

[文章编号] 1000-4718(2006)11-2189-05

PRL-2 基因转染对肝细胞基质金属蛋白酶及其抑制剂表达的影响*

程超^{1△}, 郭爱林², 吴伟康³, 罗红鹤¹, 钟佛添¹, 张萌¹⁽¹⁾ 中山大学附属第一医院, 广东 广州 510080; ⁽²⁾ 广东省人民医院医学研究中心, 广东 广州 510080;⁽³⁾ 中山大学基础医学院病理生理教研室, 广东 广州 510080)

[摘要] 目的: 研究 PRL-2 基因增强肿瘤细胞侵袭及转移能力的机制。方法: 采用脂质体转染的方法将 PRL-2 基因表达质粒转染至正常永生化的肝细胞系 CL1 中, G418 筛选阳性克隆。应用明胶酶谱法检测转染肝细胞分泌 MMPs 酶谱变化, Western blotting 及 RT-PCR 检测转染肝细胞 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 和 TIMP-2 的变化。以 PRL-2 磷酸酯酶特异性抑制剂处理转染细胞, 观察抑制 PRL-2 活性对上述指标的影响。结果: 经过 8 周 G418 筛选及 RT-PCR 和 Western blotting 鉴定, 获得稳定表达 PRL-2 的细胞亚系 PRL-2-CL1。转染后的 CL1 细胞分泌 MMP-9、活性型 MMP-9 和 MMP-2, 均显著高于转染前 CL1 细胞的 MMPs 分泌 ($P < 0.01$); 使用特异性抑制剂后, MMP-9、活性型 MMP-9 和 MMP-2 活性显著降低 ($P < 0.01$)。Western blotting 及 RT-PCR 检测显示 PRL-2-CL1 细胞 MMP2、MMP9 蛋白及 mRNA 含量均较转染前显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-2 则显著降低 ($P < 0.05$); 使用抑制剂后, 可以逆转上述变化。结论: PRL-2 在永生化的肝细胞中获得稳定、高效表达, PRL-2 基因增强肝细胞侵袭及转移能力与其提高细胞 MMP2、MMP9 表达, 降低 TIMP-2 有关。

[关键词] 肝细胞; 蛋白质酪氨酸磷酸酶; 基因转染; 基质金属蛋白酶**[中图分类号]** R392.11**[文献标识码]** A

Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in hepatocellular cell lines transfected by PRL-2 gene

CHENG Chao¹, GUO Ai-lin², WU Wei-kang³, LUO Hong-he¹, ZHONG Fo-tian¹, ZHANG Meng¹⁽¹⁾ The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; ⁽²⁾ Medical Research Center, Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China; ⁽³⁾ Department of Pathophysiology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the possible mechanism of PRL-2 in invasive metastasis of tumors. **METHODS:** The PRL-2 vector was transfected into CL1 cell with lipofectamine reagent, the transfectants were selected by growth in the medium supplemented with G418. Zymographic analysis of metalloproteinases (MMPs) activity was performed, RT-PCR was used to determine the mRNA levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2, the protein levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 were analyzed by Western blotting. The effects of the special inhibitor of PRL-2 on transfected cells were also observed. **RESULTS:** The stable cell line selected by G418 was identified by RT-PCR and Western blotting. More abundance of MMP-2, MMP-9 and its activated type were secreted by the CL-1-PRL-2 cells than untransfected cells and transfected vector cells ($P < 0.01$), the special inhibitor of PRL-2 could evidently decrease the secretion of MMPs by CL-1-PRL-2 cells. PRL-2 more highly expressed MMP-2, MMP-9 gene transcripts and reduced the mRNA level of TIMP-2 in the CL-1-PRL-2 cells than in the untransfected cells and transfected vector cells ($P < 0.05$), the special inhibitor of PRL-2 could reverse the above results ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** The stable cell line stably expressing human PRL-2 was established. The ability of PRL-2 to enhance invasive activity and induce metastatic tumor formation may be associated with the up-regulation of MMPs and down-regulation of TIMP-2.

[收稿日期] 2006-05-04

[修回日期] 2006-06-25

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30100218); 广东省科技厅资助项目 (No. 2004B30301010)

△ 通讯作者 Tel: 020-87755766-8782; E-mail: drchengchao@tom.com

[KEY WORDS] Hepatocytes; Protein - tyrosine - phosphatase; Gene transfection; Matrix metalloproteinases

肿瘤细胞的浸润和转移是一个多基因参与,多种相关因子、酶类和蛋白质等共同作用和调节的复杂过程。再生肝细胞磷酸酯酶(phosphatase of regenerating liver, PRL)是一类新发现的小分子酪氨酸蛋白磷酸酯酶,它包括 PRL - 1、PRL - 2、PRL - 3 3 个成员,最初从再生的肝细胞中克隆出来,与肝细胞的再生密切相关^[1]。近年来的研究发现它们还与肿瘤细胞的转移密切相关,是一类新的肿瘤转移基因,但是其促进转移机制尚不清楚^[2,3]。近年大量研究认为基质金属蛋白酶(MMPs)是肿瘤浸润和转移的主要因素,因其可降解形成基质及基底膜的所有胶原、蛋白多糖及层粘连蛋白等成分。我们构建了 PRL - 2 真核表达载体,并使该基因在肝细胞系 CL - 1 中获得稳定、高效表达,发现其具有促进转染细胞转移的能力。为了阐明其促进转移的机制,本研究观察了转染细胞基质金属蛋白酶及其抑制剂 TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinase) 表达的变化。

材 料 和 方 法

1 主要材料

PRL - 2 真核表达质粒 pcDNA3.1 + PRL - 2 由本教研室构建。*E. coli*. DH5 α 菌株,肝癌细胞系 HepG2 本研究中心保存,肝细胞系 CL1 由珠江医院李浩硕士赠送;细胞培养基 RPMI - 1640 购自美国 Gibco 公司,寡聚核苷酸引物由上海生工公司合成;RNA 提取试剂、各种限制性内切酶、逆转录酶、连接酶及 TaqDNA 聚合酶、鸡抗人 β - actin 多克隆抗体、HRP - 羊抗鸡 II 抗,均为美国 Promega 公司产品;含 0.1% 明胶的预制胶、复性和显影缓冲液购自美国 Invitrogen 公司。异戊咪购自 Sigma 公司。图像分析仪为 Pharmacia 公司产品。鸡抗人 PRL - 2 多克隆抗

体,本中心制备。小鼠抗人 MMP2、MMP9、TIMP1 和 TIMP2 单克隆抗体,购自福建迈新公司。

2 PRL - 2 真核表达细胞株的建立

重组质粒 pcDNA3.1 + PRL - 2 转化 *E. coli*. DH5 α 菌株,提取质粒 DNA,用紫外分光光度仪测定 $A_{260\text{nm}}$ 定量。按照《脂质体转染说明书》记载的操作程序转染肝永生化细胞系 CL - 1。转染前 1 d,将细胞接种,第 2 d 细胞达到 80% 融合;重组质粒 pcDNA3.1 + PRL - 2 1 μg 与 lipofectAMINE 3 μL 混匀后转染细胞,培养传代,加 600 mg/L G418 选择培养基筛选阳性细胞,待对照组的正常细胞全部死亡后,有限稀释法单克隆培养阳性细胞, G418 选择培养基中扩大培养后,检测目的基因 PRL - 2 的表达情况。

3 Western blotting 鉴定目的蛋白在 CL1 中的表达

经 G418 筛选 8 周后,获得稳定转染的细胞系,收集约 10^6 对数生长期细胞, SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,分别加入 I 抗和 HRP 标记的相应 II 抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,洗膜 3 次, ECL 显影。以 β - actin 为内参,所得胶片用凝胶成像分析系统行灰度扫描及图像分析,以印记条带的积分吸光度值代表蛋白表达量进行定量分析。阳性信号 = (总 A 值 - X 光片本底 A 值) / (β - actin A 值 - X 光片本底 A 值)。

4 RT - PCR 检测目的基因在 CL1 中的表达

分 3 次分别收集对数生长期细胞并抽提细胞总 RNA。检测样品 A_{260}/A_{280} 比值大于 1.8,纯度符合要求。引物序列见表 1,参照文献^[4]方法进行 RT - PCR 扩增, 2% 琼脂糖凝胶电泳对于扩增产物进行鉴定。对于电泳结果,用图像分析系统进行灰度扫描,作扫描面积积分半定量分析,阳性信号 = (总 A 值 - 本底 A 值) / (A_{NAPDH} 值 - 本底 A 值)。

表 1 用于目的基因 RT - PCR 检测的引物序列及产物大小

Tab 1 Sequence of primers used for RT - PCR and sizes of PCR products

mRNA	Sense primer	Antisense primer	Size (bp)
PRL - 2	5' - ATGAACCGTCCAGCCC - 3'	5' - CTACTGAAC ACAGCAATGCC - 3'	504
MMP - 2	5' - GGCTGGTCACTGGCTTGGGGTA - 3'	5' - AGATCTTCTTCTTCAAGGACCGGTT - 3'	225
MMP - 9	5' - GCGGAGATTGGGAACCAGCTGTA - 3'	5' - GACGGCCCTGTGTACACCCACA - 3'	208
TIMP - 2	5' - CTCGGCAGTGTGTGGGGTC - 3'	5' - CGAGAAACTCTGCTTGGGG - 3'	364
TIMP - 1	5' - ACCATGGCCCCCTTTGAGCCCCTG - 3'	5' - TCAGGCTATCTGGGACCGCAGGGA - 3'	627
GAPDH	5' - CACAGTCCATGCCATCACAGCC - 3'	5' - TCATTGTCATACCAGGAAACGACC - 3'	452

5 明胶酶谱法检测培养上清中的 MMPs

将处于对数生长期的细胞用 DMEM 无血清培养

液培养。待贴壁后,每组设 3 个复孔, 5% 的 CO_2 孵箱中培养 24 h。收集孔内的液体,上清液超滤浓缩

后用于酶谱法检测。将 15 μ L 培养上清与 15 μ L 上样缓冲液混匀后上样于 0.1% 的明胶预制胶,电泳。洗胶 2 次,每次 30 min。凝胶置于恒温摇床缓慢摇动,染色,脱色。凝胶用成像分析系统进行灰度扫描及图像分析,以电泳条带的积分吸光度值代表酶活性进行定量分析。

6 分组及统计学处理

以转染前 CL-1 细胞为阴性对照组,转染空载体 pcDNA3.1 (+) 作为平行对照组。以 PRL-2 特异性抑制剂异戊咪(5 mg/L)处理 PRL-2-CL-1 12 h,作为 PRL-2 抑制剂处理组。酶活性、蛋白及 mRNA 表达量均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,数据应用统计分析软件 SPSS 10.0 进行处理,采用方差分析进行统计学分析。

结 果

1 PRL-2 真核表达细胞株的建立及检测

未转染 CL-1 细胞内未检测到 PRL-2 mRNA 和蛋白表达,表明 CL-1 细胞内 PRL-2 表达缺失。经 0.6 g/L G418 抗性筛选克隆化细胞后,获得 6 个稳定转染的细胞克隆。抽提细胞总 RNA,RT-PCR 检测 PRL-2 的表达。结果显示 6 个稳定转染的细胞克隆内,有 2 个可见到 504 bp 的 PRL-2 目的基因片段,而相同条件的转染 pcDNA3.1 对照组未检测到目的基因表达,内参 GAPDH 片段大小为 452 bp (图 1A)。Western blotting 检测结果与 RT-PCR 结果相一致(图 1B)。上述结果表明 PRL-2 在转染的细胞内获得了稳定表达。从两个阳性表达克隆内选择 PRL-2 表达高的克隆,命名为 PRL-2-CL-1,用于后续试验。

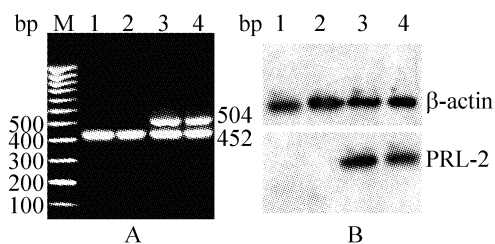


Fig 1 Identification of PRL-2 expressed in transfected cells. A: PRL-2 detected by RT-PCR; B: PRL-2 detected by Western blotting. Lane M: DNA marker; Lane 1: untransfected CL1 cells; Lane 2: CL1 cells transfected pcDNA3.1; Lane 3 and 4: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2.

图 1 PRL-2 转染细胞的鉴定

2 PRL-2 转染对 CL-1 细胞分泌 MMPs 酶谱的影响

如图 2 所示,酶谱分析中,根据分子量鉴定图中

所示,A 带为 MMP-9 非活性形式(92 000),B 带为 MMP-9 活性形式(83 000),MMP-2 非活性形式为 C 带(72 000),MMP-2 活性形式为 D 带(62 000)。各组 CL-1 细胞均产生 MMP-9 的活性和非活性形式,同时还产生 MMP-2 的非活性形式,使用异戊咪处理的 CL-1 转染细胞还分泌 MMP-2 的活性形式。PRL-2 转染的 CL-1 细胞分泌 MMP-9 的活性和非活性形式及 MMP-2 的非活性形式显著高于转染前及转染空载体组($P < 0.01$)。使用异戊咪处理转染的 CL-1 细胞后,其分泌 MMP-9 及 MMP-2 的能力较处理前显著降低($P < 0.01$),而其产生 MMP-2 活性形式无明显差异($P > 0.05$),见表 2。

表 2 明胶酶谱法检测各组 CL-1 细胞表达 MMPs(积分灰度值)

Tab 2 Culture media from CL-1 cells transfected with PRL-2 or vector control (VC) were analyzed for MMPs by gelatin zymography ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

MMP type	Untransfected	pcDNA3.1	pcDNA3.1 + PRL-2	Inhibitor
MMP-9	7.5 \pm 1.3	9.6 \pm 2.5	33.2 \pm 6.9**	11.3 \pm 5.8 [▲]
Activated MMP-9	5.4 \pm 1.6	6.7 \pm 1.9	47.5 \pm 7.4**	9.9 \pm 3.6 [▲]
MMP-2	19.4 \pm 5.1	28.8 \pm 10.2	68.6 \pm 11.5**	34.2 \pm 8.3 [▲]
Activated MMP-2	1.2 \pm 0.3	-	-	3.9 \pm 1.4

* $P < 0.01$ vs untransfected clones; ** $P < 0.01$ vs vector control clones; [▲] $P < 0.01$ vs pcDNA3.1 + PRL-2 clones.

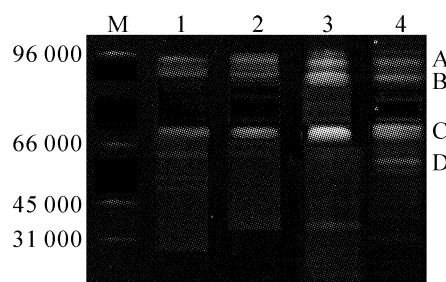


Fig 2 MMPs were analyzed by gelatin zymography. Lane M: DNA marker; Lane 1: untransfected CL1 cells; Lane 2: CL1 cells transfected pcDNA3.1; Lane 3: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2; Lane 4: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2 treated by inhibitor.

图 2 酶谱法检测 PRL-2 对肝细胞分泌 MMPs 的影响

3 PRL-2 转染对 CL-1 表达 MMPs 及 TIMPs mRNA 的影响

应用 RT-PCR 方法对于 CL-1 细胞 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 和 TIMP-2 的 mRNA 表达进行了检测,并通过图像分析进行半定量分析,结果见表 3 及图 3。PRL-2 转染的 CL-1 细胞与未转染组及转染空载体组细胞比较,MMP-2、MMP-9 mRNA 表

达量显著升高 ($P < 0.01$), TIMP-2 显著降低 ($P < 0.01$), TIMP-1 变化不显著。使用异戊咪处理转染组细胞后,与处理前比较, MMP-2、MMP-9 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.01$), TIMP-2 显著升高 ($P < 0.01$), TIMP-1 变化不显著。

表 3 RT-PCR 检测各组 CL-1 细胞 MMPs 及 TIMPs mRNA 的表达

Tab 3 Expression of MMPs and TIMPs mRNA in different CL-1 cells by RT-PCR analysis ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

MMP type	Untransfected	pcDNA3.1	pcDNA3.1 + PRL-2	Inhibitor
MMP-9	0.35 ± 0.09	0.34 ± 0.06	0.86 ± 0.12 ^{**}	0.33 ± 0.04 [▲]
MMP-2	0.78 ± 0.11	0.81 ± 0.14	3.88 ± 0.35 ^{**}	0.75 ± 0.16 [▲]
TIMP-1	0.65 ± 0.08	0.72 ± 0.05	0.61 ± 0.08	0.67 ± 0.04
TIMP-2	0.57 ± 0.06	0.62 ± 0.07	0.17 ± 0.03 ^{**}	0.51 ± 0.05 [▲]

* $P < 0.01$ vs untransfected clones; [#] $P < 0.01$ vs vector control clones; [▲] $P < 0.01$ vs pcDNA3.1 + PRL-2 clones.

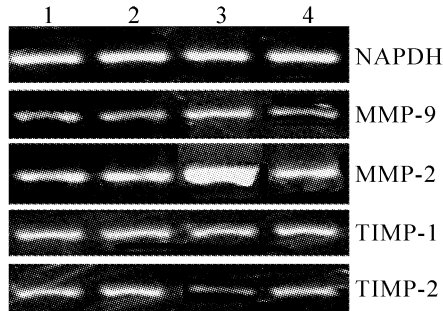


Fig 3 Expression of MMPs and TIMPs mRNA in different CL-1 cells by RT-PCR analysis. Lane 1: untransfected CL1 cells; Lane 2: CL1 cells transfected pcDNA3.1; Lane 3: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2; Lane 4: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2 treated by inhibitor.

图 3 RT-PCR 检测 PRL-2 对 MMPs 和 TIMPs mRNA 的影响

4 PRL-2 转染对 CL-1 细胞 MMPs 及 TIMPs 蛋白表达的影响

应用 Western blotting 对各组细胞 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 和 TIMP-2 的蛋白表达情况进行了检测,并通过图像分析进行半定量分析,结果见表 4 和图 4。PRL-2 转染的 CL-1 细胞与未转染组及转染空载体组细胞比较, MMP-2、MMP-9 蛋白表达量显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-2 显著降低 ($P < 0.05$), TIMP-1 变化不显著。使用异戊咪处理转染组细胞后,与处理前比较, MMP-2、MMP-9 蛋白表达量显著降低 ($P < 0.05$), TIMP-2 显著升高 ($P < 0.05$), TIMP-1 变化不显著。上述变化与 mRNA 的变化相一致。

表 4 Western blotting 检测 MMPs 及 TIMPs 蛋白的表达

Tab 4 Expression of MMPs and TIMPs protein by Western blotting analysis ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

MMP type	Untransfected	pcDNA3.1	pcDNA3.1 + PRL-2	Inhibitor
MMP-9	0.91 ± 0.13	0.87 ± 0.15	1.76 ± 0.16 ^{**}	1.19 ± 0.26 [▲]
MMP-2	1.16 ± 0.34	1.22 ± 0.36	2.65 ± 0.39 ^{**}	1.05 ± 0.16 [▲]
TIMP-1	0.25 ± 0.06	0.21 ± 0.09	0.29 ± 0.08	0.27 ± 0.07
TIMP-2	3.69 ± 0.58	3.83 ± 0.67	2.17 ± 0.45 ^{**}	3.71 ± 0.75 [▲]

* $P < 0.05$ vs untransfected clones; [#] $P < 0.05$ vs vector control clones; [▲] $P < 0.05$ vs pcDNA3.1 + PRL-2 clones.

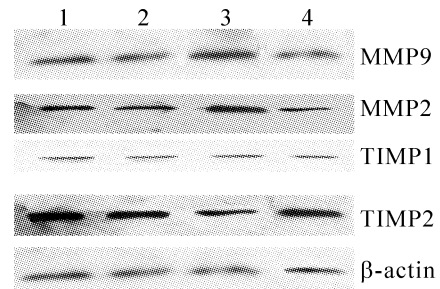


Fig 4 Expression of MMPs and TIMPs protein by Western blotting analysis. Lane 1: untransfected CL1 cells; Lane 2: CL1 cells transfected pcDNA3.1; Lane 3: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2; Lane 4: CL1 cells transfected pcDNA3.1 + PRL-2 treated by inhibitor.

图 4 Western blotting 检测 PRL-2 对 MMPs 和 TIMPs 蛋白表达的影响

讨 论

肝细胞再生磷酸酯酶 (phosphatase of regenerating liver, PRL) 是一类新发现的小分子酪氨酸蛋白磷酸酯酶,它包括 PRL-1、PRL-2、PRL-3 3 个成员,彼此之间的同源性高达 76% - 85%^[6,7]。它们的相对分子量在 20 000 左右,其 C 末端含有一个 CaaX 盒,可以被翻译后修饰法尼基化,使蛋白固定于细胞内质网膜上^[7]。它们和双特异性磷酸酯酶有一定的同源性,其中和 Cdc14 的同源性为 20.3%,与 PTEN 的同源性为 16.9%。PRL-1 最初被发现在脑和骨骼肌表达,PRL-2 在骨骼肌表达,PRL-3 在心肌和骨骼肌表达^[8]。

目前,PRLs 的生物学功能正逐渐被阐明。最近的一系列研究表明,PRL-3 在结肠癌肝转移灶中高表达,但原发灶及正常结肠组织内未见表达^[3]。将 PRL-1 或 PRL-3 转染入正常细胞系中,可以激活细胞的浸润和转移能力^[5]。我们将 PRL-2 转染正常肝细胞系 CL-1,体外研究表明也可以增强细胞的浸润和转移能力(数据另文发表)。因此,PRLs 具有促进肿瘤细胞运动、浸润和转移能力。

肿瘤侵袭和转移过程是瘤细胞从原发瘤脱离后向周围和(或)远处组织侵袭和转移的过程,涉及瘤细胞穿过细胞外基质屏障(extracellular matrix, ECM)、血管壁的基底膜及穿出血管壁进入患者微环境的过程。大量实验证明,瘤细胞侵袭转移能力与其诱导产生蛋白酶降解ECM、基底膜的能力密切相关。MMP是其中最为重要的一组蛋白酶,在肿瘤的侵袭和转移中起重要的作用。TIMP是MMP的天然抑制剂,TIMP与MMP之间平衡关系在调节ECM的稳态中有重要作用。

为了阐明PRL-2增强肝细胞侵袭及转移能力的机制,我们观察了PRL-2转染进不表达PRL-2的肝细胞CL-1对于MMPs和TIMPs的影响。酶谱分析表明稳定表达PRL-2的CL-1细胞分泌MMPs水平显著增高,分泌MMP-9、活性型MMP-9、MMP-2均显著高于转染前及转染空载体细胞。RT-PCR及Western blotting分析表明MMP-9和MMP-2 mRNA和蛋白表达与酶谱分析结果相一致,同时证明TIMP-2的表达显著降低。应用PRL-2磷酸酯酶特异性抑制剂处理可以逆转PRL-2转染对MMPs和TIMPs的影响。上述结果提示PRL-2基因增强肝细胞侵袭及转移能力与其提高细胞MMP2、MMP9表达,降低TIMP-2有关。至于PRL-2调控MMPs和TIMPs的机制还需要进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 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[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(36): 12009-12021.
- [2] Miskad UA, Semba S, Kato H, et al. Expression of PRL-3 phosphatase in human gastric carcinomas: close correlation with invasion and metastasis[J]. *Pathobiology*, 2004, 71(4): 176-184.
- [3] Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, et al. A phosphatase associated with metastasis of colorectal cancer[J]. *Science*, 2001, 294(5545): 1343-1346.
- [4] Kousidou OC, Roussidis AE, Theocharis AD, et al. Expression of MMPs and TIMPs genes in human breast cancer epithelial cells depends on cell culture conditions and is associated with their invasive potential[J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(6): 4025-4030.
- [5] Zeng Q, Dong JM, Guo K, et al. PRL-3 and PRL-1 promote cell migration, invasion, and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(11): 2716-2722.
- [6] Carter DA. Expression of a novel rat protein tyrosine phosphatase gene[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1442(2-3): 405-408.
- [7] Peng Y, Genin A, Spinner NB, et al. The gene encoding human nuclear protein tyrosine phosphatase, PRL-1. cloning, chromosomal localization, and identification of an intron enhancer[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(27): 17286-17295.
- [8] Zeng Q, Hong W, Tan YH. Mouse PRL-2 and PRL-3, two potentially prenylated protein tyrosine phosphatases homologous to PRL-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 244(2): 421-427.