

1:未转染组;2:腺病毒空载体对照组;3:Cubilin 正义 RNA 腺病毒载体对照组;4:Cubilin 反义 RNA 腺病毒载体干预组

图5 RRTEpiC 中 Cubilin 蛋白表达的 Western blot 分析

3 讨论

基因治疗的关键是载体，高效基因转移载体的选择是影响基因治疗疗效的关键因素之一。复制缺陷型腺病毒载体因其具有安全性高、感染细胞范围广、滴度高、不整合至宿主基因组且可以感染任何周期细胞等优点，成为目前基因治疗最常用的载体之一。本研究室采用的 AdEasy™XL 系列腺病毒载体是新一代简化的重组腺病毒载体，主要有以下优点：①含有大部分腺病毒基因的骨架载体为超螺旋形，避免酶对其进行切割。②利用了大肠杆菌 BJ 5183 中的高效同源重组机制而避免了产生腺病毒重组体中的额外步骤。③以卡那霉素代替传统的氨苄西林为抗生素筛选标志，避免了应用于临床时，机体对氨苄西林过敏的副作用。④可以插入高达 10 kb 的基因片段并可表达多个基因；含有绿色荧光蛋白(GFP)基因，我们可以直接观察到转染情况和感染效率。⑤产生高滴度的病毒，显著降低病毒产生的时间。

反义 RNA 技术利用基因重组技术，构建表达载体，使其表达反义 RNA，通过碱基互补与靶 DNA 配对结合，有效地抑制靶基因的转录、翻译或诱导靶基因的降解，进而抑制靶基因的表达，已成为基因治疗的有效手段。Cubilin 是属于低密度脂蛋白(LDL)受体超家族成员的吞饮受体，广泛分布于体内多种组织上皮细胞[5]。大量研究表明，Cubilin 参与多种生物代谢产物的跨细胞转运，与生命的正常生存发育有着密不可分的关系。在肾脏，Cubilin 主要分布在近端肾小管上皮细胞的刷状缘侧，使近端肾小管对白蛋白、球蛋白、转铁蛋白等多种尿蛋白成分进行重吸收。研究表明这些配体蛋白均可直接损伤肾小管上皮细胞，加重小管-间质病变，但 Cubilin 在这些致病过程中的具体作用尚不明确[6]。在本实验中，我们采用腺病毒载体重组成功地构建了 Cubilin 反义 RNA 的重组腺病毒，并且通过对 RRTEpiC 细胞的转染成功抑制了近端肾小管上皮细胞 Cubilin 蛋白的诱导表达。我们希望能够以 Cubilin 反义 RNA 腺病毒载体为介导，进一步研究 Cubilin 基因在蛋白尿肾损害发生发展过程中的可能性致病作用，探索 Cubilin 基因作为基因治疗靶基因的价值，并为临床前研究提供实验依据。

参考文献：

1 STEPHAN J P, MAO W, FIEAROE L, *et al*. Albumin stimulates the accumulation of extracellular matrix in renal tubular epithelial cells[J]. Am J Nephrol, 2004, 24(1): 14-19.

2 ZHAI X Y, NIELSEN R, BIRN H, *et al*. Cubilin- and megalin-mediated uptake of albumin in cultured proximal tubule cells of opossum kidney[J]. Kidney Int, 2000, 58(4): 1523-1533.

3 VERROUST P J, KOZYRAKI R. The roles of cubilin and megalin, two multiligand receptors, in proximal tubule function: possible implication in the progression of renal disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2001, 10(1): 33-38.

4 何娅妮，杨聚荣，薛建新. Cubilin 在白蛋白刺激肾小管上皮细胞表达 MCP-1、RANTES 中的作用[J]. 中华医学杂志，2004，84(2E)：1804-1809.

5 KOZYRAKI R. Cubilin, a multifunctional epithelial receptor: an overview[J]. J Mol Med, 2001, 79(4): 161-167.

6 杨聚荣，何娅妮. 肾小管重吸收白蛋白的受体蛋白与小管间质损害[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志，2003，12(2)：169-171，175.

(编辑 薛国文)

《现代美容整形外科学》征订启事

由著名美容整形外科专家、第三军医大学西南医院教授领衔主编，国内外数十名经验丰富的美容整形外科专家和学者编撰，系统阐述了以常见经典手术为主的各类美容整形外科手术的基本原则及操作技术等最新知识的专著《现代美容整形外科学》。于2006年4月由人民军医出版社出版，全国发行。本书有以下特点：① 70余位美容整形专家鼎力奉献，中韩13位著名权威专家主编、审定。② 系统介绍了头颅、额颞、面颈、牙颌、五官、胸壁、乳房、四肢、会阴、生殖器等部位的美容整形手术的适应证、禁忌证、术前准备、麻醉与体位、手术步骤、术中注意要点、术后注意事项、术后处理以及并发症等都进行了详细阐述，并配有大量精细的局部解剖和手术操作示意图或照片。全面阐述了美容整形、显微外科、创伤美容、麻醉、皮肤色斑及体表肿瘤、皮肤软组织扩张、吸脂减肥、组织移植、生物材料、组织工程、瘢痕的预防和治疗的最新知识和冷冻、文刺、计算机、内镜、超声、光子、纳米、激光等技术在美容整形外科的应用。根据当今美容整形外科的发展特点，特别加入了人体美学、心理学、康复医学以及医学美容法规及医疗纠纷的防范等内容。③ 全书共计1 848页，插图1 160余幅，其中彩色插图80余幅。开本正16开，80 g双面铜版纸彩色印刷。豪华精装加封面套盒。定价：680元/册。

本书作者在参阅国内外大量最新文献的基础上，较全面地反映了美容整形外科学的发展水平。《现代美容整形外科学》是一部系统、全面介绍美容整形外科技术的专著，是从事美容整形外科的工作人员案头必备参考书，是各级各类美容整形医疗单位、医学院校师生、图书馆、资料室重点收藏图书。欢迎订购。

邮局汇款：重庆市沙坪坝区高滩岩第三军医大学学报编辑部　　**邮　编**：400038

联 系 人：王　红　　**电　话**：(023)68752782,68752189-84