

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΣΤΟ
ΠΟΡΟΓΕΝΕΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ»

ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΜΑΛΑ

ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ ΟΓΚΟΛΟΓΟΣ

Τριμελής επιτροπή

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ Π.Θ., Επιβλέπων

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ Π.Θ., Μέλος

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ Π.Θ., Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2022

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
‘HUMAN GENETICS - GENETIC COUNSELING’

MASTER’S THESIS
**«MOLECULAR ALTERATIONS AND TARGETED THERAPY
IN PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA»**

ANASTASIA MALA
MEDICAL ONCOLOGIST

DIMAS KONSTANTINOS, PROF. OF PHARMACOLOGY
TSEZOU ASPASIA, PROF. OF MEDICAL GENETICS
TRACHANA BARBARA, ASS. PROF. OF CELLULAR BIOLOGY

LARISA, 2022

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή Φαρμακολογίας κ. Δήμα για την πολύτιμη καθοδήγηση του στη συγγραφή της διπλωματικής εργασίας, την υποστήριξη και τη γενικότερη συμβολή του στην εκπαίδευση μου στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Επίσης, την καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής κα. Τσέζου για την επίβλεψη, την άρτια οργάνωση και την υψηλού επιπέδου εκπαίδευση του προγράμματος σπουδών «Γενετική του ανθρώπου - Γενετική Συμβουλευτική».

Ακόμη την επίκουρη καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας κα. Τραχανά για την επίβλεψη της διπλωματικής, αλλά και την πολύτιμη εκπαίδευση κατά τη διάρκεια των μαθημάτων.

Τέλος, ευχαριστώ όλους τους καθηγητές για τη συμβολή τους στην εκπαιδευτική διαδικασία, τη γραμματεία για την υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος και τους συμφοιτητές μου για την όμορφη εμπειρία που μοιραστήκαμε σε μια απαιτητική περίοδο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	6
Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ ΤΟΥ DNA/RNA ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	11
ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ	11
2.1 KRAS και μοριακά σηματοδοτικά μονοπάτια	11
2.2 Στοχεύουσες θεραπείες για KRAS μετάλλαξη στον ΠΚ	15
2.3 Στοχεύουσες θεραπείες για σηματοδοτικά μονοπάτια του KRAS στον ΠΚ.....	19
2.4. Συγχωνεύσεις γονιδίων NTRK, NTRG1	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	26
ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ	26
3.1 CDKN2A.....	26
3.2 TP53	28
3.3 SMAD4	29
3.4 STK11	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	32
ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΒΛΑΒΩΝ DNA ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ	32
4.1 BRCA και PALB2.....	32
4.2 MMR	37
4.3 ATM.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	39
ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ -ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	42
ΑΛΛΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ	42
6.1 Το μικροπεριβάλλον του όγκου (TME) και ο ρόλος της ανοσοθεραπείας	42
6.2 Επιγενετικές αλλαγές.....	47
6.3 Έκφραση microRNAs	48
6.4 Αυτοφαγία	48
6.5 Καρκινικά βλαστικά κύτταρα.....	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	52
ΣΥΖΗΤΗΣΗ: ΤΟ ΠΑΡΟΝ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΠΚ	52
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	58
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	61

ΤΙΤΛΟΣ

Μοριακές αλλαγές και στοχεύουσες θεραπείες στο πορογενές παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα είναι ο συχνότερος τύπος παγκρεατικού καρκίνου και παρουσιάζει αυξανόμενη επίπτωση. Η πλειοψηφία των ασθενών έχουν προχωρημένη νόσο κατά τη διάγνωση και παρά τη χορήγηση συνδυαστικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων, το ποσοστό 5ετούς επιβίωσης είναι μικρότερο του 10%. Πέρα από την υψηλή επιθετικότητα του νεοπλάσματος, η αντοχή στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα και η έλλειψη αποτελεσματικών στοχευουσών θεραπειών είναι παράγοντες που συμβάλλουν στην πτωχή πρόγνωση και αποτελούν αντικείμενα έρευνας.

Οι εξελίξεις στο NGS οδήγησαν στην κατηγοριοποίηση του ΠΚ σε υποτύπους, ο καθένας με διαφορετικές μοριακές υπογραφές και δυνητικούς θεραπευτικούς στόχους. Πέρα από ένα μικρό ποσοστό ασθενών με γαμετικές μεταλλάξεις γονιδίων, όπως BRCA, PALB2 και MMR, συνήθως ο ΠΚ σχετίζεται με σωματικές μεταλλάξεις, κυρίως του ογκογονιδίου KRAS και των ογκοσταλτικών γονιδίων SMAD4, CDKN2A και TP53, αλλά και γονιδίων που σχετίζονται με την επιδιόρθωση των βλαβών του DNA, όπως το BRCA και τα MMR.

Οι περισσότερες στοχεύουσες θεραπείες υπό μελέτη δεν έχουν δείξει όφελος, ενώ εκείνες με τεκμηριωμένα θετικά αποτελέσματα απευθύνονται σε σπάνιες υποομάδες ασθενών. Έχουν λάβει έγκριση ο Parp αναστολέας olaparib για τους ασθενείς με gBRCA μετάλλαξη, το αντί-PD1 αντίσωμα Pembrolizumab για τους όγκους MSI-H/dMMR και οι αναστολείς TRKs σε συντήξεις γονιδίων NTRK. Η μελέτη περισσότερων γονιδίων χαμηλής συχνότητας, σηματοδοτικών μονοπατιών γονιδίων όπως του KRAS, του μικροπεριβάλλοντος του όγκου και άλλων διαδικασιών καρκινογένεσης, όπως της αυτοφαγίας, των καρκινικών βλαστοκυττάρων και των επιγενετικών αλλαγών, ενδεχομένως να μπορούσε να οδηγήσει στη δημιουργία νέων υποομάδων ασθενών, κατάλληλων για στοχεύουσες θεραπείες.

Στην εποχή της ιατρικής ακριβείας η βέλτιστη θεραπευτική διαχείριση θα πρέπει να καθοδηγείται από το μοριακό προφίλ του όγκου και αποτελεί επιτακτική ανάγκη η ανάδειξη νέων προγνωστικών και προβλεπτικών βιοδεικτών. Επίσης, χρειάζεται περαιτέρω έρευνα των παραγόντων που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την επιβίωση των ασθενών, όπως η παράκαμψη μηχανισμών αντίστασης στις ήδη υπάρχουσες και υπό μελέτη θεραπείες, αλλά και η αναζήτηση νέων συνδυαστικών θεραπευτικών στρατηγικών.

Λέξεις κλειδιά: πορογενές αδenoκαρκίνωμα παγκρέατος, μοριακές αλλαγές, στοχεύουσες θεραπείες

ABSTRACT

Ductal adenocarcinoma is the most frequent type of pancreatic cancer (PC) and has an increasing incidence. The majority of patients have advanced disease at diagnosis and, despite combined chemotherapy regimens, the 5-year survival rate is less than 10%. Besides the high neoplasm aggressiveness, known contributing factors to low survival, such as the resistance to chemotherapy and the lack of effective targeted therapies, are studied.

NGS (Next Generation Sequencing) has led to different subtyping of the PC, with each subtype having distinct molecular signatures and potential therapeutic targets. Apart from a small percentage of patients with BRCA, PALB2, or MMR (Mis-Match Repair) genes germline mutations, the PC is usually associated with somatic mutations, principally of the KRAS proto-oncogene and the SMAD4, CDKN2A, and TP53 tumour suppressor genes, but also of DNA damage repair genes, such as BRCA and MMR.

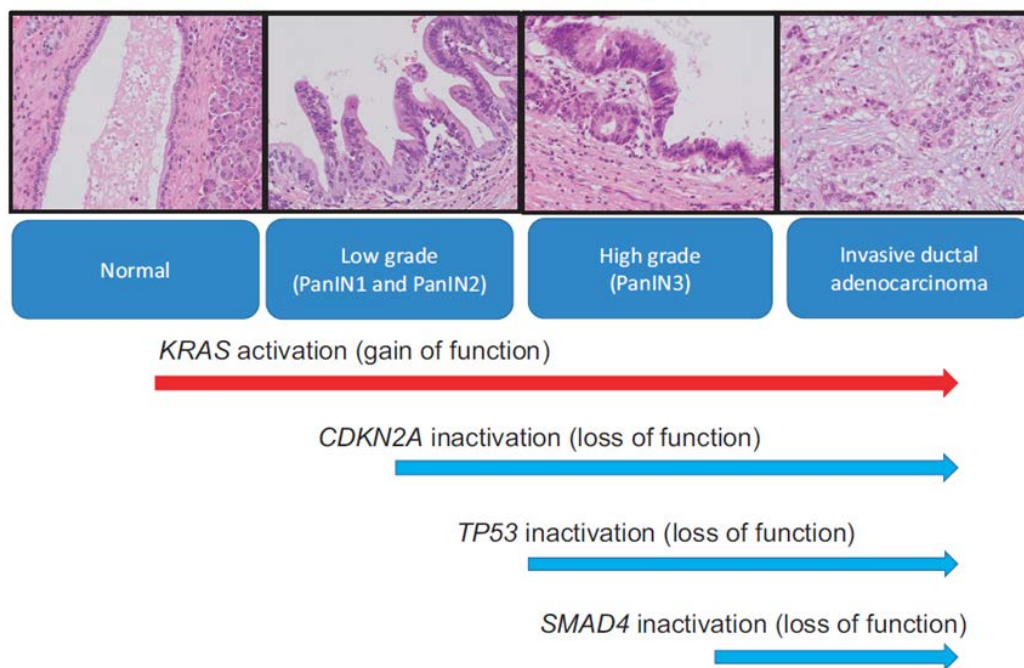
Most targeted therapies under study for PC showed no benefit, while those with documented benefit concern only rare subgroups of patients. The parp inhibitor olaparib for patients with gBRCA mutation, the monoclonal antibody that targets PD1 (Programmed Death 1) Pembrolizumab for MSI-H (High Microsatellite Instability)/deficient MMR tumours and TRK inhibitors in case of NTRK (Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase) gene fusions are all approved treatments for PC. Studying additional low-frequency genes, gene signalling pathways such as RAS-RAF-MEK-ERK and PI3K-AKT-mTOR, the tumour microenvironment, and other processes leading to cancer, such as autophagy, cancer stem cells, and epigenetic changes, could potentially highlight new patient subgroups, eligible for targeted therapies.

In the precision medicine era, optimal therapeutic management should be guided by the tumour's molecular profile, therefore the emergence of new prognostic and predictive biomarkers is crucial. Further investigations for factors that could improve patient survival, such as new combined therapeutic strategies and bypassing the resistance to existing and under-study treatments, are required.

Keywords: pancreatic ductal adenocarcinoma, molecular alterations, targeted treatments

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα αποτελεί τη συχνότερη (85-90%) νεοπλασία της εξωκρινούς μοίρας του παγκρέατος (Gil *et al.*, 2021). Συνήθως εμφανίζεται ως ένα μέτρια ή πτωχά διαφοροποιημένο νεόπλασμα με ινώδες στρώμα. Είναι γνωστοί παράγοντες κινδύνου, όπως το κάπνισμα, η υπεργλυκαιμία, η διατροφή, ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος, το αλκοόλ, η χρόνια παγκρεατίτιδα και η ηλικία (Duell *et al.*, 2012; Rawla *et al.*, 2019). Συχνά προέρχεται από πρόδρομες μη-διηθητικές μορφές μετά από συσσώρευση μεταλλάξεων. Η ενεργοποίηση του KRAS, τόσο στο φυσιολογικό πάγκρεας, όσο και στις προ-καρκινικές ενδο-επιθηλιακές βλάβες τύπου 1 PanIN1 (Pancreatic Intraepithelial Neoplasia 1), παίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του παγκρεατικού καρκίνου (ΠΚ). Με την εξέλιξη της PanIN σε διηθητικό καρκίνωμα εμφανίζονται σταδιακά και οι απενεργοποιητικές μεταλλάξεις CDKN2A, TP53, SMAD4 (Biankin *et al.*, 2012; Waddell *et al.*, 2015; Witkiewicz *et al.*, 2015; Raphael *et al.*, 2017) [εικόνα 1; Hayashi *et al.*, 2021].



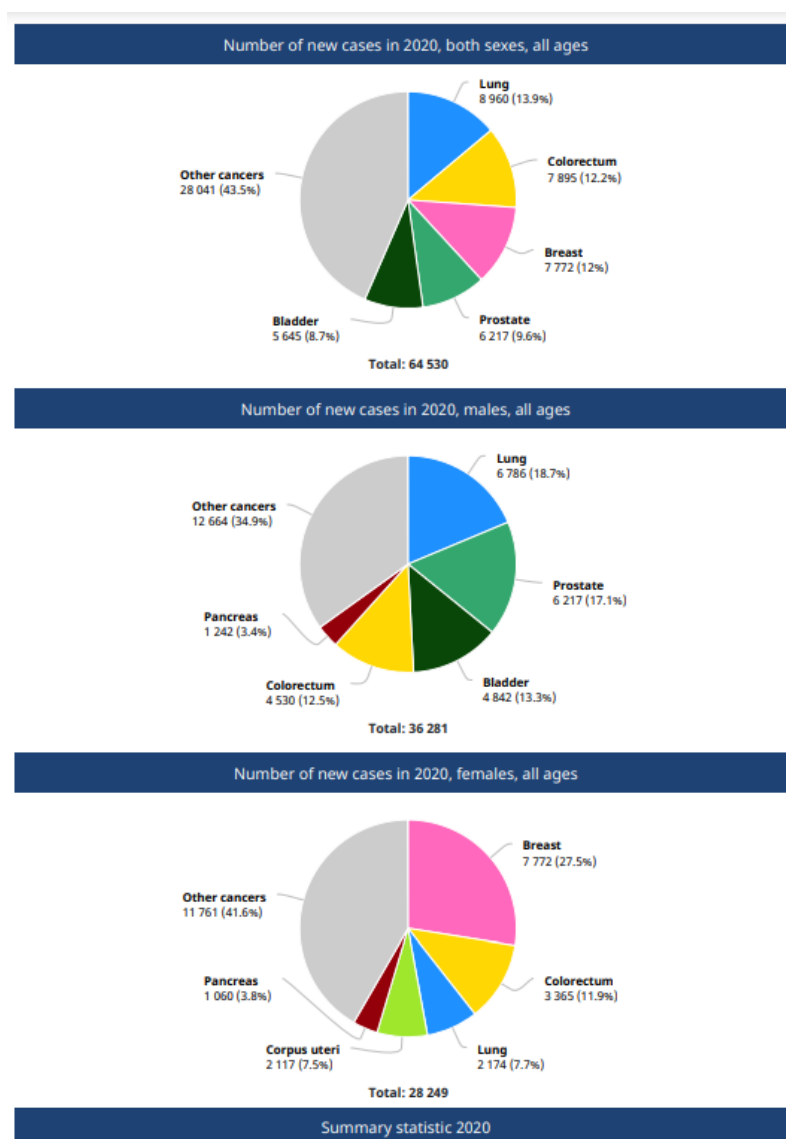
Εικόνα 1. Η επίδραση της συσσώρευσης μεταλλάξεων, όπως η ενεργοποίηση του KRAS και η απενεργοποίηση των CDKN2A, TP53, SMAD4, σταδιακά σε πρόδρομες μη διηθητικές μορφές παγκρεατικού καρκίνου (PanIN1, PanIN2, PanIN3) και η συνύπαρξη όλων στο διηθητικό αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος (Hayashi *et al.*, 2021).

Αναλύσεις αλληλούχισης γονιδίων στα πλαίσια διεθνών προγραμμάτων και μελετών συντέλεσαν στην αναγνώριση και κατανόηση των σηματοδοτικών μονοπατιών καρκινογένεσης (Biankin *et al.*, 2012). Συγκεκριμένα, ο ΠΚ αποτελεί μια γενετική νόσο που προκαλείται κυρίως από σωματικές μεταλλάξεις, με μεγάλη ετερογένεια μοριακού προφίλ τόσο στον ίδιο τον όγκο, όσο και μεταξύ των ασθενών (Ryan *et al.*, 2014). Έχουν αναγνωριστεί τρεις κύριες κατηγορίες μεταλλάξεων: α) ενεργοποιητικές μεταλλάξεις ογκογονιδίων με κύριο εκπρόσωπο το KRAS, β) απενεργοποιητικές μεταλλάξεις ογκοκατασταλτικών γονιδίων, όπως TP53, CKDN2A και SMAD4 και γ) απενεργοποιητικές μεταλλάξεις γονιδίων που σχετίζονται με την επιδιόρθωση των βλαβών του DNA (DDR) (Pihlak *et al.*, 2018). Επίσης, έχουν εντοπιστεί και άλλες μεταλλάξεις, λιγότερο συχνές, που συμμετέχουν σε κυτταρικά μονοπάτια και συνυπάρχουν σε πολλαπλούς συνδυασμούς στον όγκο (Waddell *et al.*, 2015).

Αξίζει να σημειωθεί ότι ένα μικρό ποσοστό (5-10%) των ασθενών έχει θετικό οικογενειακό ιστορικό ΠΚ (Shindo *et al.*, 2017). Αυτό μπορεί να σχετίζεται είτε με κληρονομικό σύνδρομο από γαμετική μεταλλαγή των γονιδίων BRCA, PALB2, MMR, CKDN2A, STK11, ATM και TP53, ή με οικογενή καρκίνο, όταν ο ασθενής έχει τουλάχιστον δυο 1^{ου} βαθμού συγγενείς με καρκίνο παγκρέατος, όπου δε πληρούνται τα κριτήρια κληρονομικού συνδρόμου, αλλά ούτε έχει εντοπιστεί κάποια ειδική μοριακή αλλαγή (Roberts *et al.*, 2016). Τέλος, η κληρονομική παγκρεατίτιδα σχετιζόμενη με τα γονίδια PRSS1 και SPINK1 (Duell *et al.*, 2012; Charnley, 2003), οι επιγενετικές αλλαγές που οδηγούν σε αποσιώπηση κάποιων γονιδίων (Thompson and Bednar, 2021; Neureiter *et al.*, 2014), η διαφορετική έκφραση microRNAs (Szafranska *et al.*, 2007; Steele *et al.*, 2011; Barrera *et al.*, 2022; Kabiraj and Kundu, 2022), τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (Nimmakayala *et al.*, 2021), η αυτοφαγία (Yang and Kimmelman, 2011; Yang *et al.*, 2011) καθώς και το ανοσοκατασταλτικό περιβάλλον του όγκου αποτελούν επίσης μηχανισμούς καρκινογένεσης (Zhang *et al.*, 2022; Truong and Pauklin, 2021; Ho *et al.*, 2020).

Σύμφωνα με τα παγκόσμια στατιστικά στοιχεία του 2020 (GLOBOCAN 2020) για τον καρκίνο (Sung *et al.*, 2021), ο ΠΚ αποτελεί ένα επιθετικό τύπο καρκίνου, με υψηλή θνητότητα και συνεχώς αυξανόμενη επίπτωση. Σε παγκόσμιο επίπεδο αποτελεί την 14^η πιο συχνή νεοπλασία, αλλά την 7^η αιτία θανάτου από καρκίνο και στα δυο φύλα. Έχει μεγαλύτερη επίπτωση στην Ευρώπη, τη Βόρεια Αμερική, την Αυστραλία, την Ασία και

γενικά στις χώρες με δυτικού τύπου τρόπο ζωής, στους άνδρες και σε ηλικίες άνω των 60 ετών (65-69 ετών στους άνδρες και 75-79 ετών στις γυναίκες), ενώ σπάνια εμφανίζεται σε ηλικία μικρότερη των 45 ετών (Pourshams *et al.*, 2019). Στην Ελλάδα, η επίπτωση το 2020 ήταν 1242 νέα περιστατικά στους άνδρες και 1060 στις γυναίκες, (3.4% και 3.8% του συνόλου αντίστοιχα), καθιστώντας την 5^η πιο συχνή νεοπλασία και στα δυο φύλα [εικόνα 2; Sung *et al.*, 2021].



Εικόνα 2. GLOBOCAN 2020. Επίπτωση των συχνότερων νεοπλασιών το 2020, και τα ποσοστά τους στο σύνολο, συμπεριλαμβανομένου του παγκρεατικού καρκίνου στην Ελλάδα. Στην επάνω πίτα απεικονίζονται τα δεδομένα και στα δύο φύλα συνολικά, στη μεσαία στους άνδρες (3.4%) και στην κάτω στις γυναίκες (3.8%) (Sung *et al.*, 2021).

Από μια μελέτη που έγινε σε 28 Ευρωπαϊκές χώρες υπολογίζεται ότι έως το 2025 ο ΠΚ θα είναι η 3^η αιτία θανάτου (Ferlay et al., 2016) και από μια άλλη ότι έως το 2030 θα είναι η 2^η αιτία θανάτου στις ΗΠΑ (Rahib *et al.*, 2014). Πράγματι, η πρόγνωση παραμένει πτωχή παρά την πρόοδο των χειρουργικών τεχνικών και των χημειοθεραπευτικών σχημάτων. Εξαρτάται από το στάδιο της νόσου και η 5-ετής επιβίωση ανέρχεται στο 11% (Kamarajah *et al.*, 2017; Siegel et al., 2019). Κατά τη διάγνωση των ασθενών με ΠΚ μόνο ένα ποσοστό 15-20% είναι υποψήφιο για ριζική θεραπεία με πλήρη χειρουργική εξαίρεση, αλλά στην πλειοψηφία τους ακόμη και αυτοί οι ασθενείς αργότερα υποτροπιάζουν, έχοντας μια 5-ετή επιβίωση μεταξύ 10 και 30%, ανάλογα με την παρουσία ή απουσία παθολογικών επιχώριων λεμφαδένων αντίστοιχα (Allen et al., 2017). Όταν η διάγνωση του ΠΚ γίνεται εξ' αρχής σε προχωρημένο στάδιο, 5ετής επιβίωση απαντάται σε ποσοστό κάτω του 10% των ασθενών (Rawla et al., 2019) και η διάμεση επιβίωση είναι μικρότερη του ενός έτους, γεγονός που πιθανά σχετίζεται και με την αντίσταση στη χημειοθεραπεία (Congroy *et al.*, 2011; Von Hoff *et al.*, 2013; Zeng et al., 2019) Επομένως, υπάρχει άμεση ανάγκη ανεύρεσης νέων θεραπειών που θα μπορούσαν να βελτιώσουν το προσδόκιμο επιβίωσης αυτών των ασθενών.

Με τη σημαντική πρόοδο της τεχνολογίας, η τεχνική NGS έδωσε τη δυνατότητα ανάλυσης του μοριακού προφίλ των όγκων διαφόρων τύπου καρκίνου, την εντόπιση μοριακών αλλαγών και τη χορήγηση στοχευουσών θεραπειών, εγκεκριμένων ή μέσω ένταξης των ασθενών σε κλινικές μελέτες (Waddell *et al.*, 2015). Πρόσφατα η μελέτη «Know Your Tumor» (Pishvaian *et al.*, 2020), εξέτασε το μοριακό προφίλ του όγκου σε παραπάνω από 1.000 ασθενείς με ΠΚ στις ΗΠΑ. Διαπιστώθηκε ότι το 12-25% αυτών φέρουν μοριακές αλλαγές για τις οποίες υπάρχουν ισχυρά προ-κλινικά ή κλινικά δεδομένα αναμενόμενου οφέλους από τη χορήγηση στοχεύουσας θεραπείας. Ωστόσο, μόνο το 2% των ασθενών που έφεραν κάποια μετάλλαξη κατάφεραν να λάβουν στοχεύουσα θεραπεία και μάλιστα παρουσίασαν σημαντικό όφελος επιβίωσης κατά 1 έτος συγκριτικά με όσους δεν έλαβαν ειδική θεραπεία ή δεν έφεραν μετάλλαξη (HR 0,42 p 0,0004) (Pishvaian *et al.*, 2020).

Μετά από ένα σύνολο μελετών με στοχεύουσες θεραπείες που δυστυχώς δε κατάφεραν ν' αποδείξουν κλινικό όφελος, ο PARP (Poly-ADP-Ribose Polymerase) αναστολέας Olaparib για ασθενείς με γαμετική μετάλλαξη BRCA (Golan *et al.*, 2019), οι

αναστολείς ογκογόνων χιμαιρικών πρωτεϊνών σύντηξης της οικογένειας των διαμεμβρανικών υποδοχέων TRK (Tropomyosin Receptor Kinase) A, B, C που προκύπτουν μετά από σύντηξη των γονιδίων NTRK (Neurotrophic Tyrosin Receptor Kinase) 1, 2, 3 αντίστοιχα, (Demetri *et al.*, 2022; Hong *et al.*, 2020), και η ανοσοθεραπεία για όγκους με υψηλή μικροδορυφορική αστάθεια (High Microsatellite Instability; MSI H) (Sohal *et al.*, 2020; Marabelle *et al.*, 2020) αποτελούν εγκεκριμένες θεραπείες.

Συμπερασματικά, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη αυτής της κακοήθειας με το πολύπλοκο μοριακό προφίλ, τα πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια και το κληρονομικό υπόβαθρο. Η ανακάλυψη και η εφαρμογή νέων στοχευουσών θεραπειών μέσω της Ιατρικής Ακριβείας θα μπορούσε να ανοίξει νέους ορίζοντες στην αντιμετώπιση αυτού του επιθετικού νεοπλασματος με την αυξανόμενη επίπτωση και την πτωχή πρόγνωση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ ΤΟΥ DNA/RNA ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

Με την εξέλιξη της γονιδιωματικής και της βιο-πληροφορικής τα τελευταία χρόνια έχει επιτευχθεί η ταυτοποίηση νέων μεταλλάξεων και πολυμορφισμών, καθώς και επιγενετικών αλλαγών και βιοδεικτών (Green et al, 2015; Weinstein *et al.*, 2013). Τα δεδομένα αυτά συμβάλλουν στην τυποποίηση διαφόρων τύπων καρκίνου και την ανάδειξη νέων μοριακά-στοχευουσών θεραπειών (Flaherty *et al.*, 2020; Singhi *et al.*, 2019). Η βασική αρχή της σύγχρονης γενετικής έρευνας είναι ο προσδιορισμός της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων του DNA/RNA μέσω τεχνολογιών που περιλαμβάνουν την προετοιμασία ενός εκμαγείου, την αλληλούχιση, την οπτικοποίηση και την ανάλυση των δεδομένων. Για δυο περίπου δεκαετίες κυριάρχησε η μέθοδος πρώτης γενιάς, κατά Sanger, η οποία συνέβαλε σημαντικά και στην ολοκλήρωση της αλληλούχισης ολόκληρου του ανθρώπινου γονιδιώματος (Green et al., 2015). Η ανάγκη όμως αλληλούχισης μεγάλου αριθμού ανθρωπίνων γονιδιωμάτων καθιέρωσε νέες βελτιωμένες μεθόδους, γνωστές ως αλληλούχιση επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS). Το NGS επέτρεψε την ταχεία, ταυτόχρονη και ακριβή αλληλούχιση εκατομμυρίων μικρών θραυσμάτων, έως και 1 δισεκατομμύριο ζεύγη βάσεων DNA ή RNA, παράγοντας ένα τεράστιο όγκο δεδομένων με χαμηλό κόστος. Μπορεί να εφαρμοστεί για την αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος, μιας συγκεκριμένης κωδικοποιητικής περιοχής, ενός miRNA ή ενός γονιδίου.

Στην προσπάθεια εφαρμογής της Ιατρικής Ακριβείας, μέσω της χορήγησης θεραπειών που στοχεύουν συγκεκριμένα μοριακά μονοπάτια, πιστοποιημένα εργαστήρια εφαρμόζουν μελέτες γονιδιακών πάνελ βασισμένες σε NGS. Συγκεκριμένα, δυο από αυτά στις ΗΠΑ έχουν λάβει πρόσφατα έγκριση από τον FDA και η εξέταση αποζημιώνεται. Στο Cambridge των ΗΠΑ αναπτύχθηκε το Foundation One CDx τεστ, όπου εξετάζονται 324 γονίδια, η παρουσία μικροδορυφορικής αστάθειας (Microsatellite Instability, MSI), το φορτίο σωματικών μεταλλάξεων του όγκου (Tumour Mutational Board, TMB) και το PDL1 (Programmed cell Death Ligand 1) που εκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα. Και τα τρία αποτελούν προβλεπτικούς δείκτες ανταπόκρισης στην ανοσοθεραπεία με αναστολείς του PD1 (Programmed Death1) και

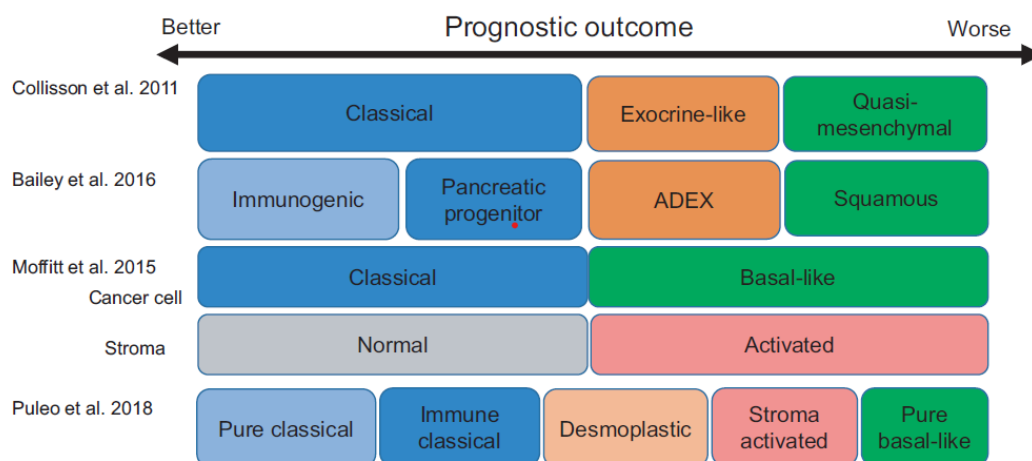
του PDL1 (Programmed Death Ligand 1). Η σύνδεση του PDL1 των καρκινικών κυττάρων με τη δια-μεμβρανική πρωτεΐνη PD1 των T κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δράση των T λεμφοκυττάρων στην καταπολέμηση των καρκινικών κυττάρων. Επομένως η χρήση αναστολέων του PD1 ή του PDL1 μπορεί να μειώσει την ανοσοδιαφυγή των καρκινικών κυττάρων (Ding and Chen, 2019). Ακόμη, στο Memorial Sloan Kettering Cancer Center υλοποιήθηκε η μελέτη MSK-IMPACT (Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets), όπου εξετάστηκαν 348 γονίδια και 10.000 ασθενείς. Το 37% αυτών είχαν τουλάχιστον 1 ενεργή μετάλλαξη και το 11% των πρώτων 5009 ασθενών που υποβλήθηκαν στη δοκιμή εντάχθηκαν στη συνέχεια σε γονιδιωματικά αντιστοιχισμένες κλινικές δοκιμές (Cheng *et al.*, 2015). Αντίστοιχες μελέτες έχουν γίνει και σε άλλες χώρες, ενώ άλλες είναι υπό εξέλιξη.

Συγκεκριμένα για τον ΠΚ, τα τελευταία χρόνια οι νέες προηγμένες τεχνολογίες έχουν διευκολύνει την ανίχνευση σωματικών μεταλλάξεων και κατ' επέκταση την επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής στρατηγικής σε ασθενείς με καρκίνο προχωρημένου σταδίου που έχουν εξαντλήσει τις στοχεύουσες, για καθιερωμένους βιοδείκτες, εγκεκριμένες θεραπείες (Digiacomo *et al.*, 2021; Hayashi *et al.*, 2021; Qian *et al.*, 2020; Singhi *et al.*, 2019; Raphael *et al.*, 2017). Το NGS μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε στο ιστολογικό παρασκεύασμα του καρκινικού ιστού, είτε σε άλλα βιολογικά υλικά, όπως το cell-free DNA στο αίμα (Zill *et al.*, 2015) ή το υγρό παγκρεατικής κύστης (Yu *et al.*, 2017), διευκολύνοντας έτσι τον έγκαιρο έλεγχο (screening) και τη διάγνωση και μειώνοντας τις επιπλοκές και το συνολικό κόστος. Μέσα από τη ανάλυση των γονιδίων στόχων και την ανίχνευση αλλαγών δημιουργείται το γενωμικό προφίλ του όγκου (Raphael *et al.*, 2017). Η αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος (Whole Genome Sequencing, WGS) ανέδειξε το σύνολο των μεταλλάξεων στον ΠΚ (Waddell *et al.*, 2015). Μάλιστα, συχνά επιχειρείται η συνδυαστική ανάλυση γονιδιώματος και μεταγραφώματος καθώς δεν έχουν ταυτόσημο προφίλ μεταλλάξεων (Jones *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2022).

Μελέτες γενετικής και επιγενετικής αλληλουχίας έδειξαν σημαντική μοριακή ετερογένεια μεταξύ των ΠΚ (Neureiter *et al.*, 2014; Ciernikova *et al.*, 2020; Thompson and Bednar, 2021). Ο Collisson και οι συνεργάτες του το 2011 θεωρούσαν ότι υπάρχουν τρεις μοριακοί υπότυποι: ο κλασσικός, ο ενδοκρινικός και ο σχεδόν

μεσεγχυματικός (Collison et al., 2011). Έπειτα, η ομάδα του Moffitt το 2015 προσδιόρισε τέσσερις διαφορετικές μοριακές οντότητες: τον κλασσικό, τον basal-like, το φυσιολογικό και τον ενεργοποιημένο στρωματικό (Moffitt, et al., 2015). Το 2016, ο Bailey και οι συνεργάτες του πρότειναν την ύπαρξη τεσσάρων μοριακών υποτύπων με διαφορετικά βιολογικά χαρακτηριστικά και προγνωστική αξία: τον ανοσογονικό, τον παγκρεατικό προγονικό, τον ανώμαλα διαφοροποιημένο ενδοκρινικό-εξωκρινικό (ADEX) και τον πλακώδη. Συγκεκριμένα, ο ανοσογονικός και ο ANEX θεωρούνται υποκατηγορίες του παγκρεατικού προγονικού. Πιο αναλυτικά, η ταξινόμηση αυτή βασίστηκε σε μεταγραφικούς παράγοντες και στην διαφοροποίηση κατά την ανάπτυξη του παγκρέατος. Ο πλακώδης υπότυπος, που θεωρείται ανεξάρτητος κακός προγνωστικός παράγοντας, χαρακτηρίζεται από αλλοιώσεις γονιδίων που εμπλέκονται στη φλεγμονή, την απόκριση στην υποξία, το μεταβολισμό, τη σηματοδότηση TGF-β (Transforming Growth Factor β), την ενεργοποίηση του μονοπατιού MYC (MYC proto-oncogene, b HLH transcription factor), την αυτοφαγία, τις μεταλλάξεις των TP53 (Tumour Protein p53 gene) και KDM6A (lysine Demethylase 6A) και την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα TP63 (Tumour Protein p63; ΔNp63) και των γονιδίων στόχων του, που εκφράζονται σε υψηλό ποσοστό στα αδeno-πλακώδη καρκινώματα παγκρέατος. Απ' την άλλη, ο προγονικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα μεταγραφικών παραγόντων και φαίνεται να προκαλείται από διαταραχές στα κύτταρα που καθοδηγούν την ανάπτυξη του παγκρέατος. Το PDX1 (Pancreatic and Duodenal homeobox 1) είναι ένας από τους κύριους μεταγραφικούς ρυθμιστές του σχηματισμού των παγκρεατικών κυττάρων και φαίνεται να έχει ογκογόνο ρόλο και αυξημένη έκφραση στον ΠΚ που εκφράζει KRAS. Ο ανοσογονικός υπότυπος χαρακτηρίζεται από σημαντική διήθηση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, B και T, και αύξηση της σηματοδότησης PD-1 και CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4). Τέλος, ο υπότυπος ADEX χαρακτηρίζεται από αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ενδοκρινική διαφοροποίηση του παγκρέατος και το νεανικό διαβήτη MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) και κάποιων μεταγραφικών παραγόντων. Τέτοιοι είναι ο NR5A2 (Nuclear Receptor subfamily 5 group A member 2) που μπορεί να συμβάλλει σε χειρότερη κλινική έκβαση μέσω της μετάβασης από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό φαινότυπο (EMT) και της απόκτησης βλαστικού φαινοτύπου, και ο RBPJL (Recombination Signal Binding Protein for immunoglobulin kappa J region) που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι NOTCH. Μάλιστα τόσο ο πλακώδης όσο και ο ανοσογονικός υπότυπος ορίζονται περισσότερο από το

μικροπεριβάλλον του όγκου παρά από τα καρκινικά κύτταρα (Bailey *et al.*, 2016). Το Ερευνητικό Δίκτυο Atlas το 2017, πραγματοποιώντας έναν ολοκληρωμένο γονιδιωματικό, μεταγραφικό και πρωτεομικό χαρακτηρισμό του ΠΚ, εντόπισε δύο κύριους υποτύπους: τον basal-like/πλακώδη και τον κλασσικό/παγκρεατικό προγονικό (Raphael *et al.*, 2017). Τέλος, ο Puleo και οι συνεργάτες του το 2018 έδωσαν μια άλλη ταξινόμηση με πέντε μοριακούς υποτύπους: τον αμιγώς κλασσικό, τον κλασσικό ανοσογονικό, τον δεσμοπλαστικό, τον ενεργοποιημένο στρωματικό και τον αμιγώς basal-like (Puleo *et al.*, 2018) [εικόνα 3; Hayashi *et al.*, 2021]. Ακολούθησαν και άλλες ταξινομήσεις, όπως αυτές του Aung βασισμένη στη μελέτη COMPASS (Aung *et al.*, 2018), και του Rashid με μια πιο εξατομικευμένη προσέγγιση (Rashid *et al.*, 2020).



Εικόνα 3. Μοριακοί υπότυποι του καρκίνου του παγκρέατος, όπως περιγράφονται με βάση τις διαφορετικές ταξινομήσεις του Collisson, Bailey, Moffitt, Puleo, η αδρή τους αντιστοιχία και η πρόγνωση. (Hayashi *et al.*, 2021).

Η μελέτη NCI-MATCH (National Cancer Institute-Molecular Analysis for Therapy CHoice) σχεδιάστηκε για να διερευνήσει, μέσω NGS, εγκεκριμένες και ερευνητικές θεραπείες για όλους τους τύπους καρκίνου, πέρα από τις καθιερωμένες ενδείξεις, βάσει βιοδεικτών. Στους ασθενείς με ΚΠ που έφεραν κάποια παραλλαγή, μόνο για το 5,8% αυτών υπήρχε στοχεύουσα θεραπεία, τονίζοντας την επιτακτική ανάγκη για αναζήτηση νέων θεραπευτικών επιλογών (Flaherty *et al.*, 2020).

Επίσης, το πρόγραμμα “Know Your Tumor” που συμπεριέλαβε 1005 ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος, πρόσφατα αποκάλυψε ότι το 26% αυτών είχαν μοριακές αλλαγές που δυνητικά θα μπορούσαν να στοχευτούν. Σημαντικό όφελος στη συνολική επιβίωση κατά 1 έτος είχε το 2% του συνόλου των ασθενών που τελικά έλαβαν στοχεύουσες θεραπείες, συγκριτικά με όσους δεν έλαβαν τέτοια θεραπεία (HR 0.42; p 0.0004), ή με όσους δεν έφεραν μετάλλαξη (Pishvaian, Blais, *et al.*, 2020).

Συμπερασματικά, τα δεδομένα που λαμβάνονται από το NGS όχι μόνο συνέβαλλαν στην κατηγοριοποίηση του ΠΚ σε διαφορετικούς μοριακούς υποτύπους, αλλά μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην ανάπτυξη εξατομικευμένων προγραμμάτων με στοχεύουσες θεραπείες σε νεοπλάσματα με μεγάλο αριθμό γονιδιακών μεταλλάξεων όπως τον ΠΚ. Επίσης, δυνητικά θα μπορούσαν να βοηθήσουν τους κλινικούς γιατρούς στην έγκαιρη διάγνωση και τον προ-συμπτωματικό έλεγχο σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου (Fischer and Wood, 2018).

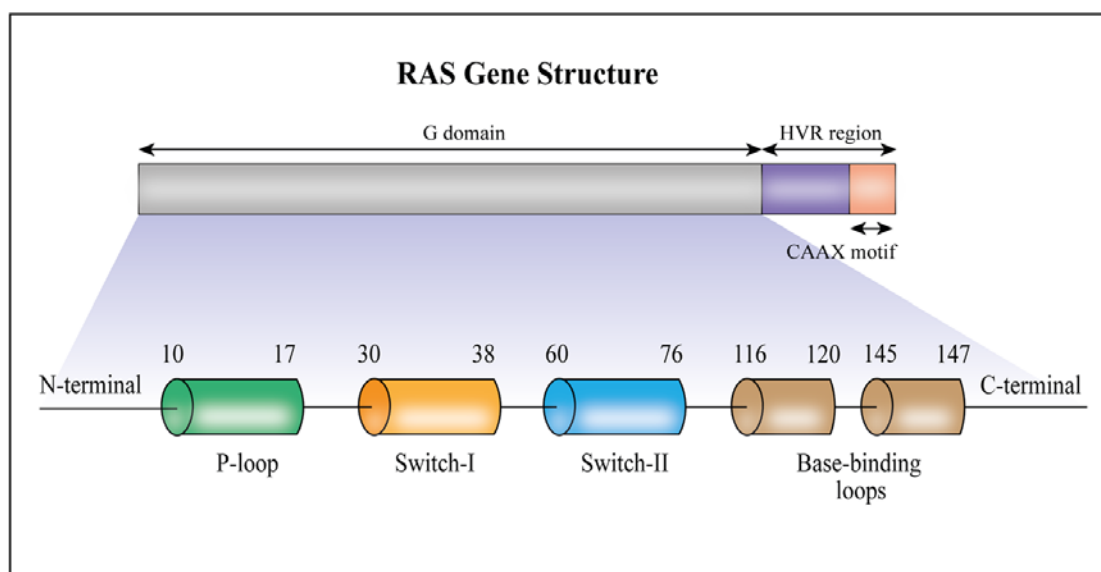
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

2.1 KRAS και μοριακά σηματοδοτικά μονοπάτια

Το RAS είναι ένα ογκογονίδιο, το πρώτο που ανακαλύφθηκε το 1982, και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12p. Σηματοδοτεί μονοπάτια που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και αναστέλλουν την απόπτωση.

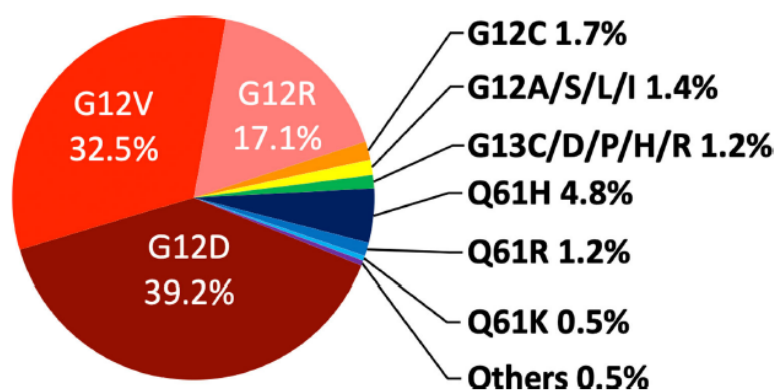
Αποτελείται από τη G περιοχή, όπου ξεκινώντας από το N-άκρο συναντώνται τέσσερις περιοχές, ο βρόγχος P, ο διακόπτης I, ο διακόπτης II και η περιοχή δέσμησης των νουκλεοτιδίων στο καρβοξυτελικό άκρο, και ακολουθεί η HVR περιοχή (HyperVariable Region) με μία αλληλουχία σύνδεσης στη μεμβράνη, την CAAX (JM and KM, 2016) [εικόνα 4; Kwan *et al.*, 2022].



Εικόνα 4. Δομή του γονιδίου RAS. Στη G περιοχή βρίσκονται ο βρόγχος P, ο διακόπτης I, ο διακόπτης II και η περιοχή δέσμησης των νουκλεοτιδίων. Ακολουθεί η HVR περιοχή με μία αλληλουχία σύνδεσης στη μεμβράνη, την CAAX. Συντομογραφίες: HVR, υπερμεταβλητή περιοχή; CAAX, C: κυστεΐνη, A: αλειφατικό αμινοξύ, X: αμινοξύ (φαρνεσυλιωμένο ή γερανυλιωμένο) (Kwan *et al.*, 2022)

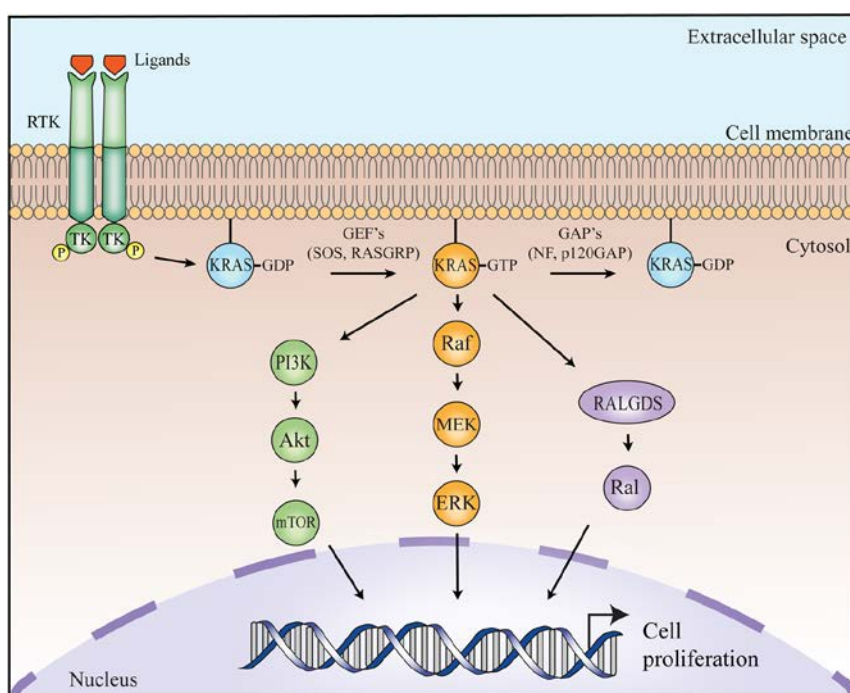
Οι δυο περιοχές ‘διακόπτες’ ρυθμίζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ RAS και άλλων συνδετικών μορίων. Στην ενεργή μορφή του RAS η θρεονίνη 35, που βρίσκεται στο διακόπτη I, και η γλυκίνη 60 στο διακόπτη II είναι συνδεδεμένες με GTP, ενώ στην ανενεργή μορφή με GDP (JM *et al.*, 2016). Υπάρχουν 3 κύρια hotspots στο γονίδιο RAS, στη P-loop περιοχή τα G12 και G13, και στην περιοχή του διακόπτη II το Q61. Ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στην καθεμία έχουν διαφορετικές δομικές και λειτουργικές συνέπειες στην πρωτεΐνη αλλά κοινή ανασταλτική δράση της GTP-άσης, διατηρώντας την κυρίως στην ενεργή ογκογόνο μορφή (Scheffzek *et al.*, 1997).

Υπάρχουν 3 γονίδια RAS που δίνουν 4 κύριες ισομορφές, το KRAS4A, που δεν είναι συχνό στον άνθρωπο, το KRAS4B, το NRAS και το HRAS (Cox and Der, 2010). Οι μεταλλάξεις του KRAS (ανάλογο του γονιδίου που απομονώθηκε από το Kirsten Rat Sarcoma virus, KRAS) είναι οι πιο συχνές στους συμπαγείς όγκους στον άνθρωπο (Tsuchida *et al.*, 2016). Έχουν διαφορετική συχνότητα ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου, με μεγαλύτερη στον ΠΚ και ακολούθως στον καρκίνο παχέος εντέρου και στο αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα (Cox *et al.*, 2014). Διαφοροποιούνται ανάλογα με το κωδικόνιο και το αμινοξύ που έχει αντικατασταθεί (Prior *et al.*, 2020). Στο 94% των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα παγκρέατος η μετάλλαξη KRAS αφορά το κωδικόνιο 12, με αντικατάσταση της γλυκίνης από ασπαρτικό οξύ (G12D 39.2%), βαλίνη (G12V 32.5%), αργινίνη (G12R 17.1%) και κυστεΐνη (G12C 1.7%), και λιγότερο συχνά στο κωδικόνιο 61, με αντικατάσταση της γλουταμίνης από ιστιδίνη (Q61H 4.8%), και τα υπόλοιπα κωδικόνια (Biankin *et al.*, 2012; Bailey *et al.*, 2016; Witkiewicz *et al.*, 2015; Sanchez-Vega *et al.*, 2018) [εικόνα 5].



Εικόνα 5. Ποσοστά μεταλλάξεων του KRAS στον παγκρεατικό καρκίνο με βάση το μεταλλαγμένο κωδικόνιο και το αμινοξύ (Luo, 2021).

Η αυξημένη και συνεχής δραστηριότητα της κωδικοποιούσας πρωτεΐνης του KRAS, που λειτουργεί ως GTP-άση, δρα σαν μοριακός διακόπτης, συνδέοντας υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, όπως τον EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), με σηματοδοτικά μονοπάτια (RAF-MEK-ERK και PI3K-AKT-mTOR) και μεταγραφικούς παράγοντες, όπως τα c-JUN και c-MYC, που επάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Santana-Codina *et al.*, 2018). Υπάρχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις συνδεδεμένης μορφής GTP ή GDP του KRAS εντός των κυττάρων. Αυτές εξαρτώνται από την ενδογενή ανταλλαγή νουκλεοτιδίων, τη δράση των GEFs (Guanine nucleotide Exchange Factors) που προωθεί τη δημιουργία της ενεργής GTP-συνδεδεμένης μορφής, και της GTP-άσης, η οποία ρυθμίζεται από τις πρωτεΐνες GAPs (GTPase-Activating Proteins) που επιταχύνουν την ενδογενή υδρολυτική δράση του KRAS στο GTP μετατρέποντας το στην ανενεργή GDP-συνδεδεμένη μορφή (Scheffzek *et al.*, 1997) [εικόνα 6; Kwan *et al.*, 2022].



Εικόνα 6. Ενεργοποίηση KRAS και σηματοδοτικών μονοπατιών. Οι πρωτεΐνες RAS έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού μέσω των οδών PI3K-AKT-mTOR, RAF-MEK-ERK, και RALGDS-RAL. Μόλις ο συνδέτης ενωθεί με την εξοκυττάρια περιοχή του RTK, το σήμα μεταδίδεται μέσω της δια-μεμβρανικής περιοχής, με αποτέλεσμα το διμερισμό του RTK και την ενεργοποίηση του RAS. Η σηματοδότηση ρυθμίζεται περαιτέρω από μια ισορροπία μεταξύ ενεργοποίησης από GEF's (SOS, RASGRP) και αδρανοποίησης από GAP's (NF, p120GAP) (Kwan *et*

al., 2022) Συντομεύσεις: RTK, receptor tyrosine kinase; GEF's, guanine nucleotide exchange factors; SOS, son of seven less homologue; RASGRP, RAS guanyl nucleotide-releasing protein; GAP's, GTPase-activating proteins; NF, neurofibromin.

Οι μεταλλάξεις του KRAS ενισχύουν την ανάπτυξη του ΠΚ μέσω της ρύθμισης της νουκλεοτιδικής σύνθεσης (Santana-Codina *et al.*, 2018). Μελέτες σε ποντίκια αποδεικνύουν ότι οι μεταλλάξεις KRAS είναι απαραίτητες τόσο για τη δημιουργία μη-διηθητικών βλαβών, IPMNs (Intraductal Pancreatic Papillary Mucinous Neoplasm), PanIN (Pancreatic Intraepithelial Neoplasia) και MCNs (Mucinous Cystic Neoplasms), όσο και διηθητικού καρκίνου (Pérez-Mancera *et al.*, 2012). Συμβαίνουν από την πρώιμη φάση της ογκογένεσης και το ποσοστό των μεταλλάξεων σχετίζεται με το βαθμό δυσπλασίας μιας βλάβης. Το ενεργοποιημένο KRAS ενεργοποιεί τον υποδοχέα EGFR ρυθμίζοντας την ενδογενή έκφραση του (Pérez-Mancera *et al.*, 2012), με αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση των επιπέδων του RAS, τη συνεχή ενεργότητα του EGFR και του μονοπατιού MEK/ERK και τη δημιουργία ενδο-επιθηλιακής νεοπλασίας PanIN-1A και 1B (Navas *et al.*, 2012).

Επιπλέον, ο Chan-Seng-Yue και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι το ποσοστό του μεταλλαγμένου KRAS σχετίζεται και με δύο διαφορετικούς φαινοτύπους του ΠΚ. Στους πιο αδιαφοροποίητους, επιθετικούς φαινοτύπους συναντώνται υψηλότερα ποσοστά KRAS, ενώ όταν βρίσκεται σε χαμηλά ποσοστά η ενίσχυση του ογκογονιδίου MYC είναι απαραίτητη για την εξέλιξη (Pérez-Mancera *et al.*, 2012).

Επίσης, μελέτες με μοντέλα σε ποντίκια απέδειξαν ότι η ενεργοποίηση του KRAS δρα διαφορετικά στα πορογενή και στα κυψελιδικά παγκρεατικά κύτταρα. Στα πορογενή, που είναι και τα πιο συχνά, απαιτείται μια ομόζυγη μετάλλαξη του KRAS και δημιουργούνται πιο επιθετικοί όγκοι. Στα κυψελιδικά επάγει κυρίως χαμηλού βαθμού PanIN και για την καρκινογένεση απαιτείται μια επιπλέον ετερόζυγη μετάλλαξη του TP53 και συχνά η ενεργοποίηση μιας φλεγμονώδους διαδικασίας (Lee *et al.*, 2019).

2.2 Στοχεύουσες θεραπείες για KRAS μετάλλαξη στον ΠΚ

Λόγω της υψηλής συχνότητας των μεταλλάξεων του KRAS στον ΠΚ αλλά και της εμφάνισης του σε πρόιμη νόσο, τις τελευταίες δεκαετίες έγιναν πολλαπλές προσπάθειες θεραπευτικής στόχευσης του. Όμως η πολυπλοκότητα των μεταλλάξεων και τα πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια συντέλεσαν στη περιορισμένη έως τώρα κλινική εφαρμογή των στοχευουσών θεραπειών.

Πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι η σπάνια (1-2%) μετάλλαξη KRAS G12C αποτελεί ένα δυνητικό θεραπευτικό στόχο, καθώς γίνεται αντικατάσταση της γλυκίνης από κυστεΐνη, πλησίον της οποίας υπάρχει μια θέση σύνδεσης φαρμάκων-αναστολέων του KRAS^{G12C} (Ostrem and Shokat, 2016). Στη σημαντική αυτή ανακάλυψη κατέληξαν μετά από μια σειρά ερευνών με παρόμοια μόρια (Kwan *et al.*, 2022). Το 2013 στο εργαστήριο του Shokat έδειξαν ότι κάποιες ενώσεις, μπορούν να συνδεθούν με τρόπο μη αναστρέψιμο σε μια ‘τσέπη’ κάτω από τον διακόπτη II, πλησίον της κυστεΐνης του KRAS^{G12C}, που ονόμασαν ‘switch II pocket; S-IIIP’. Συγκεκριμένα η ισχυρή σύνδεση της ‘ένωσης 12’ με το S-IIIP προκάλεσε τη μετατόπιση της γλυκίνης στη θέση 60 του ‘διακόπτη II’ προς το ‘διακόπτη I’. Έτσι τροποποιούνται και οι δυο διακόπτες με αποτέλεσμα τη μείωση της συγγένειας για το GTP και την κύρια σύνδεση του KRAS^{G12C} με την ανενεργή μορφή GDP (Ostrem and Shokat, 2016). Τελικά όμως η επιτυχία του αρχικού αναστολέα δεν επιβεβαιώθηκε σε προ-κλινικές μελέτες.

Επίσης οι Patricelli, Lito και οι συνεργάτες ανακοίνωσαν αρχικά ενθαρρυντικά αποτελέσματα αποδεικνύοντας την ειδική σύνδεση του αναστολέα ARS-853 με τη GDP-συνδεδεμένη μορφή του μεταλλαγμένου KRAS^{G12C} και την ακόλουθη διακοπή των σηματοδοτικών μονοπατιών RAF–MEK–ERK και PI3K–AKT–mTOR. Ο συγκεκριμένος αναστολέας έχει παρόμοια χημική δομή με την ‘ένωση 12’ αλλά μικρή βιοδιαθεσιμότητα (Patricelli *et al.*, 2016; Lito *et al.*, 2016). Έδειξαν ακόμη ότι μπλοκάροντας το KRAS σε υψηλότερο σηματοδοτικά επίπεδο, όπως με τον EGFR αναστολέα erlotinib, αυξανόταν η GDP- συνδεδεμένη μορφή του KRAS ως συνέπεια της δημιουργίας συμπλόκου του ARS-853 με το KRAS^{G12C}. Αντίθετα, η αναστολή του σηματοδοτικού μονοπατιού χαμηλότερα από τον MEK αναστολέα trametinib αύξανε τα επίπεδα της GTP-συνδεδεμένης μορφής και μείωνε την αποτελεσματικότητα του αναστολέα στα κύτταρα. Ωστόσο, οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι μια δεύτερη αντικατάσταση αμινοξέος επιτάχυνε την ενδογενή ανταλλαγή νουκλεοτιδίων,

μειώνοντας τη δράση του αναστολέα, όταν μειωνόταν η υδρόλυση του GTP. Η ενεργοποιητική δράση της GEF στο KRAS, μέσω υποδοχέων κινασών τυροσίνης (RTKs), ως πιθανός μηχανισμός αντίστασης στην απευθείας αναστολή του KRAS, θα μπορούσε πιθανά να παρακαμφθεί συνδυάζοντας ένα αναστολέα του EGFR, όμως και αυτός ο συνδυασμός απέτυχε σε μοντέλα με ποντίκια. Σημαντική παρατήρηση για τη μετάλλαξη KRAS^{G12C} από πειράματα in vivo, δηλαδή σε κύτταρα ή μοντέλα ζώων, ήταν ότι το KRAS δεν είναι συνδεδεμένο αποκλειστικά με GTP και επομένως ενεργοποιημένο, καθώς υπάρχει ενδογενής δράση της GTP-άσης που το υδρολύει στην ανενεργό GDP-συνδεδεμένη μορφή του.

Το μόριο ARS -1620, που μελετήθηκε από τον Janes και τους συνεργάτες του, έδειξε για πρώτη φορά αποτελεσματικότητα σε μελέτες in vivo για τη στόχευση του 'S-III' (Janes *et al.*, 2018).

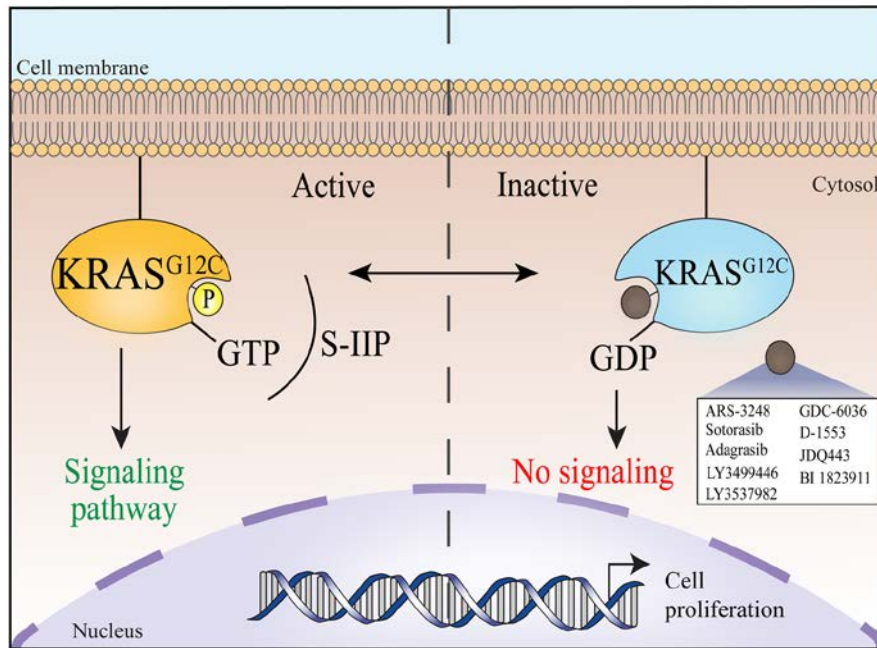
Το 2019 ο Canon και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι το AMG-510 (sotorasib), που στοχεύει μόνο τα κύτταρα που φέρουν τη G12C μετάλλαξη, ήταν αποτελεσματικό σε κυτταρικές σειρές αλλά και μοντέλα ποντικών (Canon *et al.*, 2019). Η ένωση αυτή εμφανίζει δομικές ομοιότητες με το μόριο ARS -1620, συνδέεται και αυτή με το 'S-III' και τη μεταλλαγμένη κυστεΐνη, αλλά υπερέχει αυτού καθώς συνδέεται στην ιστιδίνη στη θέση 95 (His95) αυξάνοντας κατά 10 φορές την ικανότητα δέσμωσης σε GDP (Canon *et al.*, 2019).

Η μελέτη φάσης II Code Break 100, οδήγησε το 2021 στην έγκριση του αναστολέα της μετάλλαξη G12C AMG-510 (sotorasib) στη δόση των 960 mgr ημερησίως για κύκλους διάρκειας 21 ημερών για το μεταστατικό μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα σε ασθενείς όπου έχει αποτύχει η συστηματική θεραπεία και ανοσοθεραπεία (Skoulidis *et al.*, 2021). Επιπλέον, έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα και για πολύ-θεραπευμένους ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ καθώς ανέδειξε όφελος στο σκέλος των 38 ασθενών που έφεραν τη μετάλλαξη G12C. Συγκεκριμένα 8 από αυτούς (21%) παρουσίασαν μερική ανταπόκριση και συνολικά το 84% έλεγχο της νόσου. Η μέση διάρκεια θεραπείας ήταν 4.1 μήνες και η τοξικότητα αποδεκτή. Οι κυριότερες αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες σοβαρού βαθμού ήταν διάρροια, κόπωση, αύξηση τρανσαμινασών και κοιλιακό άλγος. Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στις αλληλεπιδράσεις του sotorasib με άλλα φάρμακα. Τα συνολικά αποτελέσματα οδήγησαν στο να συμπεριλαμβάνεται σε κάποιες κατευθυντήριες οδηγίες η σύσταση χορήγησης του σαν 2^η γραμμή θεραπείας

σε ασθενείς με ΠΚ και Kras G12C μετάλλαξη μετά από πρόοδο νόσου σε χημειοθεραπεία, παρότι ακόμη δεν έχει λάβει έγκριση από το FDA (Food and Drug Administration) και τον EMA (European Medicines Agency) σ' αυτή την ένδειξη.

Στην παρούσα φάση μελέτες είναι σε εξέλιξη και για ένα παρόμοιο μόριο, το MRTX849 (adagrasib), που αναπτύχθηκε από τον Hallin και τους συνεργάτες του και έχει δείξει αποτελεσματικότητα σε προκλινικά μοντέλα (Fell *et al.*, 2020; Ou *et al.*, 2022). Δυστυχώς όμως και με το μόριο αυτό διαπιστώθηκαν πιθανοί μηχανισμοί επίκτητης αντίστασης ορίζοντας την ως επιδείνωση της νόσου μετά από 12 εβδομάδες σταθεροποίησης ή ανταπόκρισης, με βάση τη μελέτη Krystal 1 (Awad *et al.*, 2021). Ένας μηχανισμός αντίστασης θεωρήθηκαν οι επίκτητες μεταλλάξεις στα κωδικόνια 12 (G12D/R/V/W), 13 (G13D), 61 (Q61H), 68 (R68S), 95 (H95D/Q/R) και 96 (Y96C) του KRAS. Οι μεταλλάξεις στο κωδικόνιο 12 εμποδίζουν τη σύνδεση του adagrasib, ενώ οι υπόλοιπες σχετίζονταν με τη σύνδεση με το διακόπτη Π. Ο άλλος μηχανισμός αντίστασης ήταν η ύπαρξη ογκογόνων αλλαγών που μπορούσαν επίσης να ενεργοποιούν το μονοπάτι RTK-RAS χωρίς ωστόσο απευθείας δράση στο KRAS (Awad *et al.*, 2021).

Άλλα μικρά μόρια που στοχεύουν τη μετάλλαξη G12C για τα οποία τρέχουν κλινικές μελέτες φάσης II σε ασθενείς οι οποίοι έχουν ήδη λάβει πρότερη θεραπεία είναι το BI 1823911, το JDQ443 το LY3499446 και το LY3537982 (Kwan *et al.*, 2022) [εικόνα 7; Kwan *et al.*, 2022].



Εικόνα 7. Οι μοριακοί αναστολείς υπό μελέτη ARS-3248, sotorasib, adagrasib, GDC-6036, D-1533, BI 1823911, το JDQ443 το LY3499446 και το LY3537982 στοχεύουν άμεσα το μεταλλαγμένο KRAS G12C με δέσμευση στην τσέπη του διακόπτη II (S-IIP). Αυτοί οι αναστολείς σταθεροποιούν το RAS σε κατάσταση όπου είναι δεσμευμένο με το GDP, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μειωμένου σήματος από το μονοπάτι RAF-MEK-ERK/MAP που αποτρέπει την εξέλιξη του όγκου. (Kwan *et al.*, 2022)

Τέλος, αναστολείς του KRAS όπως το sotorasib και το adagrasib, μελετήθηκαν και σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία και ανοσοθεραπεία, όπου φαίνεται ότι αυξάνουν το προ-φλεγμονώδες περιβάλλον του όγκου μέσω παραγόντων που συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση (Gao *et al.*, 2019). Για να προσπεραστούν οι μηχανισμοί αντίστασης (Xue *et al.*, 2020; Awad *et al.*, 2021; Dunnett-Kane *et al.*, 2021) και να πετύχουν μεγαλύτερης διάρκειας ανταπόκριση επίσης δοκίμασαν συνδυασμούς με αναστολείς των μονοπατιών MAPK και AKT.

Συμπερασματικά, από όλες τις παραπάνω ερευνητικές προσπάθειες ανακαλύφθηκαν χρήσιμα δεδομένα για τη στόχευση του KRAS και έχουμε ήδη στη φαρέτρα μας το sotorasib που έδειξε κλινικό όφελος σε ασθενείς με ΠΚ και KRAS μετάλλαξη G12C.

2.3 Στοχεύουσες θεραπείες για σηματοδοτικά μονοπάτια του KRAS στον ΠΚ

Ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του KRAS παρατηρούνται σε πάνω από το 90% των ΠΚ αλλά δεν είναι εύκολο να στοχευτούν καθώς πρακτικά διαθέτουν μόνο την GTP/GDP ‘τσέπη’ πρόσδεσης (Raphael *et al.*, 2017). Τις τελευταίες δεκαετίες έγιναν προσπάθειες έμμεσης στόχευσης του KRAS, μέσω των σηματοδοτικών ή μεταβολικών μονοπατιών και του μηχανισμού ‘synthetic lethality’. Η έρευνα για τον χαρακτηρισμό των βασικών ογκογόνων οδών σηματοδότησης του ΠΚ, όπως RAS/MAPK, PI3K/AKT και JAK/STAT, επικεντρώθηκε στους αυξητικούς παράγοντες και τους υποδοχείς τους (Xelwa *et al.*, 2021). Διαπιστώθηκε ότι οι υποδοχείς κινασών τυροσίνης (RTKs), όπως του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (FGFR), του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGFR), του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGFR), του αυξητικού παράγοντα αιμοπεταλίων (PDGFR) και της τροπομοσίνης (TRK) παίζουν σημαντικό ρόλο στον ΠΚ (Lai *et al.*, 2019). Δυστυχώς, οι μηχανισμοί αντίστασης σε EGFR, BRAF αναστολείς και τα πολλαπλά εναλλακτικά σηματοδοτικά μονοπάτια οδήγησαν στην αποτυχία πολλών μορίων.

Μια σειρά μελετών εξέτασε το θεραπευτικό όφελος από τη χρήση διαφορετικών αναστολέων σε συνδυασμό με την γεμισιταμβίνη, ένα κλασσικό χημειοθεραπευτικό φάρμακο πρώτης γραμμής στον ΠΚ. Οι πρώτης γενιάς αναστολείς τυροσινικής κινάσης του EGFR, όπως το erlotinib (PFS HR 0.94, 95% CI 0.76–1.15, p 0.26) (Sinn *et al.*, 2017; Moore *et al.*, 2007), εμφάνισαν μικρή αποτελεσματικότητα. Πιθανά αυτό να σχετίζεται με την αντίσταση που προκαλείται από άλλα μέλη της οικογένειας ERBB (ERythroBlastic oncogene B), που εκτός από τον ErbB1 (EGFR ή HER1) περιλαμβάνει τον ErbB2 (neu ή HER2), ErbB3 (HER3) και ErbB4 (HER4). Ωστόσο είναι υπό εξέλιξη μια κλινική δοκιμή (NCT02451553) με το afatinib, ένα μη αναστρέψιμο αναστολέα τυροσινικής κινάσης της οικογένειας των ERBB (Jacobsen *et al.*, 2015). Ένας άλλος EGFR αναστολέας, το nimotuzumab, σε μια δοκιμή φάσης II με ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό ΚΠ έδειξε όφελος επιβίωσης (OS 8.6 μήνες έναντι 6 μηνών, HR 0.69, p 0.03), το οποίο όμως ήταν μεγαλύτερο σε όσους δεν έφεραν μετάλλαξη KRAS (OS 11.6 μήνες έναντι 5.6 μηνών, p 0.03) (Schultheis *et al.*, 2017). Το cetuximab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του EGFR, και το vandetanib, ένας αναστολέας τυροσινικής κινάσης των VEGFR και EGFR, δεν είχαν όφελος. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν την παρουσία μηχανισμών αντίστασης που

παρακάμπτουν την αναστολή του EGFR και κατά συνέπεια έχουν αναζητηθεί εναλλακτικές στρατηγικές θεραπείας, όπως οι συνδυασμοί των αναστολέων EGFR με άλλα μόρια. Για παράδειγμα, μια δοκιμή φάσης II (NCT01222689) σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό ΠΚ μετά την 1^η γραμμή χημειοθεραπείας έδειξε μέτριο όφελος του erlotinib, σε συνδυασμό με selumetinib, αναστολέα των MEK και ERK (Ko *et al.*, 2016).

Ο IGF (ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας) και ο υποδοχέας του IGF-1R υπερεκφράζονται στον ΠΚ, έχουν πολλαπλούς ρόλους στο μηχανισμό της ογκογένεσης και είναι συνδεδεμένοι με πτωχή πρόγνωση (Grothey *et al.*, 1999; Polireddy and Chen, 2016). Επίσης, ο IGF-1R αλληλοεπιδρά με το EGFR και πιθανά συμβάλλει στην αντίσταση του όγκου στους αναστολείς EGFR. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του IGF1R, το ganitumab, που εμποδίζει τη δέσμευση του IGF-1 και του IGF-2 με τον υποδοχέα, αρχικά έδειξε όφελος σε κυτταρικές σειρές παγκρεατικού καρκίνου (Beltran *et al.*, 2009). Μια τυχαίοποιημένη δοκιμή φάσης II έδειξε μη στατιστικά σημαντική βελτίωση στην συνολική επιβίωση (OS) (HR:0,67; p 0,12) και στο διάστημα ελεύθερο νόσου (PFS) (HR:0,65;p 0,072) με τη προσθήκη του ganitumab στην γεμισιταμβίνη και καλή ανοχή (Kindler *et al.*, 2012). Η μελέτη φάσης III GAMMA, που συνέκρινε το συνδυασμό της γεμισιταμβίνης με 2 διαφορετικές δόσεις του ganitumab έναντι σκέτης γεμισιταμβίνης σε πρώτη γραμμή, διακόπηκε πρόωρα καθώς δεν υπήρχαν διαφορές στο OS και PFS (Ko *et al.*, 2016). Μια κλινική δοκιμή φάσης II (NCT00769483) έδειξε ότι ένας άλλος ανταγωνιστής του IGF-1R, το MK-0646 ή dalotuzumab, δρα συνεργικά με τη γεμισιταμβίνη (OS 10,4 μήνες έναντι 5,7 μηνών, p 0,02) (Abdel-Wahab *et al.*, 2018). Η δοκιμή CARRIE ήταν μια μελέτη φάσης II που αξιολογούσε το όφελος του istiratumab, ενός άλλου mAb που στοχεύει τον IGF-1R και ErbB3, στην καθιερωμένη χημειοθεραπεία nab-paclitaxel/gemcitabine στην πρώτη γραμμή του μεταστατικού ΠΚ σε 88 ασθενείς με υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντος στον ορό IGF-1. Η μελέτη ήταν αρνητική με μικρότερα mOS και mPFS στο σκέλος του istiratumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία (mOS:8,9 μήνες και mPFS:3,6 μήνες έναντι mOS:11,7 μήνες και mPFS: 7,3 μήνες στο σκέλος της χημειοθεραπείας).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η ανάπτυξη νανοσωματιδίων (C18-EEG-GE11) που στοχεύουν τον EGFR και 'οδηγούν' τα φάρμακα με ακρίβεια στα καρκινικά παγκρεατικά κύτταρα (Du *et al.*, 2018).

Επιπρόσθετα, μεγάλη ερευνητική αξία έχει η στόχευση των πρωτεϊνών των μονοπατιών κάτωθεν του KRAS, όπως τα RAF/MEK/ERK και PI3K /AKT/mTOR (Collisson et al., 2012; Goncalves, Hopkins and Cantley, 2018).

Η MEK κινάση αποτελεί ένα σημαντικό θεραπευτικό στόχο καθώς συμμετέχει στην ογκογένεση του ΠΚ μέσω της ενεργοποίησης του μονοπατιού RTK/RAS/MAPK. Έχουν αναπτυχθεί διάφοροι αναστολείς της, όπως οι trametinib και selumetinib, η χορήγησή τους όμως ως μονοθεραπεία δεν έχει δείξει όφελος σε ασθενείς με προχωρημένο ΠΚ, μετά από αποτυχία στην χημειοθεραπεία (trametinib HR 0.98, 95% CI 0.67–1.44, p 0.453; selumetinib HR 1.03, 80% CI 0.68–1.57, p 0.92) (Bodoky *et al.*, 2012; Infante *et al.*, 2014). Η ταυτόχρονη στόχευση του MEK και άλλων πρωτεϊνών μπορεί να είναι μια θεραπευτική στρατηγική στον KRAS μεταλλαγμένο ΠΚ (Torres-Ayuso and Brognard, 2018). Η τυροσινική φωσφατάση 2, SHP2 (Scr Homology-2 Protein) έχει σημαντικό ρόλο στα ογκογόνα σηματοδοτικά μονοπάτια και είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του μονοπατιού RAS/MAPK καθώς και αρνητικός ρυθμιστής του JAK-STAT (Ruess *et al.*, 2018). Σε μοντέλα ποντικών πραγματοποιήθηκε αναστολή της SHP2, μέσω του ειδικού αναστολέα της SHP099, και καταστολή της SHOC2 (Leucine Rich Repeat Scaffold Protein), ενεργοποιητή του μονοπατιού της ERK, μέσω knock-out γονιδίου (Punekar *et al.*, 2022). Η συνδυασμένη εφαρμογή του trametinib και του SHP099 ή της κατεσταλμένης SHOC2 οδήγησε σε διακοπή της εξέλιξης του όγκου (Lu *et al.*, 2019; Sulahian *et al.*, 2019; Torres-Ayuso and Brognard, 2018; Fedele *et al.*, 2018; Jones *et al.*, 2019).

Το Ulixertinib, ένας ERK αναστολέας, έδειξε αποτελεσματικότητα σε μοντέλα ξενομοσχευμάτων συμπαγών όγκων με καλύτερα αποτελέσματα σε συνδυασμό με αναστολείς MEK (Sullivan *et al.*, 2018). Απ' την άλλη, δρώντας και στο μονοπάτι PI3K/AKT/mTOR, η συγχορήγηση selumetinib με ένα PI3K αναστολέα (BKM120) σε προερχόμενα από καρκίνο παγκρέατος οργανοτυπικά μοντέλα ή μοντέλα ποντικού οδήγησε σε ισχυρή απόπτωση και μεγαλύτερη διάμεση επιβίωση (131,5 έναντι 71 ημερών), αποτελώντας μια ένδειξη ότι η συνδυασμένη αναστολή MEK και PI3K μπορεί να έχει κλινική αξία. Ωστόσο πρόσφατες μελέτες δεν έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα από το συνδυασμό αναστολέων PI3K με άλλες στοχεύουσες θεραπείες, όπως το MK-2206 και το selumetinib (OS HR 1,37, p 0,15) (Chung *et al.*, 2017) και το GDC-0941 με το Ulixertinib (Jiang *et al.*, 2018).

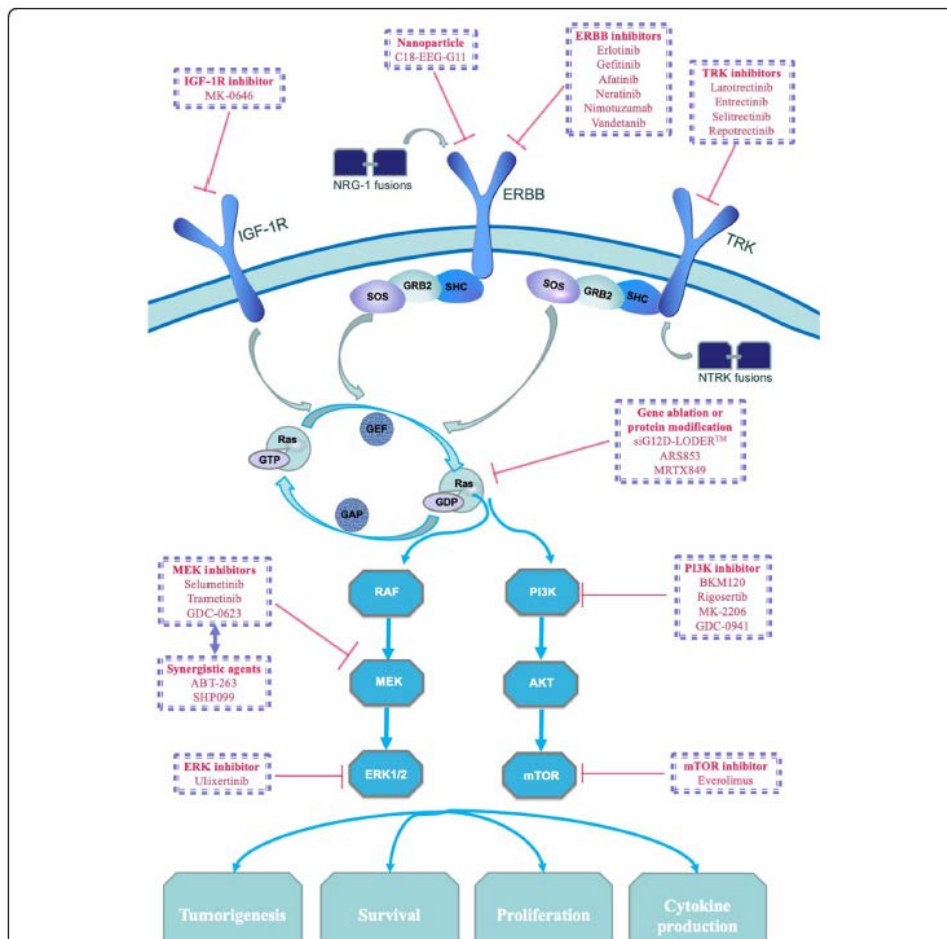
Επιπλέον, έχουν διεξαχθεί μελέτες με συνδυασμό χημειοθεραπείας και αναστολέων MEK. Μια τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή δοκιμή φάσης II αξιολόγησε τη γεμισιταμβίνη σε συνδυασμό με trametinib ή εικονικό φάρμακο στην πρώτη γραμμή σε 160 ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ. Δεν φάνηκε όφελος στο OS (8,4 έναντι 6,7 μηνών) και το PFS (16,1 έναντι 15,1 εβδομάδες) (Infante *et al.*, 2014).

Οι αναστολείς του MEK αναφέρεται επίσης να έχουν πιθανή συνέργεια με την ανοσοθεραπεία καθώς έχουν ανασταλτική δράση σε ανοσοκατασταλτικά κύτταρα. Η πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (RB) έχει ενεργό ρόλο στο σημείο ελέγχου του κυτταρικού κύκλου στην G1, εμποδίζοντας την είσοδο στη φάση S και την κυτταρική ανάπτυξη. Η ογκοκατασταλτική αυτή πρωτεΐνη δε λειτουργεί σε πολλούς τύπους καρκίνου, αποτελώντας σημαντικό θεραπευτικό στόχο, αλλά φαίνεται ότι συγκεκριμένα στον ΠΚ μόνο στο 3% των περιπτώσεων υπάρχει απώλεια της RB (Knudsen *et al.*, 2021). Στοιχεύοντας το MEK και το CDK 4/6 όχι μόνο καθυστερεί η εξέλιξη του όγκου αλλά και αυξάνει η διήθηση των T-κυττάρων και η ευαισθησία στους αναστολείς σημείων ελέγχου σε μοντέλα ξενομοσχευμάτων (Knudsen *et al.*, 2021). Μια εν εξελίξει μελέτη φάσης I/II (NCT02703571) αξιολογεί τον ρόλο της ριβοσικλίμπης, ενός αναστολέα της CDK4/6, με το trametinib στον ΠΚ. Ακόμη, ο συνδυασμός ενός αναστολέα του MEK, του cobimetinib (GDC-0623), με το αντίσωμα κατά του CD40 των αντιγено-παρουσιαστικών κυττάρων σε μοντέλα ποντικού είχαν πολύ καλά αποτελέσματα (Baumann *et al.*, 2020).

Το μονοπάτι PI3K/AKT/mTOR είναι επίσης ζωτικής σημασίας σε διαφορετικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με τον καρκίνο και η ενεργοποίησή του σχετίζεται με κακή πρόγνωση. Η μονοθεραπεία με Rigosertib, ένα αναστολέα των PI3K και PLK1, δεν έδειξε όφελος σε ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ (OS HR 1.24, 95% CI 0.85–1.81), αντιθέτως παρατηρήθηκε ενεργοποίηση του AKT (O’Neil *et al.*, 2015). Αναμένονται τ’ αποτελέσματα μιας μελέτης φάσης III με το Rigosertib σε συνδυασμό με τη γεμισιταμβίνη. Το everolimus, ένας αναστολέας του mTOR, είχε εξίσου απογοητευτικά αποτελέσματα (PFS 1,8 μήνες και OS 4,5 μήνες) (Wolpin *et al.*, 2009). Επίσης, σε μια μελέτη φάσης I/II της He COG (Ελληνικής Συνεργαζόμενης Ογκολογικής Ομάδας) η προσθήκη ενός άλλου εκλεκτικού αναστολέα mTOR, του temsirolimus, στη γεμισιταμβίνη σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένο και μεταστατικό ΠΚ δεν έδειξε όφελος (Karavasilis *et al.*, 2018). Αυξημένη δραστηριότητα της AKT έχει εντοπιστεί

στο 60% περίπου των περιπτώσεων ΠΚ ενώ η ενίσχυση του ογκογονιδίου AKT2 εμφανίζεται στο 10%-20% (Knudsen *et al.*, 2021). Ο συνδυασμός αναστολέων AKT και MEK, που φαίνεται να έχουν ισχυρή συνεργική δράση στον ΠΚ (Collisson *et al.*, 2012), πιθανά θα μπορούσε να μελετηθεί περαιτέρω στα πλαίσια κλινικών δοκιμών.

Συνοψίζοντας, παρεμβάσεις που στοχεύουν ταυτόχρονα και τα δύο κύρια μονοπάτια του KRAS, δηλαδή τα RAF/MEK/ERK και PI3K/PDK1/AKT αντιπροσωπεύουν μια κατεύθυνση για μελλοντική εξερεύνηση της θεραπείας του ΠΚ με μεταλλαγμένο KRAS [εικόνα 8; Qian *et al.*, 2020]. Περαιτέρω κλινικές δοκιμές για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας συνδυαστικών θεραπειών θα είχαν πιθανά όφελος.



Εικόνα 8. Διάφοροι αναστολείς που θα μπορούσαν να αναστείλουν μέρη του μονοπατιού σηματοδότησης του RAS, όπως , το MEK, το ERK, το PI3K και το mTOR (Qian *et al.*, 2020).

2.4. Συγγωνεύσεις γονιδίων NTRK, NTRG1

Οι συντήξεις των γονιδίων NTRK (Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase) και NRG1 (NeuReGulin 1) είναι πολύ σπάνιες (0,3% και 0,5% αντίστοιχα), αλλά ιδιαίτερου κλινικού ενδιαφέροντος καθώς πλέον διαθέτουμε στοχεύουσες θεραπείες (Christenson *et al.*, 2020). Αφορούν την μειοψηφία των ασθενών με ΠΚ που δε φέρουν KRAS μετάλλαξη (άγριου τύπου ΠΚ). Χρωμοσωμικές αναδιατάξεις των γονιδίων NTRK προάγουν την έκφραση του υποδοχέα κινάσης της τροπομυοσίνης TRK (tropomyosin receptor kinase). Δημιουργούνται χμιαρικές πρωτεΐνες, που ενεργοποιούνται ανεξάρτητα από το συνδέτη, εκκινούν την ογκογένεση σηματοδοτώντας ως κανονικές πρωτεΐνες TRKs τα μονοπάτια MAPK και PI3K-AKT και πιθανά αλληλοεπιδρούν με άλλες κινάσες τυροσίνης (Nevala-Plagemann *et al.*, 2020; Cocco *et al.*, 2018).

Μια αθροιστική ανάλυση κλινικών δοκιμών [NTRK NCT02122913 (Hong *et al.*, 2019), NCT02637687 (Laetsch *et al.*, 2018), NCT02576431] που αφορούσαν συμπαγείς όγκους με συντήξεις γονιδίων έδειξε ότι ο εκλεκτικός αναστολέας των A, B και C TRKs, larotrectinib, οδήγησε σε σημαντική ανταπόκριση (79%; 95% CI 72–85%) (Hong *et al.*, 2020). Μέσα από μια άλλη αθροιστική ανάλυση τριών άλλων μελετών (NCT02097810, NCT02568267, EudraCT 2012-000148-88) αποδείχτηκε αποτελεσματικός και ο αναστολέας entrectinib, που στοχεύει τις ίδιες TRKs, δίνοντας όμως μικρότερα ποσοστά ανταπόκρισης (57%; 95% CI 43.2–70.8%) (Doebele *et al.*, 2020). Τα δεδομένα αυτά είχαν σαν αποτέλεσμα την έγκριση τους από το FDA για τη στόχευση του NTRK σε συμπαγείς όγκους, συμπεριλαμβανομένου του ΠΚ. Δυστυχώς έχει αποδειχτεί ότι και σε αυτούς τους αναστολείς αναπτύσσεται αντίσταση και ήδη δοκιμάζεται η επόμενη γενιά αναστολέων TRKs, όπως οι selitrectinib και repotrectinib (Drilon, 2019).

Συμπερασματικά, οι υπερ-ενεργοποιημένες χμιαρικές πρωτεΐνες TRKs αντιπροσωπεύουν δυνητικούς στόχους σε παγκρεατικούς όγκους με NTRK σύντηξη και με βάση τις αμερικάνικες κατευθυντήριες οδηγίες ASCO συστήνονται από το 2020 σαν δεύτερη γραμμή θεραπείας σ' αυτή την κατηγορία ασθενών (Sohal *et al.*, 2020).

Επιπλέον, οι συντήξεις του NRG1, ενός άμεσου συνδέτη των ERBB3 και ERBB4 RTKs, μπορούν να οδηγήσουν σε καρκινογένεση σε όγκους που δεν εκφράζουν το KRAS, μέσω της υπερ-ενεργοποίησης της οδού σηματοδότησης του υποδοχέα ERBB (Heining *et al.*, 2018; Laskin *et al.*, 2020).

Τόσο το αντίσωμα αντι-ERBB3 GSK2849330 όσο και οι αναστολείς pan-ERBB afatinib και neratinib μείωσαν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε καρκινικές σειρές με αναδιατάξεις NRG1, αλλά φαίνεται ότι η εκλεκτική αναστολή του ERBB3 είναι πιο αποτελεσματική (Drilon *et al.*, 2018). Επίσης, έχει δειχθεί η αποτελεσματικότητα του zenocutuzumab (MCLA-128), που δεσμεύεται στο ERBB2 και εμποδίζει τη δέσμευση μιας πρωτεΐνης σύντηξης NRG1 στο ERBB3, σε ασθενείς με ΠΚ με σύντηξη NRG1 (Schram *et al.*, 2022). Μια κλινική δοκιμή φάσης II (NCT02912949) με το zenocutuzumab σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους και σύντηξη NRG1 είναι σε εξέλιξη. Συμπερασματικά, η έκτοπη οδός σηματοδότησης ERBB προσφέρει δυνητικά υποσχόμενους στόχους σε όγκους KRAS άγριου τύπου με σύντηξη NRG.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

3.1 CDKN2A

Το γονίδιο CDKN2A (Cyclin Dependent Kinase 2A inhibitor) βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 9 (Caldas *et al.*, 1994). Σωματικές απενεργοποιητικές μεταλλάξεις υπάρχουν σε υψηλό ποσοστό στον ΠΚ και συνήθως παρατηρούνται ήδη από το στάδιο της PanIN-1B, 2, 3 (Fischer and Wood, 2018). Οι περισσότερες μεταλλάξεις οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας του p16, μιας ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης με ρόλο αναστολέα κυκλινο-εξαρτώμενης κινάσης 4/6 (CDK4/6), που ελέγχει τον κυτταρικό κύκλο και συγκεκριμένα το σημείο ελέγχου G1/S (Serrano *et al.*, 1993). Η άλλη πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο είναι η p14 που συνδέεται με το MDM2 (Murine Double Minute 2), ένα αρνητικό ρυθμιστή του p53 (Makohon-Moore and Iacobuzio-Donahue, 2016).

Στο 40% των περιπτώσεων η απενεργοποίηση του γονιδίου γίνεται από την ομόζυγη απαλοιφή των δύο αλληλομόρφων. Συχνά, απενεργοποιείται ταυτόχρονα και το γειτονικό γονίδιο MTAP (Methyl-ThioAdenosine Phosphorylase), που από κυτταρικές σειρές φαίνεται ότι θα μπορούσε να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο (Hustinx *et al.*, 2005; Mavrikakis *et al.*, 2016). Στο υπόλοιπο 40% των περιπτώσεων παρατηρούνται ενδο-γονιδιακές μεταλλάξεις, κυρίως σωματικές, με ταυτόχρονη απώλεια του 2^{ου} αλληλομόρφου και στο 20% υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου (Fukushima *et al.*, 2002).

Ενώ οι αναστολείς CDK4/6 είναι αποτελεσματικοί σαν θεραπεία στον πρώιμο και μεταστατικό ορμονο-εξαρτώμενο καρκίνο του μαστού και έχουν εγκριθεί από τον FDA με αυτήν την ένδειξη, τα δεδομένα για άλλες νεοπλασίες και τον ΠΚ, όπως από τη μελέτη TAPUR, δεν έχουν οδηγήσει στην κλινική εφαρμογή τους (Knudsen, Pruitt, *et al.*, 2019; Al Baghdadi *et al.*, 2019). Η δράση των αναστολέων CDK4/6 στην ομάδα των ασθενών με ΠΚ με απώλεια του CDKN2A έχει επιβεβαιωθεί σε μελέτες σε ποντίκια και προ-κλινικές μελέτες, και φαίνεται ότι θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα θεραπευτικό εργαλείο (Franco *et al.*, 2014; Chou *et al.*, 2018). Σε κυτταρικές σειρές αναφέρεται συνεργική δράση του αναστολέα του CDK4/6 abemaciclib και δύο

αναστολέων που σχετίζονται με την κυκλίνη D1, του YAP1 (Yes-Associated Protein 1) και του HuR (Human antigen R, ELAVL1) (Dhir *et al.*, 2019). Ο YAP1 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι Hippo, που ρυθμίζει την ομοιοστάση των φυσιολογικών ιστών, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση, συμμετέχει στην ογκογένεση μέσω διαφόρων μηχανισμών και πιθανά να μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως προβλεπτικός δείκτης στον ΠΚ (Zhou *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2021; Szulzewsky *et al.*, 2021). Το HuR, μια πρωτεΐνη που μεταφέρει το mRNA στο κυτταρόπλασμα, συμβάλλει στη σταθερότητα του σε συνθήκες αυξημένου stress, όπως την υποξία και την έλλειψη θρεπτικών συστατικών στο περιβάλλον του όγκου (Brody and Dixon, 2018). Ειδικότερα, στον ΠΚ ο αναστολέας CDK4/6 palbociclib μεταβάλλει την οργάνωση της εξωκυττάριας ουσίας, και οδηγεί σε απόπτωση, αδράνεια, αναστολή μεταστατικού δυναμικού και εξέλιξης του όγκου (Schettini *et al.*, 2018). Όμως, η πλαστικότητα του κυτταρικού κύκλου επιτρέπει τη διαφυγή από τους αναστολείς CDK4/6 (Knudsen, Kumarasamy, *et al.*, 2019; Knudsen *et al.*, 2021). Ο ρόλος των αναστολέων CDK4/6 βρίσκεται επί του παρόντος υπό αξιολόγηση για τον ΠΚ σε μελέτες φάσης I, II και III.

Από πρόσφατη μελέτη του Knudsen και των συνεργατών του για το ρόλο της συνδυαστικής δράσης των στοχευουσών θεραπειών και της ανοσοθεραπείας στον ΠΚ εξετάζοντας μοντέλα PDX που προέρχονταν από 10 ασθενείς βγήκαν κάποια χρήσιμα συμπεράσματα. Αξιολογώντας την επίδραση της αναστολής CDK4/6 και MEK καταρχήν αναδείχτηκε ο σημαντικός ρόλος των MEK αναστολέων στο να εμποδίσουν την πλαστικότητα του κυτταρικού κύκλου και κατ' επέκταση να επιτρέψουν τη δράση των αναστολέων CDK4/6. Επιπλέον, φάνηκε ότι η αναστολή συνδυάστηκε με την ενεργοποίηση του ρετινοβλαστώματος (RB), την καταστολή της κυκλινο-εξαρτώμενης κυκλίνης 2 (CDK2) και την καταστολή των γονιδίων-στόχων E2F, που είναι μεταγραφικοί παράγοντες με σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό κύκλο και στη ρύθμιση ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Μάλιστα ενώ ο συνδυασμός ήταν εξαιρετικά αποτελεσματικός, με τη διακοπή της θεραπείας τα κύτταρα εισέρχονταν ξανά στον κυτταρικό κύκλο με αποτέλεσμα την εξέλιξη του όγκου και υπήρχε ανάγκη επικουρικής αναστολής του κυτταρικού κύκλου στους πολύ ταχέως αναπτυσσόμενους όγκους. Επίσης παρατηρήθηκε ότι πολλά γονίδια καταστέλλονται ή ενεργοποιούνται. Το EZH2 (Enhancer of Zeste Homolog 2) συμμετέχει στη μεθυλίωση των ιστόνων, στη δημιουργία και αναδιαμόρφωση της ετεροχρωματινής και στην αποσιώπηση γονιδίων

με αποτέλεσμα τη μεταγραφική καταστολή. Παρατηρήθηκε ότι η καταστολή τροποποιητών χρωματίνης, όπως του EZH2, και γονιδίων που συμμετέχουν σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA θα μπορούσε ν' αυξήσει την ευαισθησία σε θεραπείες, όπως τους αναστολείς CDK4/6 και MEK. Μελέτες με CDK4/6 και MEK αναστολείς έδειξαν έντονη επίδραση στα ανοσοκύτταρα εντός του όγκου, κυρίως στον πληθυσμό μυελοειδών - μακροφάγων, χωρίς να καταστέλλεται ο πληθυσμός T-κυττάρων εντός του μικροπεριβάλλοντος. Ακόμη, φάνηκε η αύξηση της ιντερφερόνης και αντιγόνων. Μάλιστα, η χορήγηση του αντι-PD-1 ενίσχυσε τη δράση του συνδυασμού CDK4/6-MEK. (Knudsen *et al.*, 2021).

Τέλος, πέρα από το συνδυασμό CDK4/6 αναστολέων με MEK αναστολείς (Franco *et al.*, 2014; Knudsen *et al.*, 2021), δοκιμάζεται ο συνδυασμός τους και με άλλες θεραπείες (Franco *et al.*, 2014), όπως ανοσοθεραπεία (Deng *et al.*, 2018), αναστολείς mTOR (Leontieva and Blagosklonny, 2013), αντί-IGF1 (Heilmann *et al.*, 2014), αναστολείς PARP και αναστολείς ενός ανταγωνιστή του p53, το MDM2 (Mouse Double Minute 2 homolog) (Vilgelm *et al.*, 2019).

3.2 TP53

Το γονίδιο TP53 βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 και θεωρείται ο φρουρός του γονιδιώματος διατηρώντας τη γενωμική σταθερότητα καθώς, μέσω της έκφρασης του p21, αναστέλλει τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προωθεί την απόπτωση και επηρεάζει το μικροπεριβάλλον του όγκου (Vogelstein *et al.*, 2000). Είναι απενεργοποιημένο περίπου στο 70% των αδενοκαρκινωμάτων του παγκρέατος, συχνότερα από ενδο-γονιδιακές μεταλλάξεις, κυρίως σωματικές, με ταυτόχρονη απώλεια του 2^{ου} αλληλομόρφου (Raphael *et al.*, 2017). Κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης παρατηρείται μεγάλη συχνότητα και ποικιλομορφία των γενετικών αλλαγών, όπως του αριθμού των αντιγράφων, ανευπλοειδίες και χρωμοσωμικές ανακατατάξεις (Waddell *et al.*, 2015). Έχει αποδειχθεί ότι η απώλεια του p53 ενεργοποιεί το μονοπάτι JAK2/STAT3 με αποτέλεσμα την αύξηση του όγκου και την εμφάνιση αντίστασης στη γεμισιταμβίνη, ενός από τα βασικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στον καρκίνο του παγκρέατος, οδηγώντας σε χειρότερη πρόγνωση και χαμηλότερη επιβίωση (Wörmann *et al.*, 2016). Επιπρόσθετα,

η απώλεια του p53 είναι πιο συχνή σε κάποιους μοριακούς υποτύπους όπως ο basal-like, συσχετίζοντας τον με υψηλότερο μεταστατικό δυναμικό και πτωχή απάντηση στη χημειοθεραπεία (Chan-Seng-Yue *et al.*, 2020). Επίσης πρόσφατα αποδείχθηκε ο ρόλος του p53 στο μάτισμα και συγκεκριμένα ότι η μετάλλαξη TP53^{R175H} ρυθμίζει την έκφραση ειδικών GAPs στον ΠΚ, σαν συνέπεια εναλλακτικού ματίσματος (Escobar-Hoyos *et al.*, 2020). Τέλος, η μετάλλαξη TP53^{R273H} αναστέλλει την έκφραση του γονιδίου KLF6 (Kruppel Like Factor 6) που κωδικοποιεί ογκοκατασταλτικούς μεταγραφικούς παράγοντες και προάγει τη μετάσταση (Sun *et al.*, 2020).

Τα μόρια CP-31398, APR-246, COTI-2 και άλλες πρωτεΐνες δρουν ως ενεργοποιητές του μεταλλαγμένου p53 με διαφορετικούς τρόπους (Zawacka-Pankau and Selivanova, 2015; Bykov *et al.*, 2018) και μελέτες είναι σε εξέλιξη για να επιβεβαιώσουν το όφελος στην πρόγνωση των ασθενών με ΠΚ.

Το MDM2 (Murine Double Minute 2) υπερεκφράζεται σε πολλές νεοπλασίες μέσω γονιδιακής ενίσχυσης και παρουσίας συγκεκριμένων SNPs (Oliner *et al.*, 2016). Ανταγωνίζεται το p53 είτε μέσω απευθείας σύνδεσης μ' αυτό, είτε μέσω αποδόμησης του καθώς δρα σαν λιγάση της E3 ουβικουιτίνης (Todoric *et al.*, 2017; Ringshausen *et al.*, 2006). Επιπλέον, η αποδόμηση του p53 μπορεί να γίνει μέσω φωσφορυλίωσης του MDM2 στη θέση ser166 από την PPP1R1B (Protein Phosphatase 1 Regulatory inhibitor subunit 1B), η υψηλή έκφραση της οποίας είναι κακός προγνωστικός δείκτης στον ΠΚ και τα επίπεδα της είναι αντιστρόφως ανάλογα με αυτά του παράγοντα HIF1A (Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha). Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει τη δράση των MDM2 αναστολέων *in vitro* και *in vivo*, αλλά απαιτούνται προφανώς και κλινικές μελέτες σε ασθενείς με ΠΚ (Wang *et al.*, 2014; Vassilev *et al.*, 2004; W. Wang *et al.*, 2018).

3.3 SMAD4

Το 32% των ασθενών με αδενoCa παγκρέατος έχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο SMAD4 (SMAD Family Member 4) που εντοπίζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 18 (Raphael *et al.*, 2017). Το γονίδιο απενεργοποιείται είτε από ομόζυγη απαλοιφή είτε από ενδο-γονιδιακές μεταλλάξεις, κυρίως σωματικές, με ταυτόχρονη απώλεια του 2^{ου} αλληλομόρφου (Jones *et al.*, 2008). Σε μοντέλα ποντικών φαίνεται ότι το SMAD4 είναι

προαπαιτούμενο για τη φυσιολογική ανάπτυξη του παγκρέατος και σημαντικό για την εξέλιξη του παγκρεατικού καρκίνου (Bardeesy *et al.*, 2006). Η απενεργοποίηση του συναντάται μόνο στις PanIN-3 βλάβες και στους διηθητικούς όγκους (Murphy *et al.*, 2013), φαίνεται να επιταχύνει τον ΠΚ με KRAS^{G12D} μετάλλαξη (Kojima *et al.*, 2007), και σχετίζεται με υψηλό μεταστατικό δυναμικό και χειρότερη πρόγνωση (Blackford *et al.*, 2009).

Το SMAD4, ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο, αποτρέπει τη δημιουργία όγκου από προ-φλεγμονώδεις κυττοκίνες, διακόπτει τον κυτταρικό κύκλο και οδηγεί τα προ-καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση (Xia *et al.*, 2015). Επίσης, παίζει βασικό ρόλο στην αλληλεπίδραση όγκου-στρώματος μέσω του μονοπατιού TGFβ-SMAD4 (Shi *et al.*, 1997; Batlle and Massagué, 2019). Οι ινοβλάστες παράγοντας TGFβ (Transforming Growth Factor-β) πιθανά συμβάλλουν στη μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων μέσω της μερικής επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής (EMT, Epithelial-Mesenchymal Transition) (Ligorio *et al.*, 2019; Racu *et al.*, 2022). Το SMAD4 αναστέλλει τη μεταγραφή ενός ενζύμου απαραίτητου για την παραγωγή ενέργειας μέσω γλυκόλυσης, της PGK1 (PhosphoGlycerate Kinase 1). Σε ΠΚ με απώλεια SMAD4 η έκφραση της PGK1 αυξάνεται, μεταφέρεται στον πυρήνα και εκεί δρα ως μεταγραφικός παράγοντας καταστέλλοντας την έκφραση της E-cadherin και προωθεί το φαινόμενο EMT (Liang *et al.*, 2020). Επιπλέον, το SMAD4 επηρεάζει το επίπεδο έκφρασης του RUNX3 (RUNX Family Transcription Factor 3), που έχει ογκοκατασταλτικό και ογκογόνο ρόλο στον ΠΚ, ρυθμίζοντας την ισορροπία μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μετάστασης (Kojima *et al.*, 2007).

Η αλληλεπίδραση με το μικροπεριβάλλον του όγκου έχει φανεί σε μελέτες με ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια που έχουν δείξει ότι η αποκατάστασή του σχετίζεται με μείωση της αγγειογένεσης και αναδιαμόρφωση του στρώματος (Schwarte-Waldhoff *et al.*, 2000). Επίσης, η απώλεια του γονιδίου φαίνεται να οδηγεί σε αντίσταση στην ακτινοβολία λόγω της ROS (Reactive Oxygen Species) επαγωγής και σε αυτοφαγία (F. Wang *et al.*, 2018).

Έχει δειχθεί ότι η δράση του TGFβ στα μαστοκύτταρα προσδίδει αντίσταση στην γεμισιταμβίνη, που αποτελεί βασική θεραπεία στον ΠΚ (Porcelli *et al.*, 2019). Έχουν αναπτυχθεί παράγοντες που αναστέλλουν το TGFβ σε όγκους με απώλεια του SMAD4. Το galunisertib, ο πρώτος από του στόματος βιοδιαθέσιμος αναστολέας TGFβ, έδειξε

δραστικότητα σε προκλινικές μελέτες (Shi *et al.*, 2019). Μελέτη φάσης Ib/II έδειξε ότι ο συνδυασμός του με γεμισιταμβίνη αύξησε τη συνολική επιβίωση (mOS 8,9 μήνες έναντι 7,1 μηνών στο σκέλος του εικονικού φαρμάκου; HR=0,79; 95%CI:0,59–1,09) σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό ΠΚ (Gueorguieva *et al.*, 2019). Όσον αφορά την ανοσολογική διαφυγή, η μελέτη φάσης NCT02734160 που αξιολόγησε το galunisertib σε συνδυασμό με τον αναστολέα του PD-L1 durvalumab σε ασθενείς που είχαν ήδη λάβει τουλάχιστον 2 γραμμές συστηματικής θεραπείας δεν έδειξε όφελος (Pokataev *et al.*, 2019).

Τέλος, μελετάται ο ρόλος της ανίχνευσης των επιπέδων της πρωτεΐνης SMAD4 μέσω ανοσοϊστοχημείας ως διαφορο-διαγνωστικό και προγνωστικό εργαλείο στον ΠΚ (R. E. Wilentz *et al.*, 2000; Pokataev *et al.*, 2019) .

3.4 STK11

Το γονίδιο STK11 (Serine Threonine Kinase 11) φαίνεται ότι συμμετέχει στην εμφάνιση σποραδικού ΠΚ. Έχουν ανευρεθεί στο 4% των περιπτώσεων ΠΚ και κυρίως σε εκείνες που σχετίζονται με IPMN, όπου στο 25% υπάρχει απώλεια ετεροζυγωτίας, χωρίς όμως να έχουν άλλα χαρακτηριστικά του συνδρόμου (Su *et al.*, 1999; Sato *et al.*, 2001).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΒΛΑΒΩΝ DNA ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

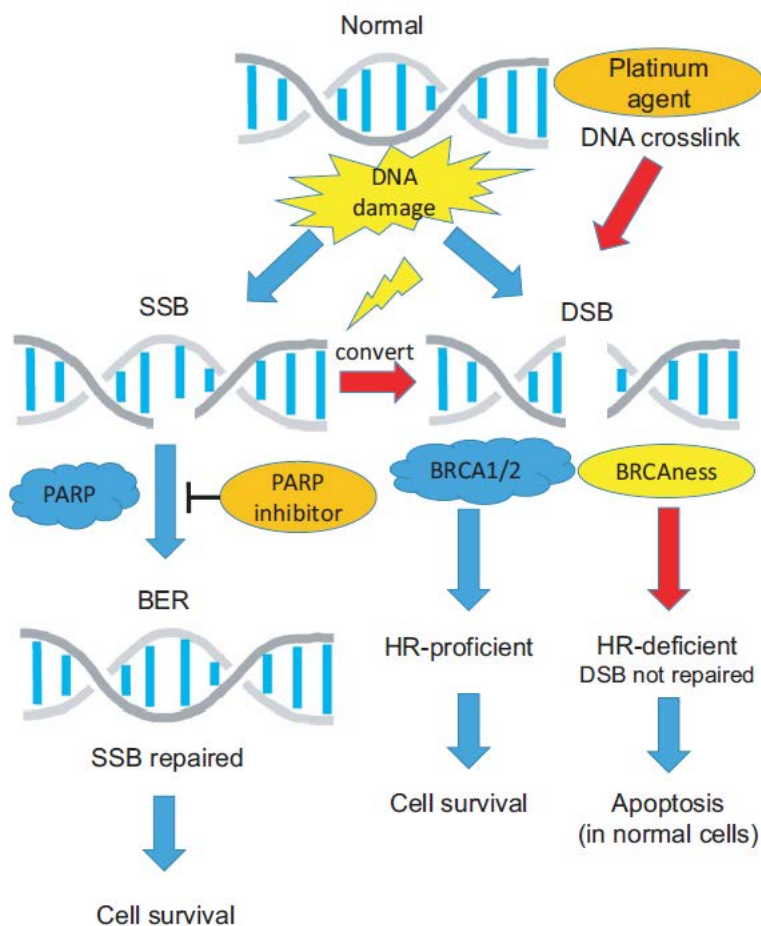
Όπως ήδη αναφέρθηκε ο ΠΚ, και ιδιαίτερα ο μεταστατικός ΠΚ, είναι ένα νεόπλασμα με φτωχή πρόγνωση και περιορισμένες θεραπευτικές επιλογές. Η ανίχνευση μιας σωματικής ή γαμετικής μετάλλαξης του συστήματος επιδιόρθωσης βλαβών DNA, γνωστό ως ομόλογος ανασυνδυασμός (Homologous Recombination; HR) (BRCA, PALB2, ATM, BAP1, BARD1, BLM, BRIP1, CHEK2, FAM175A, FANCA, FANCC, NBN, RAD50, RAD51, RAD51C, RTEL1) μας δίνει σημαντικές πληροφορίες για τη λήψη θεραπευτικής απόφασης, καθώς για κάποιες από αυτές υπάρχουν στοχεύουσες θεραπείες (Park *et al.*, 2020; Perkhofner *et al.*, 2021). Στα κύτταρα των θηλαστικών ο ομόλογος ανασυνδυασμός είναι ο κύριος μηχανισμός επιδιόρθωσης θραύσεων της διπλής έλικας του DNA κατά τη φάση G2, δηλαδή μετά το διπλασιασμό του DNA όταν η αδερφή χρωματίδη χρησιμοποιείται ως καλούπι για την ακριβή επιδιόρθωση της βλάβης. Τα κύρια συστατικά του συστήματος είναι το σύμπλεγμα MRN (Mre11, RAD50, NBS1) που αναγνωρίζει τη δίκλωνη θραύση, το BRCA1 που δρα ως ικρίωμα στο σημείο της βλάβης για την αλληλεπίδραση των υπόλοιπων πρωτεϊνών του συστήματος HR, και το BRCA2 που ως συστατικό του συμπλέγματος BRCA1-PALB2-BRCA2 αλληλοεπιδρά με την RAD51 και σταθεροποιεί την σύνδεση των RAD51, RAD52 στο μονόκλωνο DNA (Lamarche *et al.*, 2010; Wright *et al.*, 2018). Η απενεργοποίηση των γονιδίων HR (HRD) οδηγεί σε αστάθεια του γονιδιώματος και προδιαθέτει για καρκινογένεση (Casolino *et al.*, 2021).

4.1 BRCA και PALB2

Τα BRCA (BReast Cancer gene) 1, 2 και το PALB2 (Partner And Localizer of BRCA2 gene) συμμετέχουν στον ομόλογο ανασυνδυασμό και αποτελούν μέλη του μονοπατιού που εμπλέκεται στην αναιμία Fanconi, ενός προστατευτικού μηχανισμού για τη διατήρηση της γενωμικής σταθερότητας μέσω της επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA, μετά από επίδραση παραγόντων, όπως η mitomycin C, που δημιουργούν αυξημένη ευαισθησία για θραύσεις διπλής έλικας. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω 3 διαφορετικών μηχανισμών, του ομόλογου ανασυνδυασμού (HR), του NER (Nucleotide

Excision Repair) και του TLS (Trans Lesion Synthesis) (Moldovan and D'Andrea, 2009; Villarroel *et al.*, 2011). Οι ασθενείς με μεταλλάξεις BRCA ή PALB2 έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε πλατινούχα χημειοθεραπευτικά σκευάσματα που προκαλούν βλάβη του DNA, αλλά και σε PARP αναστολείς, όπως το Olaparib, που στοχεύουν απευθείας το επιδιορθωτικό μονοπάτι (Park *et al.*, 2020). Οι PARP αναστολείς έχουν ήδη δείξει σημαντικά αποτελέσματα σε ανθεκτικούς BRCA μεταλλαγμένους συμπαγείς όγκους ωοθήκης και μαστού (Sachdev *et al.*, 2019). Το όφελος δε φαίνεται να είναι το ίδιο σαφές για τα υπόλοιπα γονίδια του HR αλλά η έρευνα στο αντικείμενο αυτό συνεχίζεται (Villarroel *et al.*, 2011; Javle *et al.*, 2021).

Η PARP-1 εμπλέκεται κυρίως στο μηχανισμό επιδιόρθωσης βλαβών μονής έλικας (SSBs) μέσω του μηχανισμού εκτομής βάσης (BER), αλλά πλέον γνωρίζουμε ότι συμμετέχει και στην επιδιόρθωση των DSBs (Nevala-Plagemann *et al.*, 2020). Τα κύτταρα με απενεργοποιημένο το BRCA γονίδιο, όταν υφίστανται βλάβη του DNA, επιδιορθώνουν τις DSBs με μηχανισμούς επιρρεπείς σε λάθη συνεισφέροντας σε γενωμική αστάθεια. Το αποτέλεσμα είναι είτε ν' αποπίπτουν είτε ν' αποκτούν ογκογόνο δυναμικό (Venkitaraman, 2019). Σ' ένα οργανισμό όπου υπάρχουν δύο γονίδια με ομόλογες βιολογικές λειτουργίες, όπως το BRCA και το PARP, η ταυτόχρονη διαταραχή της λειτουργίας και των δύο είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση κυτταρικού θανάτου (Kaufman *et al.*, 2015). Αυτή η διαδικασία ονομάζεται 'synthetic lethality' και έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία καθώς στα καρκινικά κύτταρα με μετάλλαξη BRCA η αναστολή της PARP οδηγεί σε αποτυχία επιδιόρθωσης των βλαβών μονής έλικας με επακόλουθες βλάβες στη διπλή έλικα κατά το διπλασιασμό του DNA και τον κυτταρικό θάνατο (Kaelin, 2005) [εικόνα 9; Hayashi *et al.*, 2021]. Επομένως, η αναζήτηση και ανίχνευση μιας μετάλλαξης γονιδίου που συμμετέχει σ' αυτή τη διαδικασία κυτταρικού θανάτου έχει σημαντική αξία καθώς αναστέλλοντας το άλλο ομόλογο γονίδιο έχουμε στη διάθεση μας μια δυνητικά αποτελεσματική στοχεύουσα θεραπεία (Sachdev *et al.*, 2019).



Εικόνα 9. Επιδιορθωτικός μηχανισμός δράσης του PARP και του BRCA σε βλάβες μονής και διπλής έλικας του DNA αντίστοιχα, με αποτέλεσμα την επιβίωση των κυττάρων. Αντίθετα, σε περιπτώσεις BRCA μετάλλαξης, μετά από βλάβες της διπλής έλικας του DNA από δράση πλατινούχων σκευασμάτων τα κύτταρα οδηγούνται σε απόπτωση (Hayashi *et al.*, 2021).

Προκαταρκτικά στοιχεία για τη δραστικότητα της ολαπαρίμπης σε διαφορετικούς πρωτοπαθείς συμπαγείς όγκους δόθηκαν από τα αποτελέσματα μιας μελέτης φάσης II που περιελάμβανε 23 ασθενείς με μεταλλαγμένο BRCA1-2 ΠΚ (Kaufman *et al.*, 2015). Η τυχαίοποιημένη μελέτη φάσης III POLO (Pancreas Cancer Olaparib Ongoing) εκτίμησε την αποτελεσματικότητα του Olaparib ως θεραπεία συντήρησης μετά από χημειοθεραπεία σε ασθενείς με μεταστατικό ΚΠ με γαμετική BRCA μετάλλαξη. 154 ασθενείς, που είχαν λάβει πρώτης γραμμής θεραπεία με βάση την πλατίνα για 16 εβδομάδες και δεν είχαν παρουσιάσει εξέλιξη της νόσου, τυχαίοποιήθηκαν να λάβουν θεραπεία συντήρησης με Olaparib ή placebo. Στο σκέλος του Olaparib φάνηκε όφελος

στο mPFS (7,4 μήνες έναντι 3,8; HR 0,53; P 0,004), με διπλάσιο ποσοστό ασθενών (22% έναντι 9.6%) χωρίς πρόοδο νόσου μετά από 2 έτη. Επίσης, η διάρκεια ανταπόκρισης ήταν μεγαλύτερη με το olaparib (24.9 μήνες έναντι 3.7), αλλά δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη συνολική επιβίωση (OS 18.9 έναντι 18.1 μήνες, p 0.91) και την αντικειμενική ανταπόκριση (ORR 23% έναντι 10%). Αναφορικά με την ασφάλεια των θεραπευτικών σχημάτων, στο σκέλος του Olaparib υπήρχαν περισσότερες σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες (40% έναντι 23%), με συχνότερες την αναιμία, την κόπωση και την ανορεξία, που όμως δε φαίνεται να επιδεινώνουν την ποιότητα ζωής των ασθενών (Golan *et al.*, 2019). Με βάση τη μελέτη αυτή έλαβε έγκριση από τις ρυθμιστικές αρχές των ΗΠΑ και συστήνεται για τους ασθενείς με γαμετική μετάλλαξη BRCA ή PALB2, που δεν έχουν εξέλιξη της νόσου μετά από 16 εβδομάδες πλατινούχας χημειοθεραπείας στην πρώτη γραμμή, η λήψη olaparib μέχρι πρόοδου νόσου (M. A. Tempero *et al.*, 2021).

Ανάλογο σχεδιασμό είχε μια μελέτη φάσης II (NCT03140670) με το rucaparib σαν θεραπεία συντήρησης σε ασθενείς με ΠΚ και BRCA1-2 ή PALB2 σωματική ή γαμετική μετάλλαξη μετά από πλατινούχα χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής. Στην ενδιάμεση ανάλυση των αποτελεσμάτων το rucaparib έδειξε αντικειμενική ανταπόκριση (ORR) 37% και PFS 9.1 μήνες (Reiss *et al.*, 2021).

Οι μελέτες μονοθεραπείας με το olaparib, το rucaparib και το veliparib μετά την πρώτη γραμμή θεραπείας έδειξαν μικρή δραστηριότητα σε HRD (Homologous recombination deficiency) ΠΚ και συγκεκριμένα σε ασθενείς με BRCA μετάλλαξη που δεν ήταν ανθεκτικοί στην πλατίνα.

Η μελέτη RUCAPANC εξέτασε το rucaparib σε ασθενείς με γαμετική ή σωματική BRCA μετάλλαξη που ήδη είχαν λάβει προηγούμενες θεραπείες. Η αντικειμενική ανταπόκριση ήταν 15,8% και το ποσοστό ελέγχου της νόσου για τουλάχιστον 3 μήνες ήταν 31,6% σε όλους τους ασθενείς και 44,4% σε όσους το έλαβαν σαν 2^η γραμμή θεραπείας. Ωστόσο, παρά το αποδεκτό προφίλ ασφάλειας, η μελέτη σταμάτησε, όπως οριζόταν από το πρωτόκολλο, λόγω ανεπαρκούς αντικειμενικής ανταπόκρισης στους πρώτους 15 ασθενείς (Shroff *et al.*, 2018). Τέλος, μια πολυκεντρική δοκιμή φάσης II ενός σκέλους στην οποία έγινε αξιολόγηση του ORR του veliparib σε ασθενείς με ΠΚ και μεταλλαγμένο BRCA1/2 ή PALB2 που είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία, έδειξε

όφελος σε ORR, mPFS (1,7 μήνες; 95% CI:1,57-1,83) και mOS (3,1 μήνες; 95% CI:1,9-4,1) (Lowery *et al.*, 2018).

Επιπλέον, ο PARP αναστολέας veliparib μελετήθηκε με διάφορους συνδυασμούς χημειοθεραπείας που χρησιμοποιούνται στον ΠΚ. Οι Pishvaian και οι συνεργάτες διεξήγαγαν μια δοκιμή φάσης I/II του veliparib με FOLFOX6 σε ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ με γαμετική ή σωματική μετάλλαξη DDR (Damage Response and Repair) (BRCA1/2, PALB2, ATM) και/ή οικογενειακό ιστορικό ύποπτο συνδρόμου καρκίνου μαστού - ωοθηκών. Η μελέτη φάσης II αποτελούνταν από μια κοόρτη ασθενών που δεν είχαν λάβει κάποια προηγούμενη θεραπεία και μια με ασθενείς με ανθεκτική νόσο. Ο συνδυασμός ήταν ασφαλής και καλά ανεκτός και επιτεύχθηκε το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης (ORR \geq 25%). Μάλιστα οι ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό και DDR μετάλλαξη, που δεν είχαν λάβει πλατίνα, είχαν καλύτερη ανταπόκριση (ORR 58%) (Pishvaian *et al.*, 2020). Το Veliparib αξιολογήθηκε επίσης σε συνδυασμό με FOLFIRI σαν θεραπεία δεύτερης γραμμής σε τυχαιοποιημένη δοκιμή φάσης II όπου αύξησε την τοξικότητα χωρίς να βελτιώσει το OS. Σχεδόν το 30% των ασθενών είχαν ανωμαλίες του μηχανισμού DDR, συμπεριλαμβανομένης της ανεπάρκειας ομόλογου ανασυνδυασμού (HRD) στο 9% (Chiorean *et al.*, 2021). Τέλος, ο συνδυασμός του veliparib με γεμισιταμβίνη και σισπλατίνη δεν έδειξε όφελος στο OS ή PFS (O'Reilly *et al.*, 2020).

Αρκετές μελέτες είναι σε εξέλιξη για πιο προχωρημένες γραμμές θεραπείας αλλά κανένας PARP αναστολέας ή συνδυασμός τους με χημειοθεραπεία δεν έχει λάβει ακόμη έγκριση από τον FDA μετά την πρώτη γραμμή θεραπείας (Javle *et al.*, 2021). Δεδομένης της περιορισμένης κλινικής εφαρμογής των PARP αναστολέων στον ΠΚ και γνωρίζοντας την ευαισθησία των ασθενών με HRD στα πλατινούχα σκευάσματα, στους ασθενείς με μεταστατικό ΚΠ και HRD έχει ένδειξη η χορήγηση χημειοθεραπευτικών σχημάτων με βάση την πλατίνα (γεμισιταμβίνη και σισπλατίνη ή FOLFORINOX ή FOLFOX) στην πρώτη και δεύτερη γραμμή θεραπείας (M. A. Tempero *et al.*, 2021).

4.2 MMR

Τα γονίδια επιδιόρθωσης MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, PMS1 και το PMS2, γνωστά ως γονίδια MMR (Mis-Match-Repair), έχουν σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση και επιδιόρθωση ζευγών αταίριαστων βάσεων καθώς και της προσθήκης ή απαλοιφής νουκλεοτιδίων στις μικροδορυφόρες περιοχές κατά το διπλασιασμό του DNA (Jiricny, 2013). Οι μικροδορυφόροι είναι απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (Simple Sequence Repeats; SSR) 1-6 νουκλεοτιδίων που συνήθως βρίσκονται σε μη κωδικές περιοχές και καλύπτουν περίπου το 3% του γενόματος (Cullis, 2002). Σε ασθενείς με ανεπάρκεια του συστήματος MMR (deficient Mis-Match-Repair; d MMR) είναι συχνή η προσθήκη ή απαλοιφή SSRs με αποτέλεσμα την αλλαγή του μήκους αυτών των ακολουθιών και τη δημιουργία της λεγόμενης μικροδορυφορικής αστάθειας (Micro Satellite Instability; MSI) (De La Chapelle and Hampel, 2010). Η MSI ανάλογα με την παρουσία αστάθειας στους δείκτες BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346 και D17S250, με βάση τα NCI (National Cancer Institute) κριτήρια, κατηγοριοποιείται σε υψηλή (MSI-High) όταν υπάρχει τουλάχιστον σε 2 δείκτες, χαμηλή (MSI-Low) όταν υπάρχει μόνο σε 1 και σταθερή (MSI-stable; MSS) όταν δεν υπάρχει αστάθεια (Boland *et al.*, 1998; Suraweera *et al.*, 2002). Η καθιερωμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της MSI περιλαμβάνει την φθορίζουσα multiplex PCR σε συνδυασμό με την τριχοειδική ηλεκτροφόρηση σε υγιή και καρκινικό ιστό του ασθενούς (Berg *et al.*, 2000). Πιο πρόσφατα έχει ανακαλυφθεί μια μέθοδος PCR χρησιμοποιώντας τους δείκτες BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 και MONO-27 στην οποία δεν είναι απαραίτητη η σύγκριση με τον υγιή ιστό (Patil *et al.*, 2012). Η ανοσοϊστοχημεία χρησιμοποιείται συμπληρωματικά και όταν υπάρχει απουσία έκφρασης έστω και μιας από τις πρωτεΐνες MLH1, MSH2, MSH6 και PMS2 θεωρείται ότι υπάρχει ανεπάρκεια του συστήματος MMR (dMMR). Πολλές φορές παρουσιάζεται MSI-H σε κωδικές περιοχές γονιδίων που σχετίζονται με ογκογένεση, και ακόμη μπορεί να δημιουργηθούν πεπτίδια που αναγνωρίζονται ως νέα από το ανοσοποιητικό σύστημα με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του (Woerner *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2019).

Η εντόπιση της απενεργοποιημένης λειτουργίας αυτού του συστήματος επιδιόρθωσης έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία καθώς μπορεί να σχετίζεται με την παθογένεση διαφόρων τύπου καρκίνων του πεπτικού και αποτελεί προγνωστικό και προβλεπτικό

δείκτη (Gkekas *et al.*, 2017; Guan *et al.*, 2021; Taieb *et al.*, 2019). Για παράδειγμα οι ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου σταδίου II και III με MSI-H έχουν καλύτερη πρόγνωση και δε χρήζουν χορήγησης φλουορο-ουρακίλης, ενός από τα βασικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα για τον πρώιμο καρκίνο, σαν συμπληρωματική θεραπεία μετά τη χειρουργική εξαίρεση του όγκου (Ribic *et al.*, 2003). Με βάση μια μελέτη φάσης 2 ήδη από το 2015 γνωρίζουμε το σημαντικό ρόλο της αναστολής του PD1 με πεμπρολιζουμάμπη σε όγκους MSI-H ή d MMR (Le *et al.*, 2015). Όλοι οι ασθενείς με dMMR που έλαβαν ανοσοθεραπεία είχαν καλύτερη ανταπόκριση (ORR 71%) σε σχέση με αυτούς τους ασθενείς όπου λειτουργούσε το σύστημα επιδιόρθωσης MMR (proficient Mis-Match-Repair; pMMR). Επίσης, οι ασθενείς με dMMR είχαν μεγαλύτερο φορτίο σωματικών μεταλλάξεων συγκριτικά με αυτούς με pMMR (p 0.007), γεγονός που συσχετίστηκε με καλύτερο PFS (p 0.02) με λήψη ανοσοθεραπείας (Le *et al.*, 2015)

Ειδικότερα για τον ΠΚ, σωματικές μεταλλάξεις αυτών των γονιδίων, με συχνότερες την MLH1 και το MSH2 (Humphris *et al.*, 2017), ανευρίσκονται στο 2-3% των περιπτώσεων (Ahmad-Nielsen *et al.*, 2020), και μπορεί να σχετίζονται με μια χαρακτηριστική μυελοειδή ιστολογική εικόνα και τον κυψελιδικό τύπο ΠΚ (Robb E. Wilentz *et al.*, 2000). Οι ασθενείς που έχουν MSI-H/ d MMR έχουν καλύτερη πρόγνωση αλλά οι περιπτώσεις αυτές είναι σπάνιες στον ΠΚ (Yamamoto *et al.*, 2001). Στη μελέτη φάσης II KEYNOTE-158, όπου συμμετείχαν 22 ασθενείς με ΠΚ d-MMR/MSI-H, ο αντί-PD1 αναστολέας πεμπρολιζουμάμπη έδειξε ORR στο 18% των ασθενών και μέση διάρκεια ανταπόκρισης 13.4 μήνες. Επομένως αποτελεί μια θεραπευτική επιλογή, και έχει λάβει έγκριση για πολλούς τύπους καρκίνου που εμφανίζουν MSI-H ή d MMR μετά από αποτυχία στις εγκεκριμένες θεραπείες, συμπεριλαμβανομένου και του ΠΚ.

4.3 ATM

Το γονίδιο ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 και κωδικοποιεί ένα μέλος της οικογένειας των PI3/PI4 κινασών με σημαντικό ρόλο στην επιδιόρθωση βλαβών DNA (Stracker *et al.*, 2013).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ -ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

Πέρα από το γενετικό έλεγχο του ιστού για την αναζήτηση σωματικών μεταλλάξεων που θα μπορούσαν να στοχευτούν θεραπευτικά, όλοι οι ασθενείς χρήζουν ταυτόχρονης και άμεσης διερεύνησης της γενετικής τους προδιάθεσης με γονιδιακό έλεγχο (M. A. Tempero *et al.*, 2021; Stoffel *et al.*, 2019).

Περίπου το 10% των ΠΚ αποδίδονται στην οικογενή μορφή, δηλαδή απαντώνται σε οικογένειες με τουλάχιστον 2 συγγενείς πρώτου βαθμού με ΠΚ, στην πλειοψηφία τους χωρίς γνωστή παθογόνο μετάλλαξη (Perkhofer *et al.*, 2021). Ο κίνδυνος ανάπτυξης ΠΚ για ένα άτομο που ανήκει σε μια τέτοια οικογένεια εξαρτάται από τον αριθμό των συγγενών με ΠΚ. Φαίνεται να είναι 4.6, 6.4 και μέχρι 32 φορές αυξημένος για όσους έχουν 1, 2, 3 ή παραπάνω 1^ο βαθμού συγγενείς αντίστοιχα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (Klein *et al.*, 2004).

Μελέτες GWAS έχουν εντοπίσει SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) που σχετίζονται με τον οικογενή ΠΚ. Κάποια από αυτά εντοπίζονται στο TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) γονίδιο, στο NR5A2 (Nuclear Receptor subfamily 5 group A member 2) και στον τόπο 9q34 που κωδικοποιεί για την ομάδα αίματος ABO (SNP rs505922) (Petersen *et al.*, 2010). Φαίνεται ότι όσοι ανήκουν στην ομάδα 0 έχουν μικρότερο κίνδυνο ΠΚ σε σχέση με τις ομάδες A και B (Amundadottir *et al.*, 2009). Αναφορικά με το γονίδιο NR5A2 είναι γνωστό ότι συμβάλλει στη ανάπτυξη του παγκρέατος και στον κυψελιδικό φαινότυπο μέσω της ρύθμισης του πυρηνικού παράγοντα Hnf1a (Hepatic nuclear factor 1a) (Flandez *et al.*, 2014). Οι πολυμορφισμοί του σχετίζονται με μειωμένα επίπεδα πρωτεϊνών NR5A2 και την ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος παγκρέατος πιθανά λόγω του ρόλου του στην επιδιόρθωση των βλαβών του παγκρέατος σε έδαφος παγκρεατίτιδας. Η διαστρωμάτωση των ασθενών με βάση την έκφραση της NR5A2 επιτρέπει τη διάκριση 2 ομάδων, με όσους ανήκουν στην ομάδα χαμηλής έκφρασης να έχουν μεγαλύτερη συχνότητα χρόνιας παγκρεατίτιδας και ΠΚ (Cobo *et al.*, 2018).

Περίπου στο 10-20% των ασθενών με οικογενή ΚΠ ανευρίσκεται μια γαμετική μετάλλαξη που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο. Κυρίως αφορά τα

γονίδια DDR (DNA Damage Repair), όπως το BRCA (BRCAst Cancer susceptibility), το PALB2 (Partner And Localizer of BRCA2), το ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated), τα MMR (DNA MisMatch Repair), αλλά και άλλα όπως το STK11 (Serine/Threonine Kinase 11) και το CDKN2A (Cyclin Dependent Kinase inhibitor 2A) (Zhen *et al.*, 2015).

Η γαμετική μετάλλαξη του γονιδίου BRCA2 οδηγεί στο σύνδρομο καρκίνου μαστού-ωοθηκών και σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου παγκρέατος (3,5-10 φορές) (Hu *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2022). Η κληρονομούμενη μετάλλαξη του γονιδίου BRCA2, που βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 13, ακολουθείται από σωματική μετάλλαξη του δεύτερου αλληλομόρφου, απενεργοποιώντας τελείως τη λειτουργία του (Zhen *et al.*, 2015). Μεγαλύτερο ποσοστό οικογενειών με πολλαπλά περιστατικά ΠΚ σχετίζεται με τη μετάλλαξη του BRCA2, ενώ λιγότερο σημαντικό ρόλο παίζουν οι μεταλλάξεις του BRCA1 (Li *et al.*, 2022).

Ακόμη, περίπου το 3% των περιπτώσεων οικογενούς ΠΚ σχετίζονται με το γονίδιο PALB2 (Yang *et al.*, 2020; Slater *et al.*, 2010) που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που συνδέεται με το BRCA2 (Xia *et al.*, 2006). Φαίνεται ότι αυξάνει τον κίνδυνο για ΠΚ 15 φορές (Hu *et al.*, 2018). Γαμετική μετάλλαξη ενός αλληλομόρφου του γονιδίου, που βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 16, σχετίζεται και με καρκίνο του μαστού, ενώ όταν αφορά και τα δύο αλληλόμορφα υπάρχει ισχυρή προδιάθεση για παιδικές κακοήθειες (Zhen *et al.*, 2015). Αποτελεί και αυτό, όπως τα BRCA1 και 2, μέλος του μονοπατιού αναιμίας Fanconi και πιθανά να μπορεί να στοχευτεί από τα ίδια φάρμακα (Villarroel *et al.*, 2011).

Επιπλέον, οι γαμετικές μεταλλάξεις των γονιδίων επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων DNA, όπως το MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, σχετίζονται με το σύνδρομο Lynch (Kastrinos *et al.*, 2009). Η αναγνώριση ύπαρξης μικροδορυφορικής αστάθειας στον παγκρεατικό καρκινικό ιστό υποδηλώνει την πιθανότητα συνύπαρξης γαμετικής μετάλλαξης και θα έπρεπε τα άτομα αυτά να υποβληθούν σε γονιδιακό έλεγχο για αποκλεισμό συνδρόμου Lynch ανεξάρτητα ηλικίας και οικογενειακού ιστορικού (Latham *et al.*, 2019; M. A. Tempero *et al.*, 2021).

Το STK11, που βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 19, είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο και κωδικοποιεί μια σερίνη θρεονίνη κινάση με ρόλο στην πολικότητα του κυττάρου (Jenne *et al.*, 1998). Τα άτομα με γαμετική μετάλλαξη αναπτύσσουν το σύνδρομο Peutz-Jeghers, που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα, και χαρακτηρίζεται από κακοήθειες του πεπτικού συστήματος, αμαρτωματώδεις πολύποδες και υπερχρωματικές κηλίδες γύρω από το στόμα (Jenne *et al.*, 1998). Συνήθως απαντάται σε πρόδρομες βλάβες IPMN (Sato *et al.*, 2001). Ο δια βίου κίνδυνος για καρκίνο του παγκρέατος είναι περίπου 36% (Giardiello *et al.*, 2000).

Επίσης, στο 3% των οικογενειών με οικογενή καρκίνο παγκρέατος διαπιστώνεται γαμετική μετάλλαξη ATM που οδηγεί στην νευροεκφυλιστική νόσο αταξία-τελαγγειεκτασία, και οι φορείς τους έχουν 25% δια βίου κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. (Hsu *et al.*, 2021). Ο κίνδυνος για τον ΠΚ αυξάνεται 8-9 φορές (Hu *et al.*, 2018). Όταν και τα δυο αλληλόμορφα είναι απενεργοποιημένα υπάρχει μεγαλύτερη ευαισθησία σε συγκεκριμένες θεραπείες (Choi *et al.*, 2016).

Τα γονίδια PRSS1 (Serine PRotease 1) και SPINK1 (Serine Peptidase Inhibitor Kazal type 1), που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 7 και 5 αντίστοιχα, έχουν συσχετισθεί με κληρονομική παγκρεατίτιδα και καρκίνο παγκρέατος. Κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή ή υπολειπόμενο τρόπο. Σχετίζονται με 25-40% κίνδυνο ανάπτυξης ΠΚ (Zhan *et al.*, 2018).

Τέλος, κληρονομούμενες μεταλλάξεις του γονιδίου CDKN2A εντάσσονται στο σύνδρομο FAMMM (Familial Atypical Multiple-mole Melanoma) με αύξηση του κινδύνου ΠΚ κατά 20-34 φορές καθώς και μελανώματος (Zhen *et al.*, 2015).

Λαμβάνοντας υπόψιν το θεραπευτικό όφελος των *parp* αναστολέων σε ασθενείς με BRCA2 γαμετική μετάλλαξη και της ανοσοθεραπείας σε ασθενή με σύνδρομο Lynch, καθώς και τη μερική διεισδυτικότητα κάποιων γονιδίων, το NCCN (National Comprehensive Cancer Network) και το ASCO (American Society of Clinical Oncology) συστήνουν σε όλους τους ασθενείς με μεταστατικό ΚΠ γονιδιακό έλεγχο ανεξάρτητα από το οικογενειακό τους ιστορικό (M. A. Tempero *et al.*, 2021; Zhan *et al.*, 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΑΛΛΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΠΑΓΚΡΕΑΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ

6.1 Το μικροπεριβάλλον του όγκου (TME) και ο ρόλος της ανοσοθεραπείας

Στον ΠΚ μόλις το 10%-20% του όγκου αντιπροσωπεύεται από επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα. Το υπόλοιπο αποτελείται από στρωματικά κύτταρα, όπως ινοβλάστες (CAF; Cancer Associated Fibroblasts), εξωκυττάρια ουσία (ECM: Extra Cellular Matrix) με κύριο συστατικό το υαλουρονικό οξύ (HA), ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Sahin *et al.*, 2016). Έχει φανεί ότι η αύξηση του υαλουρονικού οξέος σε συμπαγείς νεοπλασίες συσχετίζεται με κακή πρόγνωση και αντίσταση στη θεραπεία (Lai *et al.*, 2019; Huang and Brekken, 2019). Επιπρόσθετα, τα CAFs μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη, τη θεραπεία και την πρόγνωση του καρκίνου (Ligorio *et al.*, 2019). Διαχωρίζονται σε μυοϊνοβλάστες, με ρόλο στη σύσταση, τη μειωμένη αγγείωση και την υποξία του όγκου, και σε εκκριτικά CAFs που, ενεργοποιώντας τους μεταγραφικούς παράγοντες STAT1 και NF-κB, οδηγούν σε πιο επιθετικούς, ανοσοκατασταλτικούς και ανθεκτικούς στη χημειοθεραπεία όγκους (Erdogan and Webb, 2017; Awaji and Singh, 2019). Ηδη από τις βλάβες χαμηλού βαθμού δυσπλασίας παρατηρείται ένα προ-φλεγμονώδες ανοσοποιητικό περιβάλλον στον όγκο (Bernard *et al.*, 2019) και κατά την εξέλιξη του ΠΚ το TME μετατρέπεται σε ανοσοκατασταλτικό (Hegde *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022). Η λεγόμενη «διαφυγή της ανοσολογικής επιτήρησης», κατά την οποία τα καρκινικά κύτταρα διαφεύγουν της καταστροφής λόγω χαμηλής ανοσογονικότητας και ανοσοκατασταλτικού μικροπεριβάλλοντος συμμετέχει στην ογκογένεση (Hanahan and Weinberg, 2011). Το TME λοιπόν παίζει ρόλο στην ανάπτυξη, τη διήθηση του ΠΚ και την αντίσταση στη χημειοθεραπεία και πολλαπλά μόρια που το στοχεύουν δοκιμάζονται σε συνδυασμό με την καθιερωμένη χημειοθεραπεία (Van Mackelenbergh *et al.*, 2019; Lai *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2022).

Η πεγκυλιωμένη ανασυνδυασμένη ανθρώπινη υαλουρονιδάση (PEGPH20) διερευνήθηκε για πρώτη φορά σε ασθενείς με ΠΚ στη δοκιμή φάσης II HALO 202. Το PEGPH20 σε συνδυασμό με gemcitabine και nab-paclitaxel βελτίωσε το PFS μόνο σε ασθενείς με υψηλή έκφραση HA (Hingorani *et al.*, 2018). Μια μελέτη φάσης III, η

NCT02715804, που περιλαμβάνει μόνο ασθενείς με όγκους με υψηλή έκφραση HA, είναι σε εξέλιξη. Επιβλαβής αποδείχτηκε η δράση της PEGPH20 σε συνδυασμό με το άλλο εγκεκριμένο χημειοθεραπευτικό σχήμα το FOLFIRINOX σε ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ στη δοκιμή φάσης Ib/II SWOG S1313 (mOS: 14,4 μήνες σκέλος της χημειοθεραπείας έναντι 7,7 μήνες στο πειραματικό) (Ramanathan *et al.*, 2019).

Το ramrevlumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα (mAb) που στοχεύει τον αυξητικό παράγοντα του συνδετικού ιστού (CTGF), έδειξε ενθαρρυντικά προ-κλινικά αποτελέσματα (Neesse *et al.*, 2013; Bennewith *et al.*, 2009; Aikawa *et al.*, 2006). Η τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II του συνδυασμού gemcitabine και nab-paclitaxel με ή χωρίς ramrevlumab σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ΠΚ που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία, σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει τα ποσοστά εξαιρεσιμότητας και τη συνολική επιβίωση. Μεταξύ των ασθενών που ολοκλήρωσαν 6 κύκλους θεραπείας, το 71% στο ερευνητικό σκέλος και το 15% στο σκέλος ελέγχου είχαν εξαιρεσιμη νόσο ($p=0.0019$), ενώ το 33% και το 8%, αντίστοιχα, κατάφεραν τελικά να υποβληθούν σε χειρουργείο ($p=0.1193$) (Picozzi *et al.*, 2020). Η αντίστοιχη μελέτη φάσης III (NCT03941093) βρίσκεται σε εξέλιξη.

Η τυροσινική κινάση του Bruton, πέρα από το ρόλο της στις αιματολογικές κακοήθειες φαίνεται να έχει δράση στα μυελοειδή κύτταρα του TME νεοπλασιών συμπαγών όγκων. Ο αναστολέας Ibrutinib φαίνεται ότι εμποδίζει την εξέλιξη του όγκου σε μοντέλα ποντικού (Masso-Valles *et al.*, 2015; Hegde *et al.*, 2020). Επιπλέον, αποδείχθηκε πολύ αποτελεσματικός στον ΠΚ σε πειράματα με διαγονιδιακά ποντίκια και ξενομοσχεύματα που προέρχονται από ασθενείς (Gunderson *et al.*, 2016). Δυστυχώς όμως, η RESOLVE, μια τυχαιοποιημένη, μελέτη του συνδυασμού nab-paclitaxel και gemcitabine με ή χωρίς ibrutinib στη θεραπεία πρώτης γραμμής ασθενών με μεταστατικό ΠΚ δεν έδειξε βελτίωση στο OS ή στο PFS (M. Tempero *et al.*, 2021).

Όσον αφορά την ανοσοθεραπεία δεν έχει δείξει ικανοποιητικά αποτελέσματα στον ΠΚ καθώς το κύριο εμπόδιο της δράσης της είναι το ινώδες στρώμα, το οποίο αποτελεί φυσικό φραγμό για την είσοδο και διήθηση των λεμφοκυττάρων (Bednar and Pasca di Magliano, 2020). Επιπλέον, το φορτίο μεταλλάξεων του όγκου παρουσιάζει ισχυρή συσχέτιση με το ποσοστό αντικειμενικής ανταπόκρισης σε PD-1 αναστολείς. Ο ΠΚ με υψηλό φορτίο μεταλλάξεων, όπως συνήθως είναι οι όγκοι που παρουσιάζουν MSI-H, έχει καλύτερη ανταπόκριση σε αναστολείς PD-1 συγκριτικά με όγκους με χαμηλό

φορτίο μεταλλάξεων (Yarchoan *et al.*, 2017). Επομένως, οι δείκτες dMMR και το MSI-H είναι καλοί προγνωστικοί παράγοντες της αποτελεσματικότητας των αναστολέων PD-1 ή PD-L1 (Le *et al.*, 2017), όμως η κλινική αξία της χορήγησης τους στον ΠΚ είναι περιορισμένη καθώς μόλις το 1% των ασθενών με ΠΚ εμφανίζουν dMMR/MSI-H.

Σε κλινικές δοκιμές, ούτε ο αναστολέας του CTLA4 (Cytotoxic T Lymphocyte Associated protein 4) ipilimumab, ούτε ο αναστολέας του PD1 nivolumab βελτίωσαν την αντικειμενική ανταπόκριση (ORR) (Royal *et al.*, 2010) (Brahmer *et al.*, 2012). Ωστόσο, ένας άλλος αναστολέας του PD1, το pembrolizumab, έδειξε όφελος σε ασθενείς με MSI-H ΠΚ (Le *et al.*, 2017). Στη δοκιμή φάσης II KEYNOTE-158 το pembrolizumab έδωσε σε ασθενείς στην υποομάδα με MSI-H/dMMR ένα ποσοστό ORR 18,2% (95% CI 5,2–40,3%) (Marabelle *et al.*, 2020). Η αποτελεσματικότητα των αντι-CTLA4 και αντι-PD-1 αναστολέων διερευνάται επί του παρόντος σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία σε κλινικές δοκιμές (Wainberg *et al.*, 2020; Kamath *et al.*, 2020). Η τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II PRINCE έδειξε ότι ο συνδυασμός nivolumab με χημειοθεραπεία υπερέιχε στην συνολική επιβίωση του συνδυασμού sotigalimab (αγωνιστής CD40) με nivolumab και χημειοθεραπεία και του συνδυασμού sotigalimab με χημειοθεραπεία σαν θεραπεία 1^{ης} γραμμής σε ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ (Padrón *et al.*, 2022).

Ενδιαφέροντα είναι τ' αποτελέσματα από τον συνδυασμό της ανοσοθεραπείας, όπως το ipilimumab, με εμβόλια, όπως το GVAX, που αποτελείται από ακτινοβολημένα, γενετικά τροποποιημένα, αλλογενή κύτταρα ΠΚ, που ενεργοποιούν δενδριτικά και Τ κύτταρα, σε ασθενείς που ήδη έχουν λάβει προηγουμένως χημειοθεραπεία (Le *et al.*, 2013).

Επίσης, μελετήθηκε ο αναστολέας του CCR2 (C-C chemokine receptor type 2), PF-04136309 που σχετίζεται με την ανοσοκαταστολή του TME σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία (J. Xu *et al.*, 2022). Μια δοκιμή φάσης Ib του αναστολέα με FOLFIRINOX σε ασθενείς με οριακά-εγχειρήσιμο ή τοπικά εκτεταμένο ΠΚ, έδειξε ORR 49% (Nywening *et al.*, 2016) αλλά η δοκιμή που αξιολόγησε τον PF-04136309 σε συνδυασμό με gemcitabine και nab-paclitaxel σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο ανέδειξε θέματα πνευμονικής τοξικότητας χωρίς όφελος (Noel *et al.*, 2020).

Τα CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T cells) αποτελούν ένα είδος ανοσοθεραπείας με γενετικά τροποποιημένα T λεμφοκύτταρα που έχει κλινική εφαρμογή στις αιματολογικές κακοήθειες (Kochenderfer *et al.*, 2015) και είναι ένα εξελισσόμενο αντικείμενο έρευνας στις συμπαγείς κακοήθειες (Zhao *et al.*, 2022; Jogalekar *et al.*, 2022; Schaft, 2020). Το αυτόλογα T κύτταρα των ασθενών απομονώνονται και επαναπρογραμματίζονται να στοχεύουν με ακρίβεια αντιγόνα που εκφράζονται ειδικά από καρκινικά κύτταρα (Ali *et al.*, 2019). Το CD133 είναι ένας δείκτης καρκινικών βλαστοκυττάρων (CSC), η υψηλή έκφραση του οποίου σε διάφορους τύπους όγκων, όπως τον ΠΚ, είναι αρνητικός προγνωστικός δείκτης καθώς σχετίζεται με αυξημένη μεταστατική ικανότητα (Nimmakayala *et al.*, 2021). Η έκφραση του στα καρκινικά κύτταρα ρυθμίζεται από το p53, το NOTCH, το HIF και το STAT3 (Liou *et al.*, 2019). Είναι εκείνο το αντιγόνο της κυτταρικής επιφάνειας των CSCs που πιο συχνά χρησιμοποιείται για να εντοπιστούν και απομονωθούν τα CSCs ενός όγκου. Μια δοκιμή φάσης I (NCT02541370) επιβεβαίωσε την ασφάλεια του CAR-T-133 σε ασθενείς με προχωρημένο παγκρεατικό, ηπατοκυτταρικό και κολο-ορθικό καρκίνο. 3 από τους 23 ασθενείς παρουσίασαν μερική ανταπόκριση και 14 σταθεροποίηση της νόσου (Y. Wang *et al.*, 2018). Άλλα καρκινικά-αντιγόνα στόχοι που έχουν μελετηθεί για την ανάπτυξη ΠΚ είναι η διαμεμβρανική πρωτεΐνη MUC1 (Mucin 1) που, ενώ έχει προστατευτικό ρόλο στο κύτταρο υπό φυσιολογικές συνθήκες, υπερεκφράζεται σε αδενοκαρκινώματα, όπως του παγκρέατος, και σηματοδοτεί μονοπάτια που οδηγούν σε αύξηση του όγκου και μεταστάσεις (W. Chen *et al.*, 2021). CAR-T έναντι της MUC1 φαίνεται ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη του ΠΚ σε κυτταρικές σειρές και ξενομοσχεύματα σε μοντέλα ποντικών (Posey *et al.*, 2016). Επιπλέον, το CEA (CarcinoEmbryonic Antigen) είναι ένας άλλος δυνητικός στόχος των CAR-T. Ο συνδυασμός των CEA-CAR-T με rhIL-12 (recombinant human Interleukin 12) *in vitro* και *in vivo* αποδείχθηκε αποτελεσματικός (Chi *et al.*, 2019), και μια μελέτη φάσης II/III (NCT04037241) είναι σε εξέλιξη. Η μεσοθηλίνη (MSLN) είναι μια πρωτεΐνη που εκφράζεται στα φυσιολογικά μεσοθηλιακά κύτταρα αλλά υπερεκφράζεται σε διάφορα νεοπλάσματα όπως το μεσοθηλίωμα, τον καρκίνο ωοθηκών και τον ΠΚ. Επίσης, τα CAR-T έναντι της μεσοθηλίνης, ήταν ασφαλή στη δοκιμή (NCT02159716) φάσης I (Haas *et al.*, 2019). Άλλοι στόχοι που επιβεβαιώθηκαν ως ασφαλείς σε μελέτες φάσεις I ήταν το HER2/ERBB2 (NCT01935843) (Feng *et al.*, 2018), και το EGFR (NCT01869166) (Liu *et al.*, 2020). Τα chPD1 (chimeric Programmed Death 1)- T κύτταρα στοχεύουν το PD-1, και μια προκλινική μελέτη έδειξε καλές ανταποκρίσεις

σε πολλαπλά μοντέλα συμπαγών όγκων (Parriott *et al.*, 2020). Επίσης, σε ξενομοσχεύματα έχει δειχθεί η αποτελεσματικότητα του CAR-T έναντι της ανοσορρυθμιστικής πρωτεΐνης B7-H3 (B7 Homolog 3), που έχει περιορισμένη έκφραση στα φυσιολογικά κύτταρα, αλλά υπερεκφράζεται στις κυτταρικές επιφάνειες παγκρεατικών καρκινικών κυττάρων (Du *et al.*, 2019). Επιπρόσθετα, πειράματα με CAR-T που στοχεύουν το μεταλλαγμένο KRAS G12D έδειξαν ότι η απώλεια της ετεροζυγωτίας στο HLA (Human Leucocyte Antigen) μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας (Tran *et al.*, 2016) και μια δοκιμή φάσης II (NCT01174121) είναι σε εξέλιξη.

Ένα μηχανισμό στοχευμένης καταστροφής του όγκου από T λεμφοκύτταρα, μέσω ταυτόχρονης δέσμευσης όγκο-ειδικών αντιγόνων και του επιτόπου CD3 των T κυττάρων, σχηματίζοντας έτσι μια ανοσολογική σύναψη, αποτελούν τα BiTEs (Bispecific T cell Engager; BiTE) (Cioffi *et al.*, 2012). Ένα αρχικά υποσχόμενο μόριο, το solitomab (MT110), συνδέει το EpCAM (Epithelial Cellular Adhesion Molecule), που εκφράζεται στα φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα και στα κύτταρα νεοπλασιών του πεπτικού συστήματος, με το CD3 και ανακατευθύνει τα T κύτταρα επιλεκτικά να σκοτώνουν τα κύτταρα ΠΚ (Cioffi *et al.*, 2012). Τελικά όμως σε μια δοκιμή φάσης I είχε ανεπιθύμητες ενέργειες που δεν επέτρεψαν μια δόση κλιμάκωσης σε θεραπευτικά επίπεδα (Kebenko *et al.*, 2018).

Όπως και σε άλλα νεοπλάσματα, έτσι και στον ΠΚ μελετώνται τα ADCs (Antibody Drug Conjugates), που συνδυάζουν μονοκλωνικά αντισώματα έναντι όγκο-ειδικών αντιγόνων με κυτταροτοξικούς παράγοντες, κυρίως μικροσωληνίσκους, στοχεύοντας με ακρίβεια τα καρκινικά κύτταρα. Το glypican-1 (GPC1) που υπερεκφράζεται στους συμπαγείς όγκους, συμπεριλαμβανομένου του ΠΚ, φαίνεται να είναι ένας ελκυστικός στόχος. Συζευγμένο με μονομεθύλιο αουριστατίνη (MMA) αναστέλλει σημαντικά την ανάπτυξη ξενομοσχευμάτων που προέρχονται από ασθενείς με ΠΚ (Munekage *et al.*, 2021; Nishigaki *et al.*, 2020). Το anetumab ravtansine, ένα αντίσωμα έναντι της μεσοθηλίνης συζευγμένο με τουμπουλίνη DM4 αποδείχθηκε ασφαλές σε μια δοκιμή φάσης I που περιελάμβανε και ασθενείς με ΠΚ και χρήζει μελλοντικής έρευνας (Hassan *et al.*, 2020). Το DS-8201a (trastuzumab deruxtecan), όπου έχει συζευχθεί ένας αναστολέα της τοποϊσομεράσης I, το deruxtecan, με το γνωστό αντισώματα έναντι του HER-2, το trastuzumab, έχει πολύ καλά αποτελέσματα στον καρκίνο του μαστού και

δοκιμάζεται και σε άλλες νεοπλασίες όπως τον ΠΚ (H. Xu *et al.*, 2022). Επίσης υπό μελέτη είναι ένα άλλο ADC, το Tusamitamab ravtansine (SAR408701), που αποτελείται από το εξανθρωποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CEACAM5 (CarcinoEmbryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule 5) συζευγμένο μεDM4 (maytansinoid) (Gazzah *et al.*, 2022)

6.2 Επιγενετικές αλλαγές

Οι επιγενετικές αλλαγές, όπως η ακετυλίωση ιστόνων χρωματίνης και η μεθυλίωση του DNA, μπορούν να οδηγήσουν σε έκφραση πρωτο-ογκογονιδίων και μεταγραφικών παραγόντων και σε αποσιώπηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων (Neureiter *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2021). Οι αποακετυλιωτές ιστόνων (HDAC) και αναστολείς μεθυλοτρανσφερασών του DNA έχουν δείξει ενθαρρυντικά προ-κλινικά αποτελέσματα στον ΠΚ και βρίσκονται σε πρώιμα στάδια κλινικής ανάπτυξης (Thomas, 2015; Xiang *et al.*, 2022). Ο συνδυασμός τους με καθιερωμένα κυτταροτοξικά φάρμακα ή στοχεύουσες θεραπείες είναι μια υποσχόμενη προσέγγιση για τους ασθενείς με ΠΚ (Ganji and Farran, 2022).

Οι αναστολείς των BET (Bromodomain and Extra-Terminal) έχουν δείξει αποτελεσματικότητα έναντι αιματολογικών και συμπαγών κακοηθειών (Filippakopoulos *et al.*, 2010; Filippakopoulos and Knapp, 2014). Οι BET είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών 'ανάγνωσης του επιγονιδιώματος που περιλαμβάνουν τις BRD2, BRD3, BRD4 και BRDT (Taniguchi, 2016). Συνδέονται με ακετυλιωμένες ιστόνες και ρυθμίζουν μεταγραφικούς παράγοντες όπως το MYC, και την έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στην καρκινογένεση (Yang *et al.*, 2005; Jain and Barton, 2017). Η BRD4 παίζει κύριο ρόλο στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου (Yang *et al.*, 2008) Οι αναστολείς των BET διακόπτουν τη σύνδεση των BET με τη χρωματίνη στη θέση της ακετυλιωμένης λυσίνης και καταστέλλουν τη μεταγραφή γονιδίων συμπεριλαμβανομένων ογκογόνων μεταγραφικών παραγόντων (Filippakopoulos and Knapp, 2014). Στο αδenoκαρκίνωμα παγκρέατος ο αναστολέας των BET, JQ1, μείωσε το δεσμοπλαστικό στρώμα και κατέστειλε την ανάπτυξη ξενομοσχευμάτων όγκου που προέρχονται από ασθενείς (Patient Derived Xenografts; PDX) (Garcia *et al.*, 2016).

Συγκεκριμένα, το JQ1 ανέστειλε τις οδούς Hedgehog και TGF- β , ρυθμιστές της ενεργοποίησης των CAFs καθώς και τα συστατικά τους (Yamamoto *et al.*, 2016).

In vivo ο συνδυασμός του JQ1 με γεμισιταμβίνη είχε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα συγκριτικά με τη γεμισιταμβίνη, ένα βασικό χημειοθεραπευτικό φάρμακο στον ΠΚ (Ganji and Farran, 2022).

Συνδυασμένη αναστολή BET, όπως ο JQ1, και από-ακετυλασών ιστόνων όπως ο SAHA, είχε συνεργική δράση στη μείωση της βιωσιμότητας των καρκινικών παγκρεατικών κυττάρων (Mazur *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2020).

Επίσης, δοκιμές in vitro και in vivo έχουν επιβεβαιώσει ότι ένας αναστολέας μεθυλ-τρανσφεράσης EZH2 (Enhancer of Zeste 2 Polycomb Repressive Complex 2 subunit), ο GSK126, αντιπροσωπεύει έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο για όγκους που φέρουν μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν τροποποιητές ιστόνων όπως ο MLL3 (L. Wang *et al.*, 2018).

6.3 Έκφραση microRNAs

Τα microRNAs είναι μικρές μη κωδικοποιούσες αλληλουχίες RNA που ρυθμίζουν την έκφραση άλλων γονιδίων. Κάποια από αυτά, όπως το Mir 155M εκφράζονται διαφορετικά στον ΠΚ και τις πρόδρομες μορφές του (Ryu *et al.*, 2010) και θα μπορούσαν να αποτελέσουν διαγνωστικό εργαλείο (Xue *et al.*, 2013) και κάποια άλλα όπως το Mir 21 προσδίδουν στα κύτταρα ιδιότητες καρκινικών βλαστικών κυττάρων (Mortoglou *et al.*, 2022).

6.4 Αυτοφαγία

Η αυτοφαγία, είναι μια εξελικτικά συντηρημένη διαδικασία που προκαλείται από την εξάντληση των θρεπτικών συστατικών ή το στρες των κυττάρων, αποδίδοντας νέους μεταβολίτες για να τροφοδοτήσουν μεταβολικές και ενεργειακές οδούς. Τμήμα του κυτταροπλάσματος εισέρχεται σε κυστίδια, τα οποία συντήκονται με λυσοσώματα, με επακόλουθη αποικοδόμηση και ανακύκλωση οργανιδίων και συστατικών των κυττάρων (He *et al.*, 2018).

Ο ρόλος της αυτοφαγίας στον καρκίνο είναι πολύπλοκος και εν μέρει μόνο κατανοητός. Υψηλός βασικός ρυθμός αυτοφαγίας έχει περιγραφεί σε αρκετές ανθρώπινες κυτταρικές σειρές ΠΚ (Yang *et al.*, 2011). Η αυτοφαγία αυξάνεται στην ενδοπορική νεοπλασία (PanIN) και στον ΠΚ (Yang and Kimmelman, 2011; Yang *et al.*, 2011). Θεωρείται ένας μηχανισμός διατήρησης υψηλών μεταβολικών επιπέδων βοηθώντας τα κύτταρα ν' αντιμετωπίσουν το στρες που δημιουργείται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και συνθήκες, όπως η μειωμένη παροχή θρεπτικών συστατικών και η υποξία. Τελικά τα επίπεδα αυτοφαγίας ρυθμίζονται από το θρεπτικό και ενεργειακό ισοζύγιο (White, 2015; Alderton, 2015).

Ο Bardeesy και οι συνάδελφοι του έχουν προτείνει ένα μεταγραφικό πρόγραμμα που οδηγεί στην αυξημένη έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην αυτοφαγία και θα μπορούσε να εφαρμοστεί στον ΠΚ. Η λειτουργία του λυσοσωμάτος καθοδηγείται από την αυξημένη έκφραση μεταγραφικών παραγόντων όπως του MiTF (Microphthalmia Transcription Factor), του TFE3 (Transcription Factor binding to IGHM Enhancer 3) και του TFEB (Transcription Factor EB) και εμφανίζεται με τρόπο ανεξάρτητο από τα θρεπτικά συστατικά σ' αυτά τα κύτταρα ΠΚ (Perera *et al.*, 2015).

Μια μελέτη φάσης II έχει εξετάσει τη δράση της υδροξυγλωροκίνης, αναστολέα της αυτοφαγίας, σε 20 ασθενείς με μεταστατικό ΠΚ που έχουν λάβει προηγούμενη θεραπεία. Τα επίπεδα του δείκτη αυτοφαγίας LC3-II (Light Chain 3) στα περιφερικά λεμφοκύτταρα αξιολογήθηκαν ως φαρμακοδυναμικός δείκτης αναστολής αυτοφαγίας αλλά δεν παρατηρήθηκε σημαντική ανταπόκριση ή όφελος στο PFS (Wolpin *et al.*, 2014).

Καθώς η αυτοφαγία πιστεύεται ότι είναι ένας μηχανισμός αντίστασης στην κυτταροτοξική χημειοθεραπεία (Li *et al.*, 2017), διεξάχθηκαν μελέτες που συνδυάζουν γλωροκίνη ή υδροξυγλωροκίνη με χημειοθεραπεία. Σε μια τυχαίοποιημένη δοκιμή φάσης II συγκρίθηκε η gemcitabine και nab-paclitaxel, ένα από τα τρέχοντα σχήματα χημειοθεραπείας για προχωρημένο καρκίνο του παγκρέατος στην πρώτη γραμμή, με ή χωρίς υδροξυγλωροκίνη σε 112 ασθενείς. Η μελέτη δεν έδειξε βελτίωση της συνολικής επιβίωσης στους 12 μήνες ούτε του PFS, αλλά υπήρχε αύξηση στην αντικειμενική ανταπόκριση (από 21% σε 38%, $P=0,047$). Οι ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως οπτικές αλλαγές και νευροψυχιατρικά συμπτώματα, κρίθηκαν διαχειρίσιμες. Η αποτελεσματικότητα της υδροξυγλωροκίνης ήταν ανεξάρτητη των μεταλλάξεων του

όγκου (Karasic *et al.*, 2019). Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, μελετήθηκε η υδροξυχλωροκίνη σε συνδυασμό με προ-εγχειρητική χημειοθεραπεία, με στόχο την πλήρη εξαιρεσιμότητα και κατ' επέκταση τη βελτίωση της πρόγνωσης (Boone *et al.*, 2015; AlMasri *et al.*, 2021). Στη μελέτη NCT01978184 που διερευνά την προσθήκη υδροξυχλωροκίνης στην προ-εγχειρητική χορήγηση gemcitabine και nab-paclitaxel υπήρχε αύξηση του ποσοστού παθολογικής ανταπόκρισης (Fei *et al.*, 2021).

Πολλές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ αυξημένης σηματοδότησης ERK/MAPK και αυτοφαγίας (Papademetrio *et al.*, 2016). Αναστολή του ERK/MAPK μονοπατιού σηματοδοτεί αυξημένη ευαισθησία στην αναστολή της αυτοφαγίας (Perera *et al.*, 2015; Bryant *et al.*, 2019). Κλινικές δοκιμές εξετάζουν διάφορους αναστολείς του ERK/MAPK μονοπατιού σε συνδυασμό με υδροξυχλωροκίνη (NCT04145297; NCT03825289; NCT04132505). Η αναστολή ERK/MAPK ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση 5' (AMPK), η οποία μπορεί να προάγει την αυτοφαγία (Settembre *et al.*, 2011). Στον ΠΚ που η ενεργοποιητική μετάλλαξη του KRAS, και κατ' επέκταση της οδού ERK/MAPK είναι σχεδόν σταθερή, η συντόχευση της οδού ERK/MAPK και της αυτοφαγίας δρα συνεργικά σε KRAS-μεταλλαγμένους καρκίνους, αποτελώντας μια πιθανή νέα θεραπευτική προσέγγιση. Τέλος για την καταστολή του μονοπατιού PI3K/AKT/mTOR, συνδυάστηκαν οι αναστολείς mTOR με χλωροκίνη ή υδροξυχλωροκίνη σε ασθενείς με ΠΚ (Rangwala *et al.*, 2014).

6.5 Καρκινικά βλαστικά κύτταρα

Τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) αποτελούν ένα μικρό υποπληθυσμό του όγκου αλλά είναι ζωτικής σημασίας για την έναρξη της ογκογένεσης, την εξέλιξη της και την αντίσταση στη θεραπεία. Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα CSCs γίνονται ανθεκτικά στα φάρμακα είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστοι.

Τα παγκρεατικά CSCs παρουσιάζουν κυτταρικούς επιφανειακούς δείκτες, όπως CD24, CD44, CD133, ALDH1, ESA, c-Met, CXCR4 (Hou *et al.*, 2019). Έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα, όπως την ικανότητα αυτό-ανανέωσης, που ρυθμίζεται από τα μονοπάτια Wnt/ β -κατενίνη, sHh (sonic Hedgehog) και Notch, και την αδράνεια (G0) που τα προστατεύει από την κυτταροτοξική δράση

των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων και πιθανά σχετίζεται με την όψιμη υποτροπή μετά από θεραπεία. Έχοντας κοινούς οδούς σηματοδότησης, όπως τις Wnt/ β -κατενίνη και Notch, η μεταστατική ικανότητα των CSCs πιθανά σχετίζεται με την EMT, κατά τη διάρκεια της οποίας τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν τους επιθηλιακούς δείκτες (claudin, E-cadherin, occludin και laminin-1) και αποκτούν μεσεγχυματικούς (vimentin, fibronectin, N-cadherin) (Lai *et al.*, 2019).

Το όφελος του parabucasin ενός παράγοντα που στοχεύει τον STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) μεταγραφικό παράγοντα του μονοπατιού JAK-STAT δεν αποδείχθηκε αποτελεσματικό σύμφωνα με τη μελέτη φάσης III CanStem111P, όπου οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν το συνδυασμό gemcitabine και nab-paclitaxel με ή χωρίς parabucasin σαν 1^η γραμμή θεραπείας (Sonbol *et al.*, 2019).

Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί παράγοντες που στοχεύουν την οδό NOTCH, όπως το demcizumab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του συνδέτη των υποδοχέων NOTCH DLL4 (Delta Like protein 4) που έχει δείξει σε προκλινικές μελέτες και αντι-αγγειογενετική δράση. Στη μελέτη φάσης 2 YOSEMITE δεν έδειξε όφελος σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία στην 1^η γραμμή θεραπείας του ΠΚ, ενώ αποδείχθηκε καλά ανεκτό (Fan *et al.*, 2020). Επίσης, η ταρεξτουμάμπη, ένας αναστολέας των υποδοχέων Notch 2/3 (Hu *et al.*, 2019) και οι δυο αναστολείς γάμμα εκκριτασών, ο RO4929097 (De Jesus-Acosta *et al.*, 2014) και ο MK-0752 (Cook *et al.*, 2018) δεν έδειξαν καλά αποτελέσματα στον ΠΚ.

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Hedgehog (Hh) έχει σημαντικό ρόλο στην οργανογένεση, συνήθως σταματά μετά την εμβρυογένεση, αλλά ενεργοποιείται σε κάποιους καρκίνους (Van Mackelenbergh *et al.*, 2019). Δυο αναστολείς της Smoothened διαμεμβρανικής πρωτεΐνης (Smo), που είναι υποδοχέας των πρωτεϊνών hedgehog, το vismodegib, ο πρώτος αναστολέας που έλαβε έγκριση για χορήγηση στο βασικοκυτταρικό καρκίνωμα δέρματος, και ο IPI-926, δεν έδειξαν όφελος σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία στο μεταστατικό ΠΚ (Ko, LoConte, *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2019).

Τέλος, τα CSCs εκφράζουν υψηλά επίπεδα ανασταλτικών μορίων, όπως του PD-L1 και χαμηλά επίπεδα ενεργοποιητικών μορίων των T λεμφοκυττάρων (Hou *et al.*, 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΥΖΗΤΗΣΗ: ΤΟ ΠΑΡΟΝ ΚΑΙ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΠΚ

Οι ερευνητικές προσπάθειες για αυτή την κακοήθεια με την πτωχή πρόγνωση και τις περιορισμένες θεραπευτικές επιλογές συνεχίζονται, ευελπιστώντας ότι στοχεύουσες και συνδυαστικές θεραπείες θα μπορούσαν να βελτιώσουν την επιβίωση [εικόνα10; Lai *et al.*, 2019]. Το ογκογονίδιο KRAS είναι ένας δυνητικός στόχος στον ΠΚ (Santana-Codina *et al.*, 2018; Luo, 2021). Τα τελευταία χρόνια έχει δειχθεί από μελέτες ότι η θέση S11P πλησίον της κυστεΐνης στο KRAS G12C, μπορεί να τροποποιηθεί από ενώσεις όπως το sotorasib (JM *et al.*, 2016), το MRTX849 (Ou *et al.*, 2022; Fell *et al.*, 2020) και το ARS853 (Patricelli *et al.*, 2016). Στην παρούσα φάση το sotorasib είναι κλινικά διαθέσιμο για χορήγηση μόνο σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα που φέρουν KRAS G12C μετάλλαξη, με βάση τη μελέτη Code Break 100, αλλά για τον ΠΚ, όπου η συγκεκριμένη μετάλλαξη αφορά μόνο το 1-2% των περιπτώσεων, δεν έχει εγκριθεί από τις ρυθμιστικές αρχές (Skoulidis *et al.*, 2021). Αρκετοί άλλοι αναστολείς είναι υπό μελέτη (Kwan *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2021; Turpin *et al.*, 2022; Dunnett-Kane *et al.*, 2021). Τα μόρια EGFR, MEK, ERK, PI3K, AKT και τα μονοπάτια που σχετίζονται με το KRAS αποτελούν επίσης σημαντικό σημείο έρευνας (Collisson *et al.*, 2012; Downward, 2003; Navas *et al.*, 2012; Conway *et al.*, 2019).

Με εξαίρεση το erlotinib, όλοι οι αναστολείς EGFR απέτυχαν σε κλινικές δοκιμές, γεγονός που δείχνει την παρουσία υποκείμενων μηχανισμών αντίστασης στον ΠΚ (Sinn *et al.*, 2017; Moore *et al.*, 2007; Schultheis *et al.*, 2017; Philip *et al.*, 2010; Middleton *et al.*, 2017). Δοκιμές με στόχο την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των αναστολέων pan-ERBB, όπως το afatinib, βρίσκονται σε εξέλιξη (Jacobsen *et al.*, 2015). Μια ελκυστική θεραπευτική επιλογή θα μπορούσε να είναι η στόχευση του IGFR1, που αλληλοεπιδρά με τον EGFR και πιθανά συμβάλλει στην αντίσταση στους αναστολείς του, όμως μόνο το dalotuzumab έχει δείξει έως τώρα όφελος σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία (Abdel-Wahab *et al.*, 2018). Επομένως ο συνδυασμός των αναστολέων EGFR με φάρμακα που στοχεύουν πολλαπλά μόρια μπορεί να είναι μια πιο αποτελεσματική προσέγγιση (Du *et al.*, 2018). Ούτε η μονοθεραπεία με αναστολείς MEK, όπως το selumetinib (Bodoky *et al.*, 2012) και το trametinib (Infante *et al.*, 2014), βελτίωσε την πρόγνωση των ασθενών με ΠΚ. Η ταυτόχρονη στόχευση του

MEK και μορίων που άρουν την αντίσταση στους MEK αναστολείς όπως ο συνδυασμός του SHP099, ενός αναστολέα της SHP2, με το trametinib μπορεί να είναι μια μελλοντική θεραπευτική επιλογή στον KRAS μεταλλαγμένο ΠΚ (Sulahian *et al.*, 2019; Jones *et al.*, 2019; Torres-Ayuso and Brognard, 2018). Εκτεταμένη έρευνα έχει γίνει με το συνδυασμό MEK και CDK4/6 αναστολέων που έδειξε ότι οι πρώτοι επιτρέπουν τη δράση των CDK4/6 αναστολέων αφού μειώνουν την πλαστικότητα του κυτταρικού κύκλου και προκαλείται ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων εντός του όγκου. Ακόμη, ο συνδυασμός MEK και AKT αναστολέων φαίνεται να έχει συνεργική δράση στον ΠΚ και πιθανά να είχε ένδειξη η μελέτη τους στα πλαίσια κλινικών δοκιμών (Collisson *et al.*, 2012).

Οι μελέτες με μονοθεραπείες που περιλαμβάνουν αναστολείς μορίων του μονοπατιού PI3K-AKT-mTOR (O'Neil *et al.*, 2015; Wolpin *et al.*, 2009) αλλά και συνδυαστικές θεραπείες αναστολέων της PI3K, όπως του MK-2206 με το selumetinib (Chung *et al.*, 2017) και του GDC-0941 με τον αναστολέα ERK ulixertinib (Jiang *et al.*, 2018) δεν έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Οι συντήξεις γονιδίων, όπως το NRG1 και το NTRK, είναι σπάνιες αλλά έχουν σημαντική ογκογόνο δράση στον ΠΚ χωρίς μεταλλάξεις στο KRAS. Η έκτοπη σηματοδότηση του ERBB (Heining *et al.*, 2018; Laskin *et al.*, 2020; Schram *et al.*, 2022) και οι υπερ-ενεργοποιημένες χμιαϊκές πρωτεΐνες TRKs (Cocco *et al.*, 2018) αντίστοιχα αντιπροσωπεύουν πιθανούς θεραπευτικούς στόχους. Πλέον οι εκλεκτικοί αναστολείς TRKs larotrectinib (Hong *et al.*, 2019) και entrectinib (Doebele *et al.*, 2020) συστήνονται από την ASCO σαν 2^η γραμμή θεραπείας σε όγκους που φέρουν NTRK σύντηξη γονιδίων (Sohal *et al.*, 2020). Δυστυχώς όμως έχει ήδη αποδειχτεί ότι αναπτύσσονται μηχανισμοί αντίστασης και δοκιμάζονται νέα μόρια (Drilon, 2019).

Απενεργοποιητικές μεταλλάξεις στα ογκοκατασταλτικά γονίδια, κυρίως TP53, SMAD4 και CDKN2A, συμβάλλουν επίσης στην ογκογένεση του ΠΚ και εμφανίζονται ήδη από τις πρόδρομες βλάβες (Fischer and Wood, 2018; Kanda *et al.*, 2012). Έχουν σχεδιαστεί παράγοντες για την επανενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων ή των μορίων που σχετίζονται έμμεσα με τα γονίδια στόχους, όπως το MDM2 για το p53 (W. Wang *et al.*, 2018; Vassilev *et al.*, 2004), το TGF-β για το SMAD4 (Shi *et al.*, 1997; Shi *et al.*, 2019) και το CDK4/6 για το CDKN2A (Knudsen and Witkiewicz, 2017; Al Baghdadi *et al.*, 2019). Με βάση θετικά

προκλινικά αποτελέσματα, κλινικές μελέτες με CDK4/6 αναστολείς είναι σ' εξέλιξη στον ΠΚ για να επαληθευθεί ή όχι η επιτυχία που έχουν σε άλλους όγκους (Chou *et al.*, 2018; Franco *et al.*, 2014; Knudsen and Witkiewicz, 2017; Dhir *et al.*, 2019). Θεραπευτικές στρατηγικές, όπως η γονιδιακή επεξεργασία, είναι δυνητικά χρήσιμες για τη στόχευση αυτών των κυττάρων.

Τα κύτταρα με ανεπάρκεια στο μηχανισμό επιδιόρθωσης του DNA, όπως αυτά με μετάλλαξη BRCA, έχουν υψηλότερο κίνδυνο καρκινογένεσης. Αναστολείς PARP έχουν λάβει έγκριση σε διαφορετικές κακοήθειες νεοπλασίες όπως στον καρκίνο ωοθηκών και μαστού με BRCA μετάλλαξη (Robson *et al.*, 2017; Poveda *et al.*, 2021; Kaufman *et al.*, 2015). Πρόσφατα, επιβεβαιώθηκε η αποτελεσματικότητα της ολαπαρίμπης στην κλινική μελέτη POLO ως θεραπεία συντήρησης μετά από πλατινούχο συνδυασμό χημειοθεραπείας στην 1^η γραμμή του μεταστατικού ΠΚ και έχει λάβει έγκριση η χορήγηση της σε ασθενείς με γαμετική μετάλλαξη BRCA (Golan *et al.*, 2019). Ανοικτό ερώτημα όμως παραμένει για το πως μπορούν να παρακαμφθούν οι μηχανισμοί αντίστασης των parp αναστολέων (Pishvaian *et al.*, 2017). Όσον αφορά το μέλλον, νέες θεραπείες μπορεί να στοχεύουν τη διατήρηση του HR. Αντι-αγγειογενετικοί παράγοντες όπως το bevacizumab (Arora *et al.*, 2021) και το cediranib συνδυασμένοι με Olaparib έδειξαν καλές ανταποκρίσεις χωρίς τοξικότητα στον καρκίνο ωοθήκης (Liu *et al.*, 2014). Μελέτες φάσης II basket που περιλαμβάνουν και ασθενείς με ΠΚ είναι σε εξέλιξη. Τέλος, δυνητικά αποτελεσματική θα μπορούσε να είναι μια προσέγγιση που να στοχεύει πολλαπλά μόρια διαφορετικών DDR μονοπατιών (Principe, 2022).

Επιπλέον, εκτεταμένη έρευνα έχει γίνει για τη θεραπεία νεοπλασμάτων που σχετίζονται με κληρονομική, στα πλαίσια του συνδρόμου LYNCH (Latham *et al.*, 2019), ή επίκτητη διαταραχή του συστήματος MMR (Yamamoto *et al.*, 2001; Robb E. Wilentz *et al.*, 2000). Το dMMR/MSI-H και το φορτίο μεταλλάξεων του όγκου μπορούν να προβλέψουν την αποτελεσματικότητα σε αναστολείς PD-1 ή PD-L1 (Singhi *et al.*, 2019; Marabelle *et al.*, 2020). Όμως, ο ΠΚ μόλις στο 1% των περιπτώσεων παρουσιάζει dMMR/MSI-H και φαίνεται να έχει υψηλό αριθμό μεταλλάξεων, οπότε οι αναστολείς PD-1 ή PD-L1 μπορούν να έχουν μόνο περιορισμένη εφαρμογή (Ahmad-Nielsen *et al.*, 2020).

Ακόμη, το μικροπεριβάλλον του όγκου στον ΠΚ έχει καθοριστικό ρόλο στην ογκογένεση και την αντίσταση στη χημειοθεραπεία (Zhao *et al.*, 2022; (Carvalho *et al.*, 2021; Ho *et al.*, 2020). Κατά την εξέλιξη του ΠΚ, το μικροπεριβάλλον του όγκου αποκτά χαρακτηριστικά που του επιτρέπουν την ανοσοδιαφυγή (Fan *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022). Χαρακτηρίζεται από διήθηση μυελοειδούς στο στρώμα, παρουσία κατασταλτικών κυττάρων και μακροφάγων και χαμηλό φορτίο μεταλλάξεων (TMB) (Ciombor and Goldberg, 2018; Ligorio *et al.*, 2019). Πολλαπλά μόρια που το στοχεύουν έχουν δοκιμαστεί αλλά έως τώρα δεν έχουν δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Van Mackelenbergh *et al.*, 2019).

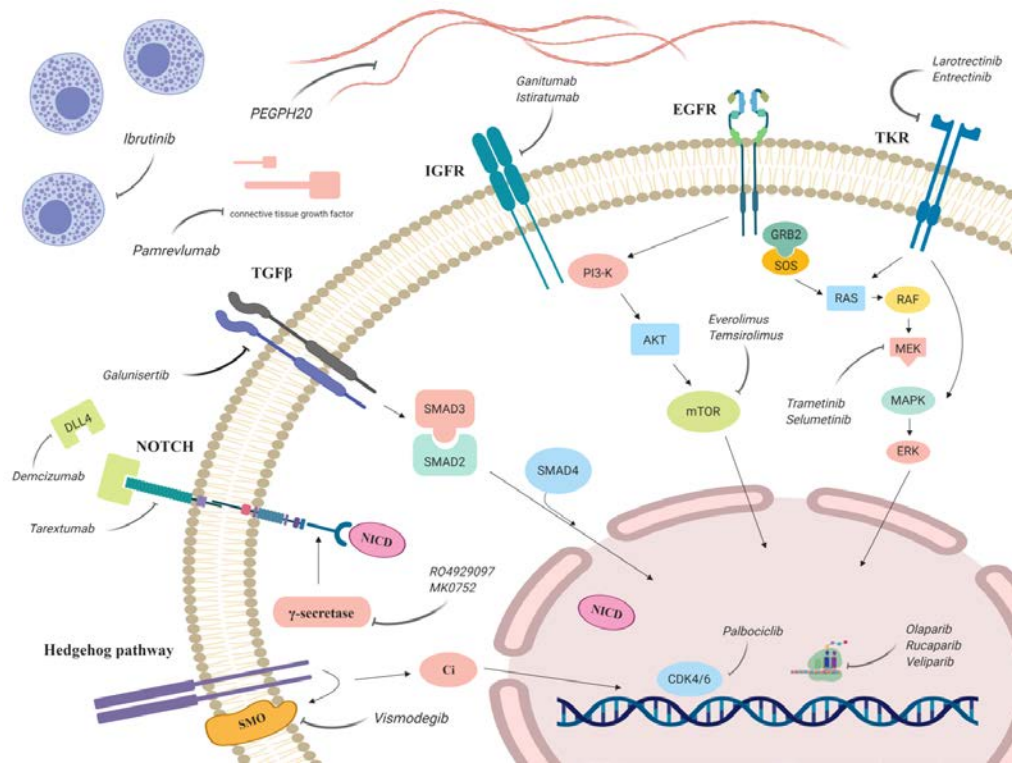
Η ανοσοθεραπεία παραμένει ένας ελκυστικός θεραπευτικός στόχος για τον ΠΚ. Ο αποκλεισμός σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού με αντισώματα έναντι του PD-1 ή PD-L1, που έχει δείξει εντυπωσιακά αποτελέσματα σε άλλους καρκίνους, παραμένει αντικείμενο έρευνας (Marabelle *et al.*, 2020). Επιπλέον, έχουν ήδη μελετηθεί αρκετά μόρια-στόχοι των CAR-T, όπως CD133, MUC1, μεσοθηλίνη, CEA, B7-H3, KRAS G12D, PD-1, EGFR και HER2 χωρίς να αναδειχθούν θέματα ασφάλειας (Zhao *et al.*, 2022). ADCs και BiTEs έχουν επίσης αναπτυχθεί για τη στόχευση παγκρεατικών καρκινικών κυττάρων με ακρίβεια (Fan *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2019; Nishigaki *et al.*, 2020). Τα θετικά αποτελέσματα αυτών των θεραπειών σε προκλινικές μελέτες προτείνουν υποσχόμενες εφαρμογές, και πολλά από αυτά τα μόρια διερευνώνται ήδη σε κλινικές δοκιμές.

Στην ογκολογία η αυτοφαγία φαίνεται να λειτουργεί ως μηχανισμός αντίστασης στη χημειοθεραπεία, ανοσοθεραπεία και στοχεύουσες θεραπείες (Gillson *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2017; White, 2015). Η αυτοφαγία αποτελεί ένα δυνητικό στόχο και για τη θεραπεία του ΠΚ (Piffoux *et al.*, 2021; X. Chen *et al.*, 2021). Τα τελευταία χρόνια η μελέτη γενετικών τροποποιημένων μοντέλων ποντικών έχει συμβάλει στην κατανόηση της αυτοφαγίας, όμως κάποιοι περιορισμοί εμποδίζουν την κλινική εφαρμογή (Boone *et al.*, 2015). Δεδομένης της υψηλής συχνότητας των μεταλλάξεων του KRAS στον ΠΚ και της ενεργοποίησης του μονοπατιού ERK/MAPK, η ταυτόχρονη στόχευση αυτού και της αυτοφαγίας θα μπορούσε να δράσει συνεργικά αποτελώντας μια πιθανή νέα θεραπευτική προσέγγιση (Kinsey *et al.*, 2019; Bryant *et al.*, 2019). Τέλος, η ανάπτυξη απλών και αξιόπιστων βιοδεικτών για την αξιολόγηση της αυτοφαγίας σε ανθρώπινα δείγματα αίματος και καρκινικού ιστού αποτελεί σημαντικό μελλοντικό στόχο.

Επιπλέον, η επιγενετική ρυθμίζει τη δομή της χρωματίνης και την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση, υποδηλώνοντας ότι μπορεί να είναι ένας πιθανός θεραπευτικός στόχος (Neureiter *et al.*, 2014). Έχουν σχεδιαστεί αναστολείς BET και αναστολείς EZH2 και υπήρχαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε προ-κλινικά μοντέλα (Mazur *et al.*, 2015). Μελλοντικές έρευνες στόχευσης και άλλων μορίων θα είχαν ενδιαφέρον (Roalsø *et al.*, 2022).

Τέλος, συνεχίζεται η έρευνα για το ρόλο των καρκινικών βλαστικών κυττάρων στην ογκογένεση και την αντίσταση στη θεραπεία στον ΠΚ (Nimmakayala *et al.*, 2021). Είναι πολύ πιθανό η αντίσταση να προκαλείται από μεταφορείς φαρμάκων συνδεδεμένους με ATP (ATP Binding Cassette, ABC), ένζυμα, επιδιορθωτικούς μηχανισμούς DNA, υπερέκφραση αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών ή να σχετίζεται με το στάδιο της αδράνειας (Rashid *et al.*, 2020). Μέχρι τώρα μόρια που στοχεύουν το μονοπάτι Hh και NOTCH δεν έχουν δείξει όφελος (Niyaz *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2019; Sonbol *et al.*, 2019; De Jesus-Acosta *et al.*, 2014).

Γενικότερα, τα τελευταία χρόνια, παρά την περιορισμένη ανάπτυξη νέων φαρμάκων για τον ΠΚ, οι μελέτες που τελικά δεν έδωσαν θετικά αποτελέσματα παρείχαν πολλά δεδομένα για τους διαφορετικούς μηχανισμούς αντίστασης. Ο τομέας αυτός χρήζει περαιτέρω έρευνας καθώς μπορεί να ανοίξει νέους θεραπευτικούς δρόμους για την αντιμετώπιση του ΠΚ.



Εικόνα 10. Δυναμικοί θεραπευτικοί στόχοι στον ΠΚ (Lai *et al.*, 2019)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα είναι ο πιο κοινός τύπος ΠΚ (Gil *et al.*, 2021). Η συχνότητα εμφάνισης του αυξάνεται και αναμένεται να γίνει η δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο έως το 2030 (Rahib *et al.*, 2014). Η πρόγνωση είναι δυσμενής καθώς περισσότερο από το 80% των ασθενών έχουν προχωρημένη νόσο κατά τη διάγνωση και το ποσοστό επιβίωσης είναι μικρότερο του 10% στα 5 χρόνια (Allen *et al.*, 2017; Rawla *et al.*, 2019). Η μικρή επιβίωση αποδίδεται στην υψηλή επιθετικότητα του νεοπλάσματος, στην αντοχή στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα και στην έλλειψη αποτελεσματικών στοχευουσών θεραπειών (Singh and O'Reilly, 2020; Zeng *et al.*, 2019).

Η συστηματική χημειοθεραπεία είναι ο βασικός άξονας θεραπείας της τοπικά προχωρημένης και μεταστατικής νόσου. Η γεμισιταμβίνη, ένας αντιμεταβολίτης της πυριμιδίνης, ήταν το πρότυπο χημειοθεραπευτικό φάρμακο ως θεραπεία πρώτης γραμμής στον ΠΚ για περισσότερες από δύο δεκαετίες. Πλέον οι συνδυασμοί περισσότερων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, όπως της γεμισιταμβίνης με την ταξάνη nab-paclitaxel, ή το FOLFIRINOX, που περιλαμβάνει οξαλοπлатίνη, ιρινοτεκάνη, λευκοβορίνη και φλουοροουρακίλη, έχουν δείξει καλύτερα αποτελέσματα αν και μεγαλύτερη τοξικότητα (Conroy *et al.*, 2011; Von Hoff *et al.*, 2013). Δυστυχώς όμως, παρά τη χορήγηση συνδυαστικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων, το όφελος στην επιβίωση (OS), το διάστημα ελεύθερο προόδου νόσου (PFS) και η ανταπόκριση στη θεραπεία (ORR) δεν είναι ικανοποιητικά (Kang *et al.*, 2018). Αυτό οφείλεται στα χαρακτηριστικά του όγκου αλλά και του μικροπεριβάλλοντος, που αφενός είναι ελάχιστα ανοσογονικό και αφετέρου διαθέτει ένα δεσμοπλαστικό στρώμα που εμποδίζει τη δράση των φαρμάκων (Ligorio *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022).

Οι σύγχρονες μελέτες επέτρεψαν την κατανόηση του γενετικού και μοριακού υποβάθρου του ΠΚ (Pishvaian *et al.*, 2020), ενός τύπου νεοπλάσματος χωρικά και χρονικά ετερογενούς (Ryan *et al.*, 2014), αλλά και το ρόλο του μικροπεριβάλλοντος, όμως ακόμη δεν έχουν ακόμη επικυρωθεί αρκετά γονίδια ή στοιχεία του στρώματος ως χρήσιμοι θεραπευτικοί στόχοι (Van Mackelenbergh *et al.*, 2019; Wong *et al.*, 2017).

Οι εξελίξεις στο NGS έχουν διευκολύνει τη διάγνωση του ΠΚ και την κατηγοριοποίηση του σε διαφορετικούς υποτύπους, ο καθένας με ξεχωριστές μοριακές υπογραφές και δυνητικούς θεραπευτικούς στόχους (Collisson *et al.*, 2011; Moffitt *et al.*, 2015; Bailey *et al.*, 2016; Raphael *et al.*, 2017; Puleo *et al.*, 2018; Aung *et al.*, 2018; Rashid *et al.*, 2020). Η υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων στα τέσσερα κύρια γονίδια KRAS, SMAD4, CDKN2A, TP53 και η πολυπλοκότητα των σηματοδοτικών μονοπατιών δείχνουν τη μεγάλη σημασία τους και παρέχουν ένα αντικείμενο έρευνας για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών στόχων (Raphael *et al.*, 2017; Sanchez-Vega *et al.*, 2018). Όσον αφορά τα μεταλλαγμένα γονίδια χαμηλής συχνότητας στον ΠΚ, ενδεχομένως να μπορούσαν να οδηγήσουν στη δημιουργία νέων υποομάδων ασθενών, κατάλληλες για στοχεύουσες θεραπείες, όπως οι ασθενείς με BRCA ή MMR μετάλλαξη ή σύντηξη NTRK (Biankin *et al.*, 2012; Singhi *et al.*, 2019; Jones *et al.*, 2008).

Ακόμη, η γνώση μας για άλλες διαδικασίες που εμπλέκονται με την καρκινογένεση, όπως η αυτοφαγία (White, 2015; Piffoux *et al.*, 2021; Gillson *et al.*, 2022), τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (Nimmakayala *et al.*, 2021) και οι επιγενετικές αλλαγές (Ciernikova *et al.*, 2020; Thompson and Bednar, 2021), θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε νέες θεραπευτικές επιλογές σ' αυτό το δύσκολο στοχεύσιμο νεόπλασμα.

Οι στοχεύουσες θεραπείες με τεκμηριωμένα θετικά αποτελέσματα απευθύνονται σε συγκεκριμένες υποομάδες ασθενών, που αποτελούν πολύ μικρό μέρος του συνόλου (Singhi *et al.*, 2019; Digiacomo *et al.*, 2021; Flaherty *et al.*, 2020; Cheng *et al.*, 2015; Lowery *et al.*, 2017; Hayashi *et al.*, 2021; Pihlak *et al.*, 2018; Pekarek *et al.*, 2022). Αυτές είναι το olaparib για τους ασθενείς που φέρουν γαμετική μετάλλαξη BRCA (Golan *et al.*, 2019), το Pembrolizumab για τους όγκους MSI-H/d MMR (Marabelle *et al.*, 2020), το sotorasib για τους όγκους με KRAS G12C μετάλλαξη (Skoulidis *et al.*, 2021) και οι αναστολείς NTRK σε περιπτώσεις σύντηξης γονιδίων NTRK (Doebele *et al.*, 2020; Demetri *et al.*, 2022; Laetsch *et al.*, 2018).

Στην εποχή της ιατρικής ακριβείας η βέλτιστη θεραπευτική διαχείριση θα πρέπει να καθοδηγείται από υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας βιοδείκτες, με βάση το μοριακό προφίλ του όγκου (Singhi *et al.*, 2019; Qian *et al.*, 2020; Hayashi *et al.*, 2021; Digiacomo *et al.*, 2021). Απαιτούνται περισσότερες και ενδεχομένως μεγαλύτερες μελέτες για την ανάδειξη νέων, εύκολα εντοπίσιμων και κλινικά εφαρμόσιμων,

προγνωστικών και προβλεπτικών βιοδεικτών όπως το MSI (Flaherty *et al.*, 2020). Οι περισσότερες στοχεύουσες θεραπείες υπό μελέτη δεν έχουν δείξει όφελος. Είναι επιτακτική ανάγκη η περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών δράσης και αντίστασης των ήδη υπάρχουσών θεραπευτικών στόχων, καθώς και η αναζήτηση νέων στρατηγικών που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την επιβίωση των ασθενών. Οι συνδυαστικές θεραπείες που περιλαμβάνουν χημειοθεραπεία, στοχεύουσες θεραπείες, ανοσοθεραπεία και φάρμακα στόχευσης στρωματικών συστατικών αντιπροσωπεύουν ένα υποσχόμενο πεδίο έρευνας.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdel-Wahab, R. *et al.* (2018) ‘Randomized, phase I/II study of gemcitabine plus IGF-1R antagonist (MK-0646) versus gemcitabine plus erlotinib with and without MK-0646 for advanced pancreatic adenocarcinoma’, *Journal of Hematology and Oncology*, 11(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0616-2>.
- Ahmad-Nielsen, S.A. *et al.* (2020) ‘Frequency of mismatch repair deficiency in pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Pathology Research and Practice*, 216(6). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.152985>.
- Aikawa, T. *et al.* (2006) ‘Connective tissue growth factor-specific antibody attenuates tumor growth, metastasis, and angiogenesis in an orthotopic mouse model of pancreatic cancer’, *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(5), pp. 1108–1116. Available at: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-05-0516>.
- Alderton, G.K. (2015) ‘Autophagy: Surviving stress in pancreatic cancer’, *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group, p. 513. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrc4005>.
- Ali, A.I. *et al.* (2019) ‘Genetic redirection of T cells for the treatment of pancreatic cancer’, *Frontiers in Oncology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00056>.
- Allen, P.J. *et al.* (2017) ‘Multi-institutional validation study of the American joint commission on cancer (8th edition) changes for T and N staging in patients with pancreatic adenocarcinoma’, *Annals of Surgery*, 265(1), pp. 185–191. Available at: <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000001763>.
- AlMasri, S.S. *et al.* (2021) ‘Encouraging long-term survival following autophagy inhibition using neoadjuvant hydroxychloroquine and gemcitabine for high-risk patients with resectable pancreatic carcinoma’, *Cancer Medicine*, 10(20), pp. 7233–7241. Available at: <https://doi.org/10.1002/cam4.4211>.
- Amundadottir, L. *et al.* (2009) ‘Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer’, *Nature Genetics*, 41(9), pp. 986–990. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng.429>.
- Arora, S. *et al.* (2021) ‘FDA Approval Summary: Olaparib Monotherapy or in

Combination with Bevacizumab for the Maintenance Treatment of Patients with Advanced Ovarian Cancer’, *Oncologist*, 26(1), pp. e164–e172. Available at: <https://doi.org/10.1002/onco.13551>.

Aung, K.L. *et al.* (2018) ‘Genomics-driven precision medicine for advanced pancreatic cancer: Early results from the COMPASS trial’, *Clinical Cancer Research*, 24(6), pp. 1344–1354. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2994>.

Awad, M.M. *et al.* (2021) ‘ Acquired Resistance to KRAS G12C Inhibition in Cancer ’, *New England Journal of Medicine*, 384(25), pp. 2382–2393. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2105281>.

Awaji, M. and Singh, R.K. (2019) ‘Cancer-associated fibroblasts’ functional heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Cancers*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers11030290>.

Al Baghdadi, T. *et al.* (2019) ‘ Palbociclib in Patients With Pancreatic and Biliary Cancer With CDKN2A Alterations: Results From the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry Study ’, *JCO Precision Oncology*, 3(3), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1200/po.19.00124>.

Bailey, P. *et al.* (2016) ‘Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer’, *Nature*, 531(7592), pp. 47–52. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature16965>.

Bardeesy, N. *et al.* (2006) ‘Smad4 is dispensable for normal pancreas development yet critical in progression and tumor biology of pancreas cancer’, *Genes and Development*, 20(22), pp. 3130–3146. Available at: <https://doi.org/10.1101/gad.1478706>.

Barrera, L.N. *et al.* (2022) ‘The role of microRNAs in the modulation of cancer-associated fibroblasts activity during pancreatic cancer pathogenesis.’, *Journal of physiology and biochemistry* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13105-022-00899-0>.

Battle, E. and Massagué, J. (2019) ‘Transforming Growth Factor- β Signaling in Immunity and Cancer’, *Immunity*. Cell Press, pp. 924–940. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.024>.

- Baumann, D. *et al.* (2020) 'Proimmunogenic impact of MEK inhibition synergizes with agonist anti-CD40 immunostimulatory antibodies in tumor therapy', *Nature Communications*, 11(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15979-2>.
- Bednar, F. and Pasca di Magliano, M. (2020) 'Context-Dependent Immune Responses Explain Pancreatic Cancer Immuno-resistance', *Cancer Cell*, 37(3), pp. 261–263. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.02.010>.
- Beltran, P.J. *et al.* (2009) 'AMG 479, a fully human anti-insulin-like growth factor receptor type I monoclonal antibody, inhibits the growth and survival of pancreatic carcinoma cells', *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(5), pp. 1095–1105. Available at: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-1171>.
- Bennewith, K.L. *et al.* (2009) 'The role of tumor cell-derived connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) in pancreatic tumor growth', *Cancer Research*, 69(3), pp. 775–784. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0987>.
- Berg, K.D. *et al.* (2000) 'Detection of microsatellite instability by fluorescence multiplex polymerase chain reaction', *Journal of Molecular Diagnostics*, 2(1), pp. 20–28. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1525-1578\(10\)60611-3](https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60611-3).
- Bernard, V. *et al.* (2019) 'Single-cell transcriptomics of pancreatic cancer precursors demonstrates epithelial and microenvironmental heterogeneity as an early event in neoplastic progression', *Clinical Cancer Research*, 25(7), pp. 2194–2205. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1955>.
- Biankin, A. V. *et al.* (2012) 'Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes', *Nature*, 491(7424), pp. 399–405. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature11547>.
- Blackford, A. *et al.* (2009) 'SMAD4 gene mutations are associated with poor prognosis in pancreatic cancer', *Clinical Cancer Research*, 15(14), pp. 4674–4679. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0227>.
- Bodoky, G. *et al.* (2012) 'A phase II open-label randomized study to assess the efficacy and safety of selumetinib (AZD6244 [ARRY-142886]) versus capecitabine in patients with advanced or metastatic pancreatic cancer who have failed first-line gemcitabine therapy', *Investigational New Drugs*, 30(3), pp. 1216–1223. Available at:

<https://doi.org/10.1007/s10637-011-9687-4>.

Boland, C.R. et al. (1998) A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer - PubMed, Cancer Research. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9823339/> (Accessed: 25 September 2022).

Boone, B.A. et al. (2015) 'Safety and Biologic Response of Pre-operative Autophagy Inhibition in Combination with Gemcitabine in Patients with Pancreatic Adenocarcinoma', *Annals of Surgical Oncology*, 22(13), pp. 4402–4410. Available at: <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4566-4>.

Brahmer, J.R. et al. (2012) 'Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer', *New England Journal of Medicine*, 366(26), pp. 2455–2465. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1200694>.

Brody, J.R. and Dixon, D.A. (2018) 'Complex HuR function in pancreatic cancer cells', *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 9(3). Available at: <https://doi.org/10.1002/wrna.1469>.

Bryant, K.L. et al. (2019) 'Combination of ERK and autophagy inhibition as a treatment approach for pancreatic cancer', *Nature Medicine*, 25(4), pp. 628–640. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0368-8>.

Bykov, V.J.N. et al. (2018) 'Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy', *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group, pp. 89–102. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.109>.

Caldas, C. et al. (1994) 'Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma', *Nature Genetics*, 8(1), pp. 27–32. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng0994-27>.

Canon, J. et al. (2019) 'The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity', *Nature*, 575(7781), pp. 217–223. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1694-1>.

Carvalho, T.M.A. et al. (2021) 'Tumor Microenvironment Features and Chemoresistance in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Insights into Targeting

Physicochemical Barriers and Metabolism as Therapeutic Approaches.’, *Cancers*, 13(23). Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers13236135>.

Casolino, R. *et al.* (2021) ‘Homologous Recombination Deficiency in Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Prevalence Meta-Analysis’, *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology, pp. 2617–2631. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.20.03238>.

Chan-Seng-Yue, M. *et al.* (2020) ‘Transcription phenotypes of pancreatic cancer are driven by genomic events during tumor evolution’, *Nature Genetics*, 52(2), pp. 231–240. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0566-9>.

Charnley, R.M. (2003) ‘Hereditary pancreatitis’, *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co, pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.3748/wjg.v9.i1.1>.

Chen, W. *et al.* (2021) ‘Muc1: Structure, function, and clinic application in epithelial cancers’, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22126567>.

Chen, X. *et al.* (2021) ‘Cell death in pancreatic cancer: from pathogenesis to therapy’, *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. Nature Research, pp. 804–823. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00486-6>.

Cheng, D.T. *et al.* (2015) ‘Memorial sloan kettering-integrated mutation profiling of actionable cancer targets (MSK-IMPACT): A hybridization capture-based next-generation sequencing clinical assay for solid tumor molecular oncology’, *Journal of Molecular Diagnostics*, 17(3), pp. 251–264. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2014.12.006>.

Chi, X. *et al.* (2019) ‘Significantly increased anti-tumor activity of carcinoembryonic antigen-specific chimeric antigen receptor T cells in combination with recombinant human IL-12’, *Cancer Medicine*, 8(10), pp. 4753–4765. Available at: <https://doi.org/10.1002/cam4.2361>.

Chiorean, E.G. *et al.* (2021) ‘Randomized Phase II Study of PARP Inhibitor ABT-888 (Veliparib) with Modified FOLFIRI versus FOLFIRI as Second-line Treatment of Metastatic Pancreatic Cancer: SWOG S1513’, *Clinical Cancer Research*, 27(23), pp.

6314–6322. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-1789>.

Choi, M., Kipps, T. and Kurzrock, R. (2016) ‘ATM mutations in cancer: Therapeutic implications’, *Molecular Cancer Therapeutics*. American Association for Cancer Research Inc., pp. 1781–1791. Available at: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0945>.

Chou, A. *et al.* (2018) ‘Tailored first-line and second-line CDK4-targeting treatment combinations in mouse models of pancreatic cancer’, *Gut*, 67(12), pp. 2142–2155. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-315144>.

Christenson, E.S., Jaffee, E. and Azad, N.S. (2020) ‘Current and emerging therapies for patients with advanced pancreatic ductal adenocarcinoma: a bright future’, *The Lancet Oncology*. Lancet Publishing Group, pp. e135–e145. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30795-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30795-8).

Chung, V. *et al.* (2017) ‘Effect of selumetinib and MK-2206 vs oxaliplatin and fluorouracil in patients with metastatic pancreatic cancer after prior therapy: SWOG S1115 study randomized clinical trial’, *JAMA Oncology*, 3(4), pp. 516–522. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.5383>.

Ciernikova, S. *et al.* (2020) ‘Epigenetic landscape in pancreatic ductal adenocarcinoma: On the way to overcoming drug resistance?’, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG, pp. 11–17. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms21114091>.

Cioffi, M. *et al.* (2012) ‘EpCAM/CD3-bispecific T-cell engaging antibody MT110 eliminates primary human pancreatic cancer stem cells’, *Clinical Cancer Research*, 18(2), pp. 465–474. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1270>.

Ciombor, K.K. and Goldberg, R.M. (2018) ‘Hypermutated Tumors and Immune Checkpoint Inhibition’, *Drugs*, 78(2), pp. 155–162. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0863-0>.

Cobo, I. *et al.* (2018) ‘Transcriptional regulation by NR5A2 links differentiation and inflammation in the pancreas’, *Nature*, 554(7693), pp. 533–537. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature25751>.

Cocco, E., Scaltriti, M. and Drilon, A. (2018) ‘NTRK fusion-positive cancers and

TRK inhibitor therapy', *Nature Reviews Clinical Oncology*. Nature Publishing Group, pp. 731–747. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0113-0>.

Collisson, E.A. *et al.* (2011) 'Subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and their differing responses to therapy', *Nature Medicine*, 17(4), pp. 500–503. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.2344>.

Collisson, E.A. *et al.* (2012) 'A Central role for RAF→MEK→ERK signaling in the genesis of pancreatic ductal adenocarcinoma', *Cancer Discovery*, 2(8), pp. 685–693. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-11-0347>.

Conroy, T. *et al.* (2011) 'FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer', *New England Journal of Medicine*, 364(19), pp. 1817–1825. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1011923>.

Conway, J.R. *et al.* (2019) 'Combating pancreatic cancer with PI3K pathway inhibitors in the era of personalised medicine', *Gut*, 68(4), pp. 742–758. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316822>.

Cook, N. *et al.* (2018) 'A phase i trial of the c-secretase inhibitor MK-0752 in combination with gemcitabine in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma', *British Journal of Cancer*, 118(6), pp. 793–801. Available at: <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.495>.

Cox, A.D. *et al.* (2014) 'Drugging the undruggable RAS: Mission Possible?', *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group, pp. 828–851. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrd4389>.

Cox, A.D. and Der, C.J. (2010) 'Ras history: The saga continues', *Small GTPases*, 1(1), pp. 2–27. Available at: <https://doi.org/10.4161/sgtp.1.1.12178>.

Cullis, C.A. (2002) 'The use of DNA polymorphisms in genetic mapping.', *Genetic engineering*. Genet Eng (N Y), pp. 179–189. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0721-5_8.

Demetri, G.D. *et al.* (2022) 'Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Patients With NTRK Fusion-Positive Solid Tumors', *Clinical Cancer Research*, 28(7), pp. 1302–1312. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-3597>.

Deng, J. *et al.* (2018) 'CDK4/6 inhibition augments antitumor immunity by enhancing T-cell activation', *Cancer Discovery*, 8(2), pp. 216–233. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-0915>.

Dhir, T. *et al.* (2019) 'Abemaciclib is effective against pancreatic cancer cells and synergizes with HuR and YAP1 inhibition', *Molecular Cancer Research*, 17(10), pp. 2029–2041. Available at: <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-19-0589>.

Digiaco, G. *et al.* (2021) 'Biological Hallmarks and New Therapeutic Approaches for the Treatment of PDAC.', *Life (Basel, Switzerland)*, 11(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/life11080843>.

Ding, L. and Chen, F. (2019) 'Predicting Tumor Response to PD-1 Blockade', *New England Journal of Medicine*, 381(5), pp. 477–479. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmcibr1906340>.

Doebele, R.C. *et al.* (2020) 'Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials', *The Lancet Oncology*, 21(2), pp. 271–282. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30691-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30691-6).

Downward, J. (2003) 'Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy', *Nature Reviews Cancer*. *Nat Rev Cancer*, pp. 11–22. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrc969>.

Drilon, A. *et al.* (2018) 'Response to ERBB3-directed targeted therapy in NRG1 - rearranged cancers', *Cancer Discovery*, 8(6), pp. 686–695. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1004>.

Drilon, A. (2019) 'TRK inhibitors in TRK fusion-positive cancers', *Annals of Oncology*, 30, pp. VIII23–VIII30. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz282>.

Du, C. *et al.* (2018) 'Epidermal Growth Factor Receptor-Targeting Peptide Nanoparticles Simultaneously Deliver Gemcitabine and Olaparib to Treat Pancreatic Cancer with Breast Cancer 2 (BRCA2) Mutation', *ACS Nano*, 12(11), pp. 10785–10796. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b01573>.

Du, H. *et al.* (2019) 'Antitumor Responses in the Absence of Toxicity in Solid

Tumors by Targeting B7-H3 via Chimeric Antigen Receptor T Cells’, *Cancer Cell*, 35(2), pp. 221-237.e8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.01.002>.

Duell, E.J. *et al.* (2012) ‘Pancreatitis and pancreatic cancer risk: A pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4)’, *Annals of Oncology*, 23(11), pp. 2964–2970. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mds140>.

Dunnett-Kane, V. *et al.* (2021) ‘Mechanisms of resistance to krasg12c inhibitors’, *Cancers*. MDPI AG, pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers13010151>.

Erdogan, B. and Webb, D.J. (2017) ‘Cancer-associated fibroblasts modulate growth factor signaling and extracellular matrix remodeling to regulate tumor metastasis’, *Biochemical Society Transactions*. Portland Press Ltd, pp. 229–236. Available at: <https://doi.org/10.1042/BST20160387>.

Escobar-Hoyos, L.F. *et al.* (2020) ‘Altered RNA Splicing by Mutant p53 Activates Oncogenic RAS Signaling in Pancreatic Cancer’, *Cancer Cell*, 38(2), pp. 198-211.e8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.05.010>.

Fan, J.Q. *et al.* (2020) ‘Current advances and outlooks in immunotherapy for pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Molecular Cancer*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01151-3>.

Fedele, C. *et al.* (2018) ‘Shp2 inhibition prevents adaptive resistance to mek inhibitors in multiple cancer models’, *Cancer Discovery*. American Association for Cancer Research Inc. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0444>.

Fei, N. *et al.* (2021) ‘SMAD4 loss is associated with response to neoadjuvant chemotherapy plus hydroxychloroquine in patients with pancreatic adenocarcinoma’, *Clinical and Translational Science*, 14(5), pp. 1822–1829. Available at: <https://doi.org/10.1111/cts.13029>.

Fell, J.B. *et al.* (2020) ‘Identification of the Clinical Development Candidate MRTX849, a Covalent KRASG12C Inhibitor for the Treatment of Cancer’, *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(13), pp. 6679–6693. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02052>.

Feng, K. *et al.* (2018) ‘Phase I study of chimeric antigen receptor modified T cells in

treating HER2-positive advanced biliary tract cancers and pancreatic cancers’, *Protein and Cell*, 9(10), pp. 838–847. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0440-4>.

Ferlay, J., Partensky, C. and Bray, F. (2016) ‘More deaths from pancreatic cancer than breast cancer in the EU by 2017’, *Acta Oncologica*, 55(9–10), pp. 1158–1160. Available at: <https://doi.org/10.1080/0284186X.2016.1197419>.

Filippakopoulos, P. *et al.* (2010) ‘Selective inhibition of BET bromodomains’, *Nature*, 468(7327), pp. 1067–1073. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature09504>.

Filippakopoulos, P. and Knapp, S. (2014) ‘Targeting bromodomains: Epigenetic readers of lysine acetylation’, *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group, pp. 337–356. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrd4286>.

Fischer, C.G. and Wood, L.D. (2018) ‘From somatic mutation to early detection: insights from molecular characterization of pancreatic cancer precursor lesions’, *Journal of Pathology*. John Wiley and Sons Ltd, pp. 395–404. Available at: <https://doi.org/10.1002/path.5154>.

Flaherty, K.T. *et al.* (2020) ‘Molecular landscape and actionable alterations in a genomically guided cancer clinical trial: National cancer institute molecular analysis for therapy choice (NCI-MATCH)’, *Journal of Clinical Oncology*, 38(33), pp. 3883–3894. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.19.03010>.

Flandez, M. *et al.* (2014) ‘Nr5a2 heterozygosity sensitises to, and cooperates with, inflammation in KRasG12V-driven pancreatic tumourigenesis’, *Gut*, 63(4), pp. 647–655. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304381>.

Franco, J., Witkiewicz, A.K. and Knudsen, E.S. (2014) ‘CDK4/6 inhibitors have potent activity in combination with pathway selective therapeutic agents in models of pancreatic cancer’, *Oncotarget*, 5(15), pp. 6512–6525. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2270>.

Fukushima, N. *et al.* (2002) ‘Aberrant methylation of preproenkephalin and p16 genes in pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatic ductal adenocarcinoma’, *American Journal of Pathology*, 160(5), pp. 1573–1581. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)61104-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)61104-2).

Ganji, C. and Farran, B. (2022) ‘Current clinical trials for epigenetic targets and therapeutic inhibitors for pancreatic cancer therapy’, *Drug Discovery Today*. Elsevier Ltd, pp. 1404–1410. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.12.013>.

Gao, Q. *et al.* (2019) ‘Cancer-cell-secreted CXCL11 promoted CD8 + T cells infiltration through docetaxel-induced-release of HMGB1 in NSCLC’, *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0511-6>.

Garcia, P.L. *et al.* (2016) ‘The BET bromodomain inhibitor JQ1 suppresses growth of pancreatic ductal adenocarcinoma in patient-derived xenograft models’, *Oncogene*, 35(7), pp. 833–845. Available at: <https://doi.org/10.1038/onc.2015.126>.

Gazzah, A. *et al.* (2022) ‘Safety, pharmacokinetics, and antitumor activity of the anti-CEACAM5-DM4 antibody–drug conjugate tusamitamab ravtansine (SAR408701) in patients with advanced solid tumors: first-in-human dose-escalation study’, *Annals of Oncology*, 33(4), pp. 416–425. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.12.012>.

Giardiello, F.M. *et al.* (2000) ‘Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome’, *Gastroenterology*, 119(6), pp. 1447–1453. Available at: <https://doi.org/10.1053/gast.2000.20228>.

Gil, Y.R. *et al.* (2021) ‘Molecular alterations in pancreatic cancer: Transfer to the clinic’, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG, pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22042077>.

Gillson, J. *et al.* (2022) ‘Autophagy: A Key Player in Pancreatic Cancer Progression and a Potential Drug Target.’, *Cancers*, 14(14), p. 3528. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14143528>.

Gkekas, I. *et al.* (2017) ‘Microsatellite instability as a prognostic factor in stage II colon cancer patients, a meta-analysis of published literature’, *Anticancer Research*. International Institute of Anticancer Research, pp. 6563–6574. Available at: <https://doi.org/10.21873/anticancer.12113>.

Golan, T. *et al.* (2019) ‘ Maintenance Olaparib for Germline BRCA -Mutated Metastatic Pancreatic Cancer ’, *New England Journal of Medicine*, 381(4), pp. 317–

327. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1903387>.

Goncalves, M.D., Hopkins, B.D. and Cantley, L.C. (2018) 'Phosphatidylinositol 3-Kinase, Growth Disorders, and Cancer', *New England Journal of Medicine*, 379(21), pp. 2052–2062. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmra1704560>.

Green, E.D., Watson, J.D. and Collins, F.S. (2015) 'Human Genome Project: Twenty-five years of big biology', *Nature*. Nature Publishing Group, pp. 29–31. Available at: <https://doi.org/10.1038/526029a>.

Grothey, A. *et al.* (1999) 'The role of insulin-like growth factor I and its receptor in cell growth, transformation, apoptosis, and chemoresistance in solid tumors', *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 125(3–4), pp. 166–173. Available at: <https://doi.org/10.1007/s004320050259>.

Guan, W.-L. *et al.* (2021) 'The Impact of Mismatch Repair Status on Prognosis of Patients With Gastric Cancer: A Multicenter Analysis.', *Frontiers in oncology*, 11, p. 712760. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.712760>.

Gueorguieva, I. *et al.* (2019) 'Population pharmacokinetics and exposure–overall survival analysis of the transforming growth factor- β inhibitor galunisertib in patients with pancreatic cancer', *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 84(5), pp. 1003–1015. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00280-019-03931-1>.

Gunderson, A.J. *et al.* (2016) 'Bcr tyrosine kinase–Dependent immune cell cross-talk drives pancreas cancer', *Cancer Discovery*, 6(3), pp. 270–285. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0827>.

Haas, A.R. *et al.* (2019) 'Phase I Study of Lentiviral-Transduced Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells Recognizing Mesothelin in Advanced Solid Cancers', *Molecular Therapy*, 27(11), pp. 1919–1929. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.07.015>.

Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2011) 'Hallmarks of cancer: The next generation', *Cell*. Cell, pp. 646–674. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.

Hassan, R. *et al.* (2020) 'First-in-human, multicenter, phase i dose-escalation and expansion study of anti-mesothelin antibody-drug conjugate anetumab ravtansine in advanced or metastatic solid tumors', *Journal of Clinical Oncology*, 38(16), pp.

1824–1835. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02085>.

Hayashi, H. *et al.* (2021) ‘Recent advances in precision medicine for pancreatic ductal adenocarcinoma.’, *Annals of gastroenterological surgery*, 5(4), pp. 457–466.

Available at: <https://doi.org/10.1002/ags3.12436>.

He, L. *et al.* (2018) ‘Autophagy: The last defense against cellular nutritional stress’, *Advances in Nutrition*. Oxford University Press, pp. 493–504. Available at:

<https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMY011>.

Hegde, S. *et al.* (2020) ‘Dendritic Cell Paucity Leads to Dysfunctional Immune Surveillance in Pancreatic Cancer’, *Cancer Cell*, 37(3), pp. 289-307.e9. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.02.008>.

Heilmann, A.M. *et al.* (2014) ‘CDK4/6 and IGF1 receptor inhibitors synergize to suppress the growth of p16INK4A -Deficient Pancreatic Cancers’, *Cancer Research*, 74(14), pp. 3947–3958. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2923>.

Heining, C. *et al.* (2018) ‘NRG1 fusions in KRAS wild-type pancreatic cancer’, *Cancer Discovery*, 8(9), pp. 1087–1095. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0036>.

Hingorani, S.R. *et al.* (2018) ‘HALO 202: Randomized phase II Study of PEGPH20 Plus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine Versus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine in Patients With Untreated, Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma’, in *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology, pp. 359–366. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.9564>.

Ho, W.J., Jaffee, E.M. and Zheng, L. (2020) ‘The tumour microenvironment in pancreatic cancer — clinical challenges and opportunities’, *Nature Reviews Clinical Oncology*. Nature Research, pp. 527–540. Available at:

<https://doi.org/10.1038/s41571-020-0363-5>.

Von Hoff, D.D. *et al.* (2013) ‘Increased Survival in Pancreatic Cancer with nab-Paclitaxel plus Gemcitabine’, *New England Journal of Medicine*, 369(18), pp. 1691–1703. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1304369>.

Hong, D.S. *et al.* (2019) ‘Larotrectinib in adult patients with solid tumours: A multi-

centre, open-label, phase i dose-escalation study', *Annals of Oncology*, 30(2), pp. 325–331. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy539>.

Hong, D.S. *et al.* (2020) 'Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials', *The Lancet Oncology*, 21(4), pp. 531–540. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30856-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30856-3).

Hou, Y.C. *et al.* (2019) 'Low cd8+ t cell infiltration and high pd-11 expression are associated with level of cd44+/cd133+ cancer stem cells and predict an unfavorable prognosis in pancreatic cancer', *Cancers*, 11(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers11040541>.

Hsu, F.C. *et al.* (2021) 'Risk of Pancreatic Cancer among Individuals with Pathogenic Variants in the ATM Gene', *JAMA Oncology*, 7(11), pp. 1664–1668. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2021.3701>.

Hu, C., Hart, S.N., *et al.* (2018) 'Association between inherited germline mutations in cancer predisposition genes and risk of pancreatic cancer', in *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association, pp. 2401–2409. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2018.6228>.

Hu, C., LaDuca, H., *et al.* (2018) 'Multigene Hereditary Cancer Panels Reveal High-Risk Pancreatic Cancer Susceptibility Genes', *JCO Precision Oncology*, 2(2), pp. 1–28. Available at: <https://doi.org/10.1200/po.17.00291>.

Hu, Z.I. *et al.* (2019) 'A randomized phase II trial of nab-paclitaxel and gemcitabine with tarextumab or placebo in patients with untreated metastatic pancreatic cancer', *Cancer Medicine*, 8(11), pp. 5148–5157. Available at: <https://doi.org/10.1002/cam4.2425>.

Huang, H. and Brekken, R.A. (2019) 'The next wave of stroma-targeting therapy in pancreatic cancer', *Cancer Research*, 79(2), pp. 328–330. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3751>.

Huang, L. *et al.* (2021) 'KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer', *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00780-4>.

Humphris, J.L. *et al.* (2017) 'Hypermutation In Pancreatic Cancer', *Gastroenterology*,

- 152(1), pp. 68-74.e2. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.09.060>.
- Hustinx, S.R. *et al.* (2005) 'Concordant loss of MTAP and p16/CDKN2A expression in pancreatic intraepithelial neoplasia: Evidence of homozygous deletion in a noninvasive precursor lesion', *Modern Pathology*, 18(7), pp. 959–963. Available at: <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800377>.
- Infante, J.R. *et al.* (2014) 'A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of trametinib, an oral MEK inhibitor, in combination with gemcitabine for patients with untreated metastatic adenocarcinoma of the pancreas', *European Journal of Cancer*, 50(12), pp. 2072–2081. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.04.024>.
- Jacobsen, H.J. *et al.* (2015) 'Pan-HER, an antibody mixture simultaneously targeting EGFR, HER2, and HER3, effectively overcomes tumor heterogeneity and plasticity', *Clinical Cancer Research*, 21(18), pp. 4110–4122. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3312>.
- Jain, A.K. and Barton, M.C. (2017) 'Bromodomain Histone Readers and Cancer', *Journal of Molecular Biology*. Academic Press, pp. 2003–2010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.11.020>.
- Janes, M.R. *et al.* (2018) 'Targeting KRAS Mutant Cancers with a Covalent G12C-Specific Inhibitor', *Cell*, 172(3), pp. 578-589.e17. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.006>.
- Javle, M. *et al.* (2021) 'Olaparib monotherapy for previously treated pancreatic cancer with DNA damage repair genetic alterations other than germline BRCA variants findings from 2 phase 2 nonrandomized clinical trials', *JAMA Oncology*, 7(5), pp. 693–699. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2021.0006>.
- Jenne, D.E. *et al.* (1998) 'Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase', *Nature Genetics*. Nat Genet, pp. 38–43. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng0198-38>.
- De Jesus-Acosta, A. *et al.* (2014) 'A phase II study of the gamma secretase inhibitor RO4929097 in patients with previously treated metastatic pancreatic adenocarcinoma', *Investigational New Drugs*, 32(4), pp. 739–745. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10637-014-0083-8>.

- Jiang, H. *et al.* (2018) ‘Concurrent HER or PI3K inhibition potentiates the antitumor effect of the ERK inhibitor ulixertinib in preclinical pancreatic cancer models’, *Molecular Cancer Therapeutics*, 17(10), pp. 2144–2155. Available at: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-1142>.
- Jiricny, J. (2013) ‘Postreplicative mismatch repair’, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Cold Spring Harb Perspect Biol, pp. 1–23. Available at: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012633>.
- JM, O. *et al.* (2016) ‘Direct small-molecule inhibitors of KRAS: from structural insights to mechanism-based design’, *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(11), pp. 771–785. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.139>.
- JM, O. and KM, S. (2016) ‘Direct small-molecule inhibitors of KRAS: from structural insights to mechanism-based design’, *Nature reviews. Drug discovery*, 15(11). Available at: <https://doi.org/10.1038/NRD.2016.139>.
- Jogalekar, M.P. *et al.* (2022) ‘CAR T-Cell-Based gene therapy for cancers: new perspectives, challenges, and clinical developments.’, *Frontiers in immunology*, 13, p. 925985. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.925985>.
- Jones, G.G. *et al.* (2019) ‘SHOC2 phosphatase-dependent RAF dimerization mediates resistance to MEK inhibition in RAS-mutant cancers’, *Nature Communications*, 10(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10367-x>.
- Jones, S. *et al.* (2008) ‘Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses’, *Science*, 321(5897), pp. 1801–1806. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1164368>.
- Kabiraj, L. and Kundu, A. (2022) ‘Potential role of microRNAs in pancreatic cancer manifestation: a review.’, *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 34(1), p. 26. Available at: <https://doi.org/10.1186/s43046-022-00127-2>.
- Kaelin, W.G. (2005) ‘The concept of synthetic lethality in the context of anticancer therapy’, *Nature Reviews Cancer*. Nat Rev Cancer, pp. 689–698. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrc1691>.
- Kamarajah, S.K. *et al.* (2017) ‘Validation of the American Joint Commission on Cancer (AJCC) 8th Edition Staging System for Patients with Pancreatic

- Adenocarcinoma: A Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Analysis', *Annals of Surgical Oncology*, 24(7), pp. 2023–2030. Available at: <https://doi.org/10.1245/s10434-017-5810-x>.
- Kamath, S.D. *et al.* (2020) 'Ipilimumab and Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer: A Phase Ib Study', *The Oncologist*, 25(5), pp. e808–e815. Available at: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0473>.
- Van Kampen, J.G.M. *et al.* (2014) 'Epigenetic targeting in pancreatic cancer', *Cancer Treatment Reviews*. W.B. Saunders Ltd, pp. 656–664. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2013.12.002>.
- Kanda, M. *et al.* (2012) 'Presence of somatic mutations in most early-stage pancreatic intraepithelial neoplasia', *Gastroenterology*, 142(4). Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.12.042>.
- Kang, J. *et al.* (2018) 'Nab-paclitaxel plus gemcitabine versus FOLFIRINOX as the first-line chemotherapy for patients with metastatic pancreatic cancer: retrospective analysis', *Investigational New Drugs*, 36(4), pp. 732–741. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10637-018-0598-5>.
- Karasic, T.B. *et al.* (2019) 'Effect of Gemcitabine and nab-Paclitaxel with or Without Hydroxychloroquine on Patients with Advanced Pancreatic Cancer: A Phase 2 Randomized Clinical Trial', *JAMA Oncology*, 5(7), pp. 993–998. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.0684>.
- Karavasilis, V. *et al.* (2018) 'Gemcitabine Combined with the mTOR Inhibitor Temsirolimus in Patients with Locally Advanced or Metastatic Pancreatic Cancer. A Hellenic Cooperative Oncology Group Phase I/II Study', *Targeted Oncology*, 13(6), pp. 715–724. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11523-018-0605-y>.
- Kastrinos, F. *et al.* (2009) 'Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome', *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 302(16), pp. 1790–1795. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1529>.
- Kaufman, B. *et al.* (2015) 'Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation', *Journal of Clinical Oncology*, 33(3), pp. 244–250. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.2728>.

- Kebenko, M. *et al.* (2018) 'A multicenter phase 1 study of solitomab (MT110, AMG 110), a bispecific EpCAM/CD3 T-cell engager (BiTE®) antibody construct, in patients with refractory solid tumors', *OncoImmunology*, 7(8). Available at: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1450710>.
- Kindler, H.L. *et al.* (2012) 'A randomized, placebo-controlled phase 2 study of ganitumab (AMG 479) or conatumumab (AMG 655) in combination with gemcitabine in patients with metastatic pancreatic cancer', *Annals of Oncology*, 23(11), pp. 2834–2842. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mds142>.
- Kinsey, C.G. *et al.* (2019) 'Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers', *Nature Medicine*, 25(4), pp. 620–627. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0367-9>.
- Klein, A.P. *et al.* (2004) 'Prospective Risk of Pancreatic Cancer in Familial Pancreatic Cancer Kindreds', *Cancer Research*, 64(7), pp. 2634–2638. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-3823>.
- Knudsen, E.S., Pruitt, S.C., *et al.* (2019) 'Cell Cycle and Beyond: Exploiting New RB1 Controlled Mechanisms for Cancer Therapy', *Trends in Cancer*. Cell Press, pp. 308–324. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.03.005>.
- Knudsen, E.S., Kumarasamy, V., *et al.* (2019) 'Cell cycle plasticity driven by MTOR signaling: integral resistance to CDK4/6 inhibition in patient-derived models of pancreatic cancer', *Oncogene*, 38(18), pp. 3355–3370. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0650-0>.
- Knudsen, E.S. *et al.* (2021) 'Targeting dual signalling pathways in concert with immune checkpoints for the treatment of pancreatic cancer', *Gut*, 70(1), pp. 127–138. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321000>.
- Knudsen, E.S. and Witkiewicz, A.K. (2017) 'The Strange Case of CDK4/6 Inhibitors: Mechanisms, Resistance, and Combination Strategies', *Trends in Cancer*. Cell Press, pp. 39–55. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2016.11.006>.
- Ko, A.H., Bekaii-Saab, T., *et al.* (2016) 'A multicenter, open-label phase II clinical trial of combined MEK plus EGFR inhibition for chemotherapy-refractory advanced pancreatic adenocarcinoma', *Clinical Cancer Research*, 22(1), pp. 61–68. Available

at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0979>.

Ko, A.H., LoConte, N., *et al.* (2016) 'A phase I study of FOLFIRINOX Plus IPI-926, a hedgehog pathway inhibitor, for advanced pancreatic adenocarcinoma', *Pancreas*, 45(3), pp. 370–375. Available at: <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000458>.

Kochenderfer, J.N. *et al.* (2015) 'Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor', *Journal of Clinical Oncology*, 33(6), pp. 540–549. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.2025>.

Kojima, K. *et al.* (2007) 'Inactivation of Smad4 accelerates KrasG12D-mediated pancreatic neoplasia', *Cancer Research*, 67(17), pp. 8121–8130. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-4167>.

Kwan, A.K. *et al.* (2022) 'The path to the clinic: a comprehensive review on direct KRASG12C inhibitors', *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02225-w>.

De La Chapelle, A. and Hampel, H. (2010) 'Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer', *Journal of Clinical Oncology*, pp. 3380–3387. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.0652>.

Laetsch, T.W. *et al.* (2018) 'Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study', *The Lancet Oncology*, 19(5), pp. 705–714. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30119-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30119-0).

Lai, E. *et al.* (2019) 'New therapeutic targets in pancreatic cancer', *Cancer Treatment Reviews*. W.B. Saunders Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2019.101926>.

Lamarche, B.J., Orazio, N.I. and Weitzman, M.D. (2010) 'The MRN complex in double-strand break repair and telomere maintenance', *FEBS Letters*. FEBS Lett, pp. 3682–3695. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.07.029>.

Laskin, J. *et al.* (2020) 'NRG1 fusion-driven tumors: biology, detection, and the therapeutic role of afatinib and other ErbB-targeting agents', *Annals of Oncology*. Elsevier Ltd, pp. 1693–1703. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2335>.

Latham, A. *et al.* (2019) 'Microsatellite instability is associated with the presence of Lynch syndrome pan-cancer', *Journal of Clinical Oncology*, 37(4), pp. 286–295. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00283>.

Le, D.T. *et al.* (2013) 'Evaluation of ipilimumab in combination with allogeneic pancreatic tumor cells transfected with a GM-CSF gene in previously treated pancreatic cancer', *Journal of Immunotherapy*, 36(7), pp. 382–389. Available at: <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e31829fb7a2>.

Le, D.T. *et al.* (2015) 'PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency', *New England Journal of Medicine*, 372(26), pp. 2509–2520. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1500596>.

Le, D.T. *et al.* (2017) 'Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade', *Science*, 357(6349), pp. 409–413. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aan6733>.

Lee, A.Y.L. *et al.* (2019) 'Cell of origin affects tumour development and phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma', *Gut*, 68(3), pp. 487–498. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314426>.

Leontieva, O. V. and Blagosklonny, M. V. (2013) 'CDK4/6-inhibiting drug substitutes for p21 and p16 in senescence: Duration of cell cycle arrest and MTOR activity determine geroconversion', *Cell Cycle*, 12(18), pp. 3063–3069. Available at: <https://doi.org/10.4161/cc.26130>.

Li, S. *et al.* (2022) 'Cancer Risks Associated With BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants', *Journal of Clinical Oncology*, 40(14), pp. 1529–1541. Available at: <https://doi.org/10.1200/jco.21.02112>.

Li, Y.J. *et al.* (2017) 'Autophagy and multidrug resistance in cancer', *Chinese journal of cancer*. Chin J Cancer, p. 52. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40880-017-0219-2>.

Liang, C. *et al.* (2020) 'Localisation of PGK1 determines metabolic phenotype to balance metastasis and proliferation in patients with SMAD4-negative pancreatic cancer', *Gut*, 69(5), pp. 888–900. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018->

317163.

Ligorio, M. *et al.* (2019) 'Stromal Microenvironment Shapes the Intratumoral Architecture of Pancreatic Cancer', *Cell*, 178(1), pp. 160-175.e27. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.012>.

Liou, G.Y. (2019) 'CD133 as a regulator of cancer metastasis through the cancer stem cells', *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 106, pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.10.013>.

Lito, P. *et al.* (2016) 'Cancer therapeutics: Allele-specific inhibitors inactivate mutant KRAS G12C by a trapping mechanism', *Science*, 351(6273), pp. 604–608. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aad6204>.

Liu, J.F. *et al.* (2014) 'Combination cediranib and olaparib versus olaparib alone for women with recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: A randomised phase 2 study', *The Lancet Oncology*, 15(11), pp. 1207–1214. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70391-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70391-2).

Liu, Xiaoqian *et al.* (2022) 'Multi-omics analysis of intra-tumoural and inter-tumoural heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma', *Clinical and Translational Medicine*, 12(1). Available at: <https://doi.org/10.1002/ctm2.670>.

Liu, Y. *et al.* (2020) 'Anti-EGFR chimeric antigen receptor-modified T cells in metastatic pancreatic carcinoma: A phase I clinical trial', *Cytotherapy*, 22(10), pp. 573–580. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.04.088>.

Lowery, M.A. *et al.* (2017) 'Real-time genomic profiling of pancreatic ductal adenocarcinoma: Potential actionability and correlation with clinical phenotype', *Clinical Cancer Research*, 23(20), pp. 6094–6100. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0899>.

Lowery, M.A. *et al.* (2018) 'Phase II trial of veliparib in patients with previously treated BRCA-mutated pancreas ductal adenocarcinoma', *European Journal of Cancer*, 89, pp. 19–26. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.11.004>.

Lu, H. *et al.* (2019) 'SHP2 inhibition overcomes RTK-mediated pathway reactivation in KRAS-mutant tumors treated with MEK inhibitors', *Molecular Cancer Therapeutics*, 18(7), pp. 1323–1334. Available at: <https://doi.org/10.1158/1535->

7163.MCT-18-0852.

Luo, J. (2021) 'KRAS mutation in pancreatic cancer', *Seminars in Oncology*. W.B. Saunders, pp. 10–18. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2021.02.003>.

Van Mackelenbergh, M.G. *et al.* (2019) 'Clinical trials targeting the stroma in pancreatic cancer: A systematic review and meta-analysis', *Cancers*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers11050588>.

Makohon-Moore, A. and Iacobuzio-Donahue, C.A. (2016) 'Pancreatic cancer biology and genetics from an evolutionary perspective', *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group, pp. 553–565. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.66>.

Marabelle, A. *et al.* (2020) 'Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/ mismatch repair-deficient cancer: Results from the phase II KEYNOTE-158 study', *Journal of Clinical Oncology*, 38(1), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02105>.

Masso-Valles, D. *et al.* (2015) 'Ibrutinib exerts potent antifibrotic and antitumor activities in mouse models of pancreatic adenocarcinoma', *Cancer Research*, 75(8), pp. 1675–1681. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-2852>.

Mavrakis, K.J. *et al.* (2016) 'Disordered methionine metabolism in MTAP/CDKN2A-deleted cancers leads to dependence on PRMT5', *Science*, 351(6278), pp. 1208–1213. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aad5944>.

Mazur, P.K. *et al.* (2015) 'Combined inhibition of BET family proteins and histone deacetylases as a potential epigenetics-based therapy for pancreatic ductal adenocarcinoma', *Nature Medicine*, 21(10), pp. 1163–1171. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.3952>.

Middleton, G. *et al.* (2017) 'Vandetanib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in locally advanced or metastatic pancreatic carcinoma (ViP): a prospective, randomised, double-blind, multicentre phase 2 trial', *The Lancet Oncology*, 18(4), pp. 486–499. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30084-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30084-0).

Moffitt, R.A. *et al.* (2015) 'Virtual microdissection identifies distinct tumor- and stroma-specific subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma', *Nature Genetics*,

47(10), pp. 1168–1178. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng.3398>.

Moldovan, G.L. and D'Andrea, A.D. (2009) 'How the fanconi anemia pathway guards the genome', *Annual Review of Genetics*. *Annu Rev Genet*, pp. 223–249. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134222>.

Moore, M.J. *et al.* (2007) 'Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: A phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group', *Journal of Clinical Oncology*, 25(15), pp. 1960–1966. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.07.9525>.

Mortoglou, M. *et al.* (2022) 'microRNA-21 Regulates Stemness in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells', *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms23031275>.

Munekage, E. *et al.* (2021) 'A glypican-1-targeted antibody-drug conjugate exhibits potent tumor growth inhibition in glypican-1-positive pancreatic cancer and esophageal squamous cell carcinoma', *Neoplasia (United States)*, 23(9), pp. 939–950. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2021.07.006>.

Murphy, S.J. *et al.* (2013) 'Genetic alterations associated with progression from pancreatic intraepithelial neoplasia to invasive pancreatic tumor', *Gastroenterology*, 145(5). Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.07.049>.

Navas, C. *et al.* (2012) 'EGF Receptor Signaling Is Essential for K-Ras Oncogene-Driven Pancreatic Ductal Adenocarcinoma', *Cancer Cell*, 22(3), pp. 318–330. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.08.001>.

Nesse, A. *et al.* (2013) 'CTGF antagonism with mAb FG-3019 enhances chemotherapy response without increasing drug delivery in murine ductal pancreas cancer', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(30), pp. 12325–12330. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1300415110>.

Neureiter, D. *et al.* (2014) 'Epigenetics and pancreatic cancer: Pathophysiology and novel treatment aspects', *World Journal of Gastroenterology*, 20(24), pp. 7830–7848. Available at: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i24.7830>.

Nevala-Plagemann, C., Hidalgo, M. and Garrido-Laguna, I. (2020) 'From state-of-

the-art treatments to novel therapies for advanced-stage pancreatic cancer’, *Nature Reviews Clinical Oncology*. Nature Research, pp. 108–123. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0281-6>.

Nimmakayala, R.K. *et al.* (2021) ‘Metabolic programming of distinct cancer stem cells promotes metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Oncogene*, 40(1), pp. 215–231. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41388-020-01518-2>.

Nishigaki, T. *et al.* (2020) ‘Anti-glypican-1 antibody–drug conjugate is a potential therapy against pancreatic cancer’, *British Journal of Cancer*, 122(9), pp. 1333–1341. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41416-020-0781-2>.

Niyaz, M. *et al.* (2020) ‘Sonic Hedgehog Protein is Frequently Up-Regulated in Pancreatic Cancer Compared to Colorectal Cancer’, *Pathology and Oncology Research*, 26(1), pp. 551–557. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12253-018-00564-2>.

Noel, M. *et al.* (2020) ‘Phase 1b study of a small molecule antagonist of human chemokine (C-C motif) receptor 2 (PF-04136309) in combination with nab-paclitaxel/gemcitabine in first-line treatment of metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Investigational New Drugs*, 38(3), pp. 800–811. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10637-019-00830-3>.

Nywening, T.M. *et al.* (2016) ‘Targeting tumour-associated macrophages with CCR2 inhibition in combination with FOLFIRINOX in patients with borderline resectable and locally advanced pancreatic cancer: A single-centre, open-label, dose-finding, non-randomised, phase 1b trial’, *The Lancet Oncology*, 17(5), pp. 651–662. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)00078-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)00078-4).

O’Neil, B.H. *et al.* (2015) ‘A phase II/III randomized study to compare the efficacy and safety of rigosertib plus gemcitabine versus gemcitabine alone in patients with previously untreated metastatic pancreatic cancer’, *Annals of Oncology*, 26(9), pp. 1923–1929. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv264>.

O’Reilly, E.M. *et al.* (2020) ‘Randomized, multicenter, phase II trial of gemcitabine and cisplatin with or without veliparib in patients with pancreas adenocarcinoma and a germline BRCA/ PALB2 mutation’, *Journal of Clinical Oncology*, 38(13), pp. 1378–1388. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02931>.

Oliner, J.D., Saiki, A.Y. and Caenepeel, S. (2016) 'The role of MDM2 amplification and overexpression in tumorigenesis', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(6). Available at: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026336>.

Ostrem, J.M.L. and Shokat, K.M. (2016) 'Direct small-molecule inhibitors of KRAS: From structural insights to mechanism-based design', *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group, pp. 771–785. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.139>.

Ou, S.-H.I. *et al.* (2022) 'First-in-Human Phase I/IB Dose-Finding Study of Adagrasib (MRTX849) in Patients With Advanced KRAS G12C Solid Tumors (KRYSTAL-1)', *Journal of Clinical Oncology*, 40(23). Available at: <https://doi.org/10.1200/jco.21.02752>.

Padrón, L.J. *et al.* (2022) 'Sotigalimab and/or nivolumab with chemotherapy in first-line metastatic pancreatic cancer: clinical and immunologic analyses from the randomized phase 2 PRINCE trial', *Nature Medicine*, 28(6), pp. 1167–1177. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01829-9>.

Papademetrio, D.L. *et al.* (2016) 'Inhibition of Survival Pathways MAPK and NF- κ B Triggers Apoptosis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells via Suppression of Autophagy', *Targeted Oncology*, 11(2), pp. 183–195. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11523-015-0388-3>.

Park, W. *et al.* (2020) 'Genomic methods identify homologous recombination deficiency in pancreas adenocarcinoma and optimize treatment selection', *Clinical Cancer Research*, 26(13), pp. 3239–3247. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-0418>.

Parriott, G. *et al.* (2020) 'T-cells expressing a chimeric-PD1-Dap10-CD3zeta receptor reduce tumour burden in multiple murine syngeneic models of solid cancer', *Immunology*, 160(3), pp. 280–294. Available at: <https://doi.org/10.1111/imm.13187>.

Patil, D.T. *et al.* (2012) 'A five-marker panel in a multiplex pcr accurately detects microsatellite instability-high colorectal tumors without control DNA', *Diagnostic Molecular Pathology*, 21(3), pp. 127–133. Available at: <https://doi.org/10.1097/PDM.0b013e3182461cc3>.

- Patricelli, M.P. *et al.* (2016) 'Selective inhibition of oncogenic KRAS output with small molecules targeting the inactive state', *Cancer Discovery*, 6(3), pp. 316–329. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1105>.
- Pekarek, L. *et al.* (2022) 'Clinical Applications of Classical and Novel Biological Markers of Pancreatic Cancer.', *Cancers*, 14(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14081866>.
- Perera, R.M. *et al.* (2015) 'Transcriptional control of autophagy-lysosome function drives pancreatic cancer metabolism', *Nature*, 524(7565), pp. 361–365. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature14587>.
- Pérez-Mancera, P.A. *et al.* (2012) 'What we have learned about pancreatic cancer from mouse models', *Gastroenterology*, 142(5), pp. 1079–1092. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.03.002>.
- Perkhofer, L. *et al.* (2021) 'DNA damage repair as a target in pancreatic cancer: State-of-the-art and future perspectives', *Gut*. BMJ Publishing Group, pp. 606–617. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319984>.
- Petersen, G.M. *et al.* (2010) 'A genome-wide association study identifies pancreatic cancer susceptibility loci on chromosomes 13q22.1, 1q32.1 and 5p15.33', *Nature Genetics*, 42(3), pp. 224–228. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng.522>.
- Philip, P.A. *et al.* (2010) 'Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest oncology group-directed intergroup trial S0205', *Journal of Clinical Oncology*, 28(22), pp. 3605–3610. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.7550>.
- Picozzi, V. *et al.* (2020) 'Gemcitabine/nab-paclitaxel with pamrevlumab: A novel drug combination and trial design for the treatment of locally advanced pancreatic cancer', *ESMO Open*, 5(4). Available at: <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2019-000668>.
- Piffoux, M., Eriau, E. and Cassier, P.A. (2021) 'Autophagy as a therapeutic target in pancreatic cancer', *British Journal of Cancer*. Springer Nature, pp. 333–344. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01039-5>.
- Pihlak, R. *et al.* (2018) 'Advances in Molecular Profiling and Categorisation of

- Pancreatic Adenocarcinoma and the Implications for Therapy.’, *Cancers*, 10(1). Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers10010017>.
- Pishvaian, M.J. *et al.* (2017) ‘BRCA2 secondary mutation-mediated resistance to platinum and PARP inhibitor-based therapy in pancreatic cancer’, *British Journal of Cancer*, 116(8), pp. 1021–1026. Available at: <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.40>.
- Pishvaian, M.J., Wang, H., *et al.* (2020) ‘A Phase I/II Study of Veliparib (ABT-888) in Combination with 5-Fluorouracil and Oxaliplatin in Patients with Metastatic Pancreatic Cancer’, *Clinical Cancer Research*, 26(19), pp. 5092–5101. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-1301>.
- Pishvaian, M.J., Blais, E.M., *et al.* (2020) ‘Overall survival in patients with pancreatic cancer receiving matched therapies following molecular profiling: a retrospective analysis of the Know Your Tumor registry trial’, *The Lancet Oncology*, 21(4), pp. 508–518. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30074-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30074-7).
- Pokataev, I. *et al.* (2019) ‘Intratumoral Heterogeneity of SMAD4 Immunohistochemical Expression and Its Role in Prediction of Recurrence Pattern in Patients with Resectable Pancreatic Cancer’, *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 50(3), pp. 478–484. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12029-018-0103-6>.
- Polireddy, K. and Chen, Q. (2016) ‘Cancer of the pancreas: Molecular pathways and current advancement in treatment’, *Journal of Cancer*. Ivyspring International Publisher, pp. 1497–1514. Available at: <https://doi.org/10.7150/jca.14922>.
- Porcelli, L. *et al.* (2019) ‘CAFs and TGF- β signaling activation by mast cells contribute to resistance to Gemcitabine/Nabpaclitaxel in Pancreatic Cancer’, *Cancers*, 11(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers11030330>.
- Posey, A.D. *et al.* (2016) ‘Engineered CAR T Cells Targeting the Cancer-Associated Tn-Glycoform of the Membrane Mucin MUC1 Control Adenocarcinoma’, *Immunity*, 44(6), pp. 1444–1454. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.014>.
- Pourshams, A. *et al.* (2019) ‘The global, regional, and national burden of pancreatic cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017’, *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 4(12), pp. 934–947. Available at:

[https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30347-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30347-4).

Poveda, A. *et al.* (2021) ‘Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial’, *The Lancet Oncology*, 22(5), pp. 620–631. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00073-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00073-5).

Principe, D.R. (2022) ‘Precision Medicine for BRCA/PALB2-Mutated Pancreatic Cancer and Emerging Strategies to Improve Therapeutic Responses to PARP Inhibition.’, *Cancers*, 14(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14040897>.

Prior, I.A., Hood, F.E. and Hartley, J.L. (2020) ‘The frequency of ras mutations in cancer’, *Cancer Research*, 80(14), pp. 2669–2974. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-3682>.

Puleo, F. *et al.* (2018) ‘Stratification of Pancreatic Ductal Adenocarcinomas Based on Tumor and Microenvironment Features’, *Gastroenterology*, 155(6), pp. 1999-2013.e3. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.033>.

Punekar, S.R. *et al.* (2022) ‘The current state of the art and future trends in RAS-targeted cancer therapies.’, *Nature reviews. Clinical oncology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00671-9>.

Qian, Y. *et al.* (2020) ‘Molecular alterations and targeted therapy in pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Journal of Hematology and Oncology*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00958-3>.

Racu, M.L. *et al.* (2022) ‘The Role of SMAD4 Inactivation in Epithelial–Mesenchymal Plasticity of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: The Missing Link?’, *Cancers*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14040973>.

Rahib, L. *et al.* (2014) ‘Projecting cancer incidence and deaths to 2030: The unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the united states’, *Cancer Research*. American Association for Cancer Research Inc., pp. 2913–2921. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0155>.

Ramanathan, R.K. *et al.* (2019) ‘Phase IB/II randomized study of FOLFIRINOX plus pegylated recombinant human hyaluronidase versus FOLFIRINOX alone in patients

- with metastatic pancreatic adenocarcinoma: SWOG S1313', in *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology, pp. 1062–1069. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.18.01295>.
- Rangwala, R. *et al.* (2014) 'Combined MTOR and autophagy inhibition: Phase I trial of hydroxychloroquine and temsirolimus in patients with advanced solid tumors and melanoma', *Autophagy*, 10(8), pp. 1391–1402. Available at: <https://doi.org/10.4161/auto.29119>.
- Raphael, B.J. *et al.* (2017) 'Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma', *Cancer Cell*, 32(2), pp. 185-203.e13. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.07.007>.
- Rashid, N.U. *et al.* (2020) 'Purity Independent Subtyping of Tumors (PurIST), A Clinically Robust, Single-sample Classifier for Tumor Subtyping in Pancreatic Cancer', *Clinical Cancer Research*, 26(1), pp. 82–92. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1467>.
- Rawla, P., Sunkara, T. and Gaduputi, V. (2019) 'Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors', *World Journal of Oncology*, 10(1), pp. 10–27. Available at: <https://doi.org/10.14740/wjon1166>.
- Reiss, K.A. *et al.* (2021) 'Phase II Study of Maintenance Rucaparib in Patients With Platinum-Sensitive Advanced Pancreatic Cancer and a Pathogenic Germline or Somatic Variant in BRCA1, BRCA2, or PALB2', *Journal of Clinical Oncology*, 39(22), pp. 2497–2505. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.21.00003>.
- Ribic, C.M. *et al.* (2003) 'Tumor Microsatellite-Instability Status as a Predictor of Benefit from Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy for Colon Cancer', *New England Journal of Medicine*, 349(3), pp. 247–257. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa022289>.
- Ringshausen, I. *et al.* (2006) 'Mdm2 is critically and continuously required to suppress lethal p53 activity in vivo', *Cancer Cell*, 10(6), pp. 501–514. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.10.010>.
- Roalsø, M.T.T. *et al.* (2022) 'Emerging Role of Epigenetic Alterations as Biomarkers and Novel Targets for Treatments in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma.', *Cancers*,

- 14(3), p. 546. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14030546>.
- Roberts, N.J. *et al.* (2016) ‘Whole genome sequencing defines the genetic heterogeneity of familial pancreatic cancer’, *Cancer Discovery*, 6(2), pp. 166–175. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0402>.
- Robson, M. *et al.* (2017) ‘Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation’, *New England Journal of Medicine*, 377(6), pp. 523–533. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1706450>.
- Royal, R.E. *et al.* (2010) ‘Phase 2 trial of single agent ipilimumab (Anti-CTLA-4) for locally advanced or metastatic pancreatic adenocarcinoma’, *Journal of Immunotherapy*, 33(8), pp. 828–833. Available at: <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3181eec14c>.
- Ruess, D.A. *et al.* (2018) ‘Mutant KRAS-driven cancers depend on PTPN11/SHP2 phosphatase’, *Nature Medicine*, 24(7), pp. 954–960. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0024-8>.
- Ryan, D.P., Hong, T.S. and Bardeesy, N. (2014) ‘Pancreatic Adenocarcinoma’, *New England Journal of Medicine*, 371(11), pp. 1039–1049. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1404198>.
- Ryu, J.K. *et al.* (2010) ‘Aberrant microRNA-155 expression is an early event in the multistep progression of pancreatic adenocarcinoma’, *Pancreatology*, 10(1), pp. 66–73. Available at: <https://doi.org/10.1159/000231984>.
- Sachdev, E. *et al.* (2019) ‘PARP Inhibition in Cancer: An Update on Clinical Development’, *Targeted Oncology*. Adis, pp. 657–679. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11523-019-00680-2>.
- Sahin, I.H., Iacobuzio-Donahue, C.A. and O'Reilly, E.M. (2016) ‘Molecular signature of pancreatic adenocarcinoma: An insight from genotype to phenotype and challenges for targeted therapy’, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. Taylor and Francis Ltd, pp. 341–359. Available at: <https://doi.org/10.1517/14728222.2016.1094057>.
- Sanchez-Vega, F. *et al.* (2018) ‘Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas’, *Cell*, 173(2), pp. 321–337.e10. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.035>.

- Santana-Codina, N. *et al.* (2018) ‘Oncogenic KRAS supports pancreatic cancer through regulation of nucleotide synthesis’, *Nature Communications*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07472-8>.
- Sato, N. *et al.* (2001) ‘STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene inactivation in intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas’, *American Journal of Pathology*, 159(6), pp. 2017–2022. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63053-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63053-2).
- Schaft, N. (2020) ‘The landscape of car-t cell clinical trials against solid tumors—a comprehensive overview’, *Cancers*. MDPI AG, pp. 1–36. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers12092567>.
- Scheffzek, K. *et al.* (1997) ‘The Ras-RasGAP complex: Structural basis for GTPase activation and its loss in oncogenic ras mutants’, *Science*, 277(5324), pp. 333–338. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.277.5324.333>.
- Schettini, F. *et al.* (2018) ‘CDK 4/6 inhibitors as single agent in advanced solid tumors’, *Frontiers in Oncology*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00608>.
- Schram, A.M. *et al.* (2022) ‘Zenocutuzumab, a HER2xHER3 Bispecific Antibody, Is Effective Therapy for Tumors Driven by NRG1 Gene Rearrangements’, *Cancer Discovery*, 12(5), pp. 1233–1247. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1119>.
- Schultheis, B. *et al.* (2017) ‘Gemcitabine combined with the monoclonal antibody nimotuzumab is an active first-line regimen in KRAS wildtype patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer: A multicenter, randomized phase IIb study’, *Annals of Oncology*, 28(10), pp. 2429–2435. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx343>.
- Schwarte-Waldhoff, I. *et al.* (2000) ‘Smad4/DPC4-mediated tumor suppression through suppression of angiogenesis’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(17), pp. 9624–9629. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.97.17.9624>.
- Serrano, M., Hannon, G.J. and Beach, D. (1993) ‘A new regulatory motif in cell-cycle

control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4', *Nature*, 366(6456), pp. 704–707. Available at: <https://doi.org/10.1038/366704a0>.

Settembre, C. *et al.* (2011) 'TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis', *Science*, 332(6036), pp. 1429–1433. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1204592>.

Shi, L. *et al.* (2019) 'Combination Therapy of TGF- β Blockade and Commensal-derived Probiotics Provides Enhanced Antitumor Immune Response and Tumor Suppression', *Theranostics*, 9(14), pp. 4115–4129. Available at: <https://doi.org/10.7150/thno.35131>.

Shi, Y. *et al.* (1997) 'A structural basis for mutational inactivation of the tumour suppressor Smad4', *Nature*, 388(6637), pp. 87–93. Available at: <https://doi.org/10.1038/40431>.

Shindo, K. *et al.* (2017) 'Deleterious germline mutations in patients with apparently sporadic pancreatic adenocarcinoma', *Journal of Clinical Oncology*, 35(30), pp. 3382–3390. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.72.3502>.

Shroff, R.T. *et al.* (2018) 'Rucaparib Monotherapy in Patients With Pancreatic Cancer and a Known Deleterious BRCA Mutation', *JCO Precision Oncology*, 2018(2), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1200/po.17.00316>.

Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2019) 'Cancer statistics, 2019', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(1), pp. 7–34. Available at: <https://doi.org/10.3322/caac.21551>.

Singh, R.R. and O'Reilly, E.M. (2020) 'New Treatment Strategies for Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma', *Drugs*. Adis, pp. 647–669. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01304-0>.

Singhi, A.D. *et al.* (2019) 'Real-Time Targeted Genome Profile Analysis of Pancreatic Ductal Adenocarcinomas Identifies Genetic Alterations That Might Be Targeted With Existing Drugs or Used as Biomarkers', *Gastroenterology*, 156(8), pp. 2242–2253.e4. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.02.037>.

Sinn, M. *et al.* (2017) 'CONKO-005: Adjuvant chemotherapy with gemcitabine plus erlotinib versus gemcitabine alone in patients after r0 resection of pancreatic cancer: A multicenter randomized phase III trial', *Journal of Clinical Oncology*, 35(29), pp.

3330–3337. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.72.6463>.

Skoulidis, F. *et al.* (2021) ‘Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation’, *New England Journal of Medicine*, 384(25), pp. 2371–2381. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2103695>.

Slater, E.P. *et al.* (2010) ‘PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families’, *Clinical Genetics*, 78(5), pp. 490–494. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2010.01425.x>.

Sohal, D.P.S. *et al.* (2020) ‘Metastatic pancreatic cancer: ASCO guideline update’, *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology, pp. 3217–3230. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.20.01364>.

Sonbol, M.B. *et al.* (2019) ‘CanStem111P trial: A Phase III study of napabucasin plus nab-paclitaxel with gemcitabine’, *Future Oncology*, 15(12), pp. 1295–1302. Available at: <https://doi.org/10.2217/fon-2018-0903>.

Steele, C.W. *et al.* (2011) ‘Clinical potential of microRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma’, in *Pancreas*, pp. 1165–1171. Available at: <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3182218ffb>.

Stoffel, E.M., McKernin, S.E. and Khorana, A.A. (2019) ‘Evaluating susceptibility to pancreatic cancer: ASCO clinical practice provisional clinical opinion summary’, *Journal of Oncology Practice*. American Society of Clinical Oncology, pp. 108–111. Available at: <https://doi.org/10.1200/JOP.18.00629>.

Stracker, T.H. *et al.* (2013) ‘The ATM signaling network in development and disease’, *Frontiers in Genetics*. Front Genet. Available at: <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00037>.

Su, G.H. *et al.* (1999) ‘Germline and somatic mutations of the STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene in pancreatic and biliary cancers’, *American Journal of Pathology*, 154(6), pp. 1835–1840. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65440-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65440-5).

Sulahian, R. *et al.* (2019) ‘Synthetic Lethal Interaction of SHOC2 Depletion with MEK Inhibition in RAS-Driven Cancers’, *Cell Reports*, 29(1), pp. 118–134.e8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.090>.

Sullivan, R.J. *et al.* (2018) ‘First-in-class ERK1/2 inhibitor ulixertinib (BVD-523) in patients with MAPK mutant advanced solid tumors: Results of a phase I dose-escalation and expansion study’, *Cancer Discovery*, 8(2), pp. 184–195. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1119>.

Sun, K. *et al.* (2021) ‘YAP1 is a Prognostic Biomarker and Correlated with Immune Cell Infiltration in Pancreatic Cancer’, *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.625731>.

Sun, S. *et al.* (2020) ‘Hotspot mutant p53-R273H inhibits KLF6 expression to promote cell migration and tumor metastasis’, *Cell Death and Disease*, 11(7). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02814-1>.

Sung, H. *et al.* (2021) ‘Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries’, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), pp. 209–249. Available at: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.

Suraweera, N. *et al.* (2002) ‘Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR’, *Gastroenterology*, 123(6), pp. 1804–1811. Available at: <https://doi.org/10.1053/gast.2002.37070>.

Szafranska, A.E. *et al.* (2007) ‘MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma’, *Oncogene*, 26(30), pp. 4442–4452. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210228>.

Szulzewsky, F., Holland, E.C. and Vasioukhin, V. (2021) ‘YAP1 and its fusion proteins in cancer initiation, progression and therapeutic resistance’, *Developmental Biology*, 475, pp. 205–221. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2020.12.018>.

Taieb, J. *et al.* (2019) ‘Prognosis of microsatellite instability and/or mismatch repair deficiency stage III colon cancer patients after disease recurrence following adjuvant treatment: Results of an ACCENT pooled analysis of seven studies’, *Annals of Oncology*, 30(9), pp. 1466–1471. Available at: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz208>.

Taniguchi, Y. (2016) ‘The bromodomain and extra-terminal domain (BET) family:

Functional anatomy of BET paralogous proteins’, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms17111849>.

Tempero, M. *et al.* (2021) ‘Ibrutinib in combination with nab-paclitaxel and gemcitabine for first-line treatment of patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma: phase III RESOLVE study’, *Annals of Oncology*, 32(5), pp. 600–608. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.01.070>.

Tempero, M.A. *et al.* (2021) ‘Pancreatic adenocarcinoma, Version 2.2021’, *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. Harborside Press, pp. 439–457. Available at: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2021.0017>.

Thomas, H. (2015) ‘Therapy: Targeting chromatin remodelling proteins to treat pancreatic cancer’, *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. Nature Publishing Group, p. 608. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.171>.

Thompson, J.K. and Bednar, F. (2021) ‘Clinical utility of epigenetic changes in pancreatic adenocarcinoma’, *Epigenomes*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/EPIGENOMES5040020>.

Tinari, N. *et al.* (2012) ‘An Epigenetic Approach to Pancreatic Cancer Treatment: The Prospective Role of Histone Deacetylase Inhibitors’, *Current Cancer Drug Targets*, 12(4), pp. 439–452. Available at: <https://doi.org/10.2174/156800912800190884>.

Todoric, J. *et al.* (2017) ‘Stress-Activated NRF2-MDM2 Cascade Controls Neoplastic Progression in Pancreas’, *Cancer Cell*, 32(6), pp. 824-839.e8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.10.011>.

Torres-Ayuso, P. and Brognard, J. (2018) ‘Shipping out mek inhibitor resistance with shp2 inhibitors’, *Cancer Discovery*, 8(10), pp. 1210–2. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0915>.

Tran, E. *et al.* (2016) ‘T-Cell Transfer Therapy Targeting Mutant KRAS in Cancer’, *New England Journal of Medicine*, 375(23), pp. 2255–2262. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1609279>.

Truong, L.H. and Pauklin, S. (2021) ‘Pancreatic cancer microenvironment and cellular composition: Current understandings and therapeutic approaches’, *Cancers*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers13195028>.

- Tsuchida, N., Murugan, A.K. and Grieco, M. (2016) 'Kirsten Ras* oncogene: Significance of its discovery in human cancer research', *Oncotarget*. Impact Journals LLC, pp. 46717–46733. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8773>.
- Turpin, A. *et al.* (2022) 'Therapeutic advances in metastatic pancreatic cancer: a focus on targeted therapies', *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 14, p. 175883592211180. Available at: <https://doi.org/10.1177/17588359221118019>.
- Vassilev, L.T. *et al.* (2004) 'In Vivo Activation of the p53 Pathway by Small-Molecule Antagonists of MDM2', *Science*, 303(5659), pp. 844–848. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1092472>.
- Venkitaraman, A.R. (2019) 'How do mutations affecting the breast cancer genes BRCA1 and BRCA2 cause cancer susceptibility?', *DNA Repair*. Elsevier B.V., p. 102668. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102668>.
- Vilgelm, A.E. *et al.* (2019) 'MDM2 antagonists overcome intrinsic resistance to CDK4/6 inhibition by inducing p21', *Science Translational Medicine*, 11(505). Available at: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav7171>.
- Villarroel, M.C. *et al.* (2011) 'Personalizing cancer treatment in the age of global genomic analyses: PALB2 gene mutations and the response to DNA damaging agents in pancreatic cancer', *Molecular Cancer Therapeutics*, 10(1), pp. 3–8. Available at: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0893>.
- Vogelstein, B., Lane, D. and Levine, A.J. (2000) 'Surfing the p53 network', *Nature*, 408(6810), pp. 307–310. Available at: <https://doi.org/10.1038/35042675>.
- Waddell, N.N. *et al.* (2015) 'Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer', *Nature*, 518(7540), pp. 495–501. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature14169>.
- Wainberg, Z.A. *et al.* (2020) 'Open-label, Phase I Study of Nivolumab Combined with nab-Paclitaxel plus Gemcitabine in Advanced Pancreatic Cancer', *Clinical Cancer Research*, 26(18), pp. 4814–4822. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-0099>.
- Wang, F. *et al.* (2018) 'SMAD4 gene mutation renders pancreatic cancer resistance to radiotherapy through promotion of autophagy', *Clinical Cancer Research*, 24(13), pp.

3176–3185. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3435>.

Wang, L. *et al.* (2018) ‘Resetting the epigenetic balance of Polycomb and COMPASS function at enhancers for cancer therapy’, *Nature Medicine*, 24(6), pp. 758–769. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0034-6>.

Wang, S.S. *et al.* (2021) ‘Epigenetic alterations in pancreatic cancer metastasis’, *Biomolecules*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/biom11081082>.

Wang, W. *et al.* (2014) ‘Identification of a new class of MDM2 inhibitor that inhibits growth of orthotopic pancreatic tumors in mice’, *Gastroenterology*, 147(4), pp. 893–902.e2. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.07.001>.

Wang, W. *et al.* (2018) ‘Discovery and characterization of dual inhibitors of MDM2 and NFAT1 for pancreatic cancer therapy’, *Cancer Research*, 78(19), pp. 5656–5667. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-3939>.

Wang, Y. *et al.* (2018) ‘CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: A phase I trial’, *OncoImmunology*, 7(7). Available at: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1440169>.

Weinstein, J.N. *et al.* (2013) ‘The cancer genome atlas pan-cancer analysis project’, *Nature Genetics*, 45(10), pp. 1113–1120. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng.2764>.

White, E. (2015) ‘The role for autophagy in cancer’, *Journal of Clinical Investigation*. American Society for Clinical Investigation, pp. 42–46. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI73941>.

Wilentz, Robb E. *et al.* (2000) ‘Genetic, immunohistochemical, and clinical features of medullary carcinoma of the pancreas: A newly described and characterized entity’, *American Journal of Pathology*, 156(5), pp. 1641–1651. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65035-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65035-3).

Wilentz, R. E. *et al.* (2000) ‘Immunohistochemical labeling for Dpc4 mirrors genetic status in pancreatic adenocarcinomas: A new marker of DPC4 inactivation’, *American Journal of Pathology*, 156(1), pp. 37–43. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64703-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64703-7).

Witkiewicz, A.K. *et al.* (2015) ‘Whole-exome sequencing of pancreatic cancer

- defines genetic diversity and therapeutic targets’, *Nature Communications*, 6. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms7744>.
- Woerner, S.M. *et al.* (2009) ‘SelTarbase, a database of human mononucleotide-microsatellite mutations and their potential impact to tumorigenesis and immunology’, *Nucleic Acids Research*, 38(SUPPL.1). Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp839>.
- Wolpin, B.M. *et al.* (2009) ‘Oral mTOR inhibitor everolimus in patients with gemcitabine-refractory metastatic pancreatic cancer’, *Journal of Clinical Oncology*, 27(2), pp. 193–198. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.9514>.
- Wolpin, B.M. *et al.* (2014) ‘Phase II and Pharmacodynamic Study of Autophagy Inhibition Using Hydroxychloroquine in Patients With Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma’, *The Oncologist*, 19(6), pp. 637–638. Available at: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2014-0086>.
- Wong, K.M. *et al.* (2017) ‘Targeting the Tumor Stroma: the Biology and Clinical Development of Pegylated Recombinant Human Hyaluronidase (PEGPH20)’, *Current Oncology Reports*. Current Medicine Group LLC 1. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11912-017-0608-3>.
- Wörmann, S.M. *et al.* (2016) ‘Loss of P53 Function Activates JAK2–STAT3 Signaling to Promote Pancreatic Tumor Growth, Stroma Modification, and Gemcitabine Resistance in Mice and Is Associated With Patient Survival’, *Gastroenterology*, 151(1), pp. 180-193.e12. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.010>.
- Wright, W.D., Shah, S.S. and Heyer, W.D. (2018) ‘Homologous recombination and the repair of DNA double-strand breaks’, *Journal of Biological Chemistry*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc., pp. 10524–10535. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.000372>.
- Xelwa, N. *et al.* (2021) ‘Targeting Growth Factor Signaling Pathways in Pancreatic Cancer: Towards Inhibiting Chemoresistance.’, *Frontiers in oncology*, 11, p. 683788. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.683788>.
- Xia, B. *et al.* (2006) ‘Control of BRCA2 Cellular and Clinical Functions by a Nuclear

- Partner, PALB2', *Molecular Cell*, 22(6), pp. 719–729. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.05.022>.
- Xia, X. *et al.* (2015) 'SMAD4 and its role in pancreatic cancer', *Tumor Biology*. Kluwer Academic Publishers, pp. 111–119. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2883-z>.
- Xiang, X.S. *et al.* (2022) 'Histone deacetylases: A novel class of therapeutic targets for pancreatic cancer', *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*. Elsevier B.V. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188676>.
- Xu, H. *et al.* (2022) 'Safety and efficacy profile of Trastuzumab deruxtecan in solid cancer: pooled reanalysis based on clinical trials.', *BMC cancer*, 22(1), p. 923. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12885-022-10015-6>.
- Xu, J. *et al.* (2022) 'Advances in Research on the Effects and Mechanisms of Chemokines and Their Receptors in Cancer.', *Frontiers in pharmacology*, 13, p. 920779. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.920779>.
- Xue, J.Y. *et al.* (2020) 'Rapid non-uniform adaptation to conformation-specific KRAS(G12C) inhibition', *Nature*, 577(7790), pp. 421–425. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1884-x>.
- Xue, Y. *et al.* (2013) 'MicroRNAs as diagnostic markers for pancreatic ductal adenocarcinoma and its precursor, pancreatic intraepithelial neoplasm', *Cancer Genetics*, 206(6), pp. 217–221. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2013.05.020>.
- Yamamoto, H. *et al.* (2001) 'Genetic and clinical features of human pancreatic ductal adenocarcinomas with widespread microsatellite instability', *Cancer Research*, 61(7), pp. 3139–3144.
- Yamamoto, K. *et al.* (2016) 'Stromal remodeling by the BET bromodomain inhibitor JQ1 suppresses the progression of human pancreatic cancer', *Oncotarget*, 7(38), pp. 61469–61484. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11129>.
- Yang, G., Zheng, R. yi and Jin, Z. shun (2019) 'Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours', *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Springer Verlag, pp. 2891–2899. Available at:

<https://doi.org/10.1007/s00432-019-03053-4>.

Yang, S. *et al.* (2011) 'Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth', *Genes and Development*, 25(7), pp. 717–729. Available at:

<https://doi.org/10.1101/gad.2016111>.

Yang, S. and Kimmelman, A.C. (2011) 'A critical role for autophagy in pancreatic cancer.', *Autophagy*, 7(8), pp. 912–3. Available at:

<https://doi.org/10.4161/auto.7.8.15762>.

Yang, X. *et al.* (2020) 'Cancer risks associated with germline PALB2 pathogenic variants: An international study of 524 families', *Journal of Clinical Oncology*, 38(7), pp. 674–685. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01907>.

Yang, Z. *et al.* (2005) 'Recruitment of P-TEFb for stimulation of transcriptional elongation by the bromodomain protein Brd4', *Molecular Cell*, 19(4), pp. 535–545. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.06.029>.

Yang, Z., He, N. and Zhou, Q. (2008) 'Brd4 Recruits P-TEFb to Chromosomes at Late Mitosis To Promote G 1 Gene Expression and Cell Cycle Progression ', *Molecular and Cellular Biology*, 28(3), pp. 967–976. Available at:

<https://doi.org/10.1128/mcb.01020-07>.

Yarchoan, M., Hopkins, A. and Jaffee, E.M. (2017) 'Tumor Mutational Burden and Response Rate to PD-1 Inhibition', *New England Journal of Medicine*, 377(25), pp. 2500–2501. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmc1713444>.

Yu, J. *et al.* (2017) 'Digital next-generation sequencing identifies low-abundance mutations in pancreatic juice samples collected from the duodenum of patients with pancreatic cancer and intraductal papillary mucinous neoplasms', *Gut*, 66(9), pp. 1677–1687. Available at: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-311166>.

Zawacka-Pankau, J. and Selivanova, G. (2015) 'Pharmacological reactivation of p53 as a strategy to treat cancer', *Journal of Internal Medicine*, 277(2), pp. 248–259. Available at: <https://doi.org/10.1111/joim.12336>.

Zeng, S. *et al.* (2019) 'Chemoresistance in pancreatic cancer', *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. Available at:

<https://doi.org/10.3390/ijms20184504>.

- Zhan, W. *et al.* (2018) 'Germline Variants and Risk for Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Emerging Concepts', *Pancreas*. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 924–936. Available at: <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001136>.
- Zhang, J., Li, R. and Huang, S. (2022) 'The immunoregulation effect of tumor microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma', *Frontiers in Oncology*, 12. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.951019>.
- Zhang, X. *et al.* (2020) 'Characterization of a dual BET/HDAC inhibitor for treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma', *International Journal of Cancer*, 147(10), pp. 2847–2861. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijc.33137>.
- Zhao, X., Li, Z. and Gu, Z. (2022) 'A new era: tumor microenvironment in chemoresistance of pancreatic cancer.', *Journal of cancer science and clinical therapeutics*, 6(1), pp. 61–86. Available at: <https://doi.org/10.26502/jcsct.5079146>.
- Zhao, Z. *et al.* (2022) 'The efficacy and safety of chimeric antigen receptor T cells in digestive system cancers: a systematic review and meta-analysis.', *Annals of translational medicine*, 10(9), p. 508. Available at: <https://doi.org/10.21037/atm-21-5019>.
- Zhen, D.B. *et al.* (2015) 'BRCA1, BRCA2, PALB2, and CDKN2A mutations in familial pancreatic cancer: A PACGENE study', *Genetics in Medicine*, 17(7), pp. 569–577. Available at: <https://doi.org/10.1038/gim.2014.153>.
- Zhou, Q. *et al.* (2020) 'YAP1 is an independent prognostic marker in pancreatic cancer and associated with extracellular matrix remodeling', *Journal of Translational Medicine*, 18(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02254-7>.
- Zill, O.A. *et al.* (2015) 'Cell-Free DNA Next-Generation Sequencing in Pancreatobiliary Carcinomas', *Cancer Discovery*, 5(10), pp. 1040–1048. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0274>.