

• 论 著 •

Survivin 调控小细胞肺癌细胞生物学行为及 CD8⁺T 细胞肿瘤杀伤功能研究^{*}

卡迪丽娅·阿不都卫力, 惠 菁, 阿孜古丽·吐尔逊买买提, 麦热哈巴·哈力克[△]

新疆维吾尔自治区人民医院呼吸与危重症医学中心, 新疆乌鲁木齐 830000

摘 要:目的 探讨生存素(Survivin)对小细胞肺癌细胞恶性生物学行为的影响。方法 将 NCI-H82 细胞分为 Vector 组、Survivin 组, NCI-H209 细胞分为 si-NC 组、si-Survivin 组, 采用 CCK-8 和流式细胞术检测细胞增殖和凋亡情况, 实时荧光定量 PCR 及蛋白质印迹法检测程序性死亡受体配体 1(PD-L1)表达。CD8⁺T 细胞与各组 NCI-H82 和 NCI-H209 细胞共孵育后, 酶联免疫吸附试验检测上清液中干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素-2(IL-2)水平, 细胞毒性试验检测肿瘤细胞裂解率。结果 与 Vector 组比较, Survivin 组 NCI-H82 细胞 PD-L1 表达和细胞增殖能力均升高($P < 0.05$), 细胞凋亡率降低($P < 0.001$)。与 si-NC 组比较, si-Survivin 组 NCI-H209 细胞 PD-L1 表达和细胞增殖能力均降低($P < 0.001$), 细胞凋亡率升高($P < 0.001$)。与 Vector+CD8⁺T 组比较, Survivin+CD8⁺T 组细胞上清液中 IFN- γ 、IL-2 水平及细胞裂解率均降低($P < 0.001$)。与 si-NC+CD8⁺T 组比较, si-Survivin+CD8⁺T 组细胞上清液中 IFN- γ 、IL-2 水平及细胞裂解率均升高($P < 0.001$)。结论 Survivin 调控小细胞肺癌的增殖、凋亡, 并且上调 PD-L1 表达抑制 CD8⁺T 细胞杀伤功能。

关键词:生存素; 程序性死亡受体配体 1; CD8⁺T 细胞; 小细胞肺癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.06.007

中图法分类号:R734.2

文章编号:1673-4130(2025)06-0675-06

文献标志码:A

Research of Survivin regulates the biological behavior of small cell lung cancer cells and the tumor killing function of CD8⁺T cells^{*}

KADILIA · Abuduweili, HUI Jing, AZIGULI · Tuersunmaimaiti, MAIREHABA · Halike[△]

Department of Respiratory and Critical Care Medical Center, Xinjiang Uygur

Autonomous Region People's Hospital, Urumqi, Xinjiang 830000, China

Abstract:Objective To investigate the effect of Survivin on the malignant biological behavior of small cell lung cancer cells. **Methods** NCI-H82 cells were divided into Vector group and Survivin group, and NCI-H209 cells were divided into si-NC group and si-Survivin group. Cell proliferation and apoptosis were detected by CCK-8 and flow cytometry. Real-time fluorescent quantitative PCR and Western blot were used to detect the expression of programmed death ligand 1 (PD-L1). After co-incubation of CD8⁺T cells with NCI-H82 and NCI-H209 cells, the levels of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-2 (IL-2) in the supernatant were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the lysis rate of tumor cells was detected by cytotoxicity assay. **Results** Compared with the Vector group, the expression of PD-L1 and the proliferation of NCI-H82 cells in the Survivin group were significantly increased ($P < 0.05$), and the apoptosis rate was decreased ($P < 0.001$). Compared with the si-NC group, the expression of PD-L1 and the proliferation of NCI-H209 cells in the si-Survivin group were significantly decreased ($P < 0.001$), and the apoptosis rate of NCI-H209 cells was increased ($P < 0.001$). Compared with the Vector+CD8⁺T group, the levels of IFN- γ and IL-2 in the supernatant of Survivin+CD8⁺T cells and the cell lysis rate were significantly decreased ($P < 0.001$). Compared with si-NC+CD8⁺T group, the levels of IFN- γ and IL-2 in the supernatant and the lysis rate of si-Survivin+CD8⁺T group were significantly increased ($P < 0.001$). **Conclusion** Survivin can regulate the proliferation and apoptosis of small cell lung cancer, and up-regulate the expression of PD-L1 to inhibit the killing function of CD8⁺T cells.

^{*} 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C140)。

作者简介:卡迪丽娅·阿不都卫力,女,主治医师,主要从事呼吸内科相关研究。 [△] 通信作者, E-mail:3531403720@qq.com。

Key words:Survivin; programmed death ligand 1; CD8⁺ T cells; small cell lung cancer

肺癌是常见的呼吸系统恶性肿瘤,可分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌,据统计,2022 年全球新增 217 万例肺癌病例,其中小细胞肺癌 25 万例,占肺癌的 15%^[1-2]。虽占比小,但小细胞肺癌是恶性程度极高的神经内分泌肿瘤,患者 5 年生存率低于 7%^[3],且治疗后肿瘤易复发,严重影响患者的治疗效果,因此需探究更多调控小细胞肺癌发生发展的机制^[4-5]。生存素(Survivin)是凋亡抑制蛋白家族成员之一,具有肿瘤特异性,在多种肿瘤中高表达,SUN 等^[6]发现,Survivin 与小细胞肺癌的不良预后密切相关。LUO 等^[7]研究发现,抑制 Survivin 可影响非小细胞肺癌的发生发展。LIU 等^[8]发现,Survivin 可影响程序性死亡受体 1(PD-1)疫苗的抗肿瘤活性,但是 Survivin 是否与小细胞肺癌细胞恶性生物学行为及 PD-1/程序性死亡受体配体 1(PD-L1)相关的报道较少,本文即探究了 Survivin 对小细胞肺癌细胞增殖及凋亡的影响,以及 Survivin 对 CD8⁺ T 细胞杀伤小细胞肺癌功能的影响,旨在为小细胞肺癌的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 人正常肺上皮细胞 BEAS-2B,人小细胞肺癌细胞株 NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 及 CCK-8 试剂盒、细胞凋亡试剂盒、TransScript[®] Reverse Transcriptase、TransStart[®] Green 实时荧光定量 PCR(qPCR) SuperMix 购自北京全式金生物技术股份有限公司,Survivin、PD-L1、GAPDH 抗体和山羊抗兔 IgG 购自美国 Cell Signaling Technology 公司,干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素-2(IL-2) 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒和人外周血单个核细胞(PBMC)分离试剂盒购自北京索莱宝生物科技有限公司,细胞毒性试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司,CD8⁺ T 细胞分选试剂盒购自美国 Biolegend 公司,Survivin、PD-L1、B 细胞淋巴瘤因子-2(Bcl-2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)3、Caspase9 和山羊抗兔 IgG 均购自武汉三鹰生物技术有限公司,15 mL 人外周血取自本院的体检健康者并获得知情同意。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 BEAS-2B、NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞均培养于含 10%的胎牛血清中,细胞生长至汇合度达 80%时,进行细胞传代。

1.2.2 CD8⁺ T 细胞提取 取 15 mL 人外周血于抗凝管中,根据人 PBMC 分离试剂盒,分离 PBMC。根据 CD8⁺ T 细胞分选试剂盒,于 PBMC 中加入 CD8⁺ T

细胞磁珠孵育 30 min,并置于磁力架上,室温静置 10 min,弃上清液,用含 10%胎牛血清和 100 U/mL IL-2 的 RPMI-1640 培养基重悬,接种至 CD3 和 CD28 抗体包被的 6 孔板中,激活并扩增 CD8⁺ T 细胞。

1.2.3 细胞分组与转染 NCI-H82 细胞转染 Survivin 过表达质粒及对照质粒,记为 Survivin 组和 Vector 组,NCI-H209 细胞转染 Survivin siRNA 和 Survivin siRNA 阴性对照,记为 si-Survivin 组和 si-NC 组。将激活的 CD8⁺ T 细胞以 5 : 1 的比例分别与 Vector 组、Survivin 组、si-NC 组和 si-Survivin 组肿瘤细胞共孵育 24 h,记为 Vector + CD8⁺ T 组、Survivin + CD8⁺ T 组、si-NC + CD8⁺ T 组和 si-Survivin + CD8⁺ T 组。

1.2.4 qPCR 检测 Survivin 和 PD-L1 mRNA 表达 Trizol 提取 BEAS-2B、NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞及 Vector 组、Survivin 组、si-NC 组和 si-Survivin 组肿瘤细胞,使用 TransScript[®] Reverse Transcriptase 试剂盒进行逆转录反应,获得 cDNA。使用 TransStart[®] Green qPCR SuperMix 试剂盒进行 qPCR 反应,GAPDH 为内参,使用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 计算并比较各组细胞 Survivin 和 PD-L1 mRNA 相对表达水平。Survivin 上游引物 5'-ATGGATCTTG-CAAGT-3',Survivin 下游引物 5'-TGGGAGAG-GAATGA-3';PD-L1 上游引物 5'-CTGGACCTGCT-TGCGTTAGTGG-3',PD-L1 下游引物 5'-CCCCT-GAAGTTGCTGTGCTGAG-3';GAPDH 上游引物 5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3',GAPDH 下游引物 5'-CAAAGTTGTCATGGATGHACC-3'。

1.2.5 细胞增殖试验 Vector 组、Survivin 组、si-NC 组和 si-Survivin 组肿瘤细胞接种至 96 孔板,每孔 3 000 个细胞,细胞在培养箱中培养 0、24、48、72 h 后,取出对应的 96 孔板,每孔加 10 μ L CCK-8 溶液,孵育 1 h 后,酶标仪检测 450 nm 波长下的吸光度值(A 值)。

1.2.6 细胞凋亡试验 取转染后的 Vector 组、Survivin 组、si-NC 组和 si-Survivin 组肿瘤细胞 1 $\times$ 10⁵ 个于流式管中,每管分别加入 5 μ L PI 和 5 μ L Annexin V-FITC,避光孵育 15 min 后,清洗 1 次,用 500 μ L 磷酸盐缓冲液重悬后,于流式细胞仪上检测细胞凋亡情况。

1.2.7 细胞毒性试验 将 Vector + CD8⁺ T 组、Survivin + CD8⁺ T 组、si-NC + CD8⁺ T 组和 si-Survivin + CD8⁺ T 组 CD8⁺ T 细胞和肿瘤细胞接种至 96 孔板中进行共培养 24 h,按照细胞毒性试剂盒检测各孔 A

值,肿瘤细胞裂解率=($A_{E+T}-A_E-A_T$)/($A_{E_{max}}-A_E$) $\times 100\%$ 。 $A_{E_{max}}$ 为 NCI-H82 和 NCI-H209 全部裂解时的 A 值, A_E 和 A_T 为 NCI-H82 和 NCI-H209 及 T 细胞单独培养孔的 A 值, A_{E+T} 为各共培养孔的 A 值。

1.2.8 ELISA 检测细胞因子水平 将 Vector+CD8⁺T 组、Survivin+CD8⁺T 组、si-NC+CD8⁺T 组和 si-Survivin+CD8⁺T 组 CD8⁺T 细胞和肿瘤细胞接种至 96 孔板中进行共培养 24 h,收集 96 孔板中的细胞上清液,采用 IFN- γ 和 IL-2 ELISA 试剂盒检测细胞上清液中 IFN- γ 和 IL-2 水平。

1.2.9 蛋白质印迹法(Western blot) RIPA 蛋白裂解液提取 BEAS-2B、NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞及 Vector 组、Survivin 组、si-NC 组和 si-Survivin 组肿瘤细胞总蛋白,每组取 10 μ g 总蛋白进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳后将蛋白转移至 PVDF 膜上,然后将 PVDF 膜与 Survivin (1 : 1 000 稀释)、PD-L1 (1 : 1 000 稀释)、Bcl-2 (2 : 1 000 稀释)、Caspase3 (1 : 1 000 稀释)、Caspase9

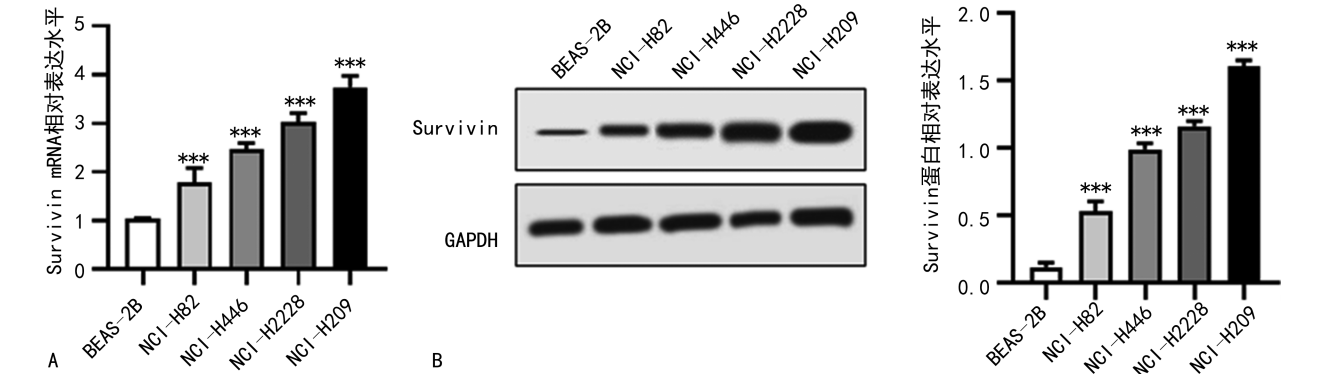
(2 : 1 000 稀释)和 GAPDH (1 : 5 000 稀释)抗体孵育过夜,然后与山羊抗兔 IgG (1 : 5 000 稀释)室温孵育 1 h,洗膜后,曝光并拍照。

1.3 统计学处理 使用 GraphPad Prism7.0 软件绘制图形及数据处理,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

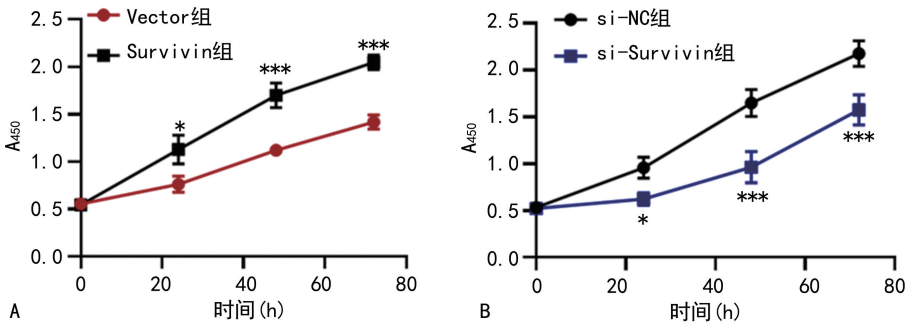
2.1 Survivin 在小细胞肺癌细胞中高表达 qPCR 和 Western blot 检测结果显示,与 BEAS-2B 细胞比较,NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞中 Survivin mRNA 和蛋白表达均明显上调($P<0.001$),见图 1。

2.2 Survivin 促进小细胞肺癌细胞增殖 细胞增殖试验结果显示,与 Vector 组比较,Survivin 组 NCI-H82 细胞在 24、48、72 h 的 A 值均升高($P<0.05$);与 si-NC 组比较,si-Survivin 组 NCI-H209 细胞在 24、48、72 h 的 A 值均降低($P<0.05$),结果提示 Survivin 可调控小细胞肺癌细胞的增殖能力。见图 2。



注:A、B 分别为 BEAS-2B、NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞中 Survivin mRNA、蛋白表达情况;与 BEAS-2B 细胞比较,*** $P<0.001$ 。

图 1 Survivin 在小细胞肺癌细胞中高表达



注:A、B 分别为 Vector 组与 Survivin 组,si-NC 组与 si-Survivin 组 A 值比较;与 0 h 比较,* $P<0.05$;与 0 h 比较,*** $P<0.001$ 。

图 2 Survivin 促进小细胞肺癌细胞增殖

2.3 Survivin 抑制小细胞肺癌细胞的凋亡 细胞凋亡试验结果显示,与 Vector 组比较,Survivin 组 NCI-

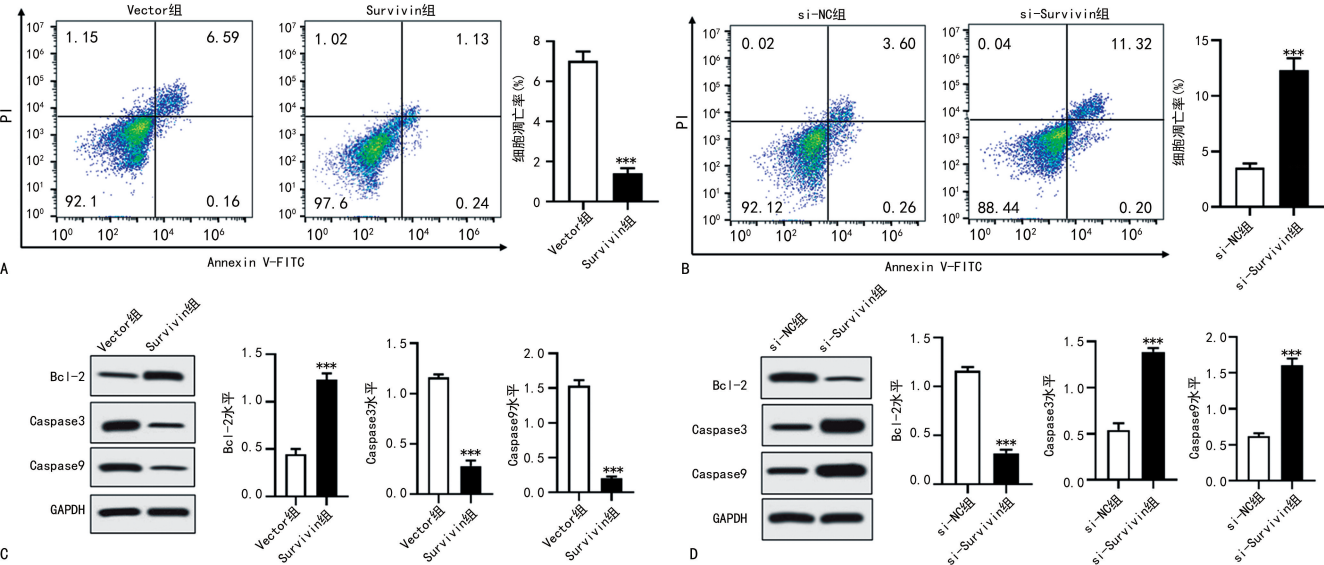
H82 细胞凋亡率降低($P<0.001$),Bcl-2 蛋白表达升高($P<0.001$),Caspase3、Caspase9 蛋白表达降低

($P<0.001$);与 si-NC 组比较, si-Survivin 组 NCI-H209 细胞凋亡率升高($P<0.001$), Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.001$), Caspase3、Caspase9 蛋白表达升高($P<0.001$)。结果提示 Survivin 调控小细胞肺癌细胞的凋亡及凋亡相关蛋白表达。见图 3。

2.4 Survivin 抑制 CD8⁺ T 细胞分泌 IFN- γ 、IL-2 ELISA 检测结果显示,与 Vector+CD8⁺ T 组比较, Survivin+CD8⁺ T 组细胞上清液中 IFN- γ 、IL-2

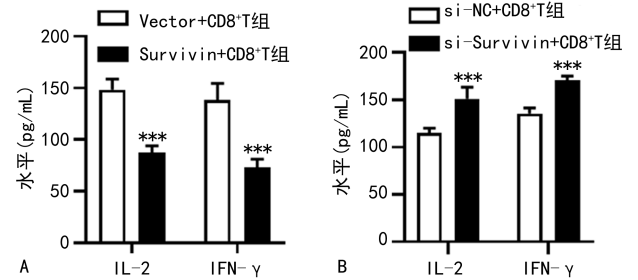
水平降低($P<0.001$);与 si-NC+CD8⁺ T 组比较, si-Survivin+CD8⁺ T 组细胞上清液中 IFN- γ 、IL-2 水平升高($P<0.001$)。见图 4。

2.5 Survivin 抑制 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤活性 细胞毒性试验结果显示,与 Vector+CD8⁺ T 组比较, Survivin+CD8⁺ T 组 NCI-H82 细胞裂解率降低($P<0.001$);与 si-NC+CD8⁺ T 组比较, si-Survivin+CD8⁺ T 组 NCI-H209 细胞裂解率升高($P<0.001$)。见图 5。



注:A、B 分别为 Vector 组与 Survivin 组, si-NC 组与 si-Survivin 组细胞凋亡率比较;C、D 分别为 Vector 组与 Survivin 组, si-NC 组与 si-Survivin 组凋亡相关蛋白表达比较;与 Vector 组比较, *** $P<0.001$;与 si-NC 组比较, *** $P<0.001$ 。

图 3 Survivin 抑制小细胞肺癌细胞的凋亡

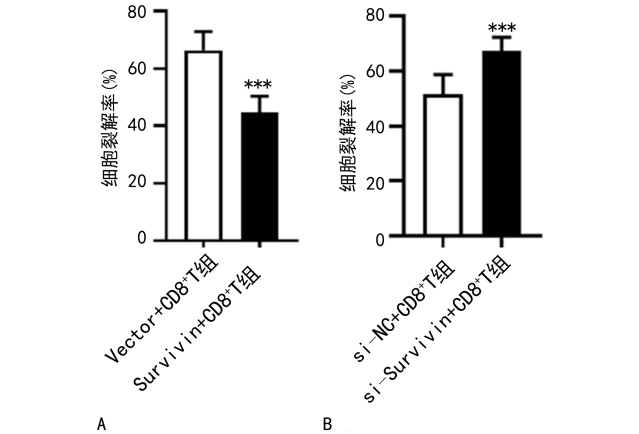


注:A、B 分别为 Vector+CD8⁺ T 组与 Survivin+CD8⁺ T 组、 si-NC+CD8⁺ T 组与 si-Survivin+CD8⁺ T 组细胞上清液中 IL-2、INF- γ 水平比较;与 Vector+CD8⁺ T 组比较, *** $P<0.001$;与 si-NC+CD8⁺ T 组比较, *** $P<0.001$ 。

图 4 Survivin 抑制 CD8⁺ T 细胞分泌 IFN- γ 、IL-2

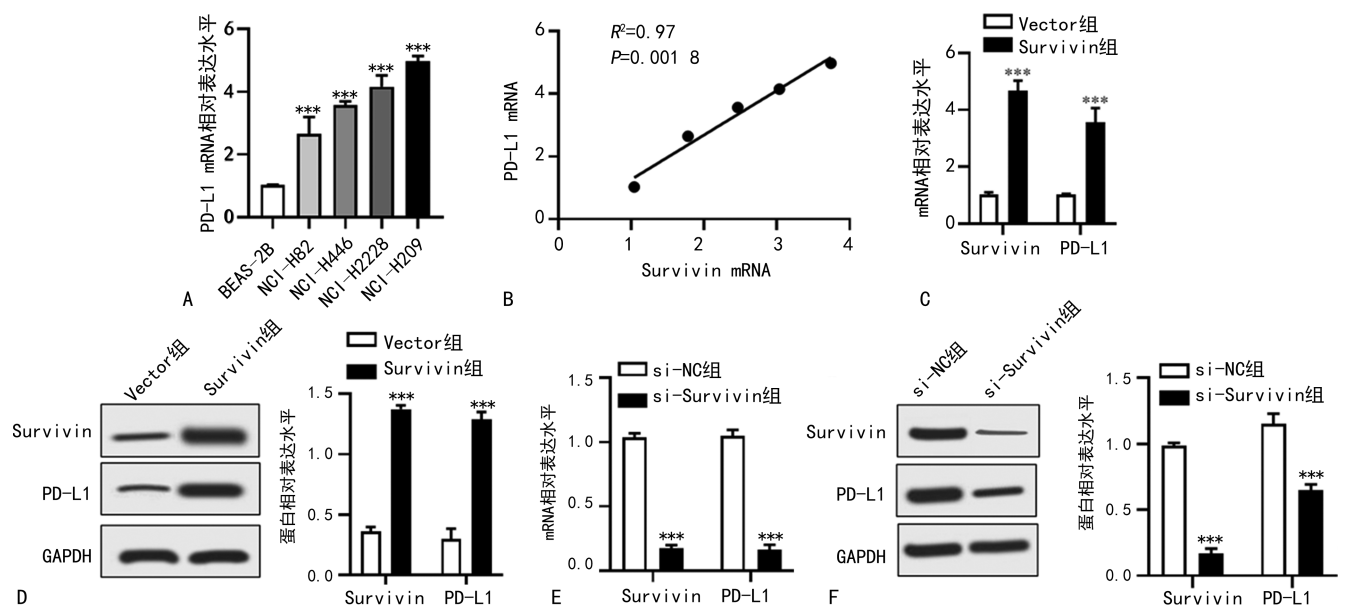
2.6 Survivin 上调小细胞肺癌细胞 PD-L1 的表达 qPCR 结果显示,与 BEAS-2B 细胞比较, NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞中 PD-L1 mRNA 表达均升高($P<0.001$);相关性分析结果显示, NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209 细胞中 Survivin mRNA 表达与 PD-L1 mRNA 呈正相关($R^2=0.97$, $P=0.0018$);qPCR 和 Western blot

结果显示,与 Vector 组比较, Survivin 组 NCI-H82 细胞中 Survivin、PD-L1 mRNA 和蛋白表达升高($P<0.001$);与 si-NC 组比较, si-Survivin 组 NCI-H209 细胞 Survivin、PD-L1 mRNA 和蛋白表达降低($P<0.001$)。结果提示 Survivin 可调控小细胞肺癌细胞 PD-L1 的表达。见图 6。



注:A、B 分别为 Vector+CD8⁺ T 组与 Survivin+CD8⁺ T 组、 si-NC+CD8⁺ T 组与 si-Survivin+CD8⁺ T 组细胞裂解率比较; *** $P<0.001$ 。

图 5 Survivin 抑制 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤活性



注:A为qPCR检测PD-L1 mRNA表达,与BEAS-2B细胞比较,*** $P<0.001$;B为Survivin和PD-L1 mRNA表达相关性分析结果;C、D分别为Vector组、Survivin组NCI-H82细胞中Survivin、PD-L1 mRNA和蛋白表达比较,与Vector组比较,*** $P<0.001$;E、F分别为si-NC组、si-Survivin组NCI-H209细胞中Survivin、PD-L1 mRNA和蛋白表达比较,与si-NC组比较,*** $P<0.001$ 。

图6 各组细胞中Survivin对小细胞肺癌细胞PD-L1的影响

3 讨论

Survivin是由Birc5基因编码的蛋白质,表达于细胞质和细胞核。研究表明,Survivin是一类抑凋亡蛋白,其主要功能为抑制Caspase3和Caspase9,进而阻断细胞凋亡,亦有研究表明Survivin可调控细胞周期^[9-11]。近年来,有研究发现,Survivin可在肿瘤细胞中特异性表达^[11]。MAHMOUDIAN-SANI等^[12]研究表明,Survivin可作为甲状腺癌诊断和治疗的关键蛋白,但Survivin对小细胞肺癌的影响尚不清楚。本研究结果发现,与人正常肺上皮细胞BEAS-2B比较,小细胞肺癌细胞NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209中Survivin mRNA和蛋白表达均升高($P<0.001$),提示Survivin可能对小细胞肺癌的发生发展有重要影响,所以本文在NCI-H82细胞中转染Survivin过表达质粒,并且抑制NCI-H209细胞中Survivin表达,构建差异表达Survivin的小细胞肺癌细胞株,结果发现上调Survivin后,NCI-H82细胞增殖能力升高,细胞凋亡率降低;若抑制Survivin表达,NCI-H209细胞增殖能力降低,细胞凋亡率升高,说明Survivin可调控小细胞肺癌细胞的增殖与凋亡。与本研究结果类似,LI等^[13]发现抑制口腔鳞状细胞癌中Survivin表达可促进肿瘤细胞的凋亡。GARLAPATI等^[14]研究表明,Survivin的磷酸化可促进三阴性乳腺癌细胞的增殖。提示Survivin可对小细胞肺癌增殖和凋亡等恶性生物学行为具有重要调控功能。

肿瘤免疫治疗为小细胞肺癌的治疗带来了巨大的突破,GUEGUEN等^[15]研究发现,CD8⁺T细胞的

浸润与肺癌患者的预后密切相关。本研究将差异表达Survivin的NCI-H82和NCI-H209细胞与激活的CD8⁺T细胞共孵育,发现过表达Survivin的NCI-H82可抑制CD8⁺T细胞分泌IL-2和INF- γ 的能力,抑制NCI-H209细胞Survivin后,共孵育体系中CD8⁺T细胞分泌IL-2和INF- γ 的能力增加。研究表明,激活的CD8⁺T细胞可通过分泌IL-2、INF- γ 、穿孔素和脱颗粒酶等因子而杀伤肿瘤细胞^[16]。本研究通过细胞毒性试验发现,CD8⁺T细胞杀伤过表达Survivin的NCI-H82细胞能力降低,CD8⁺T细胞杀伤低表达Survivin的NCI-H82细胞能力增加,说明Survivin可抑制CD8⁺T细胞对小细胞肺癌细胞的杀伤功能。

肿瘤细胞表面PD-L1等免疫检查点的异常表达,促进了肿瘤细胞的免疫逃逸^[17-18]。小细胞肺癌细胞PD-L1的高表达影响肿瘤治疗效果,ROPER等^[19]研究指出,PD-L1在小细胞肺癌组织中高表达,并且抑制PD-1/PD-L1信号通路,从而抑制小细胞肺癌的发展。CARVAJAL-HAUSDORF等^[20]通过临床研究发现,PD-L1的异常高表达与患者免疫治疗效果差密切相关,并且可抑制肿瘤组织浸润的淋巴细胞功能。但是PD-L1的表达是否受Survivin调控尚不明确,本研究发现,PD-L1在小细胞肺癌细胞NCI-H82、NCI-H446、NCI-H2228、NCI-H209中表达均上调,并且通过相关性分析发现,上述小细胞肺癌细胞株中PD-L1 mRNA表达与Survivin呈正相关,即Survivin高表达的细胞株中PD-L1亦高表达,提示小细胞肺癌细胞

中 PD-L1 的表达可能被 Survivin 调控。进一步研究发现, NCI-H82 细胞中转染 Survivin 过表达质粒后, 细胞中 PD-L1 mRNA 和蛋白表达均升高, 若抑制 NCI-H209 细胞中 Survivin 表达, 细胞中 PD-L1 mRNA 和蛋白表达均降低, 说明 Survivin 或可影响 PD-L1 的表达。FARHOOD 等^[21] 研究发现, 肿瘤细胞 PD-L1 的高表达可抑制细胞毒性 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤活性。所以本研究推测, Survivin 可通过诱导 PD-L1 的表达而抑制 CD8⁺ T 细胞的杀伤功能。

综上所述, Survivin 调控小细胞肺癌细胞的增殖和凋亡, 并且可通过上调小细胞肺癌细胞表面 PD-L1 的表达而抑制 CD8⁺ T 细胞杀伤功能, 本研究的创新点为发现 Survivin 对小细胞肺癌增殖和凋亡的调控作用, 并且可影响 CD8⁺ T 细胞介导的肿瘤免疫, 但是本研究仅局限于细胞水平, 在后续的研究中本团队会在小鼠体内验证 Survivin 的功能。

参考文献

[1] YIN X M, LI Y Y, WANG H, et al. Small cell lung cancer transformation: from pathogenesis to treatment[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 2): 595-606.

[2] LIANG J, GUAN X, BAO G, et al. Molecular subtyping of small cell lung cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 2): 450-462.

[3] WANG W Z, SHULMAN A, AMANN J M, et al. Small cell lung cancer: subtypes and therapeutic implications [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 2): 543-554.

[4] HAYASHI R, INOMATA M. Small cell lung cancer; recent advances of its biology and therapeutic perspective [J]. *Respir Investig*, 2022, 60(2): 197-204.

[5] HAO Z, SEKKATH VEEDU J. Current strategies for extensive stage small cell lung cancer beyond first-line therapy[J]. *Clin Lung Cancer*, 2022, 23(1): 14-20.

[6] SUN L, LI H, FU Q, et al. Significance of detecting the levels of miR-29a, survivin and interferon gamma release assay in patients with lung cancer and tuberculosis[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2022, 31(10): 1073-1080.

[7] LUO Z, CHEN W, WU W, et al. Metformin promotes survivin degradation through AMPK/PKA/GSK-3β-axis in non-small cell lung cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(7): 11890-11899.

[8] LIU C, LU Z, XIE Y, et al. Soluble PD-1-based vaccine targeting MUC1 VNTR and survivin improves anti-tumor effect[J]. *Immunol Lett*, 2018, 200(8): 33-42.

[9] SHI J, TAN S Y, LEE A Z E, et al. Restoring apoptosis dysregulation using survivin inhibitor in nasopharyngeal cancer[J]. *Head Neck*, 2020, 42(5): 913-923.

[10] SHOJAEI F, YAZDANI-NAFCHI F, BANITALEBI-DEHKORDI M, et al. Trace of survivin in cancer[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2019, 28(4): 365-372.

[11] ZHANG J, XU X, CHEN Y, et al. The abnormal expression of chromosomal region maintenance 1 (CRM1)-survivin axis in ovarian cancer and its related mechanisms regulating proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 624-633.

[12] MAHMOUDIAN-SANI M R, ALGHASI A, SAEEDIB-OROUJENI A, et al. Survivin as a diagnostic and therapeutic marker for thyroid cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(4): 619-625.

[13] LI M, ZHAO Q, LIAO J, et al. Dioscin inhibiting EGFR-mediated Survivin expression promotes apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells [J]. *J Cancer*, 2023, 14(11): 2027-2038.

[14] GARLAPATI C, JOSHI S, BHATTARAI S, et al. PLK1 and AURKB phosphorylate survivin differentially to affect proliferation in racially distinct triple-negative breast cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(1): 12-24.

[15] GUEGUEN P, METOIKIDOU C, DUPIC T, et al. Contribution of resident and circulating precursors to tumor-infiltrating CD8⁺ T cell populations in lung cancer[J]. *Sci Immunol*, 2021, 6(55): 5778-5793.

[16] PROKHNEVSKA N, CARDENAS M A, VALANPARAMBIL R M, et al. CD8⁺ T cell activation in cancer comprises an initial activation phase in lymph nodes followed by effector differentiation within the tumor[J]. *Immunity*, 2023, 56(1): 107-124.

[17] WANG Y, ZOU S, ZHAO Z, et al. New insights into small-cell lung cancer development and therapy[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(8): 1564-1576.

[18] CHAN J M, QUINTANAL-VILLALONGA Á, GAO V R, et al. Signatures of plasticity, metastasis, and immunosuppression in an atlas of human small cell lung cancer [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(11): 1479-1496.

[19] ROPER N, VELEZ M J, CHIAPPORI A, et al. Notch signaling and efficacy of PD-1/PD-L1 blockade in relapsed small cell lung cancer[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3880-3892.

[20] CARVAJAL-HAUSDORF D, ALTAN M, VELCHETI V, et al. Expression and clinical significance of PD-L1, B7-H3, B7-H4 and TILs in human small cell lung Cancer (SCLC)[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 65-73.

[21] FARHOOD B, NAJAFI M, MORTEZAEE K. CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: a review [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8509-8521.