



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.09.009
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2021.09.009
Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(9):1059-1067.

· 基础研究 ·

PIK3C3与SMAD4在胰腺癌中的表达及作用

周袁¹, 张鹏程¹, 方强强¹, 喻亚群³, 肖娟^{1,2}

(桂林医学院附属医院 1. 广西肝损伤与修复分子医学重点实验室 2. 广西神经鞘脂代谢相关疾病基础研究重点实验室 3. 肝胆胰外科, 广西 桂林 541001)

摘要

背景与目的: III型磷脂酰肌醇3-激酶(PIK3C3)及SMAD家族成员4(SMAD4)参与的信号通路与胰腺癌(PAAD)关系密切,但两者与PAAD发生及预后是否有关尚不十分清楚。本研究初步探究两者在PAAD中的表达及其对患者预后的影响。

方法: 利用UALCAN在线网站分析PIK3C3 mRNA和SMAD4 mRNA在PAAD中的表达及两者各自对PAAD患者预后的影响;从TCGA数据库下载PAAD患者PIK3C3 mRNA和SMAD4 mRNA的表达数据和相应临床病理资料,基于PIK3C3和SMAD4联合的mRNA表达水平,用一致性聚类分析将PAAD患者分为两个聚类,用Kolmogorov-Smirnov检验及Kaplan-Meier法分析两个聚类患者PIK3C3与SMAD4的mRNA表达模式、临床病理因素和总体生存率的差异;用免疫组化的方法检测PAAD和癌旁组织组织芯片中PIK3C3及SMAD4蛋白表达水平,并用独立样本t检验及ROC曲线下面积(AUC)评估两个蛋白在癌和癌旁组织中的差异;采用Kaplan-Meier的方法分析PIK3C3和SMAD4的蛋白水平单独及联合对PAAD患者生存的影响。

结果: 分析结果表明,PIK3C3 mRNA或SMAD4 mRNA水平在PAAD中均无明显变化,并且两者单独均不影响PAAD患者的预后(均 $P>0.05$)。PAAD中与PIK3C3 mRNA与SMAD4 mRNA具有较高的共表达相关性。两个聚类的PAAD患者之间,两基因的mRNA水平及年龄有明显差异(均 $P<0.05$),其中,PIK3C3 mRNA及SMAD4 mRNA均高表达聚类的PAAD患者预后较好($P=0.006$)。PAAD组织中PIK3C3和SMAD4的蛋白表达水平均明显低于癌旁组织(均 $P<0.001$),AUC分别为0.7417及0.7991。PIK3C3和SMAD4蛋白之一阳性患者比两蛋白均阴性的患者预后更好($P=0.0359$)。

结论: PIK3C3和SMAD4蛋白可作为PAAD潜在的诊断标志物,PIK3C3和SMAD4联合分析可成为PAAD患者预后评估的新指标。

关键词

III类磷脂酰肌醇3-激酶类; SMAD家族成员4; 预后; 计算生物学
中图分类号: R735.9

Expressions and roles of PIK3C3 and SMAD4 in pancreatic adenocarcinoma

ZHOU Yuan¹, ZHANG Pengcheng¹, FANG Qiangqiang¹, YU Yaqun³, XIAO Juan^{1,2}

(1. Guangxi Key Laboratory of Molecular Medicine in Liver Injury and Repair 2. Guangxi Health Commission Key Laboratory of Basic Research in Sphingolipid Metabolism Related Diseases 3. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541001, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81800576; 81960127); 广西自然科学基金资助项目(2018GXNSFDA281003); 桂林医学院硕士研究生科研基金资助项目(GYYK2021017)。

收稿日期: 2021-05-25; **修订日期:** 2021-08-17。

作者简介: 周袁, 桂林医学院附属医院硕士研究生, 主要从事胰腺炎、PAAD鞘脂代谢及分子诊断方面的研究。

通信作者: 肖娟, xiaojuan@glmc.edu.cn, xj042386@sina.com; 喻亚群, yyq0129@glmc.edu.cn

Abstract

Background and Aims: The signaling pathways associated with phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit type 3 (PIK3C3) and SMAD family member 4 (SMAD4) are closely linked to pancreatic adenocarcinoma (PAAD). However, the relationships of the two genes with the occurrence or prognosis of PAAD are not fully understood. This study was conducted to investigate the expressions PIK3C3 and SMAD in PAAD and their influences on prognosis of patients.

Methods: The mRNA expressions of PIK3C3 and SMAD4 in PAAD tissue and their corresponding effects on prognosis of PAAD patients were analyzed using UALCAN website. The mRNA expression profiles of PIK3C3 and SMAD4 together with the indicated clinicopathologic data were downloaded from TCGA. The PAAD patients were divided into two clusters based on the combined expression of the PIK3C3 and SMAD4 genes by consensus clustering analysis, the differences in PIK3C3 mRNA or SMAD4 mRNA expression pattern, clinicopathologic variables and overall survival between two clusters were analyzed by Kolmogorov-Smirnov test and Kaplan-Meier method. The protein levels of PIK3C3 and SMAD4 in tissue microarrays containing PAAD and adjacent normal tissue samples were determined by immunohistochemical staining, and the differences of the two proteins in tumor and adjacent normal tissue were evaluated by independent sample *t* test as well as the area under ROC curve (AUC); the effects of individual PIK3C3 and SMAD4 protein or their combination on the survival of PAAD patients were assessed by Kaplan-Meier analysis.

Results: The results of analysis showed that mRNA expression of PIK3C3 or SMAD4 alone did not change significantly in PAAD and did not significantly affect the prognosis of PAAD patients as well (all $P>0.05$). There was a high correlation in co-expression between PIK3C3 mRNA and SMAD4 mRNA in PAAD. Between the two clusters of PAAD patients, there were significant differences in mRNA levels of the two genes and age ($P<0.05$), and the cluster with higher mRNA level of both PIK3C3 and SMAD4 had a better survival probability ($P=0.006$). The protein levels of both PIK3C3 and SMAD4 were significantly higher in PAAD tissue than those in adjacent normal tissue (both $P<0.001$), and their AUC were 0.7417 and 0.7991, respectively. PAAD patients with positive expression of PIK3C3 or SMAD4 protein have better survival than those with negative expression of both proteins ($P=0.0359$).

Conclusion: This study suggests that PIK3C3 and SMAD4 protein may be the potential biomarkers for diagnosis of PAAD. Combined analysis of PIK3C3 and SMAD4 can be used for predicting the prognosis of PAAD patients.

Key words

Pancreatic Neoplasms; Class III Phosphatidylinositol 3-Kinases; SMAD Family Member 4; Prognosis; Computational Biology

CLC number: R735.9

胰腺癌 (pancreatic adenocarcinoma, PAAD) 仍是世界范围内最致命的癌症之一^[1]。据2018年全球肿瘤流行病学统计数据 (GLOBOCAN) 显示, PAAD 每年可导致432 242例以上的患者死亡, 其在男性或女性癌症病死率中排名第七^[2-3]。随着外科手术及化疗不断发展, PAAD 患者的生存率有所提高。但在一些国家, PAAD 患者的5年生存率仍低至2%^[4-5], 其主要原因在于PAAD的早期诊断困难^[6-8]。因此, 研究可用于PAAD早期诊断的指标至关重要。

III型磷脂酰肌醇3-激酶 (PIK3C3, 也称为

VPS34), 在低等真核生物、植物和哺乳动物体内保守^[9-10]。PIK3C3蛋白是一种内体激酶, 在胞内可通过与不同的多蛋白复合物结合而行使多种功能^[11]。研究发现, PIK3C3在哺乳动物中的生物学功能与小泡运输的调节有关, 包括自噬、内吞和吞噬作用等^[12]。最近, 自噬被发现与癌症的发生发展密切相关^[13], 自噬在癌症中发挥双重作用^[14]。一方面, 肿瘤发生早期, 自噬可清除损伤的蛋白及细胞器以维持细胞稳态, 进而抑制肿瘤发生发展; 另一方面, 肿瘤发生晚期, 自噬可通过降解蛋白质或细胞器为肿瘤细胞提供营养, 从而有助

于肿瘤的发展。然而,自噬关键分子PIK3C3在PAAD中的作用并不十分清楚。

SMAD4基因编码Smad家族成员蛋白,该基因的产物可调节靶基因的转录^[15]。SMAD4蛋白质可充当肿瘤抑制因子并抑制上皮细胞增殖^[16]。此外,钙蛋白还可能通过减少血管生成和增加血管通透性而对肿瘤产生抑制作用^[17-18]。该基因的突变或缺失可能导致PAAD^[19-20],但其与PIK3C3联合在PAAD中的作用未知。

本研究通过生物信息学分析和相关实验验证以了解PIK3C3及SMAD4联合是否对PAAD患者的诊断和预后产生影响。

1 材料与方法

1.1 数据收集及处理

利用UALCAN在线网站(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)分析PIK3C3及其相关基因SMAD4在PAAD中的表达,分析PIK3C3及SMAD4基因与PAAD预后之间的关联。从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库(<http://cancergenome.nih.gov>)下载4例正常对照及178例PAAD的千碱基百万片段(FPKM)样式数据的转录组测序(RNA-seq)数据及匹配的临床信息数据,生存分析时将没有生存信息的患者剔除(1例)。

1.2 聚类分析

基于PIK3C3和SMAD4联合的mRNA表达水平,使用“ConsensusClusterPlus”R软件包进行聚类分析,将178例PAAD分为聚类1(101例)和2(77例)。通过“Limma”R软件包进行主成分分析(PCA)以分析两个cluster的区分度,所得结果通过“ggplot2”R软件包进行可视化。

1.3 免疫组织化学染色

PAAD组织芯片购自上海芯超生物有限公司(货号HPanA150Su01),PIK3C3检测芯片有效癌组织及癌旁组织例数分别为78及59,SMAD4检测芯片有效癌组织及癌旁组织例数分别为66及50,同时具备PIK3C3及SMAD4病理评分的癌组织例数为60。将组织样本切片脱蜡再水化,然后在0.01 mmol/L柠檬酸盐缓冲液(pH=6.0)中进行热诱导抗原决定

簇修复,在3%过氧化氢和甲醇中封闭10 min。抗PIK3C3/VPS34(Proteintech Group)和抗SMAD4(Proteintech Group)多克隆抗体分别与组织芯片4℃孵育过夜。孵育结束后,滴加适量反应增强液、二抗聚合物各避光室温下孵育20 min。DAB染色5 min,复染,脱水,透明,封片。最后由多个病理学专家在显微镜下对蛋白表达水平进行评分。根据染色强度和染色面积将其分为4个级别:0(阴性),1(弱阳性),2(中阳性)和3(强阳性)^[21-22]。

1.4 统计学处理

采用R(版本3.6.1)进行了与R相关的统计分析。使用秩和检验(Wilcoxon)比较癌组织和癌旁组织中PIK3C3和SMAD4的mRNA表达差异。使用Kolmogorov-Smirnov检验分析了PIK3C3及SMAD4与PAAD患者的临床病理特征之间的关系。使用Kaplan-Meier法分析两个聚类之间的总生存期(OS)差异。采用独立样本t检验(SPSS)及ROC曲线AUC(GraphPad prism)分析PIK3C3或SMAD4蛋白在PAAD癌及癌旁组织的表达差异。采用Kaplan-Meier法(Log-rank)分析PIK3C3及SMAD4单独及联合在评估PAAD患者预后中的作用。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PAAD中PIK3C3的mRNA表达分析及生存分析

UALCAN网站分析得到的箱线图表明,与正常组织相比,PAAD组织中PIK3C3 mRNA表达略有下降,但差异不明显($P > 0.05$)(图1A)。同时,分析结果表明PIK3C3 mRNA表达对PAAD患者的预后无明显影响($P > 0.05$)(图1B)。

2.2 与PIK3C3 mRNA表达相关的基因筛选

上述结果说明PIK3C3 mRNA表达在癌和癌旁中的差异不明显且其与PAAD预后无明显关系。PIK3C3为自噬关键调控基因,且自噬与肿瘤的发生发展关系密切,故PIK3C3可能与其他基因共同影响PAAD。利用UALCAN分析得到在PAAD中与PIK3C3 mRNA共表达相关性最高的20个基因,其中包括SMAD4(表1)。

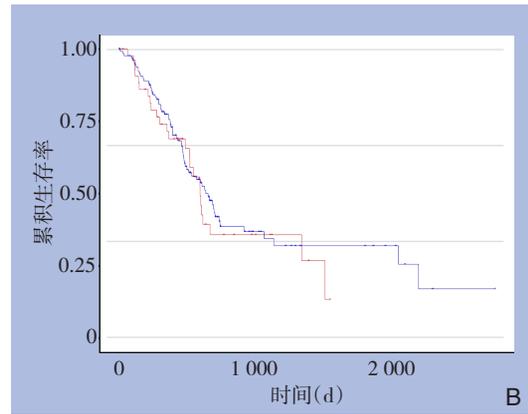
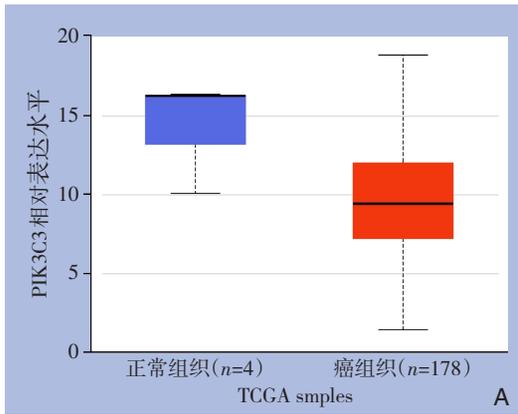


图1 PIK3C3 mRNA在PAAD中的表达及其对预后的影响
A: PIK3C3 mRNA在正常和PAAD组织中的表达情况; B: 不同PIK3C3 mRNA表达水平PAAD患者的生存曲线

Figure 1 The expression of PIK3C3 mRNA in PAAD and its effect on prognosis A: PIK3C3 mRNA expressions in PAAD and adjacent normal tissues; B: Survival curves of PAAD patients with different expression levels of PIK3C3 mRNA

表1 PAAD中与PIK3C3共表达最相关的前20个基因

Table 1 Top 20 genes correlate to PIK3C3 in PAAD

基因名	基因ID (NCBI)
chromosome 18 open reading frame 25(C18orf25)	147339
SMAD family member 2(SMAD2)	4087
ankyrin repeat and FYVE domain containing 1(ANKFY1)	51479
SMAD family member 4(SMAD4)	4089
tubulin folding cofactor E like(TBCEL)	219899
zinc finger protein 24(ZNF24)	7572
thioredoxin related transmembrane protein 3(TM3)	54495
ferrochelatase(FECH)	2235
phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class N(PIGN)	23556
mediator complex subunit 13L(MED13L)	23389
enhancer of polycomb homolog 2(EPC2)	26122
early endosome antigen 1(EEA1)	8411
biorientation of chromosomes in cell division 1 like 1(BOD1L)	259282
RIC1 homolog, RAB6A GEF complex partner 1(KIAA1432)	57589
senataxin(SETX)	23064
family with sequence similarity 114 member A2(FAM114A2)	10827
3-ketodihydrospingosine reductase(KDSR)	2531
ERCC excision repair 4, endonuclease catalytic subunit(ERCC4)	2072
SNF2 histone linker PHD RING helicase(SHPRH)	257218
elongator acetyltransferase complex subunit 2(ELP2)	55250

2.3 基于PIK3C3和SMAD4 mRNA表达的共聚类分析

Wilcoxon 检验、R 热图分析结果显示，PIK3C3 和 SMAD4 mRNA 在 PAAD 中具有相似的表达模式，且两者在 PAAD 癌和癌旁中均无明显差异（图 2）。采用基于 PIK3C3 和 SMAD4 mRNA 表达模式的聚类

分析研究两者联合在 PAAD 中的作用。k=2 即 PAAD 患者被分为聚类 1 和聚类 2，进一步使用主成分分析 (PCA) 比较聚类 1 和聚类 2 之间的转录谱，结果表明聚类 1 和聚类 2 之间有明显的差别（图 3A-D）。与聚类 1 比较，聚类 2 中 PIK3C3 和 SMAD4 mRNA 表达水平更高，且 65 岁以下的病例数更多（图 3E）。此外，在聚类 1 中，PAAD 患者的总生存率比聚类 2 中的患者明显更短（ $P=0.006$ ）（图 3F）。

2.4 SMAD4 的 mRNA 表达分析及生存分析

以上结果表明 SMAD4 可以与 PIK3C3 联合作用影响 PAAD 的预后。从 UALCAN 网站分析得到的箱线图表明，与 PIK3C3 类似，PAAD 组织中 SMAD4 mRNA 表达下降，但不明显（ $P>0.05$ ）（图 4A）。同时，SMAD4 mRNA 表达与 PAAD 患者的预后无明显关系（ $P>0.05$ ）（图 4B）。

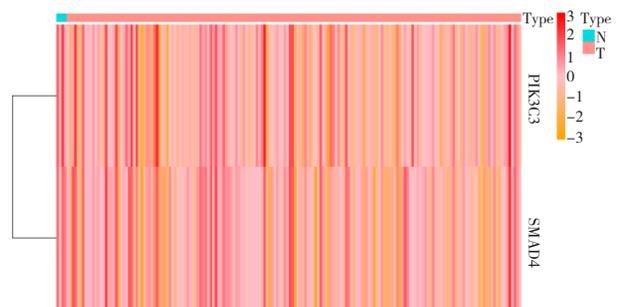


图2 在PAAD组织和正常组织中PIK3C3和SMAD4 mRNA的表达热图

Figure 2 Heatmap of PIK3C3 and SMAD4 mRNA expression in PAAD tissues and adjacent normal tissues

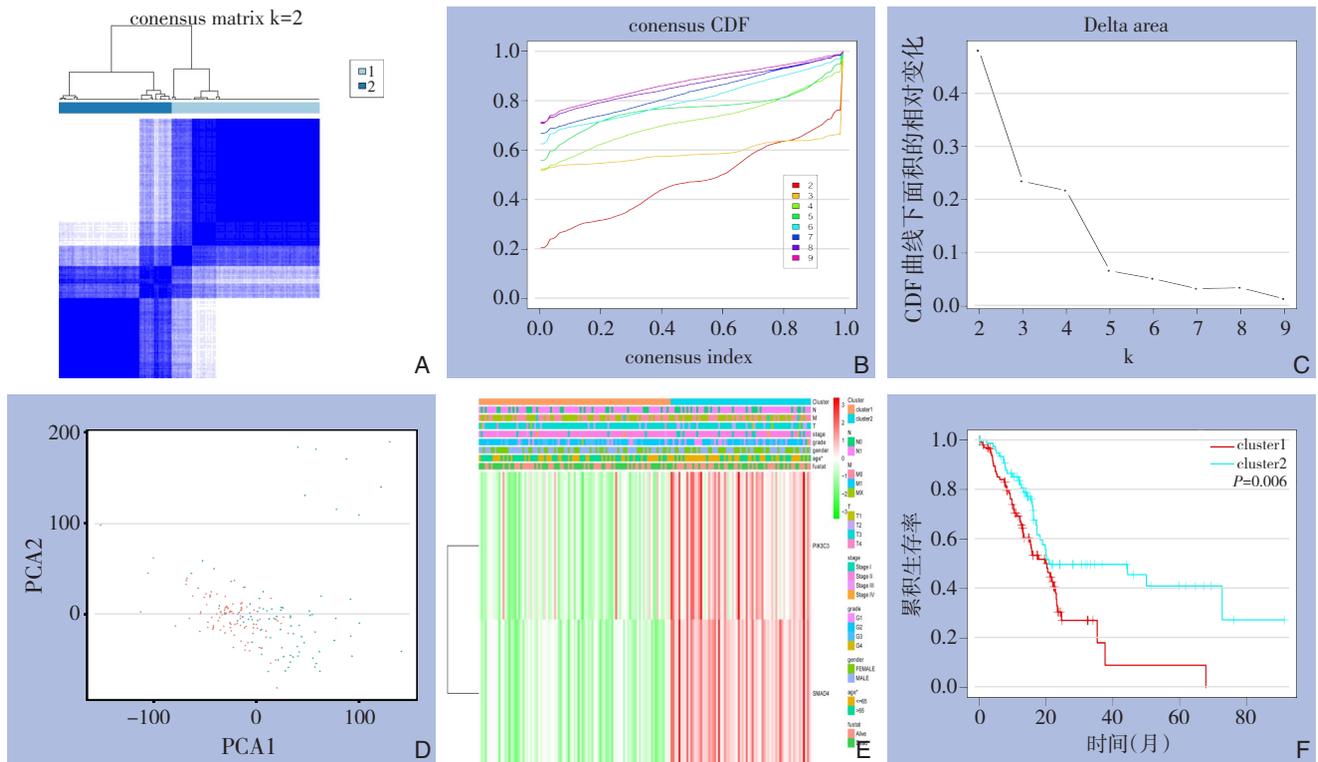


图3 一致性聚类分析 A: 当k=2时, TCGA 队列被分为聚类1和聚类2; B: k=2~10的一致性聚类累积分布函数 (CDF); C: k=2~10 CDF 曲线下面积的相对变化; D: 在 TCGA 数据集中 2 个亚组主成分分析 (PCA); E: 每个亚组中 PIK3C3 和 SMAD4 的表达水平及临床参数热图; F: 聚类 1 与聚类 2 患者的 OS 曲线

Figure 3 Consensus clustering analysis A: Two distinct clusters divided from the TCGA cohort when k=2; B: The consistency clustering cumulative distribution function (CDF) for k=2 to 10; C: Relative change in area under CDF curve for k=2 to 10; D: Principal component analysis (PCA) of 2 clusters of total RNA expression profile after consistency analysis of PAAD in the TCGA dataset; E: The heatmap for visualizing the expression levels of PIK3C3 and SMAD4, and clinical parameters in each cluster; F: OS curves of the two clusters of patients

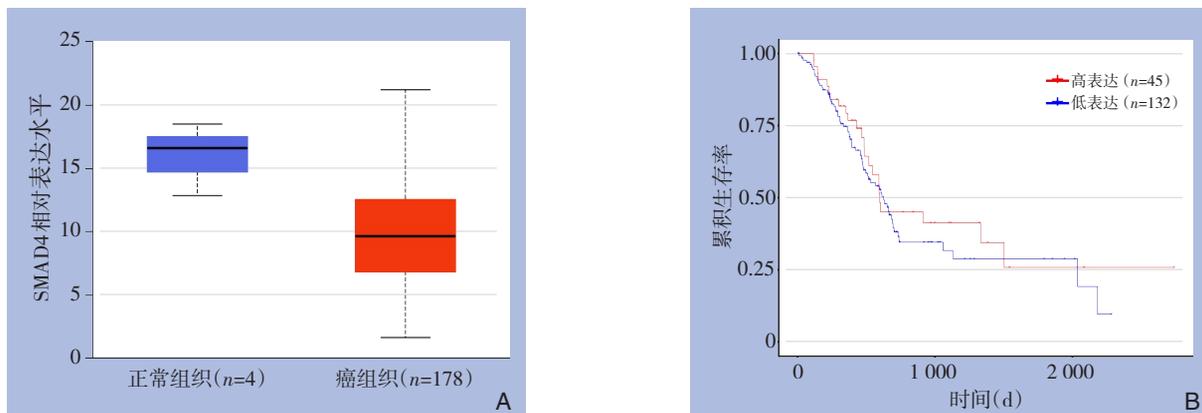


图4 SMAD4 mRNA 在 PAAD 中的表达及其对预后的影响 A: SMAD4 mRNA 在正常和 PAAD 组织中的表达情况; B: 不同 SMAD4 mRNA 表达水平 PAAD 患者的生存曲线

Figure 4 The expression of SMAD4 mRNA in PAAD and its effect on prognosis A: SMAD4 mRNA expressions in PAAD and adjacent normal tissues; B: Survival curves of PAAD patients with different expression levels of SMAD4 mRNA

2.5 PAAD 患者中 PIK3C3 和 SMAD4 蛋白表达分析

采用免疫组化的方法分析 PAAD 中 PIK3C3 和 SMAD4 蛋白表达水平。对 PAAD 及癌旁组织的免疫

组化病理评分进行独立样本 t 检验以分析蛋白表达的差异性。结果表明, PIK3C3 和 SMAD4 蛋白定位在 PAAD 组织的细胞质中 (图 5A-B), 且 PAAD 组

织中的PIK3C3和SMAD4的蛋白质水平均明显低于癌旁组织(均 $P<0.001$); ROC曲线也证明PAAD与癌旁组织中PIK3C3和SMAD4蛋白质表达存在明显

差异,其AUC分别为0.741 7和0.799 1(图5C-D),提示PIK3C3和SMAD4蛋白可能为PAAD的诊断标志物。

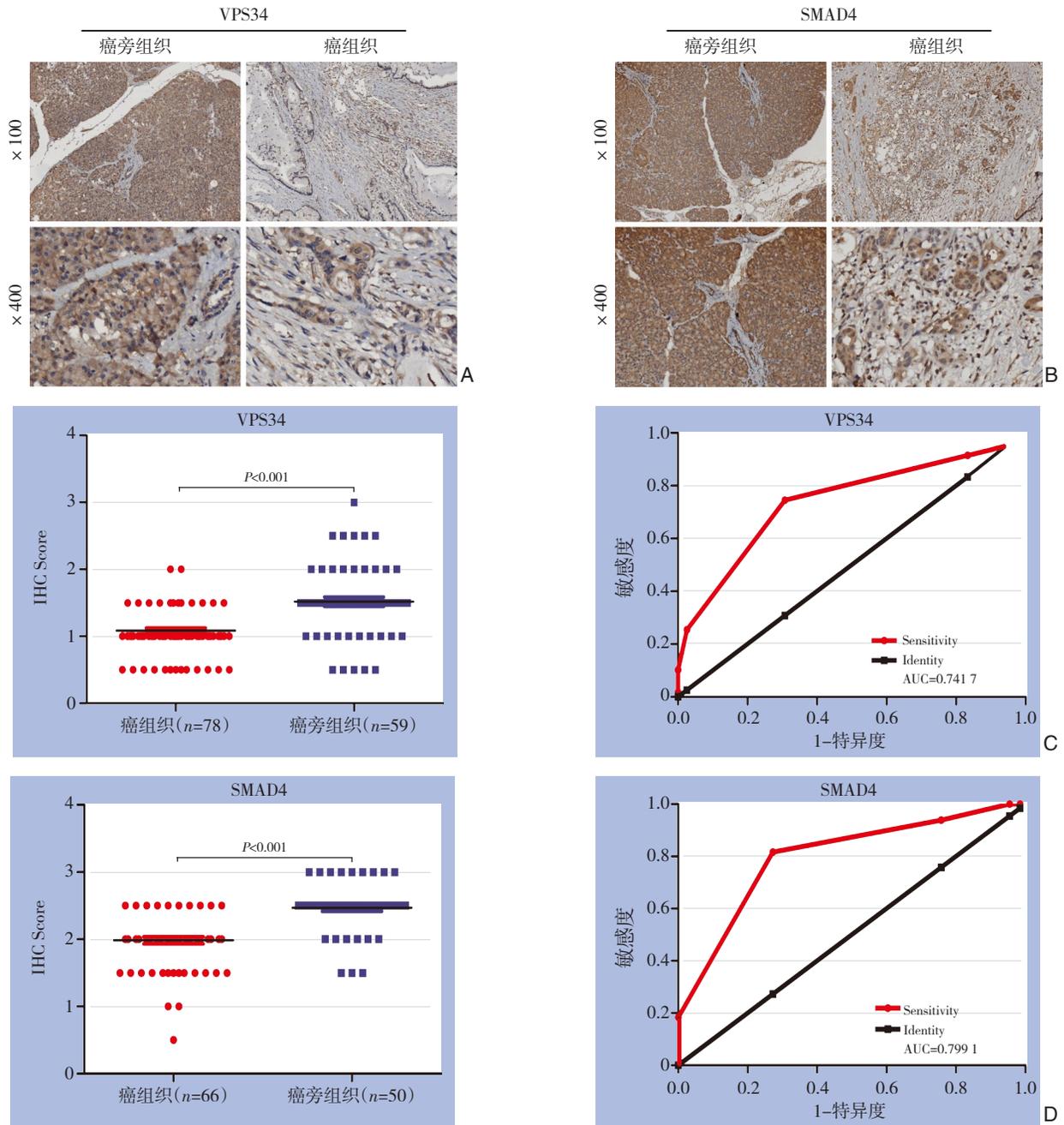


图5 PIK3C3及SMAD4蛋白在PAAD中的表达情况 A-B: 免疫组化检测PIK3C3及SMAD4蛋白水平; C-D: 独立样本t检验及ROC曲线AUC分析癌和癌旁组织PIK3C3、SMAD4蛋白质的病理评分差异

Figure 5 PIK3C3 and SMAD4 protein expressions in PAAD A-B: The protein levels of PIK3C3 and SMAD4 in PAAD detected by immunohistochemical staining; C-D: The differences in pathological scores for PIK3C3 or SMAD4 proteins in PAAD and adjacent tissues analyzed by independent sample t test and AUC of the ROC curve

2.6 PIK3C3和SMAD4蛋白与PAAD预后的关系分析

生存分析结果显示, PIK3C3或SMAD4蛋白单独均未对PAAD患者的预后产生影响(图6A和6B)。接下来对PIK3C3和SMAD4蛋白联合进行预后分析,

将PAAD病例分组(图6C)。与PIK3C3和SMAD4蛋白为阴性的组相比, PIK3C3或SMAD4蛋白任意一个表达为阳性时, PAAD患者的生存率更高($P=0.0359$)(图6C)。

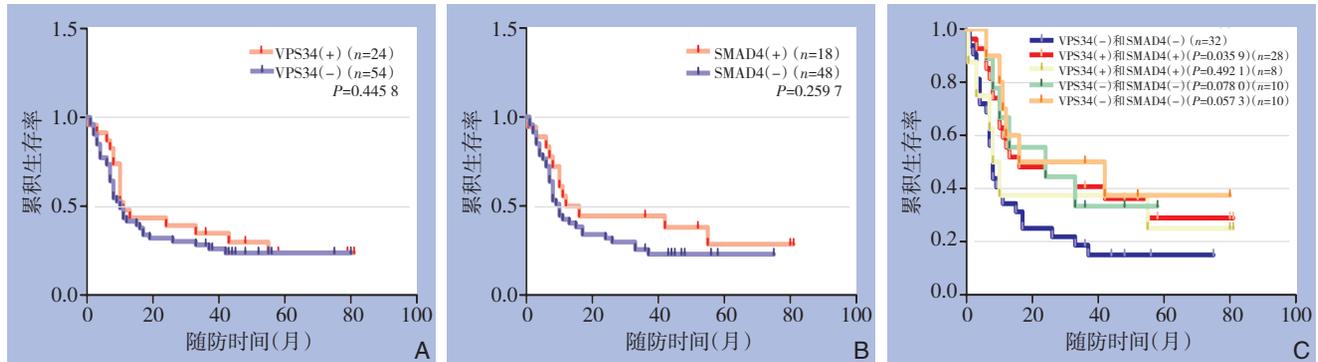


图6 PIK3C3及SMAD4蛋白对PAAD患者预后的影响 A-B: PIK3C3蛋白与SMAD4蛋白单独表达时生存曲线; C: PIK3C3蛋白联合SMAD4蛋白的分组生存曲线

Figure 6 The effects of PIK3C3 and SMAD4 protein on the prognosis of PAAD patients A-B: Survival curve for expression of PIK3C3 or SMAD4 protein alone; C: Survival curves of different combinations of expressions of PIK3C3 and SMAD4 proteins

3 讨论

目前, 仍缺乏有效的生物标志物以预测PAAD发病风险和预后^[23-26]。本项研究发现PAAD癌组织中PIK3C3和SMAD4蛋白较癌旁组织显著下调。同时, 本研究还发现PIK3C3及SMAD4 mRNA同时升高, PIK3C3或SMAD4蛋白上调的PAAD患者可以获得更好的预后。

本研究中, PAAD癌组织中PIK3C3 mRNA表达变化不明显。但PAAD癌组织中, PIK3C3蛋白表达显著降低。由此可以推测, PAAD组织中PIK3C3蛋白水平的降低很可能与其降解增加有关, 而与转录无关。

研究证实, PIK3C3的已知生物学功能均与囊泡运输的调节有关, 包括参与自噬, 内吞和吞噬作用等^[9-10, 27]。具体而言, PIK3C3是自噬的关键调节因子。同时, 部分实验已经证实, 通过抑制PIK3C3降低自噬可促进膀胱癌细胞的死亡, 说明自噬促进膀胱癌细胞存活^[28-29]。与膀胱癌不同的是, 在本研究中PIK3C3与PAAD负相关, 而VPS34为正向关键调控因子, 由此推测自噬在不同的癌症类型中所起的作用可能不同。

本研究发现SMAD4在PAAD癌组织中低表达, 与早期的一项研究相符^[30]。同时, SMAD4在PAAD存在突变^[19], 结合其蛋白在PAAD中降低的现象可推断出SMAD4突变可导致其自身蛋白的不稳定性。近期研究发现, SMAD4可抑制PAAD类器官的侵袭能力^[20], 本研究并没有发现这一现象。

PIK3C3或SMAD4 mRNA单独表达并不影响PAAD患者的预后情况。然而, PIK3C3和SMAD4的组合可以很好地预测PAAD患者的预后。SMAD4高表达可体外抑制胰腺癌细胞的存活^[31], 而抑制PIK3C3可抑制癌症发生^[32]。两基因单独对癌症的影响相反, 但两者联合对PAAD的影响却是一致的, 基于两者的共表达关系推测, PIK3C3在一定范围内的高表达可以促进SMAD4的抑癌作用进而更加有助于PAAD患者的存活。

本研究根据PIK3C3及SMAD mRNA表达高低将PAAD患者分为两个聚类: 聚类1与聚类2, 聚类2中两基因mRNA表达较高且PAAD患者预后更好。值得注意的是, 聚类2的PAAD患者年龄显著低于聚类1, 而年龄大小可以影响PAAD患者的预后, 故PIK3C3及SMAD mRNA表达量影响PAAD预后可能与年龄因素相关, 此部分内容有待进一步研究。

同时, PIK3C3及SMAD mRNA表达量也有可能受年龄因素的影响。

PIK3C3及SMAD的mRNA表达在PAAD癌组织与癌旁组织中没有明显差异,可能由公共数据库中PAAD患者的正常样本数量有限所导致^[33]。此外,本研究存在一定的局限性,即仅使用TCGA数据库进行分析。

总而言之,PIK3C3和SMAD4蛋白可作为PAAD潜在的诊断标志物,PIK3C3和SMAD4联合可成为PAAD预后评估的新指标。

参考文献

- [1] Grossberg AJ, Chu LC, Deig CR, et al. Multidisciplinary standards of care and recent progress in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(5):375–403. doi: 10.3322/caac.21626.
- [2] 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. doi: 10.3322/caac.21492.
- [3] National Cancer Institute, Surveillance E, and End Results (SEER) Program. Cancer Stat Facts: pancreatic cancer[EB]. Accessed May 4, 2020, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/pancreas.html>.
- [4] Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(44): 9694–9705. doi: 10.3748/wjg.v22.i44.9694.
- [5] Khorana AA, Mangu PB, Berlin J, et al. Potentially Curable Pancreatic Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(20): 2324–2328. doi: 10.1200/JCO.2017.72.4948.
- [6] Mattiuzzi C, Lippi G. Cancer statistics: a comparison between World Health Organization (WHO) and Global Burden of Disease (GBD) [J]. *Eur J Public Health*, 2020, 30(5): 1026–1027. doi: 10.1093/eurpub/ckz216.
- [7] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1):7–30. doi: 10.3322/caac.21590.
- [8] 梁夏宜, 孙娟. 肿瘤标志物对胰腺癌诊断及预后评估作用的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(3):355–361. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.014.
Liang XY, Sun J. Research progress of tumor markers for diagnosis and prognosis estimation of pancreatic cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2018, 27(3):355–361. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.014.
- [9] He F, Nichols RM, Kailasam L, et al. Critical Role for Phosphatidylinositol-3 Kinase Vps34/PIK3C3 in ON-Bipolar Cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(8):2861–2874. doi: 10.1167/iovs.19-26586.
- [10] Chen JK. PIK3C3/VPS34, the class III PtdIns 3-kinase, plays indispensable roles in the podocyte[J]. *Autophagy*, 2013, 9(6):923–924. doi: 10.4161/auto.24230.
- [11] Kim JH, Lee YS, Park EW, et al. Assignment of the phosphoinositide-3-kinase, class 3 (PIK3C3) gene to porcine chromosome 6q22-->q23 by somatic cell and radiation hybrid panel mapping[J]. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 108(4):362. doi: 10.1159/000081533.
- [12] Zhang Y, Hu B, Li Y, et al. Binding of Avibirnavirus VP3 to the PIK3C3-PDPK1 complex inhibits autophagy by activating the AKT-MTOR pathway[J]. *Autophagy*, 2020, 16(9):1697–1710. doi: 10.1080/15548627.2019.1704118.
- [13] Deng S, Shanmugam MK, Kumar AP, et al. Targeting autophagy using natural compounds for cancer prevention and therapy[J]. *Cancer*, 2019, 125(8):1228–1246. doi: 10.1002/ncr.31978.
- [14] Cao Y, Luo Y, Zou J, et al. Autophagy and its role in gastric cancer [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 489: 10–20. doi: 10.1016/j.cca.2018.11.028.
- [15] McCarthy AJ, Chetty R. Smad4/DPC4[J]. *J Clin Pathol*, 2018, 71(8):661–664. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205095.
- [16] Wrana JL. The secret life of Smad4[J]. *Cell*, 2009, 136(1):13–14. doi: 10.1016/j.cell.2008.12.028.
- [17] Gotovac JR, Kader T, Milne JV, et al. Loss of SMAD4 Is Sufficient to Promote Tumorigenesis in a Model of Dysplastic Barrett's Esophagus[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12(2): 689–713. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.03.008.
- [18] Wasserman I, Lee LH, Ogino S, et al. SMAD4 Loss in Colorectal Cancer Patients Correlates with Recurrence, Loss of Immune Infiltrate, and Chemoresistance[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1948–1956. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1726.
- [19] Cienas J, Kvederaviciute K, Meskinyte I, et al. KRAS, TP53, CDKN2A, SMAD4, BRCA1, and BRCA2 Mutations in Pancreatic Cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(5): 42. doi: 10.3390/cancers9050042.
- [20] Huang W, Navarro-Serer B, Jeong YJ, et al. Pattern of Invasion in Human Pancreatic Cancer Organoids Is Associated with Loss of SMAD4 and Clinical Outcome[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(13):2804–2817. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-1523.
- [21] Kampf C, Olsson I, Ryberg U, et al. Production of tissue microarrays, immunohistochemistry staining and digitalization within the human protein atlas[J]. *J Vis Exp*, 2012, (63):3620. doi: 10.3791/3620.
- [22] Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53

- mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis[J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(9):1248–1253. doi: [10.1038/modpathol.2011.85](https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.85).
- [23] Rahib L, Fleshman JM, Matrisian LM, et al. Evaluation of Pancreatic Cancer Clinical Trials and Benchmarks for Clinically Meaningful Future Trials: A Systematic Review[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(9):1209–1216. doi: [10.1001/jamaoncol.2016.0585](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.0585).
- [24] Hassan MM, Bondy ML, Wolff RA, et al. Risk factors for pancreatic cancer: case-control study[J]. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102(12):2696–2707. doi: [10.1111/j.1572-0241.2007.01510.x](https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01510.x).
- [25] Stathis A, Moore MJ. Advanced pancreatic carcinoma: current treatment and future challenges[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(3):163–172. doi: [10.1038/nrclinonc.2009.236](https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.236).
- [26] Becker AE, Hernandez YG, Frucht H, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(32):11182–11198. doi: [10.3748/wjg.v20.i32.11182](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i32.11182).
- [27] Zhou X, Wang L, Hasegawa H, et al. Deletion of PIK3C3/Vps34 in sensory neurons causes rapid neurodegeneration by disrupting the endosomal but not the autophagic pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(20):9424–9429. doi: [10.1073/pnas.0914725107](https://doi.org/10.1073/pnas.0914725107).
- [28] Jaber N, Dou Z, Chen JS, et al. Class III PI3K Vps34 plays an essential role in autophagy and in heart and liver function[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(6):2003–2008. doi: [10.1073/pnas.1112848109](https://doi.org/10.1073/pnas.1112848109).
- [29] Bechtel W, Helmstädter M, Balica J, et al. The class III phosphatidylinositol 3-kinase PIK3C3/VPS34 regulates endocytosis and autophagosome-autolysosome formation in podocytes[J]. *Autophagy*, 2013, 9(7):1097–1099. doi: [10.4161/auto.24634](https://doi.org/10.4161/auto.24634).
- [30] 沈伟, 李德春, 白霞, 等. DPC4/Smad4在胰腺癌组织中的表达[J]. *江苏医药*, 2007, 33(11):1129–1131. doi: [10.3969/j.issn.0253-3685.2007.11.020](https://doi.org/10.3969/j.issn.0253-3685.2007.11.020).
- Shen W, Li DC, Bai X, et al. Expression of DPC4/Smad4 in the specimens of human pancreatic carcinoma[J]. *Jiangsu Medical Journal*, 2007, 33(11):1129–1131. doi: [10.3969/j.issn.0253-3685.2007.11.020](https://doi.org/10.3969/j.issn.0253-3685.2007.11.020).
- [31] Xia X, Wu W, Huang C, et al. SMAD4 and its role in pancreatic cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(1):111–119. doi: [10.1007/s13277-014-2883-z](https://doi.org/10.1007/s13277-014-2883-z).
- [32] Murali P, Verma K, Rungrotmongkol T, et al. Targeting the Autophagy Specific Lipid Kinase VPS34 for Cancer Treatment: An Integrative Repurposing Strategy[J]. *Protein J*, 2021, 40(1):41–53. doi: [10.1007/s10930-020-09955-4](https://doi.org/10.1007/s10930-020-09955-4).
- [33] Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2015, 19(1A):A68–77. doi: [10.5114/wo.2014.47136](https://doi.org/10.5114/wo.2014.47136).

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:周袁,张鹏程,方强强,等. PIK3C3与SMAD4在胰腺癌中的表达及作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2021, 30(9):1059–1067. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.09.009

Cite this article as: Zhou Y, Zhang PC, Fang QQ, et al. Expressions and roles of PIK3C3 and SMAD4 in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Chin J Gen Surg*, 2021, 30(9):1059–1067. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.09.009



微信扫一扫
关注该公众号

敬请关注《中国普通外科杂志》官方微信平台

《中国普通外科杂志》官方公众微信正式上线启动(微信号:ZGPTWKZZFWH),我们将通过微信平台定期或不定期推送本刊的优秀文章、工作信息、活动通知等,以及国内外最新研究成果与进展等。同时,您也可在微信上留言,向我们咨询相关问题,并对我们的工作提出意见和建议。《中国普通外科杂志》公众微信号的开通是我们在移动互联网时代背景下的创新求变之举,希望能为广大读者与作者带来更多的温馨和便利。

欢迎扫描二维码,关注《中国普通外科杂志》杂志社官方微信服务平台。

中国普通外科杂志编辑部