

Sirt基因家族及其对细胞寿命的调节

郭亦琦¹, 施冬云², 王君晖¹, 刘珊林^{1,2}

(1. 浙江大学生命科学院, 自由基生命科学研究中心, 杭州 310012;

2. 复旦大学自由基调控与应用研究中心, 上海 200032)

摘要: 在酵母、线虫和果蝇中, *Sir2* 基因家族是寿命调节的关键因子。哺乳动物的 *Sirt* 基因家族在进化上与 *Sir2* 基因高度同源, 共有 7 个成员。*Sir2* 基因调节酵母寿命的机理已比较清楚。而哺乳动物 *Sirt* 基因, 特别是 *Sirt1* 基因与细胞衰老的关系正在成为新的研究热点。最近的研究表明, 在热量限制或氧化逆境条件下, SIRT1 蛋白主要是通过以下 3 个途径影响细胞寿命: 一是 SIRT1 蛋白抑制 PPAR- γ 减少细胞的脂质过氧化物的损伤; 二是 SIRT1 蛋白通过调控 p53 的活性影响细胞寿命; 三是 SIRT1 蛋白通过调控 FOXO 的信号通路, 启动细胞的抗氧化途径。进一步研究 *Sirt* 基因家族对揭示哺乳动物寿命之谜具有重要的科学意义。

关键词: *Sir2*; SIRT1; 热量限制; 寿命

中图分类号: Q51

0 引言

机体有寿命极限, 但其机理尤其是人类寿命极限的机理一直困扰着生物学家, 主要因为导致细胞衰老是个复杂过程, 受多种因素调控。1961 年, Hayflick 和 Moorhead 首先提出了著名的 Hayflick 界限, 并通过实验证明人的成纤维细胞在体外培养时增殖次数是有限的。同时, Hayflick 还发现细胞衰老取决于细胞本身内部的因素, 且受细胞核调控。

目前关于细胞衰老的理论有很多。较为流行的理论主要有两种。一是细胞衰老的随机理论 (stochastic theories) 中的自由基学说; 二是细胞衰老的程序化理论 (program theories), 即细胞程序化死亡 (programmed cell death) 学说。前者强调代谢和环境, 后者强调遗传和基因。近年来科学家们通过对酿酒酵母^[1]、秀丽线虫^[2,3]、果蝇^[4,5]、小鼠^[6,7]等不同物种的沉默信息调节因子 (silent information regulator2, *Sir2*) 基因家族的大量研究后发现, *Sir2* 基因家族是一类调控寿命的重要基因, 其不仅能从遗传角度影响寿命, 还能从限制热量的代谢角度调节细胞寿命的关键基因。

1 *Sir2* 基因调节低等动物寿命的机制

Sir2 基因编码蛋白质为脱乙酰基酶 SIR2^[8], 该酶以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) 为辅酶。SIR2 被 NAD⁺ 激活后能够在组蛋白上脱乙酰基, 产生氧代乙酰基

ADP 核糖 (O-acetyl-ADP-ribose) 和烟酰胺 (nicotinamide, NAM)。目前, 对于是 NAD 还是 NAM 调节 SIR2 活性这一问题仍存在争议。

Guarente 等人在对酵母衰老的研究中发现, 限制热量摄入 (caloric restriction, CR) 能够增加 NAD⁺, 从而通过活化 SIR2 蛋白来延长酵母的寿命^[9]。染色体上代谢废物的积聚也是细胞死亡的一种原因。组蛋白乙酰化后, DNA 构型变得松散, 从而导致过度新陈代谢和废物积累。而 SIR2 通过在组蛋白上脱乙酰基, 使细胞 DNA 链紧密缠绕在一起, 从而有效减慢了细胞核中遗传垃圾的积聚。

而 Sinclair 等人对 Guarente 的观点提出异议, 认为不是 NAD⁺ 而是 *PNC1* (pyrazinamidase/nicotinamidase 1) 基因和烟碱 (NAM), 通过调控酵母 SIR2 蛋白来影响酵母寿命^[10]。*PNC1* 基因编码烟碱的脱氨基酶, 在细胞质中, *PNC1* 蛋白的主要作用是抑制烟碱的聚集。烟碱对 SIR2 具有抑制作用, *PNC1* 通过将烟碱转化为不能抑制 SIR2 活性的烟酸, 从而增加了 SIR2 活性, 延长了酵母的寿命。因而, 酵母寿命至少部分地由细胞质中的遗传程序控制, 而不仅仅是新陈代谢后 DNA 上废物积累的结果。此外, 他们在实验中还发现 *PNC1* 在热量限制所导致的酵母寿命延长反应中起到关键作用。含

收稿日期: 2005-08-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270501、30130100)

通讯作者: 刘珊林, 电话: (021)54237698,

E-mail: slliu826@yahoo.com.cn

有 5 个 *PNC1* 基因拷贝的酵母菌株比野生菌株寿命长 70%。

2 哺乳动物 *Sirt* 基因家族及其与系统进化关系

哺乳动物的 *Sirt* 基因家族在进化上与 *Sir2* 基因高度同源, 共有 7 个成员^[1]。它们具有共同的核心区域和 N、C 端的高度保守序列。在系统发育树上, *Sirt1*、*Sirt2*、*Sirt3* 较靠近且与 *Sir2* 处于同一分枝上。而 *Sirt5* 在系统发育树上与 *Sir2* 距离最远, 而与细菌 *Cob B* 的距离很近。*Sirt4* 在系统发育树上继 *Sirt5* 与 *Sirt1*, 和 *Sir2* 相距最远的蛋白。而 *Sirt6* 与 *Sirt7* 的同源性很高。

除了 SIRT1 和 SIRT2 的靶蛋白外, 其他 SIRT 蛋白的靶蛋白尚未找到。SIRT1、SIRT2、SIRT3、SIRT5 具有依赖 NAD⁺ 的组蛋白脱乙酰基酶活性, SIRT4、SIRT6 和 SIRT7 却没有。

SIRT1 (*Sir2a*, *Sirtuin1*) 是核蛋白。它参与许多新陈代谢活动, 是目前哺乳动物 SIRT 家族中被了解最多的蛋白。它能够调节转录因子 p53^[12,13]、PML^[11]、BCL6^[11]、TAF168^[11]、CTIP2^[14]、HES1^[15]、HEY2^[15]、Myo-D^[16] 的活性, 从而参与 FOXO1、FOXO3 α /FOXO^[17,18]、PPAR- γ ^[19]、NF- κ B^[20] 的信号通路, 并还参与 DNA 的修复, 抑制细胞凋亡因子 Ku70 的活动^[21]。通过敲除小鼠的 *SIRT1* 基因, 发现它在胚胎发育和肌肉分化上有重要作用^[22]。此外, 过度表达的 SIRT 还可以引起端粒酶逆转录酶 (human telomerase reverse transcriptase, hTERT) 的过度表达^[23]而影响细胞分裂。

通过 Northern blot 方法可以发现 SIRT2 与 SIRT3 均在心脏、脑、骨骼肌和睾丸中大量表达, SIRT3 还被发现在肝和肾中也有表达。SIRT2 都在细胞质中表达, 也受细胞分裂周期变化的调控, 即 SIRT2 蛋白表达量在有丝分裂期升高, 且在 G2 到 M 期转化过程中被磷酸化。在 SIRT2 过量表达同时可以延长 M 期。此外, SIRT2 还是泛素依赖的蛋白酶体的降解靶蛋白。SIRT2 具有微管蛋白的脱乙酰基酶活性, 它能够与组蛋白去乙酰化酶 6 (Histone Deacetylase 6, HDAC6) 在体外发生共免疫沉淀, 而 HDAC6 是微管蛋白的脱乙酰基酶, 能够调节依赖微管蛋白的细胞活动。SIRT2 在体内和体外均有 α -微管蛋白的赖氨酸 40 位点上的脱乙

酰基酶活性, 并且 SIRT2 的 RNA 干涉可以导致微管蛋白的超乙酰化。SIRT3 存在于线粒体基质中, 它的 N 端在成熟过程中在线粒体基质中被水解。没有被切割的 SIRT3 蛋白没有活性, 而当 SIRT3 信号肽被切除后, 就具有组蛋白的脱乙酰基酶活性。通过 RT-PCR 分析发现, SIRT5 在组织中普遍表达, 而 SIRT4 除了成年个体白细胞和胎儿胸腺, 在其他组织中有普遍表达。SIRT7 在冬眠动物中以及正常动物的卵巢和甲状腺中有大量表达。在癌变的甲状腺中表达量特别高^[1]。

3 SIRT1 调控哺乳动物细胞寿命的不同信号通路

3.1 SIRT1 蛋白通过抑制 PPAR- γ 代谢途径降低体内脂质过氧化积累

SIRT1 通过抑制过氧化物酶体增殖活化物受体 (peroxisome proliferators activatated receptor- γ , PPAR- γ) 消耗白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT), 从而降低体内脂质过氧化积累, 达到延长哺乳动物寿命的目的^[19]。Picard 等人通过用小鼠 3T3-L1 纤维组织母细胞建立体外模型, 证明了 SIRT1 蛋白对 PPAR- γ 具有抑制作用。此外, 实验也证明 SIRT1 蛋白过度表达可减少脂肪形成, 而对 SIRT1 进行 RNA 干涉可以增加脂肪形成。染色质免疫沉淀 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) 实验表明, SIRT1 蛋白对 PPAR- γ 的抑制作用是通过结合 PPAR- γ 上两个辅酶因子 NCoR (nuclear receptor co-repressor) 和 SMRT (silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors) 而实现的。SIRT1 蛋白在 NCoR 上有两个作用位点, 分别为 RD1 和 CBF1/Su(H)。SIRT1 蛋白与 NCoR 结合后, 能够抑制 PPAR- γ 与目标基因结合。因而, SIRT1 能够加强体内脂肪分解, 减少脂肪的堆积。由于在机体内自由基容易攻击生物膜磷脂中的不饱和脂肪酸, 引发膜脂质过氧化反应 (lipid peroxidation, LPA), 从而使细胞受到损伤。首先, 它可使细胞脂质受到损害, 影响细胞膜的功能; 其次, 在脂质过氧化反应中产生的多种活性氧, 会攻击细胞中的酶和其他成分, 使酶失活从而影响细胞的各种功能; 此外, LPA 的中间产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 具有很强的细胞毒性, 可以直接损伤蛋白质和核酸。所以 SIRT1 对

PPAR- γ 定抑制作用的发现, 也提示从能量代谢角度可以说明热量限制与延长寿命之间存在一定联系。

3.2 SIRT1 通过调节 p53 影响细胞寿命

SIRT1 对信号通路 p53 的影响比较复杂, 目前对于 SIRT1 是否能够延长哺乳动物寿命仍有争议。

Luo J 等^[24]通过实验证明 SIRT1 可通过去乙酰化抑制 p53 的活性而延长细胞寿命。他们发现, 在 DNA 损伤条件下, SIRT1 可以抑制 p53 引起的细胞凋亡。此外, 在突变的细胞中他们还发现过量表达的 SIRT1 可以增加细胞对环境的应激适应能力。这些结果也反映出 SIRT1 在调控 p53 信号通路以及调节细胞应激反应中所发挥的关键作用。

而 Alt 等^[25]对 Luo J 的观点提出了异议。他们认为 SIRT1 会缩短哺乳动物的寿命。因为他们发现, SIRT1 通过增强 p19^{ARF}/p53 信号通路的活性, 会诱导鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblasts, MEF) 进入复制性凋亡。他们通过实验证实, 在细胞复制性凋亡过程中 SIRT1 是 p19^{ARF} 上调 p53 所必需的因子。在慢性亚致死量的基因毒性逆境下, SIRT1 可以直接引起细胞的复制性凋亡。他们同时发现, 癌基因 Ras 可以诱导 p19^{ARF}, 使 SIRT1 不足的 MEF 细胞通过上调 p53, 引起细胞凋亡。因此, Alt 等人的研究表明在不同的细胞和不同的环境压力下表现可能不同, 故 SIRT1 对细胞寿命的调节作用尚有待进一步探索, 这为研究不同哺乳动物细胞调节氧应激损伤及细胞寿命的机制, 提供了一些新的思路。

3.3 SIRT1 通过 FOXO 影响细胞寿命

SIRT1 蛋白还可以通过调控 FOXO (forkhead box class O) 转录因子, 控制细胞凋亡和增殖, 从而延长细胞寿命。转录因子 FOXO 家族存在于哺乳动物中, 它们与低等动物中的 DAF-16 高度同源, 它们主要包括 FOXO1 (FKHR)、FOXO3a (FKHRL1) 和 FOXO4 (AFX)。FOXO 调节细胞增殖及细胞凋亡的动态平衡, 可能通过提高细胞抗氧化胁迫能力而实现。在哺乳动物体内, SIRT1 可以通过去乙酰化直接调控 FOXO3 和 FOXO4 的活性, 或者通过去乙酰化 p300 调控 FOXO3 和 FOXO4 的活性。在氧化应激 (Oxidative stress, OS) 条件下, SIRT1 能上调 FOXO3/FOXO4, 使细胞产生周期停滞, DNA 修复和抗氧化应激的能力上升。在一定条件下, SIRT1 也能下调由 FOXO3/FOXO4 因子诱导的细胞凋亡信号通路。Brunet A 等^[26]的研究表明, 在细胞氧化胁迫的情况下, FOXO3 蛋白质复合体可通过诱导消除自由基反应产物赋予细胞抗氧化损伤的能力, 使细胞在复制间期及时修复 DNA 损伤。但还有研究报道 SIRT1 的抑制物烟碱可以上调 FOXO4 的活性, SIRT1 的激活物白藜芦醇抗氧化剂可以下调 FOXO4 的活性。这些说明 SIRT1 对 FOXO 的作用方式可能有双向性, 可能与细胞内的氧化还原环境有关, 根据应激情况可采用不同方式调控不同环境下对氧化损伤的抵抗能力^[27]。刘珊林教授课题组先前报道的实验结果中也证明了氧化应激对胞内不同氧化还原状态以及在不同细胞中会产生不同影响^[28]。

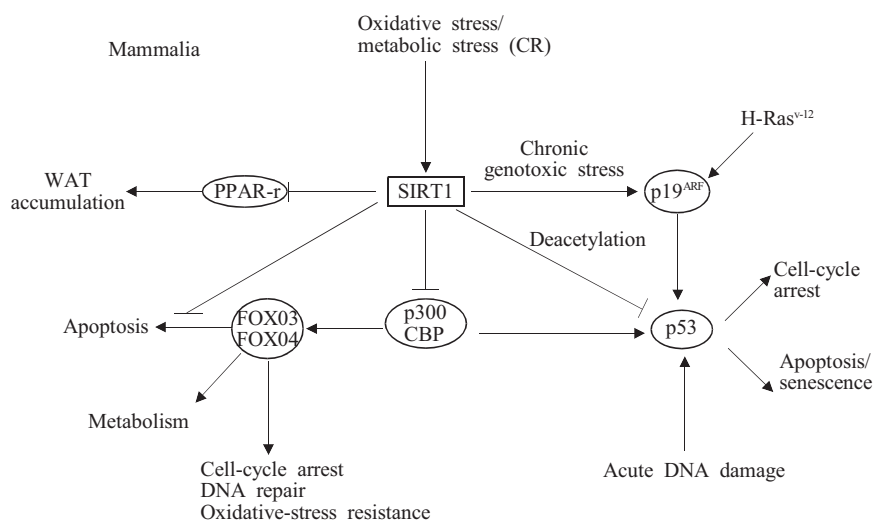


Fig.1 Interaction of SIRT1 with FOXO, p19, p53 and PPAR-r is increased in response to various stresses in the mammalian cells

4 小 结

SIRT1 通过抑制 PPAR- γ , 以及参与 p53 和 FOXO3 α 信号通路可影响哺乳动物细胞的生命。在酵母、线虫和果蝇等低等生物中, 以 *Sir2* 基因家族的表达变化, 研究热量限制和寿命的关系已有诸多报道, 而在哺乳动物中, 这方面的研究才刚刚起步。哺乳动物有 7 个 *Sirt* 基因, 目前对 *Sirt1* 研究得较多, *Sirt2* 与细胞分裂有关, *Sirt3* 是线粒体蛋白, 其他几个 *Sirt* 基因的功能目前还不了解。是否所有 *Sirt* 基因都与细胞抗衰老有关? 它们在延长细胞寿命或调节其他生命活动过程中是否有各自的作用机理? 此外人类 SIRT 基因家族的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与寿命之间的关系等问题, 都是现代医学中的重要研究课题。

与此同时, 研究者们已试图从抗氧化剂干预角度, 将 *Sir2/Sirt* 基因家族的最新研究成果应用于人类健康。如 Sinclair 实验室发现, 有 3 类小分子物质既是有效的抗氧化剂, 又是 *Sir2/SIRT* 蛋白的激活剂^[10,29]。其中, 白藜芦醇 (resveratrol) 可以通过激活 *Sir2* 的酶活性从而将酵母的寿命延长约 70%, 是所有受试植物多酚类化合物中最强的 *Sir2/SIRT* 激活剂。故人们对这一领域的深入研究, 有望为抗衰老机制的进一步阐明以及其指导应用提供新的思路和方法。

参考文献:

- [1] Kennedy BK, Austriaco NR Jr, Zhang J, Guarente L. Mutation in the silencing gene SIR4 can delay aging in *S. cerevisiae*. *Cell*, 1995,80(3):485~496
- [2] Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R. A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*, 1993,366(6454):461~464
- [3] Lakowski B, Hekimi S. Determination of life span in *Caenorhabditis elegans* by four clock genes. *Science*, 1996, 272(5264):1010~1013
- [4] Lin YJ, Seroude L, Benzer S. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*. *Science*, 1998, 282(5390):943~946
- [5] Rogina B, Reenan RA, Nilsen SP, Helfand SL. Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*. *Science*, 2000,290(5499):2137~2140
- [6] Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, Bartke A. Dwarf mice and the ageing process. *Nature*, 1996,384(6604):33
- [7] Migliaccio E, Giorgio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi PP, Lanfrancione L, Pelicci PG. The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and lifespan in mammals. *Nature*, 1999,402(6759):309~313
- [8] Guarente L. Sir2 links chromatin silencing, metabolism, and aging. *Genes Dev*, 2000,14(9):1021~1026
- [9] Koubova J, Guarente L. How does calorie restriction work. *Genes Dev*, 2003,17:313~321
- [10] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 2003,425(6954):191~196
- [11] Blander G, Guarente L. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu Rev Biochem*, 2004,73:417~435
- [12] Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, Guarente L, Gu W. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell*, 2001,107 (2): 137~148
- [13] Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, Imai SI, Frye RA, Pandita TK, Guarente L, Weinberg RA. hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*, 2001,107 (2): 149~159
- [14] Senawong T, Peterson VJ, Avram D, Shepherd DM, Frye RA, Minucci S, Leid M. Involvement of the histone deacetylase SIRT1 in chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor (COUP-TF)-interacting protein 2-mediated transcriptional repression. *J Biol Chem*, 2003,278 (44): 43041~43050
- [15] Takata T, Ishikawa FH. Sir2-related protein SIRT1 associates with the bHLH repressors HES1 and HEY2 and is involved in HES1-and HEY2-mediated transcriptional repression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003,301(1):250~257
- [16] Fulco M, Schiltz RL, Iezzi S, King MT, Zhao P, Kashiwaya Y, Hoffman E, Veech RL, Sartorelli V. Sir2 regulates skeletal muscle differentiation as a potential sensor of the redox state. *Molecular Cell*, 2003,12:51~62
- [17] Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, Chua KF, Greer PL, Lin Y, Tran H, Ross SE, Mostoslavsky R, Cohen HY, Hu LS, Cheng HL, Jedrychowski MP, Gygi SP, Sinclair DA, Alt FW, Greenberg ME. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004, 303(5666): 2011~2015
- [18] Motta MC, Divecha N, Lemieux M, Kamel C, Chen D, Gu W, Bultsma Y, McBurney M, Guarente L. Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors. *Cell*, 2004, 16(4):551~563
- [19] Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, Leid M, McBurney MW, Guarente L. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 2004,429(6993):771~776
- [20] Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS, Keller MD, Jones DR, Frye RA, Mayo MW. Modulation of NF-kappaB-dependent

- transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J*, 2004,23(12):2369~2380
- [21] Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ, Wall NR, Hekking B, Kessler B, Howitz KT, Gorospe M, de Cabo R, Sinclair DA. Caloric restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004,305(5682):390~392
- [22] McBurney MW, Yang X, Jardine K, Hixon M, Boekelheide K, Webb JR, Lansdorp PM, Lemieux M. The mammalian SIR2alpha protein has a role in embryogenesis and gametogenesis. *Mol Cell Biol*, 2003,23(1):38~54
- [23] Lin SY, Elledge SJ. Multiple tumor suppressor pathways negatively regulate telomerase. *Cell*, 2003,113(7):881~889
- [24] Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, Guarente L, Gu W. Negative control of p53 by Sir2a promotes cell survival under stress. *Cell*, 2001,107:137~148
- [25] Chua KF, Mostoslavsky R, Lombard DB, Pang WW, Saito S, Franco S, Kaushal D, Cheng HL, Fischer MR, Stokes N, Murphy MM, Appella E, Alt FW. Mammalian SIRT1 limits replicative life span in response to chronic genotoxic stress. *Cell metabolism*, 2005,2:67~76
- [26] Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, Chua KF, Greer PL, Lin Y, Tran H, Ross SE, Mostoslavsky R, Cohen HY, Hu LS, Cheng HL, Jedrychowski MP, Gygi SP, Sinclair DA, Alt FW, Greenberg ME. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004,303(5666):2011~2015
- [27] Kobayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Chen C, Horio Y, Isobe K, Ikeda K, Motoyama N. SIRT1 is critical regulator of FOXO-mediated transcription in response to oxidative stress. *Int J Mol Med*, 2005,16(2):237~243
- [28] Shi DY, Deng YR, Liu SL, Zhang YD, Wei L. Redox stress regulates cell proliferation and apoptosis of human hepatoma through Akt protein phosphorylation. *FEBS Letters*, 2003,542:60~64
- [29] Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*, 2004,430(7000):686~689

THE *sirt* GENE FAMILY AND ITS ROLE IN REGULATION OF CELL LIFESPAN

GUO Yi-qi¹, SHI Dong-yun², WANG Jun-hui¹, LIU Shan-lin^{1,2}

(1. College of Life Science, Zhejiang University, Free Radical Regulation Research Center of Zhejiang University, Hangzhou 310012, China; 2. Free Radical Regulation Regulation Center of Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: The *Sir2* gene family can modulate cell lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, and *Drosophila*. The *Sir2* homologues in mammalian is called *Sirt* gene family and it comprises seven members. The mechanism of lifespan regulation by *Sir2* gene in the *Saccharomyces cerevisiae* is relatively clear. While, the role of *Sirt* genes, especially, the *Sirt1* gene, in protection mammalian cell from senescence become a hot spot of research interest. Current knowledge shows that SIRT1 participates in three pathways to regulate lifespan during caloric restriction and oxidative stress. First, SIRT1 represses PPAR- γ to induce a shedding of body fat from white adipose tissue in order to reduce the toxic effects of LPA; Second, SIRT1 expression can influence p53 function via two distinct mechanism, which have opposite effect on net p53 activity; Third, SIRT1 increases the ability of FOXO to resist oxidative stress. In this review, the latest findings regarding SIRT gene family and their role in regulation of mammalian lifespan were summarized and discussed.

Key Words: *Sir2*; SIRT1; Caloric restriction; Lifespan

This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30270501、30130100)

Received: Aug 3, 2005

Corresponding author: LIU Shan-lin, Tel: +86(21)54237698, E-mail: sliu826@yahoo.com.cn