

• 专题研究:神经精神疾病 •

JNK 上调 HOXB4 基因表达对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响

曹丹丹¹,倪思琦²,王迎伟¹,邱文^{1*},赵晨卉^{3*}

¹南京医科大学基础医学院免疫学系,²第一临床医学院临床医学系,江苏 南京 211166;³南京医科大学第一附属医院肿瘤科,江苏 南京 210029

[摘要] 目的:观察胶质瘤组织和细胞中同源盒基因 B4(homeobox gene B4, HOXB4)的表达及其对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响,探究 HOXB4 表达的上游调控机制。方法:基于中国胶质瘤基因组图谱(Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA)数据库,分析胶质瘤患者肿瘤组织中 HOXB4 的表达水平及其与预后的相关性。通过 RT-PCR 和 Western blot 检测 U251、U373 和 U87 胶质瘤细胞系中 HOXB4 的表达。通过 CCK-8 和 Transwell 实验评估过表达和沉默 HOXB4 对 U87 和 U251 细胞增殖和侵袭的影响。分别用 AMPK、p38 MAPK 和 JNK 的抑制剂处理 U87 细胞,再用 RT-PCR 和 Western blot 检测 HOXB4 的表达水平,CCK-8 和 Transwell 检测细胞的增殖和侵袭程度。在 U87 细胞中过表达 HOXB4,并给予 JNK 抑制剂,开展 RT-PCR、Western blot、CCK-8 和 Transwell 实验,检测 HOXB4 表达、细胞增殖及侵袭水平。结果:胶质瘤患者的肿瘤组织中 HOXB4 高表达,且与肿瘤的恶性程度以及患者不良预后相关。U251、U373 和 U87 细胞系均表达 HOXB4,其中以 U87 细胞表达量最高。过表达 HOXB4 显著增强 U87 和 U251 细胞的增殖和侵袭,沉默 HOXB4 则明显抑制上述表型。JNK 抑制剂可显著下调 U87 细胞中 HOXB4 的表达,而 AMPK 抑制剂和 p38 MAPK 抑制剂则无明显作用。JNK 抑制剂可减弱 U87 细胞的增殖和侵袭,而 HOXB4 过表达可拮抗 JNK 抑制剂的上述作用。结论:胶质瘤细胞中 JNK 激活可上调 HOXB4 的表达,从而促进细胞的增殖和侵袭。

[关键词] 胶质瘤;HOXB4;JNK;增殖;侵袭

[中图分类号] R739.41

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2026)07-953-10

doi: 10.7655/NYDXBNSN260081

The effect of JNK-induced upregulation of HOXB4 gene expression on the proliferation and invasion of glioma cells

CAO Dandan¹, NI Siqi², WANG Yingwei¹, QIU Wen^{1*}, ZHAO Chenhui^{3*}

¹Department of Immunology, School of Basic Medicine, ²Clinical Medical Science of the First Clinical Medical College, Nanjing Medical University, Nanjing 211166; ³Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of homeobox gene B4(HOXB4) in glioma tissues and cells, as well as its effects on glioma cell proliferation and invasion, and to explore the upstream regulatory mechanisms of HOXB4 expression. **Methods:** Based on the Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA) database, the expression level of HOXB4 in glioma tissues and its correlation with patient prognosis were analyzed. RT-PCR and Western blot were used to detect HOXB4 expression in U251, U373, and U87 glioma cell lines. The effects of HOXB4 overexpression and silencing on the proliferation and invasion of U87 and U251 cells were assessed using CCK-8 and Transwell assays. U87 cells were treated with inhibitors of AMPK, p38 MAPK, and JNK. The expression of HOXB4 was detected by RT-PCR and Western blot. The cell proliferation and invasion levels were examined by CCK-8 and Transwell assays. HOXB4 was overexpressed in U87 cells in the presence of a JNK inhibitor, and the HOXB4 expression, cell proliferation and invasion were determined by RT-PCR, Western blot, CCK-8, and Transwell assays. **Results:** HOXB4 was highly expressed in glioma tissues and was associated with tumor malignancy and poor patient prognosis. HOXB4 was expressed in U251, U373, and U87 cell lines, with the highest expression in U87 cells. Overexpression of HOXB4 obviously enhanced the proliferation and invasion of U87 and U251 cells,

[基金项目] 国家自然科学基金(81902878);江苏省大学生创新训练计划(202010312039Y)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: qiuwen@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-2097-9773); chenhuizhao@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0002-7950-5225)

whereas silencing HOXB4 markedly inhibited these phenotypes. JNK inhibitor significantly downregulated HOXB4 expression in U87 cells, whereas AMPK inhibitor and p38 MAPK inhibitor had no significant effect. JNK inhibitor attenuated the proliferation and invasion of U87 cells, and HOXB4 overexpression antagonized these effects. **Conclusion:** JNK activation upregulates HOXB4 expression in glioma cells, thereby promoting cell proliferation and invasion.

[Key words] glioma; HOXB4; JNK; proliferation; invasion

[J Nanjing Med Univ, 2026, 46(07):953-962]

神经胶质瘤是起源于胶质细胞的中枢神经系统肿瘤^[1],也是最常见的原发性颅内肿瘤,致死率高^[2]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)根据肿瘤的病理特征,将胶质瘤分为 I ~IV 级,恶性程度逐级增强,其中 IV 级胶质母细胞瘤恶性程度最高,5 年生存率仅约 5%。由于胶质瘤存在高度异质性、发病症状不典型及血脑屏障限制等因素,目前缺乏有效的治疗手段^[1,3]。鉴于该肿瘤以快速增殖和侵入性生长为特征^[4],本研究将从增殖和侵袭表型出发,探讨胶质瘤的发病机制,为其临床治疗寻找新的靶点。

同源异型盒(homeobox, HOX)家族由 39 个基因组成,可分为 A、B、C、D 4 个亚族,在遗传上高度保守。HOX 基因在多种癌症中表达异常,能调控肿瘤细胞的增殖、侵袭和凋亡等生物学行为^[5]。HOXB4 属于 HOX 家族的一员。文献报道,HOXB4 在卵巢癌中高表达,且与患者不良预后密切相关,HOXB4 可通过调控 DHDDS 基因的转录与表达,促进卵巢癌细胞的增殖与侵袭^[6]。此外,转录因子 HOXB4 还可上调 MYC 基因的表达,从而促进结肠癌细胞的恶性进展^[7]。然而,HOXB4 对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响尚不清楚。

肿瘤的发生和发展并非单一分子事件,而是多条信号通路协同互作的复杂过程。在胶质母细胞瘤中,敲除腺苷酸活化的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)能抑制肿瘤生长^[8]。且 AMPK 可调控 HOX 家族成员 HOXB9 的表达^[9]。p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)活化后,可上调转录因子 MYC 的表达,从而增强胶质瘤细胞的恶性表型^[10];p38 MAPK 和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)活化后,还能促进胶质瘤细胞基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)的表达,从而加强肿瘤细胞的侵袭能力^[11]。此外, JNK 信号活化可介导转录因子 p53 的表达以调控细胞的增殖^[12]。上述信号通路还能

通过调控细胞代谢、周期进程及凋亡,显著影响肿瘤细胞的增殖与侵袭^[13]。例如, AMPK 过表达可增强癌细胞糖酵解水平并参与代谢重编程,促进肿瘤细胞的增殖^[14-15]。在骨肉瘤中, p38 MAPK 信号减弱可降低 MMP2 的表达,从而抑制癌细胞的侵袭^[16]。在胃癌细胞中,脂质运载蛋白 2 自分泌抑制 JNK 信号后可阻碍胃癌的进展^[17];在头颈部鳞状细胞癌中,抑制 JNK 信号可下调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、白细胞介素-8 和表皮生长因子受体的表达,抑制肿瘤的生长^[18]。然而,HOXB4 在胶质瘤增殖与侵袭中的确切作用及其与 AMPK、p38 MAPK 和 JNK 3 条通路的调控关系仍缺乏系统阐释。为此,本研究拟开展以下研究:检测胶质瘤组织及细胞中 HOXB4 的表达水平,在胶质瘤细胞中过表达和沉默 HOXB4,观察 HOXB4 对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响,再用 AMPK、p38 MAPK 和 JNK 的抑制剂处理胶质瘤细胞,观察上述信号分子对 HOXB4 表达的调控作用。旨在探讨 HOXB4 基因在胶质瘤中的作用与调控机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人源 U251、U373 和 U87 胶质瘤细胞系购自中国科学院上海细胞库。DMEM 培养基(Gibco 公司,美国);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Wisent 公司,加拿大);CCK-8、Compound C(AMPK 抑制剂)、SP600125(JNK 抑制剂)、SB203580(p38 MAPK 抑制剂)、转染试剂 PolyFast transfection Reagent(MCE 公司,美国);Transwell 小室(Corning 公司,美国);总 p38 MAPK(t-p38 MAPK)和磷酸化 p38 MAPK(p-p38 MAPK)抗体(上海 Abways 公司);HOXB4 抗体(杭州 HUABIO 公司); β -actin 抗体以及 HRP 标记的山羊抗兔二抗(武汉 ABclonal 公司);总 AMPK(t-AMPK)、磷酸化 AMPK(p-AMPK)、总 JNK(t-JNK)、磷酸化 JNK(p-JNK)抗体(Cell Signaling Technology 公司,美国);Taq Plus Master Mix、HiScript II Q Select RT Super-

Mix for qPCR 试剂(南京诺唯赞生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 数据库数据分析

通过中国胶质瘤基因组图谱(Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA)的mRNA-seq数据集及对应的临床随访信息,分析胶质瘤患者肿瘤组织中HOXB4的表达,评估HOXB4表达水平与患者总体生存期的关系。

1.2.2 细胞培养

将胶质瘤细胞(U251、U373和U87)分别接种于60 mm培养皿,添加10% FBS的DMEM完全培养基,培养环境为5% CO₂、37℃。待细胞密度达80%~90%时,弃去旧培养基,用PBS洗涤,再加入1 mL胰酶消化。离心收集细胞沉淀,重悬后按实验所需比

例接种至新培养皿。

1.2.3 反转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

引物设计步骤:从NCBI数据库检索GAPDH和HOXB4基因的mRNA序列,使用Primer-BLAST设计引物,并委托通用生物(安徽)股份有限公司合成引物。具体引物序列见表1。

使用HiScript II Q Select RT SuperMix for qPCR试剂将胶质瘤细胞总RNA样品逆转录为cDNA。之后,按照说明书顺序分别加入ddH₂O、2×Taq Plus Master Mix、引物和cDNA,混匀后在PCR仪上进行扩增反应。待PCR产物完全冷却,在1.5%的琼脂糖凝胶进行30 min的120 V恒压电泳,并用凝胶成像系统进行拍照。

表1 PCR引物序列

Table 1 Sequences of PCR primer

Gene	Forward primer(5'→3')	Reverse primer(5'→3')
GAPDH	CAAGGTCATCCATGACAACCTTG	GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG
HOXB4	AGGTCTTGGAGCTGGAGAAGGAATT	TTGGTGTGGGCAACTTGTGGT

1.2.4 Western blot

取细胞裂解液,先煮沸8 min,再4℃、12 000 g离心3 min,取上清备用。根据蛋白分子量的不同,配制10%或12%的SDS-PAGE凝胶。蛋白加样后依次进行以下操作:50 V电泳浓缩蛋白,120 V电泳分离蛋白,300 mA湿转2 h,5%脱脂牛奶室温封闭2 h,用PBST洗涤,一抗4℃摇床孵育过夜;次日用PBST洗涤3次,每次10 min。随后室温孵育HRP标记的抗兔二抗30 min,再用PBST洗涤3次,每次10 min。最后均匀滴加ECL化学发光试剂,在化学发光成像仪上检测。

1.2.5 HOXB4过表达质粒的构建

HOXB4过表达质粒(pIRES2-HOXB4)由通用生物(安徽)股份有限公司构建并测序鉴定。通过菌液复苏、扩增和质粒提取,获得pIRES2-HOXB4质粒和pIRES2-EGFP空载质粒后,转染U87和U251细胞,48 h后用RT-PCR和Western blot检测相关基因的mRNA和蛋白水平。

1.2.6 HOXB4干扰质粒的构建和靶点筛选

由南京科瑞斯生物科技有限公司设计3个针对HOXB4基因的不同靶序列,并据此构建了3个HOXB4干扰质粒(HOXB4 shRNA,即shHOXB4),分别命名为shHOXB4-i1、shHOXB4-i2和shHOXB4-i3。靶序列如下:shHOXB4-i1(5'-GGAATATTCA-CAGAGCGATTA-3')、shHOXB4-i2(5'-GGAGCTG-

GAGAAGGAATTTCA-3')、shHOXB4-i3(5'-GCCA-GATCAAGATCTGGTTCC-3')。同时构建对照shRNA质粒(shCTR)。之后将shHOXB4-i1、shHOXB4-i2、shHOXB4-i3和shCTR质粒分别转染U87细胞48 h,行RT-PCR和Western blot检测HOXB4的表达量,筛选出沉默效率最高的靶点。

1.2.7 质粒转染

胶质瘤细胞密度达60%时进行转染,具体步骤如下:取2个EP管,分别配制转染试剂溶液(3 μL PolyFast Reagent+47 μL无血清DMEM)和质粒溶液(1 000 ng质粒+无血清DMEM补至50 μL),分别混匀后静置5 min。再将两者混合并轻柔吹打,静置15 min。弃去细胞旧培养基,PBS洗涤1次,加入900 μL无血清DMEM,随后将转染混合液均匀加入培养皿中。培养8 h后,更换为含10% FBS的DMEM继续培养。

1.2.8 CCK-8实验

将细胞接种于96孔板,待细胞密度到60%时,进行质粒转染,培养48 h后加入100 μL/孔的10% CCK-8溶液,37℃孵育30 min,使用酶标仪检测450 nm处吸光度值。

1.2.9 Transwell实验

Transwell小室放置在24孔板中,Transwell小室下方加入600 μL DMEM完全培养基,上方添加

200 μ L细胞悬液(已转染质粒48 h的细胞),细胞密度为 1.2×10^5 个/mL,再给予DMSO或SP600125处理细胞12 h,之后弃去细胞培养基,PBS洗涤3次。然后将Transwell小室放入600 μ L甲醇中固定30 min,用PBS轻轻洗涤3次,接着用600 μ L新鲜配制的结晶紫染液染色10 min,PBS轻轻洗涤3次。轻柔擦去Transwell小室上方的细胞,放置于通风橱干燥,最后在正置显微镜下观察Transwell小室下方细胞,从每个样本中随机选取5个视野进行图像采集,利用Image J软件分别计算各视野内细胞数量,再计算5个视野的平均值。

1.3 统计学方法

使用GraphPad Prism 8.0软件进行分析,所有实验进行3次独立重复,数据以均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示。两组间比较采用配对t检验,多组间比较采用单因素方差分析,Bonferroni法进行组间两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

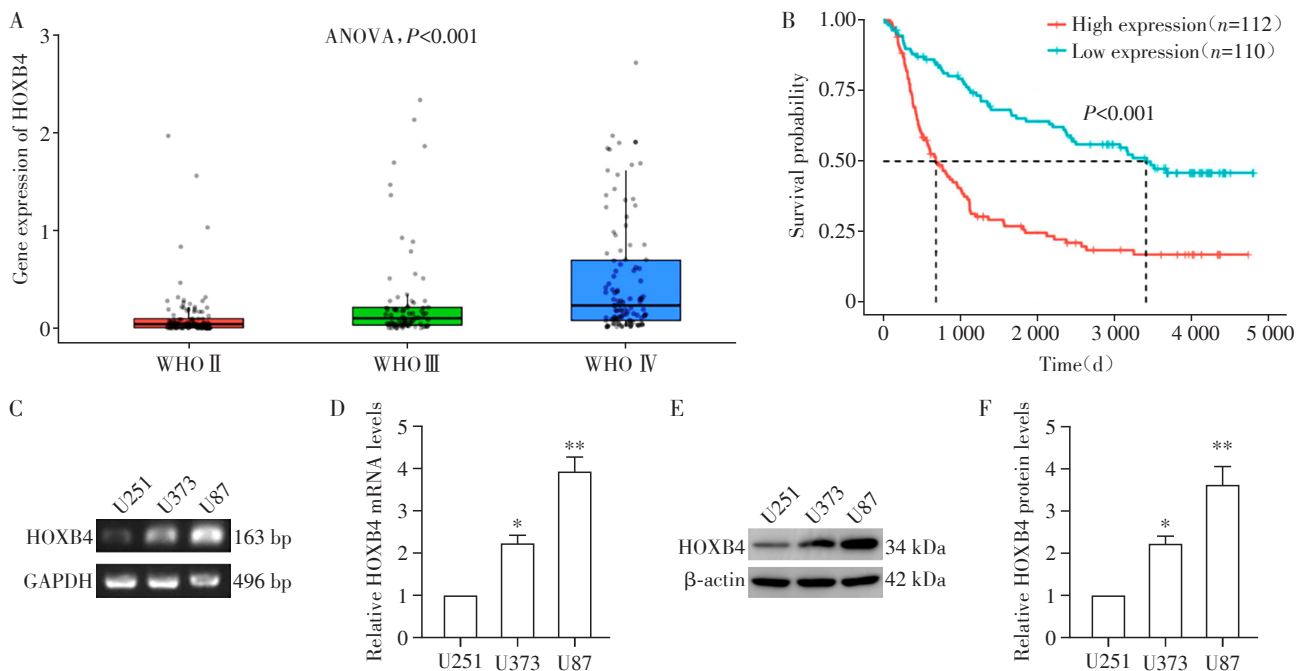
2.1 胶质瘤患者肿瘤组织和细胞系中HOXB4的表达情况

通过CGGA数据库分析胶质瘤组织中HOXB4

的表达情况,结果发现,HOXB4的表达随胶质瘤级别增加而递增($P < 0.001$,图1A),且在胶质瘤II、III、IV级总体人群中,HOXB4高表达患者的生存期短于低表达患者(图1B)。提示HOXB4基因的表达上调不仅与胶质瘤分级呈现正相关性,还与其II~IV级总体人群的预后相关。接着,在3种胶质瘤细胞系(U251、U373、U87)中检测HOXB4的mRNA和蛋白表达量。RT-PCR和Western blot结果显示,这3种细胞系均表达HOXB4的mRNA(图1C、D)和蛋白(图1E、F),以U87细胞最为明显。

2.2 过表达HOXB4基因促进胶质瘤细胞的增殖和侵袭

为了检测HOXB4基因对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响,将pIRES2-EGFP、pIRES2-HOXB4质粒分别转染U87和U251细胞。转染后48 h,通过荧光显微镜观察绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的表达情况(图2A)。接着,用RT-PCR和Western blot检测HOXB4基因的表达水平。结果显示,与pIRES2-EGFP转染组比较,pIRES2-HOXB4转染组HOXB4的mRNA(图2B、C)和蛋白(图2D、E)水平均明显升高。此外,通过CCK-8和Transwell观察细胞的增殖和侵袭,发现pIRES2-HOXB4转染组



A: The expression level of HOXB4 in cancer tissues from glioma patients at WHO grades II–IV was analyzed by the CGGA database. B: The CGGA database was used to show the correlation between HOXB4 expression and the prognosis of glioma patients. C, D: RT-PCR was performed to detect the mRNA expression levels of HOXB4 in three glioma cell lines. E, F: Western blot assay was conducted to determine the protein expression levels of HOXB4 in three glioma cell lines. Compared with the U251 group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图1 胶质瘤组织和细胞中HOXB4的表达情况

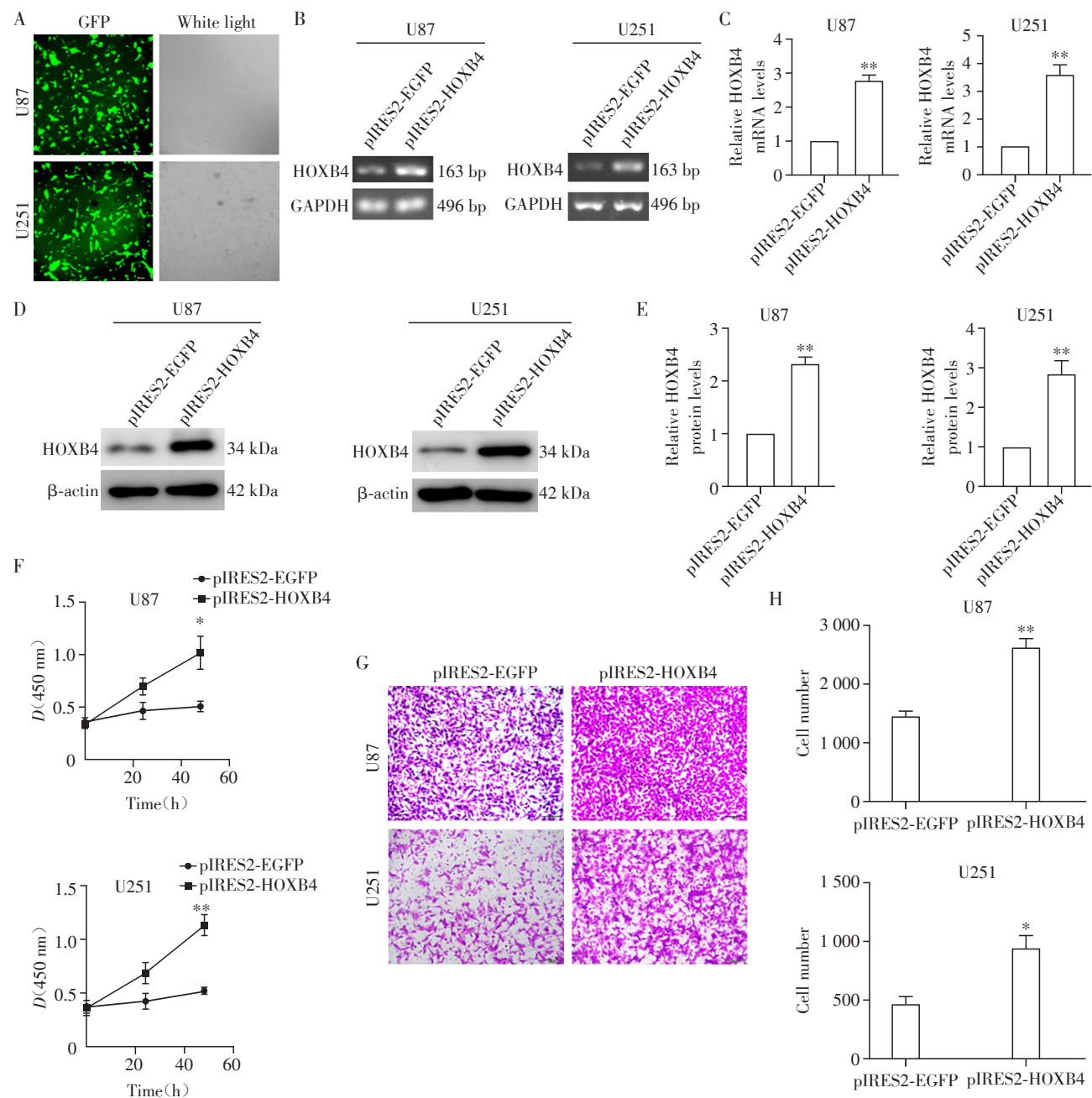
Figure 1 HOXB4 expression in glioma tissue and cell lines

细胞的增殖(图2F)和侵袭(图2G、H)均显著强于pIRES2-EGFP转染组。

2.3 沉默HOXB4基因抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭

将针对HOXB4基因不同靶点的3种shRNA质粒(shHOXB4-i1、shHOXB4-i2、shHOXB4-i3)及其对照质粒(shCTR)分别转染U87细胞,48 h后通过荧

光显微镜观察GFP表达,并通过RT-PCR和Western blot检测HOXB4的表达量。结果显示,shHOXB4-i1转染组HOXB4的mRNA(图3A、B)和蛋白(图3C、D)表达水平明显低于shCTR、shHOXB4-i2和shHOXB4-i3转染组,表明shHOXB4-i1为最佳沉默效率靶点。因此采用shHOXB4-i1开展实验,同时将



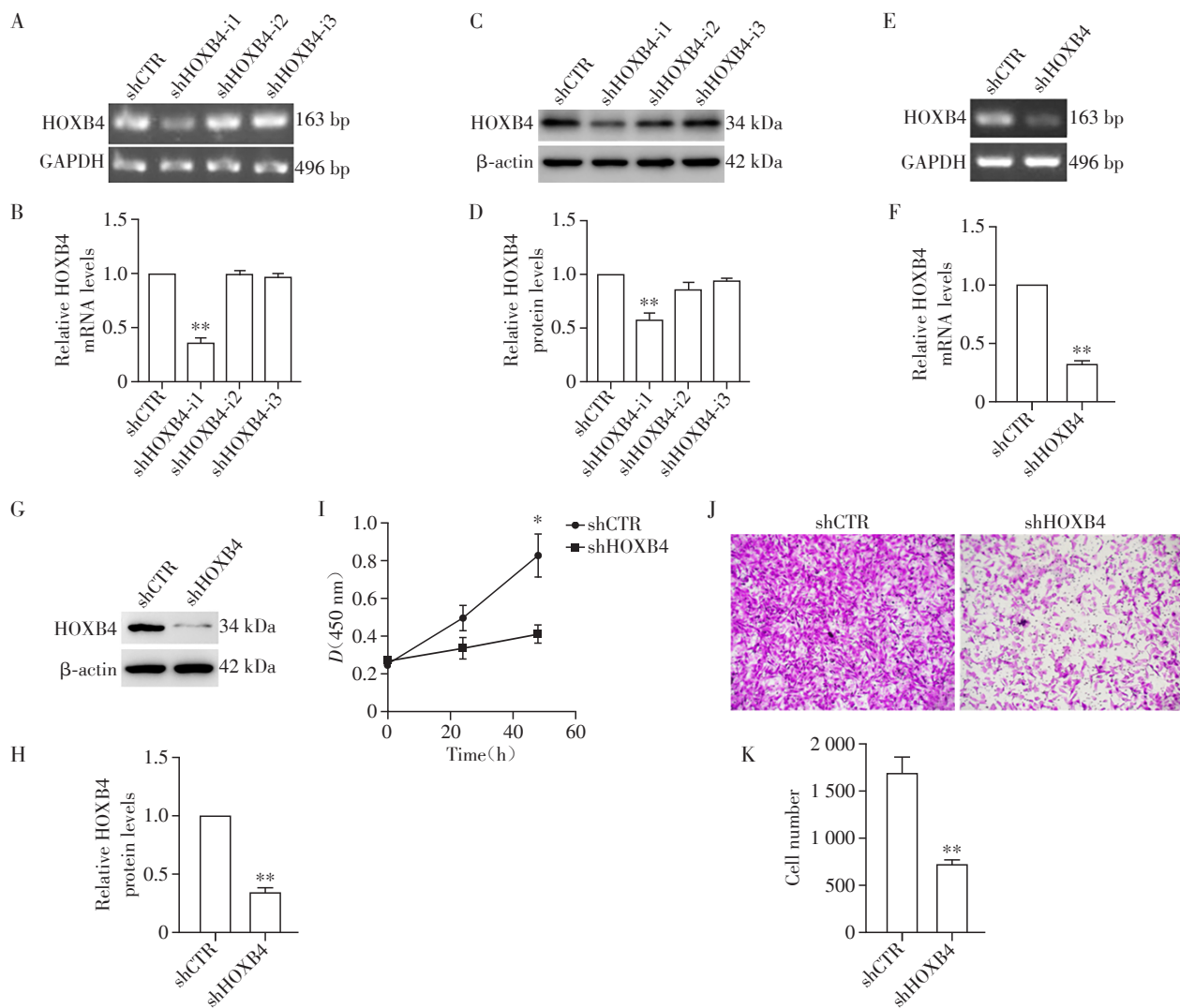
U87 and U251 cells were transfected with empty vector pIRES2-EGFP or HOXB4-overexpressing vector pIRES2-HOXB4 for 48 h respectively. A: Plasmid transfection efficiency in U87 and U251 cells($\times 100$). B, C: RT-PCR detected HOXB4 mRNA levels. D, E: Western blot measured HOXB4 protein levels. F: CCK-8 assessed cell proliferation at 0, 24, and 48 h; G, H: Transwell evaluated cell invasion at 12 h($\times 100$). Compared with the pIRES2-EGFP group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图2 过表达HOXB4基因促进U87和U251细胞增殖和侵袭
Figure 2 Over expression of HOXB4 promoted proliferation and invasion of U87 and U251 cells

其命名为shHOXB4。

将 shCTR 和 shHOXB4 质粒分别转染 U87 细胞,48 h 后行 RT-PCR 和 Western blot 实验。结果表明,与 shCTR 转染组相比,shHOXB4 转染组 HOXB4 的 mRNA(图 3E、F)和蛋白(图 3G、H)水平均明显降

低。CCK-8 结果显示,shHOXB4 转染组的细胞增殖水平显著低于 shCTR 转染组(图 3I)。Transwell 实验表明,shHOXB4 转染组的细胞侵袭数量也明显低于 shCTR 转染组(图 3J、K)。以上结果提示,沉默 HOXB4 基因可抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力。



U87 cells were transfected with shCTR, shHOXB4-i1, shHOXB4-i2, and shHOXB4-i3 for 48 h. A, B: RT-PCR detected HOXB4 mRNA levels. C, D: Western blot measured HOXB4 protein levels. E-H: The mRNA and protein levels of HOXB4 were checked *via* RT-PCR (E, F) and Western blot (G, H). I: CCK-8 assessed cell proliferation at 0, 24, and 48 h. J, K: Transwell evaluated cell invasion at 12 h ($\times 100$). Compared with the shCTR group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图3 沉默HOXB4基因抑制U87细胞增殖和侵袭

Figure 3 HOXB4 silencing on proliferation and invasion of U87 cells

2.4 JNK 促进 HOXB4 的表达以及胶质瘤细胞的增殖和侵袭

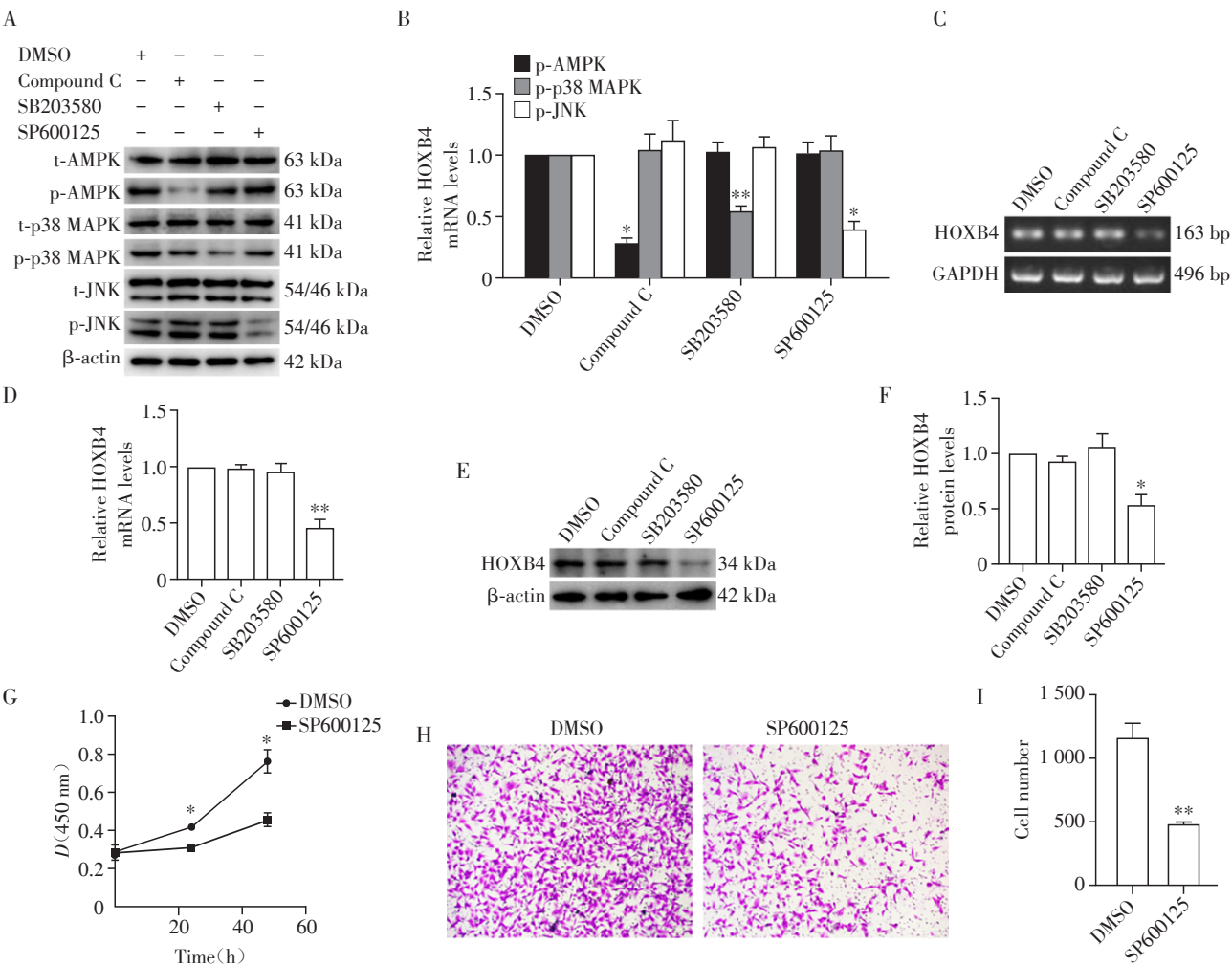
鉴于 AMPK、p38 MAPK 和 JNK 信号通路较为常见,且在胶质瘤中能够调控某些转录因子(如 HOXB9、MYC 和 p53)的表达,故本研究分别使用 DMSO(溶剂对照)、Compound C(AMPK 抑制剂, 10 $\mu\text{mol/L}$)、SB203580(p38 MAPK 抑制剂, 10 $\mu\text{mol/L}$)、

SP600125(JNK 抑制剂, 10 $\mu\text{mol/L}$)处理胶质瘤细胞 3 h,观察抑制上述信号分子后对 HOXB4 基因表达的影响。RT-PCR 和 Western blot 实验结果显示,与 DMSO 处理相比,Compound C、SB203580 和 SP600125 处理可分别抑制 U87 细胞中 AMPK、p38 MAPK 和 JNK 的磷酸化水平(图 4A、B)。此外,使用 SP600125 处理 U87 细胞后,HOXB4 的 mRNA(图

4C、D)和蛋白(图4E、F)表达水平均显著下降,而Compound C和SB203580处理组中HOXB4表达无明显变化。提示胶质瘤细胞中JNK信号分子的激活可能促进了HOXB4基因的表达。

接着,为了研究JNK信号分子激活对胶质瘤细胞增殖和侵袭的调控作用,分别使用DMSO和

SP600125处理U87细胞(12、24和48 h),再行CCK-8和Transwell实验检测细胞的增殖和侵袭水平。结果显示,与DMSO处理组相比,SP600125处理组的细胞增殖(图4G)和侵袭(图4H、I)明显减少。提示JNK信号活化可以提高胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力。



U87 cells were treated with DMSO, Compound C, SB203580, or SP600125 respectively. A, B: The phosphorylation levels of AMPK, p38 MAPK and JNK were determined *via* Western blot assay. C–F: RT-PCR detected HOXB4 mRNA levels(C, D) and Western blot measured HOXB4 protein levels(E, F); G: CCK-8 assessed cell proliferation at 0, 24, and 48 h. H, I: Transwell evaluated cell invasion at 12 h($\times 100$). Compared with the DMSO group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图4 AMPK、p38 MAPK和JNK抑制剂对U87细胞HOXB4表达、细胞增殖和侵袭的影响

Figure 4 The effects of AMPK, p38 MAPK and JNK inhibitors on HOXB4 expression, cell proliferation and invasion of U87 cells

2.5 JNK信号通路通过上调HOXB4增强胶质瘤细胞的增殖和侵袭

将pIRES2-EGFP和pIRES2-HOXB4质粒分别转染U87细胞48 h,再用DMSO或SP600125处理细胞不同时间点,于3 h时检测HOXB4的表达,48 h时检测细胞的增殖水平,12 h时检测细胞侵袭水平。RT-PCR、Western blot、CCK-8和Transwell实

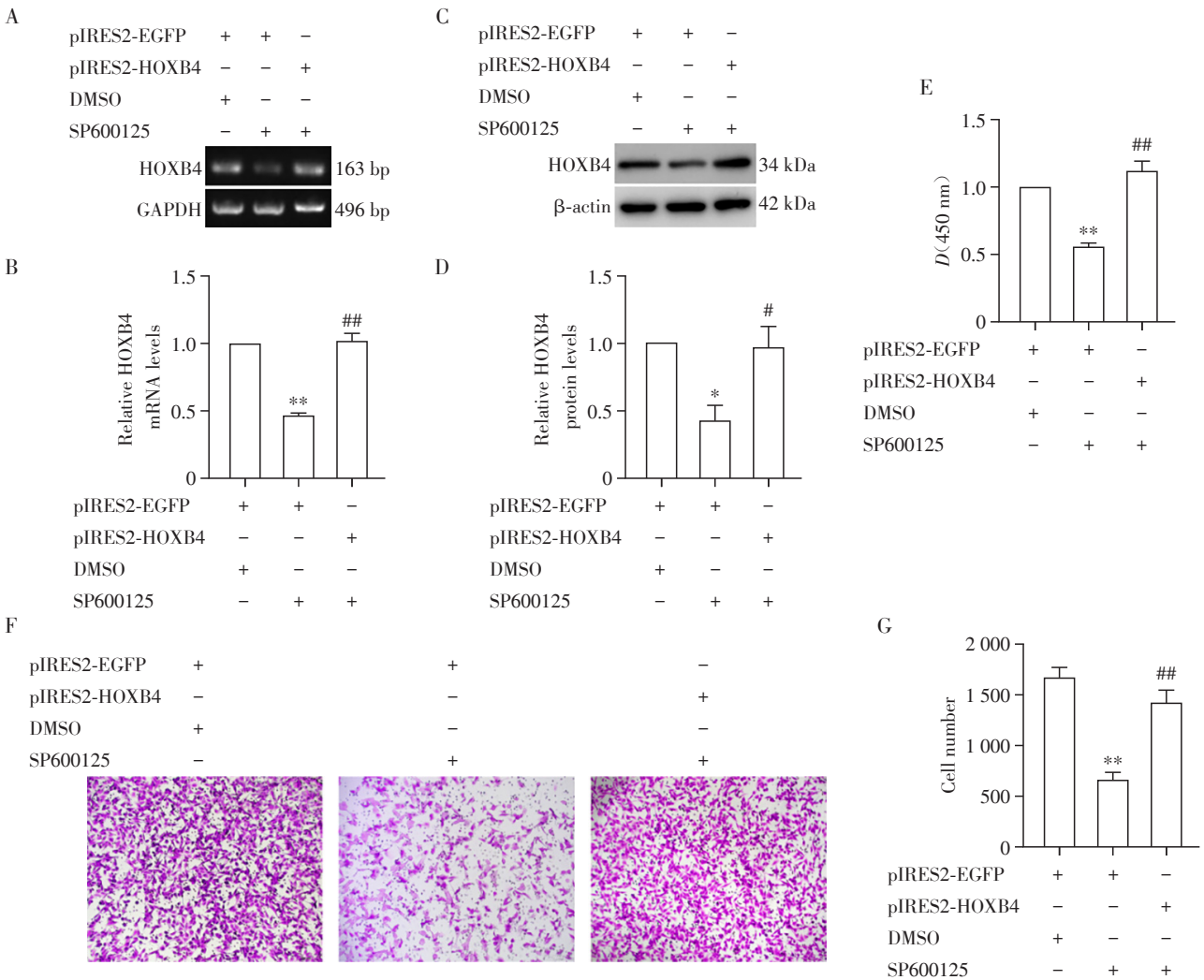
验结果显示,与pIRES2-EGFP+DMSO组相比,pIRES2-EGFP+SP600125组,其HOXB4的mRNA和蛋白表达、细胞增殖和侵袭水平均明显降低,但pIRES2-HOXB4+SP600125组的上述指标无显著变化(图5)。上述实验结果表明,过表达HOXB4可拮抗JNK抑制剂对U87细胞增殖和侵袭的抑制效应。提示JNK可通过上调HOXB4的表达正向调控

胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力。

3 讨论

近年来,HOX 家族已被证实与结肠癌、宫颈癌和乳腺癌等多种肿瘤的恶性进展相关^[19-21]。例如,C-X-C 基序趋化因子配体 12(C-X-C motif chemokine ligand 12,CXCL12)与其受体 CXCR4 结合后,可通过激活 ERK 信号上调 HOXB5 表达,并促进结直肠癌的转移^[22]。在卵巢癌中,HOXB4 可通过上调 Runt 相关转录因子 1(Runt-related transcription factor 1,RUNX1),提高胰岛素样生长因子结合蛋白 3(insulin-like growth factor binding protein-3,IGFBP3)的表达,从而促进癌细胞的恶性表型^[23]。上述研究表明,

HOX 家族成员在多种肿瘤中发挥关键调控作用,但 HOXB4 在胶质瘤中的作用尚未见报道。本研究发
现,HOXB4 在胶质瘤组织及部分胶质瘤细胞系中高表达,且与患者不良预后相关。体外细胞实验进一步证实,过表达 HOXB4 可显著增强胶质瘤细胞的增殖与侵袭能力,而沉默 HOXB4 基因的表达则明显削弱了上述能力。这些结果提示,HOXB4 可能作为胶质瘤中的促癌基因,驱动肿瘤细胞的异常增殖和侵袭。
信号通路是细胞生命活动的重要环节,信号通路的异常活化是驱动肿瘤恶性进展的关键机制之一^[24-25]。研究表明,JNK 信号可通过上调 MMP 表达介导细胞外基质降解,或通过诱导 VEGF 表达促进肿瘤血管生成,最终促进胶质瘤细胞浸润与



U87 cells were first transfected with pIRES2-EGFP or pIRES2-HOXB4, followed by incubation with SP600125. A, B: The mRNA expression of HOXB4 was assessed *via* RT-PCR. C, D: HOXB4 protein levels were determined using Western blot. E-G: Cell proliferation and invasion capacities were evaluated by CCK-8 assay (E) and Transwell assay (F, G, ×100). Compared with the pIRES2-EGFP+DMSO group, **P* < 0.05, ***P* < 0.01; compared with the pIRES2-EGFP+SP600125 group, #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01 (*n*=3).

图5 HOXB4 过表达对 SP600125 抑制 U87 细胞增殖和侵袭的影响
Figure 5 The effects of HOXB4 overexpression on the proliferation and invasion of U87 cells reduced by SP600125

转移^[26-27]。此外,富含 miR-21 的外泌体可通过靶向程序性细胞死亡因子 4(programmed cell death 4, PDCD4)解除其对 JNK 通路的抑制,激活 JNK/c-Jun 信号级联,促进头颈部鳞癌细胞的增殖与侵袭^[28]。Wang 等^[29]发现,JNK/c-Jun 可正向调控 KIF18A 基因的表达,继而促进宫颈癌细胞的增殖。另有研究报道,病毒样 m6A 甲基转移酶 KIAA1429 可通过增强 MAP3K2 的 m6A 甲基化水平激活 JNK/MAPK 通路,诱导肺癌细胞对吉非替尼耐药,并增强其增殖与侵袭能力^[30]。本研究发现,抑制 JNK 活性可显著下调胶质瘤细胞中 HOXB4 基因的表达,同时抑制细胞增殖和侵袭;而在胶质瘤细胞中过表达 HOXB4 能够部分逆转 JNK 抑制剂的上述效应。据此推测,JNK 活化可能通过提高 HOXB4 基因的表达促进胶质瘤细胞的增殖和侵袭。

此外,JNK/HOXB4 通路可能并非独立发挥作用,而是与其他信号通路存在复杂的调控机制,通过相互作用调控胶质瘤细胞的增殖和侵袭等恶性生物学行为。据报道,PI3K/Akt 和 JNK 信号的激活可促进胶质瘤发生与发展^[31];联合应用 Akt 和 JNK 抑制剂可升高活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平,诱导胶质瘤细胞死亡^[32],提示 PI3K/Akt 和 JNK 信号通路在胶质瘤中可能发挥协同作用。另外,HOX 基因家族可通过调控β-catenin/TCF、GSK-3β及 c-Myc、CCND1 等关键分子调控 Wnt 信号通路,促进癌细胞恶性进展。研究还揭示,Wnt 信号通路亦可作为上游调控因子影响 HOX 基因的表达^[33]。据此推测,在胶质瘤细胞的复杂信号网络中,JNK/HOXB4 可能与 PI3K/Akt 及 Wnt/β-catenin 等通路协同作用,共同维持肿瘤细胞的增殖和侵袭等生物学特性。

综上,本研究表明,HOXB4 在胶质瘤组织及细胞中高表达,且与患者不良预后密切相关。JNK 活化可促进 HOXB4 基因的表达,继而增强胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力。上述 JNK-HOXB4 通路的发现或许可为胶质瘤治疗提供新的思路。此外,本研究存在一定的局限性。首先,研究结论主要基于数据库分析及体外细胞实验,尚需构建相关动物模型,在体内环境中验证 JNK/HOXB4 轴的功能;其次,JNK/HOXB4 通路作为临床干预靶点的有效性与安全性仍需进一步的深入探索与全面评估。

利益冲突声明:
作者单位与期刊出版部均属于南京医科大学,但无利益冲突。

Conflict of Interests:
The author's affiliation and the publishing department of

this journal are affiliated with Nanjing Medical University, but there is no conflict of interest in this work.

作者贡献声明:
曹丹丹负责实验、数据分析、论文写作;倪思琦负责数据分析;王迎伟负责论文修改;邱文、赵晨卉负责研究设计、数据分析、论文修改。

Author's Contributions:
CAO Dandan was responsible for the experiments, data analysis, and manuscript writing; NI Siqi was involved in data analysis; WANG Yingwei was involved in manuscript revision; QIU Wen and ZHAO Chenhui were responsible for research design, data analysis, and manuscript revision.

[参考文献]

[1] OSTROM Q T, BAUCHET L, DAVIS F G, et al. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review[J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(7): 896-913

[2] YASINJAN F, XING Y, GENG H Y, et al. Immunotherapy: a promising approach for glioma treatment [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1255611

[3] SINGH S, DEY D, BARIK D, et al. Glioblastoma at the crossroads: current understanding and future therapeutic horizons[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2025, 10: 213

[4] GUO J R, ZHAO W J, HU Y Q, et al. DDB2 promotes epithelial - mesenchymal transition through activating NF- κB pathway in glioma[J]. *Pathol Res Pract*, 2026, 279: 156368

[5] FENG Y Y, ZHANG T Y, WANG Y J, et al. Homeobox genes in cancers: from carcinogenesis to recent therapeutic intervention[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 770428

[6] LI N, GOU J H, XIONG J, et al. HOXB4 promotes the malignant progression of ovarian cancer *via* DHDDS[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 222

[7] WANG L Q, JIN H D, ZENG Y, et al. HOXB4 mis-regulation induced by microcystin-LR and correlated with immune infiltration is unfavorable to colorectal cancer prognosis[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 803493

[8] LORENZ N I, SAUER B, URBAN H, et al. AMP-activated protein kinase mediates adaptation of glioblastoma cells to conditions of the tumor microenvironment [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2025, 44(1): 104

[9] WANG T Z, GUO H Y, LI Q C, et al. The AMPK-HOXB9-KRAS axis regulates lung adenocarcinoma growth in response to cellular energy alterations [J]. *Cell Rep*, 2022, 40(8): 111210

[10] FENG S, YANG M, DONG P F, et al. Investigation of MANF regulation of glioma stemness *via* STAT3/TGF-β/SMAD4/p38 pathway based on pan-cancer analysis[J]. *Transl Oncol*, 2025, 60: 102497

- [11] THANH H D, LEE S, NGUYEN T T, et al. Temozolomide promotes matrix metalloproteinase 9 expression through p38 MAPK and JNK pathways in glioblastoma cells[J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 14341
- [12] MA Y T, LI C, SHEN Y, et al. Mechanisms of the JNK/p38 MAPK signaling pathway in drug resistance in ovarian cancer[J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1533352
- [13] VAGHARI-TABARI M, FERNS G A, QUJEQ D, et al. Signaling, metabolism, and cancer: an important relationship for therapeutic intervention[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(8): 5512-5532
- [14] LIANG J J, YE C, CHEN K Q, et al. Non-coding RNAs in breast cancer: with a focus on glucose metabolism reprogramming[J]. *Discov Oncol*, 2023, 14(1): 72
- [15] HON K W, NAIDU R. Synergistic mechanisms of selected polyphenols in overcoming chemoresistance and enhancing chemosensitivity in colorectal cancer [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(7): 815
- [16] LI C, WANG Y, ZHANG W J, et al. The antitumor mechanisms of glabridin and drug delivery strategies for enhancing its bioavailability[J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1506588
- [17] HUANG Z X, LI Y, QIAN Y, et al. Tumor-secreted LCN2 impairs gastric cancer progression *via* autocrine inhibition of the 24p3R/JNK/c-Jun/SPARC axis[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(10): 756
- [18] GROSS N D, BOYLE J O, DU B H, et al. Inhibition of Jun NH2-terminal kinases suppresses the growth of experimental head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(19): 5910-5917
- [19] ZHANG Z H, PENG J X, LI B S, et al. HOXA1 promotes aerobic glycolysis and cancer progression in cervical cancer[J]. *Cell Signal*, 2023, 109: 110747
- [20] DANG Y Z, YU J, ZHAO S H, et al. HOXA7 promotes the metastasis of KRAS mutant colorectal cancer by regulating myeloid-derived suppressor cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 88
- [21] ZHANG J, ZHANG S J, LI X Y, et al. HOXB5 promotes the progression of breast cancer through Wnt/beta-catenin pathway[J]. *Pathol Res Pract*, 2021, 224: 153117
- [22] FENG W B, HUANG W J, CHEN J, et al. CXCL12-mediated HOXB5 overexpression facilitates colorectal cancer metastasis through transactivating CXCR4 and ITGB3[J]. *Theranostics*, 2021, 11(6): 2612-2633
- [23] YE S T, WU H, LIU J J, et al. Circ_0044362 facilitates the progression of epithelial ovarian cancer *via* enhancing HOXB4 transcription to activate the RUNX1/IGFBP3 axis[J]. *Mol Carcinog*, 2025, 64(6): 1013-1024
- [24] WANG S Q, ZHANG Y, ZHANG L W, et al. Unraveling the complex dynamics of signaling molecules in cellular signal transduction[J]. *PNAS Nexus*, 2023, 3: pgae020
- [25] RATTNER A, WANG Y S, NATHANS J. Signaling pathways in neurovascular development[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2022, 45: 87-108
- [26] PORTELA M, VENKATARAMANI V, FAHEY-LOZANO N, et al. Glioblastoma cells vampirize WNT from neurons and trigger a JNK/MMP signaling loop that enhances glioblastoma progression and neurodegeneration [J]. *PLoS Biol*, 2019, 17(12): e3000545
- [27] GRAVE N, SCHEFFEL T B, CRUZ F F, et al. The functional role of p38 MAPK pathway in malignant brain tumors[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 975197
- [28] LI Y, GAO S, HU Q, et al. Functional properties of cancer epithelium and stroma - derived exosomes in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Life*, 2022, 12(5): 757
- [29] WANG Y J, ZHOU B W, LIAN X Y, et al. KIF18A is a novel target of JNK1/c-Jun signaling pathway involved in cervical tumorigenesis [J]. *J Cell Physiol*, 2025, 240: e31516
- [30] YAN Y Y, YIN J R, DING Q, et al. M6A RNA modification: focusing on non-small cell lung cancer progression, therapeutic strategies and challenges [J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1622359
- [31] XUE Z W, ZHANG X H, MAO B, et al. Dual role of WNT10A in promoting the malignancy of glioblastoma and remodeling the tumor microenvironment [J]. *Neuro Oncol*, 2025, 27(9): 2232-2249
- [32] DESPOTOVIĆ A, JANJETOVIĆ K, ZOGOVIĆ N, et al. Pharmacological Akt and JNK kinase inhibitors 10-DEBC and SP600125 potentiate anti-glioblastoma effect of menadione and ascorbic acid combination in human U251 glioblastoma cells[J]. *Biomedicines*, 2023, 11(10): 2652
- [33] YU M, ZHAN J, ZHANG H Q. HOX family transcription factors: related signaling pathways and post-translational modifications in cancer [J]. *Cell Signal*, 2020, 66: 109469

(收稿:2026-01-17;修回:2026-05-26;录用:2026-06-08)

(本文编辑:蒋 莉)