维化和致癌作用。该因子是器官纤维化过程中的核心介质，是与纤维化发生、发展密切相关的生长因子，抑制其表达或生物活性可延缓器官纤维化进程[1]。但常规药物如干扰素、苏拉明等对其抑制效率不高，且安全性及给药途径等还有待于临床验证[3]。而RNAi技术的出现和成熟则为我们提供了一个新的有力工具和研究方向。

RNAi现象最初在植物研究中被发现，当时称为"共抑制(cosuppression)"，是指通过转基因或病毒感染引起转录或转录后水平基因沉默。1998年Fire等[4]首次将正义和反义链混合的双链RNA导入线虫体内，发现靶基因mRNA发生了序列特异性降解，且比单独注射正义或反义链引起基因沉默的效率高得多。在哺乳动物及人类细胞的进一步研究中发现，只有长21～23核苷酸的siRNA能避免非特异性抑制基因表达，诱发特异性RNAi现象[5]。近年来该技术已被广泛应用于哺乳动物和人类基因的研究，并取得了比较满意的研究结果，将体外构建的siRNA导入人类宫颈癌HeLa细胞、大鼠成纤维细胞和小鼠3T3细胞，分别抑制哺乳动物的laminB1、laminB2、NUP153、GAS41、ARC21、cdk1、β-actin和γ-actin等21个不同类型基因均获得成功，并重新界定了部分必需基因和非必需基因[6]。

本研究中我们针对小鼠的TGF-β_1基因靶序列选择了3个位点分别设计了3种stealth siRNA，并对其中的正义链进行了化学修饰，从而使其：①只允许反义片段导入靶细胞/组织，因而消除了正义链的RNA干扰作用，这也大大降低了非特异性基因抑制的可能性；②结构较以往的siRNA具有更好的稳定性，不易被降解，可保持活性达48 h以上。结果显示3种stealth siRNA对小鼠LFb中TGF-β_1的表达均有不同程度的抑制作用，其中Stealth_166的抑制相对更为明显，但3组转染组间比较并无统计学差异，说明此3个位点都有进一步深入研究的价值。而在不同的时段，抑制效应也不尽相同，转染24 h后并不能检测到表达减低，48 h后可发现各转染组小鼠LFb中TGF-β_1的表达已有了不同程度的减低，72 h后表达减低最为明显，但转染96 h后则抑制效应开始减弱。这说明stealth siRNA的抑制效应与其转染时间相关，同时也验证了stealth siRNA活性可维持72 h以上。而仅转染脂质体的空转染组较对照组TGF-β_1表达也稍有减低，这可能与脂质体转染过程中损伤细胞，导致部分细胞死亡有关。

通过本实验，我们证实了合成的stealth siRNA能有效地抑制小鼠肺成纤维细胞中TGF-β_1的表达。但是由于我们采用的是瞬时转染，因而其对基因表达的抑制受转染效率、作用时间等的影响较大，抑制效应随时间的延长逐渐减弱。基于此现象，我们将依照其序列构建稳定表达质粒，为进一步的动物实验及临床试验打下基础，以期稳定、高效地从基因水平抑制TGF-β_1的表达，探讨应用RNA干扰技术防治肺间质纤维化的可行性。当然，目前要将RNA干扰技术应用于临床治疗，仍有较多问题尚未解决，比如给药途径、时效关系及量效关系等。但RNA干扰这一新技术必将为相关疾病的治疗研究及新药研发开拓了一个全新的方向，基因治疗将可能进入一个新的阶段。

参考文献：

[1] Scaffidi A K, Petrovic N, Moodley Y P, *et al*. alpha(v)beta(3) Integrin interacts with the transforming growth factor beta (TGFbeta) type II receptor to potentiate the proliferative effects of TGFbeta1 in living human lung fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2004, 279(36): 37726－37733.

[2] 王 珂，周长满，王恩华. 成年大鼠眼球和鼻腔嗅粘膜成鞘细胞的分离、培养与鉴定[J]. 解剖学报，2002，33(5)：488－491.

[3] 高晓方，崔往怀. 干扰素γ对实验大鼠肺纤维化的治疗作用及机制的初步研究[J]. 第二军医大学学报，2005，27(2)：143－145.

[4] Fire A, Xu S, Montgomery M K, *et al*. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans[J]. Nature, 1998, 391(6669): 806－811.

[5] Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world[J]. Science, 2001, 294(5543): 797－799.

[6] Dillon C P, Sandy P, Nencioni A, *et al*. RNAi as an experimental and therapeutic tool to study and regulate physiological and disease processes[J]. Annu Rev Physiol, 2005, 67: 147－173.

（编辑 龙 亮）

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中，引用英文文献的比例很高，但有不少作者将英、美人的姓名搞错，以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是：名-名-姓，"名"可以有1个、2个或3个，但"姓"只有1个。因此，从书籍或期刊中的姓名转录到文献时，要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的；"名"可以缩写，用第一个字母大写，不用缩写点。数据库在著录作者姓名时，已经调整为姓-名-名，可照录。

例如：John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部