

## 108 例结肠癌患者 HER2 基因表达及其意义

熊欢<sup>1</sup>, 张忠来<sup>2</sup>, 赖斌<sup>2</sup>, 罗洪亮<sup>2</sup>, 朱培谦<sup>2△</sup>

(1. 九江学院附属医院普外科, 江西九江 332000; 2. 南昌大学第二附属医院胃肠外科, 南昌 330006)

**摘要:**目的 检测 HER2 基因在临床结肠癌组织中的表达与患者临床病理特征的关联, 同时分析其对结肠癌细胞增殖及细胞周期的影响。方法 收集结肠癌患者癌组织及对应的癌旁组织 108 例, 应用原位杂交和荧光定量 PCR 技术检测结肠癌组织及对应癌旁组织中 HER2 基因的表达水平, 分析 HER2 基因表达与患者临床病理特征之间的关系。降低 SW480 和 LoVo 结肠癌细胞中 HER2 的表达, 运用 MTT 比色法检测结肠癌细胞增殖情况, 利用流式细胞技术检测结肠癌细胞周期的变化情况。结果 原位杂交结果表明, 在 108 例结肠癌组织中 HER2 阳性表达率为 66.67%, 对应癌旁组织中的阳性表达率为 10.19%, 两者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 荧光定量 PCR 结果进一步显示, 61.11% (66/108) 的结肠癌组织 HER2 表达显著高于对应的癌旁组织 ( $P < 0.05$ ); 结肠癌患者的临床分期越晚, HER2 基因的表达越高 ( $P < 0.05$ ); 另外在淋巴结转移阳性的结肠癌组织中 HER2 基因的表达量显著高于淋巴结转移阴性者的结肠癌组织 ( $P < 0.05$ ); siRNA-HER2 可以明显降低 SW480 和 LoVo 中 HER2 基因的表达; 降低 SW480 和 LoVo 细胞中 HER2 的表达, 其生长受到明显抑制,  $G_0/G_1$  期细胞比例明显增加, 而 S 期和  $G_2/M$  期细胞比例下降。结论 HER2 基因与结肠癌的发生发展密切相关, 其机制可能为调节细胞周期中  $G_1/S$  期的转换, 为结肠癌患者的治疗提供了新靶点。

**关键词:** HER2 基因; 结肠肿瘤; 细胞生长

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.02.020

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)02-0185-03

## Expression and significance of HER2 in 108 cases of colon carcinoma

Xiong Huan<sup>1</sup>, Zhang Zhonglai<sup>2</sup>, Lai Bin<sup>2</sup>, Luo Hongliang<sup>2</sup>, Zhu Peiqian<sup>2△</sup>

(1. Department of General Surgery, Affiliated Hospital, Jiujiang University, Jiujiang, Jiangxi 332000, China;

2. Department of Gastrointestinal Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

**Abstract:** Objective To detect the expression of HER2 in clinical colon carcinoma tissue, to investigate its correlation with the clinicopathological characteristics and to analyze its influence on the proliferation and cell cycle in colon carcinoma cell lines. **Methods** 108 specimens of colon carcinoma and corresponding paracancerous tissues were collected. The hybridization in situ and real-time quantitative polymerase chain reaction were used to detect the HER2 expression in those specimens. The relationship between HER2 expression and the clinicopathologic features was analyzed. The expression of HER2 in colon carcinoma cells (SW480 and LoVo) was reduced by using the antisense technology. The MTT assay and the flow cytometry were used to investigate the HER2 influences on the cell proliferation and cell cycles. **Results** The hybridization in situ results showed that the HER2 positive expression rate was 66.67% in colon carcinoma and 10.19% in the paracancerous tissues, the difference between them was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The real-time fluorescent quantitative PCR results further showed that HER2 was found to be overexpressed in 61.11% of the colon carcinoma tissue ( $P < 0.05$ ); the expression of HER2 was gradually increased with the progress of colon cancer. ( $P < 0.05$ ); the expression of HER2 in the colon tissue with lymph node metastasis was also significantly higher than that without lymph node metastasis in colon carcinoma ( $P < 0.05$ ); siRNA-HER2 could significantly reduce the expression of HER2 in colon cancer cell lines (SW480 and LoVo), the growth of colon carcinoma cell lines was also significantly inhibited and the proportion of cells in  $G_0/G_1$  phase was increased, while the proportion of cells in S phase and  $G_2/M$  phase was decreased. **Conclusion** HER2 is closely related with the occurrence and development of colon carcinoma, its mechanism could regulate the growth of colon carcinoma cells via mediating the transition of  $G_1/S$  phase, which may provide a new target for the treatment of colon carcinoma.

**Key words:** HER2 genes; colonic neoplasms; cell growth

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 家族属于 I 型受体酪氨酸激酶, 又称 ErbB 受体家族。人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 基因是 EGFR 家族中的成员之一, 研究证实 HER2 在胃癌、食道癌、乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌等恶性肿瘤中过表达<sup>[1-6]</sup>。另外研究发现 HER2 的高表达与肿瘤细胞的转化、增殖及侵袭转移密切相关<sup>[7]</sup>。然而 HER2 在结肠癌中的表达及其临床意义目前还不清楚。本研究采用原位杂交和荧光定量 PCR 技术, 检测 HER2 在结肠癌组织与癌旁组织中的表达差

异, 分析其与结肠癌临床病理特征之间的关联; 另外降低结肠癌细胞 SW480 和 LoVo 中 HER2 的表达, 检测结肠癌细胞增殖和细胞周期的变化, 为进一步研究结肠癌发病机制和寻找治疗方法提供理论依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 经南昌大学第二附属医院医学伦理委员会审批及患者知情同意, 收集 2007 年 1 月至 2011 年 1 月南昌大学第二附属医院 108 例结肠癌患者及癌旁组织手术标本, 所有手术标本均经过该院病理学专家明确诊断。其中男 62 例, 女 46

例;年龄 32~78 岁,中位年龄 50 岁。

**1.2 主要试剂** SW480 和 LoVo 结肠癌细胞系购自中国科学院上海细胞库;Trizol 细胞裂解液购自美国 invitrogen 公司,cDNA 逆转录试剂盒购自美国 promega 公司;实时荧光定量试剂盒购自上海吉玛生物技术有限公司;兔抗人 HER2 一抗购自 Santa Cruz 公司,辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗购自北京中杉金桥公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 组织总 RNA 的抽提与纯化** 提取组织中总 RNA,遵照 Trizol 裂解试剂盒说明书操作。利用紫外分光光度计测量 RNA 浓度。

**1.3.2 原位杂交检测 HER2 的表达:**(1)固定组织、脱水、包埋、切片。(2)把切片烘烤 30 min、脱蜡(二甲苯)10 min×2 次、放入无水乙醇中 5 min×2 次、90%乙醇 5 min×1 次、70%乙醇 5 min×1 次、50%乙醇 5 min×1 次、PBS 漂洗 5 min×3 次。(3)3%的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中放置 10 min,焦碳酸二乙酯(DEPC)水洗 3 次。(4)消化 20 min(利用 3%胃蛋白酶),洗 5 min(PBS)×3 次。(5)固定 10 min,DEPC 水清洗 3 次,56℃预杂交 4 h。(6)把 HER2 探针加入预杂交液中,混匀、滴加杂交液过夜。(7)2×SSC 漂洗 5 min×2 次,然后用 0.5×SSC 5 min×3 次、0.2×SSC 0.5×SSC 5 min×3 次。(8)封闭 30 min。(9)滴加二抗,孵育 2 h, PBS 漂洗 5 min×4 次。(10)DAB 染色。(11)复染、返蓝、脱水、透明、封片<sup>[8]</sup>。

**1.3.3 荧光定量 PCR 反应** 依据逆转录试剂盒说明书进行逆转录反应操作。HER2 的荧光定量 PCR 20 μL 反应体系:cDNA 2 μL,上下游引物各 0.2 μL, Taq DNA 聚合酶 0.2 μL, qRT-PCR 缓冲液 10 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.4 μL。反应条件 95℃ 3 min, 95℃ 12 s, 60℃ 35 s, 总共 40 个循环。HER2 的引物序列:上游 5'-AGC AAT GGT GTC AGT ATC CAG GCT-3', 下游 5'-TGC AAA TGG ACA AAG TGG GTG TGG-3'。

**1.3.4 siRNA-HER2 干扰序列设计** 设计 HER2 的干扰片段,上游:5'-GCA GUU ACC AGU GCC AAU AUU-3';下游:5'-UAU UGG CAC UGG UAA CUG CCC-3',提交大连宝生物公司合成。

**1.3.5 siRNA-HER2 的转染** 严格遵照 Lipfectamine<sup>TM</sup> 2000 试剂盒说明书进行操作,siRNA-HER2 寡核苷酸初步筛选出最佳终浓度为 100 nmol/L。

**1.3.6 转染 siRNA-HER2 单核苷酸后对 HER2 mRNA 表达的影响** 设立 siRNA-HER2 组、空白对照组和干扰无意义组。转染 siRNA-HER2 单核苷酸 48 h 后提取总 RNA、逆转录为 cDNA(具体步骤参照说明书),利用荧光定量试剂盒检测 HER2 mRNA 的表达(具体条件同上)。

**1.3.7 转染 siRNA-HER2 单核苷酸后对 HER2 蛋白表达的影响** 提取各组细胞总蛋白(具体步骤参照说明书),BCA 法测蛋白浓度。取总蛋白 100 μg 加样于 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),电泳 2 h(浓缩胶时电压 80 V,分离胶时电压 120 V);转膜(250 mA 转移 3 h);封闭(5%脱脂奶粉);孵育一抗:HER2 抗体(1:500) 4℃孵育过夜,加入二抗(浓度 1:4 000)室温孵育 2 h,ECL 发光剂发光,定影、显影,胶片曝光。

**1.3.8 MTT 检测各组细胞的增殖** 收集细胞,接种于 96 孔板,每孔加 200 μL(约 1×10<sup>4</sup>/孔)。实验分组同 1.2.6。转染后 1~4 d 每孔滴加 MTT 试剂(浓度为 5 mg/mL)20 μL 孵育 4 h(37℃)。弃上清液,滴加二甲基亚砷(150 μL/孔),摇 10

min。测定各孔吸光值。每组重复 3 次。按公式(1)计算细胞生长抑制率(%)。

$$\text{细胞生长抑制率} = \frac{\text{siRNA-HER2 组平均 OD}_{490} - \text{干扰无意义组平均 OD}_{490}}{\text{干扰无意义组平均 OD}_{490}} \times 100\% \quad (1)$$

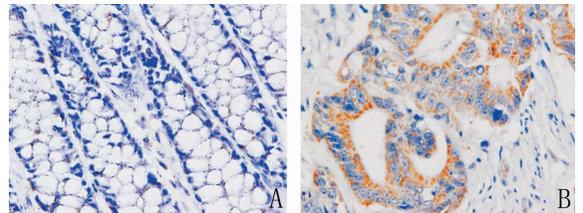
**1.3.9 流式细胞术分析细胞周期变化情况** 实验分组同 1.2.6。收集转染后细胞,制备单细胞悬液,然后 4℃固定 1 h(75%乙醇),弃冰乙醇,PBS 洗 1 次;在 4℃避光条件下染色(碘化吡啶 PI 浓度为 50 μg/mL 和 100 μg/mL RNA 酶 PBS 染色液)1 h,上机检测。每组重复 3 次。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。结肠癌临床病理特征与 HER2 基因表达水平之间的关系分析采用 Mann-Whitney 检验和 Kruskal-Wallis 检验;计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组均数之间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

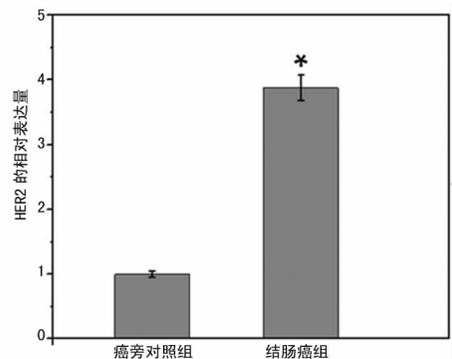
**2.1 HER2 在结肠癌组织与癌旁组织的表达** 原位杂交结果表明:在 108 例结肠癌组织中 HER2 阳性表达率为 66.67% (72/108),相对应的癌旁组织中 HER2 阳性表达率为 10.19% (11/108),两者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 1。

荧光定量 PCR 结果进一步显示结肠癌组织中 HER2 mRNA 的表达比癌旁对照高出(3.88±0.46)倍,两者比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 2。



A:癌旁对照组织;B:结肠癌组织。

图 1 原位杂交检测 HER2 在结肠癌患者组织与癌旁组织的表达(×400)

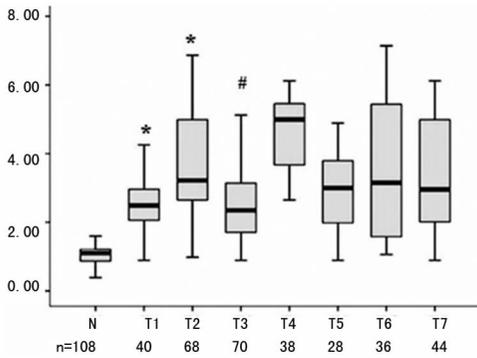


\*: $P < 0.05$ ,与癌旁对照组比较。

图 2 HER2 基因 mRNA 结肠癌及癌旁组织中的表达

**2.2 HER2 的表达与结肠癌临床病理特征之间的关系** 荧光定量 PCR 结果显示,HER2 的 mRNA 的表达量在 I/II 期结肠癌组织中与癌旁组织表达的比值分别为 2.28±0.31,在 III/IV 期结肠癌组织中与癌旁组织表达的比值为 4.23±0.18,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );同时,在临床 I/II 期结肠癌组织与 III/IV 期结肠癌组织之间 HER2 mRNA 表达差异也有统计学意义( $P < 0.05$ )。另外,淋巴结转移阳性组结肠癌组织中 HER2 mRNA 表达比淋巴结转移阴性组 HER2 mRNA 表达高 3.12 倍( $P < 0.05$ ),高、中、低不同分化的结肠癌组织中

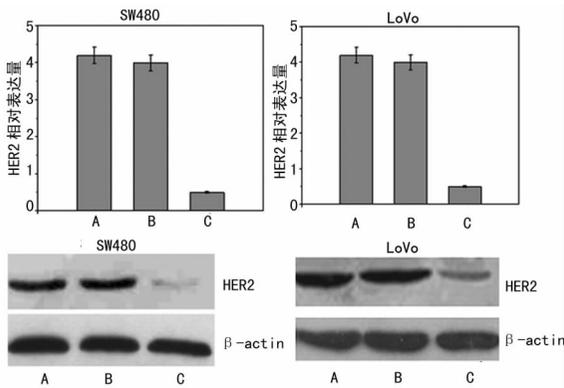
HER2 mRNA 的表达量与癌旁肠组织的比值分别为  $3.72 \pm 0.53$ 、 $3.87 \pm 0.37$ 、 $3.64 \pm 0.27$ ，见图 3。



N: 癌旁组织; T1: I / II 期的结肠癌; T2: III / IV 期的结肠癌; T3: 淋巴结转移阴性的结肠癌; T4: 淋巴结转移阳性的结肠癌; T5: 高分化的结肠癌; T6: 中分化的结肠癌; T7: 低分化的结肠癌。\* :  $P < 0.05$ , 与癌旁组织比较; # :  $P < 0.05$ , 与无淋巴结转移组比较。

图 3 荧光定量 PCR 检测结肠癌患者 HER2 的表达与临床病理特征的关联

**2.3 siRNA-HER2 转染后 HER2 mRNA 和蛋白表达的变化**  
 荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法 (Western blot) 结果检测发现, siRNA-HER2 组 HER2 的 mRNA 和蛋白表达较对照组降低 ( $P < 0.05$ ), SW480 和 LoVo 细胞转染 siRNA-HER2 后, 实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测发现, HER2 的 mRNA 和蛋白表达较空白对照组、干扰无意义组明显降低 ( $P < 0.05$ )。见图 4。



A: 空白对照组; B: 干扰无意义组; C: siRNA-HER2 组。

图 4 siRNA-HER2 转染后 HER2 mRNA 和蛋白表达的变化

**2.4 siRNA-HER2 作用后对结肠癌细胞生长的影响**  
 MTT 结果表明: siRNA-HER2 组的结肠癌细胞生长明显慢于空白对照和干扰无意义组 ( $P < 0.05$ ), 而空白对照组和无义干扰组间结肠癌细胞的生长情况差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 降低 HER2 基因表达, 结肠癌细胞生长明显变慢。见图 5。

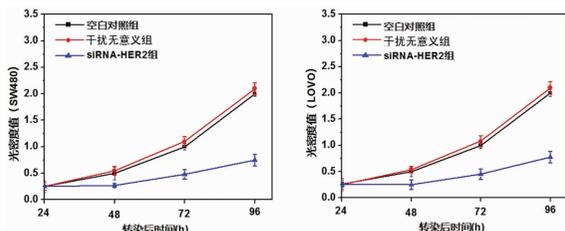


图 5 siRNA-HER2 作用后对结肠癌细胞生长的影响

**2.5 流式细胞术分析转染 siRNA-HER2 后结肠癌细胞周期**

变化情况 细胞周期分析结果显示: siRNA-HER2 组  $G_0/G_1$  期细胞明显增多, 而 S 期和  $G_2/M$  期细胞明显降低。干扰组与空白对照组、干扰无意义组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而空白对照组、干扰无意义组组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1、2。

表 1 SW480 细胞转染 siRNA-HER2 后细胞周期变化 (%)

组别	$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
空白对照组	52.42	29.71	17.87
干扰无意义组	56.35	21.43	22.22
siRNA-HER2 组	85.51	11.17	3.32

表 2 LoVo 细胞转染 siRNA-HER2 后细胞周期变化 (%)

组别	$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
空白对照组	50.55	27.57	21.88
干扰无意义组	48.58	23.94	27.48
siRNA-HER2 组	81.87	7.98	10.15

### 3 讨论

结肠癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 尤其比较常见于欧美等发达国家<sup>[8-9]</sup>。近年, 随着生活水平的提高, 我国结肠癌发病率的增长速度显著加快, 位居恶性肿瘤的第 4 位。结肠癌的发病经过比较缓慢, 多数见于结肠黏膜病变而缓慢演变为腺瘤性息肉, 最后成为恶性肿瘤。如果能够早发现 and 早治疗结肠癌, 患者可达到临床治愈。但是早期结肠癌患者的临床症状并无特异性, 所以临床发现的结肠癌大部分是中晚期患者, 最终导致患者的 3 年、5 年生存率显著降低。因此, 揭示结肠癌发生发展的具体机制, 明确与结肠癌相关的分子标记对结肠癌的早期诊疗极为重要。

多项研究证实 HER2 在多种恶性肿瘤组织和细胞中表达均显著增高。本实验首先在结肠癌和癌旁组织中检测 HER2 的表达情况, 然后分析其与患者的临床病理特征之间的关系。结果表明结肠癌患者组织 HER2 mRNA 表达量显著高于对应的癌旁肠组织; 结肠癌患者的临床病理分期越晚, HER2 表达量越高, 同时发现在淋巴结转移阳性患者的癌组织中 HER2 的表达明显高于淋巴结转移阴性患者癌组织中 HER2 的表达, 上述结果充分说明 HER2 基因参与了结肠癌的发生及临床进展, 并且可能成为结肠癌临床治疗和判断预后的标记。另外, 本研究利用 RNA 干扰手段成功抑制结肠癌细胞 SW480 和 LoVo 中的 HER2 表达。转染终浓度为 100 nmol/L 的 siRNA-HER2 至 SW480 和 LoVo 细胞 48 h 后, 运用荧光定量 PCR 反应检测发现 HER2 基因的 mRNA 表达抑制率达 74%, 同时作者利用 MTT 法检测了结肠癌细胞的生长情况, 证实降低 HER2 的表达可显著抑制结肠癌细胞的生长。最后通过流式细胞术发现降低 HER2 表达后,  $G_0/G_1$  期细胞比例明显增高, 而 S 期和  $G_2/M$  期细胞的比例显著减少。

综上所述, 结肠癌组织中 HER2 基因表达与患者的临床病理特征密切相关, 降低 HER2 的表达可以引起结肠癌细胞的生长受到显著抑制, 说明 HER2 很可能是一个新的结肠癌标记物。在下一步的研究工作中, 拟进一步在体内研究 HER2 基因对结肠癌的影响, 同时在临床上针对 HER2 基因寻找一种非常有效的检测策略及治疗手段, 其将为结肠癌患者早期诊断、治疗方法的选择及预后的判断提供极其重要的理论基础。  
 (下转第 190 页)

下达到手术目的,是临床医生所面临的问题。现在对于经皮椎体成形术止痛原理的研究很多,一般认为有以下几点:(1)骨水泥在聚合反应时产生的热能导致骨水泥周围的组织坏死,破坏组织内的神经末梢,疼痛消失或缓解;(2)注入骨水泥,能有效恢复压缩椎体的强度和刚度,从而增加椎体内微骨折的稳定性;(3)骨水泥的稳定及支撑作用,固定了微小骨折,使其活动时不再刺激神经末梢;(4)骨水泥单体的化学毒性作用与止痛也有一定关系。某些学者及临床医生推想,骨水泥的注入量越大,止痛应越彻底,手术效果越好;而目前的相关研究已表明骨水泥的注入量与止痛效果无明显相关性。本研究表明,常规剂量组和小剂量组对于疼痛症状的缓解效果及缓解率相当,均达到了手术治疗的主要目的。

虽然经过椎体成形处理后的椎体的刚性和强度有显著提高,但是在文献随访中部分患者邻近节段椎体发生了继发性骨折<sup>[6-7]</sup>,从生物力学角度分析,在已发生压缩骨折的椎体内注入骨水泥可导致局部生物力学特性在短时间内发生改变,必将对临近的椎体的力学传导造成影响,从而造成术后邻近节段再发骨折风险增高。由于骨水泥硬度较高,在椎体内起到载荷传递的“梁柱”作用,使得相邻节段椎间盘压力增大,另外,骨折高度的恢复,椎体终板向外膨出与偏曲,也可使邻近椎体的应力和应变增加<sup>[8-9]</sup>,这点在生物力学研究上早已得到证实。椎体内注入过多的骨水泥,使得椎间盘及椎体对于相邻节段椎体的弹性保护丢失,从而失去了有效的力学缓冲保护,相邻节段椎体更容易受到手术椎体刚性变化带来的力学载荷冲击,从而更易发生继发骨折<sup>[10-11]</sup>。本研究运用改良小剂量骨水泥注入伤椎,在治疗后椎体强度和椎体内填充物弹性模量不变的情况下,可以最大程度减少椎体终板的变形与偏曲,保留椎体及椎间盘对于相邻椎体的缓冲保护,从而可以减少邻近节段继发骨折的发生率。

#### 参考文献:

[1] Molloy SM, Belkoff SM. The effect of vertebral body percentage fill on mechanical behavior during percutaneous vertebroplasty[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2003, 28(14): 1549-1554.

(上接第 187 页)

#### 参考文献:

[1] Tan DS, Miller RE, Kaye SB. New perspectives on molecular targeted therapy in ovarian clear cell carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(8): 1553-1559.

[2] Fan XS, Chen JY, Li CF, et al. Differences in HER2 overexpression between proximal and distal gastric cancers in the Chinese population[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 9(21): 3316-3323.

[3] Barresi V, Giuffrè G, Caruso RA, et al. HER2 status in rarer histologic types of gastric adenocarcinomas [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2013, 137(6): 741.

[4] Lambein K, Van Bockstal M, Vandemaele L, et al. Distinguishing score 0 from score 1+ in HER2 immunohistochemistry-negative breast cancer: clinical and pathobiological relevance[J]. *Am J Clin Pathol*, 2013, 140(4): 561-566.

[2] Ryu KS, Park CK. The prognostic factors influencing on the therapeutic effect of percutaneous vertebroplasty in treating osteoporotic vertebral compression fractures[J]. *J Korean Neurosurg Soc*, 2009, 45(1): 16-23.

[3] Kaufmann TT, Kallmes DF. The effects of cement volume on clinical outcomes of percutaneous vertebroplasty[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2006, 27(9): 1933-1937.

[4] Gstöttner M, Angerer A, Rosiek R, et al. Quantitative volumetry of cement leakage in viscosity-controlled vertebroplasty[J]. *J Spinal Disord Tech*, 2012, 25(5): 150-154.

[5] Muhammad AT, Sharif S. Percutaneous vertebroplasty in osteoporotic vertebral compression fractures; our initial experience[J]. *J Pak Med Assoc*, 2008, 58(9): 498-501.

[6] Kulcsár Z, Marosfoi M, Berentei Z, et al. Frequency of adjacent vertebral fractures following percutaneous vertebroplasty[J]. *Orv Hetil*, 2009, 150(37): 1744-1748.

[7] Lu K, Liang CL, Hsieh CH, et al. Risk factors of subsequent vertebral compression fractures after vertebroplasty [J]. *Pain Med*, 2012, 13(3): 376-382.

[8] Ishiguro S, Kasai Y, Sudo A, et al. Percutaneous vertebroplasty for osteoporotic compression fractures using Calcium phosphate cement[J]. *J Orthop Surg (Hong Kong)*, 2010, 18(3): 346-351.

[9] Lee KA, Hong SJ, Lee S, et al. Analysis of adjacent fracture after percutaneous vertebroplasty: does intradiscal cement leakage really increase the risk of adjacent vertebral fracture[J]. *Skeletal Radiol*, 2011, 40(12): 1537-1542.

[10] Hsu SW, Lee CH, Hueng DY. Percutaneous vertebroplasty[J]. *J Neurosurg Spine*, 2012, 16(2): 210.

[11] Kotwica Z, Saracen A. Early and long-term outcomes of vertebroplasty for single osteoporotic fractures[J]. *Neurol Neurochir Pol*, 2011, 45(5): 431-435.

(收稿日期: 2013-08-30 修回日期: 2013-10-06)

[5] Hofmann M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer; results from a validation study[J]. *Histopathology*, 2008, 52(7): 797-805.

[6] Marx AH, Tharun L, Muth J, et al. HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer[J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(6): 769-777.

[7] Sebastian S, Settleman J, Reshkin S J, et al. The complexity of targeting EGFR signaling in cancer: from expression to turnover[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1766(1): 120-139.

[8] 叶晶珠, 詹丽英, 李志晋, 等. miR-224 在结肠癌中的表达及其意义[J]. *南昌大学学报: 医学版*, 2012, 52(10): 4-7.

[9] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.

(收稿日期: 2013-09-28 修回日期: 2013-11-01)