

鬼臼毒素衍生物 QW-83 对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响及其机制研究^Δ

冷玲^{1*}, 高晨光², 陈虹², 牛聪³, 曹波^{2#} (1. 武警北京总队第三医院内一科, 北京 100141; 2. 武警后勤学院救援医学系, 天津 300309; 3. 武警总医院药剂科, 北京 100039)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0892-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.09

摘要 目的: 研究鬼臼毒素衍生物 QW-83 对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响及其机制。方法: 以 0 (阴性对照)、0.01、0.1、1、10 μmol/L QW-83 和阳性药物依托泊苷 (VP-16) 分别培养人宫颈癌 HeLa 细胞 48 h 后, 采用 MTT 法测定细胞的增殖抑制率和半数抑制浓度 (IC₅₀); 以 0 (阴性对照)、2.5、5、10 μmol/L QW-83 培养细胞 48 h 后, 采用 Hoechst 33342 染色观察细胞形态, 采用流式细胞术测定细胞凋亡率, 采用半定量逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测细胞中凋亡相关基因 P53、Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 和 Bcl-2 mRNA 的表达。结果: 与阴性对照比较, 1、10 μmol/L VP-16 和 QW-83 对 HeLa 细胞增殖有明显的抑制作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), IC₅₀ 值分别为 (5.11 ± 0.43)、(4.96 ± 0.54) μmol/L; 染色结果显示, QW-83 作用后细胞凋亡明显, 细胞固缩; 流式细胞术检测结果显示, QW-83 作用后细胞凋亡率呈浓度依赖性升高, 为 16.89%~62.56%; RT-PCR 结果显示, QW-83 作用后细胞中 P53、Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 mRNA 的表达增强, Bcl-2 mRNA 的表达减弱, Bax/Bcl-2 比例升高 ($P < 0.05$)。结论: 鬼臼毒素衍生物 QW-83 能诱导人宫颈癌 HeLa 细胞的凋亡, 其机制可能与调控凋亡相关基因 mRNA 的表达有关。

关键词 鬼臼毒素衍生物; QW-83; 人宫颈癌 HeLa 细胞; 抗肿瘤活性; 凋亡相关基因; 依托泊苷

Study on Effects of Podophyllotoxin Derivative QW-83 on Human Cervical Cancer HeLa Cell Apoptosis and Its Mechanism

LENG Ling¹, GAO Chenguang², CHEN Hong², NIU Cong³, CAO Bo² (1. First Dept. of Internal Medicine, Beijing Armed Corps Police Third Hospital, Beijing 100141, China; 2. Dept. of Resuce Medicine, Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin 300309, China; 3. Dept. of Pharmacy, Armed Police General Hospital, Beijing 100039, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of podophyllotoxin derivative QW-83 on human cervical cancer HeLa cell apoptosis and its mechanism. METHODS: After treated with 0 (negative control), 0.01, 0.1, 1 and 10 μmol/L QW-83 and positive drug etoposide (VP-16) for 48 h, proliferation inhibition rate and IC₅₀ of HeLa cell were determined by MTT assay. The morphological changes of HeLa cell were observed by Hoechst 33342 staining after treated with QW-83 [0 (negative control), 2.5, 5, 10 μmol/L] for 48 h; flow cytometry was used to detect apoptosis rate; semi quantitative RT-PCR was adopted to detect the expression of apoptosis related gene P53, Bax, Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9 and Bcl-2 mRNA. RESULTS: Compared with negative control, 1, 10 μmol/L VP-16 and QW-83 had obvious proliferation inhibition effect on HeLa cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and IC₅₀ were (5.11 ± 0.43) μmol/L and (4.96 ± 0.54) μmol/L. Hoechst 33342 staining results showed QW-83 could obviously induce cells apoptosis and nuclear pyknosis. Flow cytometry showed QW-83 could increase apoptosis rate in concentration-dependent manner, being 16.89% -62.56%. RT-PCR showed mRNA expression of P53, Bax, Caspase-3, Caspase-8 and Caspase-9, Bcl-2/Bax increased, while mRNA expression of Bcl-2 decreased after treated with QW-83 ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: Podophyllotoxin derivative QW-83 can induce HeLa cell apoptosis, and its mechanism may be associated with regulate mRNA expression of apoptosis related gene.

KEYWORDS Podophyllotoxin derivative; QW-83; Human cervical cancer HeLa cell; Antitumor activity; Apoptosis-related gene; Etoposide

鬼臼毒素是从鬼臼属的盾叶鬼臼以及八角莲等近缘植物中提取分离得到的芳基四氢萘内酯类木脂素天然产物^[1]。随着鬼臼毒素具有较好抗肿瘤活性这一结论被证实, 引起了不少学者的研究兴趣。目前, 鬼臼毒素两种半合成衍生物依托泊苷 (VP-16) 和替尼泊苷 (VM-26) 已成为临床上治疗各种实

体肿瘤的常用药物^[2]。据文献报道, 鬼臼毒素类化合物通过抑制拓扑异构酶 II 的活性或者抑制微管组装两种作用机制而发挥抗肿瘤活性。但由于鬼臼毒素存在抗癌谱窄、溶解性差、细胞毒性大、获得性耐药以及胃肠道反应和骨髓抑制等副作用明显的缺点, 限制了其进一步的临床应用^[3]。因此, 合成一种高效、低毒、溶解性好的鬼臼毒素衍生物成为研究者的研究目标。

QW-83 是本课题组在鬼臼毒素母核的基础上进行结构改造得到的新型鬼臼毒素衍生物。在预试验中笔者通过体外活性试验初步证明了其对 HeLa 细胞有一定的抑制效果, 故进而本课题组以人宫颈癌 HeLa 细胞为研究对象, 以临床一线化疗

^Δ 基金项目: 武警后勤学院中心实验室开放基金项目 (No.2015 ZXKF07)

* 硕士, 主治医师。研究方向: 内科学。电话: 010-88176520。
E-mail: 107074928@qq.com

通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 肿瘤药理学。电话: 022-84876760。E-mail: caobo19814@126.com

药物 VP-16 为对照药物,通过荧光染色、流式细胞术以及逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)试验对 QW-83 可能的抗癌机制进行探究,为其进一步开发研究提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

Olympus IX70 型倒置显微镜、BX51 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司); MODEL680 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司); PTC-200 型 PCR 仪(美国 MJ Research 公司); EPICS XL 型流式细胞仪(美国 Coulter 公司); TDL-5M 型低温离心机(上海卢湘仪器厂); SW-CJ-2FD 型无菌操作台(苏州净化仪器厂); MCO-AC 型 CO₂ 细胞培养箱(日本三洋公司)。

1.2 药品与试剂

QW-83(由武警后勤学院生药学教研室提供,纯度: > 95%; VP-16(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号: 07073131, 纯度: 97%); RPMI 1640 培养基(天润善达公司); 胎牛血清(FBS, 中国医学科学院血研所); MTT、Annexin V-FITC、碘化丙啶(PI)、结合缓冲液(Binding buffer, 美国 Sigma 公司); RT-PCR 试剂盒(大连宝生物资源有限公司,批号: 639549); 二甲基亚砜(DMSO)、胰酶(美国 Gibco 公司); Trizol 裂解液(美国 Invitrogen 公司)。

1.3 细胞株

人宫颈癌 HeLa 细胞由中国医学科学院协和医科大学药物研究所药理室陈晓光教授提供。

2 方法

2.1 MTT 法检测细胞活力^[4]

将人宫颈癌 HeLa 细胞培养于 RPMI 1640 培养基中(含 10% 热灭活 FBS 和 100 μg/ml 青霉素-链霉素),置于 37 °C、5% CO₂ 温箱中连续培养。采用 MTT 法检测 QW-83 对 HeLa 细胞增殖的体外抑制作用。具体操作如下:(1)取处于对数生长期细胞,接种于 96 孔板中,每孔 100 μl(约 5 000 个细胞),置于 37 °C、5% CO₂ 细胞孵箱中培养 24 h。(2)给药组设置 4 个 10 倍递增的浓度梯度,即 VP-16(0.01、0.1、1、10 μmol/L)和 QW-83(0.01、0.1、1、10 μmol/L),每个浓度设置 3 个复孔;阴性对照组加入与给药组等体积的 RPMI 1640 培养基培养,另设不加细胞只加培养液的空白对照组。给药后将各组细胞置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中继续培养 48 h。(3)48 h 后,每孔加入 20 μl 5 mg/ml MTT 溶液,置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 4 h,弃上清,每孔加 150 μl DMSO,振荡溶解。(4)酶标仪测定 490 nm 波长处各组细胞的光密度(OD₄₉₀)值,并计算药物对细胞的增殖抑制率及半数抑制浓度(IC₅₀)。增殖抑制率=(阴性对照组 OD₄₉₀ 值-一加药组 OD₄₉₀ 值)/(阴性对照组 OD₄₉₀ 值-空白对照组 OD₄₉₀ 值)×100%。

2.2 Hoechst 33342 荧光染色观察细胞形态

以 0(阴性对照)、2.5、5、10 μmol/L QW-83 分别培养细胞 24 h 后收集细胞,离心,弃上清。加入终质量浓度为 10 g/L 的 Hoechst 33342 染液,避光染色 10 min,离心,弃染液。用磷酸盐缓冲液(PBS)吹悬,离心,PBS 洗涤,涂片。晾干后用荧光显微镜以波长为 340 nm 的紫外光激发 Hoechst 33342,照相并保留结果。

2.3 流式细胞术检测细胞凋亡率^[5]

取处于对数生长期的 HeLa 细胞,接种于 6 孔板中,2 ml/孔(约 3×10⁵ 个细胞),轻轻摇匀,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h;设立阴性对照组、QW-83(2.5、5、10 μmol/L)3 个浓度组和 VP-16(5 μmol/L)组。给药后各组细胞分别置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中继续培养 48 h,收集全部细胞,离心 7 min,收集细胞,冷 PBS 洗 2 次,离心,弃上清。100 μl Binding buffer 吹

悬,转移至 1.5 ml 离心管中,依次加入 PI(终质量浓度为 50 μg/ml)和 FITC 标记的 Annexin V(终质量浓度为 0.05 μg/ml),避光孵育 15 min,过 300 目滤膜于流式管中。调好程序后,将各组细胞在流式细胞仪上进行检测,并计算细胞凋亡率。

2.4 半定量 RT-PCR 检测细胞凋亡相关基因 mRNA 的表达

按“2.3”项下方法分组、给药后,将细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中继续培养 48 h,收集全部细胞。加入 Trizol 裂解液提取各组细胞总 RNA,核酸定量仪测定各组总 RNA 的浓度和纯度。定量后逆转录合成 cDNA(-20 °C 保存)。扩增时反应体系中加入 Taq 酶 6 μl、无核糖核酸酶纯水(RNase-Free ddH₂O) 3 μl、cDNA 1 μl、目的基因上下游引物各 1 μl 以及内参 β-actin 上下游引物各 1 μl,共 12 μl 体系。设定好预变性、变性、退火和延伸各个阶段温度以及循环次数等条件后进行扩增。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,随后以凝胶成像系统测定各组条带灰度值。采用 Image J 6.0 软件进行半定量分析,将目的基因条带灰度值与 β-actin 作比较,计算各样本目的基因的相对表达情况。基因引物序列及 PCR 参数见表 1。

表 1 引物序列及 PCR 参数

基因	引物序列	PCR 参数
β-actin	上游引物,5'-GTGGGGCGCCCAAGCAGCA-3' 下游引物,5'-TCTGGGACAGCCAAGTCTGT-3'	94 °C, 3 min; 94 °C, 1 min; 57 °C, 30 s; 72 °C, 1 min; 72 °C, 10 min。 30 个循环
Bax	上游引物,5'-CGTCCACCAAGAAGCTGAGCG-3' 下游引物,5'-AGCACTCCCGCCACAAAGATG-3'	94 °C, 3 min; 94 °C, 1 min; 57 °C, 45 s; 72 °C, 1 min; 72 °C, 10 min。 30 个循环
Bcl-2	上游引物,5'-GGTGCCACCTGTGGTCCACCT-3' 下游引物,5'-CTTCACTTGTGGCCAGATAGG-3'	94 °C, 3 min; 94 °C, 45 s; 58 °C, 50 s; 72 °C, 1 min; 72 °C, 10 min。 28 个循环
Caspase-3	上游引物,5'-GTGGAATTGATGCGTGATG-3' 下游引物,5'-GGAATCTGTTTCTTTCATG-3'	94 °C, 3 min; 94 °C, 45 s; 58 °C, 45 s; 72 °C, 45 s; 72 °C, 10 min。 30 个循环
Caspase-8	上游引物,5'-GCAGAGGGAACCTGGTACAT-3' 下游引物,5'-TCATCCTTGTGCTTACTTCATAG-3'	94 °C, 3 min; 94 °C, 45 s; 56 °C, 55 s; 72 °C, 45 s; 72 °C, 10 min。 28 个循环
Caspase-9	上游引物,5'-GCTCTTCCTTGTGCTATCCTCC-3' 下游引物,5'-CATCTGGCTCGGGTACTGCT-3'	94 °C, 3 min; 94 °C, 45 s; 58 °C, 45 s; 72 °C, 45 s; 72 °C, 10 min。 30 个循环

2.5 统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行处理分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(ANOVA)。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 细胞增殖抑制率检测结果

MTT 结果显示,不同浓度 QW-83 培养细胞 48 h 后,细胞增殖抑制率随药物浓度倍增而呈线性增加。QW-83 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 值为(4.96 ± 0.54) μmol/L,VP-16 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 值为(5.11 ± 0.43) μmol/L。各组细胞增殖抑制率测定结果见表 2。

3.2 细胞形态观察结果

Hoechst 33342 荧光染色结果显示,阴性对照组细胞形态均一、结构完整;QW-83 各浓度组细胞开始有呈亮蓝色荧光的凋亡细胞出现,细胞形态固缩,明显可见凋亡小体出现,且呈现一定的量效关系。Hoechst 33342 荧光染色结果见图 1。

3.3 细胞凋亡率检测结果

流式细胞仪检测结果,与阴性对照比较,2.5、5、10 μmol/L QW-83 及 5 μmol/L VP-16 培养细胞 48 h 后,细胞凋亡率明显升高(P < 0.05),且与药物浓度呈正相关。阴性对照组中正常活细胞达到 98.5%,基本无坏死细胞;在相同浓度下 QW-83 与

表2 各组细胞增殖抑制率检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Proliferation inhibition rate of HeLa cell in all groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	药物浓度, $\mu\text{mol/L}$	增殖抑制率, %
阴性对照	0	0
QW-83	10	62.51 \pm 5.12**
	1	10.51 \pm 1.26*
	0.1	5.25 \pm 0.29
	0.01	3.11 \pm 0.15
VP-16	10	69.89 \pm 6.12**
	1	11.15 \pm 0.48*
	0.1	5.56 \pm 0.88
	0.01	4.28 \pm 1.09

注:与阴性对照比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. negative control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

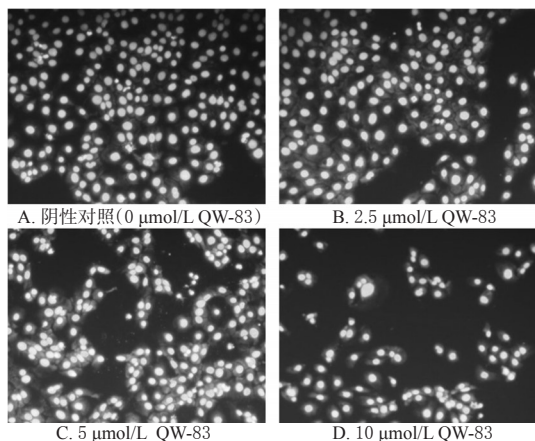


图1 Hoechst 33342 荧光染色结果

Fig 1 Results of Hoechst 33342 staining

VP-16效果相当。细胞凋亡率检测结果见图2、表3。

3.4 细胞凋亡相关基因 mRNA 表达检测结果

与阴性对照比较,随着QW-83药物浓度升高,P53、Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 mRNA表达明显上调,有一定的量效关系,且相同浓度下表达量高于VP-16组;Bcl-2基因的表达下调,Bax/Bcl-2比例逐步升高($P < 0.05$)。这提示QW-83可能调控凋亡相关基因的表达从而诱导细胞凋亡。细胞凋亡相关基因mRNA表达检测结果见表4、图3。

4 讨论

鬼臼毒素衍生物是一种细胞周期依赖性和特异性抗肿瘤药物,能够有效诱导肿瘤细胞凋亡。QW-83是本课题组在鬼

表4 细胞中凋亡相关基因 mRNA 表达检测结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 4 Determination results of mRNA expression of apoptosis-related gene in cell ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	药物浓度, $\mu\text{mol/L}$	P53	Bax	Caspase-9	Bcl-2	Bax/Bcl-2	Caspase-8	Caspase-3
阴性对照	0	0.579 \pm 0.041	0.533 \pm 0.013	0.778 \pm 0.041	2.530 \pm 0.102	0.210 \pm 0.021	0.507 \pm 0.062	0.073 \pm 0.011
QW-83	2.5	0.640 \pm 0.031*	0.536 \pm 0.022*	0.930 \pm 0.364*	1.624 \pm 0.151*	0.330 \pm 0.031*	0.516 \pm 0.043*	0.087 \pm 0.013*
	5	0.672 \pm 0.057*	0.695 \pm 0.061*	0.772 \pm 0.023*	1.025 \pm 0.036*	0.678 \pm 0.044*	0.561 \pm 0.052*	0.126 \pm 0.021*
	10	0.701 \pm 0.041*	0.686 \pm 0.043*	0.688 \pm 0.44*	0.893 \pm 0.036*	0.768 \pm 1.12*	0.555 \pm 0.47*	0.140 \pm 0.01*
VP-16	5	0.684 \pm 0.061*	0.661 \pm 0.053*	0.705 \pm 0.080*	0.653 \pm 0.125*	1.011 \pm 0.095*	0.544 \pm 0.043*	0.108 \pm 0.007*

注:与阴性对照比较, * $P < 0.05$

Note: vs. negative control, * $P < 0.05$

臼毒素母核基础上引入小分子咪喹甲酸基团合成的一种结构新颖、水溶性好、抗癌谱广、有较好抗肿瘤活性的鬼臼毒素衍生物。MTT结果显示,QW-83能呈浓度依赖性地抑制人宫颈癌HeLa细胞的增殖。荧光染色结果显示,QW-83作用后可见细胞染色质凝集、细胞核皱缩、出现凋亡小体等明显凋亡特

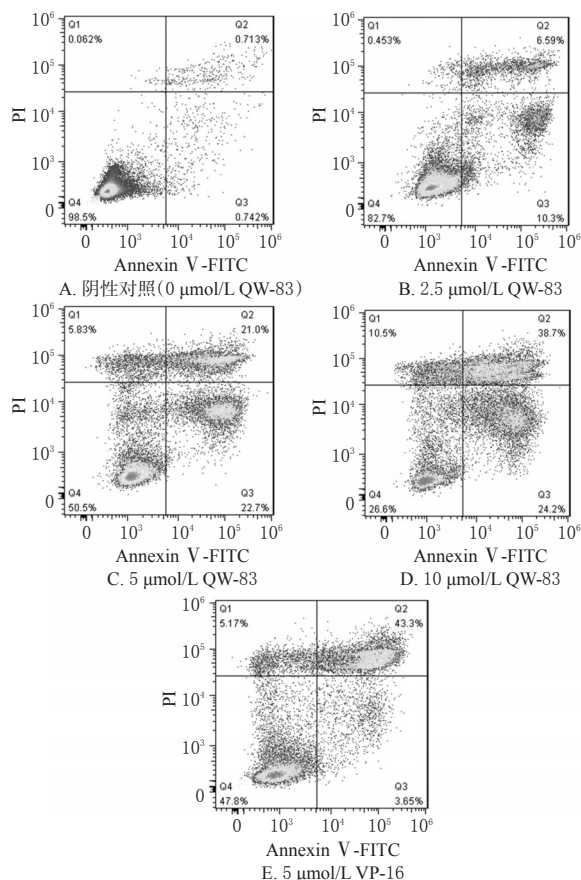


图2 QW-83作用HeLa细胞48 h的流式细胞图

Fig 2 Flow cytometry of HeLa cell after treated with QW-83 for 48 h

表3 各组细胞凋亡率检测结果($\bar{x} \pm s, n=3, \%$)

Tab 3 Determination results of apoptosis rate of cell in all groups ($\bar{x} \pm s, n=3, \%$)

组别	药物浓度, $\mu\text{mol/L}$	正常活细胞比例, %	凋亡率, %
阴性对照	0	98.5 \pm 4.43	1.41 \pm 1.15
QW-83	2.5	82.7 \pm 5.43*	16.89 \pm 3.51*
	5	50.5 \pm 3.43*	43.70 \pm 8.53*
	10	26.6 \pm 2.43*	62.56 \pm 7.68*
	VP-16	5	47.8 \pm 4.10*

注:与阴性对照比较, * $P < 0.05$

Note: vs. negative control, * $P < 0.05$

征。流式细胞检测结果显示,细胞凋亡比例呈QW-83浓度依赖性增加,这进一步说明了QW-83对HeLa细胞具有明显的抑制作用。

肿瘤细胞凋亡的机制尚不完全清楚,很多抗癌药物的抑癌作用可能是通过调控促凋亡相关基因或抑凋亡相关基因的

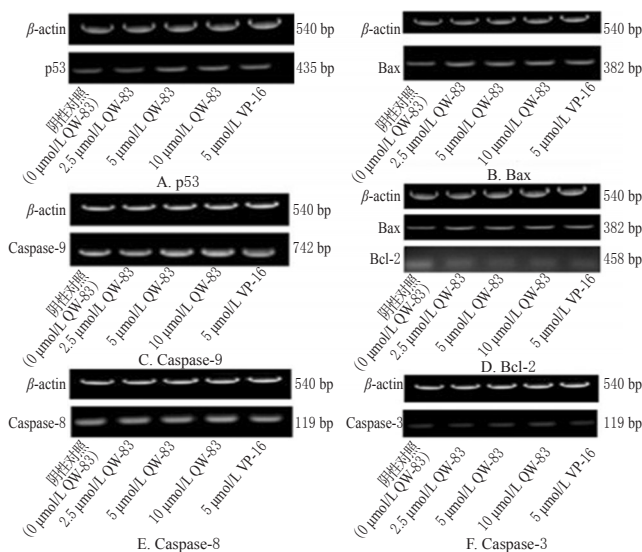


图3 细胞中凋亡相关基因mRNA表达电泳图

Fig 3 Electrophoretograms of apoptosis-related gene mRNA expression in cell

表达而达到的。p53是一种抑凋亡相关基因,可抑制细胞的异常增殖^[6-7],同时,p53可以上调促凋亡基因 Bax 的表达、下调抑凋亡基因 Bcl-2 表达。正常情况下结合在线粒体膜上的 Bax、Bcl-2 这两种蛋白对细胞存活与凋亡起拮抗作用,共同影响细胞生存状态;然而在凋亡过程中, Bax 表达量往往会增多, Bax/Bcl-2 比例明显升高^[8-10]。其比例升高可以导致线粒体释放细胞色素 C 至细胞质中,产生系列反应活化 Caspase-9 酶原,最终激活 Caspase-3。Caspase-3 是细胞凋亡的最终执行者,活化后启动凋亡程序,导致细胞的凋亡^[11]。在本试验中, RT-PCR 检测结果显示, QW-83 作用后, P53、Bax、Caspase-3、Caspase-9 等促凋亡基因的 mRNA 表达水平升高,而 Bcl-2 mRNA 的表达水平显著降低,表明 QW-83 可引起细胞凋亡。

综上, QW-83 能有效抑制肿瘤细胞增殖,可上调 p53、Bax 及 Caspase-3 等促凋亡相关基因的表达,下调抑凋亡基因 Bcl-2 的表达,从而达到抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡的作用。本试验为其体内试验的进行及开发应用奠定了基础。

参考文献

[1] Wang Li, Yang F, Yang X, *et al.* Synthesis and biological

evaluation of new 4β-anilino-4'-O-demethyl-4-desoxy-podophyllotoxin derivatives as potential antitumor agents[J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46(1):285.

[2] Kamal A, Kumar BA, Suresh P, *et al.* An efficient one-pot synthesis of benzothiazolo-4β-anilino-podophyllotoxin congeners: DNA topoisomerase- II inhibition and anticancer activity[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(1):3 503.

[3] Miao R, Han Y, An L, *et al.* Seleno-podophyllotoxin derivatives induce hepatoma SMMC-7721 cell apoptosis through Bax pathway[J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32(2):3.

[4] 陈昌明,刘慧芳,等.姜黄素对人宫颈癌 HeLa 细胞增殖的抑制作用[J]. *中国药房*, 2014, 25(11):2.

[5] Duyan S, Kılıç A, Yılmaz S, *et al.* Rapid detection of extended-spectrum beta-lactamases by flow cytometry method[J]. *Mikrobiyol Bul*, 2015, 49(4):600.

[6] Jiang H, Xu Z, Zhong P, *et al.* Cell cycle and p53 gate the direct conversion of human fibroblasts to dopaminergic neurons[J]. *Nat Commun*, 2015, doi: 10.1038/ncomms10100.

[7] Bode AM, Dong Z. Post-translational modification of p53 in tumorigenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(10):793.

[8] Jin S, Dai CL. Attenuation of reperfusion-induced hepatocyte apoptosis is associated with reversed Bcl-2/Bax ratio in hemihepatic artery-preserved portal occlusion[J]. *J Surg Res*, 2012, 174(2):298.

[9] Shen ZT, Wu XH, *et al.* Effects of gemcitabine on radiosensitization, apoptosis and Bcl-2 and Bax protein expression in human pancreatic cancer xenografts in nude mice [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4):15 587.

[10] Chetsawang J, Suwanjang W, Pirompul N, *et al.* Calpastatin reduces methamphetamine-induced induction in c-Jun phosphorylation, Bax and cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cells[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 506(1):7.

[11] Walters JI, Pop C, Scott FL, *et al.* A constitutively active and uninhabitable Caspase-3 zymogen efficiently induces apoptosis[J]. *Biochem J*, 2009, 424(3):335.

(收稿日期:2015-09-17 修回日期:2015-12-14)

(编辑:林静)

国务院食安办会同六部门开展春节食品安全联合督查

本刊讯 为进一步贯彻落实国务院食品安全委员会第三次全体会议精神,确保春节期间人民群众饮食安全,2016年1月28日起,国务院食品安全办会同农业部、国家卫生和计划生育委员会、工商总局、质检总局、国家食品药品监督管理总局、中国铁路总公司等部门组成的3个督查组,重点对北京、河北、广东、浙江等地春节期间食品安全工作开展了联合督查。

督查组分别由国务院食品安全办主任、国家食品药品监督管理总局局长毕井泉,农业部副部长陈晓华,国家食品药品监督管理总局副局长滕佳材带队,成员由各部门抽调专业精干力量组成。督查组深入各地蔬菜种植基地、社区农贸市场、大型超市、餐饮企业中心厨房、食品生产企业、铁路食品供应单位和高速公路的食品经营场所进行了严格细致的检查。通过现场检查、明察暗访、座谈调研等方式,督促各地落实“四个最

严”要求,加大监督检查力度,全面排查风险隐患,进一步加强春节期间食品安全工作。

检查过程中,督查组对北京市、河北省、广东省、浙江省等地的春节期间食品安全监管工作安排给予了肯定。同时,督查组也将检查中发现的问题进行归纳总结,找出个性问题,分析共性问题,将问题和意见反馈给被督查地区,通报给相关部门,并要求积极整改,及时妥善处置问题和隐患。

督查组要求,各地要牢固树立以人民为中心的发展理念,坚持党政同责、标本兼治,加强统筹协调;要落实“四个最严”的要求,加大对节日期间重点品种、重点领域以及高风险环节的监管力度,强化对重点区域、重点场所的巡查排查,让人民群众吃得更放心、更健康,过一个祥和安全的新年。