文章编号:1000-5404(2014)09-0873-05

论著

食管鳞癌及癌前病变组织中紧密连接蛋白 claudin3 和 4 的表达及临床病理意义

徐 胤, 王 璞, 沈才飞, 李婧文, 张安然, 邵顺子, 于晓娜, 张昊翔, 闫 武, 夏一菊, 房殿春 (400038 重庆, 第三军医大学西南医院全军消化病研究所)

[摘要] **目的** 检测紧密连接蛋白 claudin3、claudin4 在食管鳞状细胞癌及癌前病变组织中的表达,探讨二者表达的临床病理学意义。**方法** 应用组织芯片联合免疫组化 EnVision 法检测 claudin3、claudin4 在 93 例食管鳞癌、20 例异型增生组织、20 例食管炎和 15 例正常食管上皮组织中的表达水平。**结果** claudin3 在正常食管上皮、食管炎、异型增生及食管鳞癌中的表达率分别为 6.7%(1/15)、20.0%(4/20)、30.0%(6/20)、43.0%(40/93),癌组织阳性率最高,正常食管上皮组织阳性率最低,差异有统计学意义($P<0.05$),食管癌阳性率较正常食管上皮明显升高($P<0.05$),异型增生及食管炎的表达较正常组织差异并无显著性($P>0.05$)。claudin4 在正常食管上皮、食管炎、异型增生及食管鳞癌中的表达率分别为 33.3%(5/15)、35.0%(7/20)、40.0%(8/20)、45.2%(42/93),各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。claudin3 和 claudin4 表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、病理分级及浸润深度无相关性($P>0.05$),但有淋巴结转移者的阳性率较无淋巴结转移者低($P<0.05$),且死亡组的阳性率较生存组低($P<0.05$);claudin3 和 claudin4 在食管鳞癌中表达存在显著相关性($\chi^2=8.520$, $K=0.302$, $P=0.004$),但两种表达无统计学差异($P>0.05$);生存分析发现 claudin3 和 claudin4 表达阳性组的术后生存率高于表达阴性组($P<0.05$)。**结论** claudin3 可能参与了食管鳞癌的发生,有淋巴结转移时 claudin3 和 claudin4 的表达出现下调,claudin3 和 claudin4 有可能成为判断食管鳞癌预后的分子标志物。

[关键词] Claudin;组织芯片;食管鳞癌;预后
[中图法分类号] R341; R730.23; R735.1 [文献标志码] A

Expression and clinicopathological significance of claudin 3 and 4 in esophageal squamous carcinoma and precancerous lesion

Xu Yin, Wang Pu, Sheng Caifei, Li Jingwen, Zhang Anran, Shao Shunzi, Yu Xiaona, Zhang Haoxiang, Yan Wu, Xia Yiju, Fang Dianchun (Institute of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression of claudin 3 and claudin 4 in esophageal squamous carcinoma and its precancerous lesion, and investigate the clinicopathological significance of the expression. **Methods** Tissue microarray technology and immunohistochemical assay (Envision) were used to detect the expression of claudin 3 and 4 in 93 tissue samples of esophageal squamous carcinoma, 20 samples of dysplasia, 20 samples of esophagitis and 15 cases of normal esophageal mucosal tissues. **Results** Claudin 3 was expressed in only 1 case of normal esophageal mucosa (6.7%), 4 cases of esophagitis (20.0%), 6 cases of dysplasia (30.0%) and 40 cases of squamous carcinoma (43.0%). The positive rate was the highest in cancer tissue, and the lowest in normal esophageal tissue, with significant difference between them ($P<0.05$). The rate was obviously higher in the cancer tissue than in normal tissue ($P<0.05$), but no difference was seen among the normal tissue, dysplasia and esophagitis tissue ($P>0.05$). Claudin 4 expression was found in 5 cases of normal esophageal mucosa (33.3%), 7 cases of esophagitis (35.0%), 8 cases of dysplasia (40.0%) and 42 cases of squamous carcinoma (45.2%), without significant difference among these groups ($P>0.05$). The expression of claudin 3 and 4 was not associated with other clinicopathologic factors, such as sex, age, tumor size, pathological grade and infiltration ($P>0.05$), but obviously negatively associated with

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81071727)
[通信作者] 房殿春,E-mail: fangdianchun@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140225.0922.004.html(2014-02-25)

lymphatic metastasis and patient survival ($P<0.05$). The expression of claudin 3 and 4 was significantly correlated with each other (*Chi*-sqaure = 8.520, $K=0.302$, $P=0.004$), but had no significant difference in esophageal squamous carcinoma ($P>0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that the survival rate in patients with claudin3 and 4 expression was significantly higher than those without ($P<0.05$). **Conclusion** Claudin 3 may participate in the occurrence of esophageal squamous carcinoma. Down-regulation of claudin 3 and 4 is associated with lymphatic metastasis in esophageal squamous carcinoma, and they might serve as potential markers for prognosis of esophageal squamous carcinoma.

[**Key words**] claudin; tissue microarray; esophageal squamous; prognosis

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81071727). Corresponding author: Fang Dianchun, E-mail: fangdianchun@hotmail.com

食管癌为世界范围内的常见肿瘤,亚洲是食管癌的高发区。据我国癌症防控办公室统计,我国食管癌的发病率为22.14/10万,居所有肿瘤第5位,病死率为16.77%,居所有恶性肿瘤的第4位[1]。食管癌的根治以手术治疗为主,但术后患者的预后通常较差,5年生存率仅为20%左右。转移和复发仍是影响食管癌预后的主要因素。寻找食管癌发生、发展的分子标志物对食管癌的防治有重要意义。

多细胞生物相邻的上皮细胞或内皮细胞之间存在连接复合体(junctional complex),该复合体从细胞的表面至基膜依次由紧密连接(tight junction,TJ)、黏附连接(adherens junction)和桥粒(desmosome)3部分构成。claudin蛋白是紧密连接结构与功能的重要组成成分,能与其他结构蛋白和信号蛋白协同作用,在维持紧密连接的结构和功能方面发挥重要作用。claudin表达的异常将破坏上皮渗透屏障,使细胞极性丧失,细胞间黏附力下降,导致多种肿瘤的发生和发展[2-5]。本研究采用免疫组化方法检测了食管鳞癌、异型增生、食管炎及正常食管组织中claudin蛋白3、4的表达,并分析了claudin蛋白3、4与食管鳞癌患者相关临床和病理特征及预后间的关系,探讨其在食管癌发生、发展的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

收集2008年7月至2009年12月在我院病理科存档的手术切除食管鳞癌标本93例。患者术前均未接受放化疗和放疗,均有完整的临床和病理资料。其中男性71例,女性22例;平均年龄64(49~85)岁;组织学分级参照2009年WHO食管癌分类标准:Ⅰ级15例,Ⅱ级63例,Ⅲ级15例;肿瘤最大直径1.7~10 cm,平均4.3 cm;有淋巴结转移44例,无淋巴结转移49例;肿瘤浸润深度 T_1~T_2 29例,T_3~T_4 64例。另收集内镜下取材的标本,包括正常食管上皮组织15例,食管炎20例,异型增生标本20例,其中轻度不典型增生6例,中度6例,重度8例。取材后立即中性福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片,厚4 μm,先HE染色,进行病理学诊断。患者均签署知情同意书。所有病例由2位病理医师复诊确认。

1.2 组织芯片制作

根据所选标本的HE切片确定并标记目的区域,在对应的供体石蜡块上做好标记。制作可容纳172个直径为2 mm的组织芯的受体石蜡块。用组织芯片仪在受体蜡块上打孔,孔深3 mm。采用同样的方法用另一粗针在标记好的供体蜡块上采集组织芯。然后将采集的组织芯放入受体蜡块的孔内,按平组织芯。将组织芯蜡块放入60 ℃烤箱1 h,然后室温下冷却30 min,再放入-20 ℃冰箱内冷却6 min。最后常规石蜡切片。

1.3 免疫组化

采用EnVision二步法。一抗兔抗人claudin3、4购于Abcam公司,二抗通用型试剂盒购于北京中杉金桥公司。主要操作步骤如下,将制备好的组织片置于60 ℃烤箱2 h,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,微波热修复,3%过氧化氢阻断内源性过氧化物15 min,正常羊血清封闭30 min,分别滴加一抗claudin3(1∶800稀释)、claudin4(1∶600稀释)后放于湿盒中,4 ℃冰箱过夜;次日加EnVision通用型二抗常温孵育30 min,DAB染色,苏木精复染,盐酸乙醇分化,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.4 结果判读

按染色强度及阳性细胞数占总细胞的百分比综合判断结果。首先按染色强度评分:无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;然后阳性占总细胞的百分比评分:阳性细胞率为≤5%、>5%~35%、>35%~65%、>65%分别判定为0、1、2、3分;综合判定为两项乘积:0~2分为阴性,3~9分为阳性。判定过程由2名病理医师单独完成,取其平均值。

1.5 病例随访

93例患者均获随访资料,随访时间为3~4年,末次随访时间为2012年11月30日。截止到末次随访时间有53例患者死亡,40例存活。

1.6 统计学分析

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析。claudin3、claudin4在不同组间的表达比较用 χ^2 检验,claudin3、claudin4表达的关系用McNemanr检验和Kappa检验,生存分析用Kaplan-Meier法,组间比较用Log-rank检验。

2 结果

2.1 claudin3、claudin4 在食管鳞癌、异型增生、食管炎及正常食管上皮中的表达

claudin3 和 claudin4 蛋白主要定位在细胞膜，呈棕黄色染色，部分表达在细胞质和细胞核（图 1）。claudin3 在 93 例食管鳞癌病例中有 40 例阳性，阳性率为 43.0%；20 例异型增生组织中有6 例阳性，阳性率为 30.0%；20 例食管炎中有 4 例阳性，阳性率为 20.0%；正常食管上皮表达较少，15 例中仅有 1 例，阳性率为 6.7%。claudin3 的表达从正常食管上皮组织到癌组织呈逐渐升高的趋势，癌组织阳性率最高，正常食管上皮组织阳性率最低，差异有统计学意义（$P<0.05$），食管癌的阳性率较正常食管上皮明显升高（$P<0.05$），但异型增生及食管炎的表达较正常组织并无显著性差异（$P>0.05$）。claudin4 在 93 例食管鳞癌病例中有 42 例阳性，阳性率 45.2%；在 20 例异型增生组织中有 8 阳性，阳性率 40.0%；在 20 例性食管炎中有 7 例阳性，阳性率 35.0%；15 例正常食管上皮中有 5 例阳性，阳性率 33.3%，虽然 claudin4 表达的阳性率从正常食管上皮组织到癌组织亦逐渐升高，但各组间无显著差别（$P>0.05$）。claudin3、claudin4 在不同程度异型增生组织中的阳性率亦无显著差别（$P>0.05$）。

2.2 claudin3、claudin4 的表达与食管鳞癌临床病理参数的关系

claudin3 和 claudin4 的表达与肿瘤有无淋巴结转移和生存状态相关，有淋巴结转移者的阳性率低于无淋巴结转移的阳性率（$P<0.05$）。claudin3 和 claudin4 在死亡组的表达较生存组低（$P<0.05$）。claudin3 和 claudin4 表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、病理分级及浸润深度则无相关性（$P>0.05$），见表 1。

2.3 食管鳞癌组织中 claudin3 和 claudin4 蛋白表达的关系

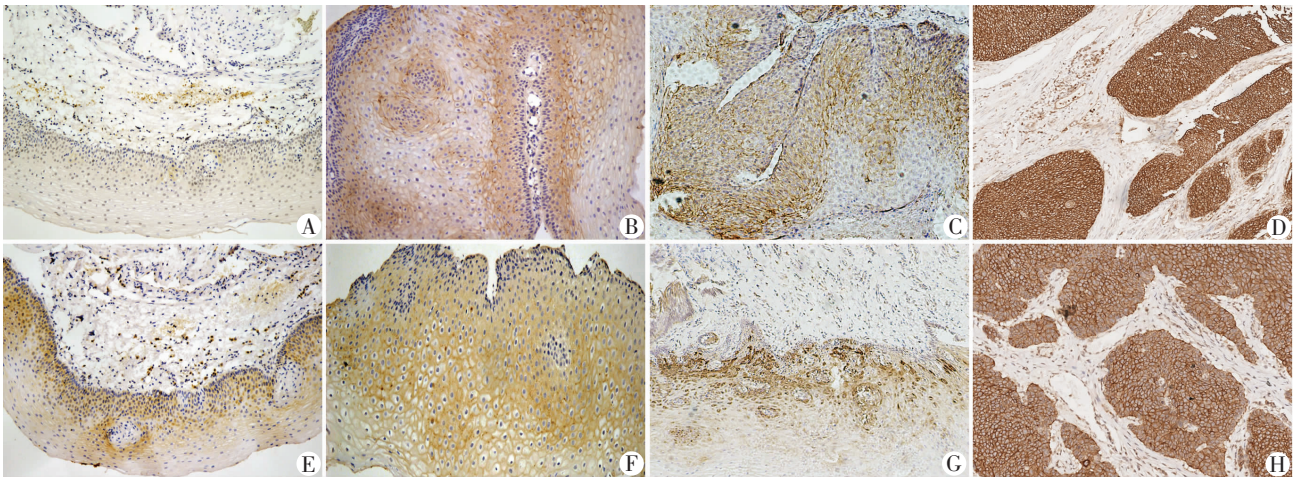
claudin3 和claudin4在食管鳞癌中表达存在显著相关性（$\chi^2=8.520$，$K=0.302$，$P=0.004$），但两种表达无显著差异（McNemar 检验，$P>0.05$，表 2）。

表 1 claudin3、claudin4 的表达与食管鳞癌临床病理参数的关系

临床病理参数	n	Claudin3 表达			P 值	claudin4 表达			P 值
		+	−	阳性率(%)		+	−	阳性率(%)	
性别									
男	71	29	42	40.8	0.449	30	41	42.3	0.311
女	22	11	11	50.0		12	10	54.5	
年龄									
≤60 岁	35	19	16	54.3	0.088	17	18	48.6	0.608
>60 岁	58	21	37	36.2		25	33	43.1	
肿瘤最长径									
<5 cm	62	27	35	43.5	0.882	29	33	46.8	0.658
≥5 cm	31	13	18	41.9		13	18	41.9	
分化程度									
高	15	8	7	53.3	0.310	6	9	40.0	0.788
中	63	28	35	44.4		30	33	47.6	
低	15	4	11	26.7		6	9	40.0	
浸润深度									
T_1～T_2	29	14	15	48.3	0.490	13	16	44.8	0.965
T_3～T_4	64	26	38	40.6		29	35	45.3	
淋巴结转移									
有	44	14	30	31.8	0.039	15	29	34.1	0.042
无	49	26	23	53.1		27	22	55.1	
生存状态									
生存	40	26	14	65.0	0.000	23	17	57.5	0.038
死亡	53	14	39	26.4		19	34	35.8	

表 2 食管鳞状细胞癌组织中 claudin3 和 claudin4 蛋白表达的关系

Claudin4 表达	Claudin3 表达		P 值	*Kappa* 值
	+	−		
+	25	17	0.860（McNemanr 检验）	0.302
−	15	36	0.004（Kappa 检验）	



A～D：分别为 claudin3 在正常食管上皮、食管炎、异型增生、食管鳞癌组织中的表达；E～H：分别为 claudin4 在正常食管上皮、食管炎、异型增生、食管鳞癌组织中的表达

图 1 claudin3、claudin4 在食管鳞癌、异型增生、食管炎及正常食管上皮组织中的表达 （EnVision ×200）

2.4 claudin3和claudin4的表达与食管鳞癌预后的关系

截止到末次随访时间,93例食管鳞癌患者中最短生存期为0.1个月,最长者为52.0个月,平均生存期25.6个月,生存期中位数为27.0个月。Kaplan-Meier生存分析发现,食管鳞癌患者claudin3和claudin4阴性组的平均生存时间分别为24.1个月和26.3个月,而阳性组的平均生存时间分别为38.0个月和34.5个月,claudin3和claudin4表达阴性组的生存率显著低于表达阳性组的生存率($P<0.05$),见图2。

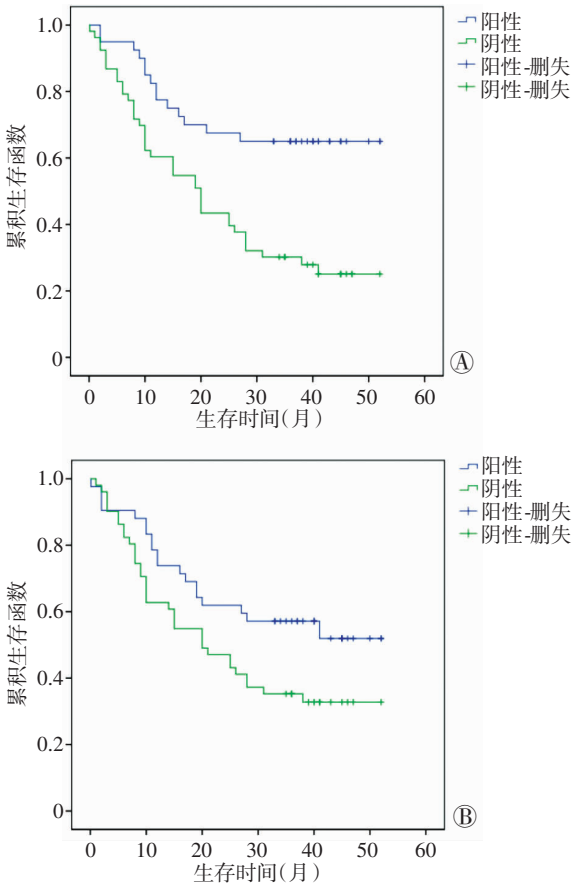


图2 claudin3、claudin4表达与食管鳞癌预后的Kaplan-Meier生存曲线

3 讨论

食管鳞癌的发生通常经历从正常食管上皮-食管炎-异型增生-食管癌的系列演变过程。TJ是维持上皮细胞内环境稳定的重要结构,claudin蛋白是TJ结构与功能的重要组成成分。癌组织形成的主要特征是TJ的破坏、黏附性消失、细胞获得侵袭性和正常分化的缺失[2]。不同的claudin成员以多种组合方式参与构成紧密连接,增加了紧密连接的结构和功能的多样性,为不同组织类型屏障功能的多样性提供了分子基础。研究表明,claudin在多种上皮来源的肿瘤中表达异常,推测其在这些肿瘤的发生及发展过程中可能发挥一定的作用。Gyorffy等[6]研究发现正常食管上皮细胞claudin4在复层鳞状上皮细胞的基底部细胞膜成蜂窝状表达,未见claudin3表达。Bjorkman等[7]发现食管炎黏膜claudin4的表达明显减低,其表达取决于反流物和胆酸浓度,而食管鳞癌上皮claudin4表达无明显变化。本研究发现claudin3在正常食管上皮、食管炎、异型增生及鳞癌组织中的表达呈依次增高趋势,虽然异型增生及食管炎的表达较正常组织并无显著性差异,但食管鳞癌的表达明显较正常食管组织增高,提示claudin3可能参与了食管鳞癌的发生,这可能与claudin3的表达促进了肿瘤的增殖能力有关[8],而claudin4在不同组织中的表达并无差异,似与食管鳞癌的发生并无密切关系。

影响食管癌预后的主要因素是肿瘤的浸润和转移。claudin及其他紧密连接蛋白的表达下调或缺失已被认为是肿瘤转移和细胞与细胞之间黏附力丧失的重要步骤,可能导致肿瘤细胞的凝聚力降低、去分化及侵袭性增加,参与了癌细胞转移过程。已有研究发现claudin3和claudin4在多种肿瘤组织中表达异常与肿瘤的转移和预后密切相关。Matsuda等[9]研究发现,在胃癌组织边缘,claudin4的表达减少与肿瘤的浸润深度及分期明显相关,提示claudin4表达的减少参与了肿瘤的浸润和转移。本研究发现食管鳞癌claudin3的表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、病理分级及浸润深度无关,但有淋巴结转移的阳性率明显低于无淋巴结转移者,Takala等[10]也发现claudin3在食管癌中表达升高,但在食管癌存在远处转移时其表达下调或缺失。因此,claudin3的表达在食管癌早期筛查和食管癌转移中,具有不同的意义。同时我们也发现claudin4在伴有淋巴结转移的食管鳞癌表达下调,提示claudin3、claudin4表达下调可能导致肿瘤细胞的凝聚力降低,易于发生失巢,获得转移潜能,这与肿瘤上皮-间质转化EMT的过程有关[11]。我们还通过Kaplan-Meier生存分析发现食管鳞癌患者claudin3和claudin4表达阴性组的平均生存时间显著短于表达阳性组,提示claudin3和claudin4的表达程度可能与食管鳞癌的预后密切相关,可作为判断食管鳞癌预后的标志物。Song等[12]的研究也得出相似的结论。

本研究表明claudin3的表达异常在食管鳞癌的发生、发展中可能起重要作用。claudin3和claudin4的表达降低可能是导致食管鳞癌的淋巴结转移和患者预后不良的重要因素,有可能成为评价患者预后的重要标志物。由于claudin3和claudin4表达的减少和缺失是导致食管鳞癌转移的重要原因,因此,激活此类蛋白的表达,恢复细胞间正常紧密连接结构,有可能阻止食管鳞癌的侵袭转移,成为抑制食管鳞癌侵袭和转移的重要靶点。深入开展这方面的研究有可能为食管鳞癌的抗转移治疗开辟一条新的途径。

参考文献：

[1] Chen W, He Y, Zheng R, *et al*. Esophageal cancer incidence and mortality in China, 2009[J]. J Thorac Dis, 2013, 5(1): 19-26.

[2] Webb P G, Spillman M A, Baumgartner H K. Claudins play a role in normal and tumor cell motility[J]. BMC Cell Biol, 2013, 14: 19.

[3] Zhu J L, Gao P, Wang Z N, *et al*. Clinicopathological significance of claudin-4 in gastric carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2013, 11: 150.

[4] Borka K, Kaliszky P, Szabo E, *et al*. Claudin expression in pancreatic endocrine tumors as compared with ductal adenocarcinomas[J]. Virchows Arch, 2007, 450(5): 549 - 557.

[5] Runkle E A, Mu D. Tight junction proteins: from barrier to tumorigenesis[J]. Cancer Lett, 2013, 337(1): 41-48.

[6] Gyorffy H, Holczbauer A, Nagy P, *et al*. Claudin expression in Barrett's esophagus and adenocarcinoma[J]. Virchows Arch, 2005, 447(6): 961-968.

[7] Bjorkman E V, Edebo A, Oltean M, *et al*. Esophageal barrier function and tight junction expression in healthy subjects and patients with gastroesophageal reflux disease: functionality of esophageal mucosa exposed to bile salt and trypsin *in vitro*[J]. Scand J Gastroenterol, 2013, 48(10): 1118-1126.

[8] Soini Y, Tommola S, Helin H, *et al*. Claudins 1, 3, 4 and 5 in gastric carcinoma, loss of claudin expression associates with the diffuse subtype[J]. Virchows Arch, 2006, 448(1): 52-58.

[9] Matsuda Y, Semba S, Ueda J, *et al*. Gastric and intestinal claudin expression at the invasive front of gastric carcinoma[J]. Cancer Sci, 2007, 98(7): 1014-1019.

[10] Takala H, Saarnio J, Wiik H, *et al*. Claudins 1, 3, 4, 5 and 7 in esophageal cancer: loss of claudin 3 and 4 expression is associated with metastatic behavior[J]. APMIS, 2007, 115(7): 838 - 847.

[11] Lin X, Shang X, Manorek G, *et al*. Regulation of the epithelial-mesenchymal transition by claudin-3 and claudin-4[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e67496.

[12] Song C O, Han S Y, Kim S H. Low expression of claudin-4 is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2011, 18(1): 273-281.

（收稿：2014-01-04；修回：2014-01-25）
（编辑 王 红）

（上接859页）

动。12周开始正常负重行走[4]。半年内佩带护踝，并限制患者参加体育活动。

2 结果

急性闭合性跟腱断裂组与开放性跟腱断裂组间年龄、性别构成比无显著差异。104例（闭合性56例，开放性48例）获得随访，平均12.2（8～18）个月。按Arner-Lindholm疗效评定标准[5]，闭合性跟腱断裂组：优53例（94.6%），良3例（5.4%）；开放性跟腱断裂组：优44例（91.7%），良4例（8.3%）；无伤口感染、跟腱愈合不良、腓肠神经损伤、复发跟腱断裂或缝线排异。

3 讨论

急性跟腱断裂是常见的运动系统损伤。目前的治疗倾向于手术治疗[6]。但是传统开放手术暴露范围广、术中创伤过大，导致术后感染、跟腱延迟愈合、粘连加重等并发症；经皮跟腱吻合技术虽然可以减少软组织损伤，但增加了局部感染以及腓肠神经损伤的可能[7-8]。2002年Assal等[3]结合开放手术与经皮技术的优势发明了Achillon微创跟腱吻合器械。Huffard等[9]通过尸体手术证实，Achillon微创跟腱吻合较Krackow吻合可使修复后跟腱获得更高的抗张强度。

本组104例患者取得了良好的疗效，在严格掌握开放性跟腱断裂一期手术吻合指征的情况下，该方法对开放性跟腱断裂同样可以取得非常良好的疗效，无伤口感染、跟腱愈合不良、腓肠神经损伤、复发跟腱断裂或缝线排异。在手术过程中，我们通过以下方法来完成精确对合：①确保缝线与跟腱纵轴垂直，防止缝合后跟腱扭曲及偏移发生；②防止矢状位缝合偏心；③最远端穿线孔距跟腱断端距离大于1 cm即可；④注意防止跟腱之间缝隙过宽或过紧。

Achillon跟腱吻合器辅助跟腱吻合手术切口小，可利用开放性损伤的创口进行手术操作，最大限度保护了跟腱的血供；减少了腓肠神经损伤的可能；缝线不外露，减少了术后感染的发生。因此，该技术对于跟腱断裂是一种理想的早期吻合手段。

参考文献：

[1] Chen T M, Rozen W M, Pan W R, *et al*. The arterial anatomy of the Achilles tendon: anatomical study and clinical implications[J]. Clin Anat, 2009, 22(3): 377-385.

[2] Wilkins R, Bisson L J. Operative versus nonoperative management of acute Achilles tendon ruptures: a quantitative systematic review of randomized controlled trials[J]. Am J Sports Med, 2012, 40(9): 2154-2160.

[3] Assal M, Jung M, Stern R, *et al*. Limited open repair of Achilles tendon ruptures: a technique with a new instrument and findings of a prospective multicenter study[J]. J Bone Joint Surg Am, 2002, 84-A(2): 161-170.

[4] Storm A C, Casillas M M. Achilles tendon rehabilitation [J]. Foot Ankle Clin, 2009, 14(4): 773-782.

[5] Zheng L, Zhang X S, Dong Z G, *et al*. One-staged reconstruction of Achilles tendon and overlying skin defects with suppuration: using peroneus brevis tendon transfer and reversed sural neurofasciocutaneous flap[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2011, 131(9): 1267-1272.

[6] Weatherall J M, Mroczek K, Tejwani N. Acute achilles tendon ruptures[J]. Orthopedics, 2010, 33(10): 758-764.

[7] Aibinder W R, Patel A, Arnouk J, *et al*. The rate of sural nerve violation using the Achillon device: a cadaveric study[J]. Foot Ankle Int, 2013, 34(6): 870-875.

[8] Soroceanu A, Sidhwa F, Aarabi S, *et al*. Surgical versus nonsurgical treatment of acute Achilles tendon rupture: a meta-analysis of randomized trials[J]. J Bone Joint Surg Am, 2012, 94(23): 2136-2143.

[9] Huffard B, O'Loughlin P F, Wright T, *et al*. Achilles tendon repair: Achillon system *vs*. Krackow suture: an anatomic *in vitro* biomechanical study[J]. Clin Biomech (Bristol, Avon), 2008, 23(9): 1158-1164.

（收稿：2014-01-17；修回：2014-03-24）
（编辑 栾 嘉）