文章编号:1000-5404(2010)23-2511-04

论著

外源性 Wnt-3a 促进急性 T 淋巴细胞白血病细胞增殖与细胞周期进展

胡艳妮,徐酉华,郑改焕,罗 庆,沈亚莉 (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院血液科)

【摘要】 目的 应用重组腺病毒介导的 Wnt-3a 激活急性 T 淋巴细胞白血病细胞株 Jurkat 中的经典 Wnt/β-catenin 信号途径,观察该途径激活后对 Jurkat 细胞增殖及细胞周期的影响,初步探讨其在急性 T 淋巴细胞白血病分子发病机制中的作用。方法 将携带 Wnt-3a 基因的重组腺病毒(Ad5-Wnt-3a)感染 Jurkat 细胞,实验分为 3 组:实验组(Jurkat/Ad5-Wnt-3a)、空载体组(Jurkat/Ad5-GFP)和空白对照组(Jurkat)。转染后,采用 RT-PCR 方法检测 Jurkat 细胞内 Wnt-3a mRNA 的表达;Western blot 检测细胞内 β-catenin 蛋白的表达;MTT 法检测细胞增殖,FCM 法检测细胞周期,RT-PCR 检测 Wnt 信号通路下游靶基因 c-myc 和 cyclin D1 mRNA 表达。结果 重组腺病毒 Ad5-Wnt-3a 转染 Jurkat 细胞后 48 h,实验组有效表达 Wnt-3a 的基因。Western blot 结果显示,与对照组比较,实验组细胞内 β-catenin 蛋白表达明显增加($P<0.05$)。MTT 结果显示,Wnt-3a 转染后 48 h 和 72 h 可明显促进 Jurkat 细胞的增殖,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。FCM 检测发现,Wnt-3a 转染后可引起细胞 G_0/G_1 期下降,S 期升高($P<0.05$)。RT-PCR 检测结果显示细胞内 c-myc 和 cyclin D1 mRNA 表达升高,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 腺病毒介导的 Wnt-3a 可以激活 Jurkat 细胞中的经典 Wnt/β-catenin 信号途径,使 Jurkat 细胞增殖,促进细胞周期进展,其可能的机制是通过调控其下游靶基因 c-myc 和 cyclin D1 的表达实现。

【关键词】 经典 Wnt/β-catenin 信号途径;急性 T 淋巴细胞白血病;细胞增殖;细胞周期
【中图法分类号】 R394.3;R730.23;R733.71 【文献标志码】 A

Exogenous Wnt-3a promotes proliferation and cell cycle progression of T-lineage acute lymphoblastic leukemia cells

Hu Yanni, Xu Youhua, Zheng Gaihuan, Luo Qing, Shen Yali (Department of Hematology, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

【Abstract】 Objective To study the canonical Wnt/β-catenin signaling of activated Wnt-3a T-lineage acute lymphocytic leukemia cell line Jurkat with recombinant adenovirus vector, observe its effect on proliferation and cell cycle progression of Jurkat cells, and investigate its cellular mechanism underlying acute lymphocytic leukemia. Methods Jurkat cells, infected with recombinant adenovirus carrying the Wnt-3a gene were divided into experimental group (Jurkat/Ad5-Wnt-3a), empty vector group (Jurkat/Ad5-GFP), and blank control group (Jurkat). Wnt-3a mRNA expression in Jurkat cells was detected by RT-PCR. β-catenin protein level was measured by Western blotting. Proliferation of Jurkat cells was detected by MTT assay. Progression of Jurkat cell cycle was detected by flow cytometry (FCM). c-myc and cyclin D1 mRNA expression was detected by RT-PCR. Results Wnt-3a was effectively expressed in Jurkat cells 48 h after transfection with recombinant adenovirus vector. Western blotting showed that the β-catenin protein level was significantly higher in experimental group than in blank control group ($P<0.05$). MTT assay showed that the proliferation level of Jurkat cells was markedly higher in experimental group than in blank control group 48 and 72 h after transfection with Ad5-Wnt-3a ($P<0.05$). FCM showed that the number of Jurkat cells at G_0/G_1 phase was decreased and those at S phase was increased. RT-PCR showed that c-myc and cyclin D1 mRNA expressions were significantly higher in experimental group than in blank control group ($P<0.05$). Conclusion Recombinant adenovirus vector-mediated Wnt-3a activates the canonical Wnt/β-catenin signaling in Jurkat cells and promotes their proliferation and cell cycle progression by down-regulating the expressions of c-myc and cyclin D1.

【Key words】 canonical Wnt/β-catenin signaling pathway; T-lineage acute lymphocyte leukemia; cell proliferation; cell cycle

Corresponding author: Xu Youhua, Tel: 86-23-63638834, E-mail: xuyouhua0504@sina.com

【通信作者】 徐酉华,电话:(023)63638834,E-mail:xuyouhua0504@sina.com

急性淋巴细胞白血病(acute lymphocyte leukemia, ALL)是儿童最常见的恶性肿瘤。ALL细胞恶性增殖促使疾病进展迅速。Wnt信号途径是调控细胞生长增殖的关键途径之一,目前研究最多的是经典的Wnt/β-catenin信号途径。近年来的研究表明,经典Wnt信号通路在造血干/祖细胞的自我更新与增殖以及淋巴细胞的发育中发挥着至关重要的作用[1-3]。由此推测,Wnt/β-catenin信号途径的异常可能是白血病的发生机制之一。以往研究均提示该信号通路活化在淋巴细胞白血病中具有潜在的致癌作用[4-6]。然而,在不同的细胞和组织背景下,Wnt信号网络的调控机制有不同。Nygren等[7]报道称激活的Wnt/β-catenin可抑制B系ALL细胞的增殖。但是该信号通路在T-ALL白血病中具体作用机制的研究甚少。

Wnt/β-catenin信号通路参与对造血干/祖细胞生长和自我更新的调控,以及其在淋巴细胞肿瘤中的致癌/抑癌作用,促使我们探讨经典Wnt/β-catenin信号的激活在急性T系淋巴细胞白血病发病中的具体分子机制。因此,本研究拟以Wnt-3a蛋白激活急性T淋巴细胞性白血病Jurkat细胞中的经典Wnt/β-catenin信号途径,研究Wnt信号激活后对白血病细胞增殖和周期的影响,通过检测Wnt/β-catenin信号下游靶基因的变化,进一步探讨其产生影响的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 重组腺病毒载体和细胞株 表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)并携带Wnt-3a基因的重组腺病毒Ad5-Wnt-3a和表达GFP的空载体重组腺病毒Ad5-GFP由美国芝加哥大学分子肿瘤研究室何通川教授惠赠[8]。人急性T淋巴细胞性白血病细胞株Jurkat由本实验室保存。

1.1.2 实验试剂 细胞总RNA提取试剂盒、PCR试剂盒购自天根生化科技有限公司,逆转录试剂盒为TaKaRa公司产品,PCR引物由上海英俊公司合成;优质胎牛血清为Gibco公司产品;细胞总蛋白提取试剂盒、BCA法蛋白检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司;兔抗人β-catenin单克隆抗体购于美国Epitomics公司,兔抗人β-actin多克隆抗体购于美国Santa Cruz公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔IgG购自北京中杉公司;蛋白分子量标准购自美国MBI Fermentas公司;化学发光试剂盒购自美国Santa Cruz公司;MTT为美国Sigma公司产品。

1.2 方法

1.2.1 重组腺病毒转染Jurkat细胞 人白血病细胞株Jurkat用含10%胎牛血清的RPMI1640培养液,置于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养。转染细胞分为2组:Ad5-Wnt-3a转染组(Jurkat/Ad5-Wnt-3a)和空载体组(Jurkat/Ad5-GFP)。未转染的Jurkat细胞作为空白对照组。取对数生长期细胞,以1×10^5/ml的细胞密度接种Jurkat细胞于6孔培养板,新鲜无血清培养基培养24 h后,再根据腺病毒最佳感染复数感染Jurkat细胞,此时更换为含血清的完全培养基。转染48 h后在荧光显微镜下观察细胞绿色荧光的表达,并用流式细胞仪定量检测细胞转染率。

1.2.2 转染后Jurkat细胞中Wnt-3a mRNA的表达 RT-PCR方法检测转染腺病毒后Jurkat细胞中Wnt-3a基因的表达。按照试剂盒说明,提取细胞总RNA并测定RNA浓度,合成cDNA,取2 μl用于PCR反应体系。Wnt-3a引物:上游5′-AAGCAGGCTCTGGGCAGCTA-3′,下游5′-GACGGTGGTGCAGTTCCA-3′(扩增片段为234 bp);内参GAPDH引物:上游5′-CAGCGACACCCACTCCTC-3′,下游5′-TGAGGTCCACCACCCTGT-3′(扩增片段为122 bp)。PCR扩增条件:94 ℃ 4 min;94 ℃ 30 s,58 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,35个循环;72 ℃ 5 min。扩增产物经过琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统照相分析结果。

1.2.3 Western blot检测Jurkat细胞中β-catenin蛋白的表达 提取各组Jurkat细胞总蛋白,BCA法进行蛋白定量检测。取30 μg总蛋白进行10% SDS-PAGE分离蛋白,转膜。封闭90 min、洗膜后分别与兔抗人β-catenin单克隆抗体(1∶10 000)、兔抗人β-actin多克隆抗体(1∶2 000)4 ℃孵育过夜,洗膜后加入HRP标记的羊抗兔IgG(1∶5 000)。室温孵育2 h。按照ECL发光试剂盒说明书进行化学发光显色。β-catenin蛋白相对含量以β-catenin蛋白条带灰度值与β-actin条带灰度值的比值表示。

1.2.4 MTT检测细胞增殖 将各组单细胞悬液按1×10^5/ml接种至96孔板,200 μl/孔,每组设5个平行孔,以含5%胎牛血清的培养基分别培养0、24、48、72 h后,每孔加入MTT液20 μl,继续培养4 h,2 000 r/min离心10 min,弃去上清液,每孔加入150 μl DMSO终止反应,振荡10 min,在酶联免疫检测仪上测定490 nm波长处各孔的光密度值[D(490)]。实验重复3次。

1.2.5 PI单染FCM法检测细胞周期 将各组细胞分别培养48、72 h后,离心收集细胞。PBS洗涤2次,70%预冷乙醇4 ℃固定过夜。PBS洗涤细胞2次,细胞重悬于50 μl/ml PI染液,37 ℃避光培育30 min。流式细胞仪分析细胞DNA含量分布,计算G_0/G_1期、S期及G_2/M期细胞比例。

1.2.6 RT-PCR检测c-myc和cyclin D1 mRNA表达 转染后48 h收集各组细胞,提取细胞总RNA用于RT-PCR检测。c-myc引物:上游5′-GCAGCTGCTTAGACGCTGGA-3′,下游5′-AGAAGGATATGACCGCAACG-3′(扩增片段为300 bp);cyclin D1引物:上游5′-CCCTCGGTGTCCTACTTCAAA-3′,下游5′-CACCTCCTCCTCCTCCTCTTC-3′(扩增片段为726 bp);内参GAPDH引物:上游5′-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3′,下游5′-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3′(扩增片段为439 bp)。PCR扩增条件:94 ℃ 4 min;94 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,35个循环;72 ℃ 5 min。扩增产物经过琼脂糖凝胶电泳,紫外投射仪观察结果。

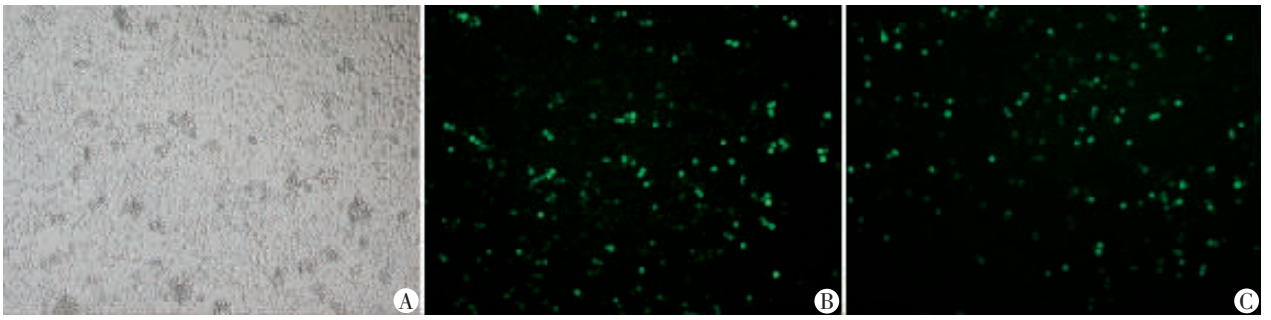
1.3 统计学处理

使用SPSS 13.0统计软件进行分析,数据以$\bar{x}\pm s$表示,均数比较采用单因素方差分析及LSD-t检验。

2 结果

2.1 重组腺病毒转染Jurkat细胞及其转染效率

在荧光显微镜下,Jurkat细胞转染重组腺病毒48 h后可观察到转染组细胞发出明亮的绿色荧光,如图1。在最佳感染复数MOI=60时,细胞形态规整,未见明显病毒空泡,细胞生长未受到明显影响。FCM检测结果显示,Jurkat/Ad5-GFP组的转染效率为(45.37±3.48)%,Jurkat/Ad5-Wnt-3a组的转染效率为(42.54±1.63)%。

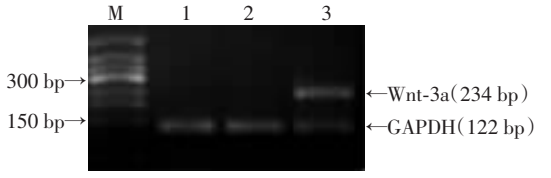


A:Jurkat 组;B:Jurkat/Ad5-GFP 转染组;C:Jurkat/Ad5-Wnt-3a 转染组

图 1 荧光显微镜下观察各组细胞感染腺病毒情况 (×100)

2.2 RT-PCR 检测 Jurkat 细胞中 Wnt-3a mRNA 的表达

结果显示,转染后 48 h,Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组细胞在 234 bp 处可见特异性的 Wnt-3a mRNA 表达条带,而对照组和 Jurkat/Ad5-GFP 组均未见其表达,表明重组腺病毒转染 Jurkat 细胞成功表达 Wnt-3a 基因(图 2)。

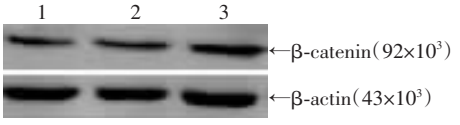


M:标准;1:Jurkat 细胞;2:Jurkat/Ad5-GFP 转染组;3:Jurkat/Ad5-Wnt-3a 转染组

图 2 RT-PCR 检测转染后 Jurkat 细胞中 Wnt-3a mRNA 的表达

2.3 转染后 Jurkat 细胞中 β-catenin 蛋白的表达

Western blot 结果显示,Jurkat/Ad5-Wnt-3a 转染组细胞中 β-catenin 蛋白相对表达量为(0.76 ± 0.04),与 Jurkat/Ad5-GFP 转染组(0.32 ± 0.01)、空白对照组(0.30 ± 0.02)相比明显升高($P < 0.01$)。说明转染 Wnt-3a 基因后,Jurkat 细胞中 β-catenin 活化而激活经典的 Wnt/β-catenin 通路。见图 3。



1:Jurkat 细胞;2:Jurkat/Ad5-GFP 转染组;3:Jurkat/Ad5-Wnt-3a 转染组

图 3 Western blot 检测转染后 Jurkat 细胞内 β-catenin 蛋白的表达

2.4 MTT 检测转染后各组细胞增殖情况

MTT 法结果显示,Wnt-3a 转染后 48 h 和 72 h 可明显促进 Jurkat 细胞的增殖,与 Jurkat/Ad5-GFP 转染组及空白对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),空载体组与空白对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同转染时间各组 Jurkat 细胞增殖情况比较($n = 5, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h
Jurkat 组	0.13 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.52 ± 0.01[a]	0.71 ± 0.03[a]
Jurkat/Ad5-GFP 组	0.14 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.53 ± 0.01[a]	0.72 ± 0.01[a]
Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组	0.12 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.63 ± 0.03	0.80 ± 0.04

a:$P < 0.05$,与 Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组比较

2.5 Ad5-Wnt-3a 转染后 Jurkat 细胞周期变化

PI 单染 FCM 检测结果显示,Wnt-3a 转染后可以促使 Jurkat 细胞由 G_0/G_1 期进入 S 期。转染后 48、72 h,Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组 G_0/G_1 期的细胞百分比与 Jurkat/Ad5-GFP 空载体组和空白对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$);S 期的细胞百分比与 Jurkat/Ad5-GFP 空载体组和空白对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

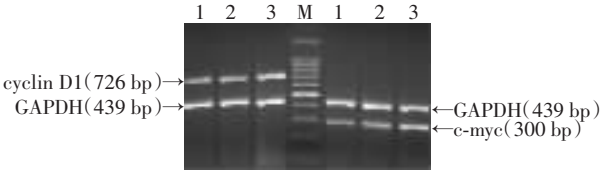
表 2 转染 Wnt-3a 后对各组 Jurkat 细胞周期的影响(%, $n = 5, \bar{x} \pm s$)

组别	48 h			72 h		
	G_0/G_1	S	G_2/M	G_0/G_1	S	G_2/M
Jurkat 组	34.89 ± 0.30[b]	50.47 ± 0.18[a]	14.65 ± 0.37	32.90 ± 0.41[b]	55.01 ± 0.46[a]	12.09 ± 0.22
Jurkat/Ad5-GFP 组	34.55 ± 0.17[b]	50.35 ± 0.12[a]	15.10 ± 0.24	32.46 ± 0.30[b]	54.50 ± 0.15[a]	12.65 ± 0.31
Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组	30.68 ± 0.17	54.70 ± 0.15	14.62 ± 0.20	28.88 ± 0.45	58.09 ± 0.39	13.04 ± 0.14

a:$P < 0.05$,b:$P < 0.01$,与 Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组比较

2.6 Wnt/β-catenin 信号途径激活后 cyclin D1 和 c-myc mRNA 表达的变化

RT-PCR 结果显示,Jurkat/Ad5-GFP 转染组与空白对照组间的 cyclin D1(0.57 ± 0.03,0.51 ± 0.02)、c-myc(0.63 ± 0.04,0.62 ± 0.02)基因表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组相比,Jurkat/Ad5-Wnt-3a 组细胞 cyclin D1(0.75 ± 0.03)和 c-myc(0.76 ± 0.04)mRNA 表达均明显增加($P < 0.05$,图 4)。



M:标准;1:Jurkat 细胞组;2:Jurkat/Ad5-GFP 转染组;3:Jurkat/Ad5-Wnt-3a 转染组

图 4 RT-PCR 检测各组细胞内 cyclin D1 和 c-myc mRNA 的表达

3 讨论

Wnt 信号通路是一条进化保守的信号转导通路。目前已知有 19 种 Wnt 蛋白,其中激活经典通路的有 Wnt-1、Wnt-3a 和 Wnt-8 等。Wnt 蛋白作为造血干细胞生长因子,激活 Wnt/β-catenin 信号后在其自我更新与增殖中发挥着重要作用[1,9]。但是,Wnt 信号的紊乱亦可使严格调控下的干/祖细胞自我更新能力失控而恶变,导致肿瘤发生[10]。研究发现在急性髓细胞白血病

及B-ALL细胞中Wnt/β-catenin信号途径均可被激活[11,12]。由此可见经典的Wnt/β-catenin信号途径在正常造血与白血病发生中均扮演着重要的角色。但是,经典的Wnt/β-catenin信号途径在T系ALL中的作用目前研究较少,Wnt信号组分在T-ALL中表达升高的潜在原因仍不清楚。

近年来研究表明,外源性Wnt-3a可在体内外激活Wnt/β-catenin信号途径[9,13]。因此,我们选择Wnt-3a作为经典Wnt蛋白家族的代表,以不表达Wnt-3a的人急性T淋巴细胞性白血病细胞株Jurkat作为细胞模型,通过转染携带Wnt-3a的重组腺病毒,使其表达具有生物学活性的Wnt-3a蛋白,以激活Jurkat细胞中经典的Wnt/β-catenin信号途径,研究该通路激活后对T-ALL细胞增殖和细胞周期的影响。

我们的研究表明:①重组腺病毒Ad5-Wnt-3a转染Jurkat细胞的转染效率达到(42.54±1.63)%,经RT-PCR检测可见Wnt-3a基因的特异性表达,表明重组腺病毒介导的Wnt-3a在Jurkat细胞中有效表达;②Western blot结果显示Ad5-Wnt-3a转染Jurkat细胞后,β-catenin蛋白的相对表达量明显升高,提示Wnt-3a有效激活经典的Wnt/β-catenin信号途径。β-catenin在经典的Wnt信号通路中扮演着极其重要的作用,是整条通路的关键枢纽分子,它的活化被认为是该信号通路被激活后行使功能的标志。

在此基础上,我们进行功能分析发现Jurkat细胞中Wnt/β-catenin信号途径激活后,可促使细胞由G_0/G_1期进入S期,增殖加快。然而,Nygren等[7]研究发现Wnt-3a刺激B-ALL细胞后经典的Wnt信号活化,功能分析却表明,Wnt-3a抑制B-ALL细胞株增殖,且对细胞生存没有影响。我们推测,这一现象可能主要与不同的细胞系有关。由于不同的细胞系具有不同的遗传学背景,因此对Wnt信号的应答迥异。

cyclin D1是细胞周期调节的正性调控因子;c-myc基因作为原癌基因,参与细胞增殖和细胞凋亡的调控。有研究发现在脐血$CD34^+$细胞中β-catenin活性上调后,cyclin D1和c-myc表达改变[14],提示这2个基因是Wnt/β-catenin信号潜在的下游靶基因。本研究发现,Jurkat/Ad5-Wnt-3a转染组细胞中的cyclin D1和c-myc mRNA表达水平均明显升高。据此推测,Wnt-3a刺激后Jurkat细胞周期进展和增殖加速可能是通过Wnt信号途径激活后上调其下游靶基因cyclin D1和c-myc实现的。

综上所述,外源性Wnt蛋白刺激Jurkat后激活细胞内经典的Wnt/β-catenin信号途径,并通过上调cyclin D1和c-myc的表达促进细胞的增殖和周期进展。这些结果表明经典Wnt/β-catenin信号途径在T-ALL细胞的生长调控中发挥着重要的作用。因此,阻断Wnt/β-catenin信号转导可能成为T-ALL白血病靶向治疗的又一重要策略,这也是目前我们正在研究的方向,以进一步完善该信号通路在白血病具体分子发病机制方面的作用研究。

参考文献:

[1] Reya T, Duncan A, Ailles L, *et al*. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells[J]. Nature, 2003, 423(6938): 409-414.

[2] 朱丹, 谢鹏, 康权, 等. 基因芯片分析Wnt刺激后小鼠多潜能分化干细胞C3H10T1/2的差异基因表达[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(17): 1604-1606.

[3] Staal F J, Sen J M. The canonical Wnt signaling pathway plays an important role in lymphopoiesis and hematopoiesis[J]. Eur J Immunol, 2008, 38(7): 1788-1794.

[4] Staal F J, Clevers H C. WNT signalling and haematopoiesis: a WNT-WNT situation[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(1): 21-30.

[5] Mazieres J, You L, He B, *et al*. Inhibition of Wnt16 in human acute lymphoblastoid leukemia cells containing the t(1;19) translocation induces apoptosis[J]. Oncogene, 2005, 24(34): 5396-5400.

[6] Lu D, Zhao Y, Tawatao R, *et al*. Activation of the Wnt signaling pathway in chronic lymphocytic leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(9): 3118-3123.

[7] Nygren M K, Dosen G, Hystad M E, *et al*. Wnt3A activates canonical Wnt signalling in acute lymphoblastic leukaemia (ALL) cells and inhibits the proliferation of B-ALL cell lines[J]. Br J Haematol, 2007, 136(3): 400-413.

[8] Si W, Kang Q, Luu H H, *et al*. CCN1/Cyr61 is regulated by the canonical Wnt signal and plays an important role in Wnt3A-induced osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells[J]. Mol Cell Biol, 2006, 26(8): 2955-2964.

[9] Willert K, Brown J D, Danenberg E, *et al*. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors[J]. Nature, 2003, 423(6938): 448-452.

[10] Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer[J]. Nature, 2005, 434(7035): 843-850.

[11] Ysebaert L, Chicanne G, Demur C, *et al*. Expression of beta-catenin by acute myeloid leukemia cells predicts enhanced clonogenic capacities and poor prognosis[J]. Leukemia, 2006, 20(7): 1211-1216.

[12] Khan N I, Bradstock K F, Bendall L J. Activation of Wnt/beta-catenin pathway mediates growth and survival in B-cell progenitor acute lymphoblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2007, 138(3): 338-348.

[13] 师伟, 韩姝, 李艳华, 等. Wnt3a转基因基质细胞的建立及其对脐血$CD34^+$造血干/祖细胞扩增作用的研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32(9): 835-841.

[14] Holmes T, O'Brien T A, Knight R, *et al*. The role of glycogen synthase kinase-3beta in normal haematopoiesis, angiogenesis and leukaemia[J]. Curr Med Chem, 2008, 15(15): 1493-1499.

(收稿:2010-07-07 修回:2010-09-21)

(编辑 邓强庭)