

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.011

· 临床研究 ·

miR-17-5p 在胃肠道间质瘤组织中的表达及其对 GIST882 细胞增殖与凋亡的影响

徐君毅^a, 张雪梅^b, 宋学民^a, 汤阳阳^a(广西医科大学第四附属医院 a. 胃肠外科; b. 病理科, 广西 柳州 545000)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-17-5p 在胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 组织中的表达及其对 GIST882 细胞增殖与凋亡的影响。**方法:** 选取 2019 年 5 月至 2020 年 5 月广西医科大学第四附属医院胃肠外科手术切除的 20 例 GIST 患者的瘤组织及相应的瘤旁组织标本, 以及 GIST882 细胞和人正常肠道上皮细胞 HIEC 为研究对象。荧光 PCR-毛细管电泳测序法检测 GIST 标本中 KIT 基因突变情况。分别将 miR-17-5p mimic 和 pc-KIT 转染至 GIST882 细胞中。双荧光素酶报告基因实验验证 miR-17-5p 与 KIT 的靶向关系。qPCR 和 WB 法检测 GIST 组织和细胞中 miR-17-5p、KIT mRNA 及蛋白的表达, CCK-8 法、流式细胞术检测 GIST882 细胞的增殖、凋亡及细胞周期进程。**结果:** 20 例 GIST 组织中有 15 例患者发生 KIT 基因突变。与瘤旁组织比较, GIST 组织中 miR-17-5p 表达水平显著降低、KIT mRNA 表达水平显著升高 (均 $P < 0.01$); 与 HIEC 细胞比较, GIST882 细胞中 miR-17-5p 表达显著降低, KIT mRNA 和蛋白表达显著升高 (均 $P < 0.01$)。过表达 miR-17-5p 可显著降低 GIST882 细胞的增殖能力 ($P < 0.01$)、提高细胞凋亡率 ($P < 0.05$)、sub-G1 期和 S 期细胞比例显著增加 (均 $P < 0.05$)、而 G0/G1 期的细胞比例显著减少 ($P < 0.05$), 同时 KIT 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因实验证实 KIT 是 miR-17-5p 的下游靶基因。同时过表达 miR-17-5p 和 KIT 对 GIST882 细胞的增殖、细胞周期进程和凋亡水平未产生明显影响。**结论:** 过表达 miR-17-5p 可显著抑制 GIST882 细胞的增殖并诱导细胞凋亡, 同时下调 KIT 蛋白的表达, miR-17-5p 可能是治疗 GIST 的潜在靶标。

[关键词] 胃肠道间质瘤; GIST882 细胞; miR-17-5p; KIT; 增殖; 细胞周期; 凋亡

[中图分类号] R735.2; R735.3; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)07-0721-07

Expression of miR-17-5p in gastrointestinal stromal tumor tissues and its effect on proliferation and apoptosis of GIST882 cells

XU Junyi^a, ZHANG Xuemei^b, SONG Xuemin^a, TANG Yangyang^a (a. Department of Gastrointestinal Surgery; b. Department of Pathology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545000, Guangxi, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression of miR-17-5p in gastrointestinal stromal tumor (GIST) tissues and its effect on proliferation and apoptosis of GIST882 cells. **Methods:** Twenty pairs of GIST tissues and corresponding paratumoral tissues from patients who underwent gastrointestinal surgery in the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University from May 2019 to May 2020 were selected for this study; at the same time, GIST882 cells and human intestinal epithelial cells (HIECs) were also collected for this study. The KIT gene mutations in GIST tissue samples were detected by fluorescence PCR-capillary electrophoresis sequencing. The miR-17-5p mimics and pc-KIT plasmids were transfected into GIST882 cells, respectively. The targeting relationship between miR-17-5p and KIT was verified by Dual-luciferase reporter gene assay. The mRNA and protein expressions of miR-17-5p and KIT in GIST tissues and GIST882 cells were detected by qPCR and WB, respectively; and the proliferation, apoptosis and cell cycle progression of the cells were detected by CCK-8 and Flow cytometry. **Results:** KIT gene mutations occurred in 15 GIST patients (15/20). Compared with paratumoral tissues, miR-17-5p expression was significantly decreased while KIT mRNA expression was significantly increased in GIST tissues (all $P < 0.01$); compared with HIEC cells, miR-17-5p expression was significantly decreased while mRNA and protein expressions of KIT were significantly increased in GIST882 cells (all $P < 0.01$). Overexpression of miR-17-5p significantly decreased the proliferation ability and increased the apoptosis rate of GIST882 cells ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), increased the proportion of cells in sub-G1 and S phases ($P < 0.05$) but reduced the proportion of cells in G0/G1 phase ($P < 0.05$), and decreased the

[基金项目] 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题资助项目 (No. Z2016176, No. Z20190443)。Project supported by the Research Program of Health Commission of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No. Z2016176, No. Z20190443)

[作者简介] 徐君毅 (1977—), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究

[通信作者] 徐君毅 (XU Junyi, corresponding author), E-mail: twt2321@163.com

expression level of KIT protein ($P < 0.01$). Dual-luciferase reporter gene assay confirmed that KIT is a downstream target gene of miR-17-5p. Simultaneous overexpression of miR-17-5p and KIT did not produce significant effects on the proliferation, cell cycle progression and apoptotic levels of GIST882 cells. **Conclusion:** Overexpression of miR-17-5p can significantly inhibit the proliferation and induce apoptosis of GIST882 cells and downregulate the expression of KIT protein. miR-17-5p may be a potential target in the treatment of GIST.

[Key words] gastrointestinal stromal tumor (GIST); GIST882 cell; miR-17-5p; KIT; proliferation; cell cycle; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(7): 721-727. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.011]

胃肠道间质瘤 (gastrointestinal stromal tumor, GIST) 是胃肠道中常见的间叶源性肿瘤^[1]。GIST 起源于胃肠道肌间神经丛周围的间质细胞或其前体干细胞^[2]。与胃肠道平滑肌瘤类似的是, GIST 组织和细胞中酪氨酸激酶受体 v-kit Hardy-Zuckerman 4 猫科肉瘤病毒致癌基因同源物 (V-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog, KIT) 的表达呈阳性^[3]。KIT 在 GIST 细胞的表达, 对细胞的增殖、分化等生物学行为均很重要^[4]。研究^[5-6]表明, miRNA 在包括恶性肿瘤在内的多种疾病中异常表达, 参与许多重要的细胞过程, 如增殖、分化、凋亡及维持细胞干性。miR-494 以及 miR-221/222 在 GIST 细胞中表达下调与细胞中 KIT 蛋白表达相关^[7-8]。miR-17-5p 是功能强大的癌基因之一, 属于 miR-17-92 家族成员之一^[9]。生物信息学预测结果显示, miR-17-5p 与 KIT mRNA 的 3'-UTR 中存在部分互补位点。本研究通过在 GIST882 细胞中过表达 miR-17-5p, 探讨 miR-17-5p 对 GIST882 细胞的作用及其对 KIT 蛋白表达的影响, 同时通过双荧光素酶报告基因实验验证 miR-17-5p 与 KIT 的靶向关系, 旨在明确 miR-17-5p 在 GIST 中的作用及其可能的机制。

1 资料与方法

1.1 细胞系、组织标本及主要试剂

人 GIST 细胞 GIST882 和人正常肠道上皮细胞 HIEC 购于上海沪震实业有限公司。

收集 2019 年 5 月至 2020 年 5 月在广西医科大学第四附属医院胃肠外科手术切除的 20 例原发性 GIST 患者的瘤组织及对应的瘤旁组织标本, 根据《中国胃肠间质瘤诊断治疗共识(2017 年版)》对肿瘤的复发风险进行定义, 并用荧光 PCR-毛细管电泳测序法检测 GIST 组织中 KIT 基因突变情况。术前均对患者告知并签署知情同意书, 研究方案获得医院伦理委员会的批准。

胎牛血清、青霉素、链霉素、胰蛋白酶、DMEM 培养基均购于上海颖心实验室设备有限公司, Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒、TRIzol 试剂盒、SYBE Green Mix 试剂盒均购于上海纪宁实业有限公司, CCK-8 试剂盒、Annexin V-FITC/PI 试剂盒、PI 细

胞周期流式检测试剂盒均购于上海贝博生物有限公司, RIPA 裂解液、BCA 试剂盒、ECL 化学发光液均购于北京索莱宝科技有限公司, 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购于北京百奥莱博科技有限公司, 兔抗人 KIT 单克隆抗体和 HRP 标记的 IgG 抗体购于美国 Abcam 公司。

1.2 细胞培养、转染及分组

将 GIST882 和 HIEC 细胞以 1×10^6 /孔的密度分别接种于 6 孔板, 在含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 0.1 g/ml 链霉素的 DMEM 培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h。

取对数生长期 GIST882 细胞, 经 0.25% 胰酶消化后调整密度为 1×10^5 个/ml, 接种于 6 孔板, 在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h, 按照 Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒说明书的方法将 miR-17-5p mimic 和 pc-KIT 质粒转染至 GIST882 细胞内, 转染 48 h 时采用 qPCR 实验检测转染效率。

将转染 mimic 阴性对照至 GIST882 细胞作为阴性对照组 (miR-NC 组), 转染 miR-17-5p mimic 质粒的 GIST882 细胞作为 miR-17-5p 过表达组 (miR-17-5p mimic 组), 同时转染 miR-17-5p mimic 和 pc-KIT 质粒的 GIST882 细胞作为同时过表达组 (miR-17-5p mimic+pc-KIT 组)。

1.3 qPCR 法检测 GIST 组织及 GIST882 细胞中 miR-17-5p 和 KIT mRNA 的表达水平

用 TRIzol 试剂盒提取 GIST 组织和各组转染细胞中总 RNA, 并进行 cDNA 合成, 使用 SYBE Green 试剂盒以 U6 或 GAPDH 为内参, 对 miR-17-5p 和 KIT mRNA 的表达水平进行检测。miR-17-5p 引物序列: 上游为 5'-ACACTCCAGCTGGGCAAAGTGCTTACAGTGC-3', 下游为 5'-TGGTGTCGTGGAGTCG-3'; U6 引物序列: 上游为 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3', 下游为 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'; KIT 引物序列: 上游为 5'-CCAATTATTCCCTCATCGA-3', 下游为 5'-GGGTTCATCTTTAGCCAC-3'; GAPDH 引物序列: 上游为 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3', 下游为 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。反应体系 (20 μl): 2 μl 逆转录产物、10 μl SYBR Green Mix、各 0.5 μl 上下游引物 (10 μmol/L) 及 7 μl dH₂O。反应

条件:预变性 95 °C 5 min;94 °C变性 30 s,60 °C退火 30 s,共 45 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.4 CCK-8 法检测 GIST882 细胞的增殖能力

实验前 24 h 以 5×10^3 个/孔的密度将各组细胞接种于 96 孔板,在 37 °C、5% CO_2 条件下分别培养 24、48、72 和 96 h。在各个时间节点向各孔内加入 10 μl CCK-8 溶液,于 37 °C 下继续孵育 2 h 后,使用酶标仪检测波长在 450 nm 处的光密度(D)值,并绘制细胞增殖曲线。

1.5 流式细胞术检测 GIST882 细胞的凋亡水平

收集对数期生长 GIST882 细胞,用预冷的 PBS 对细胞进行重悬,以 $2\ 000 \times g$ 离心 10 min,洗涤细胞 3 次。随后加入 300 μl 的 $1 \times$ 结合缓冲液悬浮细胞,加入 500 μl 预冷的 PBS 和 5 μl Annexin V-FITC,室温避光孵育 15 min,上机前再加入 2.5 μl PI 染色 5 min,最后加入 200 μl $1 \times$ 结合缓冲液后上流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。

1.6 流式细胞术检测 GIST882 细胞的细胞周期

取各组对数生长期细胞经胰酶消化后以 PBS 冲洗 3 次, $1\ 000 \times g$ 离心 5 min 并收集沉淀。使用预冷的 PBS 缓冲液冲洗沉淀 3 次后,以预冷的 PBS 重悬细胞,使细胞充分分离。再加入 1.2 ml 预冷的 70% 无水乙醇、充分吹打避免细胞聚团,4 °C 孵育过夜。 $1\ 000 \times g$ 离心后收集细胞,以 PBS 冲洗沉淀 3 次后再次离心 5 min。向沉淀中加入 100 μl IRNaseA 后 37 °C 水浴 10 min,随后加入 400 μl PI,4 °C 避光染色 30 min。最后,上流式细胞仪进行检测,应用 FlowJo 软件进行统计分析。

1.7 WB 法检测 GIST882 细胞中 KIT 蛋白的表达水平

取各组处于对数生长期 GIST882 细胞,使用 RIPA 裂解液提取细胞中的总蛋白,使用 BCA 试剂盒测定提取蛋白的浓度和纯度。分离蛋白后进行 SDS-PAGE、转膜后,5% 脱脂奶粉中封闭 1 h,再加入兔抗人 KIT 单克隆抗体(1:1 000)在 4 °C 条件下孵育过夜。去除抗体后,使用 TBST 冲洗 3 次,随后加入 HRP 标记的 IgG 抗体(1:5 000)在室温下封闭 1 h。TBST 洗膜 3 次后,加入 ECL 化学发光液显影,在凝胶成像系统中拍照,使用 ImageJ 软件分析目的蛋白条带的灰度值。

1.8 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-17-5p 和 KIT mRNA 的靶向关系

利用生物信息学预测网站 ENCORI 预测 miR-17-5p 与 KIT mRNA 的 3'-UTR 中存在的互补位点。将 miR-17-5p 和 KIT mRNA 的 3'-UTR 靶序列插入到萤火虫荧光素酶基因下游。将表达载体与验证载体分

别共转染到 GIST882 细胞,在 37 °C、5% CO_2 培养箱培养 8 h 后,更换含 0.5 ml 10% 胎牛血清、不含抗生素的 DMEM 培养基,置于 37 °C、5% CO_2 培养箱中继续培养 48 h 后收集细胞。按照双荧光素酶报告基因试剂盒说明书的方法检测转染细胞的荧光素酶活性。

1.9 统计学处理

qPCR 法、CCK-8 法、流式细胞术和 WB 法等实验均重复 3 次。采用 SPSS 18.0 软件对实验数据进行统计分析,用 GraphPad Prism 8.2.1 进行实验相关图片的绘制。呈正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 GIST 患者的 KIT 基因突变率达 75.0%

20 例 GIST 患者中,男性 13 例、女性 7 例;年龄 41~80 岁,中位年龄(59.2 \pm 9.3)岁。有 15 例患者 KIT 基因发生突变(75.0%),其中外显子 11 突变 13 例,外显子 9、17 突变各 1 例。肿瘤位置:胃 14 例,小肠 3 例,十二指肠、食管、结肠各 1 例。复发风险:高、中、低分别有 6、8、6 例。

2.2 miR-17-5p 在 GIST 组织和 GIST882 细胞中均低表达

qPCR 法检测结果显示,GIST 组织中 miR-17-5p 的表达水平显著低于瘤旁组织($t=4.787, P < 0.01$;图 1A);GIST882 细胞中 miR-17-5p 的表达水平显著低于 HIEC 细胞($t=4.064, P < 0.01$;图 1B)。结果表明,miR-17-5p 在 GIST 组织和 GIST882 细胞中均低表达。

2.3 KIT mRNA 在 GIST 组织和 GIST882 细胞中均高表达

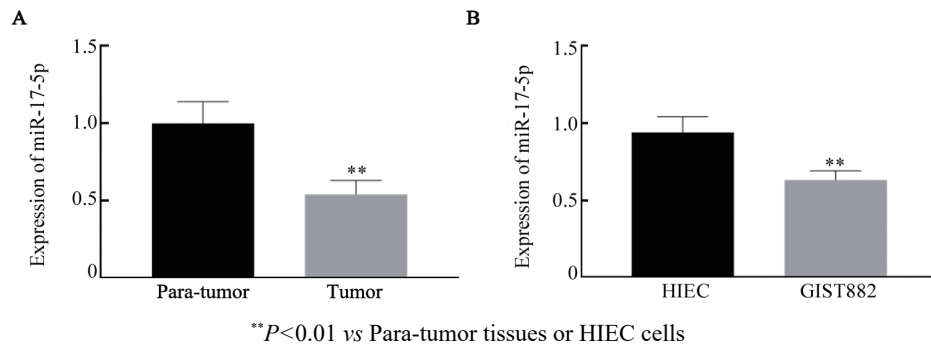
qPCR 及 WB 法检测结果显示,GIST 组织和 GIST882 细胞中 KIT mRNA 表达水平显著高于瘤旁组织和 HIEC 细胞($t=5.439、6.381$,均 $P < 0.01$;图 2A)。转染 miR-17-5p mimic 后,与 miR-NC 组比较,转染组 GIST882 细胞中 miR-17-5p 的表达水平显著升高($t=23.221, P < 0.01$;图 2B);过表达 miR-17-5p 可显著降低 GIST882 细胞中 KIT 蛋白的表达水平($t=7.444, P < 0.01$;图 2C)。结果表明,KIT mRNA 在 GIST 组织和 GIST882 细胞中的表达水平升高,过表达 miR-17-5p 可降低 GIST882 细胞中 KIT 蛋白的表达水平。

2.4 过表达 miR-17-5p 可显著抑制 GIST882 细胞增殖能力并促进细胞凋亡

转染 miR-17-5p mimic 48 h 后,GIST882 细胞的增殖能力显著降低($t=5.125、7.092、12.008$,均 $P < 0.01$;图 3A);sub-G1 期和 S 期细胞的比例显著增加($t=3.291、4.603$,均 $P < 0.05$)、G0/G1 期的细胞比例显

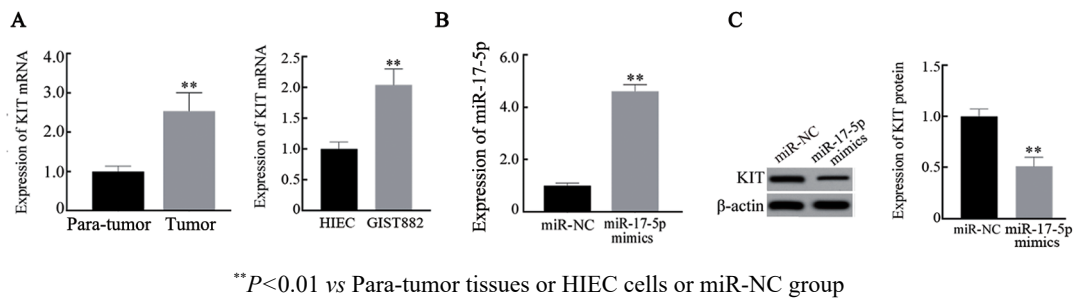
著减少($t=3.705, P<0.05$)、G2/M期的细胞比例略微降低(图3B);细胞凋亡率显著上升($t=3.357, P<0.05$;

图3C)。结果表明,过表达 miR-17-5p 可显著降低 GIST882 细胞的增殖能力并促进细胞凋亡。



** $P<0.01$ vs Para-tumor tissues or HIEC cells

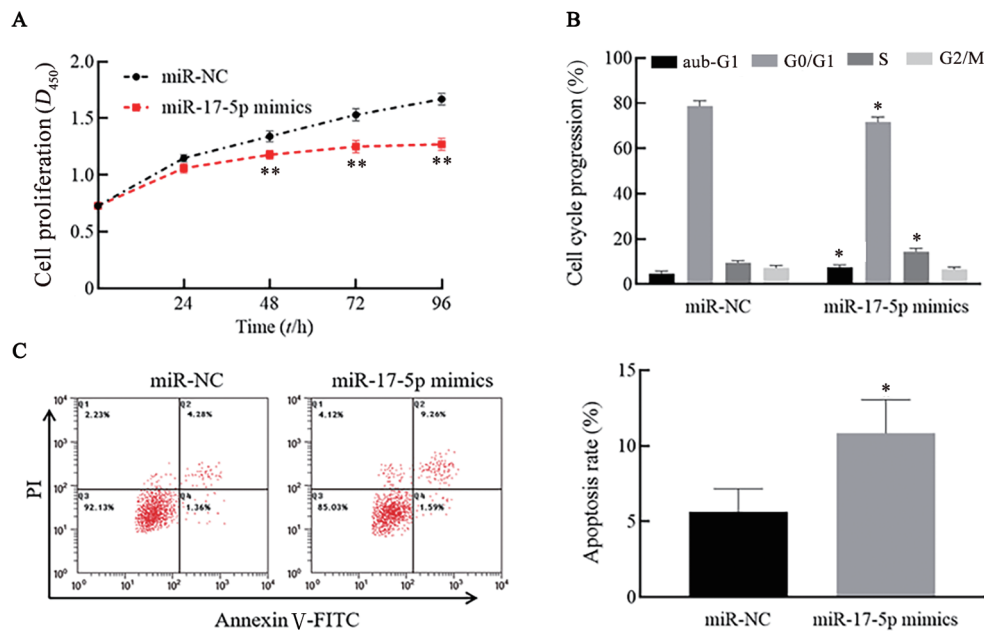
图1 miR-17-5p在GIST组织(A)和细胞(B)中的表达
Fig.1 Expression of miR-17-5p in GIST tissues (A) and cells (B)



** $P<0.01$ vs Para-tumor tissues or HIEC cells or miR-NC group

A and B: The expressions of KIT mRNA and miR-17-5p were detected by qPCR; C: The expression of KIT protein was detected by WB
图2 KIT mRNA和蛋白及miR-17-5p在GIST组织和GIST882细胞中的表达

Fig.2 mRNA and protein expressions of KIT and miR-17-5p expression in GIST tissues and GIST882 cells



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs miR-NC group

图3 过表达 miR-17-5p 对 GIST882 细胞增殖(A)、细胞周期(B)及凋亡(C)的影响

Fig.3 Effects of miR-17-5p overexpression on proliferation (A), cell cycle (B) and apoptosis (C) of GIST882 cells

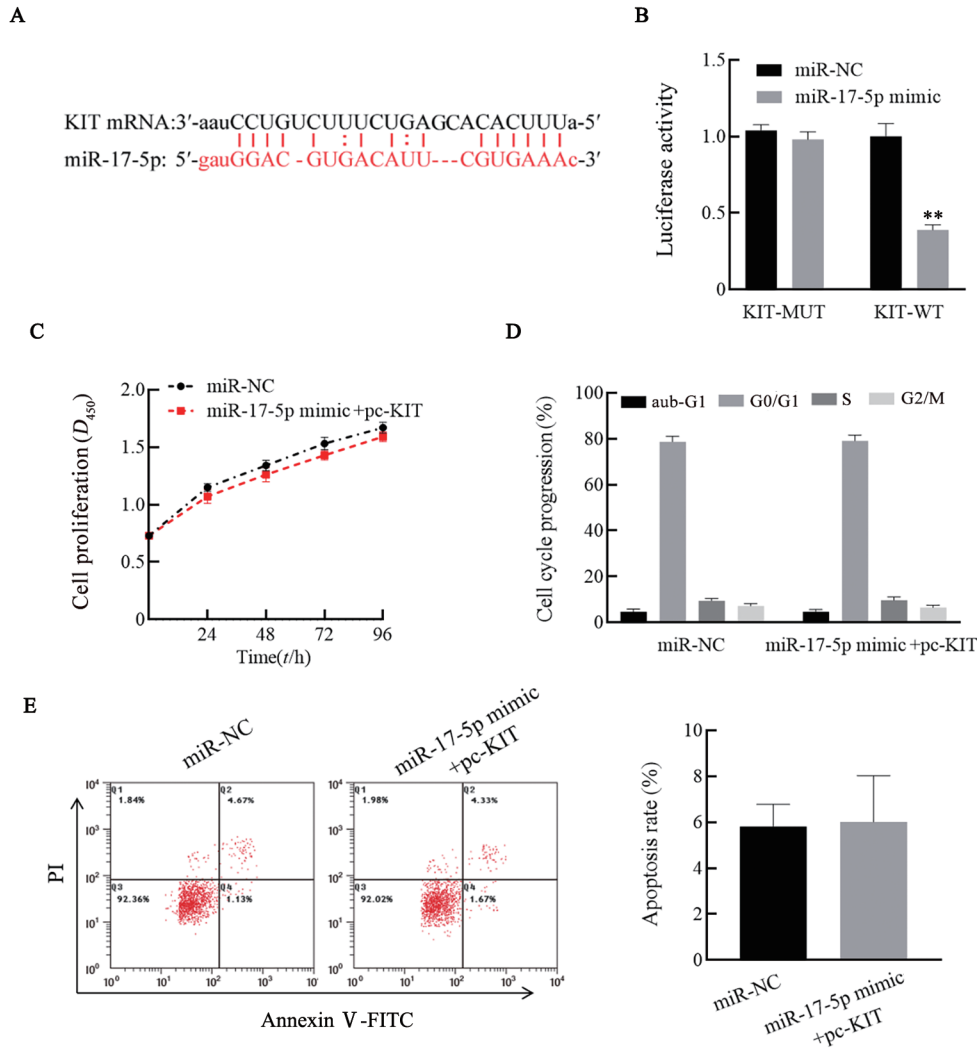
2.5 miR-17-5p 调控 KIT 表达并影响 GIST882 细胞的生物学行为

通过生物信息学 StarBase 预测可知, miR-17-5p 与 KIT mRNA 的 3'-UTR 中存在部分互补结合位点

(图4A)。GIST882细胞中过表达miR-17-5p可显著抑制野生型KIT(KIT-WT)的荧光素酶活性($t=9.455$, $P<0.01$),但对突变型KIT(KIT-MUT)的荧光素酶活性无影响($P>0.05$)。

同时转染miR-17-5p mimic和pc-KIT后,转染组

GIST882细胞的增殖、凋亡水平及细胞周期与miR-NC组比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$,图4C~4E)。结果表明,转染pc-KIT后过表达的KIT可逆转过表达miR-17-5p对GIST882细胞增殖的抑制作用和促凋亡作用。



** $P<0.01$ vs miR-NC group

A: Predicted binding sites between miR-17-5p and KIT; B: Dual-luciferase reporter gene assay was applied to detect the luciferase activity of GIST882 cells; C: CCK-8 assay was used to detect cell proliferation activity; D and E: Cell apoptosis rate and cell cycle were detected by Flow cytometry

图4 miR-17-5p通过靶向KIT调控GIST882细胞的恶性生物学行为

Fig.4 miR-17-5p regulated the malignant biological behaviors of GIST882 cells by targeting KIT

3 讨论

miRNA表达失调可能会促进肿瘤的发生和发展。miR-17-5p是miR-17-92家族重要成员之一^[9],通常miR-17-92家族基因在胃癌^[10]、结肠癌^[11]、神经母细胞瘤^[12]和B细胞淋巴瘤^[13]等恶性肿瘤中的表达水平较高,但本研究发现,GIST组织和GIST882细胞中

miR-17-5p的表达水平显著低于瘤旁组织和HIEC细胞。据报道^[14],miR-17-5p位于13号染色体的q31.3上且miR-17-5p表达缺失与13号染色体q31.3片段的丢失并无显著的相关性。miR-17-5p可通过调控信号转导与转录激活因子3的表达影响前列腺癌细胞的增殖和凋亡^[15],还可通过调控卵巢癌细胞中肉瘤病毒癌基因同源物1的表达以调控细胞周期和凋亡^[16]。

为探究 miR-17-5p 的表达缺失是否促进 GIST 的进展,本研究将 miR-17-5p mimic 转染至 GIST882 细胞中,发现过表达 miR-17-5p 后 GIST882 细胞的增殖能力受到明显抑制,在转染 24 h 后即出现明显的抑制作用;转染 48 h 后 GIST882 细胞的凋亡率显著升高,这与 GIST882 细胞凋亡率增加趋势一致;同时 sub-G1 期的细胞比例也显著增加,GIST882 细胞处于 G0/G1 期的比例显著降低,处于 S 期的比例显著增加。

由于 GIST 组织和细胞中 KIT 高表达^[17],因此靶向 KIT mRNA 为治疗 GIST 提供了机会。尽管 KIT 靶向抑制剂(伊马替尼和舒尼替尼)在临床上取得了较好的效果^[18-19],但由于酪氨酸激酶受体的继发性突变使得绝大多数的 GIST 转移患者会对此类药物产生耐药性^[20]。此外,大多数 PDGFRA-D842V 基因突变的 GIST 患者本就对伊马替尼不敏感^[21],因此仅靠 KIT 抑制剂并不能完全治愈 GIST。本研究发现,KIT mRNA 和蛋白在 GIST 组织和 GIST882 细胞中的表达水平显著上调,且过表达 miR-17-5p 可抑制 GIST882 细胞中 KIT 蛋白的表达。通过生物信息学网站 StarBase 和双荧光素酶报告基因实验证实 KIT 是 miR-17-5p 的下游靶基因。此外,在 GIST882 细胞中同时转染 miR-17-5p 和 KIT 过表达载体后,对细胞的增殖、凋亡和细胞周期并不会产生显著影响,因此可认为 miR-17-5p 是 KIT 的抑制剂。

尽管通过 miRNA 治疗肿瘤仍处于初步阶段,但 miRNA 治疗肿瘤具有极大的潜力,因此探究 miRNA 在肿瘤发生发展中的作用至关重要。另外,通过上调 miR-17-5p 在 GIST 细胞中的表达是否会改善 PDGFRA-D842V 基因突变的 GIST 细胞对伊马替尼的耐药性将成为课题组后续的研究重点。总之,过表达 miR-17-5p 可显著下调 KIT 表达水平,从而抑制 GIST 细胞的增殖能力、影响细胞周期并诱导细胞凋亡,miR-17-5p 可能是临床 GIST 治疗的潜在靶标。

[参 考 文 献]

- [1] 杨晓玲,张俊萍. 胃肠道间质瘤分子靶向治疗的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(3): 253-259. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.001.
- [2] RICCI R, GIUSTINIANI M C, GESSI M, et al. Telocytes are the physiological counterpart of inflammatory fibroid polyps and PDGFRA-mutant GISTs[J/OL]. J Cell Mol Med, 2018, 22(10): 4856-4862[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6156396/>. DOI:10.1111/jcmm.13748.
- [3] YAMAMOTO H, HANDA M, TOBO T, et al. Clinicopathological features of primary leiomyosarcoma of the gastrointestinal tract following recognition of gastrointestinal stromal tumours[J]. Histopathology, 2013, 63(2): 194-207. DOI:10.1111/his.12159.
- [4] MAYR P, MÄRKL B, AGAIMY A, et al. Malignancies associated with GIST: a retrospective study with molecular analysis of KIT and PDGFRA[J]. Langenbecks Arch Surg, 2019, 404(5): 605-613. DOI:10.1007/s00423-019-01773-2.
- [5] CORREIA DE SOUSA M, GJORGJEVA M, DOLICKA D, et al. Deciphering miRNAs' action through miRNA editing[J/OL]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): E6249[2020-10-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6941098/>. DOI:10.3390/ijms20246249.
- [6] SHAO T T, WANG G J, CHEN H, et al. Survey of miRNA-miRNA cooperative regulation principles across cancer types[J]. Brief Bioinform, 2019, 20(5): 1621-1638. DOI:10.1093/bib/bby038.
- [7] YUN S, KIM W K, KWON Y, et al. Survivin is a novel transcription regulator of KIT and is downregulated by miRNA-494 in gastrointestinal stromal tumors[J/OL]. Int J Cancer, 2018, 142(10): 2080-2093[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5900938/>. DOI:10.1002/ijc.31235.
- [8] RAVEGNINI G, SERRANO C, SIMEON V, et al. The rs17084733 variant in the KIT 3' UTR disrupts a miR-221/222 binding site in gastrointestinal stromal tumour: a sponge-like mechanism conferring disease susceptibility[J/OL]. Epigenetics, 2019, 14(6): 545-557[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6557610/>. DOI:10.1080/15592294.2019.1595997.
- [9] KONG W H, CHENG Y S, LIANG H, et al. Prognostic value of miR-17-5p in cancers: a meta-analysis[J/OL]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 3541-3549[2020-10-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6016279/>. DOI:10.2147/OTT.S150340.
- [10] LIU F, CHENG L, XU J J, et al. miR-17-92 functions as an oncogene and modulates NF-κB signaling by targeting TRAF3 in MGC-803 human gastric cancer cells[J]. Int J Oncol, 2018, 53(5): 2241-2257. DOI:10.3892/ijo.2018.4543.
- [11] JEPSEN R K, NOVOTNY G W, KLARSKOV L L, et al. Early metastatic colorectal cancers show increased tissue expression of miR-17/92 cluster members in the invasive tumor front[J]. Hum Pathol, 2018, 80: 231-238. DOI:10.1016/j.humphath.2018.05.027.
- [12] GRUSZKA R, ZAKRZEWSKA M. The oncogenic relevance of miR-17-92 cluster and its paralogous miR-106b-25 and miR-106a-363 clusters in brain tumors[J/OL]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3): E879[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5877740/>. DOI:10.3390/ijms19030879.
- [13] KUO G, WU C Y, YANG H Y. MiR-17-92 cluster and immunity[J]. Taiwan Yi Zhi, 2019, 118(1 Pt 1): 2-6. DOI:10.1016/j.jfma.2018.04.013.
- [14] GITS C M, VAN KUIJK P F, JONKERS M B, et al. MiR-17-92 and miR-221/222 cluster members target KIT and ETV1 in human gastrointestinal stromal tumours[J/OL]. Br J Cancer, 2013, 109(6): 1625-1635[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3776993/>. DOI:10.1038/bjc.2013.483.
- [15] DAI H, WANG C M, YU Z H, et al. MiR-17 regulates prostate cancer cell proliferation and apoptosis through inhibiting JAK-STAT3 signaling pathway[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2018, 33(3): 103-109. DOI:10.1089/cbr.2017.2386.
- [16] LI L, HE L, ZHAO J L, et al. MiR-17-5p up-regulates YES1 to modulate the cell cycle progression and apoptosis in ovarian cancer cell lines[J]. J Cell Biochem, 2015, 116(6): 1050-1059. DOI: 10.1002/jcb.25060.
- [17] BRCIC I, KASHOFER K, SKONE D, et al. KIT mutation in a naïve succinate dehydrogenase-deficient gastric GIST[J/OL]. Genes

- Chromosomes Cancer, 2019, 58(11): 798-803[2020-10-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6771634/>. DOI: 10.1002/gcc.22768.
- [18] VINCENZI B, NAPOLITANO A, NANNINI M, et al. Role of adjuvant imatinib dose in radically resected GIST harboring KIT exon 9 mutations[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(15_suppl): 11533. DOI: 10.1200/jco.2020.38.15_suppl.11533.
- [19] BRZOZOWSKA M, WIERZBA W, SZAFRANIEC-BURYŁO S, et al. Real-world evidence of patient outcome following treatment of advanced gastrointestinal stromal tumor (GIST) with imatinib, sunitinib, and sorafenib in publicly funded health care in Poland [J/OL]. Med Sci Monit, 2019, 25: 3846-3853[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6543874/>. DOI: 10.12659/MSM.914517.
- [20] NAPOLITANO A, VINCENZI B. Secondary KIT mutations: the GIST of drug resistance and sensitivity[J/OL]. Br J Cancer, 2019, 120(6): 577-578[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6461933/>. DOI:10.1038/s41416-019-0388-7.
- [21] JOENSUU H, WARDELMANN E, SIHTO H, et al. Effect of KIT and PDGFRA mutations on survival in patients with gastrointestinal stromal tumors treated with adjuvant imatinib: an exploratory analysis of a randomized clinical trial[J/OL]. JAMA Oncol, 2017, 3(5): 602-609[2021-01-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5470395/>. DOI:10.1001/jamaoncol.2016.5751.
- [收稿日期] 2021-01-12 [修回日期] 2021-06-10
[本文编辑] 党瑞山