

文章编号:1004-7220(2010)04-0277-06

通过流动腔实验测量 HL-60 细胞微绒毛弹性

黄强¹, 凌颖琛^{1,2}, 李趣欢¹, 吴建华¹, 方颖¹

(1. 华南理工大学 生物科学与工程学院, 广州 510006; 2. 中山大学 生命科学学院, 广州 510275)

摘要: 目的 滤除平行平板流动腔实验数据中的噪声,以清晰观测细胞滚动黏附过程,并发展基于流动腔实验的细胞微绒毛弹性的测定方法。**方法** 运用小波分析方法技术,分离从流动腔实验中得到的 E-选择素介导的 HL-60 细胞滚动黏附实验数据的高频热噪声信号;利用能量均分定理和拴缚细胞的力平衡方程,构建细胞微绒毛的伸长与弹性间的关系。**结果** 通过小波分析滤噪,可以清晰定位细胞滚动黏附的不同阶段:自由滚动-减速-停止-加速;在壁面剪切应力为 0.01 ~ 0.06 Pa 的条件下,源于热噪声的细胞脉动能量约占总的脉动能量的 80%,测得 HL-60 细胞微绒毛的弹簧常数为 $(13.7 \pm 7.4) \mu\text{N}/\text{m}$ 。**结论** 小波分析技术可滤除流动腔细胞滚动黏附实验数据中的热噪声;细胞热脉动信号中含有细胞微绒毛弹性的信息,使得人们可以采用流动腔实验技术来测量细胞微绒毛的弹性。

关键词: 细胞黏附; 细胞微绒毛; 刚度; 小波分析; 平行平板流动腔; HL-60 细胞

中图分类号: R138.01 **文献标志码:** A

Measuring the elasticity of HL-60 cell microvillus by parallel plate flow chamber

HUANG Qiang¹, LING Ying-chen^{1,2}, LI Qu-huan¹, WU Jian-hua¹, FANG Ying¹ (1. School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 2. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract; Objective To filter the noises in the experimental data of parallel plate flow chamber for observing more clearly the events occurring in the process of cell rolling adhesion and develop a new method to measure the elasticity of microvillus on cells based on the flow chamber experiment. **Method** The experiment of E-selectin regulated HL-60 cell rolling was performed by flow chamber system, and the data were denoised by wavelet analysis so that the high frequency thermal response signals were extracted from the data. Based on the equipartition theorem and equilibrium equations of tethered cell, the relationship between the cell microvillus spring constant and thermal fluctuations was constructed. **Results** Filtering noises from cell rolling time course by wavelet analysis, the events such as free rolling, slowing down, stopping and speeding up of rolling cell could be observed more easily; almost 80% of fluctuating energy of a rolling cell was involved in its high frequency fluctuation which was regarded as the thermal response of the cell to the Brown movement of water molecules, and the spring constant of microvillus on HL-60 cell was measured to be $(13.7 \pm 7.4) \mu\text{N}/\text{m}$ at wall shear stress from 0.01 ~ 0.06 Pa. **Conclusions** The wavelet analysis can filter the thermal noises in cell rolling data of flow chamber experiment, and since the rigidity information of cell microvillus is involved in and can be extracted from the high frequency thermal fluctuation of the rolling cell, the parallel plate flow chamber experimental technique can be extended to measure the elasticity of microvillus on cells.

Key words : Cell adhesion; Microvillus; Elasticity; Wavelet analysis; Parallel plate flow chamber; HL-60 cell

收稿日期:2010-06-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10772069, 10972081),广东省工业攻关项目(2008B011000017)。

作者简介:黄强(1985-),研究方向:生物力学;凌颖琛(1981-),并列第一作者,研究方向:生物力学。

通讯作者:方颖,副教授, Tel: (020) 39380608; E-mail: yfang@scut.edu.cn。

生物分子和细胞结构的力学性质与其生物学功能的发挥密切相关。研究表明,TCR(T Cell Receptor)和 pMHC(peptide Major Histocompatibility Complex)的刚度越大,其复合物的寿命越长^[1];微管蛋白刚度的改变会影响微管的组装过程^[2];MAPs(Microtubule-Associated Proteins)的结合将导致微管刚度的提高,进而调控神经信号的传递过程^[3];白细胞微绒毛的弹性有可能降低血液剪切力对黏附键的影响,增加黏附键的生存时间^[4]。

测定各种黏附分子、细胞微绒毛、细胞膜与骨架等的刚度,以更好地理解相应的刚度依赖型力学生物学过程,受到生物物理和生物力学家的持续关注。一般来说,棒(管)状蛋白分子或细胞微绒毛的刚度,常用拉伸与弯曲刚度来度量,并通过原子力显微镜、光镊、微吸管和电镜等实验来测量^[4-10]。相应的主要实验数据处理方法有拉伸和热分析方法^[5-6]。拉伸方法是指通过拉伸分子,获取分子受力—伸长曲线,进而利用诸如 WLC(Worm-like Chain)、FJC(Free Joint Chain)和 MFJC(Modified Free Joint Chain)等理论模型,提取分子刚度信息的方法;对热分析方法而言,分子的刚度信息乃是从热扰动引起的分子形态变化中提取。迄今为此,若干重要的黏附分子和细胞微绒毛的刚度已经得到测定,如 Marshall等^[5]通过原子力显微镜实验,测定了 P-选择素和 L-选择素的弹簧常数;通过微吸管实验,Shao等^[4]测量了白细胞微绒毛的弹簧常数、白细胞和淋巴细胞上单个微绒毛的弹性模量^[8];方颖等^[9]利用电镜实验图像数据,测得了 P-选择素和 PSGL-1 的弯曲刚度;Gittes等^[10]则测得了微管和肌动蛋白的弯曲刚度。

在炎症和凝血过程中,白细胞将受化学信使的引导,奔赴炎症处并在该处停留下来。白细胞在血管壁各处是否顺利滚动或受阻停滞,受到选择素与其配体间相互作用和血流剪应力的双重调制。选择素已知的家族成员为 P-、L-、和 E-选择素,它们都具有相似的结构特征。E-选择素表达于受细胞因子或化学因子激活的内皮细胞上,已确认的表达在白细胞上的 3 个主要配体是 PSGL-1, ESL-1(E-selectin Ligand-1)和 CD44,介导白细胞的滚动黏附^[11]。在血流剪应力环境中,白细胞微绒毛与黏附分子复合物均将承受环境荷载的作用而变形,进而可能影响

其功能与其相互作用^[4]。然而,这尚是一个不够明晰的重要事件。之所以如此,在于研究细胞滚动黏附的平行平板流动腔(Parallel plate flow chamber, PPFC)实验数据处理方法,还不能用来提取细胞微绒毛与黏附分子键复合物的伸长与刚度等信息^[12-13]。因为在流动腔实验中,由于存在诸如细胞形态差异、局部流场扰动和水分子布朗运动等的影响,使得测量得到的细胞滚动运动时间历程曲线有较大的噪声,导致难以明晰分辨细胞在自由和拴缚两种状态间转换的细节,及准确度量拴缚态细胞在流体剪应力作用下产生的微小位移。

有鉴于此,本研究利用小波分析技术和动力学分析方法,分析了 E-选择素介导的 HL-60 细胞滚动黏附的流动腔实验数据,研究了自由与拴缚的 HL-60 细胞滚动黏附的时间历程、热脉动响应及其能量特征,旨在发展一种新的测量细胞微绒毛刚度的流动腔实验数据处理方法。

1 材料与方法

1.1 细胞和蛋白分子

表达有 PSGL-1 的人早幼粒白血病细胞系 HL-60(Human promyelocytic leukemic, HL-60)在 2 mM 左旋谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素、10 g/L 链霉素、0.25 g/L 两性霉素 B 和 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中悬浮培养。E-选择素购自 R&D Systems(Minneapolis, MN),为人类 IgG1 Fc 段和 E-选择素胞外区段的嵌合体。

1.2 流动腔实验与数据滤噪

平行平板流动腔(PPFC)实验工作区大小为 4.3 cm × 1.3 cm × 0.01 cm。在不同剪切应力(0.01 ~ 0.06 Pa)条件下,使 HL-60 细胞(1×10^9 个/L)通过铺有 E-选择素(10 mg/L)的基质,用高速摄像机以 100 ~ 300 fps 速度记录细胞的运动过程。利用图像分析软件 Image Pro Plus 跟踪细胞 5 ~ 10 s,得到细胞的运动轨迹。采用小波分析技术,利用 Sym8 小波函数,三层分解并过滤测量得到的细胞滚动速度中的热噪声,也就是将滚动速度 U 的实测数据分解为:

$$U = u_0 + u_1 + u_2 + u_3 \quad (1)$$

式中, u_1 、 u_2 和 u_3 分别为 U 的高频(75 ~ 150 Hz)、次高频(37.5 ~ 75 Hz)和低频(18.75 ~ 37.5 Hz)小

波分量,均值为零,而 u_0 为滤波后重构的滚动速度。

1.3 稳定拴缚细胞的力平衡方程

设细胞微绒毛与黏附分子复合物的长度分别为 l_1 和 l_2 , 弹簧常数分别为 k_1 和 k_2 , 则拴缚细胞的微丝长度 l_0 和弹簧常数 k 可由下式:

$$l_0 = l_1 + l_2; \quad k^{-1} = k_1^{-1} + k_2^{-1} \quad (2)$$

在忽略细胞与基底间的摩擦力和水分子布朗运动引起的热激励力作用下,被稳定拴缚的半径为 a 的球形细胞满足如下力平衡方程^[12-13]:

$$\begin{aligned} 6\pi\mu a^2 G \times 1.7005 - f \cos \alpha &= 0 \\ 8\pi\mu a^3 G \times 0.4720 - af \cos(\alpha + \theta) &= 0 \end{aligned} \quad (3)$$

式中: G 为剪切速率; μ 为流体黏性系数; f 为作用在细胞上的拴缚力, $f = k(l - l_0)$; l 表示受力拉伸后微丝的长度; a 表示作用在分子键上的拉力与液体流动方向的夹角; θ 为球心到球形细胞膜表面拴缚力作用点之径向与液体流动垂直方向的夹角(参见图 1)。微丝的长度 l 和水平臂(Lever arm, 细胞被捕获后在流动方向水平滚动的距离) x 为:

$$\begin{aligned} x &= a \sin \theta + l \cos \alpha \\ l \sin \alpha &= a(1 - \cos \theta) \end{aligned} \quad (4)$$

在稳定拴缚态, $x = x_m$, 通过联立方程(3)和(4), 表明拴缚力 f 可通过直接测定水平臂 x_m 而获得。当细胞微绒毛与黏附分子复合物的长度已知, 则不但可以测量黏附分子键的受力, 还可获得弹簧常数 k 的值。

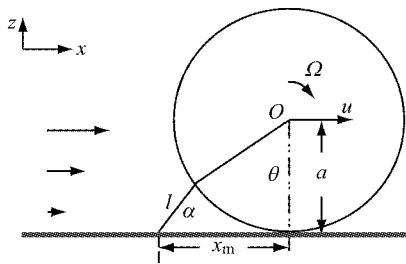


图1 剪切流中,质心速度为 u 、转动速度为 Ω 的拴缚细胞沿壁面水平滚动运动示意图

Fig.1 Diagram of a tethered cell translating (with velocity u) and rotating (with angular velocity Ω) in parallel to the wall in a viscous simple shear flow

1.4 刚度与热噪声的关系

一般在环境水分子热运动的作用下,拴缚细胞的热响应有 3 个平移和 3 个旋转等 6 个模式。由于

拴缚细胞的热响应偏离力平衡位置的幅度小,可视为线性系统,满足能量均分定理,即:系统任一热响应模态的能量为 $k_B T/2$, 其中,波尔兹曼常数 $k_B = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J/K}$, T 为绝对温度^[14]。这里仅考虑细胞在二维(x - z)平面的滑移滚动这一简易情形。这样,细胞热响应模态只有随流(x 方向)和(绕垂直于 x - z 平面的 y 轴)旋转这 2 个模态。于是,利用几何关系式(4),易知环境热激励力导致的拴缚细胞系统之总的变形能 ΔV 可表达如下:

$$\begin{aligned} \Delta V &= \frac{1}{2} k \langle \varepsilon^2 \rangle = \frac{1}{2l^2} k [(x - a \sin \theta)^2 \langle \varepsilon_x^2 \rangle + \\ &\quad a^2 (a \sin \theta - x \cos \theta)^2 \langle \varepsilon_\theta^2 \rangle] \end{aligned} \quad (5)$$

式中,算符 $\langle \cdot \rangle$ 表示统计平均, $\varepsilon = dl$, $\varepsilon_x = dx$, $\varepsilon_\theta = d\theta$ 。再由能量均分定理,上式右边的第 1 项(源于细胞随流方向脉动模态的变形能)等于 $k_B T/2$ 。这样可得:

$$k = \frac{k_B T}{\langle \varepsilon_x^2 \rangle} \left[\frac{1}{x - a \sin \theta} \right]^2 \quad (6)$$

上式给出了一种通过测量水平臂(Lever arm) x 和细胞随流位移脉动 ε_x 来估计细胞微绒毛与黏附分子复合物拉伸刚度的方法。因为在细胞停留阶段的力平衡态, $l = l(x)$, $\theta = \theta(x)$ 。事实上,对稳定拴缚细胞围绕力平衡位置的热脉动响应而言,利用被测定的水平臂(Lever arm) x 的值 x_m , 即令 $x = x_m$, 再联立方程(3)和(4),可得到 l 和 θ 的值。

2 结果与讨论

2.1 细胞滚动黏附的时间历程与滤噪

在流体壁面剪切应力为 30 mPa 的情形下,一个 HL-60 细胞在铺有浓度为 10 mg/L 的 E-选择素之基质上的实测滚动黏附事件示于图 2A 之中。这一滚动黏附事件可分自由滚动、减速滚动、停留、加速滚动 4 个阶段的周期循环过程。起初,自由的细胞近壁面滑移滚动一段时间(t_1)之后,被表达在基质上的黏附分子 E-选择素所捕获而被拴缚,使得细胞滚动速度经历一个急剧的减速过程;到达 t_2 时刻以后,细胞将停留一段时间($t_3 \sim t_2$);此后,拴缚细胞的黏附分子键解离,重获自由的细胞将在水动力的驱使下,经历一个短促的加速滚动过程,直到恢复到拴缚前的滚动状态,这一加速过程中断的时间 t_4 , 可能由于新的黏附分子键的产生而提前到来。

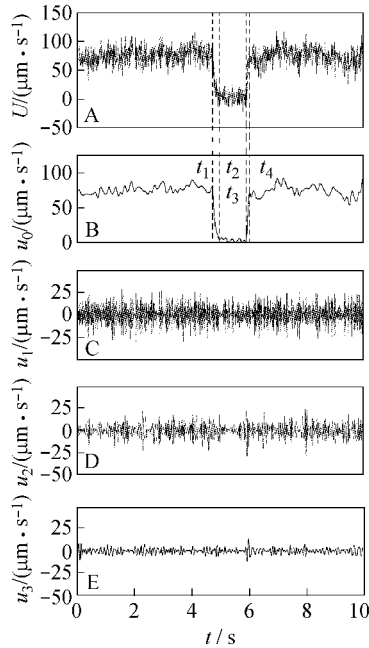


图2 在壁面剪应力为 0.03 Pa 时,在铺有 E-选择素 (10 mg/mL) 的基质上的 HL-60 细胞随流滚动路径的小波分解与重构 A 实测细胞瞬时滚动速度 u ; B 降噪后重构的细胞滚动速度 u_0 时间历程曲线; C 第 1 层小波分量 u_1 , 为实测细胞瞬时滚动速度的高频噪声; D 第 2 层小波分量 u_2 , 为实测细胞瞬时滚动速度的次高频噪声; E 第 3 层小波分量 u_3 , 为实测细胞瞬时滚动速度的低频噪声

Fig. 2 Filtrating and restructuring of rolling pathway of a cell over a substrate coated with 10 mg/mL E-selectin at wall shear stress being 0.03 Pa with three levels. A, u , the instantaneous rolling pathway of a cell in flow; B, u_0 , the restructured cell rolling pathway after data noises being filtrated; C, u_1 , the high frequency noise component in the data; D, u_2 , the sub-high-frequency noise component from the data; E, u_3 , the lower frequency noise component in the data

在测量得到的细胞滚动速度历程曲线中,含有显著的噪声信号(见图 2A),导致流动腔测量数据精度的降低,并使得难以明晰分辨细胞在自由和拴缚两种状态间转换的时间节点(t_1 和 t_3)与过程细节。为滤除噪声,本文采用小波分析技术,利用小波函数 Sym 8,对滚动速度 u 的实验数据施行 3 层分解。图 2B、C、D 和 E 给出了滚动速度的实测值(见图 2A)经小波分解后的结果。结果表明,较之实测数据而言,细胞滚动速度的基波分量 u_0 的时间历程曲线(见图 2B)更清晰地显示了细胞滚动黏附各阶段事件节点与特征;也就是说,对实验数据施行 3 层分解后,剩余信号中的高频分量已被基本去除,获得较好的降噪效果。

2.2 不同噪声水平的细胞脉动能

细胞滚动速度的噪声,乃源于流动腔实验系统噪声、细胞大小、细胞膜表面拓扑结构与微绒毛形态的差异、局部不均匀流场扰动和水分子布朗运动等因素。笔者推测,高频滚动速度噪声分量 u_1 ,可能主要体现细胞对水分子布朗运动引起的热激励力的响应;次高频滚动速度分量 u_2 ,可能主要与细胞膜表面拓扑结构与表面微绒毛形态的差异导致的局部不均匀流场扰动有关;而较低频滚动速度分量 u_3 ,则可能源于流动腔实验系统固有噪声,如由于细胞变形与大小的不同,导致观测细胞滚动事件时,显微镜的聚焦平面与细胞质心位置间的偏离等。

利用小波分析技术,从实测的 20 个 HL-60 细胞在不同剪应力条件下的滚动黏附事件中,分离出源于不同噪声(频率)水平的细胞脉动动能 $E_j = m_c \langle u_j^2 \rangle$ ($j=1,2$ 或 3),并计算了它们在总的脉动动能 $E_T (= E_1 + E_2 + E_3)$ 中的份额(见图 3)。结果表明,自由与拴缚细胞的次高频与较低频脉动动能占总脉动动能的比重 E_2/E_T 和 E_3/E_T 分别为 20% 和 5% 左右,他们随壁面剪应力的增加而缓慢增多。尽管无显著的统计学差异,但依然提示了这 2 种噪声和细胞与水动力间的相互作用相关的可能性;在不同剪应力条件下,自由与拴缚细胞的高频脉动动能占细胞总脉动动能的份额 E_1/E_T ,是细胞脉动动能的主

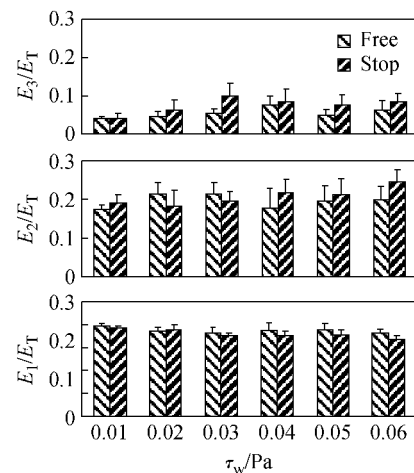


图3 剪切流中,自由与拴缚的滚动细胞的 3 种不同噪声或频率水平的脉动动能 E_1, E_2 和 E_3 在细胞总的脉动动能 E_T 中的份额

Fig. 3 Fractions of the fluctuating kinetic energy E_1, E_2 and E_3 with their different frequency or noise levels in total fluctuating kinetic energy of free or tethered cells rolling in shear flows of different wall shear stresses

体;他们与前两种噪声相反,随壁面剪应力的增加而缓慢降低,幅度约从 80%降低至 72%左右。推测其可能原因在于:由于细胞的高频脉动动能 E_1 主要源于热噪声,故与水动力环境无关,而细胞的次高频与低频脉动动能 E_2 和 E_3 ,主要和细胞大小、膜表面拓扑结构与微绒毛形态差异、局部不均匀流场扰动等因素相关,以致他们将随壁面剪应力的增加而增加,进而使得细胞的高频脉动动能占细胞总脉动动能的比重 E_1/E_T 将随壁面剪应力的增加而降低。

2.3 HL-60 细胞绒毛的弹簧常数

细胞微绒毛要比黏附分子键复合物柔软得多,也就是细胞微绒毛弹簧常数 k_1 远小于黏附分子键复合物的弹簧常数 k_2 。事实上,Marshall 等^[5]利用原子力显微镜的方法,测量出 P-选择素/PSGL-1 和 L-选择素/PSGL-1 复合物的弹簧常数为 1 mN/m 和 4 mN/m,他们比 Shao 等^[4]利用微吸管实验测定的白细胞微绒毛的弹簧常数的值 43 $\mu\text{N}/\text{m}$ 大 2 个数量级。如是,从式(1)可知,由黏附分子键与细胞微绒毛复合物的弹簧常数 k 近似等于细胞微绒毛弹簧常数 k_1 。此外,本文还假设,拴缚细胞对环境热噪声的位移脉动响应,可由实测的拴缚细胞的位移时间历程的高频噪声分量来度量。

在室温($t = 298 \text{ K}$)环境和不同剪应力条件下,测量了 20 个拴缚的 HL-60 细胞的位移(x)时间历程和水平臂长度 x_m ,并通过小波分析,从拴缚的 HL-60 细胞之位移时间历程中提取每条时间历程曲线的高频噪声分量,进而得到了拴缚细胞对环境热噪声响应的随流位移振幅 ε_x 的均方值。当 τ_w 分别等于 0.01 ~ 0.06 Pa 时,相应的实测无量纲水平臂长度 x_m/a (均方值 \pm 偏差)是 (0.672 \pm 0.214)、(0.708 \pm 0.21)、(0.72 \pm 0.208)、(0.81 \pm 0.2)、(0.831 \pm 0.279)和(0.789 \pm 0.312),而对应随流位移振幅 ε_x (均方值 \pm 偏差)分别为 (43.5 \pm 6.5)、(44.4 \pm 4.1)、(44.3 \pm 3.4)、(41.7 \pm 6.1)、(36.0 \pm 7.3)和(35.5 \pm 5.5) nm。利用水平臂长度 x_m 和随流位移振幅的均方值 ε_x 的实测数据,联立方程(3)、(4)和(6),得到分子键与细胞绒毛复合物的弹簧常数 k ,如图 4 所示。结果表明,在壁面剪切力 $\tau_w = 0.01 \sim 0.06 \text{ Pa}$ 的条件下,HL-60 细胞微绒毛的弹簧常数值约为 (13.7 \pm 7.4) $\mu\text{N}/\mu\text{m}$,和白细胞相比,小 2 到 3 倍;随着剪切力的增大,HL-60 细胞微

绒毛的刚度有增加的趋势,也就是说,被拉伸得越长,细胞微绒毛可能变得越硬,这一趋势已在 Shao 等^[4]关于白细胞微绒毛的测量结果中观测到。

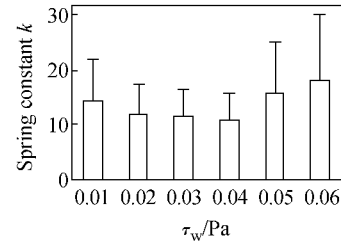


图 4 在壁面剪应力 $\tau_w = 0.01 \sim 0.06 \text{ Pa}$ 的条件下,测得的 HL-60 细胞微绒毛的弹簧常数 k

Fig.4 The data of spring constant k of the microvillus on HL-60 cell in shear flows of wall shear stress $\tau_w = 0.01 \sim 0.06 \text{ Pa}$

由于 HL-60 细胞是白细胞的前体细胞,人们可以预期这两种细胞的微绒毛具有相近的变形能力。然而,本文的结果表明,和白细胞相比,HL-60 细胞微绒毛的刚度要小 2 倍左右。这可能是测量方法会低估细胞微绒毛的刚度之故。事实上,在这里不但没有计及细胞与基底间的摩擦效应,还忽略了细胞变形的影响,将细胞视为刚性球,这可能导致对细胞微绒毛复合物变形的高估,进而低估细胞的刚度,导致测量精度的降低;同时,由于本实验采用 100 ~ 300 fps 速度记录细胞的运动过程,使得遗漏了部分高频噪声信息,进而有可能高估热噪声能量;此外,如何从实测的细胞滚动黏附的时间历程曲线中完整地分离出热噪声分量,还是一个理论和技术的挑战。尽管如此,本文建议的利用流动腔实验来测量细胞微绒毛刚度的方法,依然不失其简易有效性。

3 结论

利用小波分析技术,不但可以过滤出细胞滚动黏附实验数据中的热噪声响应信号,使得可以更方便地辨识出细胞处在滚动黏附的哪一阶段,而且在分离出的细胞对热噪声的响应信号中,蕴含可辨识出细胞微绒毛刚度的信息。本文测量得到的 HL-60 细胞微绒毛的弹簧常数值约为 (13.7 \pm 7.4) $\mu\text{N}/\mu\text{m}$ 。

参考文献:

[1] Qi S, Krogsgaard M, Davis MM, et al. Molecular flexibility

- can influence the stimulatory ability of receptor-ligand interactions at cell-cell junctions[J]. Proc Natl Acad Sci, 2006, 103(12):4416-4421.
- [2] Keskin O, Durell SR, Bahar I, *et al.* Relating molecular flexibility to function: a case study of tubulin[J]. Biophys J, 2002, 83:663-680.
- [3] Felgner H, Frank R, Biernat J, *et al.* Domains of neuronal microtubule-associated proteins and fleural rigidity of microtubules[J]. J Cell Biol, 1997, 138(5):1067-1075.
- [4] Shao JY, Ting-Beall HP, Hochmuth RM. Static and dynamic lengths of neutrophil microvilli[J]. Proc Natl Acad Sci, 1998, 95:6797-6802.
- [5] Marshall BT, Sarangapani KK, Wu J, *et al.* Measuring molecular elasticity by atomic force microscope cantilever fluctuations[J]. Biophys J, 2006, 90(2):681-692.
- [6] Wu J, Fang Y, Yang D. Thermo-mechanical responses of a surface-coupled AFM cantilever[J]. J Biomech Eng, 2005, 127:1208-1215.
- [7] Ying J, Ling Y, Westfield LA, *et al.* Unfolding the A2 domain of von Willebrand factor with the optical trap[J]. Biophys J, 2009, 98(8):1685-1693.
- [8] Yao DK, Shao JY. Flexibility of single microvilli on live neutrophils and lymphocytes[J]. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys, 2007, 76:021907.
- [9] Fang Y, Wu J, McEver RP, *et al.* Bending rigidities of cell surface molecules P-selectin and PSGL-1[J]. J Biomech, 2009, 42(3):303-307.
- [10] Gittes F, Mickey B, Nettleton J, *et al.* Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape[J]. J Cell Biol, 1993, 120(4):923-934.
- [11] Hidalgo A, Peired AJ, Wild MK, *et al.* Complete identification of E-selectin ligands on neutrophils reveals distinct functions of PSGL-1, ESL-1, and CD44[J]. Immunity, 2007, 26:477-489.
- [12] Yago T, Wu J, Wey D, *et al.* Catch bonds govern adhesion through L-selectin at threshold shear[J]. J Cell Biol, 2004, 166(6):913-923.
- [13] Yago T, Lou J, Wu T, *et al.* Platelet glycoprotein Iba forms catch bonds with human WT vWF but not with type 2B von Willebrand disease vWF[J]. J Clin Invest, 2008, 118(9):3195-3207.
- [14] Landau LD, Lifshitz EM. Statistical Physics[M]. Oxford: Pergamon Press, 1980.

· 致读者 ·

本刊有关文稿中法定计量单位的书写要求

本刊法定计量单位实行国务院 1984 年 12 月颁布的《中华人民共和国法定计量单位》，并以单位符号表示，具体使用参照中华医学会杂志社编写的《法定计量单位在医学上的应用》。注意单位名称与单位符号不可混用。如 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$ 应改为 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ；组合单位符号中表示相除的斜线多于 1 条时，应采用负数幂的形式表示，如 $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$ 应采用 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式；组合单位中斜线和负数幂亦不可混用，如前例不宜采用 $\text{ng}/\text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式。在首次出现不常用的法定计量单位时加注与旧制单位的换算系数，下文再出现时只列法定计量单位。人体及动物体内的压力单位使用 mm Hg 或 cm H₂O，但文中首次出现使用括号加注（1 mm Hg = 0.133 kPa）。正文中时间的计量单位表达，凡表示时间的具体数据时，数据后的计量单位应采用 d、h、min、s，而不用天、小时、分钟、秒。量的符号一律用斜体字，如吸光度（旧称光密度）的符号 A，“A”为斜体。

本刊编辑部
2010-08-25