二代测序获得胰腺癌患者肿瘤相关基因变异图谱分析

郁兰芳，牟海波，廖　琴，吴颖芳，胡　睿，华琼博，张碧燕，袁凯施
（树兰（杭州）医院，浙江 杭州 310000）

摘　要：［目的］了解胰腺癌患者的基因变异情况，为胰腺癌的个体化治疗提供探索依据。［方法］收集58例原发胰腺恶性肿瘤患者，利用二代基因测序技术（NGS）检测肿瘤组织和体细胞的基因变异情况，绘制基因变异图谱，并结合临床资料进行分析。［结果］53例胰腺腺癌患者中最常见的突变基因是 *KRAS*、*TP53*、*CDKN2A*、*SMAD4*、*ARID1A*、*RNF43*（突变发生频率在10%以上）等。原发灶和转移灶、不同性别的样本之间，基因变异基本相似。肿瘤相关重要通路，如MAPK通路变异89.0%，G_1/S通路变异84.9%，HRD相关通路变异17.0%，TGF-β信号通路变异35.8%，SWI/SNF复合物通路变异46.0%。其中54.7%的患者至少有1个潜在可用药靶点。免疫生物标志物方面高肿瘤突变负荷（TMB-H）占1/52（1.9%），可分析的52例患者全部为微卫星稳定（MSS）。［结论］该研究中胰腺癌患者的全肿瘤相关基因测序情况，在主要的突变基因和潜在可用药靶点基因上，与国外报道相似，少数低频率突变的基因差异有待扩大样本量进一步验证。超50%的患者存在潜在可用药靶点，为胰腺癌的靶向免疫治疗提供了个体化治疗依据。

关键词：胰腺癌；全基因组测序；靶向治疗；免疫治疗
中图分类号：R735.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1004-0242(2019)09-0710-08
doi：10.11735/j.issn.1004-0242.2019.09.A013

Tumor-related Gene Mutation Profile of Pancreatic Cancer Detected with Second Generation Sequencing

YU Lan-fang，MOU Hai-bo，LIAO Qin，WU Ying-fang，HU Rui，HUA Qiong-bo，Zhang Bi-yan，YUAN Kai-shi
（Shulan (Hangzhou) Hospital，Hangzhou 310000，China）

Abstract：［Purpose］To detect the tumor-related gene mutations of pancreatic cancer. ［Methods］Tissue and blood samples were collected from 58 patients with primary pancreatic carcinoma. The gene mutation profile of tumor tissues was detected with the next generation sequencing(NGS)，and the clinical data was analyzed. ［Results］*KRAS*，*TP53*，*CDKN2A/B*，*SMAD4*，*ARID1A* and *RNF43* were the most common mutations in the 53 cases of pancreatic adenocarcinoma. The distribution of gene variations was similar between primary and metastatic lesions，also between male and female patients. About the important tumor regulatory pathways，there were 89.0% of patients containing variations of MAPK pathway，84.9% variations of G_1/S pathway，17.0% variations of homologous recombination defect (HRD) related pathway，35.8% variations of TGF-β signaling pathway，and 46.0% variations of SWI/SNF complex pathway. About 54.7% of these patients had at least one potential drug target. High tumor mutational burden (TMB-H)(1/52，1.9%) was detected in terms of immunoassay points，all patients were microsatellite stability(MSS)(52/52). ［Conclusion］In terms of the major mutant genes and potential drug target genes，the genomic landscape of pancreatic cancer patients in the study is similar to that as reported in literature. The differences of a few low-frequency mutations need to be further verified by expanding the sample size. More than 50% of patients have potential actionable mutations，which provide a basis for individualized treatment of pancreatic cancer.

Key words：pancreatic cancer; whole genome sequencing; targeted therapy; immunotherapy

胰腺癌是难治性恶性肿瘤之一，主要源于其发病隐匿、初诊时绝大多数已处于晚期或疾病晚期治疗有效率低等原因。近年来靶向药物、免疫检查点抑制剂在多种实体瘤中得到有效运用，但在胰腺癌治

收稿日期：2019-04-09；修回日期：2019-07-08
通信作者：郁兰芳，E-mail：ylfang939@163.com

疗中却难有突破性的进展，美国最新的癌症统计报道胰腺癌总体疾病5年生存率仅9%[1]。

随着基因检测技术的发展和二代基因测序的广泛应用，越来越多的肿瘤已得益于针对特定驱动基因的靶向药物，一些少见基因的突变也使肿瘤的治疗真正进入了个体化的精准治疗时代。在国外，已经有多篇文章展现了胰腺癌的基因图谱和基因突变的频率，为胰腺癌今后可能的治疗策略提供了探索的依据。

本文通过对58例胰腺恶性肿瘤患者进行全肿瘤相关基因测序，选出突变基因及潜在可用药靶点，通过对比，初步了解国内胰腺癌患者的基因突变图谱，为胰腺癌的精准治疗提供探索的依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本文汇总了2017年1月至2019年1月树兰(杭州)医院就诊的58例胰腺恶性肿瘤患者，对其进行了肿瘤样本+血液对照样本的二代基因测序。患者的中位年龄58(52~86)岁，男性37例，女性21例，其中53例为胰腺腺癌，5例为神经内分泌肿瘤，肿瘤组织标本原发灶36例，转移灶22例。

1.2 试剂与方法

1.2.1 杂交选择和测序

利用杂交捕获方法进行肿瘤基因检测，将长度120bp的合成5′-生物素标记DNA引物，与2.6Mb的患者基因组文库（包含肿瘤相关基因的外显子和特定内含子）结合。杂交捕获过程采用“xGen® Lockdown® Probes and Reagents” (Integrated DNA Technologies，Version 3)。将捕获后的文库变性、稀释，进行测序。测序错误率的评价采用PhiX作为对照，测量0~4级错配序列的百分数[2]。

1.2.2 单核苷酸变异(single nucleotide variants，SNV)和插入缺失的生物信息学分析

用Burrow-Wheeler Aligner（BWA，v0.6.2)软件将测序数据与人基因组（hg19）序列比对，随后用MarkDuplicates软件去除PCR重复产物。SNV的区域重组以及碱基质量校准过程，采用GATK以及MUTECT算法。

1.2.3 拷贝数变异（copy number variation，CNV)生物信息学分析

CNV的检测用EXCAVATOR软件比对序列(v2.2)。计算肿瘤样本和血液对照样本测序深度的对数比(log ratio)，再用ASCAT方法将单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism，SNP)位点的丰度与肿瘤细胞中的等位基因进行对比。

1.2.4 基因融合/重排(fusion/rearrangement)的生物信息学分析

在融合/重排检测过程中，携带异常插入长度的序列与对照序列，会被收集并作为非整合序列，继续分析，例如：无法与人基因组严格对齐的双端测序序列，两条序列会分别来自同个或不同染色体。这些携带少于500bp非整合区域的序列，会进一步用fermi-lite进行聚类分析，找到潜在的重排断点。这些断点会在BLAT中重复确认，得到的嵌合体基因会用来注释和临床分析。

1.2.5 肿瘤相关基因突变

肿瘤相关基因变异的统计，排除了无意义突变(VUS)和低频突变(VAF<0.1)。肿瘤相关基因变异的定义如下：①已知致病突变(known pathogenic)：有明确功能研究支持该突变与肿瘤发生、发展、耐药相关；②可能的致病突变(likely pathogenic)：有明确功能研究支持相同位点的其他突变与肿瘤的发生、发展、耐药相关；③确认的体细胞突变(confirmed somatic)：在COSMIC和OncoKB数据库中，该变异在任意瘤种中出现过至少一次。

1.2.6 肿瘤突变负荷(tumor mutational burden，TMB)

通过统计每兆碱基(Mb)中体细胞突变，包括SNV、indel的个数，计算TMB。计数中排除了驱动变异和胚系变异(包括dbSNP数据库记录的，以及患者血液对照中的胚系变异)。我们依据TMB值归为TMB-L(<10muts/Mb)和TMB-H(≥10muts/Mb)[3-4]。

1.2.7 微卫星不稳定(microsatellite stability，MSI)

我们在所有可测定TMB的样本中，均检测了MSI状态。基于MSI得分，样本被分为3种状态，分别是MSI-H：在微卫星区域存在2个或2个以上不稳定位点；MSI-L：在微卫星区域存在1个不稳定位点；MSS：在微卫星区域不存在不稳定位点，即微卫星稳定。所有MSI-H的样本都经过PCR验证。

1.3 统计学处理

统计分析采用IBM SPSS version 24.0，$P<0.05$

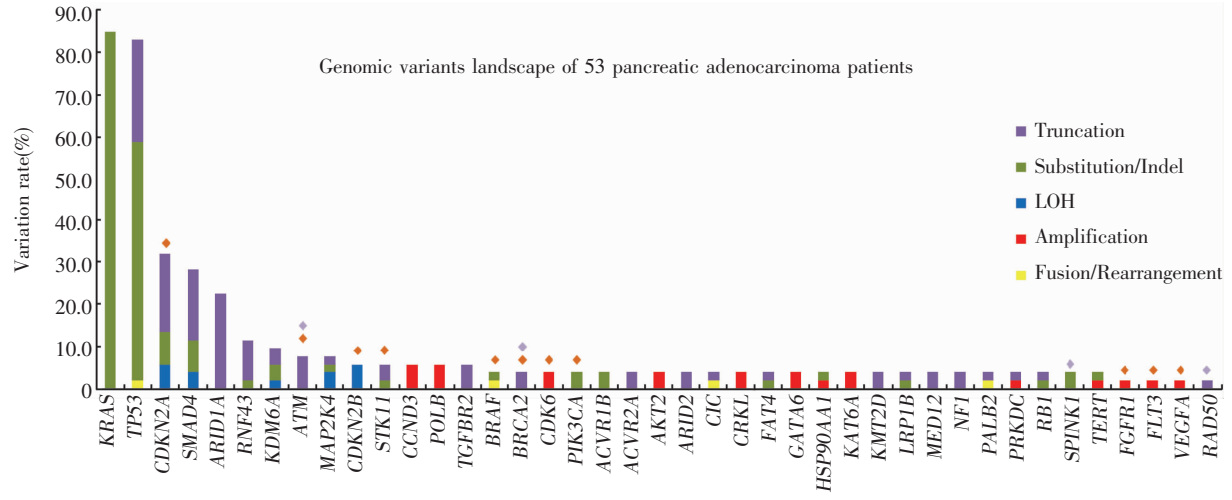
视为差异有统计学意义。我们用 Chi-square 和 Fisher 方法检验绝对变量，用 Kruskal-Wallis 方法检验连续变量。

2 结 果

2.1 胰腺肿瘤整体基因组变异分析

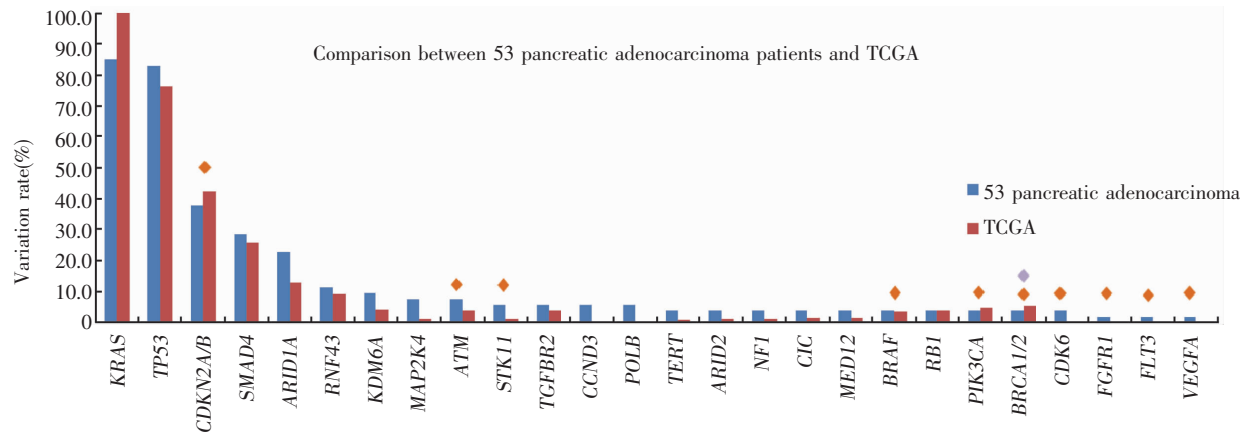
我们利用 NGS 技术对 58 例胰腺恶性肿瘤患者的 466 个基因进行测序，结果显示：53 例胰腺腺癌患者共出现 270 个变异位点，5 例神经内分泌肿瘤中有 33 个位点纳入统计。所有患者中一共发现 96 个基因产生突变。53 例胰腺腺癌患者基因组的检测结果显示，最常见的突变基因是 *KRAS*(84.9%)、*TP53*(83.0%)、*CDKN2A/B*(37.7%)、*SMAD4*(28.3%)、*ARID1A*(22.6%)等(Figure 1)。将胰腺腺癌患者可用靶向治疗的热点变异与 TCGA 数据 (369 例样本，MSKCC，*Nat Med* 2017) 的数据对比，显示出差异，如：*CDKN2A/B* (37.7% *vs* 42.3%)，*ATM*(7.5% *vs* 3.8%)，*STK11*(5.7% *vs* 1.1%)，*BRCA2*(3.8% *vs* 5.4%)(Figure 2)。

所有胰腺腺癌患者中，54.7%的患者 (29/53)至少有 1 个潜在可用药靶点，包括 *ATM*、*BRCA2*、*BRAF*、*CCND1*、*CDKN2A/B*、*CDK6*、*PIK3CA*、*FGFR1*、*FLT3*、*STK11*、*VEGFA* 以及 *PD-L1* 表达阳性。7 例患者(7/53，13.2%)检测到可遗传的有害胚系变异，包



Note：The druggable mutations and germline mutations are signed as asterisks of orange "◆"and purple"◆"，respectively.

Figure 1 Genomic profiling of 53 pancreatic adenocarcinoma patients：the long tail chart presents tumor hotspot genomic variations appearing more than twice



Note：The druggable mutations and germline mutations are signed as asterisks of orange "◆"and purple"◆"，respectively.

Figure 2 Long tail chart exhibits comparison of pancreatic adenocarcinoma patients between our center and TCGA

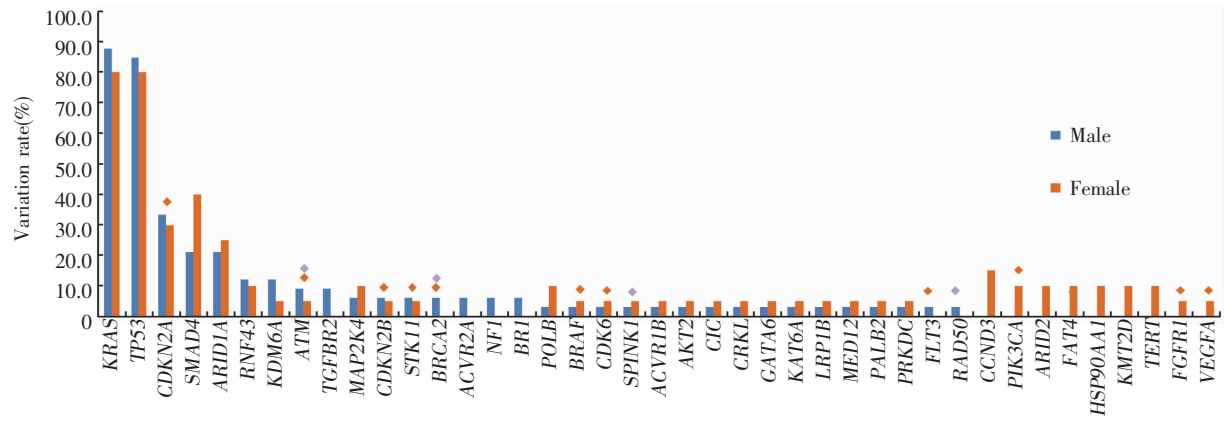
括 3 例患者携带 *ATM*，2 例 *SPINK1*，1 例 *BRCA2*，1 例 *RAD50*，其中 *ATM*、*BRCA2*、*RAD50* 携带同源重组缺陷(homologous recombination defect，HRD)胚系变异。对 5 例胰腺神经内分泌肿瘤的基因变异分析中，发现 2 例患者出现了 *TP53*、*RB1*、*CCNE1*、*MEN1* 的变异，仅 1 例患者出现 *KRAS* 突变，分别在 1 例患者中发现了潜在可用药靶点 *STK11*、*BRAF* 突变，未见胚系变异。由于病例数少，无基因变异趋势。

2.2 性别、组织来源、生活习惯引起基因变异差异分析

在 53 例胰腺腺癌患者样本中，男性 33 例，女性 20 例，我们针对性别作了基因分析对比，结果显示在高频率突变中，只有 *SMAD4* 基因突变概率女性高于男性（男 21.2% *vs* 女 40.0%，*P*=0.21）(Figure 3)。靶向用药热点基因中，*BRCA2*、*FLT3* 突变仅发现在男性患者中，而 *FGFR1*、*PIK3CA*、*VEGFA* 仅在女性患者中检测到，但由于突变概率和样本人群的限制，数据有待进一步补充。

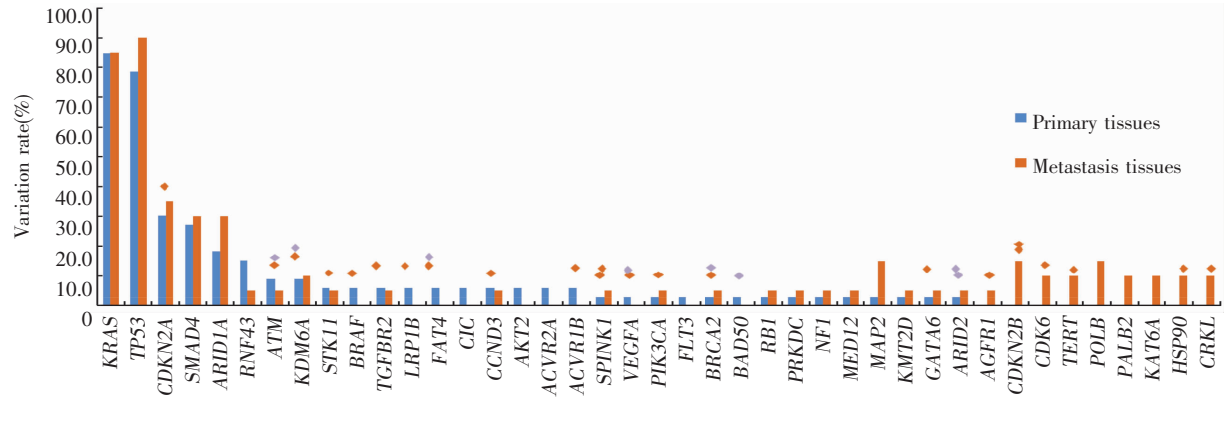
从组织标本来源分析，33 例胰腺腺癌样本来源于胰腺原发灶，20 例来源于转移灶，在靶向用药热点基因研究中，2 例 *BRAF* 突变，1 例 *VEGFA* 突变，1 例 *FLT3* 突变出现在原发灶标本中，而 1 例 *FGFR1* 突变，3 例 *CDKN2B* 突变，2 例 *CDK6* 突变仅在转移灶组织中发现(Figure 4)。

我们对患者的临床信息进行了汇总分析，在 48 例吸烟、饮酒信息明确的腺癌患者中，34 例不吸烟、14 例吸烟；38 例不饮酒、10 例饮酒。基因组分析结果显示，主要的高频率突变基因类似，由于样本量较



Note：The druggable mutations and germline mutations are signed as asterisks of orange“◆”and purple，“◆” respectively.

Figure 3　Comparison of mutation profile between male and female patients



Note：The druggable mutations and germline mutations are signed as asterisks of orange“◆”and purple“◆”，respectively.

Figure 4　Comparison between lesions of primary and metastasis

少，对于可能用药靶点和胚系基因突变的差异无法统计。

2.3 胰腺癌的肿瘤相关信号通路变异分析

信号通路变异在胰腺癌的发病发展以及探索治疗靶点上起了非常重要的作用。在本研究中，热图(信号通路的归类方法基于 KEGG 数据库，用 R 语言绘制热图)中显示了主要肿瘤相关信号通路，如图 5(Figure 5)所示：89.0%的患者中出现 MAPK 通路相关基因变异(*KRAS/MAP2K4/BRAF/MAP2K1*)，G_1/S 通路(*TP53/CDNK2A/TP53BP2*)变异占 84.9%，HRD 相关基因 (*BRCA1/BRCA2/ATM/PALB2*) 变异占 17.0%，TGF-β 信号通路(*SMAD4/SMAD3/TGFBR1/TGFBR2/ACVR1B/ACVR2A*)变异 35.8%，SWI/SNF 复合物通路(*ARID1A/PBRM1/SMARCA4*)变异 46.0%。

2.4 免疫检查点抑制剂相关预测指标检测分析

我们对免疫治疗相关的预测指标 TMB、MSI 状态(NGS，具体方法如前所述)、PD-L1(IHC，PD-L1 抗体：clone 28-8；Cat#ab205921；Abcam)表达率也进行了检测分析，结果发现在 52 例可统计分析的胰腺腺癌患者中，仅 1 例为 TMB-H，所有患者为 MSS，有 6 例患者进行了 PD-L1 检测 (肿瘤细胞阳性比例 TPS≥1%定义为阳性)，1 例为 PD-L1 20%表达，其余阴性结果。

3 讨 论

约 80%的胰腺癌在就诊时已属于晚期或局部晚期，在过去的二三十年里，以吉西他滨、氟尿嘧啶类为主的联合化疗仍然是晚期胰腺癌的主要治疗手段，作为一线标准化疗的两药联合方案，吉西他滨联合白蛋白紫杉醇治疗后的中位生存期为 8.5 个月[5]，三药联合化疗 FOLFIRINOX 方案也仅为 10.2 个月[6]，中位生存期均不超过 1 年。基因检测技术以及分子靶向药物、免疫治疗的进展，为胰腺癌的精准治疗带来了一丝曙光。本文运用二代基因测序方法，分析了 58 例胰腺恶性肿瘤的基因突变谱，探讨胰腺癌可能的用药靶点以及国内外胰腺癌的基因突变规律。从分析结果看，在前 4 种发生频率较高的基因上，*KRAS*、*TP53*、*CDKN2A*、*SMAD4*，和西方人群的报道是一致的，都是研究相对较多的这 4 种基因。对于胰

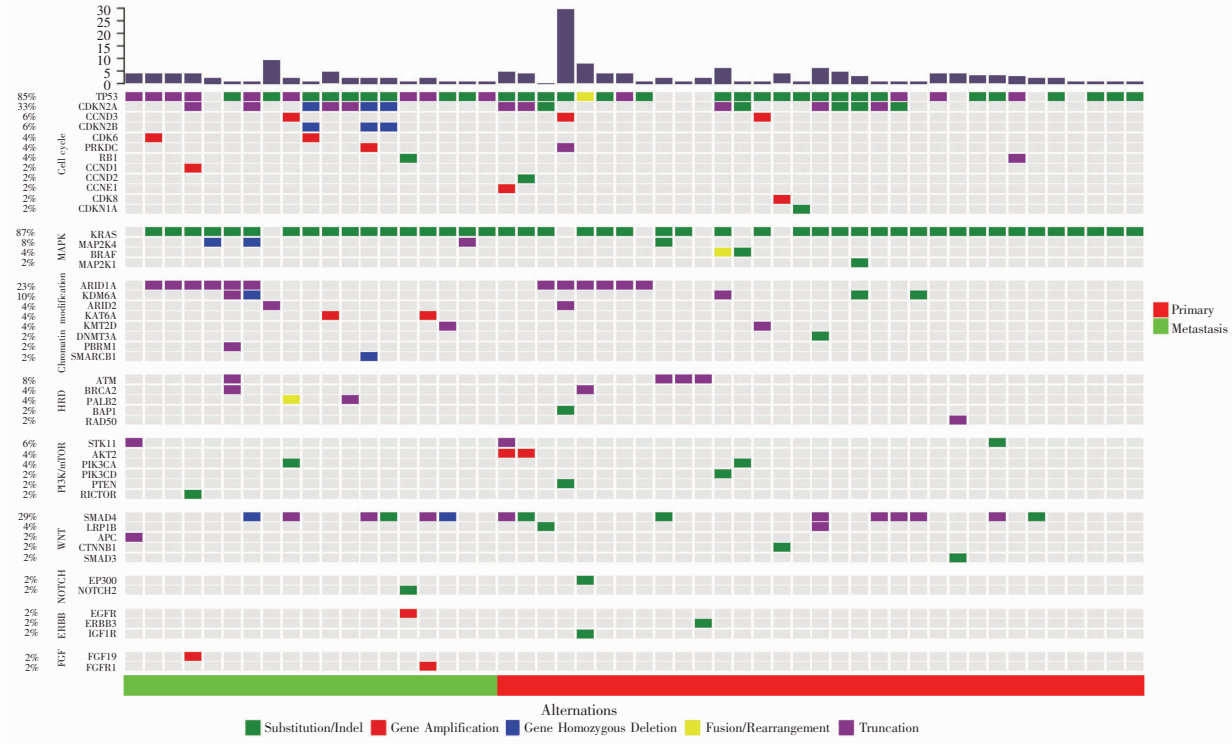


Figure 5 Heat map reflects variants in pancreatic cancer relevant signal pathways(TMB values of the 52 adenocarcinoma patients present as the bar chart above)

腺癌全基因组分析驱动基因的探讨，早在2008年Jones等[7]就有报道，到目前为止，已经有多篇文章相继报道了西方人群的胰腺癌基因谱[8-10]。在前4种突变基因中，目前潜在可用药的靶点为*CDKN2A*，本研究中的报道变异率为37.7%。*CDKN2A*是一个抑癌基因，编码细胞周期依赖性激酶抑制蛋白2A，*CDKN2A*的功能缺失可导致CDK2/4/6激活，因此CDK抑制剂可能作为*CDKN2A*基因变异肿瘤的治疗选择。Franco等[11]曾报道体外实验中胰腺癌细胞株对CDK抑制剂不同的疗效反应，并探讨了可能的耐药机制以及联合用药的可能性。但缺乏临床数据的相关报道。*KRAS*是胰腺癌中最常见的突变基因，突变率国外报道在90.0%以上，主要位点位于外显子12，本研究中*KRAS*的变异率为84.9%，略低于国外报道数据。目前尚无FDA批准的针对*KRAS*突变的靶向药物。但通过阻断*KRAS*下游信号通路中的MEK抑制剂，在体外实验中，与CDK抑制剂联用有抑制胰腺癌细胞株增殖作用[12]。在另一项动物研究中，发现MEK抑制剂联合吉西他滨可能抑制裸鼠移植瘤的生长[13]。对于另两种变异基因*TP53*和*SMAD4*，目前无靶向抗肿瘤药物，但有关的研究仍在继续中。Qian教授等[14]在2017发表的文章中报道了这4种驱动基因对胰腺癌预后的影响，指出*KRAS*突变、*CDKN2A*的缺失表达以及*TP53*的改变可能与胰腺癌的短的无病生存期和总生存期有关，同时指出有4个或更多基因突变的胰腺癌患者相较于更少突变的人群预后更差。而在国内文章中，有关*KRAS*与胰腺癌的发生、进展的相关性研究最多。由于随访数据的缺失，本文未统计其与预后相关性。

本研究发现54.7%患者至少存在1个潜在可用药靶点，这些靶点包括*ATM*、*BRCA2*、*BRAF*、*CCND1*、*CDKN2A/B*、*CDK6*、*PIK3CA*、*FGFR1*、*FLT3*、*VEGFA*以及*PD-L1*表达，其中52.8%有FDA批准的上市药物。在发现的可用药靶点中，除了*CDKN2A*检测到的突变概率大于30%以外，多数胰腺癌用药靶点的突变频率不高。由于低突变率，对于某些靶向药物在胰腺癌中的有效性验证就比较难发现，这也许是导致胰腺癌的靶向治疗突破性进展鲜有报道的原因之一。本研究中发现了7例(13.2%)可遗传的致病性变异，临床回顾与肿瘤家族史未见明显相关性。有报道双链DNA损伤修复（repair of double stranded dna damage，dsDDR)胚系突变的患者可能有更长的生存期[15]。*BRCA*变异的胰腺癌对铂类化疗相对敏感。目前针对*BRCA*突变的PARP抑制剂在胰腺癌中的研究也有报道，Kaufman等[18]在2015报道了23例吉西他滨失败后使用奥拉帕利单药治疗，无进展生存期4.6个月，总生存达到9.8个月[16]。一项*BRCA*胚系变异的胰腺癌患者一线铂类治疗未进展的患者奥拉帕利维持治疗的Ⅲ期临床试验POLO试验已有初步报告，与安慰剂对比，奥拉帕利维持治疗可显著延长无进展生存期。

对于胰腺神经内分泌肿瘤的基因谱研究，发现基因谱与胰腺导管腺癌之间有明显不同，*KRAS*的变异率(1/5，20.0%)要低于胰腺癌患者，但因病例数较少，无分布频率及趋势分析。国内文章中仅少数单基因分析报道，*TP53*、*RB1*、*CCNE1*、*MEN1*等主要基因的变异和国外报道中相似[17,18]。另外本研究中发现了*STK11*、*BRAF*变异。在国外研究中有个例报道十二指肠神经内分泌肿瘤存患者存在*BRAF* V600E突变，以及1例胰腺神经内分泌肿瘤存在*BRAF* G593S变异[19]。而我们检测到的为*BRAF* R462K变异，目前未见国内外有关该基因变异的具体功能研究。*STK11*参与mTOR信号通路，这也意味着mTOR抑制剂依维莫司可能对该基因突变的患者有效。有个例报道*STK11*突变的多线治疗后的垂体瘤患者使用放疗联合依维莫司获得了超过6个月以上的稳定[20]。另1例伴Peutz-Jeghers综合征(家族性黏膜皮肤色素沉着胃肠道息肉病) 的胰腺癌患者，检测到*STK11*变异，使用依维莫司治疗获得了部分缓解[21]。这可能可为我们临床提供更精准的用药参考。

本研究中还分析了不同性别、组织标本来源以及吸烟饮酒生活习惯对于胰腺癌的基因谱分布情况，在*KRAS*、*TP53*、*CDKN2A/B*、*SMAD4*、*ARID1A*前5种主要基因上变异频率的分布相似。在少见基因变异上，尤其男女性别上有一定差异，有待扩大样本进一步研究证实。

本研究中胰腺癌信号通路变异率15%以上的有MAPK通路(89.0%)，G_1/S通路(84.9%)，SWI/SNF复合物通路（46.0%)，TGF-β信号通路（35.8%)，HRD通路(17.0%)。与国外报道类似[10,22]。目前国内外关于信号转导通路的研究，认为其机制主要通过参与调控细胞增殖凋亡、肿瘤新生血管形成、免疫微

环境等，从而促进肿瘤的发生、发展。随着对胰腺肿瘤信号通路作用机制的深入研究，某些信号通路或相关基因的变异可能成为肿瘤治疗研究的新的热点和靶点。

近几年，免疫治疗成为抗肿瘤治疗的新热点，尤其 PD-1、PD-L1 抑制剂的问世，在多种实体肿瘤中取得了较好的疗效，然而在胰腺癌治疗上却少有进展。本研究针对目前免疫治疗几个相关疗效预测指标进行了检测，结果在 52 例有 TMB 数据胰腺腺癌中，仅 1 例为 TMB-H(29.5 muts/Mb)(1.9%)，所有患者为 MSS，6 例检测 PD-L1 的患者中仅 1 例为 PD-L1 20% 阳性。国外报道中通过 PCR、免疫组化、基因检测方法检测到 MSI-H 或 dMMR 的概率为 0~22%[23]，TMB-H 的报道比例 0.5%（该报道中 TMB-H 的定义为≥20 muts/Mb）[24]。这也提示了针对 PD-1、PD-L1 抑制剂的几个目前相关疗效预测指标阳性概率不高。这也许能部分解释胰腺癌患者对目前的抗 PD-1 治疗效果欠佳的情况，当然这也与胰腺组织的特殊结构、微环境有关[25]。除了上述几项指标，最近 ESMO 报道了实体肿瘤中 *BRCA2*、*NFE2L2*、*NOTCH1*、*ARID1A* 任一种出现体细胞变异，相对于野生型均表现出了对 PD-L1 抑制剂 Durvalumab 的高反应率，并且这 4 种基因存在变异的患者绝大多数为 PD-L1 低表达以及 TMB-L 的患者[26]。而在另一篇文章中报道显示胃癌组织中 *ARID1A* 的缺失变异与 PD-L1 的高表达率有关[27]。综合上述两篇报道，提示 *ARID1A* 的基因变异可能与肿瘤的免疫治疗存在相关性。而 *ARID1A* 的变异频率在胰腺肿瘤中排在第 5 位，本研究中的突变频率高达 22.6%，国外 TCGA 数据库为 13%，这为胰腺肿瘤的免疫治疗带来了希望。临床研究中既往报道单药 PD-1、PD-L1 抑制剂治疗胰腺癌效果欠佳，最近有研究提示帕姆单抗联合吉西他滨加白蛋白紫杉醇治疗胰腺癌较单纯联合化疗治疗有效性有提高[28]。因此，*ARID1A* 基因以及联合用药可能成为胰腺癌免疫治疗新的突破口。

本研究报道了本中心胰腺癌患者的全基因测序情况，在主要的突变基因和潜在可用药靶点基因上，与 TCGA 数据相似。对组织学类型、性别、吸烟、饮酒、组织标本来源上做了初步探讨，少数低频率突变的基因差异有待扩大样本量进一步验证。本研究结果为胰腺癌的个体化靶向免疫治疗提供了参考和进一步探索的依据。

参考文献：

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7–34.

[2] Manley LJ, Ma D, Levine SS. Monitoring error rates in illumina sequencing[J]. J Biomol Tech, 2016, 27(4): 125–128.

[3] Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden[J]. N Engl J Med, 2018, 378(22): 2093–2104.

[4] Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial[J]. Lancet Oncol, 2015, 16(3): 257–265.

[5] Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, et al. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine [J]. N Engl J Med, 2013, 369(18): 1691–1703.

[6] Conroy T, Paillot B, Francois E, et al. Irinotecan plus oxaliplatin and leucovorin-modulated fluorouracil in advanced pancreatic cancer-a Groupe Tumeurs Digestives of the Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer study[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(6): 1228–1236.

[7] Jones S, Zhang X, Parsons DW, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses[J].Science, 2008, 321(5897): 1801–1806.

[8] Lowery MA, Jordan EJ, Basturk O, et al. Real time genomic profiling of pancreatic ductal adenocarcinoma: potential actionability and correlation with clinical phenotype [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(20): 6094–6100.

[9] Waddell N, Pajic M, Patch AM, et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer[J]. Nature, 2015, 518(7540): 495–501.

[10] Witkiewicz AK, Mcmillan EA, Balaji U, et al. Whole-exome sequencing of pancreatic cancer defines genetic diversity and therapeutic targets[J]. Nat Commun, 2015, 6: 6744.

[11] Franco J, Witkiewicz AK, Knudsen ES . CDK4/6 inhibitors have potent activity in combination with pathway selective therapeutic agents in models of pancreatic cancer [J]. Oncotarget, 2014, 5(15): 6512–6525.

[12] Maust JD, Frankowski-McGregor CL, Bankhead A 3rd, et al. Cyclooxygenase-2 influences response to cotargeting of MEK and CDK4/6 in a subpopulation of pancreatic cancers[J]. Mol Cancer Ther, 2018, 17(12): 2495–2506.

[13] Kawaguchi K, Igarashi K, Miyake K, et al. MEK inhibitor

trametinib in combination with gemcitabine regresses a patient-derived orthotopic xenograft (PDOX) pancreatic cancer nude mouse model tissue cell [J]. Tissue Cell, 2018,52:124-128.

[14] Qian ZR,Rubinson DA,Nowak JA,et al. Association of alterations in main driver genes with outcomes of patients with resected pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. JAMA Oncol,2018,4(3):e173420.

[15] Yurgelun MB,Chittenden AB,Morales-Oyarvide V,et al. Germline cancer susceptibility gene variants,somatic second hits,and survival outcomes in patients with resected pancreatic cancer[J].Genet Med,2019,21(1):213-223.

[16] Kaufman B,Shapirafrommer R,Schmutzler R K,et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation [J]. J Clin Oncol,2015,33(3):244-250.

[17] Wong HL,Yang KC,Shen Y,et al. Molecular characterisation of metastatic pancreatic neuroendocrine tumours (PNETs) using whole genome and transcriptome sequencing [J]. Cold Spring HarbMol Case Stud,2017,4(1):mcs.a002329.

[18] Scarpa A,Chang DK,Nones K,et al. Whole-genome landscape of pancreatic neuroendocrine tumours [J]. Nature, 2017,543(7643):65-71.

[19] Park C,Ha SY,Kim ST,et al. Identification of the BRAF V600E mutation in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors[J]. Oncotarget,2016,7(4):4024-4035.

[20] Donovan LE,Arnal AV,Wang SH,et al. Widely metastatic atypical pituitary adenoma with mTOR pathway STK11 (F298L) mutation treated with everolimus therapy [J]. CNS Oncol,2016,5(4):203-209.

[21] Klumpen HJ,Queiroz KCS,Spek CA,et al. mTOR Inhibitor treatment of pancreatic cancer in a patient with Peutz-Jeghers syndrome[J]. J Clin Oncol,2011,29(6):e150-e153.

[22] Waddell N,Pajic M,Patch A M,et al.Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer[J]. Nature,2015,518(7540):495-501.

[23] Hu ZI,Shia J,Stadler ZK,et al. Evaluating mismatch repair deficiency in pancreatic adenocarcinoma:challenges and recommendations [J]. Clin Cancer Res,2018,24(6):1326-1336.

[24] Singhi AD,George B,Greenbowe JR,et al. Real-time targeted genome profile analysis of pancreatic ductal adenocarcinomas identifies genetic alterations that might be targeted with existing drugs or used as biomarkers [J]. Gastroenterology,2019 Mar 2. [Epub ahead of print]

[25] Liu WZ,Hu Y,Zhang C. Advances in tumor microenvironment and immunotherapy of pancreatic cancer [J]. Chinese Journal of Immunology,2018,12:1901-1906. [刘文增,胡渊,张彩. 胰腺癌的肿瘤微环境及其免疫治疗研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2018,12:1901-1906.]

[26] Kuziora M,Si H,Higgs B,et al. Somatic mutations in BRCA2,NFE2L2,ARID1A and NOTCH1 sensitize to anti-PDL1 therapy in multiple tumor types [J].Ann Oncol, 2018,29(Suppl 10):mdy493.001.

[27] Kim YB,Ahn JM,Bae WJ,et al. Functional loss of ARID1A is tightly associated with high PD-L1 expression in gastric cancer [J]. Int J Cancer,2019 Jan 21. doi:10.1002/ijc.32140. [Epub ahead of print]

[28] Weiss GJ,Blaydorn L,Beck J,et al. Phase Ⅰb/Ⅱ study of gemcitabine,nab-paclitaxel,and pembrolizumab in metastatic pancreatic adenocarcinoma[J]. Invest New Drugs,2018,36(1):96-102.

撤稿公告

《中国肿瘤》2018年第8期第619-625页发表的陕西省人民医院(第一作者/通信作者段宝军)的论文“质谱筛选结直肠癌潜在血清标志物的研究”,第一作者/通信作者于2019年7月28日致函本刊编辑部,提出“在随后的研究中发现该论文质谱研究中使用的数据分析软件存在一些客观错误,可能导致质谱数据的分析结果可信度存疑”,对该文申请撤稿。经编辑部审核,现对该文予以撤稿,并通知中国知网撤销该文的所有相关数据。由此引起的一切后果,由该文第一作者/通信作者承担。特此公告。

《中国肿瘤》编辑部