

DOI: 10.13376/j.cbls/2019084

文章编号: 1004-0374(2019)07-0693-06

肝再生磷酸酶-2的分子结构与功能研究进展

杜新月, 吴琛耘, 王兆军*

(上海交通大学医学院免疫学与微生物学系, 感染免疫实验室, 上海 200025)

摘要: 肝再生磷酸酶-2 (PRL-2) 在机体正常的细胞、组织和器官, 以及大部分的肿瘤中普遍高表达, 以其致癌原性被广泛认知, 但分子机制尚不明确。近几年的研究发现了 PRL-2 的新型结合伴侣——细胞周期蛋白 M (cyclin-M, CNM) 家族, 为进一步解析 PRL-2 的生理生物功能提供新的方向。现总结 PRL-2 分子在实体瘤、血液肿瘤中的作用, 探讨其结构与功能的关系, 并对 PRL-2 及其结合伴侣的生理功能进行全面综述。

关键词: 肝再生磷酸酶-2; 肿瘤; 细胞周期蛋白 M; 生理功能

中图分类号: Q55 **文献标志码:** A

Research progress in molecular structure and functions of phosphatase of regenerative liver-2

DU Xin-Yue, WU Chen-Yun, WANG Zhao-Jun*

(Laboratory of Infection and Immunology, Department of Immunology and Microbiology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: Phosphatase of regenerative liver-2 (PRL-2), which is well known for its carcinogenicity, is highly expressed in normal cells, tissues and organs, as well as in most tumors, but the molecular mechanism is still unclear. Recent studies have found a new binding partner of PRL-2: cyclin-M (CNM) family, which provides a new direction for further research about the physiological and biological functions of PRL-2. This review summarizes the current understanding of the role of PRL-2 in solid tumors and hematological tumors, explores the relationship between its structure and function, and comprehensively reviews the physiological functions of PRL-2 and its binding partners.

Key words: phosphatase of regenerative liver-2; tumor; cyclin-M; physiological function

肝再生磷酸酶-2 (PRL-2) 是一种相对分子质量大约为20 kDa的蛋白质,属于肝再生磷酸酶(phosphatase of regenerative liver, PRL) 家族, 该家族由于其第一个被发现的成员 PRL-1 是肝再生中上调促有丝分裂信号的早期基因而得名^[1]。同时, PRL 家族又是蛋白酪氨酸磷酸酶 4A (protein tyrosine phosphatase 4A, PTP4A) 家族, 故其基因名亦称为 *PTP4A*。PRL 家族共包含有 PRL-1、PRL-2 和 PRL-3 三个成员, 成员之间的同源性很高, 但 PRL-2 在其氨基酸数目上较其他两者少^[2], 这种微小的结构差异导致了 PRL-2 功能的有所不同, 也因此受到了人们的广泛关注。

1 PRL-2的结构

PRL-2 在氨基酸基序上与 PRL-1 和 PRL-3 有着高度的同源性, 分别为 87% 和 76%^[3]; 但在氨基酸数目上比 PRL-1 和 PRL-3 都少 6 个, 只由 167 个氨基酸残基组成^[2]。PRL-2 缺少的氨基酸残基可能与某些分子的相互作用有关。Wang 等^[4]认为

收稿日期: 2019-03-14; 修回日期: 2019-04-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(81471971)

*通信作者: E-mail: zjwang@sjtu.edu.cn; Tel: 021-63846590-776460

PRL-2 在靠近 C 末端处丢失的三个氨基酸可能解释了在 PRL 家族中, PRL-1 和 PRL-3 都被发现能与 α -微管蛋白 (α -tubulin) 进行相互作用, 仅有 PRL-2 不能与之结合的原因。并且氨基酸的缺失也可能是导致 PRL-2 不能形成三聚体的重要因素^[5]。相反地, PRL-2 也因此具有一些特异性结合蛋白, 如香叶基香叶基转移酶 II 的 β 亚基 (β -subunit of Rab geranylgeranyltransferase II, β GGT II) 等^[6-7]。

与其他 PTP 家族成员一样, PRL-2 作为以半胱氨酸为基础的磷酸酶 (cysteine-based phosphatases, CBPs), 其保守的催化结构域 CX₃R 中存在 101 位的半胱氨酸 (cysteine, Cys) 残基, 是其酶活中心^[8]。起催化作用的 Cys 残基上的巯基 (-SH) 在其周围的电子环境中很容易发生去质子化, 这使它具有化学活性并且对氧化压力极其敏感, 在活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 诱导下, 既可以可逆地生成次磺酸 (Cys-SOH), 也可以与结构上靠近的 Cys46 形成分子内二硫键^[9-10]。这种结构特征在一定程度上调节了磷酸酶的活性, 也可以保护起催化作用的半胱氨酸残基不被不可逆氧化。同时氧化状态的 PRL-2 可以被硫氧还蛋白相关蛋白 32 (thioredoxin-related protein 32, TRP32) 特异性还原。研究表明, 过氧化氢处理细胞 90 min 后, PRL-2 基本恢复到还原状态, 揭示了 PRL-2 的氧化还原调控^[11]。由于分子内二硫键的形成迫使蛋白质的构象变得更加紧密, 因此其在非还原状态的 SDS-PAGE 胶中迁移速度较快, 从而被检测出来。但如果 Cys 残基氧化为次磺酸后进一步氧化形成亚磺酸 (Cys-SO₂H) 或磺酸 (Cys-SO₃H), 此过程不可逆, PRL-2 亲核性及催化活性将丧失^[8-9]。上述氧化修饰都可以作为蛋白质泛素化或在蛋白酶体内降解的信号。同样的现象也存在于 PRL-1 和 PRL-3 中, 并且 PRL-1 除了分子内二硫键外, 还能通过其起催化活性的半胱氨酸残基形成分子间二硫键^[12]。有趣的是, 某些蛋白酪氨酸磷酸酶在体外培养的细胞中能够响应除氧化压力外的一些生理的刺激而产生氧化形式^[13], 但有关 PRL-2 的类似研究还有待进行。

此外, 包括 PRL-2 在内的 PRL 家族还具有一个特有的 CAAX 结构域, 或者叫异戊烯化结构域, 被认为与细胞迁移和侵袭等生物活性有关^[14]。CAAX 结构域定位在 C 末端区域, 其中 C 为半胱氨酸, A 为脂肪族残基, X 为任意氨基酸, 其 164 位半胱氨酸残基被异戊烯化, 参与信号转导^[15], 并与 PRLs 的细胞膜定位密切相关^[16]。PRLs 异戊烯

化的缺失也会影响 PRLs 的行为: 增强 PRL-1 抗氧化能力^[17]; 抑制 PRL-1 促进 HEK293 细胞生长和迁移的能力^[14]; 丧失 PRL-2 与 β GGT II 的特异性结合^[7]; 提高 PRL-3 的催化效率^[16]等。所有 PRLs 中 CAAX 结构域的突变都会导致细胞迁移和侵袭能力的减弱, 表明异戊烯化对于 PRLs 生物活性的重要性^[14,18]。有趣的是, 与 CAAX 结构域相邻处还存在一个多碱基区, 在 CAAX 结构域异戊烯化缺失的情况下, 作为核定位信号, 将 PRLs 引导到细胞核中^[14,19]。值得注意的是, 尽管除 PRLs 以外的其他 PTPs 都不具有 CAAX 结构域, 但是在 GTPases 的 Ras 超家族的许多成员中都发现了多碱基区域和相邻的 CAAX 结构域^[3], 同样与 Ras 成员的膜定位相关, 是其活化并启动一系列信号通路的前提, 暗示了 PRLs 与 Ras 功能的相关性。

2 PRL-2的生理功能

通过 PRL-2 过表达的细胞体系以及 PRL-2 敲除的小鼠模型进一步探究 PRL-2 的生理功能, 研究表明, PRL-2 在细胞周期调控、动物生长发育、精子发生、能量代谢、造血作用等多方面发挥重要作用。

Werner 等^[2]发现在仓鼠胰腺导管上皮细胞系 D27 中过表达 PRL-2, 其 DNA 合成速率显著提高。进一步分析证实, PRL-2 的过表达将 G₁/S 细胞周期蛋白依赖激酶 2 (CDK2) 的活性提高 18%, 这与细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂 (CKI) p21^{cip1/waf1} 的表达下调相关, 暗示 PRL-2 可能通过调控 p21 水平来调节细胞周期, 并不影响其细胞凋亡。相反地, 有研究表明 PRL-2 的细胞内定位可能受细胞周期调控^[20], 暗示了 PRL-2 与细胞周期两者之间的相互作用关系。

研究表明, PRL-2 是胚胎发育的必要条件, PRL2 缺失通过下调磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸 3-磷酸酶和双特异性蛋白磷酸酶 (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase and dual-specificity protein phosphatase, PTEN) 和活化 Akt, 导致胎盘功能不全、海绵状滋养细胞增殖减少和生长迟缓^[21]。PRL-1/PRL-2 双敲除的胚胎在孕期 9.5 d 后全部死亡^[22], 但单敲除其中任意一个并不会出现胚胎致死的现象, 提示 PRL-1 和 PRL-2 在早期胚胎阶段功能的互补以及对于生命体的存活的重要性。除此之外, PRL-2 缺失的小鼠体重下降, 脾脏、胸腺发育不全^[23], PRL-2 在小鼠胸腺祖细胞中高度表达, 其

缺陷导致小鼠 T 细胞发育的典型 Notch/RBPJ 信号通路受阻^[24]。

Dong 等^[25]发现, PRL-2 敲除的雄性小鼠呈现出睾丸营养不良、精子产量下降、生殖潜能受损的表型。进一步研究发现, PRL-2 可能通过下调 PTEN 从而促进 Kit 信号通路中 PI3K/Akt 的活化, 最终有利于生殖细胞的存活, 提示 PRL-2 在精子发生中的重要作用以及在男性生育中的潜能。有趣的是, PRL-1 敲除的雄性小鼠在精子形成和生殖能力上表现正常, 但 PRL1^{-/-}PRL2^{+/-} 的雄性小鼠显示睾丸萎缩的表型, PRL2^{-/-}PRL1^{+/-} 的雄性小鼠表现为完全不孕, 同样揭示了 PRL-1 与 PRL-2 之间的功能补偿^[22]。

此外, PRL-2 在造血干细胞 (HSC) 的自我更新中也发挥重要作用^[23]。PRL-2 缺陷小鼠的造血干细胞和祖细胞 (HSPCs) 增殖减少, 外周血中中性粒、淋巴、白细胞减少, 只血红蛋白水平正常, Akt 和 ERK 信号激活减少, 且这些现象与归巢缺陷和凋亡增加无关, 仅是自我更新无能。同样地, PRL-2 在造血细胞中高表达, 在分化细胞中的表达更丰富, PRL-2 缺陷的 HSPCs 显示体外分化受损, 这表明它可能在谱系交替中扮演重要角色^[24]。

正如上文中提到 PRLs 与 Ras 之间可能存在功能的相关性, Yin 等^[26]发现, PRL-2 能够在炎症部位感应 ROS, 并通过与 GTPase Rac 的互作调节吞噬细胞中 ROS 的产生, 从而影响其杀菌活性。这提示 PRL-2 可能在天然抗菌免疫中发挥重要作用, 为感染性疾病的防治提供了新的方向。

3 PRL-2与肿瘤

PRLs 作为致癌基因, 被发现在结直肠、肝、前列腺、胰腺和乳腺等癌症以及血液恶性肿瘤如多发性骨髓瘤、急性髓系白血病中表达显著提高^[25]。在非致癌性细胞系及肿瘤细胞系中过表达 PRLs 都导致细胞增殖、黏着非依赖性生长和侵袭增强^[15,27-29]。

在原发性腺癌中, PRLs 的表达频率相似, PRL-1: 16%; PRL-2: 10%; PRL-3: 16%^[3]。普遍认为 PRL-3 在多种恶性肿瘤转移中至关重要, 但对于 PRL-2 的相关研究较少。研究发现, PRL-2 在不同癌症细胞系或肿瘤样本, 如前列腺癌^[30]、胰腺癌^[31]、乳腺癌^[6]、肺癌^[18]、血液肿瘤^[32-33] 等中高度表达, 揭示其与肿瘤发生发展的相关性。Dong 等^[25]发现 PRL-2 与抑癌基因 PTEN 之间存在相互作用, 揭示了其致癌潜力的生化基础。

同时, PRL-2 作为肿瘤患者的预后靶标也受到人们的广泛关注。研究发现, PRL-2 mRNA 的表达与乳腺癌患者生存率相关^[34], 且 PRL-2 的高表达是一个良好的预后指标^[35]。但这与乳腺癌患者的 PRL-2 高表达相矛盾, 还需要进一步的研究来解释。Akiyama 等^[36]在小儿急性髓系白血病 (AML) 中发现 PRL-2 高表达, 并与疾病进程、预后相关。同时, PRL-2 还被发现在鼻咽癌中高表达, 与患者的低存活率密切相关^[37], 而卵巢癌中其表达与患者更长的生存期相关^[38], 提示 PRL-2 在不同肿瘤发生发展中作用的多样性, 为进一步的研究提供了思路。

4 PRL-2的新型结合伴侣: CNNM家族

有关 PRL-2 的结合伴侣, 除了上文中描述的 β GGT II (异戊烯化 PRL-2)、p21 (参与细胞周期调控)、PTEN (调节精子发生) 外, 近几年发现一类新型结合伴侣: 细胞周期蛋白 M (cyclin-M, CNNM) 家族。该家族因与细胞周期蛋白 (cyclin) 家族序列相似而得名, 然而它在体内并没有类似细胞周期蛋白的功能, 主要是作为二价金属阳离子 (尤其是镁离子) 的转运体而发挥作用。

CNNM 家族包括 CNNM1、CNNM2、CNNM3 和 CNNM4 四个成员, 通过其 CBS 结构域与 PRL-2 发生相互作用。Hardy 等^[39]发现, PRL-2 通过与镁转运体 CNNM3 结合形成功能异二聚体从而调节细胞内镁离子水平。下调 PRL-2 显著减少细胞内镁离子的流入; 在 PRL-2 敲除小鼠血清镁水平显著高于对照组等均说明 PRL-2 在调节胞内镁离子平衡方面起关键作用。

之后, Gulerez 等^[40]通过构建 PRL-2 和镁离子转运体 CNNM3 复合物的晶体结构揭示了其相互作用的分子基础。研究发现, PRL-2 催化位点的半胱氨酸对复合物的形成至关重要, 无论是其发生点突变还是被内源性磷酸化, 都能阻止 PRL-2 和 CNNM3 的结合; 当催化半胱氨酸发生氧化时, 两者结合率明显降低。Zhang 等^[41]进一步阐述了二硫键显著降低两者亲和力的具体机制。PRL-2 氧化后形成的二硫键不仅使半胱氨酸远离 CNNM3, 还翻转了 103 位的丙氨酸使其甲基基团指向 CNNM3 的天冬氨酸残基, 最终将 CNNM3 环移位 1 Å, 这可能解释了氧化态的 PRL2 与 CNNM3 亲和力较低的原因。另一项研究揭示了 CNNM3 中异二聚体形成的关键位点^[42]。他们发现 CNNM3 中一个关键氨基酸的点突变 (D426A) 可以完全破坏 PRL2-CNNM3

复合物的形成。

为深入探究 PRL-2 的表达水平与胞内镁离子水平的关系, Gungabeesoon 等^[43] 使用 PRL-2 的 β -半乳糖苷酶报告基因小鼠模型检测小鼠组织中 PRL-2 的表达。与之前的报道一致, PRL-2 呈广泛性表达, 且在海马锥体神经元、室管膜细胞、锥体和杆状光感受器细胞、心内膜、血管和支气管平滑肌以及肾脏的集合管中表达量最高, 而在肝脏和胰腺的实质细胞中表达低, 甚至不表达。研究还表明, PRL-2 参与细胞类型特异性 Mg^{2+} 的稳态, 而 PRL-2 的表达可能受饮食中 Mg^{2+} 水平的负调控。

Hardy 等^[39] 将 PRL2-CNNMs- Mg^{2+} 三者与肿瘤联系起来, 发现 CNNM3 水平与 PRL-2 表达和肿瘤增殖指数呈正相关。后续研究也揭示了通过抑制 PRL2-CNNM3 复合物的形成能够减少乳腺癌的增殖和肿瘤生长^[42]。这些研究进一步论证了 PRL-2 的致癌活性, 也为探索其具体机制提供新的方向。值得注意的是, PRL2-CNNMs- Mg^{2+} 与生理代谢也有着密不可分的联系。研究发现, 在褐色脂肪组织中, PRLs 和 CNNMs 的表达受性别和昼夜节律的调控; 缺失 PRL2 或 Mg^{2+} 都会导致小鼠体重减轻和体温改变, 敲除 PRL-2 后小鼠对 Mg^{2+} 缺乏更加敏感, 并与非耦合呼吸相关; 此外, 缺失 PRL-2 导致 ATP 柠檬酸裂解酶 (Acl) 表达减少, 从而使脂肪酸合成减少^[44]。总的来说, PRL-2 缺失可通过解偶联反应促进分解代谢, 而对 Acl 的调节则抑制合成代谢, 证实了 PRL-2 在性别和昼夜节律依赖的能量代谢中的重要作用。

5 PRLs作为药物靶点的可能性

随着对 PRL-2 在内的 PRLs 家族功能的深入探究, 针对其抑制剂的研究也渐渐进入人们视野。早在 2002 年, Pathak 等^[45] 就鉴定出了第一个能特异地抑制 PRLs 的化合物, 一种抗原生动物药, 戊烷脒。体外重组的 PRLs 活性能被 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 戊烷脒完全抑制, 并且这种抑制作用不可逆。更多的测试和研发表明, 戊烷脒很可能成为高表达 PRLs 癌症的有效治疗剂。此外, 戊烷脒作为抗寄生虫药已在临床使用多年, 是旧药新用的新途径, 更容易被患者接受。反之, 介于包括疟疾在内, 十种最致命的寄生性人类疾病中有七种具有 PRL 家族同源性, PRLs 也可作为抗寄生虫药物的开发靶标^[46]。

有趣的是, PRLs 作为异戊烯化的蛋白质, 可作为异戊烯转移酶 (FTase) 抑制剂 (FTIs) 的候选靶

标, 被设计用来阻断膜结合依赖的 Ras 和其他小 GTPases 的致癌作用^[3]。同上文所述, PRL-2 可与 β GGT-II 结合, 并依赖于其异戊烯化状态^[7]。PRL-2 同 α GGT-II 竞争性结合 β GGT-II, 从而抑制 GGT-II 的活性。 α/β GGT-II 异二聚化形成 GGT-II 后, GGT-II 才能进一步异戊烯化 Rab 蛋白。综上所述, PRL-2 的竞争性结合提示 PRL-2 可作为抑制剂阻断 Rab 的异戊烯化以及其后所介导的蛋白质循环。

6 讨论

自 1994 年第一次报道了 PRL-1 的存在, 对于 PRL 家族的研究接踵而至。基于其磷酸酶本质的研究表明, PRLs 的结构与许多双特异性磷酸酶相似, 提示 PRLs 有可能使酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸都去磷酸化^[47], 但具体底物还未发现。在其进化方面的研究显示, 在脊椎动物中, PRL 家族包含三个成员, 而在秀丽线虫、果蝇和其他无脊椎动物中只有一个 PRL 基因^[48], 并且利什曼原虫中的 LmPRL-1 有助于其在巨噬细胞内的存活^[49]。PRL 同系物只存在于真核生物, 强调了它们对真核生物生物学功能的重要性^[48]。

在人类中, PRLs 编码在不同的染色体上, PRL-1、PRL-2 和 PRL-3 分别定位于染色体位点 6q12、1p35 和 8q24 上; PRL-1 和 PRL-2 基因普遍表达, 而 PRL-3 的表达较低^[50]。但是, 对 PRLs 基因表达的调控知之甚少, 值得探索。PRL 家族与参与细胞增殖、存活、迁移和黏附的主要信号通路相关, 所有这些信号通路都与肿瘤发生相关, 并与致癌的潜在功能一致, 但研究较多的还数 PRL-3。

尽管目前对 PRL-2 的认识还不全面, 对于其功能作用尚存在争议, 但 PRL-2 氨基酸结构的特殊性、分子互作的特异性、表达的广泛性及其在癌症中的潜在功能表明其仍值得深入研究。PRL-2 在体内是否真的具有磷酸酶活性, 其对于氧化压力的敏感性是否影响其相关功能或者是否存在特异作用, 其与抑癌分子 PTEN 之间具体的作用机制等, 还需要大量的工作支持。此外, PRL-2 作为相关癌症治疗的靶点或预后指标, 也是未来研究发展的一个方向。

[参 考 文 献]

- [1] Diamond RH, Cressman DE, Laz TM, et al. PRL-1, a unique nuclear protein tyrosine phosphatase, affects cell growth. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 3752-62
- [2] Werner SR, Lee PA, DeCamp MW, et al. Enhanced cell cycle progression and down regulation of p21(Cip1/Waf1)

- by PRL tyrosine phosphatases. *Cancer Lett*, 2003, 202: 201-11
- [3] Besette DC, Qiu D, Pallen CJ. PRL PTPs: mediators and markers of cancer progression. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, 27: 231-52
- [4] Wang J, Kirby CE, Herbst R. The tyrosine phosphatase PRL-1 localizes to the endoplasmic reticulum and the mitotic spindle and is required for normal mitosis. *J Biol Chem*, 2002, 277: 46659-68
- [5] Sun JP, Wang WQ, Yang H, et al. Structure and biochemical properties of PRL-1, a phosphatase implicated in cell growth, differentiation, and tumor invasion. *Biochemistry*, 2005, 44: 12009-21
- [6] Hardy S, Wong NN, Muller WJ, et al. Overexpression of the protein tyrosine phosphatase PRL-2 correlates with breast tumor formation and progression. *Cancer Res*, 2010, 70: 8959-67
- [7] Si X, Zeng Q, Ng CH, et al. Interaction of farnesylated PRL-2, a protein-tyrosine phosphatase, with the β -subunit of geranylgeranyltransferase II. *J Biol Chem*, 2001, 276: 32875-82
- [8] Tonks NK. Redox redux: revisiting PTPs and the control of cell signaling. *Cell*, 2005, 121: 667-70
- [9] Orsatti L, Innocenti F, Lo Surdo P, et al. Mass spectrometry study of PRL-3 phosphatase inactivation by disulfide bond formation and cysteine into glycine conversion. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23: 2733-40
- [10] Hardy S, Kostantin E, Hatzihristidis T, et al. Physiological and oncogenic roles of the PRL phosphatases. *FEBS J*, 2018, 285: 3886-908
- [11] Ishii T, Funato Y, Miki H. Thioredoxin-related protein 32 (TRP32) specifically reduces oxidized phosphatase of regenerating liver (PRL). *J Biol Chem*, 2013, 288: 7263-70
- [12] Yu L, Kelly U, Ebright JN, et al. Oxidative stress-induced expression and modulation of phosphatase of regenerating liver-1 (PRL-1) in mammalian retina. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773: 1473-82
- [13] Ostman A, Frijhoff J, Sandin A, et al. Regulation of protein tyrosine phosphatases by reversible oxidation. *J Biochem*, 2011, 150: 345-56
- [14] Sun JP, Luo Y, Yu X, et al. Phosphatase activity, trimerization, and the C-terminal polybasic region are all required for PRL1-mediated cell growth and migration. *J Biol Chem*, 2007, 282: 29043-51
- [15] Cates CA, Michael RL, Stayrook KR, et al. Prenylation of oncogenic human PTP (CAAX) protein tyrosine phosphatases. *Cancer Lett*, 1996, 110: 49-55
- [16] Pascaru M, Tanase C, Vacaru AM, et al. Analysis of molecular determinants of PRL-3. *J Cell Mol Med*, 2009, 13: 3141-50
- [17] Skinner AL, Vartia AA, Williams TD, et al. Enzyme activity of phosphatase of regenerating liver is controlled by the redox environment and its C-terminal residues. *Biochemistry*, 2009, 48: 4262-72
- [18] Wang Y, Lazo JS. Metastasis-associated phosphatase PRL-2 regulates tumor cell migration and invasion. *Oncogene*, 2012, 31: 818-27
- [19] Zeng Q, Si X, Horstmann H, et al. Prenylation-dependent association of protein-tyrosine phosphatases PRL-1, -2, and -3 with the plasma membrane and the early endosome. *J Biol Chem*, 2000, 275: 21444-52
- [20] Kozlov G, Cheng J, Ziomek E, et al. Structural insights into molecular function of the metastasis-associated phosphatase PRL-3. *J Biol Chem*, 2004, 279: 11882-9
- [21] Dong Y, Zhang L, Zhang S, et al. Phosphatase of regenerating liver 2 (PRL2) is essential for placental development by down-regulating PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) and activating Akt protein. *J Biol Chem*, 2012, 287: 32172-9
- [22] Bai Y, Zhou HM, Zhang L, et al. Role of phosphatase of regenerating liver 1 (PRL1) in spermatogenesis. *Sci Rep*, 2016, 6: 34211
- [23] Kobayashi M, Bai Y, Dong Y, et al. PRL2/PTP4A2 phosphatase is important for hematopoietic stem cell self-renewal. *Stem Cells*, 2014, 32: 1956-67
- [24] Kobayashi M, Nabinger SC, Bai Y, et al. Protein tyrosine phosphatase PRL2 mediates Notch and Kit signals in early T cell progenitors. *Stem Cells*, 2017, 35: 1053-64
- [25] Dong Y, Zhang L, Bai Y, et al. Phosphatase of regenerating liver 2 (PRL2) deficiency impairs Kit signaling and spermatogenesis. *J Biol Chem*, 2014, 289: 3799-810
- [26] Yin C, Wu C, Du X, et al. PRL2 controls phagocyte bactericidal activity by sensing and regulating ROS. *Front Immunol*, 2018, 9: 2609
- [27] Fiordalisi JJ, Keller PJ, Cox AD. PRL tyrosine phosphatases regulate Rho family GTPases to promote invasion and motility. *Cancer Res*, 2006, 66: 3153-61
- [28] Wu X, Zeng H, Zhang X, et al. Phosphatase of regenerating liver-3 promotes motility and metastasis of mouse melanoma cells. *Am J Pathol*, 2004, 164: 2039-54
- [29] Zeng Q, Dong JM, Guo K, et al. PRL-3 and PRL-1 promote cell migration, invasion, and metastasis. *Cancer Res*, 2003, 63: 2716-22
- [30] Wang Q, Holmes DI, Powell SM, et al. Analysis of stromal-epithelial interactions in prostate cancer identifies PTPCAAX2 as a potential oncogene. *Cancer Lett*, 2002, 175: 63-9
- [31] Stephens B, Han H, Hostetter G, et al. Small interfering RNA-mediated knockdown of PRL phosphatases results in altered Akt phosphorylation and reduced clonogenicity of pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7: 202-10
- [32] Kobayashi M, Chen S, Bai Y, et al. Phosphatase PRL2 promotes AML1-ETO-induced acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2017, 31: 1453-7
- [33] Stephens BJ, Han H, Gokhale V, et al. PRL phosphatases as potential molecular targets in cancer. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4: 1653-61
- [34] Andres SA, Wittliff JL, Cheng A. Protein tyrosine phosphatase 4A2 expression predicts overall and disease-free survival of human breast cancer and is associated with estrogen and progesterin receptor status. *Horm Cancer*, 2013, 4: 208-21

- [35] Zhao D, Libin G, Neves H, et al. The prognostic significance of protein tyrosine phosphatase 4A2 in breast cancer. *Oncol Targets Ther*, 2015, 8: 1707-17
- [36] Akiyama S, Dhavan D, Yi T. PRL-2 increases Epo and IL-3 responses in hematopoietic cells. *Blood Cells Mol Dis*, 2010, 44: 209-14
- [37] Gao Y. Over-expression of protein tyrosine phosphatase 4A2 correlates with tumor progression and poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*, 2017, 8: 77527-39
- [38] Reich R, Hadar S, Davidson B. Expression and clinical role of protein of regenerating liver (PRL) phosphatases in ovarian carcinoma. *Int J Mol Sci*, 2011, 12:1133-45
- [39] Hardy S, Uetani N, Wong N, et al. The protein tyrosine phosphatase PRL-2 interacts with the magnesium transporter CNNM3 to promote oncogenesis. *Oncogene*, 2015, 34: 986-95
- [40] Gulerez I, Funato Y, Wu H, et al. Phosphocysteine in the PRL-CNNM pathway mediates magnesium homeostasis. *EMBO Rep*, 2016, 17: 1890-900
- [41] Zhang H, Kozlov G, Li X, et al. PRL3 phosphatase active site is required for binding the putative magnesium transporter CNNM3. *Sci Rep*, 2017, 7: 48
- [42] Kostantin E, Hardy S, Valinsky WC, et al. Inhibition of PRL-2·CNNM3 protein complex formation decreases breast cancer proliferation and tumor growth. *J Biol Chem*, 2016, 291: 10716-25
- [43] Gungabeesoon J, Tremblay ML, Uetani N. Localizing PRL-2 expression and determining the effects of dietary Mg^{2+} on expression levels. *Histochem Cell Biol*, 2016, 146: 99-111
- [44] Uetani N, Hardy S, Gravel SP, et al. PRL2 links magnesium flux and sex-dependent circadian metabolic rhythms. *JCI Insight*, 2017, 2: e91722
- [45] Pathak MK, Dhawan D, Lindner DJ, et al. Pentamidine is an inhibitor of PRL phosphatases with anticancer activity. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1: 1255-64
- [46] Collaborators GMC. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 2017, 390: 1151-210
- [47] Alonso A, Sasin J, Bottini N, et al. Protein tyrosine phosphatases in the human genome. *Cell*, 2004, 117: 699-711
- [48] Lin MD, Lee HT, Wang SC, et al. Expression of phosphatase of regenerating liver family genes during embryogenesis: an evolutionary developmental analysis among *Drosophila*, amphioxus, and zebrafish. *BMC Dev Biol*, 2013, 13: 18
- [49] Leitherer S, Clos J, Liebler-Tenorio EM, et al. Characterization of the protein tyrosine phosphatase LmPRL-1 secreted by *Leishmania major* via the exosome pathway. *Infect Immun*, 2017, 85: e00084-17
- [50] Fagerberg L, Hallstrom BM, Oksvold P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13: 397-406