

论著·基础研究

血清 miR-21、miR-218 与 MMP-2 对滋养细胞肿瘤诊断与预后评估的价值

赵娟, 王晓蓉

(上海电力医院检验科, 上海长宁 200050)

摘要:目的 探讨血清微小 RNA(miR)-21、miR-218 联合基质金属蛋白酶-2(MMP-2)对滋养细胞肿瘤诊断、发病风险预测及预后评估的价值。方法 将 2012 年 1 月到 2015 年 5 月在该院门诊及住院部确诊的妊娠滋养细胞肿瘤患者 80 例纳入研究,另外将同期的子宫内膜炎患者 80 例也纳入研究。对滋养细胞肿瘤患者进行 40 个月电话随访。采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测两组研究对象血清 miR-21 和 miR-218 相对表达量;采用化学发光法检测 MMP-2 水平。结果 滋养细胞肿瘤组血清 miR-21 和 MMP-2 水平显著高于子宫内膜炎组($P<0.05$),而血清 miR-218 水平显著低于子宫内膜炎组($P<0.05$)。血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 水平与滋养细胞肿瘤Ⅲ~Ⅳ期(miR-21: $r=0.514$, $P=0.004$; miR-218: $r=-0.465$, $P=0.009$; MMP-2: $r=0.508$, $P=0.003$)及远处转移(miR-21: $r=0.501$, $P=0.005$; miR-218: $r=-0.449$, $P=0.013$; MMP-2: $r=0.499$, $P=0.010$)相关。ROC 结果显示,血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 鉴别诊断滋养细胞肿瘤的灵敏度/特异度分别为 91.2%/83.7%、68.5%/79.9%和 76.2%/84.3%,三项指标与 β -HCG 联合检测用于诊断的灵敏度/特异度为 90.3%/98.4%。生存分析显示,相较于低 miR-21 组、高 miR-218 组、低 MMP-2 组和低 β -HCG 组,高 miR-21 组($\chi^2=8.711$, $P<0.05$)、低 miR-218 组($\chi^2=12.616$, $P<0.05$)、高 MMP-2 组($\chi^2=5.396$, $P<0.05$)和高 β -HCG 组($\chi^2=3.877$, $P<0.05$)生存率均显著降低。Cox 分析结果提示,血清高 miR-21、低 miR-218、高 MMP-2 和高 β -HCG 是增加患者死亡风险的重要因素($P<0.05$)。结论 联合检测血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 对滋养细胞肿瘤的诊断具有潜在价值,而且 miR-21、miR-218 和 MMP-2 在滋养细胞肿瘤风险评估和预后评价中有重要意义。

关键词:微小 RNA; 基质金属蛋白酶-2; 滋养细胞肿瘤

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.18.003

中图法分类号:R446.1;R737.3

文章编号:1673-4130(2019)18-2186-05

文献标识码:A

Evaluation of the diagnostic and prognostic value of serum miR-21, miR-218 and MMP-2 for trophoblastic tumor

ZHAO Juan, WANG Xiaorong

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Electric Power Hospital, Changning, Shanghai 200050, China)

Abstract: **Objective** To explore the value of serum microRNA-21 (miR-21), miR-218 and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the diagnosis, risk prediction and prognosis of trophoblastic tumor. **Methods** Eighty cases of trophoblastic tumor diagnosed in the hospital from January 2012 to May 2015 were enrolled in the study, and 80 cases of endometritis were also enrolled during the same period. The patients with trophoblastic tumor were followed up for 40 months. The relative expression levels of miR-21 and miR-218 in serum were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) and the concentrations of MMP-2 were detected by using chemiluminescence. **Results** Serum concentrations of miR-21 and MMP-2 in patients with trophoblastic tumor were significantly higher than those with endometritis ($P<0.05$), while serum concentrations of miR-218 were significantly lower than those with endometritis ($P<0.05$). Serum concentrations of miR-21, miR-218 and MMP-2 were correlated with III-IV staging (miR-21: $r=0.514$, $P=0.004$; miR-218: $r=-0.465$, $P=0.009$; MMP-2: $r=0.508$, $P=0.003$) and distant metastasis (miR-21: $r=0.501$, $P=0.005$; miR-218: $r=-0.449$, $P=0.013$; MMP-2: $r=0.499$, $P=0.010$) in trophoblastic tumor. ROC results showed that the sensitivity/specificity of serum miR-21, miR-218 and MMP-2 in differential diagnosis of trophoblastic

作者简介:赵娟,女,主管技师,主要从事临床检验的相关研究。

本文引用格式:赵娟,王晓蓉.血清 miR-21、miR-218 与 MMP-2 对滋养细胞肿瘤诊断与预后评估的价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(18):

tumor were 91.2%/83.7%, 68.5%/79.9% and 76.2%/84.3%, respectively. The sensitivity/specificity of the combined tests including the three indicators and β -HCG was 90.3%/98.4%. Survival analysis showed that the survival rate of the group with high-concentration miR-21, low-concentration miR-218, high-concentration MMP-2 and high-concentration β -HCG were significantly lower than that of the group with low-concentration miR-21 ($\chi^2 = 8.711, P < 0.05$), high-concentration miR-218 ($\chi^2 = 12.616, P < 0.05$), low-concentration MMP-2 ($\chi^2 = 5.396, P < 0.05$) and low-concentration β -HCG ($\chi^2 = 3.877, P < 0.05$). Cox analysis showed that high-concentration serum miR-21, low-concentration miR-218, high-concentration MMP-2 and high β -HCG were important factors in increasing the risk of death rate in patients ($P < 0.05$). **Conclusion** Combined detection of serum microRNA-21, microRNA-218 and MMP-2 has potential value in the diagnosis of trophoblastic tumors. MiR-21, miR-218 and MMP-2 have important significance in the risk assessment and prognostic evaluation of rophoblastic tumor.

Key words: microRNA; matrix metalloproteinase-2; rophoblastic tumor

滋养细胞肿瘤恶性程度高,多继发于葡萄胎、侵蚀性葡萄胎、流产或足月分娩后。早期患者症状不典型,随瘤体增大而表现为不规则阴道流血,子宫变得大而软等症状^[1]。目前,滋养细胞肿瘤的筛查手段主要包括血清 β -人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)检测和超声。然而,血清 β -HCG 缺乏特异性,其水平在多种生理、病理状态下均会增高^[2];有报道指出 B 超对滋养细胞肿瘤的诊断率仅为 67.4%^[3]。有学者在人滋养细胞肿瘤细胞系 JEG-3 中发现,微小 RNA(miR)-21 和 miR-218 是参与调控 JEG-3 恶性生物学行为的两个重要短链非编码 RNA^[4-5]。然而,关于两者的临床应用相关研究仍然缺乏。基质金属蛋白酶-2(MMP-2)是一类重要的水解细胞外基质的蛋白水解酶,参与到肿瘤的生长与转移过程。李静等^[6]指出, MMP-2 的表达下调可显著抑制 JEG-3 细胞的侵袭与增殖,与健康人群比较, MMP-2 在滋养细胞肿瘤患者中可能存在差异表达。本研究旨在探讨滋养细胞肿瘤患者血清 miR-21、miR-218 联合 MMP-2 的诊断及预后价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将本院 2012 年 1 月至 2015 年 5 月确诊的滋养细胞肿瘤患者 80 例纳入研究作为滋养细胞肿瘤组,均为首次住院且经内镜组织学检查确诊的患者。滋养细胞肿瘤的诊断和分期依据妇产科学(第 9 版)^[7]。其中 I~II 期患者 47 例, III~IV 期患者 33 例;发生远处转移 24 例(肺转移 13 例、脑转移 2 例、肝脾转移 9 例),未发生远处转移 56 例。另外,将同期的本院子宫内膜炎患者 80 例纳入研究作为子宫内膜炎组。本研究经医院伦理委员会批准。两组间在年龄、体质量指数(BMI)、吸烟史及饮酒史方面比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,滋养细胞肿瘤患者血清 β -HCG 水平显著高于子宫内膜炎患者($P < 0.05$),见表 1。

1.2 方法

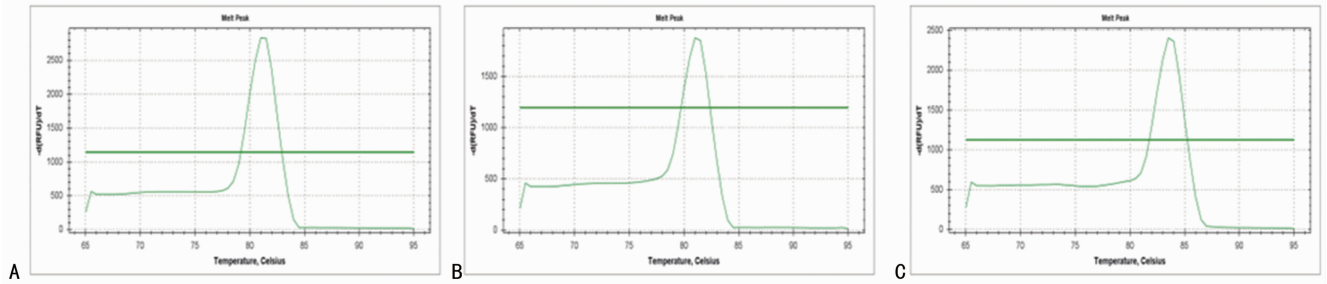
1.2.1 标本采集 使用含有促凝剂的采血管采集滋

养细胞肿瘤患者和子宫内膜炎患者接受治疗前的静脉血 5 mL,于 1 h 内在 4℃条件下以 12 000×g 离心 15 min(离心半径 10 cm),收集上层血清,并放入-80℃冰箱保存备检测。

表 1 两组间临床资料比较				
项目	滋养细胞肿瘤组 (n=80)	子宫内膜炎组 (n=80)	t/ χ^2	P
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	35.2±3.5	34.6±3.2	2.209	0.533
BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	23.6±2.1	24.1±2.2	1.890	0.635
吸烟史[n(%)]	8(10.0)	6(7.5)	0.485	0.859
饮酒史[n(%)]	13(16.3)	11(13.8)	0.196	0.658
β -HCG($\bar{x} \pm s$, mIU/mL)	22.4±1.3	2.5±0.6	6.168	<0.05

1.2.2 血清 miR-21、miR-218、MMP-2 和 β -HCG 水平的检测 使用实时荧光定量 PCR(qPCR)进行基因的相对定量。miR-21、miR-218 与 U6 引物序列见表 2,采用 2- Δ Ct 法计算 miRs 的相对表达量,然后取负对数处理后得检测值。血清 miR-21、miR-218 和 U6 的溶解曲线峰型单一,说明没有非特异性扩增,见图 1。血清 MMP-2 的检测采用酶联免疫吸附测定,步骤如下:标本(MMP-2 浓度为 5、10、25、50、100 pg/mL 的 5 个标准品,阳性和阴性对照)加入微孔板中与抗体室温孵育 40 min,洗板 5 次,在避光条件下加入酶标记的单抗室温孵育 40 min,再洗板 5 次,加入底物反应 15 min 后终止反应,于 DN M-9606 酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司)上检测吸光度(A)值。MMP-2 检测试剂盒由上海超研生物科技有限公司提供。血清 β -HCG 的检测采用化学发光法,检测仪器为日本 Olympus 公司 AU5400 型全自动生化分析仪。

1.3 随访 对滋养细胞肿瘤患者进行 40 个月电话随访,并记录患者的生存时间。随访终点为以下三种情况之一:(1)40 个月内患者死亡;(2)40 个月内患者退出该项研究;(3)40 个月随访结束。



注:A 为 miR-21;B 为 miR-218;C 为 U6

图 1 miR-21、miR-218 和 U6 的溶解曲线峰型

表 2 miR-21、miR-218 与 U6 的引物序列	
引物名称	引物序列(5'-3')
miR-21 上游	CAC AAC CAG ACC AGA A
miR-21 下游	TTA CCA AGA AAC ATC CAT
miR-218 上游	ACG AGA GGA CCG AAG
miR-218 下游	CAG TTC TAG ATA AGC
U6 上游	AGC CGT ACG GTA CCC TCA
U6 下游	GGG TCC CAC GTC CAA GAT

平显著高于子宫内膜炎组($P<0.05$),而血清 miR-218 水平显著低于子宫内膜炎组($P<0.05$),见表 3。

表 3 两组间血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 水平的比较				
组别	<i>n</i>	miR-21	miR-218	MMP-2(pg/mL)
滋养细胞肿瘤组	80	22.7±5.5	43.5±6.3	37.3±4.7
子宫内膜炎组	80	5.8±1.6	74.7±8.1	13.0±2.1
<i>t</i>		7.216	-4.084	5.427
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

1.4 统计学处理 应用 SPSS20.0 软件进行分析。正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnov 法,正态分布资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以百分率表示,组间的比较采用 χ^2 检验。用 ROC 曲线法计算血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 用于滋养细胞肿瘤诊断的曲线下面积(AUC)。采用 Kaplan-Meier 法进行生存曲线分析,并使用 Cox 比例回归模型分析潜在影响因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 两组间血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 水平的比较 滋养细胞肿瘤组血清 miR-21 和 MMP-2 水

2.2 血清 miR-21、miR-218、MMP-2 水平与滋养细胞肿瘤临床特征的关系 血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 水平与滋养细胞肿瘤患者年龄、吸烟史、饮酒史和 BMI 等均无明显关系($P>0.05$)。此外,血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 水平与 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期(miR-21: $r=0.514$, $P=0.004$;miR-218: $r=-0.465$, $P=0.009$;MMP-2: $r=0.508$, $P=0.003$)及远处转移(miR-21: $r=0.501$, $P=0.005$;miR-218: $r=-0.449$, $P=0.013$;MMP-2: $r=0.499$, $P=0.010$)相关,而 β -HCG 水平与滋养细胞肿瘤临床特征均无明显关系($P>0.05$)。

表 4 血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 与滋养细胞肿瘤临床特征的关系

指标	<i>n</i>	miR-21			miR-218			MMP-2(pg/mL)		
		水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>	水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>	水平($\bar{x}\pm s$)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄			-1.743	0.225		1.743	0.768		-1.127	0.544
<30 岁	32	22.2±4.2			43.7±3.9			36.1±6.0		
≥30 岁	48	23.3±4.5			43.2±4.0			38.0±6.5		
BMI			2.123	0.323		-1.378	0.135		-1.711	0.229
<24.0	45	22.9±4.4			43.0±3.7			36.0±6.2		
≥24.0	35	22.7±4.3			43.9±4.3			38.1±6.6		
吸烟史			-1.137	0.516		-1.368	0.347		-1.525	0.328
有	8	22.7±4.2			43.1±3.9			36.7±6.7		
无	72	22.9±4.5			43.8±4.1			37.8±6.1		
饮酒史			-1.114	0.516		1.942	0.563		-1.111	0.506
有	17	22.4±4.3			43.5±4.0			36.6±6.8		
无	63	23.1±4.2			43.3±3.8			37.7±6.3		
TNM 分期			-5.268	<0.001		3.268	0.002		-2.711	0.032
I~Ⅱ	47	18.4±4.9			44.6±4.2			36.1±6.7		

续表 4 血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 与滋养细胞肿瘤临床特征的关系

指标	n	miR-21			miR-218			MMP-2(pg/mL)		
		水平($\bar{x}\pm s$)	t	P	水平($\bar{x}\pm s$)	t	P	水平($\bar{x}\pm s$)	t	P
Ⅲ~Ⅳ	33	23.7±4.7			41.9±3.8			37.6±6.0		
远处转移			4.854	0.002		-2.937	0.004		3.519	0.003
有	24	25.1±4.2			42.5±3.9			39.9±6.3		
无	56	20.5±4.5			44.6±4.2			36.4±6.5		

2.3 血清 miR-21、miR-218、MMP-2 和 β-HCG 对滋养细胞肿瘤鉴别的价值 血清 miR-21、miR-218、MMP-2 和 β-HCG 对滋养细胞肿瘤的诊断界值分别为 17.6、58.0、25.5 pg/mL 和 16.4 mIU/mL,见图 2、表 5。

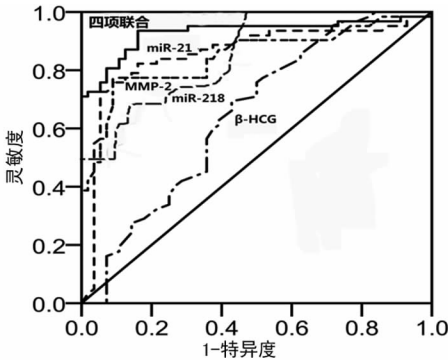


图 2 血清 miR-21、miR-218、MMP-2 和 β-HCG 用于滋养细胞肿瘤鉴别诊断的 ROC 曲线

表 5 血清 miR-21、miR-218、MMP-2、β-HCG 用于滋养细胞肿瘤鉴别诊断的价值

指标	AUC	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	P
miR-21	0.911	0.864~0.967	91.2	83.7	<0.05
miR-218	0.815	0.672~0.908	68.5	79.9	<0.05
MMP-2	0.832	0.738~0.916	76.2	84.3	<0.05
β-HCG	0.612	0.558~0.706	70.2	59.3	<0.05
四项联合	0.947	0.903~0.996	90.3	98.4	<0.05

2.4 血清 miR-21、miR-218、MMP-2、β-HCG 水平与滋养细胞肿瘤预后和 Cox 分析 经 40 个月随访,共 22 例滋养细胞肿瘤患者死亡。80 例滋养细胞肿瘤患者分别依据 miR-21、miR-218 和 MMP-2 的中位数分为高 miR-21 与低 miR-21 组、高 miR-218 与低 miR-218 组及高 MMP-2 与低 MMP-2 组。相较于低 miR-21 组、高 miR-21 组($\chi^2=8.711, P<0.05$,图 3-A)、低 miR-218 组($\chi^2=12.616, P<0.05$,图 3-B)、高 MMP-2 组($\chi^2=5.396, P<0.05$,图 3-C)和高 β-HCG 组($\chi^2=3.877, P<0.05$,图 3-D)生存率均显著降低。Cox 分析结果提示,血清高水平 miR-21、低水平 miR-218、高水平 MMP-2 和高水平 β-HCG 是提高患者死亡风险的重要因素($P<0.05$);而年龄、BMI、吸烟、饮酒等因

素不能显著提高患者死亡风险,见表 6。

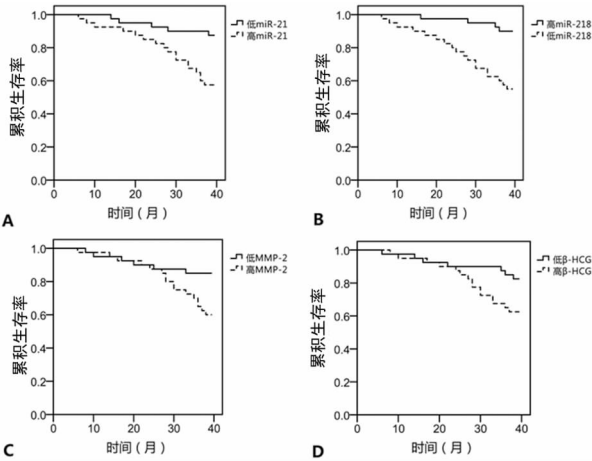


图 3 血清 miR-21、miR-218、MMP-2、β-HCG 水平与预后的关系

表 6 Cox 回归模型分析

因素	偏回归系数	标准误	Wald	P	RR	95%CI	
						上限	下限
miR-21	2.028	0.832	11.633	<0.05	1.813	1.429	2.377
miR-218	-1.231	0.602	9.422	<0.05	0.772	0.570	0.878
MMP-2	1.773	0.724	7.562	<0.05	1.721	1.371	2.398
β-HCG	1.387	0.298	4.002	<0.05	1.325	1.124	1.677

3 讨 论

目前,滋养细胞肿瘤诊断金标准为病理学检查。β-HCG 是滋养细胞肿瘤辅助诊断非常重要的参考指标,但多种病理、生理状态下 β-HCG 均可出现水平升高^[8-9]。值得注意的是,本次研究也发现 β-HCG 用于鉴别绒毛膜癌与子宫内膜炎的特异度不高,仅为 59.3%,这与之之前 β-HCG 缺乏特异性的报道相一致^[10-11],再一次证实血清 β-HCG 在鉴别诊断滋养细胞肿瘤时仍具有特异性较低的不足。

miR-21、miR-218 是近年研究发现的两个重要的癌症相关 miR。WANG 等^[4]通过 qPCR 检测体外培养人滋养细胞肿瘤细胞系 JEG-3 发现,与健康人滋养层细胞相比 JEG-3 细胞中 miR-21 表达显著增高,而 JEG-3 经过瞬时转染上调细胞 miR-21 表达水平后,观察到 JEG-3 细胞的增殖、侵袭和迁移能力均显著提高。SHI 等^[5]的研究发现,长链非编码 RNA MAL-

AT1 可通过“海绵作用”吸附并抑制 miR-218,从而促进 JEG-3 细胞的增殖。然而,上述研究均停留在基础研究,关于 miR-21 和 miR-218 在滋养细胞肿瘤患者中的临床应用价值评估未见报道。本次研究发现,与子宫内膜炎相比,滋养细胞肿瘤患者血清 miR-21 水平显著增高,而 miR-218 水平显著降低,且两者水平与 TNM 分期为Ⅲ~Ⅳ期及发生远处转移相关,这些临床研究结果与前期基础研究结果相符^[4-5]。

既往的研究显示,滋养细胞肿瘤 JEG-3 细胞系中 MMP-2 基因表达水平显著上调,并且 MMP-2 的上调参与了滋养细胞肿瘤细胞的恶性生物学行为^[12]。本次研究首次通过临床样本检测到了滋养细胞肿瘤患者血清中 MMP-2 的差异表达,且血清 MMP-2 水平在 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期及发生远处转移患者中的升高最为显著,与前期的细胞学研究相符^[12]。

血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 用于鉴别诊断滋养细胞肿瘤与子宫内膜炎的灵敏度/特异度分别为 91.2%/83.7%、68.5%/79.9%和 76.2%/84.3%;而联合检测 miR-21、miR-218、MMP-2 与 β -HCG 后,特异度显著提高,达到 98.4%,提示联合血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 具有较高的诊断价值。多个国内外临床研究均提示,联合多个指标的检测有助于提高恶性肿瘤的检出率^[13-15],本研究也进一步证实了前期的发现。Cox 分析结果提示,血清高水平 miR-21、低水平 miR-218、高水平 MMP-2 和高水平 β -HCG 是提高患者死亡风险的重要因素;而年龄、BMI、吸烟、饮酒等因素不能显著提高患者死亡风险,证实了血清 miR-21、miR-218 和 MMP-2 水平可作为滋养细胞肿瘤的诊断和疾病风险评估指标。生存分析结果提示,高 miR-21 组、低 miR-218 组、高 MMP-2 组、高 β -HCG 组患者的预后更差,这与前期多个基础研究结果相符^[5-6,10]。

4 结 论

综上所述,本次研究发现,联合 miR-21、miR-218 和 MMP-2 检测对滋养细胞肿瘤的诊断具有潜在价值,并发现 miR-21、miR-218 和 MMP-2 在滋养细胞肿瘤风险评估和预后评价中有重要意义。

参考文献

[1] PENG Z, ZHANG C, ZHOU W, et al. The STAT3/NFIL3 signaling axis-mediated chemotherapy resistance is reversed by Raddeanin A via inducing apoptosis in choriocarcinoma cells[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(7): 5370-5382.

[2] GHASEMI-TEHRANI H, SADEGHIAN A, ENTEZARI R. Relationship between pregnancy complications and serum pregnancy Associated-Plasma-Protein-A and Free- β -

Human chorionic gonadotropin in the first trimester among iranian women[J]. J Family Reprod Health, 2017, 11(4): 219-224.

[3] MATSUBAYASHI H, YAMASHITA R, SASAKI K, et al. Retroperitoneal choriocarcinoma diagnosed by endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration biopsy[J]. Arab J Gastroenterol, 2018, 19(3): 130-133.

[4] WANG Y, ZHAO J, XU Y, et al. miR-21 is overexpressed in hydatidiform mole tissues and promotes proliferation, migration, and invasion in choriocarcinoma cells[J]. Inter J Gynecol Canc, 2017, 27(2): 364-374.

[5] SHI D, ZHANG Y, LU R, et al. The long non-coding RNA MALAT1 interacted with miR-218 modulates choriocarcinoma growth by targeting Fbxw8 [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97(5): 543-550.

[6] 李静, 王金铭, 刘月华, 等. 微小 RNA-106b 靶向调控基质金属蛋白酶 2 对滋养细胞侵袭和增殖的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(5): 327-332.

[7] 谢幸, 孔北华, 段涛. 妇产科学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 477-478.

[8] ADEKUNLE A N, LAM A S, TURBOW S D, et al. Beta-human chorionic gonadotropin-producing renal cell carcinoma[J]. Am J Med, 2016, 129(3): 29-31.

[9] 范思斯, 潘玫, 秦海燕, 等. 外周血 β -HCG mRNA 表达与妊娠滋养细胞肿瘤血行转移的相关研究[J]. 实用癌症杂志, 2015, 30(6): 806-811.

[10] ADEKUNLE A N, LAM A S, TURBOW S D, et al. Beta-human chorionic gonadotropin-producing renal cell carcinoma[J]. Am J Med, 2016, 129(3): 29-31.

[11] 范思斯, 潘玫, 秦海燕, 等. 外周血 β -HCG mRNA 表达与妊娠滋养细胞肿瘤血行转移的相关研究[J]. 实用癌症杂志, 2015, 30(6): 806-811.

[12] HUINING L, JINGTING C, KEREN H. Metastasis gene expression analyses of choriocarcinoma and the effect of silencing metastasis-associated genes on metastatic ability of choriocarcinoma cells[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2011, 32(3): 264-268.

[13] 李莉, 李涛. 血清 CGB 和 GnRH1 mRNA 表达与妊娠滋养细胞肿瘤血行转移的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(13): 62-66.

[14] BOLZE P A, PATRIER S, MASSARDIER J, et al. PD-L1 expression in premalignant and malignant trophoblasts from gestational trophoblastic diseases is ubiquitous and independent of clinical outcomes[J]. Int J Gynecol Cancer, 2017, 27(3): 554-561.

[15] NIE J C, CHEN G H, YAN A Q, et al. Postoperative chemotherapy on placental site trophoblastic tumor in early stage: analysis of 60 cases[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2017, 38(3): 431-440.