

http://www.journals.zju.edu.cn/med

磷酸氟达拉滨对 MUTZ-1 细胞作用及机制研究

吴文俊, 蔡 真

(浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003)

[摘要] 目的:在体外研究磷酸氟达拉滨(fludarabine)对人骨髓增生异常综合征细胞株 MUTZ-1 细胞的作用以及可能的作用机制。方法:采用 MTT 法、透射电镜、DNA 凝胶电泳、流式细胞仪以及 RT-PCR 等分析方法。结果:磷酸氟达拉滨能抑制 MUTZ-1 细胞的生长,24、48、72 h 的 IC_{50} 分别为 137.65 mg/L、6.27 mg/L、0.51 mg/L,具有浓度和时间依赖性。经透射电镜、DNA 凝胶电泳和 Annexin V /PI 检测,证实 1~16 mg/L 磷酸氟达拉滨对 MUTZ-1 细胞作用 24 h 后,可以诱导 MUTZ-1 细胞凋亡,其对 Bcl-2、Bax、survivin、XIAP、cIAP1 和 cIAP2 基因 mRNA 表达均无明显下调作用,但可以导致 MUTZ-1 细胞线粒体膜电位的下降。结论:1 mg/L~16 mg/L 磷酸氟达拉滨不但能抑制 MUTZ-1 细胞生长而且能诱导细胞凋亡,诱导细胞凋亡是其主要细胞毒作用之一。线粒体膜电位下降是其诱导细胞凋亡的重要环节之一。

[关键词] 骨髓增生异常综合征/病理生理学;细胞凋亡;阿糖腺苷/药理学;MUTZ-1 细胞;线粒体膜电位;基因

[中图分类号] R 733.73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2006)02-0136-07

Inhibition effect of fludarabine on the growth of myelodysplastic syndrome cell line MUTZ-1 and its mechanism

WU Wen-jun, CAI Zhen (*The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibition effect of fludarabine on the growth of human MDS-RAEB cell line MUTZ-1 and to explore the possible cellular and molecular mechanism. **Methods:** The apoptosis of MUTZ-1 cells induced by fludarabine was studied by transmission electron microscope, MTT assay, DNA ladder test, flow cytometry and RT-PCR method. **Results:** Treatment with fludarabine remarkably inhibited the growth of MUTZ-1 cells, the 24 h IC_{50} , 48 h IC_{50} and 72 h IC_{50} of fludarabine for MUTZ-1 cells were 137.65 mg/L, 6.27 mg/L and 0.51 mg/L, respectively. Fludarabine inhibited the growth of MUTZ-1 cells in a dose-dependent and time-dependent manner. After treated by fludarabine (1 mg/L—16 mg/L) for 24 h, MUTZ-1 cells showed the typical features of apoptosis. After fludarabine treatment the mRNA expression of Bcl-2, Bax, survivin, XIAP, cIAP-1 and cIAP-2 was not changed, but the mitochondrial membrane potential (MMP) was decreased. **Conclusion:** With a certain range of

收稿日期: 2004-10-17 修回日期: 2005-02-28

基金项目:浙江省自然科学基金(302690);浙江省卫生厅青年人才基金(2002QN009);教育部归国人员留学基金

作者简介:吴文俊(1978—),男,硕士,住院医师,从事血液病临床和基础研究。

通讯作者:蔡 真(1962—),女,博士,教授,从事内科血液学、免疫学研究;E-mail:caizhen1@yahoo.com

dose fludarabine (1 mg/L — 16 mg/L) could inhibit MUTZ-1 cell growth by inducing cells apoptosis. MMP may play a certain role in apoptosis of MUTZ-1 cells induced by fludarabine.

[Key words] Myelodysplastic syndrome/physiopathol; Apoptosis; Vidarabine/pharmacol; MUTZ-1 cells; Mitochondrial membrane potent; Gene

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2006, 35(2):136—142.]

骨髓增生异常综合征 (Myelodysplastic Syndrome, MDS) 是一组异质性、克隆性造血干/祖细胞疾病。其表现特征是:长期的进行性难治性血细胞减少;高风险向急性白血病转化;由于难治性血细胞质、量异常导致成分输血依赖性。长期以来,如何提高MDS疗效,降低病死率,延长生存期及改善患者的生存质量,一直是一个棘手的问题。细胞毒性化疗药物清除MDS恶性克隆,恢复正常多克隆造血,是治疗MDS,尤其是高危组MDS较常用的方法。

氟达拉滨是近年来发展的新型抗肿瘤药物,已应用于血液系统恶性肿瘤,如慢性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、急性髓细胞白血病和MDS等疾病的治疗。氟达拉滨主要通过诱导细胞凋亡来杀伤细胞^[1],但其具体的凋亡信号传导机制仍不很清楚。本实验以人MDS-RAEB细胞株MUTZ-1细胞为实验对象,研究氟达拉滨对MUTZ-1细胞的作用以及可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 试剂 磷酸氟达拉滨为先灵药业公司产品(惠赠),MTT粉末为Amresco公司产品,荧光探针JC-1为Sigma公司产品,Annexin V/PI检测试剂盒为PharMingen公司产品,TRIzol和RPMI 1640培养基为Gibco公司产品,M-MLV逆转录酶和Taq DNA合成酶为Promega公司产品,特级新生小牛血清、胎牛血清为杭州四季青生物制品公司产品。

1.2 细胞培养 人骨髓增生异常综合征细胞株MUTZ-1^[2]从德国Branschweig细胞中心引进。细胞悬浮生长于RPMI1640培养液中,培养于37℃、体积分数为5% CO₂的饱和湿度孵箱中。3~4 d换液传代一次,取对数生长期细胞作为实验对象。

1.3 细胞形态学观察 取对数生长期的细胞,实验组加入氟达拉滨以诱导凋亡,对照组不加任何药物,收集细胞后用2.5%戊二醛及1%锇酸固定,乙醇脱水,环氧树脂包埋,超薄切片,乙酸双氧铀和枸橼铅染色,透射电镜下观察细胞凋亡情况。

1.4 细胞生长检测(MTT法) 取对数生长期细胞,新鲜培养液洗涤后,重悬于含体积分数为10%FBS的RPMI 1640培养液中,以 2×10^4 个细胞/ml的终浓度接种于96孔培养板,加入不同浓度药物,空白对照组以无血清RPMI 1640补足,每孔总体积0.2 ml,分别用氟达拉滨(1 mg/L~16 mg/L)处理24 h、48 h和74 h,加MTT工作液20 μ l/孔(终浓度0.5 mg/ml),置37℃,体积分数为5% CO₂培养箱中孵育4 h,1 000 r/min离心,小心吸去上清,加入二甲亚砜0.2 ml/孔,吹打,使紫蓝色甲臞沉淀充分溶解。在酶标仪570 nm波长处读取吸光度值(A)。设复孔4个,取平均值为最终结果。计算抑制率:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{阴性对照的A值} - \text{实验孔的A值}}{\text{阴性对照的A值}} \times 100\%$$

1.5 磷脂酰丝氨酸转位检测 收集 1×10^6 个细胞,经冷PBS洗2次,重悬于1×结合缓冲液,浓度为 1×10^6 个细胞/ml,取100 μ l细胞悬液至5 ml试管中,加5 μ l Annexin V^{FITC}标记液,2 μ l碘化丙啶(250 μ g/ml),混匀,室温避光15 min,加400 μ l 1×结合缓冲液,用流式细胞仪检测,所有资料经Cellquest 1.2软件分析。

1.6 盐析法抽提DNA及琼脂糖凝胶电泳 收集经药物处理后的细胞 2×10^6 个,PBS洗涤后,转至离心管中,加裂解液50 μ l(含终浓度为10 mmol Tris-HCl, 10 mmol EDTA, 10 mmol NaCl, 0.5% SDS, 0.5 mg/ml蛋白酶K),50℃水浴1 h。加RNA酶(10 mg/ml)10 μ l,50℃水

浴2 h。加2 mol/L NaCl 60 μ l,振荡,10 000 r/min离心5 min。取上清置于另一新Eppendorf管中,加2.5倍体积的95%乙醇,-20℃沉淀过夜。次日10 000 r/min离心20 min,弃上清,室温晾干,加10 μ l TE液溶解。与上样缓冲液按1:5混匀,2.0%琼脂糖凝胶电泳(1 V/cm),紫外灯下观察并拍照。

1.7 RT-PCR检测GAPDH、 β -actin、survivin、XIAP、Bcl-2、Bax、cIAP1、cIAP2基因mRNA表达。

1.7.1 总RNA提取: TRIzol一步法抽提总RNA。收集经氟达拉滨处理24 h的MUTZ-1细胞 1×10^6 个,用0.01 mol/L PBS洗涤2次,离心弃上清,加入1 ml TRIzol,振荡混匀,-70℃保存备用。使用时,标本融化后静置5~10 min,加入0.2 ml 氯仿,剧烈震荡后室温静置5 min,12 000 g离心(4℃)15 min,上层水相转移于另一无菌离心管中,加入等体积异丙醇,混匀15

s,置室温10 min,12 000 g离心(4℃)10 min,弃去上清,用75%乙醇(无水乙醇加DEPC处理的双蒸水配制而成)1 ml洗涤沉淀物一次,7 500 g离心5 min,弃上清,空气干燥。分别用20~40 μ l DEPC处理的双蒸水溶解。各取1 μ l用DEPC水100倍稀释,以紫外分光光度仪检测所抽提RNA的浓度和纯度,各组OD260/OD280均大于1.8。

1.7.2 逆转录反应: 反应总体积为25 μ l,含RNA 2 μ g,随机引物5 μ g,dNTP终浓度为0.5 mmol/L,DTT终浓度为10 mmol/L,M-MLV 200 U。30℃反应10 min,37℃反应50 min,70℃反应15 min灭活逆转录酶。

1.7.3 PCR反应扩增目的基因: 反应总体积为25 μ l,包括逆转录产物1 μ l,MgCl₂ 1.5 mmol/L,1×PCR缓冲液,dNTP 0.5 mmol/L,目的基因或内参照基因上、下游引物各0.25 μ mol/L,Taq DNA合成酶1.0 U。

①GAPDH(379 bp) 上游:5'-ATGGCACCGTCAAGGCTGAG-3';

下游:5'-GCAGTGATGGCATGGACTGT-3'

② β -actin(619 bp) 上游:5'-CGCTGCGCTGGTCGTCGACA-3';

下游:5'-GTCACGCACGATTTCCCGCT-3'

③cIAP1(545 bp) 上游:5'-CATCGAGGACTAACCCCTACAG-3';

下游:5'-ATATCTACCTTGAATCTCATCAACA-3'

④cIAP2(648 bp) 上游:5'-CACTCATTAATTCCGGGTACAG-3';

下游:5'-ACTGGCTTGAACCTTGACGGATG-3'

⑤survivin(393 bp) 上游:5'-CTTTCTCAAGGACCACCGCATC-3';

下游:5'-CAATCCATGGCAGCCAGCTGC-3'

⑥Bcl-2(478 bp) 上游:5'-CTACGAGTGGGATGCGGGAGATG-3';

下游:5'-GGTTCAGGTACTCAGTCATCCACAG-3'

⑦Bax(258 bp) 上游:5'-ACCAAGAAGCTGAGCGAGTGTC-3';

下游:5'-TGTCCAGCCCATGATGGTTC-3'

⑧XIAP(502 bp) 上游:5'-GTGCCACGCAGTCTACAAATTCTGG-3';

下游:5'-CGTGCTTCATAATCTGCCATGGATGG-3'

反应参数:预变性94℃ 3 min;94℃ 45 s,58℃ 1 min,72℃ 1 min,GAPDH 29循环、cIAP1和cIAP2 31循环、Bax 36循环;72℃ 10 min;预变性94℃ 3 min;94℃ 45 s,61℃ 1 min,72℃ 1 min,Bcl-2和Survivin 36循环、XIAP 32循环;72℃ 10 min;预变性94℃ 3 min;94℃ 30 s,54℃ 45 s,72℃ 1.1 min, β -actin 29循环;72℃ 10 min。

1.8 线粒体膜电位的测定 荧光探针JC-1是一种阳离子型的亲脂性染料,能自由穿过细胞膜,随细胞膜电位的变化而在膜两侧保持动态平衡。其特点是线粒体膜电位低时浓度低,主要以单体形式存在,488 nm光激发时最大发射波长为527 nm,呈绿色荧光;膜电位高时浓度高,形成聚集态,488 nm光激发时的最大发射波长为590 nm,呈红色荧光。

用 PBS 调整细胞浓度至 $1 \times 10^5/\text{ml}$, 加入 JC-1 使其终浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$, 室温避光温育 10 min, $1\,000 \text{ r}/\text{min}$ 离心 5 min, 弃上清液, 用 $400 \mu\text{l}$ PBS 重悬沉淀。流式细胞仪的激发波长为 488 nm, 每个样本采集 10 000 个细胞, 数据用 CellQuest 功能软件进行分析。

1.9 统计学分析 计量资料实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。单变量两组资料之间的比较采用 t 检验, 多组资料之间的比较采用单因素方差分析; 双变量多组资料之间的比较采用双因素方差分析; 各有关因数作相关分析; 以 $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。采用 SPSS 10.0 for Windows 统计处理软件分析。

2 结 果

2.1 氟达拉滨对 MUTZ-1

细胞具有生长抑制作用 $1 \text{ mg}/\text{L} \sim 16 \text{ mg}/\text{L}$ 氟达拉滨处理 MUTZ-1 细胞 24 h、48 h 和 72 h 后具有不同的生长抑制作用, $4 \text{ mg}/\text{L}$ 作用 24 h 即可明显抑制 MUTZ-1 细胞的生长, 且抑制率随着药物作用浓度增加以及时间延长而增加。经加权直线回归方程计算, 其 24 h、48 h 和 72 h IC_{50} 分别为 $137.65 \text{ mg}/\text{L}$ 、 $6.27 \text{ mg}/\text{L}$ 和 $0.51 \text{ mg}/\text{L}$ 。见表 1。

表1 氟达拉滨对MUTZ-1 细胞作用 24 h 后对其生长的影响($n=4$)

Table 1 Effect of fludarabine on growth of MUTZ-1 cells ($n=4$)

Fludarabine / $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	A570		
	24 h	48 h	72 h
0	1.28 ± 0.11	1.67 ± 0.11	2.11 ± 0.20
1	1.16 ± 0.05	$1.14 \pm 0.06^*$	$1.02 \pm 0.10^*$
4	$0.92 \pm 0.04^*$	$0.91 \pm 0.07^*$	$0.62 \pm 0.07^*$
16	$0.86 \pm 0.06^*$	$0.71 \pm 0.08^*$	$0.48 \pm 0.07^*$

*:vs 0 mg/L group, $P < 0.05$

2.2 细胞形态学改变 将4 mg/L 氟达拉滨与

MUTZ-1 细胞共育 24 h, 可见凋亡细胞的典型形态学特征。早期表现为胞浆空泡化, 继而细胞体积缩小, 核染色质固缩, 核边聚, 染色质断裂, 出芽, 凋亡小体形成等; 与细胞体积胀大、细胞膜破坏、有时可见呈网状的染色质结构的坏死细胞不同。见图 1。

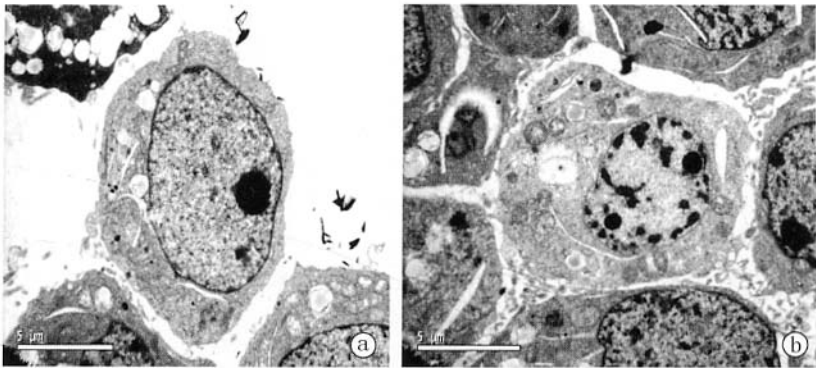


图1 经氟达拉滨作用 24 h 细胞形态学的变化

Fig. 1 Morphology of MUTZ-1 cells induced by fludarabine

a: untreated MUTZ-1 cells; b: MUTZ-1 cells treated by $4 \text{ mg}/\text{L}$ fludarabine for 24 h

2.3 DNA 琼脂糖凝胶电泳 如图 2 所示, MUTZ-1 细胞经过 $1 \sim 16 \text{ mg}/\text{L}$ 氟达拉滨处理 24 h 后, DNA 断裂为 $180 \sim 200 \text{ bp}$ 及其倍数的

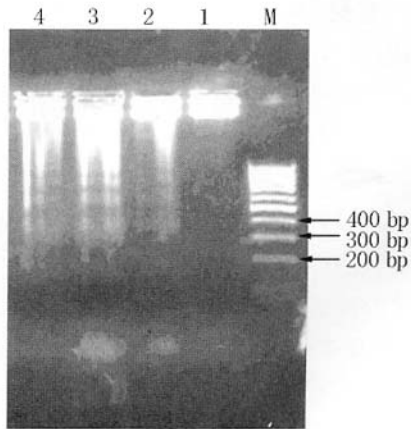


图2 MUTZ-1 细胞经氟达拉滨作用 24 h DNA 琼脂糖凝胶电泳

Fig. 2 DNA agarose gel electrophoresis after MUTZ-1 cells treated by fludarabine 24 h

M: marker; 1: control; 2: $1 \text{ mg}/\text{L}$; 3: $4 \text{ mg}/\text{L}$; 4: $16 \text{ mg}/\text{L}$

片断,经琼脂糖电泳获得特征性的梯形条带,而对照组缺如。

2.4 氟达拉滨诱导 MUTZ-1 细胞磷脂酰丝氨酸转位

MUTZ-1 细胞经过 1~16 mg/L 氟达

拉滨处理 24 h 后的凋亡率见表 2。各组间凋亡率两两比较差异具有显著性($F=126.801, P<0.01$)。

2.5 氟达拉滨对 MUTZ-1 细胞 Bcl-2、Bax、

表 2 经各浓度氟达拉滨作用 MUTZ-1 细胞 24 h 后检凋亡率变化($n=3$)

Table 2 Apoptosis rate of MUTZ-1 cells treated by fludarabine for 24 h($n=3$)

	Fludarabine/(mg · L ⁻¹)			
	0	1	4	16
Apoptosis rate(%)	5.02±0.28	10.93±0.42*	21.13±0.38*	25.63±3.49*

*:vs 0 mg/L group, $P<0.05$

survivin、XIAP、cIAP1 和 cIAP2 mRNA 表达的影响

1~16 mg/L 氟达拉滨作用 MUTZ-1 细胞 24 h 后,检测 Bcl-2、Bax、survivin、XIAP、cIAP1 和 cIAP2 mRNA 表达水平的变化,见图 3。由图 3 可见,上述基因在 MUTZ-1 细胞中都有表达,各氟达拉滨处理组和对照组相比,各基因 mRNA 表达水平均无明显改变。

2.6 氟达拉滨对 MUTZ-1 细胞线粒体膜电位的影响

4 mg/L 氟达拉滨作用 MUTZ-1 细胞 24 h 后,采用探针 JC-1 检测细胞线粒体膜电位的变化,结果显示,和对照组相比低线粒体膜电位的细胞百分比增加($t=-11.134, P<0.01$),而且和细胞凋亡率成正相关($r=1.000, P<0.01$)。见图 4。

3 讨 论

氟达拉滨是一种具有免疫抑制功能的嘌呤类抗代谢药物。代谢过程中,首先转化为 F-ara-A,后者被细胞摄入后,在脱氧胞嘧啶激酶作用下形成单磷酸产物,并进一步形成三磷酸产物 F-ara-ATP^[3,4]。F-ara-ATP 是氟达拉滨的活性代谢物,其具有抑制 DNA 合成、复制和修复的功能,并以此来发挥抗肿瘤效应^[1,5]。氟达拉滨能诱导多种细胞凋亡,不但可以诱导增殖期的细胞凋亡,也可以诱导静止期细胞凋亡。根据细胞类型的不同,其诱导细胞凋亡的机制也不同,目前其精确的信号传机制仍不清楚。

本研究发现 1~16 mg/L 的氟达拉滨可以抑制 MUTZ-1 细胞生长,并进一步从形态学、

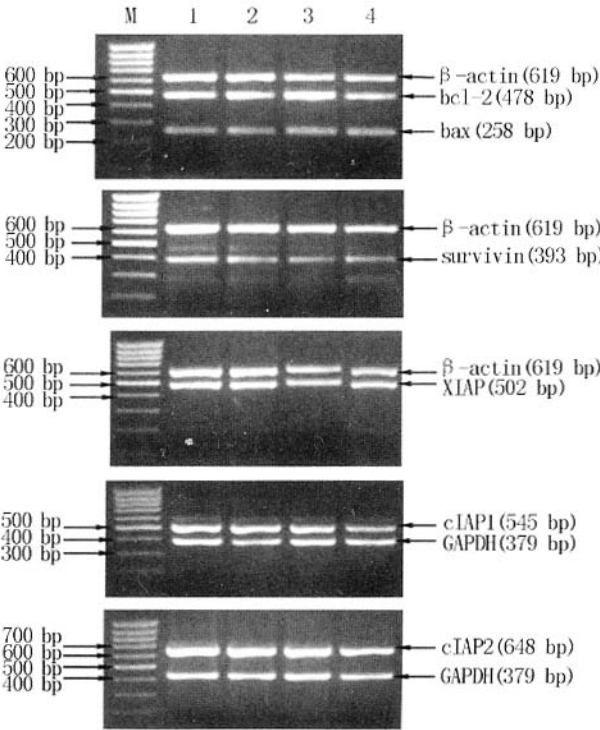


图 3 MUTZ-1 细胞经氟达拉滨作用后 Bcl-2、Bax、survivin、XIAP、cIAP1 和 cIAP2 mRNA 表达水平的变化($n=3$)

Fig. 3 mRNA expression of Bcl-2, Bax, survivin, XIAP, cIAP1 and cIAP2 mRNA on MUTZ-1 cells treated by fludarabine($n=3$)

M:maker;1:control;2:1 mg/L;3:4 mg/L;4:16 mg/L

DNA 琼脂糖凝胶电泳、FCM 等多个角度验证氟达拉滨能否诱导 MUTZ-1 细胞凋亡。发现,

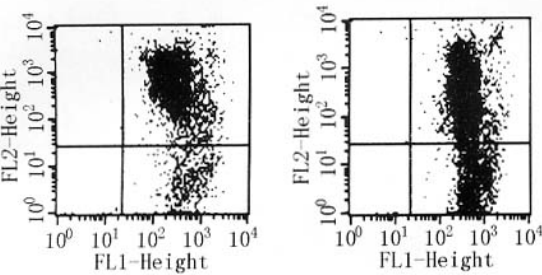


图 4 MUTZ-1 细胞经 4 mg/L 氟达拉滨作用 24 h 后线粒体膜电位的变化($n=3$)

Fig. 4 Mitochondrial membrane potential of MUTZ-1 cells treated by 4 mg/L FLU for 24 h($n=3$)

a;control; b:4 mg/L fludarabine 24 h

经氟达拉滨处理后 MUTZ-1 细胞表现出凋亡细胞典型的形态学特征改变,典型的 DNA 梯形条带以及流式细胞仪 Annexin V /PI 检测到细胞凋亡率随着药物浓度的增加而递增,从而证明氟达拉滨在体外能诱导 MDS 细胞株 MUTZ-1 细胞凋亡。

凋亡抑制蛋白 (inhibitors of Apoptosis protein, IAPs) 为一组具有抑制凋亡作用的蛋白质,该家族成员不仅可以抑制细胞凋亡,而且参与多种生物学功能的调节,如调节细胞周期和细胞分裂等。迄今为止,在人体发现的 IAPs 家族有 8 个成员,分别是 XIAP、cIAP1、cIAP2、survivin、NAIP、BRUCE(apollon)、ML-IAP 和 ILP-2/TS-IAP 等^[6]。在本研究中,氟达拉滨可以使 MUTZ-1 细胞 survivin 基因 mRNA 表达水平有下降趋势,但是无统计学差异,XIAP、cIAP1 和 cIAP2 未有明显的改变,提示氟达拉滨诱导细胞凋亡可能和上述 IAPs 基因的调节无关。

经典细胞凋亡分为死亡受体途径和线粒体途径,死亡受体途径通过细胞表面死亡受体介导,其配体如 FasL 和 TNF 分别与细胞表面的死亡受体 Fas 和 TNFR 结合,形成诱导死亡信号复合体 (death-induced signalling complex, DISC),DISC 征集 caspase8,造成 caspases 的级联激活。线粒体途径通过线粒体外膜通透性增加、细胞色素 C 及促凋亡因子的释放,与 caspase 9 形成凋亡复合体,进而造成 caspases

级联激活。在此过程中,只有线粒体膜通透性是可调控的。本实验欲初步了解氟达拉滨是通过哪条信号传导途径来诱导细胞凋亡的。

最近研究表明,线粒体是细胞内死亡信号途径调控网络中重要的细胞器^[7],凋亡过程中的许多关键事件集中在线粒体上。其功能改变与细胞凋亡密切相关^[8-9]。线粒体膜电位 ($\Delta\Psi_m$) 是反应线粒体内膜通透性的最佳指标之一。 $\Delta\Psi_m$ 下降被公认为是细胞早期凋亡的指标^[8]。德国学者 Klopfer 等^[10]研究发现,氟达拉滨诱导细胞凋亡不是通过直接死亡受体途径也不是以前认为的 APAF-1 (apoptotic protease activating factor-1) 的直接作用,而是通过直接损伤线粒体膜,引起胞色素 C 的释放,继而激活 caspase 9 和 3。本研究结果显示,在氟达拉滨诱导 MUTZ-1 细胞凋亡过程中,也有细胞线粒体内膜跨膜电位的下降,表明,氟达拉滨诱导 MUTZ-1 细胞凋亡过程与其影响 $\Delta\Psi_m$ 有关。

Bcl-2 及其家族是调节细胞凋亡的主要基因。目前已经发现 15 个成员,按功能可分为抗凋亡 (Bcl-2、Bcl-xL 等) 和促凋亡 (Bax、Bad、Bid 等) 两大亚家族,其编码的蛋白质作用于线粒体,双向调节细胞凋亡。Bcl-2 抑制线粒体跨膜电位降低可能是通过保持线粒体内、外膜的完整性,以及增加线粒体基质内质子的外流而实现的。Bcl-2 能够抑制多种因素诱导的 $\Delta\Psi_m$ 下降和 CytC 的释放,阻止凋亡的发生^[11-12]。以一定浓度的氟达拉滨处理 MUTZ-1 细胞 24 h 后, Bcl-2 和 Bax mRNA 水平并未见明显下调,提示氟达拉滨可能不是直接通过调节 Bcl-2 和 Bax 来改变线粒体膜通透性的。

本研究证实了氟达拉滨在体外可以诱导 MUTZ-1 凋亡,并且初步揭示该过程和线粒体膜电位的下降有关。其具体的信号传导机制有待于进一步研究。

References :

[1] ROBERTSON L E, CHUBB S, MEYN R E, et al. Induction of apoptotic cell death in chronic lymphocytic leukemia by 2'-chloro-2'-deoxyadenosine and 9-beta-D-arabinosyl-2-fluoroadenine [J]. *Blood*, 1993, 81(1): 143-150.

[2] STEUBE K G, GIGNAC S M, HU Z B, et al. In

vitro culture studies of childhood myelodysplastic syndrome; establishment of the cell line Mutz-1 [J]. **Leuk Lymphoma**, 1997, 25(3-4): 345—363.

[3] PLUNKETT W, GANDHI V, HUANG P, et al. Fludarabine: pharmacokinetics, mechanisms of action, and rationales for combination therapies [J]. **Semin Oncol**, 1993, 20(5 Suppl 7): 2—12.

[4] ROSS S R, MCTAVISH D, FAULDS D. Fludarabine. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in malignancy [J]. **Drug**, 1993, 45(5): 737—759.

[5] HUANG P, CHUBB S, PLUNKETT W. Termination of DNA synthesis by 9-beta-D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine. A mechanism for cytotoxicity [J]. **J Biol Chem**, 1990 25, 265 (27): 16 617—16 625.

[6] NACHMIAS B, ASHHAB Y, BEN-YEHUDA D. The inhibitor of apoptosis protein family (IAPs): an emerging therapeutic target in cancer [J]. **Semin Cancer Biol**, 2004, 14(4): 231—243.

[7] GOTTLIEB R A. Mitochondria: execution central [J]. **FEBS Lett**, 2000, 482(1-2): 6—12.

[8] KROEMER G, ZAMZAMI N, SUSIN S A. Mitochondrial control of apoptosis [J]. **Immunol Today**, 1997, 18(1): 44—51.

[9] GREEN D R, REED J C. Mitochondria and Apoptosis [J]. **Science**, 1998, 281(5381): 1 309—1 312.

[10] KLOPPER A, HASENJAGER A, BELKA C, et al. Adenine deoxynucleotides fludarabine and cladribine induce apoptosis in a CD95/Fas receptor, FADD and caspase-8-independent manner by activation of the mitochondrial cell death pathway [J]. **Oncogene**, 2004, 23(58): 9 408—9 418.

[11] TONG Hong-yan, LIN Mao-fang, XIONG Hong, et al (佟红艳, 林茂芳, 熊红, 等). Inhibition effect of arsenic trioxide on the growth of human MDS cell line MUTZ-1 cells [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报: 医学版), 2004, 33(1): 68—72.

[12] SHEN Fang, SHEN Qian, XIA Qiang, et al (沈方, 沈倩, 夏强). Study trend on apoptosis and mitochondrial permeability transitionpore [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Sciences** (浙江大学学报: 医学版), 2005, 34(2): 191—196. (in Chinese)

[责任编辑 张荣连]



浙江大学六项目获 2005 年度国家科学技术奖

全国科学技术大会 2006 年 1 月 9 日上午在北京人民大会堂隆重开幕。中共中央总书记、国家主席、中央军委主席胡锦涛发表重要讲话。中共中央政治局常委、国务院总理温家宝宣读了《国务院关于 2005 年度国家科学技术奖励的决定》。我校有 6 个项目获奖, 其中获国家自然科学奖二等奖 2 项, 获国家科学技术进步奖二等奖 4 项; 樊建人教授的《工程气固两相流动中若干关键基础问题的研究》, 杨德仁教授的《掺氮直拉硅单晶氮及相关缺陷的研究》分别获国家自然科学奖二等奖; 郑树教授的《我国大肠癌高危人群防治的系列研究》, 钱积新教授(合作 2)的《大型精对苯二甲酸生产过程智能建模、控制与优化技术》, 朱国念教授(合作 3)的《年产 3000 吨高质量毒死蜱技术及应用》, 蒋家羚教授(合作 4)的《在用重要压力容器与管道安全诊断与爆炸监控》分别获国家科学技术进步奖二等奖。