

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.23.005

ERK5 抑制剂 XMD17-109 通过下调 ITPRIP 表达抑制胶质瘤进展*

王昕雯^{1,2}, 曹长春³, 朱 亮³, 杜 宇³, 孙增先^{1△}

(1. 徐州医科大学附属连云港医院药学部, 江苏连云港 222061; 2. 徐州医科大学淮安临床学院药学部, 江苏淮安 223300; 3. 南京医科大学附属淮安第一医院药学部, 江苏淮安 223300)

[摘要] **目的** 基于细胞外信号调节激酶 5(ERK5)/肌醇 1,4,5-三磷酸受体相互作用蛋白(ITPRIP)信号通路研究 XMD17-109 对胶质瘤细胞活力的影响及其分子机制。**方法** 常规培养胶质瘤细胞 U251,通过 XMD17-109 抑制 ERK5 活性,转染 RNA 片段和质粒分别构建 ERK5 敲低和 ERK5 过表达模型。实验分为 XMD17-109 组、Control 组、siERK5 组、siNC 组、ERK5-OE 组、Vector 组、ERK5-OE+XMD17-109 组和 Vector+XMD17-109 组。分别采用 CCK-8、划痕、流式细胞术等实验检测细胞活力,逆转录实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)和 Western blot 检测 ERK5 和 ITPRIP 的 mRNA 和蛋白表达水平。**结果** XMD17-109 组相较于 Control 组细胞活力下降,ITPRIP 表达水平降低($P<0.05$);siERK5 组相较于 siNC 组细胞活力下降,ITPRIP 表达水平降低($P<0.05$);ERK5-OE 组相较于 Vector 组细胞活力增强,ITPRIP 表达水平上升($P<0.05$);ERK5-OE+XMD17-109 组相较于 Vector+XMD17-109 组细胞活力增强,ITPRIP 表达水平上升($P<0.05$)。**结论** XMD17-109 通过抑制 ERK5/ITPRIP 信号通路抑制胶质瘤细胞的活力。

[关键词] 细胞外信号调节激酶 5;肌醇 1,4,5-三磷酸受体相互作用蛋白;XMD17-109;胶质瘤;抑制剂

[中图法分类号] R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)23-3546-08

ERK5 inhibitor XMD17-109 inhibits glioma progression by down-regulating ITPRIP expression*

WANG Xinwen^{1,2}, CAO Changchun³, ZHU Liang³, DU Yu³, SUN Zengxian^{1△}

(1. Department of Pharmacy, Lianyungang Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Lianyungang, Jiangsu 222061, China; 2. Department of Pharmacy, Huai'an Clinical College of Xuzhou Medical University, Huai'an, Jiangsu 223300, China; 3. Department of Pharmacy, the Affiliated Huai'an NO. 1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an, Jiangsu 223300, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of XMD17-109 on the viability of glioma cells and its molecular mechanism based on extracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5) / inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-interacting protein (ITPRIP) signaling pathway. **Methods** U251 glioma cells were routinely cultured, and ERK5 activity was inhibited by XMD17-109. ERK5 knockdown and ERK5 overexpression models were constructed by transfection of RNA fragments and plasmids, respectively. Cells were divided into the XMD17-109 group, the Control group, the siERK5 group, the siNC group, siERK5-OE group, the Vector group, the ERK5-OE+XMD17-109 group and the Vector+XMD17-109 group. The cell viability was detected by CCK-8, scratch and flow cytometry experiments and so on. The mRNA and protein expression levels of ERK5 and ITPRIP were detected by reverse transcription-quantitative real time PCR (RT-qPCR) and Western blot. **Results** Compared with the Control group, the cell viability of the XMD17-109 group decreased, and the expression level of ITPRIP decreased ($P<0.05$). Compared with the siNC group, the cell viability of the siERK5 group was decreased, and the expression level of ITPRIP was decreased ($P<0.05$). Compared with the Vector group, the cell viability of the ERK5-OE group was enhanced, and the expression level of ITPRIP

* 基金项目:中国博士后科学基金项目(2021M701487)。 作者简介:王昕雯(1977—),主任药师,主要从事临床药学与药事管理研究。
△ 通信作者,E-mail:sunzx715@163.com。

was increased ($P < 0.05$). Compared the with Vector+XMD17-109 group, the cell viability of the ERK5-OE+XMD17-109 group was enhanced, and the expression level of ITPRIP was increased ($P < 0.05$). **Conclusion** XMD17-109 can inhibit the viability of glioma cells by inhibiting ERK5/ITPRIP signaling pathway, which is expected to be a potential drug for glioma treatment.

[Key words] extracellular signal-regulated kinase 5; inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor-interacting protein; XMD17-109; glioma; inhibitor

胶质瘤 (glioblastoma, GBM) 被认为是恶性程度最高、治疗难度最大的原发性脑肿瘤之一, 发病率占恶性脑肿瘤的 45% 以上^[1-3]。尽管多学科管理和靶向治疗在临床方面取得了一定进展, 但恶性胶质瘤的现有治疗方案仍然较为局限^[4-5]。抑癌基因的失活是胶质瘤不断进展的重要原因, 也是治疗的主要障碍之一^[6-8]。因此, 深入了解这一过程所涉及的分子机制对于开发更有效的干预措施至关重要。细胞外信号调节激酶 5 (extracellular signal-regulated kinase 5, ERK5) 是丝裂原活化蛋白激酶家族中的一员, 具有独特的 C 末端结构域^[9-10]。越来越多的证据表明 ERK5 参与肿瘤起始和进展的各个阶段^[11-13]。研究认为, ERK5 信号级联的激活会诱导多种细胞周期分子增殖^[14]。此外, ERK5 对周期蛋白依赖性激酶抑制因子的表达具有下调作用^[15]。药物干预和基因策略明确证实, 靶向 ERK5 通路对于癌症治疗具有潜力^[16-17]。基因表达谱分析发现 ERK5 mRNA 在原发性脑肿瘤, 特别是 GBM 中明显高表达^[18]。新型小分子激酶抑制剂 XMD17-109 作为 ERK5 强效抑制剂被成功合成。XMD17-109 在生化上抑制 ERK5, IC_{50} 为 $(0.162 \pm 0.006) \mu\text{mol/L}$, 在细胞内阻断表皮生长因子诱导的 ERK5 自磷酸化。目前 XMD17-109 用于胶质瘤治疗的研究尚未见报道, 且 XMD17-109 作用机制有待进一步探究。1, 4, 5-三磷酸受体 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor, IP3R) 相互作用蛋白已被证明是 IP3R 的结合伴侣, 其与 IP3R 相互作用促进 IP3R 通道的钙离子抑制功能。前期研究已经证明肌醇 1, 4, 5-三磷酸受体相互作用蛋白 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor interacting protein, ITPRIP) 通过连接肌球蛋白调节轻多肽 9 和死亡相关蛋白激酶 1 促进 GBM 进展^[19]。本研究假设 ERK5 在胶质瘤中可能作为肿瘤促进 ITPRIP 的刺激分子。通过研究 ERK5 抑制剂 XMD17-109 对胶质瘤细胞 U251 活力的影响及 ERK5 与 ITPRIP 之间的相互作用, 可揭示 ERK5 介导促进 ITPRIP 表达的分子机制, 及其在胶质瘤进展中的意义, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

本研究中人胶质母细胞瘤细胞株 U251 来自中国科学院分子细胞科学卓越创新中心。

1.1.2 试剂

XMD17-109 购于美国 MCE 公司; DMEM 高糖培养基和胎牛血清 (FBS) 购于美国 Gibco 公司; Lipofectamine 2000 转染试剂购于美国 Thermo Fisher 公司; PrimeScriptTM RT Master Mix 和 SYBR & Premix Ex TaqTM 试剂盒购于日本 TaKaRa 公司; BCA 试剂盒和十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 试剂购于上海碧云天生物技术有限公司; ERK5 抗体购于美国 Cell Signaling 公司 (1:1 000, #12950); ITPRIP 抗体 (1:1 000, 26055-1-AP) 和 GAPDH 抗体 (1:5 000, 60004-1-Ig) 购于美国 Proteintech 公司; 辣根过氧化物酶 (HRP)-山羊抗小鼠 IgG 抗体 (1:5 000, PA2201) 和 HRP-山羊抗兔 IgG 抗体 (1:5 000, PA2202) 购于南京普诺恩生物技术有限公司; CCK8 检测试剂盒购于南京建成公司; 7-氨基放线菌素 D (7-AAD)/藻红蛋白 (PE) 试剂盒和 Transwell 小室购于美国 BD 公司; ERK5、阴性对照 siRNA (siNC) 序列和质粒由上海 GenePharma 公司设计并合成。

1.1.3 仪器

Applied biosystemsTM 7500 荧光定量 PCR 仪、酶标仪、培养箱和超净台购于美国 Thermo Fisher 公司; 流式细胞仪购于美国 Beckman 公司; 高速冷冻离心机购于芬兰 Eppendorf 公司; Amersham Biosciences 蛋白成像系统购于美国 Cytiva 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

细胞在含有 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基中, 37 °C、5% CO₂ 环境常规培养。在体外细胞实验中, 使用浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 XMD17-109 处理细胞 24 h 以抑制 ERK5 活性 (XMD17-109 组), 未处理的细胞纳入 Control 组。

1.2.2 RNA 干扰

按照说明书提示方法, 分别将 ERK5 siRNA (siERK5) 和 siNC 使用 Lipofectamine 2000 进行细胞转染, 构建 ERK5 敲低和阴性对照模型, 分为 siERK5

组、siNC 组。转染 6 h 后,更换为含 10% FBS 的新鲜培养基。细胞连续培养 48 h 后,收集细胞进行蛋白、RNA 分离等研究。通过逆转录实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)测定 ERK5 敲低效率。siERK5 组和 siNC 组所对应 RNA 序列分别为 5'-CGU GCC CUA UGG CGA AUU CAA TT-3'和 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3'。

1.2.3 质粒转染

人 ERK5 基因经过扩增和逆转录合成互补 DNA (cDNA)。随后,将人 ERK5 cDNA 克隆 pCDH-CMV-MCS-EF1-copGFP-T2A-Puro 载体中。将含有 ERK5 和对照结构的溶液引入到 U251 细胞中,孵育 48 h,构建 ERK5 过表达和对照结构模型,分别分为

ERK5-OE 组、Vector 组。采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测证实 ERK5 在细胞中的过表达水平。进一步将 ERK5-OE 组、Vector 组细胞分别与 XMD17-109 进行孵育,分为 ERK5-OE + XMD17-109 组、Vector+XMD17-109 组。

1.2.4 总 RNA 提取及 RT-qPCR

转染 siRNA 后,用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA。使用纳米微滴设备评估总 RNA 的纯度和浓度。使用 PrimeScript™ RT Master Mix 进行 RNA 逆转录,然后通过 SYBR & Premix Ex Taq™ 进行 RT-qPCR 检测。采用 Ct (2^{-ΔΔCt}) 法 (ΔΔCt = ΔCt_{target} - ΔCt_{GAPDH}) 对所有靶基因进行标准化,以 GAPDH 为内参基因。引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

基因	方向	序列(5'-3')	大小(bp)
ERK5	正向	CAG GAC GAC ACT AAA GGC ACT	21
	反向	CAC AGC AAC TCG TGC AGA C	19
ITPRIP	正向	TTT GCC TTA CTT CCC ACC TG	20
	反向	CCC ATG TCG AAA GAC TGG TT	20
GAPDH	正向	CAT GAG AAG TAT GAC AAC AGC CT	23
	反向	AGT CCT TCC ACG ATA CCA AAG T	22

1.2.5 Western blot

细胞收集后在冰上冷却 30 min,使用含有 20 mmol/L Tris、1 mmol/L EDT A、150 mmol/L 氯化钠、1 mmol/L 乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA)、1% 脱氧胆酸盐、1% Triton X-100, 2 mmol/L 正钒酸钠的裂解缓冲液进行蛋白质提取。随后,裂解液在 4 ℃下以 13 000 r/min 离心 20 min。所得上清液使用 BCA 试剂盒测定。将每个样品中等量的蛋白质与 SDS 样品缓冲液相结合,通过 SDS-PAGE 分离蛋白质,并将其转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。蛋白转移完毕后,用含有 5%脱脂奶粉的 TBST(TBS 中含 0.1%吐温 20)封闭 1 h。然后将膜与 ERK5 抗体、ITPRIP 抗体和 GAPDH 抗体在 4 ℃下过夜孵育。用 TBST 清洗 3 次,每次清洗 5 min。加入二抗,室温下孵育 1 h,其中 ERK5 和 ITPRIP 选用 HRP-山羊抗兔 IgG 二抗,GAPDH 选用 HRP-山羊抗小鼠 IgG 二抗。用增强化学发光检测系统对膜进行检测。使用 Image J 软件进行吸光度进行分析,每个蛋白条带的信号强度基于相对于各自的 GAPDH 加载对照进行归一化。

1.2.6 CCK-8 和细胞增殖实验

使用 CCK-8 检测试剂盒评估细胞增殖能力。在 96 孔板中每孔加入 100 μL 密度为 3×10⁴/mL 的细

胞混悬液。在 5% CO₂ 的培养箱中孵育 0、24、48、72 h。随后,每孔加入 10 μL 的 CCK-8 试剂,继续孵育 4 h 后用酶标仪测定 450 nm 处吸光度(A)值,每组条件均设置 3 个复孔。

1.2.7 流式细胞仪检测细胞凋亡

采用 7-AAD/PE 法检测 U251 细胞凋亡情况。将 U251 细胞与 7-AAD/PE 在冰上孵育 15 min,检测细胞凋亡情况,应用 Flowjo 软件进行定量分析。

1.2.8 划痕实验和 Transwell 实验

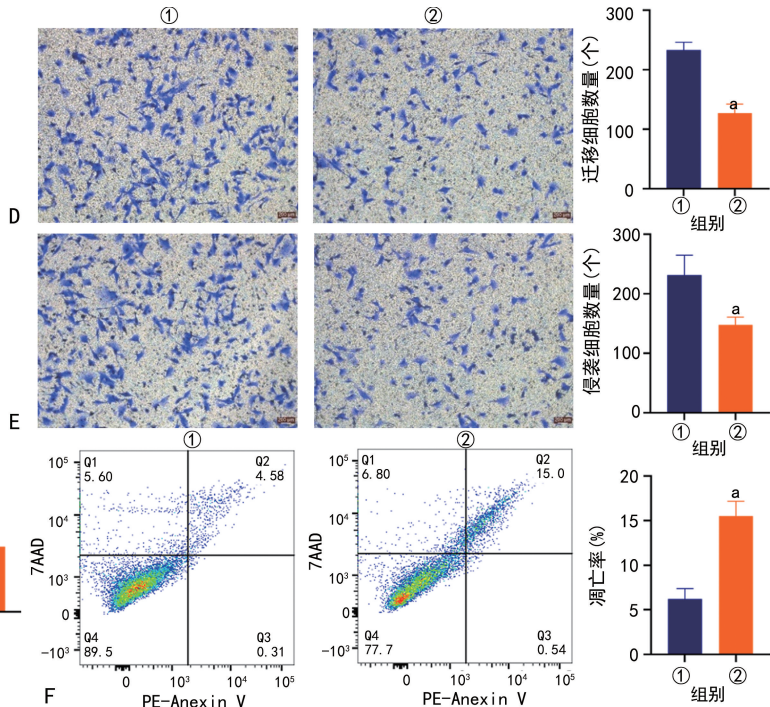
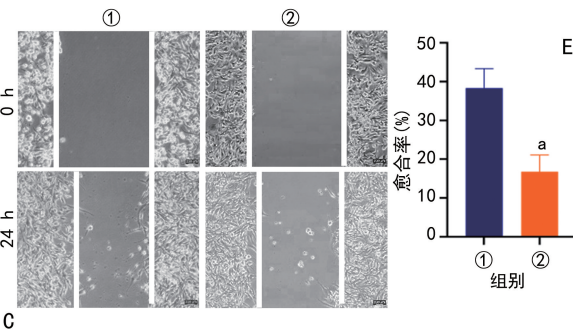
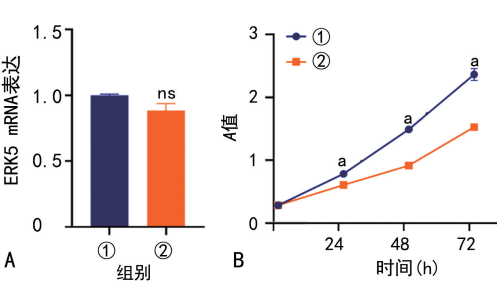
在划痕实验中,将细胞以 2×10⁶ 个/孔的密度重悬于 6 孔板中。一旦细胞贴壁,使用 20 μL 移液器吸头在细胞表面做出划痕。每个实验组均设置 3 个复孔。分别于划痕后 0、24 h 在显微镜下观察并拍照。每个孔中测量 3 个随机位置,使用 Image J 软件量化划痕宽度。按照说明书提示方法使用 Transwell 小室进行细胞迁移和侵袭实验。将 1×10⁵ 个细胞接种于上室 500 μL 无血清培养基中,下室加入 750 μL 含 10% FBS 的新鲜培养基,将细胞在 37 ℃下孵育 36 h。然后将迁移过滤网的细胞用 4%多聚甲醛(PFA)固定,并用结晶紫溶液染色 20 min。用棉签去除残留在上室表面的细胞后,在显微镜下随机拍照 5 个视野,采用直接计数法用 Image J 软件对迁移和侵袭细胞数量进行计数,取平均值作为最终迁移或侵袭细胞数量。

1.3 统计学处理

采用 Graph Pad Prism 8 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析(ANOVA)或 t 检验;计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

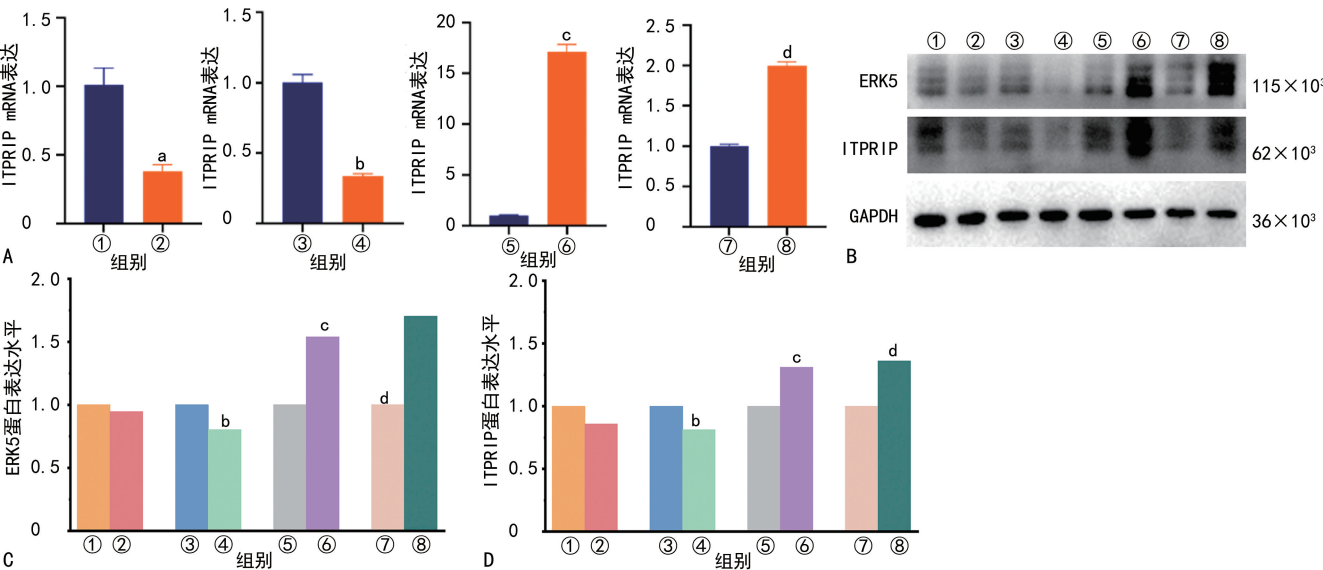
2 结 果

2.1 XMD17-109 对 ERK5 和 ITPRIP 的影响



A: ERK5 mRNA 表达水平;B:细胞增殖能力;C:划痕实验结果(100 $\times$);D:迁移实验结果(200 $\times$);E:侵袭实验结果(200 $\times$);F:流式细胞分析结果;①:Control 组;②:XMD17-109 组;ns: $P > 0.05$,与 Control 组比较;a: $P < 0.05$,与 Control 组比较。

图 1 XMD17-109 对 U251 细胞的影响



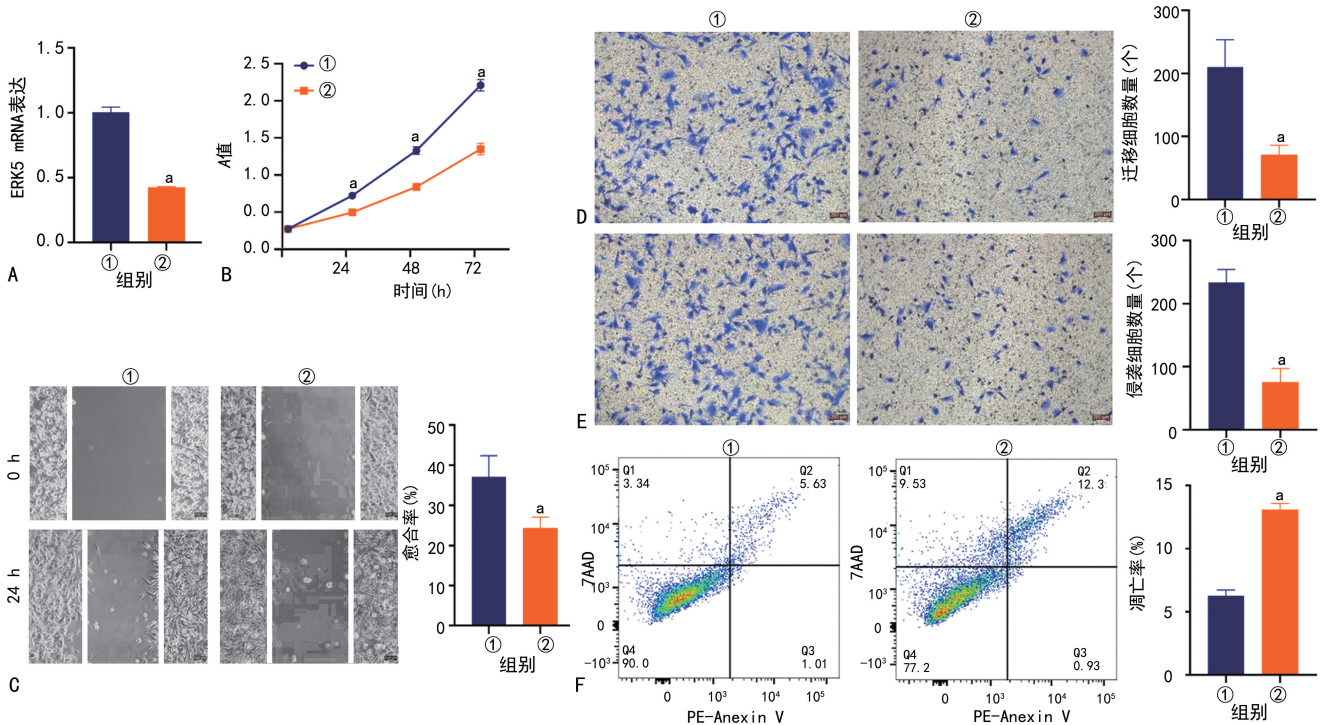
A:8 组 ITPRIP mRNA 表达水平;B:8 组 ERK5 和 ITPRIP 蛋白 Western blot 结果;C:8 组 ERK5 蛋白表达水平;D:8 组 ITPRIP 蛋白表达水平;①Control 组;②XMD17-109 组;③siNC 组;④siERK5 组;⑤Vector 组;⑥ERK5-OE 组;⑦Vector+XMD17-109 组;⑧ERK5-OE+XMD17-109 组;a: $P < 0.05$,与 Control 组比较;b: $P < 0.05$,与 siNC 组比较;c: $P < 0.05$,与 Vector 组比较;d: $P < 0.05$,与 Vector+XMD17-109 组比较。

图 2 ERK5 和 ITPRIP 蛋白水平变化

2.2 敲低与过表达 ERK5 对 U251 细胞的影响

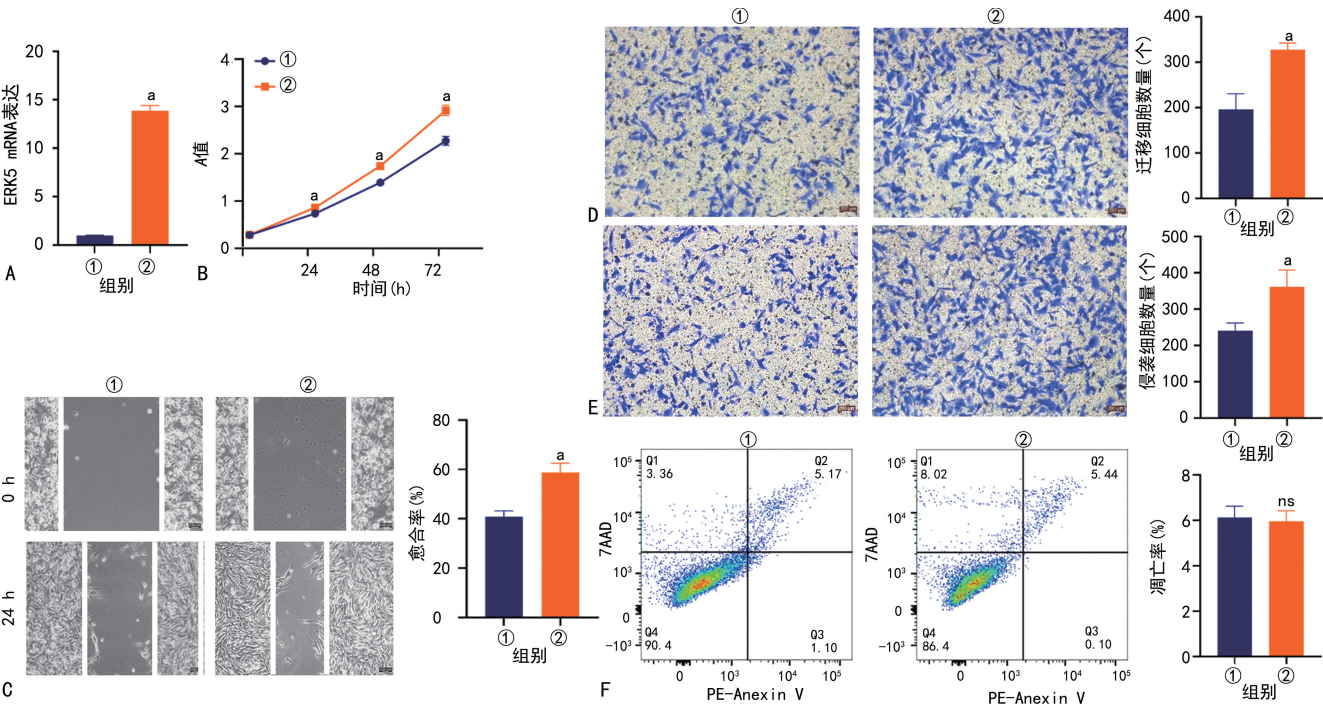
与 siNC 组比较, siERK5 组 ERK5 和 ITPRIP mRNA 和蛋白表达水平明显下调; 与 Vector 组比较, ERK5-OE 组 ERK5 和 ITPRIP mRNA 和蛋白表达水平明显上调; 与 siNC 组比较, siERK5 组 U251 细

胞增殖、侵袭和迁移能力均明显降低, 细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$); 与 Vector 组比较, ERK5-OE 组 U251 细胞增殖、侵袭和迁移能力均明显升高 ($P < 0.05$), 见图 2~4。



A: ERK5 mRNA 表达水平; B: 细胞增殖能力; C: 划痕实验结果 (100 $\times$); D: 迁移实验结果 (200 $\times$); E: 侵袭实验结果 (200 $\times$); F: 流式细胞术分析结果; ①: SiNC 组; ②: SiERK5 组; a : $P < 0.05$, 与 SiNC 组比较。

图 3 敲低 ERK5 对 U251 细胞的影响



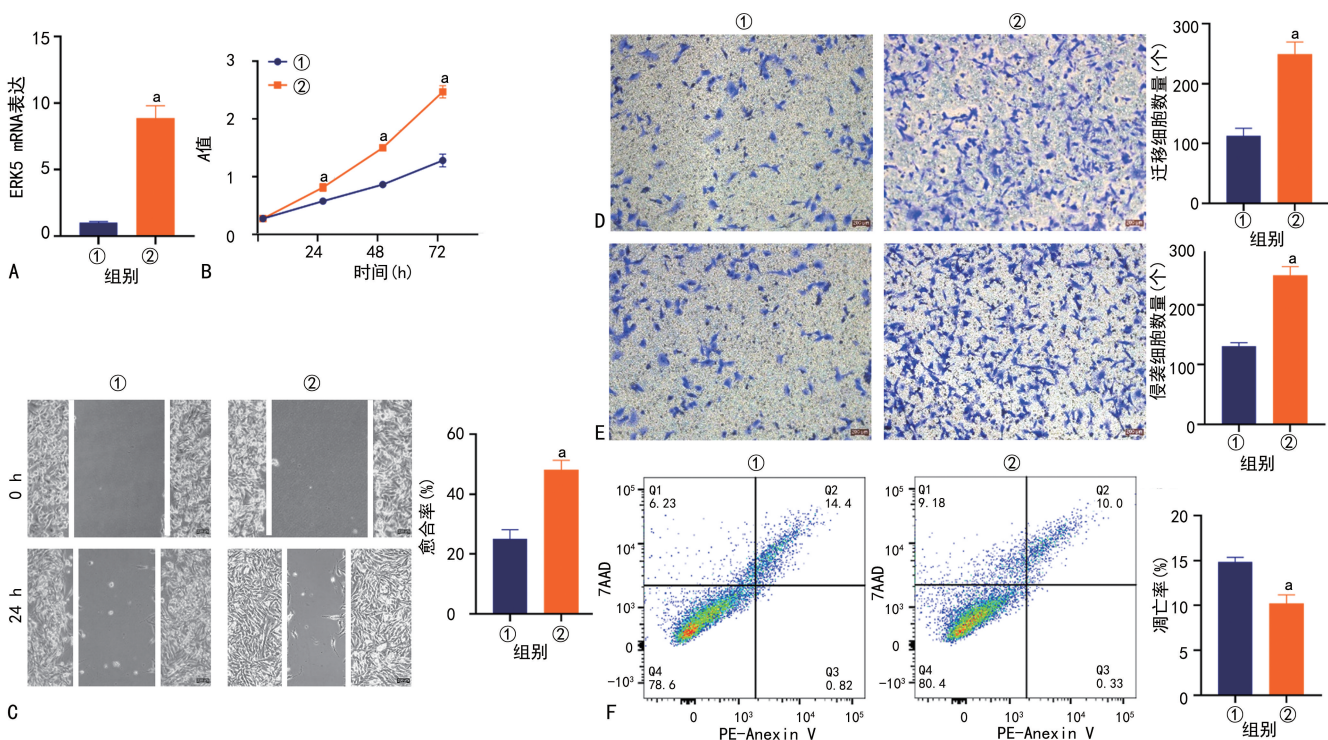
A: ERK5 mRNA 表达水平; B: 细胞增殖能力; C: 划痕实验结果 (100 $\times$); D: 迁移实验结果 (200 $\times$); E: 侵袭实验结果 (200 $\times$); F: 流式细胞术分析结果; ①: Vector 组; ②: ERK5-OE 组; ns: $P > 0.05$, 与 Vector 组比较; a : $P < 0.05$, 与 Vector 组比较。

图 4 过表达 ERK5 对 U251 细胞的影响

2.3 XMD17-109 逆转 ERK5 对 U251 细胞的调控作用

与 Vector + XMD17-109 组比较, ERK5-OE + XMD17-109 组 ERK5 和 ITPRIP mRNA 和蛋白表达

水平明显上调; 与 Vector + XMD17-109 组比较, ERK5-OE + XMD17-109 组 U251 细胞增殖、侵袭和迁移能力均明显升高, 细胞凋亡率明显降低, 见图 2、5。



A: ERK5 mRNA 表达水平; B: 细胞增殖能力; C: 划痕实验结果 (100×); D: 迁移实验结果 (200×); E: 侵袭实验结果 (200×); F: 流式细胞术分析结果; ①: Vector + XMD17-109 组; ②: ERK5-OE + XMD17-109 组; ^a: $P < 0.05$, 与 Vector + XMD17-109 组比较。

图 5 XMD17-109 逆转 ERK5 对 U251 细胞的调控作用

3 讨论

原发或复发的胶质瘤起源于分化细胞, 如成熟的神经元、星形胶质细胞和成体神经干细胞^[20-21]。这一现象表明, 恶性胶质瘤可能保留神经生物学特征和信号, 使得神经中心胶质瘤治疗成为一种有前途的方法^[22-24]。ERK5 在调节多种凋亡信号通路中发挥重要作用, 不仅促进肿瘤生长, 还参与肿瘤细胞的增殖^[25-26]。另一方面, ITPRIP 缺陷已被证明会加重短暂性脑缺血和急性兴奋性毒性后的神经毒性^[27]。基于这一认识, 作者认为在胶质瘤细胞中, ERK5 可能通过蛋白-蛋白相互作用对肿瘤启动子 ITPRIP 发挥促进作用, 类似于其在神经元细胞中的作用。

ERK5 在癌症中的致癌作用归因于其靶向特定的 mRNA^[28]。采用 siRNA/shRNA 沉默或敲除 ERK5 基因的多项研究表明, ERK5 信号通路对多种细胞表型发挥重要调控作用。研究数据显示, 体内和体外实验中沉默 ERK5 均能抑制多种癌细胞细胞的增殖作用, 如子宫内膜癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、黑色素瘤、三阴性乳腺癌和胆管癌等^[29]。在小细胞肺癌中, 沉默 ERK5 后细胞相较于野生型细胞增殖

活力明显降低, 这一结果强调了 ERK5 激酶活性在小细胞肺癌细胞增殖中的重要作用。此外, 一项针对实验用增殖表皮癌细胞的研究显示, 表皮生长因子能够引起 ERK5 的活化^[30]。ERK5 通过调节基质相关基因、促血管生成因子和整合素维持三阴性乳腺癌细胞的迁移和间质表型^[17, 31]。一项关于骨肉瘤的研究显示, ERK5 是一种有效的预后指标, 调节 ERK5-STAT3 通路会加剧骨肉瘤细胞的恶性表型^[32]。

通过数据库对肿瘤基因表达谱进行分析, 结果表明 ERK5 与 ITPRIP 在胶质瘤组织中的表达上调。基于此, 作者推测 ITPRIP 在胶质瘤中的作用可能是通过调控 ERK5 轴介导。为证实这一假设, 本研究进行了多项功能实验, 发现 XMD17-109 处理后细胞表型明显抑制, ERK5 表达无明显变化, ITPRIP 表达降低。这是因为 XMD17-109 作为 ERK5 选择性抑制剂, 通过阻断细胞内表皮生长因子诱导的 ERK5 自磷酸化, 对 ERK5 下游分子发挥抑制作用, 但其对 ERK5 本身无明显抑制作用。敲低 ERK5 会抑制胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力, 诱导细胞凋亡, 下调 ITPRIP 表达。相反, 过表达 ERK5 对胶质瘤细胞的

生物学功能起到促进作用,同时上调 ITPRIP 表达。ERK5 抑制剂 XMD17-109 减弱了胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力,同时能够逆转过表达 ERK5 对胶质瘤细胞表型的促进作用。此外,前期研究证实,敲低 ITPRIP 对于胶质瘤细胞表型具有抑制作用^[19],因此可以推论:XMD17-109 通过阻断 ERK5 自磷酸化抑制 ITPRIP 表达,进而抑制胶质瘤细胞表型。

综上所述,本研究证实了 XMD17-109 通过抑制 ERK5/ITPRIP 信号通路进而抑制胶质瘤的进展,ERK5、ITPRIP 可以作为胶质瘤预防、诊断和治疗的潜在生物标志物。

参考文献

- [1] MILLER A M, SHAH R H, PENTSOVA E I, et al. Tracking tumour evolution in glioma through liquid biopsies of cerebrospinal fluid [J]. *Nature*, 2019, 565(7741): 654-658.
- [2] SAM N, DUFFAU H. Brain plasticity profiling as a key support to therapeutic decision-making in low-grade glioma oncological strategies [J]. *Cancers*, 2023, 15(14): 3698.
- [3] DABBAGH O M, ALEYASIN M S, SAMIEE R, et al. Micro RNAs as a diagnostic marker between glioma and primary CNS lymphoma: a systematic review [J]. *Cancers*, 2023, 15(14): 3628.
- [4] LIU DN, LIU M, ZHANG S S, et al. Chryso-mycin a inhibits the proliferation, migration and invasion of U251 and U87-MG glioblastoma cells to exert its anti-cancer effects [J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6148.
- [5] WANG R, CHEN Z, ZHANG Y, et al. Flotillin-1 is a prognostic biomarker for glioblastoma and promotes cancer development through enhancing invasion and altering tumour microenvironment [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(3): 392-402.
- [6] WANG C, LI Y, GU L, et al. Gene targets of CAR-T cell therapy for glioblastoma [J]. *Cancers*, 2023, 15(8): 2351.
- [7] JIN X, ZHAO X. A new immune checkpoint-associated nine-gene signature for prognostic prediction of glioblastoma [J]. *Medicine*, 2023, 102(9): e33150.
- [8] SCHAFF L R, MELLINGHOFF I K. Glioblastoma and other primary brain malignancies in adults: a review [J]. *JAMA*, 2023, 329(7): 574-587.
- [9] STECCA B, ROVIDA E. Impact of ERK5 on the hallmarks of cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1426.
- [10] COOK S J, LOCHHEAD P A. ERK5 signalling and resistance to ERK1/2 pathway therapeutics: the path less travelled? [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 839997.
- [11] MONTI M, CELLI J, MISSALE F, et al. Clinical significance and regulation of ERK5 expression and function in cancer [J]. *Cancers*, 2022, 14(2): 348.
- [12] PEREIRA D M, RODRIGUES C M P. Targeted avenues for cancer treatment: the MEK5-ERK5 signaling pathway [J]. *Trends Mol Med*, 2020, 26(4): 394-407.
- [13] BHATT A B, PATEL S, MATOSSIAN M D, et al. Molecular mechanisms of epithelial to mesenchymal transition regulated by ERK5 signaling [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 183.
- [14] ZHANG J, PEARSON A J, SABHERWAL N, et al. Inhibiting ERK5 overcomes breast cancer resistance to anti-HER2 therapy by targeting the G₁/S cell cycle transition [J]. *Cancer Res Commun*, 2022, 2(3): 131-145.
- [15] CHANDER Y, KUMAR R, KHANDELWAL N, et al. Role of p38 mitogen-activated protein kinase signalling in virus replication and potential for developing broad spectrum antiviral drugs [J]. *Rev Med Virol*, 2021, 31(5): 1-16.
- [16] WRIGHT T D, RAYBUCK C, BHATT A, et al. Pharmacological inhibition of the MEK5/ERK5 and PI3K/Akt signaling pathways synergistically reduces viability in triple-negative breast cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(2): 1156-1168.
- [17] MATOSSIAN M D, HOANG V T, BURKS H E, et al. Constitutive activation of MEK5 promotes a mesenchymal and migratory cell phenotype in triple negative breast cancer [J]. *Oncoscience*, 2021, 8: 64-71.
- [18] FUKASAWA K, LYU J, KUBO T, et al. MEK5-

- ERK5 axis promotes self-renewal and tumorigenicity of glioma stem cells[J]. *Cancer Res Commun*, 2023, 3(1):148-159.
- [19] CAO C, HE K, LI S, et al. ITPRIP promotes glioma progression by linking MYL9 to DAPK1 inhibition[J]. *Cell Signal*, 2021, 85: 110062.
- [20] D'AMATI A, NICOLUSSI A, MIELE E, et al. NSD1 mutations and pediatric high-grade gliomas: a comparative genomic study in primary and recurrent tumors[J]. *Diagnostics*, 2022, 13(1):78.
- [21] GOLEBIEWSKA A, HAU A C, OUDIN A, et al. Patient-derived organoids and orthotopic xenografts of primary and recurrent gliomas represent relevant patient avatars for precision oncology[J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 140(6): 919-949.
- [22] MEHTA N H, SHAH HA, D'AMICO R S. Sonodynamic therapy and sonosensitizers for glioma treatment: a systematic qualitative review[J]. *World Neurosurg*, 2023, 178:60-68.
- [23] LOGRECO M C, MILAZZOTTO R, LIARDO R, et al. Relapsing high-grade glioma from peritumoral zone: critical review of radiotherapy treatment options[J]. *Brain Sci*, 2022, 12(4): 416.
- [24] SUBRAMANI E, RADOUL M, NAJAC C, et al. Glutamate is a noninvasive metabolic biomarker of IDH1-mutant glioma response to temozolomide treatment[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(22):5098-5108.
- [25] ERAZO T, ESPINOSA-GIL S, DIEGUEZ-MARTINEZ N, et al. SUMOylation is required for ERK5 nuclear translocation and ERK5-mediated cancer cell proliferation[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6):2203.
- [26] DIEGUEZ-MARTINEZ N, ESPINOSA-GIL S, YOLDI G, et al. The ERK5/NF- κ B signaling pathway targets endometrial cancer proliferation and survival[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(10):524.
- [27] KANG B N, AHMAD A S, SALEEM S, et al. Death-associated protein kinase-mediated cell death modulated by interaction with DANGER[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(1):93-98.
- [28] SAVAGE H, PAREEK S, LEE J, et al. Aerobic exercise alters the melanoma microenvironment and modulates ERK5 S496 phosphorylation[J]. *Cancer Immunol Res*, 2023, 11(9): 1168-1183.
- [29] MILLER D C, HARNOR S J, MARTIN M P, et al. Modulation of ERK5 activity as a therapeutic anti-cancer strategy[J]. *J Med Chem*, 2023, 66(7):4491-4502.
- [30] KATO Y, TAPPING RI, HUANG S, et al. Bmk1/Erk5 is required for cell proliferation induced by epidermal growth factor[J]. *Nature*, 1998, 395(6703):713-716.
- [31] HOANG V T, MATOSSIAN M D, UCAR D A, et al. ERK5 is required for tumor growth and maintenance through regulation of the extracellular matrix in triple negative breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10:1164.
- [32] GIURISATO E, XU Q, LONARDI S, et al. Myeloid ERK5 deficiency suppresses tumor growth by blocking protumor macrophage polarization via STAT3 inhibition[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(12):2801-2810.

(收稿日期:2023-09-01 修回日期:2023-11-20)

(编辑:张芄捷)