DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000896

沉默 PLD2 基因对结肠癌细胞增殖和迁移能力的影响

杜昆利[1],刘茂希[1],张寿儒[1],吴星烨[1],曾　丽[2],傅仲学[1]
（重庆医科大学附属第一医院 1. 胃肠外科;2. 中西医结合科,重庆　400016）

【摘　要】目的:探讨沉默磷脂酶 D2(phospholipases D2,PLD2)基因的表达对人结肠癌细胞增殖和迁移能力的影响及其潜在的分子机制。方法:采用载有靶向 PLD2 的小干扰 RNA(small interfering RNA,siRNA)腺病毒转染 SW480 和 SW620 细胞;qRT-PCR 和 Western blot 法检测转染后结肠癌细胞 PLD2 的 mRNA 和蛋白质表达的变化;平板克隆形成实验和 Transwell 小室分别检测各组细胞的增殖和细胞迁移能力的变化;采用 Western blot 法检测转染前后细胞中周期蛋白 D1(Cyclin D1)和基质金属蛋白酶-2(metalloproteinase-2,MMP-2)蛋白的表达。结果:转染 PLD2 siRNA 后结肠癌细胞 PLD2 mRNA 和蛋白的表达量明显下降(均 $P<0.01$),沉默 PLD2 表达后细胞的增殖和迁移能力明显受抑制,同时 Cyclin D1 和 MMP-2 蛋白的表达量也明显下调(均 $P=0.000$)。结论:干扰 PLD2 表达引起的细胞增殖和迁移能力的下降可能与 Cyclin D1 和 MMP-2 表达下调密切相关,提示 PLD2 可能成为结肠癌治疗的新靶点之一。

【关键词】磷脂酶 D2;细胞增殖;细胞迁移;结肠癌;小干扰 RNA
【中图分类号】R735.3　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-09-16

Effect of PLD2 gene silencing on proliferation and migration of colon cancer cells

Du Kunli[1], Liu Maoxi[1], Zhang Shouru[1], Wu Xingye[1], Zeng Li[2], Fu Zhongxue[1]
(1.Department of Gastrointestinal Surgery; 2. Department of Integrated Traditional and Western Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】***Objective***: To investigate the effect of silencing the PLD2(phospholipases D2) gene expression on cell proliferation and migration of colon cancer cell lines and to explore the underline molecular mechanisms. ***Methods***: The small interfering RNA(siRNA) targeted PLD2 was transfected into SW480 and SW620 cells by adenovirus. Expression levels of PLD2 mRNA and protein were measured by qRT-PCR and Western blot, respectively. Plate clone formation assay and transwell chamber were used to detect the proliferation and migration ability of colon cancer cells. Finally, the expressions of Cyclin D1 and metalloproteinase-2(MMP-2) protein were measured by Western blot in both cell lines. ***Results***: PLD2 siRNA greatly inhibited the expression of PLD2 in colon cancer cells at both mRNA and protein levels(all $P<0.01$). Down-regulated the PLD2 expression significantly suppressed the proliferation and migration ability of SW480 and SW620 cells and also inhibited the expression of Cyclin D1 and MMP-2 proteins in both cell lines(all $P=0.000$). ***Conclusion***: Down-regulated PLD2 gene expression can clearly inhibit the proliferation and migration of colon cancer cells, which may closely associate with the decreased expression of Cyclin D1 and MMP-2, indicating a way of gene therapy for colon cancer.

【Key words】phospholipases D2(PLD2); cell proliferation; cell migration; colon cancer; small interfering RNA

作者介绍:杜昆利,Email:dukungang@126.com,
研究方向:胃肠道肿瘤发病机理及生物学特性。
通信作者:傅仲学,Email: doctor_fzx@163.com。
基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号:81201916);
国家自然科学基金面上资助项目(编号:81172295)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160321.1425.002.html
(2016-03-21)

磷脂酶 D(phospholipases D,PLD)是体内普遍存在的一种酶,已确定在哺乳动物中 PLD 主要有 PLD1 和 PLD2 两个亚型[1]。PLD 可以水解磷脂酰胆碱生成胆碱和磷脂酸,后者作为信号转导的第二信使在细胞增殖中发挥着重要作用[2-3]。研究表明 PLD2 在多种肿瘤中高表达增高,并与肿瘤的发生发展密切相关[4-6]。随着对 PLD2 的进一步研究,Kwun 等[7]研究发现,PLD2 可以抑制 p21 的表达从而增加周期蛋白依赖性激酶活性,后者与周期蛋白(Cyclin)结合,共同促进细胞周期的进展,促使肿瘤的发生。另有研究指出,PLD2 可以正反馈调节 Wnt/β-catenin 信号通路而激活其下游靶基因 Cyclin D1,从而促进细胞增殖[8]。过表达 PLD2 通过可以上调基质金属蛋白酶-2(metalloproteinase-2,MMP-2)的表达来促进神经胶质瘤以及淋巴瘤细胞的侵袭能力[9-10]。而特异性沉默 PLD2 基因表达可以明显抑制肿瘤细胞的增殖和迁移能力[11-12]。那么在结肠癌中 PLD2 是否可以通过调控某些相关基因的表达来影响结肠癌细胞的增殖与迁移能力？目前在国内外尚未有明确报道。因此,本实验采用 RNA 干扰技术,特异性沉默 PLD2 基因表达后观察其对人结肠癌细胞增殖和迁移能力的影响,并检测与肿瘤增殖和迁移相关蛋白 Cyclin D1 和 MMP-2 表达水平的变化,探讨 PLD2 影响结肠癌增殖和转移潜在的分子机制,以期进一步探讨 PLD2 在结肠癌中的生物学作用,为结肠癌的靶向治疗提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 细胞和材料

人结肠腺癌细胞株 SW480、SW620、HCT116 和 HT29 细胞购于中国科学院上海细胞所;胎牛血清及 RPMI1640 培养液购于上海海克隆生物科技有限公司;PLD2 抗体购于美国 Abcam 公司;Cyclin D1 抗体购于辽宁万类生物科技公司;MMP-2 及 β-actin 抗体购于武汉三鹰生物技术有限公司;Trizol 试剂、逆转录试剂盒、荧光定量反应试剂盒均购于大连 TaKaRa 公司;Transwell 小室及 PVDF 膜购于购于美国 Millipore 公司;ECL 发光液购于中国碧云天公司;人 PLD2 干扰腺病毒载体购于上海汉恒生物科技有限公司,PLD2 siRNA 干扰序列:5'-GATGAGATTGTGGACAGAATCCTGA-3'。

1.2 细胞转染

收集对数期生长的结肠癌 SW480 和 SW620 细胞(5×10^5 个/ml),加入到 6 孔板内,培养 24 h 细胞贴壁后,弃去培养液,加入适量用培养液稀释的腺病毒(MOI=50),细胞转染后 4 h 更换培养液,24 h 用荧光显微镜观察细胞转染情况并进行后续相关实验的检测。

1.3 qRT-PCR

采用 Trizol-氯仿-异丙醇法提取细胞中的总 RNA,逆转录反应采用 PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser,按试剂盒说明进行。PLD2 引物序列:上游 5'-GTGGGCGA-TGAGATTGTGGAC-3',下游 5'-CAGGATTGAATACTCCCCA-CGA-3'。β-actin 引物序列:上游 5'-CCACGAAACTACCTT-CAACTCC-3',下游 5'-GTGATCTCCTCCTGATCCTGT-3'。qRT-PCR 反应采用 SYBR® *Premix Ex Taq* Ⅱ,按试剂盒说明进行。实验重复 3 次,各组间表达差异通过计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

1.4 Western blot

收集对数期生长的正常结肠癌细胞、转染空载腺病毒以及 PLD2 腺病毒干扰组细胞,常规提取细胞的总蛋白并进行浓度测定。各组取蛋白 50 μg 在 10% SDS-聚丙烯酰氨凝胶电泳,分离蛋白质样本和分子质量标准,将蛋白质样本电转至 PVDF 膜,5%的脱脂牛奶封闭 2 h。一抗 4 ℃孵育过夜后与相应的二抗反应。洗膜后加用 ECL 发光液,在 Fushion 成像系统进行显影摄片并进行表达分析。

1.5 细胞增殖实验

将各组细胞分别接种于灭菌 24 孔板内,每孔 5×10^2 个细胞,加入适量含 10%胎牛血清的 RMPI1640 培养 2 周后终止培养,弃去培养液,PBS 漂洗,4%多聚甲醛固定 15 min,结晶紫染色 10 min,显微镜下计数形成的克隆,实验重复 3 次。

1.6 细胞迁移实验

采用 Transwell 小室法检测细胞的迁移能力,滤膜孔径为 8 μm。将各组细胞细胞分别悬浮于无血清的培养液中,浓度调整为 5×10^5 个/ml,上室加 200 μl 细胞悬液,下室加 500 μl 含血清培养液,置于细胞培养箱中培养,24 h 后取出小室,4%多聚甲醛固定 15 min,结晶紫染色 10 min,用棉签擦去上室内的细胞,风干后倒置显微镜拍照计数。

1.7 统计学方法

应用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。qRT-PCR、Western blot 以及增殖、迁移实验结果组间差异采用单因素方差分析,两两比较时采用 LSD-t 法。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 结肠癌细胞中 PLD2 蛋白的表达

选取 4 株结肠癌细胞株检测 PLD2 蛋白的表达情况,结果发现在 SW480 和 SW620 细胞中 PLD2 的平均表达水平高于 HCT116 和 HT29 细胞,见图 1。故后续选取 SW480 和

SW620 细胞进行相应指标检测。

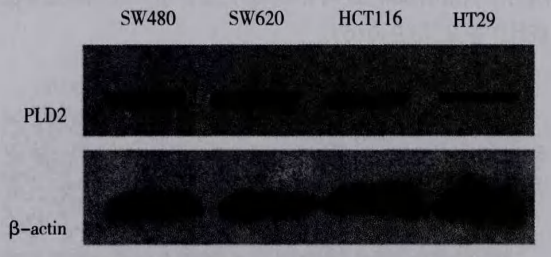


图 1 4 种结肠癌细胞（SW480、SW620、HCT116 和 HT29）中 PLD2 蛋白的表达水平

Fig.1 Expression of PLD2 protein in colon cancer cell lines: SW480, SW620, HCT116 and HT29

2.2 腺病毒转染效率

腺病毒转染 SW480 与 SW620 细胞 24 h 后在荧光显微镜下观察细胞转染效率达 90%以上(图 2)。

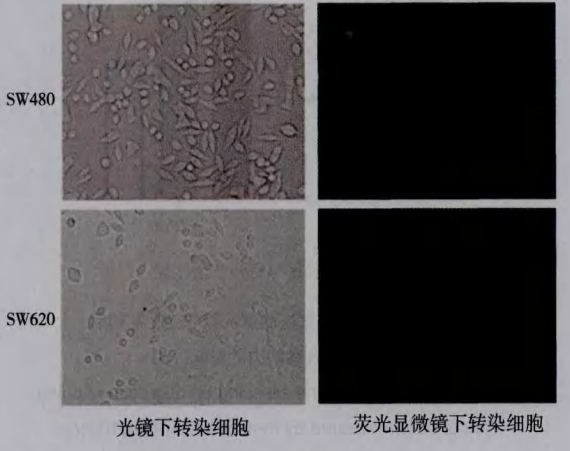
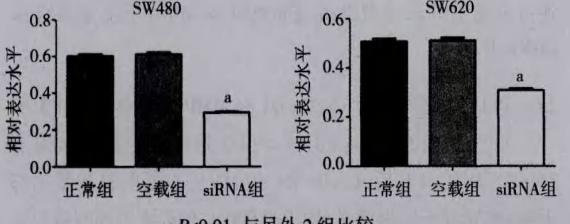


图 2 结肠癌细胞转染结果（200×）

Fig.2 Adenovirus transfection into colon cancer cells (200×)

2.2 干扰腺病毒转染后对 PLD2 mRNA 表达的影响

运用 $2^{-\Delta\Delta Q}$ 法计算各组细胞中 PLD2 mRNA 相对表达水平，结果显示 siRNA 组 PLD2 mRNA 的表达水平与正常组和空载组相比有统计学差异(均 P=0.000)。siRNA 组较正常组与空载组明显降低(均 P=0.000)，正常组与空载组差异无统计学意义(均 P>0.05)(图 3、表 1)。



a: P<0.01, 与另外 2 组比较

图 3 qRT-PCR 检测 SW480 和 SW620 细胞 PLD2 mRNA 的表达

Fig.3 PLD2 mRNA expression detected by qRT-PCR in SW480 and SW620 cells

表 1 转染前后 PLD2mRNA 表达水平比较

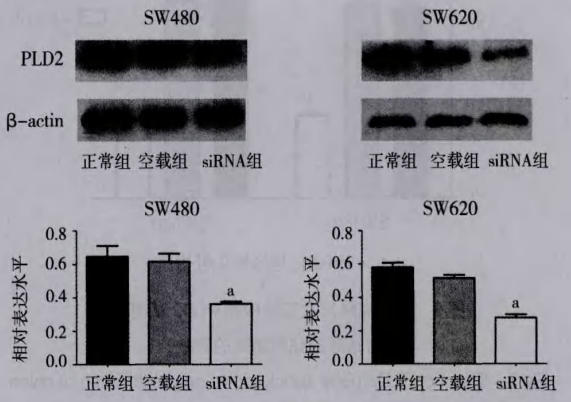
Tab.1 mRNA expression of PLD2 in the three groups

组别	SW480	P 值	SW620	P 值
正常组	0.612 ± 0.019	0.529[a]	0.506 ± 0.021	0.762[a]
空载组	0.610 ± 0.019	0.000[b]	0.511 ± 0.019	0.000[b]
siRNA组	0.295 ± 0.009	0.000[c]	0.307 ± 0.012	0.000[c]
F 值	367.702		130.577	
P 值	0.000		0.000	

注：a，正常组织 vs. 空载组；b：正常组织 vs. siRNA 组；c：空载组 vs. siRNA 组

2.3 干扰腺病毒转染后对 PLD2 蛋白表达的影响

Western blot 检测结果见图 4、表 2，siRNA 组 PLD2 蛋白的表达水平与正常组和空载组相比明显降低，3 组间比较有统计学差异，在 SW480 细胞中(F=11.157，P=0.01)；在 SW620 细胞中(F=52.773，P=0.000)，siRNA 组 PLD2 蛋白水平较正常组明显降低(P=0.005，P=0.000)，与空载组相比，siRNA 组 PLD2 蛋白水平显著降低(P=0.009，P=0.000)，PLD2 在 2 株细胞正常组与空载组蛋白水平比较，差异无统计学意义(均 P>0.05)。



a: P<0.01, 与另外 2 组比较

图 4 Western blot 法检测 SW480 和 SW620 细胞 PLD2的蛋白的表达

Fig.4 PLD2 protein expression measured by Western blot in SW480 and SW620 cells

表 2 转染前后 PLD2 蛋白表达水平比较

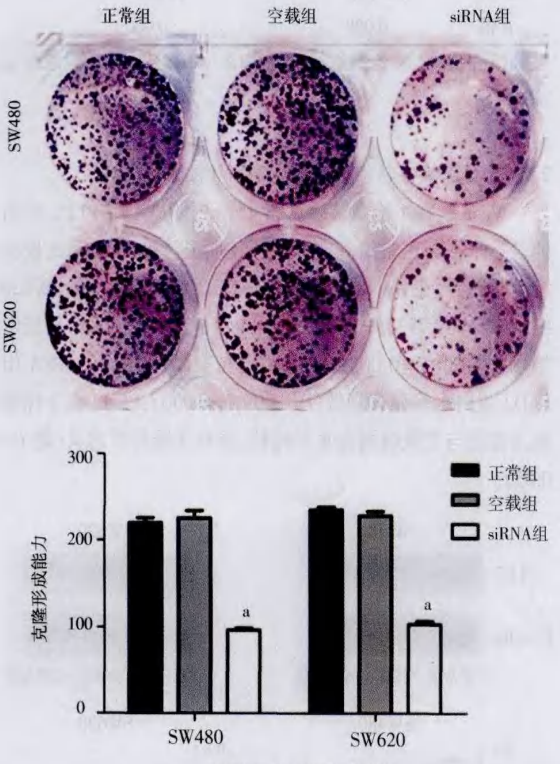
Tab.2 Protein expression of PLD2 in the three groups

组别	SW480	P 值	SW620	P 值
正常组	0.647 ± 0.111	0.666[a]	0.581 ± 0.049	0.085[a]
空载组	0.617 ± 0.083	0.005[b]	0.517 ± 0.030	0.000[b]
siRNA组	0.362 ± 0.023	0.009[c]	0.279 ± 0.033	0.000[c]
F 值	11.157		52.773	
P 值	0.010		0.000	

注：a，正常组织 vs. 空载组；b：正常组织 vs. siRNA 组；c：空载组 vs. siRNA 组

2.4 PLD2 基因下调对结肠癌细胞增殖的影响

如图 5、表 3 所示，2 株细胞中 siRNA 组克隆形成数与正常组和空载组相比明显增高，3 组间比较有统计学差异（均 P=0.000）。2 株细胞中 siRNA 组较正常组与空载组克隆形成数明显降低（均 P=0.000），而正常组与空载组比较，差异无统计学意义（均 P>0.05）。



a: P<0.01，与另外 2 组相比

图 5 平板克隆形成实验检测 PLD2 基因沉默对结肠癌细胞增殖的影响

Fig.5 Effect of PLD2 gene knock-down on proliferation of colon cancer cells measured by clone formation assay

表 3 3 组细胞增值能力的比较

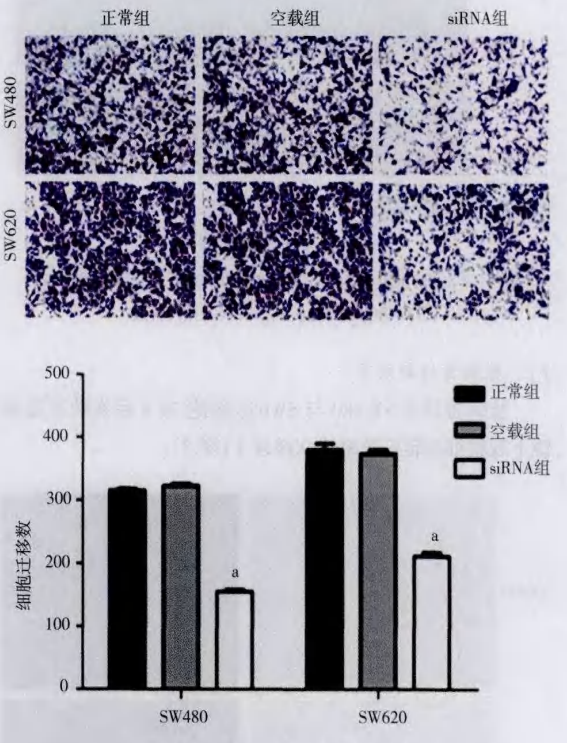
Tab.3 Comparison of the cell growth ability among the three groups

组别	SW480	P 值	SW620	P 值
正常组	220.000 ± 10.000	0.534[a]	235.333 ± 5.686	0.272[a]
空载组	225.337 ± 14.472	0.000[b]	228.333 ± 9.074	0.000[b]
siRNA组	96.667 ± 3.786	0.000[c]	1.3.667 ± 6.028	0.000[c]
F 值	144.200		327.008	
P 值	0.000		0.000	

注：a，正常组织 vs. 空载组；b：正常组织 vs. siRNA 组；c：空载组 vs. siRNA 组

2.5 PLD2 基因下调对结肠癌细胞迁移能力的影响

Trasnwell 细胞迁移实验检测结果显示（图 6、表 4），siRNA组穿膜细胞数与正常组和空载组相比明显下降，3 组间比较有统计学差异（均 P=0.000）。siRNA 组穿膜细胞数较正常组与空载组明显降低（均 P=0.000），正常组与空载组差异无统计学意义（均 P>0.05）。



a: P<0.01，与另外 2 组比较

图 6 Transwell 小室法检测沉默 PLD2 基因后对结肠癌细胞迁移能力的影响（100×）

Fig.6 Effect of PLD2 gene silencing on migration of colon cancer cells measured by transwell chamber(100×)

表 4 3 组细胞迁移能力的比较

Ta.4 Comparison of the cell migration ability among the three groups

组别	SW480	P 值	SW620	P 值
正常组	315.000 ± 5.568	0.155[a]	380.333 ± 17.098	0.583[a]
空载组	323.000 ± 6.245	0.000[b]	374.000 ± 11.533	0.000[b]
siRNA组	155.000 ± 6.245	0.000[c]	211.333 ± 10.599	0.000[c]
F 值	741.578		153.613	
P 值	0.000		0.000	

注：a，正常组织 vs. 空载组；b：正常组织 vs. siRNA 组；c：空载组 vs. siRNA 组

2.6 PLD2 基因下调对 Cyclin D1 和 MMP-2 蛋白表达的影响

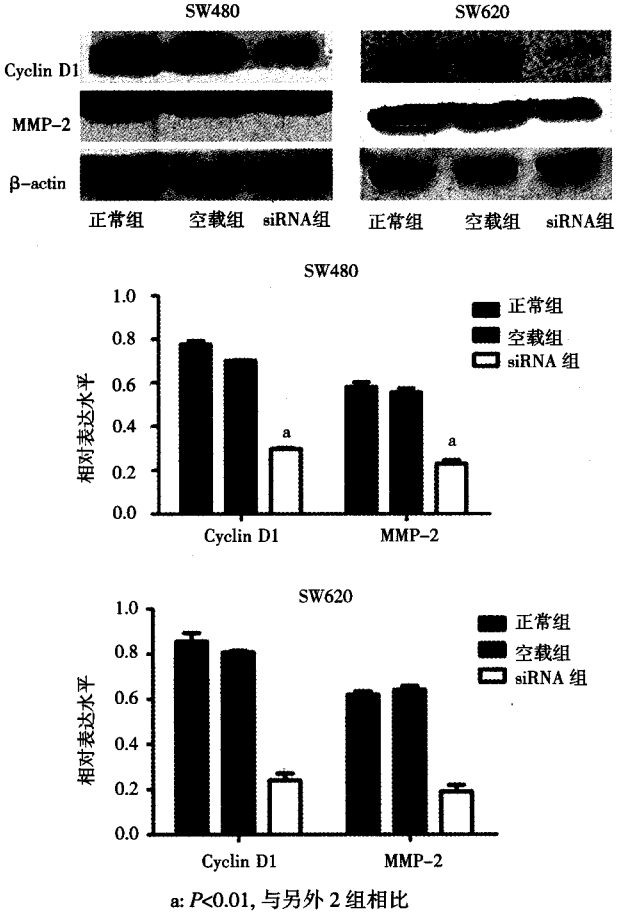
如图 7、表 5 所示：siRNA-PLD2 腺病毒转染 SW480 和 SW620 细胞 24 h 后，Cyclin D1 和 MMP-2 蛋白表达量明显下降，差异有统计学意义（均 P=0.000）。与正常组和空载组比较，siRNA 组 Cyclin D1 和 MMP-2 蛋白表达量明显降低（均 P=0.000），而正常组与空载组蛋白表达比较差异无统计学意义（均 P>0.05）。

表 5 转染前后 Cyclin D1 与 MMP-2 蛋白表达水平比较

Tab.5 Protein expressions of Cyclin D1 and MMP-2 in the three groups

组别	SW480				SW620			
	Cyclin D1	*P* 值	MMP-2	*P* 值	Cyclin D1	*P* 值	MMP-2	*P* 值
正常组	0.776 ± 0.027	0.200[a]	0.580 ± 0.038	0.362[a]	0.855 ± 0.066	0.279[a]	0.619 ± 0.027	0.488[a]
空载组	0.734 ± 0.056	0.000[b]	0.554 ± 0.031	0.000[b]	0.807 ± 0.012	0.000[b]	0.641 ± 0.029	0.000[b]
siRNA组	0.295 ± 0.010	0.000[c]	0.231 ± 0.024	0.000[c]	0.190 ± 0.050	0.000[c]	0.190 ± 0.050	0.000[c]
F 值	161.858		116.468		144.483		144.538	
P 值	0.000		0.000		0.000		0.000	

注：a，正常组织 vs. 空载组；b：正常组织 vs. siRNA 组；c：空载组 vs. siRNA 组



a: *P*<0.01，与另外 2 组相比

图 7 沉默 PLD2 基因对结肠癌细胞中 Cyclin D1 和 MMP-2 蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of PLD2 gene silencing on expression of Cyclin D1 and MMP-2 in colon cancer cells

3 讨 论

肿瘤的复发与转移是导致患者死亡的主要原因，研究表明 PLD2 在一些肿瘤的发生以及转移中起着重要的作用，可能成为一些肿瘤治疗的潜在靶点[13]。本课题组前期研究[14]发现，PLD2 在结肠癌组织中表达明显高于相应的正常结肠组织，PLD2 的高表达与肿瘤的大小呈正相关，并且发现 PLD2 可能参与调控缺氧条件下结肠癌细胞的增殖能力。另有研究发现，PLD2 不仅在维持细胞膜完整性中发挥作用，同时也在细胞的侵袭迁移以及肿瘤的转移中起到重要作用[15]。提示 PLD2 有可能参与调解结肠癌的生长与转移。因此，本实验通过使用腺病毒干扰的方法沉默 PLD2 基因表达，观察抑制 PLD2基因表达对 SW480 与 SW620 细胞增殖与迁移能力的影响。结果发现，特异性沉默 PLD2 表达后，两株结肠癌细胞的增殖与迁移能力均明显下降，提示PLD2 基因在 SW480 和 SW620 细胞中发挥着癌基因的生物学功能，参与调控结肠癌的生长与转移。

PLD2 蛋白主要定位于大多数细胞的细胞膜上，参与调控多种细胞生物学过程。目前虽已有研究表明 PLD2 基因在肿瘤的生长，侵袭及转移，凋亡等过程中发挥重要作用[16]。并已有实验证实，应用特异性抑制剂抑制 PLD2 基因表达能有效抑制肿瘤的生长和转移[12-13]。然而在国内外关于 PLD2 影响结肠癌增殖与迁移能力的具体信号通路及上下游靶基因尚未见明确报道。已有研究证实 PLD2 可以通过调控 Cyclin D1 和 MMP-2 表达的变化来调节一些肿瘤细胞的增殖与迁移能力[7-10]。那么 PLD2 是否可以通过对 Cyclin D1 和 MMP-2 的调控来调节结肠癌细胞的增殖与迁移能力呢？现有文献尚未有足够证据证实这一科学假说。因此，为了进一步明确这一假说，本实验采用腺病毒干扰技术沉默 PLD2 基因表达，检测转染前后 Cyclin D1 以及 MMP-2 蛋白表达变化。结果发现，随着 PLD2 蛋白表达水平的降低，Cyclin D1 与 MMP-2 蛋白水平也明显下降，提示 PLD2 基因可能通过对 Cyclin D1 与 MMP-2 表

达的调控来调节结肠癌细胞的增殖与迁移能力。

综上所述，本研究发现沉默 PLD2 基因后结肠癌细胞的增殖和迁移能力明显下降，并且其机制可能是通过下调 Cyclin D1 和 MMP-2 的表达来实现。提示 PLD2 可能成为结肠癌治疗的新靶点。但 PLD2 通过何种途径调控 Cyclin D1 与 MMP-2 的表达尚不清楚，本课题组下一步将会对其之间的信号转导机制进行深入探讨。

参 考 文 献

[1] Hammond SM, Altshuller YM, Sung TC, et al. Human ADP-ribosylation factor-activated phosphatidylcholine-specific phospholipase D defines a new and highly conserved gene family[J]. J Biol Chem, 1995, 270(50): 29640-29643.

[2] Bruntz RC, Taylor HE, Lindsley CW, et al. Phospholipase D2 mediates survival signaling through direct regulation of Akt in glioblastoma cells[J]. J Biol Chem, 2014, 289(2): 600-616.

[3] Oshimoto H, Okamura S, Yoshida M, et al. Increased activity and expression of phospholipase D2 in human colorectal cancer[J]. Oncol Res, 2003, 14(1): 31-37.

[4] Ye Q, Kantonen S, Henkels KM, et al. A new signaling pathway (JAK-Fes-phospholipase D) that is enhanced in highly proliferative breast cancer cells[J]. J Biol Chem, 2013, 288(14): 9881-9891.

[5] Henkels KM, Mahankali M, Gomez-Cambronero J. Increased cell growth due to a new lipase-GEF(Phospholipase D2) fastly acting on Ras [J]. Cell Signal, 2013, 25(1): 198-205.

[6] Di Fulvio M1, Frondorf K, Henkels KM, et al. Phospholipase D2 (PLD2) shortens the time required for myeloid leukemic cell differentiation: mechanism of action[J]. J Biol Chem, 2012, 287(1): 393-407.

[7] Kwun HJ, Lee JH, Min DS, et al. Transcriptional repression of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 gene by phospholipase D1 and D2 [J]. FEBS Lett, 2003, 544(1-3): 38-44.

[8] Watanabe K, Bianco C, Strizzi L, et al. Growth factor induction of Cripto-1 shedding by glycosylphosphatidylinositol-phospholipase D and enhancement of endothelial cell migration[J]. J Biol Chem, 2007, 282(43): 31643-31655.

[9] Park MH, Ahn BH, Hong YK, et al. Overexpression of phospholipase D enhances matrix metalloproteinase-2 expression and glioma cell invasion via protein kinase C and protein kinase A/NF-kappaB/Sp1-mediated signaling pathways[J]. Carcinogenesis, 2009, 30(2): 356-365.

[10] Knoepp SM, Chahal MS, Xie Y, et al. Effects of active and inactive phospholipase D2 on signal transduction, adhesion, migration, invasion, and metastasis in EL4 lymphoma cells[J]. Mol Pharmacol, 2008, 74(3): 574-584.

[11] Ghim J, Moon JS, Lee CS, et al. Endothelial deletion of phospholipase D2 reduces hypoxic response and pathological angiogenesis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(8): 1697-1703.

[12] Henkels KM, Boivin GP, Dudley ES, et al. Phospholipase D(PLD) drives cell invasion, tumor growth and metastasis in a human breast cancer xenograph model[J]. Oncogene, 2013, 32(49): 5551-5562.

[13] Su W, Chen Q, Frohman MA. Targeting phospholipase D with small-molecule inhibitors as a potential therapeutic approach for cancer metastasis[J]. Future Oncol, 2009, 5(9): 1477-1486.

[14] Liu M, Du K, Fu Z, et al. Hypoxia-inducible factor 1-alpha up-regulates the expression of phospholipase D2 in colon cancer cells under hypoxic conditions[J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 394-399.

[15] Gomez-Cambronero J. Phospholipase D in cell signaling: from a myriad of cell functions to cancer growth and metastasis[J]. J Biol Chem, 2014, 289(33): 22557-22566.

[16] Zheng Y, Rodrik V, Toschi A, et al. Phospholipase D couples survival and migration signals in stress response of human cancer cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(23): 15862-15888.

（责任编辑：冉明会）