

染料木黄酮对青春期前雄性大鼠生殖系统影响的机制研究*

汤晓月¹, 蔡秋莹¹, 李育林¹, 吕凡¹, 单靖焱^{1,2}, 李云^{1,3,Δ}

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 营养食品卫生与毒理学(成都 610041);

2. 绵阳市第三人民医院 临床营养科(绵阳 621000); 3. 四川大学华西公共卫生学院 健康食品评价研究中心(成都 610041)

【摘要】目的 研究染料木黄酮(genistein, GEN)对青春期前雄性大鼠生殖系统影响的机制。**方法** 选用30只初断乳(21日龄)SPF级雄性SD大鼠,随机分为对照组(Con组)、GEN低剂量组(G1组)、GEN高剂量组(G2组),每组10只。根据大鼠体质量,分别以5 mL/kg玉米油、150 mg/kg和300 mg/kg用玉米油溶解的GEN灌胃6周,隔天称取体质量1次。6周后处死大鼠,解剖睾丸、附睾、前列腺组织,计算脏器系数;观察睾丸组织病理结构变化;计数精子数量并计算精子畸形率;放射免疫法检测血清中睾酮和雌二醇的质量浓度;免疫荧光技术检测睾丸组织中蛋白磷酸酶2调节亚基2C(PPP2R2C)蛋白的表达定位;分别采用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)和蛋白质印迹法(Western blot)检测大鼠睾丸组织中PPP2R2C和细胞周期依赖性蛋白激酶(CDK2)的mRNA和蛋白表达水平;免疫共沉淀法检测睾丸组织中蛋白磷酸酶2A(PP2A)活性。**结果** 各组大鼠体质量、精子数量、血清雌二醇、PP2A酶活性差异均无统计学意义($P>0.05$);G2组睾丸组织的病理结构紊乱;G1和G2组的精子畸形率高于Con组($P<0.05$);G2组的血清睾酮质量浓度低于Con组($P<0.05$);G2组PPP2R2C和CDK2的mRNA水平高于Con组($P<0.05$),但蛋白水平低于Con组($P<0.05$);PPP2R2C蛋白在各组睾丸组织中均有表达。**结论** 青春期前长期暴露高剂量(300 mg/kg)GEN会对雄性大鼠成年后的生殖功能造成不良影响。由于在PP2A酶活性没有改变的情况下,磷酸化CDK2(p-CDK2)蛋白的表达量出现下降,PPP2R2C-PP2A-CDK2磷酸化路径可否影响大鼠的生殖系统仍需进一步研究。

【关键词】 染料木黄酮 生殖系统 PPP2R2C CDK2 PP2A

Mechanism of Effects of Genistein on the Reproductive System of Prepubertal Male Rats TANG Xiao-yue¹, CAI Qiu-ying¹, LI Yu-lin¹, LÜ Fan¹, SHAN Jing-yan^{1,2}, LI Yun^{1,3,Δ}. 1. Department of Nutrition Food Hygiene and Toxicology, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Clinical Nutrition, Mianyang Third People's Hospital, Mianyang 621000, China; 3. West China School of Public Health and Healthy Food Evaluation Research Center, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Δ Corresponding author, E-mail: liyun_611@163.com

【Abstract】 Objective To study the effects of genistein (GEN) on reproductive system in prepubertal male rats. **Methods** Thirty SPF-rated male SD rats were randomly divided into control group (Con group), low-dose group (G1 group) and high-dose group (G2 group), with 10 rats in each group. Corn oil, 150 mg/kg and 300 mg/kg GEN dissolved in corn oil of equal volume were respectively administered every day and weighed the next day. After 6 weeks, the rats were sacrificed, and the testis, epididymis and prostate were dissected, and organ coefficients were calculated. Histopathological changes of testis was observed. The number of sperm was counted and the rate of sperm malformation was calculated. The concentrations of serum testosterone and estradiol were detected by radioimmunoassay. The protein phosphatase 2, regulatory subunit B, gamma (PPP2R2C) protein expression in testicular tissue was detected by immunofluorescence assay. The mRNA and protein expression levels of PPP2R2C and cyclin dependent protein kinases 2 (CDK2) in rat testis were detected by real-time quantitative fluorescence PCR (RT-qPCR) and Western blot, respectively. The protein phosphatase 2A (PP2A) activity in testicular tissue was detected by immunoprecipitation. **Results** There were no statistically significant differences in body mass, sperm number, serum estradiol and PP2A enzyme activity among the groups ($P>0.05$). The pathological structure of testicular in G2 group was disordered. Sperm abnormality rate in G1 and G2 groups was higher than that in Con group ($P<0.05$). Serum testosterone concentration in G2 group was lower than that in Con group ($P<0.05$). The expression of PPP2R2C and CDK2 in G2 group was higher than that in Con group ($P<0.05$), but the protein level was lower than that in Con group ($P<0.05$). PPP2R2C protein was expressed in testicular tissue in each group. **Conclusion** Long-term exposure to high dose (300 mg/kg) GEN during prepuberty may cause adverse effects on reproductive function in adult male rats. Further investigation is needed to determine whether PPP2R2C-PP2A-CDK2 phosphorylation pathway affects reproductive system in rats.

【Key words】 Genistein Reproductive system PPP2R2C CDK2 PP2A

* 国家自然科学基金(No.81072309)资助

Δ 通信作者, E-mail: liyun_611@163.com

染料木黄酮(genistein, GEN)又称金雀异黄酮、染料木素,呈淡黄色粉末状,不溶于水,是大豆异黄酮的主要活性成分,被认为是最具代表性的植物雌激素之一^[1],能够调控细胞周期,调节信号通路,具有抗氧化、抗肿瘤、抑菌及雌激素样等作用^[2-4]。有研究报道GEN能够竞争性地结合雌激素受体,并对男性生育能力产生不良影响^[5-6]。本课题组前期利用基因芯片技术发现GEN干预后,新生小鼠睾丸组织中蛋白磷酸酶2调节亚基2C(*PPP2R2C*)和细胞周期依赖激酶2(*CDK2*)基因出现差异性表达,提示这两个基因可能在雄性生殖系统发育中起重要作用^[7]。*PPP2R2C*所表达的蛋白质是蛋白磷酸酶2A(*PP2A*)的一个调节亚基^[8],同时PP2A又可使下游蛋白CDK2去磷酸化,活化形式的磷酸化CDK2(p-CDK2)在细胞周期调控过程中发挥重要的作用^[9]。有研究表明CDK2及其磷酸化形式对精原细胞的减数分裂进程产生重要影响^[10]。提示GEN对青春期前大鼠生殖系统的不良影响可能是通过PPP2R2C-PP2A-CDK2磷酸化途径产生的,现关于该途径的文献十分有限,故本研究探讨这一路径对雄性大鼠生殖系统的影响具有重要的参考价值。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

SPF级SD雄性大鼠30只,21日龄,购于四川大学实验动物中心,动物合格证号:SCXK(川)2013-026。本研究经四川大学华西公共卫生学院动物实验伦理委员会审查,动物实验遵循《实验动物护理和使用指南》要求。

1.2 主要试剂与仪器

GEN(Aladdin);碘-睾酮(¹²⁵I-T)、碘-雌二醇(¹²⁵I-E2)放射免疫分析药盒(北京北方生物技术研究所有限公司);逆转录试剂盒(Thermo);Easstep[®] Super总RNA提取试剂盒、PP2A酶检测试剂盒(Promega);2×T5 Fast qPCR Mix(青岛擎科梓熙生物技术有限公司);p-CDK2抗体(Abcam);PPP2R2C抗体、山羊抗小鼠HRP(Proteintech);CDK2抗体、多聚体抗兔IgG-HRP、β-actin抗体、山羊抗兔HRP(武汉博士德生物工程有限公司);CY3山羊抗兔荧光二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司);Bradford蛋白含量测定试剂盒、BCA蛋白含量检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司)。放免仪(西安核仪器厂);全波长酶标仪、超微量分光光度计(Therom Scientific);电泳仪(BIO-RAD);荧光显微镜(日本尼康);实时荧光定量PCR(RT-qPCR)仪(美国Bio-Rad)。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠分组及处理 将30只大鼠随机分为3组,每组

10只。按大鼠体质量,分别以GEN 150 mg/kg(低剂量组, G1组)、300 mg/kg(高剂量组, G2组)用玉米油溶解的溶液和5 mL/kg玉米油(对照组)灌胃6周,隔天称取体质量1次。6周后颈椎脱臼处死大鼠,解剖睾丸、附睾和前列腺,计算脏器系数。每组选择3个睾丸组织的切片进行HE染色观察睾丸组织病理学变化。

1.3.2 精子计数及精子畸形率 将一侧附睾剪碎,制备精子悬液,滴入血细胞计数板按血细胞计数法计数。压边精子遵循“计上不计下,计左不计右”原则;不完整精子,有头无尾的计入,无头有尾的不计。制备精子涂片,精子畸形主要包括头部畸形和尾部畸形,前者分为胖头、双头、无勾和不定形等,后者包括双尾和尾折叠。

1.3.3 放射免疫法检测血清睾酮(T)和雌二醇(E2)质量浓度 按照放射免疫分析试剂盒说明书操作,其中T测定抗原为¹²⁵I-T,抗体为兔抗-T抗体,E2测定抗原为¹²⁵I-E2,抗体为兔抗-E2抗体,摇匀后37℃水浴1h,加入500 μL驴抗兔免疫分离剂,3 500 r/min离心15 min,弃去上清液,用放免仪测定各管沉淀的放射性计数。

1.3.4 免疫荧光染色检测睾丸组织中PPP2R2C表达定位 石蜡切片脱蜡水化,使用EDTA抗原修复缓冲液进行微波抗原修复,加入自发荧光淬灭剂,BSA封闭后加PPP2R2C抗体(1:100),4℃孵化过夜,PBS清洗3次,加抗兔二抗(1:300),室温孵育1h,DAPI染液复染后封片,在倒置荧光显微镜下观察并采集图像。

1.3.5 RT-qPCR检测睾丸组织中PPP2R2C和CDK2基因的mRNA水平 提取睾丸组织总RNA,逆转录,按照PCR试剂盒说明书操作。反应总体积20 μL,反应条件:在95℃下预变性1 min,95℃变性10 s,60℃退火5 s,72℃延展15 s,共40个循环。以GAPDH为内参,以2^{-ΔΔCt}计算各目的基因mRNA的相对表达量。在NCBI/Primer-Blast检索引物序列,引物合成由成都擎科梓熙生物技术有限公司完成。相关目的基因引物序列见表1。

表 1 相关目的基因引物序列
Table 1 Primer sequences of related target genes

Gene	Primer sequence (5'-3')	Length/bp
PPP2R2C	F: CCACACCTACCACATCAACTC	21
	R: TGCGGATGGAAGCTCAGATG	19
CDK2	F: TGACTTTGGACTAGCAAGAGC	21
	R: TCAATCTCAGAGTCTCCAGGG	21
GAPDH	F: AATGCATCCTGCACCACCAA	20
	R: GATGGCATGGACTGTGGTCA	20

1.3.6 Western blot检测睾丸组织中PPP2R2C和CDK2蛋

白的表达水平 使用RIPA裂解液提取蛋白,参照BCA蛋白定量试剂盒说明书检测蛋白浓度,上样进行SDS-PAGE电泳分离。转膜,将转膜后的PVDF膜转移到5%封闭液中封闭,将PVDF膜分别置于稀释后的一抗和二抗中孵育,最后进行显色曝光,采集图像。使用 β -actin蛋白做内参,用软件分析曝光图的灰度值,以目的条带与内参条带灰度值的比值,计算在睾丸组织中目的蛋白的相对表达量。

1.3.7 免疫共沉淀法检测睾丸组织中PP2A酶活性 称取睾丸组织,制备蛋白样品,用Bradford蛋白含量试剂盒测定蛋白样品浓度,准备过滤柱,在96孔板中制备预混液,设置标准孔、空白孔、样品孔,分别加入10 μ L不同浓度无磷水溶解的磷酸盐标准品,无磷水和蛋白质样品,开始反应,15 min后加入配制好的染液终止反应,静置,上机检测吸光度值,波长为600 nm。最终的酶活性浓度用单位体积所含的酶活性单位数表示,单位为pmol/ μ L。

1.4 统计学方法

正态资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD法;非正态分布的资料用中位数

(P_{25}, P_{75})表示,组间比较采用非参数检验。 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 大鼠脏器系数及睾丸组织病理学变化情况

各组之间睾丸系数和附睾系数差异均无统计学意义;G1组和G2组前列腺系数均低于对照组($P < 0.05$),但G1和G2组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),见表2。通过HE染色观察(图1),与对照组和G1组相比,G2组睾丸组织发生了显著病理学改变,包括生精小管管腔内精细胞数量减少(图1C-1箭头所示),出现基底膜和精原细胞与管腔内细胞分离的现象(图1C-2箭头所示),并且出现空泡(图1C-3箭头所示)。

表2 各组大鼠脏器系数比较

Table 2 Comparison of organ coefficients in each group

Group	Testicular coefficient/%	Epididymis coefficient/%	Prostate coefficient/%
Control	1.12 \pm 0.09	0.26 \pm 0.03	0.14 \pm 0.02
G1	1.17 \pm 0.10	0.26 \pm 0.03	0.11 \pm 0.01*
G2	1.10 \pm 0.08	0.24 \pm 0.01	0.11 \pm 0.02*

* $P < 0.05$, vs. control group

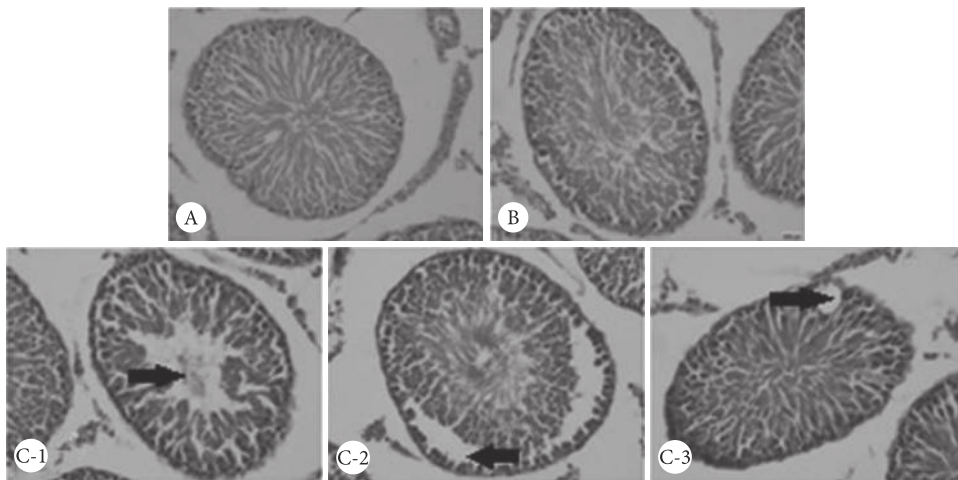


图1 各组大鼠睾丸组织HE染色病理结构。 $\times 400$

Fig 1 Pathological structures of HE staining in testicular tissues of rats in each group. $\times 400$

A: Control group; B: G1 group; C: G2 group; C-1: Nunberm of spermatogenic cells in the lumen was reduced (arrow); C-2: Basement membrane and spermatogonial cells were separated from intracavitary cells (arrow); C-3: Cavitation appears in the lumen (arrow)

2.2 精子数量和精子畸形率

见图2。各组精子数量之间的差异无统计学意义($P > 0.05$),G1和G2组精子畸形率都高于对照组,且G2组高于G1组($P < 0.05$)。GEN干预后,大鼠附睾出现多种畸形形态(图3红框),如头部无勾畸形(图3A)、双头畸形(图3B)、波状体畸形(图3C)、颈部折叠畸形(图3D、3G)、体折叠畸形(图3E、3H)、尾折叠畸形(图3F、3H)及双体畸形(图3I)。

2.3 大鼠血清激素情况

灌胃6周后,大鼠血清睾酮和雌二醇质量浓度见表3,G2组T水平低于G1组和对照组($P < 0.05$),各组之间E2水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 睾丸组织中PPP2R2C蛋白的表达定位

如图4所示,蓝色荧光信号为细胞核染色,红色荧光信号为PPP2R2C蛋白阳性信号。各组睾丸组织中PPP2R2C蛋白均有表达,且在各类细胞中也均有表达,其中在支持

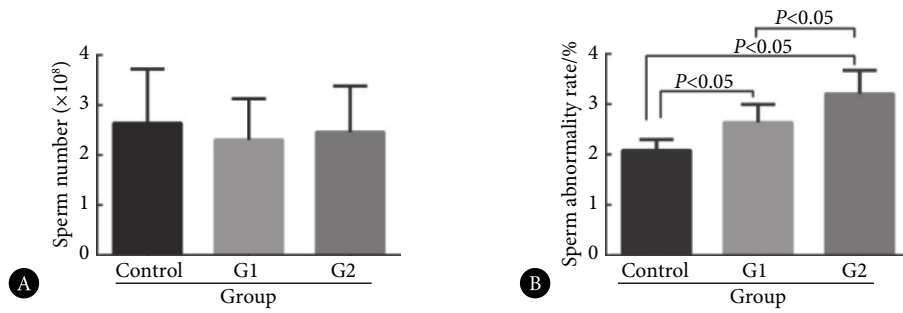


图 2 各组精子数量 (A) 和精子畸形率 (B) 比较

Fig 2 Comparison of sperm number (A) and sperm abnormality rate (B) in each group

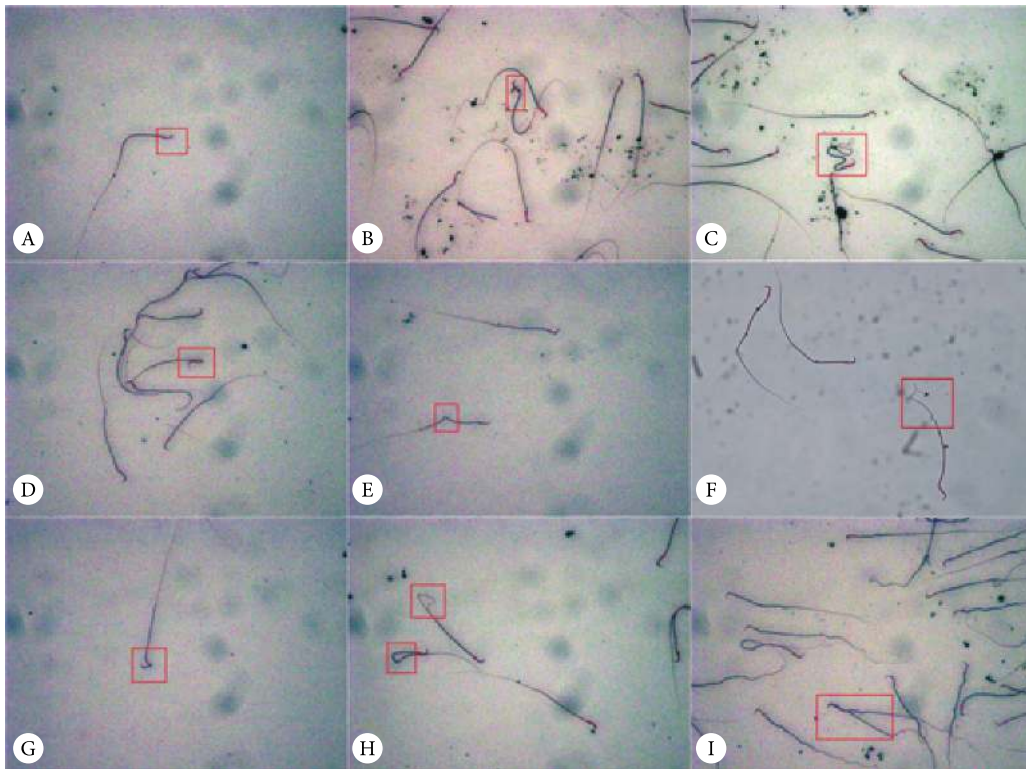


图 3 GEN处理后多种精子畸形形态。×400

Fig 3 Various sperm malformations after GEN treatment. ×400

A: Sperm head without hook-shaped; B: Double head; C: Undulate; D,G: Sperm neck folding; E,H: Sperm body folding; F,H: Sperm tail folding; I: Catamaran malformation

表 3 各组大鼠血清睾酮和雌二醇浓度变化 (n=10)

Table 3 Changes in serum concentrations of testosterone and estradiol in each group (n=10)

Group	Testosterone [△] /(ng/mL)	Estradiol/(ng/mL)
Control	0.33 (0.13, 0.58)	9.753±1.883
G1	0.15 (0.08, 0.21)	10.706±2.880
G2	0.06 (0.01, 0.13)*	10.490±2.116

[△]Data on testosterone levels are more scattered, expressed as median (P₂₅, P₇₅); * P<0.05, vs. control group and G1 group

细胞、间质细胞和部分生精细胞中呈现很亮的红色荧光, 表现为PPP2R2C蛋白高表达。

2.5 睾丸组织中PPP2R2C和CDK2基因mRNA表达水平变化

见图5。与对照组相比, G2组睾丸组织中PPP2R2C和CDK2基因mRNA相对表达量减少(P<0.05), 且低于G1组(P<0.05), 对照组与G1组之间差异无统计学意义(P>0.05)。说明高剂量GEN可下调PPP2R2C和CDK2基因mRNA表达。

2.6 睾丸组织中PPP2R2C、CDK2及p-CDK2蛋白表达水平的变化

见表4。与对照组相比, G2组PPP2R2C和CDK2蛋白

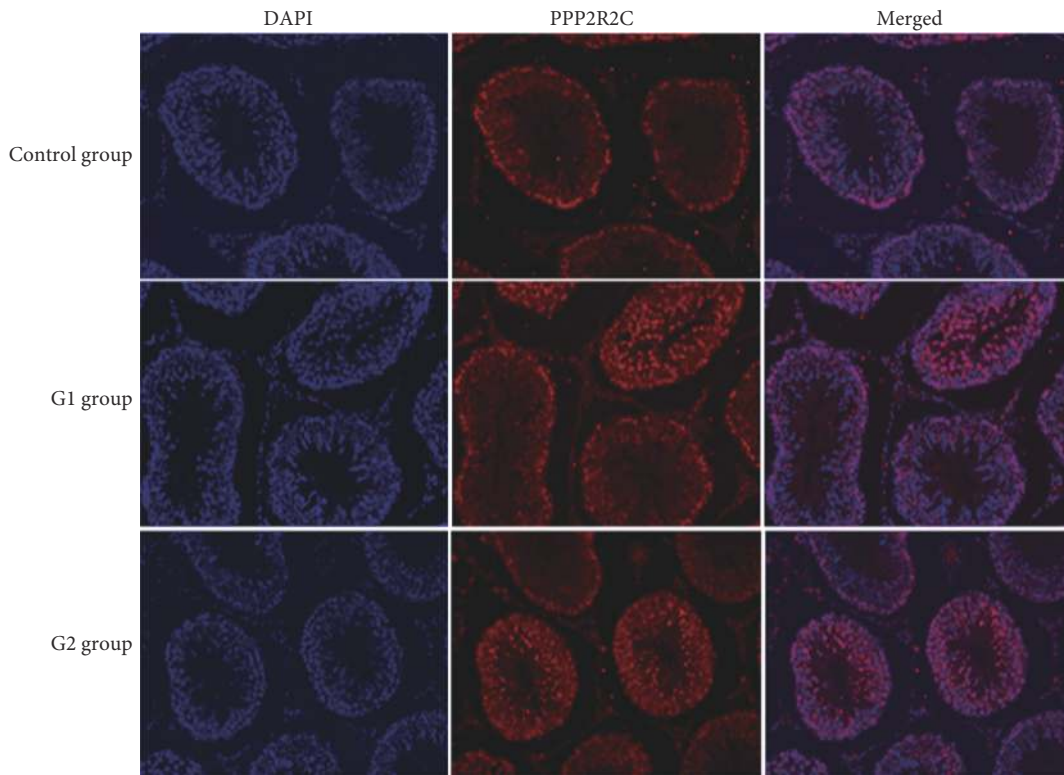


图 4 各组PPP2R2C蛋白在睾丸组织中表达定位。×200

Fig 4 The PPP2R2C protein expression localization in testicular tissues in each group. ×200

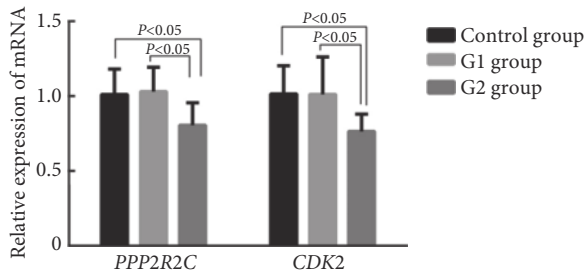


图 5 各组睾丸组织中PPP2R2C和CDK2 mRNA相对表达水平

Fig 5 The relative mRNA expression levels of PPP2R2C and CDK2 in testicular tissues in each group

的表达量均增加($P < 0.05$), 而p-CDK2蛋白表达量下降($P < 0.05$); 与对照组相比, G1组上述蛋白的表达量无明显变化($P > 0.05$)。

表 4 各组睾丸组织相关蛋白表达水平 (n=10)

Table 4 Expression levels of related proteins in testicular tissues in each group (n=10)

Group	PPP2R2C	CDK2	p-CDK2
Control	0.757±0.075	0.548±0.057	0.025±0.001
G1	0.826±0.198	0.554±0.160	0.025±0.003
G2	1.084±0.041*	0.827±0.079*#	0.020±0.001*#

* $P < 0.05$, vs. control group; # $P < 0.05$, vs. G1 group

2.7 睾丸组织中PP2A酶活性的变化

GEN干预后, G2组、G1组和对照组PP2A酶活性分

别为(39.92±8.54) pmol/μL、(46.73±12.68) pmol/μL和(46.96±9.85) pmol/μL, 3组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

膳食中植物雌激素对雄性生殖系统的影响一直受到广泛的关注, 研究表明, 发育早期高剂量暴露植物雌激素样物质会导致雄性个体生殖系统发育及功能异常^[5, 11], 而GEN作为重要的膳食摄入植物雌激素的来源, 研究其对雄性生殖健康的影响及其机制至关重要。DELCLLOS等^[12]研究发现GEN干预后, 雄性小鼠前列腺质量下降, 睾丸发育延迟, 精子发生畸形等情况, 与本研究结果基本一致。本研究还发现高剂量GEN干预后, 血清睾酮水平明显降低。以上结果提示高剂量GEN能够对雄性大鼠生殖系统造成不良影响。

诸多研究发现GEN会影响睾丸组织中相关基因和蛋白质的表达^[13-14]。本研究发现高剂量GEN改变了大鼠睾丸组织PPP2R2C和CDK2基因的mRNA和蛋白的表达水平。目前有关PPP2R2C在睾丸组织中表达定位的文献几乎没有, 只见于前列腺组织^[15]和神经胶质瘤^[16]等组织中的相关文献, 本研究发现PPP2R2C在各组大鼠睾丸组织中均有表达, 且在不同的细胞类型中也有表达。

细胞周期依赖性蛋白激酶(CDKs)在细胞周期调控

中起着重要的作用。CDK2是小鼠减数分裂不可缺少的酶,有研究发现CDK2基因敲除后,小鼠精子发生障碍,精母细胞大量凋亡,CDK2及其磷酸化转化参与粗线期调控进程,从而对精原细胞的减数分裂进程发挥至关重要的作用^[10]。

PPP2R2C所表达的蛋白质是PP2A的一个调节亚基,PP2A参与了30%~50%的蛋白去磷酸化事件,具有广泛生物学作用,包括调节信号传导、DNA合成和调节细胞周期等^[17-19]。有研究报道PPP2R2C基因高表达会增加PP2A的酶活性^[8],PP2A可使下游CDK2去磷酸化,而p-CDK2是其活性形式,参与细胞周期调控,在细胞周期的G₁/S检验点转化过程中发挥关键作用^[10,20]。提示整个PPP2R2C-PP2A-CDK2路径可能是以这样的过程影响大鼠生殖系统:PPP2R2C在睾丸组织中高表达,提高了PP2A酶的活性,PP2A酶使下游CDK2蛋白去磷酸化,抑制p-CDK2蛋白表达,从而影响精母细胞的减数分解,对精子生成造成影响,最终导致雄性大鼠生殖系统功能的异常。

但是本研究高剂量GEN使PPP2R2C蛋白的表达量增加,但未见PP2A酶活性发生显著改变,这与他人研究成果PPP2R2C高表达会提高PP2A酶活性不符^[8],因而PPP2R2C是否能够增强PP2A酶活性需要进一步的实验探讨。本研究在PP2A酶活性没有改变的情况下,p-CDK2蛋白的表达量下降,提示p-CDK2蛋白表达水平可能不是通过改变PP2A酶活性而改变的,可能通过PP2A酶的其他作用方式造成的,也可能是无关PP2A酶的通路造成的。因此明确GEN对青春期前雄性大鼠的生殖系统影响的机制仍需要大量实验跟进。

参 考 文 献

- [1] SETCHELL K D. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(6 Suppl): 1333S-1346S.
- [2] SEHER K C, MARJOLAINE N, GAELLE J, *et al.* The role of soy phytoestrogens on genetic and epigenetic mechanisms of prostate cancer. *Enzymes*, 2015, 37: 193-221.
- [3] DONG X, XU W Q, ROBERT A, *et al.* Apoptotic effects of cooked and *in vitro* digested soy on human prostate cancer cells. *Food Chem*, 2012, 135(3): 1643-1652.
- [4] 黄龙江, 丁静. 染料木素的结构修饰及活性研究进展. *精细化工*, 2018, 35(9): 1441-1448.
- [5] CEDERROTH C R, AUGER J, ZIMMERMANN C, *et al.* Soy, phytoestrogens and male reproductive function: a review. *Int J Androl*, 2009, 33: 304-316.
- [6] CACERES S, SILVAN G, ILLERA M J, *et al.* Effects of soya milk on reproductive hormones during puberty in male Wistar rats. *Reprod Domest Anim*, 2019, 54(6): 855-863.
- [7] 单靖焱, 曾香, 徐华, 等. 染料木黄酮对体外培养大鼠睾丸组织全基因表达谱的影响. *四川大学学报(医学版)*, 2017, 48(5): 705-709.
- [8] 魏波华, 梁惠欣, 王翠翠, 等. 蛋白磷酸酶2A调节亚基PR55- γ 基因克隆及真核细胞表达. *内科理论与实践*, 2014, 9(3): 198-202.
- [9] MIKOLCEVIC P, ISODA M, SIBUYA H, *et al.* Essential role of the Cdk2 activator RingoA in meiotic telomere tethering to the nuclear envelope. *Nat Commun*, 2016, 7: 11084[2019-09-26]. <https://www.nature.com/articles/ncomms11084>.
- [10] RUIZ E J, HUNT T, NEBREDA A R. Meiotic inactivation of *Xenopus* Myt1 by CDK/XRINGO, but not CDK/cyclin, via site-specific phosphorylation. *Mol Cell*, 2008, 32(2): 210-220.
- [11] WEST M C. The impact of dietary oestrogens on male and female fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007, 19(3): 215-221.
- [12] DELCLOS K B, BUCCI T J, LOMAX L G, *et al.* Effects of dietary genistein exposure during development on male and female CD (Sprague-Dawley) rats. *Reprod Toxicol*, 2001, 15(6): 647-663.
- [13] 宋杰, 谢雪健, 申雨燕, 等. 大豆异黄酮对体外培养大鼠睾丸组织 *Ins3*, *Mvh*, *Wt1*, α -SMA表达的影响及机制研究. *毒理学杂志*, 2016, 30(5): 381-384.
- [14] 曲绍娟, 印德娇, 刘运夏, 等. 大豆异黄酮调节小鼠睾丸类固醇生成酶和蛋白表达的机制研究. *现代预防医学*, 2016, 43(2): 317-320.
- [15] BLUEMN E G, SPENCER E S, MECHAM B, *et al.* PPP2R2C loss promotes castration-resistance and is associated with increased prostate cancer-specific mortality. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(6): 568-578.
- [16] FAN Y L, CHEN L, WANG J, *et al.* Over expression of PPP2R2C inhibits human glioma cells growth through the suppression of mTOR pathway. *FEBS Letters*, 2013, 587(24): 3892-3897.
- [17] THOMPSON J J, WILLIAMS C S. Protein phosphatase 2A in the regulation of wnt signaling, stem cells, and cancer. *Genes*, 2018, 9(3): 121[2019-09-18]. <https://doi.org/10.3390/genes9030121>.
- [18] WLODARCHAK N, XING Y. PP2A as a master regulator of the cell cycle. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2016, 51(3): 162-184.
- [19] ROWLAND M A, HARRISON B, DEEDS E J. Phosphatase specificity and pathway insulation in signaling networks. *Biophys J*, 2015, 108(4): 986-996.
- [20] SINGH P, PATEL R K, PALMER N, *et al.* CDK2 kinase activity is a regulator of male germ cell fate. *Development*, 2019, 146(21). pii: dev180273[2019-09-18]. <https://dev.biologists.org/content/146/21/dev180273>.

(2019-06-03收稿, 2019-10-15修回)

编辑 汤洁