

# Nm23/NDPK 的多种生物活性及其机制研究进展\*

熊 盛<sup>1,2</sup>, 邢少璟<sup>2</sup>, 钱垂文<sup>1,2</sup>, 王一飞<sup>2</sup>

(暨南大学<sup>1</sup>药学院制药工程教研室,<sup>2</sup>生物医药研究开发基地,广东 广州 510632)

## Current progress in pleiotropy and mechanism of Nm23/NDPK

XIONG Sheng<sup>1,2</sup>, XING Shao-jing<sup>2</sup>, QIAN Chui-wen<sup>1,2</sup>, WANG Yi-fei<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Pharmacy College,

<sup>2</sup>Biomedical Research and Development Center, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**[A Review]** Human Nm23 family consists of eight gene products that have been implicated in cellular differentiation, development and apoptosis, as well as oncogenesis and tumor metastasis. The protein products of Nm23 are nucleoside diphosphate kinases (NDPKs), the key metabolic enzymes that catalyze the synthesis of nucleoside triphosphates (NTP) by transfer of the terminal phosphate between NDP and NTP. Recent investigations are focused on the extraordinary pleiotropy and its mechanism of Nm23/NDPK. In this article, we review the recent progress in studies of the mechanism of Nm23/NDPK as metastasis suppressors, and other bioactivities of NDPK out of phosphate transfer enzyme, as well as the character of NDPK's quaternary structure and the relation between its structure and function. In addition to these, the potential applications of NDPK as an enhancer of antiviral drugs or Nm23 as a drug target were also described. Findings herein summarized provide new and intriguing suggestions for a more extensive understanding of the biological functions of the star molecule, Nm23/NDPK.

**[关键词]** 基因, Nm23; 核苷二磷酸激酶

**[KEY WORDS]** Gene, Nm23; Nucleoside - diphosphate kinase

**[中图分类号]** Q71 **[文献标识码]** A

Nm23 家族共有 8 个成员,其蛋白产物为核苷二磷酸激酶 (nucleoside diphosphate kinase, NDPK)。NDPK 的研究历史可以追溯到 50 年前,作为一种管家酶,NDPK 的首要功能是通过催化二磷酸核苷 (nucleoside diphosphate, NDP) 和三磷酸核苷 (nucleoside triphosphate, NTP) 之间的磷酸基转移反应来维持细胞内的 NTP 浓度。近年来的研究发现,NDPK 可以调节细胞增殖、分化、发育和凋亡<sup>[1]</sup>。研究 NDPK 的多能性及其调控机制对于阐明细胞增殖和分化、肿瘤发生、发展和转移,甚至个体发育,都有重要意义<sup>[2-5]</sup>。

Nm23 - H1/NDPK - A 是 NDPK 家族的“明星分子”。1990 年发现 NDPK - A 由抑癌基因 Nm23 - H1 编码<sup>[7]</sup>,与多种肿瘤的转移呈负相关,自此, Nm23 - H1/NDPK - A 倍受关注。目前对于该基因及其蛋白

产物的研究热点主要集中在 4 个方面:(1) Nm23 - H1 表达水平、NDPK - A 表达水平与不同肿瘤及其所处时期的相关性研究;(2) NDPK - A 的非酶促活性研究;(3) Nm23 - H1/NDPK - A 抑癌机制研究;(4) NDPK - A 结构与功能的关系。

### 1 Nm23 - H1/NDPK - A 与肿瘤

**1.1 Nm23 - H1 与肿瘤的相关性** 综合这一领域国内外的研究成果,可将 Nm23 - H1 表达水平与肿瘤转移的关系可以分为 3 类<sup>[4, 6-8]</sup>:(1) 与肿瘤转移呈负相关:黑色素瘤、肺癌、乳腺癌、胃肠癌、唾液腺癌、卵巢癌、肝癌、前列腺癌、结肠癌(也有文献认为无相关)、上尿道癌、喉癌等;(2) 与肿瘤转移呈正相关:恶性淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、白血病、胰腺癌等;(3) 与肿瘤转移无明显相关性:直肠癌、鼻咽癌。

**1.2 抑癌机制** 当 Stegg 发现 Nm23 - H1 可以降低

[收稿日期] 2005-01-25 [修回日期] 2005-04-30

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助(No. 30371661; No. 30400071); 广东省自然科学基金团队项目资助(No. 2004E039213)  
Tel: 020-85220504; E-mail: xiongsheng99@263.net

肿瘤的转移潜能时,科学家就在探索该基因及其蛋白产物抑制肿瘤转移的机制。2002年, Roymans

等<sup>[3]</sup>总结 Nm23/NDPK 在 14 年间的研究成果,归纳出如图 1 所示的模型。

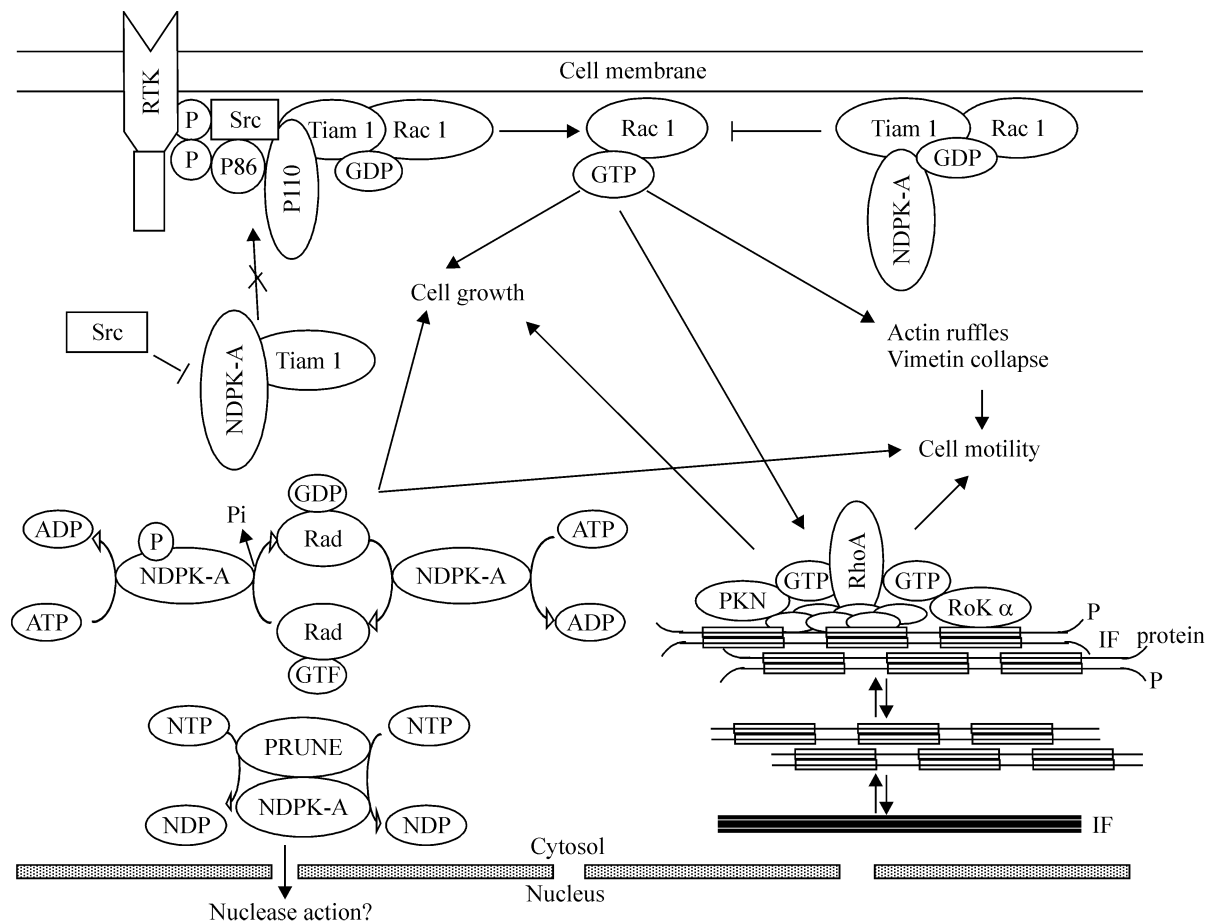


Fig 1 Model of the putative mechanism of NDPKs in tumor development and metastasis [ From Roymans D, et al. Clin Exp Metastasis, 2002, 19(6): 465 - 476].

图 1 NDPK - A 调控肿瘤生长和转移的机制

这一模式表明,NDPK 主要通过 Rac/Rho 信号途径调控细胞的生长和运动,抑制肿瘤的转移,可能机制包括几个方面:①通过与 Tiam1 结合,NDPK 可以封闭 Tiam1 的 GDP 交换功能,或者阻止 Src 与 Tiam1 结合,或者调节一些影响居间纤维磷酸化的蛋白复合物中的 GTP/GDP 平衡,最终阻止 Rac/Rho 途径的激活。②NDPK - A 与 Rad 和 PRUNE 的结合(抑制 Rad 活性)也可能起到协同作用,抑制细胞生长和运动。最终导致局部核苷酸的平衡改变,或者相关蛋白和酶的结合特性改变。③在某些情况下,NDPK - A 结合 PRUNE 后,可以进入细胞核,发挥核酸酶活性。Ma 等<sup>[9]</sup>最近在 JBC 上报了 NDPK - A 的 3' - 5' 核酸外切酶活性研究进展,发现 NDPK - A 可以从 3' 端水解单链 DNA,或者双链 DNA 中 3' 端的不配对碱基,并且证明 Lys12 是核酸酶的关键残基。作者认为,NDPKA 的核酸外切酶活性在 DNA 修复中有重要意义,并且理所当然的是 Nm23 - H1 抑癌活性的机制之一。④不同亚型的 NDPK 还可以进

入细胞核,与某些基因启动子上的调节序列结合,发挥转录调节因子活性。NDPK - A 和 NDPK - B 都可以与 C - MYC、PDGF - A 的 NHE 或 5' - SHS 序列结合,改变这些基因的转录活性。⑤另外,NDPK - A 和 NDPK - B 还可以通过调节一些转录因子(EBNA - 3C、Menin 或 ROR/RZR)的活性来调控基因活性。⑥到目前为止,还不清楚 NDPK 家族成员与这些复合物在结构上如何相互作用,也不清楚 NDPK 是仅仅起辅助作用,还是“开关”功能。

1.3 机制研究新进展 最近有文献报道,NDPK 可以作为鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)调节动力蛋白(dynammin)活性,介导细胞内吞(endocytosis)<sup>[2, 10]</sup>。还发现在细胞内,NDPK - B 可以与 Gβγ 形成复合物,通过高能磷酸键的转移,活化非受体依赖性 G 蛋白<sup>[11]</sup>。Rochdi 等<sup>[5]</sup>近期报道,NDPK - B 可以与 G 蛋白偶联受体 TPβ 的 C 末端相互作用,通过 Rac1 途径调控 TPβ 的内吞。综合这些进展,可知 NDPK 不仅可以调节小 G 蛋白、G 蛋

白活性,还可与膜受体直接作用,参与多种信号转导途径。

关于 NDPK 与 3'-磷酸甘油醛脱氢酶、CK2、端粒、ICAP-1 $\alpha$  等蛋白相互作用而发挥生物学活性的研究也有零星报道<sup>[4]</sup>。此外,研究 *Nm23-H1*/NDPK-A 与血管生成的关系也是深入阐明其抑瘤机制的一个重要方面,Zhao 等<sup>[12]</sup>应用含有 18 889 个基因的 cDNA 芯片研究了转 *Nm23-H1* 基因前后,人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 的基因表达谱,发现 2 158 个基因在高转移细胞株中明显上调,这些基因可归为 6 大类,其中就有众多与血管生成有关的基因,本课题组在研究 NDPK-A 时,也发现 NDPK-A 有抗血管生成(anti-angiogenesis)活性。

## 2 其它非酶促活性

NDPK 的非酶促活性研究方面,早在 1989 年,Shearn 课题组首先报道 NDPK-A 与果蝇翅膀的发育有关,并进行了 7 年跟踪研究<sup>[13, 14]</sup>,由此而揭开了 NDPK 多能性研究的序幕;Okabe-Kado 等 1992 年报道,NDPK-A 是 M1 型白血病细胞的分化抑制因子,由此开始了 NDPK-A 与白血病、淋巴瘤、骨髓瘤等血液病的预后之间的相关性研究。该课题组自 1999 年后发表了一系列此领域的研究成果<sup>[15-18]</sup>,并在最近报道了弥漫性大细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)组织中 NDPK-A 与血清 NDPK-A 及疾病进展的相关性<sup>[19]</sup>。在植物中,NDPK 参与光敏色素介导的信号转导,最近有学者报道,NDPK 还可能通过乙烯信号途径调节植物生长<sup>[20]</sup>。NDPK 作为转录调控因子的报道主要集中在 NDPK 与 EBNA-3C、Menin 等转录因子,以及与 PDGF-A 启动子、ROR $\alpha$ /RZR $\beta$  等细胞核孤儿受体的相互关系研究上<sup>[21, 22]</sup>,这方面的研究主要是为了阐述 NDPK-A、NDPK-B 调控肿瘤转移的机制,这一领域是 NDPK 研究的热点和难点。我们在 NDPK-A 体内活性研究过程中,发现 NDPK-A 不仅对小鼠 Lewis 肺癌表现出转移抑制活性,对 S180、H22、HU460 等多种肿瘤细胞株也表现出抗原位癌活性,并且,对顺铂有增效减毒活性,所以 NDPK-A 对肿瘤的调控可能还有一些未知的方面。

## 3 结构与功能研究

**3.1 空间结构** 几个课题组对不同来源的 NDPK 结构进行了解析(<http://www.rcsb.org/pdb/cgi/resultBrowser.cgi>),包括 2003 年完成的人 NDPK-A 空间结构<sup>[23]</sup>。①发现在真核生物中,NDPK 是由 6 个亚基折叠形成的六聚体,这个六聚体形成两个平面、3 个折叠的对称结构。可以看成两个三聚体的二聚

物,或 3 个二聚体的三聚物。②人 NDPK-A 酶活性的催化位点是 His118。③比较 NDPK 及其它蛋白激酶(如:cAPK,cAMP 依赖性蛋白激酶)中结合的核苷酸构像,发现  $\beta$ -、 $\gamma$ -位磷酸基在这两类蛋白激酶中的位置和方向不同,它们以相反的手性方向结合金属离子。利用这一特性,有可能设计激酶特异性最适底物或者拮抗剂<sup>[23]</sup>。④分析 NDPK 的氨基酸序列中的结构域,发现此蛋白存在两个蛋白激酶 C(PKC)磷酸化位点、一个酪蛋白激酶 II(CK2)磷酸化位点、一个酪氨酸激酶磷酸化位点、一个 N-肉豆蔻酰位点、一个细胞粘附序列和一个核苷酸激酶激活位点。⑤来自 *Dictyostelium discoideum* 的野生型和 P105G 突变型 NDPK 对化学物质和 pH 的稳定性不一致,变性过程也有不同之处<sup>[24]</sup>。

**3.2 结构与功能的关系** NDPK 结构与功能研究方面,目前的报道集中于应用定点突变法,构建 P96S、S44A、S120G、H118F 等 4 种突变体,研究 NDPK 各种生物活性的改变。初步发现 NDPK 酶活性与肿瘤转移抑制活性之间缺乏相关性,而转移抑制活性与 DNA 反式激活、DNA 剪切、Tiam GEF 活性之间的相关性正在完善中<sup>[4]</sup>。最近发现,NDPK-A 的转移抑制活性与其组氨酸蛋白激酶活性相关<sup>[25]</sup>。组氨酸蛋白激酶不同于常见的丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸蛋白激酶,以组氨酸作为高能键,并且磷酸化的组氨酸对酸不稳定。X-ray 结构解析结果发现,NDPK 中组氨酸形成的“口袋”很小,不足以容纳蛋白底物,因此,这方面的构效机制还有待研究。

本课题组在进行 NDPK-A 新药研究过程中,发现 rhNDPK-A 因环境中的氧化还原电势而发生异构,并且,NDPK-A 氧化还原异构体在理化性质和酶活性方面差异较大。2000 年,Song 等<sup>[26]</sup>根据体外实验结果提出,NDPK 活性在体内可能受氧化还原信号系统(redox signal)调节。2 年后,Kim 等<sup>[27]</sup>发现,老年性痴呆和唐氏综合症患者大脑中 NDPK-A 表达量和活性均明显下降,作者认为这些神经退化性疾病可能与 NDPK 的氧化修饰有关。我们最近的工作表明,NDPK 经 NAC 等还原剂处理后,酶活性升高 1 倍以上,而足够浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等强氧化剂可使酶活性消失(这一点 Song 等已经发现)。结合这些实验结果,我们认为,NDPK 的氧化还原异构也可能是其多能性的调控基础之一,这方面的研究正在进行中。过去,人们一直推测 NDPK 多能性的物质基础可能与 NDPK-A 和 NDPK-B 的寡聚状态有关,如果能证明 NDPK-A 氧化还原异构也是其多能性的基础之一,则对其功能及机制的阐述意义重大。

## 4 应用研究

**4.1 抗病毒药物增敏剂** 利用 NDPK 的磷酸转移酶活性,有可能将其开发为抗病毒药物的增敏剂。核苷类似物,如:d4T、AZT 可用于 AIDS 等病毒性疾病和癌症的治疗。在体内,这些化合物需要磷酸化为三磷酸化合物后才能发挥活性,NDPK 是目前公认的催化这些前体药物磷酸化的关键酶,也是限速酶(核苷类似物磷酸化的速度慢于核苷),因此,外源补充 NDPK 可以作为核苷类似物的增敏剂、增效剂。

难以磷酸化的核苷类似物,即使效果再好可能也难以应用于临床,巴斯德研究所的 Schneider 等筛选到的一种病毒唑衍生物就面临这一结局。为了提高核苷类似物的磷酸化效率,可以从两方面开展研究:①以现有的核苷类似物作为先导化合物,寻找新的与 NDPK 亲和力更强的化合物;②对 NDPK 进行蛋白质工程改造,获得更高效的核苷类似物磷酸化酶。第一方面, Schneider 等发现,以硼酸基修饰 AZT 和 d4T 的  $\alpha$ -磷酸基,可以增强它们与 NDPK 的亲和力,但这些新的单磷酸化合物由于带有电荷,透膜能力很弱;第二个方面, Schneider 等发现,在 NDPK 活性中心中 2 个特定位点处引入突变后,对 AZT 和 d4T 的结合能力增强,进一步 *in vivo* 工作正在进行中 (<http://www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2003/Reac-en.html>)。

**4.2 其它应用研究** 除了抗病毒增效剂外,NDPK - A 的应用研究还至少包括如下几个方面:

**肿瘤标志物:** NDPK - A 是血细胞分化抑制剂,对于白血病患者来说,血浆/血清高浓度 NDPK - A 意味预后不良。Toho 大学的学者正在研究 NDPK - A 作为白血病预后因子的可行性<sup>[28]</sup>,本课题组开发的血清 NDPK - A 酶联免疫检测试剂盒已经进入临床研究。

**药靶研究:**以 *Nm23 - H1*/NDPK - A 作为药靶的新药研究也在积极进行中,已经发现,反式维甲酸可以提高肝癌细胞的 *Nm23 - H1* 水平<sup>[29]</sup>,5-氮脱氧胞苷可以增加高转移性乳腺癌细胞中的 *Nm23 - H1* 水平<sup>[30]</sup>。

**抗癌药物增敏剂:**我们在前期进行的实验结果表明,NDPK - A 对顺铂等烷化剂在细胞和小鼠/裸鼠肿瘤移植模型中均表现出明显的增效减毒活性,有可能开发为肿瘤辅助药物。

## 5 结语

综上所述,对于 NDPK 的研究已经由早期的现象观察(基因/蛋白表达水平与肿瘤的关系)进入到机制研究阶段,对于 NDPK 酶活性的机制已基本阐

明,但对于 NDPK 其它生物学活性,尤其是抑制肿瘤生长和转移的机制还在进行中,对于 NDPK 生物学活性的物质基础(蛋白结构与功能的关系)更有待深入。另外,对于 *Nm23*/NDPK 的应用研究也已经蓬勃兴起,也许在不远的将来,以 *Nm23 - H1*/NDPK - A 为药靶的新型抗癌药物,或者 *Nm23 - H1*/NDPK - A 药物就会出现。

### [参 考 文 献]

- [1] Fan Z, Beresford PJ, Oh DY, et al. Tumor suppressor *Nm23 - H1* is a granzyme A - activated DNase during CTL - mediated apoptosis, and the nucleosome assembly protein SET is its inhibitor [J]. *Cell*, 2003, 112(5): 659 - 672.
- [2] Narayanan R, Ramaswami M. Regulation of dynamin by nucleoside diphosphate kinase [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2003, 35(1): 49 - 55.
- [3] Roymans D, Willems R, Van Blockstaele DR, et al. Nucleoside diphosphate kinase (NDPK/NM23) and the waltz with multiple partners: possible consequences in tumor metastasis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19(6): 465 - 476.
- [4] Salerno M, Ouatas T, Palmieri D, et al. Inhibition of signal transduction by the *nm23* metastasis suppressor: possible mechanisms [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2003, 20(1): 3 - 10.
- [5] Rochdi MD, Laroche G, Dupre E, et al. *Nm23 - H2* interacts with a G protein - coupled receptor to regulate its endocytosis through an Rac1 - dependent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(18): 18981 - 18989.
- [6] Hartsough MT, Steeg PS. *Nm23*/nucleoside diphosphate kinase in human cancers [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2000, 32(3): 301 - 308.
- [7] Chen JQ, Zhan WH, He YL, et al. Expression of heparanase gene, CD44v6, MMP - 7 and *nm23* protein and their relationship with the invasion and metastasis of gastric carcinomas [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(6): 776 - 782.
- [8] Kanat O, Adim S, Evrensel T, et al. Prognostic value of *nm23* in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Med Oncol*, 2004, 21(1): 53 - 58.
- [9] Ma D, McCorkle JR, Kaetzel DM. The metastasis suppressor *Nm23 - H1* possesses 3' - 5' exonuclease activity [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(17): 18073 - 18084.
- [10] Krishnan KS, Rikhy R, Rao S, et al. Nucleoside diphosphate kinase, a source of GTP, is required for dynamin - dependent synaptic vesicle recycling [J]. *Neuron*, 2001, 30(1): 197 - 210.
- [11] Hippe HJ, Lutz S, Cuello F, et al. Activation of heterot-

- rimeric G proteins by a high energy phosphate transfer via nucleoside diphosphate kinase (NDPK) B and G beta subunits. Specific activation of Gs alpha by an NDPK B. Gbetagamma complex in H10 cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(9): 7227 – 7233.
- [12] Zhao H, Jhanwar – Uniyal M, Datta PK, et al. Expression profile of genes associated with antimetastatic gene: nm23 – mediated metastasis inhibition in breast carcinoma cells[J]. *Int J Cancer*, 2004, 109(1): 65 – 70.
- [13] Rosengard AM, Krutzsch HC, Shearn A, et al. Reduced Nm23/Awd protein in tumour metastasis and aberrant Drosophila development[J]. *Nature*, 1989, 342(6246): 177 – 180.
- [14] Xu J, Liu LZ, Deng XF, et al. The enzymatic activity of Drosophila AWD/NDP kinase is necessary but not sufficient for its biological function[J]. *Dev Biol*, 1996, 177(2): 544 – 557.
- [15] Niitsu N, Okabe – Kado J, Kasukabe T, et al. Prognostic implications of the differentiation inhibitory factor *Nm23 – H1* protein in the plasma of aggressive non – Hodgkin's lymphoma[J]. *Blood*, 1999, 94(10): 3541 – 3550.
- [16] Niitsu N, Okabe – Kado J, Nakayama M, et al. Plasma levels of the differentiation inhibitory factor *Nm23 – H1* protein and their clinical implications in acute myelogenous leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(3): 1080 – 1086.
- [17] Niitsu N, Okabe – Kado J, Okamoto M, et al. Serum *Nm23 – H1* protein as a prognostic factor in aggressive non – Hodgkin lymphoma[J]. *Blood*, 2001, 97(5): 1202 – 1210.
- [18] Niitsu N, Okamoto M, Honma Y, et al. Serum levels of the *Nm23 – H1* protein and their clinical implication in extranodal NK/T – cell lymphoma[J]. *Leukemia*, 2003, 17(5): 987 – 990.
- [19] Niitsu N, Nakamine H, Okamoto M, et al. Clinical significance of intracytoplasmic *Nm23 – H1* expression in diffuse large B – cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(7): 2482 – 2490.
- [20] Novikova GV, Moshkov IE, Smith AR, et al. Nucleoside diphosphate kinase is a possible component of the ethylene signal transduction pathway[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2003, 68(12): 1342 – 1348.
- [21] Subramanian C, Cotter MA, Robertson ES. Epstein – Barr virus nuclear protein EBNA – 3C interacts with the human metastatic suppressor *Nm23 – H1*: a molecular link to cancer metastasis [J]. *Nat Med*, 2001, 7(3): 350 – 355.
- [22] Ma D, Xing Z, Liu B, et al. *Nm23 – H1* and *Nm23 – H2* repress transcriptional activities of nuclease – hypersensitive elements in the platelet – derived growth factor – A promoter [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(2): 1560 – 1567.
- [23] Chen Y, Gallois – Montbrun S, Schneider B, et al. Nucleotide binding to nucleoside diphosphate kinases: X – ray structure of human NDPK – A in complex with ADP and comparison to protein kinases[J]. *J Mol Biol*, 2003, 332(4): 915 – 926.
- [24] Cervoni L, Egistelli L, Mocan I, et al. Quaternary structure of Dictyostelium discoideum nucleoside diphosphate kinase counteracts the tendency of monomers to form a molten globule[J]. *Biochemistry*, 2003, 42(49): 14599 – 14605.
- [25] Hartsough MT, Morrison DK, Salerno M, et al. *Nm23 – H1* metastasis suppressor phosphorylation of kinase suppressor of Ras via a histidine protein kinase pathway[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(35): 32389 – 32399.
- [26] Song EJ, Kim YS, Chung JY, et al. Oxidative modification of nucleoside diphosphate kinase and its identification by matrix – assisted laser desorption/ionization time – of – flight mass spectrometry [J]. *Biochemistry*, 2000, 39(33): 10090 – 10097.
- [27] Kim SH, Fountoulakis M, Cairns NJ, et al. Human brain nucleoside diphosphate kinase activity is decreased in Alzheimer's disease and Down syndrome [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 296(4): 970 – 975.
- [28] Okabe – Kado J. Serum *Nm23 – H1* protein as a prognostic factor in hematological malignancies [J]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43(4): 859 – 867.
- [29] Liu F, Qi HL, Chen HL. Effects of all – trans retinoic acid and epidermal growth factor on the expression of *Nm23 – H1* in human hepatocarcinoma cells[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2000, 126(2): 85 – 90.
- [30] Hartsough MT, Clare SE, Mair M, et al. Elevation of breast carcinoma *Nm23 – H1* metastasis suppressor gene expression and reduced motility by DNA methylation inhibition[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 2320 – 2327.