

[文章编号] 1671-587X(2024)02-0545-06

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240230

## 异时性多复发灶耐药基因分子异质性的胃肠道间质瘤 1例报告及文献复习

王玥, 吴迪, 于丹丹, 段秀梅

(吉林大学第一医院病理科, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** **目的:** 分析1例长期伊马替尼治疗后多部位、异时性复发灶敏感/耐药共存的少见胃肠道间质瘤(GISTs)患者的临床资料, 揭示GISTs继发突变的异质性是复发耐药过程中的重要属性。**方法:** 收集1例复发GISTs患者的临床资料, 采用HE染色法进行组织学观察, 免疫组织化学染色检测相关蛋白表达, 一代和二代测序技术分析肿瘤基因变异情况。**结果:** 患者, 男性, 66岁, 因胃间质瘤行胃部分切除术。一代测序技术检测结果显示为原癌基因, 受体酪氨酸激酶(KIT)基因11号外显子缺失突变(p.551-554del)。伊马替尼治疗1年左右, 停药4个月后复发, 患者出现脾区病灶, 继续采用伊马替尼一线治疗, 脾区病灶得到控制。59个月后盆腔发现新病灶, 采用伊马替尼加量(600 mg·d<sup>-1</sup>)并舒尼替尼二线治疗, 治疗2个月后CT检查结果显示患者脾区病灶大小趋于稳定, 而盆腔新病灶体积持续增大。二代测序技术检测结果显示两复发灶在原有KIT基因11号外显子缺失突变的基础上, 分别继发KIT基因13号外显子(p.V654A)和17号外显子(p.Y823D)突变。**结论:** GISTs在靶向药物选择作用的压力下, 肿瘤生物学行为表现出复杂性, 即时间异质性、空间异质性和分子异质性, 不同复发灶可以出现不同的耐药机制。

**[关键词]** 胃肠道间质瘤; 复发耐药; 异质性; 二代测序技术; 伊马替尼

**[中图分类号]** R735.2 **[文献标志码]** B

## Gastrointestinal stromal tumors with multifocal heterochronous primary resistance due to temporal gene mutations: A case report and literature review

WANG Yue, WU Di, YU Dandan, DUAN Xiumei

(Department of Pathology, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT** **Objective:** To analyze the clinical data of a rare case of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with multifocal heterochronous primary resistance due to temporal gene mutations after long-term treatment with imatinib, and to reveal the importance of secondary mutation heterogeneity in the recurrence and resistance process of GISTs. **Methods:** The clinical data of one patient with recurrent GISTs were collected. The histomorphology observation was observed by HE staining; the expressions of related proteins were detected by immunohistochemistry; first and second generation sequencing techniques were used to analyze the tumor gene mutations. **Results:** The patient, a 66-year-old male, underwent partial

[收稿日期] 2023-05-18

[基金项目] 吉林省科技厅自然科学基金项目(20200201434JC); 吉林省科技厅医药健康重点研发项目(20210204189YY)

[作者简介] 王玥(1988-), 女, 黑龙江省鹤岗市人, 住院医师, 医学硕士, 主要从事临床病理诊断和分子病理方面的研究。

[通信作者] 段秀梅, 教授, 博士研究生导师 (E-mail: xmduan@jlu.edu.cn)

gastrectomy for gastric stromal tumor. The first-generation sequencing results identified it was a proto-oncogene and there was a deletion mutation in exon 11 of the tyrosine protein kinase kit (KIT) gene (p. 551-554del). Approximately one year after imatinib treatment and a subsequent 4-month drug holiday, the patient experienced a relapse with a splenic lesion. The continuous first-line treatment with imatinib controlled the splenic lesion. After 59 months, a new pelvic mass was identified, and the patient received increased doses of imatinib ( $600 \text{ mg} \cdot \text{day}^{-1}$ ) along with second-line therapy with sunitinib. After treated for two months, the CT scan results showed that the size of the splenic lesion tended to stabilize, while the volume of the new pelvic lesion continued to increase. The second generation sequencing results indicated that on the basis of the original KIT gene exon 11 deletion, subsequent mutations in exon 13 (p. V654A) and exon 17 (p. Y823D) of the KIT gene occurred separately in two recurrent lesions. **Conclusion:** Under the pressure of targeted drug selection, the biological behavior of GISTs shows complexity, such as, time heterogeneity, spatial heterogeneity and molecular heterogeneity; different recurrent lesions may exhibit different resistance mechanisms.

**KEYWORDS** Gastrointestinal stromal tumor; Relapse resistance; Heterogeneity; Second generation sequencing technology; Imatinib

胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumors, GISTs) 是起源于Cajal细胞的胃肠道最常见的间叶源性恶性肿瘤, 占消化道间叶性肿瘤的80%, 每年发病率约1.2/10万<sup>[1]</sup>。有75%~80%的GIST患者可以检测到原癌基因受体酪氨酸激酶kit (tyrosine protein kinase kit, KIT) 基因突变<sup>[2]</sup>, 多数晚期GISTs患者可从甲磺酸伊马替尼标准靶向治疗中获益<sup>[3]</sup>, 然而, 伊马替尼治疗后2年内, 约50%的GISTs患者出现继发耐药, 约4%的GISTs患者对伊马替尼不耐受<sup>[4]</sup>。目前国内外复发耐药GISTs的个案和系列回顾性研究并不少见, 但对于不同复发灶存在不同耐药机制的病例分析鲜有报道, 本研究报道1例长期采用伊马替尼治疗后多部位、异时性复发病灶敏感/耐药共存的少见GISTs病例, 旨在揭示GISTs继发突变的时间异质性、空间异质性和分子异质性是复发耐药过程中的重要属性, 不同复发灶可以出现不同的耐药机制, 为多线靶向药物联合使用的个性化治疗方案提供依据。

## 1 临床资料

### 1.1 一般资料

患者, 男性, 66岁, 2020年9月复查腹部增强CT, 提示盆腔入口处及左中腹肠管间见结节状软组织影。患者于2014年6月因胃间质瘤行胃部分切除术, 现患者及家属为求进一步治疗就诊于本院。急诊以“腹腔肿物(性质待定)”收入胃肠外科。病程中无发热, 无心悸及气短, 无呼吸困难, 无尿频、尿急、尿痛及血尿, 饮食及睡眠尚可, 小便正

常, 近期体质量未见明显变化。

### 1.2 原发病灶诊疗经过

患者于2014年6月因“胃占位”行胰体尾部+脾切除术、胃部分切除术。病理诊断结果: 胃间质瘤, 高度恶性潜能, 大小为 $12.5 \text{ cm} \times 10.0 \text{ cm} \times 6.5 \text{ cm}$ , 伴出血及大面积坏死, 核分裂数 $>50$ 个/50高倍视野, 胃切缘和胰腺切缘未见肿瘤, 网膜、胰腺和脾脏未见肿瘤。免疫组织化学检测结果: 细胞增殖核抗原(Ki-67)(+20%), KIT原癌基因蛋白(CD117)(+), 间质瘤蛋白(discoverde on GIST-1, Dog-1)(+), 细胞膜糖蛋白CD34(+), 中枢神经系统特异性蛋白(S-100)(-), 结蛋白(Desmin)(-), 平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SMA)(-)。一代测序技术检测结果显示: KIT基因11号外显子缺失突变(p. P551\_E554del)。术后伊马替尼( $400 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ )一线治疗, 治疗1年因患者依从性差等原因停药。

### 1.3 复发病灶诊疗经过

1.3.1 复发病灶临床资料 2015年10月复查CT显示患者左中下腹(脾区)见多发团块样异常密度影, 大小为 $7.7 \sim 12.6 \text{ cm}$ , 考虑GISTs复发, 继续伊马替尼一线治疗。2016年1月复查CT显示左下腹(脾区)团块样异常密度影, 大小为 $4.3 \sim 6.0 \text{ cm}$ 。患者每6~8个月门诊复查CT, 显示左下腹(脾区)团块逐渐缩小并趋于稳定。2020年9月复查CT发现盆腔新病灶, 临床考虑复发GISTs进展, 增加伊马替尼用量( $600 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ )。2020年10月复查CT发现脾区病灶稳定, 但盆腔病灶增

大, 临床考虑盆腔病灶伊马替尼耐药, 开始应用二线药物舒尼替尼治疗 ( $50 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ )。2个月后CT检查结果提示盆腔病灶增大 (长径增大39.2%, 治疗进展), 脾区病灶缩小 (长径缩小29.5%, 部分缓解), 肿瘤靶向治疗影像学评价Choi标准<sup>[5]</sup>指出: CT测量肿瘤长径缩小 $\geq 10\%$ 为部分缓解, 肿瘤长径增大 $\geq 10\%$ 为治疗进展。鉴于复发灶对邻近肠管产生压迫, 2020年12月对两处复发灶进行手术切除。

**1.3.2 复发病灶病理学诊断** 与原发灶发生于胃黏膜下层与浆膜层之间不同 (图1), 两处复发灶发生于不同节段结肠肠系膜内 (图2), 未侵及肠壁组织。病理检查结果显示: 间质瘤, 局部伴出血、坏死, 部分区域肿瘤细胞退变, 肿瘤大小为  $5.2 \text{ cm} \times 4.2 \text{ cm} \times 2.6 \text{ cm}$  和  $4.5 \text{ cm} \times 4.0 \text{ cm} \times 3.0 \text{ cm}$ , 核分裂数为5个/50高倍视野。鉴于本病例既往GISTs病史, 且两处病灶形态相同, 针对脾区病灶进行免疫组织化学检测, 结果显示: CD34 (+), Ki-67 (+3%), 琥珀酸脱氢酶复合体B (succinate dehydrogenase complex-B, SDHB) (+), 波形蛋白 (Vimentin) (+), CD117 (+), Dog-1 (+)。

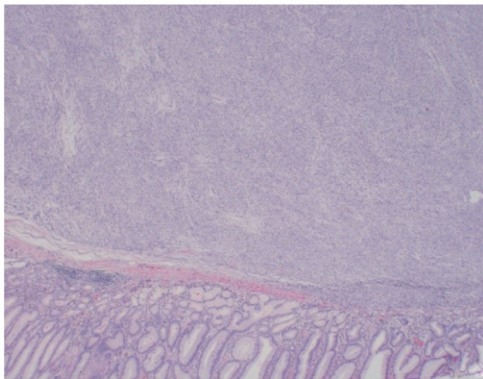


图1 胃黏膜下层与浆膜层之间胃部原发病灶(HE,  $\times 40$ )

Fig. 1 Gastric primary lesion occurred between gastric submucosa and serous layer (HE,  $\times 40$ )

#### 1.4 原发病灶与复发病灶基因检测结果

胃部原发灶及两处复发灶进行二代测序技术检测。二代测序技术检测结果显示: 胃部原发灶KIT基因11号外显子缺失突变 (p. P551\_E554del), 突变丰度为33.3%, 同时检测到KIT基因拷贝数增加 (4.79拷贝)。脾区病灶KIT基因11号外显子缺失突变 (p. P551\_E554del), 突变丰度为16.97%,

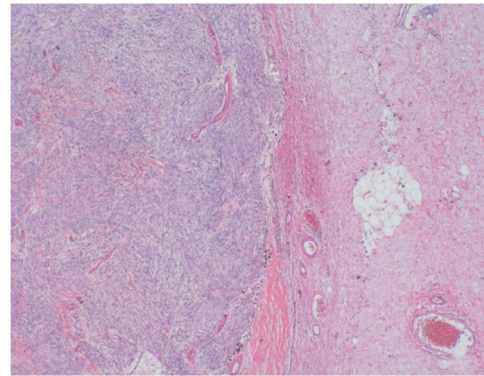


图2 结肠肠系膜内复发病灶(HE,  $\times 40$ )

Fig. 2 Recurrent lesion occurred in colonic mesentery (HE,  $\times 40$ )

KIT基因13号外显子点突变 (c. 1961T>C, p. V654A), 突变丰度为39.13%。盆腔病灶KIT基因11号外显子缺失突变 (p. P551\_E554del), 突变丰度为87.06%, KIT基因17号外显子点突变 (c. 2467T>G, p. Y823D), 突变丰度为93.46%。除KIT基因的异常, 三处病灶均检测到多重肿瘤抑制基因1 (multiple tumor suppressor 1, MTS1/CDKN2A) 拷贝数减少。

#### 1.5 原发病灶和复发病灶的病理形态表现

本病例两处复发病灶与原发病灶组织学类型相同, 均为梭形细胞型。原发病灶和复发病灶均存在出血坏死, 原发病灶呈栅栏样和地图样坏死, 继发囊性变 (图3); 复发病灶的坏死退变、玻璃样变性及纤维化在肿瘤内散在分布, 存活的肿瘤细胞围绕大血管生长 (图4)。复发病灶中的坏死退变可能是肿瘤细胞对酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 敏感的表现, 坏死的比例不同可能与突变的丰度不同有关。

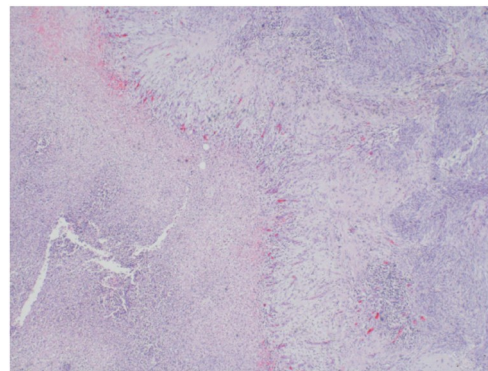


图3 原发病灶的病理形态表现(HE,  $\times 40$ )

Fig. 3 Pathomorphology of primary lesion(HE,  $\times 40$ )

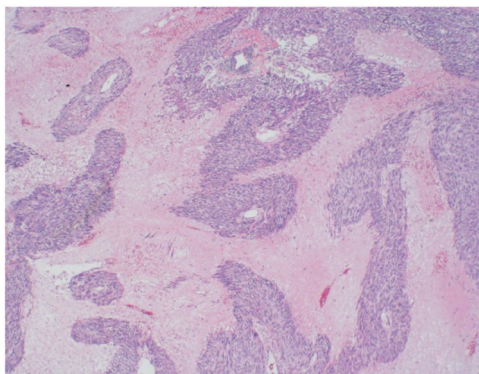


图4 靶向治疗后复发病灶的病理形态表现(HE, ×40)

Fig. 4 Pathomorphology of recurrent lesion after target therapy(HE, ×40)

### 1.6 随访

患者于2020年12月第2次手术治疗后,施行舒尼替尼( $37.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ ) + 瑞戈非尼( $160 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ )联合治疗,随访至今未见复发。

## 2 讨论

在90%的GISTs中,KIT基因或血小板源性生长因子受体 $\alpha$ (platelet-derived growth factor receptor A, PDGFRA)基因获得性功能突变是启动致瘤事件的关键<sup>[6-7]</sup>。一代靶向药甲磺酸伊马替尼可通过抑制KIT和PDGFRA酪氨酸激酶的活性,显著提高大多数GISTs患者的生存率<sup>[8]</sup>。然而,多数从伊马替尼初始临床获益的患者通常在20~24个月内出现进展<sup>[9]</sup>。目前,研究者认为复发耐药主要是由于具有不同KIT基因二次突变的耐药亚群的多克隆出现,这些突变不是随机的,而是聚集在KIT激酶结构域的2个区域:ATP结合口袋(编码于13和14号外显子)和激活环(编码于17和18号外显子)<sup>[10]</sup>。

本病例原发病灶和两处复发病灶均发现KIT基因11号外显子缺失突变,推测三处病灶是具有共同起源的非原发病灶。然而,两处复发病灶中继发突变的位点和丰度的不同,表明两处复发病灶具有异源克隆性。两处复发病灶突变丰度上,继发突变(V654A和Y823D)均大于原发突变(11号外显子缺失突变),在复发病灶中继发突变是影响克隆进化的主要事件。

研究<sup>[11]</sup>表明:二次突变与原发突变的基因类型密切相关,存在二次突变的GISTs中,以KIT基因11号外显子原发突变较多,其中大部分会发生KIT基因17/18号外显子或KIT基因13/14号外

显子二次突变,KIT基因9号外显子突变较为少见,而在野生型GISTs中尚未发现继发的KIT和PDGFRA基因突变<sup>[12]</sup>。KIT基因13和17号外显子突变是原发突变中的罕见突变,但在使用伊马替尼后的继发获得性耐药突变中较为常见<sup>[13]</sup>。本病例的早期脾区复发病灶中,继发KIT基因13号外显子点突变,位于ATP结合口袋内,直接参与伊马替尼结合,缬氨酸取代了较小的丙氨酸导致结合位点的“空白”,因此药物集合效率较低<sup>[14]</sup>。编码激酶ATP结合区的13或14号外显子突变对舒尼替尼敏感<sup>[15]</sup>。与其他继发突变(17号外显子)的患者比较,13和14号外显子继发突变的患者的中位无进展生存期(progression free survival, PFS)显著增加<sup>[15]</sup>。这可能是本病例脾区复发病灶对舒尼替尼应答较好的原因。本病例的晚期盆腔复发病灶中,继发KIT基因17号外显子点突变是位于KIT激酶结构域激活环内。17号外显子的原发性突变很罕见,约占新诊断的GISTs的1%,通常涉及密码子816、820或823<sup>[16]</sup>。与胃或胃肠道其他部位的肿瘤相比,17号外显子突变在小肠肿瘤中更为常见<sup>[17]</sup>。此突变通过释放激活环,使受体处于活化状态,而伊马替尼只能与非活化的激酶区结合而产生耐药,如KIT基因17号外显子的Y823D和D816H/V突变<sup>[18]</sup>。同时,编码活化环的17或18号外显子突变对舒尼替尼也产生耐药<sup>[19]</sup>,导致盆腔病灶在伊马替尼增量( $600 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ )和舒尼替尼作用下未得到缓解。

近年来,二代测序技术在检测GISTs原发耐药或继发耐药中起到重要作用,可以检测KIT和PDGFRA基因的全部外显子及其他致病基因,避免“假野生型”GISTs的出现。DU等<sup>[20]</sup>发现除了继发性KIT及PDGFRA基因突变外,视网膜母细胞瘤基因1(retinoblastoma 1, RB1)、整合酶相互作用分子1(integrase interactor 1, INI-1/SMARCB1)和MYC相关因子X基因(MYC associated factor X, MAX)等其他遗传事件是GISTs演变为耐药疾病最常见的遗传事件。本病例中二代测序技术检测结果显示:原发病灶与两处复发病灶均检测到CDKN2A拷贝数降低。CDKN2A抑癌基因的沉默与几种不同类型的癌症存在因果关系<sup>[21]</sup>。CDKN2A的一些遗传和表观遗传异常导致肿瘤的发生及转移增强,并伴有癌症复发和预后不良<sup>[22]</sup>,这可能是促进GISTs进展的一个正向因素。

同时,复发病灶中KIT基因的拷贝数是正常的,且在原发病灶中检测到一些肿瘤相关基因较低丰度的突变,在复发病灶中未检测到,其原因可能是肿瘤进化过程中,机体本身也进行基因修复调节。原发病灶与复发病灶肿瘤细胞在生长进程中可伴随多种分子异常事件,对于复发肿瘤中的多重基因变异有待于后续进一步研究。

综上所述,间质瘤在靶向药物选择作用的压力下,肿瘤生物学行为表现出复杂性,即时间异质性、空间异质性和分子异质性。本病例的复发多病灶分别出现二代靶向药物敏感及耐药突变是比较少见的,不同复发病灶可发生不同耐药机制,这些发现是制订GISTs后续精准化治疗策略的重要依据。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

王玥负责论文的整体设计、采集数据和撰写,吴迪负责文章的审阅及指导,于丹丹负责数据分析和解释,段秀梅负责对文章审阅及修改。

#### [参考文献]

- [1] BLAY J Y, KANG Y K, NISHIDA T, et al. Gastrointestinal stromal tumours [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021,7(1):22.
- [2] BANNON A E, KLUG L R, CORLESS C L, et al. Using molecular diagnostic testing to personalize the treatment of patients with gastrointestinal stromal tumors[J].*Expert Rev Mol Diagn*,2017,17(5):445-457.
- [3] VON MEHREN M, KANE J M, RIEDEL R F, et al. NCCN Guidelines® insights: gastrointestinal stromal tumors, version 2.2022 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2022,20(11):1204-1214.
- [4] 曹 晖,汪 明.我国胃肠间质瘤临床诊疗与研究20年回眸和思考:理论、实践、探索、创新[J].*中华消化外科杂志*,2022,21(8):1014-1024.
- [5] CHOI H, CHARNSANGAVEJ C, FARIA S C, et al. Correlation of computed tomography and positron emission tomography in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor treated at a single institution with imatinib mesylate: proposal of new computed tomography response criteria [J]. *J Clin Oncol*, 2007,25(13):1753-1759.
- [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] 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.
- [8] NAITO Y, NISHIDA T, DOI T. Current status of and future prospects for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumours [J]. *Gastric Cancer*, 2023,26(3):339-351.
- [9] KELLY C M, GUTIERREZ SAINZ L, CHI P. The management of metastatic GIST: current standard and investigational therapeutics[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):2.
- [10] SERRANO C, FLETCHER J A. Overcoming heterogeneity in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor[J]. *Oncotarget*, 2019,10(59):6286-6287.
- [11] YU J C. KIT gene mutations in gastrointestinal stromal tumor[J]. *Front Biosci*, 2015,20(6):919-926.
- [12] DJEROUNI M, DUMONT S N. Wild-type gastrointestinal stromal tumors [J]. *Bull Cancer*, 2020, 107(4):499-505.
- [13] DI VITO A, RAVEGNINI G, GORINI F, et al. The multifaceted landscape behind imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a lesson from ripretinib[J]. *Pharmacol Ther*, 2023,248:108475.
- [14] YAN C, ZHAO C, YANG K, et al. Rare c-KIT c.1926delA and c.1936T>G mutations in exon 13 define imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors and melanoma patients: case reports and cell experiments[J]. *Front Mol Biosci*, 2022,9:730213.
- [15] HEINRICH M C, MAKI R G, CORLESS C L, et al. Primary and secondary kinase genotypes correlate with the biological and clinical activity of sunitinib in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor [J]. *J Clin Oncol*, 2008,26(33):5352-5359.
- [16] PATRIKIDOU A, DOMONT J, CHABAUD S, et al. Long-term outcome of molecular subgroups of GIST patients treated with standard-dose imatinib in the BFR14 trial of the French Sarcoma Group [J]. *Eur J Cancer*, 2016,52:173-180.
- [17] LASOTA J, CORLESS C L, HEINRICH M C, et al. Clinicopathologic profile of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) with primary KIT exon 13 or exon 17 mutations: a multicenter study on 54 cases [J]. *Mod Pathol*, 2008,21(4):476-484.
- [18] LIU F Y, ZOU F M, CHEN C, et al. Axitinib overcomes multiple imatinib resistant cKIT mutations including the gatekeeper mutation T670I in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Ther Adv Med*

- Oncol, 2019,11:1758835919849757.
- [19] SMITH B D, KAUFMAN M D, LU W P, et al. Ripretinib (DCC-2618) is a switch control kinase inhibitor of a broad spectrum of oncogenic and drug-resistant KIT and PDGFRA variants [J]. *Cancer Cell*, 2019,35(5):738-751.
- [20] DU J, WANG S, WANG R, et al. Identifying secondary mutations in Chinese patients with imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors (GISTs) by next generation sequencing (NGS) [J]. *Pathol Oncol Res*, 2020,26(1):91-100.
- [21] KREUGER I, SLIEKER R C, VAN GRONINGEN T, et al. Therapeutic strategies for targeting CDKN2A loss in melanoma [J]. *J Invest Dermatol*, 2023, 143 (1): 18-25.
- [22] CHAN S H, CHIANG J, NGEOW J. CDKN2A germline alterations and the relevance of genotype-phenotype associations in cancer predisposition [J]. *Hered Cancer Clin Pract*, 2021,19(1):21.