

磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯通过 Rap1/PI3K/AKT 通路诱导小鼠精母细胞凋亡

李娜玉¹, 柳赞昊¹, 张阳¹, 任淑齐¹, 张玲¹, 谭伟²

1. 武汉科技大学医学院公共卫生学院, 职业危害识别与控制湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430065;

2. 武汉科技大学附属老年病医院

摘要:目的 探究 Rap1/PI3K/AKT 信号通路在磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯[Tri(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate, TDCIPP]诱导小鼠精母细胞(GC-2 spd)凋亡中的作用。方法 采用 0、15、30 和 60 $\mu\text{mol/L}$ TDCIPP 处理 GC-2 spd 细胞 24 h, 流式细胞术检测细胞凋亡水平, Western 印迹检测细胞中 Rap1、PI3K、AKT、磷酸化 AKT(p-AKT) 蛋白以及凋亡相关蛋白 cleaved PARP、cleaved Caspase-3 表达水平。采用 ESI09 抑制 GC-2spd 细胞中 Rap1 蛋白的表达, 同时给予 TDCIPP 暴露, Western 印迹和流式细胞术分别检测细胞中 PI3K、AKT、p-AKT、cleaved PARP 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平以及细胞凋亡水平。结果 与对照组相比, TDCIPP 暴露组细胞凋亡水平及 cleaved PARP、cleaved Caspase-3 蛋白表达显著上升($P < 0.01$); Rap1 蛋白的表达水平显著增加($P < 0.01$), 而 PI3K、AKT 和 p-AKT 蛋白的表达水平降低($P < 0.01$)。与 TDCIPP 暴露组相比, ESI09 和 TDCIPP 共处理组细胞中 Rap1 表达下调($P < 0.01$), 然而 PI3K、AKT 和 p-AKT 蛋白表达则上调($P < 0.05$); 同时, 细胞中 cleaved PARP 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平及细胞凋亡水平均显著降低($P < 0.05$)。结论 TDCIPP 通过诱导 Rap1 蛋白的过表达, 阻碍 PI3K/AKT 信号传导, 导致小鼠精母细胞凋亡。

关键词: TDCIPP; 精母细胞; 细胞凋亡; Rap1/PI3K/AKT 通路

中图分类号: R114 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)12-2242-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202403208

Tri(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate induces apoptosis of mouse spermatocytes through the Rap1/PI3K/AKT pathway

LI Na-yu*, LIU Yun-hao, ZHANG Yang, REN Shu-qi, ZHANG Ling, TAN Wei

* School of Public Health, Hubei Province Key Laboratory of Occupational Hazard Identification and Control, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065

Abstract: Objective To explore the Rap1/PI3K/AKT signaling pathway in inducing apoptosis of mouse spermatocytes (GC-2 spd) induced by tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP) the role of death. **Methods** GC-2 spd cells were treated with 0, 15, 30, and 60 $\mu\text{mol/L}$ TDCIPP for 24 hours. Using flow cytometry to detect cell expression levels, Western blotting to examine the expression levels of Rap1, PI3K, AKT, phosphorylated AKT (p-AKT) proteins, as well as related proteins cleaved PARP and cleaved Caspase-3 in cells, and apoptosis-related proteins cleaved PARP and cleaved Caspase-3 in the cells. ESI09 was used to inhibit the expression of Rap1 protein in GC-2 spd cells, followed by exposure to TDCIPP. Western blotting and flow cytometry were used to respectively assess the protein levels of PI3K, AKT, p-AKT, cleaved PARP, and cleaved Caspase-3, as well as the level of cell apoptosis. **Results** Compared to the control group, the cell apoptosis and expression of cleaved PARP and cleaved Caspase-3 proteins were significantly increased in the TDCIPP-exposed cells ($P < 0.01$). The expression level of Rap1 was significantly increased ($P < 0.01$), while the expression levels of PI3K, AKT, and p-AKT were decreased ($P < 0.01$). Compared to the TDCIPP-exposed group, the expression of Rap1 was down-regulated ($P < 0.01$), while the expression levels of PI3K, AKT, and p-AKT proteins were up-regulated ($P < 0.05$) in the cells co-treated with ESI09 and TDCIPP. Meanwhile, the expression levels of cleaved PARP and cleaved Caspase-3 in the cells, as well as the level of cell apoptosis, were significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** TDCIPP induces overexpression of Rap1 protein and obstructs PI3K/AKT signaling transduction, eventually leading to apoptosis of mouse spermatocytes.

基金项目: 湖北省自然科学基金计划项目(2023AFB649); 武汉预防医学科研专项(WY22M01)

作者简介: 李娜玉(1999—), 女, 硕士在读, 研究方向: 公共卫生与预防专业

通信作者: 柳赞昊, E-mail: yunhaoliu@wust.edu.cn; 谭伟, E-mail: tanwei63317@163.com

Keywords: TDCIPP; Spermatoocytes; Apoptosis; Rap1/PI3K/AKT pathway

磷酸三(1, 3 - 二氯 - 2 - 丙基)酯 [Tri (1, 3 - dichloro - 2 - propyl) phosphate, TDCIPP] 是一种典型的有机磷阻燃剂, 已被广泛应用于建筑材料和电子产品等行业^[1]。地表水中 TDCIPP 浓度通常高于 100 ng/L^[2], 但在污水处理场的水中检测甚至高达 $\mu\text{g/L}$ 级别的剂量 (3 $\mu\text{g/L}$)^[3]; 室内粉尘中 TDCIPP 的浓度为 56.1 ~ 326 $\mu\text{g/g}$ ^[4]。TDCIPP 及其代谢物经常在人体样本中检测到, 瑞典产妇产乳中检测到 TDCIPP 的中位浓度为 4.3 ng/g^[5], 中国东部产妇产乳中 TDCIPP 浓度为 0 ~ 82.8 ng/g^[6]。在头发、指甲和脚趾甲样品中检测到 TDCIPP 的浓度为 230 ~ 390 ng/g^[7]。研究表明, 男性不育症患者的精液质量与室内环境中 TDCIPP 浓度呈负相关^[8]; 成年男性尿液中 TDCIPP 代谢产物双(1, 3 - 二氯 - 2 - 丙基)磷酸酯 [bis (1, 3 - dichloro - 2 - propyl) phosphate (BDCIPP)] 的浓度和卵子受精率、胚胎质量存在负相关^[9]; TDCIPP 暴露可引起雄性斑马鱼睾酮水平下降^[10]; 可致中国鮡鲫睾丸细胞凋亡率和精子畸形率显著升高, 精子活力降低^[11]。近期研究发现 TDCIPP 可诱导小鼠睾丸组织内甲基转移酶 METTL14 介导的 m⁶A 甲基化修饰异常, 进而引发雄性小鼠生殖毒性, 且差异基因主要富集在凋亡、Rap1 和 PI3K/AKT 相关信号通路^[12]。Rap1 是小分子 G 蛋白 Ras 家族成员之一, 参与一系列细胞功能, 包括细胞增殖、凋亡、分化和粘附等^[13]。磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT) 途径是一种经典的信号通路, 在调节细胞增殖、自噬和凋亡中起重要作用^[14]。有研究提示, Rap1 在上游对 PI3K/AKT 存在调控机制^[15]。研究发现, TDCIPP 会诱导 GC - 2spd 细胞发生内质网应激导致细胞凋亡^[16], 但 Rap1 在 TDCIPP 所致的小鼠睾丸细胞凋亡中的作用尚不明确, 因此本研究采用 TDCIPP 染毒小鼠精母细胞 (GC - 2spd), 探究 Rap1/PI3K/AKT 信号通路在 TDCIPP 致细胞凋亡中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验试剂 磷酸三(1, 3 - 二氯 - 2 - 丙基)酯 (#HY - 108712) 购自 MedChemExpress 公司; DMEM 培养基、胎牛血清购自 Gibco 公司; 胰酶、青霉素 - 链霉素购自 Hyclone 公司; 细胞增殖及毒性检测试剂盒 (CCK8)、BCA 蛋白定量试剂盒购自大连美仑生物技术有限公司; PVDF 膜购自 Millipore 公司; cleaved Caspase3 (#9664)、cleaved PARP (#9548)、p - AKT (#4060) 购自 Cell Signaling Technology; Rap1 (sc - 398755) 购自 Santa Cruz; AKT (SAB4500800) 购自 Sigma; GAPDH (GB11002) 购自 Servicebio; β - actin (66009 - 1 - Ig); PI3K (60225 - 1 - Ig) 购自

Proteintech Group; Goat anti - rabbit/mouse IgG 购自武汉科瑞生物技术有限公司; 细胞凋亡检测试剂盒购自武汉塞维尔生物科技有限公司。

1.2 实验细胞及其处理 将 GC - 2 spd 细胞 (中国科学院细胞库购入) 接种于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 放置入 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 条件细胞培养箱内。每 2 ~ 3 天进行传代, 实验采用对数生长期的细胞, 设置对照组和 TDCIPP 暴露组, TDCIPP 暴露剂量分别为 15、30、60 $\mu\text{mol/L}$, 用相应浓度药物处理细胞 24 h。

1.3 细胞活力检测 以 2×10^4 个/孔密度将 GC - 2 spd 细胞接种于 96 孔板, 设置溶剂对照组及不同浓度的 TDCIPP 处理组, 通过 CCK8 测定各组细胞活力, 使用多功能酶标仪检测 450 nm 波长处吸光度 (A_{450}), 细胞存活率 = $[(A_{\text{处理组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}})] \times 100\%$ 。

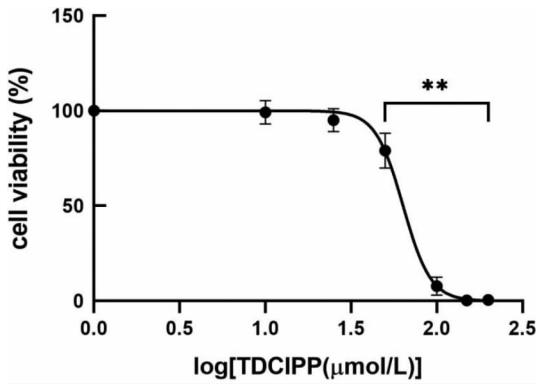
1.4 Western 印迹 用 RIPA 裂解液 (含有蛋白酶抑制剂) 对细胞进行裂解并提取蛋白, 采用 BCA 法检测蛋白浓度。95 $^{\circ}\text{C}$ 加热 35 ~ 45 μg 蛋白样本变性 5 min, 后 SDS - PAGE 电泳使蛋白分离, 电转至 PVDF 膜。含 5% BSA 的 TBST 溶液封闭 1 h, 加入一抗 (cleaved PARP, 1:1 000; cleaved Caspase - 3, 1:1 000; Rap1, 1:1 000; PI3K, 1:500; AKT, 1:1 000; Phospho - Akt, 1:1 000; GAPDH, 1:2 000; β - actin, 1:10 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST 冲洗 3 次, 每次 5 min。加入相应二抗常温孵育 1 h, ECL 化学发光法曝光显色, 并使用 Image - J 软件进行灰度分析。

1.5 细胞凋亡检测 以 2×10^5 个/孔将 GC - 2 spd 细胞接种于 6 孔板并培养 48 h, 收集细胞上清和沉淀, 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次, 重悬于 195 μl 结合液, 分别加入 5 μl Annexin V - FITC 和 10 μl 碘化丙啶染色液, 混合、避光室温孵育 15 min, 用流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.6 统计学分析 使用 SPSS 27 软件对数据统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。总体统计学差异比较使用方差分析, 如有组间差异, 则进行组间两两比较, 使用 LDS (least significant difference) 法进行检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 TDCIPP 对 GC - 2 spd 细胞活力的影响 结果如图 1 所示, 与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$ TDCIPP) 相比, 50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$ TDCIPP 暴露组的 GC - 2 spd 细胞活力显著降低 ($P < 0.01$), 并且存在剂量效应, 经



注:与对照组相比, ** : $P < 0.01$ 。

图 1 不同浓度 TDCIPP 暴露对 GC-2spd 细胞活力的影响 ($n = 6$)

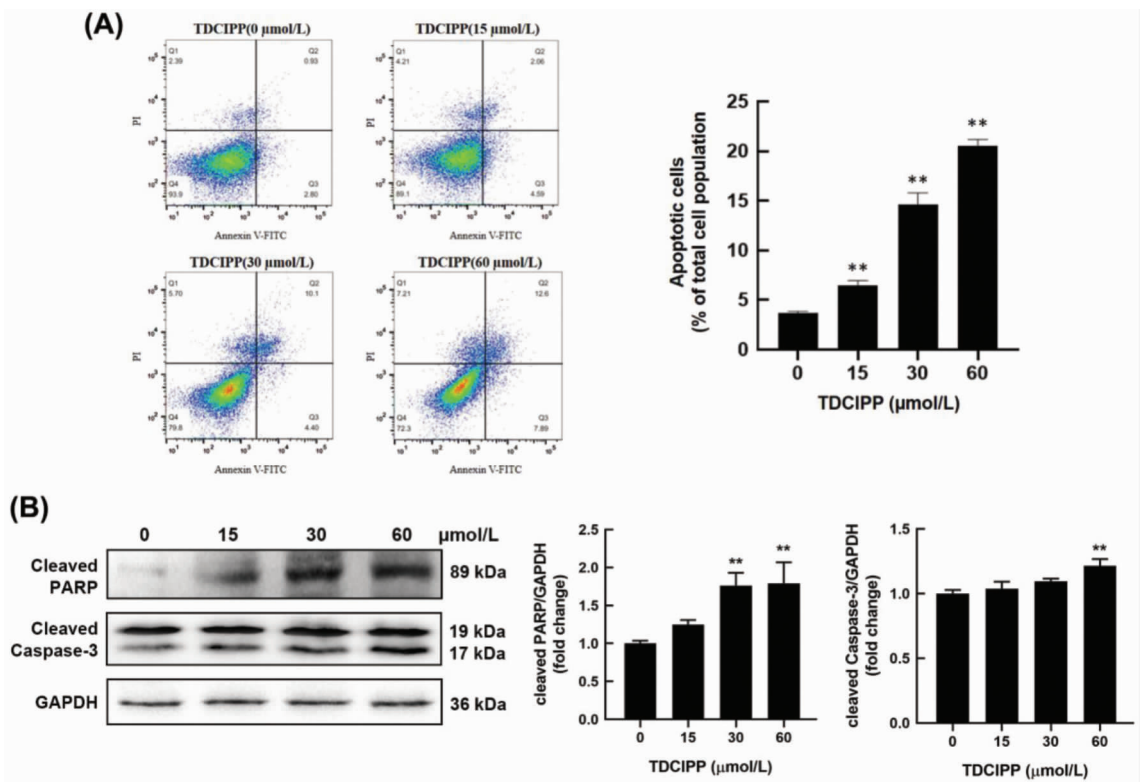
Fig. 1 Effect of TDCIPP exposure on the viability of GC-2 spd cells ($n = 6$)

计算 TDCIPP 对 GC-2 spd 细胞的 IC_{50} 为 $74 \mu\text{mol/L}$, 综合其它文献与本实验结果,后续实验 TDCIPP 暴露剂量定为 $0, 15, 30, 60 \mu\text{mol/L}$ 。

2.2 TDCIPP 诱导 GC-2 spd 细胞发生凋亡 结果如图 2A 所示,随着 TDCIPP 暴露剂量增加,凋亡的 GC-2 spd 细胞比例逐渐增多 ($P < 0.01$)。后采用 Western blot 检测法发现,凋亡相关蛋白 cleaved PARP、cleaved Caspase-3 的表达水平,均随着 TDCIPP 暴露剂量的增高而上升 ($P < 0.01$) (图 2B)。

2.3 TDCIPP 对 GC-2 spd 细胞中 Rap1/PI3K/AKT 信号通路的影响 结果如图 3 所示,与对照组相比, 30 和 $60 \mu\text{mol/L}$ TDCIPP 暴露组中 Rap1 蛋白的表达水平显著增加 ($P < 0.01$),而 PI3K、AKT 和磷酸化 AKT(p-AKT)蛋白的表达水平降低 ($P < 0.01$)。

2.4 抑制 GC-2 spd 细胞内 Rap1 表达对 PI3K、AKT、p-AKT 表达水平的影响 采用 Rap1 蛋白抑制剂 ESI09 处理 TDCIPP 暴露的 GC-2 spd 细胞。结果如图 4 所示,与 TDCIPP 组相比,ESI09 与 TDCIPP 共处理组中 Rap1 表达下调 ($P < 0.01$),然而 PI3K、AKT 和 p-AKT 蛋白表达则上调 ($P < 0.05$)。



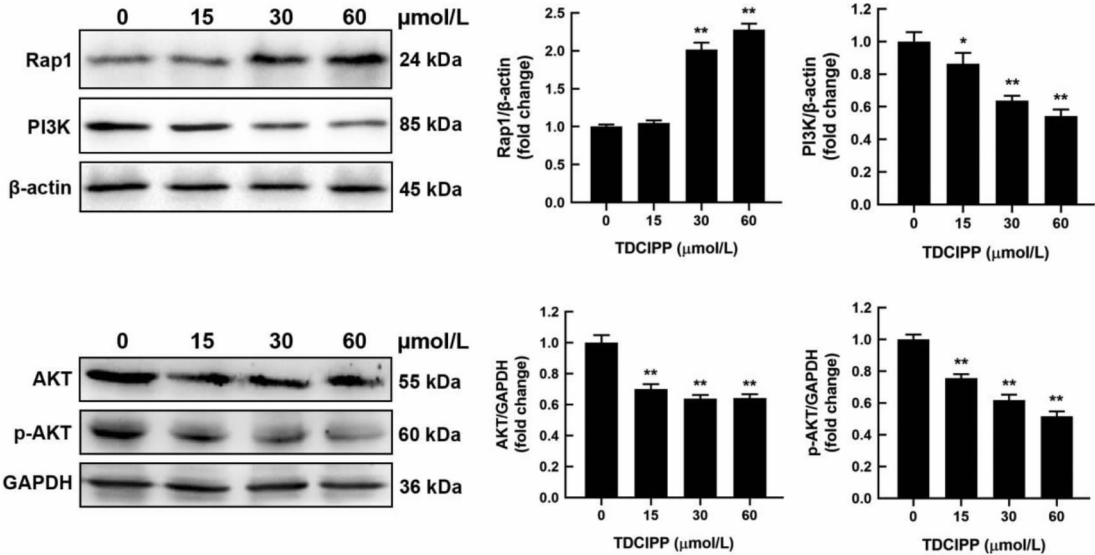
注:与对照组相比, ** : $P < 0.01$ 。

图 2 TDCIPP 暴露对 GC-2 spd 细胞凋亡的影响 ($n = 3$)

Fig. 2 Effect of TDCIPP exposure on apoptosis in GC-2 spd cells ($n = 3$)

2.5 抑制 GC-2 spd 细胞内 Rap1 蛋白表达对细胞凋亡水平的影响 与 TDCIPP 暴露组相比,ESI09 与 TDCIPP 共处理组中细胞凋亡水平显著下降 ($P < 0.01$)

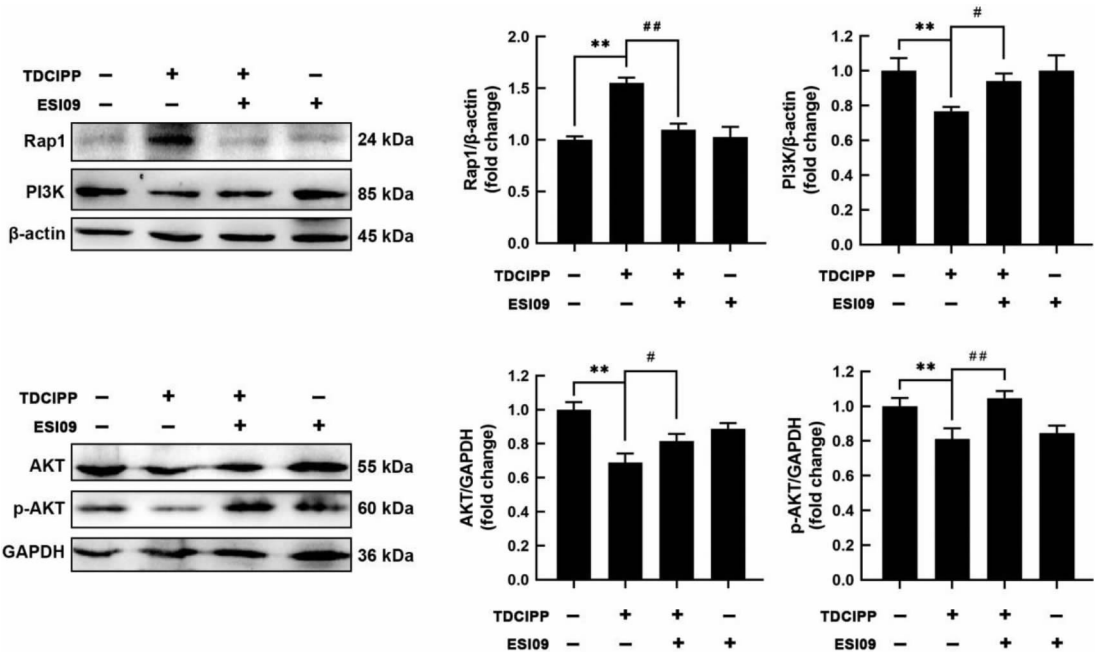
(图 5A)。Western blot 检测显示,ESI09 与 TDCIPP 共处理组中 cleaved PARP 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平较对照组均显著下降 ($P < 0.01$) (图 5B)。



注:与对照组相比, * : $P < 0.05$, * * : $P < 0.01$ 。

图 3 TDCIPP 暴露对 GC - 2 spd 细胞 Rap1/PI3K/AKT 通路相关蛋白表达的影响 ($n = 3$)

Fig. 3 Effect of TDCIPP exposure on the expression of proteins associated to the Rap1/PI3K/AKT pathway in GC - 2 spd cells ($n = 3$)



注:与对照组相比, * * : $P < 0.01$;与 TDCIPP 组相比, #: $P < 0.05$, ##: $P < 0.01$ 。

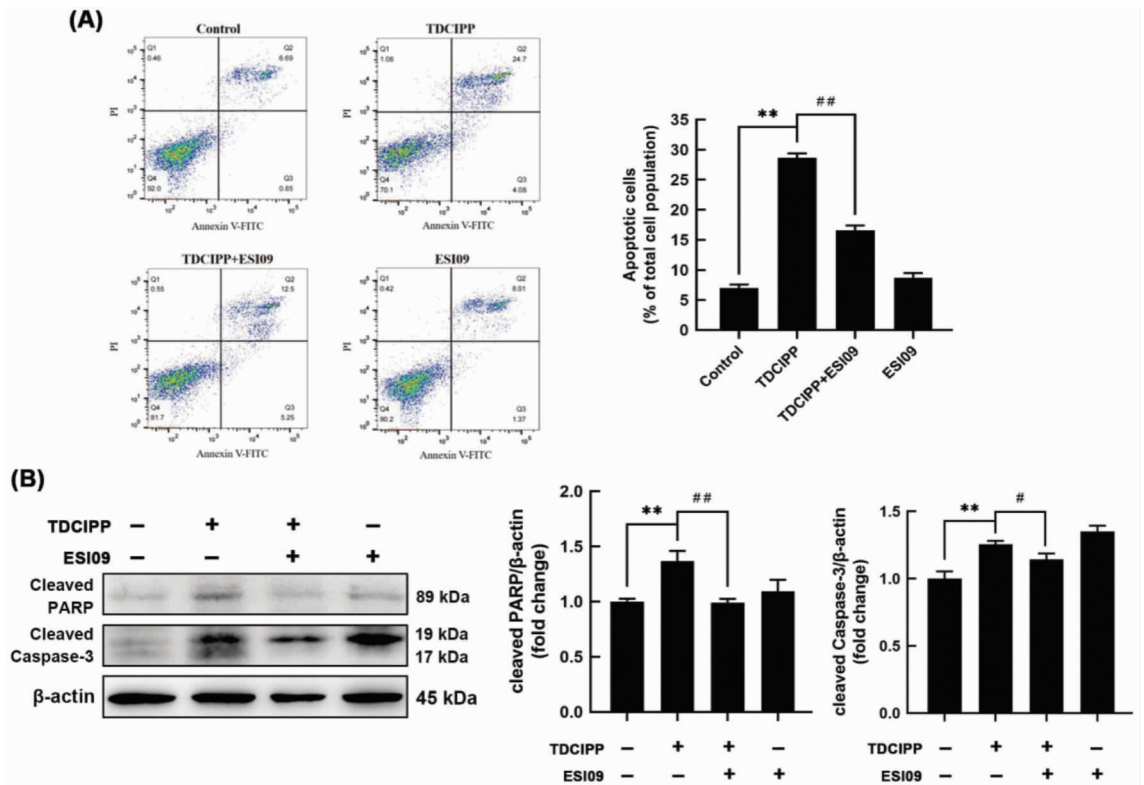
图 4 抑制 GC - 2 spd 细胞内 Rap1 的表达对 PI3K、AKT、p - AKT 蛋白表达水平的影响 ($n = 3$)

Fig. 4 Effect of inhibition of Rap1 expression on the protein levels of PI3K, AKT and p - AKT in GC - 2 spd cells ($n = 3$)

3 讨论

TDCIPP 是一种新兴环境内分泌干扰物,与男/雌性生殖功能损伤和精子发生障碍密切相关。研究发现,TDCIPP 引起的小鼠精子发生障碍与睾丸中 RNA m⁶A 甲基化水平异常升高相关,差异的 m⁶A 修饰转录本主要富集于凋亡、Rap1/PI3K/AKT 信号通路,提示 TDCIPP 可能通过调控该信号通路诱导睾丸细胞凋

亡,从而引发雄性小鼠生殖毒性^[12]。睾丸细胞凋亡是维持精子发生动态平衡,限制生精上皮生殖细胞数量的一个重要生理机制^[17]。多项研究已经证实环境内分泌干扰物可引起细胞凋亡从而引起生殖系统损伤,如二氧化硅纳米颗粒(SiNPs)引起睾丸和附睾的凋亡细胞增加以及 TNF - α/TNFR I 介导的促凋亡途径激活^[18];砷暴露会使睾丸重量以及精子数量下降,增加精子异常并导致支持细胞和间质细胞凋亡,从而



注:与对照组相比, * * : $P < 0.01$;与 TDCIPP 组相比, #: $P < 0.05$, ##: $P < 0.01$ 。

图 5 抑制 GC - 2 spd 细胞中 Rap1 表达对细胞凋亡水平的影响 ($n = 3$)

Fig. 5 Effect of inhibition of Rap1 expression on the apoptosis in GC - 2 spd cells ($n = 3$)

引起生殖系统障碍^[19]。

Rap1 蛋白作为小 GTP 酶 Ras 家族的成员之一,可激活下游靶标,调控 ERK、PI3K/AKT 等信号传导^[20]。研究发现高表达 Rap1 通过 ERK 通路促进血管平滑肌细胞的增殖^[21]。与此相反,另有研究发现 SGSM2 结合并激活 Rap1,下调 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 信号传导,从而抑制甲状腺肿瘤细胞增殖和癌症的发展^[22]。因此,Rap1 在细胞增殖/凋亡中的作用可能取决于细胞类型。虽然我们前期研究发现 TDCIPP 暴露下差异的 m⁶A 修饰转录本主要富集于凋亡、Rap1/PI3K/AKT 信号通路,但 TDCIPP 对 Rap1/PI3K/AKT 信号通路和生精细胞凋亡的作用机制尚不清楚。本研究中 TDCIPP 暴露可促进小鼠精母 GC - 2 spd 细胞凋亡,显著增加细胞中 Rap1 蛋白的表达水平,而下调 PI3K、AKT 和 p - AKT 蛋白表达水平。Park 等^[23]发现 Rap1 可在上游抑制 PI3K/AKT 信号通路,从而刺激肺癌细胞凋亡。因此,本研究结果提示 TDCIPP 可能通过调控 Rap1 蛋白表达,在上游阻滞 PI3K/AKT 信号通路,诱导 GC - 2 spd 细胞凋亡。

为探究抑制 Rap1 蛋白表达对 PI3K/AKT 信号通路及细胞凋亡的调控变化,采用 TDCIPP 和 ESI09 同时处理 GC - 2 spd 细胞。ESI09 是新型非环状核苷酸 EPAC 的拮抗剂,能够有效抑制 Rap1 蛋白的表达^[24]。

结果显示,与 TDCIPP 暴露组相比,ESI09 显著抑制了 TDCIPP 诱导的 PI3K、AKT、p - AKT 蛋白表达下调以及凋亡蛋白表达上调。PI3K/AKT 信号传导参与细胞凋亡和细胞增殖,其激活能够促进细胞存活^[25]。本研究结果提示,下调 Rap1 表达后缓解了对 PI3K/AKT 信号通路的抑制作用,致使 TDCIPP 诱导的 GC - 2 spd 细胞凋亡水平下降。

综上所述,TDCIPP 暴露引起 Rap1 蛋白过表达,导致 PI3K/AKT 信号传导受阻,从而诱导小鼠精母细胞凋亡。后续可进行动物实验进一步探究 Rap1 介导的 PI3K/AKT 通路在 TDCIPP 致睾丸损伤中的作用机制。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Chen FS, Chen CC, Tsai CC, et al. Urinary levels of organophosphate flame retardants metabolites in a young population from Southern Taiwan and potential health effects[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2023, 14: 1173449.
- [2] Yang Y, Huang W, Huang JT, et al. Increased N6 - methyladenosine in Human Sperm RNA as a risk factor for Asthenozoospermia[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 24345.
- [3] Ji XY, Li N, Ma M, et al. Comparison of the mechanisms of estrogen disrupting effects between triphenyl phosphate (TPhP) and tris(1,3 - dichloro - 2 - propyl) phosphate (TDCIPP) [J].

- Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 229: 113069.
- [4] Zhang XL, Zhao JY, Gan TT, et al. Aging relieves the promotion effects of polyamide microplastics on parental transfer and developmental toxicity of TDCIPP to zebrafish offspring[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 437: 129409.
- [5] Bika SH, Adeniji AO, Okoh AI, et al. Spatiotemporal distribution and analysis of organophosphate flame retardants in the environmental systems; a review[J]. Molecules, 2022, 27(2): 573.
- [6] Hall AM, Keil AP, Choi G, et al. Prenatal organophosphate ester exposure and executive function in Norwegian preschoolers [J]. Environmental Epidemiology, 2023, 7(3): e251.
- [7] Kobayashi S, Kawano N, Miyado K, et al. Effects of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate on epididymal sperm parameters in adult male rats[J]. The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science, 2022, 84(1): 153-156.
- [8] Song XW, Zhu S, Hu L, et al. A review of the distribution and health effect of organophosphorus flame retardants in indoor environments[J]. Toxics, 2024, 12(3): 195.
- [9] Engelsman M, Banks APW, He C, et al. An exploratory analysis of firefighter reproduction through survey data and biomonitoring [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2023, 20(8): 5472.
- [10] Wu BH, Yu HY, Yi J, et al. Behavioral studies of zebrafish reveal a new perspective on the reproductive toxicity of micro- and nanoplastics[J]. Toxics, 2024, 12(3): 178.
- [11] Paun I, Pirvu F, Iancu VI, et al. An initial survey on occurrence, fate, and environmental risk assessment of organophosphate flame retardants in Romanian Waterways [J]. Journal of Xenobiotics, 2023, 14(1): 31-50.
- [12] 张阳,熊传真,陈磊,等. 有机磷阻燃剂 TDCIPP 诱导的 m-6A 修饰引发雄性小鼠生殖毒性[J]. 现代预防医学,2022,49(20): 3794-3800.
- Zhang Y, Xiong CZ, Chen L, et al. The m-6A modification induced by the organophosphate flame retardant TDCIPP triggers reproductive toxicity in male mice [J]. Modern Preventive Medicine, 2022, 49(20): 3794-3800.
- [13] Yamamoto K, Takagi Y, Ando K, et al. Rap1 small GTPase regulates vascular endothelial-cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions and vascular permeability [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2021, 44(10): 1371-1379.
- [14] Mohamadian MLE, Ahmadi SS, Bahrami A, et al. Review on the therapeutic potential of curcumin and its derivatives on glioma biology[J]. Neurochemical Research, 2022, 47(10): 2936-2953.
- [15] Okuno K, Xu CM, Pascual-Sabater S, et al. Berberine overcomes Gemcitabine-associated chemoresistance through regulation of rap1/PI3K-Akt signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Pharmaceuticals, 2022, 15(10): 1199.
- [16] Feng YX, Wang ZS, Duan HJ, et al. Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate induces endoplasmic reticulum stress and mitochondrial-dependent apoptosis in mouse spermatocyte GC-2 cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2024, 185: 114506.
- [17] 姚重界,赵琛,刘世敏. 睾丸中生殖细胞凋亡通路的调节机制研究进展[J]. 中华男科学杂志,2018,24(9):844-850.
- Yao CJ, Zhao C, Liu SM. Progress in studying the regulatory mechanism of germ cell apoptosis pathway in testis[J]. National Journal of Andrology, 2018, 24(9): 844-850.
- [18] Sun FL, Wang XY, Zhang PZ, et al. Reproductive toxicity investigation of silica nanoparticles in male pubertal mice [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2022, 29(24): 36640-36654.
- [19] Rachamalla M, Chinthada J, Kushwaha S, et al. Contemporary comprehensive review on Arsenic-Induced male reproductive toxicity and mechanisms of phytonutrient intervention[J]. Toxics, 2022, 10(12): 744.
- [20] Agarwal H, Tinsley B, Sarecha AK, et al. Rap1 in the context of PCSK9, atherosclerosis, and diabetes[J]. Current Atherosclerosis Reports, 2023, 25(12): 931-937.
- [21] Li Q, Teng YF, Wang J, et al. Rap1 promotes proliferation and migration of vascular smooth muscle cell via the ERK pathway[J]. Pathology Research and Practice, 2018, 214(7): 1045-1050.
- [22] Su X, Chen D, Zhu LZ, et al. SGSM2 inhibits thyroid cancer progression by activating RAPI and enhancing competitive RAS inhibition[J]. Cell Death & Disease, 2022, 13(3): 218.
- [23] Gao ZY, Lei WI, Lee LTO. The role of Neuropeptide-Stimulated cAMP-EPACs signalling in cancer cells[J]. Molecules, 2022, 27(1): 311.
- [24] Pan YF, Liu J, Ren JH, et al. Epac: A promising therapeutic target for vascular diseases; a review [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 929152.
- [25] 钟佳琳,郑立,贺花,等. PI3K/Akt 信号通路相关的生物学调控机制研究进展[J]. 基因组学与应用生物学,2019,38(1):143-147.
- Zhong JL, Zheng L, He H, et al. Progress in studying the biological regulatory mechanisms related to the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Genomics and Applied Biology, 2019, 38(1): 143-147.

收稿日期:2024-03-12

(上接第 2227 页)

- [32] 张钰群,袁勇贵.2020 年抑郁症研究进展回顾[J]. 中华医学信息导报,2021,36(4):11-12.
- Zhang YQ, Yuan YG. A review of research progress on depression in 2020[J]. China Medical News, 2021, 36(4): 11-12.
- [33] Pottinger TD, Khan SS, Zheng YN, et al. Association of cardiovascular health and epigenetic age acceleration[J]. Clinical

Epigenetics, 2021, 13(1): 42.

- [34] Zhao YJ, Yang L, Sahakian BJ, et al. The brain structure, immunometabolic and genetic mechanisms underlying the association between lifestyle and depression [J]. Nature Mental Health, 2023, 1(10): 736-750.

收稿日期:2024-03-15