DOI:10.16016/j.1000-5404.201602052

敲低肌切蛋白可抑制胃肠道间质瘤细胞的增殖能力

刘军言[1],刘佳佳[1],吴益西[1],陈 骞[2],林 勇[2],钱 锋[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院:全军普通外科中心,微创胃肠外科中心[1],全军临床病理学研究所[2])

[摘要] **目的** 探讨肌切蛋白(scinderin,SCIN)对胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor,GIST)细胞增殖能力的影响。**方法** 用 shRNA 慢病毒干扰技术将 SCIN 在 GIST 细胞中稳定敲低,并通过 Western blot 和 qRT-PCR 检测敲低效率。通过 CCK-8 实验检测伊马替尼 IC_{50}和 SCIN 对 GIST 细胞增殖能力的影响,通过平板克隆形成实验检测 SCIN 对 GIST 细胞克隆形成能力的影响,通过裸鼠皮下成瘤实验检测 SCIN 对移植瘤生长的影响。实验按照对 GIST 细胞进行的不同处理分组:WT 组(野生型组,未进行转染),Mock 组(阴性对照组,转染阴性对照序列),shSCIN 1 组(转染 SCIN 干扰序列 1),shSCIN 2 组(转染 SCIN 干扰序列 2)。**结果** shSCIN 1 组和 shSCIN 2 组 GIST 细胞在增殖能力上明显低于 Mock 组,增殖能力在第 2 ~ 7 天均有明显差异($n=4$,$P<0.05$)。移植瘤实验中 shSCIN 1 组较 Mock 组的移植瘤质量显著降低:shSCIN 1 组 *vs* Mock 组 = (0.175 0 ± 0.045 6) g *vs* (0.334 1 ± 0.016 5) g($n=4$,$P<0.01$)。平板克隆形成实验显示 shSCIN 1 组克隆形成数显著少于 Mock 组,分别为 59.67 ± 5.68 和 123.33 ± 2.52($n=3$,$P<0.01$)。在使用 0.57 μmol/L 的伊马替尼处理 WT 组细胞 1、3、5 d 后,SCIN 的表达随处理时间而降低。**结论** 敲低 SCIN 可以抑制 GIST 细胞在体外和体内环境中的增殖能力,伊马替尼可以抑制 GIST 细胞中 SCIN 的表达,SCIN 可能成为 GIST 的治疗靶点。

[关键词] 肌切蛋白;胃肠道间质瘤;增殖;伊马替尼

[中图法分类号] R394.2; R730.24; R735 [文献标志码] A

Knockdown of scinderin inhibits proliferation in gastrointestinal stromal tumor cells

Liu Junyan[1], Liu Jiajia[1], Wu Yixi[1], Chen Qian[2], Lin Yong[2], Qian Feng[1] ([1]Center of General Surgery, Center of Minimal Invasive Gastrointestinal Surgery, [2]Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the role of scinderin (SCIN) in regulating proliferation of gastrointestinal stromal tumor (GIST) cells. **Methods** SCIN-knockdown GIST cells were established with SCIN-specific shRNAs (shSCINs). The knockdown efficiency was determined by Western blotting and qRT-PCR. CCK-8 assay was used to evaluate imatinib IC_{50} and the effect of shSCIN on proliferation. Plate colony formation assay was used to test the effect of shSCINs on colony formation of GIST cells. Xenograft assay in nude mice was employed to test the effect of shSCINs on tumor growth. According to different treatment, GIST cells were divided into 4 groups: wild type group (WT group, no transfection), mock group (transfected with scrambled siRNA), shSCIN1 group (transfected with shSCIN1) and shSCIN 2 group (transfected with shSCIN2). **Results** The cell proliferation of shSCIN1 group and shSCIN2 group was significantly decreased compared with the mock group. The proliferation difference was significant from the second day to the seventh day ($n=4$, $P<0.05$). Xenografts derived from shSCIN1 cells had significantly lower tumor weight than those derived from mock cells (0.1750 ± 0.0456 *vs* 0.3341 ± 0.0165 g, $n=4$, $P<0.01$). The colony numbers derived from shSCIN1 cells and mock cells were 59.67 ± 5.68 and 123.33 ± 2.52, respectively ($n=3$, $P<0.01$). After treatment with 0.57 μmol/L imatinib in WT cells for 1, 3 and 5 d, the expression of SCIN was

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81272365)

[通信作者] 钱 锋,E-mail:qianfengpuwaia@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160322.1459.007.html(2016-03-22)

found to be decreased in a time-dependent manner. **Conclusion** Knockdown of SCIN inhibits the proliferation of GIST cells both *in vitro* and *in vivo*. Imatinib inhibits the expression of SCIN. SCIN may be a promising therapeutic target for GIST.

[**Key words**] scinderin; gastrointestinal stromal tumor; proliferation; imatinib

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81272365). Corresponding author: Qian Feng, E-mail: qianfengpuwaia@163.com

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)起源于胃肠道间质的 Cajar 细胞,是消化道最常见的间叶组织肿瘤[1]。GIST 的主要发病机制是原癌基因 c-kit 发生功能获得性突变,赋予了细胞恶性增殖的能力,进而产生肿瘤[2]。GIST 的治疗策略主要以手术切除为主,但即使在手术完整切除后,仍有约 50% 的患者在 2 年内肿瘤复发[3]。目前对 GIST 在发生 c-kit 基因突变后获得高增殖能力的分子机制仍有待于探索,而这也将对其治愈提供帮助。

SCIN 是钙离子依赖性细胞骨架调控蛋白,主要表达于分泌细胞[4]。其主要功能是通过对肌动蛋白的切割、加帽等作用调控细胞骨架,进而调控囊泡运输、胞吐等细胞基本活动[5]。近年来,SCIN 在肿瘤中的作用被日益发现并引起重视,SCIN 的表达上调同膀胱癌对顺铂的抵抗有关[6],在肺癌[7]和前列腺癌[8]中,SCIN 具有促进肿瘤细胞增殖的作用。而在 GIST 中 SCIN 对增殖方面的调控作用仍然未知。

本实验中,我们使用慢病毒敲低 SCIN 以研究 GIST 细胞在体内和体外环境中增殖能力和克隆形成能力的变化,同时研究了伊马替尼作用于 GIST 细胞抑制其增殖后 SCIN 表达的改变,初步探讨了 SCIN 在 GIST 细胞中对增殖的调控作用,以期为 GIST 的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂

GIST 原代细胞由第三军医大学西南医院普通外科参照文献[9]报道前期构建。DMEM/F12 培养基和胎牛血清(FBS)购于 Gibco 公司,TRIzol、cDNA 逆转录试剂盒及 qRT-PCR 试剂盒购于 TaKaRa 公司。SCIN 干扰慢病毒、SCIN 及 β-actin 引物购于上海立菲生物科技有限公司。小鼠抗人 SCIN 单克隆抗体购于 Santa Cruze 公司,小鼠抗人 β-actin 单克隆抗体和 HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 购于碧云天生物技术有限公司,CCK-8 试剂盒购于 Sigma 公司,青霉素 G 和链霉素购于 Invitrogen 公司,Western blot 的 ECL 显影液购于 Thermo 公司。8 只雌性 BALB/c 裸鼠购于第三军医大学实验动物中心并培养于无病原体环境。甲磺酸伊马替尼购于 Sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 GIST 细胞培养于含 10% FBS 的 DMEM/F12 完全培养液中,放置于 37 ℃、5% CO_2、95% 湿度的细胞培养箱内静置培养,待细胞汇合度达 90% 时,以 1∶3 传代。根据细胞生长状态,每天换液 1 次,每 2 天传代。传代时先去除培养基,使用 37 ℃ 预热的 PBS 轻轻润洗细胞 2 次,吸净 PBS 后,加入胰酶消化液消化细胞,待细胞消化完全后,加入同等体积的含血清完全培养基终止消化。轻轻吹打细胞,将细胞悬液移入离心管,以 800 r/min 的速度离心 5 min。去除上清液,加入完全培养基吹散细胞,将细胞移入新的培养皿中继续培养。

1.2.2 质粒构建及 shRNA 转染 SCIN 基因慢病毒载体的构建、鉴定测序、质粒抽提以及慢病毒包装均由上海立菲公司完成。稳定干扰 SCIN 的 shSCIN(shSCIN 1、shSCIN 2)和对照序组(Mock)的序列如下:shSCIN 1 5′-GGAGAAAGGAGCAGAGTATGTAGCA-3′;shSCIN 2 5′-GGAGGTTGATGTTGATGCAAATTCA-3′;Mock 5′-TTACGCGTAGCGTAATACG-3′。转染步骤按说明书进行操作,将干扰 SCIN 的慢病毒加入汇合度约为 50% 的 GIST 细胞培养皿内,孵育 8 h 后,更换完全培养基,加入 3 μg/mL 浓度的嘌呤霉素筛选阳性感染细胞。敲低效率由 qRT-PCR 和 Western blot 检测,干扰效率达到 90% 者可用于后续实验。

1.2.3 Western blot 蛋白表达量检测 GIST 细胞先由 PBS 润洗,然后由 RIPA 裂解,裂解后的溶解液于 4 ℃,15 000 × *g* 离心 15 min,收集上清,提取总蛋白。蛋白浓度按 BCA 法测定。蛋白分离使用 10% SDS-PAGE 聚丙烯凝胶。分离后,采用半干转 30 min 转至 PVDF 膜上,使用 5% 脱脂奶粉于室温封闭 2 h。封闭后孵育小鼠抗人 SCIN 单克隆抗体(1∶1 000)并于 4 ℃ 过夜。二抗于室温孵育 2 h,经 ECL 显影液显色后观察。内参使用 β-actin。

1.2.4 总 RNA 提取及 qRT-PCR 一定量的 GIST 细胞经 PBS 润洗后,加入 TRIzol 裂解液裂解,并按照说明书要求提取总 RNA。测定浓度后,按照说明书使用 TaKaRa 逆转录试剂盒进行逆转录并进行 PCR 扩增。SCIN cDNA 的上游引物为 5′-ATGGCTTCGGGAAAGTTTATGT-3′,下游引物为 5′-CATCCACCATATTGTGCT-GGG-3′,实验以 β-actin 为内参,其上游引物为 5′-

TTGCGTTACACCCTTTCTTG-3′,下游引物为 5′-CACCTTCACCGTTCCAGTTT-3′。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各基因相对表达量。

1.2.5　细胞增殖检测　　Mock,shSCIN 1,shSCIN 2 组 GIST 细胞分别按照 1000 个/孔接种于 96 孔板,每孔加入 0.1 mL 含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基,于细胞培养箱中培养。分别于第 1、2、3、4、5、6、7 天时,将培养液换为 0.1 mL 含 10% FBS 的 DMEM/F12 及 0.01 mL CCK-8 溶液。在 37 ℃继续培养 1 h 后,于 450 nm 处测定光密度值[D(450)]。

1.2.6　裸鼠皮下成瘤实验　　Mock 及 shSCIN 1 组 GIST 细胞经过消化离心收集,以 PBS 重悬后进行计数。接种时每种分别计数 5×10^5 个接种于裸鼠腹股沟处皮下。接种后每天观察移植瘤生长情况,于 3 周后处死小鼠,取移植瘤标本并称质量。

1.2.7　平板克隆形成实验　　将处于对数生长期的 GIST 细胞计数后按照 100/孔接种于 6 孔板中,每种细胞设置 3 个复孔,每孔加入含 10% FBS 的 DMEM/F12 完全培养基 2 mL 并置于培养箱中继续培养。每 3 ~ 4 天进行换液,于 10 d 后去除培养基,使用 4 ℃预冷的 PBS 润洗细胞后,加 4% 多聚甲醛于室温下固定细胞 20 min,然后用结晶紫溶液染色 5 min。于光学显微镜下计数大于 50 个细胞的克隆数,并进行统计分析。

1.2.8　伊马替尼 IC_{50} 测定　　将 WT 组 GIST 细胞分别按照 1 000 个/孔接种于 96 孔板,每孔加入 0.1 mL 含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基,放置于细胞培养箱中培养 12 h,待细胞贴壁后,加入不同浓度(0.01 ~ 10 μmol/L)的伊马替尼,继续培养 72 h。细胞存活率的测定按照 CCK-8 试剂盒说明书进行。抑制率 = [$D(450)_{处理组}$ − $D(450)_{空白组}$]/[$D(450)_{对照组}$ − $D(450)_{空白组}$];存活率 = 1 − 抑制率;进而计算出药物的 IC_{50}。

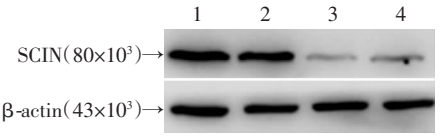
1.3　统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计分析软件,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,移植瘤质量比较和增殖差异比较采用非参数检验,两组比较采用两样本独立 t 检验。

2　结果

2.1　SCIN 慢病毒稳定干扰细胞的建立

使用慢病毒敲低 GIST 细胞中的 SCIN 后,运用 qRT-PCR 在 RNA 水平检测 SCIN 的敲低效率。SCIN 的 RNA 表达在对照组(Mock 组)和野生型组(wild type,WT 组)中 SCIN 的表达量相似,而 shSCIN 1 组和 shSCIN 2 组 SCIN 的 RNA 表达量同 Mock 组相比干扰效率均高于 90%(干扰效率分别为 92.94%、91.47%)。Western blot 结果显示,shSCIN 1 组和 shSCIN 2 组 shSCIN 的干扰效率均较高(图 1)。



1:WT 组;2:Mock 组;3:shSCIN 1 组;4:shSCIN 2 组

图 1　Western blot 检测 SCIN 在各组 GIST 细胞中的敲低效率

2.2　敲低 SCIN 抑制 GIST 细胞的增殖能力

在 SCIN 稳定敲低后,我们又使用 CCK-8 方法检测了 GIST 细胞的增殖能力,结果显示 shSCIN 1 组和 shSCIN 2 组细胞增殖均受到明显抑制,抑制效果从第 2 ~ 7 天差异均有统计学意义($P<0.05$,表 1,图 2)。以上结果表明,敲低 SCIN 可以明显抑制 GIST 细胞的增殖能力。

表 1　各组 GIST 细胞不同时间点光密度值的比较($n=4$, $\bar{x}\pm s$)

培养时间	Mock 组	shSCIN 1 组		shSCIN 2 组	
(d)	D(450)	D(450)	P	D(450)	P
1	0.108 3 ± 0.008 2	0.107 7 ± 0.008 4	0.88	0.113 3 ± 0.013 1	0.88
2	0.157 9 ± 0.013 5	0.121 3 ± 0.012 5	0.029	0.132 0 ± 0.020 3	0.029
3	0.322 4 ± 0.044 0	0.159 9 ± 0.008 6	0.021	0.162 2 ± 0.021 1	0.021
4	0.685 5 ± 0.032 7	0.281 6 ± 0.013 1	0.021	0.226 1 ± 0.022 7	0.021
5	0.920 9 ± 0.045 1	0.439 9 ± 0.025 4	0.021	0.330 0 ± 0.029 2	0.021
6	1.053 8 ± 0.039 6	0.619 1 ± 0.029 5	0.021	0.527 9 ± 0.035 2	0.021
7	1.117 1 ± 0.041 4	0.731 5 ± 0.026 7	0.021	0.689 9 ± 0.082 0	0.021

P 值为 shSCIN 组的 D(450)值与当天 Mock 组 D(450)值相比较的差异

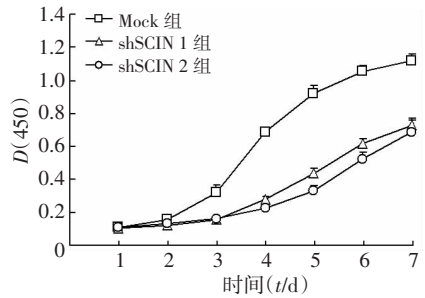


图 2　CCK-8 法检测敲低 SCIN 对各组 GIST 细胞增殖能力的影响

2.3　敲低 SCIN 抑制 GIST 细胞移植瘤的生长

我们选取了 Mock 组和 shSCIN 1 组 GIST 细胞进行移植瘤实验,每组细胞分别接种于 4 只裸鼠。观察发现 Mock 组最早于第 7 天出现肉眼可见肿瘤,而 shSCIN 1 组最早于第 12 天出现肉眼可见肿瘤。3 周后,所有裸鼠均形成肉眼可见肿瘤。观察发现 Mock 组肿瘤均大于 shSCIN 1 组,且 Mock 组移植瘤质量明显重于 shSCIN 1 组,差异具有统计学意义[Mock 组 *vs* shSCIN 1 组 = (0.334 1 ± 0.016 5) g *vs* (0.175 0 ± 0.045 6) g,$P<0.01$,图 3]。以上结果表明敲低 SCIN 可以抑制 GIST 细胞移植瘤的生长。

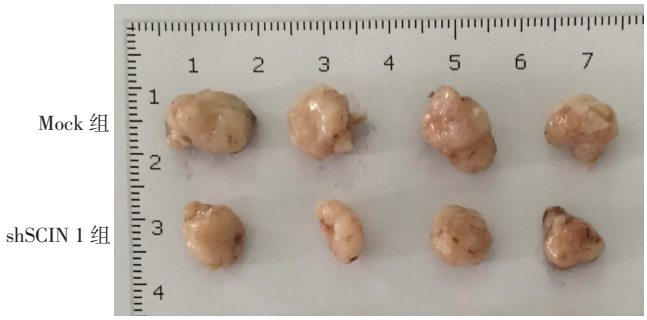
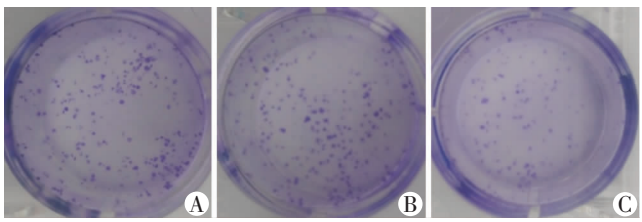


图 3 敲低 SCIN 抑制两组 GIST 细胞移植瘤的生长

2.4 敲低 SCIN 降低 GIST 细胞的克隆形成能力

我们检测了 WT 组、Mock 组和 shSCIN 1 组 GIST 细胞的克隆形成能力,实验结果表明敲低 SCIN 显著降低 GIST 细胞的克隆形成能力(图 4)。shSCIN 1 组的克隆形成数为(59.67 ± 5.68),显著低于 Mock 组细胞的克隆形成数[(123.33 ± 2.52),$n=3$,$P<0.01$]。

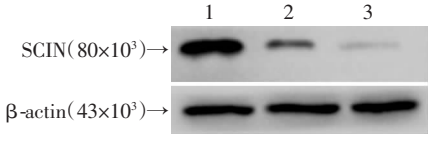


A:WT 组;B:Mock 组;C:shSCIN 1 组

图 4 敲低 SCIN 降低各组 GIST 细胞克隆形成能力

2.5 伊马替尼抑制 GIST 细胞中 SCIN 的表达

我们首先测定了 WT 组 GIST 细胞的 IC_{50} 值,结果为:$IC_{50}=0.57$ μmol/L。我们选取了 0.57 μmol/L 的伊马替尼处理 WT 组 GIST 细胞,并分别在第 1、3、5 天时使用 Western blot 检测 SCIN 的表达量(图 5)。结果显示 WT 组 GIST 细胞在第 1 天时仍能够检测到 SCIN 的表达,第 3 天时表达明显减弱,第 5 天时表达更低。以上结果表明伊马替尼处理 GIST 细胞可以抑制 GIST 细胞中 SCIN 的表达。



1:第 1 天;2:第 3 天;3:第 5 天

图 5 Western blot 检测伊马替尼处理 WT 组不同时间 GIST 细胞 SCIN 的表达

3 讨论

GIST 是人类最常见的肉瘤[10],由于 c-kit 基因(75% ~80%)或 PDGFRA 基因(<10%)发生功能获得性突变[11-12],导致其编码的受体酪氨酸激酶(RTKs)表达增高,这是 GIST 细胞获得恶性生长增殖能力最关键的改变[13-14]。KIT 蛋白作为 RTK 家族的重要成员,其过表达和活化在 GIST 中最为常见,其在 GIST 中的活化包括两种形式,第一种是由于 c-kit 基因发生功能获得性突变而导致 KIT 蛋白发生非配体依赖性的自身磷酸化,另一种则是配体依赖性的活化[14]。由于两种形式的 KIT 活化均可以激活 PI3K,因此推测 GIST 中 PI3K/AKT 通路是激活的,而文献[15]报道也证实了 GIST 细胞中 KIT 活化的两种方式均参与调控肿瘤增殖,且主要通过 PI3K/AKT 通路。但是在 c-kit 基因突变后,KIT 的过表达在产生并维持其恶性增殖方面的作用非常复杂[16],其中的具体分子机制仍然有待于探索,而掌握调控 GIST 生长增殖的具体分子机制对 GIST 的治愈至关重要。

SCIN 在调控肿瘤细胞增殖中的作用已日益被发现。在肺癌细胞系 A549 和 H1299 中,敲低 SCIN 可以通过上调 Cyclin B1 和 p21 而导致细胞周期停滞于 G_0/G_1 期,进而使肺癌细胞的增殖和克隆形成能力降低[7]。而在前列腺癌的 PC3 细胞系中,敲低 SCIN 则通过上调 p16 和 p21 的表达使细胞周期停滞于 G_0/G_1 期,抑制细胞的增殖能力[8]。SCIN 在两种肿瘤中均通过 p21 来调节细胞增殖。据文献[17]报道 PI3K/AKT 通路的激活会抑制其下游通路中 p21 的表达,进而使细胞周期由 G_1 期向 S 期进展,促进细胞的增殖。由此我们推测 SCIN 在 GIST 中调控增殖的机制可能与肺癌和前列腺癌类似,敲低 SCIN 可能通过上调 p21 的表达,解除 GIST 细胞中 PI3K/AKT 通路的活化对 p21 的抑制作用,使细胞周期停滞,进而抑制细胞的增殖。在我们的实验结果中,敲低 SCIN 不仅可以抑制 GIST 细胞的增殖和克隆形成,也能抑制其移植瘤的生长,均与此机制相符,支持这一推论。

RTKs 抑制剂伊马替尼能够抑制 KIT 蛋白的自身磷酸化并高效阻断 PI3K/AKT 通路,从而抑制 GIST 细胞的增殖[18-20]。本实验观察到随着伊马替尼作用时间的增加,细胞增殖受到抑制后,SCIN 表达在第 1、3、5 天逐渐降低,这可能是由于 SCIN 参与 PI3K/AKT 通路下游关于细胞周期的调控,并可能在细胞周期调控中扮演功能性分子,在伊马替尼抑制 GIST 细胞的增殖后,其表达也随增殖能力的降低而降低,但是其中具体机制仍有待于探索。

结合我们的实验结果,我们认为 SCIN 在 GIST 肿瘤组织中具有调控细胞增殖的作用,其对增殖的调控可能是作为 PI3K/AKT 下游通路中的功能性分子而参与对细胞周期的调控。值得注意的是,在伊马替尼抑制了 GIST 细胞的增殖后,SCIN 的表达亦随之降低,因而可以认为 SCIN 不仅参与调控 GIST 细胞的增殖,也

可以反映伊马替尼对 GIST 细胞增殖的抑制程度,其在 GIST 细胞中的表达量与其增殖能力具有较强的相关性。而在 GIST 中,如果针对 SCIN 作为治疗靶点,或许可以抑制肿瘤细胞的增殖能力,进而抑制肿瘤生长及复发。但是相关研究仍有待于进一步探索。

总之,我们的实验证明了敲低 SCIN 能够显著抑制 GIST 细胞的克隆形成能力和在体内及体外的增殖能力,伊马替尼在抑制 GIST 细胞增殖的同时也可降低 SCIN 的表达。我们的研究加深了 SCIN 在 GIST 中作用的认识,同时也丰富了 GIST 细胞增殖和伊马替尼对其作用机制的认知。我们认为 SCIN 或许可以作为伊马替尼对 GIST 细胞增殖的抑制程度的反映指标或成为 GIST 的治疗靶点。

志谢 感谢西南医院普通外科余佩武教授的支持和指导以及病理科颜泽萱、卞士霞等老师在实验中给予的支持和帮助

参考文献:

[1] Kanda T. Criminal or bystander: imatinib and second primary malignancy in GIST patients[J]. Chin J Cancer Res, 2013, 25(5): 490-492. DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2013.10.15

[2] Wang C, Jin M S, Zou Y B, *et al*. Diagnostic significance of DOG-1 and PKC-theta expression and c-Kit/PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours[J]. Scand J Gastroenterol, 2013, 48(9): 1055-1065. DOI: 10.3109/00365521.2013.816770

[3] Muhlenberg T, Grunewald S, Treckmann J, *et al*. Inhibition of KIT-glycosylation by 2-deoxyglucose abrogates KIT-signaling and combination with ABT-263 synergistically induces apoptosis in gastrointestinal stromal tumor[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0120531. DOI: 10.1371/journal.pone.0120531

[4] Nag S, Larsson M, Robinson R C, *et al*. Gelsolin: the tail of a molecular gymnast[J]. Cytoskeleton (Hoboken), 2013, 70(7): 360-384. DOI: 10.1002/cm.21117

[5] Marcu M G, Zhang L, Elzagallaai A, *et al*. Localization by segmental deletion analysis and functional characterization of a third actin-binding site in domain 5 of scinderin[J]. J Biol Chem, 1998, 273(6): 3661-3668.

[6] Miura N, Takemori N, Kikugawa T, *et al*. Adseverin: a novel cisplatin-resistant marker in the human bladder cancer cell line HT1376 identified by quantitative proteomic analysis[J]. Mol Oncol, 2012, 6(3): 311-322. DOI: 10.1016/j.molonc.2011.12.002

[7] Liu H, Shi D, Liu T, *et al*. Lentivirus-mediated silencing of SCIN inhibits proliferation of human lung carcinoma cells[J]. Gene, 2015, 554(1): 32-39. DOI: 10.1016/j.gene.2014.10.013

[8] Wang D, Sun S Q, Yu Y H, *et al*. Suppression of SCIN inhibits human prostate cancer cell proliferation and induces G_0/G_1 phase arrest[J]. Int J Oncol, 2014, 44(1): 161-166. DOI: 10.3892/ijo.2013.2170

[9] Fukuda K, Saikawa Y, Sako H, *et al*. Establishment and characterization of novel cell lines and xenografts from patients with gastrointestinal stromal tumors[J]. Oncol Rep, 2013, 30(1): 71-78. DOI: 10.3892/or.2013.2425

[10] Datar M, Khanna R. Inpatient burden of gastrointestinal stromal tumors in the United States[J]. J Gastrointest Oncol, 2012, 3(4): 335-341. DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.037

[11] Hayashi Y, Bardsley M R, Toyomasu Y, *et al*. Platelet-Derived Growth Factor Receptor-alpha Regulates Proliferation of Gastrointestinal Stromal Tumor Cells With Mutations in KIT by Stabilizing ETV1[J]. Gastroenterology, 2015, 149(2): 420-432.e16. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.006

[12] Xu C W, Lin S, Wang W L, *et al*. Analysis of mutation of the c-Kit gene and PDGFRA in gastrointestinal stromal tumors[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(3): 1045-1051. DOI: 10.3892/etm.2015.2613

[13] O'Brien K M, Orlow I, Antonescu C R, *et al*. Gastrointestinal stromal tumors, somatic mutations and candidate genetic risk variants[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62119. DOI: 10.1371/journal.pone.0062119

[14] Tan C J, Yang J L, Crowe P, *et al*. Targeted therapy in soft tissue sarcoma-a novel direction in therapeutics[J]. Chin Clin Oncol, 2013, 2(3): 22. DOI: 10.3978/j.issn.2304-3865.2013.08.01

[15] Yuzawa S, Opatowsky Y, Zhang Z, *et al*. Structural basis for activation of the receptor tyrosine kinase KIT by stem cell factor[J]. Cell, 2007, 130(2): 323-334. DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.055

[16] Wang J, Cai J, Huang Y, *et al*. Nestin regulates proliferation and invasion of gastrointestinal stromal tumor cells by altering mitochondrial dynamics[J]. Oncogene, 2015. DOI: 10.1038/onc.2015.370 [Epub ahead of print]

[17] Lin P, Sun X, Feng T, *et al*. ADAM17 regulates prostate cancer cell proliferation through mediating cell cycle progression by EGFR/PI3K/AKT pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 359(1/2): 235-243. DOI: 10.1007/s11010-011-1018-8

[18] Li J, Dang Y, Gao J, *et al*. PI3K/AKT/mTOR pathway is activated after imatinib secondary resistance in gastrointestinal stromal tumors (GISTs)[J]. Med Oncol, 2015, 32(4): 111. DOI: 10.1007/s12032-015-0554-6

[19] Ma Y Y, Yu S, He X J, *et al*. Involvement of c-KIT mutation in the development of gastrointestinal stromal tumors through proliferation promotion and apoptosis inhibition[J]. Onco Targets Ther, 2014, 7: 637-643. DOI: 10.2147/OTT.S60458

[20] 李健. 胃肠道间质瘤的分子靶向治疗[J]. 中华消化外科杂志,2013,12(4): 253-256. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2013.04.004

(**收稿**:2016-01-13;**修回**:2016-03-13)

(编辑 栾 嘉)