

## 骨髓单个核细胞热休克蛋白 27 表达在多发性骨髓瘤中的临床价值\*

王清<sup>1</sup>,张梅芳<sup>2</sup>,郭晓丽<sup>1</sup>,王良宏<sup>3</sup>,宋军<sup>1</sup>,袁斌<sup>4</sup>,陈驰<sup>5</sup>,郭鹏翔<sup>1</sup>,朱红倩<sup>1</sup>

(1. 贵州省人民医院血液科, 贵阳 550001; 2. 河北省新乐市人民医院内科 050700;

3. 贵阳医学院临床免疫教研室, 贵阳 550004; 4. 贵州省肿瘤医院血液科,

贵阳 550000; 5. 贵阳中医学院免疫教研室, 贵阳 550001)

**[摘要]** **目的** 探讨骨髓单个核细胞热休克蛋白 27(HSP27)表达与多发性骨髓瘤(MM)临床特征的关系。**方法** 收集初治多发性骨髓瘤患者 86 例,复发难治患者 27 例,对照组为非血液系统恶性肿瘤患者,根据治疗方案的不同,MM 患者分为初治组、复发难治常规化疗组及含硼替佐米化疗组。分别于化疗前、化疗后 1、2、3 疗程检测骨髓单个核细胞 HSP27 的表达率及蛋白水平。**结果** 化疗前各组 HSP27 表达量及蛋白水平趋势为:复发难治组大于初治组大于对照组。初治组中Ⅲ期患者的 HSP27 明显高于Ⅱ期患者。含硼替佐米化疗方案可明显降低 HSP27 的表达及蛋白水平,含硼替佐米化疗方案抑制 HSP27 的表达力度明显优于常规化疗组。化疗后 1 个疗程 HSP27 的表达量小于 1 的患者,其死亡率、复发率明显低于 HSP27 表达量大于 1 的患者,且复发时间明显延后。**结论** 骨髓单个核细胞 HSP27 的表达及蛋白水平与多发性骨髓瘤的分期、治疗应答、预后相关。

**[关键词]** 多发性骨髓瘤;热休克蛋白类;预后;治疗应答**[中图分类号]** R559**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)35-4946-04

## The clinical value of HSP27 expression of bone marrow mononuclear cells in multiple myeloma\*

Wang Qing<sup>1</sup>, Zhang Meifang<sup>2</sup>, Guo Xiaoli<sup>1</sup>, Wang Lianghong<sup>3</sup>, Song Jun<sup>1</sup>,Yuan Bin<sup>4</sup>, Chen Chi<sup>5</sup>, Guo Pengxiang<sup>1</sup>, Zhu Hongqian<sup>1</sup>

(1. Department of Hematology, the People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550001, China;

2. Department of Internal Medicine, the People's Hospital of Xinle City, XinLe, Hebei 050700, China;

3. Immunology Teaching and Research Section, Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China;

4. Department of Hematology, Cancer Hospital of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550000, China; 5. Immunology Teaching and Research Section, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550001, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the relationship of HSP27 expression with treatment response, remission rate, prognosis in multiple myeloma(MM) patients. **Methods** Eighty-six patients with MM first diagnosis and 27 relapse cases were collected respectively. Control was defined as non-hematological malignance. The MM patients divided into first diagnosis, relapse conventional chemotherapy group and bortezomib group. HSP27 expression and protein level were measured on pre-and post 1, 2 and 3 treatment circles. **Results** The tendency of HSP expression and protein level; relapse-MM patients>first-diagnosis MM patients>control. HSP27 expression and level in Ⅲ phase was higher than those in Ⅱ phase for first-diagnosis MM patients. Bortezomib-containing chemotherapy protocol showed more effectively decrease on HSP27 than chemotherapy treatment only. At post-1 treatment circle, HSP27<1 showed higher survival rate than HSP27>1 and delayed the relapse time. **Conclusion** BMMNC-HSP27 expression and protein level is associated with staging, treatment response and prognosis in MM patients.

**[Key words]** multiple myeloma; heat-shock proteins; prognosis; treatment response

热休克蛋白(HSP)的作用主要体现为应激状态下的细胞保护作用(抗凋亡)<sup>[1]</sup>。然而, HSP 的这种细胞保护机制亦可促进肿瘤细胞增殖、转移、耐药抵抗的发生<sup>[2]</sup>。既往研究证实, HSP27 的表达与预后较差相关<sup>[3]</sup>。而在头、颈肿瘤中, HSP27 的表达却与预后无相关性<sup>[4]</sup>。上述研究表明尽管 HSP27 与肿瘤的发生、发展、生物学特性、转归相关, 但其在不同的肿瘤中的临床意义亦有不同。近年来, 国外学者通过体外、动物模型实验证实 HSP27 与多发性骨髓瘤(MM)的耐药相关, 并肯定了 HSP27 在 MM 中的过度表达<sup>[5-8]</sup>。然而, 尚无大宗针对 HSP27 的表达与 MM 关系的临床研究。本研究通过对 MM 骨髓单个核细胞(BMMNC)-HSP27 基因及蛋白表达水平的检

测, 初步探讨 HSP27 表达与 MM 治疗、缓解率、预后之间的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集本院 2010 年 8 月至 2013 年 12 月初治 MM 患者 86 例, 复发难治 MM 患者 27 例, 对照组为非血液系统恶性肿瘤患者(缺铁性贫血 42 例, 巨幼红细胞性贫血 25 例)。MM 的诊断、治疗、疗效评判标准参照 2008~2011 修订版《中国多发性骨髓瘤治疗指南》(2012 年搜集病例均采用 2011 修订版)。3 组患者在年龄构成、性别、分类、分期等方面比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。其中, MM 初治及复发难治组均以 IgG 型为主(45.35%, 44.44%), 分期以Ⅲ期为主(69.53%, 100%)。初治组与复发难治组的骨髓浆细胞比例分

表 1 各组 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

骨髓浆细胞比例	BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达水平				BMMNC-HSP27 的蛋白水平 (ng/mL)			
	初治组	复发难治组	对照组	P	初治组	复发难治组	对照组	P
≤5%亚组	1.98±0.67	2.47±0.94	1.00±0.12	0.012	78.36±24.88	84.13±30.05	47.71±13.12	0.025
>5%~10%亚组	1.83±0.52	2.25±0.71	1.00±0.12	0.025	80.69±27.48	88.96±29.74	47.71±13.12	0.013
>10%亚组	2.12±0.96	2.36±0.68	1.00±0.12	0.033	77.63±23.36	86.96±27.09	47.71±13.12	0.036
P	0.419	0.559	1.000		0.557	0.749	0.631	

布比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。初治组 86 例患者中, 46.51% 的患者选择常规化疗方案, 仅 9.31% 的患者选择含硼替佐米化疗方案。复发难治组中, 48.42% 的患者选择常规化疗方案, 51.58% 的患者选择含硼替佐米化疗方案。复发难治组选择硼替佐米者明显高于初治组。MM 患者均行多部位穿刺 ( $\geq 3$ ) 及骨髓活检, 每例标本由 3 名形态室人员阅片, 计数细胞大于或等于 500 个。

1.2 方法

1.2.1 骨髓单个核细胞 HSP27 的相对表达率测定 化疗前采集患者骨髓标本 5 mL, 采用密度梯度离心法获取 BMMNC, 采用 QRT-PCR 对 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达水平进行检测。BMMNC 的 HSP27 引物合成、相对表达率测定参照既往文献进行<sup>[9]</sup>。应用 7500 Sequence Detection Software 分析 (Applied Biosystems, Carlsbad, California, USA)。用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法做相对定量 (每样本重复 3 次)。

1.2.2 BMMNC HSP27 水平的 ELISA 测定 将上述步骤获取的 BMMNC 标本, 使用上海西塘生物科技有限公司提供的人 HSP27 ELISA 试剂盒, 按试剂说明书进行操作, 对 BMMNC 的 HSP27 水平进行测定。

1.2.3 分组 鉴于本研究为回顾性分析, 因此, 分组比较包括: (1) 初治、复发难治、对照组不同骨髓浆细胞亚组间的 BMMNC-HSP27 的 mRNA 及蛋白表达水平; (2) 初治、复发难治组间不同免疫分型亚组的 BMMNC-HSP27 的 mRNA 及蛋白表达水平; (3) 初治、复发难治常规化疗、含硼替佐米化疗组的 BMMNC-HSP27 在不同时间点的蛋白及 mRNA 表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析处理。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示。针对计量资料, 根据分组数 (是否  $> 2$ ) 选用独立样本 *t* 检验及单因素方差分析。单因素方差分析组内比较则根据方差齐性, 选取 LSD 法或 Game-Howell 法进行组内多重比较。针对 HSP27 与治疗应答的相关性, 采用重复测量的方差分析。分别对分组、时间因素的主效应、交互效应进行分析, 如 2 因素存在交互效应, 则应对其单独效应进行分析。如期望频数小于 5 或  $n < 30$ , 则采用 Fisher 精确概率法。检验水准  $\alpha = 0.05$ , 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨髓瘤患者与对照组 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平 初治、复发难治组不同骨髓浆细胞比例亚组间的 HSP27 mRNA 表达及蛋白水平比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 提示骨髓浆细胞比例的不同对 BMMNC-HSP27 的 mRNA 及蛋白水平表达无影响。此外, 在不同的骨髓浆细胞比例分组中均可观察到: 初治组、复发难治组的 BMMNC-HSP27 mRNA 表达水平均明显高于对照组, 组内多重比较表明复发难治组的 BMMNC-HSP27 相对表达率明显高于初治组。相同的趋势亦见于 BMMNC-HSP27 蛋白水平。ELISA

检验结果表明: BMMNC-HSP27 的蛋白水平, 初治组明显高于对照组, 而复发难治组则高于初治组, 见表 1。

2.2 MM 患者 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平在 MM 不同分型中的变化 初治、复发难治组的 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达在不同的分型中比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。初治、复发难治组的 BMMNC-HSP27 的蛋白水平在不同的骨髓瘤分型中比较差异均无统计学意义 ( $P = 0.609$ )。见表 2。

表 2 MM 患者 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平在 MM 不同分型中的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

分型	HSP27 mRNA 表达		HSP27 蛋白水平 (ng/mL)	
	初治组	复发难治组	初治组	复发难治组
IgG $\kappa/\lambda$	1.65±0.87	2.13±0.92	77.46±25.84	78.49±23.57
IgA $\kappa/\lambda$	1.83±0.91	1.97±1.14	76.58±23.17	79.62±26.91
IgD $\lambda$	1.74±0.77	2.00±0.80	80.41±27.96	83.80±28.99
轻链病	2.03±1.12	1.89±0.63	79.66±26.41	81.44±29.98
F	0.931	2.318	0.731	0.609
P	0.741	0.075	0.662	0.609

2.3 初治组患者 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平在 MM 不同分期中的变化 III 期 MM 患者 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达明显高于 II 期患者, 二者比较差异有统计学意义 ( $P = 0.004$ )。III 期患者 BMMNC-HSP27 的蛋白水平明显高于 II 期患者, 二者比较差异有统计学意义 ( $P = 0.009$ )。见表 3。

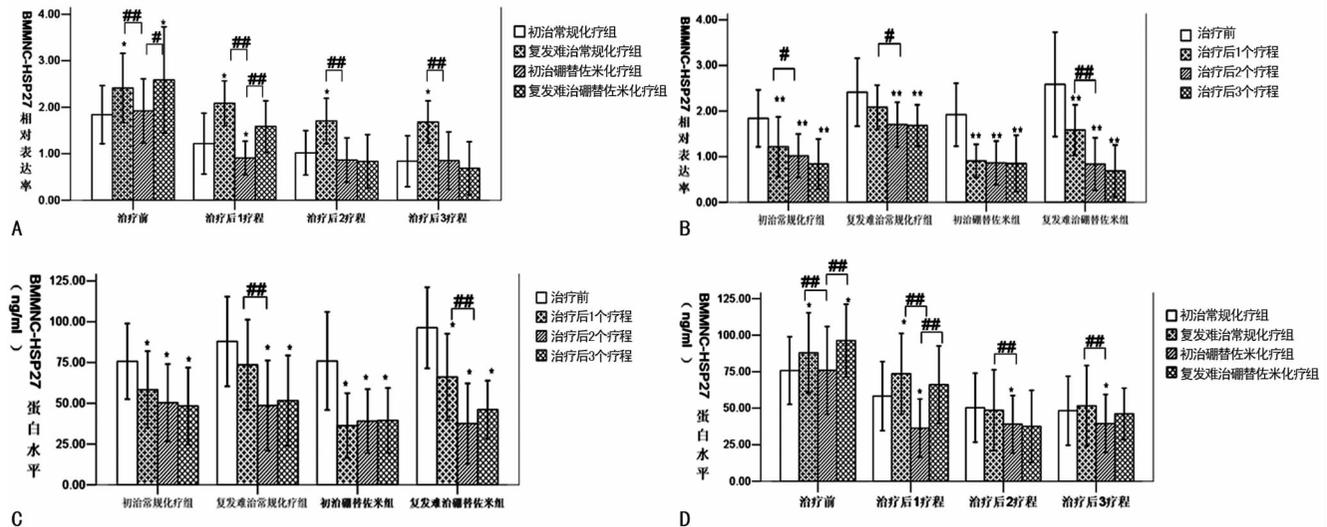
表 3 初治组患者 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平在 MM 不同分期中的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

分型	HSP27 mRNA 表达	HSP27 蛋白水平 (ng/mL)
II 型 ( $n = 39 \times 3$ )	1.59±0.90	75.02±17.73
III 型 ( $n = 74 \times 3$ )	2.23±0.83	82.88±29.72
<i>t</i>	-6.572	-2.641
P	0.004	0.009

2.4 MMNC-HSP27 的 mRNA 表达、蛋白水平与治疗应答的相关性 由图 1 可知: 分组、时间因素对 BMMNC-HSP27 相对表达率的影响具有显著性 (交互效应、分组、时间主效应  $P < 0.05$ )。固定时间因素可知: 治疗前、治疗后 1 个疗程 HSP27 的相对表达量从高到低均为复发难治硼替佐米化疗组、复发难治常规化疗组、初治硼替佐米化疗组及初治常规化疗组; 治疗后 2 疗程, 复发难治常规化疗组的 BMMNC-HSP27 表达最高 ( $1.70 \pm 0.49$ ), 其余 3 组虽低于复发难治常规化疗组, 但组间

比较差异无统计学意义 ( $1.02 \pm 0.48, 0.86 \pm 0.48, 0.54 \pm 0.58$ )。相同的趋势亦可于治疗后 3 个疗程观察到。固定分组因素: 初治常规化疗组的 BMMNC-HSP27 相对表达率在 1~2 个化疗周期内呈进行性降低, 但化疗后 2~3 个疗程间相比 HSP27 的表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 复发难治常规化疗组治疗后 1 个疗程 BMMNC-HSP27 的表达无明显变化, 于

治疗后 2~3 个疗程虽稍降低, 但降低幅度明显低于其余 3 组。初治硼替佐米化疗组中, 治疗后 1 个疗程, HSP27 的表达明显降低, 其后, 随疗程推移而保持相对稳定的状态; 复发难治硼替佐米化疗组中, HSP27 与化疗后 1~2 个疗程出现进行性降低, 但于化疗后 2~3 个疗程保持相对稳定状态。BMMNC-HSP27 的蛋白水平的变化趋势与 mRNA 变化大致相同。



\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , 与初治常规化疗组(治疗前)比较; #:  $P < 0.05$ , ##:  $P < 0.01$ , 组内两两比较。不同的条图模型代表不同的治疗状态(时间点)。误差棒代表标准差。

图 1 BMMNC-HSP27 mRNA 表达及蛋白水平在不同分组、不同时间点的变化趋势

**2.5** BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达、蛋白水平与预后的相关性 113 例患者中, 17 例失随访, 随访率为 84.96%。随访病例中, 放弃治疗 11 例, 转外地治疗 4 例, 2 例死于严重感染。剩余 96 例患者中, 40 例化疗后 1 个疗程时, BMMNC-HSP27 相对表达率小于 1, 56 例 BMMNC-HSP27 相对表达率大于 1。此 96 例患者随访时间为 6~24 个月, 中位随访时间为 15 个月。随访观察至 2014 年 3 月 1 日结束。BMMNC-HSP27 相对表达率大于 1 组中有 10 例患者死亡, 病死率为 17.85%; BMMNC-HSP27 相对表达率小于 1 组中, 2 例患者死亡, 病死率为 5.00%, 后者的病死率明显低于前者 ( $P < 0.05$ )。BMMNC-HSP27 相对表达率大于 1 组中有 23 例患者复发, 复发率为 46.00%, 复发时间为化疗后 ( $94 \pm 20$ ) d; BMMNC-HSP27 相对表达率小于 1 组中有 8 例患者复发, 复发率为 20.00%, 复发时间为化疗后 ( $155 \pm 23$ ) d, 后者的复发率明显低于前者 ( $P < 0.05$ ), 且复发时间明显高于前者 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

HSP27 存在于所有活体细胞表面, 其细胞保护作用可阻止应激状态细胞所致的细胞凋亡<sup>[10-12]</sup>。然而, 一系列的既往研究证实 HSP27 的过度表达往往在肿瘤的增殖、转移中起促进作用<sup>[13]</sup>。诸多文献虽证实 HSP27 的过度表达往往与 MM 的耐药相关, 且阻滞 HSP 的表达后, MM 的耐药突变可被逆转<sup>[14]</sup>, 但尚无动物及临床试验报道。其原因可能为: (1) 恶性浆细胞的非均一分布所致的样本浆细胞比例相差较大, 且骨髓单个核细胞中浆细胞比例极低; (2) 对于治疗有效的病例, 骨髓中浆细胞逐渐下降甚至消失, 在此背景下, 鉴于分组、时间点不同, 所得单个核细胞中的成分区别巨大, 如仍按照体外研究的模式将研究对象界定于 MM 细胞, 即使使用流式细胞仪等技术对标本进行纯化, 亦无法保证不同人群及不同时间点的骨髓

瘤细胞 HSP27 表达一定具有可比性。

与体外研究不同, 本研究选用 BMMNC 作为研究对象以评估 HSP 表达与 MM 临床特征、疗效、预后的相关性。研究证实骨髓浆细胞比例并不影响 BMMNC-HSP27 的 mRNA 表达及蛋白水平, 在不同骨髓浆细胞比例组中, 初治组及复发难治组的 mRNA 表达及蛋白水平均存在差异, 该结果表明 MM 细胞水平的变化并不足以影响总体 BMMNC-HSP 的表达及蛋白水平。进一步的分析表明 BMMNC-HSP27 的表达与分期无关, 而与分期相关。此外, 对 BMMNC-HSP27 表达量及蛋白水平的持续监测证实含硼替佐米的化疗方案可明显降低 HSP27 的表达及蛋白水平, 且抑制 BMMNC-HSP27 的表达力度明显优于常规化疗组。治疗状态的比较证实初治患者中, BMMNC-HSP27 表达及蛋白水平明显降低, 且可一直维持相对较低状态。而复发难治的常规化疗患者, BMMNC-HSP27 表达无明显改变。即使加用硼替佐米后, BMMNC-HSP27 的表达量及蛋白水平略微下降, 但仍低于初治硼替佐米化疗组的患者下降幅度。该结果表明化疗后 BMMNC 的 HSP27 表达量及蛋白水平可用于监测治疗应答。而对预后的判定则证实 BMMNC-HSP27 与复发率、复发时间、死亡率相关。本研究结果表明化疗后 1 个疗程 BMMNC-HSP27 的表达量小于 1 的患者, 其病死率、复发率明显低于 BMMNC-HSP27 表达量大于 1 的患者, 且复发时间明显延后。

本研究的意义在于证实 BMMNC-HSP27 的表达对于 MM 的诊疗及预后评估有一定的监测意义。将 HSP27 作为治疗靶点或可改善 MM 的疗效, 并对新药物、新化疗方案的设定、论证起一定的辅助证明作用。本研究中, 含硼替佐米的化疗方案无论对于初治、还是复发难治的患者均可明显降低 HSP27 的表达及蛋白水平, 提示硼替佐米或可通过下调

HSP27 的表达,促进 MM 细胞的凋亡。

## 参考文献

- [1] Acunzo J, Katsogiannou M, Rocchi P. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1),  $\alpha$ B-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(10):1622-1631.
- [2] Mcconnell JR, Mcalpine SR. Heat shock proteins 27, 40, and 70 as combinational and dual therapeutic cancer targets[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(7):1923-1928.
- [3] Zoubeydi A, Gleave M. Small heat shock proteins in cancer therapy and prognosis[J]. *Intern J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(10):1646-1656.
- [4] Khalil AA, Kabapy NF, Deraz SF, et al. Heat shock proteins in oncology: Diagnostic biomarkers or therapeutic targets? [J]. *BBA-Reviews on Cancer*, 2011, 1816(2):89-104.
- [5] Yasui H, Hideshima T, Ikeda H, et al. BIRB 796 enhances cytotoxicity triggered by bortezomib, heat shock protein (Hsp) 90 inhibitor, and dexamethasone via inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase/Hsp27 pathway in multiple myeloma cell lines and inhibits paracrine tumour growth[J]. *Br J Haematol*, 2007, 136(3):414-423.
- [6] Navas TA, Nguyen AN, Hideshima T, et al. Inhibition of p38alpha MAPK enhances proteasome inhibitor-induced apoptosis of myeloma cells by modulating Hsp27, Bcl-X (L), Mcl-1 and p53 levels in vitro and inhibits tumor growth in vivo[J]. *Leukemia*, 2006, 20(6):1017-1027.
- [7] Chauhan D, Li G, Auclair D, et al. 2-Methoxyestardiol and bortezomib/proteasome-inhibitor overcome dexamethasone-resistance in multiple myeloma cells by modulating Heat Shock Protein-27[J]. *Apoptosis*, 2004, 9(2):149-155.
- [8] Chauhan D, Li G, Shringarpure R, et al. Blockade of Hsp27 overcomes Bortezomib/proteasome inhibitor PS-341 resistance in lymphoma cells[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(19):6174-6177.
- [9] Tsai JR, Liu PL, Chen YH, et al. Ginkgo biloba extract decreases non-small cell lung cancer cell migration by downregulating metastasis-associated factor heat-shock protein 27[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e91331.
- [10] Katsogiannou M, Andrieu C, Rocchi P. Heat shock protein 27 phosphorylation state is associated with cancer progression[J]. *Front Genet*, 2014, 5:346.
- [11] Zhang L, Fok JH, Davies FE. Heat shock proteins in multiple myeloma[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(5):1132-1148.
- [12] Vidyasagar A, Wilson NA, Djmal A. Heat shock protein 27 (HSP27): biomarker of disease and therapeutic target [J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2012, 5(1):7.
- [13] Jegou G, Hazoume A, Seigneuric R, et al. Targeting heat shock proteins in cancer[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(2):275-285.
- [14] Chauhan D, Li G, Hideshima T, et al. Hsp27 inhibits release of mitochondrial protein Smac in multiple myeloma cells and confers dexamethasone resistance [J]. *Blood*, 2003, 102(9):3379-3386.
- (收稿日期:2015-06-20 修回日期:2015-08-18)
- (上接第 4945 页)
- 变程度与冠心病危险因素的关系[J]. *同济大学学报:医学版*, 2007, 28(1):83-88.
- [7] 陆鏊, 张颖, 陆丕能. 高血压病患者的冠心病危险因素分析[J]. *疑难病杂志*, 2003, 2(1):10-12.
- [8] Franklin SS, Larson MG, Khan SA, et al. Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study[J]. *Circulation*, 2001, 103(9):1245-1249.
- [9] 杨震坤, 沈卫峰, 翁迪斌, 等. 高血压病患者脉压与冠心病危险性的相关性分析[J]. *中华心血管病杂志*, 2002, 30(6):325-327.
- [10] 张玉美, 韩雅玲, 荆全民, 等. 冠心病患者血脂异常与冠状动脉病变的相关性分析[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2012, 20(3):126-129.
- [11] Rasheed A, Habib S, Dar MI, et al. Effect of risk factors like age, gender, hypertension, diabetes, smoking, dyslipidemia on coronary artery disease in Karachiites with angiographical data of local population: Number, site, severity of coronary lesion[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27(6 (Special)):2207-2212.
- [12] Andersen KK, Andersen ZJ, Olsen TS. Age- and gender-specific prevalence of cardiovascular risk factors in 40 102 patients with first-ever ischemic stroke; a Nationwide Danish Study [J]. *Stroke*, 2010, 41(12):2768-2774.
- [13] Wong MC, Zhang de X, Wang HH. Rapid emergence of atherosclerosis in Asia; a systematic review of coronary atherosclerotic heart disease epidemiology and implications for prevention and control strategies[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2015, 26(4):257-269.
- [14] Murphy E, Vellinga A, Byrne M, et al. Primary care organisational interventions for secondary prevention of ischaemic heart disease; a systematic review and meta-analysis[J]. *Br J Gen Pract*, 2015, 65(636):e460-468.
- [15] Mons U, Muezzinler A, Gellert C, et al. Impact of smoking and smoking cessation on cardiovascular events and mortality among older adults; meta-analysis of individual participant data from prospective cohort studies of the CHANCES consortium[J]. *BMJ*, 2015, 350:h1551.
- (收稿日期:2015-06-10 修回日期:2015-08-04)