

- cancer epidemic? The increasing impact of over diagnosis [J]. N Engl J Med, 2016, 375 (7): 614-617.
- [6] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6): 394-424.
- [7] Rossi E D, Raffaelli M, Zannoni G F, et al. Diagnostic efficacy of conventional as compared to liquid-based cytology in thyroid lesions: evaluation of 10, 360 fine needle aspiration cytology cases [J]. Acta Cytol, 2009, 53 (6): 659-666.
- [8] Cibas E S, Ali S Z. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology [J]. Thyroid, 2009, 19 (11): 1159-1165.
- [9] 林建龙, 钟国栋, 王鸿程, 等. 2386 例甲状腺细针穿刺液基细胞学病理诊断分析 [J]. 诊断病理学杂志, 2018, 25 (2): 112-117.
- [10] Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, et al. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions [J]. Lancet, 2001, 357 (9269): 1644-1650.
- [11] Sapio M R, Guerra A, Posca D, et al. Combined analysis of galectin-3 and BRAFV600E improves the accuracy of fine-needle aspiration biopsy with cytological findings suspicious for papillary thyroid carcinoma [J]. Endocr Relat Cancer, 2007, 14 (4): 1089-1097.
- [12] Bryson P C, Shores C G, Hart C, et al. Immunohistochemical distinction of follicular thyroid adenomas and follicular carcinomas [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2008, 134 (6): 581-586.
- [13] Torregrossa L, Faviana P, Filice M E, et al. CXC chemokine receptor 4 immunodetection in the follicular variant of papillary thyroid carcinoma: comparison to galectin-3 and hector battifora mesothelial cell-1 [J]. Thyroid, 2010, 20 (5): 495-504.
- [14] Zhang L, Krausz T, Demay R M. A pilot study of Galectin-3, HBME-1, and p27 triple immunostaining pattern for diagnosis of indeterminate thyroid nodules in cytology with correlation to histology [J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2015, 23 (7): 481-490.
- [15] Xin Y, Guan D, Meng K, et al. Diagnostic accuracy of CK-19, Galectin-3 and HBME-1 on papillary thyroid carcinoma: a meta-analysis [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2017, 10 (8): 8130-8140.
- [16] Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Galectin-3 in angiogenesis and metastasis [J]. Glycobiology, 2014, 24 (10): 886-891.
- [17] 叶丹, 章佳波, 姚玲莉, 等. CyclinD1、p27 表达与甲状腺微小乳头状癌中央区淋巴结转移超声特征的关系 [J]. 临床荟萃, 2021, 36 (3): 262-265.
- [18] Khoo M L, Beasley N J, Ezzat S, et al. Overexpression of cyclin D1 and underexpression of p27 predict lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87 (4): 1814-1818.

## • 临床研究 •

# 胃肠道间质瘤靶向药物治疗相关基因突变临床分析

福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院药学部 (福州 350001) 眭玉霞 秦晓英<sup>1</sup> 陈灵锋<sup>1</sup> 庄 敏<sup>2</sup>

**【摘要】** 目的 探讨靶向药物治疗相关基因 (C-KIT 和 PDGFRA) 在治疗胃肠道间质瘤中的作用。方法 收集福建省立医院确诊的胃肠道间质瘤 240 例, 采用 Sanger 测序法检测基因突变情况 (C-KIT 基因 9、11、13、17、18 号外显子, PDGFRA 基因 12、18 号外显子), 分析其与临床特征的关系。结果 1) C-KIT 基因突变率为 79.2%, 其 11、9 及 13 号外显子的突变率分别为 80.5%、10%、4.2%, 11 号外显子以缺失突变及点突变多见。2) PDGFRA 基因突变率为 6.7%, 其 18 号外显子突变率 93.75%, D842V 点突变多见。3) C-KIT 基因 11 号外显子突变在胃部发生率高, 以中高危级别多见, 组织学以梭形细胞型多见。PDGFRA 基因 18 号外显子突变在胃部发生率高, 以极低危、低危级别多见, 组织学以上皮细胞型为主。结论 胃肠道间质瘤患者发生 C-KIT/PDGFRA 基因突变的频率很高, 突变位点及形式多样, 建议临床治疗前进行 C-KIT/PDGFRA 基因联合检测, 为靶向药物治疗提供依据。

**【关键词】** 胃肠道间质瘤; C-KIT 基因; PDGFRA 基因; 靶向治疗

**【中图分类号】** R735.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2022)05-0014-04

**Analysis of gene mutation in gastrointestinal stromal tumors and its relationship with clinical features** SUI Yuxia, QIN Xiaoying, CHEN Lingfeng, ZHUANG Min. Department of Pharmacy, Fujian Provincial Hospital, Provincial Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350001, China

1 福建医科大学省立临床医学院 福建省立医院病理科; 2 福建医科大学药学院

**【Abstract】 Objective** To explore the role of targeted drug therapy-related genes (C-KIT and PDGFRA) in the treatment of gastrointestinal stromal tumors. **Methods** A total of 240 cases of gastrointestinal stromal tumors diagnosed in Fujian Provincial Hospital were collected. Sanger sequencing was used to detect gene mutations (C-KIT gene exons 9, 11, 13, 17, 18, and PDGFRA gene exons 12, 18), and their relationship with clinical features was analyzed. **Results** 1) The mutation rate of C-KIT was 79.2%. The frequency of exon 11, 9 and 13 was 80.5%, 10% and 4.2%, respectively. Deletion mutations and point mutations were more common in exon 11 mutations. 2) The mutation rate of PDGFRA gene was 6.7%. The frequency of exon 18 mutation was 93.75% and the D842V point mutation was more common. 3) The mutation in exon 11 of C-KIT gene was high. The mutation occurred mostly in very moderate-risk, high-risk grades, and the morphology of spindle cell type was more common in C-KIT gene exons 11. The gastric mutation rate of PDGFRA gene exon 18 was high. The mutation occurred mostly in very low-risk, low-risk grades, and the morphology of cutaneous cell type was more common in PDGFRA gene exons 18. **Conclusion** The frequency of C-KIT/PDGFRA gene mutation in patients with gastrointestinal stromal tumors is very high and the mutation sites and forms are diverse. Therefore, we recommend the combined detection of C-KIT/PDGFRA gene before treatment to provide the basis for targeted therapy.

**【Key words】** gastrointestinal stromal tumors; C-KIT gene; PDGFRA gene; targeted therapy

胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumors, GIST) 是消化道最常见的间叶源性肿瘤, 约占胃肠道间质肿瘤的 80%, 其大部分存在酪氨酸激酶 (C-KIT) 或者血小板源性生长因子受体  $\alpha$  (PDGFRA) 基因突变<sup>[1]</sup>。有研究报道伊马替尼的疗效与基因突变类型存在相关性, 伊马替尼可显著改善 C-KIT 基因突变患者的生存质量<sup>[2]</sup>, 而发生 PDGFRA 基因突变可能对伊马替尼耐药, 专家建议最近获批的 Avapritinib 作为 PDGFRA 基因, 尤其 18 号外显子 D842V 突变 GIST 患者的一线治疗<sup>[3]</sup>。本研究探讨了 GIST 靶向药物治疗相关基因 C-KIT 和 PDGFRA 突变的特点, 为 GIST 患者提供个体化治疗依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料:** 选择 2014 年 1 月至 2021 年 6 月福建省立医院确诊为胃肠道间质瘤且具有完整基因检测结果和临床资料的病例 240 例。其中, 基因突变检测包括 C-KIT 基因 9, 11, 13, 17, 18 号外显子及 PDGFRA 基因 12、18 号外显子。临床资料包括性别、年龄、原发部位、核分裂象、肿瘤最大径、2008 年美国国立卫生研究院 (NIH) 危险度分级以及组织学类型。

### 1.2 方法:

**1.2.1 DNA 提取:** 镜下观察 HE 切片, 选取肿瘤组织 80% 以上的组织块, 经两次二甲苯脱蜡 15 min, 四次梯度乙醇 3 min 水化处理后, 运用 DNA 提取试剂盒 (艾德生物医药科技股份有限公司) 提取石蜡包埋组织中的肿瘤 DNA。

**1.2.2 PCR 反应程序:** 94 °C 高温预变性 10 min, 94 °C 变性 45 s; 59 °C 退火 45 s; 降低温度至 DNA 聚合酶的最适温度 72 °C 下延伸 45 s, 共 40 个循

环, 最后 72 °C 延伸 7 min。

**1.2.3 Sanger 测序法:** PCR 扩增产物加入 BigDye 试剂聚合反应, 最终反应物注入聚丙烯凝胶毛细管进行电泳, 使用 ABI3730 测序仪进行测序, 使用 Chromas 分析测序结果。

**1.3 统计学方法:** 所得数据均使用 IBM SPSS V23.0 软件进行数据分析, 采用 Pearson 卡方检验或者 Fisher 确切概率法分析 GIST 患者基因突变与临床特征的关系, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 临床资料:** 240 例胃肠道间质瘤患者发病年龄 27~87 岁, 中位年龄 62 岁,  $\geq 50$  岁者 199 例 (82.9%),  $< 50$  岁者 41 例 (17.1%); 男性 119 例 (49.6%), 女性 121 例 (50.4%)。发病部位以胃最多见, 有 129 例 (53.8%), 其他部位依次为小肠 68 例 (28.3%), 结直肠 4 例 (1.7%), 食管及胃肠道外 39 例 (16.3%), 这 39 例包括肠系膜、网膜及腹膜后 17 例, 肝 12 例, 盆腔 6 例, 食管 3 例, 肾上腺 1 例。组织学形态: 梭形细胞型 193 例 (80.4%), 混合细胞型 30 例 (12.5%), 上皮细胞型 17 例 (7.1%)。根据 2008 年 NIH 的 GIST 危险度分级: 极低危 29 例 (12.1%), 低危 67 例 (27.9%), 中危 33 例 (13.8%), 高危 111 例 (46.3%)。

**2.2 基因突变检测结果:** 共检测到 C-KIT 基因突变 190 例 (79.2%), 其中 153 例位于 11 号外显子、19 例位于 9 号外显子、8 例位于 13 号外显子。11 号外显子突变类型包括: 缺失突变 64 例 (41.8%), 点突变 60 例 (39.2%), 重复突变 8 例 (5.2%), 插入突变 6 例 (3.9%), 混合突变 (包

括缺失突变伴随插入突变、重复突变伴随插入突变) 15 例 (9.8%)。缺失突变位点以 552-560 位点区域多见 (见表 1), 点突变位点及形式较为固定, 以 559 密码子位点突变最多见 (见表 2)。

表 1 C-KIT 基因 11 号外显子缺失突变常见  
碱基/氨基酸突变位点及例数

碱基序列突变	氨基酸突变	例数
c. 1679-1681del	p. V560del	7
c. 1669-1674del	p. W557-K558del	5
c. 1672-1677del	p. K558-V559del	5
c. 1670-1675del	p. W557-V559del	4
c. 1674-1679del	p. K558-V560del	3
c. 1654-1671del	p. M552-W557del	3
c. 1665-1673del	p. Q556-K558del	2
c. 1675-1677 del	p. V559del	2
c. 1656-1676del	p. M552-V559del	2

表 2 C-KIT 基因 11 号外显子点突变位点及例数

碱基突变	氨基酸突变	例数
c. 1727 T>C	p. L576P	13
c. 1669T>A/C	p. W557R	10
c. 1676T>G	p. V559G	9
c. 1676T>C	p. V559A	9
c. 1679T>A	p. V560D	8
c. 1676T>A	p. V559D	7
c. 1669T>G	p. W557G	2
c. 1670G>C	p. W557S	1
c. 1657T>A	p. Y553N	1

PDGFRA 基因突变 16 例 (6.7%), 其中 15 例为 18 号外显子第 842 密码子位点氨基酸由天冬氨酸变为缬氨酸 (GAC-GTC, D842V), 5 例表现为以 842/843 位点作为起始位点的缺失突变; 仅检出 1 例 12 号外显子突变, 表现为 578-584 密码子位点的氨基酸序列重复突变。

2.3 基因突变与临床特征关系: C-KIT 基因及 PDGFRA 基因突变与临床特征的关系见表 3。

表 3 胃肠道间质瘤 C-KIT、PDGFRA 基因突变与临床特征的关系 (例)

临床特征	C-KIT 基因						PDGFRA 基因	
	11 号外显子	P 值	9 号外显子	P 值	13 号外显子	P 值	18 号外显子	P 值
性别								
男	72	0.300	6	0.102	4	0.981	11	0.057
女	81		13		4		4	
年龄								
<50 岁	25	0.685	4	0.872	2	0.899	1	0.452
≥50 岁	128		15		6		14	
部位								
胃	88	0.284	2	0.014	4	0.694	12	0.035
小肠	39		10		3		1	
结直肠	3		0		0		0	
食管及胃肠道外	23		7		1		2	
NIH 分级								
极低危	20	0.622	2	0.770	1	0.149	2	0.002
低危	43		5		0		6	
中危	26		0		1		0	
高危	64		12		6		7	
组织学形态								
梭形细胞型	136	0.061	15	0.004	5	0.318	3	0.191
上皮细胞型	1		3		2		9	
混合细胞型	6		1		1		3	

### 3 讨论

GIST 是最常见的胃肠道间叶性肿瘤<sup>[4]</sup>, 常发生于 66~69 岁的老年人, 只有不到 3% 发生于 20 岁以下的年轻人<sup>[5]</sup>。本次研究中, 患病人群中位年龄 63 岁, 男女发病率无明显差异。Corless 及

Wozniak 等<sup>[6-7]</sup>发现 C-KIT 和 PDGFRA 基因突变率分别为 69.3%~87.4%、1.6%~14%, 且随着基因外显子数量以及样本类型不同而有所不同, 本研究 C-KIT 和 PDGFRA 基因突变率分别为 79.2% 和 6.7%, 与前述研究基本一致。

Szucs 等<sup>[8]</sup>报道 C-KIT 基因 11、9、13 号外显子突变率分别为 61%~71%、7%~15%和 0.5%~1.8%。本研究 11、9、13 号外显子突变率分别为 80.5%、10%、4.2%，11 和 9 号外显子突变率与文献报道基本一致，而 13 号外显子的突变率相对较高，可能由地域或样本量差异所引起。本研究结果显示 11 号外显子突变以缺失突变（64 例，41.8%）和点突变（60 例，39.2%）最多见，缺失突变位点以 552-560 位点区域多见。国外研究显示 11 号外显子缺失突变以 W557-K558 缺失多见，且预后不佳<sup>[9]</sup>。我们研究发现 V560 缺失最多见，是否具有代表性尚需更大样本数据分析证实。点突变位点及形式较为固定，多项研究显示点突变比缺失突变预后好，可作为独立预后因素<sup>[10]</sup>。因此有必要检测胃肠间质瘤患者的 C-KIT 基因突变类型，为临床靶向药物治疗提供依据。9 号外显子突变方式较为固定，有 12 例表现为 3'端 502-503 位点编码丙氨酸和酪氨酸的氨基酸序列重复突变，7 例表现为 503-504 位点插入突变，这与以前的研究结果基本一致<sup>[11]</sup>，与 Lasota 等<sup>[12]</sup>学者的研究结果相似，13 号外显子突变多位于 642 密码子位点。C-KIT 基因 17 号外显子较为少见，本研究中仅检测到 1 例突变，为 D820V 突变。

有研究显示 PDGFRA 基因 18 号外显子突变率为 1.2%~12.8%，12 号外显子（0.2%~0.9%）和 14 号外显子（0.3%~0.7%）突变率低<sup>[8]</sup>，本组病例中共检出 16 例 PDGFRA 基因突变，其中 15 例为 18 号外显子突变，1 例为 12 号外显子突变，与既往研究报道结果基本一致。

GIST 患者大多存在 C-KIT 基因突变，11 号外显子突变率最高，9 号外显子突变方式较为固定。PDGFRA 基因突变以 18 号外显子 D842V 突变率较高，多发生于胃，组织学形态以上皮细胞型为主，NIH 危险度分级以极低危、低危多见，提示惰性生物学行为以及更好的预后。基因突变的多态性使其表达具有异质性，为肿瘤生物学行为提供了分子基础。GIST 基因突变类型与临床靶向药物治疗密切相关，建议对所有的 GIST 患者进行 C-KIT、PDGFRA 基因突变类型检测，更好地为 GIST 患者实施个体化靶向药物治疗提供依据及预后评估。

## 参考文献

- [1] 2017 年中国胃肠道间质瘤病理共识意见专家组. 中国胃肠道间质瘤诊断治疗专家共识（2017 年版）病理解读 [J]. 中华病理学杂志, 2018, 47 (1): 2-6.
- [2] DeMatteo R P, Ballman K V, Antonescu C R, et al. Long-term results of adjuvant imatinib mesylate in localized, high-risk, primary gastrointestinal stromal tumor: ACOSOG Z9000 (Alliance) intergroup phase 2 trial [J]. Ann Surg, 2013, 258 (3): 422-429.
- [3] Henriques-Abreu M, Serrano C. Avapritinib in unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumor with PDGFRA exon 18 mutation: safety and efficacy [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2021, 22 (9): 1-8.
- [4] Ridolfini M P, Cassano A, Ricci R, et al. Gastrointestinal stromal tumors [J]. Ann Ital Chir, 2011, 82 (2): 97-109.
- [5] Tran T, Davila J A, El-Serag H B. The epidemiology of malignant gastrointestinal stromal tumors: an analysis of 1, 458 cases from 1992 to 2000 [J]. Am J Gastroenterol, 2005, 100 (1): 162-168.
- [6] Corless C L, Ballman K V, Antonescu C R, et al. Pathologic and molecular features correlate with long-term outcome after adjuvant therapy of resected primary GI stromal tumor: the ACOSOG Z9001 trial [J]. J Clin Oncol, 2014, 32 (15): 1563-1570.
- [7] Wozniak A, Rutkowski P, Piskorz A, et al. Prognostic value of KIT/PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours (GIST): Polish Clinical GIST Registry experience [J]. Ann Oncol, 2012, 23 (2): 353-360.
- [8] Szucs Z, Thway K, Fisher C, et al. Molecular subtypes of gastrointestinal stromal tumors and their prognostic and therapeutic implications [J]. Future Oncol, 2017, 13 (1): 93-107.
- [9] Braggio E, Braggio D de A, Small I A, et al. Prognostic relevance of KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors [J]. Anticancer Res, 2010, 30 (6): 2407-2414.
- [10] Vadakara J, von Mehren M. Gastrointestinal stromal tumors: management of metastatic disease and emerging therapies [J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2013, 27 (5): 905-920.
- [11] Tryggvason G, Hilmarsdottir B, Gunnarsson G H, et al. Tyrosine kinase mutations in gastrointestinal stromal tumors in a nation-wide study in Iceland [J]. APMIS, 2010, 118 (9): 648-656.
- [12] Lasota J, Wozniak A, Sarlomo-Rikala M, et al. Mutations in exons 9 and 13 of KIT gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors. A study of 200 cases [J]. Am J Pathol, 2000, 157 (4): 1091-1095.