

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.01.008

· 基础研究 ·

## 整合素 $\beta 1$ 单抗 P5D2 对宫颈癌 HCE1 多细胞球体浸润血管内皮细胞的抑制

张欣, 吴宜林, 刘凤英(中南大学湘雅二医院妇产科, 湖南长沙 410011)

**[摘要]** 目的: 观察宫颈癌 HCE1 多细胞球体中整合素  $\beta 1$  的表达与其浸润内皮细胞的关系, 研究抗整合素  $\beta 1$  单克隆抗体 P5D2 对 HCE1 多细胞球体浸润人脐静脉内皮细胞的抑制作用。方法: 建立宫颈鳞癌细胞 HCE1 多细胞球体浸润单层人脐静脉内皮细胞 HUVEC 模型(简称为 HCE1 浸润模型)。倒置显微镜下观察 P5D2 干预致 HCE1 浸润模型的形态学改变, 并用 Motic Med 医学图像软件计算浸润面积的改变。免疫细胞化学 SABC 法检测 HCE1 单层细胞、HCE1 多细胞球体、HUVEC 单层细胞以及 P5D2 干预前后 HCE1 浸润模型中整合素  $\beta 1$  的表达。结果: 成功建立 HCE1 浸润模型, 随着培养时间延长肿瘤多细胞球体生长迅速, 培养 7 d 后 HCE1 浸润模型中浸润面积是实验开始时的 40.42 倍。P5D2 干预 1、4、7 d 后的 HCE1 浸润模型浸润面积明显小于对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 第 7 天的浸润面积较对照组减少  $(84.68 \pm 0.08)\%$ 。HCE1 多细胞球体中整合素  $\beta 1$  阳性高表达率高于 HCE1 单层细胞 ( $P < 0.01$ ), HUVEC 细胞中整合素  $\beta 1$  阴性表达; P5D2 干预后 HCE1 浸润模型中整合素  $\beta 1$  的高表达率明显低于对照组 ( $P < 0.01$ )。结论: 整合素  $\beta 1$  在 HCE1 多细胞球体及其浸润模型中表达的上调可能与细胞黏附力、侵袭力增强有关; 抗整合素  $\beta 1$  单克隆抗体 P5D2 能够部分阻断 HCE1 多细胞球体对 HUVEC 单层细胞的浸润。

**[关键词]** 宫颈肿瘤; 整合素; 单克隆抗体; 多细胞球体; 整合素  $\beta 1$ ; 浸润

**[中图分类号]** R737.33; R730.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2010)01-0040-06

## Anti-integrin $\beta 1$ monoclonal antibody P5D2 inhibits invasion of human cervical squamous carcinoma HCE1 multicellular spheroids into umbilical vein endothelium cells

ZHANG Xin, WU Yi-lin, LIU Feng-ying (Department of Obstetrics and Gynecology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To probe into the relationship between integrin  $\beta 1$  expression in human cervical carcinoma HCE1 multicellular spheroids (HCE1/MCS) and their invasion into human umbilical vein endothelium cells (HUVEC), so as to assess the inhibitory effect of anti-integrin  $\beta 1$  monoclonal antibody P5D2 on the invasion of HCE1/MCS into HUVEC. **Methods:** A model of HUVEC monolayer invaded by HCE1/MCS was established (in brief, the HCE1 invading model). Morphology changes of the HCE1 invading model were observed under inverted microscope and analyzed by Motic Med System after P5D2 treatment. The expressions of  $\beta 1$  integrin on HCE1 monolayer cells, HCE1/MCS, HUVEC monolayer cells, and P5D2-treated HCE1 invading models were measured by immunocytochemistry SABC assay. **Results:** A HCE1 invading model was successfully established. The HCE1/MCS proliferated rapidly after culture, and on the 7th day the invading area of HCE1/MCS was 40.42 folds larger than the original HCE1/MCS. Invading areas of P5D2-treated HCE1/MCS were significantly smaller than that of the control group after 1, 4, 7 day ( $P < 0.05$ , or  $P < 0.01$ ), with the invading area after 7 days reduced by  $(84.68 \pm 0.08)\%$  compared with the control group. Integrin  $\beta 1$  expression in HCE1/MCS was significantly higher than that in HCE1 monolayer cells ( $P < 0.01$ ), and the expression was negative in HUVEC. Integrin  $\beta 1$  expression in P5D2-treated HCE1/MCS was significantly lower than that in untreated HCE1/MCS ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Upregulated expression of integrin  $\beta 1$  in HCE1/MCS and HCE1 invading model may be associated with their enhanced adhesion and invasion abilities. Anti-integrin  $\beta 1$  monoclonal antibody P5D2 can partially block the invasion of HCE1/MCS into HUVEC.

**[基金项目]** 湖南省科技厅科技发展计划重点项目(No.2007SK3043)。Project supported by the Science and Technology Development Foundation from Science and Technology Department of Hunan Province (No.2007SK3043)

**[作者简介]** 张欣(1982-),女,湖南省衡阳市人,硕士研究生,主要从事妇科肿瘤方面的研究。E-mail: zhangxin1232929@hotmail.com

**[通信作者]** 吴宜林(WU Yi-lin, corresponding author), E-mail: wuyilinlaoshi@126.com

[ **Key words** ] cervical carcinoma; integrin  $\beta 1$ ; monoclonal antibody; multicellular spheroid

[ Chin J Cancer Biother, 2010, 17(1): 40-45 ]

宫颈癌发病率占女性生殖道恶性肿瘤的首位,全球每年约有 50 万例宫颈癌的新发病例,其中 80% 发生于发展中国家<sup>[1]</sup>。宫颈癌的浸润性生长和转移是造成晚期患者死亡的重要原因。随着对宫颈癌在分子、基因水平上的深入研究,生物治疗联合放、化疗日益受到关注。有研究<sup>[2-3]</sup>表明, $\beta 1$  整合素与多种肿瘤细胞凋亡、增殖和侵袭转移密切相关。在肿瘤的浸润中,配体-整合素-细胞骨架蛋白所构成的焦点黏附物是其信号转导的结构基础, $\beta 1$  整合素转导信号刺激肿瘤细胞在黏附接触面运动,促进肿瘤细胞在组织中的浸润<sup>[4]</sup>,在宫颈癌浸润、转移的一系列进程中亦起着非常重要的作用。近年来,抗整合素的单克隆抗体研究是发展最迅速的靶向整合素药物。

本研究在建立宫颈鳞癌细胞 HCE1 多细胞球体浸润人脐静脉内皮细胞 HUVEC (human umbilical vein endothelial cell) 模型的基础上,初步探讨多细胞球体中整合素  $\beta 1$  的表达与浸润内皮细胞的关系,观察抗整合素  $\beta 1$  单克隆抗体 P5D2 对 HCE1 多细胞球体浸润血管内皮细胞的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

宫颈癌细胞系 HCE1 由中南大学湘雅医学院肿瘤研究所提供,建于 2000 年,属低分化鳞癌细胞系<sup>[5]</sup>。人脐静脉内皮细胞系 HUVEC 购于中南大学湘雅第二医院中心实验室。抗整合素  $\beta 1$  单克隆抗体 P5D2 购自美国 Santacruz 公司,整合素  $\beta 1$  兔抗人多克隆抗体、小鼠免疫球蛋白 (mIgG) 购自美国 Abzoom 公司。SP-9000 试剂盒 (通用型 SP Kit) 购自武汉博士德生物工程有限公司。

### 1.2 细胞培养

1.2.1 单层细胞培养 HCE1 细胞、HUVEC 细胞复苏后培养在含有 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液中,待其贴壁生长至 80% ~ 90% 融合时,加入胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 HCE1 多细胞球体培养 HCE1 细胞培养传代后取  $5 \times 10^5$  个细胞,重悬于 6 ml 含有 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液中,加入事先准备好的 2% 琼脂糖铺底的 25 ml 培养瓶中,置 37 °C 恒温摇床 54 r/min 旋转培养 3 d 后静置培养。第 3 天换液,此后隔天换液 1 次。

### 1.3 建立宫颈癌细胞 HCE1 浸润模型

将稀释到  $7 \times 10^4$  个/ml 的 HUVEC 细胞接种于 48 孔板中,每孔 1.0 ml,培养 48 h 后,将第 4 天的 HCE1 多细胞球体以每孔 5 ~ 10 个接种于孔板中共同培养,每天更换新鲜培养基。用 Motic Med 数码医学图像分析软件计算第 0、1、4、7 天 HCE1 多细胞球体浸润 HUVEC 单层细胞的面积。

### 1.4 P5D2 干预 HCE1 浸润模型

HCE1 浸润模型建立 1 h 后,加入 P5D2 (终质量浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),对照组为等浓度的 mIgG。药物组每天更换新鲜的 RPMI 1640 培养液 500  $\mu\text{l}$  和 P5D2 500  $\mu\text{l}$ ,调整 P5D2 质量浓度保持在 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ;对照组每天更换新鲜的 RPMI 1640 培养液 500  $\mu\text{l}$  和 500  $\mu\text{l}$  mIgG,调整 mIgG 质量浓度保持在 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

模型建立的第 0、1、4、7 天分别用倒置显微镜拍摄两组中 HCE1 多细胞球体浸润单层 HUVEC 细胞的程度,用 Motic Med 数码医学图像分析软件计算球体浸润的面积。

### 1.5 免疫细胞化学 SABC 法检测 P5D2 干预前后 HCE1 浸润模型中整合素 $\beta 1$ 表达

免疫细胞化学 SABC 法检测 P5D2 干预前后 HUVEC 单层细胞、HCE1 多细胞球体及 HCE1 浸润模型中整合素  $\beta 1$  表达。按 SP-9000 试剂盒进行操作。结果判定:双目显微镜下观察,在细胞爬片上显示胞质黄棕色、且染色强度明显高于背景者为阳性细胞。按下列标准评分:基本不着色为 0 分;着色淡,但明显强于阴性对照者为 1 分;着色清晰者为 2 分;着色强者为 3 分。分布范围按下列标准评分:阳性细胞数为 <5% 记 0 分;5% ~ 25% 为 1 分;26% ~ 50% 为 2 分;>50% 为 3 分。上述两种评分相乘,0 分记为 (-);1 ~ 3 分为 (+);4 ~ 6 分为 (++) ;7 ~ 9 分为 (+++)。(++) 属高表达,(-)、(+)、(++) 均属低表达。在 200 倍光镜下至少观察 10 个视野,实验重复 3 次。

### 1.6 统计学处理

采用 SPSS 11.5 统计软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,用  $t$  检验;计数资料采用卡方检验。按  $\alpha = 0.05$  水准, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HCE1 多细胞球体和 HUVEC 单层细胞的形态 HCE1 多细胞球体培养:光学倒置显微镜下

HCE1 细胞旋转培养 24 h 可见细胞聚集成团,随培养时间的延长,多细胞结构逐渐紧密,培养至第 4 天开始出现坏死核心(图 1)。人脐静脉内皮细胞 HUVEC 培养:光学倒置显微镜下见胞体呈多角形,相互嵌合,为单层呈铺路石状排列。

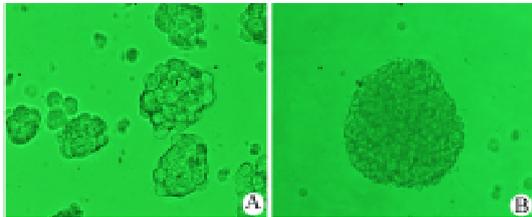


图 1 培养第 4 天 HCE1 多细胞球体的形态( A: ×100; B: ×200 )

Fig.1 Morphology of HCE1 multicellular spheroids on the 4th day of culture ( A: ×100; B: ×200 )

### 2.2 HCE1 多细胞球体浸润 HUVEC 细胞模型的建立

HCE1 多细胞球体与人脐静脉内皮 HUVEC 细胞共同培养 1 h, HCE1 多细胞球体紧密黏附于 HUVEC 单层细胞上,但不在一个焦距平面。共培养 1 d, HCE1 多细胞球体出现解聚,向周围 HUVEC 细胞扩散。共培养 4 d, HCE1 多细胞球体侵入 HUVEC 细胞,替代 HUVEC 细胞退缩的部位,形成侵袭聚集点,中间可见坏死核心,周围可见单层 HCE1 细胞生长晕, HCE1 多细胞球体与 HUVEC 细胞呈同一聚焦平面。共培养 7 d, 镜下见 HCE1 多细胞球体占据面积更大,边界与 HUVEC 细胞融合欠清。Motic Med 软件计算球体浸润的范围,第 7 天 HCE1 浸润模型中浸润面积为( 4.98 ± 0.02 )mm<sup>2</sup>,是初始浸润面积的 40.42 倍(图 2, 表 1)。HCE1 多细胞球体对 HUVEC 浸润模型简称为 HCE1 浸润模型。

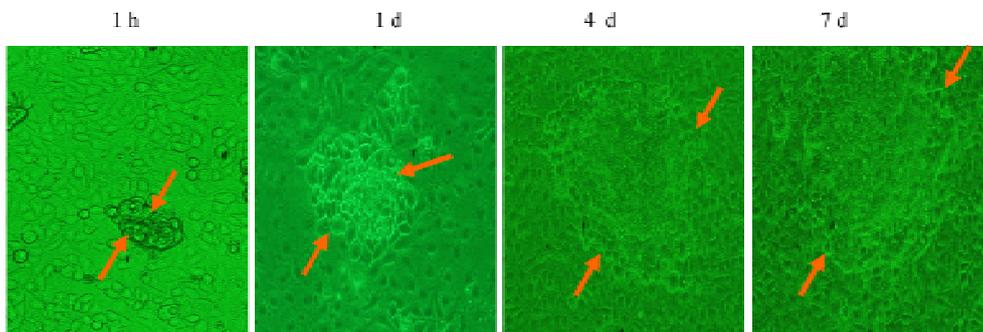


图 2 HCE1 多细胞球体浸润 HUVEC 单层细胞( ×100 )

Fig. 2 HCE1 multicellular spheroids infiltrated into HUVEC cells ( ×100 )

表 1 P5D2 抑制 HCE1 多细胞球的浸润能力(  $\bar{x} \pm s, A/mm^2$  )

Tab.1 P5D2 inhibited infiltration ability of HCE1 multicellular spheroids (  $\bar{x} \pm s, A/mm^2$  )

| Group | Co-culture time |              |               |               |
|-------|-----------------|--------------|---------------|---------------|
|       | 0 h             | 1 d          | 4 d           | 7 d           |
| Ctrl  | 0.12 ± 0.01     | 1.27 ± 0.02  | 3.20 ± 0.02   | 4.98 ± 0.02   |
| P5D2  | 0.12 ± 0.01     | 0.72 ± 0.02* | 1.25 ± 0.02** | 0.76 ± 0.01** |

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

### 2.3 单抗 P5D2 抑制多细胞球体 HCE1 对 HUVEC 单层细胞的浸润

P5D2 干预 1 d 后,镜下见 HCE1 多细胞球体解聚,浸润面积稍小于对照组,用 Motic Med 软件分析浸润面积降低了( 32.16 ± 0.16 )%; 4 d 后镜下与对照组相比,浸润面积明显减小,降低了( 60.77 ± 0.24 )%; 7 d 后浸润面积与对

照组相比降低了( 84.68 ± 0.08 )%, P5D2 的抑制作用更明显,两两比较差异有统计学意义(  $P < 0.01$ , 图 3、表 1)。

### 2.4 单抗 P5D2 抑制 HCE1 细胞整合素 $\beta 1$ 的表达

检测结果显示, HCE1 单层细胞胞膜、胞质呈棕黄色,着色较浅,整合素  $\beta 1$  阳性高表达率

为 6.67%。HCE1 多细胞球体贴壁后可见中央坏死核心、球体周围单层细胞生长晕, HCE1 多

细胞球体中胞膜胞质呈棕黄色, 着色深, 阳性高表达率为 60.00% (表 2)。

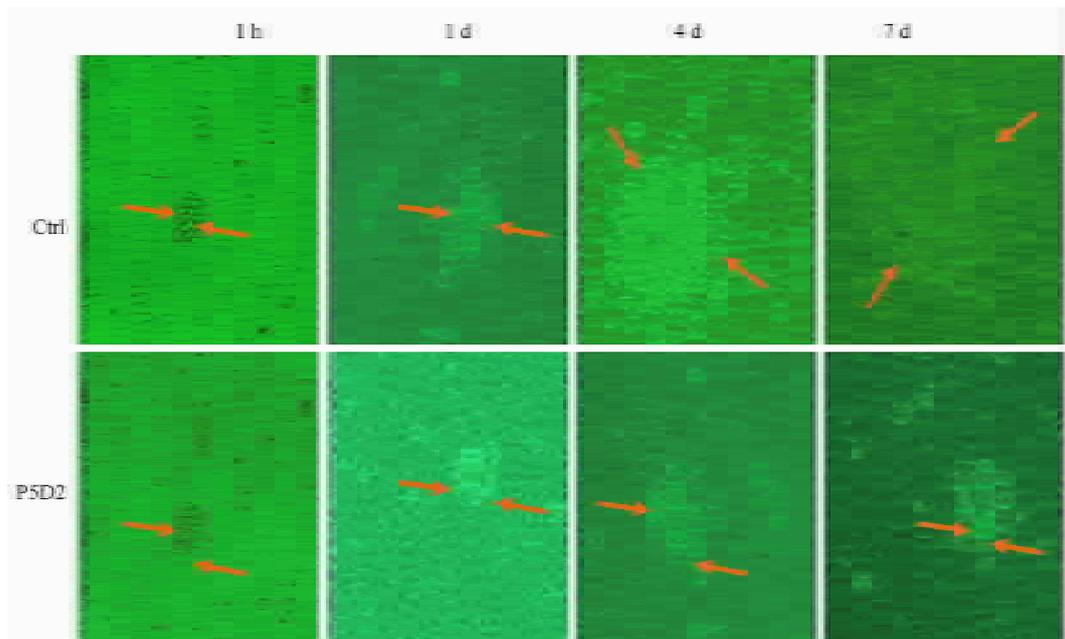


图 3 P5D2 抑制 HCE1 多细胞球体对 HUVEC 细胞的浸润(  $\times 100$  )

Fig. 3 P5D2 inhibited infiltration of HCE1 multicellular spheroids into HUVEC cells (  $\times 100$  )

表 2 单抗 P5D2 抑制 HCE1 浸润模型中整合素  $\beta 1$  的表达

Tab.2 P5D2 antibody inhibited integrin  $\beta 1$  expression in HCE1 invading model

| Group          | Low expression (n) | High expression (n) | High expression rate (%) |
|----------------|--------------------|---------------------|--------------------------|
| HCE1 cell      |                    |                     |                          |
| Monolayer cell | 28                 | 2                   | 6.67                     |
| Spheroid       | 12                 | 18                  | 60.00                    |
| HCE1 model     |                    |                     |                          |
| Ctrl           | 2                  | 28                  | 93.33                    |
| P5D2           | 27                 | 3                   | 10.00 <sup>△△</sup>      |

\*\*  $P < 0.01$  vs HCE1 monolayer cells;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs HCE1 model Ctrl

P5D2 干预前, 整合素  $\beta 1$  在对照组 HCE1 浸润模型中高表达率为 93.33%, 着色强; P5D2 组干预后, 宫颈鳞癌 HCE1 浸润模型中整合素  $\beta 1$  高表达率为 10.00%, 着色较浅。经统计学分析, 对照组与 P5D2 干预组整合素  $\beta 1$  的高表达率相比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ , 表 2、图 4)。

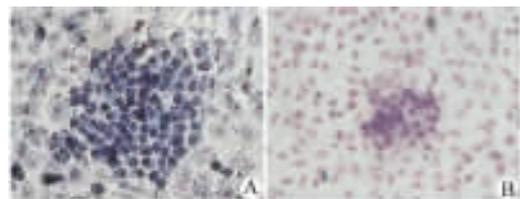


图 4 单抗 P5D2 干预 7 d 后 HCE1 浸润模型中整合素  $\beta 1$  的表达(  $\times 100$  )

Fig. 4 Integrin  $\beta 1$  expression in HCE1 invading model after P5D2 treatment for 7 d (  $\times 100$  )

A: Ctrl; B: P5D2 treatment for 7 d

### 3 讨论

宫颈癌细胞在侵袭、转移过程中要突破各种屏障, 如宫颈上皮细胞的基底膜、血管基底膜、淋巴管基底膜等, 内皮细胞是血管和基底膜的重要组成部分, 因此, 研究宫颈癌细胞与内皮细胞的相互作用是研究宫颈癌浸润、转移机制的重要环节。Bissell 等<sup>[6]</sup>认为, 在体外能够成功模拟人体内肿瘤组织环境, 建立和发展细胞培养系统是研究肿瘤微环境的关键。本研究前期实验已经建立了宫颈鳞癌 HCE1 多细胞球体模型, 发现 HCE1 多细胞球体的倍增时

间为(4.43 ± 0.47)d, 接近于裸鼠移植瘤的倍增时间, 而单层培养的 HCE1 细胞倍增时间约为 45.8 h<sup>[5]</sup>, 因此可见 HCE1 多细胞球体培养是优于 HCE1 单层细胞培养的, 较为接近人体肿瘤实际情况的体外模型。本实验选择培养 4 d 后的 HCE1 多细胞球体, 一是因为其最接近于 HCE1 多细胞球体生长的倍增时间, 多细胞球体的紧密性、生长状态均良好; 二是培养 4 d 后的多细胞球体中整合素 β1 的阳性高表达率明显高于 HCE1 单层细胞, 说明 HCE1 细胞在聚合成多细胞球体后细胞-细胞的黏附力增强。将培养 4 d 后的 HCE1 多细胞球体与 HUVEC 细胞共同培养建立浸润模型, 可见随着培养时间延长肿瘤多细胞球体生长迅速, 7 d 后宫颈鳞癌 HCE1 浸润模型中浸润面积是实验开始时的 40.42 倍。在对照组中浸润的第 1 天就可以看见 HCE1 多细胞球体边缘的活性细胞浸润单层内皮细胞, 并且引起单层内皮细胞的退缩。Roman 等<sup>[7]</sup>实验显示, 内皮细胞的退缩和肿瘤细胞的附着浸润是密切联系的, 肿瘤细胞产生超氧离子损伤局部的内皮, 球体中央的坏死区降解产物也可以很大地影响球体边缘区域的内皮损伤。因此, 本研究建立的 HCE1 多细胞球体浸润内皮细胞的模型可作为良好的宫颈癌浸润模型, 应用于宫颈癌侵袭、转移机制的体外研究中, 其操作简单, 对实验器材要求不高, 是更接近于实体瘤微环境的体外模型, 有很好的应用前景。

在宫颈癌浸润、转移的一系列进程中, β1 整合素在其中都有非常重要的作用。詹平等<sup>[8]</sup>通过免疫组化检测正常宫颈及宫颈癌组织中 β1 整合素的表达, 发现其与宫颈癌的分期、分级、有无淋巴结转移及微血管密度成正相关, 提示 β1 整合素与宫颈癌的发生、发展有一定的相关性。在本实验中, 整合素 β1 在 HCE1 多细胞球体中的阳性高表达率明显高于单层细胞; 浸润模型建立第 4 天的 HCE1 多细胞球体中整合素 β1 阳性高表达率明显高于单独培养至第 4 天的 HCE1 多细胞球体, 两者相比较差异有统计学意义, 一方面说明整合素 β1 在 HCE1 细胞培养成多细胞球体后表达升高与其黏附力增强有关, 另一方面说明 HCE1 多细胞球体在与内皮细胞共同培养后其侵袭力是增加的, 整合素 β1 的高表达有利于宫颈癌细胞与内皮细胞的黏附。本研究推测整合素 β1 在没有与配体结合前是分散存在于肿瘤细胞表面, 一旦与内皮细胞中配体结合后就发生簇集, 形成的多聚体与胞内信号分子联系, 介导信号转导, 从而将信号由胞外传递至胞内。其机制可能是肿瘤细胞和内皮细胞的相互作用, 使整合素 β1

与内皮细胞表面配体结合, 多种蛋白在病灶黏附带聚集形成由整合素 β1 调节的黏着斑激酶(FAK); 已发现 FAK 分子中有多个酪氨酸残基可被磷酸化, 其磷酸化程度随整合素 β1 在细胞表面聚集而升高<sup>[9]</sup>, FAK 发生磷酸化后, 能激活下游的多种信号转导通路, 参与有 Ras 和 MAPK 参加的信号通路, 使肿瘤细胞发生增殖、迁移<sup>[10-11]</sup>, 从而使肿瘤细胞的侵袭能力增强, 突破内皮细胞的机械屏障。

目前针对整合素不同亚基发挥抗肿瘤作用的单克隆抗体还处于不同的研究阶段, 在胃癌、乳腺癌、卵巢癌等肿瘤研究中, 通过体内外实验证实抗整合素 β1 的单克隆抗体对肿瘤的浸润、转移有阻断作用<sup>[12-15]</sup>。P5D2 是一种由人表皮角质化细胞分离培养出来的抗整合素 β1 的小鼠单克隆抗体, 通过阻断整合素 β1 表达, 使其与配体结合的亲和力发生改变, 继而影响整合素 β1 调控的信号转导, 发挥抗肿瘤的作用。在本实验中, P5D2 干预后的宫颈鳞癌 HCE1 浸润模型浸润程度明显小于对照组, 在第 1、4、7 天分别与对照组相比, 经统计学分析两组差异均有显著性( $P < 0.05$ )。第 7 天镜下与对照组相比, 浸润面积经 P5D2 阻断更显著, 较对照组降低了(84.68 ± 0.08)%。说明整合素 β1 在介导多细胞球体浸润内皮细胞中有重要的作用, 而其单克隆抗体可以降低球体的凝集性、侵袭力, 能够部分阻断 HCE1 多细胞球体对单层人脐静脉内皮细胞的浸润。该结果与 Kathryn 等<sup>[15]</sup>将 P5D2 作用于卵巢癌多细胞球体浸润人间质细胞的实验结果相似。免疫细胞化学法检测 P5D2 干预浸润模型后和对照组第 4 天 HCE1 多细胞球体中整合素 β1 表达发现, P5D2 干预后多细胞球体浸润内皮细胞后整合素 β1 阳性高表达率仅为 10.00%, 而对照组为 93.33%, 经统计学分析, 两者有显著性差异( $P < 0.01$ )。其机制推测可能是 P5D2 通过阻断整合素 β1 在肿瘤细胞表面的表达, 降低了整合素 β1 在细胞表面聚集的密度, 使其与配体结合的亲和力下降, FAK 去磷酸化, FAK-Ras-MAPK 信号转导通路受到抑制, 从而使 HCE1 多细胞球体的浸润能力下降。

综上所述, 多细胞球体浸润内皮细胞的模型是体外研究实体瘤微环境的良好模型, 抗整合素 β1 的单克隆抗体 P5D2 可以部分阻断 HCE1 多细胞球体浸润血管内皮细胞的作用, 降低其侵袭力。尽管只是作了粗略的探讨, 但结果仍显示了抗整合素 β1 的单克隆抗体在体外治疗宫颈癌的有效性和可能性, 这将为宫颈癌生物化疗提供新的治疗思路和实验依据。

## [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Pectasides D, Kamposioras K, Papaxoinis G, Pectasides E. Chemotherapy for recurrent cervical cancer [ J ]. *Cancer Treat Rev*, 2008, 34( 7 ): 603-613.
- [ 2 ] Yao ES, Zhang H, Chen YY, Lee B, Chew K, Moore D, *et al.* Increased beta1 integrin is associated with decreased survival in invasive breast cancer [ J ]. *Cancer Res*, 2007, 67( 2 ): 659-664.
- [ 3 ] Hazlehurst LA, Argilagos RF, Dalton WS. Beta1 integrin mediated adhesion increases bim protein degradation and contributes to drug resistance in leukaemia cells [ J ]. *Br J Haematol*, 2007, 136( 2 ): 269-275.
- [ 4 ] Harburger DS, Calderwood DA. Integrin signaling at a glance [ J ]. *Cell Science*, 2009, 122( 2 ): 159-163.
- [ 5 ] 吴尚辉, 祝和成, 顾焕华, 黄柏英, 刘华英. 宫颈癌细胞系 HCE1 的建立及其生物学特性 [ J ]. *湖南医科大学学报*, 2000, 25( 6 ): 532-534.
- [ 6 ] Bissell MJ, Radisky D. Putting tumors in context [ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2001, 1( 1 ): 46.
- [ 7 ] Paduch R, Walter CA, Zdzisinska B, Szuster CA, Kandefer SM. Role of reactive oxygen species ( ROS ), metalloproteinase-2 ( MMP-2 ) and interleukin-6 ( IL-6 ) in direct interactions between tumour cell spheroids and endothelial cell monolayer [ J ]. *Cell Biol Inter*, 2005, 29( 7 ): 497-505.
- [ 8 ] 詹平, 毛熙光, 董述全, 张宇骄, 伍宗惠. 宫颈癌整合素  $\beta 1$  的表达及微血管密度与其侵袭性的关系 [ J ]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16( 3 ): 417-420.
- [ 9 ] Borbone LB, Onofri F, Giovedi S, Ferrari R, Girault JA, Benfenati F. The translocation of focal adhesion kinase in brain synaptosomes is regulated by phosphorylation and actin assembly [ J ]. *J Neurochem*, 2002, 81( 6 ): 1212-1222.
- [ 10 ] Renshaw MW, Price LS, Schwartz MA. Focal adhesion kinase mediates the integrin signaling requirement for growth factor activation of MAPkinase [ J ]. *J Cell Biol*, 1999, 147( 3 ): 611-618.
- [ 11 ] Zhao JH, Reiske H, Guan JL. Regulation of the cell cycle by focal adhesion kinase [ J ]. *J Cell Biol*, 1998, 143( 7 ): 1997.
- [ 12 ] 邹彩艳, 文飞球. 整合素与肿瘤的靶向治疗 [ J ]. *医学综述*, 2008, 14( 1 ): 60-62
- [ 13 ] Kawamura T, Endo Y, Yonemura Y, Nojima N, Fujimura T, Obata T, *et al.* Significance of integrin  $\alpha 2 / \beta 1$  in peritoneal dissemination of a human gastric cancer xenograft model [ J ]. *Int J Oncol*, 2001, 18( 4 ): 809-815.
- [ 14 ] Park CC, Zhang H, Pallavicini M, Gray JW, Baehner F, Park CJ, *et al.*  $\beta 1$  integrin inhibitory antibody induces apoptosis of breast cancer cells, inhibits growth, and distinguishes malignant from normal phenotype in three dimensional cultures and *in vivo* [ J ]. *Cancer Res*, 2006, 66( 1 ): 1526-1535.
- [ 15 ] Kathryn MB, Hansen LK, Skubitz A. Ovarian carcinoma spheroids disaggregate on type I collagen and invade live human mesothelial cell monolayers [ J ]. *Clin Exp Met*, 2004, 21( 8 ): 685-697.

[ 收稿日期 ] 2009 - 10 - 19 [ 修回日期 ] 2009 - 11 - 20

[ 本文编辑 ] 韩丹

· 编者 · 作者 · 读者 ·

## 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体惯例的行为。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 )》规范, 规范中将学术不端行为概括为以下 7 条:

1. 故意陈述错误, 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, 篡改他人作品的内容; 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; 把成就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. 成果发表时一稿多稿。
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物; 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 )