

• 综述 •

KRAS 突变与胰腺癌的发生及治疗的研究进展

王方华¹, 吴怡林², 龚建平²

1. 重庆市渝北区第二人民医院外科 (重庆 401147)

2. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 (重庆 400010)

【摘要】 目的 总结 KRAS 突变与胰腺癌发生及治疗的研究进展。方法 通过阅读近几年国内外的相关文献, 对 KRAS 突变与胰腺癌发生及治疗的研究进展进行归纳总结。结果 胰腺癌有“癌症之王”的称谓, 超过 90% 的胰腺癌患者表达 KRAS 基因突变。KRAS 通过下游信号通路 Raf (rapidly accelerated fibrosarcoma)-丝裂原活化蛋白激酶激酶 (MEK)-细胞外信号调节激酶 (ERK)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (AKT) 和 RalGDS-Ral, 与胰腺癌有着复杂的关系。虽然胰腺癌发生的基础研究不断深入, 但仍缺乏有效的分子靶向药物。结论 KRAS 基因突变在胰腺癌的发生中扮演着重要的角色, 与 KRAS 突变相关的治疗进展, 有利于为胰腺癌患者提供更好的预后。

【关键词】 胰腺癌; KRAS 突变; 分子靶向治疗; 综述

Research progress on KRAS mutation in pancreatic tumorigenesis and pancreatic cancer therapy

WANG Fanghua¹, WU Yilin², GONG Jianping²

1. Department of Surgery, Yubei District Second People's Hospital of Chongqing City, Chongqing 401147, P. R. China

2. Department of Hepatobiliary Surgery, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, P. R. China

Corresponding author: GONG Jianping, Email: gongjianping11@163.com

【Abstract】 Objective To summarize the research progress of KRAS mutation in pancreatic tumorigenesis and therapy. **Method** The research progress of KRAS mutation in pancreatic tumorigenesis and therapy were summarized by reading the domestic and international literatures published in recent years. **Results** Pancreatic cancer had the title of “king of cancer”. More than 90% of pancreatic cancer patients had KRAS mutation. KRAS had a complex relationship with pancreatic cancer through downstream signaling pathways, including Raf (rapidly accelerated fibrosarcoma)-mitogen-activated protein kinase kinase (MEK)-extracellular signal-regulated kinase (ERK), phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (AKT), and RalGDS-Ral. Although basic research on pancreatic cancer was deepening, there was still a lack of effective molecular targeted drugs. **Conclusions** KRAS gene plays an important role in the occurrence of pancreatic cancer. The treatment associated with KRAS mutation provides a more effective prognostic possibility for pancreatic cancer patients.

【Keywords】 pancreatic cancer; KRAS mutation; molecular targeted therapy; review

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 发病率位居恶性肿瘤前列, 同时也是目前恶性程度极高的肿瘤之一。我国癌症中心 (National Central Cancer Registry, NCCR) 2017 年发布的数据显示: 胰腺癌的发生率位居第 10 位, 癌症相关死亡率位于第 6 位^[1]。有学者^[2]对欧洲 100 000 例胰腺癌患者的回

顾性研究发现: 患者诊断时的预期寿命为 4.6 个月, 胰腺癌导致 98% 的健康生命损失。然而面对这样的“癌症之王”, 目前的肿瘤治疗效果却不尽人意, 近 30 年来, 胰腺癌患者的 5 年生存率一直低于 5%^[3]。随着二代测序的发展, 关于胰腺癌的基因组研究发现: 在胰腺导管腺癌中存在着 KRAS、TP53、CDKN2A、SMAD4、RNF43、ARID1A、TGFβ2、GNAS、RREB1 和 PRM1 突变, KRAS 野生型肿瘤的其他致癌因子也有改变, 包括 GNAS、

DOI: 10.7507/1007-9424.201811069

通信作者: 龚建平, Email: gongjianping11@163.com



BRAF、CTNB1 和附加的 RAS 通路基因^[4]。KRAS 的突变在其中尤为突出。那么, KRAS 的突变在胰腺癌的发生发展中究竟是如何发挥作用的? 能否有效地转化为临床肿瘤分子靶向治疗位点, 改善胰腺癌的肿瘤治疗效果呢? 笔者现对 KRAS 的结构功能、KRAS 突变类型及其与胰腺癌的关系、KRAS 下游信号通路以及目前针对胰腺癌 KRAS 突变的治疗进行简要综述。

1 KRAS 的结构功能概述

KRAS 基因是 RAS 基因家族中的一员, 位于人类的第 12 号染色体上, 含有 4 个编码外显子和 1 个 5' 端非编码外显子。其编码的蛋白质称为 KRAS 蛋白(包括 K-Ras4A 和 K-Ras4B), 由 189 个氨基酸构成, 与其他家族成员即 HRAS 和 NRAS 编码的蛋白质相比, 其前 165 位氨基酸序列相同, 分子量为 12×10^3 , 因此也被称为 P12 蛋白。KRAS 作为 RAS 家族的一员, 在调控细胞的生长、增殖、分化、凋亡等生命活动中发挥着重要作用^[5]。KRAS 蛋白是一类小 G 蛋白, 与 GDP 的结合状态是非活性的, 然而在鸟苷酸交换因子被募集到 KRAS 后, GDP 释放、瞬时无核苷酸状态形成, KRAS 蛋白随后与 GTP 结合, 导致 RAS 的 2 个特定区域 Switch 1 (30 ~ 40 位氨基酸) 和 Switch 2 (60 ~ 76 位氨基酸) 发生显著的构象改变, 从而进行信号整合并将信号传递至下游效应器, 最后由于 KRAS 内在的酶活性以及 GTP 酶激活蛋白(CTPase-activating proteins, GAPs) 的作用, 水解 GTPs, 终止信号传递, 如此 KRAS 成为细胞内重要的分子开关^[6]。

2 KRAS 突变类型及其与胰腺癌的关系

胰腺癌基因组学证明: 胰腺癌患者中最常见的突变类型是 KRAS 突变, KRAS 基因突变在胰腺癌的发生发展中发挥着重大的作用, 其突变率高达 90%^[7], 而其中最常见突变密码子是 12 突变^[8]。有研究者^[9]从胰腺肿瘤和血浆样品中提取 DNA, 用基因芯片的数字 PCR 方法检测出 G12D、G12V 和 G12C 突变, 其中有 44% 的肿瘤 G12D 阳性, 20% 的肿瘤 G12V 阳性, 10% 的肿瘤 G12C 阳性。可见在胰腺癌 KRAS 的突变中, G12D 的突变是最常见的。KRAS 的突变往往发生在肿瘤突变的早期^[10], 且具有 KRAS 突变的胰腺癌患者的总存活率显著降低^[11]。

虽然在胰腺癌患者中 KRAS 突变十分常见, 但是胰腺癌和 KRAS 突变的关系却有不同解释。最为普遍的观点是, 突变的 KRAS 基因使 KRAS 蛋白

失去了分子开关的作用, 特别是当 KRAS 蛋白与 GAPs 蛋白结合点发生改变时, GTP 水解障碍, KRAS 蛋白则一直处于活化状态, 影响信号转导途径, 多个细胞过程如转化、增殖、侵袭和存活被激活^[12]。有学者^[13]通过建立一个 KRAS 突变的基因工程小鼠后证明, 小鼠出现胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasias, PanIN)并最终发展成为胰腺导管腺癌。但即使 KRAS 蛋白与 GTP 结合并激活了下游信号通路, 也不一定能使胰腺细胞发生癌变, 因为正常人的胰腺组织内仍能找到突变状态的 KRAS^[14]。可见 KRAS 基因突变并不是胰腺肿瘤发生的一个独立致癌因素, 需要与多种因素共同作用, KRAS 突变与胰腺癌的关系十分复杂。

3 KRAS 下游信号通路

通过对 KRAS 下游信号通路的研究, 能更加深刻地了解 KRAS 与胰腺癌之间的关系。KRAS 存在多种下游调控, 它们通过协同作用促进胰腺癌的发生和发展。现今研究较多的明确的下游信号通路是 Raf (rapidly accelerated fibrosarcoma)-丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MEK)-细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 和 RalGDS-Ral 信号通路。

3.1 Raf-MEK-ERK 信号通路

Ras-Raf-MEK-ERK 信号转导级联可能是人类癌症中最重要的致癌途径。该信号通路主要调节细胞生长分化、细胞转移、新陈代谢、神经系统功能以及免疫应答。Raf 家族成员 (A-Raf、B-Raf 和 C-Raf) 从细胞质溶胶被招募到质膜, 在质膜上它们选择性地直接与活性的 GTP-Ras 结合, 与 Ras 结合后诱导 Raf 构象改变, 促进 Raf 同源二聚体或异源二聚体的形成, 其中常涉及 B-Raf/C-Raf 异源二聚体的变构并介导激酶活化, 活化的 Raf 磷酸化 MEK1 和 MEK2 的丝氨酸/苏氨酸残基。MEK1 和 MEK2 被称为双特异性蛋白激酶, 能够进一步催化 ERK, 包括 ERK1 和 ERK2 的磷酸化和活化, 而后者催化数十个胞质和核蛋白的磷酸化^[15-17]。

使用药物抑制剂 U0126 能抑制 RAS 激活的 Raf/ERK/MAP 激酶。MEK 抑制导致胰腺癌肿瘤细胞增殖停止, 同时伴有 $G_0 \sim G_1$ 细胞周期阻滞^[18]。KRAS 蛋白的激活促进了胰腺肿瘤细胞的侵袭能力, 然而这种侵袭能力能够被 PI3K 抑制剂减弱。

有学者^[19]建立了一个胰腺癌 Ras 激活的细胞模型, 并进行细胞划伤愈合实验, 结果发现, 使用了 PI3K 抑制剂的细胞模型, 其活动性下降了 45% ~ 70%。而通过在小鼠胰腺中表达条件突变致癌基因 $\text{Braf}^{\text{V600E}}$, 选择性激活 Raf-MEK-ERK 信号通路可诱导 PanIN 和胰腺癌发育, 表明 Ras-Raf-MEK-ERK 信号转导级联是胰腺癌发生、维持及治疗的关键^[20]。

3.2 PI3K-AKT 信号通路

PI3K-AKT 信号通路被认为在细胞增殖、迁移、侵袭以及在化疗耐药性中起重要作用, 该通路受到不同因素的影响, 形成了极其复杂的传导通路^[21]。该通路可受 Ras 的激活而发挥效应, 被激活的 PI3K 能激活二磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2), 后者转化而生成三磷酸磷脂酰肌醇 (PIP3), 为细胞内含有 PH 结构域的信号蛋白 AKT-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (phosphoinositide dependent kinase 1, PDK1) 等在质膜上提供了停泊位点, 使 PDK1 磷酸化 AKT 的 Thr308; 同时, PDK2 磷酸化 AKT 的 Ser473, 从而完全激活 AKT, 活化的 AKT 通过磷酸化激活多种下游的酶、转录因子等^[22]。

大约有 50% 的胰腺癌表现出活化的 PI3K 信号通路, 与 AKT 磷酸化有关, 通常与未分化的肿瘤状态和预后不良有关^[23]。此外, 使用原发性胰腺转移瘤细胞、人 PDAC 早期传代细胞和正常胰腺细胞, 都验证了 PI3K 通路在人体胰腺癌中被激活。有数据^[24]表明, PI3K-AKT 信号在肿瘤演化的早期被激活, 并能控制胰腺细胞的可塑性和致癌作用。有学者^[25]通过免疫组化检查发现, AKT 在胰腺癌组织标本中过表达; 同时通过体外实验发现, 抑制 PI3K-AKT 通路可降低细胞增殖速度并诱导胰腺癌细胞凋亡。相应地, 建立不同的小鼠模型, 使小鼠胰腺特异性表达致癌基因 $\text{p110a}^{\text{H1047R}}$, 可使 PI3K-AKT 途径被选择性激活, 能够诱导 PanIN 和胰腺癌形成, 证实 PI3K/PDK1 参与了 KRAS 突变下的胰腺癌的发生^[24]。

3.3 RalGDS-Ral 信号通路

RalGDS 是 RAS 家族的小 GTP 酶 Ral 的 GTP/GDP 交换因子 (guanine nucleotide exchange factor, RalGEFs), 从而调节依赖于 Ral (RAS-like) 的细胞内事件, 如胞吐作用、内吞作用、重组调节细胞膜转运和细胞骨架重塑。RalGDS 从细胞质转运到质膜, 这是 Ral 活化所必需的。多种细胞外信号分子包括表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 能激活 RAS 的 GEF, 然后 GDP-Ras 在质膜上转化

为 GTP-Ras。RAS 分子发生的结构改变加强了 RAS 与其下游效应分子结合的能力^[26]。Ral 与 KRAS、HRAS 及 NRAS 这 3 个 RAS 基因具有高度的序列相似性, 故命名为 Ral。Ral 蛋白介导多种细胞活动, 包括丝状伪足形成/膜皱、糖酵解、自噬、分泌、极性维持及细胞凋亡转录。这些活动的改变可以导致肿瘤侵袭转移、细胞能量水平改变和对细胞死亡的抵抗^[27]。Ral 由 RalA 和 RalB 2 种亚型组成, 具有较高的序列同源性, 在这 2 种亚型氨基酸序列中, 有约 85% 的氨基酸序列是相同的。尽管 RalA 和 RalB 含有重要的氨基酸序列同源性, 它们也有一些不同的细胞功能。RalA 对肿瘤的生长是重要的, 然而 RalB 对肿瘤的转移和侵袭具有重要作用^[28]。

RalGDS 的致癌活性是通过底物 RalA 的激活而传播的, 但是能被另一个密切相关的基底物 RalB 减弱, 而 RalA 在胰腺癌细胞系中处于激活状态^[29]。有研究者^[29]使用免疫印迹测定 14 个胰腺癌细胞系中总 RalA 的水平, 数据显示, 所有这些细胞中均存在不同程度的 RalA 蛋白; 最令人惊讶的是, 在这些癌细胞系中, RalA 与其他主要 RAS 效应通路相比更容易被激活; ERK 在 11 类细胞系中被磷酸化, 但只有三分之一细胞系的 ERK 磷酸化水平较高, 同样 AKT 在所有细胞系中被弱激活, 但仅在 3 个细胞系中检测到高水平的磷酸化 AKT^[29]。

4 胰腺癌 KRAS 突变相关的治疗

胰腺癌是一种高度致命的疾病, 其主要治疗方法是外科手术。然而, 只有 15% ~ 20% 的患者在疾病诊断时是手术的候选者; 另一方面, 接受手术的患者存活率低于 30%^[30]。幸而化疗方案的最新进展不仅提高了我们治疗转移性疾病的能力, 而且在新辅助治疗环境中也显示出了良好的结果。目前认为, FOLFIRINOX [氟尿嘧啶、亚叶酸 (亮叶酸)、伊立替康和奥沙利铂] 和吉西他滨+纳米粒白蛋白结合紫杉醇 (nab-紫杉醇) 是治疗无法手术但具有良好表现状态的患者的首选方法^[31]。影像技术的进步以及对胰腺癌发病机制的更好理解, 使得早期诊断和早期积极处理潜在的癌前病变成为可能, 但是我们仍旧需要进一步了解导致肿瘤发生的遗传和分子因素, 以及开发更有针对性和毒性更小的全身疗法^[32]。

4.1 作用于 Kras 靶向治疗胰腺癌

RNA 干扰 (RNAi) 原则上可以应用于可逆沉默任何靶基因, RNAi 为小分子和基于抗体的治疗提供了新的治疗方向。但 RNAi 治疗必须结合有效的

小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 载体与可靠的体内递送以有效靶向抑制, 而由于胰腺的解剖位置因素, 很难通过电穿孔和生物聚合物将 RNAi 传递至肿瘤组织^[33]。因此直接以 KRAS 作为靶向进行胰腺癌治疗一直处于发展的瓶颈阶段。但是随着外泌体 (iExosomes) 的研究进展, 有学者^[34]发现, 在多个胰腺癌小鼠模型中外泌体能抑制癌症, 并显著提高了整体存活率; 从正常成纤维细胞样间充质细胞中衍生的外泌体, 经工程化携带短干扰 RNA 或短发夹, 可靶向治疗胰腺癌中的 KRAS 突变。

突变 KRAS 蛋白与正常蛋白相似, 具有非常相似的 GDP/GTP 结合结构域, 但缺乏用于结合小分子抑制剂的深口袋, 使得特定的治疗十分困难^[35]。鉴于 RAS 致癌活性与质膜结合密切相关, 人们初步尝试开发 RAS 抑制剂。通过抑制与质膜内表面关联功能上起关键作用的法尼基转移酶 (FTase), 而达到靶向 KRAS 抑制的作用。然而, 实验^[6]证明, 其对 HRAS 有效, 但 KRAS 和 NRAS 的膜定位不受 FTase 抑制剂的影响。

4.2 作用于 Kras 下游通路靶向治疗胰腺癌

直接作用于 KRAS 存在着诸多问题, 人们便把目光转向单独或者联合作用于 KRAS 下游通路。

Raf 作为 KRAS 的直接下游信号通路, 是分子靶向的首选位点。美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的第 2 代 Raf 抑制剂威罗非尼 (vemurafenib) 和达拉非尼 (dabrafenib) 对 $\text{Braf}^{\text{V600E}}$ 黑色素瘤患者有显著疗效, 并能提高患者的生存率。除了黑色素瘤, 目前的 Raf 抑制剂在结直肠和甲状腺 $\text{Braf}^{\text{V600E}}$ 肿瘤的临床治疗中也显示出中等疗效^[36]。然而这 2 种选择性 Braf 抑制剂在 KRAS 突变瘤中是禁忌使用的, 因为它们可以通过 Braf-Craf 二聚反应引起反常的下游信号激活^[37]。但 Y3009120 是 Raf 二聚体抑制剂, 能抑制所有 Raf 异构体, 并能有效抑制 Braf-Craf 异源二聚体的激酶活性, 是治疗 KRAS 突变体肿瘤的更好的替代物^[38]。此外, 有学者^[39]研究发现, 结合 Yes 相关蛋白 (yes-associated protein, YAP) 抑制剂 Vistopern 可以显著增强 LY3009120 的抗肿瘤作用。

在 KRAS 突变肿瘤中单独的 Raf 抑制剂表现出很低的功效。因此有研究^[40]通过筛选联合用药, 发现 MEK 和 PI3K 抑制剂与 Raf 抑制剂具有协同作用, 在 KRAS 突变体和野生型肿瘤中, Raf/MEK 抑制剂组合显示出了协同作用。

司美替尼 (AZD-6244, Selumetinib) 是一种有

效的选择性 MEK 抑制剂, 在多种肿瘤模型中均有效。有研究^[41]比较了司美替尼和卡培他滨治疗晚期或转移性胰腺癌患者的疗效, 发现司美替尼的耐受性良好, 安全性良好。同时有学者^[42]发现, PDMP (D, L-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol) 是一种糖鞘磷脂生物合成抑制剂, 能显著提高胰腺癌细胞对司美替尼的敏感性。这涉及持续的神经酰胺产生以及 ERK 和 AKT-雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号的同时阻断。司美替尼能诱导胰腺癌细胞产生神经酰胺, 但过量的神经酰胺在较长时间后 (24 ~ 48 h) 被代谢清除, PDMP 能促进司美替尼诱导的神经酰胺生成, 至 48 h 时神经酰胺水平仍保持在较高水平^[42]。

胰腺癌进展和化疗不敏感与 PI3K/mTOR/MEK 信号异常有关。有学者^[43]的实验证明, 与单独使用 PI3K/mTOR 双重抑制剂 PF5212384 (PF384) 和 MEK 抑制剂 PD325901 (PD901) 2 种药物相比, 联合使用能更有效地诱导胰腺肿瘤细胞的凋亡, 而与 KRAS 突变状态无关, 这表明 PF384/PD901 联合治疗在野生型或 KRAS 突变型胰腺肿瘤细胞中激活了相同的凋亡机制。同时, 索拉非尼联合白桦酸可抑制胰腺肿瘤细胞的存活和增殖, 而不诱导细胞凋亡。该增殖抑制也可能与抑制 PI3k/AKT 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 信号通路有关, 即低浓度索拉非尼和白桦酸联合治疗能够抑制胰腺肿瘤细胞的增殖^[44]。

5 小结与展望

无数研究者力求降低胰腺癌的病死率, 但是无论胰腺癌手术术式如何进展, 胰腺癌一直维持以较高的病死率, 术后 5 年生存率约 20%^[45]。随着对 KRAS 下游通路研究的深入以及胰腺癌特异性靶向治疗的开展, 逐渐看到了提高胰腺癌生存率的曙光。

在胰腺癌的诊断和治疗中, 应该推进胰腺癌的早期发现, 尽可能地运用外科手术切除肿瘤组织。积极推进更多的分子靶向药物由基础实验阶段转化为药物临床试验阶段, 同时考虑药物的安全性和靶向性, 促进靶向药物的精准化、个体化以及规范化, 解决在分子靶向治疗中出现的耐药现象。

参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Zhang S, *et al.* Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level. *Chin J Cancer Res*, 2017, 29(1): 1-10.
- 2 Carrato A, Falcone A, Ducreux M, *et al.* A systematic review of the

- burden of pancreatic cancer in Europe: real-world impact on survival, quality of life and costs. *J Gastrointest Cancer*, 2015, 46(3): 201-211.
- 3 Eser S, Schnieke A, Schneider G, *et al.* Oncogenic KRAS signalling in pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 2014, 111(5): 817-822.
 - 4 Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*, 2017, 32(2): 185-203.
 - 5 Tsai FD, Lopes MS, Zhou M, *et al.* K-Ras4A splice variant is widely expressed in cancer and uses a hybrid membrane-targeting motif. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(3): 779-784.
 - 6 O'Bryan JP. Pharmacological targeting of RAS: recent success with direct inhibitors. *Pharmacol Res*, 2019, 139: 503-511.
 - 7 Kanda M, Matthaei H, Wu J, *et al.* Presence of somatic mutations in most early-stage pancreatic intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 730-733.
 - 8 Hashimoto D, Arima K, Yokoyama N, *et al.* Heterogeneity of KRAS mutations in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*, 2016, 45(8): 1111-1114.
 - 9 Brychta N, Krahn T, von Ahsen O. Detection of KRAS mutations in circulating tumor DNA by digital PCR in early stages of pancreatic cancer. *Clin Chem*, 2016, 62(11): 1482-1491.
 - 10 Gruber R, Panayiotou R, Nye E, *et al.* YAP1 and TAZ control pancreatic cancer initiation in mice by direct up-regulation of JAK-STAT3 signaling. *Gastroenterology*, 2016, 151(3): 526-539.
 - 11 Tao LY, Zhang LF, Xiu DR, *et al.* Prognostic significance of K-ras mutations in pancreatic cancer: a meta-analysis. *World J Surg Oncol*, 2016, 14: 146.
 - 12 Bournet B, Buscail C, Muscari F, *et al.* Targeting KRAS for diagnosis, prognosis, and treatment of pancreatic cancer: hopes and realities. *Eur J Cancer*, 2016, 54: 75-83.
 - 13 Qiu W, Tang SM, Lee S, *et al.* Loss of activin receptor type 1B accelerates development of intraductal papillary mucinous neoplasms in mice with activated KRAS. *Gastroenterology*, 2016, 150(1): 218-228.
 - 14 Huang H, Daniluk J, Liu Y, *et al.* Oncogenic K-Ras requires activation for enhanced activity. *Oncogene*, 2014, 33(4): 532-535.
 - 15 Roskoski R Jr. Targeting oncogenic Raf protein-serine/threonine kinases in human cancers. *Pharmacol Res*, 2018, 135: 239-258.
 - 16 Ritt DA, Abreu-Blanco MT, Bindu L, *et al.* Inhibition of Ras/Raf/MEK/ERK pathway signaling by a stress-induced phospho-regulatory circuit. *Mol Cell*, 2016, 64(5): 875-887.
 - 17 Lavoie H, Therrien M. Regulation of RAF protein kinases in ERK signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16(5): 281-298.
 - 18 Gysin S, Lee SH, Dean NM, *et al.* Pharmacologic inhibition of RAF->MEK->ERK signaling elicits pancreatic cancer cell cycle arrest through induced expression of p27Kip1. *Cancer Res*, 2005, 65(11): 4870-4880.
 - 19 Campbell PM, Groehler AL, Lee KM, *et al.* K-Ras promotes growth transformation and invasion of immortalized human pancreatic cells by Raf and phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 2098-2106.
 - 20 Collisson EA, Trejo CL, Silva JM, *et al.* A central role for RAF->MEK->ERK signaling in the genesis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Discov*, 2012, 2(8): 685-693.
 - 21 Gasparri ML, Besharat ZM, Farooqi AA, *et al.* MiRNAs and their interplay with PI3K/AKT/mTOR pathway in ovarian cancer cells: a potential role in platinum resistance. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(12): 2313-2318.
 - 22 Papadimitrakopoulou V. Development of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors and their application in personalized therapy for non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(8): 1315-1326.
 - 23 Baer R, Cintas C, Therville N, *et al.* Implication of PI3K/Akt pathway in pancreatic cancer: when PI3K isoforms matter? *Adv Biol Regul*, 2015, 59: 19-35.
 - 24 Eser S, Reiff N, Messer M, *et al.* Selective requirement of PI3K/PDK1 signaling for Kras oncogene-driven pancreatic cell plasticity and cancer. *Cancer Cell*, 2013, 23(3): 406-420.
 - 25 Mao Y, Xi L, Li Q, *et al.* Regulation of cell apoptosis and proliferation in pancreatic cancer through PI3K/Akt pathway via Polo-like kinase 1. *Oncol Rep*, 2016, 36(1): 49-56.
 - 26 Yoshizawa R, Umeki N, Yanagawa M, *et al.* Single-molecule fluorescence imaging of RalGDS on cell surfaces during signal transduction from Ras to Ral. *Biophys Physicobiol*, 2017, 14: 75-84.
 - 27 Kashatus DF. Ral GTPases in tumorigenesis: emerging from the shadows. *Exp Cell Res*, 2013, 319(15): 2337-2342.
 - 28 Guin S, Ru Y, Wynes MW, *et al.* Contributions of KRAS and RAL in non-small-cell lung cancer growth and progression. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(12): 1492-1501.
 - 29 Lim KH, Baines AT, Fiordalisi JJ, *et al.* Activation of RalA is critical for Ras-induced tumorigenesis of human cells. *Cancer Cell*, 2005, 7(6): 533-545.
 - 30 Cicenas J, Kvederaviciute K, Meskinyte I, *et al.* KRAS, TP53, CDKN2A, SMAD4, BRCA1, and BRCA2 mutations in pancreatic cancer. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(5): E42.
 - 31 Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, *et al.* Pancreatic cancer. *Lancet*, 2016, 388(10039): 73-85.
 - 32 Mohammed S, Van Buren G 2nd, Fisher WE. Pancreatic cancer: advances in treatment. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(28): 9354-9360.
 - 33 Yuan TL, Fellmann C, Lee CS, *et al.* Development of siRNA payloads to target KRAS-mutant cancer. *Cancer Discov*, 2014, 4(10): 1182-1197.
 - 34 Kamerkar S, LeBleu VS, Sugimoto H, *et al.* Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 2017, 546(7659): 498-503.
 - 35 McCormick F. K-Ras protein as a drug target. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(3): 253-258.
 - 36 Karoulia Z, Gavathiotis E, Poulikakos PI. New perspectives for targeting RAF kinase in human cancer. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(11): 676-691.
 - 37 Martin S, Dudek-Perić AM, Maes H, *et al.* Concurrent MEK and autophagy inhibition is required to restore cell death associated danger-signalling in Vemurafenib-resistant melanoma cells. *Biochem Pharmacol*, 2015, 93(3): 290-304.
 - 38 Peng SB, Henry JR, Kaufman MD, *et al.* Inhibition of RAF isoforms and active dimers by LY3009120 leads to anti-tumor activities in RAS or BRAF mutant cancers. *Cancer Cell*, 2015, 28(3): 384-398.
 - 39 Zhao X, Wang X, Fang L, *et al.* A combinatorial strategy using YAP and pan-RAF inhibitors for treating KRAS-mutant pancreatic cancer. *Cancer Lett*, 2017, 402: 61-70.
 - 40 Yen I, Shanahan F, Merchant M, *et al.* Pharmacological induction of RAS-GTP confers RAF inhibitor sensitivity in KRAS mutant tumors. *Cancer Cell*, 2018, 34(4): 611-625.
 - 41 Bodoky G, Timcheva C, Spigel DR, *et al.* A phase II open-label randomized study to assess the efficacy and safety of selumetinib (AZD6244[ARRY-142886]) versus capecitabine in patients with advanced or metastatic pancreatic cancer who have failed first-line gemcitabine therapy. *Invest New Drugs*, 2012, 30(3): 1216-1223.
 - 42 Wang T, Wei J, Wang N, *et al.* The glucosylceramide synthase inhibitor PDMP sensitizes pancreatic cancer cells to MEK/ERK inhibitor AZD-6244. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 456(3): 821-826.
 - 43 Burmi RS, Maginn EN, Gabra H, *et al.* Combined inhibition of the PI3K/mTOR/MEK pathway induces Bim/Mcl-1-regulated apoptosis in pancreatic cancer cells. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(1): 21-30.
 - 44 Kutkowska J, Strzadala L, Rapak A. Sorafenib in combination with betulinic acid synergistically induces cell cycle arrest and inhibits clonogenic activity in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): E3234.
 - 45 Lopez NE, Prendergast C, Lowy AM. Borderline resectable pancreatic cancer: definitions and management. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(31): 10740-10751.

收稿日期: 2018-11-22 修回日期: 2019-03-04

本文编辑: 罗云梅