doi:10.11659/jjssx.01E023084

·基础研究·

肿瘤相关巨噬细胞外泌体调控KRAS信号通路影响胰腺癌细胞糖酵解功能

迪里夏提·阿力木,郑坚江,多力坤·吐拉哈孜,阿木提江·马合木提 (新疆维吾尔自治区人民医院肝胆胰医学诊疗中心,新疆 乌鲁木齐 830001)

[摘 要] **目的** 探究肿瘤相关巨噬细胞外泌体对胰腺癌细胞糖酵解的影响及机制。**方法** THP-1细胞诱导分化为M0型和M2型巨噬细胞,并提取二者分泌的外泌体(M0 exo和M2 exo)。将胰腺癌细胞CAPAN-2和ASPC-1分为PBS组、M0 exo组、M2 exo组、M2 exo+siKRAS组,分别与等体积PBS、10 μg/mL M0 exo、10 μg/mL M2 exo、转染KRAS siRNA+10 μg/mL M2 exo共孵育。透射电镜观察外泌体结构;CCK-8法检测各组细胞增殖能力;试剂盒检测葡萄糖摄取率和乳酸生成水平;Western blot检测外泌体标志物、KRAS蛋白表达和ERK1/2磷酸化水平。**结果** THP-1诱导分化为表达标志蛋白Arg-1和IL-10的M2型巨噬细胞,M0 exo和M2 exo具有双层膜结构,粒径100 nm左右,表达外泌体标志蛋白CD9、CD81、TSG101。与PBS组比较,M2 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞增殖能力、葡萄糖摄取率力、乳酸生成水平显著增加($P<0.05$),KRAS表达以及ERK1/2磷酸化水平显著增加($P<0.001$)。与M2 exo组比较,M2 exo+siKRAS组CAPAN-2和ASPC-1细胞增殖能力、葡萄糖摄取率以及乳酸生成水平均显著下降($P<0.05$)。**结论** 肿瘤相关巨噬细胞外泌体可通过激活KRAS信号通路促进胰腺癌细胞糖酵解。

[关键词] 肿瘤相关巨噬细胞;外泌体;糖酵解;KRAS信号通路

[中图分类号] R392.2 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-11-19

Effect of tumor-associated macrophage exosomes on glycolysis of pancreatic cancer cells by regulating KRAS signal pathway

Dilixiati Alimu, ZHENG Jian-jiang, Duolikun Tulahazi, Amutijiang Mahemuti (Center of Hepatobiliary Pancreatic Medicine Diagnosis and Treatment, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi Xinjiang 830001, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of tumor-associated macrophage exosomes on glycolysis of pancreatic cancer cells and its mechanism. **Methods** The THP-1 cells were induced to differentiate into the M0 and M2 macrophages, and the exosomes (M0 exo and M2 exo) were extracted. The pancreatic cancer cells CAPAN-2 and ASPC-1 were divided into the PBS group, the M0 exo group, the M2 exo group and the M2 exo+siKRAS group, and co-incubated with equal volumes of PBS, 10 μg/mL of M0 exo, 10 μg/mL of M2 exo, and transfection of KRAS siRNA and 10 μg/mL of M2 exo, respectively. Transmission electron microscopy was used to observe the structure of exosomes; CCK-8 was used to detect the cell proliferation capacity; the kit was used to detect the glucose uptake rate and production level of lactic acid, and Western blot was used to detect the exosome markers expression, KRAS protein expression and ERK1/2 phosphorylation level. **Results** THP-1 was induced to differentiate into M2 macrophages expressing Arg-1 and IL-10 marker proteins. M0 exo and M2 exo had a bilayer membrane structure with a particle size of about 100 nm and expressed exosomal marker proteins of CD9, CD81, and TSG101. Compared with the PBS group, the cell proliferation, glucose uptake rate, production level of lactic acid of CAPAN-2 and ASPC-1 cells in the M2 exo group increased significantly ($P<0.05$), and the KRAS expression and ERK1/2 phosphorylation level were significantly increased ($P<0.001$). Compared with the M2 exo group, the proliferation, glucose uptake rate and production level of lactic acid of CAPAN-2 and ASPC-1 cells in the M2 exo+siKRAS group decreased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** Tumor-associated macrophage exosomes can promote the glycolysis of pancreatic cancer cells via the activation of KRAS signaling pathway.

Keywords: tumor-associated macrophages; exosomes; glycolysis; KRAS signaling pathway

胰腺癌是发病于胰腺导管上皮及腺泡细胞的恶性肿瘤,其早期发病隐匿,缺乏诊断的标志物,患者生存时间短,被称为“癌中之王”,因此探究胰腺癌诊断的标志物和治疗的新靶点一直是研究的重点领域[1-2]。有研究指出,肿瘤相关巨噬细胞可调控胰腺癌的病理进程,包括肿瘤的生长和转移[3]。根据巨噬细胞的激活方式可分为M1型和M2型,其中M2型巨噬细胞与肿瘤相关巨噬细胞表型及功能相似,因此常用于肿瘤相关巨噬细胞的体外研究[4]。Ye等[5]研究指出,肿瘤相关巨噬细胞能够通过调控CCL18/NF-κB/VCAM-1信号通路从而促进胰腺癌的转移。Wang等[6]研究发现,肿瘤相关巨噬细胞亦可促进胰腺癌的免疫耐受。外泌体是多种细胞分泌的纳米级囊泡,肿瘤相关巨噬细胞

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2018D01C140)

[通信作者] 阿木提江·马合木提,E-mail:540621258@qq.com

可通过分泌外泌体调控胰腺癌血管新生、进展、耐药等[7-9]。高水平糖酵解是胰腺癌肿瘤微环境的特征之一,既可为肿瘤的生长提供ATP,又可创造利于肿瘤生长的酸性环境[10]。本研究探究了肿瘤相关巨噬细胞外泌体对胰腺癌细胞糖酵解的影响及机制,以期为胰腺癌的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

人胰腺癌细胞株CAPAN-2和ASPC-1,人单核细胞THP-1购自中国科学院上海细胞库;佛波酯、rhIL-4和rhIL-13购自美国Sigma公司;外泌体提取试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司;Lipofectamin 2000试剂盒购自美国Invitrogen公司;CCK-8试剂盒、葡萄糖摄取试剂盒购自美国Abcam公司;TRIzol和Prime Script RT Reagent试剂盒购自日本Takara公司;SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒购自美国Med Chemexpress公司;乳酸检测试剂盒购自江苏KeyGEN BioTECH公司;CD9、CD81、TSG101、KRAS、GAPDH抗体及山羊抗兔IgG购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.2 细胞培养

CAPAN-2和ASPC-1细胞培养于含10%胎牛血清DMEM培养基中,THP-1细胞培养于含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基中,培养至细胞汇合度达80%时进行细胞传代。

M2型巨噬细胞的诱导:THP-1培养基更换为含150 nmol/L佛波酯的培养基诱导72 h,使其分化为贴壁的M0型巨噬细胞,所得M0型巨噬细胞与20 μg/L rhIL-4和20 μg/L rhIL-13共培养,诱导72 h,使其分化为M2型巨噬细胞。

1.3 外泌体的提取与鉴定

收集M0和M2型巨噬细胞培养上清,将细胞上清液于4 ℃以3 000 g离心10 min,取上清液,每1 mL上清加入250 μL的外泌体提取试剂,4 ℃静置2 h,以12 000 g离心20 min,弃上清,所得外泌体(M0 exo和M2 exo)用500 μL无菌PBS重悬。使用透射电镜观察外泌体的结构,Western blot检测外泌体标志物CD9、CD81、TSG101表达。

1.4 细胞转染与分组

将CAPAN-2和ASPC-1细胞分为PBS组、M0 exo组、M2 exo组、M2 exo+siKRAS组。M0 exo组和M2 exo组CAPAN-2、ASPC-1细胞分别与10 μg/mL M0 exo和10 μg/mL M2 exo共孵育24 h,M2 exo+siKRAS组CAPAN-2和ASPC-1细胞转染KRAS siRNA后与10 μg/mL M2 exo共孵育24 h,PBS组加入等体积PBS。按照Lipofectamin 2000试剂盒说明书,将KRAS siRNA转染至CAPAN-2和ASPC-1细胞,转染48 h后收集细胞进行后续研究。

1.5 细胞增殖实验

将PBS组、M0 exo组、M2 exo组、M2 exo+siKRAS组CAPAN-2和ASPC-1细胞接种于96孔板中,每孔细胞密度为5×10^4/mL,每孔100 μL,按照细胞分组将细胞与等体积的PBS、10 μg/mL M0 exo、10 μg/mL M2 exo、转染KRAS siRNA+10 μg/mL M2 exo共孵育24、48、72 h,在各时间点取出对应的96孔板,每孔加入10 μL CCK-8溶液,孵育4 h后,使用酶标仪检测450 nm波长处各孔光密度(optical density,OD)值。

1.6 qRT-PCR

使用TRIzol试剂盒提取各组巨噬细胞总RNA,使用Prime Script RT Reagent试剂盒将RNA逆转录为cDNA,使用SYBR Green qPCR Master Mix试剂盒进行qRT-PCR反应,反应条件为:95 ℃ 10 min、95 ℃ 15 s、60 ℃ 30 s,40个循环;95 ℃ 15 s、60 ℃ 60 s、95 ℃ 15 s。以GAPDH为内参,使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法检测各组细胞iNOS、IL-12β、Arg-1和IL-10表达,引物序列见表1。

表1 基因引物序列

基因	引物序列
iNOS	F:5′-ACTTTCCAAGACACACTTCAC-3′ R:5′-TTCGATAGCTTGAGGTAGAAGC-3′
IL-12β	F:5′-TAAGATGCGAGGCCAAGAATTA-3′ R:5′-TACTCATACTCCTTGTTGTCCC-3′
Arg-1	F:5′-TGTGAAGAATCCAAGGTCTGTG-3′ R:5′-TTGATATCAGTGTGAGCATCCAC-3′
IL-10	F:5′-GTTGTTAAAGGAGTCCTTGCTG-3′ R:5′-TTCACAGGGAAGAAATCGATGA-3′
GAPDH	F:5′-AGGGGCCATCCATAAACAGTCTTC-3′ R:5′-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3′

1.7 葡萄糖的摄取实验

将各组CAPAN-2和ASPC-1细胞接种至96孔板中,每孔2 000个细胞,待细胞贴壁后,PBS清洗3次,每孔更换为100 μL含2%牛血清白蛋白的KRPH溶液孵育30 min,再加入10 μL 2-DG孵育20 min后,加入80 μL裂解液,分别于80 ℃孵育40 min,冰上孵育5 min,然后各孔加入10 μL中和溶液,收集各孔上清液,加入10 μL复合物A溶液,37 ℃孵育1 h,然后加入等体积的中和缓冲液,混匀后使用酶标仪检测412 nm波长处各孔的OD值。根据标准品浓度和OD值绘制标准曲线,计算各孔葡萄糖浓度,葡萄糖摄取率=(空白组葡萄糖含量-每孔剩余葡萄糖含量)/空白组葡萄糖含量×100%。

1.8 乳酸生成实验

收集各组CAPAN-2和ASPC-1细胞培养上清，按照乳酸检测试剂盒说明书，每孔加入待测样品20 μL（标准管加入3 mmol/L的标准液20 μL，空白管加入PBS 20 μL）、酶工作液1 mL、试剂盒D工作液200 μL，混合均匀后于37 ℃水浴10 min，然后每管加入2 μL的Buffer E溶液，混匀后，使用酶标仪检测530 nm波长处各孔的OD值。乳酸含量=（待测样品OD值−空白管OD值）/（标准品管OD值−空白管OD值）×样品测试前稀释倍数×3 mmol/L。

1.9 Western blot

RIPA试剂盒提取M0 exo、M2 exo和各组CAPAN-2和ASPC-1细胞总蛋白，所得蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳，湿法转膜后，将PVDF膜与CD9、CD81、TSG101、KRAS、p-ERK1/2、ERK1/2、GAPDH抗体于4 ℃孵育过夜，TBST清洗3次后，以1∶10 000的比例稀释山羊抗体IgG并室温孵育1 h，洗膜，使用ECL试剂盒显影。

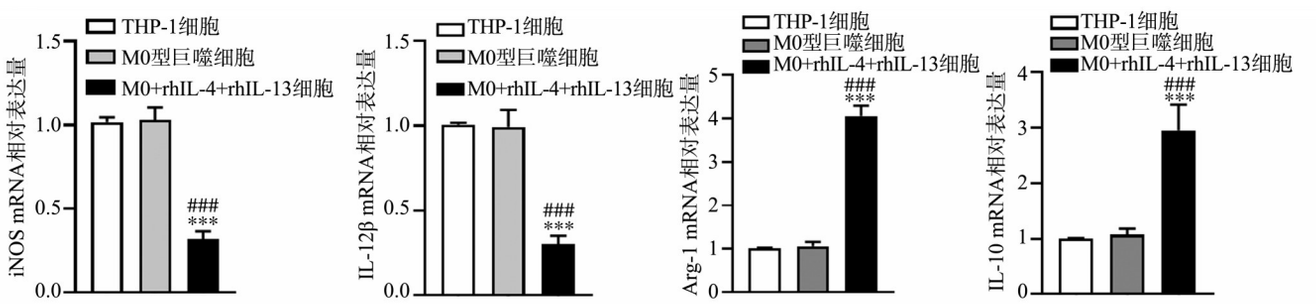
1.10 统计学分析

使用Graphpad prism 7.0软件进行统计学分析，所有数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，2组间比较采用*LSD-t*检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 M2型巨噬细胞诱导结果

与THP-1细胞比较，M0型巨噬细胞中iNOS、IL-12β、Arg-1和IL-10表达无显著变化（$P>0.05$），而M0+rhIL-4+rhIL-13细胞中M1型巨噬细胞标志蛋白iNOS和IL-12β表达显著下调（$P<0.001$），M2型巨噬细胞标志蛋白Arg-1和IL-10表达显著上调（$P<0.001$），见图1。说明rhIL-4和rhIL-13可诱导M2型巨噬细胞的极化。



***：与THP-1细胞比较，$P<0.001$；###：与M0型巨噬细胞比较，$P<0.001$

图1 qRT-PCR检测细胞iNOS、IL-12β、Arg-1和IL-10 mRNA表达

2.2 M2型巨噬细胞外泌体鉴定结果

提取的M0 exo和M2 exo均呈双层膜结构，粒径100 nm左右，呈“杯托”样，并且均表达外泌体标志蛋白CD9、CD81、TSG101，符合外泌体的特征，见图2。

2.3 M2型巨噬细胞外泌体促进胰腺癌细胞中KRAS/ERK1/2信号通路激活

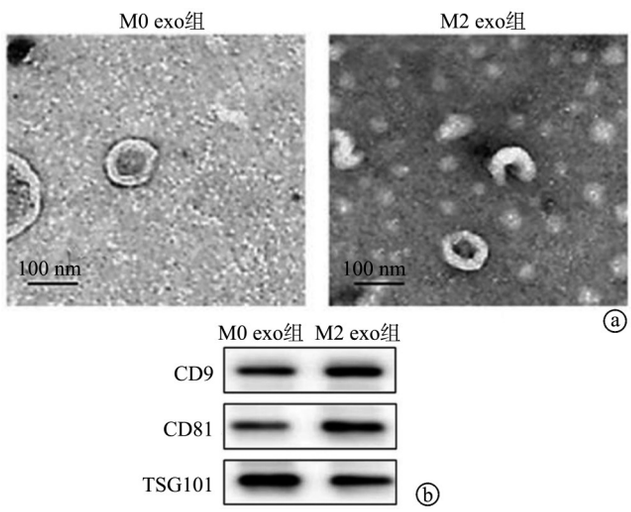
与PBS组比较，M0 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞中KRAS表达以及ERK1/2磷酸化水平均无显著差异（$P>0.05$）；与M0 exo组和PBS组比较，M2 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞中KRAS表达显著增加（$P<0.001$），ERK1/2磷酸化水平显著升高（$P<0.001$），见图3。

2.4 M2型巨噬细胞外泌体促进胰腺癌细胞增殖

与PBS组比较，M0 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞增殖能力在24、48、72 h均无显著变化（$P>0.05$）；M2 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞在24、48、72 h的增殖能力均显著高于其他组（$P<0.05$），见图4。

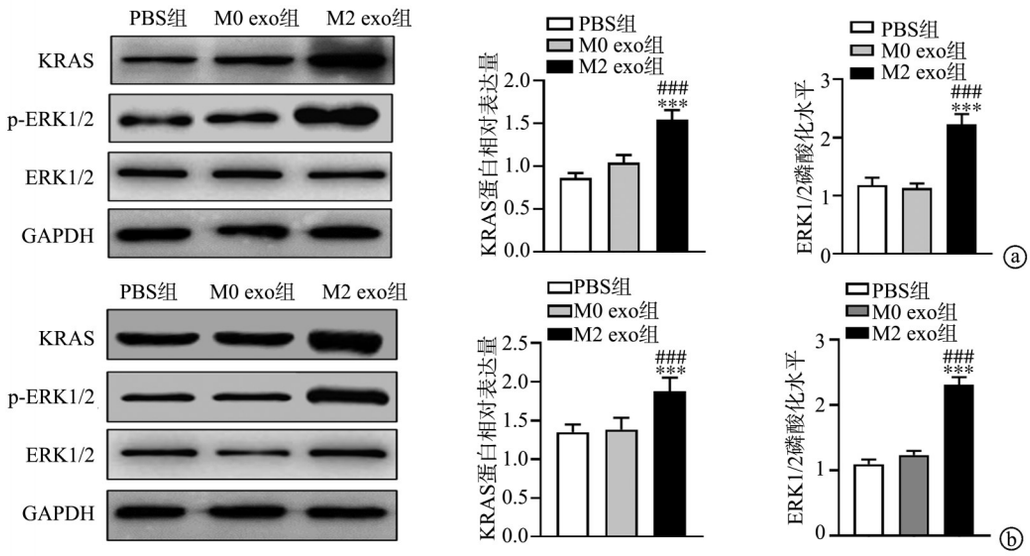
2.5 M2型巨噬细胞外泌体上调KRAS从而促进糖酵解

与PBS组比较，M0 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞的葡萄糖摄取率与乳酸生成水平均无显著变化（$P>0.05$）；M2 exo组CAPAN-2和ASPC-1细胞的葡萄糖摄取率与乳酸生成水平均显著高于其他组（$P<0.001$），见图5。



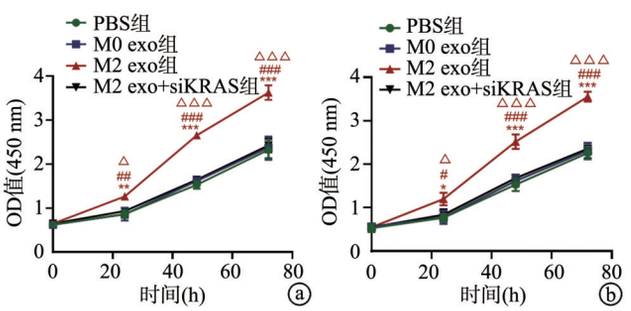
a：透射电镜观察外泌体的结构；b：Western blot检测外泌体中CD9、CD81、TSG101的表达

图2 M0 exo和M2 exo鉴定结果



a:CAPAN-2细胞;b:ASPC-1细胞 ***:与PBS组比较,$P<0.001$;###:与M0 exo组比较,$P<0.001$

图3 外泌体对CAPAN-2和ASPC-1细胞中KRAS/ERK1/2信号通路的影响

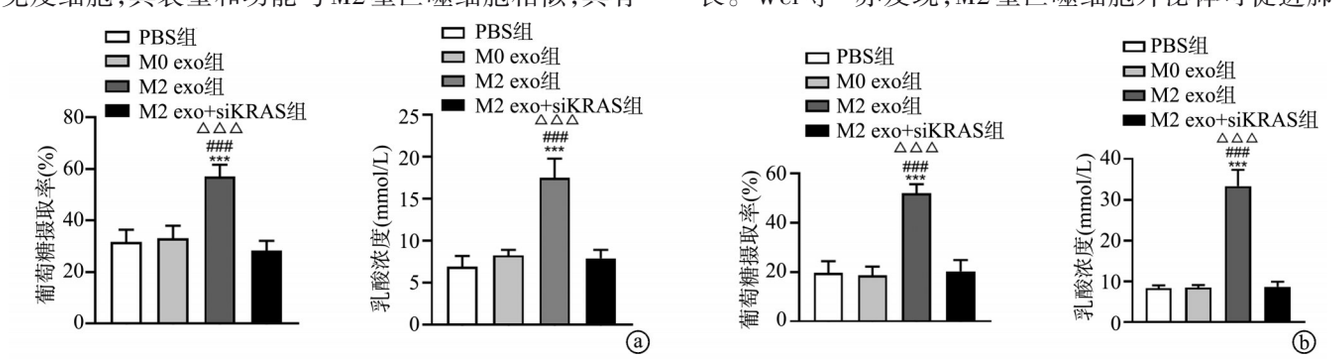


a:CAPAN-2细胞;b:ASPC-1细胞 *:与PBS组比较,$P<0.05$;***:与PBS组比较,$P<0.001$;#:与M0 exo组比较,$P<0.05$;###:与M0 exo组比较,$P<0.001$;△:与M2 exo+siKRAS组比较,$P<0.05$;△△△:与M2 exo+siKRAS组比较,$P<0.001$

图4 外泌体调控KRAS对CAPAN-2和ASPC-1细胞增殖能力的影响

3 讨论

肿瘤相关巨噬细胞是一类肿瘤微环境中重要的免疫细胞,其表型和功能与M2型巨噬细胞相似,具有促进肿瘤恶性生物学行为的功能[11]。Hwang等[12]的研究指出,肿瘤相关巨噬细胞浸润的增加与非小细胞肺癌患者不良预后密切相关。D'Errico等[13]的研究表明,肿瘤相关巨噬细胞可促进胰腺癌的转移。Kemp等[14]的研究表明,肿瘤相关巨噬细胞的水平能够反映胰腺癌患者全身免疫水平的变化。肿瘤相关巨噬细胞对肿瘤的调控是通过多种途径进行。Liu等[15]的研究表明,肿瘤相关巨噬细胞可通过分泌转化生长因子-β而促进肿瘤的转移。越来越多的研究表明,肿瘤相关巨噬细胞亦可通过分泌外泌体而调控胰腺癌的血管新生、进展、耐药等[7-9]。本研究将单核细胞THP-1诱导分化为M2型巨噬细胞,用于肿瘤相关巨噬细胞的体外研究,并且提取M2型巨噬细胞分泌的外泌体,将外泌体与胰腺癌细胞CAPAN-2和ASPC-1共孵育后发现,CAPAN-2和ASPC-1细胞的增殖能力显著增加。Wu等[16]也发现M2型巨噬细胞外泌体可促进肝癌细胞生长。Wei等[17]亦发现,M2型巨噬细胞外泌体可促进肺



a:CAPAN-2细胞;b:ASPC-1细胞 ***:与PBS组比较,$P<0.001$;###:与M0 exo组比较,$P<0.001$;△△△:与M2 exo+siKRAS组比较,$P<0.001$

图5 外泌体调控KRAS对CAPAN-2和ASPC-1细胞糖酵解的影响

腺癌细胞的生长。上述结果均说明M2型巨噬细胞可促进肿瘤细胞的生长。

研究表明,KRAS通路的异常活化与胰腺癌的病理进程密切相关,超过90%的胰腺癌患者均存在KRAS基因突变,KRAS异常活化会导致胰腺癌细胞的快速生长[18]。Diehl等[19]的研究发现,KRAS/ERK信号通路在胰腺癌中异常激活,靶向抑制ERK可抑制KRAS突变诱导的肿瘤生长。本研究将M2型巨噬细胞外泌体与CAPAN-2和ASPC-1细胞共孵育后,CAPAN-2和ASPC-1细胞中KRAS基因表达显著上调,ERK1/2磷酸化水平亦显著升高,说明M2型巨噬细胞外泌体可显著激活KRAS/ERK1/2信号通路。Katopodi等[20]的研究表明,KRAS突变可促进肿瘤微环境中肿瘤相关巨噬细胞的形成。Humpton等[21]的研究表明,原癌基因KRAS的表达可促进胰腺癌的生长。Dey等[22]的研究表明,KRAS突变可诱导胰腺癌肿瘤微环境的代谢重编程。本研究发现,与M2型巨噬细胞外泌体共孵育后,CAPAN-2和ASPC-1细胞糖酵解增加,抑制细胞中KRAS的表达后,M2型巨噬细胞外泌体对肿瘤细胞的糖酵解诱导能力显著下降,说明肿瘤相关巨噬细胞外泌体可通过诱导KRAS信号通路而促进胰腺癌细胞的糖酵解。

综上所述,肿瘤相关巨噬细胞可通过分泌外泌体诱导KRAS/ERK信号通路的激活而促进胰腺癌细胞的增殖和糖酵解。

[参考文献]

[1] Wood LD, Canto MI, Jaffee EM, et al. Pancreatic cancer: pathogenesis, screening, diagnosis, and treatment[J]. Gastroenterology, 2022, 163(2): 386-402. doi: 10.1053/j.gastro.2022.03.056.

[2] 时彩艳,刘 峰,卢宏全,等. FAM83H-AS1靶向miR-4684-5p对胰腺癌细胞放射敏感性的影响[J]. 局解手术学杂志,2022,31(5):396-402. doi:10.11659/jjssx.11E021088.

[3] Melief CJM. T-cell immunotherapy against mutant KRAS for pancreatic cancer[J]. N Engl J Med, 2022, 386(22): 2143-2144. doi: 10.1056/NEJMe2204283.

[4] Han S, Wang W, Wang S, et al. Tumor microenvironment remodeling and tumor therapy based on M2-like tumor associated macrophage-targeting nano-complexes[J]. Theranostics, 2021, 11(6): 2892-2916. doi: 10.7150/thno.50928.

[5] Ye H, Zhou Q, Zheng S, et al. Tumor-associated macrophages promote progression and the Warburg effect via CCL18/NF-kB/VCAM-1 pathway in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(5): 453-471. doi: 10.1038/s41419-018-0486-0.

[6] Wang W, Marinis JM, Beal AM, et al. RIP1 kinase drives macrophage-mediated adaptive immune tolerance in pancreatic cancer[J]. Cancer Cell, 2018, 34(5): 757-774. doi: 10.1016/j.ccell.2018.10.006.

[7] 董晓平,刘红岗,张 勇. 血清外泌体miR-454通过下调PDK1调控非小细胞肺癌的发生发展[J]. 局解手术学杂志,2022,31(10):849-856. doi:10.11659/jjssx.04E022061.

[8] Yin Z, Ma T, Huang B, et al. Macrophage-derived exosomal microRNA-501-3p promotes progression of pancreatic ductal adenocarcinoma through the TGFBR3-mediated TGF-β signaling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 310-329. doi: 10.1186/s13046-019-1313-x.

[9] Binenbaum Y, Fridman E, Yaari Z, et al. Transfer of miRNA in macrophage-derived exosomes induces drug resistance in pancreatic adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 2018, 78(18): 5287-5299. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0124.

[10] Yang J, Ren B, Yang G, et al. The enhancement of glycolysis regulates pancreatic cancer metastasis[J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(2): 305-321. doi: 10.1007/s00018-019-03278-z.

[11] Wei YT, Wang XR, Yan C, et al. Thymosin α-1 reverses M2 polarization of tumor-associated macrophages during efferocytosis[J]. Cancer Res, 2022, 82(10): 1991-2002. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-4260.

[12] Hwang I, Kim JW, Ylaya K, et al. Tumor-associated macrophage, angiogenesis and lymphangiogenesis markers predict prognosis of non-small cell lung cancer patients[J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 443-457. doi: 10.1186/s12967-020-02618-z.

[13] D'Errico G, Alonso-Nocelo M, Vallespinos M, et al. Tumor-associated macrophage-secreted 14-3-3ζ signals via AXL to promote pancreatic cancer chemoresistance[J]. Oncogene, 2019, 38(27): 5469-5485. doi: 10.1038/s41388-019-0803-9.

[14] Kemp SB, Steele NG, Carpenter ES, et al. Pancreatic cancer is marked by complement-high blood monocytes and tumor-associated macrophages[J]. Life Sci Alliance, 2021, 4(6): e202000935-e202000951. doi: 10.26508/lsa.202000935.

[15] Liu C, Zhang W, Wang J, et al. Tumor-associated macrophage-derived transforming growth factor-β promotes colorectal cancer progression through HIF1-TRIB3 signaling[J]. Cancer Sci, 2021, 112(10): 4198-4207. doi: 10.1111/cas.15101.

[16] Wu J, Gao W, Tang Q, et al. M2 Macrophage-derived exosomes facilitate HCC metastasis by transferring αMβ2 integrin to tumor cells[J]. Hepatology, 2021, 73(4): 1365-1380. doi: 10.1002/hep.31432.

[17] Wei K, Ma Z, Yang F, et al. M2 macrophage-derived exosomes promote lung adenocarcinoma progression by delivering miR-942[J]. Cancer Lett, 2022, 526: 205-216. doi: 10.1016/j.canlet.2021.0.045.

[18] Luchini C, Paolino G, Mattiolo P, et al. KRAS wild-type pancreatic ductal adenocarcinoma: molecular pathology and therapeutic opportunities[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 227-236. doi: 10.1186/s13046-020-01732-6.

[19] Diehl JN, Hibshman PS, Ozkan-Dagliyan I, et al. Targeting the ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of KRAS-mutant pancreatic cancer[J]. Adv Cancer Res, 2022, 153: 101-130. doi: 10.1016/bs.acr.2021.07.008.

[20] Katopodi T, Petanidis S, Domvri K, et al. Kras-driven intratumoral heterogeneity triggers infiltration of M2 polarized macrophages via the circHIPK3/PTK2 immunosuppressive circuit[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 15455-15469. doi: 10.1038/s41598-021-94671-x.

[21] Humpton TJ, Alagesan B, DeNicola GM, et al. Oncogenic KRAS induces NIX-mediated mitophagy to promote pancreatic cancer[J]. Cancer Discov, 2019, 9(9): 1268-1287. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-1409.

[22] Dey P, Li J, Zhang J, et al. Oncogenic KRAS-driven metabolic reprogramming in pancreatic cancer cells utilizes cytokines from the tumor microenvironment[J]. Cancer Discov, 2020, 10(4): 608-625. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-0297.

(编辑:刘 艺)