

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00069

Nemo样激酶在肿瘤发生发展中的双重作用

何建, 张卫*

第二军医大学长海医院肛肠外科, 上海 200433

[摘要] Nemo样激酶(Nemo-like kinase, NLK)是一种进化上保守的促分裂原活化蛋白激酶类似的激酶,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶超家族成员。NLK可以通过参与Wnt、Notch、FoxO等多条通路调节细胞增殖、分化、胚胎发育早期形态学变化和脊椎动物神经系统发育等生物过程。NLK还是肿瘤调控中的一个关键分子,在不同的肿瘤中起到不同的作用,在前列腺癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、乳腺癌中NLK可以抑制肿瘤的发生与发展,在肝癌、口腔鳞癌、胆管癌等肿瘤中却有着相反的作用。

[关键词] Nemo样激酶;肿瘤;信号通路

[中图分类号] R 730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)01-0069-05

Dual roles of Nemo-like kinase in tumor development and progression

HE Jian, ZHANG Wei*

Department of Anorectal Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Nemo-like kinase (NLK) is an evolutionarily conserved mitogen activated protein kinase-like kinase, belonging to serine/threonine protein kinase superfamily. By participating in Wnt, Notch, FoxO and other pathways, NLK can regulate cell proliferation, differentiation, morphological changes, early embryonic development of vertebrate nervous system, and other biological processes. NLK is also a key molecule in tumor regulation and its roles vary in different tumors. In prostate cancer, non-small cell lung cancer, ovarian cancer, and breast cancer, NLK plays an inhibitory role, while it plays opposite roles in oral squamous cell carcinoma, hepatocellular carcinoma, and the bile duct tumors.

[Key words] Nemo-like kinase; neoplasms; signaling pathway

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(1): 69-73]

Nemo样激酶(Nemo-like kinase, NLK)是nemo在哺乳动物中的同源蛋白,它的突变可导致果蝇眼感光细胞旋转不全^[1]。NLK在进化上是高度保守的,不同物种除了编码NLK氨基端的第一个外显子不同外,其余都是相同的。人类NLK基因位于染色体17q11.2^[2],由11个外显子和10个内含子组成,其翻译起始位点是在1号外显子,终止密码子(TGA)和多聚腺苷酸信号(AATAAA)均位于11号外显子^[3]。NLK基因分为两型,无脊椎动物的基因组只拥有一个NLK基因,而脊椎动物有一个或两个NLK基因。在脊椎动物中两栖类和鱼类拥有I型和II型NLK,而哺乳动物和禽类只有II型NLK^[4]。NLK表达于人的任何组织和器官,其相对

分子质量为60 000,60%~70%表达在核内,另外30%~40%表达在细胞质中^[3]。本文从NLK的激活及其在Wnt、Notch、FoxO等不同信号通路中的作用入手,综述了NLK在不同肿瘤发生和发展中的促癌或抑癌双重作用。

1 NLK的激活

NLK可以被很多细胞外信号激活,也可以通过表达而被自激活。内源性的NLK可以被Wnt-3a^[4]、Wnt-5a^[5]、NGF^[6]、Activin^[7]等细胞信号激活。IL-6和转化生长因子 β (TGF- β)可以在肝癌细胞株HepG2中激活外源性NLK^[8]。

在NLK的细胞外信号调节中TGF- β 激活激酶

[收稿日期] 2014-06-26 **[接受日期]** 2014-11-01

[基金项目] 国家自然科学基金(81272670)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81272670).

[作者简介] 何建,硕士生。E-mail: hejiancrd@126.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161603, E-mail: weizhang2000cn@163.com

1(TAK1)是非常重要的调控分子^[9-11]。TAK1是NLK的一个上游信号分子,可以通过磷酸化NLK并促进NLK的自磷酸化而激活NLK,这在Wnt-5a诱导的NLK激活中至关重要^[9]。Kanei-Ishii等^[10]报道TAK1可以激活同源结构域相互作用蛋白激酶(HIPK2)从而使其结合并激活NLK。Li等^[11]也发现TAK1以TAB2作为一个支架蛋白直接与NLK作用,参与调控NLK的活性。

NLK自激活主要依赖于自磷酸化组成同二聚体^[12]。NLK缺乏MAPKs家族激活区域Ⅷ的磷酸化位点Thr-Xxx-Tyr(TXY),取而代之的是Thr-Xxx-Glu(TQE),由于谷氨酸呈负电荷,可以模拟磷酸化的氨基酸,因此只有Thr-286的磷酸化与NLK的激活有关^[1],而NLK过表达时可以通过自磷酸化Thr-286组成同二聚体。Ishitani等^[12]报道NLK的同源二聚化在其激活及核定位中起到关键的作用。

2 NLK在不同信号通路中的作用

NLK像MAPKs和cdks家族其他成员一样,在炎症信号转导、细胞凋亡、肿瘤细胞增殖以及调控体内多种物质代谢过程中起重要作用,在很多通路中NLK也是关键的调控分子。

2.1 NLK在Wnt通路中的作用 Wnt信号通路在肿瘤的发生和转移方面起着重要作用^[13]。在经典Wnt/ β -catenin信号通路中,胞外Wnt蛋白增加时,细胞内 β -catenin增多并进入细胞核,与转录因子T细胞因子(TCF)/淋巴增强因子(LEF)结合,引起C-Myc、Cyclin D1、survivin等靶基因的转录。C-Myc、Cyclin D1等均为原癌基因,被激活后可以转化为癌基因,刺激细胞增殖,引起肿瘤发生。作为 β -catenin/TCF的抑制剂,NLK能够通过磷酸化TCF/LEF复合物,从而抑制DNA结合转录活性的 β -catenin/TCF复合物,抑制肿瘤发生^[4]。但是Ishitani等^[4,14]报道了NLK在脊椎动物的神经祖细胞中能够正向调节Wnt通路。在鼠嗜铬细胞瘤、PC12细胞核鼠神经母细胞瘤、neuro-2a细胞等类神经祖细胞系中,NLK通过磷酸化LEF的Thr-155和Ser-166诱导LEF与组蛋白脱乙酰基酶(HDAC1)的解离,但是LEF的磷酸化没有影响LEF及其靶基因启动子的结合,大量LEF变为活性状态从而促进转录。敲除NLK基因能减弱Wnt-3a(Wnt/ β -catenin信号通路家族中Wnt-1的配体)诱导的转录活性。抑制NLK2(斑马鱼中的Ⅱ型NLK)后减少了LEF

介导的基因表达,抑制细胞增殖,直接导致中脑头盖骨的减小^[4]。上述实验证明NLK能够正向调节Wnt通路,在Wnt通路中表现出了双重而又对立的作用。

2.2 NLK在Notch信号转导通路中的作用 Notch信号转导通路是NLK的另一个重要下游信号通路,通过调控细胞的分化、增殖和凋亡,对细胞的生长发育产生广泛影响。由于组织细胞对Notch信号转导的反应是环境依赖性的,所以Notch在不同肿瘤中也发挥着不同的作用^[15-17]。Ishitani等^[18]发现NLK的底物之一Notch1-ICD是Notch通路中一个关键的转录调控因子。过表达NLK后,通过磷酸化Notch1-ICD的7个保守的SER-PRO片段而抑制Notch1-ICD在HEK239、HeLa、neuro-2a、PC12细胞系以及SW480细胞系的表达,通过此机制抑制Notch通路。

2.3 NLK在FoxO家族调控中的作用 FoxO家族属于叉头转录因子,在细胞应激、新陈代谢、细胞凋亡等活动中起着重要的作用^[19]。FoxO具有肿瘤抑制因子的作用,FoxO减少或活性降低可导致细胞周期阻滞作用下降,从而促进肿瘤的发展^[20]。FoxO家族中FoxO1、FoxO3a和FoxO4都可以被NLK磷酸化^[21]。以往认为FoxO1的调控主要是通过翻译后修饰,如磷酸化、乙酰化、泛素化来实现的。这些翻译后修饰改变FoxO1转录活性、亚细胞定位、蛋白质水平以及与DNA结合的亲和力^[19]。但是Kim等^[22]发现TAK1-NLK途径是一条新型的调节FoxO1磷酸化的通路。Mendes-Pereira等^[23]报道NLK可以磷酸化FoxO1,磷酸化的FoxO1从细胞核中析出从而失活,而沉默NLK后明显增加了FoxO1在细胞核中的表达。

2.4 NLK在其他通路中的作用 除了参与Wnt、Notch及FoxO家族的调控外,NLK还参与多条信号通路的作用:NLK磷酸化降解造血干细胞增殖和分化的转录因子c-Myb蛋白^[10];NLK还可以增加STAT3在爪蟾胚胎和HepG2细胞中的转录活性^[8];同样在爪蟾胚胎中NLK可以增加MEF2A的活性,并促进CPEB的降解^[24];NLK在ST2细胞中抑制PRAR介导的转录^[25]。

3 NLK在肿瘤发生发展中的双重作用

NLK在多条通路中起不同的调控作用,在肿瘤中也扮演着不同的角色。在前列腺癌、卵巢癌、乳腺

癌、神经胶质瘤以及结直肠癌中, NLK 抑制肿瘤的发生及发展;而在肝癌、胆囊癌、口腔鳞腺癌中,却又促进了肿瘤的进展。

3.1 NLK 的抑癌作用 Lv 等^[26]发现 NLK 在非小细胞肺癌组织中的表达明显低于正常组织。抑制 NLK 的表达后非小细胞肺癌细胞 A549 增殖明显,并且细胞中 β -catenin/TCF 复合体的表达明显升高,同时 Wnt 的下游蛋白 c-Myc、Cyclin D1 以及表明 Wnt 高活性的 DKK1 和 Axin2 都有所增加。上述实验证明 NLK 是通过抑制 Wnt 通路而参与到非小细胞肺癌的调控。

在前列腺癌中的研究中, Emami 等^[27]发现和原位前列腺癌相比,转移的前列腺癌中 NLK 的表达是下降的,而且 NLK 可以诱导前列腺癌细胞的凋亡。在前列腺癌细胞系中过表达 NLK 后,随着 NLK mRNA 的增加,雄激素受体(AR)介导的转录活性明显降低,肿瘤生长也受到抑制。抑制内源性 NLK 的表达可以增加 AR 介导的转录活性,而过表达可以明显抑制其活性。NLK 通过抑制 AR 通路而抑制前列腺癌的发生和发展。NLK 与 AR 相互作用的机制尚未见报道,而 Wnt 通路参与 AR 调节,推测 NLK 可能通过 Wnt 通路抑制 AR 通路继而抑制前列腺癌的发生发展。

Stevens 等^[28]的实验发现在卵巢癌组织样本中 NLK 呈低表达,并且和肿瘤的分期及分级都有关系。NLK 的低表达预示预后不良。Wnt 通路可以促进卵巢癌的发生,推测 NLK 通过 Wnt 通路而参与卵巢癌的调节^[29]。此外卵巢癌细胞对顺铂的敏感性也依赖于 NLK 的表达,抑制了 p38 的活性后, NLK 对顺铂敏感性的调节作用却消失,所以 NLK 是通过 p38 而影响了卵巢癌细胞对顺铂的敏感性。

Cui 等^[30]在神经胶质瘤的研究中,发现 NLK 在低级别的星形细胞瘤(Ⅱ级)中的表达明显高于在间变星形细胞瘤(Ⅲ级)和多形性成胶质细胞瘤(Ⅳ级)中的表达,而且低表达的患者总体生存率明显低于高表达患者;过表达 NLK 后,神经胶质瘤细胞株 U87MG、U251、LN229 和 T98G 中半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(caspase-3)的表达也升高, NLK 通过激活 caspase-3 而诱导神经胶质瘤细胞的凋亡。

在结直肠癌的研究中, Yasuda 等^[31]报道 NLK 可以抑制结肠癌 DLD-1 细胞株的生长。实验证实感染野生型 NLK 的肠癌细胞生长被抑制,而转染失活 NLK 的 DLD-1 肠癌细胞生长和没有转染 NLK

的细胞生长一样迅速;在转染 NLK 后阻滞在 G₁ 期的细胞是未转染细胞的 3 倍,说明 NLK 可以通过阻滞细胞周期而诱导凋亡。由于 NLK 可以通过抑制 β -catenin/TCF 复合物而诱导凋亡,所以检测了感染 NLK 后 DLD-1 细胞中 β -catenin 的数量,但是却并没有得到预期的结果: β -catenin 的数量没有因为转染 NLK 或使 NLK 失活而出现变化。所以 NLK 促进 DLD-1 细胞的凋亡可能不是通过调控 β -catenin, 具体的机制还需要进一步探索。

在乳腺癌的研究中, Huang 等^[32]发现 NLK 可以抑制乳腺癌细胞的增殖并诱导凋亡。在乳腺癌组织中 NLK 的表达与 c-Myb 以及 Ki-67 呈负相关, c-Myb 具有致癌活性,而 Ki-67 可以在细胞分裂的 G₁ 和 S 期高表达而促进细胞增殖;在 MCF-7 细胞株中, NLK 的表达在 G₁ 期中增加,而 c-Myb 却在 G₀ 和 G₁ 期中下降,在 S 期中增加。NLK 可能直接结合并磷酸化 c-Myb 并使其降解,引起其靶基因 *bcl* 和 *c-myc* 的表达下调,导致细胞周期的阻滞^[32]。说明 NLK 通过阻滞细胞周期,诱导凋亡抑制乳腺癌的发生。

3.2 NLK 的促癌作用 在肝癌的研究中, Kim 等^[33]发现 NLK 的 mRNA 在肝癌组织中的表达是正常组织的至少 2 倍。进一步实验发现 NLK 基因沉默后肝癌细胞株 SNU-423 和 Hep3B 的生长都受到了抑制,并且发现 G₁~S 期的细胞数量大幅度增加,但是凋亡细胞的数量却没有明显增多。NLK 的表达同时伴随了 Cyclin D1 和 CDK2 的表达增加。所以推测敲除 NLK 可能影响 G₁/S 期的转换而不是诱导细胞凋亡。有趣的是他们的实验表明敲除 NLK 后抑制了 β -catenin 的表达,这与之前文献的报道^[31]相反,可能在 Hep3B 细胞中 NLK 对 β -catenin 的调控存在另一种机制,从而正向调节 Wnt 通路。在 Shen 等^[34]的研究中,发现 MiR-101 可以通过抑制 NLK 的表达而抑制肝癌发展,从另一方面说明 NLK 在肝癌中的致癌作用。

在胆囊癌的研究中, Tan 等^[35]在 GBC-SD 和 SGC-996 细胞株中沉默 NLK 基因后,发现细胞株的增殖能力有所下降、肿瘤生成能力也被抑制,细胞株的迁移能力也受到抑制。但是其机制尚不明确。

Zhang 等^[36]在口腔鳞癌的研究中发现,在 CAL-27 细胞中沉默 NLK 基因可以抑制细胞增殖以及肿瘤形成。他们发现沉默 NLK 可以阻滞细胞周期从 G₀/G₁ 到 S 期的转变, NLK 可能也是通过干预细胞

周期而调控口腔鳞癌的发展。

Dong 等^[37]发现在喉癌细胞株 HEP-2 中,紫杉醇可以抑制 NLK 的表达。敲减 NLK 的表达后可以增加细胞对紫杉醇的敏感性,并导致 Cyclin D1、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 和多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 的表达下降。PARP 的裂解可以导致细胞的凋亡。PCNA 表达于增殖的细胞及肿瘤细胞中,通过调节细胞周期而促进增殖。紫杉醇通过下调 NLK 的表达导致 PARP、PCNA 及 Cyclin D1 的降解而抑制肿瘤的发生。但是 NLK 参与喉癌发生发展的具体机制还需进一步探索。

4 结 语

NLK 正成为生物学及医学领域的研究热点之一。NLK 可以促进胚胎发育、骨的形成与生长,甚至影响到生物节律性。尤其在肿瘤的发生发展研究中,NLK 的作用越来越受到重视。近年来研究表明,NLK 在肝细胞癌、结直肠癌、卵巢癌、前列腺癌、胆管癌及胶质瘤等多种恶性肿瘤的发生和发展中扮演抑癌基因或促癌基因的重要角色。NLK 在不同肿瘤中发挥着不同的作用,可能与肿瘤的来源及性质有关,此外 NLK 在 Wnt 通路中扮演双重对立的角色,其下游分子 Notch 及 FoxO 家族在肿瘤中的双面性可能也是导致 NLK 具有双重作用的原因,但是 NLK 促进或抑制肿瘤发生、发展的分子机制目前还不清楚,需要进一步实验探索。NLK 在肿瘤的诊断、治疗和预后评价方面的作用也还需要进一步阐明。

5 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Brott B K, Pinsky B A, Erikson R L. Nlk is a murine protein kinase related to Erk/MAP kinases and localized in the nucleus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 963-968.

[2] Kehrer-Sawatzki H, Moschgath E, Maier C, Legius E, Elgar G, Krone W. Characterization of the Fugu rubripes NLK and FN5 genes flanking the NF1 (Neurofibromatosis type 1) gene in the 5' direction and mapping of the human counterparts[J]. *Gene*, 2000, 251: 63-71.

[3] Harada H, Yoshida S, Nobe Y, Ezura Y, Atake T, Koguchi T, et al. Genomic structure of the human NLK

(nemo-like kinase) gene and analysis of its promoter region[J]. *Gene*, 2002, 285(1-2): 175-182.

- [4] Ota S, Ishitani S, Shimizu N, Matsumoto K, Itoh M, Ishitani T. NLK positively regulates Wnt/ β -catenin signaling by phosphorylating LEF1 in neural progenitor cells [J]. *EMBO J*, 2012, 31: 1904-1915.
- [5] Ishitani T, Kishida S, Hyodo-Miura J, Ueno N, Yasuda J, Waterman M, et al. The TAK1-NLK mitogen-activated protein kinase cascade functions in the Wnt-5a/ Ca^{2+} pathway to antagonize Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 131-139.
- [6] Ishitani T, Ishitani S, Matsumoto K, Itoh M. Nemo-like kinase is involved in NGF-induced neurite outgrowth via phosphorylating MAP1B and paxillin [J]. *J Neurochem*, 2009, 111: 1104-1118.
- [7] Ohkawara B, Shirakabe K, Hyodo-Miura J, Matsuo R, Ueno N, Matsumoto K, et al. Role of the TAK1-NLK-STAT3 pathway in TGF- β -mediated mesoderm induction[J]. *Genes Dev*, 2004, 18: 381-386.
- [8] Kojima H, Sasaki T, Ishitani T, Iemura S, Zhao H, Kaneko S, et al. STAT3 regulates Nemo-like kinase by mediating its interaction with IL-6-stimulated TGF β -activated kinase 1 for STAT3 Ser-727 phosphorylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 4524-4529.
- [9] Ishitani T, Ninomiya-Tsuji J, Nagai S, Nishita M, Meneghini M, Barker N, et al. The TAK1-NLK-MAPK-related pathway antagonizes signalling between β -catenin and transcription factor TCF[J]. *Nature*, 1999, 399: 798-802.
- [10] Kanei-Ishii C, Ninomiya-Tsuji J, Tanikawa J, Nomura T, Ishitani T, Kishida S, et al. Wnt-1 signal induces phosphorylation and degradation of c-Myb protein via TAK1, HIPK2, and NLK [J]. *Genes Dev*, 2004, 18: 816-829.
- [11] Li M, Wang H, Huang T, Wang J, Ding Y, Li Z, et al. TAB2 scaffolds TAK1 and NLK in repressing canonical Wnt signaling [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 13397-13404.
- [12] Ishitani S, Inaba K, Matsumoto K, Ishitani T. Homodimerization of Nemo-like kinase is essential for activation and nuclear localization[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22: 266-277.
- [13] Polakis P. Wnt signaling in cancer [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4: pii: a008052.
- [14] Ishitani T. Context-dependent dual and opposite roles of nemo-like kinase in the Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11: 1743-1745.
- [15] Kang H, An H J, Song J Y, Kim T H, Heo J H, Ahn D

- H, et al. Notch3 and Jagged2 contribute to gastric cancer development and to glandular differentiation associated with MUC2 and MUC5AC expression[J]. *Histopathology*, 2012, 61: 576-586.
- [16] Vo K, Amarasinghe B, Washington K, Gonzalez A, Berlin J, Dang T P. Targeting notch pathway enhances rapamycin antitumor activity in pancreas cancers through PTEN phosphorylation[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 138.
- [17] Serafin V, Persano L, Moserle L, Esposito G, Ghisi M, Curtarello M, et al. Notch3 signalling promotes tumour growth in colorectal cancer [J]. *J Pathol*, 2011, 224: 448-460.
- [18] Ishitani T, Hirao T, Suzuki M, Isoda M, Ishitani S, Harigaya K, et al. Nemo-like kinase suppresses Notch signalling by interfering with formation of the Notch active transcriptional complex[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 278-285.
- [19] Calnan D R, Brunet A. The FoxO code[J]. *Oncogene*, 2008, 27: 2276-2288.
- [20] Greer E L, Brunet A. FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression[J]. *Oncogene*, 2005, 24: 7410-7425.
- [21] Szybowska A A, de Ruiter H, Meijer L A, Smits L M, Burgering B M. Oxidative stress-dependent regulation of Forkhead box O4 activity by nemo-like kinase[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14: 563-578.
- [22] Kim S, Kim Y, Lee J, Chung J. Regulation of FOXO1 by TAK1-Nemo-like kinase pathway [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 8122-8129.
- [23] Mendes-Pereira A M, Lord C J, Ashworth A. NLK is a novel therapeutic target for PTEN deficient tumour cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e47249.
- [24] Ota R, Kotani T, Yamashita M. Possible involvement of Nemo-like kinase 1 in *Xenopus* oocyte maturation as a kinase responsible for Pumilio1, Pumilio2, and CPEB phosphorylation [J]. *Biochemistry*, 2011, 50: 5648-5659.
- [25] Nifuji A, Ideno H, Ohyama Y, Takanabe R, Araki R, Abe M, et al. Nemo-like kinase (NLK) expression in osteoblastic cells and suppression of osteoblastic differentiation[J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316: 1127-1136.
- [26] Lv L, Wan C, Chen B, Li M, Liu Y, Ni T, et al. Nemo-like kinase (NLK) inhibits the progression of NSCLC via negatively modulating WNT signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115: 81-92.
- [27] Emami K H, Brown L G, Pitts T E, Sun X, Vessella R L, Corey E. Nemo-like kinase induces apoptosis and inhibits androgen receptor signaling in prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2009, 69: 1481-1492.
- [28] Stevens K N, Kelemen L E, Wang X, Fridley B L, Vierkant R A, Fredericksen Z, et al. Common variation in Nemo-like kinase is associated with risk of ovarian cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21: 523-528.
- [29] Gatcliffe T A, Monk B J, Planutis K, Holcombe R F. Wnt signaling in ovarian tumorigenesis[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18: 954-962.
- [30] Cui G, Li Z, Shao B, Zhao L, Zhou Y, Lu T, et al. Clinical and biological significance of nemo-like kinase expression in glioma[J]. *J Clin Neurosci*, 2011, 18: 271-275.
- [31] Yasuda J, Tsuchiya A, Yamada T, Sakamoto M, Sekiya T, Hirohashi S. Nemo-like kinase induces apoptosis in DLD-1 human colon cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 308: 227-233.
- [32] Huang Y, Jiang Y, Lu W, Zhang Y. Nemo-like kinase associated with proliferation and apoptosis by c-Myb degradation in breast cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e69148.
- [33] Jung K H, Kim J K, Noh J H, Eun J W, Bae H J, Xie H J, et al. Targeted disruption of Nemo-like kinase inhibits tumor cell growth by simultaneous suppression of cyclin D1 and CDK2 in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110: 687-696.
- [34] Shen Q, Bae H J, Eun J W, Kim H S, Park S J, Shin W C, et al. MiR-101 functions as a tumor suppressor by directly targeting nemo-like kinase in liver cancer[J]. *Cancer Lett*, 2014, 344: 204-211.
- [35] Tan Z, Li M, Wu W, Zhang L, Ding Q, Wu X, et al. NLK is a key regulator of proliferation and migration in gallbladder carcinoma cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 369(1-2): 27-33.
- [36] Zhang B, Li K Y, Chen H Y, Pan S D, Chen S F, Zhang W F, et al. Lentivirus-based RNA silencing of Nemo-like kinase (NLK) inhibits the CAL 27 human adenocarcinoma cells proliferation and blocks G₀/G₁ phase to S phase[J]. *Int J Med Sci*, 2013, 10: 1301-1306.
- [37] Dong J R, Guo N, Zhao J P, Liu P D, Feng H H, Li Y. Inhibition of nemo-like kinase increases taxol sensitivity in laryngeal cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14: 7137-7141.