

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.014

人胃肠道和胃肠外间质瘤 microRNA 表达谱的比较

林慧, 张秀敏, 李增山 (第四军医大学基础部病理与病理生理学教研室, 陕西西安 710032)

[摘要] 目的: 比较消化道原发胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)与胃肠外间质瘤(extra-gastrointestinal stromal tumors, EGISTs) microRNA(miRNA)表达谱的差异, 分析其与肿瘤原发部位、突变类型等因素间的关系。方法: 收集西京医院病理科的8例石蜡样本(5例GISTs, 3例EGISTs), 利用安捷伦人miRNA表达谱芯片(芯片覆盖866个人miRNA)进行分析。同时通过PCR扩增后直接测序, 明确8例样本的基因突变类型。结果: 芯片数据经非监督层次聚类分析, 显示8例样本分为3簇, 具有相同突变类型的1例胃部GIST和1例EGIST构成第1簇, 2例胃部GISTs构成第2簇, 其余4例(2例小肠GISTs和2例EGISTs)构成第3簇。将5例GISTs按部位分成2组(胃部和肠道), 3例EGISTs分别加入miRNA表型相似的组, 2组比较后发现12个miRNA表达有显著差异; 预测的靶基因多数参与KIT/PDGFR α 的信号转导, 其中有5个在肠道组显著下调, 部分已有报道与肿瘤的演进相关。比较GISTs和EGISTs的表达谱, 发现仅有3个miRNA的表达差异具有统计学意义。结论: GISTs和EGISTs的miRNA表型相似, 均与肿瘤部位及突变类型关系密切, 因此miRNA表型的分析可能有助于GISTs在分子水平上的分类。

[关键词] 胃肠道间质瘤; 胃肠外间质瘤; 微小RNA; 基因突变; 石蜡组织

[中图分类号] R735; R730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2011)02-0190-06

Comparative analysis of microRNA expression profiles between human gastrointestinal stromal tumors and extra-gastrointestinal stromal tumors

LIN Hui, ZHANG Xiu-min, LI Zeng-shan (Department of Pathology and Pathophysiology, Faculty of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the microRNA expression profiles between gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and extra-gastrointestinal stromal tumors (EGISTs), and to evaluate their relationship with primary sites and mutant status of tumors. **Methods:** Formalin-fixed paraffin-embedded tissues of 5 GISTs and 3 EGISTs were evaluated for differential microRNA (miRNA) expression signatures using Agilent microarrays containing 866 human miRNAs and mutation status of these samples were analyzed by PCR amplification and direct sequencing. **Results:** Unsupervised hierarchical clustering analysis revealed that 8 samples had been divided into 3 clusters. One gastric GIST and 1 EGIST with the same mutation grouped together and the remaining 2 gastric GISTs also formed a cluster. The other 4 samples including 2 intestinal GISTs and 2 EGISTs could be divided into a third separate cluster. And then we divided 5 GISTs samples into 2 groups according to their anatomical location (stomach and intestine) and assigned 3 EGISTs samples to the group with a similar miRNA expression pattern. Twelve miRNAs, most of which were predicted to participate in the regulation of KIT/PDGFR α signaling, were found to be differentially expressed between the two groups; among them, 5 miRNAs known to be involved in tumor progression were found down-regulated in intestinal group. In addition, only 3 miRNAs were found differentially expressed between GISTs and EGISTs. **Conclusion:** GISTs and EGISTs have similar miRNA expression patterns related with sites and mutation status; miRNA expression patterns may help to differentiate GISTs at the molecular level.

[Key words] gastrointestinal stromal tumor; extra-gastrointestinal stromal tumor; microRNA; gene mutation; formalin-fixed paraffin-embedded tissue

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(2): 190-195]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30901735); 西安市科技计划项目[No. SF1028(4)]。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30901735), and the Science and Technology Project of Xi'an [No. SF1028(4)]

[作者简介] 林慧(1983-), 男, 福建省福清市人, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫与生物治疗方面的研究。E-mail: lencholin@163.com

[通信作者] 李增山(LI Zeng-shan, corresponding author), E-mail: lizsh72@fmmu.edu.cn

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是最常见的胃肠道间叶组织肿瘤,可发生于消化道的各个部位,以胃部和小肠多发(胃部约占60%、小肠约占35%)^[1];也有少数病例可发生在消化道外,如腹膜后腔、大网膜和肠系膜等,被称为胃肠外间质瘤(extra-gastrointestinal stromal tumors, EGISTs)。两者具有相似的病理、免疫表型和分子遗传学特征,都表达CD117和CD34,但对于两者是否共同起源于Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)或与ICC和胃肠平滑肌细胞同源的前体细胞,目前仍有争议^[2]。

已有研究^[3-5]表明,不同原发部位及突变类型的GISTs在形态学和临床表现上存有差异,胃部和PDGFRA突变的GISTs以上皮细胞型多见,生物学行为较好,预后一般优于肠道和KIT突变的病例。分子水平的改变被认为是GISTs的特征,但染色体拷贝数变化、基因功能获得性突变、mRNA与蛋白表达水平的差异均难以有效解释GISTs独特的生物学行为,并对其进行分类。近来有研究^[6-7]通过microRNA(miRNA)表达谱芯片发现,GISTs的miRNA表达类型与染色体14q丢失、肿瘤原发部位、危险度及突变类型密切相关,可以在分子水平上用来区分

GISTs的亚类。但这些研究均未包含EGISTs病例,两者是否存在相同的表达趋势,仍为未知之数。

miRNA是一类长度约为21~25 nt的非编码小RNA,通过与靶mRNA的特定序列互补或不完全互补结合,诱导靶mRNA降解或者阻止其翻译。Zhang等^[8]使用Agilent miRNA芯片对快速冰冻的样本以及相应的甲醛液固定石蜡包埋(formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE)样本进行研究,证明FFPE组织来源的miRNA也适用于表达谱芯片。鉴于EGISTs病例比较少见,而病理石蜡标本是研究材料的最大储存库,因此本研究决定采用FFPE标本分析GISTs与EGISTs的miRNA表型,探讨两者之间的异同。

1 材料与方法

1.1 样本收集

从西京医院病理科挑选2007年至2009年GIST患者的石蜡包埋组织标本8例,其中GIST 5例、EGIST 3例,所有标本经病理确诊。样本的临床资料从病历档案中获取,患者年龄35~75岁,中位年龄53岁,临床病理学指标见表1。

表1 8例GIST患者的临床病理特征

Tab.1 Clinicopathologic data of 8 GIST patients

Case	Sex/Age	Site	Size (L/cm)	Mitotic count (/50 HPFs)	Risk	Immunohistochemistry		Mutation status
						CD117	CD34	
1	F/46	Stomach	<5	<5	Low	+	+	KIT V559D
2	M/51	Stomach	5	<5	Low	+	+	KIT W557G
3	M/75	Stomach	13	>10	High	+	+	KIT P551_V555delinsI
4	F/54	Small bowel	3	<5	Low	+	+	KIT V569_L576del
5	F/62	Small bowel	11	>5	High	+	-	KIT D572_P573dup
6	M/35	Retroperitoneum	>5	>5	High	+	-	KIT W557G
7	M/56	Retroperitoneum	>5	>5	High	+	-	KIT W557_K558del
8	F/48	Pelvic cavity	<5	<5	Low	+	+	KIT W557_V559delinsC

F: Female; M: Male

1.2 KIT与PDGFRA突变检测

按照Omega FFPE DNA Kit(D3399-01)说明书从8个石蜡标本中提取基因组DNA,PCR扩增KIT基因的外显子9、11、13和17以及PDGFRA基因的外显子12、14、18。引物序列见表2。PCR循环条

件:95℃预变性2 min;95℃变性30 s,退火40 s,72℃延伸30 s,35次循环;最后72℃延伸5 min。目的基因片段纯化后送北京六合华大基因科技股份有限公司直接测序。

表 2 PCR 引物序列和退火温度
Tab.2 Primer sequence and corresponding annealing temperature of PCR

Exon	Forward primer	Reverse primer	Annealing temperature ($t/^{\circ}\text{C}$)
KIT 9	TCCTAGAGTAAGCCAGGGCTT	TGGTAGACAGACCTAAACATCC	56
KIT 11	CTGAGACAATAATTATTAAGGTGA	TTATGTGTACCCAAAAAGGTGACA	60
KIT 13	GCTTGACATCAGTTTGCCAG	AAAGGCAGCTTGACACGGCTTGA	56
KIT 17	TACAAGTAAAAATGAATTTAAATGGT	AAGTTGAAACTAAAAATCCTTTGC	55
PDGFRA 12	TCCAGTCACTGTGCTGCTTC	GCAAGGGAAAAGGGAGTCTT	55
PDGFRA 14	GTAGCTCAGCTGGACTGATA	AATCCTCACTCCAGGTCACT	55
PDGFRA 18	ACCATGGATCAGCCAGTCTT	TGAAGGAGGATGAGCCTGACC	56

1.3 miRNA 芯片检测样品 miRNA 表达谱

每个石蜡标本分别切取 4 片(20 μm /片),按 miRNeasy FFPE Kit(Qiagen)操作说明提取总 RNA。无需分离 miRNA,直接使用 Agilent's miRNA Complete Labeling and Hyb Kit(p/n 5190-0456)对 100 ng 的总 RNA 进行标记,随后进行芯片杂交(安捷伦人 miRNA 寡核苷酸基因芯片,数据来源于 Sanger miRBase V12.0 版本),扫描和数据提取。以上实验由上海伯豪生物技术有限公司完成。

1.4 数据分析和统计学处理

全部芯片数据经标准化之后,上传生物芯片分析系统(<http://sas.ebioservice.com/>)。以所有样本中 miRNA 表达水平标准差 0.2 为过滤标准,运用非监督层次聚类分析将 8 例样本按差异较大的 miRNA 聚类,计算其相关性。

根据原发部位、危险度等将病例分组,使用 diff-gene(组合 t 检验和 SAM 的结果)筛选差异表达的 miRNA,并进行靶基因预测分析。

2 结果

2.1 8 例 GIST 样本的 KIT 与 PDGFRA 突变的检测结果

测序结果经比对(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>),发现 8 例样本全部在 KIT 外显子 11 发生杂合性突变,4 例为插入或缺失(样本 3、4、7、8),3 例为点突变(样本 1、2、6),1 例重复突变(样本 5),其中样本 2 和 6 突变类型相同,均为 W557G(表 1)。

2.2 8 例 GIST 样本的非监督层次聚类分析

按先前设定的标准过滤获得 375 个 miRNA,以此进行非监督层次聚类分析。结果显示,8 例样本

按其表达谱分成 2 簇,第 2 簇又可分为 2 亚簇(簇 B、C,图 1)。簇 A 的 2 例样本突变类型正好相同,1 例发生在腹膜后(样本 6),1 例原发于胃(样本 2);簇 B 的 2 例样本都来源于胃(样本 1 和 3);而簇 C 的 4 例样本原发部位在小肠(样本 4 和 5)与胃肠外(样本 7 和 8)。3 个簇的样本均包含有高危度和低危险度病例。

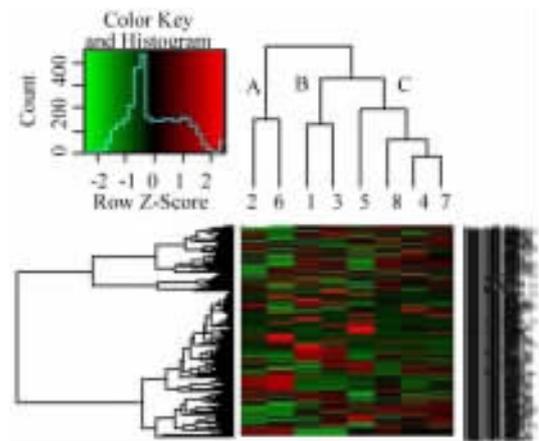


图 1 8 例 GIST 样本的非监督层次聚类分析
Fig.1 Unsupervised hierarchical clustering analysis of 8 GIST samples

2.3 肠道表型组与胃部表型组差异表达 miRNA

聚类分析结果显示,胃与小肠的病例均被分在不同簇中,因此我们设想 EGISTs 的 miRNA 表型可能分别与特定部位的 GISTs 表型相似。因此,实验将 8 个样本分成 2 组(簇 A 和 B 为胃部表型组,簇 C 单独成肠道表型组),应用 diff-gene 筛选差异 miRNA,并去除在所有样本中信号与背景差异不显

著的 miRNA, 结果发现 12 个 miRNA 表达水平的差异具有统计学意义($P < 0.05$, 差异倍数 < 0.5 或 > 2) (表 3)。肠道表型组与胃部表型组相比, 有 7 个 miRNA 上调(miR-383、miR-1275、miR-193b、miR-

139-3p、miR-663、miR-886-3p、miR-664*), 有 5 个发生下调(miR-30e*、miR-186、miR-10a、miR-199b-5p、miR-218)。

表 3 胃部与肠道表型间组 GIST 差异表达 miRNAs

Tab. 3 Differentially expressed miRNAs between 4 high-risk and 4 low-risk GIST samples

miRNA	Fold change ^①	P	Chromosome localization	Predicted target genes ^②	
				Targetscan	Microcosm
miR-383	7.890	0.048	8	-	CD34, MAPK1
miR-1275	3.957	0.024	6	-	-
miR-193b	3.036	0.032	16	KIT, KRAS, CCND1	E2F1
miR-139-3p	2.973	0.005	11	-	AKT1, PLA2G4B, TBP4, SMTN
miR-663	2.885	0.027	20	-	CDKN2A, LTB4, SMTN
miR-886-3p	2.430	0.032	5	-	CDKN2A, LTB4, SMTN
miR-664*	2.384	0.014	1	-	-
miR-30e*	0.345	0.031	1	-	NF1, CDKN2A
miR-186	0.285	0.005	1	PDGFA, MAPK1, CDK6	CD34
miR-10a	0.171	0.007	17	CDK6	-
miR-199b-5p	0.163	0.001	9	KIT, CDKN1C	-
miR-218	0.027	0.021	4,5	KIT, PDGFRA, CDK6	CCNE1, CD34, TPM1

① Group with intestinal expression pattern versus group with gastric expression pattern; ② Predicted target genes in this table are presented in NCBI gene symbol

同时, 实验发现胃部的 3 个样本存在不同的表型, 因此尽管簇 A 与 B 样本数均未达到生物学重复的要求, 我们仍尝试用单因素方差分析筛选簇 A、B 与 C 之间的差异表达, 并从中筛选出 A 与 B、B 与 C 之间差异倍数 > 2 或 < 0.5 的 miRNA, 根据筛选结果分别聚类分析。聚类分析结果发现, 3 个簇之间有 28 个 miRNA 表达存在差异, A 与 B、B 与 C 之间差异 miRNA 分别为 26 和 17 个。

随后比较了 4 例高危病例(胃部 1 例、小肠 1 例、胃肠外 1 例)与 4 例低危病例(胃部 2 例、小肠 1 例、胃肠外 2 例), 发现在高危病例中有 2 个 miRNA 上调, 同时有 2 个下调($P < 0.05$, 差异倍数 < 0.5 或 > 2) (表 4)。另外还分别比较了胃肠与胃肠外、胃与胃肠外、胃部与胃部以外 miRNA 的差异表达, 结

果发现, 3 种分组方式分别有 3、6 和 19 个 miRNA 差异有统计学意义(数据未列出)。

2.4 差异表达 miRNA 的靶基因预测

应用 Microcosm(<http://www.ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/v5/>)和 Targetscan(<http://www.targetscan.org/>)进行靶基因预测。每个 miRNA 均能预测出数以百计的靶基因。因此, 参考 Florian 等^[6]的做法将靶基因范围限定在 KIT 和 PDGFRA 信号转导通路的 10 个基因(KITLG、KIT、PDGFA、PDGFRA、NF1、AKT1、FRAP1、STAT5A、KRAS、MAPK1)、细胞 G_1/S 转换期调控的 12 个相关基因(CDKN2A、CDKN2B、CDK4、CDK6、CCND1、RB1、E2F1、TP53、CDKN1A、CDKN1B、CDKN1C、CDK2、CCNE1), 同时还加上部分胃与小肠 GISTs 表

达差异的基因(PDGFRA、PLA2G4B、TNNI2、CD34、LTBP-4、TGFB3、CCND1、LMM、pTSC22、SMTN、ICE、FZD1、TPM1、ESG)^[9](表 3,4)。

表 4 4 例高危与 4 例低危 GIST 样本间差异表达 miRNAs
Tab. 4 Differentially expressed miRNAs between 4 high-risk and 4 low-risk samples

MiRNA	Fold change ^①	P	Chromosome localization	Predicted target genes ^②
miR-1305	7.558	0.026	4	KRAS
miR-494	3.231	0.020	14	CDK6
let-7a	0.493	0.041	9,11,22	CDKN1A, RB1, TP53
miR-505	0.472	0.044	X	KIT

①High-risk group versus low-risk group; ②Predicted target genes in this table are presented in NCBI gene symbol

3 讨 论

本研究首次将 FFPE 样本应用于 GISTs 和 EGISTs 的 microRNA 表达谱分析,从石蜡标本提取的总 RNA 多已降解,但 microRNA 仍保持良好,原因可能在于其片段较短,结构相对稳定,在 FFPE 制备过程中,受自溶、交联及降解影响较小^[10-12]。

目前,GSITs 被认为起源于 ICCs,因为两者存在诸多相同特征,大部分都表达 CD117,并且都位于胃肠道肌层。近来不少学者在消化道外的其他器官如胰腺、膀胱等发现 ICC 或 ICC 样细胞,这似乎可以解释 EGISTs 的起源^[13-14]。但多数报道仅从形态学上研究,因而对此仍有较多争议。

本研究对 8 例样本 microRNA 表达谱进行聚类分析,其中 1 例 EGIST 与胃部 GISTs 形成簇 A,2 例与小肠 GISTs 表达类型相似构成簇 C(图 1),GISTs 与 EGISTs 在 microRNA 表达上差异似乎并不明显。部分学者认为,真正原发于胃肠外软组织的间质瘤极其少见,目前所诊断的绝大部分 EGISTs 很可能是原发于胃肠壁,不断向外生长,最终与胃肠壁肌层完全分离形成 EGISTs^[2,15]。此观点更好解释 EGISTs 与特定部位的 GISTs 在各方面表现相近的现象。Reith 等^[16]发现二者在组织学及免疫表型类似,但在生物学行为上,EGISTs 与肠道 GISTs 更为接近,比胃部 GISTs 更具侵袭性。原因可能在于肠道 GISTs 更倾向壁外生长,因此表现与其接近的 EGISTs 病例更多。

Yamaguchi 等^[17]分析了 32 例胃部和小肠 GISTs 的基因表达谱,结果显示其表达类型与部位明显相关,这提示胃肠 ICCs 虽然是同一起源,但在分化过程中受不同部位的微环境影响,基因表达谱发生各自不同的改变。GISTs 的 mRNA 与 microRNA 表达

谱之间存在的一些差异,Choi 等^[7]认为是由胃部与小肠之间 KIT 突变类型不同所致。本研究中,簇 A 的 2 个样本具有相同的突变,特定类型的突变是否会对 microRNA 表型产生重大的影响,尚待证实。

鉴于 3 例 EGISTs 样本 microRNA 表型分别与胃及小肠病例接近,我们假设 EGISTs 与 GISTs 至少存在两种共同表型(胃部表型与肠道表型),并筛选出 12 个差异表达 microRNA。其中 10 个 microRNA 的预测靶基因参与 KIT/PDGFR 信号转导或 G₁/S 期转换调控,miR-193b、miR-199b-5p、miR-218 和 miR-186 可能直接作用于 KIT 或 PDGFRA。miR-193b、miR-199b-5p 和 miR-218 的表达水平与恶性黑色素瘤、慢性粒细胞白血病以及髓成细胞瘤等疾病相关已见报道^[18-21],而这些疾病都与 KIT 或 PDGFRA 信号转导通路有关。KIT 被证实是 miR-221 的靶基因之一,大样本研究显示其表达水平只与核分裂象数目相关,而与部位无关^[6,22]。microRNA 表达类型除与部位相关外,还受到其他因素的影响,这也可能是部分胃部样本表型接近肠道的原因。

此外,胃部表型组中 miR-193b、miR-139-3p、miR-663、miR-886-3P 的表达水平较肠道表型组低,预测的靶基因是 CCND1、PLA2G4B、TBP4、SMTN 和 LTB4。有研究显示,这 5 个基因在胃部 GISTs 中表达上调^[9],这与我们的预测结果基本相符。其中 miR-193b 已经证实能够直接调控 CCND1,作为肿瘤抑制因子参与恶性黑色素瘤、肝癌等多种肿瘤的发生、发展^[23]。

同时,我们还根据肿瘤危险度筛选出 4 个差异表达 microRNA,其中 let-7a 和 miR-505 在低危组中明显下调。对于 Let-7a,已有报道其通过下调 E2F2 和 CCND2 参与 G₁/S 期转换调控,在胃癌、前列腺癌等肿瘤中低表达,可能是胃黏膜组织癌变和胃癌淋

巴转移过程中的关键因素^[24-25]。MiR-505 的研究尚未见报道,但预测结果显示其直接作用于 KIT。microRNA 的表达差异可以解释部分高危 GISTs 快速的临床进展。

综上所述,在本研究中 EGISTs 与 GISTs 的 microRNA 表型在较为相似,因此我们更认同绝大部分 EGISTs 实质上来源于 GISTs 的观点。两者表型与部位明显相关,受突变类型、危险度等多种因素影响。本研究结果可应用于 GISTs 在分子水平上的分类。

[参 考 文 献]

- [1] Liegl-Atzwanger B, Fletcher JA, Fletcher CD. Gastrointestinal stromal tumors [J]. *Virchows Arch*, 2010, 456(2): 111-127.
- [2] Goh BK, Chow PK, Kesavan SM, et al. A single-institution experience with eight CD117-positive primary extragastrointestinal stromal tumors: Critical appraisal and a comparison with their gastrointestinal counterparts [J]. *J Gastrointest Surg*, 2009, 13(6): 1094-1098.
- [3] 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.
- [4] Rabin I, Chikman B, Lavy R, et al. Gastrointestinal stromal tumors: A 19 year experience [J]. *Isr Med Assoc J*, 2009, 11(2): 98-102.
- [5] Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: Pathology and prognosis at different sites [J]. *Semin Diagn Pathol*, 2006, 23(2): 70-83.
- [6] Haller F, von Heydebreck A, Zhang JD, et al. Localization- and mutation-dependent miRNA (miRNA) expression signatures in gastrointestinal stromal tumours (GISTs), with a cluster of co-expressed miRNAs located at 14q32.31 [J]. *J Pathol*, 2010, 220(1): 71-86.
- [7] Choi HJ, Lee H, Kim H, et al. miRNA expression profile of gastrointestinal stromal tumors is distinguished by 14q loss and anatomic site [J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(7): 1640-1650.
- [8] Zhang X, Chen J, Radcliffe T, et al. An array-based analysis of miRNA expression comparing matched frozen and formalin-fixed paraffin-embedded human tissue samples [J]. *J Mol Diagn*, 2008, 10(6): 513-519.
- [9] Antonescu CR, Viale A, Sarran L, et al. Gene expression in gastrointestinal stromal tumors is distinguished by KIT genotype and anatomic site [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(10): 3282-3290.
- [10] Liu A, Tetzlaff MT, Vanbelle P, et al. miRNA expression profiling outperforms mRNA expression profiling in formalin-fixed paraffin-embedded tissues [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2009, 2(6): 519-527.
- [11] Goswami RS, Waldron L, Machado J, et al. Optimization and analysis of a quantitative real-time PCR-based technique to determine miRNA expression in formalin-fixed paraffin-embedded samples [J]. *BMC Biotechnol*, 2010, 10: 47.
- [12] Xi Y, Nakajima G, Gavin E, et al. Systematic analysis of miRNA expression of RNA extracted from fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples [J]. *RNA*, 2007, 13(10): 1668-1674.
- [13] 张红军,范娅涵. 消化道外 Cajal 细胞的研究进展 [J]. *局解手术学杂志*, 2009, 18(3): 200-201.
- [14] Popescu LM, Hinescu ME, Ionescu N, et al. Interstitial cells of Cajal in pancreas [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1): 169-190.
- [15] Agaimy A, Wünsch PH. Gastrointestinal stromal tumours: A regular origin in the muscularis propria, but an extremely diverse gross presentation. A review of 200 cases to critically re-evaluate the concept of so-called extra-gastrointestinal stromal tumours [J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2006, 391(4): 322-329.
- [16] Reith JD, Goldblum JR, Lyles RH, et al. Extragastrointestinal (soft tissue) stromal tumors: An analysis of 48 cases with emphasis on histologic predictors of outcome [J]. *Mod Pathol*, 2000, 13(5): 577-585.
- [17] Yamaguchi U, Nakayama R, Honda K, et al. Distinct gene expression-defined classes of gastrointestinal stromal tumor [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(25): 4100-4108.
- [18] Liu W, Gong YH, Chao TF, et al. Identification of differentially expressed miRNAs by microarray: A possible role for miRNAs gene in medulloblastomas [J]. *Chin Med J (Engl)*. 2009, 122(20): 2405-2411.
- [19] Flamant S, Ritchie W, Guilhot J, et al. MicroRNA response to imatinib mesylate in patients with chronic myeloid leukemia [J]. *Haematologica*, 2010, 95(8): 1325-1333.
- [20] Chen J, Feilolter HE, Paré GC, et al. miRNA-193b represses cell proliferation and regulates cyclin D1 in melanoma [J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(5): 2520-2529.
- [21] Garzia L, Andolfo I, Cusanelli E, et al. MiRNA-199b-5p impairs cancer stem cells through negative regulation of HES1 in medulloblastoma [J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4998.
- [22] Igoucheva O, Alexeev V. miRNA-dependent regulation of cKit in cutaneous melanoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(3): 790-794.
- [23] Xu C, Liu S, Fu H, et al. miRNA-193b regulates proliferation, migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(15): 2828-2836.
- [24] Dong Q, Meng P, Wang T, et al. miRNA let-7a inhibits proliferation of human prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo* by targeting E2F2 and CCND2 [J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10147.
- [25] Zhu YM, Zhong ZX, Liu ZM. Relationship between let-7a and gastric mucosa cancerization and its significance [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(26): 3325-3329.

[收稿日期] 2010 - 12 - 25

[修回日期] 2011 - 03 - 21

[本文编辑] 王莹