

Caspase-9 蛋白表达水平对预测直肠癌术前放化疗敏感性的临床意义

艾毅钦^{1,2)}, 汪勇²⁾, 赵川³⁾, 马丽菊⁴⁾, 张静²⁾, 叶岚^{1,2)}

(1) 昆明医科大学第三附属医院, 云南省肿瘤医院放疗科, 云南昆明 650118; 2) 昆明医科大学第一附属医院放疗科; 3) 病理科; 4) 临床实验中心, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨 Caspase-9 蛋白与直肠癌术前放化疗后病理反应程度的关系, 评价其表达水平对预测直肠癌术前放化疗敏感性的价值. **方法** 收集昆明医科大学第三附属医院 2008 年 7 月至 2013 年 6 月接受术前放化疗并行手术的直肠腺癌患者 43 例, 免疫组织化学方法检测放化疗前活检标本及手术后切除标本中 Caspase-9 蛋白水平, 分析其放化疗前后表达水平的变化及活检组织中 Caspase-9 蛋白水平与术后病理反应程度的关系. **结果** 直肠癌术前放化疗后病理反应良好, 有效率达 71.1%, 其中, 病理完全缓解率达 30.2%; 放化疗前后 Caspase-9 蛋白表达水平有差异 ($P < 0.01$), 放化疗后, Caspase-9 蛋白表达水平明显下降; 放化疗前 Caspase-9 蛋白表达水平与术后病理反应程度存在相关性 ($P < 0.05$), 放化疗前 Caspase-9 蛋白表达水平得分高者, 术后病理缓解程度好; 放化疗前 Caspase-9 蛋白表达水平与生存存在相关性 ($P < 0.05$), 放化疗前 Caspase-9 蛋白表达得分 < 3.78 者, 生存超过 2 a 的机会增大. 术后病理缓解程度与生存无相关性 ($P > 0.01$). **结论** 放化疗前直肠癌活检组织中 Caspase-9 蛋白表达水平可作为术前放化疗敏感性的预测因子. 且放化疗前直肠癌活检组织中 Caspase-9 蛋白表达有可能预测预后. 术后病理缓解程度对预测预后价值不大, 有待增加临床病例数进一步观察.

[关键词] 直肠肿瘤; 术前放疗; 放疗敏感性; Caspase-9; 预测

[中图分类号] R730.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 10-0070-06

Clinical Significance of Caspase-9 Protein Levels in Predicting Preoperative Chemoradiotherapy Sensitivity of Rectal Carcinoma

AI Yi-qin^{1,2)}, WANG Yong²⁾, ZHAO Chuan³⁾, MA Li-ju⁴⁾, ZHANG Jing²⁾, YE Lan^{1,2)}

(1) Dept. of Radiation Oncology, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Tumor Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650118; 2) Department of Radiation Oncology; 3) Department of pathology; 4) Clinical Trials Research Center, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the role of Caspase-9 protein in predicting preoperative chemoradiotherapy sensitivity of rectal carcinoma by investigating its correlation with pathologic response in patients who have received preoperative chemoradiotherapy. **Methods** The biopsy specimens before chemoradiotherapy and surgical specimens were obtained from 43 cases of rectal adenocarcinoma who accepted preoperative chemoradiotherapy from July 2008 to June 2013. Immunohistochemical staining was used to test the protein expression levels of Caspase-9, and the relationship between Caspase-9 protein expression levels and postoperative pathological response was analyzed. **Results** The effective rate of preoperative chemoradiotherapy was as high as 71.1%, among them, the pathological complete response rate was 30.2%. The expression levels of Caspase-9 protein were significantly different between before and after chemoradiotherapy ($P < 0.001$). Caspase-9 protein expression

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (2011Y186)

[作者简介] 艾毅钦 (1963~), 女, 陕西米脂县人, 医学硕士, 主任医师, 主要从事肿瘤放射治疗的研究工作.

was significantly downregulated after chemoradiotherapy. Meanwhile Caspase-9 protein expression level before chemoradiotherapy was related to both postoperative pathological response ($P < 0.05$) and survival rate ($P < 0.05$). The postoperative pathological response was better in patients with higher level of Caspase-9 protein, while the chances of surviving more than 2 years increased in patients with Caspase-9 protein scores less than 3.78. There was no correlation between survival rate and pathological response ($P > 0.05$). **Conclusions** The Caspase-9 protein levels can predict the sensitivity to preoperative chemoradiotherapy of rectal carcinoma. In addition, it may also predict prognosis of rectal carcinoma, while the pathological response rate need more clinical cases to investigate its value in predicting prognosis.

[Key words] Rectal carcinoma; Preoperative radiotherapy; Radiation sensitivity; Caspase-9 protein; Prediction

对于局部进展期 ($T_{3-4}N_0$ 或 T_xN_+) 直肠癌, 从 2009 年起 NCCN 推荐, 除非治疗禁忌, 此期患者应以新辅助放化疗加手术治疗为其综合治疗手段。然而, 临床实践发现, 采用新辅助放化疗, 治疗效果因个体不同而差异较大, 其病理反应从肿瘤完全消退到毫无反应, 相差甚远。那么, 哪些患者能从术前放化疗中获益, 能否从分子生物学水平在放化疗前筛选出方便、准确、快捷的预测指标, 避免无效、过度的治疗, 成为临床急需解决的问题。

细胞凋亡有 2 条途径: 死亡受体介导途径 (内源性通路) 及线粒体依赖途径 (外源性通路), 辐射诱导细胞凋亡是放疗杀灭肿瘤的主要形式, 且电离辐射引起的细胞凋亡主要是线粒体依赖途径 (外源性通路)。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Cysteine/aspartate specific proteinase caspase) 是 1996 年由 Alnemri 等^[1]统一命名的具有相似的氨基酸顺序、二级结构的一类人源的白细胞介素 1 β 转换酶 /Ced 同源性半胱氨酸蛋白酶, Caspase 在组织中含量的改变直接调控着凋亡发生的整个动态过程, 决定着细胞凋亡的进展方向及细胞的最后归宿。Caspase-9 是细胞凋亡线粒体依赖途径的启动分子, 启动线粒体依赖途径的细胞凋亡。

本实验通过研究 Caspase-9 在直肠腺癌组织中放化疗前后的表达, 探讨 Caspase-9 蛋白水平与放化疗后组织病理反应程度的关系, 评价其对预测直肠腺癌术前放化疗敏感性的临床意义, 为直肠腺癌术前个体化治疗提供分子生物学依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

昆明医科大学第一附属医院肿瘤放疗科 2008 年 7 月至 2013 年 6 月接受术前放化疗并行放化疗后手术的直肠腺癌患者 43 例, 其中男性 33 例

(76.7%), 女性 10 例 (23.3%); 年龄最小 39 岁, 最大 72 岁, 平均年龄 60.42 岁; 所有患者治疗前均经直肠肿物活检, 经病理证实为直肠腺癌; 肿瘤下极距肛缘 ≤ 10 cm; 治疗前未接受过直肠手术或放化疗; 术前分期采用盆腔 CT 和 / 或 MRI, 证实肿瘤穿透固有肌层达浆膜下层 (T_3) / 或肿瘤穿透脏层腹膜或侵及直肠周围组织与周围粘连固定 (T_4) / 或周围淋巴结转移 (N_+); 经胸片、骨扫描、腹盆 B 超或 CT 检查排除远处转移 (M_0)。

1.2 治疗方案

所有患者均接受术前放化疗 + 手术治疗。

1.2.1 放疗方案 直线加速器 X 线照射, 靶区包括: 直肠原发灶及区域淋巴引流。采取二维等中心三野照射 (后野: 左侧野: 右侧野 = 2:1:1) 或三维调强照射, 放射总剂量为 50.4 Gy (1.8 Gy/次, 5 次/周, 共 28 次)。

1.2.2 化疗方案 化疗与放疗同步进行。卡培他滨 1 600 mg/($m^2 \cdot d$), bid, d1 ~ 14, 口服, 奥沙利铂 130mg/ m^2 , 静脉注射, d1, 第 21 天重复。

1.2.3 手术方案 患者于放疗结束后 4 ~ 6 周接受手术, 由接受过严格的全直肠系膜切除术 (TME) 技术培训的医师完成。

1.3 放疗敏感性评价标准

由有经验的病理科医师根据 Wheeler 的 RCRG (Rectal cancer regression grade) 评价标准进行评价, RCRG 1: 肿瘤放疗后反应好, 癌细胞被消灭或仅剩少量镜下癌灶; RCRG2: 明显的纤维化, 但仍可见到大量的肿瘤存在; RCRG3: 肿瘤放疗后反应差, 仍可见到大量的肿瘤而极少纤维化或无纤维化。RCRG1 或 RCRG2 即认为放疗敏感 (有效), RCRG3 则认为放疗不敏感 (无效)。

1.4 主要试剂

鼠单克隆抗体 Caspase-9 试剂盒, 工作浓度 1:100, 试剂盒购自美国 Lifespan 公司。

1.5 实验方法

所有患者治疗前于肠镜下或经肛门钳取直径约2 mm的肿瘤组织,证实为直肠腺癌或腺瘤癌变.活检标本与手术后标本一起按Caspase-9试剂盒操作常规行免疫组织化学染色检测.

1.6 结果判断

Caspase-9蛋白均表达于细胞浆.根据阳性细胞比例评分,阳性细胞数: $<5\%$ 为0分; $\geq 5\%$ 为1分; $\geq 25\%$ 为2分; $\geq 50\%$ 为3分; $\geq 75\%$ 为4分.根据染色深度评分:阴性:无棕色颗粒(0分);弱阳性:散在浅淡或细小棕色颗粒(1分);中等阳性:可见大的棕黄颗粒(2分);强阳性:棕黄色颗粒较密集分布(3分).将细胞染色比例和染色深度的乘积作为每例标本的最后得分:0分为阴性(-);1~4分为弱阳性(+);5~8分为中度阳性(++), >8 分为强阳性(+++).

1.7 统计学分析

采用SPSS统计软件包对数据进行配对秩和检验及配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 放化疗后病理反应程度情况

入组患者43例,经术前放化疗后,术后病理反应达G1者19例,G2者12例,G3者12例,放疗有效31例(据1.3放疗敏感性评价标准,术后病理反应达G1、G2者认为放疗有效),有效率达71.1%,其中,放化疗后达到病理完全缓解13例,病理完全缓解率30.2%,见表1.

2.2 放化疗前后组织中Caspase-9蛋白表达情况比较

放化疗前染色体得分在0~4分共21例,放化疗后仍有18例在此得分区间;放化疗前5~8分22例,放化疗后全部降至0~4分.直肠癌组织放化疗前Caspase-9蛋白表达情况见图1;放化疗后见图2.利用配对秩和检验对放疗前后Caspase-9

染色得分进行比较,在 $\alpha=0.05$ 检验标准下, $Z=-3.990$, $P<0.001$,差异有统计学意义,可认为放疗后Caspase-9染色得分明显下降,见表2.

2.3 活检组织中Caspase-9蛋白表达与术后病理反应程度的关系

活检组织中,Caspase-9蛋白阳性表达率为23/43(53.5%),染色平均得分3.78分,以3.78分为界,高于3.78分者定为高表达,低于3.78分者定为低表达,结果,Caspase-9蛋白高表达者22/43(51.2%),低表达者21/43(48.8%),将活检组织中Caspase-9蛋白染色得分与手术后病理反应程度进行配对 χ^2 检验,对放化疗前Caspase-9染色得分与术后病理缓解程度进行相关性检验,在 $\alpha=0.05$ 检验标准下, $\chi^2=4.560$, $P=0.033$,可认为放化疗前Caspase-9染色得分与术后病理缓解程度存在相关性(表3).

2.4 前Caspase-9染色得分存在相关性

放化疗前Caspase-9蛋白表达染色得分 <3.78 者,生存超过2a的机会增大(表4).利用检验对生存时间与术前Caspase-9染色得分关系进行检验,在 $\alpha=0.05$ 检验标准下, $\chi^2=3.909$, $P<0.05$,差异有统计学意义,可认为生存时间与术前Caspase-9染色得分存在相关性.

2.5 放化疗后Caspase-9染色得分与生存的关系

利用秩和检验对不同生存时间病例术后Caspase-9染色得分进行比较,在 $\alpha=0.05$ 检验标准下, $Z=-0.688$, $P>0.05$,差异无统计学意义,可认为不同生存时间病例术后Caspase-9染色得分无差异,见表5.

2.6 术后病理缓解程度与生存的关系

检验对生存时间与术后病理缓解程度关系进行检验,在 $\alpha=0.05$ 检验标准下, $\chi^2=1.162$, $P>0.05$,差异无统计学意义,可认为生存时间与术后病理缓解程度无相关性,见表6.

表1 直肠癌术前放化疗后病理反应程度情况($\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 The pathological response of preoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer ($\bar{x}\pm s$)

| 实验对象 | 性别 | | n | 平均年龄(岁) |
|------|----|----|----|---------------|
| | 男 | 女 | | |
| G1 | 16 | 3 | 19 | 58.58 ± 10.21 |
| G2 | 7 | 5 | 12 | 62.17 ± 5.67 |
| G3 | 10 | 2 | 12 | 61.58 ± 7.23 |
| 合计 | 33 | 10 | 43 | 60.42 ± 8.34 |

表 2 放化疗前后 Caspase-9 蛋白表达比较

Tab. 2 Comparison of Caspase-9 expression levels between before and after chemoradiotherapy

| 放疗前 | 放疗后 | | 合计 | Z | P |
|-----|-----|-----|----|--------|---------|
| | 0~4 | 5~8 | | | |
| 0~4 | 18 | 3 | 21 | -3.990 | < 0.001 |
| 5~8 | 22 | 0 | 22 | | |
| 合计 | 40 | 3 | 43 | | |

表 3 放化疗前 Caspase-9 染色得分与术后病理反应程度关系

Tab. 3 Relationship between Caspase-9 dyeing scores before chemoradiotherapy and postoperative pathological response

| 放化疗前 Caspase-9 染色得分 | 术后病理缓解程度 | | 合计 | χ^2 | P |
|---------------------|----------|----|----|----------|-------|
| | G1/G2 | G3 | | | |
| < 3.78 | 12 | 9 | 21 | 4.560 | 0.033 |
| > 3.78 | 19 | 3 | 22 | | |
| 合计 | 31 | 12 | 43 | | |

表 4 放化疗前 Caspase-9 染色得分与生存

Tab. 4 Relationship between Caspase-9 dyeing scores before chemoradiotherapy and survival rate

| 生存时间 (a) | 放化疗前 Caspase-9 染色得分 | | 合计 | χ^2 | P |
|----------|---------------------|--------|----|----------|-------|
| | < 3.78 | > 3.78 | | | |
| ≤2 | 8 | 15 | 23 | 3.909 | 0.048 |
| >2 | 13 | 7 | 20 | | |
| 合计 | 21 | 22 | 43 | | |

表 5 放化疗后 Caspase-9 染色得分与生存

Tab. 5 Relationship between Caspase-9 dyeing scores after chemoradiotherapy and survival rate

| 生存时间 (a) | 放化疗后 Caspase-9 染色得分 | | 合计 | Z | P |
|----------|---------------------|--------|----|--------|-------|
| | < 3.78 | > 3.78 | | | |
| ≤2 | 21 | 2 | 23 | -0.688 | 0.492 |
| >2 | 19 | 1 | 20 | | |
| 合计 | 40 | 3 | 43 | | |

表 6 术后病理反应程度与生存

Tab. 6 Relationship between postoperative pathologic response and survival time

| 生存时间 (a) | 术后病理缓解程度 | | 合计 | χ^2 | P |
|----------|----------|----|----|----------|-------|
| | G1/G2 | G3 | | | |
| ≤2 | 15 | 8 | 23 | 1.162 | 0.281 |
| >2 | 16 | 4 | 20 | | |
| 合计 | 31 | 12 | 43 | | |

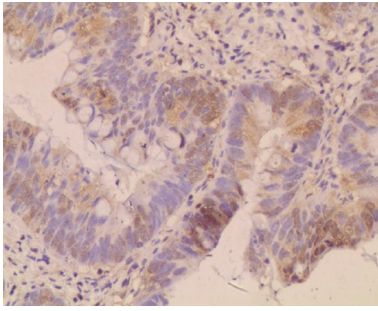


图 1 直肠癌组织放化疗前 Caspase-9 蛋白表达 (SP × 200)

Fig. 1 Caspase-9 protein expression before chemoradiotherapy in rectal carcinoma (SP × 200)

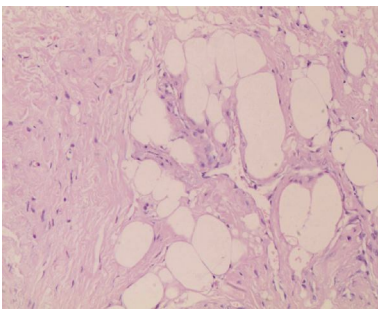


图 2 直肠癌组织放化疗后 Caspase-9 蛋白表达 (SP × 200)

Fig. 2 Caspase-9 protein expression after chemoradiotherapy in rectal carcinoma (SP × 200)

3 讨论

直肠癌术前放化疗能够使肿瘤缩小, 提高肿瘤切除率, 减少术后复发, 已逐渐成为直肠癌综合治疗的重要部分^[2]。但是, 临床上发现, 直肠癌患者术前放化疗的治疗效果个体差异较大, 其病理反应从肿瘤完全消失到无反应 (RCRG 1~ RCRG 3) 相差甚多, 各家报道不一, 大致各占 1/3^[2], 显然 RCRG 3 不能从术前放化疗中获益, 反而增加治疗的毒性反应。因此, 寻找直肠癌术前放化疗敏感性生物学预测指标, 以期对病例进行筛选, 使直肠癌的治疗更具针对性, 避免无效或过度治疗, 显得尤其重要。

目前关于直肠癌术前放化疗敏感性的研究较少。邢春根等^[4]对大肠癌细胞辐射敏感相关基因的筛选发现, 大肠癌辐射敏感性的预测可以从基因水平来体现, LOVO 细胞中主要有 CEACAM5、THBS1、SERPINE2、ARL7、HPGD 为高表达的基因, 与辐射敏感相关; SW480 细胞中主要有 SCD、NQ01、LYZ、KRT20、ATP1B1 为高表达的基因, 与辐射抵抗有关。Rodel 等^[5]对不同放疗敏感性的

结直肠癌细胞株 (SW480、SW48、CT215) 中 Survivin 蛋白和 mRNA 的表达水平进行检测发现, Survivin 与自发凋亡、放疗诱导凋亡呈负相关, 认为 Survivin 可能与结直肠癌的放疗抵抗有关。Rodel 等^[6]又进一步用 siRNA 下调放疗抵抗的结直肠癌细胞株中 Survivin 的表达, 发现可以提高该细胞株的放疗敏感性。Zlobec 等^[7]对 59 例行新辅助放疗的直肠癌患者活检标本中的血管内皮生长因子 (VEGF) 水平进行检测发现, 放疗后肿瘤完全消退的 30 例患者中约 50% VEGF 表达低于 10%, 11 例 VEGF 不表达者肿瘤完全消退。Zlobec 认为, 直肠癌组织缺氧致放疗抵抗, 同时缺氧刺激肿瘤新生血管生成, VEGF 水平上调, VEGF 水平可能是反映直肠癌组织放疗敏感性的重要指标。Wu 等^[8]以病理完全缓解 (pCR) 及 T 降期为研究终点, 对 79 例直肠癌患者临床病理学特征进行分析发现, 术前放化疗使 12.7% 患者达到 pCR, CEA < 5 ng/mL 患者中 58.7% 获得 T 降期。Lin 等^[9]对 47 例 T₃₋₄ 接受同步放化疗 (放疗 46Gy/23f+Xelox) 的直肠癌患者进行分析发现, 治疗前 CEA 水平正常 (CEA ≤ 5 ng/mL) 的患者, 治疗后 34.8% 达到 pCR。所以认为, 血清 CEA 水平可作为术前放化疗应答的预测指标。Yan 等^[10]通过 IHC 检测 Smac 发现, 98 例临床 II、III 期术前同步放化疗后行 TME 的直肠癌患者, 治疗前 Smac 高表达者对放化疗应答佳 ($P = 0.007$), 并在放疗后降低 ($P = 0.016$)。潘志忠^[11]等对 42 例直肠癌患者用免疫组织化学方法检测手术前活检标本和手术后切除标本中 Smac 蛋白的表达水平, 发现 Smac 蛋白有望成为直肠癌术前放疗敏感性的预测因子。

本研究发现, 直肠癌术前放化疗后病理反应良好, 有效率达 71.1%, 其中, 病理完全缓解率达 30.2%; 放化疗前后直肠癌组织中 Caspase-9 蛋白表达有统计学意义, $P < 0.001$, 即, 放化疗后 Caspase-9 蛋白表达明显降低; 放化疗前 Caspase-9 蛋白表达与术后病理反应程度存在相关性, $P < 0.05$, 放化疗前 Caspase-9 蛋白高表达者, 术后病理反应程度好。放化疗前 Caspase-9 蛋白表达水平与生存存在相关性, $P < 0.05$, 放化疗前 Caspase-9 蛋白表达染色得分 < 3.78 者, 生存超过 2 a 的机会增大。术后病理缓解程度与生存无相关性, $P > 0.05$ 。因此, 治疗前活检直肠癌组织中, Caspase-9 蛋白表达水平可作为术前放化疗敏感性的预测指标; 且放化疗前直肠癌活检组织中 Caspase-9 蛋白表达有可能预测预后。术后病理缓解程度对预测预后价值不大, 有待增加病例继续观

察.

[参考文献]

- [1] ALNEMRI E S, LIVINGSTON D J, NICHOLSON D W, et al. Hmnan ICE/CED-3 protease nomenclature[J]. *Cell*, 1996, 87(2):171.
- [2] GLIMELIUS B, GRONBERG H, JARHULT J, et al. A systematic overview of radiation therapy effects in rectal cancer[J]. *Acta Oncol*, 2003, 42(5-6):476-492.
- [3] MIZUTANI Y, NAKANISHI H, YAMAMOTO K, et al. Downregulation of Smac/DIABLO expression in renal cell carcinoma and its prognostic significance [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(3):448-454.
- [4] 邢春根, 杨晓东, 周丽英等, 大肠癌细胞辐射敏感相关基因的筛选 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2007, 27(4):252-255.
- [5] RODEL C, HAAS J, GROTH A, et al. Spontaneous and radiation-induced apoptosis in colorectal carcinoma cells with different intrinsic radiosensitivities: survivin as a radioresistance factor [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 55(5):1341-1347.
- [6] RODEL F, HOFFMANN J, DISTEL L, et al. Survivin as a radioresistance factor, and prognostic and therapeutic targeted for radiotherapy in rectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(11):4881-4887.
- [7] ZLOBEC I, STEELE R, COMPTON C C. VEGF as a predictive marker of rectal tumor response to preoperative radiotherapy [J]. *Cancer*, 2005, 104(11):2517-2521.
- [8] WU W M, QIU H Z, WU B, et al. Clinical pathologic factors predicting tumor response after preoperative neoadjuvant therapy for rectal cancer [J]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 2010, 48(5):348-352.
- [9] LIN J Z, ZENG Z F, WU X J, et al. Phase II study of preoperative radiotherapy with capecitabine and oxaliplatin for rectal cancer and carcinoembryonic antigen as a predictor of pathological tumour response[J]. *J Int Med Res*, 2010, 38(2):645-654.
- [10] YAN H, YU J, WANG R, et al. Prognostic value of Smac expression in rectal cancer patients treated with neoadjuvant therapy[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(1):168-173.
- [11] PAN Z Z, LIN J Z, WAN D S, et al. Smac as a predictive marker of tumor response to preoperative radiotherapy in rectal cancer[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2008, 27(2):178-182.

(2014-06-30 收稿)

(上接第 41 页)

- pain, and release of RANKL and OPG in GCF[J]. *Lasers Med Sci*, 2013, 23(5):412-433.
- [3] WU X Y, WU X P, LUO X H, et al. The relationship between the levels of gonadotropic hormones and OPG, leptin, TGF-beta1 and TGF-beta2 in Chinese adult women[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(17-18):1296-1305.
- [4] SOMANI B L, ARORA M M, DATTA S K, et al. Prevalence of unsuspected glucose intolerance in coronary artery disease (CAD) patients: Importance of HbA1c[J]. *Med J Armed Forces India*, 2013, 69(3):222-227.
- [5] ZHAO W, KATZMARZYK P T, HORSWELL R, et al. HbA1c and coronary heart disease risk among diabetic patients[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(2):428-435.
- [6] TENNYSON C, LEE R, ATTIA R. Is there a role for HbA1c in predicting mortality and morbidity outcomes after coronary artery bypass graft surgery[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2013, 17(6):1000-1008.
- [7] CHEN C, LIANG M K, ZHANG H, et al. Relationships between age-related biochemical markers of bone turnover and OPG, TGF-beta1 and TGF-beta2 in native Chinese women[J]. *Endocr Res*, 2013, 17(5):314-323.
- [8] XIE G Q, LEI D D, HE H B, et al. Relationship between serum TGF-beta1, OPG levels and osteoporotic risk in native Chinese women[J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 42(3):116-121.
- [9] WU X Y, PENG Y Q, ZHANG H, et al. Relationship between Serum Levels of OPG and TGF-beta with Decreasing Rate of BMD in Native Chinese Women [J]. *Int J Endocrinol*, 2013, 20(13):627-634.
- [10] GUMUS F, POLAT A, SINIKOGLU S N, et al. Use of a lower cut-off value for HbA1c to predict postoperative renal complication risk in patients undergoing coronary artery bypass grafting[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2013, 27(6):1167-1173.
- [11] ERTEM A G, BAGBanci H, KILIC H, et al. Relationship between HbA1c levels and coronary artery severity in nondiabetic acute coronary syndrome patients [J]. *Turk Kardiyol Dem Ars*, 2013, 41(5):389-395.
- [12] SABA L, IKEDA N, DEIDDA M, et al. Association of automated carotid IMT measurement and HbA1c in Japanese patients with coronary artery disease [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 100(3):348-353.

(2014-06-07 收稿)