

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.01.016

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20221020.1810.013.html\(2022-10-21\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20221020.1810.013.html(2022-10-21))

SERPINA1 在肝癌组织的表达及临床意义*

彭契六¹,朱春玲¹,张磊¹,韦尚谋¹,罗佳佳¹,甘丽英¹,张智²,韦邦宁³

(1. 广西国际壮医医院检验科, 南宁 530201; 2. 南宁市第一人民医院肝胆外科, 南宁 530022; 3. 广西国际壮医医院肝胆外科, 南宁 530201)

[摘要] **目的** 探讨丝氨酸蛋白酶抑制剂 A1 (SERPINA1) 在肝癌组织的表达及临床意义。**方法** 选取行手术切除的 78 例肝癌病例, 采用实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 和 Western blot 检测肝癌组织和癌旁组织 SERPINA1 mRNA 和蛋白表达; 免疫组织化学检测肝癌组织中 SERPINA1 表达。根据 SERPINA1 表达将肝癌患者分为 SERPINA1 高表达组和 SERPINA1 低表达组, 分析 SERPINA1 表达与肝癌转移和预后的关系。采用 RNA 干扰技术干扰肝癌 HepG2 细胞中的 SERPINA1 表达, Transwell 侵袭实验检测 SERPINA1 对肝癌细胞侵袭能力的影响, Western blot 检测上皮-间质转化 (EMT) 相关蛋白 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、N-钙黏蛋白 (N-cadherin) 和金属基质蛋白酶 9 (MMP-9) 表达的变化。**结果** 患者肝癌组织中 SERPINA1 mRNA 和蛋白表达明显高于癌旁组织 ($t=4.872, 5.811, P<0.05$)。肝癌组织中 SERPINA1 阳性表达率明显高于癌旁组织 ($\chi^2=5.03, P<0.05$)。肝癌组织中 SERPINA1 阳性表达与 TNM 分期、病理分级和血管侵犯有关 ($P<0.05$)。SERPINA1 高表达组肝癌患者 5 年累积生存率低于 SERPINA1 低表达组 ($\chi^2=5.899, P<0.05$), 5 年累积复发率高于 SERPINA1 低表达组 ($\chi^2=7.305, P<0.01$)。HepG2 细胞沉默 SERPINA1 表达后, 穿过 Transwell 小室基底膜的细胞数较对照组和 Mock 组减少, 上皮标志物 E-cadherin 表达升高, 间质标志物 N-cadherin 和 MMP-9 表达降低。**结论** SERPINA1 表达与肝癌的侵袭转移和预后相关, 其可能是预防肝癌转移和早期干预的新靶点。

[关键词] 肝癌; 丝氨酸蛋白酶抑制剂 A1; 上皮-间质转化; 侵袭; 预后**[中图法分类号]** R604 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)01-0077-06

Expression and clinical significance of serine protease inhibitor A1 in hepatocellular carcinoma tissues*

PENG Qiliu¹, ZHU Chunling¹, ZHANG Lei¹, WEI Shangmou¹, LUO Jiajia¹,
GAN Liying¹, ZHANG Zhi², WEI Bangning³

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning, Guangxi 530201, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Nanning Municipal First People's Hospital, Nanning, Guangxi 530022, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning, Guangxi 530201, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of serine protease inhibitor A1 (SERPINA1) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues. **Methods** Seventy-eight cases of HCC excision were selected. The expression of SERPINA1 mRNA and protein in carcinoma and corresponding paracancerous tissues was detected by using real-time PCR and Western blot respectively. The immunohistochemical analysis was used to detect the expression of SERPINA1 in HCC tissues, and the HCC patients were divided into the SERPINA1 high expression group and SERPINA1 low expression group according to the expression level of SERPINA1 in HCC tissues. The relationship between the expressions of SERPINA1 with metastasis and clinical characteristics of HCC was analyzed. The RNA interference technique was adopted to interfere the SERPINA1 expression in HCC hepG2 cells. The Transwell invasion assay was used to detect the effect of SERPINA1 on the invasion ability of HCC cells. The expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT) associated markers E-cadherin, N-cadherin and MMP-9 in HCC cells was detected by using Western blot analysis. **Results** The mRNA and protein expressions of SERPINA1 in HCC tissues were significantly higher than that in paracancerous tissues ($t=4.872,$

* 基金项目: 广西自然科学基金面上项目(2017JJA10583); 广西国际壮医医院优势学科项目(院字[2021]33号); 2019年广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(2019BS042)。 作者简介: 彭契六(1983-), 主任技师, 博士, 主要从事肝癌的发病机制研究。

5.811, $P < 0.05$). The positive expression rate of SERPINA1 in HCC tissues was significantly higher than that in paracancerous tissues ($\chi^2 = 5.03, P < 0.05$). The positive expression of SERPINA1 was related with the TNM type, pathological classification and vascular invasion ($P < 0.05$). The 5-year accumulate survival rate of the HCC patients in the high SERPINA1 expression group was lower than that in the low expression group ($\chi^2 = 5.899, P < 0.05$). The 5-year accumulate tumor recurrence rate in the SERPINA1 high expression group was higher than that in the SERPINA1 low expression group ($\chi^2 = 7.305, P < 0.01$). After SERPINA1 expression was silenced in HepG2 cells, the number of cells passing through the basement membrane of Transwell chamber was reduced compared with the control group and Mock group, the expression of epithelial marker E-cadherin in the SERPINA1 knockdown group was increased, while the expression of N-cadherin and MMP-9 was decreased. **Conclusion** The expression of SERPINA1 is related with invasion, metastasis and prognosis of HCC, which may be the new target spot for preventing HCC metastasis and conducting early intervention.

[Key words] hepatocellular carcinoma; serine protease inhibitor A1; epithelial-mesenchymal transition; metastasis; prognosis

寻找肝癌转移复发的预警分子和预后标志物, 预防和降低术后肿瘤复发转移率, 已经成为肝癌研究领域的热点^[1]。丝氨酸蛋白酶抑制剂 A1 (serine protease inhibitor A1, SERPINA1) 是丝氨酸蛋白酶抑制剂家族的主要成员, 主要由肝细胞合成^[2]。SERPINA1 具有强烈的催化反应活性, 主要通过和酶的活性部位结合, 抑制酶的催化作用或阻止酶原转化为活性酶, 在调节酶活性和蛋白质代谢, 以及细胞生长、分化、运动和信号转导方面发挥重要的作用^[3]。近年的研究结果显示, SERPINA1 与胃癌、口腔扁平细胞癌和结直肠癌的发生、发展和转移预后相关^[4-6], 但其在肝癌组织的表达及与肝癌患者预后的关系尚不清楚。本研究旨在分析肝癌组织中 SERPINA1 表达与肝癌患者术后转移和预后的关系, 并在 HepG2 细胞系中通过慢病毒转染干扰 SERPINA1 表达, 探讨 SERPINA1 对肝癌细胞侵袭和转移的影响, 为肝癌转移的预防和早期干预提供新思路。

1 资料与方法

1.1 肝癌标本

选取 2013 年 1 月至 2016 年 6 月在南宁市第一人民医院肝胆外科行手术切除的肝癌病例 68 例和 2019 年 1 月至 2019 年 8 月在广西国际壮医医院肝胆外科行手术切除的肝癌病例 10 例, 肝癌切除术后收集肝癌组织和癌旁组织 (癌组织与正常组织交界处 2 cm 以内), $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。纳入的全部病例均经病理确诊为肝细胞癌。分析 78 例肝癌患者相关临床资料, 所有纳入的病例均在入组前征得患者及其家属的知情同意。本研究经南宁市第一人民医院伦理委员会 (NNSY20160503) 和广西国际壮医医院伦理委员会 (20181201) 批准。

1.2 细胞株和试剂

肝癌细胞株 HepG2 由中国科学院上海生命科学研究院提供。逆转录试剂盒及实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司, E-钙黏蛋

白 (E-cadherin) 抗体购自美国 Abcam 公司, SERPINA1 抗体、荧光二抗购自美国 Santa Cruz 公司, 基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、N-钙黏蛋白 (N-cadherin) 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司, 24 孔 Transwell 侵袭小室购自美国 Corning 公司, Matrigel 购自美国 BD 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养和细胞转染

HepG2 细胞采用 DMEM 培养基 [含 10% 胎牛血清 (FBS)] 在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 5% CO_2 环境中培养, 当细胞生长至汇合度 60%~70%, 更换新鲜的培养基并加入适量的病毒悬液, 继续培养 24 h 后, 更换新鲜培养基, 用嘌呤霉素筛选稳转细胞株。SERPINA1 干扰 RNA (siRNA) 目标序列为 5'-GAA CUC ACC CAC GAU AUC A-3' 和 5'-GAU GAA GCG UUU AGG CAU G-3'。

1.3.2 RT-PCR

Trizol 一步法提取总 RNA, 将 RNA 逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板进行 RT-PCR, 检测 SERPINA1 的 mRNA 相对表达量。SERPINA1 上游引物: 5'-GGA ACA GGC TCA GGA CTA TCT C-3', 下游引物: 5'-CAA CAT CTG GCA CTC CAC A-3'; GAPDH 上游引物: 5'-CAA CGA ATT TGG CTA CAG CA-3', 下游引物: 5'-AGG GGT CTA CAT GGC AAC TG-3'。以 GAPDH 基因作为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因的相对表达量。

1.3.3 Western blot

将组织和转染 48 h 后的肝癌细胞用细胞裂解法提取细胞总蛋白, BCA 定量试剂盒测定蛋白浓度。样品均定量为 $5\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 变性, 取 $50\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白经 8% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳, 70 V 100 min 电转移至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 分别加入 SERPINA1、E-cadherin、N-cadherin、MMP-9 和 β -actin 一抗 (1:1 000), $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜。TBST

洗膜,加入相应二抗(1:5 000)室温孵育 2 h, TBST 清洗后, Bio-Rad ChemiDoc™ XRS+ System 曝光显影, Bio-rad Quantity One 软件扫描胶片的灰度值进行定量分析。

1.3.4 免疫组织化学检测

组织标本用石蜡包埋,切成厚度为 4 μm 的薄片,采用免疫组织化学法检测 SERPINA1 表达,染色结果以细胞胞浆出现棕黄色或棕褐色颗粒判断为阳性。免疫组织化学检测结果采用 Greenspan 分级,根据阳性细胞数和染色强度进行综合评分。每张切片在光镜下随机挑选 10 个 400 倍视野,每个视野计数 100 个细胞。染色信号的强度分为 4 级:0 级为“-”,1 级为“+”,2 级为“++”,3 级为“+++”。阳性信号的面积根据阳性区域占整体切片面积的百分比分为 5 级:0 级为 0,1 级为 $>0\sim 25\%$,2 级为 $>25\%\sim 50\%$,3 级为 $>50\%\sim 75\%$,4 级为 $>75\%\sim 100\%$ 。Greenspan 分级将信号面积得分与信号强度得分相乘,“-”为 0 分;“+”为 1~4 分;“++”为 5~8 分;“+++”为 9~12 分。评分过程由两位不知晓样本临床资料的实验人员独立完成。Greenspan 分级“-”和“+”的样本为低表达组,Greenspan 分级“++”和“+++”的样本为高表达组。

1.3.5 Transwell 实验

取人工基底膜和无血清培养基按 1:4 混匀加入 Transwell 小室中,凝固。无血清培养基饥饿培养 24 h 的 HepG2 细胞,无血清培养基清洗 3 次,将细胞悬液的细胞浓度调节为 $1\times 10^6/\text{mL}$,每个 Transwell 小室下室加入 500 μL 含 10% FBS 的培养基,上室加入 200 μL 细胞悬液,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养 48 h。取出 Transwell 小室,4%多聚甲醛固定 30 min,0.1%结晶紫染色 5 min, PBS 洗 2 次,用棉签擦去 Transwell 小室上

表面细胞,显微镜下观察并计数。

1.4 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件进行分析。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用配对 t 检验;计数资料以例数或百分比表示,采用 χ^2 检验。肝癌患者术后 1、3、5 年复发率和存活率采用 Kaplan-Meier 分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

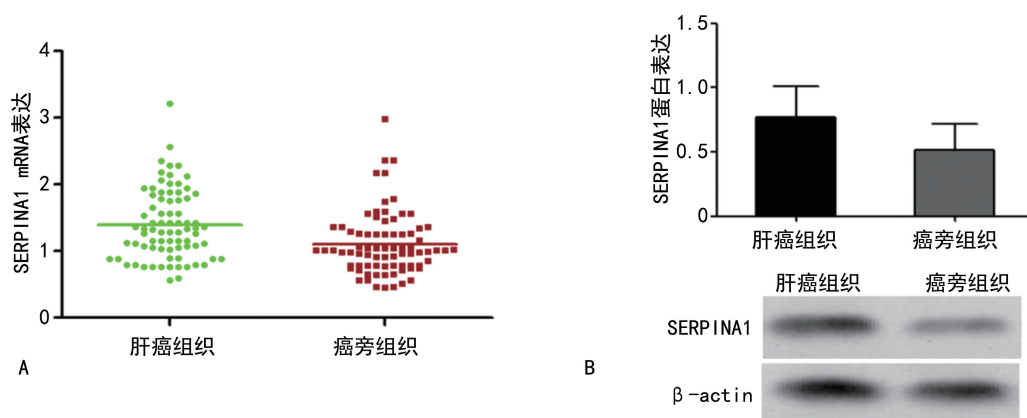
2 结果

2.1 随访结果

78 例肝癌患者男 58 例,女 20 例;年龄 31~79 岁, ≤ 50 岁 46 例, >50 岁 32 例;28 例术前甲胎蛋白(AFP) $\leq 400\ \mu\text{g/L}$,50 例 AFP $>400\ \mu\text{g/L}$;34 例肿瘤直径 $>5.0\ \text{cm}$,44 例肿瘤直径 $\leq 5.0\ \text{cm}$;TNM 分期 I、II 期 34 例,III、IV 期 44 例;病理分级 I、II 级 33 例,III、IV 级 45 例;肿瘤有包膜 28 例,无包膜 50 例;血管侵犯 34 例,无血管侵犯 44 例;肿瘤单发 42 例,多发 36 例。所有研究病例均获随访,随访截至 2021 年 2 月。78 例行手术切除的肝癌患者随访时间 2~72 个月,中位随访时间 28 个月,5 年总累积生存率 17.9%(14 例)。随访期间共有 41 例复发,复发率为 52.6%。复发时间为术后 2~49 个月,复发中位时间为术后 15 个月。复发转移部位依次为肝 28 例、肺 24 例、腹腔 3 例、骨 7 例、腹膜 2 例、脑 2 例、胸膜 2 例、胰 1 例、纵隔 1 例、食管 1 例。

2.2 患者肝癌组织和癌旁组织中 SERPINA1 mRNA 和蛋白表达比较

肝癌组织中 SERPINA1 mRNA 表达明显高于癌旁组织[(1.396 \pm 0.059) vs. (1.103 \pm 0.053), $t=4.872$, $P<0.05$], SERPINA1 蛋白表达亦明显高于癌旁组织[(0.894 \pm 0.086) vs. (0.583 \pm 0.095), $t=5.811$, $P<0.01$],见图 1。



A: SERPINA1 mRNA 表达; B: SERPINA1 蛋白表达。

图 1 SERPINA1 在肝癌组织和癌旁组织中表达比较

2.3 SERPINA1 表达与肝癌临床病理特征的关系

SERPINA1 主要定位于细胞质,见图 2。肝癌组织 SERPINA1 的阳性表达率为 60.3%(47/78),癌旁组织为 42.3%(33/78),比较差异有统计学意义($\chi^2=5.03$,

$P<0.05$)。肝癌组织中 SERPINA1 阳性表达与 TNM 分期、病理分级和血管侵犯有关($P<0.05$),见表 1。

2.4 SERPINA1 表达与肝癌患者预后的关系

78 例肝癌患者术后 1、3、5 年累积复发率分别为

23.1%(18/78)、46.2%(36/78)、48.7%(38/78),术后1、3、5年累积生存率分别为83.3%(65/78)、42.3%(33/78)、17.9%(14/78),见表2。SERPINA1高表达组5年累积复发率明显高于SERPINA1低表达组($\chi^2=7.305, P<0.01$),5年累积生存率低于SERPINA1低表达组($\chi^2=5.899, P<0.05$),见图3。

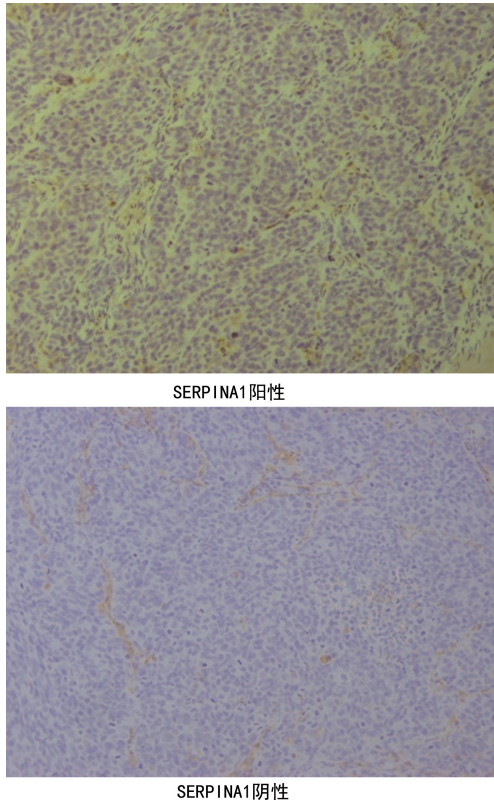


图2 肝癌组织SERPINA1免疫组化结果($\times 100$)

2.5 SERPINA1表达对肝癌细胞侵袭能力的影响

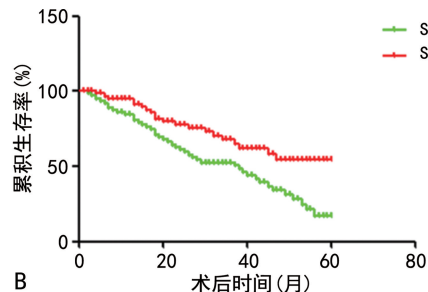
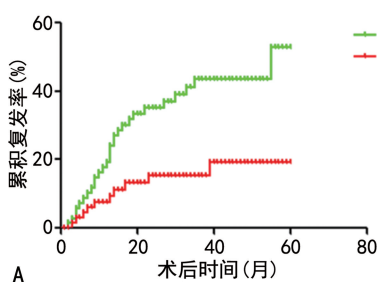
与对照组比较,siSERPINA1组穿过小室基底膜的细胞数量明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$),Mock组无明显差异($P>0.05$),见图4。

表1 肝癌组织SERPINA1表达与临床病理特征的关系

项目	n	SERPINA1阳性[n(%)]	χ^2	P
性别			1.18	>0.05
男	58	37(63.8)		
女	20	10(50.0)		
年龄			0.18	>0.05
≤50岁	46	28(60.9)		
>50岁	32	19(59.4)		
AFP			0.18	>0.05
≤400 μg/L	28	16(57.1)		
>400 μg/L	50	31(62.0)		
肿瘤直径			1.38	>0.05
≤5.0 cm	44	24(54.5)		
>5.0 cm	34	23(67.6)		
TNM分期			6.56	<0.05
I、II	34	15(44.1)		
III、IV	44	32(72.7)		
病理分级			5.23	<0.05
I、II	33	15(45.5)		
III、IV	45	32(71.1)		
肿瘤包膜			1.92	>0.05
有	28	14(50.0)		
无	50	33(66.0)		
血管侵犯			4.43	<0.05
有	34	25(73.5)		
无	44	22(50.0)		
肿瘤数			0.02	>0.05
单个	42	25(59.5)		
多个	36	22(61.1)		

表2 肝癌患者术后1、3、5年累积复发及生存情况比较

组别	n	累积复发率[n(%)]			累积生存率[n(%)]		
		1年	3年	5年	1年	3年	5年
SERPINA1高表达组	47	13(27.7)	27(57.4)	28(59.6)	37(78.7)	18(38.3)	5(10.6)
SERPINA1低表达组	31	5(16.1)	9(29.0)	10(32.3)	28(90.3)	15(48.4)	9(29.0)
合计	78	18(23.1)	36(46.2)	38(48.7)	65(83.3)	33(42.3)	14(17.9)



A: 累积复发率; B: 累积生存率。

图3 肝癌患者术后累积复发率和累积生存率

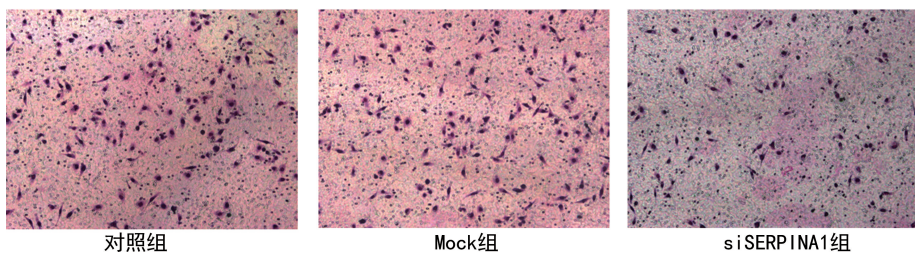
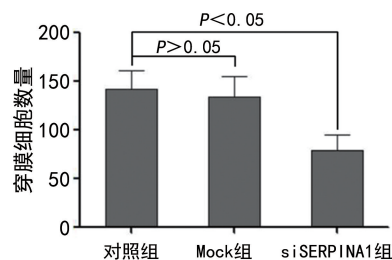


图4 各组细胞侵袭能力的变化



2.6 SERPINA1 表达对肝癌细胞上皮-间质转化 (EMT) 相关蛋白的影响

与对照组和 Mock 组比较, siSERPINA1 组 E-cadherin 表达上调, SERPINA1、MMP-9 和 N-cadherin 表达下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5。

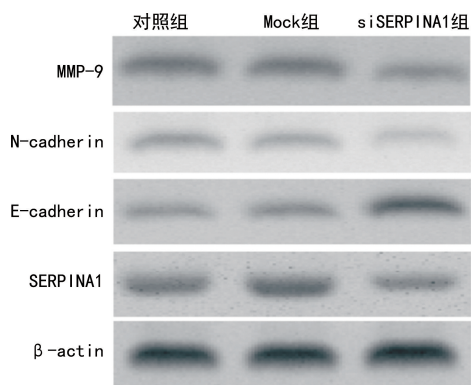


图5 各组 EMT 相关蛋白表达比较

3 讨论

SERPINA1 是丝氨酸蛋白酶抑制剂家族的主要成员, 主要由肝细胞合成, 少部分由巨噬细胞和单核细胞产生^[7]。在人类基因组中, SERPINA1 定位于第 14 号染色体上的 q32.1, 长度约为 370 kb^[8]。SERPINA1 具有强烈的催化反应活性, 能够与酶的活性部位结合, 抑制酶的催化作用或阻止酶原转化为有活性的酶, 在调节酶活性和蛋白质代谢等方面发挥重要的作用^[9]。除此之外, SERPINA1 还参与了生物体内多种生理和病理反应, 在调节细胞生长、细胞分化、细胞运动和信号转导中发挥作用^[4]。

鉴于其重要的生物学功能, SERPINA1 已经引起研究者的关注, 并已成为肿瘤研究领域的热点^[10]。ERCETIN 等^[11]研究发现, SERPINA1 在非小细胞肺癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 且癌组织中 SERPINA1 表达越高, 患者的生存率越低。KWON 等^[12]研究发现, 直肠癌中 SERPINA1 表达与患者肿瘤分期、淋巴结转移和预后不良相关, 过表达 SERPINA1 增强直肠癌细胞株侵袭和迁移的潜能, 反之, 沉默 SERPINA1 表达抑制直肠癌细胞株的侵袭和迁移的潜能, 进一步研究发现 SERPINA1 通过与 Snail 结合参与调节直肠癌的侵袭转移。在胃癌中, JIANG 等^[4]研究表明 SERPINA1 表达与胃癌的进展有关, SERPINA1 可能是预防胃癌侵袭和转移的

潜在靶标。本研究采用 RT-PCR 和 Western blot 检测肝癌组织和癌旁组织中 SERPINA1 mRNA 和蛋白表达, 结果显示肝癌组织中 SERPINA1 表达明显高于癌旁组织, SERPINA1 表达与肝癌病理分级、TNM 分期和血管侵犯相关 ($P < 0.05$), 而与肝癌其他临床病理学参数无关 ($P > 0.05$), 提示 SERPINA1 表达可能在肝癌侵袭转移中发挥着重要的作用。

本研究采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 SERPINA1 表达与肝癌患者术后预后的关系, 结果显示 SERPINA1 高表达组患者 5 年累积生存率明显低于 SERPINA1 低表达组 ($\chi^2 = 5.899, P < 0.05$), 5 年累积复发率明显高于 SERPINA1 低表达组 ($\chi^2 = 7.305, P < 0.01$), 表明肝癌组织 SERPINA1 高表达的患者可能具有更高的复发和转移的风险。为了进一步研究 SERPINA1 表达与肝癌细胞侵袭迁移的关系, 采用 RNA 干扰技术在肝癌 HepG2 细胞中干扰 SERPINA1 的表达, 然后应用 Transwell 侵袭实验检测细胞的侵袭迁移能力, 结果显示与对照组和 Mock 组比较, siSERPINA1 组穿过 Transwell 小室基底膜的细胞数量明显减少, 表明沉默 SERPINA1 的表达可以抑制肝癌细胞的侵袭迁移能力, SERPINA1 与肝癌细胞侵袭迁移密切相关, 与 KWON 等^[12]研究结果一致。

EMT 是指上皮细胞发生纤维细胞形态改变, 转化为具有间质细胞表型的生物学过程, 是胚胎发育和器官形成的基础过程^[13]。大量研究结果表明, EMT 在肿瘤的侵袭转移过程中也发挥着至关重要的作用, 它是上皮源性肿瘤细胞转移的关键步骤^[14]。EMT 程序启动后, 肿瘤细胞的上皮表型向间质表型转变, 主要表现为上皮细胞失去细胞间黏附和细胞极性分化表型, 获得侵袭迁移和抗凋亡等间质细胞特征, 同时间质细胞和上皮细胞标志物表达发生改变, 如上皮标志物 E-cadherin 表达下调, 间质标志物 N-cadherin 表达上调等^[15]。MMPs 的重要作用是降解细胞外基质, 通过影响细胞外基质导致 EMT, 促进肿瘤细胞移动。MMP-9 已被证实不同类型的肿瘤中促进肿瘤发生、发展, 并且与肿瘤的侵袭和不良预后相关^[16-17]。本研究发现, 上皮标志物 E-cadherin 表达升高, 而 MMP-9 和间质标志物 N-cadherin 表达下降, 表明 SERPINA1 可能通过调控 MMP-9 和 EMT

相关蛋白的表达,进而影响肝癌细胞的侵袭迁移。

综上所述,SERPINA1 在肝细胞癌中高表达,并与患者预后相关;SERPINA1 可能通过调控 MMP-9 表达和肝癌细胞 EMT,进而影响肝癌细胞的侵袭迁移。SERPINA1 可能是预防肝癌迁移和早期干预的新的标志物。

参考文献

- [1] PINERO F, DIRCHWOLF M, PESSÔA M G. Biomarkers in hepatocellular carcinoma: diagnosis, prognosis and treatment response assessment[J]. *Cells*, 2020, 9(6):1370.
- [2] ANDO Y, KURODA A, KUSAMA K, et al. Impact of serine protease inhibitor alpha1-antitrypsin on expression of endoplasmic reticulum stress-induced proinflammatory factors in adipocytes[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2021, 26: 100967.
- [3] CIPRIANI C, PASCARELLA S, ERRANTE F, et al. Serpin A1 and the modulation of type I collagen turnover: effect of the C-terminal peptide 409-418 (SA1-III) in human dermal fibroblasts[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(10): 1340-1348.
- [4] JIANG L, HU L G. Serpin peptidase inhibitor clade A member 1-overexpression in gastric cancer promotes tumor progression in vitro and is associated with poor prognosis[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(6): 278.
- [5] JABERIE H, HOSSEINI S V, NAGHIBALHOS-SAINI F. Evaluation of alpha 1-antitrypsin for the early diagnosis of colorectal cancer[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(2): 1165-1173.
- [6] KAWAHARA R, BOLLINGER J G, RIVERA C, et al. A targeted proteomic strategy for the measurement of oral cancer candidate biomarkers in human saliva[J]. *Proteomics*, 2016, 16(1): 159-173.
- [7] CONNOLLY B, ISAACS C, CHENG L, et al. SERPINA1 mRNA as a treatment for alpha-1 antitrypsin deficiency [J]. *J Nucleic Acids*, 2018, 2018: 8247935.
- [8] GRAHAM R, DINA M, HOWE S, et al. SERPINA1 full-gene sequencing identifies rare mutations not detected in targeted mutation analysis[J]. *J Mol Diagn*, 2015, 17(6): 689-694.
- [9] LIM J H, PARK S M, YOON J M, et al. Alpha-1 antitrypsin inhibits formaldehyde-induced apoptosis of human peritoneal mesothelial cells [J]. *Perit Dial Int*, 2020, 40(2): 124-131.
- [10] ZHANG X, XU R, FENG W, et al. Autophagy-related genes contribute to malignant progression and have a clinical prognostic impact in colon adenocarcinoma[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(3): 932.
- [11] ERCETIN E, RICHTMANN S, DELGADO B, et al. SERPINA1 clinical significance of gene and its encoded alpha1-antitrypsin protein in NSCLC [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(9): 1306.
- [12] KWON C, PARK H, CHOI J, et al. Snail and serpinA1 promote tumor progression and predict prognosis in colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24): 20312-20326.
- [13] DONGRE A, WEINBERG R. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(2): 69-84.
- [14] ZHANG Y, WEINBERG R. Epithelial-to-mesenchymal transition in cancer: complexity and opportunities[J]. *Front Med*, 2018, 12(4): 361-373.
- [15] YANG J, ANTIN P, BERX G, et al. Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(6): 341-352.
- [16] ALREHAILI A, GHARIB A, KARAM R, et al. Clinical significance of plasma MMP-2 and MMP-9 levels as biomarkers for tumor expression in breast cancer patients in Egypt[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(2): 1153-1160.
- [17] WANG R, CHEN S, HUANG L, et al. Predictive and prognostic value of Matrix metalloproteinase (MMP)-9 in neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 909.

(收稿日期:2022-04-08 修回日期:2022-09-10)