

[文章编号] 1007-385X(2007)03-0206-06

曲古菌素 A 诱导前列腺癌 DU-145 细胞有丝分裂的灾变

张旭辉, 于晓妣*, 赵 名, 易 欣, 杜芝燕, 徐元基(军事医学科学院 基础医学研究所 病理生物学研究室, 北京, 100850)

[摘 要] 目的: 研究组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)曲古菌素(trichostatina A, TSA)对前列腺癌 DU145 细胞有丝分裂的影响, 探讨 HDACi 杀伤肿瘤细胞的新机制。 **方法:** 将前列腺癌 DC-145 细胞分成不加药对照组和不同剂量(100、200、300、400 nmol/L)TSA 加药组, 药物作用一定时间后, MTT 法检测 TSA 对 DU145 细胞的杀伤效应, 瑞氏-姬姆萨染色观察细胞形态的变化, 流式细胞术分析细胞周期的改变, 免疫荧光染色观察 DU145 细胞异常的有丝分裂现象, Western blotting 检测 TSA 处理对 DU145 细胞某些调控蛋白表达的影响。 **结果:** TSA 处理诱导 DU145 细胞发生有丝分裂, TSA 处理 24 h 后多核细胞数目由 0.24% 增加至 1.21%。细胞周期计数结果显示, TSA 处理后有丝分裂各期细胞比例发生明显改变, 表现为有丝分裂前中期细胞所占比例增加, 后末期细胞所占比例减少。免疫荧光染色显示, 细胞出现多极纺锤体、染色体分离滞后等异常有丝分裂现象。TSA 作用于 DU145 细胞后, 能明显抑制 Survivin 蛋白的表达, 增强细胞骨架蛋白 Tubulin 的乙酰化, 并诱导 P21 蛋白高表达。 **结论:** TSA 能够诱使 DU145 细胞发生有丝分裂灾变, 其机制可能与 TSA 降低 Survivin 蛋白的表达以及增强微管蛋白的乙酰化有关。

[关键词] 组蛋白去乙酰化酶; 曲古菌素 A; 前列腺癌细胞; 有丝分裂; 灾变

[中图分类号] R737.25 **[文献标志码]** A

Trichostatin A induces mitotic catastrophe of prostate cancer DU145 cells

ZHANG Xu-hui, YU Xiao-dan*, ZHAO Ming, YI Xin, DU Zhi-yan, XU Yuan-ji (Department of Pathophysiology, Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of trichostatina A (TSA), a histone deacetylase inhibitor, on the mitosis of the prostate cancer cell line DU145 and to elucidate the possible mechanism of TSA anti-tumor activity. **Methods:** The inhibitory effects of TSA(100, 200, 300, and 400 nmol/L)on DU145 cell growth were determined by MTT assay. Wright-Giemsa staining was used to examine the morphological changes of cells. Cell cycle arrest was detected by flow cytometry assay. The abnormalities of mitosis were observed by immunofluorescence staining. Western blotting was used to examine the effect of TSA on expression of the some regulatory protein in DU145 cells. **Results:** TSA treatment induced mitotic catastrophe of DU145 cells, including morphological changes, cell cycle arrest at G₀/G₁ phase, and abnormalities of mitosis and cytokinesis forming multipolar spindle and lagging chromosome. After 24 h treatment with TSA, the multinuclear cells increased from 0.24% to 1.21%. The ratios of cells of prophase and metaphase were increased, while the ratios of anaphase and telophase were decreased. The results of Western blotting indicated that TSA treatment inhibited survivin protein expression, enhanced the acetylation of tubulin and increased the expression of P21 protein. **Conclusion:** Our data indicate that TSA can induce the mitotic catastrophe in the prostate cancer DU145 cells, possibly because TSA can decrease survivin level and enhance the acetylation of tubulin.

[Key words] histone deacetylase; trichostatina A; prostate cancer cell; mitosis; catastrophe

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(3): 206-211]

组蛋白的乙酰化状态由两类酶来决定, 即组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)^[1]。正常生理状态下, 这两类酶对组蛋白乙酰化的修饰调控处于平衡状态。而在细胞发生转化的状态下, HDAC 的活性和水平明显增强, 使得原有的基因表

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(No. 30330620)及面上项目(No. 30672404)。Supported by the Major and General National Natural Science Foundation of China(No. 30330620, 30672404)

[作者简介] 张旭辉(1977-), 女, 河北保定人, 博士研究生, 主要从事肿瘤生物学的研究

* Corresponding author. E-mail: yuxd@nic.bmi.ac.cn

达平衡状态被打破,引起一些影响细胞增殖、调控细胞周期的分子表达失衡,进而导致细胞恶变。

组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)是一类新型高效、低毒的抗肿瘤药物,作用于肿瘤细胞后能够抑制肿瘤细胞增殖、阻滞细胞周期、促进细胞分化或凋亡。这些抑制剂还能够非毒性剂量下,以选择性的方式抑制动物模型中的肿瘤细胞增殖。有关 HDACi 的抗癌机制,先前研究认为与组蛋白乙酰化介导的基因活化有关,但在目前研究所发现的活化基因中尚未能找到诱导凋亡和分化相关的关键基因^[2],所以 HDACi 的抗肿瘤作用分子机制尚未十分明了。

曲古菌素 A (trichostatin A, TSA)最早是作为抗真菌药物应用于临床的,属于氧肟类 HDACi;后发现它能够在小剂量条件下选择性杀伤肿瘤细胞,而对正常细胞无杀伤作用^[3]。本研究以 TSA 为实验药物,选择前列腺癌细胞 DU145 为细胞模型,通过比较药物处理前后细胞形态、蛋白表达水平的变化来探讨 HDACi 对前列腺癌细胞 DU145 有丝分裂的影响,并初步探讨其机制。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂和仪器

TSA、FITC-tubulin 抗体、acetylated-tubulin 抗体、Hoechst 33258 及瑞氏-姬姆萨染料购自美国 Sigma 公司。DMEM 购自美国 GIBCO 公司。胎牛血清购自北京元亨圣马生物技术研究所。HRP 标记羊抗鼠二抗购自美国 Cell signaling 公司。4% 多聚甲醛购自百事创新科技有限公司。BCA 蛋白分析试剂盒、ECL 化学发光底物试剂盒购自美国 Pierce 公司。垂直电泳和凝胶转印设备购自美国 Bio-Rad 公司。Nikon TE300 荧光共聚焦显微镜由本院仪器中心提供。低温高速离心机购自德国 Eppendorf 公司。凝胶图像分析扫描仪购自上海天能生物技术公司。

1.2 细胞培养

人前列腺癌细胞系 DU145 由协和医科大学细胞中心提供,用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养,置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。

1.3 MTT 法检测 TSA 对前列腺癌 DU145 细胞增殖的影响

将正常培养的 DU145 细胞经胰酶消化后用完全培养液稀释成 5×10^4 个/ml 接种于 96 孔板,每孔 100 μ l;分设对照组和不同浓度(100、200、300、400 nmol/L)加药组;药物处理 24 和 48 h 后,每孔加入 20 μ l、5% 的 MTT,37 °C 继续培养 4 h,然后每孔加入

100 μ l 裂解液,过夜后测 D_{540} 值,细胞存活率的计算采用如下公式:细胞存活率 = (用药组 D 值 / 未用药组 D 值) $\times 100\%$ 。

1.4 瑞氏-姬姆萨染色观察细胞形态改变

将待检细胞用胰蛋白酶消化成单细胞悬液,用完全培养液稀释成 4×10^4 /ml 细胞密度后接种细胞爬片,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。次日加入含 TSA(300 nmol/L)的完全培养液,24 h 后进行瑞氏-姬姆萨染色。将细胞爬片用 PBS 清洗 3 遍,而后甲醇固定 10 min, PBS 冲洗 3 遍。加入瑞氏-姬姆萨染液(Na₂HPO₄ 6 ml, KH₂PO₄ 4 ml, 葛氏染液 120 μ l, 瑞氏染液 120 μ l, 姬姆萨染液 600 μ l), 室温染色 2 h, 弃去染液,于光学显微镜下观察并照相。

1.5 流式细胞术检测 DU145 细胞的细胞周期

取对数生长期 DU145 细胞接种于 6 孔板,经 TSA(300 nmol/L)处理 24 h, 1 500 $\times g$ 离心 10 min, 收集细胞。PBS 洗沉淀,离心收集于 1.5 ml EP 管中。然后以 70% 的冷乙醇(含 1% FCS 的 PBS 配制)固定过夜,2 000 r/min 离心细胞 4 min, 弃上清,重复 1 次,用 300 μ l PBS 重悬细胞沉淀,加入 5 μ l RNase A (1 mg/ml)水浴消化 30 min, 加入 400 μ l PI (150 μ g/ml)置暗处染色 20 min 后上机检测。

1.6 多核细胞和有丝分裂各期细胞的计数

多核细胞计数:待检细胞接种于细胞爬片,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养并经 TSA(300 nmol/L)处理 24 h。经瑞氏-姬姆萨染色后,光学显微镜下观察并计数每个视野中(20 倍目镜视野中)的多核细胞数,共计数 5 个视野。

有丝分裂各期细胞计数:待检细胞接种于细胞爬片,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养经 TSA(300 nmol/L)处理 24 h。经 Hoechst 33258 染核后,于荧光显微镜下观察并计数有丝分裂各期细胞数,每个实验组计数 100 个有丝分裂细胞。

1.7 免疫荧光染色检测 TSA 处理后细胞产生的多极纺锤体和染色体分离滞后现象

待检细胞接种于细胞爬片,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养并经 TSA(300 nmol/L)处理 24 h。细胞爬片首先用 PBS 清洗 3 遍,而后用 4% 多聚甲醛室温固定 10 min, PBS 清洗 3 遍,用 0. 25% TritonX-100 透膜 10 min。PBS 清洗并于含 1% BSA 的 PBS 中封闭 30 min。FITC-tubulin(1: 50)室温染 1 h, PBS 清洗 3 遍, Hoechst 33258 复染核,经激光共聚焦显微镜观察并照相。

1.8 Western blotting 检测 TSA 对 DU145 细胞某些调控蛋白表达的影响

收集细胞样品,经 Laemmli sample buffer 裂解后行聚丙烯酰胺凝胶电泳,而后转移至 PVDF 膜上,用含 5% 脱脂奶粉的 TBST(0.3% Tris、0.8% NaCl、0.02% KCl、0.1% Tween-20, pH 7.4)封闭 1 h,加一抗(按照说明书进行稀释)4 °C 过夜(或室温 1 h,视具体抗体而定)。TBST 洗涤 3 遍,每次 5 min,二抗(辣根过氧化物酶标记,1:2 000 稀释)室温孵育 1 h。TBST 洗涤同前,ECL 化学发光显色。

采用凝胶图像分析扫描仪分析 Western blotting 实验结果,将蛋白药物处理的光密度值/对照组光密度值来比较蛋白条带的变化趋势。

1.9 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SAS8.0 统计学软件处理,以 Student *t* 检验进行组间显著性分析。

2 结果

2.1 TSA 对 DU-145 细胞的体外杀伤作用

MTT 检测结果表明,经 100 ~ 400 nmol/L TSA 作用 24 h 后,细胞的生存率分别为 91.8%、87.8%、85.7%、83.3%;TSA 作用 48 h,细胞的生存率分别为 83.1%、75.3%、68.7%、67.0%。由此证实 TSA 能够呈时间和剂量依赖性杀伤 DU145 细胞(图 1)。

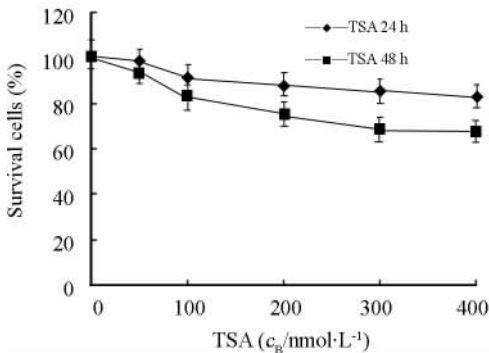


图 1 TSA 对 DU145 细胞体外增殖的影响

Fig.1 Effect of TSA on cell proliferation of DU145 *in vitro*

细胞形态观察显示,TSA 处理后细胞形态发生明显改变。正常的 DU145 细胞呈椭圆型和扁平状;药物处理后细胞胞质皱缩,细胞内颗粒逐渐增多,细胞突起增多,并出现大的多核细胞,部分细胞贴壁不良出现脱落死亡现象(图 2)。

2.2 TSA 对 DU-145 细胞周期的影响

从流式细胞仪分析结果可以看出,DU145 细胞经 TSA(300 nmol/L)处理 24 h 后,其细胞周期被明显地阻滞在 G₀/G₁期,细胞百分比从 55.61% 增加到 68.54%;进行 DNA 合成的 S 期细胞数目显著减少,

细胞百分比从 30.16% 减少为 19.86%,与 TSA 能够抑制 DU145 细胞增殖的结果相一致(图 3)。

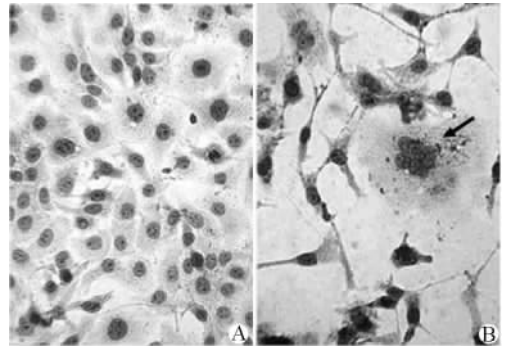


图 2 TSA 对 DU145 细胞形态的影响(×200)

Fig.2 Effect of TSA on cell morphology of DU145(×200)

A: DU145 cells cultured with normal medium; B: DU145 cells treated with TSA (300 nmol/L) for 24 h

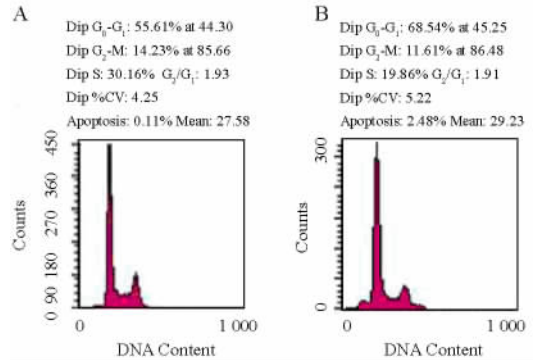


图 3 TSA 阻滞 DU145 细胞周期于 G₀/G₁ 期

Fig.3 TSA arrested cell cycle at G₀/G₁ phase of DU145 cells

A: DU145 cells cultured with normal medium; B: DU145 cells treated with TSA (300 nmol/L) for 24 h

2.3 TSA 对 DU-145 细胞有丝分裂的影响

TSA(300 nmol/L)处理 12 ~ 24 h 后,DU145 细胞中多核细胞增加。未处理组多核细胞数为 0.24%,TSA 处理 12 h 后多核细胞数增至 1.18%,TSA 处理 24 h 后多核细胞数为 1.21%。

有丝分裂各期细胞比例发生明显改变,未处理组有丝分裂前期细胞所占比例为 18.40%,前中期细胞所占比例为 12.70%,中期和后期所占比例分别为 9.66% 和 10.07%,末期细胞所占比例为 49.94%。TSA 处理 12 h 后前期细胞所占比例增至 21.00%,前中期细胞所占比例增加更为明显,为 70.40%。中期和后期所占比例分别为 0.84% 和 0%,末期细胞为 6.73%,表现为有丝分裂后期和末期细胞的比例明显减少,出现明显前中期阻滞现象。当药物作用 24 h 后,前中期细胞所占比例为

50.40%, 仍较未处理组显著增多, 末期细胞所占比例为 27.80% (图 4)。

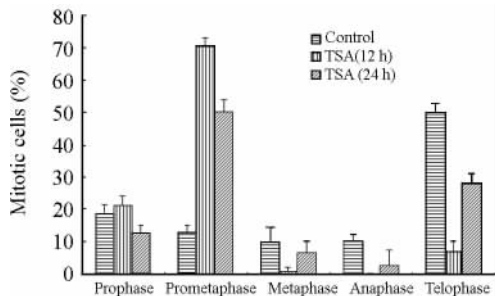


图 4 TSA 改变 DU145 细胞有丝分裂各期细胞分布

Fig. 4 TSA changed the proportions of the mitosis cells of different stages

图 5 显示共聚焦显微镜观测 TSA 处理后细胞出现多极纺锤体, 提示细胞存在纺锤体组装异常 (图 5B), 同时有丝分裂中后期细胞可见染色

体分离滞后现象, 说明染色体的分离出现异常 (图 5D)。

2.4 TSA 对 DU-145 某些调控蛋白表达的影响

Western blotting 结果 (表 1) 显示, TSA 处理细胞 12 ~ 24 h, 细胞内具有周期调控及抗凋亡双重作用的 Survivin 蛋白的表达下降, TSA 处理 12 h, Survivin 蛋白下降至未处理组的 84%; 药物处理 24 h, Survivin 蛋白下降至未处理组的 63%。细胞骨架蛋白 α -tubulin 的乙酰化水平明显增加, TSA 处理 12 h, acety-tubulin 蛋白升至未处理组的 3.43 倍; 24 h 后 acety-tubulin 蛋白水平仍为未处理组的 3.17 倍。细胞周期抑制蛋白 P21 的蛋白水平上调, TSA 处理 12 h P21 的蛋白水平上升为未处理组的 2.39 倍, 24 h 后上升为未处理组的 3.34 倍。各处理组与未处理组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

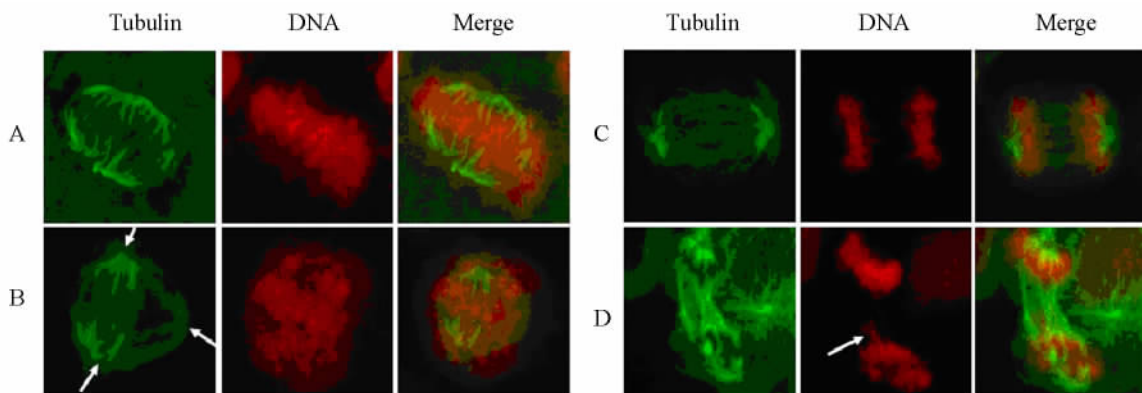


图 5 TSA 诱导 DU145 细胞出现异常有丝分裂现象 ($\times 1000$)

Fig. 5 TSA induced abnormal mitosis in DU145 cells ($\times 1000$)

A: DU145 cells cultured with normal medium; B: DU145 cells treated with TSA (300 nmol/L) for 24 h (arrows indicate multipolar spindle); C: DU145 cells cultured with normal medium; D: DU145 cells treated with TSA (300 nmol/L) for 24 h (arrow indicates lagging chromosome)

表 1 TSA 对 DU-145 细胞某些调控蛋白表达的影响

Tab. 1 Influence of TSA on some regulatory proteins in DU-145 cells

Groups	Survivin	Acety-tubulin	P21	Actin
Control	1 152 \pm 28.3	270 \pm 0.1	624 \pm 15.7	1 369 \pm 58.2
TSA (12 h)	965 \pm 18.0	1 884 \pm 73.6	1 436 \pm 91.6	1 236 \pm 10.9
TSA (24 h)	729 \pm 2.5	1 837 \pm 75.3	1 957 \pm 144.7	1 334 \pm 23.7

3 讨论

HDACi 的有效性及其有效抑制剂量范围内的低毒性使其成为一种具有良好应用前景的抗肿瘤药

物, 国内外众多实验室和医药公司都在此领域进行着广泛研究, 目前至少有 4 种 HDACi 进入了 II 期临床实验, HDACi 单独应用或与其他抗癌药物联合应用都能显示良好的抗癌效果^[4-5]。

尽管采用了包括基因芯片技术在内的各种检测方法,但人们仍然无法找出真正与 HDACi 抗肿瘤作用直接相关的活化基因。同时也有实验表明,由 HDACi 作用导致的组蛋白乙酰化修饰与其引起的细胞生长抑制并没有相关性,因此人们开始关注 HDACi 抗肿瘤作用的其他可能机制^[6-7]。HDACi 对正常细胞无毒性或毒性很小,但能特异性地杀死肿瘤细胞,而肿瘤细胞最显著的特征是生长失控和不分化。各种原因导致细胞周期调控的失衡会使细胞生长失控而介导肿瘤发生,其中有丝分裂是细胞周期中的重要阶段,对有序调控可以达到抑制肿瘤生长、增殖的目的。HDACi 作用于肿瘤细胞后能够呈时间和剂量依赖性杀伤肿瘤细胞,提示研究 HDACi 能否对肿瘤细胞的有丝分裂造成影响。细胞死亡的类型包括凋亡、坏死、自噬以及有丝分裂灾难(mitotic catastrophe)。有丝分裂灾难是一种发生在有丝分裂期,以 DNA 损伤和异常的有丝分裂现象为特征的细胞死亡方式。发生有丝分裂灾难的细胞阻滞于有丝分裂前中期,细胞偏离正常细胞周期,细胞体积变大,并出现明显多核现象^[8-9]。研究证实包括微管聚合药物泰素、纺锤体驱动蛋白 Eg5 抑制剂、ChK1 激酶抑制剂在内的多种化疗药物都能诱发肿瘤细胞发生有丝分裂灾难,这已成为肿瘤治疗药物研制的新策略^[10-13]。

本研究通过瑞氏-姬姆萨染色、免疫荧光染色等观察到 TSA 处理后肿瘤细胞出现有丝分裂各期细胞比例失衡,明显阻滞于前中期现象,并出现染色体排列紊乱、多核细胞、染色体分离滞后等异常有丝分裂现象,这说明 TSA 能够从染色体排列、分离及纺锤体结构等几方面影响肿瘤细胞有丝分裂,即 TSA 可通过诱导细胞发生有丝分裂灾难而杀伤细胞。

采用 Western blotting 技术对 TSA 作用 DU145 细胞造成异常有丝分裂现象的机制进行了初步研究。TSA 能明显降低细胞 DU145 细胞 Survivin 蛋白的表达。Survivin 是 1997 年由 Altieri 等人利用效应细胞蛋白酶受体-1 cDNA 在人基因组文库中首次杂交筛选出来的^[14],是抗凋亡蛋白家族(inhibitor of apoptosis, IAP)的新成员。研究表明,Survivin 在细胞凋亡抑制和有丝分裂调控中发挥双重作用。Survivin 可通过调节微管成核及动力学来参与有丝分裂多个过程,包括调控纺锤体和间期微管的组装、纺锤体装配检查点及胞质分裂^[15]。当 Survivin 蛋白的表达被抑制时,细胞则出现多个中心体、多极纺锤体及因胞质分裂障碍而形成的多核细胞等异常有丝分裂现象^[14,16-17]。所以我们推测, TSA 作用于

DU145 细胞所造成的异常有丝分裂现象与 TSA 能够抑制细胞 Survivin 蛋白的表达相关。

Western blotting 检测还发现 TSA 处理后 DU145 细胞的乙酰化微管蛋白的表达水平明显增强。微管是细胞骨架的重要组成部分,由微管蛋白(tubulin)分子组成,其可塑性决定其参与细胞内多种重要的生命活动,如细胞运动、细胞器官运输、细胞极性的维持、细胞分裂等。微管对于间期和有丝分裂期细胞器官的运输至关重要,同时微管在有丝分裂过程中形成纺锤体,将姊妹染色单体转运到两极。大多数细胞的有丝分裂进程很快,各阶段都需要高动力的微管。体内细胞通过改变微管蛋白的表达、改变微管蛋白的转录后修饰等环节来调节微管的动力。通常认为微管乙酰化为微管稳定的标志,目前的研究已经证实 HDAC6 是微管蛋白的去乙酰化酶^[18]。作为广谱型组蛋白去乙酰化酶抑制剂, TSA 可以通过抑制 HDAC6 的活性使微管乙酰化增强,进而通过对微管稳定性的影响而使微管动力学变化减慢,导致细胞增殖受到抑制杀伤肿瘤细胞^[19]。

$p21^{WAF1/CIP1}$ 是 $p53$ 最重要的下游基因之一。当细胞受到各种损伤后,野生型 $p53$ 作用于 $p21^{WAF1/CIP1}$,使其迅速表达。 $p21^{WAF1/CIP1}$ 的表达产物 P21 蛋白是目前已知的具有最广泛激酶抑制活性的细胞周期抑制蛋白。尽管 DU145 细胞表达突变型 P53 蛋白, TSA 处理仍能够诱导 $p53$ 非依赖的 P21 蛋白的高表达。研究证实 $p21$ 的高表达是 HDACi 诱导转化细胞增殖阻滞的重要因素之一^[20]。

本实验结果证实 DU-145 细胞经 TSA 处理后发生有丝分裂灾难。其机制一方面涉及 TSA 处理抑制了 survivin 蛋白的表达,干扰了 survivin 蛋白调控有丝分裂的功能;另一方面是由于 TSA 处理抑制 II 型组蛋白去乙酰化酶 HDAC6 的活性,增加微管蛋白 tubulin 的乙酰化修饰,使微管稳定性增加,影响肿瘤细胞正常细胞分裂,其详细的分子机制尚需更进一步探讨。本研究为进一步寻找 TSA 对肿瘤杀伤过程关键基因和特异的治疗靶点提供了新的着眼点,有助于阐明 HDACi 抗肿瘤作用的新机制。

[参考文献]

- [1] Khochbin S, Verdel A, Lemerrier C, *et al*. Functional significance of histone deacetylase diversity[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11(2): 162-166.
- [2] Marks P, Rifkind RA, Richon VM, *et al*. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies[J]. *Nat Rev Cancer*, 2001, 1(3): 194-202.
- [3] Yoshida M, Kijima M, Akita M, *et al*. Potent and specific inhibi-

- tion of mammalian histone deacetylase both *in vivo* and *in vitro* by trichostatin A [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(28): 17174-17179.
- [4] Budillon A, Bruzzese F, Di Gennaro E, *et al.* Multiple-target drugs: inhibitors of heat shock protein 90 and of histone deacetylase [J]. *Curr Drug Targets*, 2005, 6(3): 337-351.
- [5] McLaughlin F, La Thangue NB. Histone deacetylase inhibitors open new doors in cancer therapy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68(6):1139-1144.
- [6] Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(1): 38-51.
- [7] Riester D, Hildmann C, Schwienhorst A. Histone deacetylase inhibitors-turning epigenic mechanisms of gene regulation into tools of therapeutic intervention in malignant and other diseases [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 75(3): 499 - 514.
- [8] Castedo M, Perfettini JL, Roumier T, *et al.* Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition [J]. *Oncogene*, 2004, 23 (16):2825-2837.
- [9] Bröker LE, Kruyt FA, Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(9): 3155-3162.
- [10] Mayer TU, Kapoor TM, Haggarty SJ, *et al.* Small molecule inhibitor of mitotic spindle bipolarity identified in a phenotype-based screen [J]. *Science*, 1999, 286(5441): 971-974.
- [11] Sakowicz R, Finer JT, Beraud C, *et al.* Antitumor activity of a kinesin inhibitor [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(9): 3276-3280.
- [12] Michalakos J, Georgatos SD, Romanos J, *et al.* Micromolar taxol, with or without hyperthermia, induces mitotic catastrophe and cell necrosis in HeLa cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 56(6): 615-622.
- [13] Ricci MS, Zong WX. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways [J]. *Oncologist*, 2006, 11(4): 342-357.
- [14] Li F, Ackermann EJ, Bennett CF, *et al.* Pleiotropic cell-division defects and apoptosis induced by interference with survivin function [J]. *Nat Cell Biol*, 1999, 1(8):461-466.
- [15] Yang D, Welm A, Bishop JM. Cell division and cell survival in the absence of survivin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101 (42): 15100-15105.
- [16] Lens SM, Wolthuis RM, Klomp maker R, *et al.* Survivin is required for a sustained spindle checkpoint arrest in response to lack of tension [J]. *EMBO J*, 2003, 22(12): 2934-2947.
- [17] Carvalho A, Carmena M, Sambade C, *et al.* Survivin is required for stable checkpoint activation in taxol-treated HeLa cells [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(14): 2987-2998.
- [18] Zhang Y, Li N, Caron C, *et al.* HDAC-6 interacts with and deacetylates tubulin and microtubules *in vivo* [J]. *EMBO J*, 2003, 22(5): 1168-1179.
- [19] Tran AD, Marmo TP, Salam AA, *et al.* HDAC6 deacetylation of tubulin modulates dynamics of cellular adhesions [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 8): 1469-1479.
- [20] Noh EJ, Lee JS. Functional interplay between modulation of histone deacetylase activity and its regulatory role in G2-M transition [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(2): 267-273
- [收稿日期] 2007 - 02 - 07 [修回日期] 2007 - 05 - 21
- [本文编辑] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

抵制不端行为 净化学术风气

学术不端行为是指在科学研究和学术活动中的各种造假、抄袭、剽窃和其他违背科学共同惯例的行为。为抵制学术不端行为,净化学术风气,中国科协在 2007 年 1 月发布了《科技工作者科学道德规范(试行)》,将不端行为概括为以下 7 条。

1. 故意做出错误的陈述,捏造数据或结果,破坏原始数据的完整性,篡改实验记录和图片,在项目申请、成果申报、求职和提职申请中做虚假的陈述,提供虚假获奖证书、论文发表证明、文献引用证明等。

2. 侵犯或损害他人著作权,故意省略参考他人出版物,抄袭他人作品,篡改他人作品内容;未经授权,利用被自己审阅的手稿或资助申请中的信息,将他人未公开的作品或研究计划发表或透露给他人或为己所用;把成果归功于对研究没有贡献的人,将对研究工作做出实质性贡献的人排除在作者名单之外,僭越或无理要求著者或合著者身份。

3. 成果发表时一稿多投。

4. 采用不正当手段干扰和妨碍他人研究活动,包括故意毁坏或扣压他人研究活动中必需的仪器设备、文献资料、以及其他与科研有关的财务;故意拖延对他人项目或成果的审查、评价时间,或提出无法证明的论断;对竞争项目或成果的审查设置障碍。

5. 参与或与他人合谋隐匿学术劣迹,包括参与他人的学术造假,与他人合谋隐藏其不端行为,监察失职,以及对投诉人打击报复。

6. 参加与自己专业无关的评审及审稿工作;在各类项目评审、机构评估、出版物或研究报告审阅、奖项评定时,出于直接或间接或潜在的利益冲突而作出违背客观、准确、公正的评价;绕过评审组织机构与评议对象直接接触,收取评审对象的馈赠。

7. 以学术团体、专家的名义参与商业广告宣传。

(本刊编辑部)