

自噬调控对JAK2 V617F阳性HEL细胞及真性红细胞增多症患者造血细胞增殖的影响

董露 申徐良 魏武 史文芝 张国香 曹文君 李丹

【摘要】 目的 通过检测JAK2 V617F阳性HEL细胞及真性红细胞增多症(PV)患者造血细胞自噬水平,探索自噬调控对HEL细胞及PV患者造血细胞增殖的影响。方法 应用流式细胞术、吖啶橙染色法、Western blot法检测JAK2 V617F阳性HEL细胞和12例PV患者造血细胞中LC3- II蛋白的表达水平;通过雷帕霉素和3-甲基腺嘌呤(3-MA)分别诱导和抑制HEL细胞及3例PV患者骨髓细胞自噬水平,应用上述方法检测细胞中LC3- II蛋白表达水平的改变,并采用CellTiter-Glo®发光法检测细胞增殖活力。结果 HEL细胞内LC3- II蛋白的平均荧光强度(159 389±29 001)及自噬体水平明显高于JAK2 V617F阴性K562细胞(96 047±24 134)($P=0.044$),PV患者外周血骨髓系细胞内LC3- II蛋白平均荧光强度(92 842±4 250)明显高于健康志愿者(86 633±2 504)($P=0.001$);自噬诱导剂雷帕霉素作用于HEL细胞和PV患者骨髓细胞12、24、48 h后,各时间点细胞增殖活力与常规培养组相比明显增强,48 h时HEL细胞和PV患者骨髓细胞增殖活力分别为101 413±3 720和18 744±1 015;自噬抑制剂3-MA作用于HEL细胞和PV患者骨髓细胞12、24、48 h后,各时间点细胞增殖活力与常规培养组相比明显减弱,48 h时HEL细胞和PV患者骨髓细胞增殖活力分别为5 732±166和5 371±56。结论 JAK2 V617F阳性HEL细胞和PV患者造血细胞存在较高的基础自噬水平,上调自噬活性可促进其增殖;下调自噬活性对其增殖有明显抑制作用。

【关键词】 自噬; 真性红细胞增多症; 基因,JAK2 V617F; 细胞增殖

The impact of autophagy on proliferation of HEL cells and hematopoietic cells of polycythemia vera patients with JAK2 V617F mutation Dong Lu, Shen Xuliang*, Wei Wu, Shi Wenzhi, Zhang Guoxiang, Cao Wenjun, Li Dan. *Department of Hematology, Heping Hospital Affiliated to Changzhi Medical College, Shanxi Changzhi 046000, China*

Corresponding author: Shen Xuliang, Email: shenxlycp@sohu.com

【Abstract】 Objective To detect the activity of autophagy and explore the impact on survival and proliferation of HEL cells and hematopoietic cells of polycythemia vera (PV) patients with JAK2 V617F mutation. **Methods** Flow cytometry, AO staining and Western blot methods were used to detect the autophagy activity and the expression of LC3- II protein of JAK2 V617F⁺ HEL cells and hematopoietic cells of 12 newly diagnosed PV patients with JAK2 V617F mutation. HEL cells and bone marrow cells of 3 PV patients were treated with rapamycin or 3-MA to induce and inhibit autophagy, respectively. CellTiter Glo® method was used to detect the proliferation activity of cells. **Results** There was higher level of mean LC3- II fluorescence intensity in HEL cells (159 389±29 001) than that in K562 cells (96 047±24 134) ($P=0.044$). The formation of autophagosome in HEL cells is more than that in K562 cells detected by microscope. What's more, the level of mean LC3- II fluorescence intensity in 12 PV patients' myeloid cells (92 842±4 250) was higher than that of 15 healthy volunteers (86 633±2 504) ($P=0.001$). The expression of LC3- II protein was higher in PV patients' peripheral blood cells than that in healthy volunteers detected by Western blot. After treated with rapamycin 12, 24, 48 h, the activity of autophagy in

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.06.016

基金项目:山西省自然科学基金(2013011056-3);山西省高校科技开发项目(20121013);山西省卫生厅科研课题(20122008)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第一临床医学院(董露);长治医学院附属和平医院血液内科(申徐良、魏武、史文芝、张国香),中心实验室(曹文君、李丹)

通信作者:申徐良,Email:shenxlycp@sohu.com

HEL cells and bone marrow cells of 3 PV patients were increased and the proliferation activity was higher than the control group, the proliferation activity at 48 h were (101 413 ± 3 720), (18 744 ± 1 015), respectively. However, after treated with 3-MA 12, 24, 48 h, the activity of autophagy was decreased and the proliferation activity was lower than the control group, the proliferation activity at 48 h were (5 732 ± 166), (5 371 ± 56), respectively. **Conclusions** There is high basal activity of autophagy in JAK2 V617F⁺ HEL cells and hematopoietic cells of PV patients with JAK2 V617F mutation. Up-regulated autophagy promotes proliferation of JAK2 V617F⁺ HEL cells and bone marrow cells of PV patients with JAK2 V617F mutation. Decreased autophagy inhibits proliferation of JAK2 V617F⁺ HEL cells and bone marrow cells of PV patients with JAK2 V617F mutation.

【Key words】 Autophagy; Polycythemia vera; Gene, JAK2 V617F; Cell proliferation

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN)是一类造血干细胞恶性克隆性疾病,经典的 Ph 染色体阴性的 MPN 包括真性红细胞增多症(polycythaemia vera, PV)、原发性血小板增多症(essential thrombocythaemia, ET)和原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)。一项流行病学调查研究显示, PV 的年龄标准化患病率为 22/10 万, ET 的年龄标准化患病率为 24/10 万^[1]。Geyer 及 Mesa^[2]研究发现, 95% 以上的 PV 和 50% 以上的 ET 与 PMF 患者中存在 JAK2 V617F 突变, 为 MPN 重要的诊断标志物和治疗靶点, JAK2 V617F 突变的发现开启了分子诊断的新时代^[3]。近年来研究发现多种血液肿瘤中存在自噬活性的变化, 且对肿瘤的发生发展起重要作用, 针对自噬的靶向治疗有可能成为治疗肿瘤的新方法^[4]。因此, 本研究我们在 JAK2 V617F 阳性 HEL 细胞和 PV 患者造血细胞两个水平观察了其自噬活性及自噬活性改变对细胞增殖的影响, 现报道如下。

材料和方法

1. 主要试剂: 3-甲基腺嘌呤(3-MA)、雷帕霉素购自美国 Selleck 公司。鼠抗人微管相关蛋白轻链-3(LC3B)抗体、FITC 标记兔抗鼠二抗、HRP 标记兔抗鼠二抗、 β -actin 抗体购自日本 MBL 公司。CellTiter-Glo[®] 细胞增殖活力检测试剂盒购自美国 Promega 公司。皂素(saponin)购自美国 Sigma 公司。红细胞裂解液购自美国 BD 公司。固定剂/破膜剂购自美国 Beckman Coulter 公司。胎牛血清(FBS)为 Hycone 公司产品。RPMI 1640 培养液购自北京索莱宝科技有限公司。吡啶橙(AO)购自美国 BBI 公司。蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白分析试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

2. 细胞来源及培养: JAK2 V617F 阳性人红白血病 HEL 细胞株、JAK2 V617F 阴性慢性髓性白血

病 K562 细胞株均购自中国医学科学院肿瘤细胞库, 悬浮生长于含 10% FBS 的 RPMI 1640 完全培养液, 置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度孵箱中培养, 每 3 d 传代 1 次。

3. PV 患者标本采集及培养: 采集 12 例初诊 JAK2 V617F 阳性 PV 患者(诊断符合文献^[5])和 15 名健康志愿者静脉血 2 ml, 肝素抗凝, 红细胞裂解液裂解红细胞后, 用于流式细胞术检测。分别于 3 例 PV 患者和 3 例非恶性血液病志愿者髂后上棘采集骨髓液 1 ml, 肝素抗凝, 取 0.3 ml 全骨髓液悬浮生长于含 20% FBS 的 RPMI 1640 培养基, 培养体系中含 4 mg/ml 谷氨酰胺, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。所有标本的采集均取得研究对象知情同意。

4. 实验分组: 取对数生长期 HEL 细胞与 JAK2 V617F 阳性 PV 患者骨髓细胞, 调整细胞密度为 2×10^5 /ml, 分为 3 组: 常规培养组(加入等量培养液常规培养)、雷帕霉素处理组(终浓度 10 μ mol/L)、3-MA 处理组(终浓度 10 mmol/L), 收集培养不同时间(12、24、48 h)各组细胞进行后续实验。

5. 流式细胞术检测细胞内自噬相关 LC3- II 蛋白的表达: 参照文献^[6]方法, 取 HEL 细胞、K562 细胞、PV 患者和健康志愿者外周血细胞进行基础自噬水平检测, 取药物处理不同时间(12、24、48 h) HEL 细胞及 PV 患者骨髓细胞观察自噬水平的变化。将细胞以 5×10^5 /ml 接种于 24 孔板中, 用含 0.05% 皂素的 PBS 缓冲液漂洗细胞, 加 100 μ l 固定剂固定细胞 15 min, PBS 洗涤, 加 100 μ l 破膜剂孵育 5 min, 加 1:50 稀释的 LC3B 一抗孵育 30 min, 洗涤, 再加 1:50 稀释的 FITC 标记兔抗鼠二抗孵育 30 min, PBS 洗涤, 去上清, 加入 300 μ l PBS 缓冲液重悬细胞后上流式细胞仪检测各组细胞 LC3- II 蛋白的表达, 采用 Flowjo 流式软件进行数据分析。外周血细胞和骨髓细胞以髓系细胞设门。每组设 3 个复管, 实验重复 3 次。

6. AO 染色荧光显微镜下观察 HEL 细胞自噬活性:取 K562 细胞及药物处理后的 HEL 细胞,调整细胞密度为 $2 \times 10^5/\text{ml}$,转移至 1.5 ml 离心管中,洗涤,用 300 μl PBS 重悬细胞,加入 3 μl AO 染液(终浓度为 1 mmol/L),室温避光反应 15 min, PBS 洗涤,弃上清,20 μl PBS 重悬细胞,吸取 5 μl 细胞悬液滴至载玻片上,盖上盖玻片,在荧光显微镜下观察细胞内红绿荧光强度。实验重复 3 次。

7. Western blot 法检测 PV 患者外周血及骨髓细胞内 LC3- II 蛋白的表达:取 JAK2 V617F 阳性 PV 患者外周血和健康志愿者外周血细胞及药物处理后 PV 患者骨髓细胞,按蛋白提取试剂盒说明书分别提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,将蛋白变性后按 30 μg (15 μl) 上样, SDS-PAGE 凝胶电泳后转移至 PVDF 膜,用 50 g/L 脱脂奶粉溶液封闭 1 h,加入 β -actin、LC3B 一抗孵育过夜,用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,加入 HRP 标记兔抗鼠二抗室温孵育 1 h,用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。在 PVDF 膜表面滴加配制好的 ECL 显色液,化学发光检测仪显影,观察实验结果。

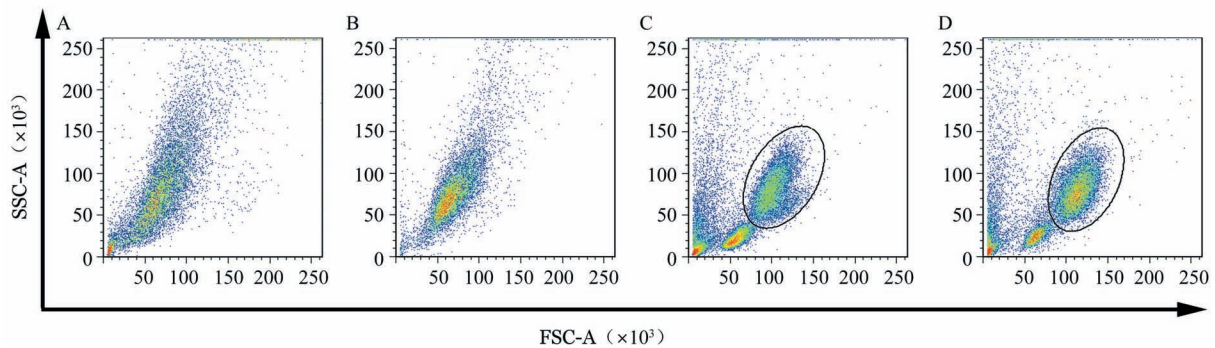
8. CellTiter-Glo® 发光法检测细胞增殖活力:将

JAK2 V617F 阳性 HEL 细胞和 PV 患者骨髓细胞以 $5 \times 10^5/\text{ml}$ 接种于 96 孔板,按实验分组处理细胞后,培养箱中培养 0、12、24、48 h,加入 100 μl CellTiter-Glo® 细胞增殖活力检测试剂,水平摇床上避光摇 2 min,然后在培养箱中孵育 10 min 后上多功能酶标仪检测发光量。每组设 3 个复孔,实验重复 3 次。

9. 统计学处理:应用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,细胞增殖检测采用重复测量方差分析,采用 Greenhouse-Geisser 法校正自由度;两组定量资料比较采用 *t* 检验或秩和检验,多组定量资料组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

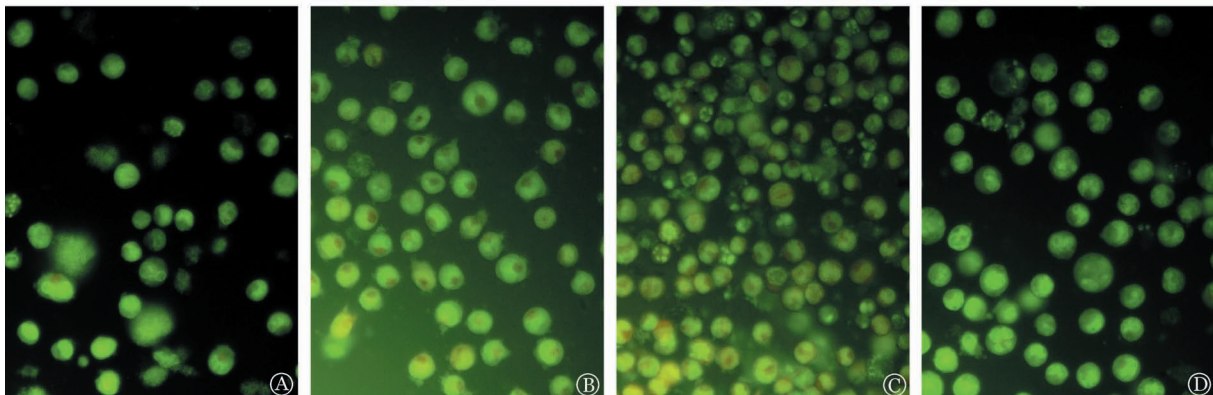
结 果

1. 自噬相关 LC3- II 蛋白表达:流式细胞术检测显示,常规培养 HEL 细胞内 LC3- II 蛋白的平均荧光强度 ($159\ 389 \pm 29\ 001$) 明显高于 K562 细胞 ($96\ 047 \pm 24\ 134$) ($P=0.044$), PV 患者外周血骨髓系细胞内 LC3- II 蛋白平均荧光强度 ($92\ 842 \pm 4\ 250$) 明显高于健康志愿者 ($86\ 633 \pm 2\ 504$), 差异有统计学意义 ($P=0.001$) (图 1); 荧光显微镜观察常规培养



A: K562 细胞; B: 常规培养 HEL 细胞; C: 健康志愿者; D: PV 患者

图 1 流式细胞术检测 JAK2 V617F 阳性 HEL 细胞及真性红细胞增多症患者 (PV) 外周血骨髓系细胞内 LC3- II 蛋白的表达



A: K562 细胞常规培育组; B: HEL 细胞常规培养组; C: 雷帕霉素 (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理组; D: 3-甲基腺嘌呤 (10 mmol/L) 处理组

图 2 荧光显微镜下观察自噬诱导剂和抑制剂作用 48 h 细胞内荧光强度变化 (吖啶橙染色, $\times 40$)

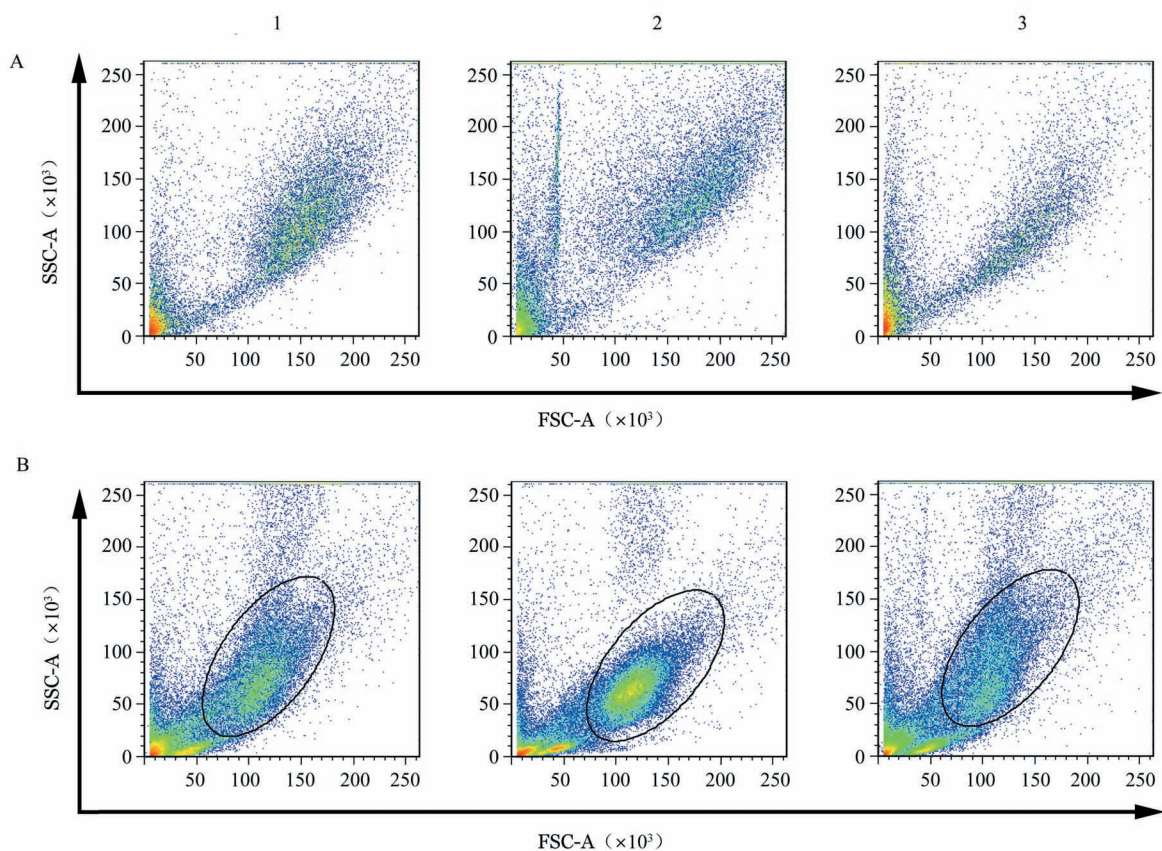
HEL细胞48 h后,细胞内红色荧光强度明显比K562细胞增强,提示HEL细胞内早期自噬溶酶体生成,LC3- II 高表达(图2)。Western blot检测结果显示,PV患者外周血细胞中LC3- II 蛋白相对表达水平(0.31 ± 0.13)明显高于健康志愿者(0.17 ± 0.25),差异有统计学意义($P=0.001$)。

2. 诱导或抑制自噬对HEL细胞内LC3- II 蛋白表达的影响:自噬诱导剂雷帕霉素和自噬抑制剂3-MA分别作用于HEL细胞48 h后,流式细胞术检测显示雷帕霉素处理组HEL细胞内LC3- II 蛋白平均荧光强度增加,而3-MA处理组HEL细胞内LC3- II 蛋白平均荧光强度降低,常规培养组、雷帕霉素处理组、3-MA处理组细胞内平均荧光强度分别为 $95\ 533\pm 4\ 276$ 、 $268\ 333\pm 33\ 561$ 及 $20\ 000\pm 7\ 286$,3组比较差异有统计学意义($F=121.779$, $P<0.001$),组内两两比较差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)(图3)。荧光显微镜下观察到雷帕霉素处理组HEL细胞内红色荧光强度较常规培养组明显增加,提示早期自噬溶酶体生成,LC3- II 表达增加;而3-MA处理组HEL细胞内红色荧光减少,提示早

期自噬溶酶体生成减少,LC3- II 表达降低(图2)。

3. 诱导或抑制自噬对PV患者骨髓细胞内LC3- II 蛋白表达影响:常规培养组、雷帕霉素处理组、3-MA处理组髓系细胞内LC3- II 蛋白平均荧光强度分别为 $75\ 433\pm 10\ 921$ 、 $98\ 000\pm 2\ 476$ 及 $48\ 733\pm 6\ 979$,3组比较差异有统计学意义($F=31.442$, $P=0.001$),组内两两比较差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)(图3);Western blot检测结果显示,非恶性血液病志愿者骨髓细胞、PV患者常规培养组、雷帕霉素处理组及3-MA处理组LC3- II 相对表达水平分别为 2.04 ± 0.05 、 2.82 ± 0.39 、 3.78 ± 0.13 及 1.59 ± 0.19 ,差异有统计学意义($F=53.754$, $P<0.001$)。PV患者常规培养组骨髓细胞内LC3- II 蛋白表达高于非恶性血液病志愿者骨髓细胞($P=0.003$),雷帕霉素和3-MA分别作用48 h后,3-MA处理组骨髓细胞内LC3- II 蛋白表达较常规培养组明显降低($P<0.001$);雷帕霉素处理组骨髓细胞内LC3- II 蛋白表达较常规培养组升高($P=0.001$)。

4. 自噬活性改变对HEL细胞及PV患者骨髓细胞增殖活力的影响:结果见图4,两组细胞常规培养



1: 常规培养组;2: 雷帕霉素(10 μmol/L)处理组;3: 3-甲基腺嘌呤(10 mmol/L)处理组

图3 流式细胞术检测自噬诱导剂和抑制剂作用48 h JAK2 V617F 阳性 HEL 细胞(A)及真性红细胞增多症(PV)患者骨髓髓系细胞(B)内 LC3- II 蛋白的表达

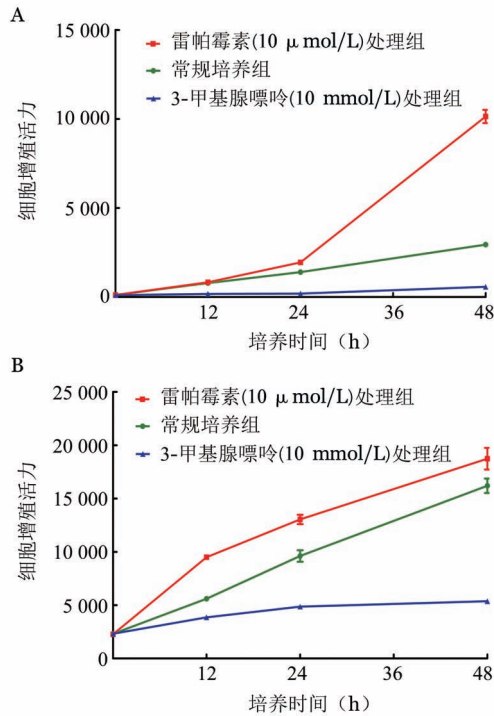


图4 Celltiter-Glo®发光法检测诱导或抑制自噬对JAK2 V617F阳性HEL细胞(A)和真性红细胞增多症患者骨髓细胞(B)增殖活力的影响(每组设3个复孔,实验重复3次)

均呈增殖状态,不同时间点差异有统计学意义(HEL细胞: $F=2\ 719.341, P < 0.001$;PV患者骨髓细胞: $F=1\ 023.253, P < 0.001$)。不同药物处理细胞不同时间点增殖活力比较差异有统计学意义(HEL细胞: $F=1\ 238.089, P < 0.001$;PV患者骨髓细胞: $F=172.499, P < 0.001$),雷帕霉素处理12、24、48 h细胞增殖活力均高于常规培养组,3-MA处理12、24、48 h细胞增殖活力均低于常规培养组。培养48 h时,HEL细胞常规培养组、雷帕霉素处理组、3-MA处理组细胞增殖活力分别为 $29\ 435 \pm 972$ 、 $101\ 413 \pm 3\ 720$ 及 $5\ 732 \pm 166$,PV患者骨髓细胞常规培养组、雷帕霉素处理组、3-MA处理组细胞增殖活力分别为 $16\ 200 \pm 680$ 、 $18\ 744 \pm 1\ 015$ 及 $5\ 371 \pm 56$ 。

讨 论

细胞自噬(autophagy)是伴随自噬体形成和溶酶体降解的动态变化过程。在自噬体形成过程中,LC3被加工形成水溶性的LC3- I,LC3- I的修饰形式为脂溶性的LC3- II,位于自噬体的内膜和外膜,LC3- II通常被用作哺乳动物细胞中自噬体膜的标记蛋白。本研究我们参照文献[6]建立的新型流式细胞术,利用含有0.05%皂素的PBS预处理细胞,使

水溶性的LC3- I流出细胞,而脂溶性的LC3- II定位于自噬体膜,我们便可以利用流式细胞术精确地检测LC3- II蛋白表达的荧光强度,避免了传统流式细胞术无法区分LC3- I与LC3- II蛋白,以及荧光显微镜观察自噬体的主观性,不仅提高了自噬检测的敏感性,而且可以快捷定量检测细胞自噬水平。

我们首先在细胞株水平对JAK2 V617F阳性HEL细胞的自噬活性进行检测,结果发现HEL细胞内LC3- II蛋白表达明显高于K562细胞,荧光显微镜下观察到HEL细胞内红色荧光较K562细胞增强,说明具有JAK2 V617F突变的HEL细胞存在较高的基础自噬活性。随后在原代造血细胞水平对12例JAK2 V617F阳性PV患者和15例健康体检者外周血细胞内LC3- II蛋白表达水平进行比较,流式细胞术检测结果显示PV患者外周血细胞内LC3- II蛋白荧光强度值明显高于健康体检者,Western blot同样观察到PV患者外周血细胞内LC3- II蛋白表达较健康者高,与细胞株检测结果相符。因此我们在细胞株和患者造血细胞两个水平,利用流式细胞术、AO染色法和Western blot法三种方法证实HEL细胞和JAK2 V617F阳性PV患者造血细胞自噬活性增加。

自噬作为一种广泛存在于细胞中的病理生理过程,自噬的调控异常与肿瘤的发生发展密切相关,那么调控细胞自噬活性对JAK2 V617F阳性PV患者造血细胞的增殖是否有影响?自噬的发生过程有赖于一系列自噬相关通路的调控,哺乳动物雷帕霉素靶点(Mammalian target of rapamycin, mTOR)信号途径可抑制自噬的发生,是自噬的负调控分子,雷帕霉素在真菌和哺乳动物细胞中可抑制mTOR的活性,从而诱导自噬。我们首先在细胞株水平利用雷帕霉素诱导自噬观察HEL细胞的增殖活力,结果发现雷帕霉素作用于HEL细胞后,HEL细胞内LC3- II蛋白表达增加,不同时间点检测细胞增殖活力与常规培养组相比明显增强;磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/Akt(PKB)途径也是自噬调控的通路之一,该通路具有促进细胞生长的作用,经典的自噬抑制剂3-MA通过抑制Class III PI3K(Vps34)的活性抑制自噬,我们利用3-MA作用于HEL细胞观察其增殖活力,结果显示HEL细胞内LC3- II蛋白表达下降,不同时间点检测细胞增殖活力与常规培养组相比明显降低。在PV患者原代细胞水平进一步检测自噬活性改变对3例JAK2 V617F阳性PV患者骨髓细胞增殖活力的影响,结果显示PV患者骨髓细

胞常规培养,雷帕霉素和3-MA通过调控自噬对PV患者的骨髓细胞分别有促进和抑制细胞增殖的作用,与细胞株检测结果相符。由此我们在细胞株和患者造血细胞两个水平,结合流式细胞术和Western blot两种方法证实自噬活性增强是维持和/或促进JAK2 V617F阳性HEL细胞和PV患者造血细胞增殖的机制之一。

那么JAK2 V617F阳性PV患者造血细胞是如何保持较高水平自噬活性的?自噬调控又是通过何种途径影响细胞增殖的?Mortensen等^[7-8]通过敲除造血干细胞(HSC)自噬相关基因-7(Atg7)使HSC丧失自噬功能,结果显示细胞增殖受到抑制,淋巴细胞系和髓系细胞发生损伤,小鼠几周内即发生死亡,证明自噬在造血干细胞及其祖细胞的生成、发育及功能维持中发挥着重要的作用。Yoon等^[9]研究发现Hela细胞在饥饿或被雷帕霉素诱导自噬后JAK2/STAT3信号通路可被激活,激活的转录因子STAT3促进了肿瘤细胞在正常和饥饿条件下的生存。在我们的前期研究中,利用JAK2 V617F阳性HEL细胞模型,证明了JAK2 V617F突变基因通过活化JAK2/STAT5信号通路及其下游靶基因PTTG1参与了PV细胞的增殖^[10]。因此我们推测JAK2 V617F基因突变介导的JAK2/STAT5信号通路及下游靶基因PTTG1诱导了PV患者造血细胞自噬活性的增高。对自噬调控的进一步研究将为阐明MPN的发病机制及发现新的治疗靶点提供依据。

参考文献

[1] Ma X, Vanasse G, Cartmel B, et al. Prevalence of polycythemia

vera and essential thrombocythemia[J]. Am J Hematol, 2008, 83(5): 359-362.

- [2] Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? [J]. Blood, 2014, 2014(1):277-286.
- [3] 肖志坚. 骨髓增殖性肿瘤和骨髓增生异常综合征/骨髓增殖性肿瘤: 开启分子诊断新时代[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(5): 385-386.
- [4] Nencioni A, Cea M, Montecucco F, et al. Autophagy in blood cancers: biological role and therapeutic implications[J]. Haematologica, 2013, 98(9): 1335-1343.
- [5] Wadleigh M, Tefferi A. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 World Health Organization criteria[J]. Int J Hematol, 2010, 91(2):174-179.
- [6] Eng KE, Panas MD, Karlsson Hedestam GB, et al. A novel quantitative flow cytometry- based assay for autophagy [J]. Autophagy, 2010, 6(5): 634-641.
- [7] Mortensen M, Soilleux EJ, Djordjevic G, et al. The autophagy protein Atg7 is essential for hematopoietic stem cell maintenance [J]. J Exp Med, 2011, 208(3): 455-467.
- [8] Mortensen M, Watson AS, Simon AK. Lack of autophagy in the hematopoietic system leads to loss of hematopoietic stem cell function and dysregulated myeloid proliferation[J]. Autophagy, 2011, 7(9): 1069-1070.
- [9] Yoon S, Woo SU, Kang JH, et al. STAT3 transcriptional factor activated by reactive oxygen species induces IL6 in starvation-induced autophagy of cancer cells [J]. Autophagy, 2010, 6(8): 1125-1138.
- [10] Shen XL, Wei W, Xu HL, et al. JAK2V617F/STAT5 signaling pathway promotes cell proliferation through activation of Pituitary Tumor Transforming Gene 1 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(4): 707-712.

(收稿日期:2014-12-25)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

关于非法网站冒用《中华血液学杂志》名义进行征稿的特别提醒

近期我们发现一些网站冒用《中华血液学杂志》名义征稿,并承诺“职称论文权威快速代发”。为此,本刊特别提醒各位作者,向《中华血液学杂志》投稿,一定要登录中华医学会官方网站首页(<http://www.cma.org.cn/>),进入“业务中心”,在“杂志社远程稿件管理系统”中投稿,或通过本刊官方网站(<http://www.hematoline.com>)进行投稿,以免造成不必要的损失。本刊编辑部联系电话:022-27304167。

本刊编辑部