

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.006

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.006>

胃肠道间质瘤 *c-KIT*, *PDGFRA* 基因突变及 CD117, DOG-1 蛋白的表达情况

陈净慈^{1,2}, 吴焕文¹, 陆俊良¹, 周炜洵¹, 梁智勇¹

(1. 中国医学科学院北京协和医院病理科, 北京 100730; 2. 清华大学医学院基础医学系, 北京 100084)

[摘要] 目的: 回顾性研究分析133例胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)患者中*c-KIT*及*PDGFRA*基因突变情况及其中94例的CD117, DOG-1蛋白表达情况。方法: 用下一代测序(next generation sequencing, NGS)及免疫组织化学方法分别检测以甲醛固定石蜡包埋的标本中*c-KIT*, *PDGFRA*基因突变及CD117, DOG-1蛋白表达情况, 探讨不同基因突变形式与病变原发部位的相关性, 并分析基因突变与蛋白表达之间的相关性。结果: 133例GIST患者中男74例, 女59例, 发病年龄以40岁以上为主。原发于胃的57例, 小肠59例, 腹腔8例, 直肠5例, 肠系膜2例, 盆腔2例。97例(72.9%)检测到*c-KIT*突变, 其中79例(59.4%)存在11号外显子突变, 13例(9.8%)9号外显子突变, 4例(3.0%)13号外显子突变, 5例(3.8%)17号外显子突变, 全为双突变。9号外显子插入突变主要见于小肠; 11号外显子W557_K558缺失突变主要见于胃。11例(8.3%)检测到*PDGFRA*突变, 其中8例(6.0%)为18号外显子突变, 3例(2.3%)为12号外显子突变。*PDGFRA*突变病例均为胃原发。94例GIST患者中, 89例(94.7%)CD117阳性, 92例(97.9%)DOG-1阳性; 双阳性表达88例(74例*c-KIT*突变, 4例*PDGFRA*突变), CD117单独阳性1例(野生型), DOG-1单独阳性4例(1例*c-KIT*突变, 3例*PDGFRA*突变), 双阴性1例(*c-KIT*突变)。CD117与DOG-1蛋白表达之间呈显著相关, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论: GIST中*c-KIT*, *PDGFRA*基因突变率高。*c-KIT*及*PDGFRA*基因突变形式与GIST原发部位有关。绝大多数GIST病例CD117与DOG-1双表达, CD117与DOG-1双阴性及CD117单阳性GIST病例均十分罕见, DOG-1单阳性表达病例主要见于*PDGFRA*突变。对于单阳性及双阴性病例的确诊, 依赖于基因检测。

[关键词] 胃肠道间质瘤; *c-KIT*; *PDGFRA*; CD117; DOG-1

c-KIT and *PDGFRA* mutations and expression of CD117 and DOG-1 in gastrointestinal stromal tumors

CHEN Jingci^{1,2}, WU Huanwen¹, LU Junliang¹, ZHOU Weixun¹, LIANG Zhiyong¹

(1. Department of Pathology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730; 2. Department of Basic Medicine, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

收稿日期 (Date of reception): 2017-11-27

通信作者 (Corresponding author): 梁智勇, Email: liangzhiyong1220@yahoo.com

基金项目 (Foundation item): 分子病理研究中心创新基金 (2016ZX0176-1)。This work was supported by the Center for Molecular Pathology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College (2016ZX0176-1).

Abstract **Objective:** To analyze the mutation patterns of *c-KIT* and *PDGFRA* in 133 gastrointestinal stromal tumor (GIST) cases and expression of CD117 and DOG-1 in 94 GIST cases. **Methods:** Next generation sequencing (NGS) and immunohistochemistry (IHC) were used to analyze gene mutations and protein expression in formalin-fixed paraffin-embedded slides and to investigate the association between gene mutation and primary locations. **Results:** Among 133 GIST cases, 74 were males and 59 were females with the majority over 40 years old. There were 57 cases in the stomach, 59 in the small intestine, 8 in the abdominal cavity, 5 in the rectum, 2 in the mesenterium, and 2 in the pelvic cavity. Overall, *c-KIT* mutations were identified in 97 cases (72.9%): 79 of them were involved with exon 11 (59.4%), 13 with exon 9 (9.8%), 4 with exon 13 (3.0%), and 5 with exon 17 (3.8%), including 5 cases (3.8%) presented with double mutations. Exon 9 insertion was mainly identified in small intestine, whereas deletion of W557_K558 of exon 11 was common in stomach. Mutation of *PDGFRA* was present in 11 cases (8.3%), with 8 of them in exon 18 (6.0%), 3 in exon 12 (2.3%). All *PDGFRA*-mutated cases were derived from stomach. We also investigated the expression of CD117 and DOG-1 in 94 cases: 89 (94.7%) were CD117(+), 92 (97.9%) were DOG-1(+). A total of 88 cases were double positive (74 harboring *c-KIT* mutation and 4 harboring *PDGFRA* mutation), 1 case was CD117 single positive (wild-type), 4 cases were DOG-1 single positive (1 *c-KIT* mutated and 3 *PDGFRA* mutated), and 1 case was double negative (*c-KIT* mutated). There was significant correlation between the expression of CD117 and DOG-1 ($P < 0.01$). **Conclusion:** The mutation rate of *c-KIT* and *PDGFRA* in GIST were high. There were relations between mutation form and primary location of GIST. Most GIST cases showed CD117 and DOG-1 double positive pattern, whereas double negative and CD117 single positive were rare. DOG-1 single positive cases were mainly found in *PDGFRA*-mutated cases. Gene analysis is essential for diagnosis of GIST in single positive and double negative cases.

Keywords gastrointestinal stromal tumor; *c-KIT*; *PDGFRA*; CD117; DOG-1

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是消化道最常见的间叶组织来源肿瘤。目前研究^[1-2]认为: GIST肿瘤细胞的前体细胞是Cajal间质细胞或与其相关的类似干细胞的细胞, 它们共同表达*c-KIT*基因编码的酪氨酸蛋白激酶蛋白CD117。GIST的常见发病机制是*c-KIT*基因突变导致其蛋白产物酪氨酸激酶活性持续激活, 从而导致细胞增殖和生长失控^[1]。此外, GIST还与另一种基因*PDGFRA*的突变相关^[2]。*PDGFRA*编码的蛋白同样表达于细胞膜上的酪氨酸激酶受体, 其异常激活可促进细胞增殖及抑制凋亡, 最终导致肿瘤形成^[2]。研究^[3]显示: 75%~85%的GIST具有*c-KIT*基因的突变, 5%~10%的GIST具有*PDGFRA*基因突变。*c-KIT*突变位点按发生频率从高到底依次为: 11号外显子、9号外显子、13号外显子、17号外显子, 突变形式包括小片段插入缺失、点突变、重复突变等。最常见的*PDGFRA*突变频率由高到低依次为: 18号外显子、12号外显子、14号外显子, 其中80%以上为18号外显子缬氨酸到天冬氨酸的错义突变, 也是GIST伊马替尼耐药的重要机制^[2-3]。然而, 15%~20%的GIST无

*c-KIT*或*PDGFRA*突变, 即野生型GIST^[3]。研究^[4]发现: 另一种基因DOG-1在GIST中也呈过度表达, 且其在GIST诊断中的敏感性及特异性均不亚于CD117, 已被纳入GIST的诊断体系中。在临床中, GIST常需与其他发生于胃肠道的上皮肿瘤鉴别, 如平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、黑色素瘤、神经鞘瘤等, 仅凭组织学鉴别诊断十分困难, 而CD117及DOG-1在GIST中的普遍表达及较高的特异性是关键, 因此免疫组织化学检测在GIST的病理诊断中不可或缺, 必要时可进一步行基因检测确认^[2]。

目前GIST的主要治疗方式为手术切除^[2]。对于转移性和手术难以切除的病例, 或高度危险性病例的术后处理, 靶向治疗是重要的治疗方式^[5]。

GIST的临床行为多变, 年龄、部位、大小、核分裂指数及分子分型均为其独立预后因素^[6]。例如, *c-KIT*基因9号外显子、11号外显子及*PDGFRA*基因18号外显子除D842V之外的突变较之*c-KIT* 13号外显子及*PDGFRA* 12号外显子突变预后更差(相对危险度4.52)^[6]。因此, 基因检测对GIST预后也有重大意义。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集2012年6月至2017年7月来自北京协和医院病理科(100例)及其他医院(33例)经病理证实为GIST的133例标本,均进行了基因检测。来自北京协和医院的100例标本中,98例有组织病理报告,94例行CD117和DOG-1的免疫组织化学染色。每例标本均由3位病理科医师重新复查。本研究涉及的标本取材与处理符合相关人体实验道德标准,已经北京协和医院伦理审查委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学

用4%甲醛固定石蜡包埋的标本,采用EnVision两步法染色。抗体CD117购自福州迈新生物技术开发有限公司(kit-0029),抗体DOG-1购自德国Leica公司(DOG-1-L-CE)。切片由3位病理学医师独立阅读。CD117以肿瘤细胞胞膜呈棕黄色为阳性,以黏膜内的肥大细胞作为阳性内对照。CD117及DOG-1均为胞质着色。

1.2.2 诊断标准

常规形态符合GIST诊断要点且经免疫组织化学检测的标本共94例,89例因CD117阳性而诊断,其中4例CD117部分阳性,因DOG-1阳性或部分阳性而诊断;2例CD117弱阳性,因DOG-1阳性而诊断;1例CD117可疑阳性,因DOG-1阳性而诊断;4例CD117阴性,因DOG-1阳性而诊断;1例CD117,DOG-1均阴性,结合其基因检测结果,及病理组织学形态符合GIST,在排除平滑肌源性和神经源性肿瘤后纳入本研究。

1.2.3 *c-KIT* 和 *PDGFRA* 基因突变分析

由有经验的病理医师复习HE染色切片,挑选一块合适的肿瘤组织蜡块用于进一步试验。准备10张厚度为5 μm 未染色切片,圈出切片上的肿瘤组织区域并行手工刮除以富集肿瘤细胞。用试剂盒QIAamp DNA Mini Kit(德国Qiagen公司,51306)提取DNA并行PCR扩增。通过双向Sanger测序检测*c-KIT*和*PDGFRA*突变,并使用Chromas软件(版本1.45;澳大利亚Technelysium公司)解读测序结果。

1.2.4 危险度分级

根据2002年Fletcher等^[7]提出的危险度分级,对GIST进行危险度分级:1)胃部原发的GIST。肿瘤直径<2.0 cm且核分裂象<5/50 HPF为极低危;肿瘤直径2~5 cm且核分裂象<5/50 HPF为低危;肿瘤直径5~10 cm且核分裂象<5/50 HPF

或肿瘤直径<5 cm且核分裂象6~10/50 HPF为中危;肿瘤直径>5 cm且核分裂象>5/50 HPF或肿瘤直径>10 cm或核分裂象>10/50 HPF为高危。2)非胃部原发的GIST。肿瘤直径<2.0 cm且核分裂象 \leq 5/50 HPF为极低危;肿瘤直径2.1~5 cm且核分裂象 \leq 5/50 HPF为低危;肿瘤直径<2.0 cm且核分裂象6~10/50 HPF为中危;肿瘤直径2.1~5.0 cm且核分裂象6~10/50 HPF或肿瘤直径>5 cm或核分裂象>10/50 HPF为高危。

1.3 统计学处理

使用SPSS 23.0统计软件进行分析,采用卡方检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GIST 患者临床资料

133例GIST患者中男74例,女59例,男女比例为1.25:1。发病年龄为19~88(中位57)岁,发病高峰年龄为40~59岁(62例,47%),<40岁(17例,13%), \geq 60岁(54例,41%)。

2.2 GIST 肿瘤特点

原发部位由多至少依次为:小肠(59例,44.4%)、胃(57例,42.9%)、腹腔(8例,6.0%)、直肠(5例,3.8%)、盆腔(2例,1.5%)、肠系膜(2例,1.5%)。其中17例存在术后复发,或在诊断时已有多处累及或种植及转移,且部位多样,包括肠系膜、网膜、腹盆腔、肝、前列腺、胰腺等。共98例GIST获得了详细的病理报告,其中24例(24.5%)肿瘤最大直径<5 cm;53例(54.1%)肿瘤最大直径 \geq 5 cm但<10 cm;21例(21.4%)肿瘤最大直径 \geq 10 cm。36例(36.7%)核分裂象<5/50 HPF,26例(26.5%)核分裂象 \geq 10/50 HPF,25例(25.5%)的核分裂象为 \geq 5/50 HPF,但<10/50 HPF,10例因转移灶或者多发而未计算核分裂象,另有1例难以评估(表1)。98例GIST中,极低度侵袭危险1例,低度侵袭危险性9例,中度侵袭危险性20例,高度侵袭危险56例,恶性1例,复发性2例,转移性4例(转移部位有肝、盆腔、腹壁等),5例难于评估。统计学分析显示:不同性别的患者肿瘤原发部位、发病年龄及肿瘤大小差异无统计学意义($P=0.287$, $P=0.497$, $P=0.866$;表2)。由于一部分病例的核分裂象未计算或难以评估,核分裂象在不同性别中是否具有差异未予统计。

表1 98例GIST病例特点

Table 1 Characteristics of 98 GIST cases

GIST病例特点	总数
性别	
男	56
女	42
年龄/岁	
<40	9
40~59	50
≥60	39
原发部位	
小肠	48
胃	39
直肠	5
腹腔	4
肠系膜	2
肿瘤最大直径/cm	
<5	24
≥5, <10	53
≥10	21
核分裂象/(个/50 HPF)	
<5	36
≥5, <10	25
≥10	26
未计算或难以评估	11

2.3 c-KIT 突变分析

133例GIST患者中共101例(75.9%)检测到c-KIT突变, 其中最常见的是11号外显子突变(79例, 59.4%), 其次为9号外显子突变(13例, 9.8%), 17号外显子突变(5例, 3.8%), 13号外显子突变(4例, 3.0%), 其中包括5例(3.8%)双突变。这个比例与文献[3]报道的c-KIT突变比例相近。检测到的11号外显子共80处突变, 包括: 44处缺失突变、17处点突变、13处复合突变、6处插入突变。缺失突变中以W557_K558常见(图1)。5例双突变的GIST中, 除去上述1例11号外显子的双突变, 还有4例是11号外显子与17号外显子的双突变, 包括: 1例11号外显子W557R点突变与17号外显子Y823D点突变; 1例11号外显子K558_V559插入突变与17号外显子D816G点突变; 2例11号外显子缺失突变与17号外显子点突变, 其中11号外显子缺失突变均位于W557_K558, 而17号外显子点突变分别为D820G和Y823D。

表2 不同性别的GIST病例特点比较

Table 2 Comparison of GIST characteristics between males and females

GIST病例特点	男(n=56)	女(n=42)	P
年龄/岁			0.287
<40	5	4	
40~59	25	25	
≥60	26	13	
原发部位			0.497
小肠	31	17	
胃	19	20	
腹腔	3	1	
直肠	2	3	
肠系膜	1	1	
肿瘤最大直径/cm			0.866
<5	13	11	
≥5, <10	30	23	
≥10	13	8	

2.4 PDGFRA 突变分析

133例GIST患者中共11例(8.3%)检测到PDGFRA突变, 其中8例(6.0%)为18号外显子突变, 3例(2.3%)为12号外显子突变。18号外显子突变方式有: 点突变(5例)、缺失突变(1例)、复合突变(2例)。5例点突变中包括4例D842V突变和1例D846Y突变(图2)。这两个突变位点均在以往研究^[8]中被报道过, 且前者是PDGFRA 18号外显子最常见的突变位点。而1例缺失突变的位点为I843_D846^[8]。2例复合突变中, 1例为D842_D846, 1例为D842_S847。检测到的12号外显子突变方式有: 1例点突变、2例缺失突变。点突变位于V561D, 可编码PDGFRA的同源异构体, 该位点对伊马替尼高度敏感^[8]。缺失突变分别为S566和W559_S560。

本研究探究GIST基因突变与GIST临床表现之间的关系(表3), 发现c-KIT 11号外显子W557_K558缺失突变的病例多原发于胃, 9号外显子突变的病例多原发于小肠, 而PDGFRA突变病例均原发于胃, 由此可见基因突变部位、形式与肿瘤部位相关。统计学分析显示: c-KIT及PDGFRA突变在原发部位差异有统计学意义($P=0.010$), 而在不同性别及年龄方面, 差异无统计学意义(P 分别为0.603, 0.513; 表4)。

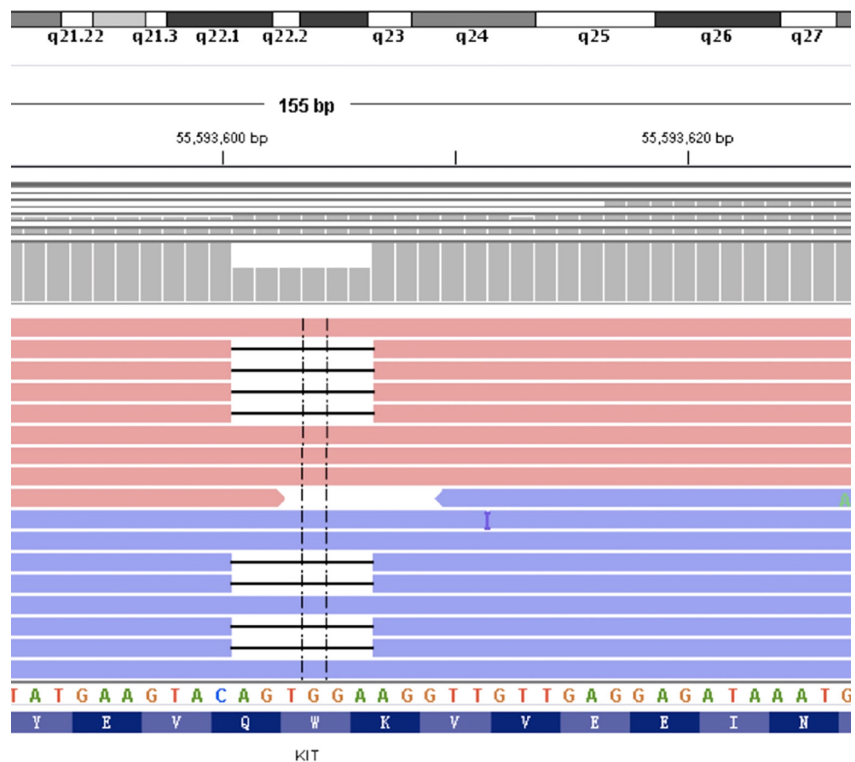


图1 *c-KIT* 11号外显子W557_K558缺失突变
Figure 1 W557_K558 deletion in *c-KIT* 11 exon

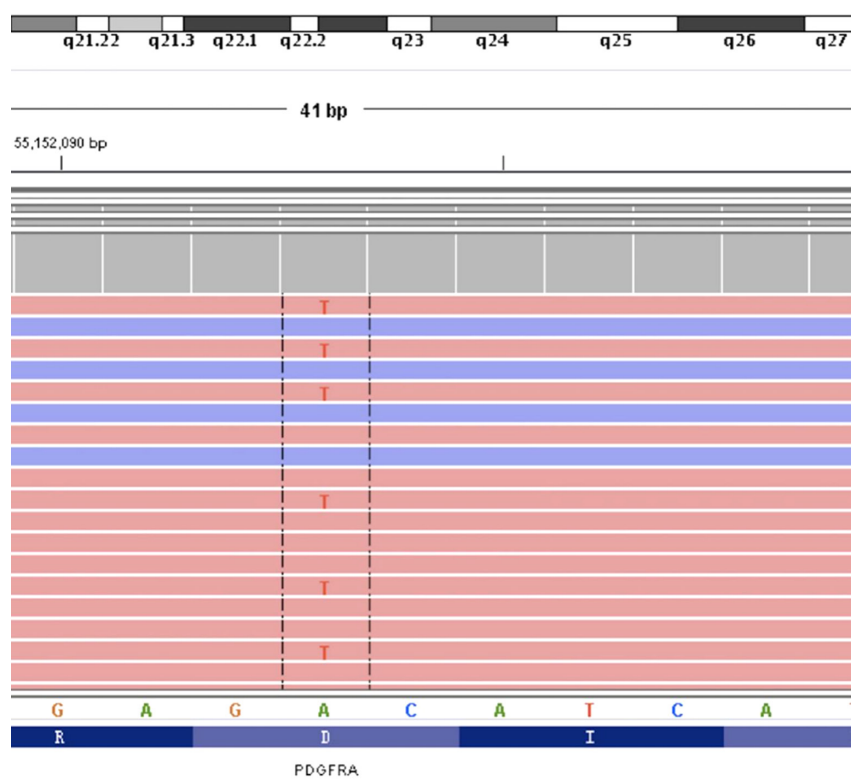


图2 *PDGFRA* 18号外显子D842V点突变
Figure 2 D842V point mutation in *PDGFRA* 18 exon

表3 GIST突变病例中基因状态与GIST临床病理特征的关系

Table 3 Relation between gene mutation and clinical features in mutated GIST cases

临床特征	c-KIT					PDGFRA			合计
	9号外 显子	11号外显子		13号外 显子	17号外 显子	12号外 显子	18号外显子		
		W557_K558de	其他				D842V	其他	
性别									
男	9	6	38	—	3	2	2	3	63
女	4	5	30	4	2	1	1	2	49
年龄/岁									
<40	1	1	7	1	1	—	—	—	11
40~59	6	6	35	—	1	2	2	2	54
≥60	6	4	26	3	3	1	1	3	47
原发部位									
小肠	9	3	34	1	1	—	—	—	48
胃	3	6	26	1	3	3	3	5	50
腹腔	—	—	3	1	—	—	—	—	4
直肠	—	2	3	—	—	—	—	—	5
盆腔	—	—	1	1	—	—	—	—	2
肠系膜	1	—	1	—	1	—	—	—	3

表4 c-KIT, PDGFRA突变病例临床特点比较

Table 4 Comparison of clinical characteristics between c-KIT and PDGFRA mutated cases

临床特点	c-KIT突变(n=101)	PDGFRA突变(n=11)	P
性别			0.603
男	56	7	
女	45	4	
年龄/岁			0.513
<40	11	0	
40~59	48	6	
≥60	42	5	
原发部位			0.010
小肠	48	0	
胃	39	11	
腹腔	4	0	
直肠	5	0	
盆腔	2	0	
肠系膜	3	0	

2.5 CD117, DOG-1 免疫组织化学检测

本研究共获得94例GIST的CD117, DOG-1染色结果。其中CD117阳性率为94.7%, DOG-1阳性率为97.9%(表5, 图3)。双阳性表达88例, CD117单独阳性1例, DOG-1单独阳性4例(图4), 双阴性1例(图5)。卡方检验结果显示: CD117与DOG-1表达水平差异有统计学意义($P=0.004$)。

表5 94例GIST的CD117及DOG-1免疫组织化学结果
Table 5 Immunohistochemical results of 94 GIST cases

DOG-1	CD117/[例(%)]		总计
	(+)	(-)	
(+)	88 (93.6)	4 (4.3)	92
(-)	1 (1.1)	1 (1.1)	2
总计	89	5	94

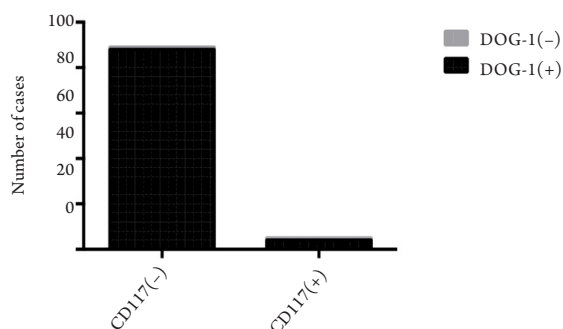


图3 94例GIST的CD117, DOG-1免疫组织化学结果
Figure 3 Immunohistochemical results of 94 GIST cases

2.6 基因突变与蛋白表达之间的关系

绝大部分CD117, DOG-1双阳性病例存在*c-KIT*或*PDGFRA*突变; DOG-1单阳性病例中*PDGFRA*突变多见; 1例CD117单阳性病例为野生型; 1例双阴性病例为*c-KIT* 11号外显子突变(表6)。

2.7 *c-KIT* 双重突变病例

在133例GIST中, 共发现5例双突变病例, 其中3例有格列卫或索坦长期治疗史, 不排除靶向药物治疗后第二位点突变; 1例无用药史; 1例病史不详(表7)。

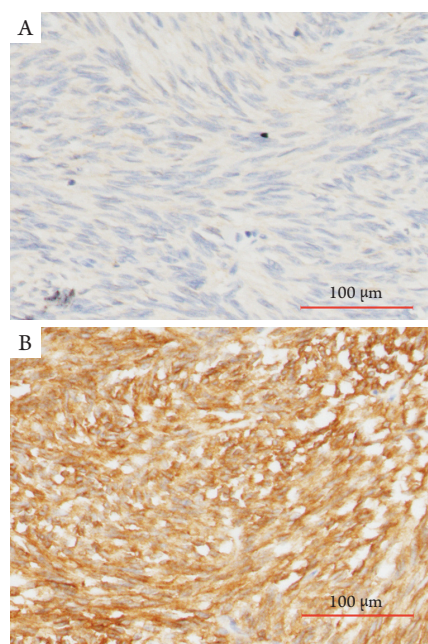


图4 DOG-1单阳性病例免疫组织化学染色(IHC, ×100)
Figure 4 Immunohistochemical staining of a DOG-1 single positive case (IHC, ×100)

(A)CD117阴性; (B)DOG-1阳性。
(A) CD117 negative; (B) DOG-1 positive.

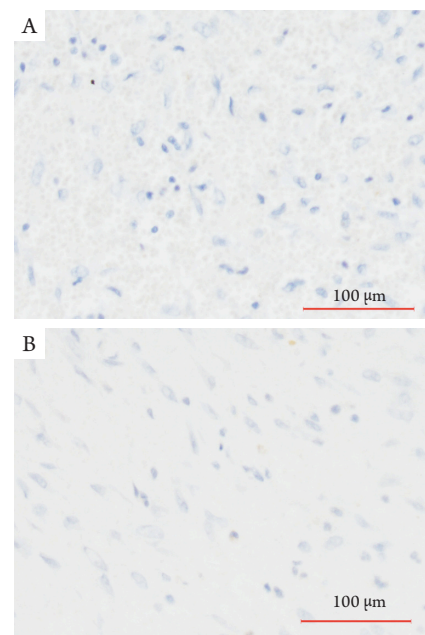


图5 双阴性病例免疫组织化学染色(IHC, ×100)
Figure 5 Immunohistochemical staining of a double negative case (IHC, ×100)

(A)CD117阴性; (B)DOG-1阴性。
(A) CD117 negative; (B) DOG-1 negative.

表6 94例GIST CD117, DOG-1表达及c-KIT, PDGFRA基因突变情况总结

Table 6 Summary of CD117 and DOG-1 expression and c-KIT and PDGFRA mutation in 94 GIST cases

CD117/DOG-1 表达	n	突变基因						合计
		c-KIT/9号 外显子	c-KIT/11号 外显子	c-KIT/13号 外显子	c-KIT/17号 外显子	PDGFRA/18号 外显子	PDGFRA/12号 外显子	
双阳性	88	10	62	2	4	3	1	78
CD117单阳性	1	0	0	0	0	0	0	0
DOG-1单阳性	4	0	1	0	0	2	1	4
双阴性	1	0	1	0	0	0	0	1
突变总数*		10	64	2	4	5	2	

*双突变被分别计入。

*Cases which harbor two mutations were counted twice.

表7 c-KIT双重突变病例特点

Table 7 Characteristics of cases which harbor double c-KIT mutations

病例	性别	年龄/岁	原发部位	肿瘤最大 直径/cm	核分裂象/ (个/50 HPF)	CD117/ DOG-1	c-KIT		用药史
							突变1	突变2	
1	女	68	肠系膜	≥5, <10	>10	+/+	11号外显子点突变: p.W557R(c.1669T>A)	17号外显子点突变: p.Y823D(c.2467T>G)	术后复 发, 格列 卫用药史
2	男	62	胃	<5	不详	+/+	11号外显子点突变: p.Y553S(c.1658A>C)	11号外显子点突变: p.K558N(c.1674G>T)	无用药史
3	男	64	小肠	≥5, <10	19	+/+	11号外显子插入突变: p.K558_ V559insP(c.1674_1675insTCC)	17号外显子点突变: p.D816G(c.2247A>G)	术后复 发, 索坦 用药史
4	男	38	胃(外院)	不详	不详	不详	11号外显子缺失突变, 突变位点: p.W557_ K558del(c.1667_1672delAGTGGGA)	17号外显子点突 变, 突变位点: p.D820G(c.2459A>G)	不详
5	女	77	胃	≥5, <10	不详	+/+	11号外显子缺失突变: p.W557_ K558del(c.1669_1674delTGGAAG)	17号外显子点突 变, 突变位点: p.Y823D(c.2467T>G)	术后复 发, 格列 卫用药史

3 讨论

GIST是一种CD117, DOG-1常为阳性, 且合并c-KIT或PDGFRA基因突变的间叶源性消化道肿瘤^[2]。免疫组织化学和基因分型对GIST的诊断、治疗和预后尤为重要。本研究采集133例GIST并分析其c-KIT, PDGFRA基因突变及CD117, DOG-1蛋白表达情况, 结果显示: 133例GIST中, 多数监测到c-KIT或PDGFRA突变。c-KIT突变病例中, 11号外显子突变频率最高, 其中以缺失突变最常见, W557_K558为常见突变位点, 9号

外显子次之, 17号及13号外显子突变频率较低; PDGFRA突变均为位于18号或12号外显子的已报道突变位点, 其中以D842V点突变最常见。由于大部分GIST具有相似的c-KIT或PDGFRA突变, 而酪氨酸激酶抑制剂可作用于c-KIT或PDGFRA的相应位点, 因此伊马替尼目前是难以通过手术切除肿瘤的GIST患者的一线用药, 但其治疗效果和最佳有效剂量与突变位点和方式有很大关系, 如对于9号外显子突变病例, 每日800 mg甲磺酸伊马替尼治疗的无瘤生存率明显高于400 mg, 但同样剂量对于11号外显子突变病例则无显著差异;

*PDGFRA*突变特别是18号外显子D842V处点突变病例大多原发耐药^[3,6,8,9]。因此,对GIST患者基因突变检测是GIST靶向治疗及预后判断的重要依据。

值得注意的是,本研究发现了5例双重*c-KIT*突变的病例。2013年曾有研究^[10]报道了发生于*c-KIT*基因11号外显子W557G/Y578C的2个点突变,该研究通过一系列细胞学研究及计算机分析说明该突变并不影响患者对伊马替尼的敏感性,而该患者对伊马替尼反应良好也证实了这一点。而对于继发性双重*c-KIT*基因突变的病例,第二处*c-KIT*突变位点常发生于继发性伊马替尼耐药的病例中,最常见的位点为17号外显子,其次为13和14号外显子^[9]。回顾本研究中的双重突变患者,4例为11号外显子及17号外显子突变,包括2例11号外显子缺失突变及17号外显子点突变、1例11号外显子点突变及17号外显子点突变、1例11号外显子插入突变及17号外显子点突变,17号外显子突变位点分别为Y823D, D820G, Y823D, D816G,其中1例病史不明,另外3例均为GIST术后且有1年以上使用伊马替尼或舒尼替尼治疗史,后又复发或转移,因此考虑为继发突变。1例是位于11号外显子的双重点突变,分别为Y553S与K558N,均为11号外显子的常见突变位点,该患者术前未曾使用靶向药物,故考虑为原发突变。原发双重突变的生物学及临床意义尚不明确,需要进一步研究。GIST突变位点与其耐药性相关,而起初敏感的病例可能在用药中产生继发突变而耐药,因此对多次手术的患者原发及继发部位多次基因检测有助于揭示其耐药原因。

GIST突变形式可能与肿瘤原发部位相关。在133例病例中,原发于小肠的突变病例全部为*c-KIT*基因突变,且绝大多数位于11号或9号外显子,而*PDGFRA*突变病例全部原发于胃。

在对94份样本的免疫组织化学分析中,绝大多数GIST病例为CD117, DOG-1双阳性表达,且CD117与DOG-1表达差异有统计学意义,目前二者已被纳入GIST的诊断体系,在与其他组织形态学相似的肿瘤鉴别诊断过程中具有重要作用^[11]。本研究显示:CD117与DOG-1单阳性表达少见,DOG-1单阳性病例多数为*PDGFRA*突变,CD117与DOG-1双阴性病例罕见,对于这一部分病例(尤其是CD117/DOG-1双阴性病例)基因检测有关键性的诊断价值。

本研究选取了较大样本并研究其病例特点、基因突变、蛋白表达情况及它们之间的关

系,目的在于探寻GIST基因突变与临床表现之间的关系,为进一步研究GIST的分子病理学特点及生物靶向治疗提供依据。尽管CD117, DOG-1已被纳入GIST诊断体系,但在临床工作中,仍不能忽视双阴性病例,可通过基因检测筛选出免疫组织化学漏检的病例。因此,基因检测与免疫组织化学同时应用更有助于GIST的诊断与治疗。但本研究仍存在一定的局限性,由于选取的病例时间较近,且一部分来源于近几个月,尚不能评估基因突变及蛋白表达与患者预后的关系。未来仍需持续关注患者随诊情况,以备远期评估。

参考文献

1. Reddy RM, Fleshman JW. Colorectal gastrointestinal stromal tumors: a brief review[J]. Clin Colon Rectal Surg, 2006, 19(2): 69-77.
2. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis[J]. Arch Pathol Lab Med, 2006, 130(10): 1466-1478.
3. 史恩溢, 朱雄增. 胃肠道间质瘤的分子分型与靶向治疗[J]. 中华病理学杂志, 2008, 37(8): 555-558.
SHI Enyi, ZHU Xiongze. Molecular classifications and targeted therapy of gastrointestinal stromal tumor (GIST)[J]. Chinese Journal of Pathology, 2008, 37(8): 555-558.
4. Gutierrez MR, Dorronsoro ML, Marco AM, et al. The role of the DOG1 antibody in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumours—GIST[J]. An Sist Sanit Navar, 2011, 34(2): 245-251.
5. 贺慧颖, 方伟岗, 钟镛镐, 等. 165例胃肠道间质瘤中*c-KIT*和*PDGFRA*基因突变的检测和临床诊断意义[J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(5): 262-266.
HE Huiying, FANG Weigang, ZHONG Haohao, et al. Status and clinical implication of *c-kit* and *PDGFRA* mutations in 165 cases of gastrointestinal stromal tumor (GIST)[J]. Chinese Journal of Pathology, 2006, 35(5): 262-266.
6. Rossi S, Gasparotto D, Miceli R, et al. KIT, PDGFRA, and BRAF mutational spectrum impacts on the natural history of imatinib-naive localized GIST: a population-based study[J]. Am J Surg Pathol, 2015, 39(7): 922-930.
7. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach[J]. Int J Surg Pathol, 2002, 10(2): 81-89.
8. Corless CL, Schroeder A, Griffith D, et al. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: frequency, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(23): 5357-5364.
9. Lee JH, Kim Y, Choi JW, et al. Correlation of imatinib resistance with

- the mutational status of KIT and PDGFRA genes in gastrointestinal stromal tumors: a meta-analysis[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2013, 22(4): 413-418.
10. Conca E, Miranda C, Dal Col V, et al. Are two better than one? A novel double-mutant KIT in GIST that responds to Imatinib[J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(4): 756-762.
11. Ríos-Moreno MJ, Jaramillo S, Pereira Gallardo S, et al. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): CD117, DOG-1 and PKC θ expression. Is there any advantage in using several markers?[J]. *Pathol Res Pract*, 2012, 208(2): 74-81.

本文引用: 陈净慈, 吴焕文, 陆俊良, 周炜洵, 梁智勇. 胃肠道间质瘤*c-KIT*, *PDGFRA*基因突变及CD117, DOG-1蛋白的表达情况[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(2): 257-266. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.006

Cite this article as: CHEN Jingci, WU Huanwen, LU Junliang, ZHOU Weixun, LIANG Zhiyong. *c-KIT* and *PDGFRA* mutations and expression of CD117 and DOG-1 in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(2): 257-266. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.02.006