

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.003

## P2X 家族受体在急性 T 淋巴细胞白血病小鼠中表达的特点

种靖慧, 田晨, 师迎旭, 王金宏, 林永敏, 许静, 吴克复, 郑国光 (中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所血液病医院实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

[摘要] 目的: 探讨不同 P2X 家族受体在小鼠急性 T 淋巴细胞白血病发展中的表达变化规律。方法: 制备 Notch1 过表达小鼠 GFP<sup>+</sup>T 细胞急性淋巴细胞白血病移植模型, 流式术分选 CD45.2<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup> 白血病细胞, 实时定量 PCR 检测 P2X 受体家族的表达变化, 荧光分光光度计检测 P2X7 受体介导的钙离子浓度的变化。结果: 对照组和白血病组小鼠骨髓细胞表达除 P2X5 外的其他 6 种 P2X 家族受体。Notch1 过表达导致的小鼠白血病发展过程中, P2X7 的表达水平逐渐升高, P2X1 和 P2X3 的表达水平逐渐降低, 而 P2X2、P2X4 和 P2X6 表达水平没有显著变化; 分选后的 CD45.2<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup> 白血病细胞中, P2X 家族受体的表达呈现相同的规律。对照组和白血病组小鼠骨髓细胞中 P2X7 受体在激动剂苯甲酰-苯甲酸 ATP (BzATP) 的刺激下都能介导细胞内钙离子浓度升高, 但白血病组小鼠骨髓细胞内钙离子处于持续高浓度状态, 而对照组小鼠细胞内钙离子浓度短暂升高后逐渐下降; P2X7 介导的这种钙离子反应可被其特异的拮抗剂 KN62 所阻断。结论: P2X 受体家族中 P2X1、P2X3 和 P2X7 的表达变化与小鼠急性 T 淋巴细胞白血病的发展相关, 提示其介导的细胞间通讯可能在白血病发展中发挥重要作用。

[关键词] P2X 家族受体; P2X7 受体; Notch1; 急性 T 淋巴细胞白血病

[文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2010)02-0128-06

## Expression features of P2X family receptors in acute T lymphoblastic leukemia mouse model

CHONG Jing-hui, TIAN Chen, SHI Ying-xu, WANG Jin-hong, LIN Yong-min, XU Jing, WU Ke-fu, ZHENG Guo-guang (State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression features of P2X family receptors during the development and progression of murine acute T lymphoblastic leukemia. **Methods:** A Notch1 over-expressing murine T cell induced-acute lymphoblastic leukemia model was prepared. CD45.2<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup> leukemia cells were sorted by flow cytometry. The expressions of P2X family receptors were determined by real-time PCR. P2X7 receptor-mediated intracellular Ca<sup>2+</sup> change was measured by fluorescent spectrophotometer. **Results:** Mouse bone marrow cells (BMNCs) of both control and leukemia mice expressed all P2X receptors except for P2X5. P2X7 receptor expression increased gradually during the induction of T lymphoblastic leukemia; P2X1 and P2X3 receptors decreased; and P2X2, P2X4 and P2X6 receptors had no detectable changes. Similar expression patterns were observed in sorted CD45.2<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup> leukemia cells. P2X7 receptor-mediated calcium response was detected in BMNCs from both leukemia and control mice; and the response could be blocked by its specific antagonist KN62. However, the calcium response showed different patterns: it sustained an increase in leukemia group, whereas gradually decreased after reaching peak in the control group. **Conclusion:** P2X1, P2X3 and P2X7 receptor expressions are related to the development and progression of murine acute T lymphoblastic leukemia, suggesting that intercellular communications mediated by these receptors may play important roles in leukemia.

[Key words] P2X family receptors; P2X7 receptor; Notch1; acute T lymphoblastic leukemia

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 128-133]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30570770);天津市自然科学基金资助项目(No. 06YFJMJC15700)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30570770), and the Natural Science Foundation of Tianjin (No. 06YFJMJC15700)

[作者简介] 种靖慧(1982-),女,河北省保定市人,博士研究生,主要从事血液肿瘤细胞生物学和病理生理学方面研究。E-mail: chongjinghui022@yahoo.com.cn

[通信作者] 郑国光(ZHENG Guo-guang, corresponding author), E-mail: zhenggtjchn@yahoo.com.cn

核苷酸类物质是继蛋白、酯类后发现的新型细胞间通讯的载体,可结合细胞表面的 P2 嘌呤受体(P2 purinergic receptors),调节细胞的功能<sup>[1]</sup>。P2X 受体(P2X purinergic receptors)是其一个亚家族,为配体门控的离子通道,活化后引起阳离子通透性发生改变<sup>[2]</sup>。P2X 家族受体在哺乳动物表达的 7 个不同的亚型(P2X1 ~ P2X7)广泛分布于各个组织和器官<sup>[3]</sup>,参与多种生理和病理过程<sup>[4]</sup>。P2X7 受体的异常表达与人类白血病、骨髓增生异常综合征等相关<sup>[5-6]</sup>,而 P2X 家族受体在白血病发病过程中的表达规律尚未阐明。Notch 信号通路在细胞增殖、分化及凋亡中有重要作用,可调节 T 淋巴细胞的分化和表型<sup>[7-8]</sup>、造血干细胞的自我更新<sup>[9-10]</sup>;其异常表达与活化与多种实体肿瘤<sup>[11-12]</sup>及人类 T 淋巴细胞白血病相关<sup>[13-14]</sup>,造血干、祖细胞过表达 Notch1 胞内段(ICN1)可诱导小鼠 T 细胞白血病的发生<sup>[15]</sup>。本课题探讨 P2X 家族受体在 Notch1 过表达导致的急性 T 淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)小鼠模型中的表达变化规律,为深入研究嘌呤受体介导的信号转导在白血病发生、发展中的作用奠定分子基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

C57BL/6J 和 B6. SJL 小鼠购自中国医学科学院血液学研究所实验动物中心,合格证号为 SYXK(津)2004-0002。TRIzol 试剂和 M-MLV 逆转录酶试剂购自 Invitrogen 公司,SYBR Premix Ex Taq 试剂盒购自 TaKaRa 公司。PE 标记的抗小鼠 CD45.2 抗体购自 eBioscience 公司,苯甲酰-苯甲酸 ATP(BzATP)和 1-[N,O-二(5-异噁唑啉磺酰基)N-甲基-L-酪氨酸]-4-苯哌嗪(KN62)购自 Sigma 公司。

### 1.2 小鼠 T-ALL 移植模型的构建

Notch1 异常活化(过表达 Notch1 胞内段,即 ICN1)可导致 T 细胞白血病的发生。本课题前期已建立了逆转录病毒 MSCV-ICN1-IRES-GFP 感染的 Lin-Sca-1<sup>+</sup> 细胞接种制备的小鼠 T-ALL 模型<sup>[15]</sup>。此模型为可移植白血病模型,将发病小鼠分离的白血病细胞(GFP<sup>+</sup>)通过尾静脉移植到半致死剂量(6 Gy)照射的 C57BL/6J 小鼠,可使受体鼠(GFP<sup>-</sup>)100%发病,并于 14 d 左右死亡。本课题在此基础上建立小鼠 T-ALL 移植模型:将照射后 C57BL/6J 受体小鼠分为白血病组和对照组,白血病组移植  $1 \times 10^6$  个 GFP<sup>+</sup> 白血病细胞(来自 C57BL/6J 小鼠,CD45.2<sup>+</sup>)和  $1 \times 10^7$  个正常骨髓有核细胞(bone

marrow nucleated cells, BMNCs, 来自 B6. SJL 小鼠,CD45.1<sup>+</sup>);对照组小鼠移植  $1 \times 10^8$  个 C57BL/6J 小鼠 BMNCs 和  $1 \times 10^7$  个 B6. SJL 小鼠 BMNCs。

### 1.3 骨髓有核细胞的分离和 CD45.2<sup>+</sup> 细胞的分选

分别在移植后第 5、7、10、12、14 天处死小鼠,剥离股骨、胫骨和肱骨等,冲洗得到 BMNCs。荧光显微镜下检测绿色荧光蛋白的表达百分率。将移植后第 14 天白血病和对照组小鼠获得的 BMNCs 标记 PE-CD45.2 抗体,流式细胞仪分选白血病组小鼠 GFP<sup>+</sup>/CD45.2<sup>+</sup> 细胞和对照组小鼠 GFP<sup>-</sup>/CD45.2<sup>+</sup> 细胞。

### 1.4 实时定量 PCR 检测 P2X 受体 mRNA 的表达

按 TRIzol 说明书提取细胞总 RNA,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。用 M-MLV 反转录酶将 1  $\mu$ g 总 RNA 反转录为 cDNA,保存于 -80  $^{\circ}$ C 待用。使用 ABI 7500 PCR 仪,以甘油醛三磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,实时定量 PCR 检测 P2X 受体 mRNA 的表达。PCR 包括 40 个循环(95  $^{\circ}$ C, 5 s; 62  $^{\circ}$ C, 40 s),每次设立 3 个复孔。小鼠特异性 P2X 引物见表 1。采用  $\Delta\Delta Ct$  法分析基因的表达水平<sup>[16]</sup>,即  $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ ;  $\Delta\Delta Ct = (Ct_{P2X} - Ct_{GAPDH})_{\text{样品}} - (Ct_{P2X} - Ct_{GAPDH})_{\text{校正样品}}$ 。每次实验包括以水为模板的阴性对照。

### 1.5 荧光光度法检测 P2X7 受体介导钙离子的内流

移植后第 14 天处死白血病小鼠和对照小鼠,剥离骨骼冲取骨髓细胞,PBS 洗 3 次。参照参考文献[17]用荧光分光光度计检测两组小鼠骨髓细胞内钙离子浓度。 $5 \times 10^6$  个细胞悬浮于 1 ml 洛氏溶液,加 3  $\mu$ mol/L 的 Fura-2/AM,37  $^{\circ}$ C 避光标记 30 min,洗涤后重悬细胞至  $1 \times 10^6$  个/ml。测定前 37  $^{\circ}$ C 平衡 5 min,然后加 2 ml 细胞至比色杯,用荧光分光光度计(日立,F-4500)在激发光栅 5 nm、发射光栅 10 nm、激发光波长 340 nm/380 nm、发射光波长 500 nm 的条件下,测定静息状态及加入 100  $\mu$ mol/L BzATP 后的荧光强度。加入 Triton X-100 获得最大荧光值,加过量 EGTA 获得最小荧光值。在阻断实验中,P2X7 受体拮抗剂 KN62 预先与细胞孵育 0.5 h 后再进行钙离子  $[Ca^{2+}]_i$  的分析。 $[Ca^{2+}]_i$  计算公式: $[Ca^{2+}]_i = Kd \times (S_{22}/S_{32} \times R - R_{\min}) / (R_{\max} - R)$ ,单位是 nmol/L。其中 Kd 为 Ca<sup>2+</sup> 与 Fura-2/AM 结合的解离常数(224 nmol/L),R、R<sub>max</sub> 和 R<sub>min</sub> 分别为测得的  $\lambda_{340}$  和  $\lambda_{380}$  的荧光比值、最大荧光比值和最小荧光比值,S<sub>22</sub> 和 S<sub>32</sub> 分别为零 Ca<sup>2+</sup> 和饱和 Ca<sup>2+</sup> 时  $\lambda_{380}$  激发光产生的荧光强度。最后用荧光分光光度计自带软件处理数据并作图。

1.6 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 10.0 统计软件,双

尾  $t$  检验用于两组独立样本之间差异的比较。 $P < 0.05$  时认为差异具有统计学意义。

表 1 实时定量 PCR 引物序列  
Tab.1 Primer sequences of real-time PCR

Gene	Primer sequence	Product( bp )	Genebank accession
GAPDH	Forward 5'- CACTTGAAGGGTGGAGC-3'	145	NM_008084
	Reverse 5'- GGGCTAAGCAGTTGGTG-3'		
P2X1	Forward 5'-CCAGGCTTCAACTTCAGA-3'	148	NM_008771
	Reverse 5'-CGATGGTAGTCATAGTAGGGAT-3'		
P2X2	Forward 5'- TGGAAGTGTGACCTGGACT -3'	136	NM_153400
	Reverse 5'- TGGTGCCGTTTATCTTGTA -3'		
P2X3	Forward 5'- TCACCGACAAGGACATAAA -3'	156	NM_145526
	Reverse 5'- ACACCCAGCCGATCTTA -3'		
P2X4	Forward 5'- CTCATCCGAGCCGTAA -3'	120	NM_011026
	Reverse 5'- GACCACAGAGTCCGTTTCC -3'		
P2X5	Forward 5'- ACTGGTCGCTGTCTACGG -3'	182	NM_033321
	Reverse 5'- AGCACATTGGCTTTGGAG -3'		
P2X6	Forward 5'- CAACTTCAGGACAGCCAATC -3'	199	NM_011028
	Reverse 5'- CAGTAGCAGCAGGTCACAGA -3'		
P2X7	Forward 5'- ACAACTATACCACGAGAAACAT -3'	152	NM_011027
	Reverse 5'- GATTCCTCCCTGAAGTGC -3'		

2 结果

2.1 T-ALL 小鼠模型发病过程中 P2X 家族受体表达的特点

P2X 家族受体表达分析表明,无论白血病组还是对照组小鼠骨髓细胞中都可检测到除 P2X5 外其他 P2X 家族受体。其扩增曲线和融解曲线说明引物具有很好的特异性,将扩增产物进行 DNA 测序分析进一步证实了扩增的特异性。

移植后第 5 天白血病组小鼠骨髓细胞中可检出白血病患者细胞,从第 7 天到第 14 天,骨髓细胞中白血病患者细胞的比例逐渐上升,最后达到 90% 以上。在此过程中,P2X7 受体的表达随着白血病的发展逐渐增加,与正常对照组比较,到第 14 天其表达水平增加到 4 倍多。而 P2X1 和 P2X3 表达水平显著下降,除 P2X2 受体在第 10 天表达略有下降但随后又恢复外,P2X2、P2X4 和 P2X6 在整个发病过程中未发现非常显著的变化(图 1)。

2.2 T-ALL 小鼠模型中骨髓 CD45. 2<sup>+</sup> GFP<sup>+</sup> 白血

病细胞 P2X 家族受体表达的规律

实验分选了移植后第 14 天的 CD45. 2<sup>+</sup> GFP<sup>+</sup> 白血病患者细胞和 CD45. 2<sup>+</sup> GFP<sup>-</sup> 对照细胞,发现白血病患者细胞 P2X7 受体表达水平显著高于对照细胞,P2X1 和 P2X3 的表达水平降低,P2X2、P2X4 和 P2X6 没有显著的变化(图 2)。这一结论与未分选小鼠 BMNCs 的表达情况一致。

2.3 T-ALL 小鼠 BMNCs P2X7 受体介导细胞内持续高钙状态

BzATP 是 P2X7 受体特异的和最强的激动剂,在其常规浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  的刺激下,P2X7 可介导细胞内钙离子浓度的升高。实验用 BzATP 作用于移植后第 14 天的白血病患者小鼠和对照组小鼠的骨髓细胞,从功能水平证实 P2X7 受体的表达。实验结果显示,在 100  $\mu\text{mol/L}$  BzATP 刺激下,第 14 天的白血病患者小鼠和对照小鼠骨髓细胞都有钙离子浓度的升高,但其变化趋势略有不同,其中白血病患者小鼠骨髓细胞内钙离子处于持续高浓度状态,而对照组小鼠细胞内钙离子短暂升高后逐渐下降。P2X7 受体介导的这种钙反应

可被其特异的拮抗剂 KN62 所阻断(图 3)。

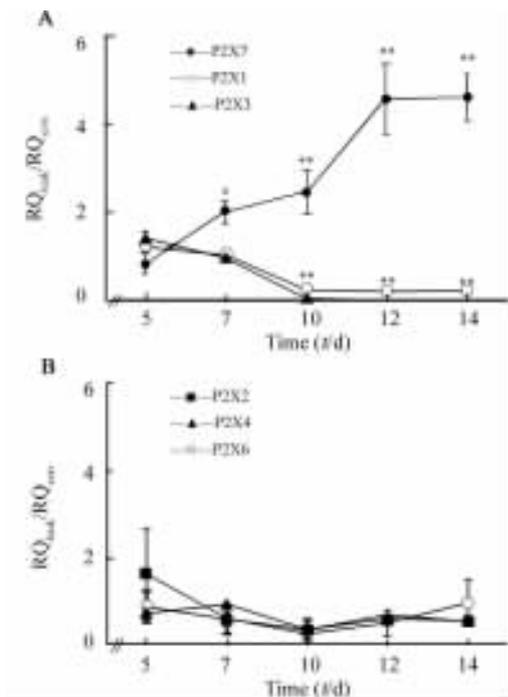


图 1 T-ALL 小鼠模型骨髓有核细胞中 P2X 受体的表达

Fig. 1 Expressions of P2X receptors on BMNCs in T-ALL mouse model

A: P2X1, P2X3 and P2X7; B: P2X2, P2X4 and P2X6

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control

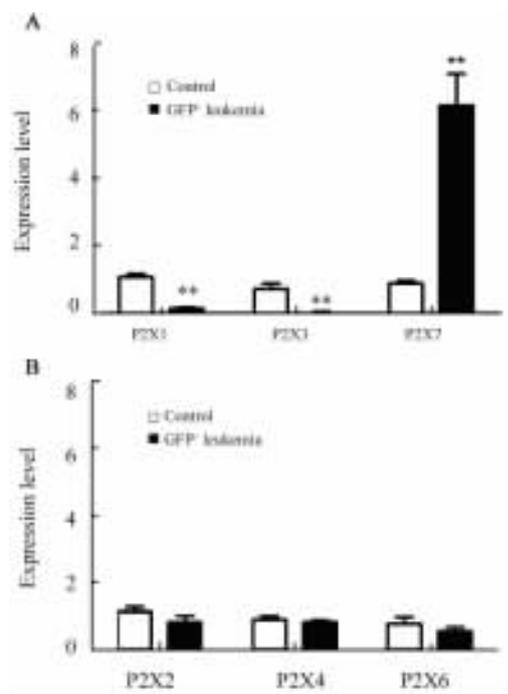


图 2 小鼠 T-ALL 模型中骨髓 GFP<sup>+</sup> 白血病细胞 P2X 家族受体的表达

Fig. 2 Expressions of P2X receptors in sorted CD45.2<sup>+</sup> GFP<sup>+</sup> leukemia cells of BMNCs in T-ALL mouse model

A: P2X1, P2X3 and P2X7; B: P2X2, P2X4 and P2X6

\*\*  $P < 0.01$  vs control

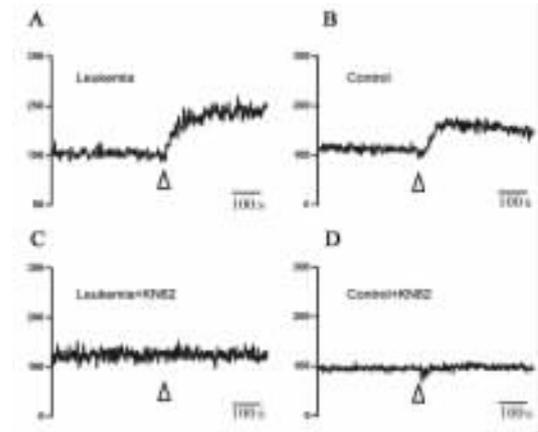


图 3 T-ALL 小鼠骨髓细胞中 P2X7 受体介导细胞内持续高钙反应

Fig. 3 P2X7 receptor-mediated sustained intercellular high Ca<sup>2+</sup> reaction in BMNCs of T-ALL mice

A: Leukemia cells; B: Control cells; C: Leukemia cells treated with KN62; D: Control cells treated with KN62

### 3 讨论

在多细胞有机体,细胞间通讯调节细胞的存活和功能,通讯异常将导致细胞功能紊乱和疾病的发生<sup>[18]</sup>。几十年来,多肽信号分子介导的细胞间通讯已经确立。核苷酸类物质是新近阐明的一种介导细胞间通讯的载体,它与细胞表面的核苷酸受体结合介导信号的传递<sup>[19]</sup>。近期研究<sup>[20]</sup>发现,核苷酸受体的异常与血液系统肿瘤相关,然而相关工作多集中于 P2X7 亚型与白血病患者发病、治疗、预后等的关系,其他 6 种 P2X 受体在血液系统恶性肿瘤中的研究很少,而且缺乏不同亚型 P2X 受体在白血病发生过程中变化规律的研究。

Notch1 信号通路参与调控造血干细胞自我更新,调节 T 淋巴细胞的分化和表型,过表达 Notch1 胞内段(ICN1)是小鼠 T-ALL 强有力的诱导因子。本研究采用两个小鼠品系(CD45.2<sup>+</sup>的 C57BL/6J 小鼠和 CD45.1<sup>+</sup>的 B6. SJL 小鼠)进行共移植,它们的造血细胞除了 CD45 表面标记有所不同外其他遗传背景相似,无免疫原性,可以相互进行造血细胞移植,并可通过 CD45.1/CD45.2 抗原分选不同来源的细胞,因而在国际上被广泛用于造血共移植实验。采用正常细胞与白血病细胞共移植方式,意在模拟小鼠体内白血病发病过程:大量 CD45.1<sup>+</sup> B6. SJL 小鼠 BMNCs 在照射后的受体小鼠体内建立正常造血,少量白血病细胞在体内开始恶性增殖并逐步占据优

势,最终抑制正常造血。因此,其检测结果更能反映白血病发生过程中的变化规律。白血病发展后期,正常造血受到抑制,白血病细胞无论在绝对细胞计数还是细胞比例上均占绝对优势,因此在对照组小鼠中移植大量 CD45.2 细胞模拟类似竞争条件。

本实验用小鼠白血病模型研究 P2X 受体家族在白血病发生中的表达变化,发现除 P2X5 外,其他 6 种亚型均能在两组小鼠骨髓中检测到,而在白血病发生中的变化有所不同。随着白血病的发展,白血病细胞逐渐增多,在此过程中白血病症小鼠骨髓细胞 P2X7 表达水平逐渐增加,并且分选后的白血病细胞相对于对照也是显著增高。这提示,P2X7 受体的高表达状态主要由白血病细胞造成的,并且还证实了 P2X7 受体的功能性表达。钙功能检测说明两组小鼠 P2X7 都可以在激动剂刺激后活化,其中钙离子浓度升高幅度主要与细胞内、外钙离子浓度差相关,过量的激动剂刺激下均可导致 P2X 受体的充分活化。但对对照组小鼠细胞内钙离子恢复较快,信号终止快;白血病症小鼠细胞相对持续维持在高钙状态,信号终止慢。推测这种差异可能与 P2X7 受体表达高低相关。

在小鼠 T-ALL 模型中,P2X7 受体的高表达与本课题组以前发现的它在 AML 和 MDS 的高表达结果<sup>[5]</sup>是一致的。这些结果表明,P2X7 受体介导的信号可能在白血病发病中发挥重要作用。事实上,P2X7 受体最初被视为死亡受体,引起细胞坏死或凋亡<sup>[21]</sup>。然而,越来越多的研究证明,P2X7 作为一种促生存的受体,参与细胞增殖和肿瘤转移<sup>[22-23]</sup>。在肿瘤环境中,细胞外存在高水平的 ATP 足以活化 P2X7 受体<sup>[24]</sup>。活化后的 P2X7 受体可引发一系列包括 ERK 活化等下游信号事件,促进肿瘤细胞增殖<sup>[25]</sup>。另外,肿瘤细胞高表达的 P2X7 受体通过释放一些细胞因子,如 MCP-1、IL-8 和 VEGF 等,赋予肿瘤细胞潜在的增殖优势,促进肿瘤细胞增殖<sup>[26]</sup>。

实验还发现 P2X1 和 P2X3 受体表达水平随着 T-ALL 的发生逐渐下降,提示它们发挥的作用有别于 P2X7 受体;它们与白血病发展的关系及可能机制尚需进一步深入研究。P2X2、P2X4、P2X6 受体在白血病发展中没有明显的表达变化,这提示它们可能与白血病发生、发展没有直接关系。因此,深入研究 P2X 家族受体在白血病发生、发展中介导的细胞间通讯及其分子机制,有助于更好地了解嘌呤受体在白血病中的作用及寻找白血病治疗的靶标。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Erb L, Liao Z, Seye CI, Weisman GA. P2 receptors: intracellular signaling [ J ]. *Pflugers Arch*, 2006, 452( 5 ): 552-562.
- [ 2 ] Valera S, Hussy N, Evans RJ, Adami N, North RA, Surprenant A, *et al.* A new class of ligand-gated ion channel defined by P2X receptor for extracellular ATP [ J ]. *Nature*, 1994, 371( 6497 ): 516-519.
- [ 3 ] North RA. Molecular physiology of P2X receptors [ J ]. *Physiol Rev*, 2002, 82( 4 ): 1013-1067.
- [ 4 ] Khakh BS, North RA. P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease [ J ]. *Nature*, 2006, 442( 7102 ): 527-532.
- [ 5 ] Zhang XJ, Zheng GG, Ma XT, Yang YH, Li G, Rao Q, *et al.* Expression of P2X7 in human hematopoietic cell lines and leukemia patients [ J ]. *Leuk Res*, 2004, 28( 12 ): 1313-1322.
- [ 6 ] Adinolfi E, Melchiorri L, Falzoni S, Chiozzi P, Morelli A, Tieghi A, *et al.* P2X7 receptor expression in evolutive and indolent forms of chronic B lymphocytic leukemia [ J ]. *Blood*, 2002, 99( 2 ): 706-708.
- [ 7 ] Aster JC, Xu L, Karnell FG, Patriub V, Pui JC, Pear WS. Essential roles for ankyrin repeat and transactivation domains in induction of T-cell leukemia by notch1 [ J ]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20( 20 ): 7505-7515.
- [ 8 ] Sandy AR, Maillard I. Notch signaling in the hematopoietic system [ J ]. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9( 11 ): 1383-1398.
- [ 9 ] Stier S, Cheng T, Dombkowski D, Carlesso N, Scadden DT. Notch1 activation increases hematopoietic stem cell self-renewal *in vivo* and favors lymphoid over myeloid lineage outcome [ J ]. *Blood*, 2002, 99( 7 ): 2369-2378.
- [ 10 ] Bolos V, Blanco M, Medina V, Aparicio G, Diaz-Prado S, Grande E. Notch signalling in cancer stem cells [ J ]. *Clin Transl Oncol*, 2009, 11( 1 ): 11-19.
- [ 11 ] Wang Z, Li Y, Banerjee S, Sarkar FH. Exploitation of the Notch signaling pathway as a novel target for cancer therapy [ J ]. *Anti-cancer Res*, 2008, 28( 6A ): 3621-3630.
- [ 12 ] Wang Z, Li Y, Banerjee S, Sarkar FH. Emerging role of Notch in stem cells and cancer [ J ]. *Cancer Lett*, 2009, 279( 1 ): 8-12.
- [ 13 ] Weng AP, Ferrando AA, Lee W, Morris JPt, Silverman LB, Sanchez-Irizarry C, *et al.* Activating mutations of Notch1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia [ J ]. *Science*, 2004, 306( 5694 ): 269-271.
- [ 14 ] Breit S, Stanulla M, Flohr T, Schrappe M, Ludwig WD, Tolle G, *et al.* Activating Notch1 mutations predict favorable early treatment response and long-term outcome in childhood precursor T-cell lymphoblastic leukemia [ J ]. *Blood*, 2006, 108( 4 ): 1151-1157.
- [ 15 ] Hu X, Shen HM, Tian C, Yu H, Zheng GG, Xu F, *et al.* Kinetics of normal hematopoietic stem and progenitor cells in a Notch1-induced leukemia model [ J ]. *Blood*, 2009, 114( 18 ): 3783-3792.
- [ 16 ] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔCt</sup> method [ J ]. *Methods*, 2001, 25( 4 ): 402-408.
- [ 17 ] 张秀军, 郑国光, 马小彤, 吴克复. 人白血病细胞系 P2X7 受体的表达及其介导的细胞内钙浓度变化 [ J ]. *生物物理学报*, 2004, 20( 4 ): 263-268.
- [ 18 ] Mavers M, Ruderman EM, Perlman H. Intracellular signal path-

- ways: potential for therapies [ J ]. *Curr Rheumatol Rep*, 2009, 11 ( 5 ): 378-385.
- [ 19 ] Burnstock G. Purinergic signalling: past, present and future [ J ]. *Braz J Med Biol Res*, 2009, 42( 1 ): 3-8.
- [ 20 ] Shemon AN, Sluyter R, Wiley JS. Rottlerin inhibits P2X( 7 ) receptor-stimulated phospholipase D activity in chronic lymphocytic leukaemia B-lymphocytes [ J ]. *Immunol Cell Biol*, 2007, 85( 1 ): 68-72.
- [ 21 ] Di Virgilio F, Chiozzi P, Falzoni S, Ferrari D, Sanz JM, Venkataraman V, *et al.* Cytolytic P2X purinoceptors [ J ]. *Cell Death Differ*, 1998, 5( 3 ): 191-199.
- [ 22 ] Di Virgilio F, Ferrari D, Adinolfi E. P2X( 7 ): a growth-promoting receptor-implications for cancer [ J ]. *Purinergic Signal*, 2009, 5 ( 2 ): 251-256.
- [ 23 ] Raffaghello L, Chiozzi P, Falzoni S, Di Virgilio F, Pistoia V. The P2X7 receptor sustains the growth of human neuroblastoma cells through a substance P-dependent mechanism [ J ]. *Cancer Res*, 2006, 66( 2 ): 907-914.
- [ 24 ] Pellegatti P, Raffaghello L, Bianchi G, Piccardi F, Pistoia V, Di Virgilio F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: *in vivo* imaging with plasma membrane luciferase [ J ]. *PLoS One*, 2008, 3( 7 ): e2599.
- [ 25 ] Gendron FP, Neary JT, Theiss PM, Sun GY, Gonzalez FA, Weisman GA, *et al.* Mechanisms of P2X7 receptor-mediated ERK1/2 phosphorylation in human astrocytoma cells [ J ]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 284( 2 ): C571-581.
- [ 26 ] Wei W, Ryu JK, Choi HB, McLarnon JG. Expression and function of the P2X( 7 ) receptor in rat C6 glioma cells [ J ]. *Cancer Lett*, 2008, 260( 1/2 ): 79-87.
- [ 收稿日期 ] 2010-01-28 [ 修回日期 ] 2010-02-26  
[ 本文编辑 ] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 参考文献题名后须标注文献类型和文献载体的标志代码

本刊参考文献按照国家标准 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》的要求进行著录。该国家标准要求每条文献的题名后都需标上[ 文献类型标志 ]或[ 文献类型标志/文献载体标志 ]。对纸质文献,如为期刊中析出文献,题名后应标上[ J ];如为专著中析出文献,题名后应标上[ M ]。对电子文献,如为网络期刊析出文献,题名后需标上[ J/OL ];如为网络专著中析出文献,题名后需标上[ M/OL ]。

现将常用的文献类型标志代码和文献载体标志代码介绍如下:

表 1 文献类型和文献载体的标志代码

文献类型	标志代码	文献类型	标志代码	载体类型	标志代码
期 刊	J	报 纸	N	磁 带	MT
专 著	M	专 利	P	磁 盘	DK
汇 编	G	标 准	S	光 盘	CD
会 议 录	C	数 据 库	DB	联机网络	OL
学 位 论 文	D	计 算 机 程 序	CP		
报 告	R	电 子 公 告	EB		

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示( pH 用正体除外),例如  $m$ (质量)、 $t$ (时间)、 $c$ (浓度)、 $V$ (体积)、 $p$ (压力)、 $F$ (力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时,一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/( kg · d )或 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号 A<sup>·</sup>(埃)已不用,应写作 0.1 nm;时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec);转速单位符号为 r/min(不是 rpm);量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N,也不是 mol/mm<sup>3</sup>);力的单位“牛顿”符号为 N(不是 dyn(达因)、kgf(千克力),换算 1 dyn = 10<sup>-5</sup> N);热量单位“焦耳”符号为 J(不是 cal(卡)、kcal(千卡),换算 1 cal = 4.187 J);放射性活度单位符号为 Bq(不是 Ci(居里),换算 1 Ci = 3.7 × 10<sup>10</sup> Bq)。

( 本刊编辑部 )