

• 实验研究 •

当归补血汤及其拆方对骨髓抑制模型小鼠 Wnt 蛋白及其受体的影响^{*}

姚重华¹, 苏 晓¹, 曲环汝², 赵文修¹, 黄慧萍¹, 江春春¹,
陈薇薇¹, 唐华燕¹, 田 雨², 薛轶燕², 王 骁²

(1. 上海中医药大学附属市中医医院风湿科, 上海 200071; 2. 上海中医药大学附属龙华医院风湿科, 上海 200032)

摘要: **目的** 探讨当归补血汤及其拆方对骨髓抑制模型小鼠 Wnt 蛋白及其受体的影响。**方法** 应用环磷酰胺所致的骨髓抑制小鼠模型,全自动血细胞分析仪检测外周血白细胞、红细胞、血小板数,ELISA 法检测骨髓 Wnt3a 蛋白,qPCR 法检测骨髓造血干细胞 Frizzled 2 mRNA 表达水平。**结果** 与正常组比较,模型组外周血白细胞、红细胞、血小板计数明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),骨髓 Wnt3a 蛋白、骨髓造血干细胞 Frizzled 2 mRNA 表达水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,当归补血汤组外周血红细胞、血小板数明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),骨髓 Wnt3a 蛋白、骨髓造血干细胞 Frizzled 2 mRNA 表达水平明显提高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);黄芪组、当归组上述指标与模型组比较,差异均无显著性意义($P>0.05$)。**结论** ① 当归补血汤具有提高骨髓 Wnt3a 蛋白及骨髓造血干细胞 Frizzled 2 mRNA 表达水平的作用;② 当归补血汤及其拆方对 Wnt3a 及其受体 Frizzled 2 mRNA 的调控作用,体现了中医气血相生理论。

关键词: 当归补血汤; 骨髓抑制; Wnt; Frizzled 2 mRNA

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2018)03-0001-05

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.03.001

Effect of Danggui Buxue Decoction and It's Separate Herb on Wnt and Wnt's Receptor in Mice with Myelosuppression

YAO Chonghua¹, SU Xiao¹, QU Huanru², ZHAO Wenxiu¹, HUANG Huiping¹, JIANG Chunchun¹,
CHEN Weiwei¹, TANG Huayan¹, TIAN Yu², XUE Yiyan², WANG Xiao²

(1. Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of
Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China;

2. Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effect of Danggui Buxue Decoction and it's separate herb on Wnt and Wnt's receptor in mice with myelosuppression. **Methods** The mice model of Myelosuppression was established by Cyclophosphamide (CTX), Automatic Blood Cell Analyzer tested the Peripheral Blood cell number, ELISA tested Wnt3a protein in Bone Marrow, qPCR tested Frizzled 2 mRNA expression in Bone Marrow Hematopoietic Stem Cells. **Results** Compared to the normal group, the number of WBC, RBC and PLT were decreased significantly in model group ($P<0.05$ or $P<0.01$); The value of Wnt3a protein and Frizzled 2 mRNA were decreased significantly ($P<0.01$); Compared to the model group, the number of RBC and PLT were increased significantly in Danggui Buxue Decoction group ($P<0.05$ or $P<0.01$); The value of Wnt3a protein and Frizzled 2 mRNA were increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$), but the Huangqi group and the Danggui group had no significantly different ($P>0.05$). **Conclusion** First, Danggui Buxue Decoction can increased the value of Wnt3a protein and Frizzled 2 mRNA in Bone Marrow. Second, the regulation of Wnt3a and it's receptor Frizzled 2 mRNA with Danggui Buxue Decoction and it's separate herb, showed the correct of "Qi and Blood generate each other" in Traditional Chinese Medicine.

KEY WORDS: Danggui Buxue Decoction; Myelosuppression; Wnt; Frizzled 2 mRNA

收稿日期: 2018-04-28

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金(81202634);上海市卫生和计划生育委员会科研课题资助项目(20124Y021)

第一作者简介: 姚重华(1980-),男,主治医师,博士,主要从事中医风湿病临床及研究工作。

骨髓抑制是大多数免疫抑制剂共有的不良反应^[1-2],表现为外周血单系或全系血细胞减少等造血系统的改变。临床报道表明,采用当归补血汤治疗免疫抑制剂所致的骨髓抑制具有较好的疗效^[3],但其作用机理的研究少见报道,故笔者就当归补血汤治疗环磷酰胺所致骨髓抑制做了相关研究,以期当归补血汤防治骨髓抑制提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选 6 周龄 NOD/SCID 雄性小鼠 30 只,体质量(23±4) g,SPF 级,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,饲养在上海中医药大学实验动物中心室内,室温(27±1)℃,食用全价营养颗粒饲料。适应性喂养 3 d,采用 SPSS15.0 统计软件随机分为 6 组(正常组、模型组、对照组、当归补血汤组、黄芪组、当归组),每组 5 只。

1.1.2 药物及试剂 (1)当归补血汤(黄芪 300 g、当归 60 g)。采用单味中药配方颗粒(免煎中药,由江苏省江阴市天江药业有限公司生产),药物磨粉,80 目过筛,加入蒸馏水,配成 100%浓度(即每 mL 药液含生药 1 g)的混悬液,置 4℃保存备用。(2)单味黄芪(黄芪 300 g)。采用单味中药配方颗粒(免煎中药,由江苏省江阴市天江药业有限公司生产),药物磨粉,80 目过筛,加入蒸馏水,配成 100%浓度(即每 mL 药液含生药 1 g)的混悬液,置 4℃保存备用。(3)单味当归(当归 60 g)。采用单味中药配方颗粒(免煎中药,由江苏省江阴市天江药业有限公司生产),药物磨粉,80 目过筛,加入蒸馏水,配成 100%浓度(即每 mL 药液含生药 1 g)的混悬液,置 4℃保存备用。(4)鲨肝醇片(阳性对照药,每片 20 mg,上海信谊万象药业股份有限公司生产)。药物磨粉,80 目过筛,加入蒸馏水,配成 100%浓度(即每 mL 药液含生药 1 g)的混悬液,置 4℃保存备用。(5)环磷酰胺注射液(造模用药,江苏恒瑞医药股份有限公司生产)。用生理盐水配制成 10 mg/mL 水溶液,现配现用。(6)Wnt3a-ELISA 试剂盒,购自美国 MyBioSource 公司。HISTOPAQUE 分离液,购自美国 SIGMA 公司。Lineage Cell Depletion Kit 试剂盒、抗生物素微磁珠(Magnetic Beads),购自德国美天旌 Miltenyi 公司。生物素化抗体(CD3e、B220、Gr1、Ter119、Mac1),购自 BD Pharmingen 公司。SAV-

FITC、Sca1-PE、c-Kit-APC 荧光抗体,购自 eBioscience 公司。RNeasy Plus Micro Kit RNA 提取试剂盒,购自德国 QIAGEN 公司。cDNA 合成试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒,购自美国 Thermo 公司。Frizzled 2 mRNA 引物序列(上游:5-CATCTCCATCCCGCTGT-GCA-3,下游:5-AGCACAGGAAGAAGCGCAGCTC-3)、Actin 引物序列(上游:5-GATCATTGCTCCTCCT-GAGC-3,下游:5-ACTCCTGCTTGCTGATCCAC-3),由上海生工生物工程公司完成。

1.1.3 仪器设备 LEICA-RM2135 型切片机,LEICA-DME 光学显微镜,上海徕卡显微系统有限公司。RT-7300 全自动血细胞分析仪、RT-6000 酶标仪,美国 Rayto 公司。BD Accuri C6 流式细胞仪,美国 BD 公司。BD FACSAria 流式细胞仪,美国 BD 公司。ABI-7500 Real-time PCR 检测仪,美国 ABI 公司。

1.2 方法

1.2.1 小鼠骨髓抑制模型的制作与用药 采用本课题组设计的环磷酰胺致小鼠骨髓抑制模型(专利申请号:201610038158.7)。方法:除正常组外,其余各组以环磷酰胺 150 mg/kg 体重,隔日 1 次,腹腔注射 3 次即可成模,正常组以生理盐水代替。造模当日开始给予中药治疗,对照组、当归补血汤组、黄芪组、当归组分别灌胃鲨肝醇片、当归补血汤、单味黄芪、单味当归混悬液每只 0.44 mL/d(相当于成人用量),正常组及模型组以等量蒸馏水代替,1 次/d,连续 14 d。

1.2.2 观察症状体征 实验自开始起,每周称重 1 次,观察小鼠的体形、毛色、步态、觅食及活动情况,并记录动物每天死亡只数。

1.2.3 样品采集 实验第 15 天,尾部取血 1 次,置于 1.5 mL 抗凝管中;颈椎脱臼法处死小鼠,无菌条件下,取双侧股骨、髌骨、胫骨,剥离肌肉组织,置于含 2 mM EDTA 的 PBS 液中,冰上保存备用。

1.2.4 外周血细胞计数 取外周血 10 μL,2 mM EDTA/PBS 稀释 50 倍,全自动血细胞分析仪检测外周血白细胞、红细胞、血小板数。

1.2.5 骨髓 Wnt3a 蛋白水平 取左侧股骨、双侧髌骨、双侧胫骨,置于 5 mL 含 2 mM EDTA 的 PBS 液中,用 3 mL 注射器反复冲洗骨髓腔,70 μm 过筛,收集全部骨髓细胞,制成 10 mL 骨髓细胞悬液,加入 HISTOPAQUE 分离液 3 mL,1 500 转离心 15 min,Fi-

coll 密度梯度离心法分选 BMNC 细胞。取上清液 100 μL , Wnt3a-ELISA 试剂盒检测 Wnt3a 蛋白水平。

1.2.6 LSK 骨髓造血干细胞 Frizzled 2 mRNA 表达水平 上述分选的 BMNC 细胞, MACS 液冲洗 1 次, Lineage Cell Depletion 免疫磁珠分选 Lin⁻细胞(根据试剂盒操作), MACS 液冲洗 1 遍, 加入 SAV-FITC、Sca1-PE、c-Kit-APC 荧光抗体, 冰上孵育 30 min, MACS 冲洗 1 遍, 流式细胞仪筛选 Lineage⁻-Sca1⁺-c-Kit⁺造血干细胞。取 10 000 个 LSK 细胞, 提取总 RNA (根据试剂盒操作), 逆转录为 cDNA, qPCR 仪检测 Frizzled 2 mRNA 表达水平。

qPCR 数据采用仪器自带软件 ABI Prism 7 500 SDS Software 进行分析。mRNA 相对表达量=2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} ×100%。 $\Delta\Delta\text{Ct}$ =目标基因 Ct 值-内参(Actin)Ct 值。

1.2.7 统计学处理 应用 SPSS15.0 及 Prism 5 软件进行统计处理。所有实验数据均经过方差齐性检验及正态性检验, 计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验或方差分析。

2 结果

2.1 症状体征 除正常组外, 其它各组小鼠于造模后逐渐均出现体重、体温下降, 活动减少, 反应迟钝, 畏寒蜷卧, 体毛疏松, 失去光泽, 进食量、饮水量减少, 尿量增多等表现, 于造模后第 13 天左右, 上述症状达到最高峰。其后, 上述症状逐渐减轻。

2.2 外周血细胞数 (1)白细胞:与正常组比较, 模型组白细胞数显著下降, 差异有非常显著性意义($P<0.01$)。与模型组比较, 对照组、当归补血汤组、黄芪组和当归组均能提高白细胞数, 但差异均无显著性意义($P>0.05$)。见表 1。(2)红细胞:与正常组比较, 模型组红细胞数明显下降, 差异有非常显著性意义($P<0.01$)。与模型组比较, 对照组红细胞数差异无显著性意义($P>0.05$), 当归补血汤组差异有非常显著性意义($P<0.01$); 黄芪组、当归组红细胞数与模型组比较, 差异无显著性意义($P>0.05$)。见表 1。(3)血小板:与正常组比较, 模型组血小板数明显下降, 差异有非常显著性意义($P<0.01$)。与模型组比较, 对照组血小板数差异无显著性意义($P>0.05$), 当归补血汤组血小板数差异有显著性意义($P<0.05$); 黄芪组、当归组血小板数与模型组比较, 差异无显著性意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组小鼠外周血血细胞数的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	白细胞数 ($\times 10^9/\text{L}$)	红细胞数 ($\times 10^{12}/\text{L}$)	血小板数 ($\times 10^9/\text{L}$)
正常组	5	8.38 $\pm$ 0.37	21.70 $\pm$ 1.40	265.00 $\pm$ 24.49
模型组	5	7.41 $\pm$ 0.24 ^{▲▲}	17.00 $\pm$ 1.46 ^{▲▲}	137.00 $\pm$ 34.93 ^{▲▲}
当归补血汤组	5	7.76 $\pm$ 0.21 ^{▲▲}	20.00 $\pm$ 0.61 ^{△△}	185.00 $\pm$ 9.35 ^{▲▲△△}
黄芪组	5	7.67 $\pm$ 0.11 ^{▲▲}	18.00 $\pm$ 1.00 ^{▲▲}	156.00 $\pm$ 24.34 ^{▲▲}
当归组	5	7.68 $\pm$ 0.18 ^{▲▲}	18.60 $\pm$ 1.52 ^{▲▲}	163.00 $\pm$ 11.51 ^{▲▲}
对照组	5	7.76 $\pm$ 0.31 ^{▲▲}	17.20 $\pm$ 0.67 ^{▲▲}	131.00 $\pm$ 13.42 ^{▲▲}

注:与正常组比较, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$;与模型组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$

2.3 骨髓 Wnt3a 蛋白水平 与正常组比较, 模型组骨髓 Wnt3a 蛋白水平明显下降, 差异有非常显著性意义($P<0.01$)。与模型组比较, 对照组 Wnt3a 蛋白水平有所提高, 但差异无显著性意义($P>0.05$), 当归补血汤组 Wnt3a 蛋白水平明显提高, 差异有非常显著性意义($P<0.01$); 黄芪组、当归组骨髓 Wnt3a 蛋白水平与模型组比较, 差异无显著性意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组小鼠骨髓组织 Wnt3a 蛋白的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Wnt3a(pg/ml)
正常组	5	278.50 $\pm$ 2.56
模型组	5	230.08 $\pm$ 1.24 ^{▲▲}
当归补血汤组	5	275.78 $\pm$ 1.15 ^{▲▲△△}
黄芪组	5	231.59 $\pm$ 1.51 ^{▲▲}
当归组	5	230.60 $\pm$ 1.15 ^{▲▲}
对照组	5	233.05 $\pm$ 1.29 ^{▲▲}

注:与正常组比较, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$;与模型组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$

2.4 LSK 骨髓造血干细胞 Frizzled 2 mRNA 表达水平 与正常组比较, 模型组骨髓 LSK 造血干细胞

表 3 各组小鼠骨髓 LSK 细胞中 Frizzled 2 mRNA 的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Frizzled 2 mRNA
正常组	5	1.0000 $\pm$ 0.0000
模型组	5	0.5620 $\pm$ 0.0383 ^{▲▲}
当归补血汤组	5	0.6340 $\pm$ 0.0182 ^{▲▲△△}
黄芪组	5	0.6120 $\pm$ 0.0130 ^{▲▲}
当归组	5	0.5820 $\pm$ 0.0303 ^{▲▲}
对照组	5	0.5420 $\pm$ 0.0409 ^{▲▲}

注:与正常组比较, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$;与模型组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$

Frizzled 2 mRNA 表达水平明显下降,差异有非常显著性意义($P<0.01$)。与模型组比较,对照组 Frizzled 2 mRNA 表达水平有所提高,但差异无显著性意义($P>0.05$),当归补血汤组 Frizzled 2 mRNA 表达水平明显提高,差异有显著性意义($P<0.05$);黄芪组、当归组 Frizzled 2 mRNA 表达水平与模型组比较,差异无显著性意义($P>0.05$)。见表 3。

3 讨论

当归补血汤出自金元时代李杲《内外伤辨惑论·暑伤胃气论》,当归与黄芪的配伍比例为 1:5,以黄芪为重,大补脾肺之气,以资生血液;当归养血和血,阳生阴长,气血两旺,是中医益气养血的经典名方^[4]。临床上,长期应用免疫抑制剂(如环磷酰胺、环孢霉素等)导致的骨髓抑制,可引起全血三系细胞减少^[5-6],或只影响某一系,以白细胞减少多见^[7],表现为头晕目眩、神疲乏力、面色无华、心悸失眠、畏寒肢冷、舌质淡、脉细弱等症状,中医归属于“血虚”证候,根据“血为气之母、气为血之帅”的中医理论,治疗应以补血为主,补气生血,应用具有益气补血作用的当归补血汤治疗可谓切中病机,故获良效。此外,气与血之间,存在着相互依存、互根互用、相互促进的相生关系。《难经本义》明确指出“气中有血,血中有气。气与血不可须臾相离,乃阴阳互根,自然之理也”。当归补血汤中,黄芪益气,当归补血,当归补血汤治疗“血虚”证候能获得良效,是中医气血相生理论的直接体现。国内的研究也证实,当归补血汤具有改善微造血环境,刺激骨髓造血干细胞增殖并抑制其凋亡,促进骨髓抑制小鼠造血重建的作用^[8-9],但对其作用机理的研究少见报道。

研究证实,Wnt 信号在造血系统中起着重要作用,是造血干/祖细胞的重要调控因子。Wnt 蛋白为脂质修饰的分泌型糖蛋白,由 Wnt 基因编码,通过与相应受体结合而发挥生物学效应,迄今为止在哺乳动物中共发现 19 个成员,Wnt3a 是研究较多的成员之一。纯化的 Wnt3a 蛋白能增强鼠类造血干细胞在体外的自我更新和在体内的造血重建能力^[10-13]。Wnt3a 与其受体 Frizzled 结合,激活 Wnt 信号途径^[14-15],可抑制造血干细胞的凋亡。相反,阻断了 Wnt 信号途径则促进造血干细胞的凋亡^[16]。该信号转导途径在维持造血干细胞的增殖、再生、自我更新等方面起重要作用^[17-20]。

本实验研究显示:① 与正常组比较,模型组外周血中三系细胞(红细胞、白细胞和血小板)下降,差异有显著性意义($P<0.01$),说明骨髓抑制模型成立。模型组骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平明显降低,差异有显著性意义($P<0.01$)。说明环磷酰胺造成的骨髓抑制模型小鼠中,骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平明显降低。② 与模型组比较,当归补血汤组骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平明显提高,差异有显著性意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。说明当归补血汤可以提高骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平。③ 与模型组比较,黄芪组、当归组骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平无明显差异($P>0.05$)。说明当归补血汤中,任何单味成分(黄芪、当归)在提高骨髓 Wnt3a 蛋白及受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平方面,其作用均差于二者的组合物——当归补血汤。

综上所述,总结如下:① 环磷酰胺造成的骨髓抑制小鼠模型中,可出现骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平明显降低,即大剂量环磷酰胺促使骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平降低,是导致骨髓抑制的机理之一。② 当归补血汤提高骨髓 Wnt3a 蛋白及其受体 Frizzled 2 mRNA 表达水平,可能是其防治骨髓抑制、促进造血重建的作用机理之一。③ 当归补血汤及其拆方对 Wnt3a 及其受体 Frizzled 2 mRNA 的调控作用,体现了中医“气血相生”理论,为中医“气血相生”理论提供了实验依据。

参考文献:

- [1] VANSTEENKISTE J,PIRKER R,MASSUTI B,et al. Double-blind,placebo-controlled,randomized phase III trial of darbepoetin alfa in lung cancer patients receiving chemotherapy[J]. J Natl Cancer Inst,2002,94(16):1211-1220.
- [2] HESKETH P J,ARENA F,PATEL D,et al. A randomized controlled trial of darbepoetin alfa administered as a fixed or weight-based dose using a front-loading schedule in patients with anemia who have nonmyeloid malignancies [J]. Cancer,2004,100(4):859-868.
- [3] 蒋立峰,刘怀民. 当归补血汤防治肿瘤化疗后骨髓抑制临

- 床观察[J]. 中医学报,2013,28(4):475-477.
- [4] 康永,杜晓峰,许强. 当归补血汤药理研究 [J]. 中成药,1997,19(12):2.
- [5] 杨丽红,王明山,胡晓,等. 恶性肿瘤化疗过程中三系血细胞有关参数的变化比较 [J]. 江西医学检验,2007,25(4):376-377.
- [6] 姬广伟,何宏涛,孙见新. 大补元煎防治乳腺癌化疗后骨髓抑制的疗效观察 [J]. 中国药物与临床,2009,9(10):988-989.
- [7] 潘宏铭. 化疗引起的骨髓抑制及其防治 [J]. 实用肿瘤杂志,2002,17(2):76-78.
- [8] 杨岚,张力华,周毅. 当归补血汤对骨髓抑制小鼠骨髓细胞增殖的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(3):538-539.
- [9] 严苏纯,祝彼得,韩英光,等. 当归补血汤不同制剂对骨髓抑制小鼠造血调控的实验研究 [J]. 天津中医药,2008,25(3):229-231.
- [10] REYA T,O RIORDAN M,OKAMURA R,et al. Wnt signaling regulates B lymphocyte proliferation through a LEF-1 dependent mechanism[J]. Immunity,2000,13(1):15-24.
- [11] AUSTIN T W,SOLAR G P,ZIEGLER F C,et al. A role for the Wnt gene family in hematopoiesis:expansion of multilineage progenitor cells [J]. Blood,1997,89(10):3624-3635.
- [12] VAN DEN BERG D J,SHARMA A K,BRUNO E,et al. Role of members of the Wnt gene family in human hematopoiesis[J]. Blood,1998,92(9):3189-3202.
- [13] REYA T,DUNCAN A W,AILLES L,et al. A role for Wnt signaling in self-renewal of hematopoietic stem cells[J]. Nature,2003,423(6938):409-414.
- [14] WODARZ A,NUSSE R. Mechanisms of Wnt signaling in development[J]. Annu Rev Cell Biol,1998,14:59-88.
- [15] VAN NOORT M,CLEVERS H. TCF transcription factors, mediators of Wnt-signaling in development and cancer [J]. Dev Biol,2002,244(1):1-8.
- [16] GREGORY C A,SINGH H,PERRY A S,et al. The Wnt signaling inhibitor dickkopf-1 is required for reentry into the cell cycle of human adult stem cells from bone marrow[J]. J Biol Chem,2003,278(30):28067-28078.
- [17] 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.
- [18] MALHOTRA S,KINCADE P W. Canonical Wnt Pathway signaling suppresses VCAM-1 expression by marrow stromal and hematopoietic cells [J]. Exp Hematol,2009,37(1):19-30.
- [19] LUIS T C,WEERKAMP F,NABER B A. Wnt3a deficiency irreversibly impairs hematopoietic stem cell self-renewal and leads to defects in Progenitor cell differentiation[J]. Blood,2009,113(3):546-554.
- [20] LIANG H,CHEN Q,COLES A H,et al. wnt5a inhibits B cell proliferation and functions as a tumor suppressor in hematopoietic tissue [J]. Cancer Cell,2003,4(5):349-360.