

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.04.011

· 临床研究 ·

## 胰腺黏液性囊腺癌基因突变的检测及其临床意义

郭承涛, 彭小波, 湛先保(海军军医大学附属长海医院 肿瘤科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:**利用高通量测序平台研究胰腺黏液性囊腺癌(PMCC)组织中基因突变的分布特点及其临床意义。**方法:**收集2012年1月至2016年12月经外科手术切除的4例PMCC患者癌及癌旁组织石蜡标本,通过Illumina HiSeq 2500平台进行二代基因测序(NGS),结合患者临床病理资料分析PMCC患者癌组织的基因突变特征。**结果:**在4个PMCC样本中,均检测到7个高频突变基因(SMG),分别是KRAS、AHNAK2、MUC16、MUC17、MUC19、MUC3A和MUC4。3个样本中检测到24个SMG,分别为ADAMTS9、ALDH3B1、CARD14、CSMD3、MKI67、OR1N2、PKHD1、PLCE1、RTL1、SIGLEC12、CCDC168、CEP295、CUBN、DST、HRNR、LAMA5、OR10G4、OR2T4、PLEKHG4B、RP1L1、SLC15A5、SVEP1、TAS1R1和TNRC18。所有样本中均检测到KRAS驱动基因突变,其中3例检测到KRAS的K12热点突变,另1例检测到KRAS的D33E非热点突变。**结论:**PMCC患者的高突变KRAS和MUC家族,可能成为PMCC精准治疗的潜在靶点和生物标志物。

**[关键词]** 胰腺黏液性囊腺癌;高通量测序;基因突变;KRAS基因

[中图分类号] R730.2; R735.9 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2019)04-0440-05

## Detection of gene mutation in pancreatic mucinous cystadenocarcinoma and its clinical significance

GUO Chengtao, PENG Xiaobo, ZHAN Xianbao (Department of Oncology, Changhai Hospital Affiliated to the Naval Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective:** To detect the distribution of gene mutations in pancreatic mucinous cystadenocarcinoma (PMCC) by high-throughput sequencing and to explore its clinical significance. **Methods:** Four cases of paraffin-embedded cancer tissues and paracancerous tissues from PMCC patients, who underwent surgical resection from January 2012 to December 2016, received NGS (next generation sequencing) examination using Illumina HiSeq 2500 platform. The characteristics of gene mutation in PMCC patients were analyzed with sequencing results and clinicopathological data. **Results:** Seven significantly mutated genes (SMGs) were detected in all four PMCC samples, namely KRAS, AHNAK2, MUC16, MUC17, MUC19, MUC3A and MUC4. Twenty-four SMGs were detected in 3 of the 4 samples, namely ADAMTS9, ALDH3B1, CARD14, CSMD3, MKI67, OR1N2, PKHD1, PLCE1, RTL1, SIGLEC12, CCDC168, CEP295, CUBN, DST, HRNR, LAMA5, OR10G4, OR2T4, PLEKHG4B, RP1L1, SLC15A5, SVEP1, TAS1R1 and TNRC18. KRAS-driven gene mutations were detected in all 4 samples, including K12 hot spot mutation in 3 cases and D33E non-hot spot mutation in 1 case. **Conclusion:** The high mutation of KRAS and MUC family in PMCC may be a potential target and biomarker for precise treatment of PMCC.

**[Key words]** paereatic mucinous cystadenocarcinoma; high-throughput sequencing; gene mutation; KRAS gene

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(4): 440-444. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.04.011]

胰腺黏液性囊性肿瘤(mucinous cystic neoplasm, MCN)是一种较为罕见的肿瘤,起源于胰腺导管上皮细胞<sup>[1-2]</sup>。胰腺MCN主要发生在围绝经期妇女的胰体或胰尾<sup>[3]</sup>,因其具有潜在恶性、癌变概率高,尤其是病程较长、肿瘤较大者。长期随访证实,MCN可恶变为癌,即胰腺黏液性囊腺癌(pancreatic mucinous cystadenocarcinoma, PMCC)。研究<sup>[4]</sup>表明,PMCN的发生率占胰腺外分泌肿瘤的2%~5%。PMCC的症状与体征多无特异性,许多患者在就诊时症状已存在数月或数年<sup>[5]</sup>。PMCC典型影像学表现

主要是内有固体物和钙化外圈的厚壁大囊,主胰管扩张提示囊肿与胰管相通。COMPAGNO等<sup>[6]</sup>认为,内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde chol-

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(NO.81672892)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (NO.81672892)

**[作者简介]** 郭承涛(1989-),男,硕士生,主要从事消化肿瘤精准治疗研究,E-mail: jxgct1989@163.com

**[通信作者]** 湛先保(ZHAN Xianbao, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事消化肿瘤的精准治疗和免疫治疗研究,E-mail: zhanxianbao@126.com

angiopancreatography, ERCP)若显示胰管梗阻、闭塞或胰管、胆管与囊肿腔相通则提示为恶性病变。目前,PMCC 一经诊断均推荐难度高、创伤极大的根治性手术,亟需早期诊疗新方法。近几十年来,随着二代测序技术(next generation sequencing, NGS)的快速发展以及其成本不断降低,提供全面遗传风险评估的全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)技术已成为肿瘤研究的重要手段。本研究运用NGS平台对4例PMCC患者癌组织标本进行全基因组测序,并结合临床病理资料分析PMCC患者癌组织的基因

突变特征。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

收集2012年1月至2016年12月海军军医大学附属长海医院病理科保存的、经病理确诊的4例女性PMCC患者手术切除的癌组织及对应的癌旁组织石蜡标本,切成8张5~10 μm厚的切片进行WGS。4例患者的一般临床资料见表1。

表1 4例PMCC患者的临床病理特征  
Tab.1 Clinicopathological features of 4 patients with PMCC

Clinicopathologic feature	C-1	C-2	C-3	C-4
Gender	Female	Female	Female	Female
Age( <i>t/a</i> )	47	47	62	76
Tumor site	Body of pancreas	Body of pancreas	Body of pancreas	Tail of pancreas
Histological morphology	Papillary	Sieve pore	Papillary	Papillary
Tumor size( <i>l/cm</i> )	6.0	3.5	4.0	5.0
Lymph node metastasis	0/1	-	0/7	0/1
Tumor stage	II	II	II	II

C: Cancer tissue; 1-4: Sample number

### 1.2 主要试剂及仪器

组织样品提取DNA所需QIAGEN\_FFPE\_DNA Mini Kit试剂盒(QIAGEN, USA),质控标准的样本使用KAPA Library Prep Kit试剂盒(Illumina, USA),样本扩增使用荧光定量PCR仪(Stepone plus, Life technology),样本浓度测定使用Qubit 2.0(Life technology);测序平台使用HiSeq PE150(Illumina, USA)。

### 1.3 DNA纯化、提取、检测与质控

为保证4%甲醛溶液固定和石蜡包埋切片组织中有足够比例的肿瘤细胞,事先请病理科对该切面的肿瘤组织进行H-E染色,确保所切层面中肿瘤组织占70%以上,且坏死组织比例少于10%。将切片置于二甲苯中脱蜡,在变性条件下,将切片与蛋白酶K共孵育以分离与蛋白质结合的DNA。90 °C继续孵育1 h,使DNA与蛋白充分分离,经过上柱、洗涤和洗脱等纯化浓缩DNA。按照QIAGEN\_FFPE\_DNAMini Kit石蜡组织提取DNA说明书对切片组织进行DNA提取。琼脂糖凝胶电泳(agarose gel electrophoresis, AGE)分析DNA降解程度、完整性和纯度。用量子位荧光计(qubit fluorometer)精确定量DNA浓度,其中DNA浓度≥20 ng/μl,总量0.5 μg以上的DNA样品被用来建库。

### 1.4 全基因组DNA文库构建和测序

基因组DNA利用Covaris破碎仪随机打断成长

度为350 bp的片段,经末端修复、磷酸化以及加A尾后,片段两端分别连接接头,制备成基因组DNA文库。通过Illumina HiSeq PE150对癌组织及对应的癌旁组织样品基因组DNA文库进行测序。PE150(pair and 150 bp)指高通量双端测序,每端各测150 bp。在构建的小片段文库中,插入片段Insert DNA(高通量测序直接测序单位)。双端测序是将每条插入片段的两端进行测序的方法,由于插入片段的分布已知,双端测序时不仅可以知道片段两端的序列,也可知这两段序列之间的长度,从而便于后续数据比对。

### 1.5 测序数据质量评估

测序得到的原始图像数据文件经碱基识别(base calling)分析转化为原始测序序列(sequenced reads),原始数据以fastq文件格式存储。然后去除原始数据中低质量的碱基与序列,校正测序错误。采用BWA软件将测序序列与人参考基因组hg19做比对,初始比对结果为sam格式,再利用samtools软件将结果转为bam格式并排序。对测序重复率、错误率、比对率、覆盖度以及测序深度进行分析,评估建库测序是否达到标准,符合标注则进行后续分析,否则须重新建库或加测。通常人类样本的测序序列能达到95%以上的比对率;平均测序深度[测序得到的碱基总量(bp)与基因组大小(genome)的比值],当测序深度10X以上时覆盖度达到95%以上,可作为评价测序质

量的指标之一。

### 1.6 体细胞突变分析

通过与其配对的非肿瘤样品作为参考,比较分析肿瘤样品的体细胞突变。对于肿瘤样品,通过 mu-Tect 软件分析点突变 (single nucleotide variant, SNV), 并通过 Strelka 软件检测体细胞插入缺失突变 (insertion-deletion, InDel) 信息。

### 1.7 高频突变基因分析

高频突变基因 (significantly mutated gene, SMG) 是指突变频率显著高于背景突变频率 (background mutation rate, BMR) 的基因。结合以上 SNV 和 InDel 的分析结果,以所有肿瘤样本的体细胞突变为背景,通过 MuSic 软件对基因上的各个突变类型进行统计检验 (SMG test), 检测出显著高于背景突变率的基因。MuSic 通过 3 种方法进行 SMG test, 包括卷积检验 (convolution test, CT)、Fisher 检验 (fisher's combined *P*-value test, FCPT) 和似然比检验 (likelihood ratio test, LRT)。

## 2 结果

### 2.1 PMCC 及癌旁组织中基因组 DNA 含量符合建库标准

量子荧光仪检测结果 (表 2) 显示, PMCC 与癌旁组织基因组 DNA 浓度 >20 ng/μl, 且总量 >0.5 μg, 符合建库标准。

### 2.2 PMCC 及癌旁组织中基因组 DNA 测序数据符合质量要求

对 PMCC 及癌旁组织基因组 DNA 文库测序数据分析结果 (表 3) 显示, PMCC 组织样本平均测序深度在 60 X 左右, 癌旁组织平均为 30 X 左右; 癌与癌旁组

织测序覆盖度和比对率均在 99% 以上; 重复率均在 10% 左右, 且 Q30>80。表明本次测序项目数据质量符合要求, 可以进行后续分析。

表 2 PMCC 患者癌和癌旁组织基因组 DNA 含量  
Tab. 2 Genomic DNA content in cancer and para-cancer tissues of patients with PMCC

Sample	Concentration [ρ <sub>g</sub> (ng·μl <sup>-1</sup> )]	Volume (v/μl)	Total (m/μg)
C-1	70.4	55.0	3.9
C-2	77.6	55.0	4.3
C-3	21.6	55.0	1.2
C-4	52.2	55.0	2.9
P-1	116.0	55.0	6.4
P-2	143.0	55.0	7.9
P-3	134.0	55.0	7.4
P-4	82.8	55.0	4.6

C: Cancer tissue; P: Para-cancer tissue; 1-4: Sample number

### 2.4 PMCC 患者癌组织中 SMG 分析

WGS 测序结果显示, 在 4 个样本中均检测到突变的基因有 7 个, 分别是 KRAS、AHNAK2、MUC16、MUC17、MUC19、MUC3A、MUC4。在 3 个样本中检测到突变的基因有 24 个, 分别为 ADAMTS9、ALDH3B1、CARD14、CSMD3、MKI67、OR1N2、PKHD1、PLCE1、RTL1、SIGLEC12、CCDC168、CEP295、CUBN、DST、HRNR、LAMA5、OR10G4、OR2T4、PLEKHG4B、RP1L1、SLC15A5、SVEP1、TAS1R1、TNRC18。所有样本中均检测到 KRAS 驱动基因突变, 其中 3 例检测到 KRAS 的 K12 热点突变, 另 1 例 KRAS 的 D33E 非热点突变 (图 1)。

表 3 PMCC 及癌旁组织基因组 DNA 测序评估

Tab. 3 Assessment of genomic DNA sequencing results in cancer and para-cancer tissues of PMCC

Sample	Original data (G)	Q30	Sequencing depth	Coverage (%)	Mapping (%)	Repetition (%)
C-1	179.66	91.92	56.83	99.32	99.76	9.31
C-2	211.58	95.22	67.86	99.38	99.79	10.76
C-3	218.54	92.46	62.84	99.38	99.73	13.25
C-4	216.15	95.60	70.05	99.34	99.82	11.08
P-1	103.20	87.89	28.32	99.28	99.84	10.18
P-2	91.19	91.49	27.74	99.24	99.78	10.20
P-3	104.43	87.82	30.76	99.26	99.79	10.68
P-4	90.39	91.81	28.13	99.24	99.84	10.15

C: Cancer tissue; P: Para-cancer tissue; 1-4: Sample number

### 2.3 PMCC 组织体细胞突变增高

对 PMCC 患者癌组织 WGS 测序结果 (表 4) 显示, 点突变频率大约是 1/Mb (兆字节); 全外显子测序 (whole-exome sequencing, WES) 结果显示, 点突变频

率为 18~84/Mb。表明在这 4 例 PMCC 患者组织中, 编码区体细胞突变负荷显著高于全基因组区域, 其中全外显子区域点突变频率显著高于先前文献报道的 1/Mb 频率<sup>[7]</sup>。

表4 WGS和WES体细胞突变  
Tab. 4 Somatic mutation in WGS and WES

Sample	SNV	WGS			WES	
		Mutation rate (1/MB)	InDel	Coding SNV	Mutation rate (1/MB)	Coding InDel
C-1	31 936	1.06	4 118	548	18.27	9
C-2	31 726	1.06	4 553	1 094	36.47	18
C-3	201 422	6.71	4 325	2 511	83.70	14
C-4	24 745	0.82	5 622	1 676	55.87	17

C: Cancer tissue; 1-4: Sample number

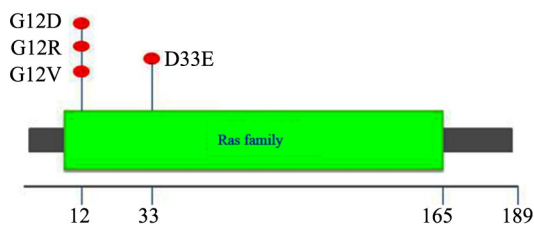


图1 KRAS突变位点示意图

Fig.1 Schematic diagram of KRAS mutation site

### 3 讨论

肿瘤是机体在各种致癌因素作用下,局部组织的某一个细胞在基因水平上失去对其生长的正常调控,导致其克隆性异常增生而形成的异常病变。肿瘤绝大多数是发生在体细胞内的突变<sup>[8]</sup>,因此体细胞突变是肿瘤检测的主要方法。肿瘤体细胞突变主要有2类:一是包括SNV和InDel基因突变,二是拷贝数变异(copy number variations, CNV)和结构变异(structural variation, SV)代表的染色体异常<sup>[9]</sup>。RUSCH等<sup>[10]</sup>对78例儿童肿瘤患者组织进行基因组测序,包含WGS、WES以及全转录组测序(transcriptome sequencing, RNA-Seq)的方法可检测到99%的已知或疑似致癌突变,而仅用WES和RNA-Seq的方法则检测到78%的突变,这显示了WGS在儿童肿瘤中的独特价值。2014年前,由于WGS价格高昂,不得不舍弃部分遗传信息(如基因融合、染色体重排等),而选择全外显子组测序。随着全基因组测序技术的普及及技术不断成熟,全基因组测序成本随之降低,基于WGS的肿瘤基因组研究目前已成为肿瘤研究的主流方法。来自澳大利亚的科学家通过对胰腺癌组织进行WGS以及CNV分析重新定义了胰腺癌基因突变图谱,发现的基因突变当作生物标志物可用以表征胰腺癌化疗的治疗效果<sup>[11]</sup>。进一步运用基因组技术整合分析并鉴定了胰腺癌10条信号通路中的32个SMG<sup>[12]</sup>,并通过RNA序列数据分析对胰腺癌进行了分子分型,这些结果有助于发现潜在的胰腺癌治疗靶点,加深对胰腺肿瘤遗传基础的理解。

已证实部分肿瘤的发生与某些特定基因突变有关。安吉丽娜·朱莉(Anngelina-Jolie)事件中,就是由于发现了BRCA突变与乳腺癌、卵巢癌存在某种必然的联系。这一检测方式被称为生殖突变(germline mutation)检测,以确定患者是否携带遗传性肿瘤发病相关基因突变,从而做出遗传性肿瘤基因诊断。此外,还可对遗传性肿瘤患者的家人进行基因检测,找出突变基因携带者,在未发病前就提供癌症防治咨询和有效针对措施,这种检测的取样人群为肿瘤患者和正常家庭成员。当然,携带致病基因并非一定患病,并且通过改变生活习惯、健康锻炼和注重日常体检,可以做到延缓甚至避免肿瘤的发生。目前用基因检测预警遗传性肿瘤(如乳腺癌),准确率已经达到50%~80%。在精准医疗概念的背景下,肿瘤基因检测的确能对某些肿瘤诊疗及预后起到重要提示作用<sup>[13-14]</sup>。

PMCC是一种罕见的恶性肿瘤。DOULAMIS等<sup>[15]</sup>通过美国国家癌症研究所(NCI)SEER数据库回顾性分析了1988年至2012年确诊的PMCC患者数据,共发现507例PMCC患者,诊断年龄中位数为67岁,女性患者占68.4%。肿瘤主要以低级别(82.9%, I~II级)、胰腺体部/尾部(42.8%)为主。根据Kaplan-Meier曲线,局限性、区域转移和远处转移患者的生存率分别为111个月(95%CI: 82.5~139.5)和14个月(95%CI: 10.9~17.1)和4个月(95%CI: 2.9~5.1)。病灶局限患者1年生存率为90.1%,区域转移患者为56.7%,而远处转移患者为18.7%。因此,PMCC倾向于低级别肿瘤,局限于胰腺体尾部,肿瘤分期是疾病特异性独立生存预测因子。

本研究在4个PMCC患者样本中,观察到MUC家族MUC3A、MUC4、MUC16、MUC17和MUC19发生突变。MUC家族蛋白能够在肿瘤细胞周围形成保护层从而在胰腺肿瘤发病机制中起关键作用,并且与肿瘤细胞毒性药物的抗性、增殖、侵袭和转移有关<sup>[16]</sup>。近年来,已有研究把胰腺肿瘤中MUC家族蛋白异常作为潜在的药物靶点或预后生物标志物<sup>[17]</sup>。尽管MUC家族蛋白在胰腺癌中起重要作用,需谨慎

使用基因组检测数据,因为黏蛋白是具有长序列的大蛋白质,假阳性的可能性高。KRAS作为胰腺癌早期发生的主要驱动基因,其体细胞突变发生在近90%胰腺肿瘤中<sup>[18-20]</sup>。4例PMCC样本中有3例检测到KRAS基因K12热点突变率较高且特异性强,其联合肿瘤生物标志物检查有助于提高PMCC的诊断水平。在未来的研究中,将进一步扩大PMCC患者的样本量来进一步验证,以期能发现PMCC患者潜在的治疗靶点和生物标志物。

#### [参考文献]

- [1] DEL C M, BESSELINK M G, SCHOLTEN L, et al. European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms[J/OL]. *Gut*, 2018, 67(5): 789-804[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5890653/>. DOI:10.1136/gutjnl-2018-316027.
- [2] KANG C M, MATSUSHITA A, HWANG H K, et al. Experience-based surgical approach to pancreatic mucinous cystic neoplasms with ovarian-type stroma[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 2451-2458[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5777367/>. DOI:10.3892/ol.2017.7627.
- [3] FARRELL J J. Pancreatic cysts and guidelines[J]. *Dig Dis Sci*, 2017, 62(7): 1827-1839. DOI:10.1007/s10620-017-4571-5.
- [4] NILSSON L N, KEANE M G, SHAMALI A, et al. Nature and management of pancreatic mucinous cystic neoplasm (MCN): a systematic review of the literature[J]. *Pancreatology*, 2016, 16(6): 1028-1036. DOI:10.1016/j.pan.2016.09.011.
- [5] GARCES-DESCOVICH A, BEKER K, CASTILLO-ANGELES M, et al. Mucinous cystic neoplasms of the pancreas: high-resolution cross-sectional imaging features with clinico-pathologic correlation [J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2018, 43(6): 1413-1422. DOI:10.1007/s00261-017-1326-x.
- [6] COMPAGNO J, OERTEL J E. Mucinous cystic neoplasms of the pancreas with overt and latent malignancy (cystadenocarcinoma and cystadenoma). A clinicopathologic study of 41 cases[J]. *Am J Clin Pathol*, 1978, 69(6):573-580.
- [7] LAWRENCE M S, STOJANOV P, POLAK P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes [J / OL]. *Nature*, 2013, 499(7457): 214-218[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3919509/>. DOI:10.1038/nature12213.
- [8] BASHASHATI A, HAFFARI G, DING J R, et al. DriverNet: uncovering the impact of somatic driver mutations on transcriptional networks in cancer[J/OL]. *Genome Biol*, 2012, 13(12): R124[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4056374/>. DOI:10.1186/gb-2012-13-12-r124.
- [9] ZHOU R, SHI C J, TAO W J, et al. Analysis of mucosal melanoma whole-genome landscapes reveals clinically relevant genomic aberrations[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 2019: clincanres.3442.2018. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3442
- [10] RUSCH M, NAKITANDWE J, SHURTLEFF S, et al. Clinical cancer genomic profiling by three-platform sequencing of whole genome, whole exome and transcriptome[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3962[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6160438/>. DOI:10.1038/s41467-018-06485-7.
- [11] WADDELL N, PAJIC M, PATCH A M, et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer[J/OL]. *Nature*, 2015, 518(7540): 495-501[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4523082/>. DOI:10.1038/nature14169.
- [12] BAILEY P, CHANG D K, NONES K, et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2016, 531(7592): 47-52. DOI:10.1038/nature16965.
- [13] 陶晨洁, 杨光, 袁振刚, 等. 晚期胆管细胞癌患者相关信号通路及其变异与预后的关系[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(2): 220-224. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.02.013.
- [14] RAZAVI P, CHANG M T, XU G T, et al. The genomic landscape of endocrine-resistant advanced breast cancers[J / OL]. *Cancer Cell*, 2018, 34(3): 427-438. e6[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6327853/>. DOI:10.1016/j.ccell.2018.08.008.
- [15] DOULAMIS I P, MYLONAS K S, KALFOUNTZOS C E, et al. Pancreatic mucinous cystadenocarcinoma: epidemiology and outcomes[J]. *Int J Surg*, 2016, 35: 76-82. DOI: 10.1016/j.ijssu.2016.09.017.
- [16] SUH H, PILLAI K, MORRIS D L. Mucins in pancreatic cancer: biological role, implications in carcinogenesis and applications in diagnosis and therapy[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(6):1372-1383 [2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5489784/>.
- [17] JONCKHEERE N, SKRYPEK N, VAN SEUNINGEN I. Mucins and pancreatic cancer[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2010, 2(4): 1794-1812[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3840449/>. DOI:10.3390/cancers2041794.
- [18] WOOD L D, HRUBAN R H. Pathology and molecular genetics of pancreatic neoplasms[J]. *Cancer J*, 2012, 18(6): 492-501. DOI: 10.1097/PPO.0b013e31827459b6.
- [19] KAMERKAR S, LEBLEU V S, SUGIMOTO H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer[J / OL]. *Nature*, 2017, 546(7659): 498-503[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5538883/>. DOI:10.1038/nature22341.
- [20] MUELLER S, ENGLEITNER T, MARESCH R, et al. Evolutionary routes and KRAS dosage define pancreatic cancer phenotypes[J / OL]. *Nature*, 2018, 554(7690): 62-68[2019-02-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6097607/>. DOI: 10.1038/nature25459.

[收稿日期] 2019-02-27

[修回日期] 2019-03-25

[本文编辑] 党瑞山