

## · 论著 ·

DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2024-0306

# Rictor/mTORC2 信号促进 Kras 突变癌细胞的增殖和致瘤性

赖慧玲, 陈淑琴✉

(中山大学附属第六医院妇科, 广东 广州 510655)

**【摘要】** 目的 探索 Rictor/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体 2 (Rictor/mTORC2) 信号在 Kras 突变的肿瘤细胞中的表达情况及对癌细胞增殖和致瘤性的影响。方法 利用公共数据库的泛癌种数据了解 Kras 和 Rictor 基因变异的频率。通过 Pearson 相关性分析研究 Kras 和 Rictor 基因变异和基因表达的共表达趋势。利用 Kras 突变的多种癌症细胞模型, 通过反义 RNA 序列下调 Rictor 基因的表达, 分别通过 CCK-8、克隆形成实验了解 Rictor/mTORC2 信号通路对 Kras 突变的肿瘤细胞的增殖和致瘤性的影响。结果 公共数据库分析显示 Kras 和 Rictor 基因的变异频率分别超过 90% 及 30%, 最常见于胰腺癌、肺癌、结肠癌和乳腺癌。一系列携带 Kras 基因突变以及 Kras 基因野生型的细胞株 Rictor 基因检测结果中, Pearson 相关性分析显示 Kras 和 Rictor 基因变异呈正相关 (均  $P < 0.05$ ), mRNA 表达水平存在共同变化趋势; 下调 Rictor 基因的表达可抑制 Kras 突变的癌细胞的增殖和致瘤能力 (均  $P < 0.05$ )。结论 Rictor/mTORC2 信号通路在 Kras 突变的癌细胞中明显活化, 并可促进 Kras 突变的癌细胞的增殖和致瘤性。

**【关键词】** Kras; Rictor; Kras 突变的癌细胞; 增殖; 致瘤性

## Rictor/mTORC2 signaling promotes proliferation and tumorigenicity of Kras mutant cancer cells

LAI Huiling, CHEN Shuqin✉

(Department of Obstetrics and Gynecology, the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China)

Corresponding author, CHEN Shuqin, E-mail: chshqin@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To explore the expression profile of Rictor/mTORC2 in Kras mutant tumor cells and its effect on cell proliferation and tumorigenicity. **Methods** The frequency of Kras and Rictor gene variations was investigated by using pan-cancer data from public databases. The co-expression relationship between Kras and Rictor gene variations and their respective gene expressions was analyzed using Pearson correlation analysis. Multiple cancer cell models with Kras mutation were used to down-regulate the expression of Rictor gene through antisense RNA sequence, and the effects of Rictor/mTORC2 signaling pathway on the proliferation and tumorigenicity of Kras mutant tumor cells were investigated through CCK8 and clonal formation assays, respectively. **Results** The variation frequencies of Kras and Rictor genes exceeded 90% and 30%, respectively, most commonly occurring in pancreatic cancer, lung cancer, colon cancer and breast cancer. Rictor gene detection results in a series of cell lines carrying Kras gene mutation and wild-type Kras gene were obtained. Pearson correlation coefficient showed that Kras and Rictor gene variations were positively correlated (both  $P < 0.05$ ), and mRNA expression levels showed a common trend. Down-regulating Rictor gene expression could significantly inhibit the proliferation and tumorigenic ability of Kras mutant cancer cells (both  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The Rictor/mTORC2 signaling pathway is obviously activated in Kras mutant cancer cells, and can promote the proliferation and tumorigenicity of Kras mutant cancer cells.

**【Key words】** Kras; Rictor; Kras mutant cancer cell; Proliferation; Tumorigenicity

肿瘤的发生、发展受癌基因驱动。Ras 是人类肿瘤中突变概率最高的癌基因, 其中 Kras 作为 Ras 家族中的主要亚型, 常见于多种致死性肿瘤,

如胰腺癌 (占比 >90%)、结肠癌 (占比约为 50%) 和肺癌 (占比约为 30%)<sup>[1]</sup>。然而, Kras 信号通路具有十分复杂的调控网络, 并且 Kras 突变的肿

收稿日期: 2024-08-05

基金项目: 国家自然科学基金 (82303279); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2022A1515012401)

作者简介: 赖慧玲, 博士后, 主治医师, 研究方向: 子宫内膜异位症的基础及临床研究, E-mail: laihling@mail.sysu.edu.cn; 陈淑琴, 通信作者, 主任医师, 研究方向: 子宫内膜异位症和月经过多的基础和临床研究, E-mail: chshqin@mail.sysu.edu.cn

瘤细胞对临床药物往往具备抵抗性,使得目前临床上仍无治疗 Kras 突变肿瘤的有效药物和方法<sup>[2]</sup>。因此,若能发现 Kras 突变的肿瘤中的关键分子事件,将为肿瘤治疗策略的研发提供非常有价值的思路<sup>[3]</sup>。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路的失调在人类癌症中普遍存在,其过度激活可能促进癌症的发生和进展<sup>[4]</sup>。下游蛋白哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通过组成两种不同的复合物 mTOR 复合体 1 (mTOR complex 1, mTORC1) 和 mTORC2 而执行功能。研究提示部分肿瘤可能依赖于 mTORC2 活性,充分表明 mTORC2 可能具有 mTORC1 不具备的独特功能<sup>[5-8]</sup>。Rictor/mTORC2 的促瘤作用机制包括促进细胞生存信号、调节糖脂代谢和通过调节谷胱甘肽代谢维持细胞氧化还原稳态、促进细胞上皮-间充质转化及细胞骨架变化等促进细胞耐药和肿瘤转移<sup>[9-11]</sup>。有学者在人类肺癌和黑色素瘤中均发现了 Rictor 基因本身的扩增<sup>[12-13]</sup>,也提示了 Rictor/mTORC2 信号在某些类型肿瘤细胞中可能具有重要作用。目前 Rictor/mTORC2 信号异常与 Kras 基因变异之间的相关性研究少,Rictor/mTORC2 信号在 Kras 突变的癌细胞中执行的生物学功能仍不清晰。因此本研究将从公共数据库出发,在泛癌种情况下寻找 Kras 和 Rictor 基因变异之间的相关性,并利用多种癌症细胞株进一步研究 mTORC2 信号对 Kras 突变的肿瘤细胞中的增殖和致瘤性的影响,为潜在的药物靶点的开发提供新的视角。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据库分析

该部分研究数据源自公共数据库 cBioPortal (<https://www.cbioportal.org/>),选择胰腺癌、肺癌、乳腺癌、结直肠癌已上传的癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库,提取包含突变变异、拷贝数变异、mRNA 表达数据(相比于二倍体, z 分数为 2)和蛋白表达数据(相比于二倍体, z 分数为 2),键入基因名称 Kras、Rictor 后提交查询,通过 Cancer Types Summary 呈现基因变异频率汇总;通过 Mutual Exclusivity 分析基因之间的共同变化趋势;通过 Plots 呈现基因 mRNA 与基因拷贝数、基因突变的相关性;通过 Co-expression 分析两个基因之间的共表达关系。

### 1.2 细胞系及细胞培养方法

人卵巢癌细胞株(TOV-21G、TOV-112D、A2780 和 CaOV3)、宫颈癌细胞株(C33A)、胰腺癌细胞株(Mia-paca2)、肺癌细胞株(A549)和乳腺癌细胞株(MDA-MB-231)均由华中科技大学同济医学院附属同济医院马丁院士实验室馈赠。结直肠癌细胞株(HT-29、SW116、SW480、HCT116、SW620、RKO 和 DLD1)均由中山大学肿瘤防治中心谢丹教授实验室馈赠。TOV-21G 和 TOV-112D 使用培养基为 MCDB105 和 199 培养基(1:1 混合,美国 Gibco);A2780、CaOV3、C33A、Mia-paca2、A549、SW116、SW480、SW620、RKO 和 DLD1 使用培养基为 DMEM(美国 Gibco);HT-29 和 HCT116 使用培养基为 RPMI Medium 1640(美国 Gibco);均添加 10% 胎牛血清以及 10 U/mL 链霉素-青霉素。

### 1.3 细胞转染

针对 Rictor 基因的反义 RNA 序列购自锐博生物,货号 SIGS0016785-1,通过蛋白水平验证转染效率,选出 2 条独立的转染效率超过 80% 的 RNA 序列用于后续细胞实验,分别标记为 SiRictor 1# 和 SiRictor 2#,其阴性对照标记为 SiCtrl,将 SiCtrl 分别与 SiRictor 1# 和 SiRictor 2# 进行对比分析。转染过程:接种细胞于 6 孔细胞培养板中使次日细胞融合度为 30%~40%;转染前每孔更换新鲜培养基 1.5 mL,分别用 250  $\mu$ L Opti-MEM 培养基稀释 3.75  $\mu$ L Lipo3000(美国 Life Technologies)和 10  $\mu$ L siRNA 储存液(20  $\mu$ mol/L,购自广州市锐博生物科技有限公司),混匀静置 5 min 后将两者混合,静置 20 min 后加入细胞培养板中混匀,培养 24 h 后更换新鲜的培养基以减少转染试剂的细胞毒性,72 h 后进行后续检测。

### 1.4 蛋白质免疫印迹法

收集细胞干沉淀加入适量蛋白裂解液(RIPA 裂解液加入适量的 Cocktail 工作液)进行裂解提取总蛋白质;以二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定蛋白浓度后加入蛋白载样缓冲液,加热使蛋白充分变性后冷却待用。使用小分子凝胶,加入蛋白样品后进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)电泳,适时停止电泳后转印至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜。转印后的 PVDF 膜浸泡于含 5%BSA 的 Tris 盐缓冲液中 1 h 进行非特异性封闭。后将其浸

泡于配制好的一抗中置于4℃过夜孵育；次日取出PVDF膜清洗后与稀释好的二抗孵育1h；洗涤后使用化学发光底物（enhanced chemiluminescence, ECL）显像底物在ChemiDoc™XRS+成像系统显像获得图片。

### 1.5 细胞增殖测定

取对数生长期的各组细胞消化制备单细胞悬液，计数后稀释至 $5 \times 10^4$ /mL。每组设置5个复孔，每孔加入100 μL经稀释的细胞悬液，12~24 h后进行相应处理。检测时吸出各孔培养基，加入含10%体积CCK-8试剂的培养基，培养2 h后放入酶标仪检测，波长设置为450 nm。

### 1.6 平板克隆形成实验

取对数生长期的各组细胞，消化制备单细胞悬液，稀释后以每皿100个细胞接种于含有完全培养基的培养皿中。培养2~3周，当培养皿中出现肉眼可见的克隆时终止培养。弃上清液，用PBS浸洗后加4%多聚甲醛固定细胞15 min，弃固定液，加适量结晶紫染色液染色15 min，流水洗去染色液后置于空气中干燥。光学显微镜下观察。

### 1.7 统计学方法

所有的原始数据的处理和统计分析均在SPSS 19.0软件中实现。计量资料采用Shapiro-Wilk进行正态性检验。两个连续随机变量呈正态分布或近似正态分布时，它们之间的线性相关性分析采用Pearson相关性分析，样本的Pearson相关系数用 $r$ 表示，当 $|r| \geq 0.7$ ，为高度相关；当 $0.4 \leq |r| < 0.7$ ，

为中度相关；当 $0.2 \leq |r| < 0.4$ ，为弱相关性；当 $0 < |r| < 0.2$ ，为极弱相关或无相关性。2组间比较采用独立样本 $t$ 检验，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较行LSD- $t$ 检验。双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

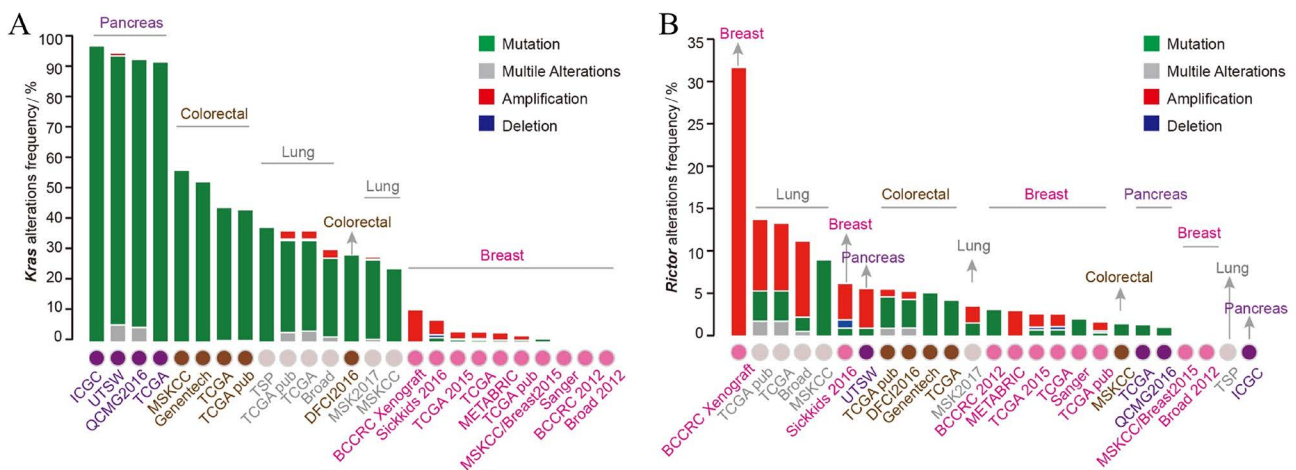
## 2 结果

### 2.1 Kras 与 Rictor 基因变异在多种癌症中普遍存在

通过在线公共数据库 cBioPortal (<https://www.cbioportal.org/>) 进行癌症 Kras 基因和 Rictor 基因的变异分析。Kras 基因变异包括基因突变，片段扩增和片段删除。Kras 基因的变异可见于超过 90% 的胰腺癌，其次常见于结直肠癌、肺腺癌和乳腺癌（图 1A）。Rictor 基因变异在以上癌种中也普遍存在，其中最常见变异类型是基因扩增，常见于肺癌、乳腺癌和胰腺癌中（图 1B）。

### 2.2 Kras 与 Rictor 基因变异存在共同发生趋势

由于 Kras 基因与 Rictor 基因变异的普遍性，本研究进一步探索两者的共同发生的趋势。分析胰腺癌的 TCGA 数据库发现，Kras 基因的各类变异频率达 85%，而 Rictor 基因的各类变异频率为 35%，两者表现出共同发生的趋势（图 2A~C）。在胰腺癌中，Kras 基因的 mRNA 表达水平随着基因拷贝数的增加而显著增加（图 2D）。Kras 和 Rictor 基因的 mRNA 表达水平在胰腺癌、结肠癌、乳腺癌中均呈现较强相关性（图 2E）。以肺癌中是



注：A 为 Kras 在胰腺癌、结直肠癌、肺癌及乳腺癌中的基因变异频率；B 为 Rictor 基因在胰腺癌、结直肠癌、肺癌及乳腺癌中的基因变异频率。

图 1 Kras 与 Rictor 基因变异在癌症中普遍存在

Figure 1 Kras and Rictor gene mutations are commonly present in cancer

否携带 Kras 基因突变二分类, Kras 突变的样本中 Rictor mRNA 水平高于 Kras 野生型的样本 (图 2F)。在胰腺癌中, 随着 Kras 拷贝数增加, Rictor 基因的 mRNA 表达增加 (图 2F)。Kras 基因变异和 Rictor 基因变异存在共同发生趋势。

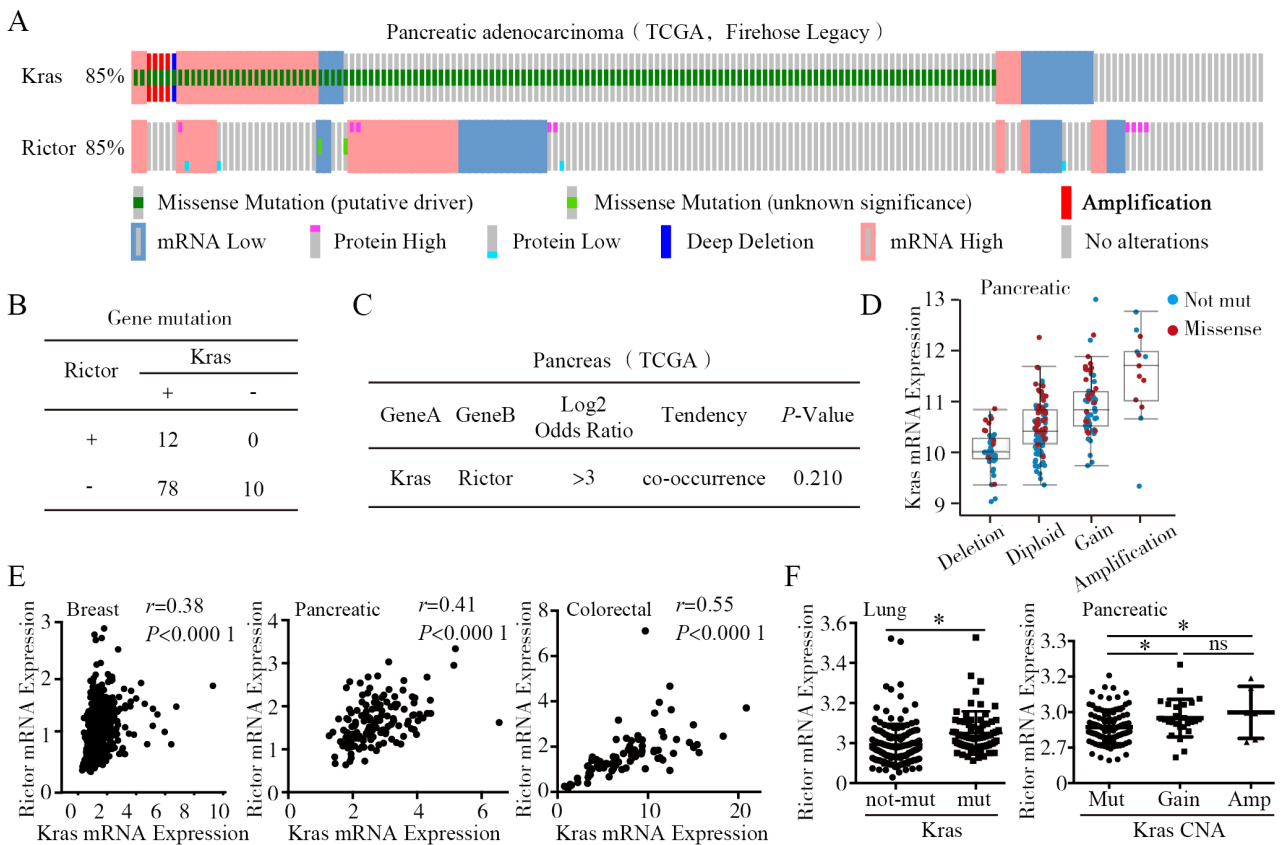
### 2.3 在 Kras 突变细胞中下调 Rictor 表达可抑制细胞增殖

为进一步在细胞株上验证 Kras 基因变异与 Rictor 基因表达的关系, 本研究检测了一系列携带 Kras 基因突变以及 Kras 基因野生型的细胞株 Rictor 基因的表达水平。Kras 基因突变的细胞株相比于 Kras 基因野生型的细胞株, 往往具有更高水平的 Rictor 蛋白表达。相对定量后通过 Pearson 相关性分析发现, Kras 突变与 Rictor 基因表达增

加表现出较强的相关性 ( $r = 0.657, P = 0.011$ , 图 3A)。设计 2 条针对 Rictor 基因的反义 RNA 序列用于下调 Rictor 基因的表达, 转染 Kras 突变的细胞株 (A549、Mia-paca2 和 MDA-MB-231) 后, Rictor 蛋白的表达降低 (图 3B)。在这 3 株细胞中下调 Rictor 基因表达后, 细胞增殖速度均明显减慢, 表明抑制 Rictor 基因的表达可以抑制 Kras 突变癌细胞的增殖 (图 3C)。

### 2.4 下调 Rictor 表达可抑制 Kras 突变癌细胞的致瘤能力

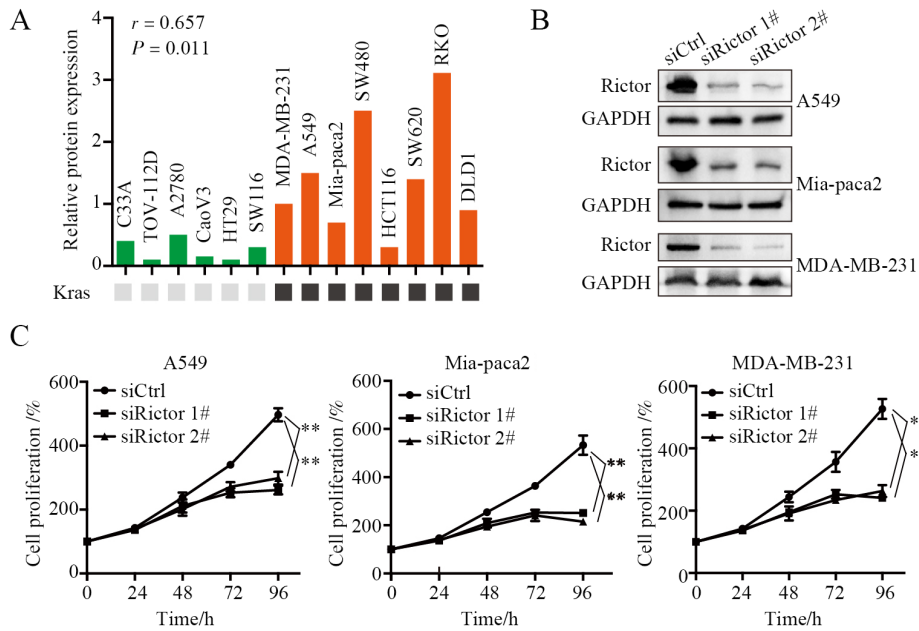
使用反义 RNA 序列下调 Kras 突变的细胞系 (A549、Mia-paca2 和 MDA-MB-231) 中 Rictor 基因的表达后, 结果显示肿瘤细胞形成克隆的能力降低 (图 4), 反映了肿瘤细胞的致瘤能力受到抑制。



注: A 为胰腺癌 TCGA 数据库中 Kras 和 Rictor 基因变异分析; B 为 Kras 基因和 Rictor 基因的变异例数统计分析; C 为 Kras 基因和 Rictor 基因的共同变异趋势分析; D 为不同的 Kras 基因序列数目的样本的 Kras 基因 mRNA 表达水平; E 为乳腺癌、胰腺癌和结直肠癌中 Kras 基因与 Rictor 基因的 mRNA 表达水平相关性 (Pearson 相关性分析); F 为肺癌中携带 Kras 突变及不携带 Kras 突变的样本中的 Rictor 基因表达差异 (左); 胰腺癌中 Kras 基因不同拷贝数的样本中 Rictor 基因的 mRNA 表达差异 (右, Gain 与 Amp 比较  $P > 0.05$ ); 组间比较, \* $P < 0.05$ , ns  $P > 0.05$ 。

图 2 Kras 与 Rictor 基因变异表现共发生趋势

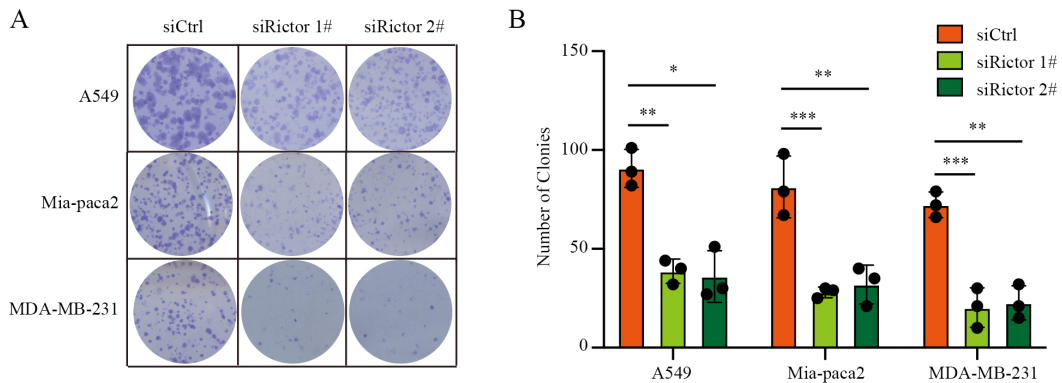
Figure 2 The co-occurrence trend of Kras and Rictor gene mutations



注：A为Kras突变及Kras野生型的细胞株的Rictor蛋白相对定量及相关性分析（Pearson相关性分析）， $r$ 为相关系数，黑色方块代表存在相应的基因变异，灰色方块代表无相应的基因变异；B为蛋白免疫印迹法检测反义干扰后Rictor蛋白的变化；C为反义干扰Rictor的表达后细胞增殖能力的改变，siRictor 1#与siRictor 2#比较，\*\* $P < 0.01$ 。

图3 在Kras突变细胞中敲减Rictor表达可抑制细胞的增殖

Figure 3 Knockdown of Rictor expression in Kras mutant cells inhibits cell proliferation



注：A为敲减Rictor前后的平板克隆形成实验的结晶紫染色；B为克隆数的统计分析图；组间比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ ，\*\*\* $P < 0.001$ ，siRictor 1#与siRictor 2#比较均 $P > 0.05$ 。

图4 敲减Rictor表达可抑制细胞致瘤能力

Figure 4 Knockdown of Rictor expression inhibits cellular tumorigenicity

### 3 讨论

本研究对公共数据库泛癌种的基因变异数据结果显示，Kras基因和Rictor基因变异存在普遍性，并且两者存在共同改变的趋势。研究进一步利用多种癌症细胞学模型验证，证实Kras突变的肿瘤细胞中往往存在Rictor/mTORC2信号通路的活

化。在Kras突变的肿瘤细胞中通过反义干扰RNA序列降低Rictor基因表达后，Kras突变的肿瘤细胞增殖能力减弱，肿瘤细胞的成瘤能力受到抑制。

Ras基因被认为是人类癌症的主要驱动基因<sup>[14]</sup>。不同的实体肿瘤与不同类型的Ras突变相关，其中Kras是最常见的突变类型。本研究中，Kras基因变异普遍存在于多种癌症类型，在

胰腺癌中变异频率高达90%，在结直肠癌中高达40%~60%，在肺癌中达20%~40%，在乳腺癌中约为5%~10%，这与既往的研究基本一致<sup>[15]</sup>。Rictor基因变异常见于乳腺癌、结直肠癌、肺癌和胰腺癌，其中最常见的是乳腺癌和肺癌中的Rictor基因扩增，这也与既往的研究基本一致<sup>[16-18]</sup>。Kras和Rictor基因变异的常见癌种类型基本一致，强烈提示了两者的共同变异趋势。本研究更细致地从基因拷贝数变化、基因变异、基因表达等层面分析两者的关系，结果发现Kras和Rictor的基因表达水平呈正相关，这揭示了Rictor/mTORC2信号通路的活化在Kras突变的癌症中存在普遍性，并且可能介导了肿瘤细胞独特的恶性生物学行为。

Kras蛋白是一种小三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)酶，连接细胞膜生长因子受体和细胞内信号通路和转录因子，促进细胞的增殖和存活，还可与其他癌基因或者抑癌基因协同作用介导细胞分泌与肿瘤微环境形成信息交流，促进炎症表型和免疫逃逸<sup>[19-20]</sup>。靶向Kras基因的治疗策略研究目前主要研究集中于同一途径的上下游蛋白，特别是Ras调节分子或Ras特异性合成致死介质<sup>[21-22]</sup>。但是由于Ras通路存在多重内在的并行逃逸机制，这种方法截至目前并没有取得突破性的成果<sup>[23-24]</sup>。如果能发现Kras基因变异驱动的肿瘤细胞中的关键分子事件，将对研发靶向Kras基因的药物提供重要依据<sup>[25]</sup>。本研究揭示的Kras基因和Rictor基因共同变异趋势，使Rictor/mTORC2信号通路有望成为Kras突变的难治性肿瘤治疗策略开发的潜力靶点。

本研究通过多种癌症的细胞模型，确证了携带Kras基因突变的细胞存在Rictor/mTORC2的高表达，但Rictor/mTORC2是否影响Kras基因驱动的癌症细胞的关键分子事件仍缺少文献报道。通过反义RNA序列下调Rictor基因表达证明Rictor/mTORC2信号活化在Kras突变的肿瘤细胞的增殖和成瘤能力方面的重要作用。近年来研究表明Kras癌基因可通过细胞代谢重塑<sup>[26]</sup>，包括营养素摄取、糖酵解、谷氨酰胺水解、脂肪酸合成、谷胱甘肽合成和核苷酸合成增加等<sup>[7, 21-31]</sup>。以上大部分研究均集中于特定癌症类型，缺少泛癌种的研究结果。Rictor/mTORC2信号是否在Kras突变肿瘤的以上生物学进程中发挥重要作用或者介导其他的生物学功能值得进一步深入研究。Rictor/mTORC2通过调节转录因子FoxO的乙酰化和上调

c-myc表达，控制糖代谢而促进脑胶质瘤的肿瘤细胞增殖和肿瘤生长<sup>[32]</sup>。有学者联合应用蛋白质组学、脂质组学和代谢组学分析，运用mTOR诱导的小鼠模型证明了mTORC2促进脂肪酸和脂质合成，从而导致脂肪肝和肝癌的发生和发展<sup>[8]</sup>。近年研究指出，Rictor/mTORC2是肿瘤细胞代谢重组的关键整合点<sup>[33]</sup>。但Rictor/mTORC2介导的生物学功能与Kras癌基因驱动的促瘤分子信号、代谢进程密切相关仍不清晰，若能阐明其中具体的分子机制将为后续靶向Kras突变的肿瘤治疗提供新的研究视角。

综上所述，Rictor/mTORC2信号通路在Kras突变的癌细胞中活化，并可促进Kras突变的癌细胞的增殖和致癌性。本研究基于实验现象，有较全面的理论基础，但仍需要进一步完善：一是Rictor/mTORC2信号促进Kras突变的癌细胞的恶性生物学行为的具体机制仍需要阐明；二是需增加正义表达的功能实验去证实上下游关系的调控关系。

**利益冲突声明：**本研究未受到企业、公司等第三方资助，不存在潜在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] BUSCAIL L, BOURNET B, CORDELIER P. Role of oncogenic KRAS in the diagnosis, prognosis and treatment of pancreatic cancer [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17 (3): 153-168. DOI: 10.1038/s41575-019-0245-4.
- [2] KLOMP J A, KLOMP J E, STALNECKER C A, et al. Defining the KRAS- and ERK-dependent transcriptome in KRAS-mutant cancers [J]. *Science*, 2024, 384 (6700): eadk0775. DOI: 10.1126/science.adk0775.
- [3] HOSSAIN M A. Targeting the RAS upstream and downstream signaling pathway for cancer treatment [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 979: 176727. DOI: 10.1016/j.ejphar.2024.176727.
- [4] YIN X, WANG J, GE M, et al. Designing small molecule PI3K  $\gamma$  inhibitors: a review of structure-based methods and computational approaches [J]. *J Med Chem*, 2024, 67 (13): 10530-10547. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c00347.
- [5] DRISCOLL D R, KARIM S A, SANO M, et al. mTORC2 signaling drives the development and progression of pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2016, 76 (23): 6911-6923. DOI: 10.1158/0008-5472.can-16-0810.
- [6] MORRISON JOLY M, HICKS D J, JONES B, et al. Rictor/mTORC2 drives progression and therapeutic resistance of HER2-amplified breast cancers [J]. *Cancer Res*, 2016, 76 (16): 4752-4764. DOI: 10.1158/0008-5472.can-15-3393.
- [7] KERR E M, GAUDE E, TURRELL F K, et al. Mutant Kras

- copy number defines metabolic reprogramming and therapeutic susceptibilities [J]. *Nature*, 2016, 531 (7592): 110-113. DOI: 10.1038/nature16967.
- [8] GURI Y, COLOMBI M, DAZERT E, et al. mTORC2 promotes tumorigenesis via lipid synthesis [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(6): 807-823.e12. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.11.011.
- [9] CHEN X, CHENG H, PAN T, et al. mTOR regulate EMT through RhoA and Rac1 pathway in prostate cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54 (10): 1086-1095. DOI: 10.1002/mc.22177.
- [10] GAO Q, HOU Y, LI Z, et al. mTORC2 regulates hierarchical micro/nano topography-induced osteogenic differentiation via promoting cell adhesion and cytoskeletal polymerization [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25 (14): 6695-6708. DOI: 10.1111/jcmm.16672.
- [11] MARAFIE S K, AL-MULLA F, ABUBAKER J. mTOR: its critical role in metabolic diseases, cancer, and the aging process [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 (11): 6141. DOI: 10.3390/ijms25116141.
- [12] CHENG H, ZOU Y, ROSS J S, et al. RICTOR amplification defines a novel subset of patients with lung cancer who may benefit from treatment with mTORC1/2 inhibitors [J]. *Cancer Discov*, 2015, 5 (12): 1262-1270. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0971.
- [13] HILKE F J, SINNBERG T, GSCHWIND A, et al. Distinct mutation patterns reveal melanoma subtypes and influence immunotherapy response in advanced melanoma patients [J]. *Cancers*, 2020, 12 (9): 2359. DOI: 10.3390/cancers12092359.
- [14] LAVOIE H, GAGNON J, THERRIEN M. ERK signalling: a master regulator of cell behaviour, life and fate [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21 (10): 607-632. DOI: 10.1038/s41580-020-0255-7.
- [15] WU X, SONG W, CHENG C, et al. Small molecular inhibitors for KRAS-mutant cancers [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1223433. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1223433.
- [16] SZALAI F, SZTANKOVICS D, KRENCZ I, et al. Rictor-a mediator of progression and metastasis in lung cancer [J]. *Cancers*, 2024, 16 (3): 543. DOI: 10.3390/cancers16030543.
- [17] GKOUNTAKOS A, PILOTTO S, MAFFICINI A, et al. Unmasking the impact of rictor in cancer: novel insights of mTORC2 complex [J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39 (8): 971-980. DOI: 10.1093/carcin/bgy086.
- [18] ZHAO D, JIANG M, ZHANG X, et al. The role of RICTOR amplification in targeted therapy and drug resistance [J]. *Mol Med*, 2020, 26 (1): 20. DOI: 10.1186/s10020-020-0146-6.
- [19] KIM D, XUE J Y, LITO P. Targeting KRAS (G12C): from inhibitory mechanism to modulation of antitumor effects in patients [J]. *Cell*, 2020, 183 (4): 850-859. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.09.044.
- [20] ZHANG Y, MA J A, ZHANG H X, et al. Cancer vaccines: targeting KRAS-driven cancers [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2020, 19 (2): 163-173. DOI: 10.1080/14760584.2020.1733420.
- [21] MOLINA-ARCAS M, SAMANI A, DOWNWARD J. Drugging the undruggable: advances on RAS targeting in cancer [J]. *Genes*, 2021, 12 (6): 899. DOI: 10.3390/genes12060899.
- [22] LU X, JIN J, WU Y, et al. Progress in RAS-targeted therapeutic strategies: from small molecule inhibitors to proteolysis targeting chimeras [J]. *Med Res Rev*, 2024, 44 (2): 812-832. DOI: 10.1002/med.21993.
- [23] SERNA-BLASCO R, SANZ-ÁLVAREZ M, AGUILERA Ó, et al. Targeting the RAS-dependent chemoresistance: the Warburg connection [J]. *Semin Cancer Biol*, 2019, 54: 80-90. DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.01.016.
- [24] GONG X, DU J, PENG R W, et al. CRISPRing KRAS: a winding road with a bright future in basic and translational cancer research [J]. *Cancers*, 2024, 16 (2): 460. DOI: 10.3390/cancers16020460.
- [25] MUKHOPADHYAY S, VANDER HEIDEN M G, MCCORMICK F. The metabolic landscape of RAS-driven cancers from biology to therapy [J]. *Nat Cancer*, 2021, 2 (3): 271-283. DOI: 10.1038/s43018-021-00184-x.
- [26] KERK S A, PAPAGIANNAKOPOULOS T, SHAH Y M, et al. Metabolic networks in mutant KRAS-driven tumours: tissue specificities and the microenvironment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21 (8): 510-525. DOI: 10.1038/s41568-021-00375-9.
- [27] MOLDOGAZIEVA N T, MOKHOSOEV I M, TERENCEV A A. Metabolic heterogeneity of cancer cells: an interplay between HIF-1, GLUTs, and AMPK [J]. *Cancers*, 2020, 12 (4): 862. DOI: 10.3390/cancers12040862.
- [28] PUPO E, AVANZATO D, MIDDONTI E, et al. KRAS-driven metabolic rewiring reveals novel actionable targets in cancer [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 848. DOI: 10.3389/fonc.2019.00848.
- [29] SON J, LYSSIOTIS C A, YING H, et al. Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway [J]. *Nature*, 2013, 496: 101-105. DOI: 10.1038/nature12040.
- [30] GUO J Y, WHITE E. Autophagy is required for mitochondrial function, lipid metabolism, growth, and fate of KRAS (G12D)-driven lung tumors [J]. *Autophagy*, 2013, 9 (10): 1636-1638. DOI: 10.4161/auto.26123.
- [31] SANTANA-CODINA N, ROETH A A, ZHANG Y, et al. Oncogenic KRAS supports pancreatic cancer through regulation of nucleotide synthesis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 4945. DOI: 10.1038/s41467-018-07472-8.
- [32] MASUI K, TANAKA K, AKHAVAN D, et al. mTOR complex 2 controls glycolytic metabolism in glioblastoma through FoxO acetylation and upregulation of c-Myc [J]. *Cell Metab*, 2013, 18 (5): 726-739. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.09.013.
- [33] MASUI K, HARACHI M, CAVENEY W K, et al. mTOR complex 2 is an integrator of cancer metabolism and epigenetics [J]. *Cancer Lett*, 2020, 478: 1-7. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.03.001.

(责任编辑: 林燕薇)