

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.22.003

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230904.1600.006\(2023-09-05\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230904.1600.006(2023-09-05))

Pim1 介导非小细胞肺癌进展的作用及机制研究*

魏巍¹,任涛²,程雪琴²,刘志新²,王科³,陈森^{1,4△}

(1. 湖北医药学院第一临床学院,湖北十堰 442000;2. 湖北医药学院附属太和医院呼吸内科,湖北十堰 442000;3. 湖北医药学院附属太和医院肿瘤科,湖北十堰 442000;4. 湖北医药学院临床技能中心,湖北十堰 442000)

[摘要] **目的** 探讨原癌基因 Pim1 对小鼠 Lewis 肺癌细胞(LLC)凋亡、增殖、侵袭和迁移功能的作用及可能存在的机制。**方法** 收集 2021 年 8—10 月于湖北医药学院附属太和医院行肺叶切除患者的正常肺组织和非小细胞肺癌(NSCLC)组织标本,采用免疫组织化学法及 Western blot 检测两种组织中 Pim1 蛋白表达情况。CCK-8 实验验证 Pim1 特异性抑制剂 SMI-4a 的最适浓度。LCC 细胞分为实验组和对照组,实验组孵育 50 $\mu\text{mol/L}$ SMI-4a,对照组孵育等体积二甲基亚砷(DMSO),Western blot 检测 Bcl-2、Bax、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)3、cleaved-caspase3、基质金属蛋白酶(MMP)2、MMP9、丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)和磷酸化(p)-Akt 表达情况,DAPI 染色检测细胞凋亡,Edu 试剂盒检测细胞增殖,Transwell 和细胞划痕实验检测细胞侵袭和迁移能力。3 只 C57 BL/6 小鼠腹股沟注射 LLC,收获肿瘤后等体积接种到 12 只小鼠腹股沟构建小鼠瘤荷模型,并分为实验模型和对照模型,实验模型瘤内注射 SMI-4a 80 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,对照模型注射等体积 DMSO,15 d 后处死并称取肿瘤组织质量,苏木素-伊红(HE)染色观察肿瘤组织凋亡核心变化,免疫组织化学法及 Western blot 检测肿瘤组织 Pim1 表达情况。**结果** 与正常肺组织比较,NSCLC 组织中 Pim1 蛋白的棕黄色染色增多,且 NSCLC 组织中 Pim1 蛋白表达水平高于正常肺组织($P < 0.05$)。与对照组比较,实验组 Bax 蛋白、cleaved-caspase3、caspase3 水平升高,Bcl-2 蛋白水平降低,凋亡细胞数量增多,p-Akt 蛋白水平降低,DNA 合成和细胞增殖受到抑制,MMP2、MMP9 表达水平降低,侵袭能力和细胞垂直迁移能力降低($P < 0.05$),细胞水平迁移能力减弱。与对照模型比较,实验模型肿瘤进展受到明显抑制,肿瘤质量更小($P < 0.05$),此外,肿瘤组织嗜伊红染色减少,肿瘤内部凋亡核心面积增加,凋亡核心可见较多碎裂的细胞核,凋亡核心 Pim1 棕黄色染色减少,且肿瘤组织 Pim1 表达水平降低($P < 0.05$)。**结论** 抑制 Pim1 可能通过减少 Akt 的磷酸化蛋白水平抑制小鼠 LLC 肿瘤的进展。

[关键词] Pim1;Lewis 肺癌细胞;增殖;凋亡;侵袭

[中图法分类号] R734.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2023)22-3376-08

Study on role and mechanism of Pim1 mediating NSCLC progression*

WEI Wei¹,REN Tao²,CHENG Xueqin²,LIU Zhixin²,WANG Ke³,CHEN Sen^{1,4△}

(1. First Clinical College, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China;

2. Department of Respiratory Medicine, Affiliated Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China; 3. Department of Oncology, Affiliated Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China; 4. Clinical

Skill Center, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of proto-oncogene Pim1 on the apoptosis, proliferation, invasion and migration functions of mouse Lewis lung cancer cells (LLC) and the possible mechanisms. **Methods** The normal lung tissue and non-small cell lung cancer (NSCLC) tissue samples from the patients with lobectomy in the Affiliated Taihe Hospital of Hubei University of Medicine from August to October 2021 were collected. The Pim1 protein expression in these two kinds of tissues was detected by the immunohistochemistry and Western blot. The CCK-8 assay confirmed the optimal concentration of SMI-4a, a Pim1-specific inhibitor. The LCC cells were divided into the experiment group and the control group. The experiment group was incubated with 50 $\mu\text{mol/L}$ SMI-4a, while the control group was incubated with the same volume of dimethyl sulfoxide (DMSO). Western blot was used to detect the expression of Bcl-2, Bax, caspase3, cleaved caspase3,

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81902066);湖北省自然科学基金项目(2017CFB554);湖北省十堰市科技局项目(19Y34)。作者

简介:魏巍(1981—),实验师,硕士,主要从事基础与临床实验研究。△ 通信作者,E-mail:20150556@hbm. edu. cn。

matrix metalloproteinase (MMP)2, MMP9, serine/threonine kinase (Akt) and phosphorylated (p)-Akt. The cell apoptosis was detected by the DAPI staining. The Edu kit was used to detect the cell proliferation, and the Transwell and cell scratch assay were used to detect the cell invasion and migration ability. Three C57 BL/6 mice were injected by LLC in the groin, after the tumor was harvested, the same volume was inoculated into the groin in 12 mice to construct the mouse tumor charge model, which were divided into the experiment model and the control model. The intratumor injection of SMI-4a $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ was performed in the experiment model and the same volume of DMSO was injected in the control model. The mouse was executed and the mass of tumor tissue was measured. The changes of apoptosis core in the tumor tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the Pim1 expression in tumor tissues was detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results** Compared with the normal lung tissues, the brown-yellow staining of Pim1 protein in the NSCLC tissues was increased, moreover the expression level of Pim1 protein in the NSCLC tissues was higher than that in the normal lung tissues ($P < 0.05$). Compared with the control group, the protein levels of Bax, cleaved-caspase3 and caspase3 in the experiment group were increased, the Bcl-2 protein level was decreased, and the number of apoptotic cells was increased, the p-Akt protein level was decreased, the DNA synthesis and the cell proliferation was inhibited, the MMP2 and MMP9 expression levels were decreased, the invasion ability and cellular vertical migration ability were decreased ($P < 0.05$). The cellular horizontal migration ability was significantly weakened. Compared with the control model, the tumor progress in the experiment model was significantly inhibited, and the tumor quality was lower ($P < 0.05$). In addition, the eosinophilic staining in the tumor tissues was decreased, the intra-tumoral apoptotic core area was increased, the apoptotic core showed more fragmented nuclei, apoptotic core Pim1 brown and yellow staining was decreased, moreover the Pim1 expression level in the tumor tissues was decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Inhibiting Pim1 may inhibit the progression of LLC tumor in mice by reducing the phosphorylated protein level of Akt.

[Key words] Pim1; lewis lung cancer cell; proliferation; apoptosis; invasion

肺癌是世界上发病率和病死率最高的恶性肿瘤,患者死亡是由于发病原因和治疗机制不明,现有手段达不到治愈效果。目前的研究认为,原癌基因 Pim1 在肿瘤细胞的增殖、转移过程中起重要作用^[1-2],其在造血淋巴系统、单核细胞和各种上皮细胞中表达^[3],且在多种血液恶性肿瘤及前列腺、肝癌和脂肪肉瘤中表达上调^[4-6],但 Pim1 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)发病机制中的研究尚不明确。研究认为,丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, Akt)与肿瘤细胞的增殖密切相关^[7-9]。SCARPA 等^[10]研究指出, Pim1 调控 Akt 磷酸化,与细胞增殖之间存在联系。因而猜测, Pim1 可以通过磷酸化 Akt 调节小鼠 Lewis 肺癌细胞(lewis lung cancer cell, LLC)的增殖能力,从而将肺癌治疗靶点定位于 Pim1 蛋白,即通过对体外培养的 LLC 孵育 Pim1 特异性抑制剂 SMI-4a, 呈现出 Pim1 对 Akt 磷酸化水平的调节及 Pim1 调节细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的能力。因此,本研究旨在通过阐述 Pim1 在 LLC 中的作用及其可能的机制,为肺癌治疗和药物研发提供新的理论靶点,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

15 只 C57 BL/6 小鼠, 6 周龄, 体重(20 ± 1)g, 饲养于湖北医药学院动物房, 动物实验已通过湖北医药学院动物伦理委员会批准[SYXK(鄂)2019-31]。

1.1.2 细胞与试剂

LLC 来源于中国科学院上海细胞库; SMI-4a 购自上海陶术生物科技有限公司; Edu 试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; RPMI-1640 购自美国 Gibco 公司; 胎牛血清购自杭州四季青公司; 基质胶、青霉素-链霉素双抗 $100 \times$ 购自美国 Corning 公司; Pim1 抗体购自美国 Novus 公司; Bcl-2、Bax、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase, caspase)3、cleaved-caspase3、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)2、MMP9、Akt 和磷酸化(phosphorylation, p)-Akt 及 β -actin、GAPDH 抗体购自美国 ImmunoWay 公司; 二抗购自武汉安特捷生物技术有限公司; 免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法检测 Pim1 蛋白在正常和癌症患者肺组织中的表达

收集 2021 年 8—10 月于湖北医药学院附属太和医院行肺叶切除患者的新鲜肺组织和 NSCLC 组织标本, 标本采集经过患者家属知情同意和医院伦理委员会批准。10% 甲醛溶液浸泡新鲜肺组织至少 12 h, 按照流程梯度脱水、包埋, 切片; 切片梯度补水后高压抗原修复; 37°C BSA 封闭 0.5 h, Pim1 抗体 1:150 比例稀释, 37°C 孵育 1 h, 洗片; 二抗 37°C 孵育 0.5 h, 洗片; DAB 显色, 洗片; 苏木素染核, 洗片; 0.5% 盐酸乙醇分化; 中性树胶封片, 晾干后观察。

1.2.2 CCK-8 实验验证 SMI-4a 的最适浓度

96 孔板每孔接种 4 000 个 LLC,加入 200 μ L 全细胞培养基,2 h 贴壁后按照 0、10、20、30、50、100 μ mol/L 的 SMI-4a 浓度加入孔中,设置 4 个复孔,培养箱培养 36 h 后换液加入 200 μ L 含有 10% CCK-8 的无血清培养基,培养箱培养 4 h,测吸光度(absorbance,A)值,使用 Excel 软件分析获得 SMI-4a 的抑制曲线,求得半抑制浓度(50% inhibitory concentration,IC₅₀)值。

1.2.3 Western blot 检测细胞蛋白水平

LLC 铺至 6 孔板,分实验组和对照组,70%融合度实验组孵育 50 μ mol/L 的 SMI-4a,对照组孵育等体积的 DMSO,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 8 h。每孔加入 200 μ L 含有蛋白酶抑制剂的细胞裂解液提取蛋白,检测蛋白浓度后加入缓冲液定量,取 10 μ g 蛋白经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移至硝酸纤维素膜,5% BSA 室温封闭 1.5 h,分别在 1:1 000 稀释的 Bcl-2、Bax、caspase3、cleaved-caspase3、MMP2、MMP9、Akt 和 p-Akt 抗体中孵育,4 $^{\circ}$ C 过夜,洗膜 3 次,于 1:8 000 稀释的对应的二抗中室温孵育 2 h,洗膜,ECL 显色,Image Lab 成像系统拍照并记录结果。同样,采用 Western blot 检测正常肺组织、NSCLC 组织及小鼠瘤荷模型肿瘤组织 Pim1 蛋白表达情况。

1.2.4 DAPI 染色检测细胞凋亡

LLC 铺至 6 孔板细胞爬片,分实验组和对照组,50%融合度实验组孵育 50 μ mol/L 的 SMI-4a,对照组孵育等体积的 DMSO,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 8 h,换液后继续培养 24 h。吸干培养基,4%多聚甲醛固定 20 min,0.3% TritonX-100 通透 10 min,PBS 洗 3 次后每孔加入 100 μ L 的 DAPI 染核,PBS 洗 3 次,荧光显微镜拍照记录。

1.2.5 Edu 试剂盒检测细胞增殖

LLC 分实验组和对照组,分别以 20 μ mol/L 的 Edu 溶液与培养基 1:1 混合孵育细胞过夜,吸干培养基,多聚甲醛室温固定 20 min,0.3% Triton X-100 通透 10 min,每孔加入 0.5 mL 的混合作液室温避光孵育 30 min,含有 3% BSA 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)洗涤 2 次。PBS 清洗 1 次,每孔加入 1 mL 浓度为 5 mg/L 的 Hoechst33342,

室温避光孵育 30 min,PBS 清洗 3 次,荧光显微镜下拍照记录。

1.2.6 Transwell 和划痕实验检测细胞侵袭和迁移能力

LLC 分实验组和对照组,实验组孵育 50 μ mol/L 的 SMI-4a,对照组孵育等体积 DMSO,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 8 h,消化、离心、重悬且计数。侵袭能力检测:上室预先铺入 50 μ L 的基质胶,将 500 μ L 的全细胞培养基置入 Transwell 下室,50 000 个细胞重悬液 200 μ L 置于上室。迁移能力检测:将 500 μ L 的全细胞培养基置入 Transwell 下室,50 000 个细胞重悬液 200 μ L 置于上室。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 4 h。吸干培养基,多聚甲醛固定 20 min,使用乙醇擦去上室内壁细胞,苏木素染色,PBS 洗 3 次后,显微镜下拍照记录。

1.2.7 小鼠瘤荷模型建立

3 只 C57 BL/6 小鼠使用 5% 水合氯醛麻醉,0.1 mL DMEM 重悬 5×10^6 个细胞,小鼠腹股沟喷洒 75%乙醇消毒,注射 LLC;15 d 后收获肿瘤,并等体积切分成 12 份,12 只小鼠腹股沟接种肿瘤组织,麻醉复苏后分为实验组和对照组,实验组瘤内注射 SMI-4a 80 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,对照组注射二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO),15 d 后小鼠安乐死,获取肿瘤,称取质量以备后续实验。

1.2.8 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色

小鼠肿瘤组织切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇补水。苏木素染色 30 s,5%盐酸乙醇分化 5 s,45 $^{\circ}$ C 水浴锅反蓝。伊红染色 1 min,盐酸乙醇脱色,滴中性树胶封片。

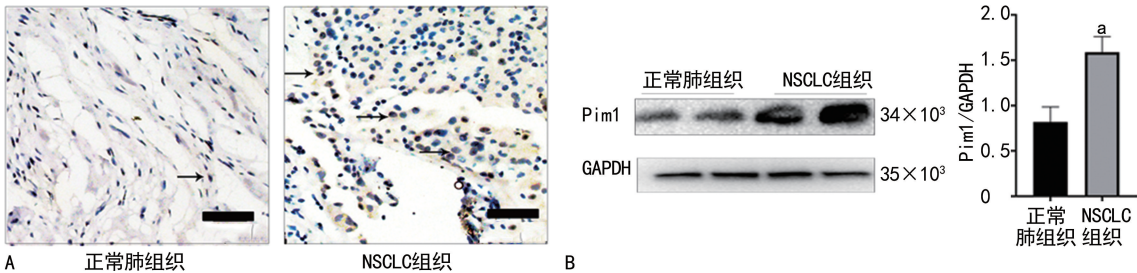
1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prim8.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Pim1 在 NSCLC 组织中表达上调

与正常肺组织比较,NSCLC 组织中 Pim1 蛋白的棕黄色染色增多,且 NSCLC 组织中 Pim1 蛋白表达水平高于正常肺组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。



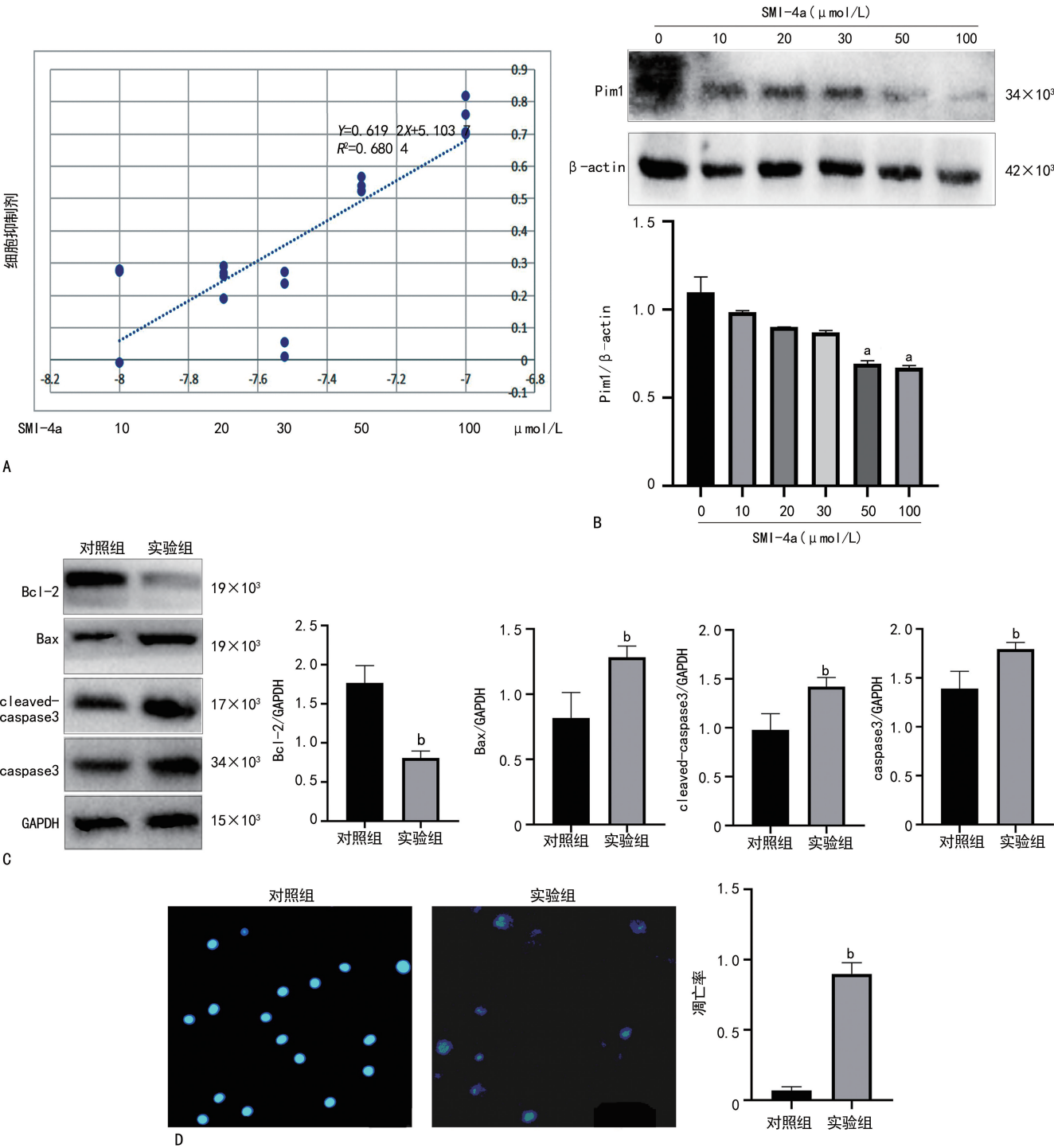
A:正常肺组织和 NSCLC 中 Pim1 表达情况(免疫组织化学法,20 $\times$);B:Western blot 检测 Pim1 蛋白表达;^a: $P < 0.05$,与正常肺组织比较。

图 1 Pim1 在正常肺组织和 NSCLC 组织中的表达情况

2.2 SMI-4a 诱导了 LLC 细胞凋亡

CCK-8 实验得到细胞的 SMI-4a IC₅₀ 为 50 μmol/L。50、100 μmol/L SMI-4a 可以明显抑制 Pim1 蛋白在 LLC 中的表达($P<0.05$)。与对照组比较,实验组 Bax 蛋白、cleaved-caspase3、caspase3 水平

升高,而 Bcl-2 蛋白水平降低($P<0.05$)。DAPI 结果显示,正常 LLC 的细胞核明亮、核膜平滑,凋亡细胞的细胞核核膜皱缩、破裂形成多个不规则小体。对照组核膜皱缩、破裂细胞偶见,而实验组凋亡细胞数量比对照组明显增多,见图 2。



A: CCK-8 检测细胞凋亡; B: Western blot 检测 Pim1 蛋白表达; C: Western blot 检测凋亡相关蛋白表达; D: 免疫荧光染色 (DAPI, 20×); ^a: $P<0.05$, 与 0 μmol/L SMI-4a 比较; ^b: $P<0.05$, 与对照组比较。

图 2 抑制 Pim1 诱导了 LLC 细胞凋亡

2.3 SMI-4a 抑制了 LLC 细胞增殖

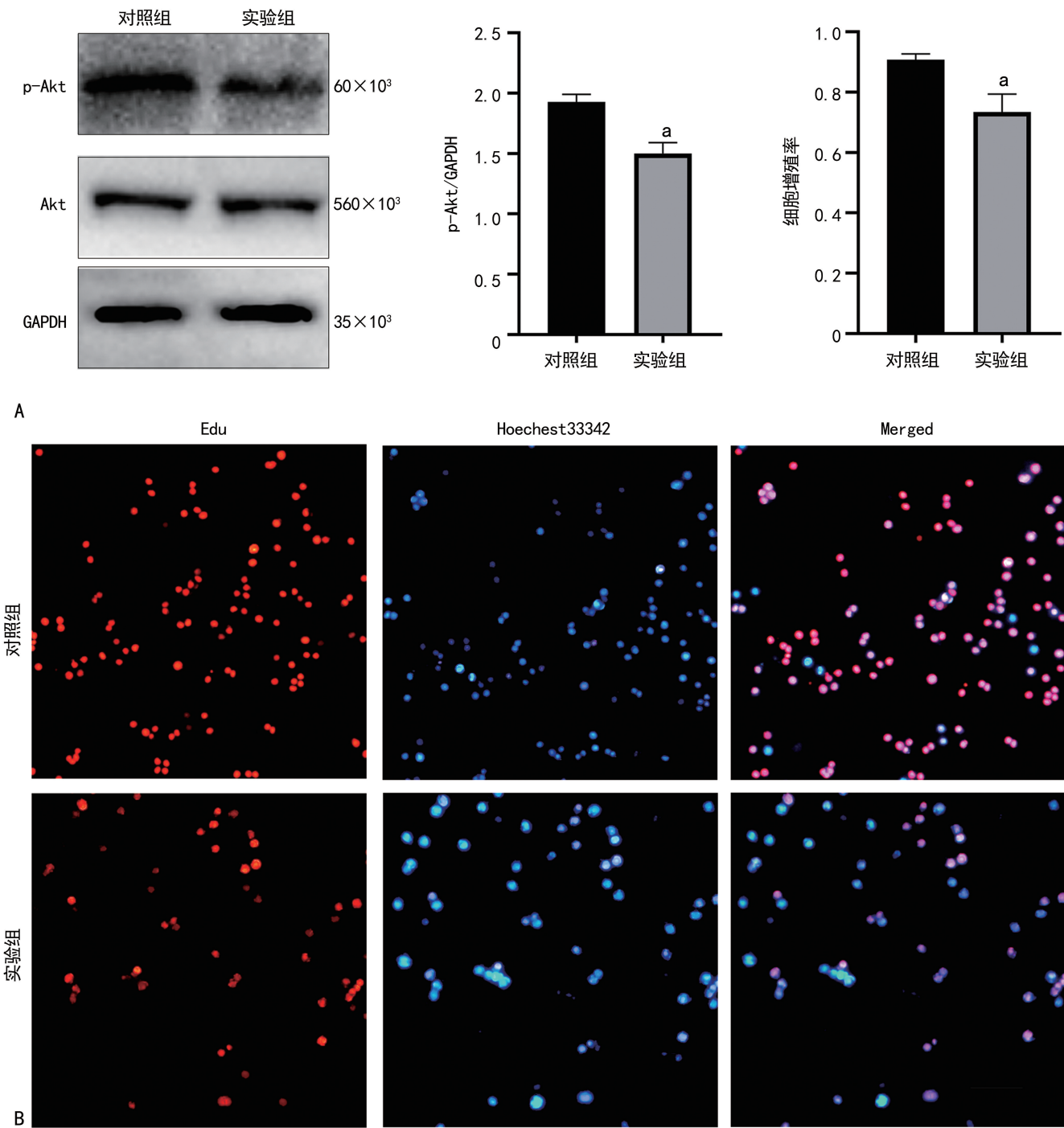
实验组 p-Akt 蛋白水平较对照组降低,差异有统

计学意义($P<0.05$)。实验组 DNA 合成受到抑制 (红色荧光), LLC 细胞增殖率较对照组降低($P<$

0.05),见图 3。

2.4 SMI-4a 抑制了 LLC 细胞侵袭、迁移功能
与对照组比较,实验组 MMP2、MMP9 表达水平

降低,细胞侵袭能力和细胞垂直迁移能力降低($P<0.05$)。划痕实验显示,实验组细胞水平迁移能力明显减弱,见图 4。



A:Western blot 检测蛋白表达;B:EdU 实验检测细胞增殖能力(10×);^a: $P<0.05$,与对照组比较。

图 3 抑制 Pim1 降低了 LLC 细胞增殖能力

2.5 小鼠体内证实 SMI-4a 抑制了肿瘤进展

实验模型肿瘤进展受到明显抑制,肿瘤质量小于对照模型($P<0.05$)。HE 染色结果显示,与对照模型比较,实验模型嗜伊红染色减少,肿瘤内部凋亡核心面积增加,凋亡核心可见较多碎裂的细胞核。免疫

组织化学结果显示,实验模型凋亡核心 Pim1 棕黄色染色较对照模型减少。Western blot 结果显示,实验模型肿瘤组织 Pim1 表达水平较对照模型降低($P<0.05$),见图 5。

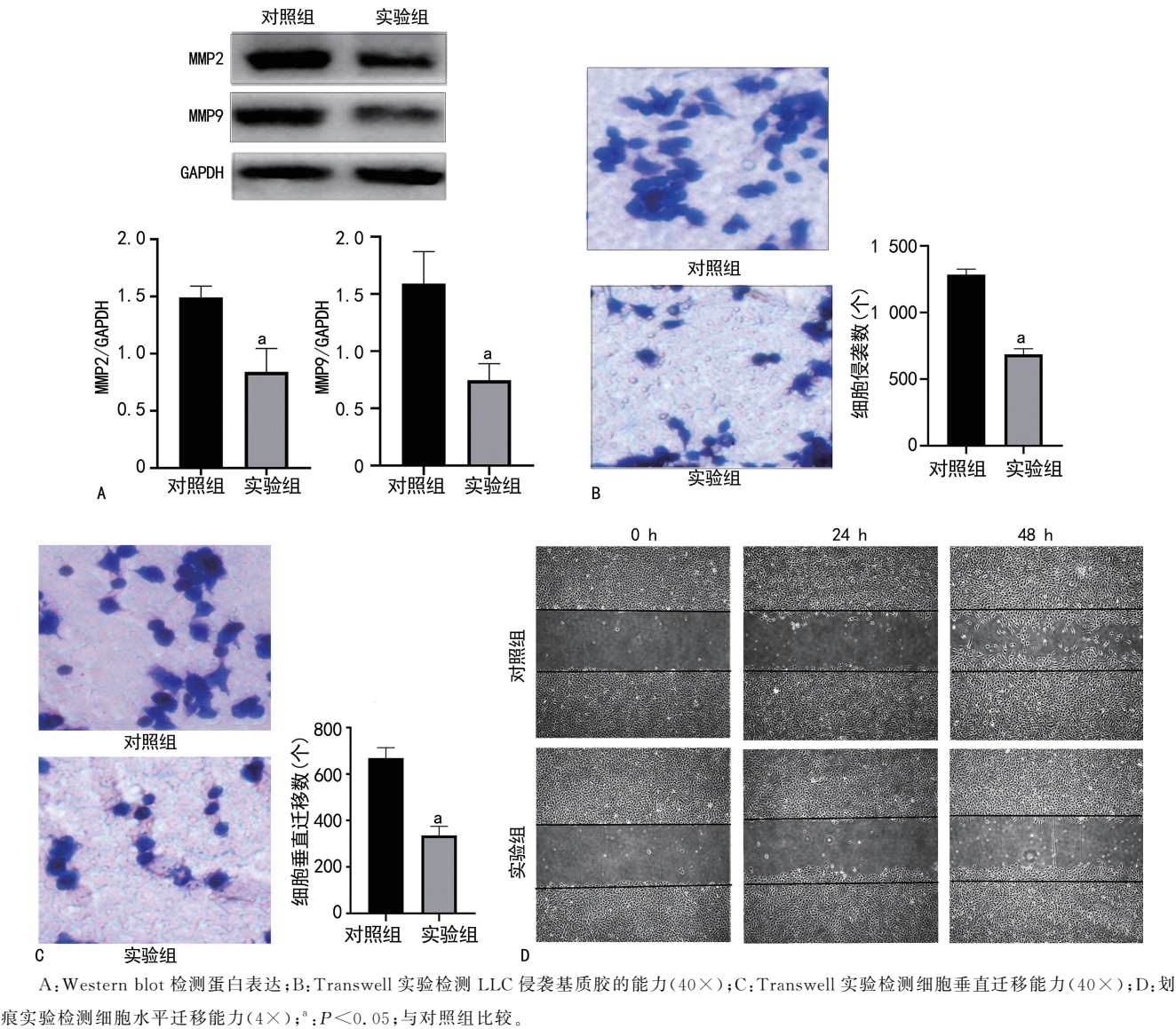


图4 抑制Pim1降低了LLC细胞侵袭、迁移能力

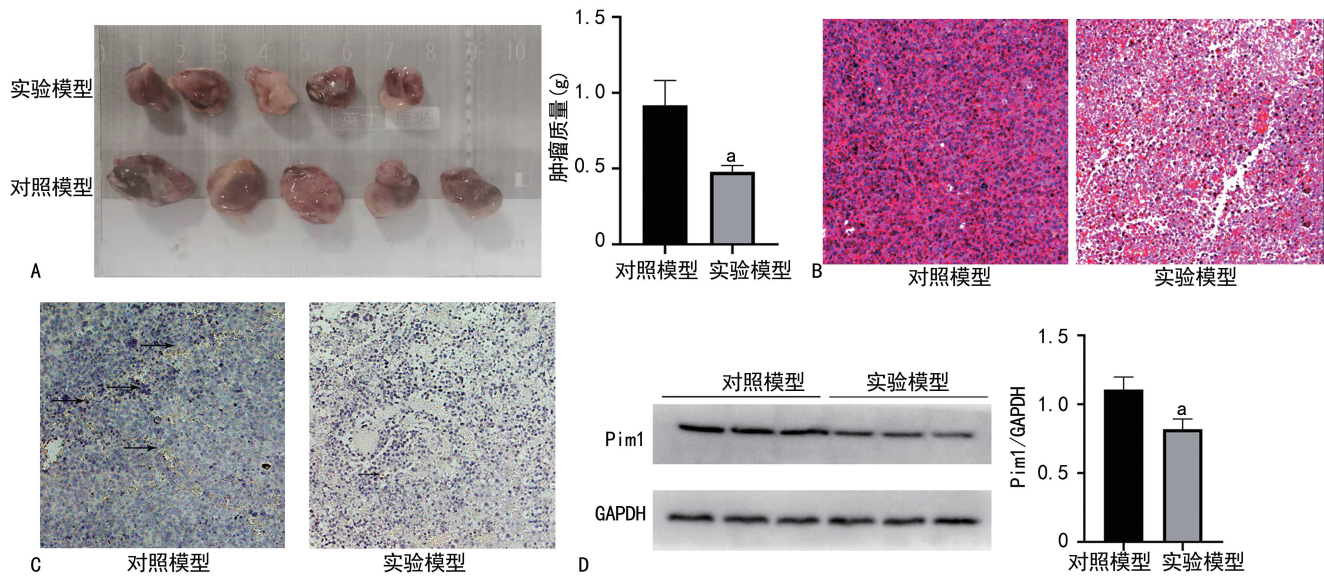


图5 体内实验证实Pim1延缓了NSCLC进展

3 讨 论

终末期 NSCLC 的 5 年生存率低于 6.7%，癌细胞生长速度快^[11]，发现时绝大部分已经转移^[12]，因此其手术及术后化疗的疗效很差^[13]。NSCLC 的治疗是目前临床急需解决的问题。

Pim1 为原癌基因，可以促进多种蛋白底物活化从而发挥蛋白活性作用^[14]。GAO 等^[15]研究发现，Pim1 通过 c-myc 基因诱导乳腺癌进展。BRASOMARISTANY 等^[16]也发现 Pim1 是诱导三阴性乳腺癌增殖的重要基因，抑制 Pim1 蛋白同时也促进了三阴性乳腺癌的细胞凋亡。这说明 Pim1 可以促进肿瘤细胞增殖，抑制细胞凋亡，在肿瘤进展中发挥作用。但在肺癌中 Pim1 的研究并不多，因此，本实验研究了 Pim1 对 LLC 的影响，阐述其在 LLC 进展中的作用及机制。

Akt 是一种参与 PI3K 信号通路的激酶，在细胞增殖方面起关键作用。Akt 可以被多种生长信号激活^[17]，被激活后，Akt 调节许多下游蛋白，参与细胞增殖、迁移、代谢和血管生成^[18-19]。Akt 的活化或过表达已在卵巢癌、胰腺癌等癌症中被观察到，并与癌细胞增殖和存活有关^[20-21]。SUBBANNAYYA 等^[22]发现过表达 Pim1 会增加 Akt 的 PRAS40 位点磷酸化蛋白水平。Akt 是极易被蛋白激酶激活的蛋白，抑制 Akt 同时可以抑制肿瘤细胞增殖。抑制 Pim1 后，Akt 的 472 位点磷酸化蛋白水平下降，细胞增殖和 DNA 合成能力受到抑制。RUFF 等^[23]发现抑制 Pim1 蛋白的活性，降低了人胆囊癌细胞增殖、集落形成和侵袭能力。还有研究发现，SMI-4a 降低了 LLC 的 p-Akt 蛋白水平，也减弱了 LLC 细胞侵袭和迁移能力。在造血干细胞中，Pim1 与细胞外信号调节激酶和 Akt 信号通路上游的受体酪氨酸激酶 c-Kit 相互作用，参与细胞增殖，抑制 Pim1 减少了对凋亡因子的抑制，加速了细胞凋亡^[24-25]。本实验结果也与这些研究一致，SMI-4a 增加了 LLC 的 caspase3 和 cleaved-caspase3 表达水平，细胞核碎裂增多，加速了 LLC 细胞凋亡，证实 Pim1 在 LLC 细胞凋亡和增殖中发挥了重要的作用。

目前缺少在体实验证实 Pim1 抑制剂的作用，在动物水平，C57 BL/6 小鼠注射 SMI-4a 后，可见小鼠 LLC 的肿瘤进展受到明显的抑制，肿瘤凋亡核心增加，体外和体内研究结果一致。基于以上研究，本课题组认为 Pim1 蛋白可能成为 NSCLC 治疗的一个新靶点，Pim1 的靶向药物可能为临床治疗 NSCLC 提供新思路。但本实验结果也显示 Pim1 的作用仅仅是延缓了小鼠肿瘤的进展，单一靶点抑制剂的治疗效果不

够理想，倘若联合目前临床常用的抗肿瘤药物，可能会得到更加理想的结果。

参考文献

- [1] JIMENEZ-GARCIA M P, LUCENA-CACACE A, ROBLED-FRIAS M J, et al. The role of PIM1/PIM2 kinases in tumors of the male reproductive system[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:38079.
- [2] 孔令慧, 王金花, 郭志娟, 等. 非小细胞肺癌中 PD1/PD-L1 信号通路与 EGFR 突变的相关性研究[J]. *重庆医学*, 2022, 51(13):2232-2237.
- [3] SEIFERT C, BALZ E, HERZOG S, et al. Pim1 inhibition affects glioblastoma stem cell behavior and kills glioblastoma stem-like cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20):11126.
- [4] ABOUKHATWA S M, IBRAHIM A O, AOY-AMA H, et al. Nicotinonitrile-derived apoptotic inducers: design, synthesis, X-ray crystal structure and Pim kinase inhibition [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 129:106126.
- [5] 寇天雷, 何轩, 朱金磊, 等. Pim-3、p-S6、STAT-3 在脂肪肉瘤的表达与临床病理特征及预后的关系[J]. *重庆医学*, 2022, 51(24):4175-4184.
- [6] FOULKES J M, CARPENTERR K J, LUO B, et al. A small-molecule inhibitor of PIM kinases as a potential treatment for urothelial carcinomas [J]. *Neoplasia*, 2014, 16(5):403-412.
- [7] 冯静芳, 唐勇, 马兰英, 等. IGF2BP2 调控食管癌细胞增殖和凋亡相关基因可变剪接的机制研究[J]. *重庆医学*, 2022, 51(16):2839-2846.
- [8] 苟涛, 司海龙, 陈玉, 等. 培元抗癌汤通过 PI3K-AKT-mTOR 信号通路调节 Lewis 肺癌自噬抑制肿瘤生长和转移的实验研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2021, 44(8):722-728.
- [9] 樊肖冲舫, 杜淑芳, 苏智霞, 等. 苏芬太尼通过 P13K-Akt 信号通路对肺癌 A549 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(3):429-433.
- [10] SCARPA M, SINGH P, BAILEY C M, et al. PP2A-activating drugs enhance FLT3 inhibitor efficacy through Akt inhibition-dependent GSK-3 β -mediated c-Myc and Pim-1 proteasomal degradation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(4):676-690.

- [11] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [12] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 10(1):19-28.
- [13] MOORE G, LIGHTNER C, ELBAI S, et al. Co-targeting PIM kinase and PI3K/mTOR in NSCLC[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(9):2139.
- [14] 邹洪波, 邬红, 许川. 外泌体在肺癌诊断及治疗中的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2016, 19(11):778-783.
- [15] GAO X, LIU X, LU Y, et al. PIM1 is responsible for IL-6-induced breast cancer cell EMT and stemness via c-myc activation[J]. *Breast Cancer*, 2019, 26(5):663-671.
- [16] BRASO-MARISTANY F, FILOSTO S, CATC HPOLE S, et al. Erratum: PIM1 kinase regulates cell death, tumor growth and chemotherapy response in triple-negative breast cancer[J]. *Nat Med*, 2017, 23(6):788.
- [17] LI H, XIE L, ZHU L, et al. Multicellular immune dynamics implicate PIM1 as a potential therapeutic target for uveitis[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):5866.
- [18] REVATHIDEVI S, MUNIRAJAN A K. Akt in cancer; mediator and more[J]. *Semin Cancer Biol*, 2019, 59:80-91.
- [19] BERLANGA P, MUÑOZ L, PIQUERAS M, et al. miR-200c and phospho-AKT as prognostic factors and mediators of osteosarcoma progression and lung metastasis[J]. *Mol Oncol*, 2016, 10(7):1043-1053.
- [20] COSTA R, HAN H S, GRADISHAR W J, et al. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in triple-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 169(3):397-406.
- [21] HU H H, WANG X T, SUN Y H, et al. Pim1 overexpression prevents apoptosis in cardiomyocytes after exposure to hypoxia and oxidative stress via upregulating cell autophagy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6):2138-2150.
- [22] SUBBANNAYYA T, LEAL-ROJAS P, ZHAV ORONKOV A, et al. PIM1 kinase promotes gallbladder cancer cell proliferation via inhibition of proline-rich Akt substrate of 40 kDa (PRAS40)[J]. *J Cell Commun Signal*, 2019, 13(2):163-177.
- [23] RUFF S E, VASILYEV N, NUDLER E, et al. PIM1 phosphorylation of the androgen receptor and 14-3-3 ζ regulates gene transcription in prostate cancer[J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1):1221.
- [24] KNUDSON K M, PRITZL C J, SAXENA V, et al. NF κ B-Pim-1-Eomesodermin axis is critical for maintaining CD8 T-cell memory quality[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(9):E1659-1667.
- [25] 华晓敏, 王昌明. ERK5 对人肺成纤维细胞自噬、凋亡和增殖的调控[J]. *重庆医学*, 2021, 50(14):2362-2365.

(收稿日期:2023-02-10 修回日期:2023-08-16)

(编辑:袁皓伟)