

胃肠道间质瘤KIT及PDGFRA基因突变的检测及分析

张秀敏^① 林慧^① 叶菁^① 郭风^② 袁媛^① 隋延仿^①
李增山^①

摘要 目的:检测胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)KIT及PDGFRA基因的突变位点及类型,探讨其在GIST发病机制中的作用。方法:收集西京医院病理科2006年10月至2010年10月胃肠道间质瘤病例38例,男性20例(52.6%),女性18例(47.4%),从福尔马林固定石蜡包埋(formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE)组织中提取基因组DNA。通过PCR扩增目的片段后测序,检测38例样本的KIT和PDGFRA基因突变类型。结果:在38例样本中共检测出KIT基因突变34例,其中32例发生在外显子11,突变形式有点突变、插入突变与缺失突变;2例发生在外显子9,均为重复性突变。同时还检出PDGFRA基因突变1例,其余3例样本为野生型。结论:大多数GISTs中存在KIT基因的突变,PDGFRA基因突变可见于部分缺乏KIT突变的GIST中。

关键词 胃肠道间质瘤 石蜡组织 KIT PDGFRA 基因突变

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.10.010

Analysis of KIT and PDGFRA Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors

Xiumin ZHANG¹, Hui LIN¹, Jing YE¹, Feng GUO², Yuan YUAN¹, Yanfang SUI¹, Zengshan LI¹

Correspondence to: Zengshan LI; E-mail: lizsh72@fmmu.edu.cn

¹Department of Pathology, Faculty of Basic Medicine, Fourth Military Medicine University, Xi'an 710032, China

²Department of Gastroenterology, Xijing Hospital, Fourth Military Medicine University, Xi'an 710032, China

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program 863 (No. 2007AA02Z470), the National Natural Science Foundation of China (No. 30901735), and the Science and Technology Project of Xi'an (No. SF1028)

Abstract Objectives: This study aims to detect the mutant sites and types of PDGFRA genes in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and investigate the role of these genes in the pathogenesis of GISTs. **Methods:** Genomic DNA was extracted from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues. Polymerase chain reaction and direct sequencing were performed to determine mutant types. **Results:** KIT mutations were identified in 34 out of 38 samples, involving 2 repeat mutations in exon 9 and 32 mutations in exon 11. The mutant types in exon 11 included point, insertion, and deletion mutations. Only one sample had PDGFRA mutation. The other three samples were wild types. **Conclusion:** KIT mutations are common in the majority of GISTs, and PDGFRA mutations exist in GISTs that lack a KIT mutation.

Keywords Gastrointestinal stromal tumors; FFPE tissue; KIT; PDGFRA; Gene mutation

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是指发生于消化道、网膜、肠系膜的CD117阳性、由梭形或(和)上皮样细胞构成的间叶性肿瘤^[1]。GISTs具有独特的分子特征,功能获得性突变是其发生的重要机制。根据突变类型,GISTs可分为KIT基因突变(约80%),PDGFRA基因突变(约5%)和野生型(约15%)。突变检测对GISTs的新辅助化疗具有重要的指导意义。本研究采用PCR扩增和直接测序法对38例GISTs标本中KIT及PDGFRA的突变进行检测,探讨其在GISTs在发病中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

收集西京医院病理科2006年10月至2010年10月胃肠道间质瘤患者的石蜡标本共38例,男性20例(52.6%),女性18例(47.4%),发病年龄29~79岁,中位年龄46岁。肿瘤原发于胃17例(44.7%),小肠12例(31.6%),胃肠外(包括腹腔、盆腔及腹膜后等)9例(23.7%)。根据2008年改良的NIH危险度评估方法,38例样本包含高风险度25例,中危1例,低危12例。所有病例均为CD117阳性,部分病例CD34表达阴性。符合伦理委员会认可。

作者单位:①第四军医大学基础部病理学与病理生理学教研室(西安市710032);②第四军医大学西京消化病医院

* 本文课题受国家高技术研究发展计划“863”计划(编号:2007AA02Z470)、国家自然科学基金(编号:30901735)和西安市攻关计划项目(编号:SF1028)资助

通信作者:李增山 lizsh72@fmmu.edu.cn

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取 采用E.Z.N.A.TM FFPE DNA试剂盒(Omega),石蜡组织切片(10 $\mu\text{m} \times 2$)装入1.5 mL EP管,二甲苯脱蜡,无水乙醇清洗1次。组织烘干后加入200 μL TL Buffer和20 μL 蛋白酶OB,混匀后置于55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴3 h或过夜。依据裂解情况,可追加蛋白酶。裂解完全后,90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。在裂解物中加入220 μL BL buffer和250 μL 无水乙醇,混匀后加到2 mL的吸附柱,10 000 g离心1 min;更换收集管,加入500 μL HB buffer,10 000 g离心1 min;再次更换收集管,加入500 μL DNA wash buffer,10 000 g离心1 min,去除滤出液后再漂洗1次,离心3 min;最后用100 μL 预热(70 $^{\circ}\text{C}$)的Elution buffer回收DNA,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.2 基因组DNA浓度和纯度鉴定 取5 μL 基因组DNA,加入95 μL ddH₂O将其稀释20倍后,使用紫外分光光度仪检测浓度和纯度。DNA纯度根据OD_{260/280}判断,正常比值一般在1.7~2.0之间。

1.2.3 目的片段扩增和回收 PCR扩增KIT基因第9、11、13、17外显子和PDGFRA基因第12、14、18外显子。PCR反应总体系为50 μL ,包含DNA模板总量约200 ng,PCR mix 25 μL ,上下游引物各2 μL (10 μM),其余用ddH₂O补足。引物序列(表1)。由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。PCR循环条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性2 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,退火40 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,40次循环;最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min。

表1 PCR引物序列和退火温度

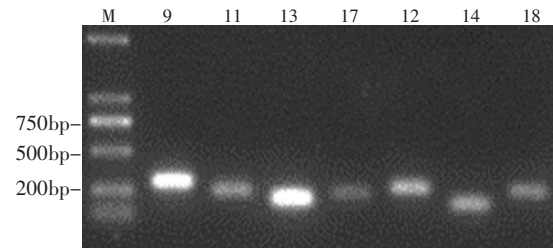
Table 1 Primers and annealing temperatures for PCR reaction

外显子	引物	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	产物大小/bp
KIT 9	F TCCTAGAGTAAGCCAGGCGCTT	56	284
	R TGGTAGACAGACGCTAAACATCC		
KIT 11	F CTGAGACAATAATTATTAAGGTGA	60	227
	R TTATGTGTACCCAAAAGGTGACA		
KIT 13	F GCTTGCATCATGTTGCCAG	56	193
	R AAAGGCAGCTTGGACACGGCTTTA		
KIT 17	F TACAAGTTAAAATGAATTTAAATGGT	55	228
	R AAGTTGAAACTAAAATCCTTTGTC		
PDGFRA 12	F TCCAGTCACTGTGCTGCTTC	55	260
	R GCAAGCGAAAACGGAGTCTT		
PDGFRA 14	F GTAGCTCAGCTGGACTGATA	55	180
	R AATCCTCACTCCAGGTCAGT		
PDGFRA 18	F ACCATGGATCAGCCAGTCTT	56	251
	R TGAAGGAGGATGAGCCTGACC		

F:上游引物;R:下游引物

PCR反应结束后,进行1%琼脂糖凝胶电泳(5 V/cm电压),30 min后在紫外线反射透射分析仪下切取含

目的片段的凝胶,置入1.5 mL EP管中并称重。随后按Omega E.Z.N.A.TM Gel Extraction Kit说明书回收DNA片段:按凝胶重量加入适量的Binding buffer(XP2)并置于55~60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴;待凝胶完全溶化,将溶液加到吸附柱,10 000 g离心1 min,弃滤出液;再加入300 μL XP2 buffer,10 000 g离心1 min,弃滤出液;加入700 μL SPW wash buffer,10 000 g离心1 min,弃滤出液,重复洗涤1次;最后加入40 μL 预热(70 $^{\circ}\text{C}$)的Elution buffer回收DNA。回收产物经1%琼脂糖凝胶电泳鉴定,明确其浓度和片段大小(图1)。



M为DNA分子量标准(DL2000),上行数字分别代表KIT基因第9、11、13、17外显子和PDGFRA基因第12、14、18外显子

图1 回收产物凝胶电泳检测

Figure 1 Gel electrophoresis of recovered production

1.2.4 测序和突变分析 合适的回收产物于北京六合华大基因科技股份有限公司进行测序,如有突变,则进行反向测序确认。

突变分析主要采用以下方法:BLAST(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>):通过测序结果与GeneBank数据库参考序列的比对发现突变,适用于检测纯合性突变。(表2)为KIT基因外显子9、11、13、17和PDGFRA基因外显子12、14、18的参考序列。CodonCode Aligner(<http://www.codoncode.com/aligner/>):进行测序图编辑、拼接以及突变分析等。Indelligent v.1.2(<http://ctap.inhs.uiuc.edu/dmitriev/indel.asp>):用于检测杂合性缺失或插入。MutationSurveyor(<http://www.softgenetics.com/mutationSurveyor.html>):能实现各种突变类型高通量的检测。

1.3 统计学方法

使用SPSS 16.0软件包,卡方检验进行率的比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基因突变分析

所有病例共检出KIT基因突变34例(89.5%),其中外显子11突变32例,占全部病例的84.2%以及KIT突变病例的94.1%;外显子9突变2例,占全部病例的5.3%以及KIT突变病例的5.7%;未检出外显子13或17的突变。CD117阳性的病例有3例未发生KIT突变(7.9%)。另外还检出PDGFRA基因突变1例,突变

类型为D842V。具体突变类型(表3)。

第11外显子是KIT基因最常见的突变位点,检测到的突变形式主要有缺失突变、点突变和插入突变(表4),其中30例为杂合性突变(30/32,93.8%),仅有2例是纯合性突变(6.2%),均为点突变(W557R和L576P)。缺失突变是外显子11最常见的突变类型,共检测出18例,占56.3%,其次为点突变和插入突变(包括重复突变),分别为12例(37.5%)和2例(6.2%)。各种突变类型示例(图2)。另外,共有20例(62.5%)突变发生在5端的“热点”区域,即第550~560密码子附近,最常见的形式是第557和558密码子的

缺失(W557_K558del),共检测出3例,占KIT外显子突变的9.4%。同时,还在外显子11的3'端检测到1例天冬氨酸(D)和脯氨酸(P)的串联重复插入,发生在小肠GIST。

第9外显子突变仅见于2例样本,均为编码第502密码子丙氨酸(A)和503密码子酪氨酸(Y)的串联重复插入(图2D)。1例发生于小肠,1例发生于胰腺,患者均为男性,生物学行为属高危险度。

在无KIT突变的病例中仅检出1例PDGFRA突变,是第842密码子突变(D842V),发生在胃部GIST,(图3)。

表2 基因参考序列

Table 2 Gene sequences

外显子	参考序列
KIT 9	atgctctgcttctgactgccagtggtgagacactaaactcctctggccaccgttggaaagctagtggtcagagttctatagattctagtcattcaagcacaatggccacgggtgaatgaaggctta caacgatgtggcaagactctgcttatttaactttgcattlaaaggtaacaacaaag
KIT 11	aaacccatglatgaagtacagtggagggtgttgaggagataaatggaacaattatglttacatagaccaacacaacttccctatgatcacaaatggggatttccagaaacagcgtgagtttg
KIT 13	cgagtgccatttgacagaacgggaagccctcactgctgaactcaaaagtcctgagttaccttggaatcacatgaatattggaatctactggagcctgcaccattggag
KIT 17	tgtattcacagagactggcagccagaaatcctccttactatggtcggatcacaaagattgtgatttggctagccagagacatcaagaatgatttaattatggtgtaaaaggaaac
PDGFRA 12	aaaccgaggtatgaattcctggagggtcattgaatcaatcagcccagatggacatgaatatattatggtgaccgatgcagctgctttagctcaagatggggatttccaagatggactagtgcttg
PDGFRA 14	ccacggccagatcagtgaaaaacaagctctcatgtctgaactgaagataatgactcaccctggggccacattgaacattgtaaaacttgctggagcctgcaccaagtcag
PDGFRA 18	tgtgtccaccgtgatctggctgctcgaacgtcctctggcacaaggaaaaattgtgaagatctgacttggcctggccagagacatcatgatgctgaactatgctgaaaggcagt

表3 38例GISTs患者临床病理特征和突变类型

Table 3 Clinicopathologic characteristics and mutations in GISTs patients

编号	性别/年龄(岁)	部位	直径 (cm)	核分裂数 (/50HPFs)	危险度	免疫组化		突变类型
						CD117	CD34	
1	女/46	胃	<5	<5	低	+	+	KIT V559D
2	男/51	胃	5	<5	低	+	+	KIT W557G
3	男/75	胃	13	>10	高	+	+	KIT P551_V555delinsI
4	女/54	胃	15	>10	高	+	+	KIT V559D
5	女/62	胃	<5	<5	低	+	+	KIT V560G
6	男/63	胃	>5	>5	高	+	±	KIT V560D
7	女/47	胃	<5	<5	低	+	+	PDGFRA D842V
8	男/60	胃	>5	<5	中	+	-	KIT W557R
9	女/39	胃	<5	<5	低	+	+	KIT W557_V559delinsF
10	女/63	胃	>5	>5	高	+	+	KIT L576P
11	男/50	胃	8	>5	高	+	+	KIT W557_K558del
12	男/57	胃	<5	<5	低	+	+	KIT M552_E554delinsI
13	女/29	胃	>5	>10	高	+	-	Wild type
14	女/48	胃	>5	>10	高	+	+	KIT L576P
15	男/52	胃	>5	>5	高	+	+	KIT W557_K558del
16	男/66	胃	>5	>5	高	+	+	KIT W557_V559delinsC
17	女/66	胃	>5	>5	高	+	+	KIT V559G
18	女/54	小肠	3	<5	低	+	+	KIT V569_L576del
19	女/62	小肠	11	>5	高	+	-	KIT D572_P573dup
20	女/31	小肠	<5	<5	低	+	+	Wild type

(续表3)

编号	性别/年龄(岁)	部位	直径 (cm)	核分裂数 (/50HPFs)	危险度	免疫组化		突变类型
						CD117	CD34	
21	男/42	小肠	>5	>5	高	+	+	KIT V569_L576del
22	女/58	小肠	<5	<5	低	+	+	KIT V569_L576del
23	女/62	小肠	14	>10	高	+	+	KIT Y568_L576del
24	男/63	小肠	18	>5	高	+	-	KIT V560D
25	男/44	小肠	>5	<5	高	+	+	KIT Y568_P577del
26	女/33	小肠	<5	<5	低	+	+	KIT V559_E561del
27	男/75	小肠	>5	>5	高	+	+	KIT K558NinsQ
28	男/72	小肠	>10	>5	高	+	+	KIT K550_K558del
29	男/57	小肠	>5	>5	高	+	+	KIT A502_Y503dup
30	男/35	腹膜后	>5	>5	高	+	-	KIT W557G
31	男/56	腹膜后	>5	>5	高	+	-	KIT W557_K558del
32	女/48	盆腔	<5	<5	低	+	+	KIT W557_V559delinsC
33	男/44	腹腔	20	>10	高	+	-	KIT W557_D572delinsY
34	男/74	腹腔	5	<5	低	+	-	KIT D578del
35	男/73	胰	>5	>5	高	+	+	KIT A502_Y503dup
36	男/21	卵巢	8.5	>10	高	+	+	Wild type
37	女/79	腹腔	15	>10	高	+	-	KIT W557R
38	女/33	盆腔	12	>5	高	+	+	KIT P551_V560delinsL

表4 38例KIT基因外显子11突变分布情况

Table 4 Mutations of KIT in exon 11

突变位点和类型					例数
550	560	570	580	590	
KPMYEVQWKVVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					6
KPMYEVQWK[V]VEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					2
KPMYEVQ[C]KVVVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					2
K[I]-----QWKVVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWKV[G]EEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWKV[D]EEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					2
KPMYEVQWKVVEEINGNNY[-----]PYDHKWEPFRNLSF					3
KPMYEVQWKVVEEINGNNYVYI[D]PTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWKVVEEINGN[-----]PYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQ[---]VVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					3
KPMYEVQ[C---]VEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQ[Y-----]PTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWKVVEEINGNNYVYIDPTQLPY[]HKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQ[R]KVVVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					2
KPMYEVQ[F---]VEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWKVVEEINGNNYVYIDPTQ[P]PYDHKWEPFRNLSF					2
KP[----]VQWKVVEEINGNNYVYIDPTQPPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQ[C---]VEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWK[V]VEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWKVVEEINGN[-----]YDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQWK[----]EINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
KPMYEVQW[NQ]VVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
[-----]VVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1
K[I]-----EEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEPFRNLSF					1

[X]:点突变; [----]:缺失突变; [XXX]:重复突变; [XX]:插入突变

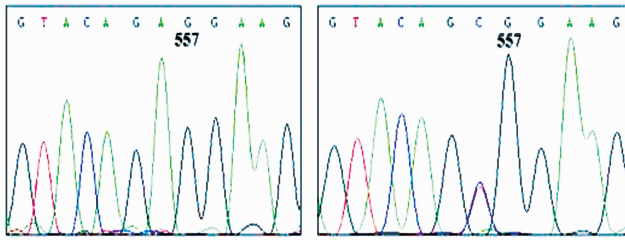


图2A KIT基因外显子11点突变。第557位的色氨酸(Trp, W)突变为精氨酸(Arg, R)。左图为纯合性突变(TGG>AGG),右图为杂合性突变(TGG>CGG)。

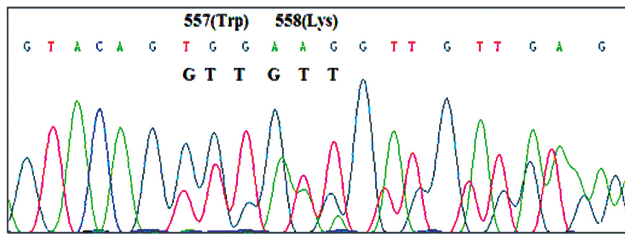


图2B KIT基因外显子11杂合性缺失突变。编码色氨酸(Trp, W)和赖氨酸(Lys, K)的第557和558号密码子(TGG AAG)缺失。

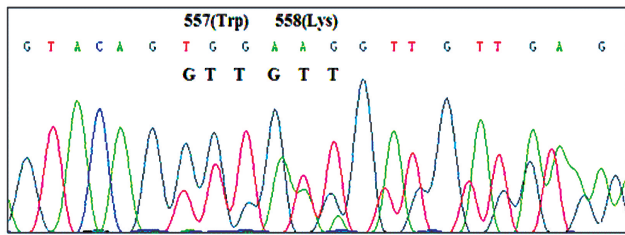


图2C KIT基因外显子11插入突变。杂合性,3个核苷酸CCA插入到第558位密码子中间,导致编码的赖氨酸(Lys, K)变成天冬酰胺(Asn, N),并插入谷氨酰胺(Gln, Q)。

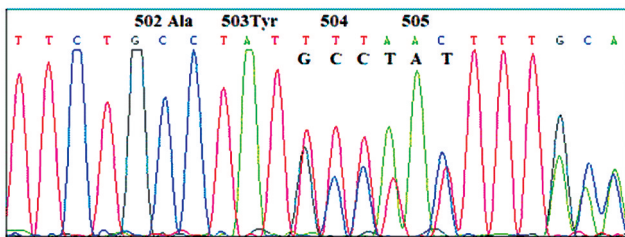


图2D KIT基因外显子9杂合性突变。编码丙氨酸(Ala, A)和酪氨酸(Tyr, Y)的第502和503密码子(GCC TAT)串联重复插入。

图2 各KIT基因外显子突变类型

Figure 2 Mutations of KIT gene in different examinations

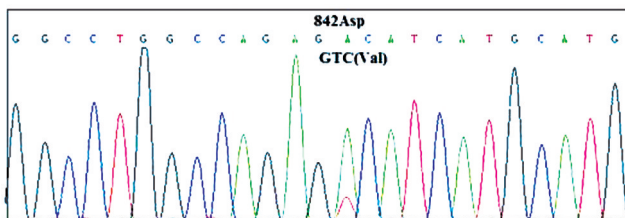


图3 PDGFRA基因外显子18杂合性突变。第842密码子点突变(GAC>GTC)导致编码的氨基酸由天冬氨酸(Asp, D)变为缬氨酸(Val, V)。

Figure 3 Heterozygosity mutation of PDGFRA gene in exon 18

2.2 肿瘤原发部位与基因突变的关系

本研究共包含38例样本,原发于胃17例(44.7%),小肠12例(31.6%),胃肠外9例(23.7%)。肿瘤部位与KIT基因突变率以及第11外显子突变形式的关系(表5)。可以看出,KIT基因突变不同部位的差异无统计学意义($P>0.05$),而KIT基因外显子11的突变形式在不同原发部位间存在差异($\chi^2=6.903, P=0.032$)。随后进行两两比较,发现胃与小肠GISTs在外显子11突变类型上的差异具有统计学意义($\chi^2=6.250, P=0.012$),而两者与EGISTs相比均无显著性差异。

表5 不同原发部位KIT基因突变率以及外显子11突变形式的比较

Table 5 Comparison of mutations in KIT genes exon 11 between different primary sites

部位	KIT突变率	P	外显子11突变形式		P
			点突变	缺失或插入	
胃	15/17(88.2)	>0.05	9	6	0.032
小肠	11/12(91.2)		1	9	
胃肠外	8/9(88.9)		2	5	

()内为%

3 讨论

GISTs是最常见的胃肠道间叶源性肿瘤,以高表达CD117或部分表达CD34为特征, KIT和PDGFRA基因功能获得性突变是其发生的重要机制。KIT基因定位于人染色体4q12,属于原癌基因,编码一个III型酪氨酸蛋白激酶跨膜受体,包含膜外区、跨膜区、近膜区和酪氨酸激酶结构域4部分。在正常情况下, KIT受体在配体SCF的激活下使底物蛋白磷酸化,触发下游蛋白分子级联反应,从而参与细胞重要生理活动的调控如增殖、凋亡等^[2]。KIT基因突变使KIT受体在无配体结合的情况下仍能持续激活,从而导致肿瘤的发生。

文献报道大部分GISTs都存在KIT基因突变,突变率为40%~90%^[3],且KIT的突变存在“热点区域”,最常发生于外显子11,尤其是第550~560密码子和第570~580密码子^[4]。本研究在38个样本中共检测出35个突变,其中KIT基因突变率为89.5%,检测到的外显子11突变全部发生在上述两个区域。外显子9的突变比较少见,常见的形式是第502和503密码子的6个核苷酸串联重复插入,研究显示多发生在小肠GISTs,侵袭性通常较高。本组中的2例外显子9突变均为这种形式^[5-6],可能由于样本量较少,并未检测到其他外显子的突变。

PDGFRA基因与KIT基因突变互相独立,不同时发生。大样本研究显示PDGFRA基因的突变率约为

7.2%^[7-8],大多发生在CD117阴性的GISTs中。本研究样本全部高表达CD117,因而只检测到1例PDGFRA基因突变(2.6%),突变类型为D842V,其可能与酪氨酸激酶抑制剂的原发耐药有关^[9]。GISTs的突变多为杂合性,纯合性突变少见,突变的形式常有点突变、框内片段缺失或插入。本研究仅检测出2例纯合性突变,占全部突变病例的5.7%。同时还发现,有2例发生相同突变(W557R)的样本,其中1例为杂合性突变,发生在低危险度的胃部GIST,另1例为纯合性突变,为高危险度的EGIST。Wallander等^[10]认为突变的杂合性与GISTs的临床病理特征如肿瘤部位、大小等无关,但纯合性突变可能与肿瘤的转移有关。分析肿瘤原发部位与KIT基因突变率以及第11外显子突变形式的关系中,发现胃部与小肠GISTs在第11外显子突变形式上存在差异,而两者在这方面与EGISTs均无明显差别,同时还发现KIT基因的突变率与部位无关。与Du等^[11]的研究结论正好相反,原因可能在于本研究所选取的病例均为CD117阳性且病例数相对较少,今后研究中还需要更大的样本量来验证。

总之,越来越多的研究发现GIST患者的基因突变类型与临床用药及预后有很大的相关性。因此,GIST患者的基因突变检测可作为GIST患者预后判断的有效指标之一,从基因水平上研究疾病、判断预后、指导用药将具有重要意义,而关于基因突变的类型和位置与肿瘤良恶性行为之间的关系有待进一步研究证实。

参考文献

- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: definition. Clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis[J]. *Virchows Arch*, 2001, 438(1): 1-12.
- Taylor ML, Metcalfe DD. Kit signal transduction[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2000, 14(3): 517-535.
- Liegl BA, Fletcher JA, Fletcher CD. Gastrointestinal stromal tumors[J]. *Virchows Arch*, 2010, 456(2): 111-127.
- He H, Xiang Y, Li Y, et al. c-kit and PDGFRA mutations in 60 cases of gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Beijing da xue xue bao. Journal of Peking University*[J]. *Health sciences*, 2005, 37(3): 320-324.
- Kim NG, Kim JJ, Ahn JY, et al. Putative chromosomal deletions on 9P, 9Q and 22Q occur preferentially in malignant gastrointestinal stromal tumors[J]. *Int J Cancer*, 2000, 85(5): 633-638.
- Lasota J, Wasag B. Presence of homozygous KIT exon 11 mutations is strongly associated with malignant clinical behavior in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Lab Invest*, 2007, 87(10): 1029-1041.
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach[J]. *Int J Surg Pathol*, 2002, 10(2): 81-89.
- Robinson TL, Sircar K, Hewlett BR, et al. Gastrointestinal stromal tumors may originate from a subset of CD34-positive interstitial cells of Cajal[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(4): 1157-1163.
- Wang WL, Conley A, Reynoso D, et al. Mechanisms of resistance to imatinib and sunitinib in gastrointestinal stromal tumor[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, 67(1): 1-10.
- Wallander ML, Willmore-Payne C. C-KIT and PDGFRA Zygosity in Gastrointestinal Stromal Tumors: Correlation With Tumor Site, Tumor Size, Exon, and CD117 Immunohistochemistry[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011, 19(1): 21-27.
- Du C, Shi Y, Zhou Y, et al. Status and clinical analysis of c-kit and PDGFRA mutations in the gastrointestinal stromal tumors[J]. *Chinese journal of gastrointestinal surgery*, 2008, 11(4): 371-375.

(2011-09-21 收稿)

(2012-04-20 修回)

(本文编辑:郑莉)