

结直肠癌肝转移发生的相关信号通路研究进展

包莹, 曹培国

(中南大学湘雅三医院, 湖南 长沙 410013)

摘要: 结直肠癌是一种常见的恶性肿瘤, 而结直肠癌肝转移是导致患者死亡的主要原因之一, 目前的治疗对结直肠癌肝转移仍十分有限。肿瘤转移是一个多基因、多步骤的过程, 多种信号通路如 Wnt/ β -catenin、HGF/c-MET、PI3K/Akt/mTOR、RAS-ERK、TGF- β /SMAD 等及相关基因均参与了结直肠癌肝转移的发生, 靶向相关通路或基因的治疗可能可以减少患者的死亡率。已有研究证实, 上皮-间充质转化是肿瘤发生转移的重要步骤之一, 而上述多种信号通路均在此过程中发挥作用。全文就与结直肠癌肝转移相关的多种信号通路研究进展进行综述, 以期找到新型抗癌药物的潜在靶点提供依据。

关键词: 结直肠癌; 肝转移; 信号通路; 基因; 上皮-间充质转化

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2020)02-0134-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.02.A009

Advance in Research on Signaling Pathways in Colorectal Cancer with Liver Metastasis

BAO Ying, CAO Pei-guo

(The Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract: Colorectal cancer(CRC) is a common malignant tumor. And colorectal cancer liver metastasis(CRCLM) is one of the main causes of death for CRC patients. But there is no effective treatment for this metastasis process. Tumor metastasis is a polygenic and multi-steps process. Various signaling pathways, such as Wnt/ β -catenin, HGF/c-MET, PI3K/Akt/mTOR, RAS-ERK, TGF- β /SMAD and related genes are involved in the occurrence of CRCLM. Targeting these signaling pathways and related genes may reduce mortality of patients. Studies have confirmed that epithelial-to-mesenchymal transition is one of the most important steps of tumor metastasis, and all the signaling pathways discussed previously play a role in this progression process. In this article, the current researches of signaling pathways related to colorectal cancer liver metastasis are reviewed in order to provide evidence to find the potential targets of new anticancer drugs.

Key words: colorectal cancer; liver metastasis; signaling pathway; gene; epithelial-to-mesenchymal transition

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化道恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在全球分别居第3位和第2位^[1]。结直肠癌肝转移(colorectal cancer liver metastasis, CRCLM)是导致结直肠癌患者死亡的主要原因之一^[2], 几乎50%的患者在疾病发生过程中会出现肝转移, 25%的患者在初诊时即发现有肝转移^[3]。尽管近年来结直肠癌肝转移的诊断和治疗手段有了很大的改善, 但患者的总生存率

并没有显著提升^[4]。迄今为止, 手术切除转移灶仍是首选治疗方案, 5年生存率可达55%^[5], 但由于发病隐匿, 目前检测手段如肝脏超声、肝脏CT/MRI及PET-CT等难以及早发现转移病灶, 往往在诊断时患者已失去手术机会, 极大地影响了患者的预后。且由于个体差异, 同一分期的患者预后也可能不同, 因此, 从基因水平寻找与CRC转移有关的一系列变化, 探讨结直肠癌肝转移发生、发展的分子机制, 对发现新的治疗靶点有重要意义。

肿瘤转移是从原发肿瘤分离出来, 浸润周围组

收稿日期: 2019-11-01

通信作者: 曹培国, E-mail: xy3caopg@csu.edu.cn

织后进入循环系统,在远处定植和存活的一系列步骤^[6],是一个多基因、多步骤参与的过程,多种基因及相关信号通路均参与了此过程。近年来,上皮-间充质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)一直是肝转移机制的研究热点^[7],发生 EMT 时,上皮细胞标志物 E-cadherin 下调,而间充质标志物 Vimentin 和 N-cadherin 通过调节多种 EMT 相关信号通路表达上调^[8],使上皮细胞失去极性、细胞间连接分解、细胞间黏附力消失并获得间充质表型。获得间充质状态则增强了细胞的迁移和侵袭能力,并且可防止细胞衰老和凋亡,从而使其在转移开始过程中发挥作用^[9],已有研究表明多种信号通路均参与了此过程^[7,10-15]。随着高通量测序的技术发展,人们在基因水平有更深入的了解,可以通过此技术在肿瘤样本中进行更高层次的分析,以便寻找致癌过程中重要的基因。目前 CRCLM 的发生机制尚未完全明确,多基因、多信号通路均可导致 CRCLM 的发生,因此从多种信号通路的基因水平了解 CRCLM 发生的驱动因素受到了多方关注,本文就与此相关的信号通路综述如下。

1 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt 信号通路的多种组成部分,在包括 CRC 在内的多种恶性肿瘤中常发生突变和/或过度表达。有报道称 90% 以上的 CRC 与 Wnt 信号通路有关^[16]。经典 Wnt 通路可以启动自分泌信号,来保护癌细胞免受细胞毒性等抗癌药物的影响而发生凋亡^[17],抑制此通路的信号转导可引出耐药癌细胞的敏感性^[18]。因此,Wnt 信号通路很有可能成为新型抗癌药物的潜在靶点。经典 Wnt 通路也称为 Wnt/ β -catenin 信号通路,该通路的激活可降低 E-cadherin 介导的细胞间黏附作用,使细胞黏附功能降低而转移、侵袭能力增加^[10]。还有研究表明此信号通路是通过 Wnt 家族配体分泌的脂糖蛋白作用于 FZD 家族受体^[19],Wnt 信号抑制 β -catenin 的降解,加速其从细胞质中聚集并转移到细胞核,在细胞核内积累的 β -catenin 与 T 细胞转录因子(TCF)或淋巴增强因子(LEF)形成复合物,该复合物可促进 EMT 转录因子的表达,表明 Wnt/ β -catenin 信号通路是 EMT 的上游诱导因子^[15],可促进 EMT 的发生。除此之外,此过程还可以激活

各种病理生理相关的靶基因的表达^[20],包括 CD44、c-Myc^[21],以及参与反馈调节的基因如 TCF7L2 等^[22]。其中 CD44 编码一种跨膜糖蛋白,参与了多种病理生理过程,包括淋巴细胞活化、伤口愈合、肿瘤细胞生长和转移等^[23],据报道 CD44 是肿瘤细胞和内皮细胞之间的黏附分子,并参与随后的转移过程^[6]。Dallas 等^[24]也证明沉默 CD44 的表达增加了肿瘤细胞的转移潜能,其功能类似一种抑癌基因。C-Myc 作为原癌基因编码的一种转录因子,在细胞增殖、分化、凋亡中起重要作用^[25],已有研究证实,c-Myc 在结直肠癌发生的早期和晚期在 RNA 和蛋白质水平上均呈过度表达^[26],且 c-Myc 基因拷贝数增加的癌症通常预后不良^[27]。在 Chang 等^[28]的研究中,他们通过全外显子关联分析发现一个罕见的错义变体 rs138649767 与结直肠癌风险增加相关,其位于 TCF7L2 的外显子中,TCF7L2 是 Wnt 通路中的一个关键的转录因子,可以激活 Myc 基因,以及促进结直肠癌细胞增殖。因此,Wnt/ β -catenin 信号通路可以通过多种基因的表达和突变来影响 CRC 的预后,在结直肠癌肝转移过程中发挥重要作用,同时也是新型抗癌药的潜在靶点。

2 HGF/c-MET 信号通路

C-MET 是一种原癌基因,位于人类 7 号染色体(7q21-q31)上,编码肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, HGFR)蛋白,在多种肿瘤细胞中都被检测出有过度表达^[29]。肝细胞生长因子(HGF)是目前 c-MET 受体唯一已知的配体,可激活 c-MET 基因,触发一系列级联信号,调节下游多种信号通路,在正常生理条件下,HGF/c-MET 的相互作用可调节细胞分裂等活动,与细胞生长、运动、迁移,以及减少细胞凋亡有关,参与了多种肿瘤的发生、发展^[30]。已有研究表明,HGF 是诱导肿瘤血管生成的分子之一,并且可通过调节有丝分裂、细胞运动来介导细胞基质间的相互作用^[31],肿瘤血管可以为肿瘤细胞提供营养渠道,从而在肿瘤细胞生长、侵袭、转移及抑制细胞凋亡等发挥了重要作用。已有研究证实,激活 HGF/c-MET 信号通路可导致 CD44 的表达上调^[32],而 Elliott 等^[33]认为具有侵袭性肝转移性表型的结直肠癌细胞系与 CD44 的过度表达有关。现

在已有越来越多的报道证实,抑制 HGF/c-MET 信号转导是抑制多种肿瘤的有效方案,包括非小细胞肺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌等^[29]。Yao 等^[34]通过体外实验发现在结肠癌肝转移组织中,通过提高 HGF 上调 c-MET 的表达增强了肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移能力。除此之外,前文已提及的 E-cadherin 本身可通过细胞之间的黏附与受体酪氨酸激酶如 c-MET 相互作用^[35],在 Tanahashi 等^[7]的研究中发现随着 c-MET 表达降低,细胞密度和 E-cadherin 均增加,HGF 可以导致 E-cadherin 表达减少,进而参与了结肠细胞的 EMT 过程。因此,可以认为针对性阻断 HGF/c-MET 信号通路可以降低 CRC 患者发生肝转移的风险,但仍需更深入的研究。

3 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

PI3K/Akt/mTOR 信号通路可通过促进癌细胞的增殖和抑制癌细胞凋亡来促进恶性肿瘤的发生、发展^[36],细胞外信号可以通过酪氨酸激酶受体磷酸化来诱导磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)并激活 Akt,从而调节哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)来控制蛋白质合成和细胞增殖^[37]。在生物学上,PI3K/Akt/mTOR 实际上是整合素、酪氨酸激酶受体、凋亡调节因子 Shp2 和 caspase 家族上游信号传导的一个汇聚点^[38]。PI3KCA 基因在 15% 的 CRC 患者中均有突变^[39],它的突变可激活 PI3K 信号通路,促进细胞增殖,最终导致癌变^[40]。有研究表明,同时有 KRAS 和 PI3KCA 突变的患者更有可能发生肝转移^[41]。在 Wu 等^[42]的研究中,PI3KCA 基因突变仅存在于原发性 CRC 伴结缔组织增生的 CRCLM 患者中,在 VEGFA 的刺激下,可通过新生血管形成促进肿瘤的转移,并进一步证实了 PI3KCA 基因是抗肿瘤血管生成的潜在治疗靶点。此外,目前已有信服的证据表明,调节人类肿瘤的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路可以介导 EMT,而 Yeh 等^[11]发现存在于肿瘤微环境中的 PI3K/PTEN/mTOR/Akt/GSK3 β / β -catenin 轴可进一步调节肿瘤细胞的细胞稳态,即适应缺氧环境、提高肿瘤细胞生存率、促进肿瘤细胞的迁移、侵袭和 EMT,进而导致肿瘤的转移。在 CRC 患者中,PI3K 抑制剂已经在临床试验中体现出是耐受性良好的抗癌药

物,且对转移性疾病具有优异的疗效^[38],但由于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路和其他信号广泛交叉,单一的靶向治疗仍可能导致失败,因此针对这些靶点采取联合还是序贯治疗,仍需在临床上进一步深入研究。

4 RAS-ERK 信号通路

表皮生长因子(EGF)与表皮生长因子受体(EGFR)结合后可激活与 GTP 连接的 KRAS,被激活的 KRAS 持续向下游 RAS-ERK 细胞调节通路发送信号,ERK 蛋白转移到细胞核后即可激活转录因子,诱导与癌症相关的靶基因,从而直接参与 CRC 的发生和转移^[43]。突变的 KRAS 基因损害了 GTP 酶水解酶的活性,导致即使在没有细胞外刺激的情况下仍能连续向下游效应器发送信号^[44],进而导致肿瘤细胞不受限制地增长并发生转移。目前,RAS 突变是唯一被批准用于临床的预测性分子标志物^[45],如 KRAS 和 NRAS 突变都与相关治疗的耐药性有关,此类 CRCLM 患者的总生存期(overall survival,OS)和无复发生存期(recurrence-free survival,RFS)也较低^[46],针对 KRAS 基因野生型的治疗主要为抗表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)治疗,但已有研究表明,抗 EGFR 治疗的代表药物如西妥昔单抗及帕尼单抗对 KRAS 基因 2 号外显子的 12 和 13 密码子突变的肿瘤无效^[47],因此,抗 EGFR 治疗仅限于没有“RAS 突变”的 CRCLM 患者,极大限制了目标人群的适用范围,仍需要发现更多的 CRCLM 的治疗靶点。

一项 Meta 分析显示 CRCLM 患者 KRAS 突变率为 30.6%^[48],另有研究表明 KRAS 突变是 EMT 和转移的关键^[12],而前文已阐明 EMT 是肿瘤细胞转移的重要过程之一,由此说明,CRCLM 更可能发生在 KRAS 突变的患者身上。影响 KRAS 基因位点的特定密码子和点突变也被认为具有不同的预后意义,CRC 中最常见的致癌突变是 KRAS 的 12、13 和 61 号密码子的突变,其中约 90% 的突变集中在 12 和 13 号密码子中^[44]。与野生型 KRAS 相比,密码子 12 中 G12V(HR=1.78;95%CI:1.00~3.17;P=0.05)和 G12S(HR=3.33;95%CI:1.22~9.10;P=0.02)这两个突变使死亡风险增加了 70%^[49]。除此之外,BRAF 蛋白

同样与 CRC 患者预后相关,主要通过两种途径激活:上游 RAS 信号和 BRAF 突变。激活的 BRAF 蛋白又可通过使 MEK1/MEK2 磷酸化来激活 ERK,并促进其进入细胞核以调节基因的表达^[44],BRAF 突变患者与 KRAS 野生型及 BRAF 野生型患者相比,常常显示出更差的生存率,并且显示出对抗 EGFR 抗体治疗的抵抗性^[50]。若能使 KRAS 突变型 CRC 患者同样可受益于相关靶向治疗,改善此类患者目前的治疗策略,将有可能使更多的转移性 CRC 患者获得更好的个性化治疗。

5 TGF- β /SMAD 信号通路

转化生长因子- β (transforming growth factor, TGF- β)家族是一类具有多种生物学功能的多肽,当它与同源受体(如 TGFBR2 等)结合后,细胞内的级联事件导致胞浆内 SMADs 磷酸化,激活的 SMADs 从受体向细胞核转移,进而引起染色质结构的变化,细胞核中激活的 SMADs 作为真正的转录因子与许多靶基因调控区的顺式作用元件相互作用,参与调控基因的表达^[51]。在 CRC 细胞中,TGF- β 敏感性的消失常常是由于信号通路的突变^[7]。TGFBR2 作为 TGF- β /SMAD 信号通路的成员之一参与了肿瘤的发生、发展。Park 等^[52]检测出 TGFBR2 在直肠癌细胞和组织中高表达,同时在微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)的结肠癌细胞中检测到 TGFBR2 基因突变^[14],而与微卫星稳定(microsatellite-stable, MSS)相比,MSI 常常提示有更好的预后^[53]。已有研究表明,在 APC Trp53^{Null}Kras^{G12D} 小鼠的侵袭性肿瘤细胞中可发现 TGF β 通路被激活^[54],而基质中 TGF β 信号通过促进纤维化和免疫逃避来促进肿瘤的发生^[55]。同时 TGF- β /SMAD 信号通路在一个复杂的信号网络中起着重要作用,通过协调 Slug、Zed 和 bHLH 家族的表达来促进肿瘤的进展和 EMT 的发生^[14],它是 EMT 最重要的诱导因子之一^[13]。因此,通过抑制 TGF- β /SMAD 信号通路来抑制 CRC 细胞的生长和转移,同样可能成为 CRCLM 治疗的潜在靶点。

肿瘤的发生、发展是多基因、多通路相互作用的过程,上述各通路在导致 CRCLM 时并非单独发挥作用,如 c-MET 激活可引发分子间的相互作用,激活多种信号通路并使其磷酸化,影响细胞的增殖、调

亡、转移和侵袭等特性,其中包括 PI3K/Akt 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、信号传导与活化转录因子 3(STAT3)信号通路等^[56-57];除此之外,糖原合成酶激酶 3 β (GSK3 β)是一种降解多蛋白破坏复合物的的重要组成部分,在肿瘤相关信号途径、细胞增殖和生长中具有多种作用,它可以通过 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 在 PI3K/mTOR 和 Wnt/ β -catenin 信号通路之间起连接作用^[58],且与 RAS-MAPK 或 PI3K/Akt/mTOR 信号通路之间的相互作用也被报道与原发肝癌和胰腺癌的发病机制有关^[59]。TGFBR2 基因也可以通过其对 Wnt/ β -catenin 和 TCF/LEF 信号通路的下游作用,在细胞信号转导中发挥重要作用^[60]。

除了上述信号通路参与肿瘤的发生、发展,还有各种非编码 RNA、肿瘤微环境等因素都可能导致 CRCLM 的发生,肿瘤细胞在远隔器官的定植与生长同样也受到了多种因素的影响。尽管目前对于 CRCLM 的发生机制仍有许多尚未明确,且研究方向多较分散,但随着高通量测序的技术发展,人们对基因水平的研究逐渐深入,对多种信号通路的靶点逐渐清晰,将研制出更多新靶点的药物,以期延长患者的生存期及提高生活质量。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.
- [2] Misiakos EP, Karidis NP, Kouraklis G. Current treatment for colorectal liver metastases[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(36):4067-4075.
- [3] Feng QY, Wei Y, Chen JW, et al. Anti-EGFR and anti-VEGF agents: important targeted therapies of colorectal liver metastases [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(15):4263-4275.
- [4] Tang B, Liang W, Liao Y, et al. PEA15 promotes liver metastasis of colorectal cancer by upregulating the ERK/MAPK signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2019, 41(1):43-56.
- [5] Andreou A, Aloia TA, Brouquet A, et al. Margin status remains an important determinant of survival after surgical resection of colorectal liver metastases in the era of modern chemotherapy[J]. Ann Surg, 2013, 257(6):1079-1088.
- [6] Zhang R, Qi F, Shao S, et al. Human colorectal cancer-derived carcinoma associated fibroblasts promote CD44-mediated adhesion of colorectal cancer cells to endothelial cells

- by secretion of HGF[J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 192.
- [7] Tanahashi T, Osada S, Yamada A, et al. Extracellular signal-regulated kinase and Akt activation play a critical role in the process of hepatocyte growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(2): 556–564.
- [8] Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1429–1437.
- [9] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009, 139(5): 871–890.
- [10] Cheng X, Xu X, Chen D, et al. Therapeutic potential of targeting the Wnt/beta-catenin signaling pathway in colorectal cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 473–481.
- [11] Yeh YH, Hsiao HF, Yeh YC, et al. Inflammatory interferon activates HIF-1alpha-mediated epithelial-to-mesenchymal transition via PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 70.
- [12] Sakai E, Nakayama M, Oshima H, et al. Combined mutation of Apc, Kras, and Tgfr2 effectively drives metastasis of intestinal cancer[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(5): 1334–1346.
- [13] Nawshad A, Lagamba D, Polad A, et al. Transforming growth factor-beta signaling during epithelial-mesenchymal transformation; implications for embryogenesis and tumor metastasis[J]. *Cells Tissues Organs*, 2005, 179(1–2): 11–23.
- [14] Jung B, Staudacher JJ, Beauchamp D. Transforming growth factor β superfamily signaling in development of colorectal cancer[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(1): 36–52.
- [15] Freihen V, Ronsch K, Mastroianni J, et al. SNAIL1 employs beta-Catenin-LEF1 complexes to control colorectal cancer cell invasion and proliferation[J]. *Int J Cancer*, 2019. [Epub ahead of print]
- [16] Bienz M, Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling[J]. *Cell*, 2000, 103(2): 311–320.
- [17] Todaro M, Alea MP, Di Stefano AB, et al. Colon cancer stem cells dictate tumor growth and resist cell death by production of interleukin-4 [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(4): 389–402.
- [18] Mohammed MK, Shao C, Wang J, et al. Wnt/beta-catenin signaling plays an ever-expanding role in stem cell self-renewal, tumorigenesis and cancer chemoresistance[J]. *Genes Dis*, 2016, 3(1): 11–40.
- [19] Niehrs C. The complex world of WNT receptor signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(12): 767–779.
- [20] Jeong WJ, Ro EJ, Choi KY. Interaction between Wnt/ β -catenin and RAS-ERK pathways and an anti-cancer strategy via degradations of β -catenin and RAS by targeting the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2018, 2(1): 5.
- [21] Yang X, Pan Q, Lu Y, et al. MNX1 promotes cell proliferation and activates Wnt/ β -catenin signaling in colorectal cancer[J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(4): 402–408.
- [22] Gotze S, Coersmeyer M, Muller O, et al. Histone deacetylase inhibitors induce attenuation of Wnt signaling and TCF7L2 depletion in colorectal carcinoma cells [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(4): 1715–1723.
- [23] Ribeiro KB, Zanetti JD, Ribeiro-Silva A, et al. KRAS mutation associated with CD44/CD166 immunoexpression as predictors of worse outcome in metastatic colon cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 16(4): 513–521.
- [24] Dallas MR, Liu G, Chen WC, et al. Divergent roles of CD44 and carcinoembryonic antigen in colon cancer metastasis[J]. *FASEB J*, 2012, 26(6): 2648–2656.
- [25] Beroukhi R, Mermel CH, Porter D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers [J]. *Nature*, 2010, 463(7283): 899–905.
- [26] He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-Myc as a target of the APC pathway[J]. *Science*, 1998, 281(5382): 1509–1512.
- [27] Lee KS, Kwak Y, Nam KH, et al. C-MYC copy-number gain is an independent prognostic factor in patients with colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139727.
- [28] Chang J, Tian J, Yang Y, et al. A rare missense variant in TCF7L2 associates with colorectal cancer risk by interacting with a GWAS-identified regulatory variant in the MYC enhancer[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(17): 5164–5172.
- [29] Zhang H, Feng Q, Chen WD, et al. HGF/c-MET: a promising therapeutic target in the digestive system cancers [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11). pii: E3295.
- [30] Sierra JR, Tsao MS. C-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2011, 3(1 Suppl): S21–35.
- [31] Matsumura A, Kubota T, Taiyoh H, et al. HGF regulates VEGF expression via the c-Met receptor downstream pathways, PI3K/Akt, MAPK and STAT3, in CT26 murine cells[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(2): 535–542.
- [32] Damm S, Koefinger P, Stefan M, et al. HGF-promoted motility in primary human melanocytes depends on CD44v6 regulated via NF-kappa B, Egr-1, and C/EBP-beta [J]. *J Invest Dermatol*, 2010, 130(7): 1893–1903.
- [33] Elliott VA, Rychahou P, Zaytseva YY, et al. Activation of c-Met and upregulation of CD44 expression are associated with the metastatic phenotype in the colorectal cancer liver metastasis model[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97432.
- [34] Yao JF, Li XJ, Yan LK, et al. Role of HGF/c-Met in the treatment of colorectal cancer with liver metastasis [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2019: e22316.
- [35] Xie LQ, Bian LJ, Li Z, et al. Altered expression of E-cadherin by hepatocyte growth factor and effect on the prognosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(7): 1927–1936.

- [36] Hao J, Yang Z, Wang L, et al. Downregulation of BRD4 inhibits gallbladder cancer proliferation and metastasis and induces apoptosis via PI3K/AKT pathway [J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(3):823–831.
- [37] Dienstmann R, Rodon J, Serra V, et al. Picking the point of inhibition: a comparative review of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13 (5): 1021–1031.
- [38] Qian DC, Xiao XJ, Byun JY, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling and plasma membrane proteins are implicated in responsiveness to adjuvant dendritic cell vaccination for metastatic colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23 (2):399–406.
- [39] Barbon C, Margonis GA, Andreatos N, et al. Colorectal liver metastases: does the future of precision medicine lie in genetic testing [J]. *J Gastrointest Surg*, 2018, 22 (7): 1286–1296.
- [40] Ariyama J, Suyama M, Ogawa K, et al. The detection and prognosis of small pancreatic carcinoma [J]. *Int J Pancreatol*, 1990, 7(1–3):37–47.
- [41] Li HT, Lu YY, An YX, et al. KRAS, BRAF and PIK3CA mutations in human colorectal cancer: relationship with metastatic colorectal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(6): 1691–1697.
- [42] Wu JB, Sarmiento AL, Fiset PO, et al. Histologic features and genomic alterations of primary colorectal adenocarcinoma predict growth patterns of liver metastasis [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(26):3408–3425.
- [43] Seo H, Song J, Kim M, et al. Cordyceps militaris grown on germinated soybean suppresses KRAS-driven colorectal cancer by inhibiting the RAS/ERK pathway[J]. *Nutrients*, 2018, 11(1). pii:E20.
- [44] Wan XB, Wang AQ, Cao J, et al. Relationships among KRAS mutation status, expression of RAS pathway signaling molecules, and clinicopathological features and prognosis of patients with colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(7):808–823.
- [45] Tsilimigras DI, Ntanasis-Stathopoulos I, Bagante F, et al. Clinical significance and prognostic relevance of KRAS, BRAF, PI3K and TP53 genetic mutation analysis for resectable and unresectable colorectal liver metastases: a systematic review of the current evidence [J]. *Surg Oncol*, 2018, 27(2):280–288.
- [46] Karagkounis G, Torbenson MS, Daniel HD, et al. Incidence and prognostic impact of KRAS and BRAF mutation in patients undergoing liver surgery for colorectal metastases[J]. *J. Cancer*, 2013, 119(23):4137–4144.
- [47] Lievre A, Merlin JL, Sabourin JC, et al. RAS mutation testing in patients with metastatic colorectal cancer in French clinical practice: a status report in 2014[J]. *Dig Liver Dis*, 2018, 50(5):507–512.
- [48] Brudvik KW, Kopetz SE, Li L, et al. Meta-analysis of KRAS mutations and survival after resection of colorectal liver metastases[J]. *Br J Surg*, 2015, 102(10):1175–1183.
- [49] Margonis GA, Kim Y, Spolverato G, et al. Association between specific mutations in KRAS codon 12 and colorectal liver metastasis[J]. *JAMA Surg*, 2015, 150(8):722–729.
- [50] Amikura K, Akagi K, Ogura T, et al. The RAS mutation status predicts survival in patients undergoing hepatic resection for colorectal liver metastases: The results from a genetic analysis of all-RAS[J]. *J Surg Oncol*, 2018, 117(4): 745–755.
- [51] Shany S, Sigal-Batikoff I, Lamprecht S. Vitamin D and myofibroblasts in fibrosis and cancer: at cross-purposes with TGF- β /SMAD signaling [J]. *Anticancer Res*, 2016, 6(12): 6225–6234.
- [52] Park JH, Kim YH, Park EH, et al. Effects of metformin and phenformin on apoptosis and epithelial-mesenchymal transition in chemoresistant rectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(9):2834–2845.
- [53] Hutchins G, Southward K, Handley K, et al. Value of mismatch repair, KRAS, and BRAF mutations in predicting recurrence and benefits from chemotherapy in colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(10):1261–1270.
- [54] Boutin AT, Liao WT, Wang M, et al. Oncogenic Kras drives invasion and maintains metastases in colorectal cancer[J]. *Genes Dev*, 2017, 31(4):370–382.
- [55] Principe DR, DeCant B, Mascariñas E, et al. TGF β signaling in the pancreatic tumor microenvironment promotes fibrosis and immune evasion to facilitate tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(9):2525–2539.
- [56] Bradley CA, Salto-Tellez M, Laurent-Puig P, et al. Targeting c-MET in gastrointestinal tumours: rationale, opportunities and challenges[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(9): 562–576.
- [57] Yang J, Li S, Wang B, et al. Potential biomarkers for anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9):11645–11655.
- [58] Park YL, Kim HP, Cho YW, et al. Activation of WNT/ β -catenin signaling results in resistance to a dual PI3K/mTOR inhibitor in colorectal cancer cells harboring PIK3CA mutations[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(2):389–401.
- [59] Lee SK, Hwang JH, Choi KY. Interaction of the Wnt/ β -catenin and RAS-ERK pathways involving co-stabilization of both β -catenin and RAS plays important roles in the colorectal tumorigenesis[J]. *Adv Biol Regul*, 2018, 68:46–54.
- [60] Chruściak A, Gopalan V, Lam AK. The clinical and biological roles of transforming growth factor beta in colon cancer stem cells: a systematic review[J]. *Eur J Cell Biol*, 2018, 97(1):15–22.