

- growth factor in the nitrofen CDH model[J]. *Pediatr Surg Int*, 2011, 27(6):573-577.
- [6] Wang Y, Liu XM. Expression of connective tissue growth factor and low density lipoprotein related protein induced by transforming growth factor beta-1 in human pulmonary fibroblasts-1 [J]. *Beijing Da Xue Xue Bao*, 2006, 38(5):506-509.
- [7] Segarini RP, Nesbitt JE, Li D, et al. The Low density lipoprotein receptor-related protein macroglobulin receptor is a receptor for connective tissue growth factor [J]. *J Bio Chem*, 2001, 276(4):40659-40667.
- [8] Weng HL, Ciuclan L, Liu Y, et al. Profibrogenic transforming growth factor- β /activin receptor-like kinase 5 signaling via connective tissue growth factor expression in hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2007, 46(4):1257-1270.
- [9] Adam O, Lavall D, Theobald K, et al. Rac1-induced connective tissue growth factor regulates connexin 43 and N-cadherin expression in atrial fibrillation [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(5):469-480.
- [10] Brigstock DR. Connective tissue growth factor (CCN2, CTGF) and organ fibrosis: lessons from transgenic animals [J]. *J Cell Commun Signal*, 2010, 4(1):1-4.
- [11] Pan LH, Yamauchi K, Uzuk M, et al. Type II alveolar epithelial cells and interstitial fibroblasts express connective tissue growth factor in IPF [J]. *Eur Respir J*, 2001, 17(6):1220-1227.
- [12] Zhang P, Shi M, Wei Q, et al. Increased expression of connective tissue growth factor in patients with urethral stricture [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2008, 251(3):199-206.
- [13] Arribillaga L, Dotor J, Basagoiti M, et al. Therapeutic effect of a peptide inhibitor of TGF- β on pulmonary fibrosis [J]. *Cytokine*, 2011, 53(3):327-333.
- [14] Ono A, Utsugi M, Masubuchi K, et al. Glutathione redox regulates TGF- β -induced fibrogenic effects through Smad3 activation [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(2):357-362.
- [15] Samarin J, Cicha I, Goppelt-Struebe M. Cell type-specific regulation of CCN2 protein expression by PI3K-AKT-FoxO signaling [J]. *J Cell Commun Signal*, 2009, 3(1):79-84.
- [16] Sonnylal S, Shi-wen X, Leoni P, et al. Selective expression of connective tissue growth factor in fibroblasts in vivo promotes systemic tissue fibrosis [J]. *Arthritis Rheumatism*, 2010, 62(5):1523-1532.
- [17] Léger C, Ni A, Andonegui G, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of hIGF- I B in mouse lungs induced prolonged inflammation but no fibroproliferation [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 298(4):L492-500.
- [18] Kopinski P, Sadek K, Szczeklik J, et al. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF- I) in alveolar macrophages and lymphocytes obtained by bronchoalveolar lavage (BAL) in interstitial lung diseases (ILD). Assessment of IGF- I as a potential local mitogen and antiapoptotic cytokine [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2006, 44(4):249-258.
- [19] Lee YH, Mungunsukh O, Tutino RL, et al. Angiotensin-II-induced apoptosis requires regulation of nucleolin and Bcl-xL by SHP-2 in primary lung endothelial cells [J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(10):1634-1643.
- [20] Finckenberg P, Inkinen K, Ahonen J, et al. Angiotensin II induces connective tissue growth factor gene expression via calcineurin-dependent pathways [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(1):355-366.
- [21] Rodriguez-Vita J, Ruiz-Ortega M, Ruperez M, et al. Endothelin-1, via ETA receptor and independently of transforming growth factor- β , increases the connective tissue growth factor in vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2005, 97(2):125-134.
- [22] Schroll S, Arzt M, Sebah D, et al. Improvement of bleomycin-induced pulmonary hypertension and pulmonary fibrosis by the endothelin receptor antagonist Bosentan [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2010, 170(1):32-36.

(收稿日期:2011-12-09 修回日期:2012-02-19)

• 综 述 •

MKK4 在肿瘤发生发展中的作用*

罗洪亮 综述, 朱培谦[△] 审校

(南昌大学第二附属医院胃肠外科, 南昌 330006)

关键词: MKK4 基因; 机制; 丝裂原活化蛋白激酶; 综述

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2094-04

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 是真核生物信号传递网络中的重要途径之一, 在调控细胞凋亡、生长以及一些重要基因的表达中发挥重要作用^[1]。现在已经确认在哺乳动物中存在 4 条不同的 MAPK 通路: extra-

cellular signal-regulated kinase (ERK)、ERK5、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、p38, 其中 JNK 和 P38 被称为应激活化 MAPK 通路^[2]。一系列的 MKKs 可以激活 JNK 和 P38, 如 MKK3、MKK6 可以激活 P38, MKK7 可以激活 JNK, 只有 MKK4 能同

时激活 JNK 和 P38。

研究表明 JNK 和 P38 具有肿瘤抑制作用^[3], 大约 5% 的各种肿瘤中发现了丧失功能的 MKK4 基因突变^[4]。但另外一些学者的研究指出 MKK4 和 JNK 参与肿瘤的形成。这说明这条通路在肿瘤的发生、发展扮演着复杂的角色。因此, 笔者描述 MKK4 的生物学性状并讨论它是怎样调控肿瘤发生、发展的。

1 MKK4 的生物学性状

1.1 MKK4 的结构 人的 MKK4 基因位于第 17 染色体, 它编码一条含 399 个氨基酸的蛋白^[5]。所有哺乳动物的 MKK 家族约有 40% 的同源性, MKK4 与 MKK7 最为相似, 大约有 50% 相同^[6]。MKK4 蛋白结构可分为 3 个部分: 位于 N 端的 D 域序列在信号级联反应中与 JNK 和 P38 连接; 中间为激酶区(KD), 包括 11 个亚基, 7, 8 亚基间的 S-I-A-K-T 序列的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化后激活 MKK4; 位于 C 端的 DVD 域序列能与上游的各种 MKKKs 级联(图 1)。MKK4 与上下游之间的相互作用被看作是这条 MAPK 信号传导通路的关键所在^[7]。

1.2 MKK4 的组织分布 MKK4 mRNA 广泛的表达于成年小鼠和人体的组织中, 并且在脑的表达最高, 特别是在大脑皮质、丘脑、海马体和小脑。在小鼠早期胚胎形成过程中(胚胎形成的前 10 d)MKK4 仅局限地表达于中枢神经系统, 从 12 d 开始, MKK4 开始在肝脏中表达, 并与肝的分化和生长发育相一致。亚细胞定位研究显示 MKK4 蛋白主要存在于细胞质中, 一些细胞核中也有少量表达^[8]。MKK4 在免疫系统中也起到一定的作用, 但确切的作用尚不完全清楚, 一组研究表明 MKK4 缺失会严重影响 B 细胞和 T 细胞的生长发育, 但另一组研究却没有发现明显的证据表明 MKK4 对 B、T 细胞的生长发育是必需的。MKK4 信号传导通路同样作用于由于心肌负荷量增大引起的心肌代偿性肥大^[9]。

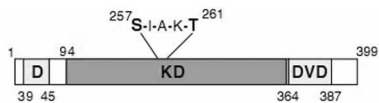


图 1 MKK4 蛋白结构

2 MKK4 在 MAPK 的机制

2.1 上游基序激活 MKK4 MKKKs 通过磷酸化位于 MKK4 蛋白 KD 区域中 Ser-Ile-Ala-Lys-Thr 序列内的丝氨酸/苏氨酸残基而激活 MKK4。这些 MKKKs 包括促分裂素细胞外调节激酶激酶(MEKK)、混合酶谱激酶(MLK)、细胞凋亡信号调节激酶 1(ASK1)、转化生长因子-β(TGF-β)-活化蛋白激酶-1(TAK1)和 T_pL₂^[10]。不同的 MKKKs 激活不同的 MKKS, 例如, MEKK1 和 TAK1 都能磷酸化 MKK4 和 MKK7, 而 MEKK4 只能磷酸化 MKK4, 这是因为 MEKK1 能连接到 MKK4 和 MKK7 都有的 C-末端 DVD 位点上, 而 MEKK4 只能特异性地连接到 MKK4。一个关于 MEKK1, MKK4, JNK 的连续二聚交互体信号传导通路模型已被提出, 即 MEKK1 结合 MKK4 并使之磷酸化, 然后再脱离 MKK4; 活化的 MKK4 连接到 JNK 并使之磷酸化。除了 MAPK 信号传导通路中各成分之间的直接相互作用之外, 其相关的支架蛋白也能通过改变这条通路的成分和促进他们的激活来调节这条通路。

2.2 MKK4 激活 JNK 和 P38 MKK4 是 MKKS 家族中唯一能同时磷酸化和激活 JNK 和 P38 通路的激酶, 并且 MKK4 能激活所有的 JNK 亚型(JNK1、JNK2、JNK3)和部分 P38 亚型

(p38a、p38b)。

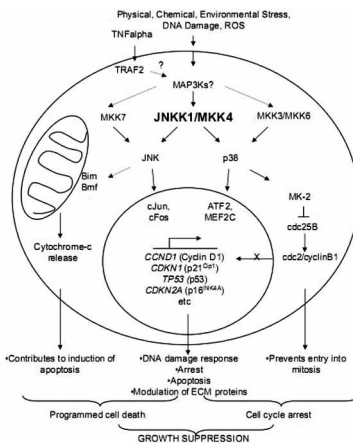


图 2 MKK4 促细胞凋亡的机制

2.2.1 MKK4-JNK 调节细胞凋亡 对于 JNK 通路, 一些体外的研究提示 MKK4 能磷酸化 JNK 酪氨酸残基, 而 MKK7 能磷酸化苏氨酸残基, 这些结果就引出了一个关于 MKK4、MKK7 协同激活 JNK 通路的假说。一些利用特定缺失 MKK4 和 MKK7 的小鼠胚胎干细胞和胚胎成纤维细胞在小鼠体内的研究也支持这个假说, 这些研究同时显示不同的刺激可以有差别的利用的 MKK4 和 MKK7: 在 MKK7 缺失的胚胎成纤维细胞中, JNK 对细胞炎性因子、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-1 等刺激所引起的激活效应几乎完全消失, 而在 MKK4 缺失的细胞中, 其激活效应降低 50%。这就说明在这些因素引起的 JNK 激活效应中 MKK7 是必须的, 而 MKK4 则是选择性的; 以此相对的, 在应对外界环境的刺激(紫外线、热休克、渗透压变化)引起的 JNK 激活效应, MKK4、MKK7 表现出相似的作用^[11]。

JNK 通路一直被认为与调节细胞凋亡有关, 但它的机制还不是完全清楚。目前提出了两个假说来解释 JNK 如何调节细胞凋亡。第一个假说是, JNK 诱导细胞凋亡, 它通过在线粒体水平激活内源性细胞凋亡途径的促凋亡蛋白并且诱导细胞色素 C 释放, 然后启动 caspase 级联反应引起细胞凋亡。JNK 能直接磷酸化并激活含 BH3 结构域的促凋亡蛋白 Bim、Bmf, 使它们从细胞骨架上脱落下来并从新分配到线粒体膜上, 引起线粒体膜的通透性改变并释放细胞色素 C。JNK 调节紫外线诱导成纤维细胞凋亡的实验支持这个假说, 缺失 JNK 的成纤维细胞能完全抵抗紫外线诱导的细胞凋亡, 并且明显减少细胞色素 C 的释放, 而该细胞的由 Fas/CD95 介导的外源性细胞凋亡途径不受影响^[12]。另外一种假说是, JNK 对外源性细胞凋亡途径起调节作用, 如对 Fas-FADD-caspase 和 TNFR1-TRADD-FADD-caspase 通路的调节, 但只起促进作用而不是启动作用。JNK 的持续活化是 TNFα 介导的细胞凋亡所必需的, JNK 的持续活化对一些抗细胞凋亡分子如 cFLIP(细胞型 FADD 样白细胞介素-1 转换酶抑制蛋白)的失活是必要的。在这些调节过程中, JNK 是通过影响细胞对活化 AP-1 家族(cJun、cFos 等)产生的反应来调节细胞周期调节蛋白的表达。这些通路中的 JNK 的浓度和持久度决定了细胞在接受外源性调往信号的刺激时是否会凋亡^[13](图 2)。

2.2.2 MKK4-P38 与细胞周期 越来越多的研究表明, MKK4 能激活 P38 进而参与细胞周期的调节, 在用 MKK4 缺陷胚胎成纤维细胞研究 P38 是否有激活障碍的实验过程中, 当受到的刺激是 TNF 和白细胞介素-1 的时候, P38 的活化明

显受限。在缺乏特异性激活 P38 的 MKK3, MKK6 的胚胎成纤维细胞中, MKK4 接受紫外线的刺激能激活 P38 的实验也证明 MKK4 能激活 P38。在这个试验中还观察到可以通过改变 MKK4 的水平来调节 P38 活化反应的强弱。与 MKK4 激活 JNK 过程中先是酪氨酸残基磷酸化不同的是, MKK4 激活 P38 过程中是酪氨酸, 苏氨酸残基同时磷酸化^[14]。MKK4 激活 P38 后通过两条途径来遏止细胞周期进程, 一条是直接磷酸化并抑制 cdc25B 分子, 使 CyclinB/cdc2 复合物不能被激活, 阻止进入有丝分裂。这种机制在肿瘤细胞周期阻滞中非常重要: 紫外线和烷化剂类化疗药物能介导这种依赖 P38 的 G₁/S 或 G₂/M 细胞周期停滞通路^[15]。另外一条和 JNK 一样通过调控细胞周期基因的表达使细胞周期停滞或细胞凋亡。JNK 和 P38 都能通过磷酸化活化蛋白-1 家族 (AP-1) 转录因子的 c-Jun, ATF-2, MEF2C 亚基来调节 AP-1 的活性, 而一些细胞调节蛋白包括 Cyclin D1, p53, p21Cip1, p16INK4A, p19Arf 都被认为是被 AP-1 调节的靶基因, 这些基因的编码产物都参与调节细胞凋亡和 DNA 损伤反应^[16]。

3 MKK4 与肿瘤

过去的研究表明 MKK4 对肿瘤的发生、发展的起调节作用, MKK4 是肿瘤抑制基因或是肿瘤转移抑制基因, 但也有一部分研究提示它是亲癌基因。这说明 MKK4 和它下游的 JNK、P38 在肿瘤的进展过程中有着更为复杂的作用。

3.1 MKK4 基因的突变对肿瘤的抑制作用 抑癌基因的缺失或是失活会促进肿瘤的形成和发展, MKK4 作为抑癌基因的最早在 1997 年, 有研究发现 2 株胰腺癌和肺癌细胞株均缺失编码 MKK4 的基因位点。并且他们对 88 株来自结肠癌, 乳腺癌、胰腺癌、睾丸癌的细胞株的研究发现 MKK4 基因发生了 2 种无意义的突变和 3 种错义的突变, 而这些突变导致一些 MKK4 蛋白的关键亚基无法合成或者具有重要功能的氨基酸被替换致使无法磷酸化 JNK。另一个支持 MKK4 具有肿瘤抑制作用的是 MKK4 基因显性无意义的突变能促使胚胎干细胞变异并提高致瘤性。近年的研究发现原发性的胰腺癌、胆管癌、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌 MKK4 基因的错义或无义的突变率为约。同样的突变在肺癌内也发现。另外在对胰腺癌的研究中还发现 MKK4(+) 的胰腺癌患者的死亡率只有 MKK4(-) 胰腺癌患者的一半, MKK4 与存活时间相关^[17]。

3.2 MKK4 的肿瘤转移抑制作用 MKK4 同样与肿瘤的转移有关。研究发现在正常前列腺上皮组织中有高水平的 MKK4 蛋白表达, 前列腺肿瘤组织中 MKK4 表达显著降低, 并且发现 MKK4 的低水平表达与转移能力有关。有研究将具有高度转移性的小鼠前列腺癌细胞株 AT6.1(缺乏 MKK4 表达) 和转染了 MKK4 的该种细胞株(AT6.1-MKK4) 注入到重度联合免疫缺陷的小鼠体内, 观察他们的肺转移情况。结果显示与 AT6.1(缺乏 MKK4 表达) 的小鼠相比, AT6.1-MKK4 的小鼠肺肉眼转移灶明显减少, 并且存活时间显著延长, 而原发肿瘤灶无明显差异。说明了 MKK4 具有肿瘤转移抑制作用。同时, 在 AT6.1-MKK4 的小鼠肺内发现了微转移灶提示肿瘤细胞已从原发灶逃离但在肺里的生长得到抑制。此外, JNK 另外一个激活体 MMK7, 也能通过抑制 AT6.1 细胞在肺的克隆来抑制转移; 而 P38 的激活者 MKK6 却不能, 说明 MKK4 是通过介导 JNK 通路来抑制前列腺癌的转移。最近 Victoria 等^[18] 提出肿瘤细胞内 MKK4 蛋白表达的调节是在 MKK4 mRNA 翻译 MKK4 蛋白阶段的假说, 他们用 PCR 和免疫印迹法检测了人类 PC3, LNCaP, C4-2, DuPro 和 DU145 前列腺癌

细胞株, SKOV3ip.1, SKOV3, CaOV3, HeyA8 卵巢癌细胞株, Hela 宫颈癌细胞株的 MKK4 蛋白表达量和 MKK4 mRNA 量并以小鼠脑细胞作为阳性对照, 不表达 MKK4 的 ASPC-1 胰腺癌细胞株作为阴性对照。结果发现在这些不同细胞的细胞核中 MKK4 蛋白和 MKK4 mRNA 都没有明显的差异, 而在胞浆中, MKK4 高表达细胞的 MKK4 蛋白量和 MKK4 mRNA 量都明显高于 MKK4 低表达细胞, 提示 MKK4 表达的调控在翻译阶段。

Yamada 等^[19] 的研究发现与正常的卵巢上皮细胞相比, 卵巢癌细胞的 MKK4 蛋白表达同样降低了, 并且 MKK4 蛋白表达水平高的卵巢癌转移能力较 MKK4 缺乏的明显降低并且存活期延长了 70%。将人类卵巢癌细胞株 SKOV3ip.1(很少表达 MKK4 蛋白) 和转染了 MKK4 的 SKOV3ip.1 细胞株注射到免疫缺陷的小鼠腹腔中, 30 d 后发现转染了 MKK4 的 SKOV3ip.1 细胞株引起的网膜转移灶较无 MKK4 的降低了 88%^[20]。

还有研究表明 MKK4 对肿瘤转移抑制的调控可能是通过降低肿瘤细胞的黏附作用、促进细胞凋亡和抑制细胞的增殖实现的。实时定量 PCR 显示注入癌细胞株后第 3 天在网膜上出现的两组癌细胞并无明显差别; 用镜下观察和免疫组化法检测的两组微小转移灶也无明显差别。用 BrdU(S 期标记物) 和 pH3(M 期标记物) 同时标记到两组微转移灶的癌细胞内, 发现标记了 BrdU 和 pH3 的 SKOV3ip.1-MKK4 癌细胞较未转染 MKK4 的明显减少, 提示 SKOV3ip.1-MKK4 细胞很少通过细胞周期中的 S、M 期而处于休眠期或是凋亡状态。而在 SKOV3ip.1-MKK4 细胞中细胞周期抑制蛋白 p21 明显增高, 约是对照组的 10 倍^[21]。在另外一个卵巢癌动物实验模型中, 发现 p38 的另一个激活者 MKK6 同样能抑制肿瘤的转移, 而 JNK 的另一激活者 MKK7 却不能, 说明 MKK4 是通过介导 p38 通路来抑制卵巢癌的转移。这些研究说明 MKK4 在不同的器官和不同的环境下通过介导不同的 MAPK 通路来发挥肿瘤转移抑制作用。

3.3 MKK4 的亲癌性 并不是所有有关 MKK4 的研究都支持 MKK4 基因为抑癌基因, 同样, 也有一部分实验说明 MKK4 具有促癌作用。在一些缺乏内源性 MKK4 的乳腺癌和胰腺癌细胞株经异位表达的 MKK4 刺激后肿瘤细胞的增殖能力和侵袭力都明显增强。相反的, 用 siRNA 技术敲除 MMK4 阳性的乳腺癌细胞株的 MKK4 基因后发现癌细胞的非停滞性生长减弱, 细胞凋亡易感性和抑制肿瘤生长能力增强。另外, 人支气管上皮细胞株 MKK4 基因有意义的突变能增加细胞的增殖能力和侵袭力。这些研究都提示 MKK4 的亲癌性。

此外, Cunningham 等^[22] 用特异性靶向断裂胰腺癌细胞株 PL5 的 MKK4 基因的实验同样论证了 MKK4 的促癌作用。静脉注射原代 PL5 细胞或是 MKK4(+) 的小鼠, 有大部分的小鼠发生肺转移; 而注射 MKK4 的小鼠只有少数发生肺转移。当皮下注射 MKK4(-) PL5 时, 小鼠肿瘤的体积翻倍时间较注射原代 PL5 或 MKK4(+) 的明显延长, 都提示 MKK4 促进肿瘤生长。在促癌作用机制中 MKK4 主要通过介导 JNK 通路来促进肿瘤的生长。Huang 等^[23] 用免疫组化和 RT-PCR 技术对多例喉鳞癌的研究发现喉鳞癌组织 MKK4 的阳性表达率远高于癌旁正常组织 MKK4 的表达, 并且 MKK4 的阳性表达与淋巴结转移正相关。Finegan 和 Tournier^[24] 建立了一种新的小鼠模型, 即用致癌物诱导特异性缺失 MKK4 的表皮生成乳头状瘤。结果发现特异性缺失 MKK4 表皮的小鼠能抵抗抗

瘤发生。其机制是 MKK4 通过激活 JNK 信号通路来增加表皮生长因子的表达来促进细胞增殖和肿瘤形成。总之,这些研究表明 MKK4 对肿瘤发生、发展的调节方式取决于不同的条件,并且能根据不同的组织类型、不同环境以及与其他的细胞内信号通路的相互作用选择不同的途径。

4 展 望

MKK4 作为 MAPK 信号传导通路的构成部分,在调节不同肿瘤的发生发展所到作用差异性提示它在调节过程中可能涉及到多种因子的共同作用,存在着极为复杂的机制,人们的认识并不是十分清楚。因此,还需通过建立合适的实验模型,加强对 MKK4 的研究,进一步了解它在不同肿瘤的发病中机制,明确它与不同肿瘤的发生发展及预后的关系,为肿瘤的早期诊断和个体化靶向治疗奠定基础。

参考文献:

- [1] Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signaling cascades[J]. *Nature*, 2001, 410(6824): 37-40.
- [2] Roger JD. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases[J]. *Cell*, 2000, 103(2): 239-252.
- [3] Kennedy NJ, Davis RJ. Role of JNK in tumor development [J]. *Cell Cycle*, 2003, 2(3): 199-201.
- [4] Teng DH, Baumgard M, Bell R, et al. Human mitogen-activated protein kinase 4 as a candidate tumor suppressor [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(19): 4177-4182.
- [5] Derijard B, Ulevitch RJ. Independent human MAP kinase signal transduction pathways defined by MEK and MKK isoforms[J]. *Science*, 1995, 267(5198): 682-685.
- [6] Cuenda A. Mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MKK4)[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2000, 32(6): 581-587.
- [7] Takekawa M, Tatebayashi K, Saito H. Conserved docking site is essential for activation of mammalian MAP kinase kinases by specific MAP kinase kinase kinases[J]. *Mol Cell*, 2005, 18(3): 95-306.
- [8] Tournier C, Barrett T, Davis RJ. The MKK7 gene encodes a group of c-Jun NH2-terminal kinase kinases[J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(2): 1569-1581.
- [9] Swat W, Yang D, Xavier RJ, et al. SEK1/MKK4 is required for maintenance of a normal peripheral lymphoid compartment but not for lymphocyte development [J]. *Immunity*, 1998, 8(5): 625-634.
- [10] Tournier C, Dong C, Davis RJ. MKK7 is an essential component of the JNK signal transduction pathway activated by proinflammatory cytokines [J]. *Genes Dev*, 2000, 15(11): 1419-1426.
- [11] Kishimoto H, Nakagawa K, Seo J, et al. Different properties of SEK1 and MKK7 in dual phosphorylation of stress-induced activated protein kinase SAPK/JNK in embryonic stem cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(19): 16595-16601.
- [12] Lin A. Aöve-year itch in TNF-alpha cytotoxicity: the time factor determines JNK action[J]. *Dev Cell*, 2006, 10(3): 277-278.
- [13] Brancho D, Tanaka N, Tanaka Y, et al. Mechanism of p38 MAP kinase activation in vivo[J]. *Genes Dev*, 2003, 17: 1969-1978.
- [14] Manke IA, Nguyen A, Yaöe MB. MAPKAP kinase-2 is a cell cycle checkpoint kinase that regulates the G2/M transition and S phase progression in response to UV irradiation[J]. *Mol Cell*, 2005, 17(1): 37-48.
- [15] Shaulian E, Karin M. AP-1 as a regulator of cell life and death[J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(5): E131-136.
- [16] Xin W, Yun KJ, Su GH, et al. MAP2K4/MKK4 expression in pancreatic cancer: genetic validation of immunohistochemistry and relationship to disease course [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8516-8520.
- [17] Vander Griend DJ, Kocherginsky M, Rinker-Schaeffer CW. Suppression of metastatic colonization by the context-dependent activation of the c-Jun NH2-terminal kinase kinases JNKK1/MKK4 and MKK7 [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10984-10991.
- [18] Victoria LR, Ore S, Kristen O, et al. Mitogen-activated protein kinase kinase 4/c-Jun NH2-terminal kinase kinase 1 protein expression is subject to translational regulation in prostate cancer cell lines [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(3): 501-508.
- [19] Yamada SD, Hickson JA, Hrobowski Y, et al. Mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MKK4) acts as a metastasis suppressor gene in human ovarian carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(22): 6717-6723.
- [20] Lotan T, Hickson J, Rinker-Schaeffer CW. c-Jun NH2-terminal kinase activating kinase 1/mitogen-activated protein kinase kinase 4-mediated inhibition of SKOV3ip. 1 ovarian cancer metastasis involves growth arrest and p21 up-regulation [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(7): 2166-2175.
- [21] Hickson JA, Huo D, Yamada SD. The p38 kinases MKK4 and MKK6 suppress metastatic colonization in human ovarian carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(4): 2264-2270.
- [22] Cunningham SC, Gallmeier E, Falco G, et al. Targeted deletion of MKK4 in cancer cells: a detrimental phenotype manifests as decreased experimental metastasis and suggests a counter weight to the evolution of tumor-suppressor loss [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(11): 5560-5564.
- [23] Huang C, Huang K, Chen HY, et al. Overexpression of mitogen-activated protein kinase kinase 4 and nuclear factor-kappaB in laryngeal squamous cell carcinoma: a potential indicator for poor prognosis [J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(1): 89-95.
- [24] Finegan KG, Tournier C. The mitogen-activated protein kinase kinase 4 has a pro-oncogenic role in skin cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(14): 5797-5806.