

· 论 著 ·

# SERPINA3通过抑制铁死亡促进胰腺癌的恶性进展及吉西他滨耐药的机制研究

和 源<sup>1, 2</sup>, 郭俊成<sup>1, 2</sup>, 叶智斌<sup>3</sup>, 王小虎<sup>1, 2</sup>, 李昊男<sup>1, 2</sup>, 黄敬彪<sup>2</sup>

1. 长治医学院附属和平医院胃肠外科, 山西 长治 046000;  
2. 长治医学院第一临床学院, 山西 长治 046000;  
3. 河北省人民医院胃肠外科, 河北 石家庄 050051

[摘要] 背景与目的: 丝氨酸蛋白酶抑制剂 (serine protease inhibitor, SERPIN) 的家族成员可以通过调节肿瘤细胞的凋亡、侵袭、转移和血管生成等过程, 影响肿瘤的发生、发展和预后, 但其在胰腺癌中的作用机制尚不清楚。本研究旨在探讨丝氨酸蛋白酶抑制剂A3蛋白 (serine protease inhibitors A3, SERPINA3) 高表达与胰腺癌细胞的增殖、凋亡、迁移及吉西他滨耐药之间的关系及机制。方法: 通过实时定量反转录聚合酶链反应 (real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR) 分析正常胰腺导管上皮细胞系hTERT-HPNE与胰腺癌细胞系SW1990、Capan-1、PANC-1、AsPC-1中SERPINA3的表达水平; 构建吉西他滨耐药胰腺癌细胞系PANC-1/R、AsPC-1/R, 采用qRT-PCR实验、细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 测定耐药及亲代敏感细胞系中SERPINA3表达水平及其对吉西他滨的药物敏感性差异。采用小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 构建SERPINA3敲低细胞系si-SERPINA, 以siRNA negative control构建阴性对照组si-SERPINA#NC; 利用丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、CCK-8、EdU细胞增殖实验、transwell迁移、matrigel侵袭、划痕和细胞凋亡实验, 分别检测si-SERPINA组和si-SERPINA#NC组对吉西他滨耐药胰腺癌细胞的脂质过氧化水平、增殖、迁移、侵袭、修复能力和细胞凋亡的影响。结果: 与正常胰腺导管上皮细胞hTERT-HPNE相比, SERPINA3在多种胰腺癌细胞系中的表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。相较于亲本细胞PANC-1和AsPC-1, 其耐药衍生细胞PANC-1/R和AsPC-1/R细胞株中SERPINA3的mRNA表达和蛋白水平均显著升高 ( $P < 0.001$ )。当SERPINA3在PANC-1/R和AsPC-1/R细胞中被敲低后, 细胞在不同浓度吉西他滨作用下的存活率下降, 并且在MDA检测中显示出脂质过氧化水平增加 ( $P < 0.001$ )。此外, 敲低SERPINA3的PANC-1/R和AsPC-1/R细胞系株的增殖率、迁移/侵袭细胞数量以及划痕实验的愈合率均显著降低 ( $P < 0.01$ ), 流式细胞术检测到凋亡细胞的数量增加 ( $P < 0.05$ )。这些结果表明, 敲低SERPINA3能够抑制吉西他滨耐药胰腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和修复能力, 并促进这些耐药细胞的凋亡。结论: SERPINA3在多种胰腺癌细胞中的呈高表达, SERPINA3高表达促进胰腺癌恶性进展和耐药, 干扰SERPINA3表达可促进铁死亡并增强吉西他滨耐药胰腺癌细胞对药物的敏感性。

[关键词] 胰腺癌; SERPINA3; 铁死亡; 吉西他滨; 耐药

中图分类号: R735.9 文献标志码: A

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2025.06.004

基金项目: 无。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

伦理批件: 不需要。

知情同意: 不需要。

引用本文: 和 源, 郭俊成, 叶智斌, 等. SERPINA3通过抑制铁死亡促进胰腺癌的恶性进展及吉西他滨耐药的机制研究 [J]. 中国癌症杂志, 2025, 35(6): 555-562.

Funding: no.

Conflicts of interest: authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: not required.

Informed consent: not required.

Cite this article: HE Y, GUO J C, YE Z B, et al. A research on the mechanism of SERPINA3 promoting malignant progression and gemcitabine resistance of pancreatic cancer by inhibiting ferroptosis [J]. Chin Oncol, 2025, 35(6): 555-562.

A research on the mechanism of SERPINA3 promoting malignant progression and gemcitabine resistance of pancreatic cancer by inhibiting ferroptosis HE Yuan<sup>1</sup>, GUO Juncheng<sup>1,2</sup>, YE Zhibin<sup>3</sup>, WANG Xiaohu<sup>1,2</sup>, LI Haonan<sup>1,2</sup>, HUANG Jingbiao<sup>2</sup> (1. Department of Gastrointestinal Surgery, Heping Hospital Affiliated to Changzhi

Medical College, Changzhi 046000, Shanxi Province, China; 2. The First Clinical College of Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shanxi Province, China; 3. Department of Gastrointestinal Surgery, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, Hebei Province, China)

Correspondence to: HE Yuan E-mail: heyuan820827@163.com

[ **Abstract** ] **Background and purpose:** Members of the serine protease inhibitor (SERPIN) family can influence tumorigenesis, progression, and prognosis by modulating processes such as apoptosis, invasion, metastasis, and angiogenesis in tumor cells. However, their role in pancreatic cancer remains unclear. This study aimed to investigate the impact of high expression of serine protease inhibitor A3 (SERPINA3) on the proliferation, apoptosis, migration, and chemoresistance of pancreatic cancer cells and its mechanism. **Methods:** This study analyzed the SERPINA3 expression levels in the normal pancreatic ductal epithelial cell line hTERT-HPNE and pancreatic cancer cell lines SW1990, Capan-1, PANC-1, and ASPC-1 by real-time reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR). We established gemcitabine-resistant pancreatic cancer cell lines PANC-1/R and ASPC-1/R, and used qRT-PCR assay and cell counting kit-8 (CCK-8) to determine the SERPINA3 expression levels in the constructed resistant cell lines and their parental sensitive cell lines, as well as the differences in their chemosensitivity to gemcitabine. We constructed the *SERPINA3*-knockdown cell line si-SERPINA with siRNA, and the negative control group si-SERPINA#NC with siRNA negative control. We used MDA assay, CCK-8 assay, EdU cell proliferation assay, transwell migration assay, matrigel invasion assay, scratch assay, and apoptotic assay to respectively detect the lipid oxidation levels, proliferation, migration, invasion, wound-healing ability, and the influence on apoptosis of the gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells in the si-SERPINA group and the si-SERPINA#NC group. **Results:** Compared with normal pancreatic ductal epithelial cells hTERT-HPNE, the expression level of SERPINA3 in various pancreatic cancer cell lines was significantly increased ( $P < 0.05$ ). mRNA and protein expression levels of SERPINA3 in PANC-1/R and ASPC-1/R were significantly increased compared with those in parent cells ( $P < 0.001$ ). When *SERPINA3* was knocked down in PANC-1/R and ASPC-1/R cells, the survival rate of the cells under different concentrations of gemcitabine chemotherapy decreased, and MDA detected that the lipid oxidation level was increased ( $P < 0.001$ ). In addition, the proliferation rate of PANC-1/R and ASPC-1/R cell lines with *SERPINA3* knockout, the number of migrating/invasive cells and the healing rate of scratch test were significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and flow cytometry demonstrated that the number of apoptotic cells was increased ( $P < 0.05$ ). These results suggest that *SERPINA3* knockdown can inhibit the proliferation, migration, invasion and wound healing ability of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells, and promote the apoptosis of these resistant cells. **Conclusion:** SERPINA3 overexpression was found in various pancreatic cancer cells. SERPINA3 overexpression promoted malignant progression and chemotherapy resistance of pancreatic cancer, and interference with SERPINA3 expression promoted ferroptosis and enhanced chemotherapy sensitivity of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells.

[ **Key words** ] Pancreatic cancer; SERPINA3; Ferroptosis; Gemcitabine; Drug resistance

胰腺癌是恶性程度极高、预后极差的消化系统肿瘤。截至2022年,全球胰腺癌新增病例510 566例,死亡病例467 005例,是所有实体瘤中的高致死率癌症类型<sup>[1]</sup>。因此,寻找更有效的临床治疗方案显得尤为重要。

铁死亡为铁依赖性脂质过氧化物积累驱动的调节性细胞死亡形式,不同于凋亡、坏死和自噬。有研究<sup>[2]</sup>表明,铁死亡在许多生物学过程如肿瘤抑制和免疫反应中发挥关键作用,这为肿瘤治疗提供了新的机会。耐药性对肿瘤治疗是一个重大挑战,而铁死亡与肿瘤治疗耐药性相关,诱导铁死亡已被证明可以抑制化疗药物耐药肿瘤的进展<sup>[3]</sup>。此外,基因功能分析发现SERPINA3与炎症反应及脂质代谢相关,而脂质代谢异常可引起细胞发生铁死亡。

SERPINA3是丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族成员之一,作为血浆中的急性期蛋白,在抗炎和抗病毒反应中起重要作用,同时维持细胞内环境的稳态<sup>[4]</sup>。在胰腺癌中,SERPINA3是一种从胰

腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)细胞分泌到患者血液中的rbc21cn反应性糖蛋白,在PDAC肿瘤组织中特异性表达,并参与肿瘤细胞的恶性生物学行为<sup>[5]</sup>。

因此,探索SERPINA3在胰腺癌进展和化疗药物耐药中发挥的作用具有积极意义。本研究旨在探讨SERPINA3通过调控铁死亡对胰腺癌细胞增殖、转移、侵袭等生物学恶性进展以及吉西他滨耐药的影响,从而为临床上优化胰腺癌的治疗和增强吉西他滨化疗敏感性提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

人正常胰腺导管上皮细胞系hTERT-HPNE和胰腺癌细胞系SW1990、Capan-1、PANC-1、AsPC-1购自武汉普诺赛生命科技有限公司,总RNA提取试剂盒、qRT-PCR试剂盒购自南京诺唯赞生命科技有限公司,Lipofectamine<sup>TM</sup>3000转染试剂盒、EdU细胞增殖实验试剂盒、磷酸盐缓

冲液 (phosphate-buffered saline, PBS) 购自上海碧云天生物技术股份有限公司, 10%胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、RPMI-1640培养基购自上海富衡生物科技有限公司, siRNA购自苏州金唯智生物科技有限公司, transwell迁移/侵袭试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司, 丙二醛实验 (malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒购自英国Abcam公司, 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8)、吉西他滨购自美国MCE公司。

## 1.2 细胞培养及转染

-80 °C冰箱中取出冻存的正常胰腺导管上皮细胞系hTERT-HPNE和胰腺癌细胞系SW1990、Capan-1、PANC-1、AsPC-1, 置于37 °C水浴锅中进行复苏; 后置于CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱内, 温度设置为37 °C进行培养。取对数生长期的PANC-1/R、AsPC-1/R两种细胞株, 按照Lipofectamine™3000转染试剂盒说明书, 建立低表达SERPINA3的细胞株PANC-1/R (si-SERPINA3) 和AsPC-1/R (si-SERPINA3)。并利用siRNA negative control建立阴性对照组PANC-1/R (si-SERPINA#NC) 和AsPC-1/R (si-SERPINA#NC)。24 h后测定mRNA表达水平, 确保干扰有效。

## 1.3 吉西他滨耐药细胞株

选取处于对数生长期的PANC-1、AsPC-1细胞系, 以亲本细胞半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>) 的10%作为起始浓度配制吉西他滨溶液, 用该浓度吉西他滨处理细胞24 h。弃去培养液, 1×PBS清洗后更换为不含药物的培养基继续培养, 生长密度再次恢复到90%时, 重复进行上述药物处理6~8次。细胞在该浓度下稳定生长后, 逐步提高药物浓度, 并采用相同的处理方法, 直到细胞能够在最终药物浓度下稳定生长。计算耐药指数 (resistance index, RI), RI=耐药细胞系IC<sub>50</sub>/亲代细胞系IC<sub>50</sub>, 挑选RI>5符合要求的耐药细胞株进行后续实验, 命名为PANC-1/R、AsPC-1/R。

## 1.4 实时定量反转录聚合酶链反应

使用TRIzol提取肿瘤组织和转染后组织的总RNA。并利用分光光度计来测定RNA的浓度和纯度。取100 ng总RNA建立20 μL反转录反应体系, 获得cDNA。使用相应靶基因引物建立PCR反应体系。以GAPDH、CBS为内参, 测定正常胰腺癌导管上皮组织和胰腺癌细胞以及吉西他滨耐药胰腺癌细胞中的SERPINA3的表达水平。各引物序列为: SERPINA3正向引物5'-CCTGAGGCAGAGTTGAGAATG-3', 反向引物

5'-CCTCGTCAAGTGGGCTGTTA-3'; GAPDH正向引物5'-CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT-3', 反向引物5'-AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC-3'; CBS正向引物5'-TGGCTTCCTAAATGGCCCTG-3', 反向引物5'-ATCCTACCTGGCCGACTTCT-3'。

## 1.5 CCK-8实验

细胞转染后48 h, 将细胞消化收集, 以2×10<sup>3</sup>细胞每孔, 使用100 μL培养基重悬, 加入96孔板, 每组设计6个平行对照; 继续培养对应时间后, 弃去培养基, 每孔加入新鲜配制的含10 μL CCK-8试剂的检测液100 μL, 置于培养箱中温育30 min至检测液变色后, 用酶标仪测波长450 nm处的吸光度 (D) 值。以分组为横轴, D<sub>450 nm</sub>为纵轴, 绘制细胞生长率曲线。

## 1.6 EdU细胞增殖实验

将各组细胞以每孔4×10<sup>3</sup>细胞接种于96孔板中, 待细胞贴壁, 按照试剂盒说明书配制工作液温育2 h。用4%多聚甲醛室温下固定30 min, 加入甘氨酸溶液室温下温育5 min以中和残留固定液。用0.5%的促渗试剂 (Triton X-100 in PBS) 通透20 min, 通透液吸弃后每孔加入Click反应液。最后加入0.1 mL Hoechst 33342溶液, 室温避光温育20 min。荧光显微镜下观察并拍照, 计算各组阳性细胞数所占百分比。

## 1.7 细胞划痕实验

细胞转染48 h后, 铺12孔板, 24 h后观察细胞汇合度达90%, 铁直尺过火放脱盖孔板上, 用10 μL移液器吸嘴倾斜沿直尺划竖线, 用1×PBS洗涤3次, 直到镜下看划痕区域无死细胞时拍照, 换无血清培养基, 用NIB410倒置生物显微镜10倍镜拍划痕, 拍摄完毕后, 放回37 °C培养箱继续培养24 h, 24 h后观察细胞, 弃旧培养基, 用1×PBS洗涤3次, 换新培养基, 再用NIB410倒置生物显微镜10倍镜拍摄划痕。

## 1.8 Transwell实验

将转染后的细胞消化下来后用无血清培养基制备成单细胞悬液, 4 °C下在小室上室底部加入100 μL基质胶, 带齐室温凝固, 取200 μL单细胞悬液至小室中培养, 在下室中加入20%FBS培养基500 μL, 放入37 °C, CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱中培养24 h。之后去除培养基, 用甲醇固定10 min, 用棉签轻轻擦除基质胶, 用1×PBS清洗1次, 结晶紫染色30 min, 纯水冲洗干净, 自然风干后于显微镜下拍照。

## 1.9 流式细胞术

收集PANC-1/R (si-SERPINA3组、si-

SERPINA#NC组)和AsPC-1/R (si-SERPINA3组、si-SERPINA#NC组细胞悬液),分装至Eppendorf试管中,300×g离心5 min,弃上清液。每管加入PBS进行重悬,再次300×g离心5 min。1 mL的1×PBS重复洗涤细胞2次,弃上清液。每孔加入100 μL结合缓冲液重悬细胞,加入1 μL Annexin V-FITC并充分混匀。加入1 μL的碘化丙啶,充分混合后,在室温下避光反应15 min,于1 h内进行流式细胞术检测。

### 1.10 MDA实验检测敲低SERPINA3后吉西他滨耐药细胞的脂质氧化水平

转染后收集各组细胞,按比例加入生理盐水制备匀浆,13 000×g离心10 min后取上清液于1.5 mL离心管中,根据MDA检测试剂盒的说明,将酶标仪波长设置为532 nm,测定各孔的D值。细胞中MDA的含量按说明书的公式进行计算。

### 1.11 统计学处理

采用SPSS 25.0和GraphPad Prism 9.5.0软件进行数据统计分析及制图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。经分析,本研究获得的数据呈正态分布,但不满足方差齐性,采用Welch's *t*检验。多组间比较采用单因素方差分析,进一步两组比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 SERPINA3在胰腺癌细胞中呈高表达

qRT-PCR分析表明,与正常胰腺导管上皮细胞hTERT-HPNE (1.04±0.31)相比,胰腺癌细胞系SW1990 (10.99±0.55)、Capan-1 (4.14±0.1.58)、PANC-1 (60.89±4.41)、AsPC-1 (48.18±3.33)中SERPINA3的表达水平显著增加(图1)。

### 2.2 吉西他滨耐药胰腺癌细胞SERPINA3显著高于亲本细胞

CCK-8细胞活性实验评估了胰腺癌细胞及

其耐药细胞对吉西他滨的反应性,实验结果表明,耐药细胞株PANC-1/R和AsPC-1/R对吉西他滨的敏感性明显低于它们的亲本细胞PANC-1和AsPC-1(图2A)。进一步分析显示,与亲本细胞相比,耐药细胞株PANC-1/R (3.17±0.11)和AsPC-1/R (3.82±0.38)中SERPINA3的表达水平较PANC-1 (1.01±0.042)和AsPC-1 (1.05±0.12)显著上升(图2B)。

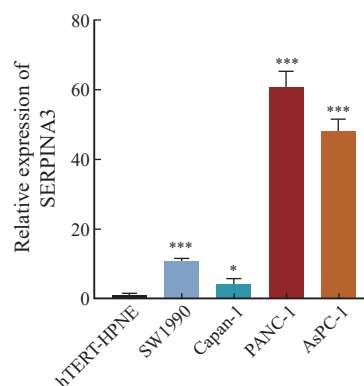


图1 SERPINA3在胰腺癌细胞中呈高表达

### Fig. 1 SERPINA3 was highly expressed in pancreatic cancer cells

This study detected the expression levels of SERPINA3 in normal pancreatic ductal epithelial cells and multiple pancreatic cancer cell lines by qRT-PCR assay. \*:  $P < 0.05$ , compared with hTERT-HPNE; \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with hTERT-HPNE.

### 2.3 敲低SERPINA3可诱导胰腺癌细胞铁死亡,增强其对吉西他滨的敏感性

对PANC-1/R和AsPC-1/R细胞株进行SERPINA3基因的敲低处理,并施以不同浓度的吉西他滨。为减少实验误差,将si-SERPINA3分为3个亚组(即#1、#2及#3),通过CCK-8细胞活性实验,观察细胞对吉西他滨敏感性的变化。实验结果表明,SERPINA3的敲低能够显著提高胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性(图3A)。进

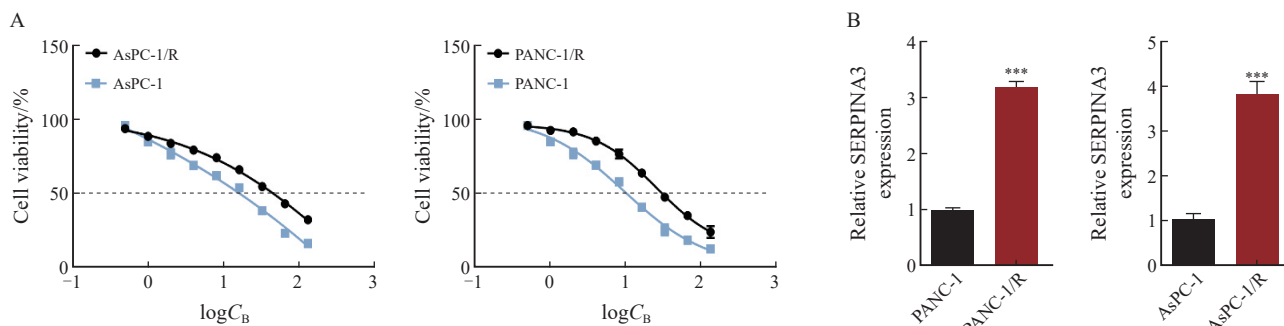


图2 吉西他滨耐药胰腺癌细胞SERPINA3显著高于亲本细胞

### Fig. 2 SERPINA3 was significantly higher in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells than in parental cells

A: The CCK-8 cell viability assay was used to detect the differences in chemosensitivity to gemcitabine between the constructed resistant cells and the parental sensitive cells; B: The qRT-PCR assay was used to detect the expression of SERPINA3 in gemcitabine-resistant cells and parental sensitive cells respectively. \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with each other.  $C_B$ : Concentration of gemcitabine ( $\mu\text{mol/L}$ ).

一步检测两组细胞内的MDA水平，PANC-1/R细胞经吉西他滨处理后si-SERPINA3组MDA值为(11.42±0.22)，对照组si-SERPINA#NC为(4.83±0.12)；AsPC-1/R中经吉西他滨处理后si-SERPINA3组MDA值为(4.01±0.14)，对照组si-SERPINA#NC为(2.43±0.07)，表明SERPINA3的敲低使吉西他滨耐药胰腺癌细胞的脂质过氧化水平明显上升(图3B)，提示SERPINA3可能通过调节胰腺癌细胞的铁死亡过程，影响吉西他滨的耐药性。

### 2.4 敲低SERPINA3后抑制吉西他滨耐药胰腺癌细胞的恶性进展，并逆转化疗药物耐药

在PANC-1/R和AsPC-1/R细胞株中通过siRNA下调SERPINA3的表达，并观察了其对胰腺癌细胞表型的影响。qRT-PCR分析表明，SERPINA3的表达被有效抑制。且下调SERPINA3能够抑制吉西他滨耐药性胰腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及划痕愈合能力，并促进细胞的凋亡(图4~8)。这些结果表明，降低SERPINA3的水平可能有助于缓解胰腺癌发展进程，并且耐药细胞的凋亡可能逆转胰腺癌细胞对吉西他滨的耐药性。

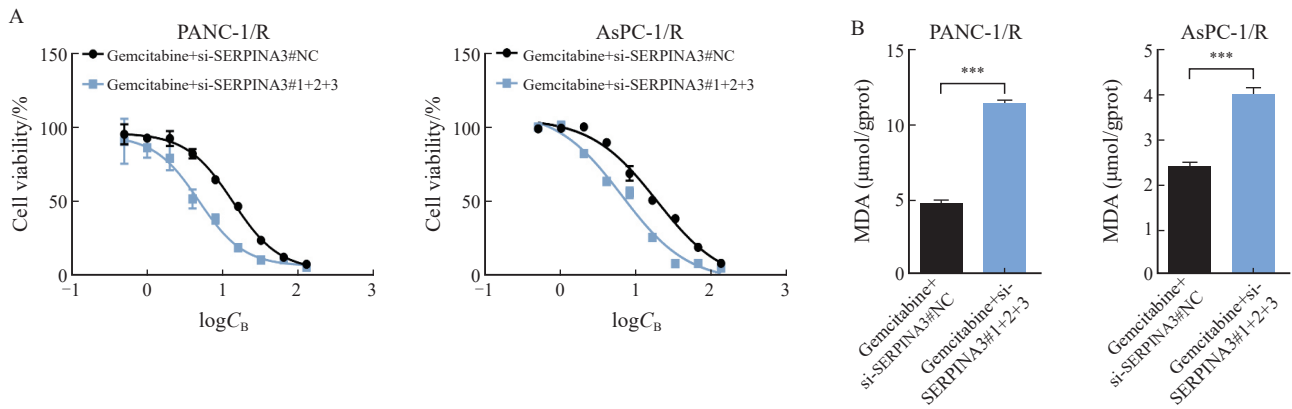


图3 敲低SERPINA3基因可诱导胰腺癌细胞铁死亡增强其对吉西他滨的敏感性

Fig. 3 Knockdown of SERPINA3 could induce ferroptosis in pancreatic cancer cells and enhance the chemosensitivity to gemcitabine

A: The CCK-8 assay indicated that knockdown of SERPINA3 enhanced the chemosensitivity of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells; B: The MDA detection kit was used to verify that the lipid oxidation level in gemcitabine-resistant cells increased after SERPINA3 knockdown. \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with gemcitabine+si-SERPINA3#NC.  $C_B$ : Concentration of gemcitabine ( $\mu\text{mol/L}$ ).

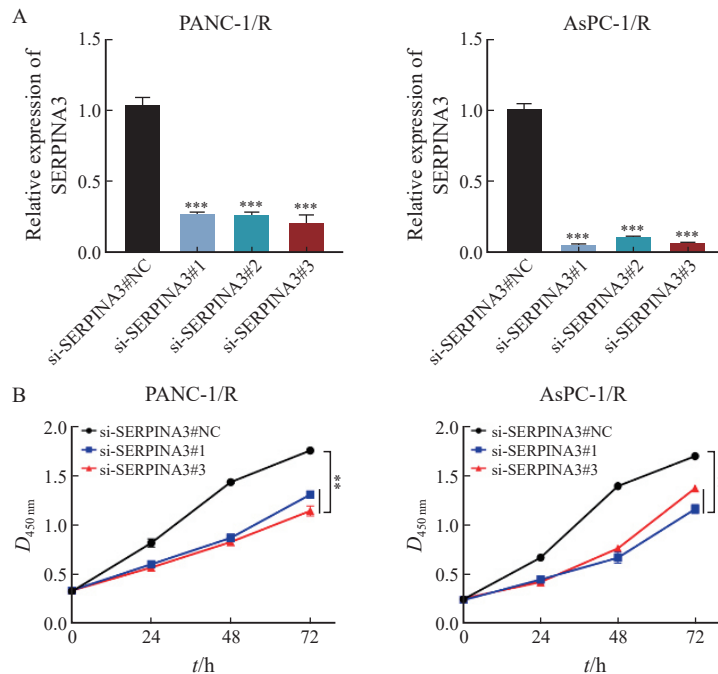


图4 敲低SERPINA3基因抑制吉西他滨耐药胰腺癌细胞的恶性进展，逆转化疗药物耐药

Fig. 4 Knockdown of SERPINA3 inhibited the malignant progression of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells and reverses chemotherapy resistance

A: qRT-PCR was used to verify the knockdown effect of SERPINA3. B: The CCK-8 assay indicated that knockdown of SERPINA3 reduced the proliferation of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. \*\*:  $P < 0.01$ , compared with si-SERPINA3#NC; \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with si-SERPINA3#NC.

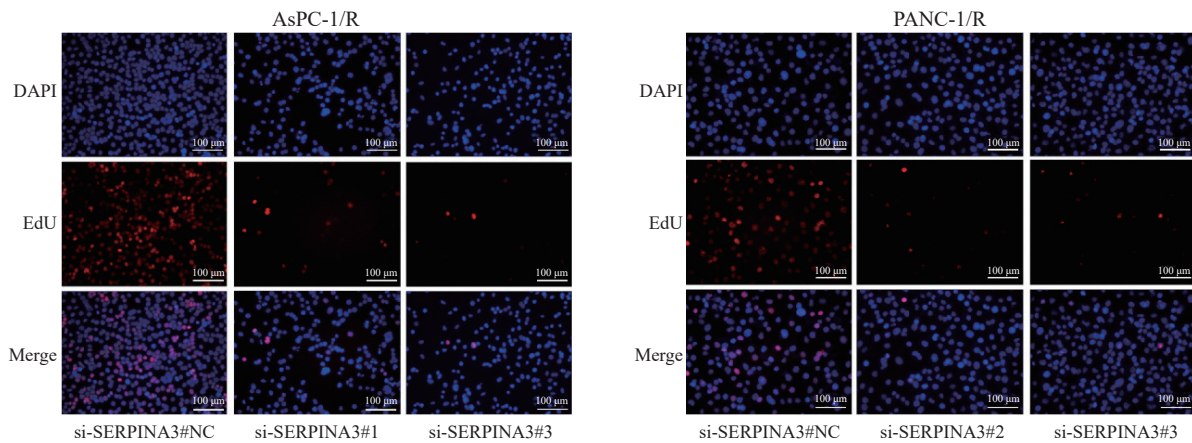


图5 EdU细胞增殖实验提示敲低SERPINA3减少吉西他滨耐药胰腺癌细胞增殖

Fig. 5 EdU cell proliferation assay indicated that knockdown of *SERPINA3* reduced the proliferation of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells

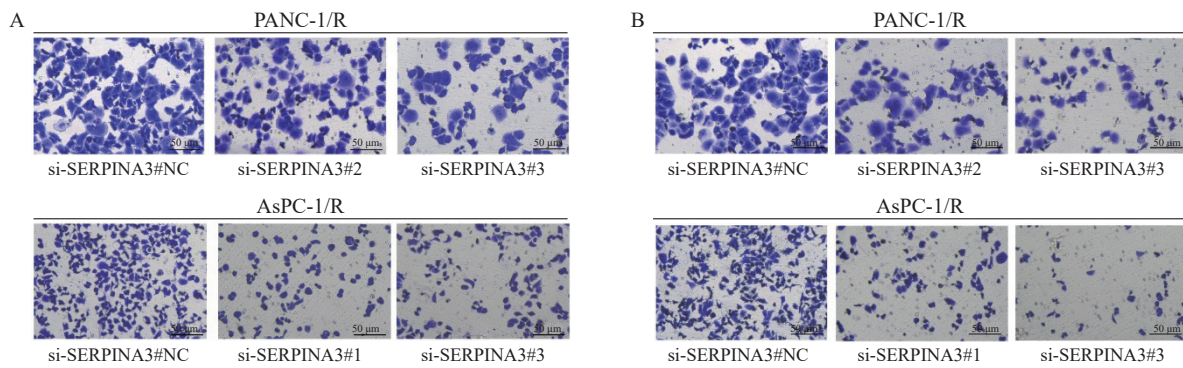


图6 Transwell迁移实验和matrigel侵袭实验分别提示敲低SERPINA3降低吉西他滨耐药胰腺癌细胞迁移和侵袭能力

Fig. 6 Transwell migration assay and matrigel invasion assay showed that knockdown of *SERPINA3* decreased the migration and invasion abilities of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells respectively

A: Transwell migration assay; B: Matrigel invasion assay.

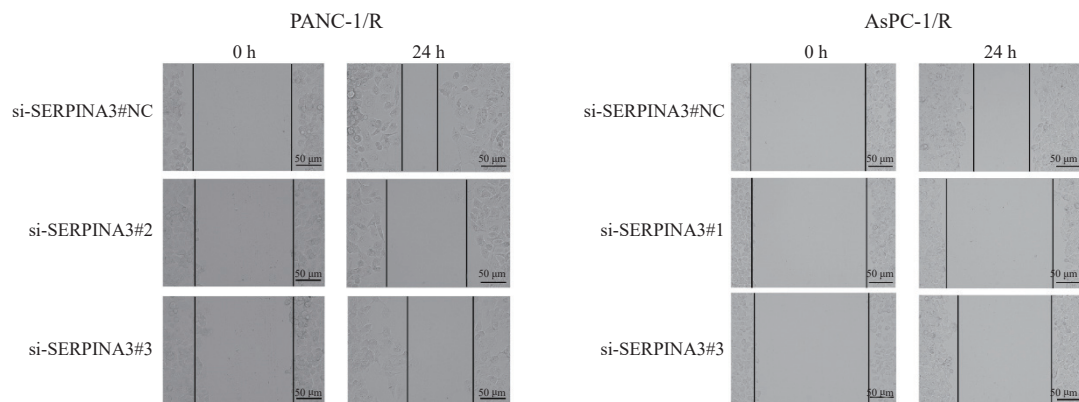


图7 划痕实验检测敲低SERPINA3后吉西他滨耐药胰腺癌细胞的划痕愈合能力降低

Fig. 7 The scratch assay was used to detect that the wound-healing ability of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells was decreased after *SERPINA3* knockdown

### 3 讨 论

胰腺癌是消化系统恶性肿瘤, 大多数患者发现时即已属于晚期, 故死亡率极高<sup>[6]</sup>。尽管吉西他滨在晚期胰腺癌中得到了充分利用,

然而, 由于化疗药物的耐药性, 胰腺癌患者的总体生存率似无明显提高, 治疗结果仍然不令人满意<sup>[7]</sup>。SERPINA3的主要功能是抑制丝氨酸蛋白酶, 从而维持细胞内的蛋白质平衡和防止过度降解<sup>[8]</sup>。在癌症领域, 研究<sup>[9]</sup>显示

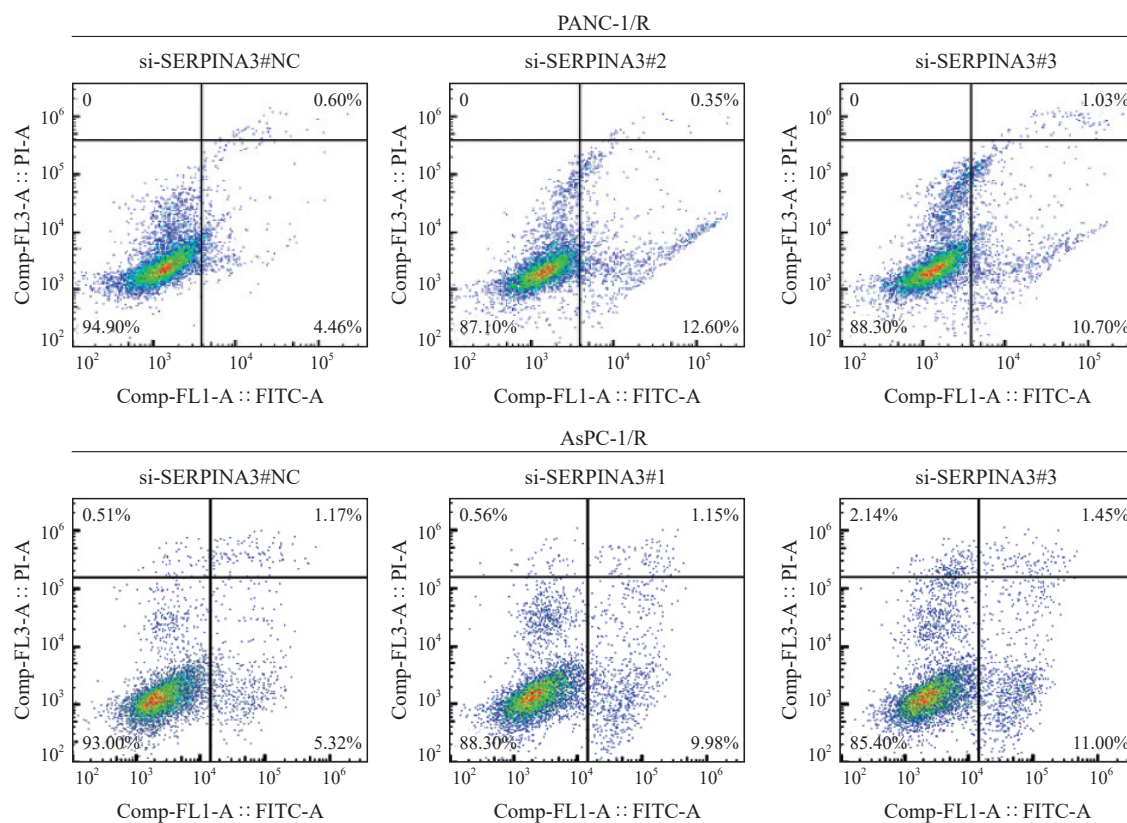


图8 细胞凋亡实验检测敲低SERPINA3促进吉西他滨耐药胰腺癌细胞早期凋亡

Fig. 8 The cell apoptosis assay detected that knockdown of *SERPINA3* promoted the early apoptosis of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells

SERPINA3的表达与肿瘤的恶性进展和对化疗药物耐药有关，它可能通过激活磷脂酰肌醇3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K）/蛋白激酶B（protein kinase B, AKT）或丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）/细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase, ERK）1/2信号转导通路来促进肿瘤细胞的生存和增殖。本研究通过RNA测序筛选，聚焦于在胰腺癌组织中高度修饰的基因SERPINA3，通过研究证实SERPINA3在胰腺癌组织中的表达量显著升高，表明SERPINA3基因可能在胰腺癌的恶性进展中起到促进作用，这与SERPINA3在其他肿瘤中的生物学作用相一致<sup>[10]</sup>。

有研究<sup>[11-12]</sup>表明，胰腺癌对吉西他滨产生耐药性的原因包括：糖酵解通过促进PDAC中的脱氧胞苷三磷酸积累而竞争性地抑制吉西他滨活性<sup>[11]</sup>；PDAC患者肿瘤中的温度升高，通过代谢适应降低脂质过氧化电位，逃避铁死亡并使PDAC对吉西他滨耐药<sup>[12]</sup>。前期我们建立了吉西他滨耐药的胰腺癌细胞株PANC-1/R和AsPC-1/R，通过qRT-PCR分析发现，胰腺癌细胞中高表达的SERPINA3，在吉西他滨耐药细胞中的表达量进一步增加。这表明SERPINA3不仅促进胰腺

癌的恶性生物学行为，还可能影响其对化疗药物的耐药性。随后，我们在PANC-1/R和AsPC-1/R细胞中敲低了SERPINA3，结果提示吉西他滨耐药胰腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及划痕愈合能力受到显著抑制，并且耐药细胞凋亡率明显增加，这证实SERPINA3在激活癌基因的同时，诱导其对化疗药物耐药。

目前，铁死亡已被证明能够抑制化疗药物耐药肿瘤的进展<sup>[13]</sup>。Kim等<sup>[14]</sup>研究发现，抑制SLC38A5通过调节脂质活性氧（reactive oxygen species, ROS）水平触发铁死亡从而克服吉西他滨耐药。在本研究中，敲低SERPINA3后，吉西他滨耐药细胞的脂质过氧化水平显著回升，这表明SERPINA3抑制铁死亡可能是胰腺癌对吉西他滨产生耐药性的机制之一。从机制上来说，铁死亡的特征包括脂质过氧化的增加以及铁代谢的异常等<sup>[15]</sup>。SERPINA3可能通过直接或间接调节与铁死亡相关的关键分子，进而抑制铁死亡的发生。例如，SERPINA3可能通过调节某些信号转导通路影响谷胱甘肽过氧化物酶4（glutathione peroxidase 4, GPX4）的活性或表达，GPX4作为一种重要的抗氧化酶，能够将脂质过氧化物还原为无毒的脂醇，其功能的维持对于抑制铁死亡至

关重要<sup>[16]</sup>。如果SERPINA3能够干扰GPX4相关的调控机制, 就可能导致细胞逃避铁死亡, 从而促进肿瘤细胞的存活和耐药性的产生。

本研究的结果不仅确认了SERPINA3在胰腺癌恶化进程中的促进作用, 而且提示它参与化疗药物耐药形成的途径。高表达水平的SERPINA3可能为临床上胰腺癌患者的诊断及预后评估提供参考, 而抑制SERPINA3功能有望逆转化疗药物耐药现象, 提高传统化疗的有效性和患者的生存率。

本研究虽然在细胞水平上验证了SERPINA3对胰腺癌的影响, 但因缺少体内实验数据, 仍然存在一定的局限性。此外, MDA实验虽在铁死亡研究中有一定的提示意义, 但仅基于这一实验来证明铁死亡是不充分的。之后我们会构建SERPINA3敲低的动物模型, 以验证其在体内的生物学作用; 同时, 拟补充铁死亡特异性标志物的实验, 进一步阐明SERPINA3通过抑制铁死亡促进化疗药物耐药的分子机制。

综上所述, SERPINA3在胰腺癌组织中呈高表达, 在胰腺癌的发生和发展中起到促进作用。下调SERPINA3可显著抑制胰腺癌细胞的恶性生物学行为, 促进耐药癌细胞凋亡, 逆转其对化疗药物的耐药, 增强胰腺癌细胞对化疗药物的敏感性, 从而为胰腺癌的治疗提供新思路。

#### 第一作者及通信作者:

和源 (ORCID: 0000-0002-9075-9912), 博士, 副教授、硕士研究生导师。E-mail: heyuan820827@163.com。

#### 作者贡献声明:

和源: 设计实验、实验研究、起草文章、提供经费; 郭俊成: 设计实验、实验研究、作图、文章撰写及修改; 叶智斌: 设计实验、实验研究、统计分析; 王小虎、李昊男、黄敬彪: 实验研究、采集数据、分析数据。

#### [参 考 文 献]

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA

Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229–263.

- [2] DIXON S J, OLZMANN J A. The cell biology of ferroptosis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024, 25(6): 424–442.
- [3] CHEN Y M, JIANG Z L, ZHANG C X, et al. 5-Methylcytosine transferase NSUN2 drives NRF2-mediated ferroptosis resistance in non-small cell lung cancer [J]. J Biol Chem, 2024, 300(4): 106793.
- [4] ZHU M N, LAN Z H, PARK J, et al. Regulation of CNS pathology by Serpina3n/SERPINA3: The knowns and the puzzles [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2024, 50(2): e12980.
- [5] MAWARIBUCHI S, SHIMOMURA O, ODA T, et al. rBC2LCN-reactive SERPINA3 is a glyco biomarker candidate for pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Glycobiology, 2023, 33(4): 342–352.
- [6] GUGENHEIM J, CROVETTO A, PETRUCCIANI N. Neoadjuvant therapy for pancreatic cancer [J]. Updates Surg, 2022, 74(1): 35–42.
- [7] WOOD L D, CANTO M I, JAFFEE E M, et al. Pancreatic cancer: pathogenesis, screening, diagnosis, and treatment [J]. Gastroenterology, 2022, 163(2): 386–402.e1.
- [8] LI Y, GUO L. The versatile role of Serpina3c in physiological and pathological processes: a review of recent studies [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1189007.
- [9] SOMAN A, ASHA NAIR S. Unfolding the cascade of SERPINA3: inflammation to cancer [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2022, 1877(5): 188760.
- [10] YANG H, GONG C, WU Y, et al. LncRNA SNHG1 facilitates colorectal cancer cells metastasis by recruiting HNRNP protein to stabilize SERPINA3 mRNA [J]. Cancer Lett, 2024, 604: 217217.
- [11] LI G, SHE F F, LIAO C Y, et al. cNEK6 induces gemcitabine resistance by promoting glycolysis in pancreatic ductal adenocarcinoma via the SNRPA/PPA2c/mTORC1 axis [J]. Cell Death Dis, 2024, 15(10): 742.
- [12] DE LAAT V, TOPAL H, SPOTBEEN X, et al. Intrinsic temperature increase drives lipid metabolism towards ferroptosis evasion and chemotherapy resistance in pancreatic cancer [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 8540.
- [13] LI Y, RAN Q, DUAN Q, et al. 7-dehydrocholesterol dictates ferroptosis sensitivity [J]. Nature, 2024, 626(7998): 411–8.
- [14] KIM M J, KIM H S, KANG H W, et al. SLC38A5 modulates ferroptosis to overcome gemcitabine resistance in pancreatic cancer [J]. Cells, 2023, 12(20).
- [15] SUN S, SHEN J, JIANG J, et al. Targeting ferroptosis opens new avenues for the development of novel therapeutics [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 372.
- [16] SHI J F, LIU Y, WANG Y, et al. Targeting ferroptosis, a novel programmed cell death, for the potential of alcohol-related liver disease therapy [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1194343.

(收稿日期: 2024-12-20 修回日期: 2025-04-03)

(责任编辑: 王琳辉)