基础研究 文章编号:0253-3626(2011)06-0681-05

siRNA治疗大鼠卡氏肺孢子菌肺炎的实验研究

骆晓练,姚云清,谭 燕,梅 林,龚 锐
(重庆医科大学附属第一医院感染科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察靶向卡氏肺孢子菌(Pneumocystis carinii,PC)主要表面糖蛋白(Major surface glycoprotein,MSG)DNA 上游保守序列(Upstream conserved sequence,UCS)基因的 siRNA 对实验大鼠卡氏肺孢子菌肺炎(Pneumocystis carinii pneumonia,PCP)的治疗效果。方法:地塞米松皮下注射大鼠 8 周建立 PCP 动物模型,分为 4 组:A 组,pPC-UCS 组;B 组,磺胺组;C 组,感染对照组;D 组,pTZU6+1 对照组。大鼠存活率、体重、肺组织病理学变化、肺印片 PC 包囊数、扫描电镜下 PC 表面结构变化、ELISA 检测大鼠血清 IL-8、TNF-α 水平作为疗效指标。结果:①各组大鼠均存活,存活率比较无意义。②A 组与 B 组大鼠体重分别增长(13.16±3.97) g 与(14.21±3.90) g,明显高于 C 组(4.32±2.06) g 与 D 组(5.38±1.19) g,$P<0.05$。③与 C 组和 D 组比较,A 组和 B 组大鼠肺组织炎症明显减轻。④A 组与 B 组每视野包囊均数分别为(3.61±0.40)个与(3.17±0.28)个,明显低于 C 组(8.34±0.55)个与 D 组(8.74±0.57)个,$P<0.05$。⑤扫描电镜下,C 组与 D 组 PC 表面结构完整,有密集的微绒毛结构;A 组与 B 组 PC 表面微绒毛脱落,表膜出现深大缺损。⑥大鼠血清 IL-8 水平:A 组与 B 组分别为(232.50±36.27) pg/ml 与(201.15±34.52) pg/ml,明显低于 C 组(596.85±61.72) pg/ml 与 D 组(555.10±54.31) pg/ml,$P<0.05$;大鼠血清 TNF-α 水平:A 组与 B 组分别为(145.20±80.72) pg/ml 与(172.65±76.27) pg/ml,明显高于 C 组(31.58±8.47) pg/ml 与 D 组(39.49±12.03) pg/ml,$P<0.05$。结论:靶向 PC MSG-UCS 基因的 siRNA 对大鼠 PCP 有治疗作用。

【关键词】siRNA;MSG-UCS 基因;PCP 治疗
【中国图书分类法分类号】R563;R531.5 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-11-15

作者介绍:骆晓练(1985-),女,硕士,
研究方向:感染性疾病的发病机制和治疗。
通信作者:姚云清,男,教授,主任医师,Email:cqyaoyunqing@126.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30471512);重庆市自然科学基金资助项目(编号:CSTC,2009BB5407);重庆市卫生局医学科研基金资助项目(编号:04-2-100)。

mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction[J].N Engl J Med,2006,355(12):1199-1209.

[8] Maria E D,Juliana S N,Fabio L N,et al.Rat adipose tissue-derived stem cells transplantation attenuates cardiac dysfunction post infarction and biopolymers enhance cell retention[J].PLoS One,2010,5(8):e12077.

[9] Matsuura K,Honda A,Nagai T,et al.Transplantation of cardiac progenitor cells ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction in mice[J].J Clin Invest,2009,119(8):2204-2217.

[10] Kim Y Y,Ku S Y,Janq J,et al.Use of long-term cultured embryoid bodies may enhance cardiomyocyte differentiation by BMP2 [J].Yonsei Med J,2008,49(5):819-827.

[11] Takei S,Ichikawa H,Johkura K,et al.Bone morphogenetic protein-4 promotes induction of cardiomyocytes from human embryonic stem cells in serum-based embryoid body development[J].Am J Physiol Heart Circ Physiol,2009,296(6):1793-1803.

[12] Kim R Y,Robertson E J,Solloway M J.Bmp6 and Bmp7 are required for cushion formation and septation in the developing mouse heart[J].Dev Biol,2001,235(2):449-466.

[13] 谭金童,陈 沅,向 平.BMP9 对 $C_3H_{10}T_{1/2}$ 干细胞向心肌样细胞分化的影响[J].重庆医科大学学报,2009,34(6):672-676.

[14] Schlange T,Andree B,Arnold H H,et al.BMP2 is required for early heart development during a distinct time period[J].Mech Dev,2000,91(1-2):259-270.

[15] Yang Y K,Min J Y,Jamal S,et al.VEGF enhances functional improvement of postinfarcted hearts by transplantation of ESC-differentiated cells[J].J Appl Physiol,2002,93(3):1140-1151.

[16] Moustakas A,Souchelnytskyi S,Heldin C H.Smad regulation in TGF-βsignaling transduction[J].J Cell Sci,2001,114(24):4359-4369.

[17] Fazel S,Chen L,Weisel R D,et al.Cell transplantation preserves cardiac function after infarction by infarct stabilization:augmentation by stem cell factor[J].J Thorac Cardiovasc Surg,2005,130(5):1310.

[18] Kuhlmann M T,Kirchhof P,Klokę R,et al.G-CSF/SCF reduces inducible arrhythmias in the infarcted heart potentially via increased connexin43 expression and arteriogenesis[J].J Exp Med,2006,203(1):87-97.

(责任编辑:冉明会)

Study of the pneumocystis carinii pneumonia therapy effect of short interfering RNA targeting pneumocystis carinii major surface glycoprotein gene's upstream conserved sequence

LUO Xiao-lian, YAO Yun-qing, TAN Yan, MEI Lin, GONG Rui

(*Department of Infection Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the pneumocystis carinii pneumonia (PCP) therapy effect of short interfering RNA targeting pneumocystis carinii major surface glycoprotein (MSG) gene's upstream conserved sequence (UCS). *Methods*: Rat PCP model was established by hypodermic injection of dexamethasone twice a week for 8 weeks. 20 rats with PCP were randomly divided into 4 groups: in plasmid PC MSG-UCS treatment group (pPC-UCS group), rats were injected with short interfering plasmid PC MSG-UCS 500 μg/kg day for eight days; in plasmid TZU6+1 treatment group (pTZU6+1 group), rats were injected with empty plasmid TZU6+1 500 μg/kg day for eight days; in sulfadiazine treatment group, rats were treated with compound sulfadiazine 120 mg/kg day for eight days; and in PCP control group, rats were not given any treatment. For each group, the rat survival rate, rat body weight, pathological changes in rat lung tissues, the number of PC cysts in rat lung tissues, the surface structure changes of PC under scanning electron microscopy, interleukin 8 and tumour necrosis factor alpha (TNF-α) in the serum of rats were tested. *Results*: All of the rats in each groups survived at the end of treatment. Rat survival rate had no significant difference in group comparsion. All of the rats in each group got weight during the course of treatment. The mean increased body weight of rats in pPC-UCS group, sulfadiazine treatment group, pTZU6+1 group and PCP control group were (13.16±3.97) g, (14.21±3.90) g, (5.38±1.19) g and (4.32±2.06) g, respectively. Those in pPC-UCS group and sulfadiazine treatment group were significantly higher than those in pTZU6+1 group and PCP control group. The inflammation of rat lung tissues in pPC-UCS group and sulfadiazine treatment group were less than those in pTZU6+1 group and PCP control group. Under light microscopy the mean cyst number per field in the rat lung tissues in pPC-UCS group and sulfadiazine treatment group were 3.61±0.4 and 3.17±0.28, respectively, significantly smaller than those in pTZU6+1 group, 8.74±0.55, and PCP control group, 8.34±0.57. Under scanning electron microscopy, PC in pTZU6+1 group and PCP control group had intact surface with dense microvillus structure; on the contrary, in pPC-UCS group and sulfadiazine treatment group, the PC surface showed no microvillus but deep gap. Interleukin 8 in rat serum of pPC-UCS group and sulfadiazine treatment group were (232.50±36.27) pg/ml and (201.15±34.52) pg/ml, respectively, significantly lower than those of pTZU6+1 group, (596.85±61.72) pg/ml and PCP control group, (555.10±54.31) pg/ml. TNF-α in rat serum of pPC-UCS group and sulfadiazine treatment group were (145.20±80.72) pg/ml and (172.65±76.27) pg/ml, respectively, significantly higher than those of pTZU6+1 group, (39.49±12.03) pg/ml and PCP control group, (31.58±8.47) pg/ml. *Conclusion*: Short interfering RNA targeting pneumocystis carinii major surface glycoprotein gene's upstream conserved sequence is effective in the treatment of rat pneumocystis carinii pneumonia.

【Key words】siRNA; pneumocystis carinii MSG-UCS; PCP therapy

卡氏肺孢子菌(Pneumocystis carinii, PC)是一种重要的机会性感染病原体,它引起的卡氏肺孢子菌肺炎(Pneumocystis carinii pneumonia, PCP)是艾滋病患者最重要的并发症和死亡原因,也是其它免疫功能低下者如肿瘤化疗、器官移植、白血病和原发性免疫缺陷患者易感的病原体。

主要表面糖蛋白(Major surface glycoprotein, MSG)是PC细胞壁的主要蛋白成分,具有高度免疫原性,对PCP的发病起着关键作用。进一步研究表明MSG DNA上游保守序列(Upstream conserved sequence, UCS)调控MSG基因的转录、翻译等重要环节[1,2]。因此,MSG-UCS是PCP的基因治疗理想靶点之一。

RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术是近年迅速发展起来的有效基因治疗方法之一,其利用短干扰性RNA(Short interfering RNA, siRNA)诱导靶基因转录后mRNA的降解或抑制其翻译蛋白质,从而特异性地阻断靶基因的表达。作者所在的团队已经成功地构建了以PC MSG-UCS基因为靶点的siRNA质粒载体pPC-UCS[3],本研究欲进一步观察pPC-UCS对PC MSG基因的表达是否有沉默作用,观察针对MSG UCS靶基因的siRNA对大鼠PCP有无治疗作用。

1 材料与方法

1.1 材料

纯系SD大鼠为重庆医科大学实验动物中心提供;地塞米松为湖北天药有限公司产品;复方磺胺甲基异恶唑(SMZ:TMP=5:1)为昆明全新生物制药有限公司生产;四环素为重庆迪康长江制药有限公司;靶向PC MSG-UCS基因的siRNA重组质粒pPC-UCS与空载体质粒pTZU6+1由本实验室谭

表 1 各组大鼠的体重变化

组别	大鼠数（只）	平均体重（g）		平均体重差（g）
		治疗开始前	治疗结束时	
pPC-UCS治疗组	5	154.28 ± 8.73	167.44 ± 10.89	13.16 ± 3.97*
磺胺治疗组	5	162.08 ± 6.74	176.30 ± 7.80	14.21 ± 3.90*
pTZU6+1对照组	5	160.29 ± 8.22	165.67 ± 7.59	5.38 ± 1.19**
感染对照组	5	160.75 ± 6.43	165.07 ± 7.86	4.32 ± 2.06**

注：*，组间差异无统计学意义；**，组间差异无统计学意义；* 与 ** 组间差异有统计学意义，F=14.38，P<0.05

燕提供[3]。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 PCP 模型的建立 纯系 SD 大鼠 25 只，雌性，体重 180~200 g，由本校实验动物中心提供。观察 1 周后，健康动物列入实验。大鼠腹股沟皮下注射地塞米松 2.5 mg/（只·次），每周 2 次，连续 8 周，并在饮水中加入 1 g/L 四环素预防继发性细菌感染。经 8 周诱导后，随机选取 2 只大鼠处死取肺作印片，六亚甲基四胺银染色（Gomoris，GMS）油镜观察印片平均每视野见 6~10 个包囊，证实大鼠已发生中度 PC 感染[4]，PCP 大鼠模型建立成功。

1.2.2 实验动物分组及给药方法 将 PCP 大鼠随机分成 4 组，每组 5 只。pPC-UCS 治疗组，给予重组质粒 pPC-UCS 500 μg/kg，鼠尾静脉注射，每天 1 次，连续 8 d；磺胺治疗组，给予复方磺胺甲基异恶唑（SMZ:TMP=5:1，coSMZ）120 mg/kg，灌胃，每天 1 次，连续 8 d；pTZU6+1 对照组，给予空载质粒 pTZU6+1 500 μg/kg，鼠尾静脉注射，每天 1 次，连续 8 d；感染对照组，不给予任何药物治疗。

1.2.3 观察指标

1.2.3.1 大鼠存活率 观察实验过程中各组大鼠存活状况。

1.2.3.2 大鼠体重改变 观测治疗前后大鼠体重变化情况。

1.2.3.3 大鼠肺组织病理学观察 每只大鼠取左肺组织少许，4%甲醛固定，酒精逆行梯度脱水，石蜡包埋，制成切片，HE 染色，光镜下观察。

1.2.3.4 大鼠肺组织 PC 包囊数检测 以大鼠的 5 个肺叶切面印片，每个肺叶 1 张，自然干燥，甲醇固定，GMS 染色，油镜观察计数 PC 包囊。

1.2.3.5 大鼠肺组织 PC 扫描电镜观察 各组大鼠取左肺新鲜肺组织 2.5 mm^3 于 4℃预冷的 2.5%戊二醛溶液中固定，常规制备后行扫描电镜观察 PC 胞壁超微结构。

1.2.3.6 细胞因子检测 ELISA 检测大鼠血清细胞因子 IL-8、TNF-α 水平。

1.3 统计分析

多组间比较用方差分析（F 检验），2 组间比较用 q 检。验检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 大鼠存活率

各组大鼠均存活，存活率比较无意义。

2.2 大鼠体重

疗程结束时各组大鼠体重均较治疗前增加（详见表 1），pPC-UCS 治疗组与磺胺治疗组分别增长（13.16±3.97）g 与（14.21±3.90）g，明显高于感染对照组的（4.32±2.06）g 与 pTZU6+1 对照组的（5.38±1.19）g，差异具有统计学意义，P<0.05；pPC-UCS 治疗组与磺胺治疗组间差异无统计学意义；感染对照组与 pTZU6+1 对照组间差异无统计学意义。

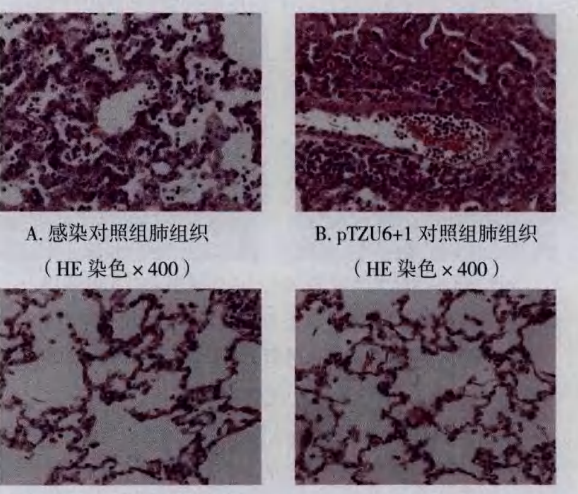
2.3 大鼠肺脏大体观察结果

治疗结束后，感染对照组与 pTZU6+1 对照组可见大鼠肺脏明显肿胀，呈暗红色，体积增大，质地较硬，表面粗糙不平，表面及切面可见散在分布的针头大小的灰白色实质病灶，挤压后切面有少量粘稠样渗出物。pPC-UCS 治疗组大鼠肺脏肿胀较轻，质地较软，呈暗红色，表面及切面结节样病灶明显减少。磺胺治疗组大鼠肺脏变化与 pPC-UCS 治疗组相似，2 组区别不明显。

2.4 大鼠肺组织病理学观察结果

感染对照组：HE 染色镜下可见重度间质性肺炎，肺泡间质水肿，大量中性粒细胞、较多单核细胞及淋巴细胞浸润；肺泡腔内较多纤维素渗出；肺泡壁增厚，成纤维细胞增生，肺泡间隔增宽。见图 1A。

pTZU6+1 对照组：镜下观察与感染对照组类似，肺间质血管内可见大量中性粒细胞浸润，有中性粒细胞附壁现象，血管壁不规则增厚，周围较多单核细胞浸润；肺泡腔内可见纤



A. 感染对照组肺组织（HE 染色×400）　B. pTZU6+1 对照组肺组织（HE 染色×400）

C. pPC-UCS 治疗组肺组织（HE 染色×400）　D. 磺胺治疗组肺组织（HE 染色×400）

图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色病理学观察

维素渗出。见图 1B。

pPC-UCS 治疗组：肺间质炎症较感染对照组和 pTZU6+1 对照组轻；肺泡腔内少量纤维素渗出，腔内及肺泡壁可见较多单核细胞等炎性细胞浸润，但中性粒细胞明显较对照组少。见图 1C。

磺胺治疗组：镜下观察与 pPC-UCS 治疗组相似。见图1D。

2.5　大鼠肺组织 PC 包囊数检测结果

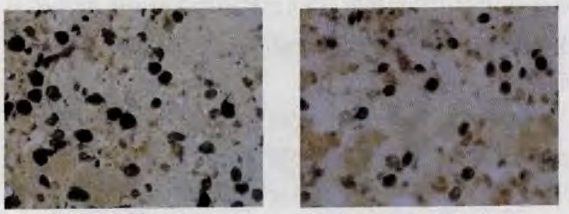
大鼠肺组织 PC 包囊数检测结果，pPC-UCS 治疗组和磺胺治疗组每视野包囊均数分别为 3.61±0.4 和 3.17±0.28，明显低于 pTZU6+1 对照组和感染对照组的 8.74±0.55 和 8.34±0.57，差异具有统计学意义。详见表 2。

表 2　各组大鼠肺孢子包囊均数比较

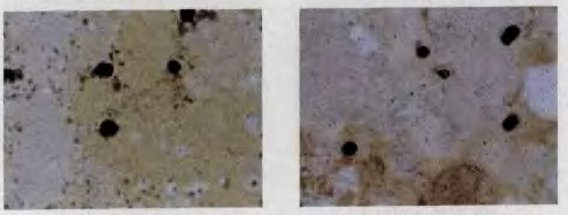
组别	大鼠数（只）	每视野包囊均数
pPC-UCS治疗组	5	$3.61 \pm 0.4^{*}$
磺胺治疗组	5	$3.17 \pm 0.28^{*}$
pTZU6+1对照组	5	$8.74 \pm 0.55^{**}$
感染对照组	5	$8.34 \pm 0.57^{**}$

注：*，组间差异无统计学意义；**，组间差异无统计学意义；* 与 ** 组间差异有统计学意义，F=183.86，P<0.01

感染对照组：油镜下大部分视野 PC 包囊较多，包囊呈圆形、椭圆形或月牙形，包囊呈黑褐色。见图 2A。pTZU6+1 对照组：油镜下观察 PC 包囊较多，与感染对照组相似。见图 2B。pPC-UCS 治疗组：油镜下大部分视野 PC 包囊稀少，形态无特殊。见图 2C。磺胺治疗组：油镜下观察 PC 包囊稀少，与 pPC-UCS 治疗组相似。见图 2D。



A. 感染对照组肺印片（GMS 染色 ×1 000）　B. pTZU6+1 对照组肺印片（GMS 染色 ×1 000）

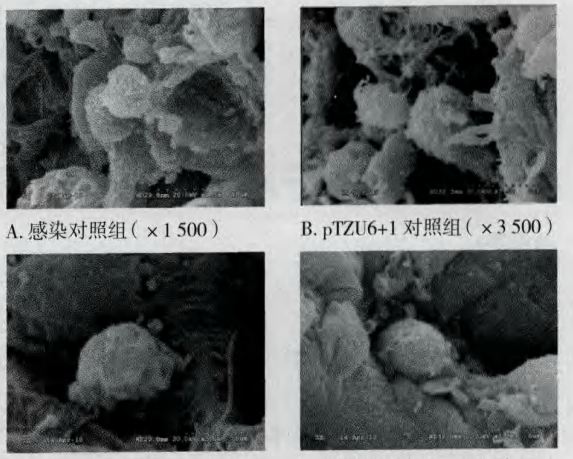


C. pPC-UCS 治疗组肺印片（GMS 染色 ×1 000）　D. 磺胺治疗组肺印片（GMS 染色 ×1 000）

图 2　各组大鼠肺组织卡氏肺孢子菌包囊 GMS 染色光镜观察

2.6　大鼠肺组织 PC 扫描电镜观察结果

感染对照组：PC 多呈圆球形或橄榄球形，表面结构完整，覆盖有粗糙密集的微绒毛，有的 PC 表面可见粗细不等的丝状伪足，见图 3A。pTZU6+1 对照组：PC 形态与感染对照组相似，见图 3B。pPC-UCS 治疗组：PC 表面微绒毛脱落、稀少，残存的微绒毛水肿胀大；丝状伪足少见；PC 表面出现凹陷、细小破损甚至深大缺损、表膜破裂等形态，见图 3C。磺胺治疗组：PC 形态与 pPC-UCS 治疗组相似，见图 3D。



A. 感染对照组（×1 500）　B. pTZU6+1 对照组（×3 500）

C. pPC-UCS 治疗组（×3 000）　D. 磺胺治疗组（×3 500）

图 3　肺组织 PC 扫描电镜观察

2.7　大鼠血清细胞因子 IL-8、TNF-α 检测结果

pPC-UCS 治疗组和磺胺治疗组大鼠血清 IL-8 水平明显低于 pTZU6+1 对照组和感染对照组，统计分析差别具有统计学意义；pPC-UCS 治疗组和磺胺治疗组大鼠血清 TNF-α 水平明显高于 pTZU6+1 对照组和感染对照组，差异具有统计学意义。详见表 3。

表 3　各组大鼠血清 IL-8 和 TNF-α 含量

组别	大鼠数（只）	IL-8（pg/ml）	TNF-α（pg/ml）
pPC-UCS治疗组	5	$232.50 \pm 36.27^{▲}$	$145.20 \pm 80.72^{★}$
磺胺治疗组	5	$201.15 \pm 34.52^{▲}$	$172.65 \pm 76.27^{★}$
pTZU6+1对照组	5	$555.10 \pm 54.31^{▲▲}$	$39.49 \pm 12.03^{★★}$
感染对照组	5	$596.85 \pm 61.72^{▲▲}$	$31.58 \pm 8.47^{★★}$

注：▲，组间差异无统计学意义；▲▲，组间差异无统计学意义；▲与▲▲组间差异有统计学意义，F=115.19，P<0.01。★，组间差异无统计学意义；★★，组间差异无统计学意义；★与★★组间差异有统计学意义，F=8.30，P<0.05

3　讨　论

目前 PCP 的治疗以 SMZ-TMP 和戊烷脒为主。SMZ-TMP 具有效果好、费用少、方便等优点，被列为治疗 PCP 的首选药物[5]，戊烷脒主要用于 SMZ-TMP 治疗无效或不宜磺胺类药物治疗的病人，且 2 种药物不良反应多，因此寻找新的高效低毒的防治 PCP 的方法成为迫切需要。

RNAi 是近年发展起来的新的基因沉默技术。它主要是利用双链 RNA 特异性介导与其反义链互补的同源 mRNA 序列的降解，从而特异性抑制目的蛋白的表达[6]。目前，应用 RNAi 技术对呼吸道合胞病毒（RSV）、HBV、特别是对老年黄斑变性疾病的研究中取得了可喜的成果。但是在 PCP 的治疗应用研究尚无报道。

MSG是 PC 表膜的重要成分，具有高度免疫原性。MSG 基因家族被证实为一多拷贝基因家族[2]，不同的宿主源 PC 的 MSG 有不同的结构和组成[1]。但是，对同一宿主源而言，PC 的 MSG 都受到位于 MSG 基因 mRNA5'端的特征性序列，即上游保守序列 UCS 的调控，虽然 UCS 基因调控着其下游不同序列编码 MSG 的不同亚型，但同时只有 1 种 MSG 基因能够转录[2]。因此 MSG-UCS 基因是 PCP 基因治疗的理想靶点。

本实验的 PCP 大鼠经 siRNA 重组质粒 pPC-UCS 治疗后，与感染对照组比较，大鼠肺组织炎症明显减轻、体重显著增加。传统的体内保护试验是评价治疗是否有效的良好方法，但评价 PCP 治疗最有效的指标是肺内孢子菌的负荷量，观察经 GMS 染色的肺印片计数包囊是国内外公认经典有效的方法。进一步观察发现 pPC-UCS 治疗组，比较感染对照组，大鼠肺组织内 PC 包囊负荷减少（$P<0.05$），且 PC 表面微绒毛脱落、稀少，表膜出现凹陷、破裂、甚至大的缺损。结果表明，应用靶向 MSG-UCS 基因的 siRNA 可以干扰 PC MSG 的表达，导致 PC 表膜的缺损，从而影响 PC 的存活、减轻大鼠肺组织的损伤，对大鼠 PCP 达到了一定的治疗作用。由此可见，siRNA 阻断 PC MSG 基因的表达可能成为 PCP 基因治疗的新方法。

此外，细胞因子尤其是 IL-8、TNF-α 在参与介导 PCP 炎症反应、免疫调节方面起着重要作用。单核巨噬细胞是其主要来源[7]。IL-8 的主要靶细胞是在感染免疫中起重要作用的粒细胞群，是中性粒细胞和 T 淋巴细胞主要的趋化因子，它是 PCP 病人肺间质炎症浸润的主要成分。IL-8 的水平与肺灌洗液中中性粒细胞的募集和低动脉血氧分压相关[8]。有研究表明，在 PCP 中，高水平的 IL-8 常预示着呼吸衰竭和死亡。体外实验也证明 MSG 可以刺激肺泡巨噬细胞分泌大量的IL-8[7]。本实验感染对照组与 pTZU6+1 对照组病理切片中，观察到大鼠肺泡内、肺间质及血管内大量中性粒细胞浸润，与大鼠血清高水平的 IL-8 相吻合；pPC-UCS 治疗组大鼠血清 IL-8 水平明显低于感染对照组与 pTZU6+1 对照组，提示 siRNA 能够通过沉默 MSG 蛋白的表达，减弱对肺泡巨噬细胞分泌 IL-8 的刺激作用。

在重度免疫抑制的大鼠，TNF-α 是清除 PC 的一个要素。高水平的 TNF-α 与低 PC 包囊计数有关，表明 TNF-α 在 PC 感染中对宿主的保护作用[9]。TNF-α 可以增强单核细胞和中性粒细胞的募集反应，这样可以进一步清除 PC[10]；另外TNF-α 可能粘合到 PC 表膜上抑制 PC 碳水化合物代谢，但机制不完全明确。在本实验中观察到，pPC-UCS 治疗组与磺胺治疗组，大鼠血清中 TNF-α 水平比较感染对照组明显升高，而治疗组大鼠肺组织中 PC 包囊负荷显著减低。综上所述，靶向 PC MSG 的 siRNA 还可能通过 IL-8、TNF-α 等细胞因子介导的免疫反应在 PC 的清除、大鼠 PCP 的治疗过程中发挥作用。

参 考 文 献

[1] Keely S P, Linke M J, Cushion M T. Pneumocystis murina MSG gene family and the structure of the locus associated with its transcription [J]. Fungal Genet Biol, 2007, 44(9): 905-919.

[2] Schaffzin J K, Stringer J R. Expression of the Pneumocystis carinii major surface glycoprotein epitope is correlated with linkage of the cognate gene to the upstream conserved sequence locus[J]. Microbiology, 2004, 150(3): 677-686.

[3] 谭 燕，姚云清，王莉妮，等. 卡氏肺孢子主要表面糖蛋白 UCS 基因 siRNA 表达载体的构建和鉴定[J]. 重庆医科大学学报，2008，33(3)：264-266.

[4] 倪小毅，陈雅棠. 改良卡氏肺孢子虫肺炎动物模型的建立[J]. 重庆医科大学学报，2000，25(4)：382-384.

[5] 李梦东. 实用传染病学[M]. 第 2 版. 北京：人民卫生出版社，1998.

[6] Paddison P J, Caudy A A, Bernstein E. Short hairpin RNAs (shRNAs) induce sequence-specific silencing in mammalian cells[J]. Genes Dev, 2002, 16(8): 948-958.

[7] Benfield T L, Lundgren B, Levine S J. The major surface glycoprotein of pneumocystis carinii induces release and gene expression of interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha in monocytes[J]. Infection And Immunity, 1997, 65(11): 4790-4794.

[8] Benfield T L, Van Steenwijk R, Nielsen T L. Interleukin-8 and eicosanoid production in the lung during moderate to severe pneumocystis carinii pneumonia in AIDS: a role of interleukin-8 in the pathogenesis of P. carinii pneumonia[J]. Respir Med, 1995, 89(4): 285-290.

[9] Thomas L B. Clinical and experimental studies on inflammatory mediators during AIDS-associated Pneumocystis carinii pneumonia[J]. Dan Med Bull, 2003, 50(2): 161-176.

[10] Limper A H. Tumor necrosis factor alpha-mediated host defense against Pneumocystis carinii[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1997, 16(2): 110-111.

（责任编辑：冉明会）