

磷酸化蛋白 50(EBP50) ——一种新的抑癌蛋白*

郑君芳 贺俊崎**

(首都医科大学生物化学与分子生物学系, 北京 100069)

摘要 磷酸化蛋白 50(ERM-binding phosphoprotein-50, EBP50)是由 358 个氨基酸组成的多功能连接蛋白。EBP50 通过其 PDZ-I、PDZ-II 和 ERM 结合结构域与多种蛋白质结合, 对 PI3K/Akt、PLC β 等生长信号途径及对细胞迁移进行调控。目前有很多证据提示, *ebp50* 是一种新的抑癌基因。在乳腺癌病人临床标本和细胞系中可检测到 *ebp50* 基因的杂合性丢失(LOH)和突变, 其抑癌作用可能是通过它与多种抑癌蛋白(如抑癌蛋白 PTEN、MERLIN 和 SYK)的相互作用并增强它们的稳定性, 并与致癌蛋白结合从而抑制其致癌功能来达到的。通过对其分子结构、调控的信号途径及其与乳腺癌发生、发展的关系进行综述, 为乳腺癌的防治提供新线索。

关键词 磷酸化蛋白 50(EBP50)/ 钠氢交换子调节因子 1(NHERF1), 抑癌蛋白, 杂合性丢失(LOH), 基因突变, 信号转导, 迁移
学科分类号 R730

乳腺癌是全球女性发病率最高的恶性肿瘤, 其发生、发展涉及到多种癌基因的激活和抑癌基因的失活, 对乳腺癌发生、发展中这些基因异常的认识, 是乳腺癌防治的关键。目前, 脾酪氨酸激酶基因(spleen tyrosine kinase, *syk*)^[1]、第 10 号染色体缺失且与张力蛋白同源物磷酸脂酶基因(phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10, *pten*)^[2]和乳腺癌缺失基因(deleted in breast cancer, *dbc2*)^[3]、p53、乳腺癌易感基因 1 和 2(breast cancer susceptibility gene 1 and 2, *brca1* and *brca2*)、上皮型钙粘蛋白(*E-cadherin*)是比较公认的对乳腺癌发生、发展起抑制作用的基因, 还有其他一些抑癌基因正在研究中。近年来的研究证实, 与膜-细胞骨架连接蛋白(ezrin-radixin-moesin, ERM)家族蛋白结合的磷酸化蛋白 50(ERM-binding phosphoprotein-50, EBP50, 也称为钠氢交换子调节因子 1, Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 1, NHERF1)的基因是一个新发现的乳腺癌抑制基因^[4], 有可能是乳腺癌防治的一个新靶点。本文对其分子结构、调控的信号途径及其与乳腺癌发生、发展的关系进行综述。

1 EBP50 的组织表达谱及其分子结构

EBP50 在组织中广泛分布, 在肝脏、唾液腺、肾脏、胰腺、乳腺中高度表达^[5]。 *ebp50* 基因含有 6

个外显子, 定位在染色体 17q25.1, 编码一个由 358 个氨基酸组成的蛋白质, 其氨基端含有两个串联的 PDZ 结构域: PDZ-I 和 PDZ-II, 羧基端含有与 ERM 家族蛋白结合的结构域(图 1)。它们都是典型的蛋白质-蛋白质相互作用的结构域。PDZ 结构域的名称源于最初克隆的 3 个含有共同序列的蛋白质(PSD-95、Dlg、ZO-1)。

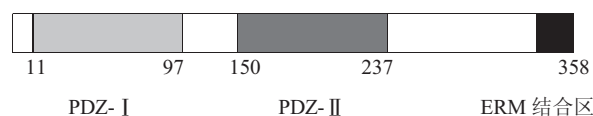


Fig. 1 Molecular structure of EBP50^[6]
 图 1 EBP50 的分子结构^[6]

EBP50 通过它的 PDZ 和 ERM 结合结构域与多种蛋白质结合, 包括 SYK^[4]、PTEN^[7, 8]、血小板衍生生长因子受体(platelet derived growth factor receptor, PDGFR)^[8-10]、PLC β 、 β -环连蛋白(β -catenin)和 ERM 家族蛋白^[11, 12]等, 调节和整合多种信号途

* 国家自然科学基金资助项目(30572183, 30772573), 北京市教委重点基金资助项目(KZ200610025013), 新世纪优秀人才支持计划(NCET-06-0184), 北京市优秀人才培养资助项目(20071D0501800253)。

** 通讯联系人。

Tel: 010-83911693, E-mail: jq_he@ccmu.edu.cn

收稿日期: 2007-10-10, 接受日期: 2007-12-05

径. EBP50 自身也可通过 PDZ 结构域形成寡聚体^[13~15], 表明 EBP50 是典型的黏附蛋白, 即多种靶蛋白(膜蛋白或非膜蛋白)经 EBP50 黏附或聚集在一起. 因此, EBP50 是胞内多功能连接蛋白(adapter).

2 EBP50 参与调控的信号转导途径和功能

EBP50 与多种蛋白质相互作用, 形成信号转导复合体, 进行多条细胞信号转导途径的调控.

首先, EBP50 可调节生长因子受体所介导的信号途径. 如 EBP50 可与蛋白质 PTEN 和 PDGFR 形成信号转导复合物, 抑制 PDGFR 所介导的生长信号通路^[8]. 具体过程为: 细胞受 PDGF 刺激, 激活 PDGFR, EBP50 与激活的 PDGFR 结合, 再募集胞浆中的 PTEN 到膜上, 共同形成超级大分子信号转导复合物, 抑制 Akt 的磷酸化, 从而抑制磷脂酰肌醇 3 激酶 /Akt (phosphoinositide3-kinase/protein kinase B, PI3K/ Akt) 信号转导通路的激活(图 2 ①)^[8]. EBP50 还可通过与激活的 EGFR (epidermal growth factor receptors, EGFRs) 结合, 阻止 EGFR 被内吞(图 2 ③)^[16].

其次, EBP50 对 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)和某些跨膜受体的运输和信号转导也起重要的调控作用. EBP50 可与激活

的 β_2 肾上腺素能受体(β_2 adrenergic receptor, β_2 AR) 或 κ 鸦片受体(κ -opioid receptor)相互作用, 促进这两种受体的再循环, 抑制其被溶酶体降解^[17, 18](图 2 ②). EBP50 和 RAMP3 (receptor activity-modifying protein isoform3)共同结合到另一种 GPCR-CRLR(RAMP3 与 CRLR 的复合体称为 adrenomedullin receptor, AMR)上, 并将此复合体与肌动蛋白结合, 抑制 AMR 的内化(图 2 ④)^[19]. EBP50 还能抑制甲状旁腺激素受体 (parathyroid hormone I receptor, PTH1R, 属于 GPCR)拮抗剂诱导的由 dynamin 介导的 PTH1R 内吞, 即 EBP50 的 ERM 结构域和肌动蛋白聚合共同将 PTH1R 维持在细胞表面^[20]. 负鼠肾细胞的 PTH1R 在受到 PTH 刺激后, EBP50 可与 PTH1R 结合(通过其 PDZ I 结构域), 再与 PLC β 和肌动蛋白结合, 形成信号转导复合体, 提高细胞内的钙浓度(图 2 ⑤)^[21]. 但 EBP50 却可通过抑制 G α_q 与 TP 受体(thromboxane A2 receptor, TP receptor)的结合及活化的 G α_q 与 PLC β 1 的结合^[22], 从而抑制 G α_q 偶联受体 /PLC β /三磷酸肌醇(IP3)信号途径, 即抑制 IP3 的产生和 PLC β 的激活(图 2 ⑦)^[23].

第三, EBP50 也可调控钙和氯离子转运相关蛋白的运输及信号转导. EBP50 PDZ- I 与哺乳动物两个库容调控的钙通道(store-operated calcium

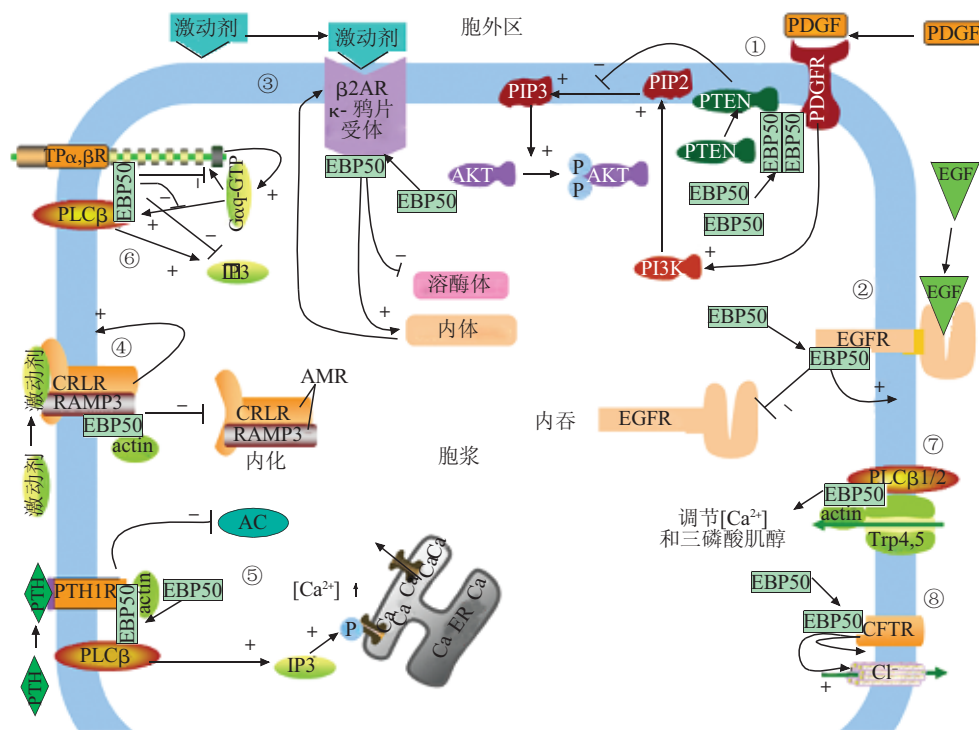


Fig. 2 Signal pathways regulated by EBP50

图 2 EBP50 参与调控的信号途径

channels, SOC) Trp4 和 Trp5, 及磷脂酶 C β 1 和 β 2(phospholipases C β 1 and C β 2, PLC β 1 和 β 2) 结合(图 2 ⑧)^[24], 并与 SOC 和 PLC β 形成复合体, 将它们的功能进行整合, 共同协调钙和磷脂酰肌醇代谢, 调控细胞代谢和生长^[6]. EBP50 C 端的 FERM 结构域与细胞骨架蛋白 ezrin 结合, 然后 EBP50 再将 PLC β 1/ β 2 和钙通道的复合体连接到肌动蛋白细胞骨架, 从而肌动蛋白细胞骨架的再分布就可通过这个蛋白质复合体来调控钙通道 TRP4/5^[23]. EBP50 与氯通道纤维囊性穿膜转导调节蛋白(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)结合, 增强其在膜上的表达, 并增强 PKA 依赖的 CFTR 介导的氯外流(图 2 ⑤)^[25].

3 EBP50 与乳腺癌的发生与发展

近年来, 多个研究结果提示, EBP50 蛋白是一个新的乳腺癌抑制蛋白, 其机制可能是通过调控与其结合的抑癌蛋白或致癌蛋白的活性或调控它们所介导的信号转导途径.

3.1 乳腺癌组织和细胞系中存在 *ebp50* 基因突变

研究结果显示, 58%的乳腺癌病人在 *ebp50* 基因位点 (17q25.1) 存在杂合性丢失 (loss of heterozygosity, LOH). 这样的丢失几率在其他类型的肿瘤中是不多见的, 表明 EBP50 在乳腺癌发病中起着重要作用. 临床结果还显示, EBP50 位点相邻区域的杂合性丢失与乳腺癌的恶性程度和较差的预后呈强相关^[4]. *ebp50* 基因所在的染色体 17q25.1 在人类乳腺癌和卵巢癌中有很高的突变频率 (GenBank accession #NM_004252)^[26, 27]. 在 LOH 原发乳腺癌病人临床标本和细胞系中, 检测到三种 *ebp50* 基因内突变: a. 在原发乳腺癌组织, NHERF 外显子 2(位于 PDZ-II) 发生错义突变 AAG-AAC (K172N). b. 在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231, 也发现 NHERF 外显子 2 发生错义突变 CGG-TGG (R180W). c. 在乳腺癌细胞系 SUM-149PT, NHERF 外显子 6(位于 MERLIN 相互作用基序) 发生错义突变 GAC-GTC (D301V)^[4]. 抑癌基因失活有两条途径: 基因内突变和染色体物质丢失(杂合性丢失或等位基因丢失), 在乳腺癌临床标本和细胞系中检测到的 *ebp50* 的变化情况与抑癌基因失活的两条途径相符合, 从分子生物学角度提示 EBP50 有可能是抑癌基因^[4].

3.2 EBP50 在乳腺癌细胞中低表达

在 30%的乳腺癌细胞中发现 EBP50 表达下调

(图 3), 因此, 肿瘤的发生可能由于 EBP50 蛋白表达水平较低或消失, 使其抑癌作用减弱或消失而导致.

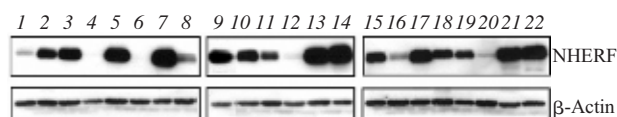


Fig. 3 EBP50 expression in breast cancer cell lines by immunoblotting^[28]

图 3 EBP50 的乳腺癌细胞表达谱^[28]

1: BT20; 2: BT474; 3: BT483; 4: BT549; 5: CAMA1; 6: DU4475; 7: HCC1438; 8: HCC1954; 9: MCF7; 10: MB134; 11: MB157; 12: MB231; 13: MB330; 14: MB361; 15: MB415; 16: MB435S; 17: MB453; 18: MB468; 19: SKBr3; 20: SUM149PT; 21: T47D; 22: Zr75.1.

3.3 抑制 EBP50 表达可促进乳腺癌细胞生长

EBP50 具有抑癌作用的另一个证据是, 抑制乳腺癌细胞 T47D 或 MCF7 中内源表达的 EBP50 后, 细胞增殖能力增强, 对裸鼠的致瘤能力也增强. 抑制 EBP50 表达后, 细胞从 G1 到 S 期进展加快, 伴随 cyclin E 表达增加和 Rb 磷酸化水平升高. 由此推测, 正常 EBP50 在乳腺上皮细胞中的功能是阻止细胞周期进展. EBP50 对细胞周期的调节作用与它在乳腺中的肿瘤抑制活性相关^[28].

3.4 EBP50 抑制细胞的侵袭和迁移

Demoulin 等^[29]的研究表明, 用 PDGF 刺激将细胞的 PDGFR 激活后, EBP50 被募集到激活的 PDGFR, 细胞骨架重组被抑制, 但 PDGF 诱导的丝裂反应和趋化作用不受影响. 而 Takahashi 等^[8]的研究则显示, 用 PDGF 刺激 EBP50 不表达和表达的两组鼠胚成纤维细胞, EBP50 不表达的细胞背皱褶更多, 肌动蛋白更容易重组, 穿膜能力更强. 提示 EBP50 不仅可抑制 PDGF 诱导的细胞骨架重排, 对细胞趋化迁移同样也有抑制作用. 最近研究表明, EBP50 抑制细胞迁移的机制之一是, EBP50 与 β -catenin 的相互作用将 β -catenin 稳定在细胞表面, 并促进 β -catenin 与 E-cadherin 结合成复合体, 从而抑制细胞的迁移, 同时抑制细胞增殖^[30].

3.5 EBP50 的抑癌机制——EBP50 与 PTEN、SYK 或 MERLIN 参与肿瘤抑制通路

PTEN 和 SYK 对乳腺癌具有抑制作用^[1, 2], PTEN 蛋白的表达量下降或消失, 或 PTEN 蛋白稳定性调节机制异常将导致 PTEN 对乳腺癌的抑制作

用减弱^[31, 32]。ERM 家族成员之一——MERLIN(*nf2* 基因的产物)也对肿瘤具有抑制作用^[33, 34]。而 EBP50 与 PTEN、SYK、MERLIN 都有相互作用^[4, 7]，EBP50 与 PTEN 的相互作用还可使 PTEN 蛋白的稳定性增强^[7]。当 EBP50 基因发生突变时，EBP50 蛋白与抑癌蛋白的相互作用均消失^[4]。因此，EBP50 具有抑癌作用的机制除了阻止细胞周期进展以外，有可能还包括增强与之相互作用的抑癌蛋白的活性，参与这些抑癌蛋白所调控的生长信号转导通路，如参与 PTEN 所调控的 PI3K/Akt 生长信号转导通路^[8]。另外，EBP50 与 β -catenin 结合，与 E-cadherin 三者形成复合体，将 β -catenin 稳定在细胞表面，从而抑制 Wnt 信号通路的激活^[30]。

4 结语与展望

EBP50 虽然是一个连接蛋白，但多个研究表明，EBP50 自身在乳腺癌的发生、发展中起着重要作用，包括抑制乳腺癌细胞的生长和迁移，调控多条信号途径。今后还需进一步了解其生化功能，因为生化和遗传研究将有助于检测与 EBP50 特异相互作用的蛋白质，阐明 EBP50 的作用机制。比如，抑制哺乳动物细胞中 EBP50 的表达，有助于明确 EBP50 抑制肿瘤生成的信号途径。通过依赖 EBP50 的肿瘤抑制小鼠模型或分析临床肿瘤标本可阐明 EBP50 的作用机制。另外，EBP50 能增强多种肿瘤抑制蛋白 PTEN 的稳定性，提示 EBP50 可能有抑制多种肿瘤发生、发展的功能。本文对 EBP50 的分子结构、组织表达谱、所调控的信号途径及其与乳腺癌发生、发展的关系等最新进展进行综述，为乳腺癌及其他癌症的早期诊断、预防和治疗提供新的方向。

致谢 感谢本实验室熊英老师和孙超渊博士在本文撰写中提出的建议。

参 考 文 献

- Yuan Y, Mendez R, Sahin A, *et al.* Hypermethylation leads to silencing of the SYK gene in human breast cancer. *Cancer Res*, 2001, **61** (14): 5558~5561
- Eng C. PTEN: one gene, many syndromes. *Hum Mutat*, 2003, **22** (3): 183~198
- Hamaguchi M, Meth J L, von Klitzing C, *et al.* DBC2, a candidate for a tumor suppressor gene involved in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (21): 13647~13652
- Dai J L, Wang L, Sahin A A, *et al.* NHERF (Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor) gene mutations in human breast cancer. *Oncogene*, 2004, **23** (53): 8681~8687
- Ediger T R, Kraus W L, Weinman E J, *et al.* Estrogen receptor regulation of the Na⁺/H⁺ exchange regulatory factor. *Endocrinology*, 1999, **140** (7): 2976~2982
- Voltz J W, Weinman E J, Shenolikar S. Expanding the role of NHERF, a PDZ-domain containing protein adapter, to growth regulation. *Oncogene*, 2001, **20** (44): 6309~6314
- 陈鹏, 杨晓梅, 熊英, 等. PTEN 与 NHERF1 的相互作用. *基础医学与临床*, 2007, **27** (4): 372~376
- Chen P, Yang X M, Xiong Y, *et al.* *Basic Clin Med*, 2007, **27** (4): 372~376
- Takahashi Y, Morales F C, Kreimann E L, *et al.* PTEN tumor suppressor associates with NHERF proteins to attenuate PDGF receptor signaling. *EMBO J*, 2006, **25** (4): 910~920
- Maudsley S, Zamah A M, Rahman N, *et al.* Platelet-derived growth factor receptor association with Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor potentiates receptor activity. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (22): 8352~8363
- James M F, Beauchamp R L, Manchanda N, *et al.* A NHERF binding site links the betaPDGFR to the cytoskeleton and regulates cell spreading and migration. *J Cell Sci*, 2004, **117** (Pt 14): 2951~2961
- Murthy A, Gonzalez-Agosti C, Cordero E, *et al.* NHE-RF, a regulatory cofactor for Na⁺-H⁺ exchange, is a common interactor for merlin and ERM (ERM) proteins. *J Biol Chem*, 1998, **273** (3): 1273~1276
- Reczek D, Berryman M, Bretscher A. Identification of EBP50: A PDZ-containing phosphoprotein that associates with members of the ezrin-radixin-moesin family. *J Cell Biol*, 1997, **139** (1): 169~179
- Fouassier L, Yun C C, Fitz J G, *et al.* Evidence for ezrin-radixin-moesin-binding phosphoprotein 50 (EBP50) self-association through PDZ-PDZ interactions. *J Biol Chem*, 2000, **275** (32): 25039~25045
- Lau A G, Hall R A. Oligomerization of NHERF-1 and NHERF-2 PDZ domains: differential regulation by association with receptor carboxyl-termini and by phosphorylation. *Biochemistry*, 2001, **40** (29): 8572~8580
- Shenolikar S, Minkoff C M, Steplock D A, *et al.* N-terminal PDZ domain is required for NHERF dimerization. *FEBS Lett*, 2001, **489** (2-3): 233~236
- Lazar C S, Cresson C M, Lauffenburger D A, *et al.* The Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor stabilizes epidermal growth factor receptors at the cell surface. *Mol Biol Cell*, 2004, **15**(12): 5470~5480
- Cao T T, Deacon H W, Reczek D, *et al.* A kinase-regulated PDZ-domain interaction controls endocytic sorting of the beta2-adrenergic receptor. *Nature*, 1999, **401** (6750): 286~290
- Huang P, Steplock D, Weinman E J, *et al.* kappa Opioid receptor interacts with Na⁺/H⁺-exchanger regulatory factor-1/ezrin-radixin-moesin-binding phosphoprotein-50 (NHERF-1/EBP50) to stimulate Na⁺/H⁺ exchange independent of G(i)/G(o) proteins. *J Biol Chem*, 2004, **279** (24): 25002~25009
- Bomberger J M, Spielman W S, Hall C S, *et al.* Receptor

- activity-modifying protein (RAMP) isoform-specific regulation of adrenomedullin receptor trafficking by NHERF-1. *J Biol Chem*, 2005, **280** (25): 23926~23935
- 20 Sneddon W B, Syme C A, Bisello A, *et al.* Activation-independent parathyroid hormone receptor internalization is regulated by NHERF1 (EBP50). *J Biol Chem*, 2003, **278** (44): 43787~43796
- 21 Mahon M J, Segre G V. Stimulation by parathyroid hormone of a NHERF-1-assembled complex consisting of the parathyroid hormone I receptor, phospholipase C β , and actin increases intracellular calcium in opossum kidney cells. *J Biol Chem*, 2004, **279** (22): 23550~23558
- 22 Rochdi M D, Watier V, La Madeleine C, *et al.* Regulation of GTP-binding protein α_q (α_q) signaling by the ezrin-radixin-moesin-binding phosphoprotein-50 (EBP50). *J Biol Chem*, 2002, **277** (43): 40751~40759
- 23 Suh P G, Hwang J I, Ryu S H, *et al.* The roles of PDZ-containing proteins in PLC- β -mediated signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **288** (1): 1~7
- 24 Tang Y, Tang J, Chen Z, *et al.* Association of mammalian trp4 and phospholipase C isozymes with a PDZ domain-containing protein, NHERF. *J Biol Chem*, 2000, **275** (48): 37559~37564
- 25 Guerra L, Fanelli T, Favia M, *et al.* Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor isoform 1 overexpression modulates cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) expression and activity in human airway 16HBE14o- cells and rescues DeltaF508 CFTR functional expression in cystic fibrosis cells. *J Biol Chem*, 2005, **280** (49): 40925~40933
- 26 Kalikin L M, Qu X, Frank T S, *et al.* Detailed deletion analysis of sporadic breast tumors defines an interstitial region of allelic loss on 17q25. *Genes Chromosomes Cancer*, 1996, **17** (1): 64~68
- 27 Kalikin L M, Frank T S, Svoboda-Newman S M, *et al.* A region of interstitial 17q25 allelic loss in ovarian tumors coincides with a defined region of loss in breast tumors. *Oncogene*, 1997, **14** (16): 1991~1994
- 28 Pan Y, Wang L, Le Dai J. Suppression of breast cancer cell growth by Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 1 (NHERF1). *Breast Cancer Res*, 2006, **8** (6): R63
- 29 Demoulin J-B, Seo J K, Ekman S, *et al.* Ligand-induced recruitment of Na⁺/H⁺-exchanger regulatory factor to the PDGF (platelet-derived growth factor) receptor regulates actin cytoskeleton reorganization by PDGF. *Biochem J*, 2003, **376** (Pt 2): 505~510
- 30 Kreimann E L, Morales F C, de Orbeta-Cruz J, *et al.* Cortical stabilization of beta-catenin contributes to NHERF1/EBP50 tumor suppressor function. *Oncogene*, 2007, **26** (36): 5290~5299
- 31 Leslie N R, Downes C P. PTEN function: how normal cells control it and tumour cells lose it. *Biochem J*, 2004, **382** (Pt 1): 1~11
- 32 Mutter G L, Lin M C, Fitzgerald J T, *et al.* Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst*, 2000, **92** (11): 924~930
- 33 Rouleau G A, Merel P, Lutchman M, *et al.* Alteration in a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neurofibromatosis type 2. *Nature*, 1993, **363** (6429): 515~521
- 34 Trofatter J A, MacCollin M M, Rutter J L, *et al.* A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell*, 1993, **75** (4): 826

EBP50: a Novel Cancer Suppressor Protein*

ZHENG Jun-Fang, HE Jun-Qi**

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract EBP50 (ERM-binding phosphoprotein-50), a multifunctional adapter protein with 358 amino acids and two PDZ domains, regulates cell growth and migration. Lines of evidences indicate that it is a potential cancer suppressor protein. Loss of heterozygosity (LOH) and intragenic mutation of the *ebp50* gene have been found in both primary breast tumors and breast cancer cell lines. EBP50 suppresses the breast cancer cell proliferation *via* its interaction with many tumor suppressor protein including PTEN, SYK, MERLIN, etc. Here the molecular structure of EBP50, signal pathway regulated by EBP50, and the relationship between breast cancer development and EBP50 are discussed.

Key words EBP50/NHERF, cancer suppressor protein, LOH, gene mutation, signal transduction, migration

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30572183, 30772573), Foundation of Beijing Educational Committee (KZ200610025013), The New Century Excellent Talents in University (NCET-06-0184) and Distinguished Young Scholar in Beijing Award (20071D0501800253).

**Corresponding author. Tel: 86-10-83911693, Email: jq_he@ccmu.edu.cn

Received: October 10, 2007 Accepted: December 5, 2007