DOI:10.16016/j.1000-5404.202009233

NPRL2 与膀胱癌患者临床病理特征的相关性及对膀胱癌细胞凋亡的影响

朱 西,罗生军,蒋 立,唐 伟 400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院泌尿外科

[摘要] **目的** 研究 NPRL2 与膀胱癌患者临床病理特征的相关性及沉默 NPRL2 对膀胱癌细胞系 Biu87/RT-4 凋亡的影响。**方法** 收集本院泌尿外科 2014 年 1 月至 2019 年 1 月的 131 例膀胱癌患者癌组织标本,免疫组化检测膀胱癌组织中 NPRL2 表达情况,分析其与膀胱癌临床病理特征的相关性;检测 CP-H068、Biu87 和 RT-4 细胞系中 NPRL2 的表达,CCK-8 法检测沉默 NPRL2 后细胞的增殖情况,流式细胞术检测凋亡,Western blot 检测凋亡相关蛋白表达。**结果** NPRL2 在膀胱癌组织中高表达,为 53.44%,与膀胱癌临床分期、分级存在显著相关性($P<0.05$);NPRL2 在膀胱癌细胞系 Biu87/RT-4 中的表达显著高于正常膀胱上皮细胞 CP-H068 ($P<0.05$);沉默 NPRL2 后 Biu87/RT-4 细胞增殖能力下降,凋亡率上升,凋亡相关蛋白 JNK、Bax、caspase-9 表达量增高,Bcl-2 表达受抑制,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 膀胱癌中 NPRL2 表达与膀胱癌临床分期和分级相关,通过沉默膀胱癌细胞 Biu87/RT-4 中 NPRL2 的表达,可以有效抑制膀胱癌细胞增殖、促进细胞凋亡。

[关键词] NPRL2;膀胱癌;Biu87 细胞;RT-4 细胞;凋亡

[中图法分类号] R394.3; R730.23; R737.14 [文献标志码] A

Correlation of NPRL2 with cinicopathological features of bladder cancer and its effect on cell apoptosis

ZHU Xi, LUO Shengjun, JIANG Li, TANG Wei Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the correlation between expression of NPRL2 and clinicopathological features of bladder cancer and the effect of NPRL2 silencing on the apoptosis of bladder cancer cell line Biu87/RT-4. **Methods** Cancer tissue samples were collected from 131 patients with bladder cancer admitted into our department from January 2014 to January 2019. The expression of NPRL2 in bladder cancer tissues was detected by immunohistochemistry, and the correlation between NPRL2 and the clinicopathological features of bladder cancer was analyzed. The expression of NPRL2 in CP-H068, Biu87 and RT-4 cell lines was detected, and the cell proliferation after NPRL2 silencing was detected by CCK-8 assay. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis, and Western blotting to detect the expression of apoptosis-related proteins. **Results** NPRL2 was highly expressed in bladder cancer samples, accounting for 53.44%, and the expression was significantly correlated with the clinical stage and grade of bladder cancer ($P<0.05$). Its expression was also obviously higher in the bladder cancer Biu87 and RT-4 cells than the normal bladder epithelial CP-H068 cells ($P<0.05$). NPRL2 silencing resulted in decreased proliferation ability, elevated apoptotic rate, and increased protein levels of JNK, Bax and caspase-9, while decreased level of Bcl-2 in the Biu87 and RT-4 cells ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of NPRL2 is related to the clinical stage and

[通信作者] 唐 伟,E-mail:tangwei2060@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

grade of bladder cancer. Silencing NPRL2 in bladder cancer cells Biu87/RT-4 can effectively inhibit the proliferation and promote apoptosis of bladder cancer cells.

[**Key words**] NPRL2; bladder cancer; Biu87 cells; RT-4 cells; apoptosis

Corresponding author: TANG Wei, E-mail: tangwei2060@163.com

膀胱癌是常见的恶性肿瘤之一,发病率和病死率逐年上升[1]。因此,揭示膀胱癌发生发展的分子机制,寻找早期诊断和治疗靶点极具意义。NPRL2 最早是通过生物信息学的方法在肺癌中发现的一个抑癌候选基因,由 11 个外显子组成[2]。该基因在肾脏、脑、肝等正常组织中高表达[3],而在多种肿瘤组织如乳腺癌、肺癌和结直肠癌中的表达明显下调[4-6],但 NPRL2 在一些肿瘤细胞中却高表达,如 HeLa 细胞、Jurkat 细胞和 HT29 细胞[7-8]。本课题组致力于研究 NPRL2 在泌尿系肿瘤中的表达情况及其潜在的临床价值,前期研究结果显示 NPRL2 在前列腺癌中反常高表达,且与临床分期和 Gleason 评分呈正相关,此外还发现干扰 NPRL2 能影响前列腺癌细胞增殖和凋亡,并影响多西他赛对前列腺癌细胞的毒性[9-11]。NPRL2 对膀胱癌细胞的影响尚不清楚,本研究旨在探讨 NPRL2 在膀胱癌中的表达情况及其对膀胱癌细胞增殖的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

131 例膀胱癌组织来自 2014 年 1 月至 2019 年 1 月重庆医科大学附属第一医院病理科,均为手术术后病理石蜡包埋组织。膀胱癌患者中男性患者 102 例,女性患者 29 例,年龄 40~80(68.3±20.3)岁。131 例肿瘤组织中病理分级(WHO 2004 分级法):低度恶性潜能乳头状尿路上皮肿瘤(PUNLMP) 21 例、低级别尿路上皮癌(UCC-LG) 53 例、高级别尿路上皮癌(UCC-HG) 57 例。临床分期:Tis 1 例、Ta 16 例、T_1 期 57 例、T_2 期 32 例,T_3 期 22 例、T_4 期 3 例(表 1)。选取全膀胱切除组织中癌旁组织作为对照。涉及临床标本通过重庆医科大学附属第一医院伦理委员会审批[2020 年科研伦理(2020-466)]。

1.2 实验试剂

正常膀胱上皮细胞(CP-H068)和膀胱癌细胞(Biu87、RT-4)购自武汉诺普赛生命科技有限公司,阴性对照质粒(miR-NC)、荧光素酶报告载体购自上海吉玛生物有限公司,NPRL2、JNK、Bcl-2、Bax、caspase-9 蛋白抗体购自美国 Cellular Signaling Technology 公司,免疫组化试剂盒、二甲基联苯胺(DBA)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 将收取的标本分为 4 组:正常膀胱上皮(癌旁组织)、低度恶性潜能乳头状尿路上皮肿瘤(PUNLMP)、低级别尿路上皮癌(UCC-LG)和高级别尿路上皮癌(UCC-HG)。石蜡包埋组织 4 μm 厚连续切片,临用前常规 65 ℃烤炉烤 60 min 后二甲苯、乙醇脱蜡至水,3%双氧水浸泡 20 min,封闭内源性过氧化物酶活性。微波枸橼酸盐抗原修复,降至室温水洗后 PBS 洗 3 次,5 min/次,滴加 10%血清,阻断非特异性结合,37 ℃孵育 10 min。加一抗(工作浓度 1∶200)4 ℃过夜,PBS 洗 3 次,5 min/次滴加生物素标记二抗,37 ℃孵育 10 min,PBS 洗 3 次,5 min/次,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液 37 ℃孵育 10 min,DAB 显色,苏木精复染、脱水、干燥、中性树脂封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3.2 结果判定 采用免疫反应评分法(immunoreactive score,IRS)对实验结果进行综合评分。具体方法:阳性细胞百分率(percentage of positive cells,PP)为实验切片中阳性细胞所占总细胞数的百分比,染色强度(staining intensity,SI)为实验切片中细胞的染色强度,两者相乘计算出最终得分(IRS=PP×SI)。在每个切片中选择 200 倍的随机高倍镜视野 10 个,并计算出阳性细胞所占总细胞比例,取平均数:无阳性细胞 PP 计 0 分,0<PP≤10%计 1 分,10%<PP<50%计 2 分,50%≤PP<80%计 3 分,PP≥80%计 4 分。无明显染色 SI 计 0 分,染色呈浅棕黄色 SI 计 1 分,染色呈棕黄色 SI 计 2 分,染色呈棕褐色 SI 计 3 分。最终得分 IRS>3 表示高表达,≤3 表示低表达。

1.3.3 细胞培养 CP-H068、Biu87 和 RT-4 细胞于含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中培养。Biu87、RT-4 细胞转染 si-NPRL2 载体后形成的 si-Biu87 和 si-RT-4 细胞于含 6 μg/mL 嘌呤霉素的 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中培养。

1.3.4 荧光定量 PCR 检测目的基因 收取 CP-H068、Biu87 和 RT-4 细胞,采用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,反转录成互补脱氧核糖核酸(complementary DNA,cDNA),按照 qPCR 试剂盒说明书进行反应。条

件为 95 ℃预变性 30 s;95 ℃变性 10 s,60 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 30 s,40 个循环。收集 Ct 值,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-NPRL2 mRNA 相对表达量。

1.3.5 Western blot 检测蛋白表达 收取 CP-H068、Biu87 和 RT-4 细胞及 Biu87、si-Biu87、RT-4 和 si-RT-4 细胞,向细胞中加入蛋白裂解液提取总蛋白,经 10%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gelelectrophoresis,SDS-PAGE),转移到聚偏二氟乙烯膜,常温下 5%脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗,4 ℃孵育过夜,加入二抗,室温孵育 1 h,化学发光液进行显色、曝光,以 β-actin 为内参,计算蛋白相对表达量。

1.3.6 细胞转染、增殖 将 Biu87、RT-4 细胞接种于 6 孔板,融合生长至 70%,按照试剂说明书的指示,将 NPRL2 及相应的阴性对照转染入细胞。收集转染后的 Biu87、RT-4 细胞,以 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板,培养 48 h 后,加入 10 mL/孔 CCK-8 溶液,37 ℃孵育 2 h,摇床孵育 10 min,酶标仪检测细胞在波长 490 nm 处的光密度值[D(490)]。

1.3.7 流式细胞术检测转染后细胞凋亡 收集转染后的 Biu87、RT-4 细胞,清洗、离心、去上清,预冷的 70%酒精固定,4 ℃过夜,送至重庆医科大学生命科学研究院检测。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较用单因素方差分析,组间多重比较用 SNK q 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NPRL2 的表达及定位

免疫组化结果显示,NPRL2 蛋白主要定位于膀胱癌细胞上皮的胞质中,在细胞核及间质中少有表达,阳性表达呈棕黄色或棕褐色;NPRL2 在正常膀胱黏膜上皮不表达。见图 1。

2.2 NPRL2 的表达与膀胱癌临床、病理特征间的关系

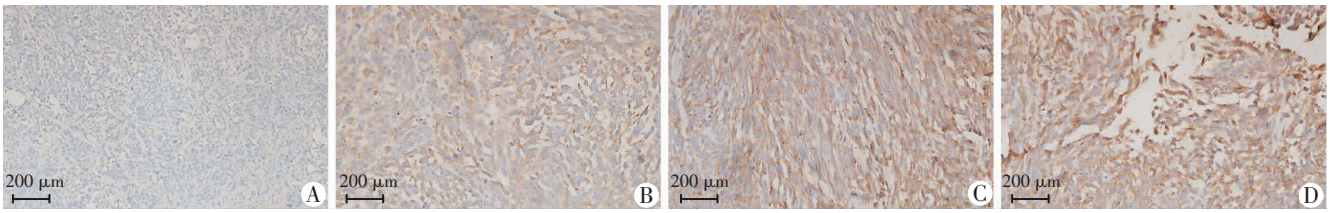
131 例膀胱癌组织中,NPRL2 蛋白阳性表达率随临床分期的增加而增加,差异有统计学意义($P=0.009$);在 PUNLMP、UCC-LG、UCC-HG 标本阳性表达量随着膀胱癌病理级别增加而增加,差异有统计学意义($P=0.014$、$P=0.001$),而与年龄($P=0.271$)、性别($P=0.885$)无明显相关,见表 1。

2.3 NPRL2 在正常膀胱上皮 CP-H068 细胞和膀胱癌细胞 Biu87、RT-4 中的表达

与 CP-H068 细胞相比,Biu87、RT-4 中 NPRL2 mRNA 和蛋白表达量显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 2)。

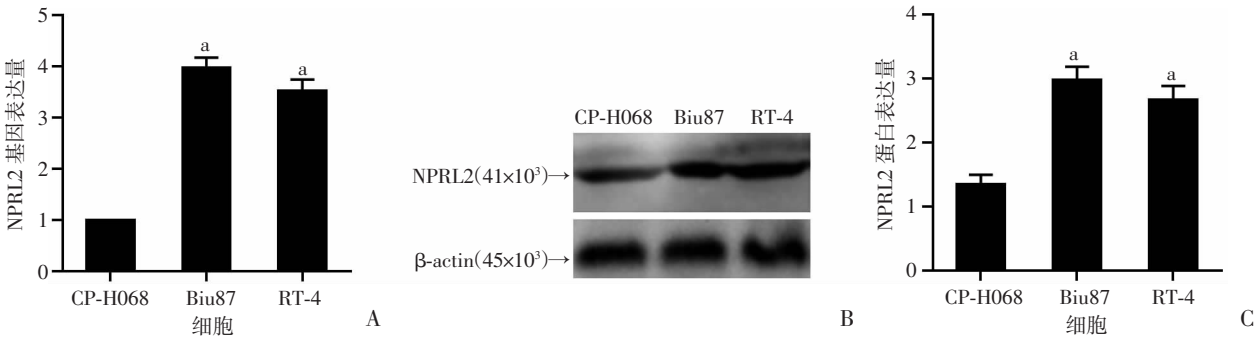
表 1 NPRL2 在膀胱癌组织中的表达与膀胱癌临床、病理特征间关系

变量	n(%)	NPRL2[例(%)]		P 值
		低表达	高表达	
性别				
男	102(77.86)	48(36.64)	54(41.22)	0.885
女	29(22.14)	13(9.92)	16(12.21)	
年龄/岁				
<65	59(45.04)	26(19.85)	33 (25.19)	0.271
≥65	72(54.96)	35(26.72)	37(28.24)	
肿瘤分期				
Tis、Ta、T_1	74(56.49)	43(32.82)	31(23.66)	0.009
T_2~T_4	57(43.51)	18(13.74)	39(29.77)	
肿瘤分级				
PUNLMP	21(16.03)	15(11.45)	6(4.58)	
UCC-LG	53(40.46)	25(19.08)	28(21.37)	0.014
UCC-HG	57(43.51)	21(16.03)	36(27.48)	0.001



A:正常膀胱黏膜上皮;B、C、D:分别为低度恶性潜能乳头状尿路上皮肿瘤(PUNLMP)、低级别尿路上皮癌(UCC-LG)、高级别尿路上皮癌(UCC-HG)

图 1 NPRL2 蛋白在正常膀胱黏膜上皮和膀胱癌中的表达(S-P)



A:RT-PCR 检测 CP-H068、Biu87、RT-4 细胞中 NPRL2 基因表达;B、C:Western blot 检测 CP-H068、Biu87、RT-4 细胞中 NPRL2 蛋白表达及半定量分析　　a:$P<0.01$,与 CP-H068 细胞比较

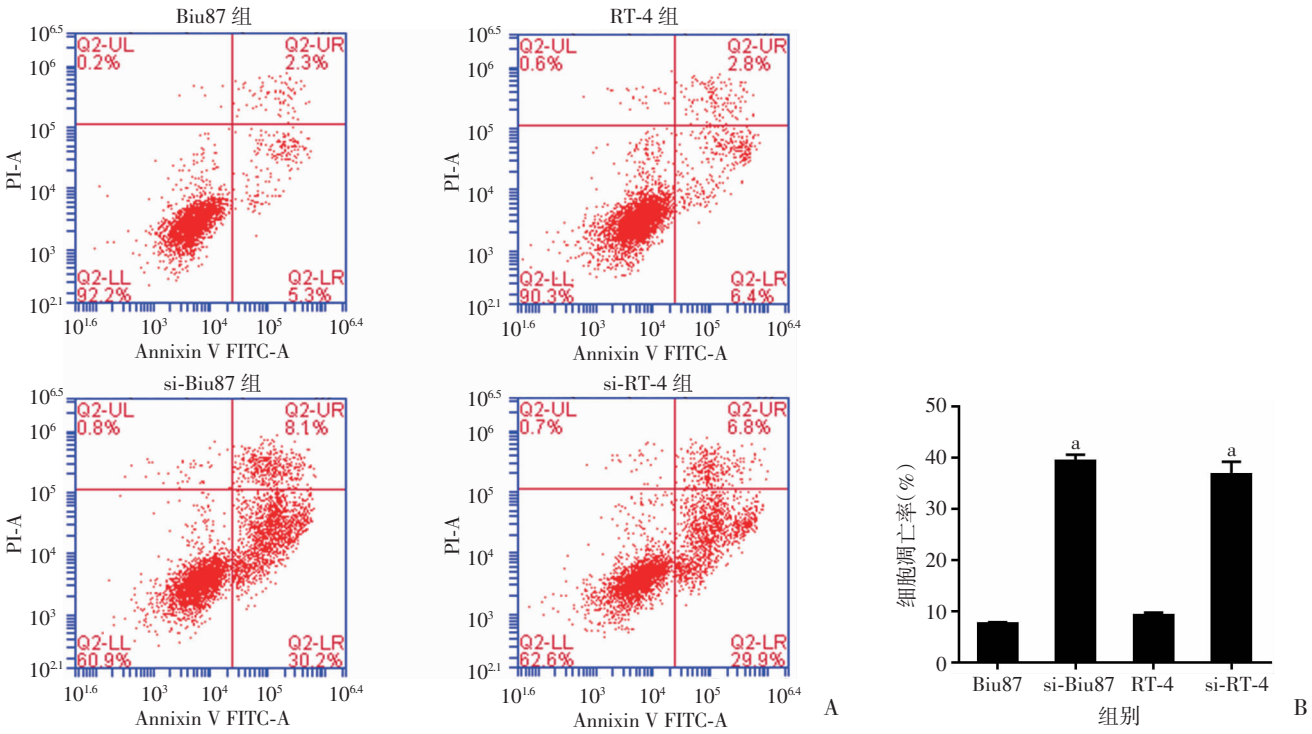
图 2　NPRL2 在正常膀胱上皮细胞和膀胱癌细胞中的表达($\bar{x}\pm s$,$n=3$)

2.4　干扰 NPRL2 表达对 Biu87、RT-4 细胞增殖的作用

与 Biu87、RT-4 组比较,转染 si-NPRL2 载体后的 si-Biu87 组和 si-RT-4 组细胞中 NPRL2 的表达量明显降低($P<0.05$);CCK-8 检测结果显示,si-Biu87、si-RT-4 组细胞增殖率分别较 Biu87、RT-4 组下降 35.1% 和 27.1%($P<0.05$);细胞的凋亡率明显上升($P<0.01$,图 3)。

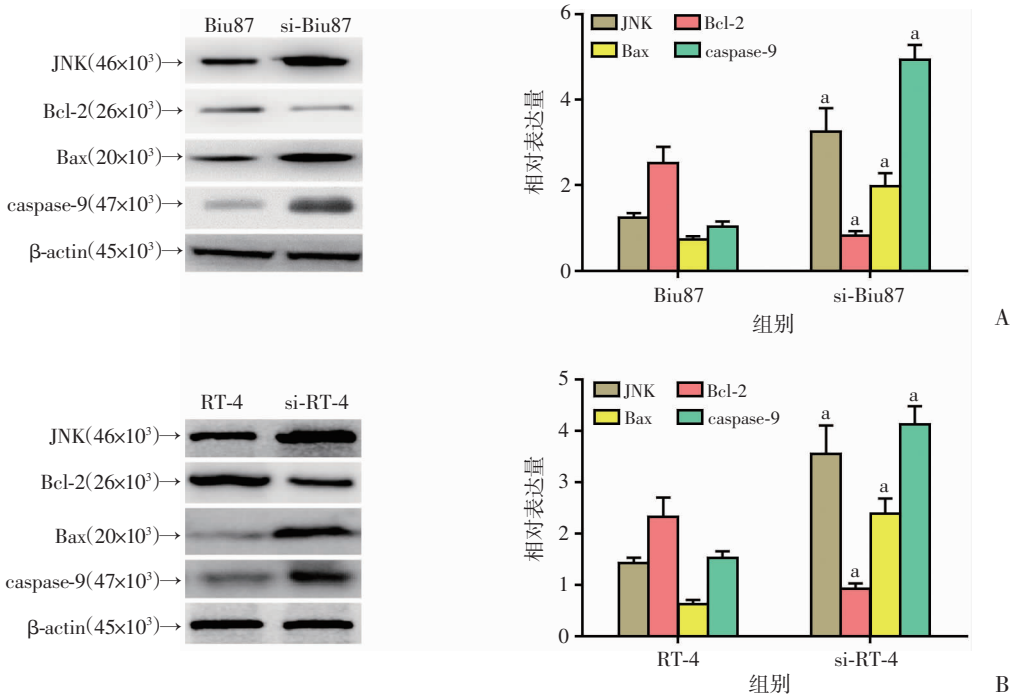
2.5　干扰 NPRL2 表达对 Biu87、RT-4 细胞凋亡相关蛋白的作用

Western blot 检测干扰 NPRL2 表达后凋亡相关蛋白的表达,分别与 Biu87、RT-4 组比较,si-Biu87 组、si-RT-4 组细胞凋亡相关蛋白 JNK、Bax、caspase-9 表达量增高,Bcl-2 表达受抑制,差异有统计学意义($P<0.01$,图 4)。



A:流式细胞术检测干扰 NPRL2 表达后对 Biu87、RT-4 细胞凋亡的影响;B:各组细胞凋亡率　　a:$P<0.01$,与各自对照组比较

图 3　干扰 NPRL2 表达后对 Biu87、RT-4 细胞增殖的影响



A:Biu87 细胞;B:RT-4 细胞;a:$P<0.01$,与各自对照组比较

图 4 Western blot 检测干扰 NPRL2 表达后对细胞凋亡相关蛋白表达的影响

3 讨论

膀胱癌分为表浅性和浸润性膀胱癌,其中表浅性膀胱癌占 70%,浸润性膀胱癌占 30%。表浅性膀胱癌行电切术后复发率为 60%~70%,其中 15%~20%癌灶侵袭性能增强,进展为肌层浸润性膀胱癌,需要行根治性膀胱切除和尿流改道术[1,13]。目前,临床上用来预测膀胱癌术后进展、复发的高危因素包括肿瘤分级、分期、肿瘤大小、数量等,但这并不能完全反映膀胱癌细胞的侵袭潜能及复发倾向。为此,从分子水平阐明膀胱癌增殖机制,研发预警高侵袭潜能膀胱癌的分子标记物,对指导膀胱癌临床预后评估、治疗方式选择等具有重大意义。

NPRL2 基因位于人染色体 3p21.3 区,由 11 个外显子和 10 个内含子组成,其主要的转录子 mRNA 的编码蛋白是由 380 个氨基酸组成,NPRL2 的多种剪接异构体在不同的组织类型中表达[3,14]。染色体 3p21.3 区被认为是抑癌基因簇,有较多抑癌基因定位于该区域[15-16]。NPRL2 在功能上作为一种抑癌基因参与并影响细胞周期、细胞凋亡及 DNA 修复等分子生物学事件,其在肺癌、乳腺癌、结直肠癌和胶质瘤中的表达明显下调,并影响多种化疗药物的化疗敏感性[4-7,17]。但是 NPRL2 在部分肿瘤细胞中高表达[7-8],本课题组前期意外发现 NPLR2 在前列腺癌中高表达[9-12],这种反常表达引起了我们的关注。本研究对 131 例膀胱癌组织进行免疫组化检测,观察 NPRL2 蛋白与膀胱癌患者临床、病理特征间的关系,结果显示 NPRL2 蛋白表达高低与患者临床分期($P=0.009$)、病理分级[PUNLMP、UCC-LG、UCC-HG 组织 NPRL2 蛋白阳性表达差异逐级均有统计学意义($P=0.014$、$P=0.001$)]呈正相关,而与年龄($P=0.271$)、性别($P=0.885$)无关,其中 T_3、T_4 期膀胱癌均为强阳性表达;PUNLMP、UCC-LG、UCC-HG 不同恶性程度膀胱癌组织 NPRL2 蛋白阳性表达差异有统计学意义($P=0.008$)。表明 NPRL2 蛋白表达程度与膀胱癌恶性程度密切相关,高度提示 NPRL2 蛋白是参与膀胱癌发生发展过程的重要蛋白,可作为判断膀胱癌临床检测的分子标记物,对膀胱癌患者预后评估及治疗方式选择具有指导作用。NPRL2 在膀胱癌组织中高表达,且与恶性程度正相关,其在膀胱癌中很有可能扮演促癌作用,但这种反常表达的机制尚不清楚。

mTORC1 信号通路是调控细胞生长的核心,自噬则是细胞面对不利环境的重要生存机制[18]。本课题组前期研究结果显示 NPRL2 高表达可以通过抑制 mTORC1 通路促进自噬[9,11],从而抵抗营养缺乏的不利微环境,避免肿瘤细胞凋亡。而 NPRL2 的抑癌作用可能是通过下调 Bcl-xl 的表达,从而上调 Cyt c 的表达进而激活 caspase-3 导致细胞凋亡[16]。本研究通过体

外实验发现,NPRL2 的 mRNA 和蛋白表达在膀胱癌细胞中明显上调。这与膀胱癌组织结果相符,提示 NPRL2 在膀胱癌中高表达。通过慢病毒干扰 NPRL2 表达发现,抑制 NPRL2 的表达可以有效地抑制膀胱癌细胞的增殖,凋亡相关蛋白 JNK、Bax、caspase-9 表达量增高,Bcl-2 表达受抑制,进一步证实 NPRL2 在膀胱癌中高表达并发挥着促癌的作用,抑制 NPRL2 可抑制膀胱癌细胞增殖并促进凋亡。

综上所述,NPRL2 在膀胱癌组织中高表达,且表达量与临床分期、病理分级呈正相关;体外实验证实 NPRL2 对膀胱癌的发生、发展起促进作用。为膀胱癌提供了新的靶点和生物标志。

参考文献:

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA A Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34. DOI: 10.3322/caac.21551.

[2] LERMAN M I, MINNA J D. The 630-kb lung cancer homozygous deletion region on human chromosome 3p21.3: identification and evaluation of the resident candidate tumor suppressor genes[J]. Cancer Res, 2000, 60(21):6116-6133.

[3] LI J, WANG F, HARALDSON K, *et al*. Functional characterization of the candidate tumor suppressor gene NPRL2/G21 located in 3p21.3C[J]. Cancer Res, 2004, 64(18): 6438-6443. DOI:10.1158/0008-5472.can-03-3869.

[4] LIU M N, LIU A Y, PEI F H, *et al*. Functional mechanism of the enhancement of 5-fluorouracil sensitivity by TUSC4 in colon cancer cells[J]. Oncol Lett, 2015, 10(6): 3682-3688. DOI:10.3892/ol.2015.3801.

[5] ZENG Y, SHI X B, YUAN Z Y, *et al*. Biological characteristics of renal cancer cells after CTP-mediated cancer suppressor gene NPRL2 protein treatment[J]. Biol Chem, 2016, 397(11): 1163-1171. DOI:10.1515/hsz-2016-0143.

[6] PENG Y, DAI H, WANG E, *et al*. TUSC4 functions as a tumor suppressor by regulating BRCA1 stability[J]. Cancer Res, 2015, 75(2): 378-386. DOI:10.1158/0008-5472.can-14-2315.

[7] BAR-PELED L, CHANTRANUPONG L, CHERNIACK A D, *et al*. A Tumor suppressor complex with GAP activity for the Rag GTPases that signal amino acid sufficiency to mTORC1 [J]. Science, 2013, 340(6136): 1100-1106. DOI:10.1126/science.1232044.

[8] HUANG N, CHENG S, MI X, *et al*. Downregulation of nitrogen permease regulator like-2 activates PDK1-AKT1 and contributes to the malignant growth of glioma cells[J]. Mol Carcinog, 2016, 55(11): 1613-1626. DOI:10.1002/mc.22413.

[9] CHEN Z, JIANG Q, ZHU P, *et al*. NPRL2 enhances autophagy and the resistance to everolimus in castration-resistant prostate cancer[J]. Prostate, 2019, 79(1): 44-53. DOI:10.1002/pros.23709.

[10] CHEN Z, LUO S, CHEN Y, *et al*. High expression of NPRL2 is linked to poor prognosis in patients with prostate cancer[J]. Hum Pathol, 2018, 76: 141-148. DOI:10.1016/j.humpath.2018.02.011.

[11] LUO S, SHAO L, CHEN Z, *et al*. NPRL2 promotes docetaxel chemoresistance in castration resistant prostate cancer cells by regulating autophagy through the mTOR pathway [J]. Exp Cell Res, 2020, 390(2): 111981. DOI:10.1016/j.yexcr.2020.111981.

[12] 陈欣, 唐伟, 陈志雄, 等. NPRL2 调控去势抵抗型前列腺癌对奥拉帕尼的敏感性[J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(3): 227-235. DOI:10.16016/j.1000-5404.201810053.
CHEN X, TANG W, CHEN Z X, *et al*. Nitrogen permease regulator like-2 regulates sensitivity of castration-resistant prostate cancer to olaparib[J]. J Third Mil Med Univ, 2019, 41(3): 227-235. DOI:10.16016/j.1000-5404.201810053.

[13] ANTONI S, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al*. Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends[J]. Eur Urol, 2017, 71(1): 96-108. DOI:10.1016/j.eururo.2016.06.010.

[14] LIU A, QIAO J, HE L, *et al*. Nitrogen permease regulator-like-2 exhibited anti-tumor effects and enhanced the sensitivity of colorectal cancer cells to oxaliplatin and 5-fluorouracil [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 8637-8644. DOI:10.2147/ott.s219562.

[15] HESSON L B, COOPER W N, LATIF F. Evaluation of the 3p21.3 tumour-suppressor gene cluster[J]. Oncogene, 2007, 26(52): 7283-7301. DOI:10.1038/sj.onc.1210547.

[16] RIMKUS T, SIRKISOON S, HARRISON A, *et al*. Tumor suppressor candidate 2 (TUSC2, FUS-1) and human cancers[J]. Discov Med, 2017, 23(128): 325-330.

[17] MA Y, SILVERI L, LACAVA J, *et al*. Tumor suppressor NPRL2 induces ROS production and DNA damage response [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15311. DOI:10.1038/s41598-017-15497-0.

[18] SHEN K, VALENSTEIN M L, GU X, *et al*. Arg-78 of Nprl2 catalyzes GATOR1-stimulated gtp hydrolysis by the rag GTPases[J]. J Biol Chem, 2019, 294(8): 2970-2975. DOI:10.1074/jbc.ac119.007382.

(收稿:2020-09-27;修回:2020-12-17)

(编辑 汪勤俭)