

Nemo 样激酶在机体发育和疾病中作用机制研究进展

王曼伊,王光丽,赵芹,黄冰怡,冯乔

桂林医学院附属医院遗传与精准医学实验室,桂林 541001

摘要 Nemo 样激酶(NLK)是一种进化保守的非典型脯氨酸定向的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK),一直被认为是 Wnt/ β -catenin 信号通路的负调节因子,通过不同途径调节 Wnt 信号传导发挥生理学作用。除了 Wnt 信号外,NLK 通过 TAB2 作为支架蛋白使 NLK 与转化生长因子- β 活化激酶 1(TAK1)相互作用,直接促使组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)磷酸化,参与机体如肺、心脏和骨骼等多器官发育。此外,NLK 能够通过其他重要细胞信号传导途径,如 Notch、NF- κ B、STAT 等通路影响骨骼正常发育。NLK 还可以通过上述相关途径调节免疫细胞,包括 CD8⁺ SP 胸腺细胞、Treg 细胞增强机体的抗病毒能力。值得关注的是,NLK 通过不同信号途径参与喉癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌和黑色素瘤等不同肿瘤细胞的发生和发展,下调 NLK 表达可抑制或逆转肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,表明 NLK 可能作为肿瘤细胞发生、发展和诊断的潜在靶点。此外,NLK 还参与调节神经退行性疾病的发病过程,例如亨廷顿病和脊髓小脑共济失调。本文就 NLK 在机体发育和相关疾病发生和发展的机制进行综述。

关键词:Nemo 样激酶;Wnt 信号;发育;肿瘤;免疫

中图分类号:R730.2

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2025)01-0016-06

Research progress on the role of NLK in development and disease

WANG Manyi, WANG Guangli, ZHAO Qin, HUANG Bingyi, FENG Qiao

Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China

Abstract Nemo-like kinase (NLK) is an evolutionarily conserved, atypical proline-directed mitogen-activated protein kinase (MAPK), which has been identified as a negative regulator of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. NLK plays a critical role in regulating Wnt signaling through various mechanisms. In addition to its role in Wnt signaling, NLK interacts with transforming growth factor- β -activated kinase 1 (TAK1) via the scaffolding protein TAB2, promoting the phosphorylation of histone deacetylase 1

基金项目:广西壮族自治区卫健委自筹经费科研项目(Z20211402)。

第一作者:王曼伊,本科,主管技师,研究方向为遗传学与临床基础研究。

通信作者:冯乔,116896944@qq.com。

(HDAC1) and contributing to the development of multiple organs, such as the lung, heart, and bone. Furthermore, NLK influences normal bone development through other important cellular signaling pathways, including Notch, NF- κ B, and STAT. NLK also modulates immune cells, including CD8⁺ single-positive (SP) thymocytes and Treg cells, to enhance the body's antiviral responses. Notably, NLK is involved in the initiation and progression of various cancers, including laryngeal, bladder, prostate, breast cancer, and melanoma, through different signaling pathways. Downregulation of NLK expression can inhibit or reverse tumor cell proliferation, migration, and invasion, suggesting that NLK may serve as a potential target for tumorigenesis, development, and diagnosis. Additionally, NLK is implicated in the pathogenesis of neurodegenerative diseases, such as Huntington's disease and spinocerebellar ataxia. This article reviews the mechanisms through which NLK regulates body development and contributes to the occurrence and progression of various diseases.

Keywords: Nemo-like kinase; Wnt signal; development; tumor; immune

Nemo 样激酶 (Nemo-like kinase, NLK) 是一种进化保守的非典型脯氨酸定向丝氨酸/苏氨酸丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) [1]。从蠕虫到人类均可观察到 NLK 蛋白的进化保守性,例如人类和小鼠 II 型 NLK 蛋白之间具有高度同源性[2]。

1 NLK 的信号途径概要

1994 年 NLK 被确定为果蝇基因 Nemo, 该基因是裸眼形态发生过程中眼睛感光细胞适当旋转所必需[3]。该酶于 1998 年首次克隆发现,小鼠体内与尼莫果蝇 NLK 的同源基因,并被证明与人类 Cdc2 和小鼠 Erk-2 序列相同。在脊椎动物中, NLK 被认为是 Wnt 信号通路的负调节因子, NLK 可以通过直接磷酸化 T 细胞因子 4, 调节 β -catenin-LEF/TCF 复合物的转录活性。这种磷酸化作用阻止 β -catenin-TCF4 复合物与 DNA 结合, 从而限制 β -catenin 通过 T 细胞因子/淋巴增强因子介导的靶基因转录[4]。NLK 拮抗 Wnt/ β -catenin 信号通路的另一种机制, 是通过激活转化生长因子- β 活化激酶 1 (transforming growth factor- β activated kinase 1, TAK1) 介导的非经典 Wnt 通路和 TAK1 结合蛋白 2 (TAK1 binding protein 2, TAB2) [5]。相关研究[6]结果表明, TAB2 可以作为支架蛋白直接与 NLK 相互作用, 从而使 NLK

与 TAK1 相互作用。另有, 相关研究[7]结果表明, NLK 相关的 prelamins A 识别因子 (nuclear prelamins A recognition factor, NARF) 是一种 E3 泛素连接酶, 可以与 NLK 形成复合物, 激活的 NLK 能够引起 T 细胞因子/淋巴增强因子的磷酸化和 NARF 泛素化介导的该复合物降解。相关研究[8]结果表明, NLK 是 Wnt 信号传导的负调控因子, 然而, 却很少有报道称 NLK 同时也能够积极促进 Wnt 信号通路。相关研究[9]结果表明, NLK 激活诱导淋巴增强因子 1 磷酸化和组蛋白去乙酰化酶 1 (Histone deacetylase 1, HDAC1) 解离促进了淋巴增强因子 1 (lymphatic enhancer factor 1, LEF1) 介导的靶基因转录。除作为 Wnt 信号调节因子外, NLK 还被证明可以调节包括 MAPK 在内的其他几种细胞信号通路, 例如: NLK 与信号转导、转录激活因子 3 (signal transduction and activator of transcription, STAT3) 的直接结合导致 STAT3 的 Ser727 位点磷酸化, 当然这些途径需要激活 TAK1-NLK 的级联反应[10]。NLK 能够通过 I κ B 激酶复合物和抑制 p65 易位抑制 NF- κ B 信号传导[11]。NLK 是 Notch 依赖性转录激活的负调节因子, 通过磷酸化 NotchICD, 从而减少这种三元复合物的形成[12]。NLK 在机体发育、慢性炎症、代谢和肿瘤中的信号途径如图 1 所示。

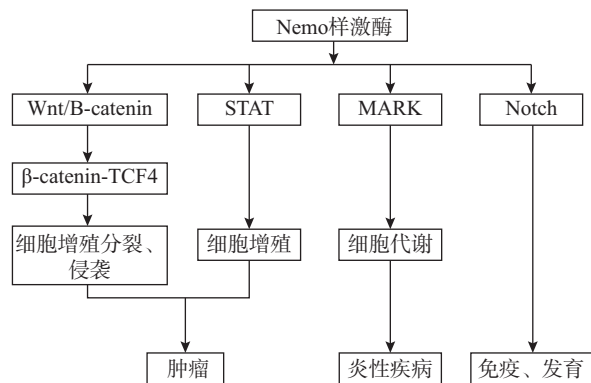


图 1 NLK 在机体发育、慢性炎症、代谢和肿瘤中的信号途径

2 NLK 在机体的生物学作用

2.1 NLK 与机体发育

NLK 最初被证明参与多种发育过程,如海胆中胚层形成、斑马鱼中胚层形成、中脑和前脑形成,非洲爪蟾和小鼠睾丸的卵母细胞成熟等^[13]。NLK 缺陷的动物表现出严重的表型特征,并将在出生后 12~36 h 内死亡,出生前由于肺部发育受损而变成紫绀型。这些小鼠的肺除了出现肺血管增厚外,还表现出肺泡变小和扁平。分析原因,可能是由于 NLK 缺失不能磷酸化 LEF1,引起血管内皮生长因子表达水平升高,导致肺上皮细胞和内皮细胞异常增殖。此外,使用从 NLK 缺陷动物分离出的小鼠胚胎成纤维细胞发现,与野生型细胞相比,缺陷小鼠的成纤维细胞增殖加快,细胞周期缩短^[14]。相关研究^[15]结果表明,NLK 的激活可以直接使 HDAC1 磷酸化,HDAC1 与 LEF1 结合,随后抑制 Wnt 靶基因的转录激活(包括支持细胞增殖的基因)。在多种转基因小鼠模型中,NLK 表达对骨骼发育的影响发现,成骨细胞前体 NLK 的条件失活分别导致小鼠小梁骨体积增加,雄性小鼠和雌性小鼠破骨细胞和成骨细胞数量减少^[16]。NLK 功能丧失会导致 Notch 靶标表达减少,并导致 Notch 介导的侧向抑制紊乱。此外,Notch 过度活跃可以补偿果蝇眼细胞中 Nmo 的缺失,表明 NLK 在神经发生过程中,促进前神经因子下游的 Notch 介导的侧向抑制^[17]。

2.2 NLK 对机体免疫

相关研究^[18]结果表明,大多数免疫细胞和有核血细胞的典型 Wnt 信号都是完整的,因为它影响造

血干细胞自我更新、骨髓 B 细胞发育、树突状细胞成熟和 T 细胞活化和迁移的很多过程。因此,这些细胞类型中 Wnt 信号通路的失调可导致免疫缺陷、慢性炎症和癌症等。此外,在 T 细胞发育方面,Wnt 信号通路是 T 细胞发育所有阶段必需的重要调节因子^[19]。将 Lck-Cre 小鼠与封闭的 NLK 小鼠杂交,以诱导 T 细胞谱系(包括早期 T 细胞祖细胞)中 NLK 的条件性缺失,这种缺失不会影响小鼠的健康以及白细胞、红细胞和淋巴组织的发育。尽管如此,相关研究^[20]结果表明,NLK 缺陷小鼠的单阳性 CD8⁺胸腺细胞显著减少,而对单阳性 CD4⁺胸腺细胞群没有任何影响。单阳性 CD8⁺胸腺细胞减少是由细胞死亡增加和 LEF1 和 HDAC1 磷酸化降低引起的,表明 NLK 在 CD8⁺胸腺细胞的存活过程中发挥重要作用。用 FoxP3Cre 小鼠敲除调节性 T 细胞(regulatory cell, Treg)中的 NLK,表明 TAK1 和 NLK 通过修饰 Foxp3 蛋白来调节 Treg 的抑制能力,即 Foxp3 的转录活性受 TAK1-NLK 介导的磷酸化调控,而 NLK 活性是维持稳态 Treg 数量所必需的^[21]。此外,结肠炎动物模型证明,NLK 活性是 Treg 介导的免疫抑制所必需的^[21]。

NLK 缺陷小鼠表现出严重的造血系统受损,包括造血细胞减少,骨髓腔中的脂肪组织减少以及骨衬细胞的数量减少。为阐明 NLK 在先天免疫应答中的作用,对建立的条件性髓细胞缺陷 NLK(NLK^{fl/fl}/Lyz2-Cre)的小鼠模型研究^[22]发现,NLK 被证实在 I 型干扰素信号传导的负调控中发挥作用。

3 NLK 在疾病中的作用

3.1 NLK 与肿瘤

NLK 表达失调可以影响包括肿瘤在内的各种疾病的发生和进展。相关研究^[23]结果表明,根据肿瘤类型不同,NLK 可分别作为肿瘤抑制因子或癌基因。在结直肠癌中,NLK 通过不依赖 p53 的信号通路抑制细胞生长并促进细胞凋亡^[24]。在乳腺癌细胞中,内分泌抵抗一直是雌激素受体阳性乳腺癌的主要临床挑战。NLK 过度表达会降低内分泌反应性,这可能是使用他莫昔芬治疗患者预后较差的重要因

素^[25]。NLK 在黑色素瘤中的表达与血管内皮生长因子受体 2 相关的微血管形成和黑色素瘤转移有关^[25]。NLK 在黑色素瘤患者的活检组织细胞中能够表达,但在转移性黑色素瘤中表达明显降低,这意味着 NLK 可能作为一种新的预后标志物^[26]。在人的喉癌、膀胱癌和前列腺癌组织中,下调 NLK 可抑制或逆转肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[26-28],表明 NLK 可能作为喉癌发展和诊断的潜在分子靶点^[29]。

3.2 NLK 和神经障碍性疾病

NLK 能够在大脑中进行高度表达,但其在成人大脑中的功能仍不清楚。脑内纹状体中 NLK 的过度表达会减轻脑萎缩,已经得到明确的印证。NLK 能够直接参与中枢神经系统疾病的其他几种蛋白质相互作用并使其磷酸化,与几种神经退行性疾病有着直接的关系,亨廷顿舞蹈症 (Huntington's disease, HD) 就是典型的例子。HD 是一种罕见的常染色体显性的神经退行性疾病^[30]。HD 的主要病因为患者第四号染色体上的亨廷顿 (Huntingtin, HTT) 基因发生变异,产生突变的亨廷顿蛋白质 (Huntingtin, HIT)^[30]。HTT 在神经元中广泛表达。相关研究^[30]结果表明,HTT 在纹状体细胞中是一种抗凋亡蛋白,能阻止胱天蛋白酶激活。纹状体中 NLK 的过度表达能够促使纹状体内 DARPP32 (一种多巴胺和环腺苷酸调节的磷蛋白) 磷酸化水平增加,从而减少亨廷顿氏病小鼠的 HTT 蛋白突变体聚集^[31]。脊髓和延髓性肌萎缩 (spinal bulbar muscular atrophy, SBMA) 是一种由雄激素受体 (androgen receptor, AR) 蛋白中的多聚谷氨酰胺扩增而引起的进行性神经肌肉疾病。然而,目前 SBMA 的确切致病机制仍然难以捉摸。值得注意的是,缺失一个 NLK 拷贝可挽救小鼠的 SBMA 表型,包括延长寿命。NLK 可以磷酸化突变的多聚谷氨酰胺扩增 AR,增强其聚集,并通过调节 AR-辅因子相互作用,促进 AR 依赖性基因转录,表明 NLK 在 SBMA 中发挥着重要的生物学作用^[32]。此外, NLK 还能够通过一种不依赖 AR 介导基因转录的机制调节着突变的 AR 片段,从而改变其毒性。该研究结果还揭示了一种针对 SBMA 治疗的新型药物开发途径^[32]。

3.3 NLK 与造血性疾病

在人类和多种鼠类戴蒙德-布莱克凡贫血 (Dymond-Blackvane anemia, DBA) 的模型中研究^[33]发现, NLK 在红细胞祖细胞和前体中长期过度激活,抑制 NLK 活性和抑制 NLK 表达,均可改善这些模型中的红细胞数量增加。人参的活性成分人参皂苷 Rb1 可抑制 NLK 表达并改善 DBA 体外模型中的红细胞生成。相关研究^[34]结果表明,人参皂苷 Rb1 能够上调 miR-208,并使其能够与 NLK mRNA 的 3'-UTR 结合,并导致其特定的靶向降解。二甲双胍是一种耐受性良好的 2 型糖尿病药物,具有多种细胞靶点。相关研究^[34]结果表明,二甲双胍可改善人类和斑马鱼 DBA 模型中的红细胞生成,而且证明该药对红细胞增殖和分化的影响是通过诱导 miR-26a 来抑制 NLK 表达,miR-26a 可识别 NLK 3' 内的结合位点非翻译区 (3'UTR) 促进转录本降解。通过比较人参皂苷 Rb1 介导的 miR-208 上调与二甲双胍介导的 miR-26 上调,均可促进红细胞增殖和分化。同时还得出一个结论,即通过 miRNA 结合独特的 3'-UTR 来靶向 NLK 表达,可以作为开发小分子抑制剂以靶向这种特定高度保守激酶结构域的可行替代方案^[32]。在 DBA 模型和临床患者样本中发现,异常的 NLK 激活始于巨核细胞/红细胞祖细胞分化阶段,通过化学和遗传手段抑制 NLK,可以增加小鼠和人类祖细胞 (包括来自 DBA 患者的骨髓细胞) 中的红细胞的生成^[35]。

4 结束语

NLK 除在机体发育过程中发挥着重要作用之外, NLK 表达与疾病的发生和发展也存在着密切的关系。NLK 已被证明在神经系统 and 大脑中可以高水平表达,然而,其在神经发育和神经退行性疾病中的作用仍然不是很清楚。关于 NLK 的功能研究仍在继续,相信未来的研究将不断地揭示 NLK 的功能,例如其是否具有组织依赖性,以及 NLK 是否可以影响其他器官的发育和其他疾病的进程。

参考文献

- [1] COULOMBE P, MELOCHE S. Atypical mitogen-activated protein kinases: structure, regulation and functions [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(8):1376–1387.
- [2] NITTARI G, ROY P, MARTINELLI I, et al. Rodent models of Huntington's disease: an overview [J]. *Biomedicine*, 2023, 11(12):3331.
- [3] ISHITANI T, ISHITANI S. Nemo-like kinase, a multifaceted cell signaling regulator [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(1):190–197.
- [4] PICCINNO E, SCALAVINO V, ARMENTANO R, et al. MiR-195-5p as regulator of γ -catenin and desmosome junctions in colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(23):17084.
- [5] LIU F, CAO Y L, ZHANG C, et al. Decreased DANCER contributes to high glucose-induced extracellular matrix accumulation in human renal mesangial cell via regulating the TGF- β /Smad signaling [J]. *FASEB J*, 2023, 37(5):e22926.
- [6] DAAMS R, MASSOUMI R. Nemo-like kinase in development and diseases: insights from mouse studies [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23):9203.
- [7] WILKES M C, JUNG K, LEE B E, et al. The active component of ginseng, ginsenoside Rb1, improves erythropoiesis in models of Diamond-Blackfan Anemia by targeting Nemo-like kinase [J]. *J Biol Chem*, 2021, 297(3):100988.
- [8] LV L T, WAN C H, CHEN B Y, LI M, et al. Nemo-like kinase (NLK) inhibits the progression of NSCLC via negatively modulating WNT signaling pathway. [J]. *Cell Biochem*, 2014, 115:81–92.
- [9] SONG J L, LIU Q, HAN L, et al. Hsa_circ_0009092/miR-665/NLK signaling axis suppresses colorectal cancer progression via recruiting TAMs in the tumor microenvironment [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1):319.
- [10] KASSOUF T, SUMARA G. Impact of conventional and atypical MAPKs on the development of metabolic diseases [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(9):1256.
- [11] HAN C S, YANG J J, ZHANG E, et al. Metabolic labeling of cardiomyocyte-derived small extracellular-vesicle (sEV) miRNAs identifies miR-208a in cardiac regulation of lung gene expression [J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(10):e12246.
- [12] ISHITANI T, HIRAO T, SUZUKI M, et al. Nemo-like kinase suppresses Notch signalling by interfering with formation of the Notch active transcriptional complex [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(3):278–285.
- [13] DAAMS R, MASSOUMI R. Nemo-like kinase in development and diseases: insights from mouse studies [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23):9203.
- [14] KE H N, MASOUMI K C, AHLQVIST K, et al. Nemo-like kinase regulates the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in alveolar epithelial cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:23987.
- [15] DAAMS R, SIME W, LEANDERSSON K, et al. Deletion of Nemo-like kinase in T cells reduces single-positive CD8⁺ thymocyte population [J]. *J Immunol*, 2020, 205(7):1830–1841.
- [16] CANALIS E, KRANZ L, ZANOTTI S. Nemo-like kinase regulates postnatal skeletal homeostasis [J]. *J Cell Physiol*, 2014, 229(11):1736–1743.
- [17] FERNANDES V M, PANCHAPAKESAN S S, BRAID L R, et al. Nemo promotes Notch-mediated lateral inhibition downstream of proneural factors [J]. *Dev Biol*, 2014, 392(2):334–343.
- [18] CHAE W J, BOTHWELL A L M. Canonical and non-canonical Wnt signaling in immune cells [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(10):830–847.
- [19] VAN LOOSDRECHT J, COFFER P J. The role of WNT signaling in mature T cells: T cell factor is coming home [J]. *J Immunol*, 2018, 201(8):2193–2200.
- [20] DAAMS R, SIME W, LEANDERSSON K, et al. Deletion of Nemo-like kinase in T cells reduces single-positive CD8⁺ thymocyte population [J]. *J Immunol*, 2020, 205(7):1830–1841.
- [21] FLESKENS V, MINUTTI C M, WU X M, et al. Nemo-like kinase drives Foxp3 stability and is critical for maintenance of immune tolerance by regulatory T cells [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(13):3600–3612.
- [22] LI S Z, SHU Q P, SONG Y, et al. Phosphorylation of

- MAVS/VISA by Nemo-like kinase (NLK) for degradation regulates the antiviral innate immune response [J]. *Nat Commun*, 2019,10(1):3233.
- [23] HUANG Y, YANG Y, HE Y, et al. The emerging role of Nemo-like kinase (NLK) in the regulation of cancers[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(12):9147-9152.
- [24] ISHITANI T, NINOMIYA-TSUJI J, NAGAI S, et al. The TAK1-NLK-MAPK-related pathway antagonizes signalling between beta-catenin and transcription factor TCF[J]. *Nature*, 1999, 399(6738):798-802.
- [25] YANG Y, ZHE H, MASSOUMI R, et al. Decreased expression of Nemo-like kinase in melanoma is correlated with increased vascularity and metastasis [J]. *Melanoma Res*, 2019,29(4):376-381.
- [26] CHOI K W, BENZER S. Rotation of photoreceptor clusters in the developing *Drosophila* eye requires the Nemo gene[J]. *Cell*, 1994, 78(1):125-136.
- [27] SHI C, XU L Q, TANG Z Y, et al. Knockdown of Nemo-like kinase promotes metastasis in non-small-cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2019,42(3):1090-1100.
- [28] 郭广秀,李里香. Nemo 样激酶在肿瘤研究中的进展[J].*临床与实验病理学杂志*,2012,28(7):790-792.
- [29] JU H, KOKUBU H, TODD T W, et al. Polyglutamine disease toxicity is regulated by Nemo-like kinase in spinocerebellar Ataxia type 1[J]. *J Neurosci*, 2013,33(22):9328-9336.
- [30] 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(3):963-968.
- [31] JIANG M L, ZHANG X Y, LIU H S, et al. Nemo-like kinase reduces mutant huntingtin levels and mitigates Huntington's disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(8):1340-1352.
- [32] TODD T W, KOKUBU H, MIRANDA H C, et al. Nemo-like kinase is a novel regulator of spinal and bulbar muscular atrophy[J]. *ELife*, 2015, 4: e08493.
- [33] WILKES M C, SHIBUYA A, LIU Y L, et al. Activation of Nemo-like kinase in diamond blackfan Anemia suppresses early erythropoiesis by preventing mitochondrial biogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2024,300(8):107542.
- [34] WILKES M C, SIVA K, VARETTI G, et al. Metformin-induced suppression of Nemo-like kinase improves erythropoiesis in preclinical models of Diamond-Blackfan Anemia through induction of miR-26a [J]. *Exp Hematol*, 2020, 91: 65-77.
- [35] WILKES M C, SIVA K, CHEN J, et al. Diamond Blackfan Anemia is mediated by hyperactive Nemo-like kinase[J]. *Nat commun*, 2020,11(1):3344.
- [收稿日期:2024-10-25]
- [责任编辑:杨建香 英文编辑:李佳睿]