



## РАК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОНКОГЕНЕЗА КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ТЕРАПИИ

Романова Т.И.<sup>1</sup>, Григорьева И.Н.<sup>1,2</sup>, Ефимова О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины»

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет

## CANCER OF THE PANCREAS. SOME OF THE MOLECULAR AND GENETIC MECHANISMS OF CARCINOGENESIS AS A TARGET FOR THERAPY

Romanova T. I.<sup>1</sup>, Grigorieva I. N.<sup>1,2</sup>, Efimova O. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary of Scientific Institution "Institution of Internal and Preventive Medicine"

<sup>2</sup> Novosibirsk state University

**Романова Татьяна Ивановна** — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии

**Григорьева Ирина Николаевна** — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии, профессор кафедры терапии Центра постдипломного медицинского образования медицинского факультета

**Ефимова Ольга Васильевна** — врач-гастроэнтеролог, заочный аспирант

**Романова  
Татьяна Ивановна**  
Romanova Tatyana I.  
tarom\_75@mail.ru

### Резюме

РПЖ (РПЖ) является одним из самых опасных и клинически сложных видов рака. Отсутствие эффективных методов скрининга, поздняя выявляемость являются основными причинами того, что РПЖ остается одним из заболеваний, при котором уровень смертности практически равен уровню заболеваемости. При этом хирургические и терапевтические методы лечения остаются малоэффективными. Использование различных видов химиотерапии увеличивает продолжительность жизни больных с 5–7 месяцев при лечении одним гемцитабином до 8,5–11 месяцев при комбинированной терапии. Поэтому поиск новых мишеней для терапии является ключевой задачей при данной патологии.

В обзорной статье представлены результаты последних исследований в области генетики и молекулярной биологии РПЖ. Описаны мутации основных генов: *KRAS*, *TP53*, *CDKN 2A*, *SMAD 4*, *ARID 1A* и также часто выявляемые дефекты других генов: *TGFBR 2*, *KDM6A*, *AXIN 1*, *ACVR 1B*, *PIK3CA*, *RNF43*, *GNAS*, *ATM*, *GLI3*, *ARID 1A* и *RBM10*. Представлены результаты анализа связи мутаций этих генов с изменениями индуцируемых ими сигнальных путей и освещены возможности использования найденных особенностей в качестве мишеней для таргетной терапии РПЖ. В обзоре отражены проблемы изменения иммунного статуса, механизмы участия клеточного компонента стромы в процессах опухолевой прогрессии и метастазирования, возможности использования специфических антител в комбинированных схемах химиотерапии при РПЖ.

**Ключевые слова:** РПЖ, гены, молекулярные пути, таргетная терапия, иммунотерапия

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 138 (2): 103–109

## Resume

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA) is one of the most dangerous and clinically difficult cancers. PDA is one of the diseases for which the mortality rate is almost equal to the level of morbidity. The absence of effective methods of screening, late detection are the main reasons for that. At the same surgical and therapeutic treatments are ineffective. Using different types of chemotherapy increases the life expectancy of patients with 5–7 months of gemcitabine in the treatment of one to 8,5–11 months with combination therapy. Therefore, the search for new targets for therapy is a main task in this pathology.

In a review article presents the results of recent research in the field of genetics and molecular biology of PDA. Described mutations in key genes: *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A*, *SMAD4*, *ARID1A* and also often identify other gene defects: *TGFBR2*, *KDM6A*, *AXIN1*, *ACVR1B*, *PIK3CA*, *RNF43*, *GNAS*, *ATM*, *GLI3*, *ARID1A* and *RBM10*. Presents the analysis of the relationship of gene mutations with changes of their signaling pathways and the possibility of using the features of targeted therapy of PDA. The review reflects the problems of changes in immune status, participation mechanisms stromal cell component in the processes of tumor progression and metastasis, the possibility of using specific antibodies in combination chemotherapy regimens in PDA.

**Keywords:** pancreatic cancer, genes, molecular pathways, targeted therapy, immunotherapy

Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 138 (2): 103–109

Рак поджелудочной железы (РПЖ) является значительной проблемой здравоохранения во всем мире [1, 2], так как это одно из заболеваний, при котором уровень смертности практически равен уровню заболеваемости [2, 3]. Несмотря на прогресс в диагностике и лечении, пятилетняя выживаемость пациентов с данной патологией почти не меняется на протяжении многих лет и остается пугающе низкой, около 5% [2, 4, 5]. Наиболее частыми гистологическими формами РПЖ являются различные микроскопические варианты протоковой аденокарциномы (до 95%) [4].

В России в 2012 году РПЖ занимал пятое место в структуре смертности от онкологических заболеваний после рака лёгких, желудка, толстой кишки, предстательной и молочных желез [2, 4]. В 2012 году РПЖ составил 3,2% в структуре онкологических заболеваний мужского населения России, что соответствует 10 месту, а среди женщин — 2,7%, т.е. 13-е место. За предшествующие 10 лет прирост показателей заболеваемости РПЖ среди мужчин составил 3,5%, среди женщин — 15,6% [2]. В мире РПЖ стойко занимает 12–13-е места по частоте среди опухолей всех локализаций и 8–9-е места, — по смертности [1, 3, 5]. Среди опухолей пищеварительной системы этот вид рака удерживает 4–5 места по уровню заболеваемости и смертности [1, 3, 5].

Высокая смертность при данной патологии объясняется несколькими основными причинами. В настоящее время отсутствуют эффективные методы скрининга населения для выявления этой патологии на ранних стадиях [6, 7], которые в большинстве случаев протекают бессимптомно. Практически у 80% пациентов РПЖ диагностируют на стадии неоперабельной опухоли и при наличии отдаленных метастазов [7, 8, 9], когда возможности химиотерапевтического лечения уже значительно ограничены. В течение многих лет стандартом лечения для таких пациентов остается гемцитабин, хотя этот препарат дает относительно небольшое увеличение выживаемости [8, 9, 10] и имеет ряд существенных побочных эффектов. В последнее время используют различные виды комбинированной

химиотерапии, например FOLFIRINOX (5-фторурацил, лейковорин, иринотекан и оксалиплатин), с или без гемцитабина, так же гемцитабин с Наб-Паклитакселом (паклитаксел, связанный с альбумином в качестве носителя для доставки) [4, 11]. Продолжительность жизни больных при этом остается очень низкой: 5–7 месяцев при лечении одним гемцитabiном и 8,5–11 месяцев при комбинированной терапии [12, 13].

В последнее десятилетие прогресс в области генетики, молекулярной биологии РПЖ позволил расшифровать отдельные механизмы канцерогенеза [14, 15]. Но даже имеющиеся данные весьма медленно используются для выбора мишеней таргетной терапии РПЖ и проведения клинических испытаний [13].

Наиболее часто при РПЖ обнаруживаются мутации пяти генов: *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A*, *SMAD4* и *ARID1A*. Также часто выявляются дефекты и в других генах: *TGFBR2*, *KDM6A*, *AXIN1*, *ACVR1B*, *PIK3CA*, *RNF43*, *GNAS*, *ATM*, *GLI3*, *ARID1A* и *RBM10* [13, 16, 17]. Наиболее распространенной мутацией при РПЖ является мутация *KRAS* онкогена (этот ген был назван в честь доктора Werner H. Kristen, выявившего Kirsten rat sarcoma): ее обнаруживают более чем в 90% случаев РПЖ [18, 19]. Другие общие мутации включают инактивацию генов-супрессоров опухолей *CDKN2A* и *TP53*, их находят в 90–85% случаев инвазивной аденокарциномы поджелудочной железы [20]. Ген *SMAD4*, ген-супрессор опухолевого роста, который участвует в сигнальной трансдукции TGF-бета (фактора роста опухоли — бета), изменяется в 50–55% случаев РПЖ [4, 14, 21].

Эти гены играют ключевые роли в основных этапах онкогенеза. Панкреатическая интраэпителиальная неоплазия (pancreatic intraepithelial neoplasia PanIn) является доказанным предшественником протоковой аденокарциномы поджелудочной железы [4, 7, 22]. Стадия PanIn-1 характеризуется наличием высокого цилиндрического эпителия, выстилающего протоковую систему поджелудочной железы, но с небольшим количеством

ядерной атипии. Эти повреждения развиваются в нормальных ацинарных клетках железы, вероятно, в результате активирующего действия мутации гена KRAS [23]. Развитие инактивирующей мутации в гене CDKN2A совпадает с прогрессией PanIn-1 до поражения PanIn-2 [7]. Для стадии развития опухоли PanIn-2 характерны потеря полярности в клетках, псевдостратификация, появление сосочковых структур, развитие ядерной атипии. Инактивирующие мутации в генах TP53 и SMAD4 наиболее часто обнаруживаются на поздней стадии поражения поджелудочной железы PanIn-3, когда клетки с выраженной ядерной атипией полностью утрачивают полярность [24, 25].

Таким образом, за последние годы установлены гены-драйверы основных сигнальных путей, последовательность генетических и молекулярных событий при РПЖ [7, 14, 15, 16]. Несмотря на то, что выявлено большое количество нарушений при РПЖ, на которые можно целенаправленно воздействовать, лишь около 9% из них стали основой для клинических исследований [13]. В данном обзоре представлены результаты генетических исследований при РПЖ, которые являются потенциалом для дальнейшего развития персонализированной медицины и открывают новые возможности для таргетной терапии этой опухоли.

На сегодняшний день выполнено полногеномное секвенирование более 300 образцов ДНК от больных РПЖ [9, 15]. Выявлено множество генетических изменений вне канонического спектра мутаций в наиболее изученных генах *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A* и *SMAD4*. В ходе секвенирования выявлены не только качественные, но и количественные изменения в ДНК раковых клеток, которые поддерживают и усиливают биологическое значение возникших генетических поломок [26]. С помощью математического моделирования идентифицированы области генов опухолевых клеток со значительным числом делеций и амплификаций [27]. При РПЖ эти зоны обнаружены в генах-супрессорах опухолей, таких как *CDKN2A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A — *CDKN2A*) и *SMAD4* и в онкогенах — *MYC* и *CCND1* [15, 28]. С учетом накопленных знаний, сигнальные пути генов *KRAS*, TGF-бета, *TP53*, *MYC*, ремоделирования хроматина, репарации ДНК, клеточного цикла и Notch-путь представляют наибольший интерес, как мишени для возможной таргетной терапии при РПЖ [13–15].

Мутации гена *KRAS* обнаруживаются практически во всех случаях аденокарциномы поджелудочной железы [13–15]. Ген *KRAS* через рецептор EGFR активирует ряд сигнальных путей: RAF, MEK, ERK, MAPK (MAPK — mitogen-activated protein kinase). Передача сигнала от рецептора к белку *KRAS* происходит при участии адапторных молекул, привлекающих переносчиков гуанозинтрифосфатов (GTP, белков из семейства SOS (son of sevenless — SOS)). Образующаяся связь *KRAS* с GTP активирует протеин и ведет к передаче сигнала как минимум по 10 каскадам, регулирующим транскрипцию огромного количества генов, участвующих во всех основных процессах жизни клетки [10, 29, 30]. Очевидно, что сигнальные пути, запускаемые данным геном, являются перспективной целью для

изучения возможностей таргетного воздействия. Был разработан ряд мощных ингибиторов MEK (метилэтилкетон (MEK) сигнализации), показавших высокую активность на моделях РПЖ [31]. Однако в ряде клинических испытаний MEK-ингибиторы (CI-1040A и AZD6244) не доказали свою эффективность [32, 33].

Ген PIK3CA кодирует синтез одной из субъединиц фосфатидилинозитол-3-киназы и запускает внутриклеточный сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR [14]. Этот универсальный для многих клеток организма путь отвечает за процессы клеточного роста, пролиферации, дифференциации, так же обладая и онкогенной активностью. Фосфатидилинозитол-3-киназа также потенцирует действие других онкогенов, активируя и усиливая трансформирующую активность многих из известных онкобелков. Активация PIK3CA происходит на ранней стадии РПЖ [34], но пока не найдены достаточно эффективные способы воздействия на сигнальные пути, запускаемые этим геном. В ходе доклинических исследований были получены обнадеживающие результаты ингибирования PI3K/AKT/mTOR пути, но результаты клинических испытаний не доказали их значительных преимуществ по сравнению с пероральными ингибиторами mTOR [35].

Члены семейства TGF-бета участвуют в регуляции роста клеток, их дифференцировке, апоптозе и модуляции иммунной системы [36], что и объясняет разнообразное участие TGF-бета в онкогенезе [13]. На ранних стадиях TGF-бета может действовать как супрессор опухолей [37]. Активированные рецепторы TGF-бета фосфорилируют специфические сигнальные эффекторы, белки Smad2 и Smad3, вызывая их связывание с опухолевым супрессором Smad4. Образующиеся комплексы транслоцируются из цитоплазмы в ядро, где они регулируют транскрипцию специфических генов, в частности ингибиторов Cdk (Cyclin-dependent kinase). На более поздних стадиях, когда клетки приобретают нечувствительность к ингибированию роста извне, TGF-бета может действовать, как промотор опухолеобразования [38], стимулируя ангиогенез, иммуносупрессию и синтез внеклеточного матрикса, что способствует росту и метастазированию опухолей. Именно ускользание клеток от ингибирующего действия TGF-бета путем активации экспрессии протоонкогенов MYC или MDM2 и инактивации в опухолевых супрессорах Smad4, p15INK4b, pRb является важным механизмом для развития РПЖ [39].

Данные, касающиеся роли SMAD4 при РПЖ неоднородны. В исследовании Tascilar M. и соавт. (2001) показано увеличение общей выживаемости после хирургического лечения больных РПЖ, у которых выявляли более выраженную экспрессию SMAD4 в опухоли [40]. В исследовании другой группы ученых было выявлено, что потеря экспрессии SMAD4 может быть маркером более агрессивного течения РПЖ, с более высоким потенциалом прогрессирования и метастазирования [41]. Хотя недавнее исследование не выявило связи состояния экспрессии SMAD4 в тканях хирургически удаленных опухолей поджелудочной железы с рецидивом заболевания [42]. Crane C. H. и соавт.

(2011) доказали наличие связи между экспрессией SMAD4 и более медленным прогрессированием заболевания, но не со скоростью появления отдаленных метастазов [43]. Blackford A. и соавт. (2009) выявили корреляцию инактивирующих мутаций SMAD4 и худшей выживаемости больных РПЖ [44]. Учитывая столь противоречивые результаты необходимо проведение широкомасштабных клинических исследований для оценки потенциальных результатов ингибирования механизмов действия TGF-бета при РПЖ.

В отличие от ранней активации онкогена KRAS, соматические мутации в гене TP53 происходят на более поздней стадии развития опухоли [45]. Физиологические функции гена TP53 не ограничиваются контролем клеточного цикла и репарации ДНК. Если клеточный цикл происходит успешно, ген TP53 инициирует процесс апоптоза путем активации окислительно-восстановительных путей в митохондриях, генерации активных форм кислорода, вызывая экспрессию про-апоптотических белков, таких как NOXA [46]. Учитывая сложное влияние сигнальных путей, индуцируемых данным геном, был проведен ряд доклинических исследований, связанных с реактивацией гена TP53. Так в исследовании, проведенном на клеточных линиях, были выявлены ускорение апоптоза и сенситивизация опухолевых клеток к химиотерапии, под действием PRIMA-1 — мутантного активатора p53 [47]. В исследовании, выполненном на животной модели, также было установлено значительное ингибирование опухоли после воздействия нутлином (ингибитор MDM2, активатор p53 дикого типа) [48]. В целом эти данные указывают на выраженную связь между развитием РПЖ и дисфункцией гена TP53. Кроме того, возможная связь резистентности к традиционной химиотерапии при аденокарциноме поджелудочной железы, с отключением апоптоза из-за дефекта данного гена, требует проведения дальнейших исследований.

Ген CDKN2A кодирует выработку двух различных белков, p16 и p14. Белок p16 играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, блокируя сигнальный путь циклин-D-Rb. Утрата этого белка или его инактивация ведут к тому, что клетка теряет контроль над клеточным циклом [49]. При этом другой продукт гена CDKN2A, белок p14, ингибирует MPC-2, блокирующий действие p53 [50].

Роль гена CDKN2A в возникновении и развитии РПЖ достаточно глубоко изучена [51, 52]. На стадии доклинических исследований было показано подавление роста опухолевых клеток поджелудочной железы *in vitro* et *in vivo* ингибитором CDK4/6 [53]. Хотя в другом исследовании, проведенном на клеточных линиях, вместе с замедлением роста было выявлено увеличение инвазивности опухолевых клеток поджелудочной железы под воздействием специфического ингибитора CDK4/6 (PD-0332991) [54]. В настоящее время при РПЖ проводятся исследования безопасности и эффективности ряда других препаратов, имеющих целевое воздействие на сигнальные пути, связанные с геном CDKN2A [55].

Сигнальный путь Notch участвует в механизмах развития и дифференциации клеток и тканей,

активируется путем прямого взаимодействия поверхностей клеток. Путь Notch играет решающую роль в развитии рака легких, молочной железы, а также РПЖ [56]. Суперэкспрессия сигнального пути Notch связана с резистентностью к химиотерапии и высокой скоростью метастазирования опухоли [57, 58]. Для снижения активности Notch-пути существует достаточно широкий спектр фармакологических средств: ингибиторы гамма-секретазы, антитела [58]. В настоящее время проводится II фаза рандомизированного плацебо-контролируемого клинического исследования (NCT01647828) препарата Tarextumab (антитело против Notch2 и Notch3) в комбинации с гемцитабином и наб-паклитакселом у нелеченных больных с метастатической аденокарциномой поджелудочной железы [59]. Также представлены клинические данные о снижении резистентности к химиотерапии путем ингибирования пути Notch [59]. Таким образом, сигнальный путь Notch является перспективной целью для таргетной терапии РПЖ.

Одним из видов геномной нестабильности является хромосомная нестабильность, при которой в дочерних поколениях делящихся клеток наблюдаются неклональные изменения кариотипа, а именно: потери или приобретения хромосом и их участков. В результате полногеномных исследований при РПЖ выявили такие подтипы опухоли, которые характеризуются хромосомной нестабильностью, связанной, вероятно, с дефектом генов BRCA или генов репарации ДНК [15, 60]. При этом в исследовании Waddell N. и соавт. (2015) было показано, что у некоторых пациентов с хромосомной нестабильностью, наблюдается исключительный положительный ответ на схемы лечения, включающие препараты платины [60]. Эти результаты, доказывают необходимость дальнейших клинических исследований по изучению возможностей использования данных о хромосомной нестабильности клеток опухоли для подбора более эффективной терапии.

Важную роль в возникновении и прогрессировании любого типа опухоли играет иммунная система. В ряде исследований была выявлена связь более высокого уровня регуляторных T-клеток ( $T_{reg}$ ) с более неблагоприятным прогнозом течения РПЖ [61, 62].  $T_{reg}$  клетки являются одним из важнейших иммуносупрессивных компонентов опухолевой микросреды [63, 64], за счет секреции подавляющих цитокинов, таких как интерлейкин 10 и TGF-бета [65]. Как правило, уже на ранних стадиях заболевания уменьшается количество натуральных киллеров (NK), изменяется их функциональная активность. В ряде клинических исследований было показано, что более высокий уровень NK-клеток приводят к улучшению прогноза [66], а увеличение числа M2 подтипа макрофагов (противовоспалительный) связано с плохим прогнозом, вероятно из-за их иммуносупрессивной активности [67].

Интересен тот факт, что большинство объема опухоли при РПЖ состоит из стромы [68], а не из опухолевых клеток [69, 70]. При этом доказано, что строма является источником клеточных и молекулярных компонентов активно способствующих опухолевой прогрессии и метастазированию [71,

72]. Важно отметить, что увеличение стромального компонента коррелирует с неблагоприятным прогнозом [73], а его уменьшение с лучшим прогнозом, как на стадии доклинических, так и на стадии клинических испытаний [74, 75, 76]. Эти факты, делают строму опухоли поджелудочной железы действительной терапевтической мишенью [77].

В процессе развития опухоли изменяется генетический код раковых клеток и они начинают вырабатывать продукты с мощной антигенной активностью, поэтому иммунотерапия становится неотъемлемой частью прецизионной медицины. Центральной проблемой в области исследования рака становится способность раковых клеток избегать иммунного надзора [78]. Кроме того, в ходе онкогенеза происходит снижение иммунного ответа и опухоль продолжает расти. Недавние исследования выявили определенные пептиды, которые ответственны за провал иммунного ответа — мембранный белок программирующий клеточную смерть PD-1 и его лиганды PD-L1 и PD-L2 [78]. В ряде исследований была выявлена значимая активность антител к PD-L1 в солидных опухолях

поджелудочной железы [78]. Хотя в исследовании Brahmer J. R. и соавт. (2012) не было выявлено достаточной активности антител против PD-L1 у больных РПЖ [78]. Так же проходят клинические испытания антител к ряду других иммуномодулирующих агентов (PD-1, CTLA-4, CXCR4), определяется их безопасность и эффективность при аденокарциноме поджелудочной железы. Другим перспективным направлением в лечении РПЖ является использование антитела — агониста к CD 40. В ряде исследований были проведены клинические испытания этого препарата в комбинации с гемцитабином и показана его эффективность [79, 80].

РПЖ остается заболеванием, которое характеризуется множеством проблем, таких как рост заболеваемости, поздняя диагностика, относительная устойчивость к лечению, множество генетических особенностей. Но за последние годы достигнуты значительные успехи в понимании геномных путей, молекулярных механизмов этого заболевания, которые приведут к улучшению результатов лечения и станут основой для подбора таргетной терапии РПЖ.

## Литература

1. Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J. Clin.* 2016; 66:7–30.
2. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 году. М.: Издательская группа РОНЦ, 2014. — 226 с.
3. Ryan D. P., Hong T. S., Bardeesy N. Pancreatic adenocarcinoma. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371 (11): 1039–1049.
4. Котельников А. Г., Патютко Ю. И., Трякин А. А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению злокачественных опухолей поджелудочной железы. Москва, 2014. — 44 с.
5. Yadav D., Lowenfels A. B. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2013; 144:1252–1261.
6. Goggins M. Markers of pancreatic cancer: working toward early detection. *Clin. Cancer Res.* 2011; 5:635–637.
7. Makohon-Moore A., Brosnan J. A., Iacobuzio-Donahue C. A. Pancreatic cancer genomics: insights and opportunities for clinical translation. *Genome Med.* 2013; 5: 26–37.
8. Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* 2010; 5:1605–1617.
9. Wong K. K., Qian Z., Le Y. The Role of Precision Medicine in Pancreatic Cancer: Challenges for Targeted Therapy, Immune Modulating Treatment, Early Detection, and Less Invasive Operations. *Cancer Transl. Med.* 2016; 2(2):41–47.
10. Takai E., Yachida Sh. Genomic alterations in pancreatic cancer and their relevance to therapy. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2015; 7(10): 250–258.
11. Vaccaro V., Sperduti I., Milella M. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365:768–779.
12. Von Hoff D. D., Ervin T., Arena F. P. et al. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *New Engl. J. med.* 2013; 369:1691–1703.
13. Heestand G. M., Kurzrock R. Molecular landscape of pancreatic cancer: implications for current clinical trials. *Oncotarget.* 2015; 6:4553–4561.
14. Sahin I. H., Iacobuzio-Donahue C. A., O'Reilly E. M. Molecular signature of pancreatic adenocarcinoma: An insight from genotype to phenotype and challenges for targeted therapy. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2016; 20(3):341–359.
15. Witkiewicz A. K., McMillan E. A., Balaji U. et al. Whole-exome sequencing of pancreatic cancer defines genetic diversity and therapeutic targets. *Nat. Commun.* 2015; 6: 6744–6755.
16. Forbes S. A., Bindal N., Bamford S. et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic acids research.* 2011; 39:945–950.
17. Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) Wellcome Trust Sanger Institute; Hinxton, UK: <http://www.sanger.ac.uk/cosmic> accessed December 1, 2014.
18. Jamieson N. B., Chang D. K., Grimmond S. M., Biankin A. V. Can we move towards personalised pancreatic cancer therapy? *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014; 8(4): 335–338.
19. Mohammed S., Van Buren G. 2nd, Fisher W. E. Pancreatic cancer: advances in treatment. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(28): 9354–9360.
20. Okano K., Suzuki Y. Strategies for early detection of resectable pancreatic cancer. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(32): 11230–11240.
21. Григорьева И. Н., Ефимова О. В., Суворова Т. С., Тов Н. Л. Генетические аспекты РПЖ. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2014; 110 (10):70–76.
22. Григорьева И. Н. Острый и хронический панкреатит. Изд. «Наука», Новосибирск. 2010. 101 с.
23. Jancík S., Drábek J., Radziach D., Hajdúch M. Clinical relevance of KRAS in human cancers. *Biomed. Biotechnol.* 2010; 5:150960.
24. Heldin C.-H., Moustakas A. Role of Smads in TGFβ signaling. *Cell Tissue Res.* 2012; 5: 21–36.
25. Lüttges J., Galehdari H., Bröcker V. et al. Allelic loss is often the first hit in the biallelic inactivation of the p53 and DPC4 genes during pancreatic carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 2001; 5:1677–1683.

26. Calhoun E. S., Hucl T., Gallmeier E. et al. Identifying allelic loss and homozygous deletions in pancreatic cancer without matched normals using high-density single-nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res.* 2006; 66 (16):7920–7928.
27. Mermel C. H., Schumacher S. E., Hill B. et al. GISTIC2.0 facilitates sensitive and confident localization of the targets of focal somatic copy-number alteration in human cancers. *Genome Biol.* 2011; 12 (4): R41.
28. Biankin A. V., Waddell N., Kassahn K. S. et al. Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. *Nature* 2012; 491(7424): 399–405.
29. Vakiani E., Solit D. B. KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers. *J. Pathol.* 2011; 223: 219–229.
30. Malumbres M., Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat. Rev. Cancer.* 2003; 3:459–465.
31. Alagesan B., Contino G., Guimaraes A. R. et al. Combined MEK and PI3K inhibition in a mouse model of pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.* 2015; 21(2): 396–404.
32. Infante J. R., Fecher L. A., Falchook G. S. et al. Safety, pharmacokinetic, pharmacodynamic, and efficacy data for the oral MEK inhibitor trametinib: a phase 1 dose-escalation trial. *lancet oncology.* 2012; 13:773–781.
33. Infante J. R., Somer B. G., Park J. O. et al. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of rametinib, an oral MEK inhibitor, in combination with gemcitabine for patients with untreated metastatic adenocarcinoma of the pancreas. *Eur. J. cancer.* 2014; 50:2072–2081.
34. Schonleben F., Qiu W., Ciau N. T. et al. PIK3CA mutations in intraductal papillary mucinous neoplasm/carcinoma of the pancreas. *Clin. Cancer. Res.* 2006; 12(12): 3851–3855.
35. Wolpin B. M., Hezel A. F., Abrams T. et al. Oral mTOR inhibitor everolimus in patients with gemcitabine-refractory metastatic pancreatic cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27 (2): 193–198.
36. Heldin C-H., Miyazono K., ten Dijke P. TGF- $\beta$  signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature.* 1997; 390:465–471.
37. Massague J. The TGF- $\beta$  family of growth and differentiation factors. *Cell* 1987; 49(4): 437–438.
38. Ellenrieder V., Hendler S. F., Boeck W. et al. Transforming growth factor beta1 treatment leads to an epithelial-mesenchymal transdifferentiation of pancreatic cancer cells requiring extracellular signal-regulated kinase 2 activation. *Cancer Res.* 2001; 61(10): 4222–4228.
39. Derynck R., Zhang Y., Feng X. H. Smads: transcriptional activators of TGF- $\beta$  responses. *Cell.* 1998; 11: 95(6):737–740.
40. Tascilar M., Skinner H. G., Rosty C. et al. The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7(12):4115–4121.
41. Iacobuzio-Donahue C. A., Fu B., Yachida S. et al. DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(11):1806–1813.
42. Winter J. M., Tang L. H., Klimstra D. S. et al. Failure patterns in resected pancreas adenocarcinoma: lack of predicted benefit to SMAD4 expression. *Ann. Surg.* 2013; 258(2):331–335.
43. Crane C. H., Varadhachary G. R., Yordy J. S. et al. Phase II trial of cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin followed by chemoradiation with cetuximab for locally advanced (T4) pancreatic adenocarcinoma: correlation of Smad4 (Dpc4) immunostaining with pattern of disease progression. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(22):3037–3043.
44. Blackford A., Serrano O. K., Wolfgang C. L. et al. SMAD4 gene mutations are associated with poor prognosis in pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(14):4674–4679.
45. Casey G., Yamanaka Y., Friess H. et al. p53 mutations are common in pancreatic cancer and are absent in chronic pancreatitis. *Cancer Lett.* 1993; 69(3):151–160.
46. Polyak K., Xia Y., Zweier J. L. et al. A model for p53-induced apoptosis. *Nature.* 1997; 389(6648):300–305.
47. Izetti P., Hautefeuille A., Abujamra A. L. et al. PRIMA-1, a mutant p53 reactivator, induces apoptosis and enhances chemotherapeutic cytotoxicity in pancreatic cancer cell lines. *Invest. New Drugs.* 2014; 32(5):783–794.
48. Azmi A. S., Philip P. A., Wang Z. et al. Reactivation of p53 by novel MDM2 inhibitors: implications for pancreatic cancer therapy. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2010; 10(3):319.
49. Liggett W., Sidransky D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16(3):1197–1206.
50. Stott F. J., Bates S., James M. C. et al. The alternative product from the human CDKN2A locus, p14ARF, participates in a regulatory feedback loop with p53 and MDM2. *EMBO J.* 1998; 17(17):5001–5014.
51. Caldas C., Hahn S. A., da Costa L. T., et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nature Genet.* 1994; 8(1):27–32.
52. Schutte M., Hruban R. H., Geradts J. et al. Abrogation of the Rb/p16 tumor-suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas. *Cancer Res.* 1997; 57(15):3126–3130.
53. Heilmann A. M., Perera R. M., Ecker V. et al. CDK4/6 and IGF1 receptor inhibitors synergize to suppress the growth of p16INK4A-deficient pancreatic cancers. *Cancer Res.* 2014; 74(14):3947–3958.
54. Liu F., Korc M. Cdk4/6 Inhibition induces epithelial-mesenchymal transition and enhances invasiveness in pancreatic cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* 2012; 11(10):2138–2148.
55. Finn R. S., Crown J. P., Lang I. et al. The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2015; 16(1):25–35.
56. Allenspach E. J., Maillard I., Aster J. C., Pear W. S. Notch signaling in cancer. *Cancer Biol. Ther.* 2002; 1 (5): 466–476.
57. Ranganathan P., Weaver K. L., Capobianco A. J. Notch signalling in solid tumours: a little bit of everything but not all the time. *Nat. Rev. Cancer.* 2011; 11(5):338–351.
58. Andersson E. R., Lendahl U. Therapeutic modulation of Notch signalling — Are we there yet? *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2014; 13(5): 357–378.
59. Lee J. Y., Song S. Y., Park J. Y. Notch pathway activation is associated with pancreatic cancer treatment failure. *Pancreatology* 2014; 14(1):48–53.
60. Waddell N., Pajic M., Patch A. M. et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature* 2015; 518(7540): 495–501.
61. Hiraoka N., Onozato K., Kosuge T., Hirohashi S. Prevalence of FOXP3 + regulatory T cells increases during the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma and its premalignant lesions. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12(18): 5423–5434.
62. Ikemoto T., Yamaguchi T., Morine Y. et al. Clinical roles of increased populations of Foxp3+CD4+T cells in peripheral blood from advanced pancreatic cancer patients. *Pancreas* 2006; 33(4): 386–390.
63. Yamagiwa S., Gray J. D., Hashimoto S., Horwitz D. A. A role for TGF- $\beta$  in the generation and expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells from human peripheral blood. *J. Immunol.* 2001; 166(12):7282–7289.

64. *Blauenstein U. W.* On the effects of moderate hypothermia on the acid base and electrolyte ratio in cerebrospinal fluid and arterial blood. *Anaesthesist* 1965; 14(12):361–366.
65. *Clark C. E., Hingorani S. R., Mick R. et al.* Dynamics of the immune reaction to pancreatic cancer from inception to invasion. *Cancer Res.* 2007; 67(19):9518–9527.
66. *Davis M., Conlon K., Bohac G. C. et al.* Effect of pemetrexed on innate immune killer cells and adaptive immune T cells in subjects with adenocarcinoma of the pancreas. *J. Immunother.* 2012; 35(8):629–640.
67. *Kurahara H., Shinchi H., Mataka Y. et al.* Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer. *J. Surg. Res.* 2011; 167(2): e211–219.
68. *Rucki A. A., Zheng L.* Pancreatic cancer stroma: understanding biology leads to new therapeutic strategies. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(9):2237–2246.
69. *Farrow B., Albo D., Berger D. H.* The role of the tumor microenvironment in the progression of pancreatic cancer. *J. Surg. Res.* 2008;149:319–328.
70. *Lewin C. S., Allen R. A., Amyes S. G.* Mechanisms of zidovudine resistance in bacteria. *J. Med. Microbiol.* 1990; 33:235–238.
71. *Waghray M., Yalamanchili M., di Magliano M. P., Simone D. M.* Deciphering the role of stroma in pancreatic cancer. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2013; 29:537–543.
72. *Feig C., Gopinathan A., Nesses A. et al.* The pancreas cancer microenvironment. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18:4266–4276.
73. *Erkan M., Michalski C. W., Rieder S. et al.* The activated stroma index is a novel and independent prognostic marker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 6:1155–1161.
74. *Olive K. P., Jacobetz M. A., Davidson C. J. et al.* Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science.* 2009; 324:1457–1461.
75. *Beatty G. L., Chiorean E. G., Fishman M. P. et al.* CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans. *Science.* 2011; 331:1612–1616.
76. *Heinemann V., Reni M., Ychou M. et al.* Tumour-stroma interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma: rationale and current evidence for new therapeutic strategies. *Cancer Treat. Rev.* 2014; 40:118–128.
77. *Burriss H. A., Moore M. J., Andersen J. et al.* Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J. Clin. Oncol.* 1997; 15:2403–2413.
78. *Brahmer J. R., Tykodi S. S., Chow L. Q. et al.* Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N. Engl. J. Med.* 2012; 366(26): 2455–2465.
79. *Beatty G. L., Chiorean E. G., Fishman M. P. et al.* CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans. *Science* 2011; 331(6024): 1612–1616.
80. *Vonderheide R. H., Bajor D. L., Winograd R. et al.* CD40 immunotherapy for pancreatic cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2013; 62(5):949–954.