

文章编号:1005-6947(2007)09-0892-03

· 文献综述 ·

基因突变与胃肠道间质瘤研究进展

王万川 综述 廖国庆 审校

(中南大学湘雅医院 胃肠外科, 湖南 长沙, 410008)

摘要: c-kit 及血小板源性生长因子受体 α (platelet-derived growth factor receptor alpha, PDGFRA) 的功能增强性突变是导致胃肠道间质瘤 (GIST) 的主要原因。c-kit 基因及 PDGFRA 基因的突变位点及突变方式对肿瘤的临床特征有明显影响。笔者就基因突变与 GIST 的关系进行综述。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(9): 892-894]

关键词: 胃肠道间质瘤; 原癌基因蛋白质 c-kit; 基因, PDGFRA; 基因突变; 综述文献

中图分类号: R 735.2

文献标识码: A

胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 是胃肠道中最常见的间叶组织源性肿瘤, 占胃肠道肿瘤的 1%~4%^[1]。发病率约十万分之一, 无明显种族差异。过去, GIST 通常被划归为胃肠道平滑肌来源的肿瘤。随着 CD34, CD117 等相对特异的标志物的发现^[2-3], 以及电镜和免疫组化发现 GIST 具有平滑肌和神经细胞的双重特点, 胃肠道间质瘤这一诊断才逐渐得到认可, 并认为其来源于胃肠道卡哈尔间质细胞 (ICC) 或与其同源的干细胞。目前大量研究表明, 绝大多数 GIST 是由 c-kit 基因及 PDGFRA 基因的功能增强性突变所致。

1 c-kit 基因与 GIST

研究^[4-5]表明, 大多数的 GIST 是由 c-kit 基因的突变所致。c-kit 基因是 HZ4 猫科肉瘤 Virus Kit 癌基因的同源物, 位于人 4 号染色体长臂 1 区 2 带 (4q12)。由 21 个编码外显子组成。为编码 145-kd 跨膜糖蛋白, 产物为 III 型酪氨酸激酶生长因子受体, 属免疫球蛋白超家族成员^[6]。该受体与其配体干细胞因子 (SCF) 结合后, 可激发酪氨酸残基磷酸化, 从

而调节细胞的生长。现已证明, kit-SCF 系统在造血细胞、巨噬细胞、生殖细胞、卡哈尔细胞的发生发展中起着重要的作用^[7]。KIT 是一种蛋白质受体, 它由细胞外区、跨膜区、近膜区和 1 个酪氨酸激酶 (TK) 区组成。其中酪氨酸激酶区又被分为 TK I 区和 TK II 区。至今为止, 所有的研究结果显示发生于 c-kit 基因的突变位于 11, 9, 13, 17 号外显子, 且各个外显子的突变率不相同, 主要集中于 11 号外显子^[8-12]。

1998 年, Hirota 等^[3] 首先提出 GIST 不仅表达 KIT 蛋白, 而且在这些肿瘤中还发现了 c-kit 近膜区的 (11 号外显子) 突变。其报道的 6 例 GIST 中有 5 例肿瘤有 11 号外显子突变, 4 例为框内缺失, 第 5 例为点突变导致的整个氨基酸的替换。KIT 近膜区的功能是在没有 SCF 的情况下抑制受体二聚体化。对 c-kit 基因的诱发突变研究^[10] 表明, 近膜区的框内缺失、插入或点突变能破坏这种功能, 能使受体在没有 SCF 的情况下二聚体化。动物实验^[13] 证明, 突变的 KIT 在无干细胞因子的情况下也可显示激酶的活性。提示 c-kit 癌基因的激活在 GIST 的生存与生长中起到了重要的作用。随后, Lux 等^[14] 报道了 c-kit 的细胞外区 (9 号外显子) 突变。在 6 例缺乏 11 号外显子突变的 GIST 中发现了 6 个核苷酸导致了 Ala501 和 Tyr502 的重复。Hirota 等^[15] 证实这是一种功能增强性突变。其他的研究组^[11, 16-18] 也观察到了发生于 9 号外显子突变, 并认为这种 GIST 更多

(95%) 来源于小肠。但发生于 9 号外显子的突变相对较低。有学者^[16] 还首先观察到 GIST 中 c-kit 基因的 13 号外显子点突变所致的 Lys642Glu 改变。Rubin 等^[8] 报道了位于 KIT 激活环 (17 号外显子) 的 1 例 Asn822Lys 和 1 例 Asn822His 突变。另外, 在家族性 GIST 中也发现了 1 例胚系的 Asp820Tyr 替代突变^[19]。由于至今仍没有一个统一的关于 c-kit 基因不同位点的突变率, 笔者统计了最近几年发表的 375 例 GIST^[8-10], 其中 11 号外显子突变率最高 ($n=222$, 59.2%), 然后依次为 9 号外显子 ($n=35$, 9.3%), 13 号外显子 ($n=6$, 1.6%), 17 号外显子 ($n=4$, 1.1%)。

2 血小板源性生长因子受体 (PDGFRA) 与 GIST

PDGFR 也是酪氨酸激酶受体蛋白超家族成员, 可介导神经胶质细胞和间质细胞的增殖与分化。该受体又分为 PDGFR α 和 PDGFR β 。 α 受体结合所有三种形式的 PDGF (PDGF A, PDGF AB, PDGF BB), 而 β 受体只结合 PDGF BB。通过结合 PDGF, PDGFR 形成二聚体。这种配体引发的二聚体化导致胞浆中的酪氨酸残基自动磷酸化, 从而引发信号传导。PDGFR 与同为酪氨酸激酶受体蛋白超家族成员的巨噬细胞集落刺激因子 (MCSF) 受体、c-kit 蛋白, 都包括 5 个似免疫球蛋白 (Ig) 胞外配体结合区, 1 个跨膜区和 2 个胞浆酪氨酸激酶 (TK) 区。人 PDGFRA 基因的组成^[20] 包括 5' 端的非转录区由 1 号外显子

收稿日期: 2006-09-06;

修订日期: 2007-09-07。

作者简介: 王万川, 男, 湖南浏阳人, 中南大学湘雅医院硕士研究生, 主要从事消化道肿瘤方面的研究。

通讯作者: 王万川 E-mail: wqw6121@yahoo.com.cn

编码,2号外显子编码包含启动密码子 AUG 的信号序列,1,2号外显子间有一23kb的序列将两者分开,5个似免疫球蛋白区组成的细胞外区由3-10号外显子编码。其中,似免疫球蛋白区1和2分别由1个外显子所编码,而其它几个似免疫球蛋白区都由2个外显子编码。10号外显子编码疏水的跨膜区。胞质的酪氨酸激酶 I 区和 III 区分别由13-15号外显子及17-21号外显子编码。上述2个激酶区中间的激酶插入区则由16号外显子编码。转录终结的密码子由23号外显子编码。

Heinrich等^[21]在对不含c-kit基因突变的GIST的研究中,使用针对多种酪氨酸激酶受体抗原决定簇的混合抗体去免疫沉淀,从野生型KIT的肿瘤中提取的激酶。经分析后发现了1个新的条带,后来证实是PDGFR α 。磷酸化的PDGFR α 在野生型的一部分GIST中可检测到。但它不存在于已知有KIT突变的GIST肿瘤中。从有c-kit基因突变的肿瘤中可检出磷酸化的KIT但检测不出磷酸化的PDGFR α 。经过基因测序发现在PDGFR α 基因的近膜区(12号外显子)和18号外显子有突变。将该突变基因转染给中国仓鼠卵巢细胞,突变的PDGFR α 异构体能在无PDGF-A的情况下磷酸化。说明PDGFR α 基因的突变可能是导致GIST的又一因素,且与c-kit基因的突变相互独立。Heinrich等对40例不含c-kit基因突变的GIST的10,12,14,18号外显子进行检测(这几个部位与c-kit基因中经常发生突变的位置相对应),结果发现有14例(35%)为PDGFR α 基因突变所致。其中8例为18号外显子Asp842Val的替代突变。另外还有2例发生与18号外显子的缺失突变和4例发生于12号外显子的突变。

Hirota等^[22]证实了38例野生型KIT的GIST中有5例为PDGFR α 基因突变。2例为近膜区(12号外显子)的Val561Asp突变,3例为激活环区的Asp842Val突变。这5例GIST均来自于胃。Miettinen等^[11]在1765例GIST中发现了95例为PDGFR α 突变。其中86例为18号外显子突变(90.5%)。9例为位于12号外显子(近膜区)的突变(9.5%)。Miettinen等也认为,PDGFR α 基因突变的GIST更多的来自于胃。值得注意的是,包

括c-kit基因和PDGFR α 基因至今为止还没有发现1例GIST同时有一处以上的功能增强性突变。

3 家族性 GIST

Hirota^[23]首先报道了1个日本家庭的家族性GIST(共有11例)。其中包括10例c-kit基因突变和1例PDGFR α 基因突变。与散发型GIST的体细胞突变不同,家族性GIST为胚系的基因突变所致。在这个家族性GIST的日本家庭中,发现了11号外显子559或560两个连续的GTTGTT缺失。该家庭中的患者还伴有会阴皮肤黑色素沉着。在另外几例家族性GIST中,有3例为11号外显子的Val559Ala的替代改变,且均表现出皮肤色素沉着^[24-26];而另外3例分别为11号外显子的Trp557Arg突变及CAACTT的重复突变导致的Leu576_Pro577插入GlnLeu以及13号外显子的Lys642Glu替代突变^[27-29]。11号外显子的Trp557Arg突变以及13号外显子的Lys642Glu替代突变家庭中的患者都没有出现皮肤色素沉着。Sakurai^[16]及O'Riain C等^[30]各报道了1例KIT激活环(17号外显子)Asp820Tyr突变,这两个家庭中的患者均无皮肤色素沉着,却都有与食管蠕动异常有关的吞咽困难。有学者^[31]还报道了1例独特的位于8号外显子的GIST家系,这在散发病例中未曾遇到。

最近法国报道了1个家庭的5例GIST^[32]。5人均未发现c-kit基因的突变。通过PDGFR α 基因的12和18号外显子测序后发现了PDGFR α 基因的错义突变,2675G>T,导致846号密码子编码的酪氨酸代替了高度保守的天门冬氨酸。有趣的是,PDGFR α 的ASP846与KIT酪氨酸激酶II区的820号密码子同源。这个PDGFR α 突变的家族中,GIST患者都出现了手掌大的特点,而家族中无GIST的人却没有这种表现。该现象的具体机制尚未明了,但从目前的研究来看,c-kit基因和PDGFR α 基因均是导致家族性GIST的原因。

4 基因突变与肿瘤预后

以往研究者认为,11号外显子的突变和GIST的恶性程度成正相关。但由于以往的研究都是基于对石蜡固定DNA进行单链构像多态性分析

和直接对11号外显子的扩增物行序列分析,这有可能低估了c-kit基因真正的突变率。在使用了对点突变和缺失突变检出效能较高的变性高效液相色谱法(D-HPLC)后,Heinrich等^[18]认为11号外显子的突变更多地见于恶性程度较低的肿瘤。Miettinen等^[11]还认为点突变比缺失突变更容易出现在良性行为的肿瘤中($P<0.01$)。Lasota^[33]对100多例PDGFR α 基因突变的GIST患者进行了长期的追踪(平均135个月),发现大多数的(83.5%)GIST表现出良性的行为。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还有待更多的研究来进一步证实。

5 格列卫对 GIST 的靶向治疗

STI-571(甲磺酸伊马替尼,Imatinib mesylate;格列卫,Gleevec或Glivec)最初用以治疗慢性髓样白血病(CML)并获得了较好的疗效。由于格列卫可阻断ATP与BCR-ABL,ARG,KIT,PDGFR α ,PDGFR β 等结合,对与其相应的酪氨酸激酶有显著的抑制作用。1999年Heinrich^[34]首先通过体外试验证实其能抑制GIST的野生型KIT和11号外显子突变的KIT的激酶作用。Tuveson等^[35]观察到格列卫能抑制含有c-kit基因突变的GIST细胞系的生长。在这些研究的基础上,2000年格列卫首先应用于1例已有肝转移的GIST患者并获得了较好的疗效。Demetri等^[36]用格列卫治疗进展期GIST患者147例,获得了53.7%的有效率和27.9%的肿瘤控制率。Heinrich等^[10]用格列卫治疗127例GIST患者,随访19个月后发现,肿瘤为11号外显子突变的患者的部分缓解率(83.5%, $n=85$)明显高于9号外显子突变的患者(47.8%, $n=23$)和未检出突变的患者(0%, $n=9$)。有趣的是,该研究中3例PDGFR α 基因的Asp842Val突变者对格列卫完全耐药,但另2例PDGFR α 基因缺失突变DIMH842-845及Ile843患者却获得了较好的缓解。关于对PDGFR α 基因突变的GIST患者是否使用格列卫治疗还有待进一步研究。Miettinen等^[11]认为,源于胃的GIST中11号外显子缺失突变的比点突变的有着更高的部分缓解率(22% vs 0%, $P<0.01$)。因此确定其基因突变类型或许对预测预后有重要的帮助。

参考文献:

- [1] Dematteo RP, Lewis JJ, Leung D, *et al.* Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival [J]. *Ann Surg*, 2000, 231(1): 51-58.
- [2] Miettinen M, Verolainen M, Maarit SR, *et al.* Gastrointestinal stromal tumors-Value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas [J]. *Am J Surg Pathol*, 1995, 19(2): 207-216.
- [3] Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, *et al.* Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors [J]. *Science*, 1998, 279(5350): 577-580.
- [4] 王东杰, 毕建威, 马大烈. 原癌基因 c-kit 突变在胃肠道基质瘤临床预后中的意义 [J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15(2): 121-124.
- [5] He HY, Fang WG, Zhong HH, *et al.* Status and clinical implication of c-kit and PDGFRA mutations in 165 cases of gastrointestinal stromal tumor (GIST) [J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2006, 35(5): 262-266.
- [6] Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, *et al.* Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand [J]. *EMBO J*, 1987, 6(11): 3341-3351.
- [7] Nocka K, Majumder S, Chabot B, *et al.* Expression of c-kit gene products in known cellular targets of W mutation mice—Evidence for an impaired c-kit kinase in mutant mice [J]. *Gene Dev*, 1989, 3(6): 816-826.
- [8] Rubin BP, Singer S, Tsao C, *et al.* KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(22): 8118-8121.
- [9] Lasota J, Wozniak A, Sarlomo-Rikala M, *et al.* Mutation 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.
- [10] Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, *et al.* Kinase mutations and imatinib response in patient with metastatic gastrointestinal stromal tumor [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(23): 4342-4349.
- [11] Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up [J]. *Am J Surg Pathol*, 2005, 29(1): 52-68.
- [12] Chan PM, Ilangumaran S, La Rose J, *et al.* Autoinhibition of the kit receptor tyrosine kinase by the cytosolic juxtamembrane region [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(9): 3067-3078.
- [13] Dirnhofer S, Zimpfer A, Went P. The diagnostic and predictive role of kit (CD117) [J]. *Cancer*, 2006, 63(4): 273-278.
- [14] Lux ML, Rubin BP, Biase TL, *et al.* KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(3): 791-795.
- [15] Hirota S, Nishida T, Isozaki K, *et al.* Gain-of-function mutation at the extracellular domain of KIT ingastrointestinal stromal tumors [J]. *J Pathol*, 2001, 193(4): 505-510.
- [16] Sakurai S, Oguni S, Hironaka M, *et al.* Mutations in c-kit gene exon 9 and 13 in gastrointestinal stromal tumors among Japanese [J]. *Jpn J Cancer Res*, 2001, 92(5): 494-498.
- [17] Antonescu CR, Sommer G, Sarra L, *et al.* Association of KIT exon 9 mutations with nongastric primary site and aggressive behavior: KIT mutation analysis and clinical correlates of 120 gastrointestinal stromal tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(9): 3329-3337.
- [18] Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC, *et al.* Biology of gastrointestinal stromal tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(18): 3813-3825.
- [19] Hirota S, Nishida T, Isozaki, *et al.* Familial gastrointestinal stromal tumors associated with dysphagia and novel type germline mutation of KIT gene [J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(5): 1493-1499.
- [20] Kawagishi J, Kumabe T, Yoshimoto T, *et al.* Structure, organization, and transcription units of the human alpha-platelet-derived growth factor receptor gene, PDGFRA [J]. *Genomic*, 1995, 30(2): 224-232.
- [21] Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, *et al.* PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Science*, 2003, 299(5607): 707-710.
- [22] Hirota S, Ohashi A, Nishida T, *et al.* Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor alpha gene in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(3): 660-667.
- [23] Nishida T, Hirota S, Taniguchi M, *et al.* Familial gastrointestinal stromal tumors with germline mutation of the KIT gene [J]. *Nat Genet*, 1998, 19(4): 323-324.
- [24] Beghini A, Tibiletti MG, Roversi G, *et al.* Germline mutation in the juxtamembrane domain of the kit gene in a family with gastrointestinal stromal tumors and urticaria pigmentosa [J]. *Cancer*, 2001, 92(3): 657-662.
- [25] Maeyama H, Hidaka E, Ota H, *et al.* Familial gastrointestinal stromal tumor with hyperpigmentation: Association with a germline mutation of the c-kit gene [J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(1): 210-215.
- [26] Li FP, Fletcher JA, Heinrich MC, *et al.* Familial gastrointestinal stromal tumor syndrome: phenotypic and molecular features in a kindred [J]. *J Clin Oncol*. 2005, 23(12): 2735-2743.
- [27] Hirota S, Okazaki T, Kitamura Y, *et al.* Cause of familial and multiple gastrointestinal autonomic nerve tumor with hyperplasia of interstitial cells of Cajal is germline mutation of the c-kit gene [J]. *Am J Surg Pathol*. 2000, 24(4): 326-327.
- [28] Isozaki K, Terris B, Belghiti J, *et al.* Germline-activating mutation in the kinase domain of KIT gene in familial gastrointestinal stromal tumor [J]. *Am J Pathol*, 2000, 157(5): 1581-1585.
- [29] Hartmann K, Wardelmann E, Ma Y, *et al.* Novel germline mutation of KIT associated with familial gastrointestinal stromal tumors and mastocytosis [J]. *Gastroenterology*. 2005, 129(3): 1042-1046.
- [30] O'Riain C, Corless CL, Heinrich MC, *et al.* Gastrointestinal stromal tumors: insights from a new familial GIST kindred with unusual genetic and pathologic features [J]. *Am J Surg Pathol*. 2005, 29(12): 1680-1683.
- [31] Carballo M, Roig I, Aquilai F, *et al.* Novel c-kit germline mutation in a family with gastrointestinal stromal tumors and cutaneous hyperpigmentation [J]. *Am J Med Genet A*. 2005, 132(4): 361-364.
- [32] Agnes C, Caroline K, Michel B, *et al.* PDGFRA germline mutation in a family with multiple cases of gastrointestinal stromal tumor [J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(1): 318-321.
- [33] Lasota J, Dansonka-Mieszkowska A, Sobin LH, *et al.* A great majority of GISTs with PDGFRA mutations represent gastric tumors of low or no malignant potential [J]. *Lab Invest*, 2004, 84(7): 874-883.
- [34] Heinrich MG, Griffith DJ, Druher BJ, *et al.* Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI571, a selective tyrosine kinase inhibitor [J]. *Blood*, 2000, 96(3): 925-932.
- [35] Tuveson DA, Willis NA, Jacks T, *et al.* STI571 inactivation of the gastrointestinal stromal tumor c-kit oncoprotein: biological and clinical implications [J]. *Oncogene*, 2001, 20(36): 4054-5058.
- [36] Demetri GD, von MM, Blanke CD, *et al.* Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(7): 472-473.