例患者为CC型,不良反应严重的2例患者为CT型,其 ABCB1 T3435C 基因型也均为杂合突变型。3例患者的 MTHFR A1298C 基因型均为野生型。

3 讨论

3.1 甲氨蝶呤治疗 LRGTN 的作用机制

甲氨蝶呤是一种叶酸拮抗剂,可干扰滋养细胞分裂。除叶酸受体(folate receptor,FR)外,该药还主要通过还原型叶酸载体(reduced folate carrier,RFC)进入细胞,与细胞内的二氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductase,DHFR)结合(亲和力远远高于细胞内原有的二氢叶酸),阻断二氢叶酸转化为具有生理活性的四氢叶酸(四氢叶酸为体内合成嘌呤核苷酸和嘧啶脱氧核苷酸的重要辅酶),从而使嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸合成过程中一碳单位的转移作用受阻,导致DNA的生物合成明显受到抑制,其对胸腺核苷酸合成酶亦有抑制作用^[6]。患有滋养细胞肿瘤时,滋养细胞处于增殖活跃状态,甲氨蝶呤对其的抑制作用更敏感,因此,临床常用低剂量[0.4 mg/(kg·d)]甲氨蝶呤治疗,即可达到很好的治疗效果。参与甲氨蝶呤转运进入细胞的主要包括FR和RFC,甲氨蝶呤在细胞内转运和代谢的关键酶主要包括叶酰多聚谷氨酸合成酶(folyl polyglutamate synthetase,FPGS)、 γ -谷氨酰氨水解酶(γ -glutamyl hydrolase,GGH)、DHFR和MTHFR,将甲氨蝶呤排出细胞的转运体包括溶质蛋白转运体家族编码的有机阴离子转运多肽1B1(organic anion transporting polypeptide B1,OATPB1)、多药耐药蛋白和乳腺癌耐药蛋白等^[7-8]。虽然上述酶或转运体的基因多态性、蛋白表达水平对甲氨蝶呤治疗LRGTN时血药浓度的影响研究可能因为各种因素而没有统一确切的结论,但必须肯定的是,甲氨蝶呤药物基因组学研究对于实施“个体化”给药具有重大意义^[7]。

甲氨蝶呤进入细胞后在FPGS的催化下转化为更具活性、能停留在细胞内更长时间且更具毒性的活性产物多聚谷氨酰化甲氨蝶呤(methotrexate polyglutamate,MTXPG);同时,GGH可作用于MTXPG,将其还原为甲氨蝶呤,维持MTXPG在体内的动态平衡,甲氨蝶呤再经蛋白泵泵出细胞外。甲氨蝶呤及其活性代谢物MTXPG都可与DHFR相结合,也可作用于胸苷酸合成酶,抑制其作用,导致DNA合成受阻^[9]。甲氨蝶呤导致滋养细胞分化受阻的同时,正常细胞也受到损害而发生不良反应。亚叶酸、左亚叶酸可以给正常细胞直接补充活性叶酸,部分缓解甲氨蝶呤的不良反应,但是不会影响甲氨蝶呤对滋养细胞的毒性。具体机制目前尚未研究清楚,

可能是由于正常细胞转运活性叶酸的RFC-1正常,亚叶酸进入细胞多,正常细胞内FPGS活性低,GGH活性高,MTXPG蓄积少,亚叶酸与之结合解毒相对容易;而滋养细胞的细胞膜RFC-1受损,亚叶酸进入细胞少,细胞内MTXPG蓄积多,亚叶酸解毒难度大。

3.2 基因多态性与甲氨蝶呤血药浓度、不良反应的相关性

本研究中,3例患者的甲氨蝶呤谷浓度均<0.1 $\mu\text{mol/L}$,肌肉注射后2 h的血药浓度在0.934~1.132 $\mu\text{mol/L}$ 范围内,连续给药5次后2 h的血药浓度较第1次给药后2 h的血药浓度没有明显提高,反复给药甲氨蝶呤在血液未见明显蓄积,检测出的血药浓度均低于中毒血药浓度(5 $\mu\text{mol/L}$),与文献报道结果基本一致^[10]。甲氨蝶呤血药浓度虽然很低,但是不良反应并不少见,有些甚至还比较严重,推测其原因可能与药物转运体及代谢基因多态性有关^[2,11]。这一相关性在甲氨蝶呤大剂量(400 mg/m²,1日1次,给药1周)静脉滴注治疗侵蚀性葡萄胎的疗效观察中得到证实^[12]。宋再伟等^[5]系统评价了骨肉瘤患者MTHFR、RFC-1和MDR1基因多态性对大剂量甲氨蝶呤不良反应的影响,结果表明,MTHFR C677T突变可能导致大剂量甲氨蝶呤不良反应发生风险增加,MTHFR A1298C多态性与大剂量甲氨蝶呤不良反应无显著相关性,与本研究结果一致。而RFC1 G81A或MDR1 C3435T多态性与甲氨蝶呤不良反应的相关性尚不明确。

目前没有权威部门提供小剂量甲氨蝶呤血药浓度的界定值。有研究建议,甲氨蝶呤浓度<0.05 $\mu\text{mol/L}$ 时可以不测定^[10]。也有学者认为,甲氨蝶呤不良反应与其血药浓度相关,需要监测血药浓度并用亚叶酸钙解救,但是证据并不充足,尚需要更多的研究提供依据。相同剂量的甲氨蝶呤对不同类型肿瘤细胞的杀伤作用可能并非完全一致,小剂量甲氨蝶呤就可以杀死处于增殖活跃状态的滋养细胞,可能与妊娠滋养细胞合体化导致其敏感性增加有关^[13];虽然剂量小,但是不良反应仍较多,部分不良反应还很严重,除了与药物转运和代谢等基因突变有关外,是否还有其他机制,也尚待研究探讨。

本研究中,不良反应较轻患者的MTHFR C677T基因型为野生型,而不良反应较重的2例患者的MTHFR C677T和ABCB1 T3435C基因型均为杂合突变型,MTHFR A1298C基因型为野生型。由此可见,MTHFR A1298C与甲氨蝶呤不良反应不相关,而MTHFR C677T和ABCB1 T3435C杂合突变或者纯合突变时,会发生骨髓抑制、肝功能指标升高等严重的不良反应。

3.3 基因多态性与甲氨蝶呤耐药的相关性

甲氨蝶呤耐药仍是GTN治疗的研究热点问题^[1]。因此,有必要对GTN的耐药和复发进行讨论和研究。我国2018年《妊娠滋养细胞疾病诊断与治疗指南(第四版)》中明确提出了耐药标准,即经规范化疗2~3个周期后,血HCG水平不降低(或降低幅度<50%)、病灶不缩小,或在治疗过程中出现新的病灶、血HCG水平升高。约有25%的GTN患者在初始化疗后发生耐药,3%的患者会复发,上述患者需要进一步的挽救化疗

或联合治疗,最后会有 0.5%~5% 的患者因为多重耐药而死亡^[14-15]。最大肿瘤病灶 5 cm、转移病灶 5 个、血清 β -HCG 水平 $>10^5$ IU/L、FIGO/世界卫生组织预后评分 5~6 分可能是化疗耐药的高危因素^[16-18]。陈梦捷等^[14] 对高预后评分的 GTN 患者化疗效果及耐药因素进行了分析,结果显示,年龄 >40 岁、终止妊娠与初次治疗的间隔时间较长是导致预后评分 5~6 分的 LRGTN 患者对联合化疗耐药的高危因素。耐药是一个多系统共同参与的复杂过程,涉及多基因和多条信号通路的改变。目前的研究方向主要包括细胞内药物的外排机制、细胞内药物重新分布改变、细胞凋亡抑制和内质网应激介导的细胞自噬等^[19]。甲氨蝶呤耐药机制并未研究清楚,主要观点包括:(1)RFC 介导的甲氨蝶呤摄取障碍,而不是 P 糖蛋白介导的外排,因为 P 糖蛋白优先转运亲水性有机化合物,而并非如甲氨蝶呤这种二价阴离子化合物;(2)ABCB1/MDR1 基因多态性,包括 C3435T、G2677T/A、C1236T、T266C、G571A、T1985G 和 G3751A 等位点;(3)MDR 编码蛋白质 P 糖蛋白表达和功能改变^[20]。耐药产生的根本原因在于滋养细胞经甲氨蝶呤长期诱导后出现耐药表型,导致影响甲氨蝶呤转运和代谢的多个基因表达的改变,可溶性 CD105(内皮联蛋白)也可通过调控骨形态蛋白 9/Smads 通路参与绒毛膜癌耐药过程^[21-22]。本研究中,发生甲氨蝶呤耐药的 2 例患者未显示出明显的上述临床特征,未出现耐药的患者的 MTHFR C677T 和 MTHFR A1298C 基因型均为野生型,而出现耐药的 2 例患者的 MTHFR C677T 和 ABCB1 T3435C 基因型均为杂合突变型,MTHFR A1298C 基因型为野生型。本研究结果初步显示,甲氨蝶呤治疗 LRGTN 出现耐药与 MTHFR C677T 和 ABCB1 T3435C 突变有关,其他机制尚待进一步研究。

综上所述,甲氨蝶呤不良反应的严重程度、耐药与 MTHFR C677T 和 ABCB1 T3435C 的基因型有关,与 MTHFR A1298C 的基因型无关;甲氨蝶呤血药浓度与基因多态性之间未见明显的相关性,甲氨蝶呤血药浓度均处于低水平,患者血药浓度之间没有差异,不良反应的严重程度、耐药与血药浓度未见相关性。但是,本研究只是基于 3 例患者甲氨蝶呤血药浓度和基因检测结果进行的初步探讨,有待更多的研究进一步验证。总之,初步研究结果显示,代谢酶 MTHFR 和转运体 ABCB1 的基因突变会导致甲氨蝶呤严重不良反应和耐药的发生,在用药前,建议检测甲氨蝶呤转运和代谢基因分型,根据患者基因分型判断是否可以首选甲氨蝶呤作为化疗药,制定个体化治疗方案,以期提高疗效、减少严重不良反应和耐药的发生,进一步缩短治疗时间和节约医疗成本。

参考文献

[1] 许君芬,吕卫国. 低危妊娠滋养细胞肿瘤的治疗进展[J]. 中国癌症防治杂志,2020,12(2):136-139.

[2] 唐红波,康海利,胡海鹏,等. 甲氨蝶呤治疗低危妊娠滋养细胞肿瘤的不良反应及其防治研究进展[J]. 中国医刊,2018,53(12):1323-1326.

[3] 张相林. 甲氨蝶呤毒性相关基因多态性研究刍议[J]. 药物不良

反应杂志,2019,21(3):162-165.

[4] 康海利,赵群,杨淑丽,等. 放线菌素 D 联合甲氨蝶呤及甲氨蝶呤单药治疗低危妊娠滋养细胞肿瘤的前瞻性研究[J]. 北京医学,2017,39(11):1125-1128.

[5] 宋再伟,刘爽,易湛苗,等. 骨肉瘤患者 3 种基因多态性与大剂量甲氨蝶呤不良反应相关性的 Meta 分析[J]. 中国药房,2019,30(15):2135-2143.

[6] Nogueira E, S ria MP, Azoia NG, et al. Internalization of methotrexate conjugates by folate receptor- [J]. Biochemistry, 2018,57(49):6780-6786.

[7] 恽琴素,胡楠. 甲氨蝶呤(MTX)血药浓度与相关基因多态性研究[J]. 海峡药学,2019,31(9):119-122.

[8] Londono J, Saldarriaga EL, Rueda JC, et al. Pharmacogenetic aspects of methotrexate in a cohort of Colombian patients with rheumatoid arthritis[J]. Biomed Rep, 2020,13(4):34.

[9] Mei L, Ontiveros EP, Griffiths EA, et al. Pharmacogenetics predictive of response and toxicity in acute lymphoblastic leukemia therapy[J]. Blood Rev, 2015,29(4):243-249.

[10] 宁俊红,吴志刚,雷莹,等. 甲氨蝶呤治疗侵蚀性葡萄胎的血药浓度监测及不良反应观察[J]. 中国药物应用与监测,2013,10(1):5-6.

[11] 沐宇,石祥奎. 甲氨蝶呤治疗低危妊娠滋养细胞肿瘤的研究进展[J]. 临床合理用药杂志,2020,13(13):175-177.

[12] 赵丹秋. 采用甲氨蝶呤治疗侵蚀性葡萄胎时血药浓度监测的临床意义探析[J]. 医学理论与实践,2016,29(15):2080-2081.

[13] 林耀华,安瑞芳,易莉莎,等. 绒癌细胞株 BeWo 合体化后对不同化疗药物敏感性变化的研究[J]. 中国妇幼健康研究,2015,26(6):1189-1194.

[14] 陈梦捷,梁月娟,万兵,等. 高预后评分妊娠滋养细胞肿瘤患者化疗疗效及耐药因素分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2020,27(4):310-315.

[15] 狄文,张梅堂. 妊娠滋养细胞肿瘤耐药和复发的影响因素和处理[J]. 实用妇产科杂志,2019,35(6):410-412.

[16] 韦喜姣. 甲氨蝶呤和放线菌素-D 初次治疗低危妊娠滋养细胞肿瘤疗效比较的 Meta 分析[D]. 南宁:广西医科大学,2018.

[17] 王雯雯,周怀君,凌静娴,等. 低危妊娠滋养细胞肿瘤单药化疗耐药的高危因素分析[J]. 现代妇产科进展,2018,27(11):808-811.

[18] 吴晓东. 甲氨蝶呤单药治疗低危妊娠滋养细胞肿瘤的疗效及其相关因素[D]. 杭州:浙江大学,2014.

[19] 向阳. 绒毛膜癌的研究历程:从协和经验到国际典范[J]. 协和和医学杂志,2019,10(4):428-432.

[20] 王佳,毛妮,谢希,等. 多药耐药基因-1 高表达可加剧类风湿关节炎患者对甲氨蝶呤的耐药[J]. 中国医学科学院学报,2019,41(5):595-600.

[21] 陈亚侠,谢幸,程琪. 甲氨蝶呤诱导人绒毛膜癌细胞耐药后耐药细胞基因表达谱的变化[J]. 中华妇产科杂志,2004,39(6):396-399.

[22] 王晓雨. CD105 在绒癌耐药中的作用及其机制研究[D]. 北京:北京协和医学院,2018.

(收稿日期:2020-12-07)