论著

文章编号:1000-5404(2012)21-2158-05

高危型胃肠道间质瘤 *C-kit* 基因不同突变表型与预后的关系

陈林莺,陈余鹏,任彩虹,陈祥娜,张 声 (350005 福州,福建医科大学附属第一医院病理科)

[摘要] **目的** 分析高危型胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)的临床病理特征,探讨相同侵袭危险度GIST生物学行为的可能影响因素。**方法** 收集我科2008年1月至2010年12月高危型GIST患者32例进行CD117、CD34、DOG1、Ki67和P16免疫组化染色及石蜡切片DNA抽提,PCR扩增-直接测序,观察其临床病理特征,分析不同基因型、表现型及与肿瘤复发和转移的关系。**结果** 32例高危型GIST中梭形细胞型20例,上皮样/混合细胞型12例,随着发病部位不同组织形态略有不同。24/32例(75%)患者具有*C-kit*基因突变,9例为exon11区包含codon557-558位点缺失;3例为exon9突变。获得随访资料的21例患者中有17例检测到*C-kit*基因突变,上皮样/混合细胞型有8例,其中6例发生肿瘤复发/死亡。发生肿瘤复发/死亡者其核分裂象数和P16蛋白过表达例数明显高于肿瘤无进展者,差别有显著性。**结论** 高危型GIST是一组异质性肿瘤,联合基因型与表现型特点评估处于同一级别GIST的预后有实际意义,P16蛋白过表达可能是高危型GIST预后不佳的因素之一。

[关键词] 高危型GIST;临床病理特征;基因型;预后

[中图法分类号] R730.23; R730.262; R735 [文献标志码] A

Mutation of *C-kit* in high-risk gastrointestinal stromal tumors and its correlation with prognosis: report of 32 cases

Chen Linying, Chen Yupeng, Ren Caihong, Chen Xiangna, Zhang Sheng (Department of Pathology, First Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian Province, 350005, China)

[**Abstract**] **Objective** To analyze the clinicopathological characteristics of high-risk gastrointestinal stromal tumor (GIST) and discuss the probable prognostic factors in GIST with the same malignant risk. **Methods** The expression of CD117, CD34, DOG1, Ki67 and P16 were detected by immunohistochemical assay in the tissue samples from 32 patients with high-risk GISTs admitted in our hospital during January 2008 to December 2010. Mutation of *C-kit* gene was tested by PCR-direct sequencing. The clinicopathologic, immunohistochemical and mutation results were analyzed. The correlation was analyzed between the clinical outcomes of GISTs and the different genotypes and phenotypes of *C-kit*. **Results** There were 20 cases of pure spindled phenotype and 12 cases of epithelioid/mixed phenotype. The histomorphology of GISTs was different with various anatomic sites. *C-kit* mutation was detected in 24 cases (75%), including loss of codon (557-558) in exon 11 in 9 cases, and mutations in exon 9 in 3 cases. Among the 21 cases with available follow-up data, there were 17 cases found with *C-kit* mutation, 8 cases of epithelioid/mixed phenotype, and 6 cases died or recurred. The mitosis count and the expression of P16 were significantly greater in the cases of dead/tumor-recurrence patients than the patients with non-progression. **Conclusion** High-risk GISTs are tumor with heterogeneity. Comprehensive evaluation of phenotype and genotype is of great significance for clinical practice for GISTs at the same risk. Overexpression of P16 might be a negative prognostic factor.

[**Key words**] high-risk gastrointestinal stromal tumor; clinicopathology; genotype; prognosis

Supported by the Class-A Projects of Science and Technology From Fujian Provincial Education Department. (JA11118). Corresponding author: Chen Linying, E-mail: chenly2006@126.com

[基金项目] 福建省教育厅A类科技项目(JA11118)

[通信作者] 陈林莺,E-mail:chenly2006@126.com

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是最常见的消化道间叶源性肿瘤,全球年发病率(11~19.6)/10^6。近 20 年来,免疫组化和基因检测在 GIST 的诊疗中广泛应用,分子靶向治疗药物甲磺酸伊马替尼的应用,GIST 成为肿瘤个体化治疗的成功范例。尽管如此,GIST 肿瘤性质不可预测性仍较为突出,处于相同侵袭危险度的肿瘤其临床行为仍存在显著差异[1],因此,如何更好地评估 GIST 的生物学特性,如何预测肿瘤侵袭与转移的可能影响因素仍是目前 GIST 研究的难点和热点。本研究收集福建医科大学附属第一医院 2008 年 1 月至 2010 年 12 月间 32 例高危型患者的临床病理资料,应用石蜡切片免疫组化染色及抽提 DNA 进行 PCR 扩增-直接测序,观察其临床病理学特征,分析不同基因型、表现型及与肿瘤复发和转移的关系,探讨 GIST 生物学行为的可能影响因素,以便进一步更好的应用靶向治疗提供实验基础。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集我科 2008 年 1 月至 2010 年 12 月间诊断胃肠道间质瘤病例 71 例,由 2 名有经验的病理医师独立复习所有病例 HE 切片和免疫组化染色结果,根据 WHO 诊断标准[2] 和 NIH 危险度分级标准[3] 进行分析排除,共有高危型 GIST 32 例。观察指标包括肿瘤大小、发病部位、细胞形态(梭形、上皮样和混合细胞型)、核分裂象(个/50HPF)、及有无继发性改变(出血、坏死及囊性变)。患者术前均未经放疗和化疗,经电话随访获得随访资料,随访至患者死亡或 2012 年 4 月。

1.2 免疫组化染色

免疫组化染色采用 EnVison 法,所用第一抗体 CD117(1∶600,多克隆)、DOG-1(1∶200,SP31)购自 Dako 公司,CD34(1∶100,QBEnd/10)购自 Newmarker 公司,Ki-67(1∶200,MIB-1)购自 Labvision 公司,P16(即用型,6H12)购自福州迈新公司,EnVison 试剂盒购自 Dako 公司。用 PAS 代替一抗作为阴性对照,所有操作均按说明书进行。免疫组化染色评判标准:CD117、DOG-1、CD34、SMA 阳性染色定位于肿瘤细胞细胞膜或细胞质上,根据染色强度和染色面积将结果分为阴性和阳性。P16[4] 定位于肿瘤细胞核或细胞核和质,将 >50% 的肿瘤细胞呈现棕黄色颗粒状沉着设为阳性表达。Ki-67 阳性染色定位于肿瘤细胞核上,直接计数“热点”区中 1 000 个细胞中阳性细胞数。

1.3 PCR 扩增-直接测序法

复习病例组、对照组和阴性对照组全部 HE 切片,所选肿瘤组织均无出血坏死,连续 10 μm×3 切片,移入 Ependorf 管中,用 DNA 抽提试剂盒(基因科技有限公司产品)按照操作说明书提取 DNA 行 PCR 扩增。引物序列为:exon9 上游 TCCTAGAGTAAGCCAGGGCTT;下游 TGGTAGACAGAGCCTAAACATCC;exon11 上游 CTGAGACAATAATTATTAAAAGGTG;下游 TTATGTGTACCCAAAAAAGGTGACAA;exon13 上游 GCTTGACAGTTTGCCAG;下游 AAAGGCAGCTTGGACACGGCTTTA;exon17 上游 TACAAGTTAAAATGAATTTAAATGG;下游 AAGTTGAAACTAAAAATCCTTTGCT。反应条件为:95 ℃预变性 15 min,接着94 ℃ 30 s,56 ℃ 90 s,72 ℃ 60 s 循环 35 次,最后 72 ℃延伸 7 min。PCR 扩增产物进行纯化测序,所有病例均进行反向测序证实,并与 NCB I 基因库 *C-kit* 基因序列进行比对。(所用试剂 *Taq* 酶购自 QIAGEN 公司,测序试剂 ABI BIGDYE V 3.1 sequencing kit,测序电泳缓冲液、HiDi 及测序胶 POP7 均购自为美国应用生物系统有限公司,测序仪为 ABI3130xl)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行 χ^2 检验和相关分析。

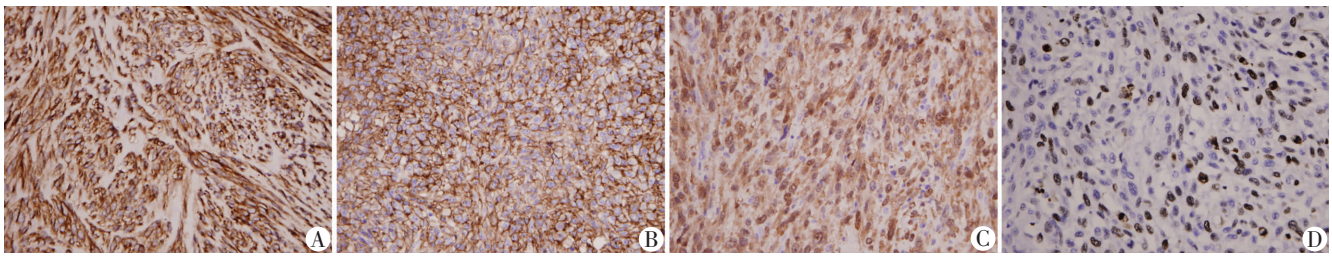
2 结果

2.1 本组一般情况

高危型 GIST 占 45%(32/71),其中男性 16 例,女性 16 例,年龄 37~81 岁,平均 55.2 岁。肿瘤发生在胃部 11 例,肠道 14 例,腹腔内 7 例。除 2 例患者行肿瘤活检术以外,其余 30 例患者均行姑息性/根治性肿瘤切除术,5 例患者在诊断时已发现肝转移。10 例患者失访,1 例患者在术后 36 个月发生胃癌病变,其余 21 例患者获得完整随访资料,随访 12~44 个月,平均 24.7 个月。9 例患者接受格列卫 400 mg/d 治疗 3~12 个月,出现肿瘤复发或死亡的 11 例患者中 4 例接受格列卫治疗;无带瘤生存 8 例患者中 3 例接受格列卫治疗;2 例之前行肿瘤活检的患者经格列卫治疗后肿瘤缩小。

2.2 病理形态及免疫表型特点

32 例高危型胃肠道间质瘤肿瘤直径 2.5~22 cm,平均 10.76 cm,切面呈灰白灰黄色,质嫩,鱼肉样,有的伴有出血囊性变。镜下,肿瘤组织学形态多样,显著异质性,随着发病部位的不同组织形态略有差异。胃部 GIST 11 例中,梭形细胞型 5 例,肿瘤细胞呈交叉束状编织状排列,细胞中-高密度,细胞质丰富,细丝颗粒状,间质胶原较丰富,其中 2 例出现核端空泡;上皮样细胞型 1 例,圆形/卵圆形肿瘤细胞排列呈假腺样结构;混合细胞型 5 例,上皮样区域和梭形细胞区域互相融合或截然过度,均有不同程度的黏液软骨样变性。肠道 GIST 14 例中,梭形细胞型 11 例,细胞密度比胃部略低,多数(7/11)形成类似于神经毡样结构,1 例出现显著的团丝样纤维,其中排列成血管外皮瘤样结构 3 例。发生于胃肠道外的 GIST 7 例中,梭形细胞型 4 例,形态类似于肠道 GIST,其中 1 例排列呈假菊形团样结构;上皮样/混合细胞型 3 例,肿瘤细胞围绕血管形成血管旁细胞套 1 例,1 例呈浆细胞样(图 1),质偏位,浆嗜碱性,核旁有淡染的晕。32 例肿瘤伴出血坏死 7 例,核分裂 2~51 个/50HPF,平均 12.25 个/50HPF。免疫表型特点:CD117 + 染色定位在肿瘤细胞膜、细胞质或核旁点状阳性(图 2A),28/32 例出现阳性表达;DOG1 + 染色定位在肿瘤细胞膜/细胞质(图 2B),27/32 例出现阳性表达;CD34 + 染色定位在肿瘤细胞膜或细胞质,24/32 例出现阳性表达;P16 蛋白阳性染色定位于肿瘤细胞核或核和质同时着色(图 2C),9/32 例出现阳性表达;Ki-67 阳性染色定位于肿瘤细胞核上(图 2D),阳性率 1%~50%,平均 15.78%。



A:肿瘤细胞膜和质 CD117 呈阳性表达;B:肿瘤细胞膜和质 DOG1 呈阳性表达;C:肿瘤细胞核和质 P16 呈阳性表达;D:肿瘤细胞核 ki-67 呈阳性表达

图2 高危型 GIST 肿瘤细胞免疫组化染色观察 (EnVison ×400)

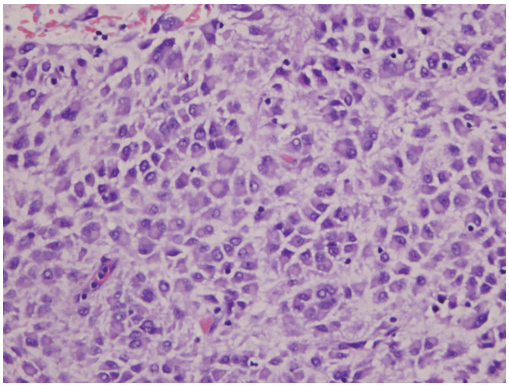
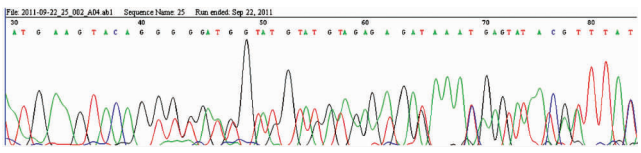


图1 高危型 GIST 细胞病理形态特征 (HE×400)

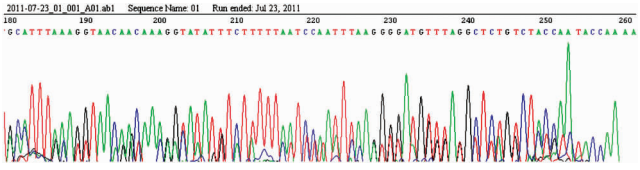
2.3 基因表型特点

32 例患者共检出 *C-kit* 基因突变 24 例(75%),均为杂合性突变,其中 20 例(62.5%)为 exon11 突变,3 例(9.4%)为 exon9 突变,1 例(3.1%)为 exon13 突变,未检测到 exon17 突变。exon11 突变的方式为点突变、缺失突变和重复插入序列突变,其中缺失 6~24 bp 不等是主要突变形式(60.0%),其次为点突变(35.0%),最后为重复突变(5.0%)。15/20 例(75.0%)突变的位点位于包含 codon550-560 的第一"热点"区域,其中包含 codon557 或/和 558 编码区处 WK (Trp-Lys) 的缺失 9 例(45%)(图3)。exon9 突变见于3 例 GIST,均位于肠道,其中2 例为位于 codon502-503 编码丙氨酸和酪氨酸(Ala-Tyr)6 个氨基酸串联重复突变(图4),1 例点突变为 codon481 G>T,致 Ser-Iso(丝氨酸-异亮氨酸)。1 例 exon13 点突变发生在胃部,为 codon1918 G>T,致 Glu640 被终止密码子取代。



突变型为密码子 557-558 缺失突变

图3 高危型 GIST *C-kit* 基因 exon11 突变测序结果



突变型为密码子 502-503 重复突变

图4 高危型 GIST *C-kit* 基因 exon9 突变测序结果

2.4 高危型 GIST 预后的相关因素

如表1所示,21 例获得完整随访资料高危型 GIST,出现肿瘤复发或死亡 11 例,肿瘤无进展生存 10 例。高危型 GIST 复发/死亡与患者的年龄、性别、肿瘤大小、部位及基因型无明显相关,但与肿瘤的核分裂象数目及 P16 阳性表达明显相关,复发/死亡组核分裂平均 22.3 个/50HPF,明显高于肿瘤无进展组(3.9 个/50HPF,$P<0.05$),5 例 P16 阳性的病例全部出现肿瘤复发/死亡($P<0.05$)。在 17 例具有 *C-kit* 基因突变的患者,形态学表现为上皮样/混合细胞型的有 8 例,其中 6 例出现肿瘤复发/死亡,高于梭形细胞型(5/13)患者。本组实验还发现,肿瘤复发/死亡组 ki-67 细胞增殖指数(22.3)高于肿瘤无进展组(10.6),但差别无统计学意义($P>0.05$)。

表1 高危型 GIST 肿瘤有无进展与临床病理特征的关系(例)

临床特征	无复发	复发及死亡
性别		
男	4	5
女	6	6
年龄(岁)		
≤55	5	7
>55	5	4
部位		
胃	1	5
非胃	9	6
直径(cm)		
≤5	0	2
5~10	5	5
>10	5	4
形态表型		
梭形	8	5
上皮样/混合细胞型	2	6
免疫表型		
P16>50% cut off +	0	5[a]
P16>50% cut off -	10	6
核分裂(个/50HPF)	3.9	22[a]
基因型		
C-kit 基因突变	9	8
上皮样/混合细胞型	2	6
梭形细胞型	7	2
exon11	8	6
Del557-558 not affected	5	2
Del557-558 affected	3	4
exon 9	1	2
exon 13	1	0

a:$P<0.05$,与无复发组比较

3 讨论

GIST最早是1983年由Mazur和Clark提出,过去多被诊断为平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、平滑肌母细胞瘤或自主神经瘤等,1998年Hirota等提出*C-kit*基因获得性功能缺失导致受体不依赖配体的自动磷酸化可导致GIST的发生。现普遍接受的观点是GIST起源于肠道卡哈尔细胞(interstitial cells of Cajal,ICC),ICC构成的细胞网络在维持胃肠道正常蠕动功能中发挥类似"心脏起搏器"的功能,*C-kit*基因突变引起ICC功能紊乱是肿瘤的触发因素。根据《中国胃肠道间质瘤诊断治疗共识》[5]推荐指南,原发GIST切除术后危险度分级采用NIH分级标准,将以下任一情况均视为高危型:①肿瘤破裂;②核分裂>10个/50HPF;③肿瘤体积>10 cm;④肿瘤体积>5 cm且核分裂>5个/50HPF;⑤发生在胃外的肿瘤直径在2.1~5.0 cm之间且核分裂>5个/50HPF;⑥发生在胃外的肿瘤直径在5.0~10.0 cm之间,且核分裂≤5个/50HPF。本组收集到高危型GIST 32例,约占45%,其中胃11例,肠道14例,胃肠道外7例。

本组资料显示,不同部位来源的GIST形态表现略有不同,与多数学者的观察结果类似。发生在胃的GIST更多表现为上皮样/混合细胞亚型,间质出现不同程度的粘液软骨样变性,梭形细胞型则以肿瘤细胞出现核端空泡和间质硬化为突出。发生在肠道的GIST则以梭形细胞型为主,形成类似于神经毡样结构和出现不同程度的团丝样纤维(skeinoid fibers),间质血管出现扩张和玻璃样变类似于神经鞘瘤。发生在胃肠道外的GIST可以出现梭形细胞型或上皮样/混合细胞型,前者细胞形态类似于肠道GIST,后者形态类似于胃部GIST。胃肠道外GIST是一组异质性肿瘤,可能起源于胃肠道GIST,在肿瘤生长过程中脱离了原发部位而形成网膜、肠系膜或腹膜后孤立性肿块[6]。

65%~92%的GIST存在*C-kit*基因突变,对于高危型GIST,exon11包括点突变、缺失、插入和重复序列的突变是*c-kit*最常见的突变类型,突变位置包含两个"热点"区域,分别是位于JM结构域包含550-560密码子和位于3-末端的包含576~590密码子的突变。本组*C-kit*基因突变检出率为75%,exon11突变率为62.5%,其中第一热点区突变率占75%,与文献[7-8]报道相似。*C-kit*基因具体的突变类型与GIST侵袭危险度相关,位于exon11第一"热点"区WK557-558缺失突变致Trp-Lys(色氨酸-赖氨酸)缺失与高危型GIST相关,位于第二"热点"区3-末端出现6~20个氨基酸串联重复序列(ITD)则可能提示预后较好,而exon9突变均与发生在肠道的高度侵袭性生物学行为相关[9]。本实验小组亦有相似的发现,9例包含有WK557-558缺失突变的患者均为高危型,2例出现TID的患者均为发生在胃的年龄>60岁的女性,肿瘤直径均小于5 cm,核分裂<5/50HPF(未发表)。exon9编码*C-kit*蛋白胞外结构域,是GIST *C-kit*基因突变的独立亚型,总体突变率8%~11%,突变部位多位于小肠。本组检出3例exon9突变均是发生在小肠的高危型的患者,除了常见的编码丙氨酸和酪氨酸(Ala-Tyr)的6个核苷酸的串联重复突变外,还检出点突变形式,该例发生在小肠的患者为53岁男性,发病同时伴有肝转移,术后1年死亡,基因突变位点为codon481G>T致丝氨酸被异亮氨酸取代。Ma等[10]研究发现氨基酸的亲水性和疏水性在维持正常JM链α-螺旋形式中发挥重要作用,亲水性丙氨酸取代疏水性色氨酸能导致受体不依赖配体磷酸化导致肿瘤的发生,本codon481突变导致亲水性氨基酸丝氨酸被疏水性氨基酸异亮氨酸取代,其与肿瘤的发生是否有类似的机制还需要进一步深入研究。

本组资料显示21例获得完整随访资料的高危型GIST,出现肿瘤复发或死亡的为11例,占52.3%,与多数学者的研究结果相似[1,11]。预测肿瘤的预后是GIST研究的热点和难点,目前通用的GIST危险度分级标准是基于肿瘤部位、大小和核分裂象的数目,虽然这个分类系统很好地预测了肿瘤的生物学行为,但是却不能反映相同级别内不同肿瘤的生物学行为。最近的研究表明,肿瘤细胞增殖指数[12]、组织学亚型[13]、肿瘤局限在消化道壁内或壁外生长方式[14]和P16基因状态[4,12,15-16]等临床病理参数与GIST预后相关。伴有PDGFRA突变的上皮样型GIST常常提示预后较好,而具有*C-kit*基因突变的上皮样/混合细胞型GIST却与较短的无带瘤生存率相关。本组资料显示除了肿瘤核分裂象数目与预后明显相关以外,联合基因型与表现型特点评估处于同一级别GIST的预后有实际意义,结果显示8例兼具*C-kit*基因突变形态上为上皮样/混合细胞型的患者,6例出现肿瘤复发或死亡,高于非此基因型和表现型的患者。本观察结果与Haller等[13]的研究结果类似,该学者发现发生在胃的具有*C-kit*基因突变形态上表现出上皮样/混合细胞型的患者其无带瘤生存率明显短于纯梭形细胞型。

P16因子又称细胞周期蛋白依赖性激酶4抑制基

因(cyclin-dependent kinase-4 inhibtor, INK4),位于9P21,是一种重要的肿瘤抑制基因,可以与细胞周期蛋白依赖性激酶4(cdk4)结合形成二聚体,抑制cdk4的活性,阻止细胞从G_1期进入S期,抑制细胞增殖。已研究证实一些肉瘤出现基因纯合性缺失、点突变、启动子甲基化导致的P16基因失活以及CDKN2A基因座位的亚小片段缺失,Schneider-stock等[15]发现P16基因突变与GIST预后差相关,特别是在良性和交界性组。近来,关于P16表达与GIST恶性风险之间的关系存在争议,Zong等[17]通过meta-analysis分析了9个不同研究小组共817例患者,发现P16缺失表达增加GIST的恶性风险,而Jung等[16]用免疫组化的方法检测了81例GIST病例,发现P16表达与GIST预后差相关,无论阳性阈值为10%还是50%,尤其是当阈值为50%时,患者的生存率明显减低。本资料亦显示,P16蛋白阳性表达与预后差明显相关,5例P16阳性的患者全部出现肿瘤复发或死亡,明显高于P16阴性组,差别具有显著性。不同的研究方法、阈值水平、不同的随访终止时间和不同的研究对象可能是造成不同实验结果的原因,有学者指出P16蛋白的不同表达模式可出现在肿瘤形成的不同阶段,P16蛋白的缺失引起肿瘤的恶性转化,但是随着肿瘤的进展,伴随RB基因的缺失、P53基因的突变和细胞周期蛋白异常活化可导致肿瘤细胞高度增生引起P16蛋白代偿性表达增加[16],同时亦有学者指出P16蛋白表达与核分裂象水平相关。

总之,高危型GIST是一组异质性肿瘤,不同发病部位其形态表现略有不同,除了肿瘤核分裂象数目与预后明显相关以外,联合基因型与表现型特点评估处于同一级别GIST的预后有实际意义。P16是肿瘤抑制因子,其蛋白过表达可能是高危型GIST预后不佳的因素之一。

参考文献:

[1] Eisenberg B L, Judson I. Surgery and imatinib in the management of GIST: emerging approaches to adjuvant and neoadjuvant therapy[J]. Ann Surg Oncol, 2004, 11(5): 465-475.

[2] Bosman F T, Carneiro F, Hruban R H, *et al*. WHO Classification of Tumours of the Digestive System[M]. Lyon: IARC, 2010: 74-79.

[3] Joensuu J. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor[J]. Hum Pathol, 2008, 39(10): 1411-1419.

[4] Schmieder M, Wolf S, Danner B, *et al*. p16 expression differentiates high-risk gastrointestinal stromal tumor and predicts poor outcome[J]. Neoplasia, 2008, 10(10): 1154-1162.

[5] 中国胃肠道间质瘤专家组. 中国胃肠道间质瘤诊断治疗共识[J]. 中华病理学杂志, 2009, 38(10): 697-702.

[6] Miettinen M, Lasota J. Histopathology of gastrointestinal stromal tumor[J]. J Surg Oncol, 2011, 104(8): 865-873.

[7] Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, *et al*. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors[J]. Cancer Res, 1999, 59(17): 4297-4300.

[8] 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.

[9] 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.

[10] Ma Y, Cunningham M E, Wang X, *et al*. Inhibition of spontaneous receptor phosphorylation by residues in a putative alpha-helix in the KIT intracellular juxtamembrane region[J]. J Biol Chem, 1999, 274(19): 13399-13402.

[11] Miettinen M, Kopczynski J, Makhlouf H R, *et al*. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 167 cases[J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27(5): 625-641.

[12] Cerski M R, Pereira F, Matte U S, *et al*. Exon 11 mutations, Ki67, and p16(INK4A) as predictors of prognosis in patients with GIST[J]. Pathol Res Pract, 2011, 207(11): 701-706.

[13] Haller F, Cortis J, Helfrich J, *et al*. Epithelioid/mixed phenotype in gastrointestinal stromal tumors with KIT mutation from the stomach is associated with accelerated passage of late phases of the cell cycle and shorter disease-free survival[J]. Mod Pathol, 2011, 24(2): 248-255.

[14] Agaimy A, Vassos N, Wunsch P H, *et al*. Impact of serosal involvement/extramural growth on the risk of synchronous and metachronous peritoneal spread in gastrointestinal stromal tumors: proposal for a macroscopic classification of GIST[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2012, 5(1): 12-22.

[15] Schneider-Stock R, Boltze C, Lasota J, *et al*. Loss of p16 protein defines high-risk patients with gastrointestinal stromal tumors: a tissue microarray study[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(2 Pt 1): 638-645.

[16] Jung S H, Suh K S, Kang D Y, *et al*. Expression of DOG1, PDGFRA, and p16 in gastrointestinal stromal tumors[J]. Gut Liver, 2011, 5(2): 171-180.

[17] Zong L, Chen P, Jiang J, *et al*. Correlation between p16 expression and malignant risk of gastrointestinal stromal tumor: evidence from nine studies[J]. Hepatogastroenterology, 2012, 59(117): 1458-1463.

(收稿:2012-06-19;修回:2012-07-24)

(编辑 汪勤俭)