

REG蛋白在胰腺恶性肿瘤中的研究进展

聂元华 陈敏学 赵志强 马福林 朱占弟 李晓军

樊勇 康博雄 康迎新 王琛*

(兰州大学第二医院, 兰州 730030)

摘要 胰腺癌是临床常见的消化道恶性肿瘤之一。因其早期多无特异性临床表现, 往往发现时已成晚期, 难以进行手术治疗, 同时, 化学治疗的疗效常常不佳, 故其病死率较高。REG基因编码的REG蛋白属于小分泌蛋白家族, 在炎症时分泌增多, 具有调节细胞生长和凋亡的能力, 与胰腺恶性肿瘤的关系密切。探究REG蛋白与胰腺恶性肿瘤的关系对了解胰腺恶性肿瘤的发生发展; 制定诊断与治疗方案以及判断预后的意义重大。

关键词 REG蛋白; 胰腺癌; 诊断; 治疗; 预后

Research Progress of REG Protein in Pancreatic Cancer

NIE Yuanhua, CHEN Minxue, ZHAO Zhiqiang, MA Fulin, ZHU Zhandi, LI Xiaojun,

FAN Yong, KANG Boxiong, KANG Yingxin, WANG Chen*

(Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China)

Abstract PC (pancreatic cancer) is an common digestive cancer. When diagnosed, the stage of PC is late due to little specific symptom. Meanwhile, surgery can hardly be performed on late-stage PC patients and the efficacy of chemotherapy barely meets the satisfaction. The mortality of PC is high. REG protein coded by REG gene belongs to small secretory protein family. The level of REG protein will increase, when body has inflammation. REG protein can also alter the tumor cell proliferation and anti-apoptosis. The relation between REG protein and PC is close. Understanding the association between REG protein and PC will have a crucial meaning to oncogenesis, diagnosis, treatment and prognosis of PC.

Keywords REG protein; pancreatic cancer; diagnosis; treatment; prognosis

胰腺癌是全球范围内常见的恶性程度最高的肿瘤之一。2018年, 胰腺癌全球新发病例数达到45万, 因胰腺癌死亡的病例数为43万^[1]。早期胰腺癌主要依靠手术治疗, 但因胰腺癌早期临床表现不具有特异性, 故诊断困难, 早期诊断率不到10%^[2]。对于晚期胰腺癌, 以吉西他滨或者5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)为主的化疗方案为首选治疗方案, 而其疗效往往较差。目前, 胰腺癌发生发展的机制尚未

完全阐明。因此, 寻找新型分子标志物在胰腺癌的诊断以及治疗中有着举足轻重的意义。

REG基因属于钙依赖性血清凝集素基因超家族, 其编码的蛋白属于小分泌蛋白家族, 最初在慢性胰腺炎中被发现^[3]。REG蛋白在人体多种器官(包括胃、结肠等)中均有少量表达, 主要表达于胰腺组织中, 由胰腺腺泡细胞分泌^[4-5]。研究发现, REG蛋白具有调节胰岛 β 细胞和胰腺导管细胞有丝分裂的作

收稿日期: 2020-08-11

接受日期: 2020-09-21

甘肃省科技重大专项计划(批准号: 19ZD2WA001)和兰州大学第二医院“萃英技术创新”计划项目(批准号: CY2017-BJ04)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13909483134, E-mail: chenwang@lzu.edu.cn

Received: August 11, 2020

Accepted: September 21, 2020

This work was supported by the Science and Technology Major Special Collaboration Project of Gansu Province (Grant No.19ZD2WA001) and the “Cuiying Technology Innovation” Planning Project of Lanzhou University Second Hospital (Grant No.CY2017-BJ04)

*Corresponding author. Tel: +86-13909483134, E-mail: chenwang@lzu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5407>

用,同时,REG蛋白还有抗细胞凋亡、促进细胞生长、调节机体免疫环境以及改变机体肠道菌群的功能。

近些年来研究发现,REG蛋白参与人体胰腺恶性肿瘤的多种生物过程,与胰腺恶性肿瘤的关系十分密切。本文就REG蛋白与胰腺恶性肿瘤发生发展、诊断及治疗的关系进行综述。

1 REG蛋白概述

1.1 REG基因序列

5种人REG基因(*REG1A*、*REG1B*、*REG3A*、*REG3G*以及*REG4*)具有6个外显子和5个内含子的共同基因结构,编码同源的拥有158~175个氨基酸的分泌蛋白。除*REG4*基因位于染色体1p11-3外,其余人REG基因均位于染色体2p12上。这些基因的长度大多为2 000~3 000个碱基^[6]。*REG1*与*REG3*cDNA同源性较高,而*REG4*则与前两者相差较大。将*REG4*进行剪接并与其他人REG家族成员对齐后对比发现,*REG4*在染色体1上的排列顺序与*REG3*以及*REG1*在染色体2上的相反。在外显子及内含子位置方面,*REG4*与其他REG家族成员基本相似,但其内含子区域更多^[6]。利用REG蛋白中的氨基酸序列,反向探索人REG基因的遗传进化史后发现,人REG基因家族可能分三组,即*REG1*基因组(*REG1A*和*REG1B*)、*REG3*基因组(*REG3A*和*REG3G*)以及*REG4*基因组。人REG基因可能源于三次基因复制。首先复制形成了*REG1*或*REG3*和*REG4*的祖先基因;第二次基因复制时,出现*REG1*和*REG3*的祖先基因;第三次,*REG1*祖先基因复制形成*REG1A*和*REG1B*,*REG3*祖先基因复制形成*REG3A*和*REG3G*^[7]。

1.2 REG蛋白结构

1.2.1 氨基酸结构差异及蛋白同源性 *REG1*是由不同的研究小组独立发现,并以不同的名称进行报告的。例如胰石蛋白(lithostathine, pancreatic stone protein, PSP)、P19和胰丝蛋白(pancreatic thread protein, PTP)^[8]。*REG1*存在于人类和啮齿动物中,其前蛋白拥有166个氨基酸。*REG1A*和*REG1B*在人类体内均有表达。这两种蛋白同源性为87%,与鼠Reg1的同源性为72%~74%。小鼠Reg2基因编码一个含有173个氨基酸的蛋白,在其蛋白末端附近(残基29~35)插入7个氨基酸残基。小鼠Reg2与人REG1的序列相似性最高(76%)。而暂未发现人类有与鼠Reg2的直系同源物。啮齿动物Reg3包括Reg3a(或

Reg3 α)、Reg3b(或Reg3 β)、Reg3g(或Reg3 γ)和Reg3d(或Reg3 δ)。人体中仅表达REG3A和REG3G。人REG3基因编码一个长175个氨基酸的蛋白质,在其羧基末端插入5个氨基酸残基(残基115~119)。REG3A也被称为肝癌-肠-胰蛋白(hepatocarcinoma-intestine-pancreatic protein, HIP)、胰腺炎相关蛋白(pancreatitis-associated protein, PAP)和PAP1;而REG3G则被称为PAP1B。人REG3G与鼠Reg3a、Reg3b和Reg3g同源性为65%~66%。人REG3A与鼠类Reg3a和Reg3g的同源性为62%~67%,与Reg3b为70%。REG4蛋白是最后一个被发现的REG蛋白,拥有158个氨基酸,是REG家族中最小的成员。与REG3相比,REG4缺少5个残基(Pro115~Gly119),并且在其氨基末端缺少6个氨基酸(在Ile24后)。它在啮齿动物和人类中也均有表达,而它与其他REG蛋白的相似性最低^[6]。

1.2.2 特征性结构 REG蛋白的特征性结构为C型凝集素样结构域(C-type lectin-like domain, CTLD)。由二硫键结合半胱氨酸、2个 α 螺旋、5个 β 折叠以及一个分子极点的N-端和C-端组成^[6]。它可以选择性地结合各种配体和碳水化合物^[9]。通常,Ca²⁺能够介导CTL D与其他结构相互作用,例如其与聚糖的结合^[10]。而在某些特定情况下,Ca²⁺则引起CTL D的功能转化而不结合碳水化合物。对REG蛋白进行结构分析后发现,REG蛋白都不包含特征性的Ca²⁺结合部位。据报道,大部分REG蛋白都以Ca²⁺非依赖性方式结合碳水化合物。例如,REG4蛋白通过2个独立于Ca²⁺的位点与甘露聚糖结合^[11]。

通过核磁共振波谱(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)分析发现,*REG1A*的主要寡糖链通过与不同大小的糖残基相连产生了11种糖型,其中7种糖型的序列已经确定。这些不同的糖型具有相同的糖基化位点(Thr5)以及核心结构(GlcNAc(β 1-6)[Gal(β 1-3)]GalNAc α -)。糖基化形式多样性的意义目前尚不清楚,但推测这可能有助于蛋白质的稳定性,并参与REG蛋白的定位^[12]。

REG3拥有114-EPN-116结构识别肽聚糖,同时还可以与几丁质以及甘露聚糖结合,而不与葡聚糖结合。当E114Q突变时,这种相互作用将会大大减弱^[13-14]。

1.3 REG蛋白功能

1.3.1 REG蛋白生理功能 REG3拥有的EPN结构可以识别广泛分布于革兰氏阳性菌表面的肽聚糖。

其结合亲和力随碳水化合物链的长度的增长而增加。当REG3蛋白与革兰氏阳性菌结合后,细菌细胞壁被破坏,细胞质渗漏,从而起到与抗生素类似的灭菌效果^[13,15-16]。

REG1A mRNA可以编码一个包含有166个氨基酸的前蛋白。其前蛋白拥有胰蛋白酶在N末端附近的切割位点。该切割位点可能由一段长约22个氨基酸的信号肽决定。信号肽可以将原本长166个氨基酸的前蛋白切割成长144个氨基酸的蛋白质^[17]。胰蛋白酶消化产生可溶的短肽,并留下超过130个残基的不溶片段,形成对胰蛋白酶进一步消化具有抵抗力的原纤维^[18],可能参与调节胰蛋白酶的消化功能。

1.3.2 REG蛋白异常功能 当REG1蛋白过表达时,REG1蛋白与跨膜蛋白REG受体相结合后诱导丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶(mitogen-activated protein kinase phosphatase-1, *MKP-1*)基因和细胞周期蛋白D1(*Cyclin D1*)基因表达增多从而促进胰腺导管细胞与胰岛β细胞的有丝分裂^[19]。REG4蛋白过表达后可以通过促进Cyclin D1和D3以及细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)4和6调节结肠癌细胞周期。D型细胞周期蛋白基因编码的蛋白质形成复合物充当CDK4或CDK6的调节亚基,其活性是细胞周期G₁/S过渡所必需的。在没有有丝分裂信号的情况下,Cyclin D通过泛素蛋白酶途径被降解。GSK-3β在Thr286处的磷酸化调节Cyclin D1的泛素化。REG4蛋白通过激活Akt-GSK-3β-β-Catenin-TCF4和GFR-Akt-AP-1信号通路促进Cyclin D包括Cyclin D1和D3的表达,同时它还能促进CDK4和CDK6的表达增加。使得原本处于有丝分裂G₁期的结肠癌细胞减少,G₂期的细胞增多,增加细胞有丝分裂指数^[20]。

细胞凋亡的线粒体途径是由各种应激刺激(例如DNA损伤、生长因子剥夺)诱导的。随后,线粒体外膜通透性(mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP)发生改变,线粒体膜间空间(intermembrane space, IMS)释放促凋亡因子(例如细胞色素c)进入细胞质。接头蛋白APAF-1(apoptotic protease activating factor-1)结合细胞色素c,进行寡聚化,并募集前胱天蛋白酶9(pro-Caspase 9),形成2个APAF-1结合1个pro-Caspase 9的凋亡复合体。该复合体活化胱天蛋白酶9,活化后将依次切开并激活执行蛋白Caspase-3、Caspase-6和Caspase-7,这

些执行蛋白将直接降解细胞内的结构蛋白和功能蛋白,引起细胞凋亡。当BIM蛋白(BCL-2 interacting mediator of cell death)被释放时,它与BAX蛋白(BCL-2 associated v protein)相结合导致BAX活化从而产生低聚作用,然后线粒体外膜通透性发生改变,开始细胞凋亡^[21]。REG4蛋白可以通过激活MAPK/ERK信号通路降低BIM蛋白表达从而抑制胃癌细胞凋亡^[22]。同时,研究还发现REG4和REG1A蛋白还可以通过Akt途径抑制胰腺癌细胞和胃癌细胞凋亡^[23]。REG3G则能够上调骨髓细胞中EGFR水平,从而激活血红素氧化酶-1(heme oxygenase-1, Hmox-1)。Hmox-1可以减少氧化应激,抑制细胞凋亡的线粒体途径,保护细胞免于凋亡^[24]。

2 与胰腺恶性肿瘤发生的关系

2.1 促进细胞增殖或抑制细胞凋亡

当机体出现炎症反应时,炎症因子分泌增多。除了IGF-1,其他炎症因子均有刺激REG1A蛋白表达的作用^[25]。例如,炎症因子IL-6与地塞米松共同作用时,IL-6激活STAT3信号通路,活化后的STAT3结合于*REG1A*基因启动子上,使得*REG1A* mRNA转录增多,蛋白表达增高,蛋白活性增强。REG1A与胰腺腺泡细胞分化程度的关系密切。当REG1A蛋白分泌减少时,胰腺腺泡细胞去分化,转变为其他种类的胰腺细胞^[26]。体内体外实验提示,REG1A蛋白可以促进胰腺癌细胞增殖,但其具体机制,目前尚未分明^[27]。REG3A、Reg3b和REG3G蛋白可以激活JAK2/STAT3信号通路,从而增强肿瘤细胞增殖能力,促进胰腺肿瘤细胞的生长,同时还可以增强肿瘤细胞的神经侵袭能力。而REG3G则可以通过降低凋亡蛋白(Caspase-3)表达提高抗凋亡能力,间接提高胰腺肿瘤细胞生存率^[28-30]。在胰腺癌组织中,与其发生相关的Hedgehog信号通路(Hedgehog pathway, HH)可以促进REG4蛋白的表达^[31-36]。而当REG4蛋白过表达时,又可以通过增强细胞周期蛋白D1的表达调节细胞周期,提高肿瘤细胞的增殖能力;同时,可以通过激活Akt通路,提高抗凋亡蛋白表达(BCL-2和BCL-xL),促进肿瘤细胞的抗凋亡能力,进一步提高胰腺肿瘤细胞生存能力^[37]。

2.2 增强肿瘤细胞侵袭能力

Reg3b可以改变小鼠体内巨噬细胞表型(M1转变为M2型)。M2型巨噬细胞的数量与胰腺肿瘤的

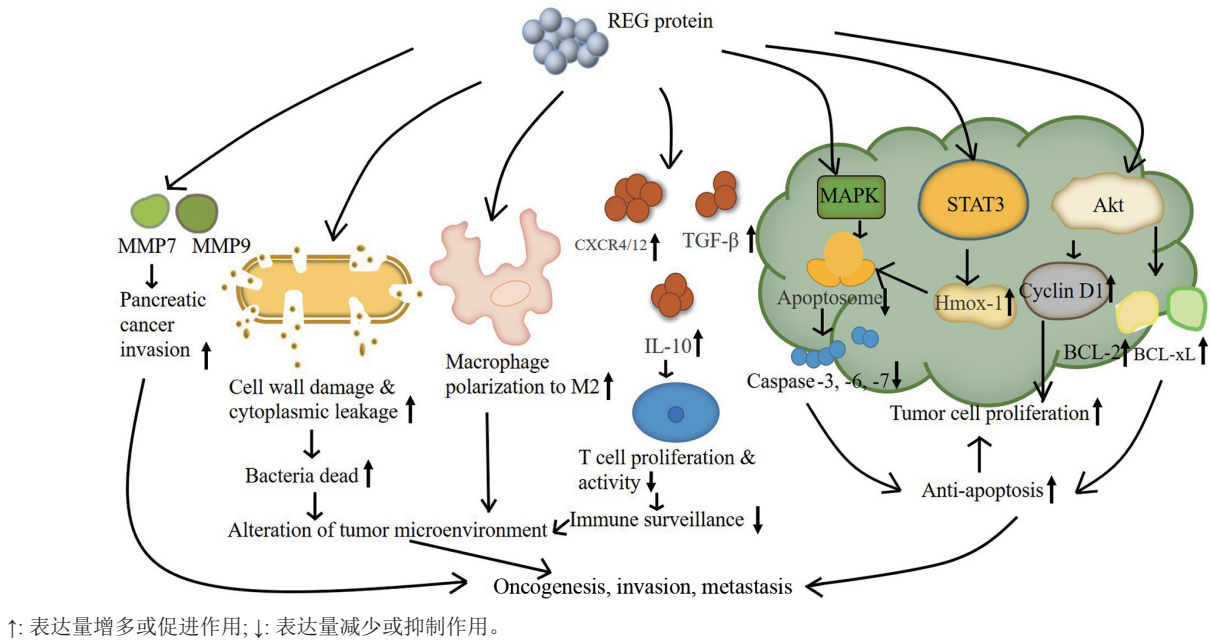


图1 REG蛋白与胰腺恶性肿瘤发生发展的关系

Fig.1 The correlation of REG protein and pancreatic cancer

大小、是否发生肝脏转移、是否原位复发、以及患者生存时间密切相关^[30]。与Reg3b相似, REG4蛋白通过激活EGFR/Akt/CREB信号通路转变巨噬细胞极性, 增强胰腺癌细胞的增殖和侵袭能力^[38]。REG4蛋白还能通过调节MMP-7蛋白改变胰腺癌的浸润生长模式、淋巴结及肝脏转移能力; 也可以提高MMP-9蛋白的表达而改变胰腺癌转移和肿瘤侵袭血管能力^[39-43]。

2.3 肿瘤微环境变化

Reg3b蛋白通过促进CXCR4/12蛋白分泌刺激肿瘤细胞生长; 诱导肿瘤内血管生成; 增强肿瘤细胞免疫逃逸能力以及促进多种免疫调节剂, 例如IL-10、MHC-1及TGF-β分泌升高。这些调节剂又可以增强胰腺内促结缔组织增生反应, 促进腺泡导管化生(acinar-to-ductal metaplasia, ADM), 进一步激活NF-κB通路, 改变胰腺癌的肿瘤微环境, 促进胰腺肿瘤形成^[44-46]。当REG3G升高后, 组织中肿瘤微环境同样也发生明显改变。IL-10及TGF-β分泌增多, 前者抑制骨髓细胞功能, 抑制T细胞增殖分化; 后者则能直接抑制T细胞活性^[28]。同时, REG3G还可以通过和PD-1/PD-L1作用提高Treg细胞分化程度, 募集骨髓来源抑制细胞, 抑制骨髓细胞变异并使CD8⁺T细胞失活^[24]。这些反应都将减弱机体的免疫监控作用, 造成肿瘤细胞免疫逃逸, 导致胰腺恶性肿瘤的发生。

2.4 机体肠道菌群失衡

实验发现, 胰腺癌患者胰腺组织内的细菌与正常人相比, 其数量明显增多, 种类也发生显著改变。深入研究后发现, 肠道内的细菌可以通过两种途径影响胰腺组织。第一, 肠道内的细菌可以通过正常生理腔道移行并定植于胰腺组织中, 直接对胰腺产生作用。第二, 肠道菌群可以通过改变机体免疫环境间接促进胰腺癌的发生发展。当给予胰腺恶性肿瘤模型鼠抗生素治疗后, 机体的免疫环境随之发生改变, M2型肿瘤相关巨噬细胞数量明显减低, 而M1型细胞数量增多^[47]; CD8⁺T细胞与CD4⁺T细胞数量比发生转化。这些免疫环境的改变将抑制肿瘤的生长^[48]。以上证据都证明, 肠道菌群失调也是导致胰腺肿瘤发生的可能原因之一。而REG3G蛋白是调节肠道菌群的关键因素。当REG3G蛋白缺乏时, 机体内肠道菌群发生异位, 同时肠道菌群数量明显增多^[49-50]。但遗憾的是, 目前尚无证据证明, REG3G蛋白是肠道菌群失衡后导致胰腺癌发生的直接因素, 这还需要更多的基础实验进行探究。

REG蛋白通过促进胰腺癌细胞增生, 抑制癌细胞凋亡, 增强肿瘤的侵袭能力, 改变肿瘤微环境以及可能通过调节机体肠道菌群失衡促进胰腺癌的发生发展(图1)。

3 REG蛋白与胰腺恶性肿瘤的诊断

实验发现,尿液中REG1A蛋白联合TFF1、LYVE1作为早期胰腺癌鉴别的肿瘤标志物时,其准确性可以超过90%。当它们同时结合血清学指标CA19-9时,准确性会进一步提高^[51]。胰液中的REG1A也可作为诊断指标,将其临界值设定为335.12 ng/mL时,诊断的敏感性和特异性分别为82.6%、81.8%^[52]。胰腺癌患者与正常人相比,血清中REG1A、REG1B与REG4明显升高^[53]。对指标REG4进行更深入的统计分析后得知,当血清中REG4>3.49 ng/mL时,诊断的敏感性和特异性分别为:94%、64%。若结合血清REG4和CA19-9对人群进行筛查时,则可以明显提高胰腺癌筛查的准确性(敏感性:100%,特异性:60%,准确性:77.5%)^[54-55]。

4 REG蛋白与治疗

目前对于进展期胰腺癌,大多数采用以吉西他滨或者5-FU为主的化学治疗,但其疗效并不尽如人意,究其原因可能为以下两点:

第一,胰腺肿瘤细胞可能通过自分泌和旁分泌REG4蛋白的方式,提高肿瘤抗化学药物(如吉西他滨)治疗的能力,并通过这种方式获得耐药性。临床实验证实,血清中REG4升高的患者对于术前新辅助化疗并不敏感,这可能与REG4蛋白的调节细胞周期的功能有关。REG4通过调节细胞周期相关蛋白D1的表达影响细胞周期,使得处于G₂期的细胞数量增多,而G₁期细胞减少。这将大大降低主要作用于细胞周期G₁/S期的吉西他滨的疗效。小鼠实验中,当使用REG4蛋白特异性抗体,去除小鼠体内REG4蛋白后,给予吉西他滨化疗能明显缩小肿瘤体积^[37,56]。目前相关研究仍处于动物实验阶段,临床实验尚未开展。

第二,REG4蛋白的高表达抑制了5-FU诱导的细胞凋亡。在接受低剂量5-FU和顺铂联合化疗的36位胃癌患者中,所有14位REG4阳性患者无疾病进展,同时,其肿瘤体积也未显示缩小。但其原理目前尚未阐明^[57]。

5 REG与胰腺癌预后

免疫组化结果提示,REG1A蛋白的表达量在胰腺癌旁组织中最多,肿瘤组织中表达次之,而在正常组织中最少^[27]。REG蛋白与决定患者预后的肿瘤分

期以及分化程度有关,这提示REG蛋白可以成为判断胰腺癌患者预后的关键因子。

胰腺组织与血清中的REG1A、REG1B以及组织中的REG4蛋白与胰腺恶性肿瘤分化程度呈正相关。随着胰腺癌组织分化程度由高到低,REG1A和REG1B的表达量逐渐降低。在胰腺组织高分化阶段(G₁~G₂),有83%的病例高表达REG1A蛋白,86%的病例提示高表达REG1B;在低分化阶段(G₃),分别有86%和100%的病例提示低表达REG1A和REG1B。低分化程度、低表达REG1A和REG1B蛋白的胰腺癌患者在接受手术治疗后预后仍然较差,生存率较低^[53-54]。

与REG1A、REG1B蛋白和预后的关系正好相反,血清中REG3A蛋白与预后呈负相关。当设定17.5 μg/L作为血清中REG3A蛋白表达的临界值时,高于此数据提示患者可能有更差的肿瘤分期及更短的生存期^[29]。

6 结论

本文主要探究REG蛋白与胰腺癌的发生、诊断、治疗以及预后的关系。REG蛋白可以通过激活MAPK、JAK2-STAT3、Akt等信号通路增强肿瘤细胞抗凋亡能力,改变肿瘤细胞周期,促进肿瘤细胞增殖,增强肿瘤细胞耐药性。同时,REG蛋白作为免疫调节剂,可以改变人体免疫环境,调节肿瘤微环境,进一步促进胰腺恶性肿瘤的发生。最新的研究发现,REG3G蛋白在调节肠道菌群稳定方面起到重要作用,而肠道菌群失衡又是促进胰腺恶性肿瘤发生的关键因素之一。遗憾的是,REG蛋白与肠道菌群和胰腺恶性肿瘤发生的直接联系尚不明确。REG蛋白不仅仅参与胰腺恶性肿瘤的发生发展,当单独检测血清、胰液或尿液中的REG蛋白或者将其与CA19-9或其他指标联合检测时,可以提高胰腺恶性肿瘤检测的准确性。REG蛋白还可以作为判断胰腺恶性肿瘤预后情况的指标。

总而言之,REG蛋白与胰腺恶性肿瘤的发生、诊断、治疗以及预后关系密切。未来还需要通过更深入的研究探索REG蛋白与胰腺恶性肿瘤发生发展的关系,以及通过开发REG蛋白相关药物,调节机体肠道菌群;改变肿瘤细胞周期;抑制肿瘤细胞抗凋亡能力;降低肿瘤耐药性等达到控制肿瘤生长,达到治疗胰腺恶性肿瘤的目的。

参考文献 (References)

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] ZHANG L, SANAGAPALLI S, STOITA A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(19): 2047-60.
- [3] DE CARO A, LOHSE J, SARLES H. Characterization of a protein isolated from pancreatic calculi of men suffering from chronic calcifying pancreatitis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1979, 87(4): 1176-82.
- [4] KIMURA N, YONEKURA H, OKAMOTO H, et al. Expression of human regenerating gene mRNA and its product in normal and neoplastic human pancreas [J]. *Cancer*, 1992, 70(7): 1857-63.
- [5] BONNER C. PSP/reg: a potent and enigmatic trophic factor, which is upregulated during the pathogenesis of diabetes [J]. *Endocrine*, 2015, 48(3): 725-7.
- [6] HARTUPEE J C, ZHANG H, BONALDO M F, et al. Isolation and characterization of a cDNA encoding a novel member of the human regenerating protein family: Reg IV [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1518(3): 287-93.
- [7] NATA K, LIU Y, XU L, et al. Molecular cloning, expression and chromosomal localization of a novel human REG family gene, REG III [J]. *Gene*, 2004, 340(1): 161-70.
- [8] CHEN Z, DOWNING S, TZANAKAKIS E S. Four decades after the discovery of regenerating islet-derived (Reg) proteins: current understanding and challenges [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 235.
- [9] DIECKGRAEFE B K, CRIMMINS D L, LANDT V, et al. Expression of the regenerating gene family in inflammatory bowel disease mucosa: reg Ialpha upregulation, processing, and anti-apoptotic activity [J]. *J Investig Med*, 2002, 50(6): 421-34.
- [10] KHAN K A, MCMURRAY J L, MOHAMMED F, et al. C-type lectin domain group 14 proteins in vascular biology, cancer and inflammation [J]. *FEBS J*, 2019, 286(17): 3299-332.
- [11] HO M R, LOU Y C, WEI S Y, et al. Human RegIV protein adopts a typical C-type lectin fold but binds mannan with two calcium-independent sites [J]. *J Mol Biol*, 2010, 402(4): 682-95.
- [12] DE REGGI M, CAPON C, GHARIB B, et al. The glycan moiety of human pancreatic lithostathine. Structure characterization and possible pathophysiological implications [J]. *Eur J Biochem*, 1995, 230(2): 503-10.
- [13] LEHOTZKY R E, PARTCH C L, MUKHERJEE S, et al. Molecular basis for peptidoglycan recognition by a bactericidal lectin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(17): 7722-7.
- [14] CASH H L, WHITHAM C V, HOOPER L V. Refolding, purification, and characterization of human and murine RegIII proteins expressed in *Escherichia coli* [J]. *Protein Expr Purif*, 2006, 48(1): 151-9.
- [15] VAISHNAVA S, YAMAMOTO M, SEVERSON K M, et al. The antibacterial lectin RegIIIγ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine [J]. *Science*, 2011, 334(6053): 255-8.
- [16] CASH H L, WHITHAM C V, BEHRENDT C L, et al. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin [J]. *Science*, 2006, 313(5790): 1126-30.
- [17] JIN C X, HAYAKAWA T, KO S B, et al. Pancreatic stone protein/regenerating protein family in pancreatic and gastrointestinal diseases [J]. *Intern Med*, 2011, 50(15): 1507-16.
- [18] GRAF R, SCHIESSER M, SCHEELE G A, et al. A family of 16-kDa pancreatic secretory stress proteins form highly organized fibrillar structures upon tryptic activation [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(24): 21028-38.
- [19] MUELLER C M, ZHANG H, ZENILMAN M E. Pancreatic reg I binds MKP-1 and regulates cyclin D in pancreatic-derived cells [J]. *J Surg Res*, 2008, 150(1): 137-43.
- [20] BISHNUPURI K S, SAINATHAN S K, BISHNUPURI K, et al. 和[J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53 Suppl 1(1): E169-80.
- [21] LUNA-VARGAS M P, CHIPUK J E. The deadly landscape of pro-apoptotic BCL-2 proteins in the outer mitochondrial membrane [J]. *FFBS J*, 2016, 283(14): 2676-89.
- [22] JIN J, LÜ H, WU J, et al. Regenerating family member 4 (Reg4) enhances 5-fluorouracil resistance of gastric cancer through activating MAPK/Erk/Bim signaling pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 3715-21.
- [23] SESHACHARYULU P, BAINE M J, SOUCHEK J J, et al. Biological determinants of radioresistance and their remediation in pancreatic cancer [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868(1): 69-92.
- [24] LIU X, ZHOU Z, CHENG Q, et al. Acceleration of pancreatic tumorigenesis under immunosuppressive microenvironment induced by Reg3g overexpression [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(9): e3033.
- [25] FRANCIS P J, SOUTHGATE J L, WILKIN T J, et al. Expression of an islet regenerating (reg) gene in isolated rat islets: effects of nutrient and non-nutrient growth factors [J]. *Diabetologia*, 1992, 35(3): 238-42.
- [26] SANCHEZ D, MUELLER C M, ZENILMAN M E. Pancreatic regenerating gene I and acinar cell differentiation: influence on cellular lineage [J]. *Pancreas*, 2009, 38(5): 572-7.
- [27] ZHOU L, ZHANG R, WANG L, et al. Upregulation of REG Ialpha accelerates tumor progression in pancreatic cancer with diabetes [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(8): 1795-803.
- [28] YIN G, DU J, CAO H, et al. Reg3g promotes pancreatic carcinogenesis in a murine model of chronic pancreatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(12): 3656-68.
- [29] NIGRI J, GIRONELLA M, BRESSY C, et al. PAP/REG3A favors perineural invasion in pancreatic adenocarcinoma and serves as a prognostic marker [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(22): 4231-43.
- [30] YOSHIKAWA K, MITSUNAGA S, KINOSHITA T, et al. Impact of tumor-associated macrophages on invasive ductal carcinoma of the pancreas head [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(11): 2012-20.
- [31] FELDMANN G, DHARA S, FENDRICH V, et al. Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases: a new paradigm for combination therapy in solid cancers [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 2187-96.
- [32] NAGAI S, NAKAMURA M, YANAI K, et al. Gli1 contributes to the invasiveness of pancreatic cancer through matrix metalloproteinase-9 activation [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(7): 1377-84.
- [33] NOLAN-STEVAUX O, LAU J, TRUITT M L, et al. GLI1 is regulated through Smoothed-independent mechanisms in neoplastic pancreatic ducts and mediates PDAC cell survival and

- transformation [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(1): 24-36.
- [34] THAYER S P, DI MAGLIANO M P, HEISER P W, et al. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis [J]. *Nature*, 2003, 425(6960): 851-6.
- [35] FELDMANN G, FENDRICH V, MCGOVERN K, et al. An orally bioavailable small-molecule inhibitor of Hedgehog signaling inhibits tumor initiation and metastasis in pancreatic cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(9): 2725-35.
- [36] BERMAN D M, KARHADKAR S S, MAITRA A, et al. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours [J]. *Nature*, 2003, 425(6960): 846-51.
- [37] LEGOFFIC A, CALVO E, CANO C, et al. The reg4 gene, amplified in the early stages of pancreatic cancer development, is a promising therapeutic target [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7495.
- [38] MA X, WU D, ZHOU S, et al. The pancreatic cancer secreted REG4 promotes macrophage polarization to M2 through EGFR/AKT/CREB pathway [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 189-96.
- [39] NAKAMURA H, HORITA S, SENMARU N, et al. Association of matrilysin expression with progression and poor prognosis in human pancreatic adenocarcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2002, 9(4): 751-5.
- [40] MATSUYAMA Y, TAKAO S, AIKOU T. Comparison of matrix metalloproteinase expression between primary tumors with or without liver metastasis in pancreatic and colorectal carcinomas [J]. *J Surg Oncol*, 2002, 80(2): 105-10.
- [41] YAMAMOTO H, ITOH F, IKU S, et al. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human pancreatic adenocarcinomas: clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(4): 1118-27.
- [42] NAGAKAWA Y, AOKI T, KASUYA K, et al. Histologic features of venous invasion, expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9, and the relation with liver metastasis in pancreatic cancer [J]. *Pancreas*, 2002, 24(2): 169-78.
- [43] HE X J, JIANG X T, MA Y Y, et al. REG4 contributes to the invasiveness of pancreatic cancer by upregulating MMP-7 and MMP-9 [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(12): 2082-91.
- [44] GIRONELLA M, CALVO C, FERNANDEZ A, et al. Reg3 β deficiency impairs pancreatic tumor growth by skewing macrophage polarization [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(18): 5682-94.
- [45] LONCLE C, BONJOCH L, FOLCH-PUY E, et al. IL17 functions through the novel REG3 β -JAK2-STAT3 inflammatory pathway to promote the transition from chronic pancreatitis to pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(22): 4852-62.
- [46] KOPP J L, VON FIGURA G, MAYES E, et al. Identification of Sox9-dependent acinar-to-ductal reprogramming as the principal mechanism for initiation of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Cancer cell*, 2012, 22(6): 737-50.
- [47] PUSHALKAR S, HUNDEYIN M, DALEY D, et al. The pancreatic cancer microbiome promotes oncogenesis by induction of innate and adaptive immune suppression [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(4): 403-16.
- [48] INO Y, YAMAZAKI-ITOH R, SHIMADA K, et al. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(4): 914-23.
- [49] HENDRIKX T, DUAN Y, WANG Y, et al. Bacteria engineered to produce IL-22 in intestine induce expression of REG3G to reduce ethanol-induced liver disease in mice [J]. *Gut*, 2019, 68(8): 1504-15.
- [50] WANG L, FOUTS D E, STRICKEL P, et al. Intestinal REG3 lectins protect against alcoholic steatohepatitis by reducing mucosa-associated microbiota and preventing bacterial translocation [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(2): 227-39.
- [51] RADON T P, MASSAT N J, JONES R, et al. Identification of a three-biomarker panel in urine for early detection of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(15): 3512-21.
- [52] PARK J Y, KIM S A, CHUNG J W, et al. Proteomic analysis of pancreatic juice for the identification of biomarkers of pancreatic cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(8): 1229-38.
- [53] LI Q, WANG H, ZOGOPOULOS G, et al. Reg proteins promote acinar-to-ductal metaplasia and act as novel diagnostic and prognostic markers in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47): 77838-53.
- [54] SAUKKONEN K, HAGSTR M J, MUSTONEN H, et al. Prognostic and diagnostic value of REG4 serum and tissue expression in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2018, 40(3): 1-10.
- [55] TAKAYAMA R, NAKAGAWA H, SAWAKI A, et al. Serum tumor antigen REG4 as a diagnostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45(1): 52-9.
- [56] EGUCHI H, ISHIKAWA O, OHIGASHI H, et al. Serum REG4 level is a predictive biomarker for the response to preoperative chemoradiotherapy in patients with pancreatic cancer [J]. *Pancreas*, 2009, 38(7): 791-8.
- [57] MITANI Y, OUE N, MATSUMURA S, et al. Reg IV is a serum biomarker for gastric cancer patients and predicts response to 5-fluorouracil-based chemotherapy [J]. *Oncogene*, 2007, 26(30): 4383-93.