

· 基础研究 ·

SEMA6D 对人骨肉瘤 MG63 细胞生物学行为的影响[△]

都展鸿, 杨维经, 王雨婵, 付雅璐, 李庆慧, 孟玉菡, 刘兴龙*

(山东第二医科大学附属医院, 山东潍坊 261000)

摘要: [目的] 探讨信号素 6D (semaphorin 6D, SEMA6D) 对骨肉瘤细胞增殖、侵袭的影响及其机制。[方法] 将 MG63 细胞分为空白对照组 (Ctrl 组)、阴性对照组 (si-NC 组) 和转染靶向 SEMA6D 的 si-RNA 组 (si-SEMA6D 组), 给予相应的体外转染。采用 CCK-8、细胞划痕、Transwell 侵袭实验检测 MG63 细胞增殖、迁移及侵袭能力的变化。Western blot 检测下游相关信号通路蛋白表达情况。[结果] 培养 24 h, 三组 CCK-8 值差异无统计学意义 ($P>0.05$), 在 48 h 和 72 h, Ctrl、si-NC 组 CCK-8 值显著高于 si-SEMA6D 组 [(0.7±0.1) vs (0.7±0.1) vs (0.4±0.1), $P<0.001$; (1.7±0.1) vs (1.6±0.1) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]。Transwell 侵袭实验显示, Ctrl、si-NC 组细胞侵袭数显著高于 si-SEMA6D 组 [(435.0±28.2) vs (400.7±41.4) vs (291.3±31.1), $P=0.022$]。划痕 24 h、48 h, Ctrl、si-NC 组划痕愈合率显著高于 si-SEMA6D 组 [(48.8±3.3)% vs (40.6±3.4)% vs (16.6±2.4)%, $P<0.001$; (74.7±1.1)% vs (67.6±3.0)% vs (49.5±2.3)%, $P<0.001$]。Western blot 检测表明, 相较于 si-SEMA6D 组, Ctrl 组、si-NC 组 p-PI3K、p-AKT、p-p38、MMP2 的蛋白表达水平均显著增加 ($P<0.05$), 而三组中 PI3K、AKT、p38、Bcl-2 及 Bax 的表达水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。[结论] 沉默 SEMA6D 后骨肉瘤 MG63 细胞可通过抑制 PI3K/AKT 及 p38-MAPK 信号通路, 抑制细胞增殖、迁移及侵袭能力。

关键词: 骨肉瘤, SEMA6D, 侵袭, PI3K/AKT

中图分类号: R738.1

文献标志码: A

文章编号: 1005-8478 (2025) 06-0535-06

Effect of SEMA6D on biological behavior of human osteosarcoma MG63 cells // DU Zhan-hong, YANG Wei-jing, WANG Yu-chan, FU Ya-lu, LI Qing-hui, MENG Yu-han, LIU Xing-long. Affiliated Hospital, Shandong Second Medical University, Weifang, 261000 Shandong, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of semaphorin 6D (SEMA6D) on the proliferation and invasion of osteosarcoma cells and its mechanism. [Methods] MG63 cells were divided into blank control group (the Ctrl group), negative control group (the si-NC group) and the group transfected with si-RNA targeting SEMA6D (the si-SEMA6D group), and corresponding transfection was performed in vitro. The changes of proliferation, migration and invasion ability of MG63 cells were detected by CCK-8, cell scratch and Transwell invasion assay. In addition, western blot analysis was performed to detect the protein expression of downstream related signaling pathways. [Results] After 24 hours culture, there was no significant difference in CCK-8 among the three groups ($P>0.05$). At 48 hours and 72 hours, the Ctrl and si-NC groups were significantly higher than the si-SEMA6D groups in CCK-8 assay [(0.7±0.1) vs (0.7±0.1) vs (0.4±0.1), $P<0.001$; (1.7±0.1) vs (1.6±0.1) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]. The Ctrl and si-NC groups were significantly higher than the si-SEMA6D group in Transwell invasion assay [(435.0±28.2) vs (400.7±41.4) vs (291.3±31.1), $P=0.022$]. At 24 hours and 48 hours, the Ctrl and si-NC groups had significantly higher scratch healing rate than the si-SEMA6D group [(48.8±3.3)% vs (40.6±3.4)% vs (16.6±2.4)%, $P<0.001$; (74.7±1.1)% vs (67.6±3.0)% vs (49.5±2.3)%, $P<0.001$]. As consequence of western blot analysis, the Ctrl group and si-NC group were significantly increased compared with the si-SEMA6D group in protein expression levels of p-PI3K, p-AKT, p-P38 and MMP2 ($P<0.05$), although there were no significant differences in the expression levels of PI3K, AKT, p38, Bcl-2 and Bax among the three groups ($P>0.05$). [Conclusion] SEMA6D silencing of osteosarcoma MG63 cells can inhibit cell proliferation, migration and invasion by inhibiting PI3K/AKT and p38-MAPK signaling pathways.

Key words: osteosarcoma, SEMA6D, invasion, PI3K/AKT

DOI:10.20184/j.cnki.Issn1005-8478.110641

[△]基金项目:潍坊市科技发展计划项目(编号:2022YX032);山东省学校卫生协会重点课题(编号:JKZX2023136)

作者简介:都展鸿,硕士研究生,研究方向:骨病,(电子信箱)du37071999@163.com

* 通信作者:刘兴龙,(电子信箱)lx17481@163.com

骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是最常见的恶性骨肿瘤, 以青少年为主, 其具有组织特异性、局部侵袭及快速转移等特征^[1-3]。OS 的发病机制尚不明确, 临床治疗主要以新辅助化疗、手术联合化疗为主^[4], 但由于其易于早期转移和耐药的原因, OS 患者的5年生生存率不容乐观。因此探索 OS 恶性生长及转移机制, 寻找有效治疗靶点对改善患者预后具有重要意义。信号素 6D (semaphorin 6D, SEMA6D) 属于单通道膜结合型信使分子, 位于人2号染色体上, 是第6类信使分子中最具特征性的因子^[4]。已被证实参与中枢神经系统线路发育^[5]、心脏发育^[6]等过程。另外研究表明, SEMA6D 在不同类型的肿瘤中发挥着不同的作用。例如, SEMA6D 对肺腺癌、肾透明细胞癌具有抗肿瘤活性作用^[7, 8], 却可促进结直肠癌和胃癌的血管生成^[9, 10]。然而, SEMA6D 在 OS 发生、进展中的作用机制尚不清楚, 且国内相关报道不多。因此本研究以人 OS 细胞进行实验, 旨在探究 SEMA6D 对 MG63 细胞增殖、侵袭的影响, 并从相关信号通路方面探究其可能作用机制, 为 OS 诊断、治疗提供新的肿瘤标记物、靶点。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

骨肉瘤 MG63 细胞株购于中国科学院细胞库; 高糖 DMEM 培养液购自武汉塞维尔生物科技有限公司; 胎牛血清购自澳洲 BOVOGEN 公司。

BCA 蛋白试剂盒 (碧云天生物技术有限公司), ECL 发光液 (北京康为世纪有限公司), SDS-PAGE 凝胶试剂盒 (武汉塞维尔生物科技有限公司), CCK-8 试剂 (亚科因生物技术有限公司), Lipofectamine 3000 (美国赛默飞世尔科技公司), Matrigel 胶 (美国 BD 公司), Transwell 小室 (康宁生物科技有限公司), SEMA6D 抗体 (美国赛默飞世尔科技公司), p-PI3K 抗体 (美国 Affinity 公司), PI3K、MMP2、Bcl-2、Bax 抗体 (杭州华安生物技术有限公司), p-AKT、AKT、p-p38、p38 抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司), si-RNA (苏州吉玛基因公司)。

1.2 体外培养

1.2.1 细胞培养

将 MG63 细胞置于含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养基中, 在 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中进行培养。当细胞密度达到 80% 左右时, 使用 0.25% 胰蛋白酶对细胞进行消化和传代处理, 随后将传代后的 MG63 细

胞继续放回培养箱中培养。

1.2.2 si-RNA 的转染和细胞分组

将 MG63 细胞在转染前 24 h 接种于 6 孔板中, 使其 24 h 后细胞度达 70%~80%。使用 Lipofectamine 3000 进行细胞转染, 将细胞分为空白对照组 (Ctrl 组)、阴性对照组 (si-NC 组) 和 si-SEMA6D 组, 转染后 6 h 后换完全培养基培养, 48 h 后提取蛋白进行验证。si-RNA 序列: 5'-GCCUUGCCGAAGCUUAU-AATT-3'、5'-UUAUAAGCUUCGGCAAGGCTT-3'。

1.3 检测方法

1.3.1 细胞增殖实验

MG63 细胞经 si-RNA 转染 48 h 后, 将细胞消化收集, 重悬后进行计数。将 Ctrl 组、si-NC 组和 si-SEMA6D 组的 MG63 细胞以每孔 5000 个均匀接种至 96 孔板中, 每孔加入 100 μL CCK-8 试剂, 在培养箱中孵育 2 h 后, 用酶标仪测定 MG63 细胞在 450 nm 处的吸光度。并于继续孵育后第 1、2、3 d 后分别检测 1 次, 记录 OD_{450nm} 数据进行统计分析。

1.3.2 细胞侵袭实验

MG63 细胞转染 si-RNA 48 h 后, 细胞在含 1% FBS 的培养基中饥饿处理 24 h, 随后消化收集细胞并在无血清的 DMEM 培养基中重悬。提前 3 h 在 Transwell 小室的上室中铺好 Matrigel 胶 (1:8 稀释) 并完成基底膜水化。将重悬的细胞按每孔 13000 个均匀种植在上室中, 下室加入 500 μL 含 20% FBS 的 DMEM 培养基继续培养。24 h 后取出小室, 弃去上室液体并用棉签擦拭, 甲醇固定 30 min 后用结晶紫染色 20 min, PBS 溶液冲洗 3 次, 在倒置显微镜下随机采集 5 个视野, 计算侵袭细胞平均数即表示细胞的侵袭能力。

1.3.3 划痕实验

MG63 细胞转染 si-RNA 48 h 后, 消化收集细胞以适当密度种植至 6 孔板中, 培养箱培养 24 h 后细胞密度达 90%~100% 时, 选用 200 μL 无菌枪头从上到下均匀划线, 确保划痕均匀一致。用 PBS 彻底冲洗脱落细胞, 每孔加入适量不含血清的高糖 DMEM 培养基继续培养。在 0、24、48 h 分别进行显微镜观察并记录。划痕中心区域的面积使用 Image J 软件进行量化分析。划痕愈合率=[(0 h 划痕面积-24 h 划痕面积)/0 h 划痕面积]×100%。

1.3.4 Western blot 检测

细胞转染 si-RNA 48 h 后消化收集 MG-63 细胞, 使用现配制的裂解液裂解提取细胞蛋白, 并通过 BCA 法进行蛋白定量。将上述蛋白与 5×上样缓冲液

按适当的比例混合后金属浴煮沸 10 min 使其完全变性。取适量蛋白进行 Western blot 实验,使用 ECL 法对蛋白进行发光显色,以 β -actin 作为内参对照,检测细胞内 SEMA6D、P13K、AKT 及 MMP2 等蛋白表达水平。蛋白的相对表达量通过 Image J 软件分析。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的数据采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验。资料呈非正态分布时,选用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 细胞增殖实验

CCK-8 细胞增殖结果见表 1。与培养 24 h 相比,培养 48 和 72 h 三组 CCK-8 细胞均显著增加 ($P < 0.05$),培养 24 h,三组 CCK-8 细胞值的差异无统计学意义 ($P > 0.05$),在 48、72 h, Ctrl、si-NC 组细胞值显著高于 si-SEMA6D 组 ($P < 0.05$)。

2.2 细胞侵袭实验

Transwell 侵袭实验结果见图 1、表 1, Ctrl、si-NC 组细胞侵袭数显著高于 si-SEMA6D 组 ($P < 0.05$)。

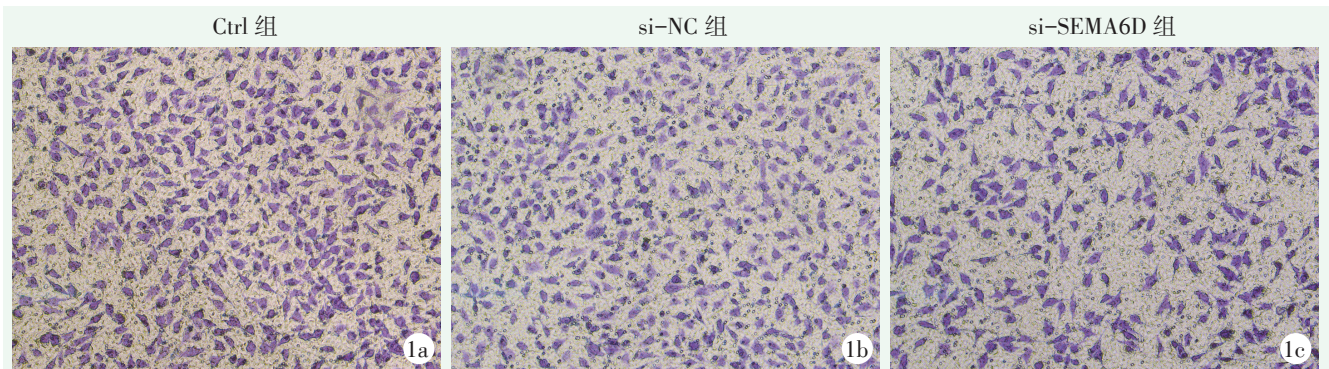
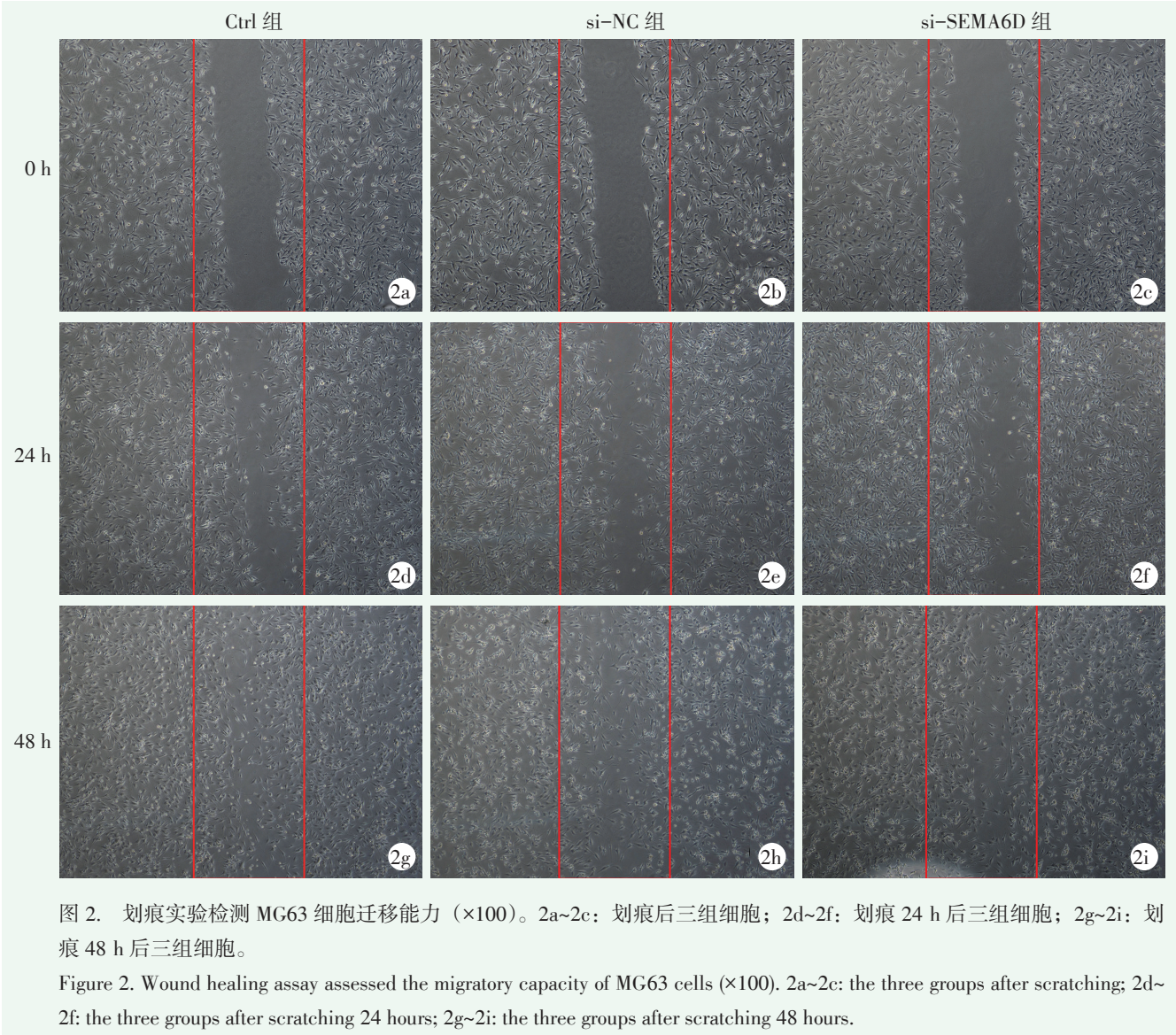


图 1. Transwell 实验检测细胞 MG63 细胞侵袭能力 ($\times 100$)。1a: Ctrl 组; 1b: si-NC 组; 1c: si-SEMA6D 组。
Figure 1. Transwell assay evaluated the invasion ability of MG63 cells ($\times 100$). 1a: Blank control group; 1b: Negative control group; 1c: si-SEMA6D group.

表 1. 体外实验三组检测结果 ($\bar{x} \pm s$) 与比较				
Table 1. Comparison of test results among the three groups in vitro ($\bar{x} \pm s$)				
指标	Ctrl 组 (n=5)	si-NC 组 (n=5)	si-SEMA6D 组 (n=5)	P 值
CCK-8 (OD 值)				
24 h	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	0.726
48 h	0.7 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	<0.001
72 h	1.7 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1	<0.001
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	
Transwell 试验	435.0 $\pm$ 28.2	400.7 $\pm$ 41.4	291.3 $\pm$ 31.1	0.022
划痕试验 (%)				
24 h	48.8 $\pm$ 3.3	40.6 $\pm$ 3.4	16.6 $\pm$ 2.4	<0.001
48 h	74.7 $\pm$ 1.1	67.6 $\pm$ 3.0	49.5 $\pm$ 2.3	<0.001
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	
Western blot (相对表达量)				
p-P13K	2.0 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.1	<0.001
P13K	1.7 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.2	0.373
p-AKT	1.6 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.2	0.047
AKT	2.0 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.3	0.217
p-p38	2.2 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.2	0.013
p38	2.3 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.2	0.780
MMP2	2.4 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.2	0.003
BCI-2	1.7 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.2	0.383
Bax	1.8 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.3	0.606
SEMA6D	2.4 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.1	0.006

2.3 划痕实验

细胞划痕实验结果见图 2、表 1。与划痕 24 h 相比，划痕 48 h 后，三组细胞划痕愈合率均显著增加 ($P<0.05$)，划痕 24、48 h，Ctrl、si-NC 组划痕愈合率显著高于 si-SEMA6D 组 ($P<0.05$)。



2.4 Western blot 检测

Western blot 检测结果见表 1，相较于 si-SEMA6D 组，Ctrl 组、si-NC 组 p-PI3K、p-AKT、p-p38、MMP2 的蛋白表达水平均显著增加 ($P<0.05$)，而三组中 P13K、AKT、p38、Bcl-2 及 Bax 的表达水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨论

OS 是最常见的原发性骨肿瘤，病因至今仍不清楚，治疗方法包括术前新辅助化疗、手术切除（包括所有已知可切除的转移灶）、术后辅助化疗以及靶向治疗^[3, 4]。尽管如此，OS 的治疗形势仍不乐观，高达 20% 的患者在确诊时已有转移病灶，以肺转移最为常见，常通过 CT 检查发现，而发生转移的患者长期生存率低于 20%^[11]。其预后生活质量与患者营养状态、是否存在病理性骨折、手术方式及睡眠质量等多种因素密切相关^[12]。与其他肿瘤相比，OS 至今未能找到切实可行的化疗方法以改善患者预后^[13]。OS 的血清学、遗传学或其他生物标志物的应用未在临床中普及，这限制了 OS 患者的随访和高危人群的筛查^[14]。

Semaphorin (SEMA) 家族最早在神经系统中被发现，具有轴突导向作用，在维持正常神经生理功能方面发挥着重要作用^[15]。SEMA6D 作为 SEMA 家族的成员，发挥多种生物学作用。有研究表明，SE-

MA6D 可以通过调节巨噬细胞的脂代谢,使巨噬细胞极化为抗炎型,从而抑制肠炎发生^[16]。曲思璇等^[17]发现,SEMA6D 在胃癌组织高表达,且与胃癌的恶性程度呈正相关。另外, Lee 等^[10]研究证实,SEMA6D 促进结肠癌的血管生成,进而促进肿瘤进展。然而 Duan 等^[8]提出,SEMA6D 在肾透明细胞癌中低表达,且 SEMA6D 可作为肾透明细胞癌的诊断及预后分子。过表达 SEMA6D 抑制肾透明细胞癌的增殖、迁移及侵袭。以上研究结果表明,SEMA6D 在癌症进展中具有多方面的功能。增殖和侵袭是癌症转移的重要前提与关键^[18],本研究通过 CCK-8 实验、迁移及侵袭实验发现,沉默 SEMA6D 可以抑制 OS 细胞的增殖、迁移及侵袭能力,表明下调 SEMA6D 可以阻碍 OS 的进展。

OS 病因复杂,其发生涉及胞内多种信号通路的改变,其中 PI3K/AKT 通路发挥重要作用^[19, 20]。PI3K/AKT 是调控细胞生长、增殖、迁移、生存的重要途径,该通路的异常激活可导致多种肿瘤细胞的存活和增殖,与肿瘤的生长与发展密切相关^[21-23]。基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase2, MMP2) 是调节细胞外基质降解的重要细胞外蛋白水解酶,在肿瘤领域中被广泛研究,参与肿瘤细胞生长、血管生成、免疫监测及抑制生长信号的调节,并被证实参与包括 OS 在内的多种肿瘤细胞的迁移和侵袭行为^[24, 25]。本研究发现,沉默 SEMA6D 抑制了 PI3K/AKT 信号通路的活化,同时抑制了侵袭相关蛋白 MMP2 的表达,这些结果均表明,沉默 SEMA6D 抑制了 OS 的侵袭能力,进而减弱了 OS 的转移能力。

综上所述,在人骨肉瘤 MG63 细胞中,沉默 SEMA6D 可能是通过抑制 PI3K/AKT 及 MMP2 的表达水平,进而抑制 MG63 细胞增殖、迁移及侵袭能力。本研究仅限于体外细胞实验,且未验证其他骨肉瘤细胞株,后续会行动物实验、增加其他骨肉瘤细胞株实验,进一步分析验证 SEMA6D 的作用机制。

利益冲突声明 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 都展鸿:实施研究、数据采集及分析和解释、起草文章、统计分析;杨维经:实施研究、数据采集及分析和解释、统计分析;王雨婵、付雅璐:实施研究、数据采集及分析和解释;李庆慧:实施研究、数据采集及分析和解释、指导;孟玉茜:酝酿和设计实验、文章审阅、获取研究经费、提供行政及技术或材料支持、指导;刘兴龙:酝酿和设计实验、分析及解释数据、文章审阅、获取研究经费、提供行政及技术或材料支持、指导、支持性贡献

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21442.
- [2] Sakamoto A, Iwamoto Y. Current status and perspectives regarding the treatment of osteosarcoma: chemotherapy [J]. Rev Recent Clin Trials, 2008, 3 (3): 228-231. DOI: 10.2174/157488708785700267.
- [3] 吴岳, 要星辰, 史湘君, 等. miR-17-92 基因簇对骨肉瘤细胞增殖侵袭的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31 (17): 1599-1603. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.17.12.
Wu Y, Yao XC, Shi XJ, et al. Effects of miR-17-92 gene cluster on proliferation and invasion of osteosarcoma cells [J]. Orthopedic Journal of China, 2023, 31 (17): 1599-1603. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.17.12.
- [4] Chen CL, Xie L, Ren TT, et al. Immunotherapy for osteosarcoma: Fundamental mechanism, rationale, and recent breakthroughs [J]. Cancer Lett, 2021, 500: 1-10. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.12.024.
- [5] Leslie JR, Imai F, Fukuhara K, et al. Ectopic myelinating oligodendrocytes in the dorsal spinal cord as a consequence of altered semaphorin 6D signaling inhibit synapse formation [J]. Development, 2011, 138 (18): 4085-4095. DOI: 10.1242/dev.066076.
- [6] Toyofuku T, Zhang H, Kumanogoh A, et al. Guidance of myocardial patterning in cardiac development by Semaphorin 6D reverse signalling [J]. Nat Cell Biol, 2004, 6 (12): 1204-1211. DOI: 10.1038/ncb1193.
- [7] Wang YY, Zhang L, Chen YT, et al. Screening and identification of biomarkers associated with the diagnosis and prognosis of lung adenocarcinoma [J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34 (10): e23450. DOI: 10.1002/jcla.23450.
- [8] Duan JC, Jin MY, Qiao BP. Semaphorin 6D as an independent predictor for better prognosis in clear cell renal cell carcinoma [J]. Transl Oncol, 2022, 22: 101453. DOI: 10.1016/j.tranon.2022.101453.
- [9] Lu YJ, Xu Q, Chen L, et al. Expression of semaphorin 6D and its receptor plexin-A1 in gastric cancer and their association with tumor angiogenesis [J]. Oncol Lett, 2016, 12 (5): 3967-3974. DOI: 10.3892/ol.2016.5208.
- [10] Lee Y, Kim SJ, Choo J, et al. miR-23a-3p is a key regulator of IL-17C-induced tumor angiogenesis in colorectal cancer [J]. Cells, 2020, 9 (6): 1363. DOI: 10.3390/cells9061363.
- [11] Meltzer PS, Helman LJ. New horizons in the treatment of osteosarcoma [J]. N Engl J Med, 2021, 385 (22): 2066-2076. DOI: 10.1056/NEJMr2103423.
- [12] 刘英梅, 商雪娇, 李宏. 影响骨肉瘤治疗后生活质量的相关因素分析 [J]. 中国矫形外科杂志, 2024, 32 (3): 279-283. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2024.03.17.
Liu YM, Shang XJ, Li H. Factors impacting quality of life after treatment of osteosarcoma [J]. Orthopedic Journal of China, 2024, 32 (3): 279-283. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2024.03.17.
- [13] 杜建航, 鲍小刚, 许国华, 等. 骨肉瘤免疫治疗进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31 (17): 1594-1598. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2020.08.012.

- Du JH, Bao XG, Xu GH, et al. Research progress of osteosarcoma immunotherapy [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2023, 31 (17): 1594–1598. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2020.08.012.
- [14] Pekarek L, De la Torre-Escuredo B, Fraile-Martinez O, et al. Towards the search for potential biomarkers in osteosarcoma: state-of-the-art and translational expectations [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (23): 14939. DOI: 10.3390/ijms232314939.
- [15] Nakanishi Y, Izumi M, Matsushita H, et al. Semaphorin 6D tunes amygdalar circuits for emotional, metabolic, and inflammatory outputs [J]. *Neuron*, 2024, 112 (17): 2955–2972. DOI: 10.1016/j.neuron.2024.06.017.
- [16] Kang SJ, Nakanishi Y, Kioi Y, et al. Semaphorin 6D reverse signaling controls macrophage lipid metabolism and anti-inflammatory polarization [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19 (6): 561–570. DOI: 10.1038/s41590-018-0108-0.
- [17] 曲思璇, 杨兆丽, 陶洪迪, 等. 脑信号蛋白 6D (SEMA6D) 与 Snail 蛋白在胃癌组织高表达且与恶性临床病理指标呈正相关 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2019, 35 (10): 932–937. DOI: 10.13423/j.cnki.cjemi.008927.
- Qu SX, Yang ZL, Tao HD, et al. Semaphorin 6D and Snail are highly expressed in gastric cancer and positively correlated with malignant clinicopathological indexes [J]. *Chinese Journal of Cellular Molecular Immunology*, 2019, 35 (10): 932–937. DOI: 10.13423/j.cnki.cjemi.008927.
- [18] Cheng B, Rong AM, Zhou QB, et al. LncRNA LINC00662 promotes colon cancer tumor growth and metastasis by competitively binding with miR-340-5p to regulate CLDN8/IL22 co-expression and activating ERK signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39 (1): 5. DOI: 10.1186/s13046-019-1510-7.
- [19] Li XD, Huang QS, Wang SL, et al. HER4 promotes the growth and metastasis of osteosarcoma via the PI3K/AKT pathway [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52 (4): 345–362. DOI: 10.1093/abbs/gmaa004.
- [20] 王俊义, 席光辉, 张成勇, 等. miR-100 对骨肉瘤细胞增殖、侵袭、迁移能力的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26 (9): 840–844. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.09.15.
- Wang JY, Xi GH, Zhang CY, et al. Effects of miR-100 on proliferation, invasion and migration of osteosarcoma cells [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2018, 26 (9): 840–844. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.09.15.
- [21] Luo J, Yao JF, Deng XF, et al. 14, 15-EET induces breast cancer cell EMT and cisplatin resistance by up-regulating integrin $\alpha\beta3$ and activating FAK/PI3K/AKT signaling [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37 (1): 23. DOI: 10.1186/s13046-018-0694-6.
- [22] Spangle JM, Dreijerink KM, Groner AC, et al. PI3K/AKT Signaling Regulates H3K4 Methylation in Breast Cancer [J]. *Cell Rep*, 2016, 15 (12): 2692–2704. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.05.046.
- [23] Xu JC, Chen TY, Liao LT, et al. NETO2 promotes esophageal cancer progression by inducing proliferation and metastasis via PI3K/AKT and ERK pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17 (1): 259–270. DOI: 10.7150/ijbs.53795.
- [24] Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (24): 9739. DOI: 10.3390/ijms21249739.
- [25] Zhu KP, Ma XL, Zhang CL. LncRNA ODRUL contributes to osteosarcoma progression through the miR-3182/MMP2 axis [J]. *Mol Ther*, 2017, 25 (10): 2383–2393. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.06.027.
- (收稿: 2024-09-01 修回: 2025-01-10)
(同行评议专家: 张开亮, 王剑利, 谢伟, 肖腾飞)
(本文编辑: 宁桦)