

# SERPINE1通过调控MMP-9和MMP-2影响结肠癌的转移



陈德合<sup>1,2</sup>, 丁鹏鹏<sup>1</sup>, 李文定<sup>1</sup>, 李洪涛<sup>3</sup>

1. 河南中医药大学第一附属医院商丘医院普外科 (河南商丘 476000)
2. 宁夏医科大学临床医学院 (银川 750000)
3. 联勤保障部队第940医院普外科 (兰州 730050)

**【摘要】目的** 研究丝氨酸蛋白酶抑制剂 1 (serine proteinase inhibitor family E member 1, SERPINE1) 在结肠癌转移过程中对基质金属肽酶 -9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 和基质金属肽酶 -2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 的影响。**方法** 构建过表达与干扰表达 SERPINE1 的慢病毒载体后转染细胞, 通过 starBase 数据库中 RNA-RNA 共表达分析结肠癌中 SERPINE1 与 MMP-9 和 MMP-2 表达的关系, 并应用 Western Blot 实验明确 SERPINE1 对 MMP-2 和 MMP-9 表达的调控; 最后通过划痕实验和 Transwell 实验评估 SERPINE1 对结肠癌细胞转移的影响。**结果** SERPINE1 过表达与干扰表达的慢病毒载体构建成功, 通过 starBase 数据库 RNA-RNA 共表达分析发现在结肠癌中的 MMP-9 和 MMP-2 的表达与 SERPINE1 的表达呈显著正相关 ( $P < 0.01$ ,  $r$  值分别为 0.467 和 0.664), Western Blot 实验发现过表达 SERPINE1 组结肠癌细胞 MMP-9 和 MMP-2 的表达高于对照组; 反之, 干扰表达 SERPINE1 组 MMP-9 和 MMP-2 的表达低于对照组, 应用 ImageJ 软件进行灰度值相对定量分析, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。在 RKO 和 LoVo 细胞中过表达 SERPINE1 后细胞的迁移和侵袭能力增强 ( $P < 0.01$ ); 反之, 干扰表达 SERPINE1 后细胞的迁移和侵袭能力减弱 ( $P < 0.05$ )。**结论** SERPINE1 可能通过调控 MMP-9 和 MMP-2 来影响结肠癌细胞的转移。

**【关键词】** 结肠癌; 丝氨酸蛋白酶抑制剂 1; 基质金属肽酶 -9; 基质金属肽酶 -2; 转移

**【中图分类号】** R 735.3 **【文献标识码】** A

## SERPINE1 affects the metastasis of colon cancer by regulating MMP-9 and MMP-2

CHEN Dehe<sup>1,2</sup>, DING Pengpeng<sup>1</sup>, LI Wending<sup>1</sup>, LI Hongtao<sup>3</sup>

1. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Henan University of CM Shangqiu Hospital, Shangqiu 476000, Henan Province, China
  2. The School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750000, China
  3. Department of General Surgery, Joint Logistics Force 940 Hospital, Lanzhou 730050, China
- Corresponding author: LI Hongtao, Email: lihongtao528@163.com

**【Abstract】Objective** To clarify the effect of serine proteinase inhibitor family-E

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202509036

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目 (22JR5RA005); 部队专项培育面上项目 (2021YXKY021)

通信作者: 李洪涛, 博士后, 硕士研究生导师, Email: lihongtao528@163.com

member1 (SERPINE1) on matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) during colon cancer metastasis. **Methods** Lentiviral vectors for overexpression and interference of *SERPINE1* were constructed and then transfected into colon cancer cells. The relationship between the expression of *SERPINE1* and that of *MMP-9* and *MMP-2* in colon cancer was analyzed by RNA-RNA co-expression in the starBase database, and the effect of *SERPINE1* on the expression of *MMP-2* and *MMP-9* was validated by Western Blot experiment. Finally, the effect of *SERPINE1* on the metastasis of colon cancer cells was evaluated by wound healing assay and Transwell experiments. **Results** Lentiviral vectors for *SERPINE1* overexpression and interference expression were successfully constructed. Through RNA-RNA co-expression analysis of starBase database, it was found that the expression of *MMP-9* and *MMP-2* in colon cancer was significantly positively correlated with the expression of *SERPINE1* ( $P < 0.01$ , with  $r$  values being 0.467 and 0.664, respectively). Western Blot experiments found that the expression of *MMP-9* and *MMP-2* in cells in the *SERPINE1* overexpression group was higher than the control group; conversely, the expression of *MMP-9* and *MMP-2* in the cells in the *SERPINE1* interference expression group was lower than the control group. ImageJ software was used for relative quantitative analysis of gray value, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). In RKO and LoVo cells, the migration and invasion abilities of cells were enhanced after *SERPINE1* overexpression ( $P < 0.01$ ); conversely, the migration and invasion abilities of cells were weakened after interference with *SERPINE1* expression ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *SERPINE1* may regulate the metastasis of colon cancer cells through the expression of *MMP-9* and *MMP-2*.

**【Keywords】** Colon cancer; *SERPINE1*; *MMP-9*; *MMP-2*; Metastasis

结直肠癌是我国发病率仅次于肺癌的第二大肿瘤，2022 年新发病例达 51.7 万 / 年，5 年生存率低于欧美发达国家；2000—2018 年，我国结直肠癌发病率呈逐年上升趋势，其中男性发病率和死亡率增长幅度显著，疾病负担持续加重<sup>[1-3]</sup>。近年来，虽然有了新的治疗方案，但转移性结直肠癌的 5 年生存率仍然较低，不足 20%<sup>[4-5]</sup>。结肠癌是结直肠癌的主要类型，迫切需要寻找结肠癌诊治的靶分子，以便及早发现、及时诊治，从而改善患者预后。丝氨酸蛋白酶抑制剂 1 (serine proteinase inhibitor family E member 1, *SERPINE1*) 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族的一员，参与多种病理生理过程<sup>[6]</sup>。大量研究表明，*SERPINE1* 与肿瘤的发生、发展密切相关，且其不同肿瘤或同一肿瘤的不同时期似乎发挥着抑癌与促癌的双重功能<sup>[7-8]</sup>。前期本课题组通研究发现 *SERPINE1* 在结直肠癌中异常表达，且与患者预后相关，并且调控结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的恶性生物学行为，进一步研究发现 *SERPINE1* 可能通过调控 *MKI67* 表达和 *Bax/Bcl-2* 的比值影响结肠癌细胞的增殖与凋亡<sup>[9-11]</sup>。为明确 *SERPINE1* 在结肠癌细胞转移过程中发挥的生物学功能，已有

研究发现 *SERPINE1* 的表达与细胞外基质的降解相关<sup>[12]</sup>。多项研究表明肿瘤细胞的转移与细胞外基质降解蛋白相关，如 *MMP-9* 与 *MMP-2* 的表达可促进肿瘤细胞侵袭和迁移<sup>[13-15]</sup>。本研究首先构建过表达和干扰表达的 *SERPINE1* 慢病毒载体；然后通过 starBase 数据库进行 RNA-RNA 共表达分析筛选出基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, *MMP-9*) 和基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, *MMP-2*) 并通过 Western Blot 实验验证，最后通过划痕实验和 Transwell 实验评估 *SERPINE1* 对结肠癌细胞转移的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据库

通过 starBase 数据库进行 RNA-RNA 共表达分析，探讨结肠癌中 *SERPINE1* 的表达与 *MMP-9* 及 *MMP-2* 的相关性。

### 1.2 实验材料

结肠癌细胞：LoVo 细胞株由甘肃省干细胞基因与药物重点实验室赠予（货号：FH0023、上海富衡生物科技有限公司），RKO 细胞株购自上海富衡生物科技有限公司。

### 1.3 主要试剂及仪器

胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购于上海瑟欧生物科技有限公司; 培养基 DMEM 和 1640 及胰酶购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; 过表达和干扰表达 *SERPINE1* 慢病毒载体购自上海吉玛制药技术有限公司 (编号分别为 LV8N、C06003); RNA 反转录和扩增试剂盒购自北京宝日生物技术有限公司; 结晶紫染色液、RIPA 组织 / 细胞裂解液、蛋白上样缓冲液、嘌呤霉素、SDS-PAGE 制胶盒、电泳缓冲液及电转缓冲液、脱脂奶粉、TBST、BCA 蛋白浓度检测试剂盒和 4% 多聚甲醛购于北京索莱宝科技有限公司; Matrigel 基底膜基质购于上海诺娃医药科技有限公司; RNA 提取试剂盒、青霉素 - 链霉素溶液、抗体稀释液和 ECL 发光液购于上海碧云天生物技术有限公司; *SERPINE1* 引物合成来自北京擎科生物科技股份有限公司西安分部, 内参引物购于湖南艾克瑞生物工程有限公司; *SERPINE1* 一抗购于武汉三鹰生物技术有限公司; MMP-9、MMP-2 一抗购于江苏亲科生物研究中心有限公司; GAPDH 一抗、二抗购于杭州华安生物技术有限公司。

恒温培养箱购于赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; 酶标仪购于瑞士帝肯有限公司; 荧光显微镜购于日本奥林巴斯株式会社; qPCR 扩增仪购自美国应用生物系统公司; 电泳 / 电转仪购于上海伯乐生命医学产品有限公司。

### 1.4 细胞培养、转染及稳转株筛选

RKO 细胞株和 LoVo 细胞株分别用 DMEM 和 1640 完全培养基培养 (基础培养基中加入 1% 青霉素 - 链霉素溶液和 10% FBS 配制成完全培养基), 培养条件为 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>。

选取生长良好的对数生长期待感染靶细胞, 根据预实验选取合适的感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 值加入适量的慢病毒载体。感染 24 h 后换液, 待感染 72 h 后荧光显微镜初步观察感染效果, 然后加入含适量浓度嘌呤霉素的完全培养基, 定期换液, 进行稳转株筛选。培养 7 d 后收集细胞进行 RT-qPCR 和 Western Blot 鉴定, 以确认目的基因表达水平, 并将鉴定合格的细胞用于后续实验。

### 1.5 RT-qPCR实验

选取对数生长期待测细胞, 应用 RNA 提取

试剂盒进行总 RNA 提取, 选取纯度和浓度合格的样本进行 RNA 反转录, 接着进行 RT-qPCR 扩增, 最后采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法进行相对定量分析并绘制柱状图。引物序列: *SERPINE1* 正向引物: 5'-CCGCCGCCTCTTCCACAAATC-3', *SERPINE1* 反向引物: 5'-TAGGGCAGTTCCAGGATGTCGTAG-3'; *GAPDH* 正向引物: 5'-GCACCC TCAAGGCTGAGAAC-3', *GAPDH* 反向引物: 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'。

### 1.6 Western Blot实验

选取对数生长期待测细胞, 加入适量 RIPA 裂解液, 提取总蛋白, 用 BCA 法检测蛋白浓度。制作 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离 10 μg 总蛋白后, 将条带转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上, 用 5% 脱脂奶粉常温封闭 2 h。随后, 一抗 (一抗 *SERPINE1* 稀释比例为 1:1 000、一抗 *GAPDH* 为 1:20 000) 孵育 4 °C 冰箱内摇床过夜; 孵育完成后进行 TBST 洗膜, 然后将 PVDF 膜置于二抗中常温摇床孵育 2 h。TBST 洗膜后进行 PVDF 膜显影, 并通过 ImageJ 软件进行灰度值计算, 做定量分析绘制柱状图 (一抗 *SERPINE1* 稀释比例为 1:1 000, 一抗 *GAPDH* 稀释比例为 1:20 000, 二抗 HRP 结合山羊抗兔 IgG 抗体稀释比例为 1:50 000)。

### 1.7 划痕实验

采用划痕实验检测细胞的横向迁移能力。使用较细的马克笔在 6 孔板的底面画 3 条平行线作为标记线。将处于对数生长的靶细胞消化后均匀接种于 6 孔板内, 待细胞融合度在 80% 左右时用 10 μL 移液枪枪头制造划痕。PBS 清洗后更换低血清培养基 (含 2% FBS), 并于 0 h、12 h、24 h 和 48 h 定时拍照。计算细胞迁移率 = (0 h 划痕宽度 - 培养后划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 × 100%。

### 1.8 Transwell实验

通过 Transwell 板进行跨井迁移实验; 评估细胞的纵向迁移能力。提前 12 h 和将处在对数期生长的靶细胞换用无 FBS 培养基培养; 在 Transwell 下层小室接种含 20% FBS 的完全培养基 600 μL, 将饥饿细胞进行消化、用无 FBS 培养基重新制备悬液, 接种于 Transwell 的上层小室, 每孔 100 μL (约 5 × 10<sup>4</sup> 个), 接种完毕后将培养板放入培养箱中孵育 36 h; 孵育完成后上室加入 4% 多聚甲醛 200 μL 固定, 结晶紫染色, PBS 漂洗晾干后于

高倍显微镜下拍照。随机选取 5 个视野，做定量分析并绘制柱状图。

### 1.9 Transwell侵袭实验

提前 3 h 将 Matrigel 基底膜基质铺于 Transwell 上室底部（详细步骤参照说明书）。后续实验操作同 Transwell 纵向迁移实验。

## 2 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0.2 及 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示，两组比较采用独立样本 *t* 检验， $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 过表达及干扰表达SERPINE1慢病毒载体构建及测序验证

根据 National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene 数据库公布的 *SERPINE1* 核苷酸序列 (Gene ID 5054)，设计特异性过表达和干扰表达片段，由苏州吉玛基因有限公司(上海)合成过表达和干扰靶点序列，见表 1。

过表达 *SERPINE1* 慢病毒载体选用苏州吉玛基因有限公司(上海)的 LV8N，目的基因启动子为 EF-1a，荧光标签为 mCherry，真核抗性为 Puromycin (图 1-A)；干扰表达 *SERPINE1* 慢病毒载体选用苏州吉玛基因有限公司(上海)的 LV3，目的基因启动子为 H1，荧光标签为 GFP，真核抗性为 Puromycin (图 1-B)。为验证 *SERPINE1* 基因过表达和干扰表达载体插入序列与设计序列一致，委托苏州吉玛基因有限公司(上海)对过表达和干扰表达的载体序列进行基因测序鉴定。通过鉴定结果可知过表达和干扰表达 *SERPINE1* 慢病毒载体序列插入成功，与设计合成的序列一致 (图 1-C、图 1-D)。

### 3.2 SERPINE1过表达和干扰表达效率验证

为验证过表达和干扰表达 *SERPINE1* 慢病毒载体转染结肠癌细胞后，其过表达和干扰表达的效果，采用 RT-qPCR 和 Western Blot 实验验证目的基因 *SERPINE1* 的表达情况。RT-qPCR 实验结果显示，在 RKO 和 LoVo 细胞株中，转染过表达慢病毒载体 (oe-LV8N-*SERPINE1*) 后，与对照

表1 过表达和干扰基因片段序列

Table 1. Sequence of the overexpression and interference gene fragments

片段名称	片段序列 (5'-3')
过表达SERPINE1序列	ATGCAGATGTCTCCAGCCCTCACCTGCCTGGG... ...AACACTGTGCATGGGTTATTTTGGAGTGTAG
干扰表达SERPINE1序列	AGACCAACAAGTTCAACTATA

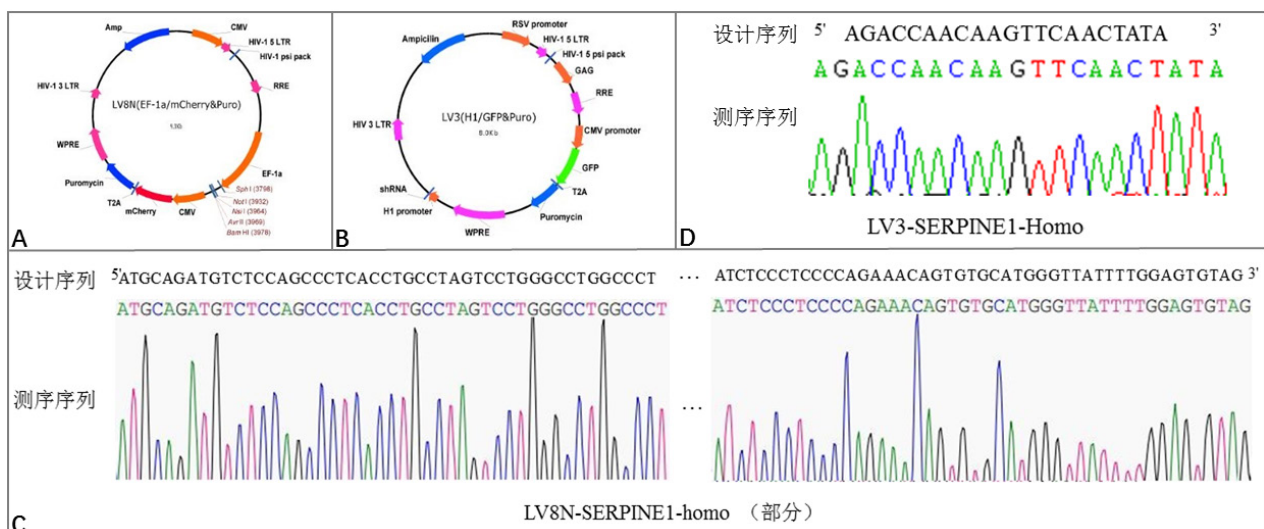


图1 过表达和干扰表达基因载体结构示意图和插入序列鉴定

Figure 1. Schematic representation of the structure of the expression vector and identification of the insert sequence  
注：A. 过表达载体结构示意图；B. 干扰表达载体结构示意图；C. 设计过表达SERPINE1的序列与载体测序结果鉴定；D. 设计干扰表达SERPINE1的序列与载体测序结果鉴定。

组 (oe-LV8N-NC) 相比, oe-LV8N-SERPINE1 组 SERPINE1 表达升高 ( $P < 0.05$ , 图 2-A1、图 2-C1); 转染干扰表达慢病毒载体 (sh-LV3-SERPINE1) 后, 与对照组 (sh-LV3-NC) 相比, sh-LV3-SERPINE1 组的 SERPINE1 表达显著降低 ( $P < 0.01$ , 图 2-B1、图 2-D1)。Western Blot 实验结果显示, 在 RKO 和 LoVo 细胞株中转染 oe-LV8N-SERPINE1 慢病毒载体后, 与对照组 (oe-LV8N-NC) 相比, oe-LV8N-SERPINE1 组 SERPINE1 表达升高, 灰度值量化分析差异有显著统计学意义 ( $P < 0.0001$ , 图 2-A2、图 2-C2); 转染 sh-LV3-SERPINE1 慢病毒载体后, 与对照组 (sh-LV3-NC) 相比, sh-LV3-SERPINE1 组的 SERPINE1 表达降低, 灰度值量化分析差异有显著统计学意义 ( $P < 0.0001$ , 图 2-B2、图 2-D2)。通过 RT-qPCR 和 Western Blot 实验验证过表达和干扰表达 SERPINE1 成功, 可满足后续实验需要。

### 3.3 SERPINE1对MMP-9和MMP-2的影响

通过 starBase 数据库中 RNA-RNA 共表达模

块, 分析在结肠癌中 SERPINE1 表达与 MMP-9、MMP-2 表达的相关性, 结果显示, MMP-9 与 MMP-2 表达与 SERPINE1 表达呈显著正相关 ( $P < 0.01$ ,  $r$  值分别为 0.467 和 0.664), 见图 3-A、图 3-B。通过 Western Blot 实验验证在结肠癌细胞 RKO 和 LoVo 细胞株进行慢病毒转染过表达和干扰表达 SERPINE1 载体后对 MMP-9、MMP-2 表达的影响, 结果显示, 在结肠癌的 RKO 细胞株中过表达 SERPINE1 后 MMP-9、MMP-2 表达升高, 干扰表达 SERPINE1 后其表达降低; 同样在结肠癌的 LoVo 细胞株中过表达和干扰表达 SERPINE1 后表现出相似的趋势 (图 3-C)。应用 ImageJ 软件进行灰度值相对定量分析, 发现过表达和干扰表达 SERPINE1 后, MMP-9 和 MMP-2 的表达差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 3-D—图 3-G)。

### 3.4 SERPINE1对结肠癌细胞横向迁移能力的影响

通过划痕实验检测细胞的横向迁移能力, 并对细胞的横向迁移率进行量化, 评估过表达

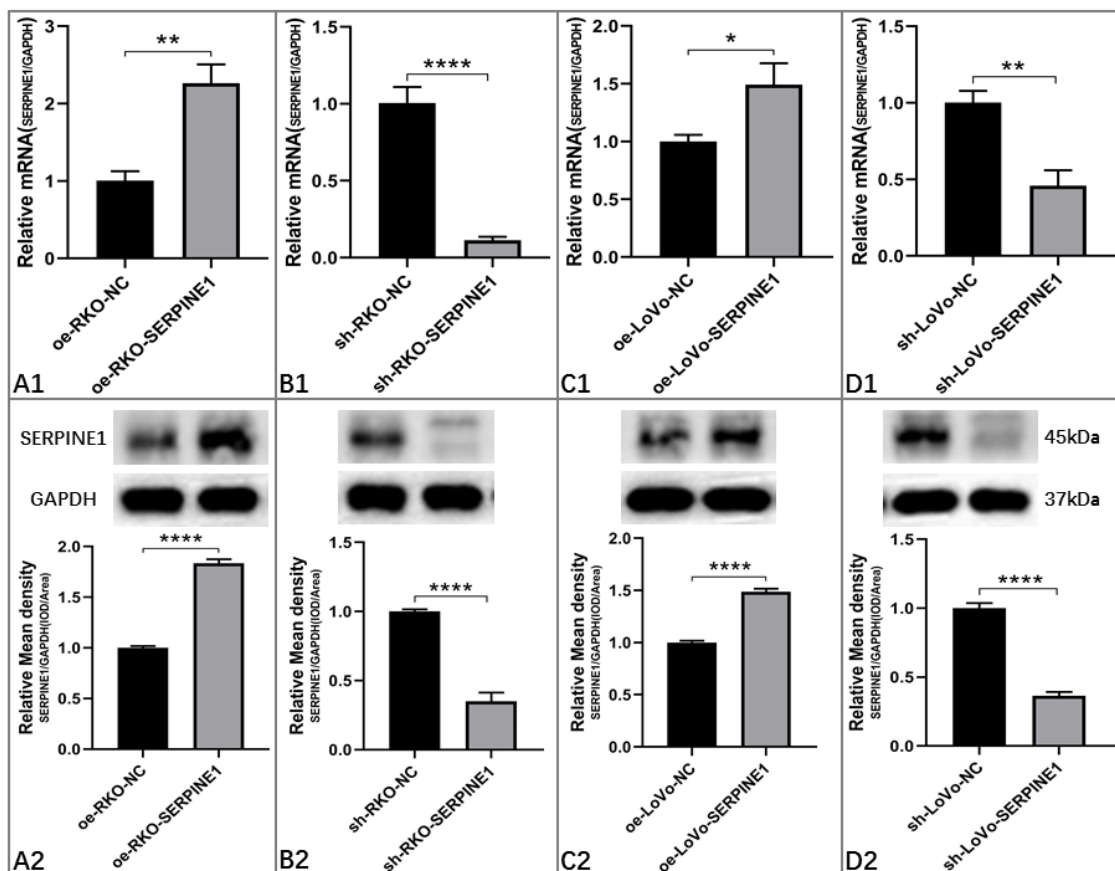


图2 转染不同慢病毒载体后SERPINE1的表达

Figure 2. Expression of SERPINE1 after transfection with different lentiviral vectors

注: A1、B1、C1、D1为RT-qPCR实验检测转染不同慢病毒载体后mRNA表达; A2、B2、C2、D2为Western Blot实验检测转染不同慢病毒载体后蛋白表达。\* $P < 0.05$ 、\*\* $P < 0.01$ 、\*\*\* $P < 0.001$ 、\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

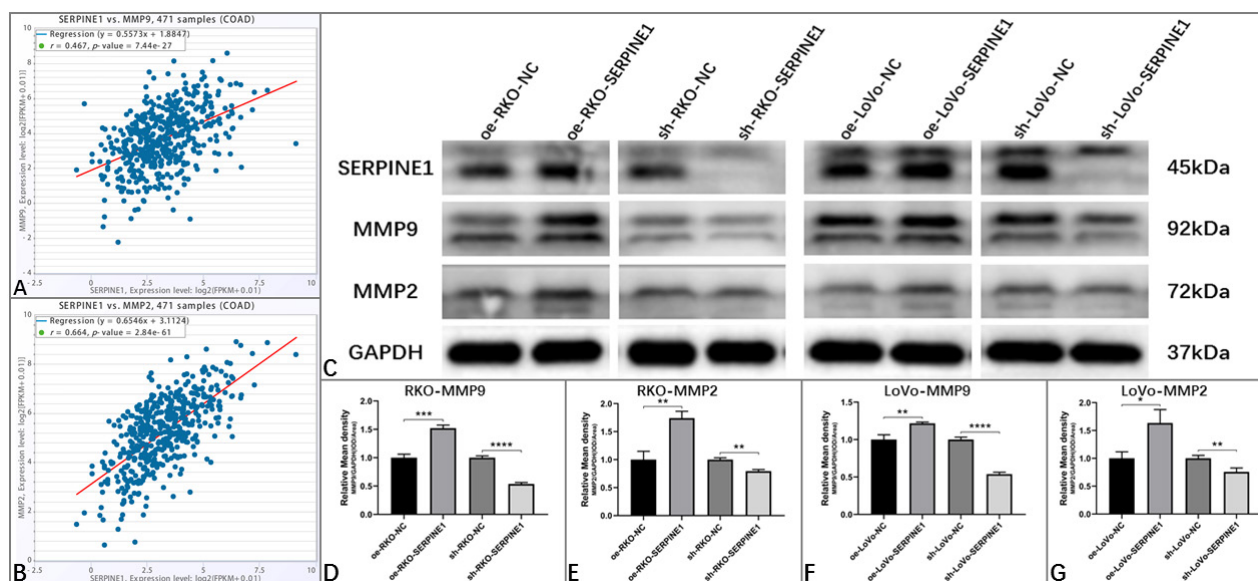


图3 过表达和干扰表达SERPINE1对MMP-9和MMP-2的影响

Figure 3. The effect of overexpression and interference expression of SERPINE1 on MMP-9 and MMP-2

注：A、B. 基于starBase数据库分析SERPINE1与MMP-9、MMP-2共表达关系；C. 通过Western Blot检测转染不同慢病毒载体后SERPINE1表达对MMP-9、MMP-2表达的影响；D、E、F、G为采用ImageJ软件进行灰度值量化分析SERPINE1表达对MMP-9、MMP-2表达的影响。\* $P < 0.05$ 、\*\* $P < 0.01$ 、\*\*\* $P < 0.001$ 、\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

和干扰表达 SERPINE1 后对细胞横向迁移的影响。结果显示：在 RKO 细胞株中，转染过表达 (oe-LV8N-SERPINE1) 和干扰表达 (sh-LV3-SERPINE1) 慢病毒载体后，oe-RKO-SERPINE1 组细胞的横向迁移能力强于对照组 (oe-RKO-NC)，sh-RKO-SERPINE1 组细胞的横向迁移能力弱于对照组 (sh-RKO-NC)，见图 4-A1、图 4-B1；同样，在 LoVo 细胞株中，转染过表达 (oe-LV8N-SERPINE1) 和干扰表达 (sh-LV3-SERPINE1) 慢病毒载体后，oe-LoVo-SERPINE1 组细胞的横向迁移能力强于对照组 (oe-LoVo-NC)，sh-LoVo-SERPINE1 组细胞的横向迁移能力弱于对照组 (sh-LoVo-NC)，见图 4-C1、图 4-D1)。通过量化各组细胞的横向迁移率进行差异性分析发现，相较于对照组，在 RKO 和 LoVo 细胞株中过表达和干扰表达 SERPINE1 组，在 12 h、24 h、48 h 细胞的横向迁移率差异均有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ , 图 4-A2—图 4-D2)。

### 3.5 SERPINE1对结肠癌细胞纵向迁移能力的影响

通过Transwell实验检测细胞的纵向迁移能力，并量化细胞的相对迁移面积，检测过表达和干扰表达 SERPINE1 后对细胞纵向迁移的影响。结果显示，在 RKO 细胞株中转染过表达 (oe-LV8N-SERPINE1) 和干扰表达 (sh-LV3-SERPINE1) 慢

病毒载体后，oe-RKO-SERPINE1 组细胞的纵向迁移能力强于对照组 (oe-RKO-NC)，sh-RKO-SERPINE1 组细胞的纵向迁移能力弱于对照组 (sh-RKO-NC)，见图 5-A1；同样，在 LoVo 细胞株中转染过表达 (oe-LV8N-SERPINE1) 和干扰表达 (sh-LV3-SERPINE1) 慢病毒载体后，oe-LoVo-SERPINE1 组细胞的纵向迁移能力强于对照组 (oe-LoVo-NC)，sh-LoVo-SERPINE1 组细胞的纵向迁移能力弱于对照组 (sh-LoVo-NC)，见图 5-B1)。通过量化各组细胞的纵向迁移面积进行差异性分析发现，相较于对照组，在 RKO 和 LoVo 细胞株中过表达和干扰表达 SERPINE1 组细胞的纵向迁移面积差异均有显著统计学意义 ( $P < 0.001$ )，见图 5-A2、图 5-B2。

### 3.6 SERPINE1对结肠癌细胞侵袭功能的影响

在Transwell上室包被Matrigel基底膜基质，建立细胞侵袭模型，通过Transwell实验检测细胞的侵袭能力并量化细胞的相对侵袭面积，评估过表达和干扰表达 SERPINE1 后对细胞侵袭能力的影响。结果显示，在 RKO 细胞株中，转染过表达 (oe-LV8N-SERPINE1) 和干扰表达 (sh-LV3-SERPINE1) 慢病毒载体后，oe-RKO 组细胞的侵袭能力强于对照组 (oe-RKO-NC)，sh-RKO-SERPINE1 组细胞的侵袭能力弱于对照组 (sh-

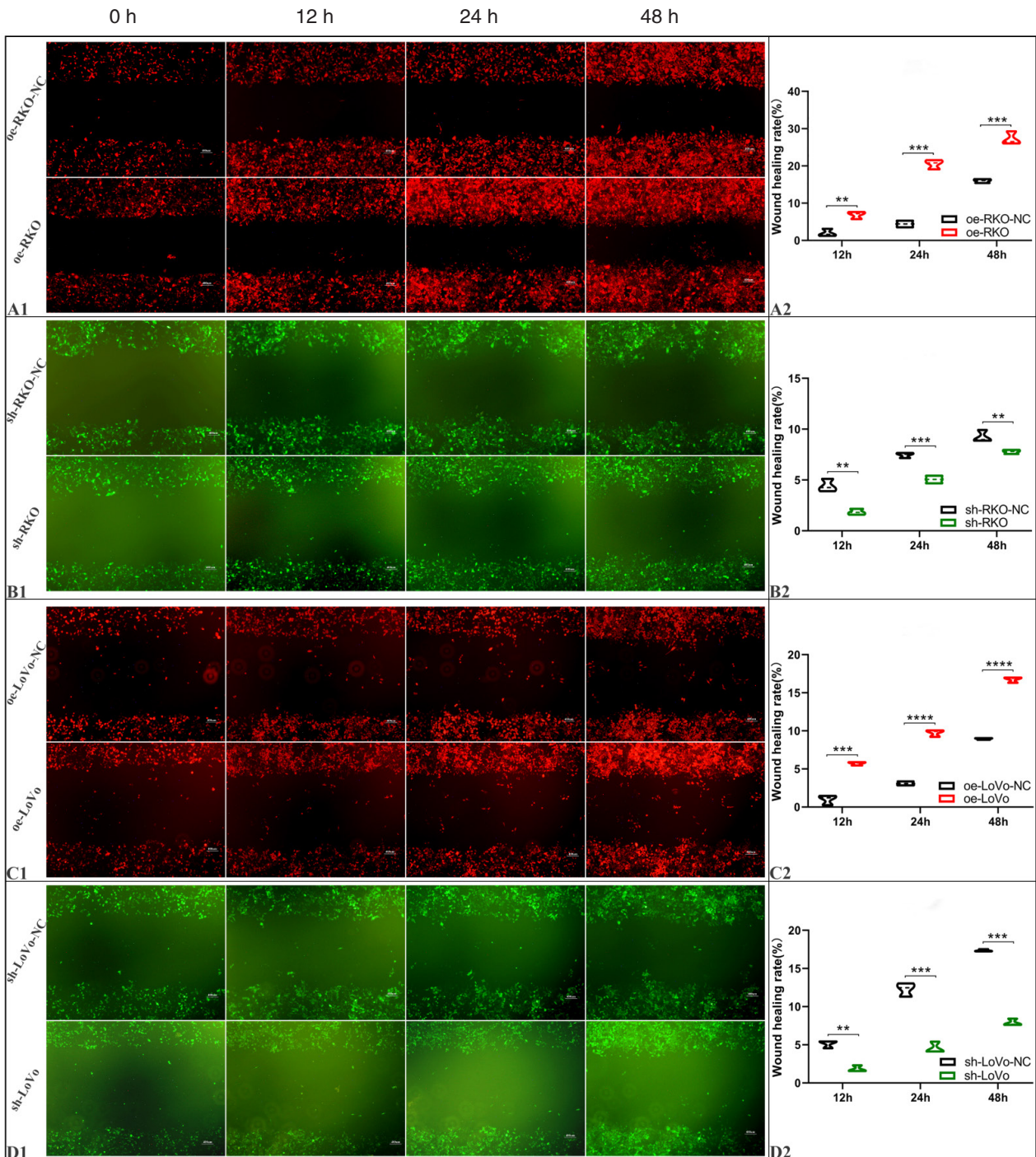


图4 过表达和干扰表达*SERPINE1*对结肠癌细胞横向迁移能力的影响

Figure 4. The effect of overexpression and interference expression of *SERPINE1* on the transmigration ability of colon cancer cells

注: A1、B1. RKO细胞株过表达及干扰表达*SERPINE1*后对细胞横向迁移影响; A2、B2. RKO细胞株过表达及干扰表达*SERPINE1*后对细胞横向迁移率的定量分析; C1、D1. LoVo细胞株过表达及干扰表达*SERPINE1*后对细胞横向迁移的影响; C2、D2. LoVo细胞株过表达及干扰表达*SERPINE1*后对细胞横向迁移率的定量分析。\*\* $P < 0.01$ 、\*\*\* $P < 0.001$ 、\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

RKO-NC), 见图 6-A1。同样, 在 LoVo 细胞株中转染过表达 (oe-LV8N-*SERPINE1*) 和干扰表达 (sh-LV3-*SERPINE1*) 慢病毒载体后, oe-LoVo 组细胞的侵袭能力强于对照组 (oe-LoVo-NC), sh-LoVo-*SERPINE1* 组细胞的侵袭能力弱于对照

组 (sh-LoVo-NC), 见图 6-B1。通过量化各组细胞的侵袭面积进行差异性分析发现, 相较于对照组, 在 RKO 和 LoVo 细胞株中过表达和干扰表达 *SERPINE1* 组细胞的侵袭面积差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见图 6-A2、图 6-B2。

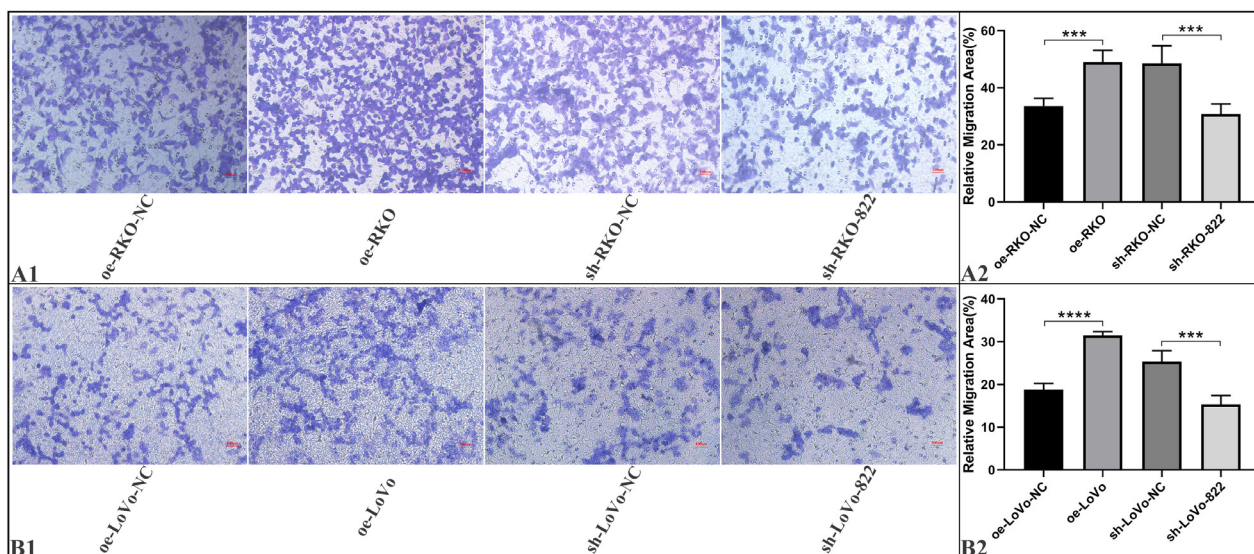


图5 过表达和干扰表达SERPINE1对结肠癌细胞纵向迁移能力的影响

Figure 5. The effect of overexpression and interference expression of *SERPINE1* on the longitudinal migration ability of colon cancer cells

注：A1. RKO细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞纵向迁移的影响；A2. RKO细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞纵向迁移面积的定量分析；B1. LoVo细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞纵向迁移的影响；B2. LoVo细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞纵向迁移面积的定量分析。\*\*\* $P < 0.001$ 、\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

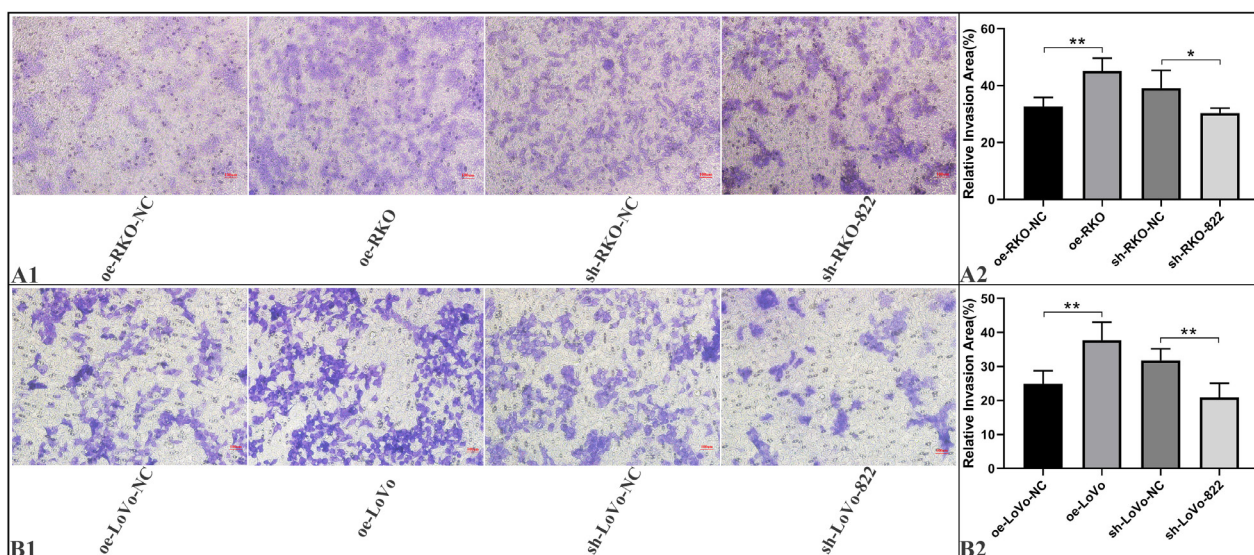


图6 过表达和干扰表达SERPINE1后对结肠癌细胞侵袭能力的影响

Figure 6. Effect of overexpression and interference expression of *SERPINE1* on the invasiveness of colon cancer cells

注：A1. RKO细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞侵袭的影响；A2. RKO细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞侵袭面积的定量分析；B1. LoVo细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞侵袭的影响；B2. LoVo细胞株过表达和干扰表达SERPINE1后对细胞侵袭面积的定量分析。\* $P < 0.05$ 、\*\* $P < 0.01$ 。

## 4 讨论

结肠癌是结直肠癌中最常见的一种类型，是世界上发病率和死亡率最高的癌症之一。仅2020年全球新发结肠癌患者约114.9万例，死亡患者约57.7万例<sup>[16]</sup>。受遗传和环境等多重因素影响，结肠癌的发病机制复杂多样。尽管早期结肠癌患

者5年生存率可达90%，但由于缺乏特异性诊断生物标志物，早期不易被发现，超过60%的患者发现时已发展至肿瘤晚期且大多已转移，存活率不足10%<sup>[17-19]</sup>。此外，治疗后复发也是结肠癌治疗的难题，有研究报道称其复发率高达50%<sup>[20]</sup>。分子生物学基础研究及应用技术的不断发展，为结肠癌的诊治带来了新的希望。

有研究表明, SERPINE1 在出凝血、细胞黏附与扩散、伤口损伤修复及肿瘤的发生发展等方面发挥着多种生物学功能, 探讨其在肿瘤中所发挥的作用已成为近年来的研究热点之一。早在上世纪 90 年代 Lee 等<sup>[21]</sup>发现血浆中纤溶酶原激活物抑制剂-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) 缺乏将导致纤溶亢进性出血, SERPINE1 在凝血和纤溶机制间的平衡中发挥着独特作用; Planus 等<sup>[22]</sup>的研究发现尿激酶与 SERPINE1 结合后可介导细胞黏附与扩散; Chan<sup>[23]</sup>和 Providence<sup>[24]</sup>等的研究发现 SERPINE1 可促进伤口损伤修复。近年来, 越来越多的研究发现其在肿瘤的发生与进展过程中发挥着重要功能, 如参与肿瘤微环境的重塑, 促进肿瘤血管的生成, 增强肿瘤细胞的耐药性、放射抗性, 参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭等<sup>[25-29]</sup>。

此外, 有研究采用生物信息学分析发现, SERPINE1 在结肠癌组织中高表达, 且其表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期显著相关<sup>[30]</sup>。Wang 等<sup>[31]</sup>的研究发现 SERPINE1 在结肠癌微环境的重塑和免疫细胞的浸润中发挥作用。基于以上研究, 提示 SERPINE1 在结肠癌的发生与进展中可能发挥着重要功能。本课题组进一步研究发现, 过表达 SERPINE1 促进结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭, 抑制其凋亡, 干扰 SERPINE1 表达可以抑制结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭, 促进其凋亡, 并调控增殖标志物 ki-67、凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 的表达<sup>[10-11]</sup>。然而, Mao 等<sup>[32]</sup>发现 SERPINE1 表达上调后抑制了前列腺癌细胞的迁移, 与本研究结论相反, 表明 SERPINE1 可能在不同组织的癌细胞中发挥了不同生物学功能, 提示了其在调控癌细胞的迁移中可能发挥着促癌或抑癌的双重作用。Kim 等<sup>[33]</sup>发现抗血小板治疗可增加分泌型 SERPINE1 表达, 诱导基质金属肽酶-1 (matrix metalloproteinase-1, MMP-1) 表达并促进结肠癌转移, 而本研究发现 SERPINE1 与 MMP-9、MMP-2 表达正相关。MMP-2、MMP-9 属于锌离子依赖性内肽酶家族成员, 基质金属肽酶具有维持组织稳态和驱动病理变化的双重角色, 尤其通过降解细胞外基质、参与组织重塑和破坏, 以及调控细胞微环境来影响肿瘤细胞的恶性生物学行为。刘等<sup>[34]</sup>的研究发现 miR-532-3p 靶向

SERPINE1 调控细胞外基质受体互作通路, 抑制结肠腺癌细胞增殖和迁移, 也印证了本研究结果 SERPINE1 促进结肠癌细胞的迁移和侵袭。其分子机制可能是 SERPINE1 通过调控 PI3K/AKT 信号通路、细胞外基质降解或调控血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号通路, 进而促进 MMP-2、MMP-9 表达, 最终促使结肠癌细胞的转移<sup>[10, 12, 35]</sup>。

综上所述, SERPINE1 可能通过调控 MMP-9、MMP-2 来影响结肠癌细胞的转移。本研究仍存在一定局限性, 未进行体内动物实验验证, 且未探索 SERPINE1 与其他细胞转移相关分子的相互作用, 未来研究可纳入更多相关分子以更全面地考察其影响。

## 参考文献

- 1 Han B, Zheng R, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. J Natl Cancer Cent, 2024, 4(1): 47-53. DOI: 10.1016/j.jncc.2024.01.006.
- 2 Cao M, Li H, Sun D, et al. Current cancer burden in China: epidemiology, etiology, and prevention[J]. Cancer Biol Med, 2022, 19(8): 1121-1138. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2022.0231.
- 3 Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and united states, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590. DOI: 10.1097/CM9.0000000000002108.
- 4 Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 325(7): 669-685. DOI: 10.1001/jama.2021.0106.
- 5 Lichtenstern CR, Ngu RK, Shalpour S, et al. Immunotherapy, inflammation and colorectal cancer[J]. Cells, 2020, 9(3): 618. DOI: 10.3390/cells9030618.
- 6 Morrow GB, Mutch NJ. Past, present, and future perspectives of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)[J]. Semin Thromb Hemost, 2023, 49(3): 305-313. DOI: 10.1055/s-0042-1758791.
- 7 陈德合, 郭刚, 王杰, 等. SERPINE1 在肿瘤中功能及应用的研究进展 [J]. 联勤军事医学, 2023, 37(9): 813-817. [Chen DH, Guo G, Wang J, et al. Research progress on the function and application of SERPINE1 in tumors[J]. Military Medicine of Joint Logistics, 2023, 37(9): 813-817.] DOI: 10.13730/j.issn.2097-2148.2023.09.019.
- 8 Wang B, Gu B, Zhang T, et al. Good or bad: paradox of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in digestive system tumors[J]. Cancer Lett, 2023, 559: 216117. DOI: 10.1016/j.canlet.2023.216117.
- 9 Wang WJ, Li HT, Yu JP, et al. A competing endogenous RNA network reveals novel potential lncRNA, miRNA, and mRNA biomarkers in the prognosis of human colon adenocarcinoma[J]. J Surg Res, 2019, 235: 22-33. DOI: 10.1016/j.jss.2018.09.053.

- 10 陈德合, 李登玉, 郭刚, 等. SERPINE1 对结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响 [J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(15): 1751–1762. [Chen DH, Li DY, Guo G, et al. The effect of SERPINE1 on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of colon cancer cells[J]. Journal of Army Medical University, 2024, 46(15): 1751–1762.] DOI: [10.16016/j.2097-0927.202311079](https://doi.org/10.16016/j.2097-0927.202311079).
- 11 陈德合, 李登玉, 郭刚, 等. SERPINE1 影响结肠癌细胞 RKO 和 LoVo 的增殖与凋亡 [J]. 联勤军事医学, 2024, 38(4): 277–284. [Chen DH, Li DY, Guo G, et al. Effects of SERPINE1 on proliferation and apoptosis of colon adenocarcinoma cells RKO and LoVo[J]. Military Medicine of Joint Logistics, 2024, 38(4): 277–284.] DOI: [10.13730/j.issn.2097-2148.2024.04.002](https://doi.org/10.13730/j.issn.2097-2148.2024.04.002).
- 12 陈德合, 李登玉, 郭刚, 等. 结肠癌中 SERPINE1 的表达、预后及作用机制 [J]. 河南大学学报 (医学版), 2024, 43(4): 27–33. [Chen DH, Li DY, Guo G, et al. SERPINE1's expression and prognosis in colon cancer and its mechanism of action[J]. Journal of Henan University (Medical Science), 2024, 43(4): 27–33.] DOI: [10.15991/j.cnki.41-1361/r.2024.04.011](https://doi.org/10.15991/j.cnki.41-1361/r.2024.04.011).
- 13 Kannan S, Murugan AK, Balasubramanian S, et al. Gliomas: genetic alterations, mechanisms of metastasis, recurrence, drug resistance, and recent trends in molecular therapeutic options[J]. Biochem Pharmacol, 2022, 201: 115090. DOI: [10.1016/j.bcp.2022.115090](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115090).
- 14 Tan X, Liu Z, Wang Y, et al. miR-138-5p-mediated HOXD11 promotes cell invasion and metastasis by activating the FN1/MMP2/MMP9 pathway and predicts poor prognosis in penile squamous cell carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(9): 816. DOI: [10.1038/s41419-022-05261-2](https://doi.org/10.1038/s41419-022-05261-2).
- 15 Song M, Xing X. miR-6742-5p regulates the invasion and migration of lung adenocarcinoma cells via mediating FGF8/ERK12/MMP9/MMP2 signaling pathway[J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(1): 53–69. DOI: [10.18632/aging.204227](https://doi.org/10.18632/aging.204227).
- 16 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209–249. DOI: [10.3322/caac.21660](https://doi.org/10.3322/caac.21660).
- 17 Miao Z, Liu S, Xiao X, et al. LINC00342 regulates cell proliferation, apoptosis, migration and invasion in colon adenocarcinoma via miR-545-5p/MDM2 axis[J]. Gene, 2020, 743: 144604. DOI: [10.1016/j.gene.2020.144604](https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144604).
- 18 Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, et al. Colorectal cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1: 15065. DOI: [10.1038/nrdp.2015.65](https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.65).
- 19 Zhang F, Zhang Y, Zhao W, et al. Metabolomics for biomarker discovery in the diagnosis, prognosis, survival and recurrence of colorectal cancer: a systematic review[J]. Oncotarget, 2017, 8(21): 35460–35472. DOI: [10.18632/oncotarget.16727](https://doi.org/10.18632/oncotarget.16727).
- 20 Gupta R, Bhatt LK, Johnston TP, et al. Colon cancer stem cells: potential target for the treatment of colorectal cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(8): 1068–1082. DOI: [10.1080/15384047.2019.1599660](https://doi.org/10.1080/15384047.2019.1599660).
- 21 Minowa H, Takahashi Y, Tanaka T, et al. Four cases of bleeding diathesis in children due to congenital plasminogen activator inhibitor-1 deficiency[J]. Haemostasis, 1999, 29(5): 286–291. DOI: [10.1159/000022514](https://doi.org/10.1159/000022514).
- 22 Planus E, Barlovatz-meimon G, Rogers RA, et al. Binding of urokinase to plasminogen activator inhibitor type-1 mediates cell adhesion and spreading[J]. J Cell Sci, 1997, 110(9): 1091–1098. DOI: [10.1242/jcs.110.9.1091](https://doi.org/10.1242/jcs.110.9.1091).
- 23 Chan JC, Duszczyszyn DA, Castellino FJ, et al. Accelerated skin wound healing in plasminogen activator inhibitor-1-deficient mice[J]. Am J Pathol, 2001, 159(5): 1681–1688. DOI: [10.1016/S0002-9440\(10\)63015-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63015-5).
- 24 Providence KM, Higgins PJ. PAI-1 expression is required for epithelial cell migration in two distinct phases of in vitro wound repair[J]. J Cell Physiol, 2004, 200(2): 297–308. DOI: [10.1002/jcp.20016](https://doi.org/10.1002/jcp.20016).
- 25 Zhou Q, Yuan O, Cui H, et al. Bioinformatic analysis identifies HPV-related tumor microenvironment remodeling prognostic biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 1007950. DOI: [10.3389/fcimb.2022.1007950](https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1007950).
- 26 Ohuchi K, Amagai R, Ikawa T, et al. Plasminogen activating inhibitor-1 promotes angiogenesis in cutaneous angiosarcomas[J]. Exp Dermatol, 2023, 32(1): 50–59. DOI: [10.1111/exd.14681](https://doi.org/10.1111/exd.14681).
- 27 Guo X, Sun Z, Chen H, et al. SERPINE1 as an independent prognostic marker and therapeutic target for nicotine-related oral carcinoma[J]. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2023, 16(1): 75–86. DOI: [10.21053/ceo.2022.01480](https://doi.org/10.21053/ceo.2022.01480).
- 28 Su YH, Wu YZ, Ann DK, et al. Obesity promotes radioresistance through SERPINE1-mediated aggressiveness and DNA repair of triple-negative breast cancer[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(1): 53. DOI: [10.1038/s41419-023-05576-8](https://doi.org/10.1038/s41419-023-05576-8).
- 29 Li Y, Shen L, Tao K, et al. Key roles of p53 signaling pathway-related factors GADD45B and SERPINE1 in the occurrence and development of gastric cancer[J]. Mediators Inflamm, 2023, 2023(1): 6368893. DOI: [10.1155/2023/6368893](https://doi.org/10.1155/2023/6368893).
- 30 马靖宇, 朱玉峰, 白光. SERPINE1 在结直肠癌中的表达及其预后意义 [J]. 河北医科大学学报, 2020, 41(12): 1421–1427. [Ma JY, Zhu YF, Bai G. Expression of SERPINE1 and its prognostic significance in colorectal cancer[J]. Journal of Hebei Medical University, 2020, 41(12): 1421–1427.] DOI: [10.3969/ji.ssn.1007-3205.2020.12.013](https://doi.org/10.3969/ji.ssn.1007-3205.2020.12.013).
- 31 Wang S, Pang L, Liu Z, et al. SERPINE1 associated with remodeling of the tumor microenvironment in colon cancer progression: a novel therapeutic target[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 767. DOI: [10.1186/s12885-021-08536-7](https://doi.org/10.1186/s12885-021-08536-7).
- 32 Mao Y, Li W, Hua B, et al. Silencing of ELK3 induces S-M phase arrest and apoptosis and upregulates SERPINE1 expression reducing migration in prostate cancer cells[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020(1): 2406159. DOI: [10.1155/2020/2406159](https://doi.org/10.1155/2020/2406159).
- 33 Kin WT, Mun JY, Baek SW, et al. Secretory SERPINE1 expression is increased by antiplatelet therapy, inducing MMP1 expression and increasing colon cancer metastasis[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(17): 9596. DOI: [10.3390/ijms23179596](https://doi.org/10.3390/ijms23179596).

- 34 刘挺, 文燕平. miR-532-3p 靶向 SERPINE1 调控细胞外基质受体互作通路抑制结肠腺癌细胞增殖和迁移[J]. 临床输血与检验, 2023, 25(3): 324-333. [Liu T, Wen YP. MiR-532-3p targets SERPINE1 and regulates ECM RECEPTOR INTERACTION to inhibit proliferation and migration of colon adenocarcinoma cells[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2023, 25(3): 324-333.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-2587.2023.03.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-2587.2023.03.007).
- 35 Chen S, Li Y, Zhu Y, et al. SERPINE1 overexpression promotes malignant progression and poor prognosis of gastric cancer[J]. J Oncol, 2022, 2022: 2647825. DOI: [10.1155/2022/2647825](https://doi.org/10.1155/2022/2647825).

收稿日期: 2025 年 09 月 12 日 修回日期: 2025 年 12 月 28 日  
本文编辑: 沈力 黄笛

引用本文: 陈德合, 丁鹏鹏, 李文定, 等. SERPINE1通过调控MMP-9和MMP-2影响结肠癌的转移[J]. 数理医药学杂志, 2026, 39(4): 252-262. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202509036](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202509036).  
Chen DH, Ding PP, Li WD, et al. SERPINE1 affects the metastasis of colon cancer by regulating MMP-9 and MMP-2[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2026, 39(4): 252-262. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202509036](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202509036).