

胃肠间质瘤 c-kit、血小板源性生长因子受体 A 基因外显子突变谱与临床病理学特征分析

石磊¹, 陈平¹, 王昊¹, 赵伟¹, 符德元²

(江苏省苏北人民医院/扬州大学临床医学院, 1. 胃肠外科, 2. 甲乳外科, 江苏 扬州, 225001)

摘要: **目的** 分析胃肠间质瘤(GIST)中 c-kit、血小板源性生长因子受体 A(PDGFR α) 基因突变类型、特点及其与 GIST 临床病理学特征的关系。**方法** 收集 288 例 GIST 患者的临床病理资料和肿瘤组织标本,应用聚合酶链式反应扩增-直接测序法检测 c-kit(外显子 9、11、13、17)与 PDGFR α 基因(外显子 12、18)的突变状态,分析其突变类型、突变位点与临床病理学特征的关系。**结果** 288 例 GIST 患者中,原发性突变型 244 例(84.72%),继发性耐药突变型 10 例(3.47%),野生型 34 例(11.81%)。244 例原发性突变型 GIST 患者中,c-kit 基因突变 231 例(外显子 9、11、13、17 突变分别为 25、189、7、10 例),PDGFR α 基因突变 13 例(外显子 12、18 突变分别为 3、10 例)。189 例 c-kit 基因外显子 11 突变中,缺失突变 111 例(58.73%)、点突变 65 例(34.39%)、重复突变 3 例(1.59%)、插入突变 4 例(2.12%)、混合突变 6 例(3.17%);外显子 11 突变热点区域为 557~560 位密码子。突变位点与肿瘤原发部位、肿瘤大小、核分裂象计数有关($P < 0.05$);突变类型与患者年龄、肿瘤原发部位、肿瘤大小、核分裂象计数、改良美国国立卫生研究院(NIH)危险分级有关($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示,大于 60 岁、缺失突变、c-kit 外显子 11 突变的 GIST 患者,其改良 NIH 危险分级风险分别增高 2.060(95% CI 为 1.066~3.980)、3.264(95% CI 为 1.628~6.545)、3.819(95% CI 为 1.585~9.205)倍。**结论** GIST 中 c-kit 和 PDGFR α 基因突变率高且突变类型位点多样,与 GIST 患者临床病理及预后密切相关,可为 GIST 全程化管理提供参考。

关键词: 胃肠间质瘤; c-kit; 血小板源性生长因子受体 A; 基因突变

中图分类号: R 735.2; R 735.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)13-045-08 DOI: 10.7619/jcmp.20211943

Analysis in mutation profile of c-kit and platelet derived growth factor receptor A gene exon and clinicopathological characteristics in gastrointestinal stromal tumors

SHI Lei¹, CHEN Ping¹, WANG Hao¹, ZHAO Wei¹, FU Deyuan²

(1. Department of Gastrointestinal Surgery, 2. Department of Thyroid and Breast Surgery, Subei People's Hospital in Jiangsu Province, Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, 225001)

Abstract: Objective To analyze the types and characteristics of c-kit and platelet derived growth factor receptor A (PDGFR α) gene mutations in gastrointestinal stromal tumors (GIST) and their relationships with clinicopathological characteristics of GIST. **Methods** The clinicopathological data and tumor tissue specimens of 288 patients with GIST were collected, and the polymerase chain reaction amplification-direct sequencing method was used to detect the mutation status of c-kit (exons 9, 11, 13, 17) and PDGFR α gene (exons 12, 18), and the relationships between mutation types, sites and clinicopathological characteristics were analyzed. **Results** Among the 288 GIST cases, 244 cases were primary mutations type (84.72%), 10 cases were secondary drug-resistant mutations type (3.47%), and 34 cases were wild-type (11.81%). Among the 244 patients with primary mutant GIST, there were 231 (94.67%) mutations in the c-kit gene, and the mutations in exons 9, 11, 13, and 17 were 25, 189, 7, and 10 cases, respectively. There were 13 cases with PDGFR α gene mutation, of which exon 12 and 18 mutations were 3 and 10 cases, respectively. Among 189 cases with c-kit

gene exon 11 mutations, 111 cases (58.73%) were deletion mutations, 65 cases (34.39%) were point mutations, 3 cases were repeated mutations (1.59%), 4 cases were insertion mutations (2.12%), and 6 cases were mixed mutations (3.17%). The hot spot of exon 11 mutation was codons 557 to 560. The mutation site was related to the primary tumor site, tumor size and mitotic count ($P < 0.05$). The type of mutation was related to the patient's age, primary site of tumor, tumor size, mitotic count and modified National Institutes of Health (NIH) risk classification ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that GIST patients aged more than 60 years old, with deletion mutations and c-kit exon 11 mutations had an increased risk of modified NIH risk classification by 2.060 (95% CI was 1.066 to 3.980), 3.264 (95% CI was 1.628 to 6.545) and 3.819 (95% CI was 1.585 to 9.205) times. **Conclusion** The c-kit and PDGFRA genes in GIST have a high mutation rate and diverse mutation types or sites, which are closely related to the clinicopathology and prognosis of GIST patients, and can provide a reference for the whole-process management of GIST.

Key words: gastrointestinal stromal tumor; c-kit; platelet derived growth factor receptor A; gene mutation

胃肠间质瘤(GIST)是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤,显示Cajal间质细胞分化,大多数患者具有c-kit或血小板源性生长因子受体A(PDG-FRA)功能获得性突变^[1]。《中国胃肠间质瘤诊断治疗共识(2017年版)》^[2]推荐疑难病例、拟行靶向治疗(包括术前治疗、辅助治疗和晚期GIST靶向治疗)、野生型、继发耐药GIST患者行常规基因检测。基因检测对评估GIST患者预后以及分子靶向治疗反应性均有指导意义。本研究分析GIST中c-kit、PDGFRA基因的突变类型及特点,探讨其与GIST临床病理学特征的关系,旨在为GIST患者的全程化管理提供参考。

1 资料与方法

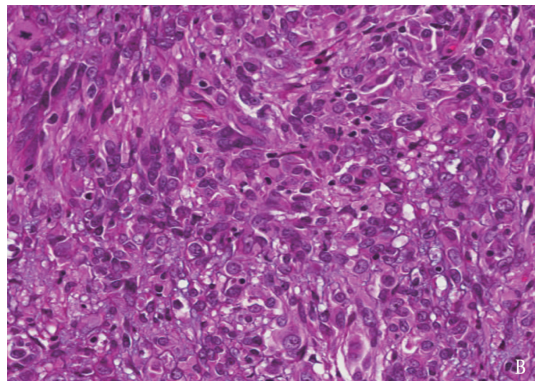
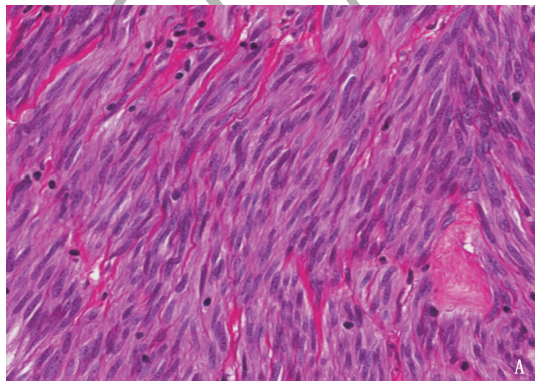
1.1 一般资料

收集江苏省苏北人民医院2013年1月—2020年12月收治的288例经临床诊断、病理检查确诊为GIST且具有完整临床病理学资料、基因

突变信息的患者信息。临床病理学资料包括性别、年龄、肿瘤原发部位、肿瘤最大径、核分裂象计数、改良美国国立卫生研究院(NIH)危险分级和CD117、CD34和DOG-1表达情况等。基因突变信息包括c-kit基因外显子9、外显子11、外显子13、外显子17和PDGFRA基因外显子12、外显子18的突变情况。

1.2 Sanger基因测序

选择合适的肿瘤组织石蜡包埋切片5张,勾选肿瘤细胞比例在60%以上的肿瘤组织区域并行刮取、富集肿瘤细胞,苏木精-伊红(HE)染色结果见图1。提取DNA,测定DNA浓度和纯度,进行聚合酶链式反应扩增。采用双向Sanger测序检测c-kit基因外显子9、外显子11、外显子13、外显子17及PDGFRA基因外显子12、外显子18突变,测序引物见表1。对于DNA碎片严重的标本,可针对性地设计短片段引物测序。最后应用Chromas软件进行测序结果解读。



A: 梭形细胞型GIST; B: 上皮细胞型GIST。

图1 肿瘤细胞比例在60%以上的肿瘤组织切片HE染色图(放大倍数20倍)

表 1 c-kit 和 PDGFRA 外显子的 PCR 引物

外显子		正向引物	反向引物
c-kit 基因	外显子 9	GCCACATCCCAAGTGTTTTATG	GAGCCTAAACATCCCCTTAAATTG
	外显子 11	CCAGAGTGCTCTAATGACTG	TTATGTGTACCCTAAAAGCTGACA
	外显子 13	GCTTGACATCAGTTGCCAG	GACAGACAATAAAAAGCCAGCTTG
	外显子 17	TACAAAGTTAAAATGAATTTAAATGGT	AAGTTGAAAATAAAAATCCTTTGC
PDGFRA 基因	外显子 12	CTCTGGTGCACCTGGACTTT	GCAAGGGAAAAGGGAGCTTT
	外显子 18	CTTGCAGGGGTGATGCTATT	AGAAGCAACACCTGACTTTAGAGATTA

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料以 [n(%)] 表示,比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验,多因素分析采用二元 Logistic 回归分析,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理学特征

288 例 GIST 患者中,原发性突变型 GIST (MUT-GIST) 244 例 (84.72%), 继发性耐药 MUT-GIST 10 例 (3.47%), 野生型 GIST (WT-GIST) 34 例 (11.81%)。244 例原发性 MUT-GIST 中, c-kit 基因突变 231 例 (外显子 9、11、13、17 突变分别为 25、189、7、10 例), PDGFRA 基因突变 13 例 (外显子 12、18 突变分别为 3、10 例)。见图 2。剔除继发性耐药 MUT-GIST 和 WT-GIST, 对 244 例原发性 MUT-GIST 进一步分析。

膜)。见表 2。

表 2 244 例原发性 MUT-GIST 患者临床病理学特征

特征	n	占比/%
性别	男	144 59.02
	女	100 40.98
年龄	≤60 岁	128 52.46
	>60 岁	116 47.54
临床表现	腹痛	104 42.62
	消化道出血	70 28.69
	梗阻	17 6.97
	穿孔/破裂	9 3.69
	体质量下降	6 2.46
	无症状	38 15.57
	肿瘤原发部位	胃
	十二指肠	8 3.28
	小肠	35 14.34
	结肠	3 1.23
	直肠	17 6.97
	胃肠道外	19 7.79
肿瘤最大径	≤5 cm	77 31.56
	>5 ~ 10 cm	114 46.72
	>10 cm	53 21.72
细胞分型	梭形细胞型	187 76.64
	上皮细胞型	45 18.44
	混合细胞型	12 4.92
核分裂象计数	0 ~ 5 个/50 HPFs	153 62.70
	>5 ~ 10 个/50 HPFs	77 31.56
	>10 个/50 HPFs	14 5.74
肿瘤破裂	是	5 2.05
	否	239 97.95
改良 NIH 危险分级	极低危	9 3.69
	低危	47 19.26
	中危	67 27.46
	高危	121 49.59
CD117	-	7 2.87
	+	222 90.98
	++	9 3.69
	+++	6 2.46
DOG-1	-	15 6.15
	+	223 91.39
	++	5 2.05
	+++	1 0.41
CD34	-	18 7.38
	+	215 88.11
	++	0 0
	+++	11 4.51

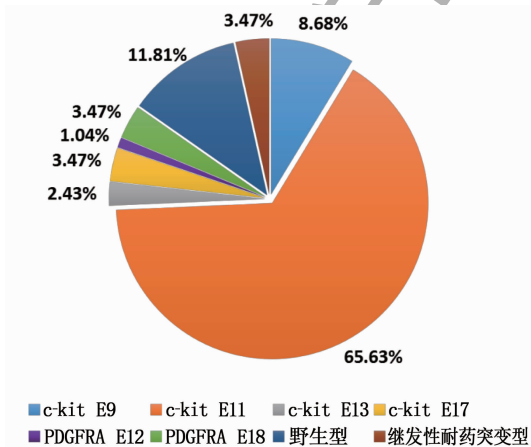


图 2 288 例 GIST 不同突变类型比例图

244 例原发性 MUT-GIST 患者中,男 144 例,女 100 例,年龄 30 ~ 85 岁,平均 (59.14 ± 9.66) 岁,肿瘤最大径 1 ~ 26 cm,平均 (7.73 ± 4.06) cm。肿瘤最常见的部位是胃,其次是小肠、直肠、十二指肠和结肠,其余 19 例患者的肿瘤位于胃肠外部位或不能明确原发灶 (包括腹膜后、肠系膜和网

HPFs: 高倍镜视野; NIH: 美国国立卫生研究院。

2.2 基因突变分析结果

2.2.1 原发性 MUT-GIST 基因突变分析结果: 244 例原发性 MUT-GIST 外显子突变比例、突变类

型见图 3、图 4。244 例原发性 MUT-GIST 外显子突变类型比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 262.629$, $P < 0.05$), 见表 3。

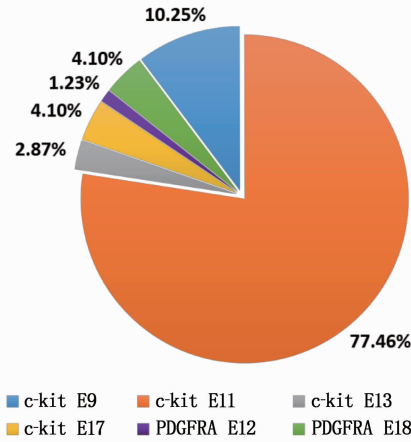


图 3 244 例原发性 MUT-GIST 外显子突变比例图

子 11 突变涉及 550 ~ 579 位密码子, 累积突变频次 557 次, 热点区域集中在 557 ~ 560 位密码子, 占 54.76% (305/557), 见表 4、图 5。7 例 c-kit 外显子 13 MUT-GIST 均为 K642E 点突变。10 例 c-kit 外显子 17 MUT-GIST 均为点突变, 其中 D816E 点突变 1 例 (10.00%)、D816V 点突变 1 例 (10.00%)、N822K 点突变 8 例 (80.00%)。3 例 PDGFRA 外显子 12 MUT-GIST 中, V561D 点突变 1 例 (33.33%)、S566R、567-571 缺失混合突变 1 例 (33.33%)、S566Q、567-571 缺失混合突变 1 例 (33.33%)。10 例 PDGFRA 外显子 18 MUT-GIST 中, Del I843-D846 缺失突变 1 例 (10.00%)、V824V 点突变 2 例 (20.00%)、Y849C 点突变 2 例 (20.00%)、D842V 点突变 5 例 (50.00%)。

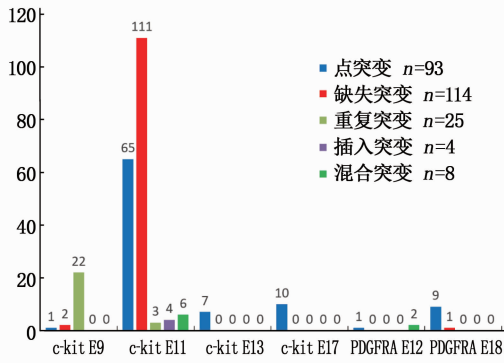


图 4 244 例原发性 MUT-GIST 外显子突变类型

2.2.2 继发性耐药 MUT-GIST 基因突变分析结果: 10 例继发性耐药 MUT-GIST 均为术后复发、转移病例, 患者均接受甲伊马替尼分子靶向治疗。9 例原发性突变为 c-kit 外显子 11 突变 (90.00%), 1 例原发性突变为 c-kit 外显子 9 突变 (10.00%); 继发性 c-kit 外显子 13 突变 2 例 (20.00%), 继发性 c-kit 外显子 17 突变 2 例 (20.00%), 继发性 c-kit 外显子 18 突变 6 例 (60.00%)。10 例患者的临床病理及基因突变信息见表 5。

表 3 244 例原发性 MUT-GIST 外显子突变类型比较

突变类型	c-kit 外显子				PDGFRA 外显子	
	E9	E11	E13	E17	E12	E18
点突变	1	65	7	10	1	9
缺失突变	2	111	0	0	0	1
重复突变	22	3	0	0	0	0
插入突变	0	4	0	0	0	0
混合突变	0	6	0	0	2	0

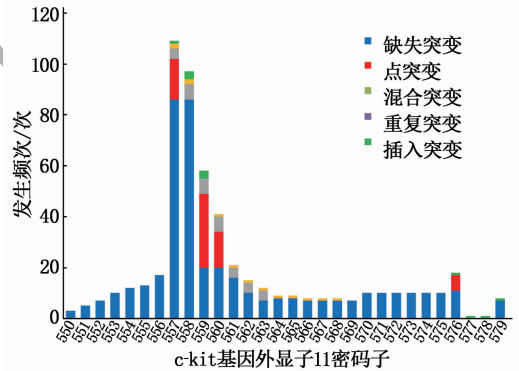


图 5 c-kit 外显子 11 密码子突变频次

25 例 c-kit 基因外显子 9 MUT-GIST 中, A502-Y503 重复突变 22 例 (88.00%)、F506L 点突变 1 例 (4.00%)、C452-S453 缺失突变 2 例 (8.00%)。189 例 c-kit 外显子 11 MUT-GIST 突变类型复杂多样, 包括缺失突变 111 例 (58.73%)、点突变 65 例 (34.39%)、重复突变 3 例 (1.59%)、插入突变 4 例 (2.12%) 和混合突变 6 例 (3.17%)。缺失突变和点突变是 c-kit 外显子 11 最常见的突变类型, 大多数 c-kit 外显子 11 突变表现为 del W557-K558 缺失突变 (60 例, 占 31.75%)。外显

2.3 基因突变与临床病理特征的关系

2.3.1 基因突变位点与临床病理特征的关系: 原发性 MUT-GIST 基因突变位点与肿瘤原发部位、肿瘤最大径、核分裂像计数有关 ($P < 0.05$), 与其他临床病理特征无关 ($P > 0.05$)。c-kit 外显子 11 突变更易发生在胃来源的 GIST, 其次为小肠; c-kit 外显子 9 突变最常见于小肠来源的 GIST; c-kit 外显子 13、17 突变常见于胃来源的 GIST; PDGFRA 突变常见于胃来源的 GIST。c-kit 外显子 11、9、13、17 突变易发生在肿瘤最大径 >

表 4 c-kit 外显子 11 密码子突变频次

密码子	突变类型					合计	占比/%
	插入突变	点突变	混合突变	缺失突变	重复突变		
550	0	0	0	3	0	3	0.54
551	0	0	0	5	0	5	0.90
552	0	0	0	7	0	7	1.26
553	0	0	0	10	0	10	1.80
554	0	0	0	12	0	12	2.15
555	0	0	0	13	0	13	2.33
556	0	0	0	17	0	17	3.05
557	1	16	4	86	2	109	19.57
558	3	0	6	86	2	97	17.41
559	3	29	6	20	0	58	10.41
560	0	14	6	20	1	41	7.36
561	0	0	4	16	1	21	3.77
562	0	0	4	10	1	15	2.69
563	0	0	4	7	1	12	2.15
564	0	0	0	8	1	9	1.62
565	0	0	0	8	1	9	1.62
566	0	0	0	7	1	8	1.44
567	0	0	0	7	1	8	1.44
568	0	0	0	7	1	8	1.44
569	0	0	0	7	0	7	1.26
570	0	0	0	10	0	10	1.80
571	0	0	0	10	0	10	1.80
572	0	0	0	10	0	10	1.80
573	0	0	0	10	0	10	1.80
574	0	0	0	10	0	10	1.80
575	0	0	0	10	0	10	1.80
576	1	6	0	11	0	18	3.23
577	1	0	0	0	0	1	0.18
578	1	0	0	0	0	1	0.18
579	1	0	0	7	0	8	1.44
合计	11	65	34	434	13	557	100.00

表 5 10 例继发性耐药 MUT-GIST 患者的临床病理及基因突变信息

序号	性别	年龄	原发部位	肿瘤最大径	细胞分型	核分裂象计数	转移、复发部位	原发性突变	继发性突变	时间间隔
1	男	63	胃	4.0 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	胃	c-kit E11 del D579	c-kit E18 F848V	20 个月
2	男	54	胃	10.2 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	肝、腹壁	c-kit E11 del K558-E562	c-kit E13 V654A	47 个月
3	女	60	胃	10.0 cm	梭形细胞型	5~10 个/50 HPFs	腹腔、盆腔	c-kit E11 del W557-K558	c-kit E18 L862L	18 个月
4	女	55	胃	6.5 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	腹腔、盆腔	c-kit E11 V560D	c-kit E18 L862L	21 个月
5	女	54	胃	14.0 cm	混合细胞型	>5~10 个/50 HPFs	肝、腹腔、盆腔	c-kit E11 del W557-K558	c-kit E18 L862L	12 个月
6	男	53	胃	20.0 cm	梭形细胞型	>5~10 个/50 HPFs	胃、横结肠	c-kit E11 del W557-K558	c-kit E18 A829P	32 个月
7	男	57	胃	7.5 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	腹腔、盆腔	c-kit E11 L576P	c-kit E18 L862L	18 个月
8	男	62	胃	4.5 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	胃	c-kit E11 V559D	c-kit E13 V654A	46 个月
9	女	67	胃	5.0 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	胃	c-kit E11 V557R	c-kit E17 N822K	13 个月
10	男	51	小肠	10.0 cm	梭形细胞型	0~5 个/50 HPFs	肝、盆腔	c-kit E9 A502_Y503dup	c-kit E17 D820Y	28 个月

HPFs: 高倍镜视野; 时间间隔: 继发性突变发生距原发性突变发生的时间间隔

5~10 cm 的 GIST。c-kit 外显子 11 突变更易发生在核分裂象 0~5 个/50 HPFs 的 GIST, 其次为核分裂象 >5~10 个/50 HPFs 的 GIST; c-kit 外显子 9 突变最常见于核分裂象 >5~10 个/50 HPFs 的 GIST; c-kit 外显子 13 多见于核分裂象 >5~10 个/50 HPFs 的 GIST, c-kit 外显子 17 突变常见于核分裂象 0~5 个/50 HPFs 的 GIST。PDGFRA 突变常

见于核分裂象 0~5 个/50 HPFs 的 GIST。见表 6。

2.3.2 基因突变类型与临床病理特征的关系: 原发性 MUT-GIST 基因突变类型与患者年龄、肿瘤原发部位、肿瘤最大径、核分裂像计数、改良 NIH 危险分级有关 ($P < 0.05$), 与其他临床病理特征无关 ($P > 0.05$)。≤60 岁患者突变类型由多到少依次为点突变、缺失突变、重复突变、混合突

变和插入突变, >60 岁患者则依次为缺失突变、点突变、重复突变、混合突变和插入突变。点突变和缺失突变最常发生在胃来源的 GIST, 而小肠来源的 GIST 中以缺失突变和重复突变更常见。肿瘤最大径 ≤5 cm 的 GIST 最常见的突变类型为点突变, 肿瘤最大径 >5 cm 的 GIST 最常见的突变类型为缺失突变。核分裂象 0~5 个/50 HPFs 的 GIST 最常见的突变类型为点突变, 核分裂象 >5 个/50 HPFs 的 GIST 最常见的突变类型为缺失突变。NIH 危险分级为极低危、低危组中最常见的突变类型为点突变, 中危、高危组最常见的突变类型为缺失突变。见表 7。

2.4 GIST 危险分级的 Logistic 回归分析

考虑到改良 NIH 危险分级是由肿瘤原发部位、肿瘤大小、核分裂象计数和肿瘤是否破裂这 4 个因素计算得来, 因此剔除肿瘤原发部位、肿瘤大小、核分裂象计数后将性别、年龄、突变类型、外显

子这 4 个因素作为协变量, 以改良 NIH 危险分级极低危与低危组、中危与高危组为因变量进行二元 Logistic 回归分析。结果发现, 年龄 >60 岁、缺失突变、c-kit 外显子 11 突变患者的改良 NIH 危险分级风险分别增高 2.060、3.264、3.819 倍。见表 8。

3 讨论

GIST 是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤, 显示 Cajal 间质细胞分化, c-kit 或 PDGFRA 功能获得性突变被认为是 GIST 发生的驱动因子^[1]。相关研究^[3-5]报道, GIST 患者 c-kit 突变发生率为 75%~95%, 最主要发生于外显子 11, 其次为外显子 9、13、17, 偶可见外显子 14、18 突变; PDGFRA 突变发生率为 3%~10%, 多见于外显子 12、18, 外显子 14 突变少见。本研究中, 原发性 c-kit 突变占 80.21%, 原发性 PDGFRA 突变占 4.51%, 野生型占 11.81%, 继发性耐药突变型占 3.47%。

表 6 244 例原发性 MUT-GIST 患者基因突变位点与临床病理特征的关系

特征	c-kit 外显子				PDGFRA 外显子		χ^2/F	P	
	E9	E11	E13	E17	E12	E18			
性别	男	14	112	5	6	2	5	0.957	0.973
	女	11	77	2	4	1	5		
年龄	≤60 岁	17	94	3	6	2	6	3.941	0.585
	>60 岁	8	95	4	4	1	4		
原发部位	胃	8	133	6	6	2	7	73.826	0.001
	十二指肠	0	7	1	0	0	0		
	小肠	15	20	0	0	0	0		
	结肠	0	2	0	0	0	1		
	直肠	1	12	0	1	1	2		
	胃肠道外	1	15	0	3	0	0		
	肿瘤最大径	≤5 cm	2	67	1	3	2		
>5~10 cm	21	77	5	5	1	5			
>10 cm	2	45	1	2	0	3			
细胞分型	梭形细胞型	16	151	4	7	3	6	12.044	0.182
	上皮细胞型	6	31	3	2	0	3		
	混合细胞型	3	7	0	1	0	1		
核分裂象计数	0~5 个/50 HPFs	5	128	2	8	3	7	31.097	0.001
	>5~10 个/50 HPFs	14	53	5	2	0	3		
	>10 个/50 HPFs	6	8	0	0	0	0		
改良 NIH 危险分级	极低危	0	8	0	1	0	0	19.855	0.096
	低危	2	40	0	2	2	1		
	中危	4	51	5	2	1	4		
	高危	19	90	2	5	0	5		
CD117	阴性	2	4	0	1	0	0	6.309	0.275
	阳性	23	185	7	9	3	10		
DOG-1	阴性	3	9	0	3	0	0	9.281	0.061
	阳性	22	180	7	7	3	10		
CD34	阴性	0	16	2	0	0	0	6.261	0.184
	阳性	25	173	5	10	3	10		

HPFs: 高倍镜视野; NIH: 美国国立卫生研究院。

表 7 244 例原发性 MUT-GIST 患者基因突变类型与临床病理特征的关系

特征		突变类型					χ^2 / F	P
		点突变	缺失突变	重复突变	插入突变	混合突变		
性别	男	49	72	16	2	5	2.780	0.595
	女	44	42	9	2	3		
年龄	≤60 岁	61	47	15	1	4	13.995	0.007
	>60 岁	32	67	10	3	4		
原发部位	胃	73	72	8	3	6	55.351	0.001
	十二指肠	1	6	0	0	1		
	小肠	7	13	14	1	0		
	结肠	1	2	0	0	0		
	直肠	7	7	2	0	1		
	胃肠道外	4	14	1	0	0		
肿瘤最大径	≤5 cm	37	32	2	3	3	27.685	0.002
	>5 ~ 10 cm	43	45	20	1	5		
	>10 cm	13	37	3	0	0		
细胞分型	梭形细胞型	71	91	16	4	5	7.732	0.380
	上皮细胞型	19	16	7	0	3		
	混合细胞型	3	7	2	0	0		
核分裂象计数	0 ~ 5 个/50 HPFs	72	66	6	4	5	32.363	0.001
	>5 ~ 10 个/50 HPFs	20	41	14	0	2		
	>10 个/50 HPFs	1	7	5	0	1		
NIH 危险分级	极低危	5	4	0	0	0	27.676	0.003
	低危	27	13	2	3	2		
	中危	28	30	5	1	3		
	高危	33	67	18	0	3		
CD117	阴性	3	2	2	0	0	3.755	0.451
	阳性	90	112	23	4	8		
DOG-1	阴性	5	9	1	0	0	0.871	0.880
	阳性	88	105	24	4	8		
CD34	阴性	7	9	1	0	1	1.208	0.859
	阳性	86	105	24	4	7		

HPFs: 高倍镜视野; NIH: 美国国立卫生研究院。

表 8 GIST 危险分级的 Logistic 回归分析

因素	OR	95% CI	P
年龄	≤60 岁	1.000	-
	>60 岁	2.060	1.066 ~ 3.980
突变类型	其他突变	1.000	-
	缺失突变	3.264	1.628 ~ 6.545
外显子	其他外显子	1.000	-
	c-kit 外显子 11	3.819	1.585 ~ 9.205

考虑到 PCR 反应假阴性结果导致“假野生型”的可能,本研究剔除野生型 GIST,仅对突变型 GIST 进行分析。本研究发现, c-kit 基因突变以外显子 11 最为常见,其次为外显子 9,少见外显子 13、17, PDGFRA 突变则相对少见,其中外显子 18 较外显子 12 突变常见,同时 c-kit 突变与 PDGFRA 突变呈现出互斥性,与相关研究^[6]结论一致。c-kit 基因外显子 9 突变以 A502-Y503 重复突变为主(88.00%),且肿瘤原发部位多位于小肠,与 SZUCS Z 等^[7]研究结果一致。c-kit 基因外显子 11 突变类型、位点最为复杂多样,突变类型以缺失突变和点突变为,突变热点区域集中在 557 ~ 560

位密码子,其中以 W557-K558 缺失突变最为常见,与相关报道^[8]一致。c-kit 基因外显子 13、17 均为点突变, PDGFRA 以外显子 18 的 D842V 突变为,与报道^[8]一致。

c-kit 和 PDGFRA 基因突变状态是目前 GIST 靶向治疗最有力的疗效预测因子^[9]。c-kit 基因外显子 11 突变患者对伊马替尼最敏感, c-kit 基因外显子 9 及野生型 GIST 对伊马替尼反应性不佳,而 PDGFRA 外显子 18 的 D842V 突变则对伊马替尼原发耐药。准确的基因检测是制定个体化治疗策略的重要依据,也是分子靶向治疗发挥疗效的重要前提^[10-11],基因检测应当贯穿于 GIST 综合治疗的全过程中。值得重视的是,在对基因检测结果进行解读时需要谨慎对待“野生型 GIST”,临床医生需认识到一代测序的局限性和假阴性的存在,对于有条件的野生型 GIST 可考虑二代测序^[12]。

c-kit 和 PDGFRA 基因突变状态对判断 GIST 患者的自然预后具有指导意义。ANDERSSON J 等^[13]研究指出, c-kit 基因外显子 11 缺失突变患者的预后较差。本研究发现,外显子 11 突变患者

改良 NIH 危险分级为中危、高危者占 74.60%，而外显子 11 突变以缺失突变最多(58.73%)，提示外显子 11 缺失突变与 GIST 患者不良预后有关。ANDERSSON J 等^[13]同样认为，c-kit 基因外显子 9 突变具有更高的侵袭性生物学行为。本研究结果显示，c-kit 基因外显子 9 突变患者改良 NIH 危险分级为中危、高危者占 92.00%，提示外显子 9 突变与 GIST 患者不良预后有关。由于 PDGFRA 基因突变率低、样本量少，目前关于其突变状态与 GIST 患者预后关系的报道较少。孙祥飞等^[14]研究 59 例 PDGFRA 突变型 GIST 发现，肿瘤均来源于胃，其中 D842V 突变占 61.0%，肿瘤≤5 cm 者占 55.9%，核分裂象计数≤5 个/50 HPFs 者占 83.0%，改良 NIH 危险度分级以极低危和低危为主，提示 PDGFRA 突变型 GIST 恶性程度相对较低，复发风险较低。本研究 Logistic 回归分析结果显示，年龄大于 60 岁、缺失突变、c-kit 外显子 11 突变的 GIST 患者，其改良 NIH 危险分级风险分别增高 2.06、3.264、3.819 倍。但该结果还需进一步开展多中心、大样本量研究进行支持。

目前，大多数学者^[15-20]认为，伊马替尼继发性耐药的最主要机制是 c-kit、PDGFRA 基因的二次突变，对伊马替尼耐药病灶的 c-kit 基因分析显示，最常见的突变类型是点突变，以外显子 13、14 和 17 居多，分别占 38.3%、13.4%、54.5%。本研究中，继发性耐药突变均为点突变，外显子 18、13、17 分别占 60.00%、20.00%、20.00%，发生耐药突变的时间间隔平均为 25.5 个月。

综上所述，GIST 患者发生 c-kit、PDGFRA 基因突变的概率高，突变位点、类型复杂多变。本研究对原发性 MUT-GIST、继发性耐药 MUT-GIST 的突变类型、突变位点以及相关临床病理学特征进行详尽描述与分析，提示基因突变类型对评估 GIST 患者预后及靶向治疗反应性均有指导意义，可为 GIST 全程化管理提供分子病理学参考。未来，基于基因驱动的 GIST 全程化管理模式势必越来越多地受到重视，可进一步改善 GIST 患者的预后。

参考文献

[1] FLETCHER C D M, BRIDGE J A, HOGENDOORN P C W, *et al.* WHO classification of tumours of soft tissue and bone[M]. 4th Edition. Lyon: IARC Press, 2013: 164-167.

[2] 中国临床肿瘤学会胃肠间质瘤专家委员会. 中国胃肠间质瘤诊断治疗共识(2017 年版)[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2018, 4(1): 31-43.

[3] VON MEHREN M, JOENSUU H. Gastrointestinal stromal tumors[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(2): 136-143.

[4] WANG M, XU J, ZHAO W, *et al.* Prognostic value of muta-

tional characteristics in gastrointestinal stromal tumors: a single-center experience in 275 cases[J]. Med Oncol, 2014, 31(1): 819.

[5] DOYLE L A, HORNICK J L. Gastrointestinal stromal tumours: from KIT to succinate dehydrogenase[J]. Histopathology, 2014, 64(1): 53-67.

[6] HEINRICH M C, CORLESS C L, DUENSING A, *et al.* PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors[J]. Science, 2003, 299(5607): 708-710.

[7] SZUCS Z, THWAY K, FISHER C, *et al.* Molecular subtypes of gastrointestinal stromal tumors and their prognostic and therapeutic implications[J]. Future Oncol Lond Engl, 2017, 13(1): 93-107.

[8] 李艳艳, 高静, 田野, 等. 827 例胃肠间质瘤 c-kit 或 PDGFRA 基因突变谱解读及其与临床病理特征的关系[J]. 中华胃肠外科杂志, 2015, 18(4): 332-337.

[9] GOUNDER M M, MAKI R G. Molecular basis for primary and secondary tyrosine kinase inhibitor resistance in gastrointestinal stromal tumor[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 67(1): 25-43.

[10] HEINRICH M C, CORLESS C L, DEMETRI G D, *et al.* Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(23): 4342-4349.

[11] BARTHOLOMEW A J, DOHNALEK H, PRINS P A, *et al.* Underuse of exon mutational analysis for gastrointestinal stromal tumors[J]. J Surg Res, 2018, 231: 43-48.

[12] 陶凯雄, 张鹏. 胃肠间质瘤全程化管理[J]. 腹部外科, 2020, 33(1): 9-13.

[13] ANDERSSON J, BÜMMING P, MEIS-KINDBLOM J M, *et al.* Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 11 deletions are associated with poor prognosis[J]. Gastroenterology, 2006, 130(6): 1573-1581.

[14] 孙祥飞, 高晓东, 袁伟, 等. 59 例血小板源性生长因子受体 α 突变型胃肠间质瘤的临床病理特征和预后分析[J]. 中华胃肠外科杂志, 2020, 23(9): 880-887.

[15] DUENSING S, DUENSING A. Targeted therapies of gastrointestinal stromal tumors (GIST): the next frontiers[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 80(5): 575-583.

[16] 孙祥飞, 高晓东, 沈坤堂. 胃肠间质瘤中伊马替尼继发性耐药机制的研究进展[J]. 中华胃肠外科杂志, 2019, 22(9): 886-890.

[17] WARDELMANN E, MERKELBACH-BRUSE S, PAULS K, *et al.* Polyclonal evolution of multiple secondary KIT mutations in gastrointestinal stromal tumors under treatment with imatinib mesylate[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(6): 1743-1749.

[18] GRAMZA A W, CORLESS C L, HEINRICH M C. Resistance to tyrosine kinase inhibitors in gastrointestinal stromal tumors[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(24): 7510-7518.

[19] KALFUSOVA A, LINKE Z, KALINOVA M, *et al.* Gastrointestinal stromal tumors-Summary of mutational status of the primary/secondary KIT/PDGFRA mutations, BRAF mutations and SDH defects[J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(12): 152708.

[20] SERRANO C, MARIÑO-ENRÍQUEZ A, TAO D L, *et al.* Complementary activity of tyrosine kinase inhibitors against secondary kit mutations in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors[J]. Br J Cancer, 2019, 120(6): 612-620.