

## CRYAB 在喉癌中的表达变化及临床意义

许 里,徐新宇\*,林振中

(江苏省肿瘤医院病理科,江苏 南京 210009)

**[摘要]** 目的:检测晶状体蛋白- $\alpha$ B(crystallin-alpha B,CRYAB)在人喉癌中的表达情况,同时研究 CRYAB 表达与喉癌重要临床指标之间的关系。方法:在 10 例新鲜喉癌及癌旁组织上进行一步法定量逆转录 PCR (quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction,qRT-PCR)检测,在组织芯片上(80 例喉癌标本及 20 例癌旁对照标本)进行免疫组化检测,使用 Cox 回归法及 Kaplan-Meier 生存分析法进行喉癌患者的预后评估。结果:qPCR 及免疫组化结果均显示喉癌组织中的 CRYAB 表达明显高于癌旁对照组织中 CRYAB 的表达( $P$  均  $< 0.05$ )。CRYAB 的表达与喉癌患者的肿瘤分化程度( $P = 0.022$ )、TNM 分期( $P = 0.013$ )、淋巴结转移( $P = 0.026$ )及生存情况( $P = 0.001$ )有重要关联。生存分析显示 CRYAB 表达( $P = 0.036$ )与喉癌患者预后关系密切,CRYAB 高表达提示患者预后不良。结论:CRYAB 在喉癌组织中异常高表达,且与喉癌患者的数种恶性表型相关,可作为喉癌患者预后的独立危险因素。

**[关键词]** 喉癌;CRYAB;qPCR;免疫组化;预后

**[中图分类号]** R739.65

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)09-1095-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20160914

## Differentiated expression and clinical significance of CRYAB in LSCC

Xu Li,Xu Xinyu\*,Lin Zhenzhong

(Department of Pathology,Jiangsu Cancer Hospital,Nanjing 210009,China)

**[Abstract]** **Objective:** To examine the expression of crystallin-alpha B(CRYAB) in human laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) and investigate the relationship between its expression and clinical characteristics of LSCC. **Methods:** One-step quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction(qRT-PCR) test in 10 fresh LSCCs as well as non-cancerous tissue samples and immunohistochemistry analysis by tissue microarrays (80 LSCC samples and 20 tumor-adjacent normal samples) were performed to characterize CRYAB expression in LSCC. Cox regression and Kaplan-Meier survival analyses were carried out to evaluate the prognosis of LSCC. **Results:** The results of qPCR test and immunohistochemistry analysis showed that the expression of CRYAB in LSCC was significantly higher than that in tumor-adjacent normal tissues ( $P = 0.0005$  and  $P = 0.021$ , respectively). Moreover, the expression level of CRYAB protein in LSCC was significantly related to tumor differentiation ( $P = 0.022$ ), TNM stage ( $P = 0.013$ ), lymph node metastasis ( $P = 0.026$ ) and overall survival ( $P = 0.001$ ). COX multi-factor analysis showed that CRYAB expression ( $P = 0.036$ ) was recognized as an independent prognosis factors for LSCC. **Conclusion:** The data suggest that CRYAB expression is correlated with malignant phenotypes of LSCC and it may serve as a novel prognostic factor for LSCC.

**[Key words]** laryngeal carcinoma;CRYAB;qPCR;immunohistochemistry;prognosis

[Acta Univ Med Nanjing,2016,36(09):1095-1100]

喉癌是常见的头颈部恶性肿瘤之一,在呼吸道肿瘤中发病率居第 2 位。随着工业化发展和空气污染的加重,喉癌在我国以及世界范围内的发病率呈

逐步上升趋势。喉癌常为喉部上皮组织起源,以鳞状细胞癌为主的喉鳞癌(laryngeal squamous cell carcinoma,LSCC)约占 95%,其中癌细胞经淋巴道转移是喉癌最重要的转移方式和影响预后的主要因素之一<sup>[1-2]</sup>。虽然近年来关于喉癌治疗的新方法层出不穷,但尚无一种治疗方案疗效令人满意且喉癌总体病死率仍较高(5 年生存率约 60%)<sup>[3-4]</sup>。因此,寻找新的与喉癌临床特征尤其是预后相关的蛋白标志物

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81301951);江苏省六大人才高峰项目(2015-WSN-017);南京市科委科技发展项目(201402055)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:redxxy@163.com

显得尤为重要。晶状体蛋白- $\alpha$ B (crystallin- $\alpha$  B, CRYAB) 是属于热休克蛋白家族的一类分子伴侣<sup>[5-6]</sup>。有文献报道 CRYAB 功能繁多且与多种肿瘤发生发展关系密切。如 CRYAB 在肝癌中高表达且与预后不良关系密切<sup>[7]</sup>;CRYAB 可作为头颈部肿瘤预后不良的新型分子标志物<sup>[8]</sup>;CRYAB 可调控血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor,VEGF) 表达从而影响血管生成,进一步调控肿瘤发生及发展<sup>[9-10]</sup>。本研究采用一步法定量逆转录 PCR (quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction,qRT-PCR) 检测 10 例喉癌及癌旁组织 CRYAB mRNA 水平表达情况,同时使用免疫组化法检测 80 例喉癌组织和 20 例癌旁组织中 CRYAB 蛋白水平表达情况,并探讨 CRYAB 蛋白表达与喉癌患者重要临床特征尤其是预后指标的关系。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

选取江苏省肿瘤医院 2014 年收治的 10 例喉癌及对应癌旁组织;同时选取南通大学附属医院 2000—2009 年收治的 80 例喉癌患者(喉癌组),20 例癌旁组织(癌旁组,距肿瘤切缘大于 0.5 cm)。80 例喉癌患者中男 78 例,女 2 例,年龄 42~87 岁;有吸烟史 58 例,饮酒史 38 例;声门上型 51 例,声门型 23 例,声门下型 6 例;TNM 分期(UICC2002) I~II 期 41 例,III~IV 期 39 例;淋巴结转移 17 例;高分化 49 例,中分化 26 例,低分化 5 例。随访时间为 5~101 个月,平均 49 个月;80 例中死亡 35 例,存活 45 例。喉癌组中 79 例经术后病理证实为鳞状上皮细胞癌,1 例为非典型增生,后病理证实为原位癌;癌旁组黏膜组织均经病理证实为炎症或正常黏膜。全部病例术前均未行放疗、化疗,临床资料完整。所有临床数据及资料经患者同意用于科学研究并签署知情同意书。

一步法 qPCR 试剂盒 (Quantace 公司,德国),CRYAB 抗体(Stressgen 公司,加拿大),免疫组化 SP 试剂盒和 DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);组织芯片为上海芯超生物科技有限公司制作。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 qRT-PCR 检测 CRYAB mRNA 表达

实验对象为 10 例喉癌及相应癌旁组织。实验步骤严格按照 qRT-PCR 试剂盒的说明进行,首先使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen 公司,美国) 提取 RNA,CRYAB 引物序列如下:正向 5'-CTTTGACCAGTT

CTTCGGAG-3',反向 5'-CCTCAATCACATCTCC-CAAC-3';GAPDH 为内参,其引物序列如下:正向 5'-TCGGAGTCAACGGATTTGGTTCGT-3',反向 5'-TGC CATGGGTGGAATCATATTGGA-3'。具体 qRT-PCR 实验步骤参考前述文献<sup>[2]</sup>。

#### 1.2.2 SP 免疫组化染色法检测 CRYAB 蛋白表达

实验对象为 80 例喉癌及 20 例癌旁组织的喉癌组织芯片。实验步骤严格按照免疫组化试剂盒的说明进行,其中一抗浓度 1:300。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。免疫组化结果判读:分别测量 CRYAB 阳性染色细胞数百分比及染色强度<sup>[11]</sup>。评分采用 IHS (immunohistochemical scores)。分别计数阳性细胞百分比(无阳性细胞=0,阳性细胞占 1%~10%=1,>10%~50%=2,>50%~80%=3,>80%~100%=4)和评判阳性细胞染色强度(阴性=0,弱阳性=1,中阳性=2,强阳性=3),两者的乘积即为该切片的 IHS。定义:IHS $\leq$ 4 分为低表达或不表达,IHS>4 分为高表达。

### 1.3 统计学方法

所有数据结果经 Excel 整理,应用 SPSS16.0 统计软件进行处理。计数资料采用  $\chi^2$  检验,单因素 (univariate) 及多因素 (multivariate) 比例风险回归模型用于评估预后相关因素,生存分析使用 Cox 风险回归模型,并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 qRT-PCR 检测 CRYAB mRNA 表达

qRT-PCR 检测结果显示喉癌组织中的 CRYAB mRNA 表达水平 ( $5.279 \pm 0.428$ ) 明显高于癌旁对照组织中的 CRYAB mRNA 表达水平 ( $2.976 \pm 0.335$ ),差异有统计学意义 ( $t = 4.236, df = 18, P = 0.0005$ ,图 1)。

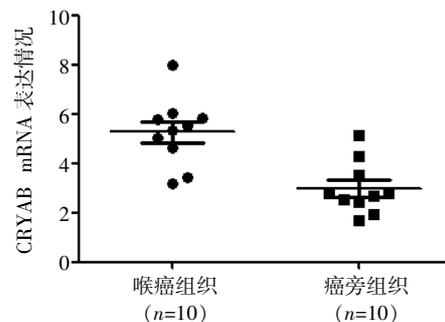


图 1 qRT-PCR 检测喉癌组织中的 CRYAB mRNA 表达水平

Figure 1 CRYAB mRNA level in LSCC tissues detected by qRT-PCR

## 2.2 免疫组化检测 CRYAB 蛋白表达

免疫组化结果显示 80 例喉癌组患者中,43 例(53.75%)CRYAB 高表达,表达产物主要位于肿瘤细胞胞浆(图 2);对比癌旁组,仅有 5 例(25.00%)显示 CRYAB 高表达,其差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.298, P = 0.021$ )。

## 2.3 CRYAB 与喉癌临床特征的关系

CRYAB 的表达与喉癌患者的以下临床指标有重要关联:肿瘤分化程度( $P = 0.022$ )、TNM 分期( $P = 0.013$ )、淋巴结转移( $P = 0.026$ )及生存情况( $P = 0.001$ )(表 1)。

## 2.4 生存分析

单因素比例风险回归模型评估预后相关因素为 CRYAB 表达( $P = 0.001$ )、TNM 分期( $P = 0.001$ )及

淋巴结转移( $P = 0.001$ )。多因素回归模型进一步证明 CRYAB 表达( $P = 0.036$ )是 80 例喉癌患者预后相关的独立因素(表 2)。Kaplan-Meier 生存曲线提示 CRYAB 高表达的喉癌患者预后明显较 CRYAB 低表达或不表达的喉癌患者差,同时 TNM 分期较晚及淋巴结转移阳性的喉癌患者较 TNM 分期较早及淋巴结转移阴性的喉癌患者预后差(图 3)。

## 3 讨论

Crystallin 晶状体蛋白最早在眼球中发现,其包含 3 个亚家族: $\alpha$ 、 $\beta$  及  $\gamma$ 。而  $\alpha$ -crystallin 家族中又包含  $\alpha A$ -crystallin 和 CRYAB 这 2 种蛋白,其主要作用是作为分子伴侣,在某些特殊情况下如缺氧、压力、应激等条件下保护蛋白结构,维持正常功能<sup>[12-14]</sup>。但

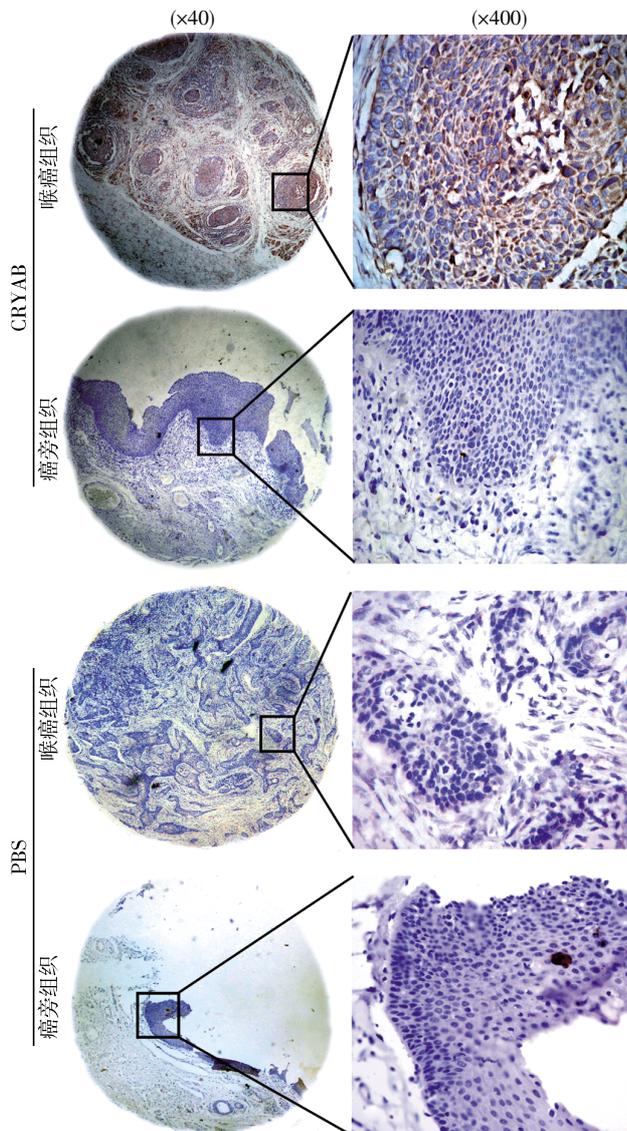


图 2 免疫组织化学法检测 CRYAB 蛋白表达

Figure 2 CRYAB protein expression detected by immunohistochemistry

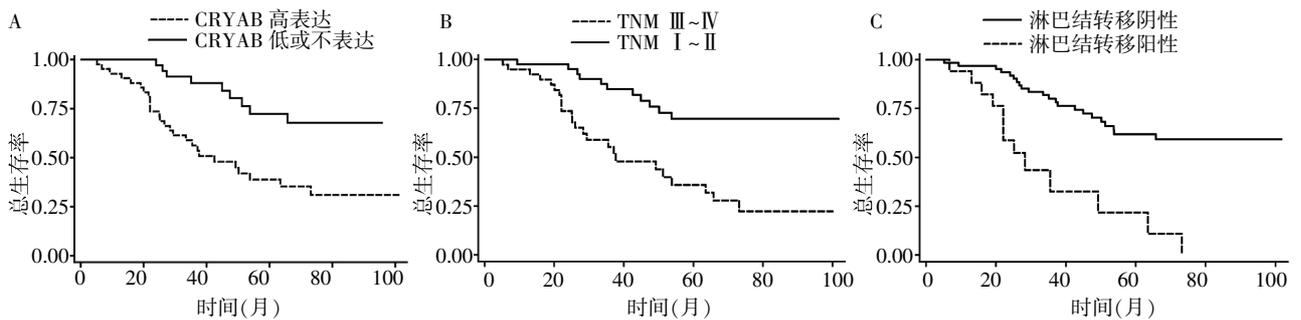
表 1 CRYAB 表达与 80 例喉癌患者重要临床指标关系

Table 1 Correlation between CRYAB expression and clinicopathological parameters in 80 patients with LSCC

组别	例数	CRYAB(例)		$\chi^2$ 值	P 值
		高表达	低表达		
性别				0.005 1	0.943
男	78	41	37		
女	2	1	1		
年龄				2.035 3	0.154
≤60 岁	34	21	13		
>60 岁	46	21	25		
吸烟史				0.050 9	0.821
是	58	30	28		
否	22	12	10		
饮酒史				0.221 6	0.638
是	38	21	17		
否	42	21	21		
肿瘤部位				0.879 8	0.644
声门上型	51	25	26		
声门型	23	13	10		
声门下型	6	4	2		
肿瘤分化				7.667 8	0.022
高分化	49	22	27		
中分化	26	19	7		
低分化	5	1	4		
TNM 分期				6.124 3	0.013
I~II 期	41	16	25		
III~IV 期	39	26	13		
淋巴结转移				4.974 0	0.026
是	17	13	4		
否	63	29	34		
生存情况				11.842 3	0.001
存活	45	16	29		
死亡	35	26	9		

表2 单因素及多因素比例风险回归模型筛选预后相关因素  
Table 2 Univariate and multivariate analysis of prognostic factors for overall survival

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	P > z	95%CI	HR	P > z	95%CI
CRYAB 表达						
高表达 vs. 低表达	3.46	0.001	1.621~7.404	2.35	0.036	1.056~5.242
年龄						
≤60岁 vs. >60岁	0.64	0.208	0.317~1.284			
吸烟史						
是 vs. 否	0.55	0.098	0.273~1.117			
饮酒史						
是 vs. 否	0.86	0.662	0.440~1.685			
肿瘤部位						
声门上型 vs. 声门型 vs. 声门下型	1.10	0.743	0.635~1.888			
肿瘤分化						
高分化 vs. 中分化 vs. 低分化	1.45	0.136	0.889~2.378			
TNM 分期						
I~II期 vs. III~IV期	0.27	0.001	0.130~0.548	0.46	0.071	0.197~1.068
淋巴结转移						
是 vs. 否	4.72	0.001	2.320~9.600	2.20	0.061	0.963~5.031



A:Kaplan-Meier 生存曲线提示 CRYAB 高表达的喉癌患者(虚线)预后明显较 CRYAB 低表达或不表达(实线)的喉癌患者差;B:TNM 分期较晚的喉癌患者(虚线)预后较 TNM 分期较早的喉癌患者(实线)差;C:淋巴结转移阳性的喉癌患者(虚线)预后较淋巴结转移阴性者(实线)差。

图3 喉癌患者的 Kaplan-Meier 生存曲线分析

Figure 3 Kaplan-Meier analysis of overall survival rate of LSCC patients

某些特殊情况下,CRYAB 蛋白的功能可能发生变化并且和肿瘤发生发展密切相关<sup>[15-16]</sup>。近年来,越来越多的文献报道 CRYAB 异常表达于多种肿瘤中,包括卵巢癌、口腔癌、肝癌等<sup>[7,17-18]</sup>。CRYAB 可促进肿瘤的转移,而抑制 CRYAB 的表达后则可同时减缓肿瘤转移的发生<sup>[19-20]</sup>。而关于 CRYAB 在肿瘤中的作用机制研究亦逐渐深入,如 CRYAB 可调控 VEGF 生成从而影响肿瘤生长及转移<sup>[9-10]</sup>;可影响肿瘤坏死因子相关凋亡介导配体所调控的细胞凋亡<sup>[17]</sup>;可干扰正常 Rb/p53 基因的功能<sup>[21]</sup>。而以上因素如 VEGF、TRAI、Rb/p53 等又与喉癌的发生发展关系密切<sup>[22-24]</sup>,所以我们推测 CRYAB 可能在喉癌中存在异常表达且在喉癌的发生发展过程中发挥特定作用。

本研究先收集了 10 例新鲜喉癌及癌旁组织,进

行一步法 qRT-PCR 检测 CRYAB 在基因层面的表达情况。结果显示喉癌组织中的 CRYAB mRNA 表达水平明显高于癌旁组织,差异有统计学意义;同时,课题组收集了 80 例喉癌标本(喉癌组)及 20 例癌旁组织标本(癌旁组),制作组织芯片,使用免疫组化法检测 CRYAB 蛋白在喉癌中的表达情况。结果与前述研究类似,亦发现了 CRYAB 蛋白在喉癌组织中的异常高表达,喉癌组中 CRYAB 的表达量明显高于癌旁组。此外,通过  $\chi^2$  检验,喉癌中 CRYAB 的高表达还和某些喉癌临床指标相关,如肿瘤分化程度、TNM 分期、淋巴结转移及生存情况。此结果和前述研究数据相仿,CRYAB 具有致癌基因的某些特性,可促进肿瘤生长,加快肿瘤侵袭<sup>[10,13,15,19]</sup>。

后续又采用单因素及多因素比例风险回归模型

评估本研究中 80 例喉癌患者预后相关因素。CRYAB 再次被明确为独立的预后指标之一,CRYAB 高表达提示喉癌患者预后不良,这与 CRYAB 在多种其他肿瘤如肝癌<sup>[7]</sup>、头颈肿瘤<sup>[8]</sup>、卵巢癌<sup>[17]</sup>、口腔癌<sup>[18]</sup>中的特性相似。

有趣的是,同时亦有其他文献报道 CRYAB 可能有抑癌作用<sup>[25-26]</sup>;且 CRYAB 在某些肿瘤的表达和预后完全无关<sup>[27-28]</sup>。以上数据与本文结果不一致。造成此种现象的原因可能为肿瘤类型不同、抗体试剂选择差别、结果评估系统相异等。故后续仍需收集更大样本、更多类型的肿瘤标本进一步探究 CRYAB 在肿瘤中的明确作用。

综上,本研究在基因和蛋白两个层面报道了 CRYAB 在喉癌组织中有异常高表达,且 CRYAB 的表达与喉癌患者的数种恶性表型相关。CRYAB 可作为喉癌患者预后的独立危险因素,为喉癌的病情诊断及靶向治疗提供了可能的方向。

#### [参考文献]

[1] Wu H, Xu H, Zhang S, et al. Potential therapeutic target and Independent prognostic marker of TROP2 in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Head Neck*, 2013, 35(10):1373-1378

[2] Mao Y, Zhang DW, Lin H, et al. Alpha B-crystallin is a new prognostic marker for laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31:101

[3] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2009, 59(4):225-249

[4] Ma J, Wang J, Fan W, et al. Upregulated TIMP-1 correlates with poor prognosis of laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(1):246-254

[5] Moyano JV, Evans JR, Chen F, et al. AlphaB-crystallin is a novel oncoprotein that predicts poor clinical outcome in breast cancer[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(1):261-270

[6] Arrigo AP, Simon S, Gibert B, et al. Hsp27(HspB1) and alphaB-crystallin (HspB5) as therapeutic targets [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(19):3665-3674

[7] Tang Q, Liu YF, Zhu XJ, et al. Expression and prognostic significance of the alpha B-crystallin gene in human hepatocellular carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(3):300-305

[8] Chin D, Boyle GM, Williams RM, et al. Alpha B-crystallin, a new Independent marker for poor prognosis in head and neck cancer[J]. *Laryngoscope*, 2005, 115(7):1239-1242

[9] Dimberg A, Rylova S, Dieterich LC, et al. alphaB-crystallin promotes tumor angiogenesis by increasing vascular survival during tube morphogenesis[J]. *Blood*, 2008, 111

(4):2015-2023

[10] Kase S, He S, Sonoda S, et al. alphaB-crystallin regulation of angiogenesis by modulation of VEGF[J]. *Blood*, 2010, 115(16):3398-3406

[11] Bao J, Ni YJ, Qin H, et al. Rab27b is a potential predictor for metastasis and prognosis in colorectal cancer[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2014, 2014:913106

[12] Andley UP. Crystallins in the eye: Function and pathology [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2007, 26(1):78-98

[13] Sitterding SM, Wiseman WR, Schiller CL, et al. AlphaB-crystallin: a novel marker of invasive basal-like and metaplastic breast carcinomas[J]. *Ann Diagn Pathol*, 2008, 12(1):33-40

[14] Ghosh JG, Shenoy AK, Clark JI. Interactions between important regulatory proteins and human alphaB crystallin [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(21):6308-6317

[15] Chen P, Ji W, Liu FY, et al. Alpha-crystallins and tumorigenesis[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(9):1164-1173

[16] Arrigo AP, Gibert B. HspB1, HspB5 and HspB4 in human cancers: potent oncogenic role of Some of their client proteins[J]. *Cancers (Basel)*, 2014, 6(1):333-365

[17] Volkmann J, Reuning U, Rudelius M, et al. High expression of crystalline  $\alpha$ B represents an Independent molecular marker for unfavourable ovarian cancer patient outcome and impairs TRAIL- and cisplatin-induced apoptosis in human ovarian cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(12):2820-2832

[18] Annertz K, Enoksson J, Williams R, et al. Alpha B-crystallin- $\alpha$  validated prognostic factor for poor prognosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. *Acta Otolaryngol*, 2014, 134(5):543-550

[19] Malin D, Strekalova E, Petrovic V, et al.  $\alpha$ B-crystallin: a novel regulator of breast cancer metastasis to the brain [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(1):56-67

[20] Van De Schootbrugge C, Bussink J, Span PN, et al.  $\alpha$ B-crystallin stimulates VEGF secretion and tumor cell migration and correlates with enhanced distant metastasis in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:128

[21] Petrovic V, Malin D, Cryns VL.  $\alpha$ B-crystallin promotes oncogenic transformation and inhibits caspase activation in cells primed for apoptosis by Rb inactivation [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 138(2):415-425

[22] Akdeniz O, Akduman D, Haksever M, et al. Relationships between clinical behavior of laryngeal squamous cell carcinomas and expression of VEGF, MMP-9 and E-cadherin [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(9):5301-5310

[23] Pham TT, Ongkeko WM, An Y, et al. Protein expression of the tumor suppressors p16INK4A and p53 and disease

- progression in recurrent respiratory papillomatosis[J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(2): 253-257
- [24] Liu HC, Chen GG, Vlantis AC, et al. 5-fluorouracil mediates apoptosis and G1/S arrest in laryngeal squamous cell carcinoma via a p53-independent pathway[J]. *Cancer J*, 2007, 12(6): 482-493
- [25] Huang Z, Cheng Y, Chiu PM, et al. Tumor suppressor alpha B-crystallin (CRYAB) associates with the cadherin/catenin adherens junction and impairs NPC progression-associated properties[J]. *Oncogene*, 2012, 31(32): 3709-3720
- [26] Barbash O, Zamfirova P, Lin DI, et al. Mutations in Fbx4 inhibit dimerization of the SCF(Fbx4)ligase and contribute to cyclin D1 overexpression in human cancer[J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(1): 68-78
- [27] Solares CA, Boyle GM, Brown I, et al. Reduced alphaB-crystallin staining in perineural invasion of head and neck cutaneous squamous cell carcinoma[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010, 142(3 Suppl 1): S15-S19
- [28] Boslooper K, King-Yin Lam A, Gao J, et al. The clinicopathological roles of alpha-B-crystallin and p53 expression in patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Pathology*, 2008, 40(5): 500-504

[收稿日期] 2016-02-23

(上接第 1088 页)

- assessment of on-clopidogrel platelet reactivity and gene polymorphisms in predicting clinical outcome following drug-eluting stent implantation in patients with stable coronary artery disease[J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2013, 6(11): 1166-1175
- [9] Hohl EL, Derhaschnig U, Firbas C, et al. Reversal strategy in antagonizing the P2Y12-inhibitor ticagrelor[J]. *Eur J Clin Invest*, 2013, 43(12): 1258-1261
- [10] Goodman SG, Clare R, Pieper KS, et al. Association of proton pump inhibitor use on cardiovascular outcomes with clopidogrel and ticagrelor: insights from the platelet inhibition and patient outcomes trial[J]. *Circulation*, 2012, 125(8): 978-986
- [11] Dridi NP, Johansson P, Clemmensen P, et al. Prasugrel or double-dose clopidogrel to overcome clopidogrel low-response-the TAILOR(thrombocytes and individualization of oral antipalletelet therapy in percutaneous coronary intervention)randomized trail[J]. *Platelets*, 2014, 25(7): 506-512
- [12] Tavassoli N, Voisin S, Carrie D, et al. High maintenance dosage of clopidogrel is associated with a reduced risk of stent thrombosis in clopidogrel-resistant patients[J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2010, 10(1): 29-35
- [13] 李磊, 褚俊. 不同剂量氯吡格雷对急性冠脉综合征患者的氯吡格雷抵抗及超敏 C 反应蛋白、P 选择素水平的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2012, 47(5): 558-561
- [14] Lombo B, Díez JG. Ticagrelor: the evidence for its clinical potential as an oral antiplatelet treatment for the reduction of major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndromes[J]. *Core Evid*, 6(1): 31-42
- [15] Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(11): 1045-1057
- [16] Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, et al. Response to ticagrelor in clopidogrel nonresponders and responders and effect of switching therapies: the RESPOND study[J]. *Circulation*, 2010, 121(10): 1188-1199

[收稿日期] 2015-10-22