

# 胃肠道间质瘤 *c-kit* 基因突变体的研究

刘晓红, 谢 强, 冯 菲, 白辰光, 马大烈

刘晓红, 中国人民解放军第二军医大学长海医院胸心外科  
上海市 200433

谢强, 白辰光, 冯菲, 马大烈, 中国人民解放军第二军医大学长海医院  
病理科 上海市 200433

刘晓红, 女, 1976-09-04 生, 山东济宁人, 汉族. 1999 年济宁医学院本科毕  
业, 2002 年第二军医大学硕士研究生毕业, 主要从事肿瘤的病理研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 30070743

项目负责人: 马大烈, 200433, 上海市杨浦区长海路 187 号, 中国人民解  
放军第二军医大学长海医院病理科, daliema@yahoo.com.cn

电话: 021-25070660 传真: 021-25072135

收稿日期: 2004-09-24 接受日期: 2004-11-04

## Cell transformation effect of mutant *c-kit* gene in gastrointestinal stromal tumor

Xiao-Hong Liu, Qiang Xie, Chen-Guang Bai, Fei Feng, Da-Lie Ma

Xiao-Hong Liu, Department of Cardiothoracic Surgery, Changhai  
Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China  
Qiang Xie, Fei Feng, Chen-Guang Bai, Da-Lie Ma, Department of  
Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University,  
Shanghai 200433, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No.  
30070743

Correspondence to: Da-Lie Ma, Department of Pathology, Changhai  
Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China.  
Daliema@yahoo.com.cn

Received: 2004-09-24 Accepted: 2004-11-24

## Abstract

**AIM:** To investigate the implication in tumorigenesis of a novel *c-kit* gene mutant, which was identified recently in gastrointestinal stromal tumor (GIST), by examining its effect on cell proliferation and cell cycle.

**METHODS:** Recombinant plasmids, which contained mutant or wild-type *c-kit* gene, were stably transfected into human embryonic kidney (HEK) cells. The expression of *c-kit* protein was detected by Western blot. The proliferation and cell cycle of the transfected cells were detected by MTT colorimetric assay and flow cytometry, respectively.

**RESULTS:** In comparison with the cells transfected with wild-type *c-kit* cDNA and empty pcDNA3 vector, the proliferation of the cells transfected with mutant *c-kit* cDNA was increased significantly. The percentages of cells in proliferation phase (S+G2+M) were 48.34%, 48.24%, 42.03% and 42.16% in test, positive control, negative control and empty control group, respectively.

**CONCLUSION:** The mutant *c-kit* gene can promote human cell proliferation, which may play an important role in the malignant transformation of GIST.

**Key Words:** Mutant *c-kit* gene; Gastrointestinal stromal tumor; MTT assay; Flow cytometry

Liu XH, Xie Q, Feng F, Bai CG, Ma DL. Cell transformation effect of mutant *c-kit* gene in gastrointestinal stromal tumor. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(3):321-324

## 摘要

**目的:** 研究突变型 *c-kit* 基因对细胞增生及细胞周期的影响从而揭示突变型 *c-kit* 基因对人体细胞的恶性转化作用.

**方法:** 将构建于 pcDNA3 的突变型 *c-kit* cDNA 和野生型 *c-kit* cDNA 重组质粒及空白 pcDNA3 质粒(空白对照)通过脂质体法稳定转染人胚胎肾细胞(human embryonic kidney cell, HEK)细胞. 用 Western blot 方法检测 *c-kit* 蛋白的表达情况, 观测转染细胞的生长曲线变化, 用 MTT 法检测细胞增生活性的变化, 并用流式细胞仪检测 *c-kit* 基因突变体对细胞周期的影响.

**结果:** 与阴性对照、空白对照相比, 实验组细胞生长速度明显增快, 细胞增生活性明显增强, 细胞周期检测显示: 实验组和阳性对照组处于增生期细胞(S+G2+M)比例明显高于阴性对照组和空白对照组, 各组处于增生期的细胞比例依次为: 48.34%(实验组)、48.24%(阳性对照组)、42.03%(阴性对照组)、42.16%(空白对照组).

**结论:** *c-kit* 基因突变可使人类细胞的增生活性明显增强, 并可以使更多的细胞由静止期进入增生期, 提示 *c-kit* 基因突变有可能是引起 GIST 的恶性转化的关键机制之一.

**关键词:** 突变 *c-kit* 基因; 胃肠道间质瘤; 流式细胞术; MTT 法

刘晓红, 谢强, 冯菲, 白辰光, 马大烈. 胃肠道间质瘤 *c-kit* 基因突变体的研究. 世界华人消化杂志 2005;13(3):321-324

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/321.asp>

## 0 引言

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)中有 *c-kit* 基因突变, 位于 exon11 Codon550-560 之间的突变型 *c-kit* 基因表达产物可不依赖配体而引发自身激活<sup>[1-7]</sup>. 我们<sup>[8-9]</sup>借助 PCR, DNA 测序技术

检出3例GIST *c-kit*基因突变,其中1例插入型突变处于国外已报道的突变热点区之外,既在*c-kit*蛋白肽链第579位密码子插入4个氨基酸:Leu-Pro-Tyr-Asp(亮氨酸-脯氨酸-酪氨酸-天冬氨酸).为了进一步探讨该突变是否也是获得性功能突变,我们构建出含野生型及突变型*c-kit* cDNA的重组质粒并转染人胚肾(human embryo kidney, HEK)细胞,通过观察突变型*c-kit*基因对HEK细胞增生及细胞周期的影响,推断其功能状态;并通过观察稳定转染重组质粒HEK细胞在裸鼠内的致瘤性来检测其对人体细胞的恶性转化作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 腺病毒永生化的HEK细胞系购于中科院细胞研究所,并培养于含100 mL/L胎牛血清DMEM培养基;pcDNA3质粒[Invitrogen公司];重组质粒pcDNA3-KIT-W(野生型*c-kit* cDNA与真核表达载体pcDNA3重组质粒), pcDNA3-KIT-MW(*c-kit* codon559-560缺失突变cDNA与pcDNA3载体重组质粒), pcDNA3-KIT-NW(*c-kit* codon579插入性突变cDNA与pcDNA3载体重组质粒)由本实验室制备;Balb/c裸鼠[上海中科院动物实验中心].G418抗生素(上海生工公司); $\lambda$ -EcoT14 DNA Marker(Takara公司);限制性内切酶、T4 DNA连接酶(Takara公司);Qiagen 质粒小量抽提试剂盒(基因公司);脂质体转染试剂盒(lipofectiva 2000)(Invitrogen公司);鼠抗人*c-kit* mAB,生物素标记的抗鼠IgG,碱性磷酸酶标记亲和素等(Dako公司);NBT/BCIP显色系统(上海增健公司);MTT(溴化二甲噻唑二苯四氮唑上海生工公司).

**1.2 方法** 使用Qiagen质粒小量抽提试剂盒提取和纯化质粒(见说明书).质粒pcDNA3及重组质粒pcDNA3-KIT-W, pcDNA3-KIT-MW, pcDNA3-KIT-NW,经*XhoI*和*BamHI*双酶切,反应体系置37℃水浴2 h, 30  $\mu$ L表反应体系如下:ddH<sub>2</sub>O 14  $\mu$ L, 10 $\times$ buffer 3  $\mu$ L, Plasmid DNA 10  $\mu$ L, *BamHI*(10  $\mu$ mol/L)1.5  $\mu$ L, *XhoI*(10  $\mu$ mol/L)1.5  $\mu$ L.使用*XhoI*和*BamHI*双酶切后,各取10  $\mu$ L 10g/L琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察酶切片段大小.实验分4组,A:转染pcDNA3空载体组(空白对照组),B:转染pcDNA3-KIT-W重组质粒组(阴性对照组),C:转染pcDNA3-KIT-MW重组质粒组(阳性对照组),D:转染pcDNA3-KIT-NW重组质粒组(实验组),脂质体法稳定转染HEK细胞,观察细胞生长状况;筛选出G418阳性克隆;筛选出的工程细胞使用200 mg/L;G418的DMEM培养基维持培养.转染后HEK细胞用Western blot法分析*c-kit*蛋白表达,MTT法检测细胞增生活性并测定HEK细胞生长曲线.用2.5 g/L胰蛋白

酶分别消化4株细胞,离心,用培养液重新悬浮、计数,每孔加入 $2 \times 10^5$ 个细胞,于CO<sub>2</sub>孵箱,37℃培养24 h;用2.5 g/L胰蛋白酶消化各孔细胞,离心,培养液重悬,计数.每孔收集收集 $5 \times 10^5$ 个细胞,PBS洗涤2次,用750 mL/L乙醇固定过夜;离心,弃上清,用PBS洗涤2次,加入PI(碘化吡啶)200  $\mu$ L,暗处孵育30 min.流式细胞仪检测细胞周期改变.

**统计学处理** 采用SPSS统计软件对数据进行处理.

## 2 结果

**2.1 重组质粒酶切鉴定** 质粒pcDNA3经*BamHI*酶切后表现为5.4 kb大小的片段,重组质粒pcDNA3-W, pcDNA3-NW, pcDNA3-MW经*XhoI*/*BamHI*双酶切后,均可得3 kb片段和5.4 kb大小片段(图1),表明重组质粒含*c-kit* cDNA片段.

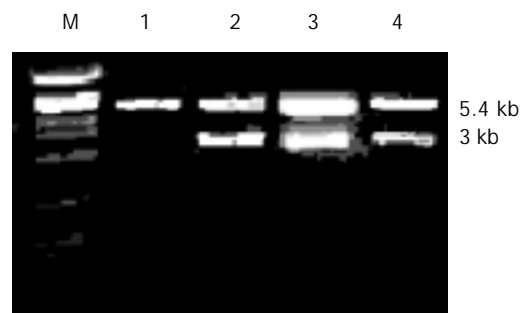


图1 *c-kit* cDNA和pcDNA3载体重组质粒双酶切鉴定. M:  $\lambda$ -EcoT14 DNA Marker, 1 pcDNA3 vector digested by *XhoI*, 2 pcDNA3-KIT-W digested by *XhoI*/*BamHI*, 3 pcDNA3-KIT-MW digested by *XhoI*/*BamHI*, 4 pcDNA3-KIT-NW digested by *XhoI*/*BamHI*.

**2.2 *c-kit*蛋白在HEK细胞中的表达** Western blot免疫印迹结果显示转染pcDNA3的HEK工程细胞*c-kit*蛋白表达为阴性,转染重组质粒pcDNA3-KIT-W, pcDNA3-KIT-MW, pcDNA3-KIT-NW在HEK工程细胞均有*c-kit*蛋白表达.(图2).



图2 Western blot免疫印迹结果. 1-2: pcDNA3-KIT-W; 3-4: pcDNA3-KIT-MW; 5-6: pcDNA3-KIT-NW; 7-8: pcDNA3.

**2.3 重组质粒对HEK细胞生长的影响** 细胞生长曲线(图3)显示稳定转染质粒pcDNA3和pcDNA3-KIT-W组HEK工程细胞在4 d出现快速增长期,转染pcDNA3-KIT-MW和pcDNA3-KIT-NW HEK工程细胞3 d出现快速增长期;导入突变型*c-kit*基因组生长速度显著变快.将转染各质粒的HEK工程细胞生长曲线拟合为直线并求其直线回归方程:pcDNA3空载体:  $Y = -17.73 + 9.93X$

( $P < 0.05$ ); pcDNA3-KIT-W:  $Y = -18.34 + 10.44X$  ( $P < 0.05$ ); pcDNA3-KIT-MW:  $Y = -17.7 + 11.73X$  ( $P < 0.05$ ); pcDNA3-KIT-NW:  $Y = -19.0 + 12.51X$  ( $P < 0.05$ ).

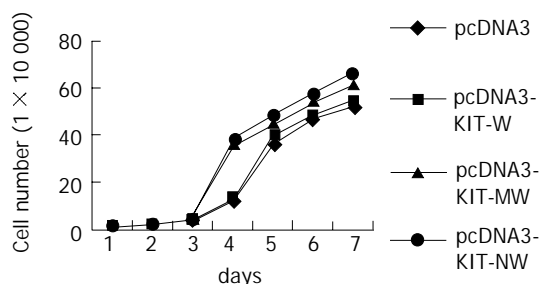


图3 突变 *c-kit* 基因对 HEK 细胞生长速度的影响.

**2.4 转染后各组细胞增生活性比较** 将稳定转染 pcDNA3, pcDNA3-KIT-W, pcDNA3-KIT-MW, pcDNA3-KIT-NW 质粒 HEK 细胞吸光度检测结果, 使用 SPSS 统计软件进行单向方差 (One-way ANOVA) 分析 (表1). 多重均数比较 (LSD法) 显示: 转染 pcDNA3 与 pcDNA3-KIT-W 两组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 转染 pcDNA3-KIT-MW 与 pcDNA3-KIT-NW 两组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ). 转染 pcDNA3-KIT-MW 与 pcDNA3-KIT-NW 组分别和 pcDNA3 与 pcDNA3-KIT-W 组有显著统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 以上结果显示转染含突变型 *c-kit* DNA 的 HEK 细胞比转染野生型 *c-kit* 及空白 pcDNA3 载体 HEK 细胞增生活性明显增强.

**2.5 重组质粒对 HEK 细胞周期的影响** 实验组、阳性对照组、阴性对照组和空白对照组细胞周期中位于增生期 ( $S + G_2-M$ ) 的细胞比例依次为 48.3%、48.2%、42.0%、42.2%. 与空白对照组和阴性对照组, 转染含突变 *c-kit* 基因重组质粒的实验组和对照组处于增生期比例明显升高 (表2).

表2 各转染组细胞周期检测结果

HEK cell	G <sub>0</sub> -G <sub>1</sub> 期	S 期	G <sub>2</sub> -M 期	S + G <sub>2</sub> -M 期
空白对照组	57.0%	10.4%	31.8%	42.2%
阴性对照组	58.0%	9.6%	32.4%	42.0%
阳性对照组	51.6%	3.7%	44.5%	48.2%
实验组	50.8%	6.3%	42.0%	48.3%

### 3 讨论

许多学者证实 exon11 Condon550-560 是 GIST 中 *c-kit* 基因突变热点, 该区域的突变均为“获得性功

能突变”, 他有可能是可能成为判断 GIST 恶性变的独立预后指标<sup>[2, 10-21]</sup>. 由于发现 GIST 和 *c-kit* 原癌基因之间的关系使理解 GIST 发病机制迈出了关键的一步, 该基因经过转录、翻译成 *c-kit* 蛋白, 深入细胞膜作为酪氨酸的跨膜受体. 目前关于生理状态下 *c-kit* 癌基因相关的信号传导途径已有报道<sup>[22-28]</sup>, 主要表现为 *c-kit* 蛋白与其配体结合可以使两个相邻的 Kit 受体分子出现二聚体化, 导致蛋白分子结构发生改变, 使得 *c-kit* 受体酪氨酸激酶区相互作用, 引起对方的酪氨酸残基磷酸化, 被磷酸化的酪氨酸残基可结合信号传导通路中的下游底物, 或者通过磷酸化作用于胞内其他蛋白底物, 从而激活相应的信号传导通路. 我们对 82 例 GIST 研究中发现 41.5% 的 GIST 存在 *c-kit* 基因突变, 而且突变主要发生在恶性 GIST, 其中一例 GIST 在突变热点区域之外检测到 *c-kit* 蛋白肽链第 579 位密码子插入 4 个氨基酸: Leu-Pro-Tyr-Asp (亮氨酸-脯氨酸-酪氨酸-天冬氨酸). 本课题将深入了解该突变体是否也存在类似的获得性功能突变及其在 GIST 发生、发展过程中的作用机制, 我们用分子生物学手段分别从细胞水平, 蛋白水平了解该突变体所引起的 *c-kit* 蛋白生物活性的改变.

HEK 细胞系虽含有 *c-kit* 原癌基因, 但蛋白表达率极低, Western blot 免疫印迹方法不能检测出<sup>[29-30]</sup>, 本研究根据所检测出的突变位点以及文献所报道的 codon559-560 缺失性突变人工突变野生型 *c-kit* cDNA, 同时设置阴性对照, 空白对照, 转染 HEK 肾细胞. Western blot 免疫印迹方法检测四种质粒在 HEK 细胞的表达, 结果显示转染 pcDNA3 空白对照组未显示条带, 而其余各组在相同位置均显示一淡兰色条带, 这说明除空白对照组外, 其余各组均有 *c-kit* 蛋白表达, 从而证实各重组质粒已在 HEK 细胞中稳定表达.

随后, 观察 C-Kit 基因突变体的 cDNA 对 HEK 增生活性和细胞周期的影响, 结果显示: 转染 pcDNA3、pcDNA3-KIT-W、pcDNA3-KIT-NW 和 pcDNA3-KIT-MW 质粒各组 HEK 细胞的细胞周期中位于增生期 ( $S + G_2-M$ ) 的细胞比例依次为 42.2%、42.0%、48.3%、48.2%; MTT 检测表明以上各组细胞吸光度均值依次为  $0.1947 \pm 3.537 \times 10^{-3}$ ;  $0.1830 \pm 6.034 \times 10^{-3}$ ;  $0.1340 \pm 2.353 \times 10^{-3}$ ;  $0.1274 \pm 3.537 \times 10^{-3}$ . SPSS 单向方差分析结果显示实验组和阳性对照组之间无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 而空白对照组和阴性对照组之间无统计学

表1 各组细胞吸光度平均值检测单向方差分析结果

HEK cell	pcDNA3	pcDNA3-KIT-NW	pcDNA3-KIT-MW	pcDNA3-KIT-W
平均值	0.1274	0.1830	0.1947	0.1340
标准误	$3.537 \times 10^{-3}$	$3.888 \times 10^{-3}$	$6.034 \times 10^{-3}$	$2.353 \times 10^{-3}$

意义( $P>0.05$ )。实验组和阳性对照组分别与空白对照组和阴性对照组之间有统计学意义( $P<0.05$ )，实验组和阳性对照组与空白对照组和阴性对照组相比，前二者吸光度明显高于后二者。以上结果表明稳定转染c-kit突变体与转染空白pcDNA3载体及转染野生型c-kit cDNA组的HEK细胞系相比，细胞生长速度加快，增生活性更强，处于增生期的细胞比例明显较高。该结果提示，GIST中的c-kit基因突变可使人类细胞的增生活性明显增强，并可以使更多的细胞进入细胞周期中的增生期；而野生型c-kit基因表达对细胞功能状态无明显影响，这说明突变型c-kit可影响人类正常细胞周期调节机制，促进更多的细胞由静止期进入增生期，从而对GIST的发生、发展起推动作用。

#### 4 参考文献

- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Muhammad Tunio G, Matsuzawa Y, Kanakura Y, Shinomura Y, Kitamura Y. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998;279:577-580
- Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, Isozaki K, Ito T, Nomura T, Matsuda H, Kitamura Y. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 1999;59:4297-4300
- Berman J, O Leary TJ. Gastrointestinal stromal tumor workshop. *Hum Pathol* 2001;36:578-582
- Lasota J, Jasinski M, Sarlomo-Rikala M, Miettinen M. Mutations in exon 11 of c-kit occur preferentially in malignant versus benign gastrointestinal stromal tumors and do not occur in leiomyomas or leiomyosarcomas. *Am J Pathol* 1999;154:53-60
- Lasota J, Wozniak A, Sarlomo-Rikala M, Rys J, Kordek R, Nassar A, Sobin LH, Miettinen M. Mutations in exon 9 and 13 of KIT gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors a study of 200 cases. *Am J Surg Pathol* 2000;157:1091-1095
- Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal Stromal Tumors of the Stomach: A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 1765 Cases With Long-term Follow-up. *Am J Surg Pathol* 2005;29:52-68
- Metaxa-Mariatou V, Papadopoulos S, Papadopoulou E, Passa O, Georgiadis T, Arapadoni-Dadioti P, Leondara V, Nasioulas G. Molecular analysis of GISTs: evaluation of sequencing and dHPLC. *DNA Cell Biol* 2004;23:777-782
- 马大烈, 刘晓红, 蔡在龙, 谢强. 胃肠道间质瘤中原癌基因c-kit突变及其蛋白表达. *中华肿瘤杂志* 2002;24:461-464
- Feng F, Liu XH, Xie Q, Liu WQ, Bai CG, Ma DL. Expression and mutation of c-kit gene in gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2003;9:2548-2551
- Wong NA, Young R, Malcomson RD, Nayar AG, Jamieson LA, Save VE, Carey FA, Brewster DH, Han C, Al-Nafussi A. Prognostic indicators for gastrointestinal stromal tumours: a clinicopathological and immunohistochemical study of 108 resected cases of the stomach. *Histopathology* 2003;43:118-126
- Nagasako Y, Misawa K, Kohashi S, Hasegawa K, Okawa Y, Sano H, Takada A, Sato H. Evaluation of malignancy using Ki-67 labeling index for gastric stromal tumor. *Gastric Cancer* 2003;6:168-172
- Lin SC, Huang MJ, Zeng CY, Wang TI, Liu ZL, Shiay RK. Clinical manifestations and prognostic factors in patients with gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2003;9:2809-2812
- Kim MK, Lee JK, Park ET, Lee SH, Seol SY, Chung JM, Kang MS, Yoon HK. Gastrointestinal stromal tumors: clinical, pathologic features and effectiveness of new diagnostic criteria. *Korean J Gastroenterol* 2004;43:341-348
- Goldblum JR. Gastrointestinal stromal tumors. A review of characteristics morphologic, immunohistochemical, and molecular genetic features. *Am J Clin Pathol* 2002;117(Suppl):S49-61
- Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004;22:3813-3825
- Ma DL, Liu XH, Bai CG, Xie Q, Feng F. Effect of c-kit gene mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumor. *Zhonghua Waikao Zazhi* 2004;42:140-144
- Joensuu H, Kindblom LG. Gastrointestinal stromal tumors—a review. *Acta Orthop Scand Suppl* 2004;75:62-71
- Theou N, Tabone S, Saffroy R, Le Cesne A, Julie C, Cortez A, Lavergne-Slove A, Debuire B, Lemoine A, Emile JF. High expression of both mutant and wild-type alleles of c-kit in gastrointestinal stromal tumors. *Biochim Biophys Acta* 2004;1688:250-256
- Beghini A, Tibiletti MG, Roversi G, Chiaravalli AM, Serio G, Capella C, Larizza L. Germline mutation in the juxtamembrane domain of the kit gene in a family with gastrointestinal stromal tumors and urticaria pigmentosa. *Cancer* 2001;92:657-662
- Lee JH, Zhang X, Jung WY, Chae YS, Park JJ, Kim I. DNA ploidy and c-Kit mutation in gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2004;10:3475-3479
- Lee JR, Joshi V, Griffin JW Jr, Lasota J, Miettinen M. Gastrointestinal autonomic nerve tumor: immunohistochemical and molecular identity with gastrointestinal stromal tumor. *Am J Surg Pathol* 2001;25:979-987
- Jalal Hosseini-mehr S, Inanami O, Hamasu T, Takahashi M, Kashiwakura I, Asanuma T, Kuwabara M. Activation of c-kit by stem cell factor induces radioresistance to apoptosis through ERK-dependent expression of survivin in HL60 cells. *J Radiat Res(Tokyo)* 2004;45:557-561
- Maulik G, Bharti A, Khan E, Broderick RJ, Kijima T, Salgia R. Modulation of c-Kit/SCF pathway leads to alterations in topoisomerase-I activity in small cell lung cancer. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2004;23:237-251
- Catalano A, Rodilossi S, Rippe MR, Caprari P, Procopio A. Induction of stem cell factor/c-Kit/slug signal transduction in multidrug-resistant malignant mesothelioma cells. *J Biol Chem* 2004;279:46706-46714
- Hollenbeck ST, Sakakibara K, Faries PL, Workhu B, Liu B, Kent KC. Stem cell factor and c-kit are expressed by and may affect vascular SMCs through an autocrine pathway. *J Surg Res* 2004;120:288-294
- Fletcher JA. Role of KIT and platelet-derived growth factor receptors as oncoproteins. *Semin Oncol* 2004;31:4-11
- Wandzioch E, Edling CE, Palmer RH, Carlsson L, Hallberg B. Activation of the MAP kinase pathway by c-Kit is PI-3 kinase dependent in hematopoietic progenitor/stem cell lines. *Blood* 2004;104:51-57
- Heissig B, Werb Z, Rafii S, Hattori K. Role of c-kit/Kit ligand signaling in regulating vasculogenesis. *Thromb Haemost* 2003;90:570-576
- Ronnstrand L. Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:2535-2548
- Yajima T, Kanda T, Yoshiike K, Kitamura Y. Retroviral vector targeting human cells via c-Kit-stem cell factor interaction. *Hum Gene Ther* 1998;9:779-787