

• 肿瘤介入 Tumor intervention •

磷脂酶 C β 1 上调表达与肝细胞肝癌增殖和预后相关

褚 亚, 周 石, 王黎洲, 安天志, 蒋天鹏, 宋 杰, 李 兴

【摘要】 目的 探讨磷脂酶 C β 1(PLC β 1)表达是否与肝细胞肝癌(HCC)患者临床病例参数及预后相关。**方法** 采用组织芯片(TMA)技术和免疫组织化学法检测 141 例 HCC 患者肿瘤及癌旁组织 PLC β 1 表达,分析 PLC β 1 表达与临床病理特征相关性;集落形成与细胞凋亡实验检测 PLC β 1 对 HCC 细胞增殖的影响;Kaplan-Meier 法和 Cox 回归模型多因素分析 HCC 预后。**结果** PLC β 1 在肿瘤组织中表达明显高于癌旁组织,并与肿瘤分期密切相关。Kaplan-Meier 生存分析表明 PLC β 1 高表达 HCC 患者生存率低于低表达患者。Cox 多因素分析结果显示 PLC β 1 高表达是 HCC 患者预后的独立影响因素。PLC β 1 在 HCC 细胞中过表达,促进 HCC 细胞增殖并抑制其凋亡。进一步研究发现,细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号通路激活可能参与 PLC β 1 介导的 HCC 细胞生长。**结论** PLC β 1 促进 HCC 进展,可作为 HCC 预后的独立影响因素,有望成为理想的治疗靶点。

【关键词】 磷脂酶 C β 1; 肝细胞肝癌; 预后; 细胞增殖; 细胞外调节蛋白激酶

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2018)-01-0029-06

The correlation of up-regulated expression of PLC β 1 with hepatocellular carcinoma cell proliferation and prognosis CHU Ya, ZHOU Shi, WANG Lizhou, AN Tianzhi, JIANG Tianpeng, SONG Jie, LI Xing. Department of Interventional Radiology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

Corresponding author: LI Xing, E-mail: lixing111@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between the expression of phospholipase C β 1 (PLC β 1) and the clinical relevant parameters and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** By using tissue microarray technique and immunohistochemical method, the expressions of PLC β 1 in tumor and pericancerous tissues were tested in 141 HCC patients. The relationship between the expressions of PLC β 1 and the clinical and pathological characteristics was analyzed. Colony formation assay and apoptosis experiments were used to check the effect of PLC β 1 on proliferation of HCC cells. Kaplan-Meier analysis and Cox multivariate regression model analysis were adopted to analyze the prognosis of HCC patients. **Results** The expression level of PLC β 1 in tumor tissues was obviously higher than that in pericancerous tissues, which was closely related to the tumor staging. Kaplan-Meier survival analysis indicated that the survival rate in HCC patients with high expression level of PLC β 1 was lower than that in HCC patients with low expression level of PLC β 1. Cox multivariate regression analysis revealed that high expression of PLC β 1 was an independent prognostic factor for HCC patients. Over expression of PLC β 1 in HCC cells could promote the proliferation of HCC cell and inhibit its apoptosis. Further investigation showed that activation of extracellular regulated protein kinase signaling pathway might be involved in PLC β 1-mediated HCC cell growth. **Conclusion** PLC β 1 can promote the progression of HCC, and the expression level of PLC β 1 can be regarded as an independent prognostic factor for HCC, and it is expected that PLC β 1 may become an ideal therapeutic target. (J Intervent Radiol, 2018, 27: 29-34)

【Key words】 phospholipase C β 1; hepatocellular carcinoma; prognosis; cell proliferation; extracellular regulated protein kinase

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2018.01.008

基金项目: 贵州省普通高等学校工程研究中心项目(黔教合 KY 字 2016-012)

作者单位: 550004 贵阳 贵州医科大学附属医院介入科

通信作者: 李 兴 E-mail: lixing111@sina.com

肝细胞肝癌(HCC)是全球癌症相关死亡的主要原因之一,其发病率呈逐年增长趋势^[1-3]。近期研究发现癌基因与癌基因激活途径对肝癌发生、发展有重要作用^[4]。磷脂酶 C β 1(PLC β 1)由位于染色体 20p12 的 PLC β 1 基因编码而成,作为最初 G 蛋白偶联受体与 PLC β 异构体偶联,催化磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP2)形成 1,4,5-三磷酸肌醇(IP3)、二酰甘油(DAG)^[5]并在细胞信号转导中起重要作用,该通路调节异常往往加快肿瘤发展^[6]。G α 蛋白激活 PLC β 1 导致细胞内钙离子增加,最终引起细胞异常增殖^[7]。PLC β 1 参与多种疾病发展过程,精神分裂症患者大脑中能检测其异常表达^[8]。小鼠 PLC β 1 基因剔除后表现出与精神分裂症相关认知行为^[9]。作为成肌细胞分化关键调节因子,PLC β 1 对强直性肌营养不良的骨骼肌分化有促进作用^[10]。PLC β 1 能减少细胞氧化应激损伤和防止 α -突触核蛋白聚集^[11],表明扩增其基因能促进 K562 细胞生长和防止细胞凋亡^[12-13]。此外,PLC β 1 阳性靶向细胞周期蛋白 D3 并通过蛋白激酶 C α 介导途径调节细胞周期和细胞增殖^[14]。PLC β 1 过表达使 Swiss 3T3 细胞进入细胞周期 S 期^[15]。致癌过程中 PLC β 1 水平也有所提高^[16]。Molinari 等^[17]证实乳腺癌中 PLC β 1 基因拷贝数发生改变,乳腺癌组织学分级和增殖指数与 PLC β 1 过表达有关。为了解 PLC β 1 对 HCC 细胞增殖及预后的影响,本研究探讨 PLC β 1 表达能否促进 HCC 细胞生长和迁移,删除或抑制 PLC β 1 能否延缓其增殖,从而为预防和治疗 HCC 提供新靶标。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

HEK293T 细胞,LO2 人肝细胞株,人肝癌细胞株 HepG2、Hep3B、LM3、Huh7、H7402(美国菌种保藏中心 ATCC),均置入含 10%胎牛血清(FBS,美国 Gibco 公司)、100 U/ml 青霉素和 100 U/ml 链霉素的 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM,美国 Gibco 公司),并置于含 5%CO₂、37℃ 95%空气加湿孵化器中培养。

1.2 免疫组织化学染色检测

本研究经医院伦理委员会审查通过,肝癌标本由医院病理科提供,均经病理证实为 HCC。采用组织芯片(tissue microarrays,TMA)技术,分别将芯片载入 51 例(TMA1)、90 例(TMA2)HCC 患者肿瘤及癌旁组织(上海芯超生物科技公司),二甲苯脱蜡与乙醇脱水复水,于柠檬酸和内源性过氧化物酶缓冲液中作抗原回收,再用 10%山羊血清清洗,减少TMA

非特异性染色;4℃下孵育抗 PLC β 1 抗体(1:200, sc-205,美国 Santa Cruz 生物技术公司);磷酸缓冲液(PBS)洗涤后,用辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗 30 min,再次 PBS 洗涤;用二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精-伊红(HE)复染。采用半定量评分系统评价染色片强度(0、1、2、3)和阳性百分比,两分数相乘计算最终得分,分为低表达组和高表达组。

1.3 实时定量聚合酶链反应检测

采用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)分离细胞总 RNA,PrimeScript™ 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒(日本 TaKaRa 公司)合成 cDNA 第 1 链,SYBR Green 染色 7500 序列(美国 ABI 公司)检测 PLC β 1 mRNA 表达水平, β -肌动蛋白作为内部对照。人 PLC β 1 基因扩增引物:正向引物为 5'-GATGAGCCCAGATGGCCG-3',反向引物为 5'-AGTTGAGTCATCATCCCACTTGA-3'。 β -肌动蛋白引物:正向引物为 5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3',反向引物为 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'。

1.4 蛋白印迹检测

采用抗磷酸化细胞外调节蛋白激酶(ERK)1/2(4376#)、抗 ERK1/2(9102#)(美国 CST 公司)、抗-双特异性磷酸酶(DUSP)1(sc-370)、抗 β -肌动蛋白(sc-47778)(美国 Santa Cruz 生物技术公司)检测 PLC β 1 印迹。将细胞置于含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂混合物的放射免疫沉淀试验(RIPA)缓冲液(美国 Sigma 公司)裂解,二辛可酸(BCA)法测定总蛋白浓度,将 60 μ g 总蛋白于 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)下分离,分离蛋白移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(美国 Millipore 公司)并用无脂牛奶封膜,一抗孵育过夜;Tris 缓冲 0.9%NaCl 液(TBST)洗涤后,将膜与 HRP 标记的二抗一起孵育,增强型化学发光(ECL)显色。

1.5 PLC β 1 过表达构建与 RNAi 介导 PLC β 1 敲除

慢病毒载体 pLK0.1-TRC 克隆 PLC β 1 cDNA。psPAX2 和 pMD2G 质粒构建重组慢病毒细胞系,以便稳定地过表达 PLC β 1;shRNA 有限扰码序列编码 PLC β 1 作为对照组。

1.6 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3/7 活性检测

将细胞接种至 96 孔板(2×10^3 细胞/孔)。采用细胞计数试剂盒-8(CCK-8,日本 Dojindo 公司)分别于 24、48、72、96 h 评估细胞活力,450 nm 处测定其吸光度。72 h 时清除血清,检测半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase)-3/7 活性。实验至少重复 3 次。

1.7 集落形成检测

将细胞接种至 6 孔板(2×10^4 细胞/孔)并培养 10 d,指定时间点用 PBS 洗涤细胞 2 次,结晶紫处理 10 min 后洗涤,然后计数、检测。实验至少重复 3 次。

1.8 肿瘤治疗

141 例 HCC 患者均接受外科手术切除,术后常规每 1、3、6、12 个月门诊随访甲胎蛋白(AFP),腹部增强 CT 和/或 MRI;12 个月后每半年随访 1 次。若患者影像学表现提示肿瘤复发和/或 AFP 增高,则每隔 1~3 个月予介入灌注化疗栓塞及射频消融等综合治疗。

1.9 数据分析

采用 SPSS 19.0 软件和 GraphPad Prism 5 软件进行统计血分析和图形显示。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,卡方检验分析临床特征与 PLC β 1 表达的关系, t 检验评估体外研究,Kaplan-Meier 法评估总生存期(OS),单因素和多因素风险比分析用 Cox 回归模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

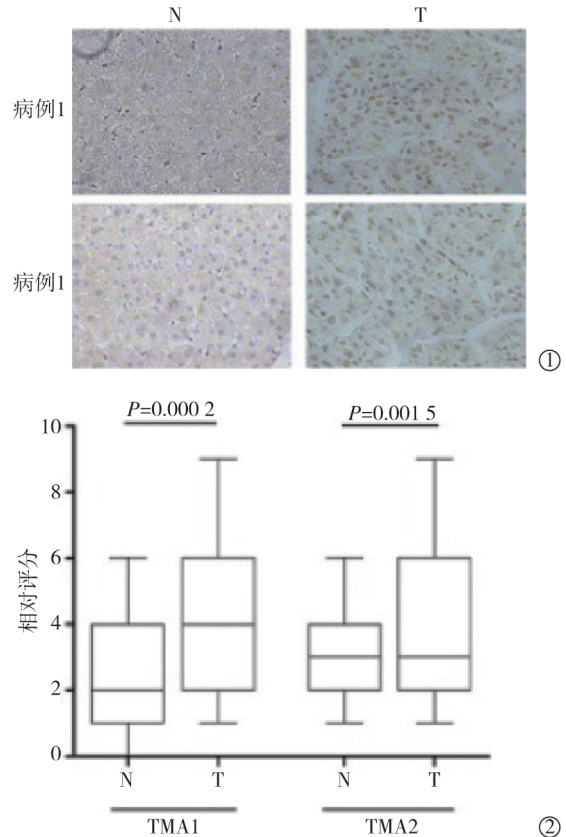
2 结果

2.1 PLC β 1 表达与 HCC 预后关系

免疫组织化学染色检测显示,TMA1、TMA2 细胞核和细胞质中检测到 PLC β 1 蛋白,结果发现 HCC 组织中 PLC β 1 表达比癌旁组织明显增高(图 1)。141 例 HCC 标本中 80 例标本检测显示 PLC β 1 呈高表达,PLC β 1 表达与巴塞罗那临床肝癌(BCLC)分期密切相关($P=0.014\ 5$),与其它参数和特征无显著相关(表 1);Kaplan-MeierK 曲线与 OS 分析显示,PLC β 1 高表达患者比低表达患者生存率低,平均生存时间明显缩短($P=0.001$)(图 2),表明 PLC β 1 表达与 OS 显著相关;Cox 回归单因素分析显示 OS 与肿瘤大小、BCLC 分期、PLC β 1 表达有关,多因素分析表明 PLC β 1 显著表达是与 HCC 患者 OS 明显相关的独立预后因素(表 2)。

2.2 PLCB1 对 HCC 细胞增殖和凋亡的影响

RT-PCR 和蛋白印迹检测结果表明,人肝癌细胞系中 PLC β 1 对应 mRNA 和蛋白(图 3)水平表达均比 LO2 人肝细胞系高。蛋白印迹检测证实慢病毒载体构建了稳定过表达 PLC β 1 的 HepG2 和 Huh7 细胞(图 4①),CCK-8 检测结果表明 PLC β 1 过表达的 HepG2 和 Huh7 细胞活力比对照细胞明显增高(图 4②),集落形成检测和结晶紫染色显示 PLC β 1 过表达细胞生长能力比对照细胞增强(图 4③),细胞凋亡检测发现 PLC β 1 过表达细胞 caspase-3/7 活



①PLC β 1 表达在成对 HCC 组织和癌旁组织中代表性图像($\times 200$);②两 TMA 中 PLC β 1 表达的免疫组织化学分析

图 1 PLC β 1 在 HCC 组织中过表达

表 1 PLC β 1 表达与 HCC 患者临床参数相关性 n

参数	患者 ($n=141$)	低表达	高表达	χ^2 值	P 值
患者($n=141$)	141	61	80		
性别 男	126	54	72	0.079	0.778
女	15	7	8		
年龄/岁 <60	108	46	62	0.084	0.771
≥ 60	33	15	18		
肿瘤 <5 cm	77	37	40	1.585	0.208
≥ 5 cm	64	24	40		
肝硬化 伴发	89	38	51	0.031	0.859
无	52	23	29		
BCLC 肿瘤分期 A	22	15	7	6.690	0.015
B	47	19	28		
C	72	27	45		

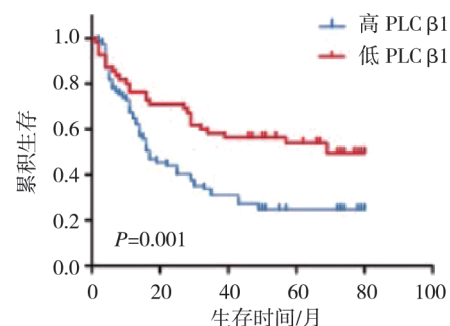
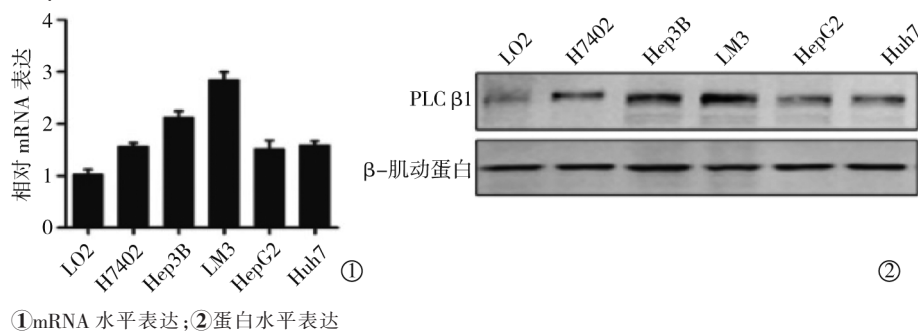
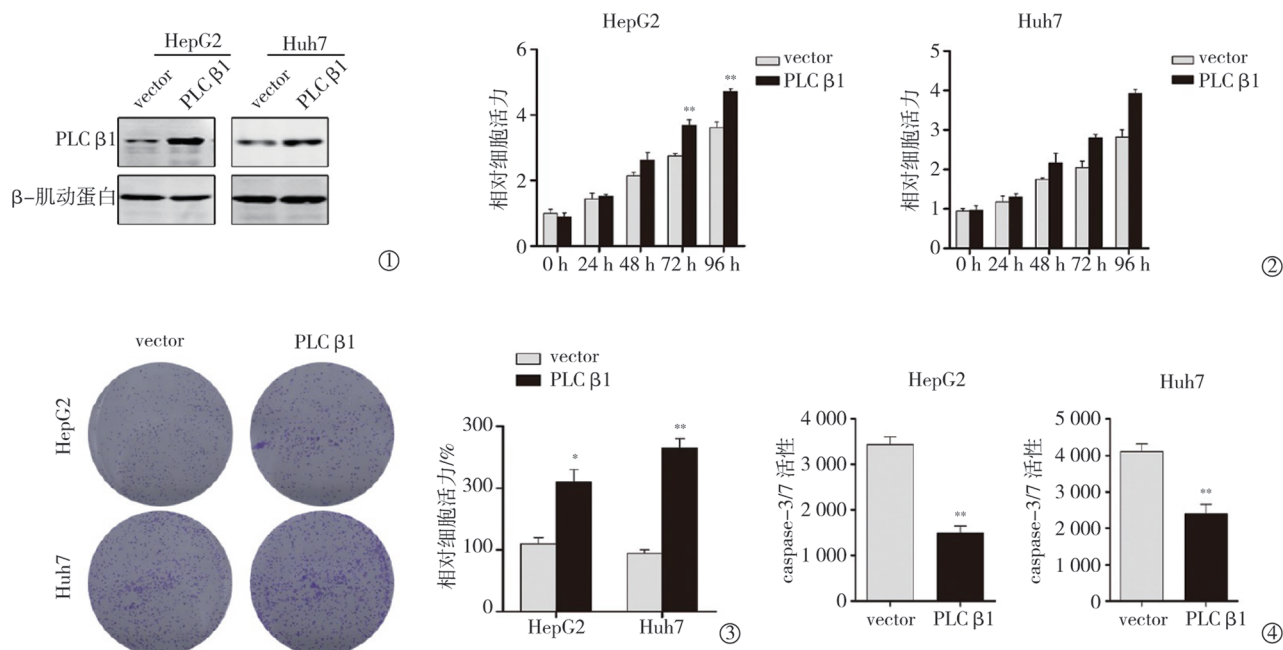


图 2 141 例 HCC 患者 Kaplan-Meier 分析

表 2 Cox 回归分析 141 例 HCC 患者 OS 结果

参数	单因素分析			多因素分析		
	RR	95%CI	P 值	RR	95%CI	P 值
年龄	0.753	0.447~1.268	0.286	-	-	-
性别	0.925	0.464~1.848	0.826	-	-	-
肝硬化	1.032	0.633~1.606	0.891	-	-	-
肿瘤大小	1.932	1.253~2.979	0.003	1.308	0.806~2.121	0.277
BCLC 分期	2.435	1.673~3.544	<0.001	2.038	1.347~3.084	0.001
PLC β 1 表达	2.096	1.317~3.336	0.002	1.706	1.039~2.801	0.035

性显著降低(图 4④);表明 PLC β 1 过度表达可促进 PLC β 1 细胞生长并抑制其凋亡。慢病毒递送 shRNA (SH-1 和 SH-2)降低 PLC β 1 内源性表达实验显示, Hep3B 和 LM3 细胞 shRNA 表达 PLC β 1 比 SH-1 和 SH-2 增强(图 5①),体外细胞存活率和集落形成检测显示 PLC β 1 低表达的 SH-1 和 SH-2 细胞增殖抑制明显(图 5②③),SH-1 和 SH-2 细胞 caspase-3/7 活性比对照(shCON)细胞增高(图 5④);表明下调 PLC β 1 能抑制 PLC β 1 细胞恶性表达。

图 3 PLC β 1 在 LO2 人肝细胞系和人肝癌细胞系中表达

①PLC β 1 表达载体稳定转染 HepG2 和 Huh7 细胞;②CCK-8 测定示 PLC β 1 过表达后 HepG2 和 Huh7 细胞活力;③集落形成检测 PLC β 1 对 HepG2 和 Huh7 细胞生长的影响;④细胞凋亡检测 PLC β 1 过表达后 HepG2 和 Huh7 细胞 caspase-3/7 活性

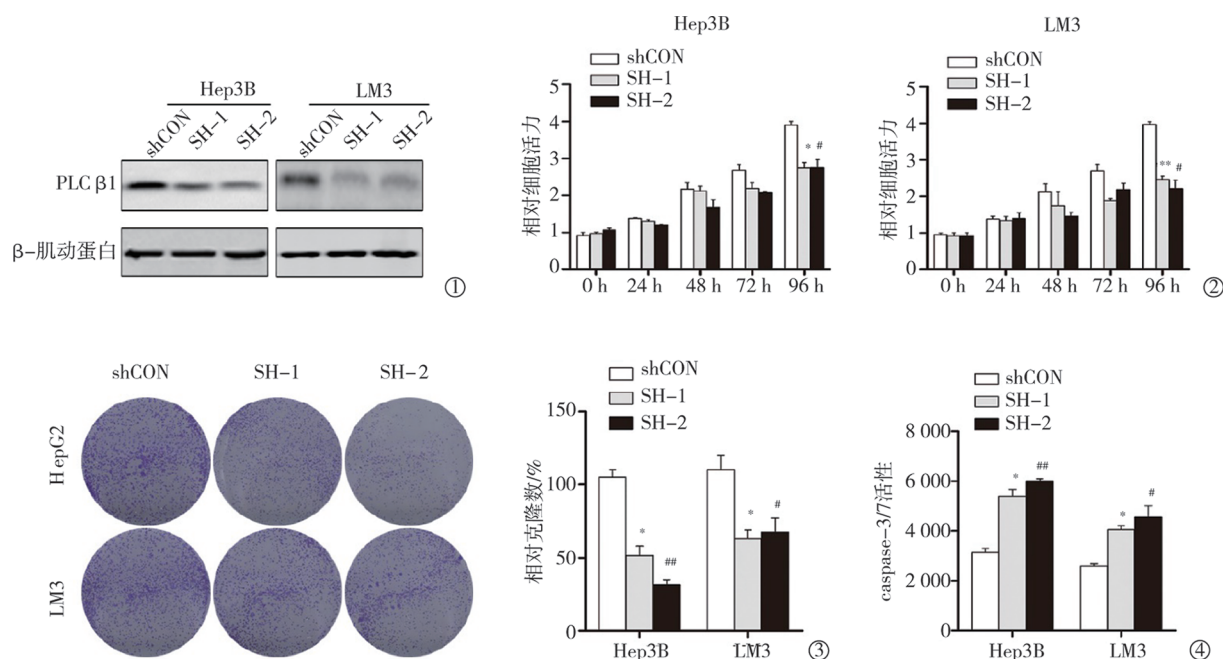
图 4 PLC β 1 过表达对 HepG2 和 Huh7 细胞增殖和凋亡的影响

2.3 PLC β 1 致癌性与 ERK 活化关系

蛋白印迹检测 ERK 激活状态表明,PLC β 1 高表达的 HepG2 和 Huh7 细胞显著刺激 ERK1/2 细胞转导通路磷酸化,而降低 PLC β 1 表达的 Hep3B 细胞有效下调 ERK1/2 通路磷酸化水平(图 6①②),集落形成检测显示 ERK 抑制剂 U0126 可抑制 PLC β 1 对 HCC 细胞生长的促进作用(图 6③),DUSP1 表达均无明显变化;表明 PLC β 1 可调节激活 HCC 细胞 ERK 信号转导通路,从而促进致癌活性。

3 讨论

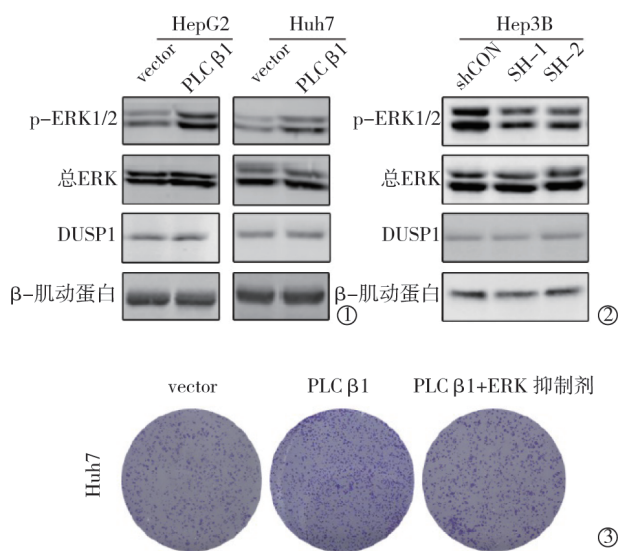
癌基因激活与关键转导通路异常激活通常是非肿瘤细胞癌变必不可少的环节^[18-19]。本研究表明,PLC β 1 过表达能促进细胞生长,反之抑制生长;ERK 信号通路异常激活可能与 PLC β 1 有关;PLC β 1 表达升高可能与 HCC 进展呈正相关。因此,PLC β 1



注: SH-1 与 shCON 相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; SH-2 与 shCON 相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

①shRNA 降低 PLCβ1 在 Hep3B 和 LM3 细胞中表达;②CCK-8 测定 PLCβ1 表达降低的 Hep3B 和 LM3 细胞活力;③集落形成检测 PLCβ1 低表达对 Hep3B 和 LM3 细胞生长的影响;④PLCβ1 低表达 Hep3B 和 LM3 细胞 caspase-3/7 活性

图 5 PLCβ1 低表达对 Hep3B 和 LM3 细胞增殖和凋亡的影响



①PLCβ1 过表达刺激 HepG2 和 Huh7 细胞 ERK1/2 磷酸化;②降低 PLCβ1 表达抑制 Hep3B 细胞 ERK1/2 磷酸化;③集落形成检测示 U0126 可抑制 PLCβ1 诱导 HCC 细胞生长

图 6 ERK 对 PLCβ1 致癌活性的影响

可能作为一种新的 HCC 独立预后因素。

细胞外信息传递可刺激细胞内部转导通路激活。PLCβ1 可编码磷脂酰肌醇特异酶,激活 G 蛋白并催化其形成第 2 信使,启动进一步细胞内信号转导^[20]。有研究表明 PLCβ1 在调节疾病各种功能方面起重要作用^[11-21]。小鼠模型中 PLCβ1 低表达可能诱发癫痫^[7]。Hela 细胞中 PLCβ1 参与 IP₃ 生成^[22]。乳

腺癌组织学分级和增殖指数与 PLCβ1 密切相关, PLCβ1 低表达患者预后相对较好^[17]。

既往研究发现,位于染色体 8q 和 20 的某个基因可作为肝母细胞瘤预后不良的预测因素^[23]。PLCβ1 基因位于染色体 20p12, 其上调情况受到关注。但迄今尚未见 PLCβ1 表达与 HCC 间关联相关报道。本研究结果表明 PLCβ1 与肝癌 BCLC 分期有相关性,与肿瘤大小、是否伴发肝硬化等无明显相关,但肿瘤发生涉及复杂机制;PLCβ1 可能作为一种生物标志物,明确 HCC 表型;PLCβ1 高表达患者表现出较低 OS。多因素分析表明 PLCβ1 表达是 HCC 独立预后因素。

PLCβ1 促进肝癌进展机制尚不明确。本研究体外实验表明 PLCβ1 过表达促进肝癌细胞增殖并抑制其凋亡,并激活已证明能影响细胞生长和凋亡的 ERK 信号转导通路。ERK 激活是通过调节 DUSP 去磷酸化实现的^[24]。PLCβ1 改变引起 DUSP1 表达变化,提示 ERK 激活。此外,胰岛素样生长因子(IGF) - I 可能引起细胞核 ERK 活化,同时诱导细胞核 PLCβ1 磷酸化,启动磷酸肌醇循环^[25],这可能是 PLCβ1 与 ERK 信号通路之间调节环路。近年抑制 ERK 激酶活性化合物研究已取得部分前期临床结果,在癌症治疗中取得一些进展^[26]。本研究发现 PLCβ1 过表达介导的部分细胞增殖效应,可被 ERK

抑制剂阻断。

总之,本研究由肝癌发生发展中的临床标本和体外实验结果验证,HCC 患者 PLC β 1 过表达可能在促进肿瘤发生中起重要作用,且与侵袭性行为密切相关,可作为 HCC 预后的一个预测指标;抑制 PLC β 1 介导的信号通路可能会控制 HCC 进展,PLC β 1 可能是今后肝癌治疗的潜在分子靶点。

[参 考 文 献]

- [1] 王 燕,王茂强,段 峰.索拉非尼治疗中晚期肝癌预后因素分析[J].介入放射学杂志,2017,26:258-262.
- [2] Forner A, Gilabert M, Bruix J, et al. Heterogeneity of intermediate-stage HCC necessitates personalized management including surgery[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12: 10.
- [3] Kanwal F, El-Serag HB, Ross D. Surveillance for hepatocellular carcinoma: can we focus on the mission? [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, 13: 805-807.
- [4] Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault JC, et al. The genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2015, 149: 1226-1239.
- [5] Martelli AM, Fiume R, Faenza I, et al. Nuclear phosphoinositide specific phospholipase C(PI-PLC)- β 1: a central intermediary in nuclear lipid-dependent signal transduction[J]. Histol Histopathol, 2005, 20: 1251-1260.
- [6] Spyridakis S, Leondaritis G, Nakos G, et al. A specific phospholipase C activity regulates phosphatidylinositol levels in lung surfactant of patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2010, 42: 357-362.
- [7] Ngho A, McTague A, Wentzensen IM, et al. Severe infantile epileptic encephalopathy due to mutations in PLC β 1: expansion of the genotypic and phenotypic disease spectrum[J]. Dev Med Child Neurol, 2014, 56: 1124-1128.
- [8] Lo Vasco VR, Cardinale G, Polonia P. Deletion of PLCB1 gene in schizophrenia - affected patients[J]. J Cell Mol Med, 2012, 16: 844-851.
- [9] Poduri A, Chopra SS, Neilan EG, et al. Homozygous PLCB1 deletion associated with malignant migrating partial seizures in infancy[J]. Epilepsia, 2012, 53: e146-e150.
- [10] Cocco L, Finelli C, Mongiorgi S, et al. An increased expression of PI-PLC β 1 is associated with myeloid differentiation and a longer response to azacitidine in myelodysplastic syndromes[J]. J Leukoc Biol, 2015, 98: 769-780.
- [11] Guo Y, Scarlata S. A loss in cellular protein partners promotes α -synuclein aggregation in cells resulting from oxidative stress [J]. Biochemistry, 2013, 52: 3913-3920.
- [12] Poli A, Faenza I, Chiarini F, et al. K562 cell proliferation is modulated by PLC β 1 through a PKC α -mediated pathway [J]. Cell Cycle, 2013, 12: 1713-1721.
- [13] Bavelloni A, Poli A, Fiume R, et al. PLC β 1 regulates the expression of miR-210 during mithramycin-mediated erythroid differentiation in K562 cells[J]. Oncotarget, 2014, 5: 4222-4231.
- [14] Bavelloni A, Dmitrienko GI, Goodfellow VJ, et al. PLC β 1a and PLC β 1b selective regulation and cyclin D3 modulation reduced by kinamycin F during k562 cell differentiation [J]. J Cell Physiol, 2015, 230: 587-594.
- [15] Ho KK, Mann DJ. Nuclear signalling through phospholipase C and phosphatidyl 4, 5-bisphosphate[J]. Signal Transd, 2006, 6: 92-100.
- [16] Fiume R, Huang X, Ramazzotti G, et al. Phospholipase C beta 1 (PLC β 1) in acute myeloid leukemia (AML): a novel potential therapeutic target[J]. Ital J Anat Embryol, 2014, 119: 88.
- [17] Molinari C, Medri L, Folio MY, et al. PI-PLC β 1 gene copy number alterations in breast cancer[J]. Oncol Rep, 2012, 27: 403-408.
- [18] Drabsch Y, ten Dijke P. TGF- β signalling and its role in cancer progression and metastasis [J]. Cancer Metastasis Rev, 2012, 31: 553-568.
- [19] Yin XX, Ye HL, Zhang G, et al. Targeting IP3-dependent calcium signaling enhances sorafenib lethality for hepatoma via ER stress related apoptosis [J]. FASEB J, 2015, 29(1 Suppl): 945-947.
- [20] Philip F, Sahu S, Caso G, et al. Role of phospholipase C- β in RNA interference [J]. Adv Biol Regul, 2013, 53: 319-330.
- [21] Folio MY, Faenza I, Piazza M, et al. Nuclear PI-PLC β 1: an appraisal on targets and pathology [J]. Adv Biol Regul, 2014, 54: 2-11.
- [22] Ishida S, Matsu-Ura T, Fukami K, et al. Phospholipase C- β 1 and β 4 contribute to non-genetic cell-to-cell variability in histamine-induced calcium signals in HeLa cells [J]. PLoS One, 2014, 9: e86410.
- [23] Weber RG, Pietsch T, von Schweinitz D, et al. Characterization of genomic alterations in hepatoblastomas: a role for gains on chromosomes 8q and 20 as predictors of poor outcome [J]. Am J Pathol, 2000, 157: 571-578.
- [24] Albeck JG, Mills GB, Brugge JS. Frequency-modulated pulses of ERK activity transmit quantitative proliferation signals [J]. Mol cell, 2013, 49: 249-261.
- [25] Xu A, Suh PG, Marmy-Conus N, et al. Phosphorylation of nuclear phospholipase C β 1 by extracellular signal-regulated kinase mediates the mitogenic action of insulin-like growth factor I [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21: 2981-2990.
- [26] Herrero A, Pinto A, Colon-Bolea P, et al. Small molecule inhibition of ERK dimerization prevents tumorigenesis by RAS-ERK pathway oncogenes [J]. Cancer Cell, 2015, 28: 170-182.

(收稿日期:2017-05-24)

(本文编辑:边 伟)