

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.17.008

microRNA-622 调控 DYRK2 在结肠癌中表达并促进结肠癌细胞 SW1116 侵袭转移*

魏晰麟, 杜健峰, 王 勇, 卢佳宁, 娄 琳, 孙 洁, 周忠笑, 张 健, 曾宪东[△]
(沈阳医学院附属中心医院普外三科 110024)

[摘要] **目的** 探讨微小 RNA622(miRNA-622, miR-622)及双重特异性酪氨酸调节激酶 2(DYRK2)在结肠癌组织及结肠细胞系 SW1116、SW480 中的表达情况并研究其对 SW1116 侵袭转移能力的影响。**方法** 选取 82 例结肠癌及癌旁组织标本,培养结肠癌细胞系 SW1116、SW480 及正常结肠上皮细胞系 NCM460 细胞。Real time PCR 检测组织及细胞中 miR-622 的表达,Real time PCR、免疫组织化学、Western blot 检测 DYRK2 基因及蛋白的表达并行 Pearson 相关性分析。在 SW1116 中转染 miR-622 mimics 上调 miR-622 表达,同时对照(NC)组转染阴性序列并验证,Real time PCR 及 Western blot 进一步检测上调 miR-622 后 SW1116 中 DYRK2 基因及蛋白表达水平,同时用 Transwell 法检测 SW1116 细胞侵袭转移能力的变化。**结果** Real time PCR 及 Western blot 结果显示,相比于癌旁组织和正常结肠上皮细胞系 NCM460,结肠癌组织及结肠癌细胞 SW1116 中 miR-622 mRNA 呈高表达而 DYRK2 mRNA 及蛋白呈低表达,两者表达呈明显负相关($r=0.916, P<0.01$)。转染 miR-622 mimics 后,Real time PCR 及 Western blot 结果显示,相比于 NC 组,miR-622 mimics 组 DYRK2 mRNA 及蛋白表达水平减低($P<0.01$)。相应的,Transwell 结果显示,相比于 NC 组,SW1116 细胞转染 miR-622 mimics 后侵袭转移能力明显增强($P<0.01$)。**结论** 结肠癌中 miR-622 呈高表达而 DYRK2 呈低表达,上调 miR-622 可负性调控 DYRK2 表达并促进 SW1116 细胞侵袭转移。

[关键词] 微 RNA-622;DYRK2;结肠肿瘤;肿瘤浸润;肿瘤转移

[中图分类号] R656.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)17-2285-05

MicroRNA-622 regulates DYRK2 expression in colon cancer and promotes migration in colon cancer cell SW1116*

WEI Xilin, DU Jianfeng, WANG Yong, LU Jianing, LOU Lin, SUN Jie,
ZHOU Zhongxiao, ZHANG Jian, ZENG Xiandong[△]

(The 3rd Department of General Surgery, Central Hospital Affiliated to Shenyang
Medical College, Shenyang, Liaoning 110024, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of microRNA-622(miR-622) and dual specificity tyrosine phosphorylation- regulated kinase 2 (DYRK2) in colon cancer tissues and cell lines and explore the effect of miR-622 on SW1116 cells migration and invasion. **Methods** Eighty-two colon cancer tissues and paired para-tumor tissue specimens were collected. Colon cancer cell line SW1116, SW480 and normal human colon epithelial cell line NCM460 were cultured. MiR-622 was detected by using Real time PCR, DYRK2 expression was measured by using immunohistochemistry, Real time PCR and Western blot in tissue level and cell level, respectively. The relation of miR-622 and DYRK2 was analyzed by Pearson correlation analysis. miR-622 mimics transfection was conducted to up-regulate miR-622, while negative control, NC group were transfected with control sequence. Expression of DYRK2 was evaluated by using Real time PCR and Western blot, while Transwell chamber assays were used to assess the migration ability changes. **Results** Real time PCR and Western blot results showed that miR-622 mRNA was highly expressed in colorectal cancer tissue and colon cancer cell SW1116, whereas DYRK2 mRNA and protein were lowly expressed when compared with paracancerous tissue and normal colonic epithelial cell line NCM460. An obvious negative correlation was showed between miR-622 and DYRK2($r=0.916, P<0.01$). Compared to NC group, DYRK2 mRNA and protein expression were down-regulated after transfection of miR-622 mimics, which was observed through Real time PCR and Western blot($P<0.01$). Correspondingly, compared to NC group, the migration ability of SW1116

* 基金项目: 辽宁省社会发展公关计划项目(2015020377); 沈阳市科技创新专项基金(F15-139-9-07); 沈阳医学院科技基金项目(2018011)。

作者简介: 魏晰麟(1979-), 副主任医师, 硕士, 主要从事非编码 RNA 与结肠癌研究。 [△] 通信作者, E-mail: ZXD_landy1116@163.com。

was remarkably enhanced after transfection of miR-622 mimics ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of miR-622 is high and DYRK2 is low in colon cancer. Up-regulation of miR-622 could negatively regulate DYRK2 expression and promote SW1116 cells migration.

[Key words] microRNA-622; DYRK2; colonic neoplasms; neoplasm invasiveness; neoplasm metastasis

作为消化系统最常见的恶性肿瘤,结肠癌被认为是肿瘤相关死亡的常见原因之一。持续积累的基因学及表观遗传学失调与结肠癌的发生发展密切相关^[1]。尽管包括手术、放疗、化疗在内的多种治疗方式均取得了不错的进展,但结肠癌患者 5 年生存率依然不高^[2]。结肠癌的不良预后往往认为与其淋巴结转移和高复发率密切相关^[3]。

微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一组进化上相对保守的非编码 RNA,其在多种肿瘤中通过调控靶基因的表达而被认为是癌基因或抑癌基因参与到肿瘤的多种生物学行为中^[4]。miR-622 位于人类基因组 13q31.3 染色体,并被报道作为抑癌基因参与到包括肝癌、肺癌及胶质瘤等多种恶性肿瘤中^[5-7]。目前,关于 miR-622 在结肠癌中的功能尚有争议。BAL-AGUER 等^[8]通过 miRNA 芯片研究发现,相比于癌旁组织,miR-622 在结肠癌组织中呈相对高表达。到目前为止,关于 miR-622 是否可以影响结肠癌侵袭转移及其具体机制未见报道。

本研究拟在组织学及细胞学水平探讨结肠癌中 miR-622 及双重特异性酪氨酸调节激酶 2 (dual-specificity tyrosine-regulated kinases 2, DYRK2) 的表达并进行相关性分析,同时研究 miR-622 过表达对结肠癌细胞 SW1116 中 DYRK2 表达及其侵袭转移能力的影响。

1 材料与方法

1.1 组织细胞来源及主要试剂盒、仪器

1.1.1 结肠癌组织标本来源 82 例结肠癌及癌旁组织标本均来自 2014 年 2 月至 2016 年 2 月沈阳医学院附属中心医院结肠癌手术过程中切取的新鲜结肠癌组织及相应的癌旁组织,液氮保存运送并置于 -80°C 低温冰箱保存。术后均经病理学检查证实诊断为结肠癌,其中男 55 例,女 27 例,患者手术前未行放疗及化疗,年龄 42~75 岁,平均 58 岁。

1.1.2 细胞来源 结肠癌细胞系 SW1116、SW480 及正常结肠上皮细胞系 NCM460 细胞购自中科院上海细胞库。

1.1.3 主要试剂及仪器 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、PCR 试剂盒及 Lipofectamine TM2000 转染试剂盒 (美国 Invitrogen 公司); SYBR Master Mixture (日本 Takara 公司); DYRK2 多克隆抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司); HRP 标记的羊抗兔二抗 (武汉博士得公司); miR-622 mimics (miR-622 mimics 组) 及 mimic control (NC 组) 引物由上海生工生物工程 (上海) 有限公司合成; Transwell 小室 (安

徽 Corning 公司)。

1.2 结肠癌组织中 miR-622、DYRK2 的检测

1.2.1 Real-time PCR 检测 miR-622、DYRK2 mRNA 表达 Trizol 提取结肠癌组织及培养的各细胞总 RNA 并标记。按照 Invitrogen 的试剂盒说明书进行反转录反应,反应产物行 PCR 扩增,PCR 过程按 Invitrogen 的 SYBR Green 实时荧光定量 PCR 试剂盒说明书在荧光定量仪上进行,以 U6 为 miR-622 的内参, β -actin 为 DYRK2 的内参。以 miR-622 与 U6 拷贝数的比值为其相对表达量, DYRK2 与 β -actin 拷贝数的比值为其相对表达量。miR-622 RT-PCR 引物 5'-GTC GTA TCC AG T GCG TGT CGT GGA GTC GGC AAT TGC ACT GGA TAC GAC GCT CCA-3'; miR-622 PCR 上游引物 5'-GGG ACA GTC TGC TGA GGT-3', miR-622 PCR 下游引物 5'-CAG TGC GTG TCG TGG AGT-3'; U6 上游引物 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', U6 下游引物 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'; DYRK2 上游引物 5'-CCT GAA CAA GCA ATGAA GCA-3'; DYRK2 下游引物 5'-GGT CAT CAT CAT AGC CAC CA-3'; β -actin 上游引物 5'-AGT GTG ACG TGG ACA TCC GCA AAG-3', β -actin 下游引物 5'-ATC CA C ATC TGC TGG AAG G TG GAC-3'。

1.2.2 Western blot 检测 DYRK2 蛋白表达 分别提取组织总蛋白, BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 取 200 μL 样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 转膜, 封闭 1 h 后, 依次行一抗 (兔抗人 DYRK2 和兔抗人 β -actin)、二抗 (HRP 标记的羊抗兔二抗) 杂交, 最后按增强化学发光法 (ECL) 试剂盒说明书行电化学发光检测, 应用 Quantity One 软件行蛋白灰度分析。

1.2.3 DYRK2 蛋白的免疫组织化学检测 组织标本取材后, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗, 依次行石蜡包埋切片、脱蜡复水、抗原修复、封闭、过氧化物酶及 1% 牛血清清蛋白 (BSA) 封闭、一抗及二抗孵育、DAB 显色、复染、封片。细胞膜及细胞质呈棕黄色或棕色为阳性。

1.3 SW1116、SW480 和 NCM460 细胞中 miR-622、DYRK2 的检测 结肠癌细胞系 SW1116 及 SW480 细胞及正常结肠上皮细胞系 NCM460 细胞均培养于添加 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 置于 37°C 、5% CO_2 饱和湿度的培养箱中孵育培养。定期换液, 细胞生长融合至 70%~80% 时常规传代。细胞中的 miR-622 及 DYRK2 mRNA 采用 Real time PCR

法检测,具体同 1.2.1。DYRK2 蛋白的检测用 Western blot 法,具体同 1.2.2。

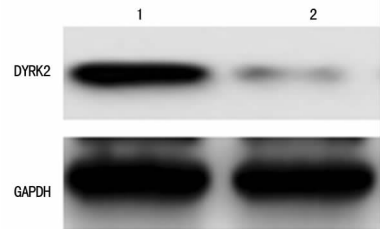
1.4 细胞侵袭转移能力检测 选取生长状态佳的 SW1116 细胞,胰酶消化并调整细胞密度为每升 2×10^5 个并分组接种于 24 孔板中,37 °C、5% CO₂ 孵育 24 h,用脂质体转染法分别转染 50 nmol miR-622 mimics 或 mimic control。37 °C 孵育 6 h,添加 500 μL RPMI-1640 完全培养基,培养 48 h 后,进行后续检测。采用 Real time PCR 法检测 miR-622 及 DYRK2 mRNA,采用 Western blot 法检测 DYRK2 蛋白。参照 Transwell 小室说明书,常规包被底部膜,水化;同步化各组 SW1116 细胞,调整计数并接种,上室内加入 100 μL 含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基;下室内加入 500 μL 含 20% 胎牛血清的 RPMI-1640,37 °C、5% CO₂ 孵育 48 h。取出 Transwell 小室,棉签擦去 Transwell 小室内部细胞,冲洗,固定,染色,倒置显微镜下观察并计数。每组铺 6 个 Transwell 小室,平均值即细胞侵袭的数量。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件储存和分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两个独立样本均数比较呈正态分布的采用 *t* 检验,非正态分布的采用非参数 Mann-Whitney 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 结肠癌组织中 miR-622 和 DYRK2 的表达及相关性分析 结肠癌组织及癌旁组织配对标本中 miR-622 和 DYRK2 mRNA 的表达及 DYRK2 蛋白的表达见图 1、2 及表 1。与癌旁组织比较,Real time PCR 和

Western blot 结果显示结肠癌组织中 DYRK2 mRNA 和蛋白呈低表达;免疫组织化学结果显示,随着结肠癌临床分期的增加,DYRK2 表达呈明显降低趋势。与癌旁组织比较,Real time PCR 结果显示结肠癌组织中 miR-622 mRNA 表达升高。Pearson 相关性分析结果显示,在结肠癌组织中 miR-622 与 DYRK2 表达呈明显负相关($r = 0.916, P < 0.05$)。此外统计分析发现 miR-622 高表达和 DYRK2 低表达均与结肠癌的淋巴结转移($P = 0.004, 0.004$)及远处转移密切相关($P = 0.016, 0.010$),见表 2。

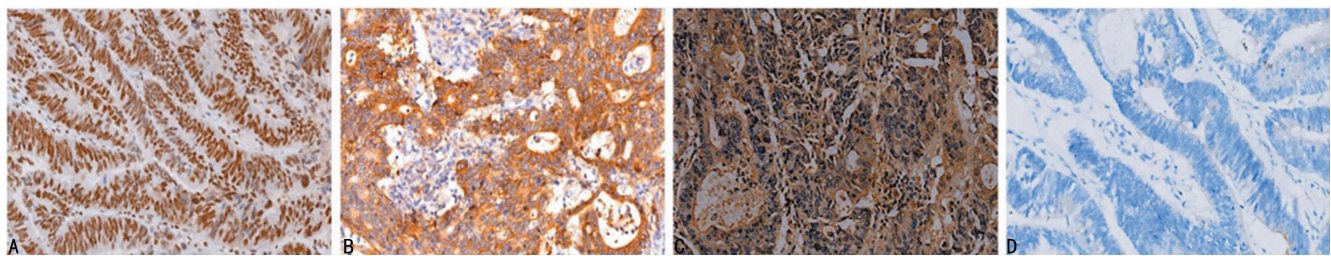


1: 癌旁组织; 2: 结肠癌组织

图 1 结肠癌及癌旁组织配对标本中 DYRK2 蛋白的 Western blot 检测

表 1 结肠癌及癌旁组织配对标本中 miR-622 和 DYRK2 的表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-622 mRNA	DYRK2 mRNA	DYRK2 蛋白
癌旁组织	82	0.342±0.034	3.142±0.231	1.353±0.106
结肠癌组织	82	0.915±0.125	1.254±0.321	0.412±0.045
<i>t</i>		-9.234	-13.342	-32.182
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01



A: 临床分期 I 期; B: 临床分期 II 期; C: 临床分期 III 期; D: 临床分期 IV 期

图 2 不同临床分期结肠癌组织中 DYRK2 的表达情况(SP×200)

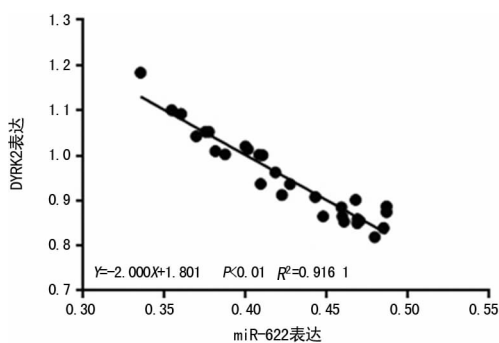


图 3 结肠癌组织中 miR-622 与 DYRK2 的表达式的相关性分析($R^2 = 0.916$)

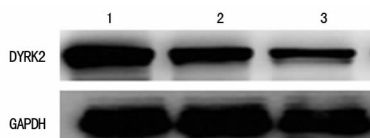
2.2 结肠癌细胞系 SW1116、SW480 及正常结肠上皮细胞系 NCM460 中 miR-622 和 DYRK2 的表达 结肠癌细胞系 SW1116、SW480 及正常结肠上皮细胞系 NCM460 中 miR-622 和 DYRK2 的表达情况见图 4、表 3。与 NCM460 比较,SW1116 ($t = 640.00$)、SW480 ($t = 954.37$) 细胞中 miR-622 mRNA 表达水平明显升高(均 $P < 0.01$);而 DYRK2 mRNA ($t = -256.23, -225.18$)和蛋白($t = -160.25, -190.87$)表达水平明显降低(均 $P < 0.01$)。

2.3 miR-622 mimics 转染细胞后 miR-622 及 DYRK2 的表达及结肠癌细胞侵袭转移能力的变化 与 NC 组

表 2 结肠癌中 miR-622 和 DYRK2 的表达与临床病理参数的相关性分析

临床病理特征	n	miR-622(n)		χ^2	P	n	DYRK2(n)		χ^2	P
		高表达	低表达				高表达	低表达		
年龄				0.524	0.315				0.732	0.265
≤50 岁	27	17	10			42	14	28		
>50 岁	55	30	25			40	17	23		
性别				0.363	0.260				0.160	0.432
女	49	30	19			42	15	27		
男	33	17	16			40	16	24		
肿瘤部位				0.062	0.497				0.011	0.550
结肠	55	31	24			47	18	29		
直肠	27	16	11			25	13	22		
临床分期				4.679	0.033				10.212	0.017
I 期	20	8	12			25	5	20		
II 期	19	10	9			24	7	17		
III 期	19	12	7			14	7	7		
IV 期	24	17	7			19	12	7		
T 分类				8.111	0.004				4.852	0.025
T1 + T2	28	10	18			30	16	14		
T3 + T4	54	37	17			52	15	37		
N 分类				8.246	0.004				8.268	0.004
有淋巴结转移	30	11	19			29	17	12		
无淋巴结转移	52	36	16			53	14	39		
M 分类				5.651	0.016				11.692	0.001
M0(无远处转移)	28	11	17			31	19	12		
M1(有远处转移)	54	36	18			51	12	39		
病理分化程度				2.010	0.366				1.280	0.527
差	33	20	13			19	14			
中	29	14	15			13	16			
良	30	13	17			15	11			

比较,miR-622 mimics 组 SW1116 细胞 miR-622 mRNA 表达上调,DYRK2 mRNA 及蛋白表达水平下调,见图 5、表 4。进一步的 Transwell 小室试验结果提示,NC 组穿过小室的细胞数为(75.231±5.350)个,miR-622 mimics 组穿过小室的细胞数为(273.45±8.345)个,miR-622 mimics 组较 NC 组明显增加($t=-136.044, P<0.01$),即细胞的侵袭能力增强。

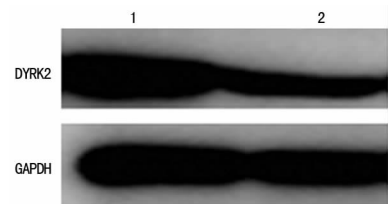


1: NCM460 细胞;2: SW1116 细胞;3: SW480 细胞

图 4 SW1116、SW480 及 NCM460 细胞系中 DYRK2 蛋白的 Western blot 检测

表 3 结肠癌细胞系及正常结肠上皮细胞系中 miR-622 和 DYRK2 的表达($\bar{x}\pm s$)

细胞	n	miR-622 mRNA	DYRK2 mRNA	DYRK2 蛋白
NCM460	3	0.264±0.021	1.484±0.315	2.342±0.253
SW1116	3	0.816±0.113 ^a	0.366±0.03 ^a	0.942±0.132 ^a
SW480	3	0.905±0.145 ^a	0.294±0.023 ^a	0.674±0.105 ^a

^a: $P<0.01$,与 NCM460 比较

1: NC 转染组;2: miR-622 mimics 转染组

图 5 miR-622 mimics 转染 SW1116 细胞后 DYRK2 蛋白的 Western blot 检测

表 4 miR-622 mimics 转染后 SW1116 细胞中 miR-622 和 DYRK2 的表达($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-622 mRNA	DYRK2 mRNA	DYRK2 蛋白
NC 组	3	0.792±0.134	0.319±0.041	0.877±0.162
miR-622 mimics 组	3	1.852±0.247	0.123±0.016	0.361±0.073
t		-595.670	20.000	44.170
P		<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

miRNA 是近年来发现的长约 22nt 的非编码 RNA,其在肿瘤中的作用主要是作为重要的调节因子参与到肿瘤发生发展的过程中。miR-622 在多种肿瘤中均有报道。GUO 等^[9]报道下调 miR-622 的表达可促进胃癌细胞侵袭转移;WANG 等^[10]报道上调 miR-

622 表达可抑制恶性胶质瘤细胞的增殖、运动与侵袭。而关于 miR-622 在结肠癌中的功能目前尚存争议。FANG 等^[11]报道 miR-622 在结肠癌组织及细胞中表达降低,上调其表达可抑制结肠癌细胞的增殖及转移能力;而 MA 等^[12]报道 miR-622 在结肠癌中呈高表达,且 miR-622 的表达增高与结肠癌细胞的放射抵抗和不良预后密切相关。在本研究中,笔者发现 miR-622 在结肠癌组织及细胞系 SW1116 及 SW480 中呈高表达,笔者通过细胞转染的方式进一步上调 miR-622 后发现上调的 miR-622 可明显促进结肠癌细胞 SW116 的侵袭能力,证实 miR-622 在结肠癌中起到了癌基因的作用。

DYRK2 隶属于 CMGC 蛋白激酶超家族,主要分布于细胞质中,其主要作用被认为与细胞功能的多重效监管有关^[13]。DYRK2 的主要功能是作为 GSK3 的启动激酶而存在,DYRK2 可直接作用于其底物 c-Jun 和 c-Myc 从而参与细胞周期的调控。DYRK2 在肿瘤的发生发展过程中同样起着非常重要的作用。DYRK2 在包括乳腺癌、膀胱癌、小细胞肺癌等在内的多种恶性肿瘤中均扮演着抑癌基因的角色^[14-17]。DYRK2 可通过磷酸化色氨酸从而反应性地增强 p53 的促凋亡作用^[18]。DYRK2 在肿瘤中的另一个功能被认为与肿瘤的侵袭转移密切相关。DYRK2 可通过磷酸化其下游的 Snail,从而参与 Snail 介导的肿瘤转移的关键过程——上皮细胞向间充质细胞转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)。本研究的另一个重点即是 miR-622 对 DYRK2 表达的影响。研究发现转染 miR-622 mimics 后,miR-622 表达水平明显上调,相应的,DYRK2 的 mRNA 及蛋白表达水平相应地下调,证实 miR-622 可负性调控 DYRK2 的表达。微小 RNA 功能的实现被认为通过靶向结合于目的 mRNA 的 3'非编码区从而在转录水平或转录后水平引起目的 mRNA 的降解或影响蛋白质的翻译。本研究仅仅初步验证了 miR-622 对 DYRK2 的定性调控作用,miR-622 能否靶向结合于 DYRK2 mRNA 的 3'非编码区并靶向调控其蛋白的表达尚需进一步的 LUC 基因报告等试验来验证。

综上所述,本研究发现结肠癌中 miR-622 表达升高而 DYRK2 表达降低,上调 miR-622 可负性调控 DYRK2 表达并促进 SW1116 细胞侵袭转移,为结肠癌的基因靶向治疗提供了新视角。

参考文献

[1] POURHOSEINGHOLI M A. Increased burden of colorectal cancer in Asia[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2012, 4(4): 68-70.

[2] QIU Y, LIU Q, CHEN G, et al. Outcome of rectal cancer surgery in obese and nonobese patients: a meta-analysis[J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14(1): 23.

[3] RIBEIRO GOMES J, BELOTTO M, et al. The role of surgery for unusual sites of metastases from colorectal cancer: A review of the literature[J]. *Eur J Surg Oncol*,

2017, 43(1): 15-19.

[4] FABBRI M, CROCE C M, CALIN G A. MicroRNAs[J]. *Cancer J*, 2008, 14(1): 1-6.

[5] CHENG C W, CHEN P M, HSIEH Y H, et al. Foxo3a-mediated overexpression of microRNA-622 suppresses tumor metastasis by repressing hypoxia-inducible factor-1alpha in ERK-responsive lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(42): 44222-44238.

[6] SONG W H, FENG X J, GONG S J, et al. microRNA-622 acts as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(12): 1754-1763.

[7] ZHANG R, LUO H, WANG S, et al. MiR-622 suppresses proliferation, invasion and migration by directly targeting activating transcription factor 2 in glioma cells[J]. *J Neurooncol*, 2015, 121(1): 63-72.

[8] BALAGUER F, MOREIRA L, LOZANO J J, et al. Colorectal cancers with microsatellite instability display unique miRNA profiles[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(19): 6239-6249.

[9] GUO X B, JING C Q, LI L P, et al. Down-regulation of miR-622 in gastric cancer promotes cellular invasion and tumor metastasis by targeting ING1 gene[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(14): 1895-1902.

[10] WANG X, XIN Z, XU Y, et al. Upregulated miRNA-622 inhibited cell proliferation, motility, and invasion via repressing Kirsten rat sarcoma in glioblastoma[J]. *Tumour Biol*, 2015, 37(5): 5963-5970.

[11] FANG Y, SUN B, LI Z, et al. MiR-622 inhibited colorectal cancer occurrence and metastasis by suppressing K-Ras[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(9): 1369.

[12] MA W, YU J, QI X, et al. Radiation-induced microRNA-622 causes radioresistance in colorectal cancer cells by down-regulating Rb[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(18): 15984.

[13] ARANDA S, LAGUNA A, DE LA LUNA S. DYRK family of protein kinases: evolutionary relationships, biochemical properties, and functional roles[J]. *FASEB J*, 2011, 25(2): 449-462.

[14] MIMOTO R, TAIRA N, TAKAHASHI H, et al. DYRK2 controls the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer by degrading Snail[J]. *Cancer Lett*, 2013, 339(2): 214-225.

[15] NIHIRA N T, YOSHIDA K. Engagement of DYRK2 in proper control for cell division[J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(6): 802.

[16] NOMURA S, SUZUKI Y, TAKAHASHI R, et al. Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2 (DYRK2) as a novel marker in T1 high-grade and T2 bladder cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy[J]. *BMC Urol*, 2015, 15(1): 53.

[17] YAMASHITA S, CHUJO M T. DYRK2 expression may be a predictive marker for chemotherapy in non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(7): 2753-2757.

[18] TAIRA N, NIHIRA K T, MIKI Y, et al. DYRK2 is targeted to the nucleus and controls p53 via Ser46 phosphorylation in the apoptotic response to DNA damage[J]. *Mol Cell*, 2007, 25(5): 725-738.