

# 靶向ASGPR1的外源性microRNA对HBV表达和复制的抑制作用

邵玉峰, 余莉, 李家斌, 魏少峰, 李旭, 沈继龙

邵玉峰, 李家斌, 魏少峰, 李旭, 安徽医科大学第一附属医院  
感染病科 安徽省合肥市 230032

邵玉峰, 余莉, 沈继龙, 安徽省人兽共患病实验室, 教育部省  
部共建重点实验室(安徽医科大学) 安徽省合肥市 230022

国家自然科学基金资助项目, No. 30700698

作者贡献分布: 此课题由沈继龙, 李旭及邵玉峰设计; 研究过程  
由邵玉峰, 余莉, 李家斌, 魏少峰及李旭完成, 数据分析由邵玉峰  
和余莉完成, 本论文写作由邵玉峰和沈继龙完成.

通讯作者: 沈继龙, 教授, 230022, 安徽省合肥市, 安徽省人兽共  
患病实验室. shenjilong53@126.com

电话: 0551-5161057

收稿日期: 2008-12-25 修回日期: 2009-01-30

接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-03-08

## Inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by artificial microRNA targeted ASGPR1

Yu-Feng Gao, Li Yu, Jia-Bin Li, Shao-Feng Wei, Xu Li,  
Ji-Long Shen

Yu-Feng Gao, Jia-Bin Li, Shao-Feng Wei, Xu Li, Depart-  
ment of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of  
Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province,  
China

Yu-Feng Gao, Li Yu, Ji-Long Shen, Anhui Key Labora-  
tory of Zoonoses, Key Laboratory of Gene Resource Utili-  
zation for Severe Diseases, Ministry of Education of China  
and Anhui Province, Hefei 230022, Anhui Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of  
China, No. 30700698

Correspondence to: Professor Ji-Long Shen, Anhui Key  
Laboratory of Zoonoses, Hefei 230022, Anhui Province,  
China. shenjilong53@126.com

Received: 2008-12-25 Revised: 2009-01-30

Accepted: 2009-02-09 Published online: 2009-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the inhibitory effects on hepatitis B virus (HBV) replication and expression by transfecting artificial microRNA targeted ASGPR1 into HepG2.2.15 cells.

**METHODS:** Three amiRNA-HBV plas-  
mids were constructed and transfected into  
HepG2.2.15 cells via Lipofectamine™ 2000  
reagent. The level of ASGPR1 mRNA was mea-  
sured by semi-quantitative RT-PCR. The level  
of ASGPR1 protein was measured by western  
blot. HBV antigen secretion was detected in the

cells with transient and stable transfection by  
time-resolved fluoroimmunoassays (TRFIA).  
HBV DNA replication was examined by fluo-  
rescence quantitative PCR.

**RESULTS:** Three amiRNA significantly reduced  
ASGPR1 mRNA and protein expression, and  
the greatest reduction was seen in amiRNA-  
ASGPR1-610 transfected group. Expressions  
of ASGPR1 mRNA and protein were down-  
regulated by 57.3% and 49.8% at 72 h ( $P < 0.01$ ).  
At the virus level, three amiRNA-ASGPR1  
plasmids obviously inhibited the secretion of  
HBsAg and HBeAg with the greatest reduc-  
tion seen in amiRNA-ASGPR1-610 transfected  
group. Expression levels of HBsAg and HBeAg  
were down-regulated by 31.3% and 33.6% after  
72 h ( $P < 0.01$ ) and HBV DNA level was down-  
regulated by 29.7% at 72 h ( $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** In HepG2.2.15 cells, HBV rep-  
lication and expression could be inhibited by  
artificial microRNA targeted ASGPR1. Artificial  
microRNA targeted ASGPR1 could be a prom-  
ising therapeutic approach for chronic HBV  
infection.

**Key Words:** Hepatitis B virus; RNA interference; Mi-  
croRNA; HepG2.2.15 cell

Gao YF, Yu L, Li JB, Wei SF, Li X, Shen JL. Inhibition  
of hepatitis B virus gene expression and replication by  
artificial microRNA targeted ASGPR1. *Shijie Huaren  
Xiaohua Zazhi* 2009; 17(7): 699-704

## 摘要

**目的:** 设计并构建ASGPR1靶向的microRNA  
表达载体, 观察其对ASGPR1基因的抑制作用  
及其在HBV感染基因治疗中的应用价值.

**方法:** 以ASGPR1为靶基因, 设计并构建3个  
针对ASGPR1不同位点的microRNA表达载  
体, 通过脂质体方法转染HepG2.2.15细胞, RT-  
PCR和Western blot检测其对ASGPR1 mRNA  
和蛋白的抑制作用, 乙肝五项定量和HBV

## ■背景资料

大量研究发现, 许多病毒在治疗  
选择压力下可以  
通过靶基因序  
列的突变来逃避  
RNAi, 针对病毒  
的RNAi治疗可能  
会因为病毒变异  
而降低疗效. 针  
对病毒复制所需  
要宿主基因进行  
RNAi可能是避免  
病毒抗性突变株  
出现的一种解决  
办法.

## ■同行评议者

范学工, 教授, 中  
南大学湘雅医院  
感染病科

## ■研发前沿

RNAi抗HBV基因治疗有着广泛的应用前景,已有对HCV、HIV病毒感染宿主基因治疗的报道,均取得了较好的疗效。包括宿主基因在内的多靶位的RNAi已成为抗病毒基因治疗的热点。

DNA检测其对HBV的抑制作用。

**结果:** ASGPR1 mRNA和蛋白的平均水平分别下降了57.3%和49.8% ( $P<0.01$ ); 在病毒水平3种amiRNA均能明显抑制相应细胞株中HBsAg和HBeAg的分泌,其中以amiRNA-ASGPR1-610抑制作用最强,对培养72 h的细胞上清中的HBsAg和HBeAg抑制率分别为31.3%和33.6% ( $P<0.01$ ), HBV DNA的抑制率为29.7% ( $P<0.01$ )。

**结论:** 靶向ASGPR1的外源性microRNA能显著抑制靶基因的表达,进而抑制HBV的复制和表达。ASGPR1可以作为慢性HBV感染基因治疗的候选靶点。

**关键词:** 乙型肝炎病毒; RNA干扰; MicroRNA; HepG2.2.15细胞

郜玉峰, 余莉, 李家斌, 魏少峰, 李旭, 沈继龙. 靶向ASGPR1的外源性microRNA对HBV表达和复制的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(7): 699-704

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/699.asp>

## 0 引言

去唾液酸糖蛋白1(asialoglycoprotein receptor 1, ASGPR1)是在肝细胞膜表面特异性表达的转膜分子,可介导去唾液酸糖蛋白黏附并进入肝细胞<sup>[1]</sup>。研究表明,ASGPR1可能是介导HBV进入肝细胞的主要受体之一,应用ASGPR1的配基、抗体等抑制ASGPR1的水平可阻断HBV进入肝细胞,进而抑制HBV的复制<sup>[2-3]</sup>。进一步研究发现,在已感染HBV的肝细胞中,阻断ASGPR1表达后,HBV的表达和复制水平下降<sup>[4]</sup>。因此,推测阻断ASGPR1的表达可抑制HBV的复制,ASGPR1可成为抗HBV的潜在作用靶点。

MicroRNA(miRNA)是一种大小约22 nt的非编码小分子单链RNA,可以通过对靶基因mRNA的剪切或抑制靶基因mRNA的翻译调控靶基因的表达<sup>[5]</sup>。miRNA作用方式很大程度上和siRNA介导的RNAi途径重叠<sup>[6]</sup>。与siRNA相比,miRNA仅仅需要和靶基因部分的结合即可以发挥作用,因而可以在很大程度上避免因病毒变异导致的RNAi治疗失败,这将对容易发生变异的病毒感染(如HCV, HBV, HIV)的治疗更有优势<sup>[7-8]</sup>。miRNA功能的研究可能有助于提出治疗病毒感染性疾病的新方法,但尚未见microRNA介导的RNAi用于HBV基因治疗研究的报道。为探讨ASGPR1在HBV RNA干扰基因治疗中的

应用价值,本研究设计并合成靶向ASGPR1的microRNA序列,构建外源性microRNA的表达载体,转染HepG2.2.15细胞,观察其对ASGPR1的抑制作用,并进一步观察ASGPR1抑制后对HBV表达和复制的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** pcDNA6.2-G/W-EmGFP-miRNA表达质粒购自美国Invitrogen公司,稳定表达HBV的HepG2.2.15细胞系由本室保存,DMEM为Gibco公司产品,T4 DNA连接酶为TaKaRa公司产品,TRIzol、脂质体Lipofectamine 2000为Invitrogen公司产品,A3500逆转录试剂盒、质粒纯化试剂盒和G418为Promega公司产品,山羊抗人ASGPR1多克隆抗体和鼠抗人actin抗体购自Santa Cruz公司。乙肝五项定量检测试剂盒为苏州宏波生物有限公司产品,其他试剂均为国产或进口分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 microRNA表达载体的构建、质粒纯化:** 根据ASGPR1基因序列(NM\_001671),应用Invitrogen公司的在线RNAi设计软件设计针对ASGPR1基因的microRNA,利用BLAST对选择的靶序列进行同源分析,排除非特异性microRNA。miRNA相应的单链DNA序列由上海英俊公司合成。退火合成双链,利用T4连接酶与载体链接,将连接后的载体转化入TOP10细菌,质粒抗性筛选,提取质粒测序证实插入序列的正确性。

**1.2.2 HepG2.2.15细胞的转染:** 将HepG2.2.15细胞按每孔 $1 \times 10^5$ 的数量接种于6孔培养板,DMEM培养液(含100 g/L小牛血清,100 kU/L青霉素,100 kU/L链霉素)37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养,待细胞生长融合至80%左右,更换无抗生素、无血清的DMEM培养液继续培养4 h后,用脂质体2000进行转染。按其说明书方法进行,每孔细胞分别加入2 μg质粒和5 μL脂质体,转染6 h更换含100 g/L小牛血清的无抗生素的DMEM培养液。转染后24、48、72 h分别收集细胞和培养上清液待检。

**1.2.3 RT-PCR检测转染后HepG2.2.15细胞ASGPR1 mRNA的表达:** 细胞转染后72 h,在每孔细胞中加入0.5 mL TRIzol,按照说明书方法提取总RNA,各取1 μg总RNA,按照逆转录试剂盒说明进行cDNA第一链的合成。用于扩增ASGPR1基因上游引物为P1: 5'-TGCTGCTTGT

## ■相关报道

Yang *et al*通过反义寡核苷酸技术研究显示,靶向ASGPR1的反义寡核苷酸可以特异性和剂量依赖性地阻断ASGPR1的表达,并进一步抑制HBV的复制。

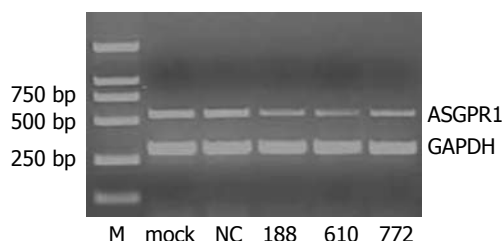


图1 瞬时转染amiRNA-ASGPR1-188, 610, 772对ASGPR1 mRNA的抑制。

GGTTGTCTGTG-3'; 下游引物为P2: 5'-AGCCC GTCTCGTAGTCCGTC-3', 预期扩增片段长535 bp. 用于扩增内参照GAPDH基因的上游引物为P3: 5'-CCACTCCTCCACCTTTGACGC-3'; 下游引物为P4: 5'-AGTTATTTTCATGGGACAC GAGTT-3'; 预期扩增片段长337 bp. PCR 反应条件为: 94℃预变性5 min; 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 循环30次; 最后72℃延伸10 min. 扩增结束后取PCR产物5 μL琼脂糖凝胶电泳, 观察并记录结果。

**1.2.4 Western blot检测HepG2.2.15细胞转染后ASGPR1蛋白的表达:** 细胞转染72 h后, 在每孔细胞中加入RIPA裂解液裂解细胞, 获得蛋白, 裂解上清用BCA试剂盒定量蛋白浓度. 各组分别取蛋白30 μg, 100 g/L SDS-PAGE后200mA转膜2 h, 用含50 g/L牛奶的PBST室温封闭1 h, 洗膜3次, 加入稀释的山羊抗人ASGPR1多克隆抗体(1:4000)或鼠抗人actin(1:5000), 室温轻摇1 h. PBST洗膜3次, 每次10 min. 分别加入稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠IgG、兔抗羊IgG酶标二抗, 稀释比例为1:5000-10000, 室温轻摇1 h. 用PBST洗膜3次, 每次10 min, 暗室下ECL发光显色, 曝光, 观察结果。

**1.2.5 乙肝五项定量和HBV DNA荧光定量PCR检测:** 乙肝五项定量采用双抗体夹心时间分辨免疫荧光分析法进行检测, HBV DNA应用ABI GeneAmp PE7500荧光定量PCR仪检测, 正向引物: 5'-GGAGTATGG ATTCGCACTCCTC-3'; 反向引物: 5'-TTGTTGTTGTAGGGGACCTGCCT-3', 荧光探针: 5'-ACTTCCGGAACTACTGTTA GACGA-3'.

**统计学处理** 数据以mean±SD表示, 由SPSS13.0统计软件处理, 采用t检验和单因素方差分析得出P值, P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 ASGPR1靶向microRNA表达载体的构建结果** 将3对合成的64 nt的寡核苷酸序列进行合成

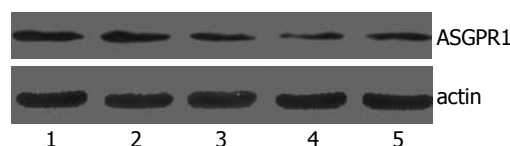


图2 瞬时转染amiRNA-ASGPR1-188, 610, 772对ASGPR1蛋白的抑制。

双链, 合成双链后经3%琼脂糖凝胶电泳进行确认. 然后进行载体的连接, 经测序引物进行PCR扩增插入片段后送Invitrogen公司测序证实插入序列的正确性, 均排除碱基的突变, 分别命名为amiRNA-ASGPR1-188, 610, 772。

**2.2 瞬时转染amiRNA-ASGPR1对ASGPR1 mRNA的抑制作用** 靶向ASGPR1 mRNA的3个质粒转染HepG2.2.15细胞72 h后, 提取细胞总RNA并逆转录, 以看家基因GAPDH为内参照, 进行PCR反应, 扩增产物经10 g/L琼脂糖凝胶电泳分析, 然后对电泳条带应用半定量分析, 以对照组细胞ASGPR1 mRNA与GAPDH mRNA的比值为100%, 计算治疗组的相对百分比, 结果显示: 转染72 h后, amiRNA-ASGPR1-188、amiRNA-ASGPR1-610和amiRNA-ASGPR1-772组ASGPR1 mRNA水平较空白转染组和阴性质粒转染组均显著降低(P<0.05), 而空白组和阴性质粒转染组相比无显著性差异(P>0.05, 图1). 在这三组质粒中, amiRNA-ASGPR1-610组的ASGPR1 mRNA水平下降最为显著, 抑制率为57.3%, amiRNA-ASGPR1-188和amiRNA-ASGPR1-772组的抑制率分别为44.5%和35.6%。

**2.3 瞬时转染amiRNA-ASGPR1对ASGPR1蛋白的抑制作用** Western blot印迹结果显示转染后72 h ASGPR1蛋白的表达量与空白转染组和阴性质粒转染组相比均有显著降低(P<0.05), amiRNA-La-610组的ASGPR1蛋白表达减少最明显, 为49.8%, amiRNA-ASGPR1-188组为46.3%, amiRNA-ASGPR1-772组为39.3%, 而阴性质粒组组表达量无明显改变(图2), P>0.05, 与mRNA检测结果基本一致。

**2.4 瞬时转染amiRNA-ASGPR1对HBsAg和HBeAg的抑制作用** 转染后的第2天细胞上清中的HBsAg和HBeAg即开始受到抑制, 但无明显显著性差别. 在转染后48 h抑制效果较明显, 72 h病毒抑制达到高峰, 96 h后抑制作用开始渐减弱. 3个质粒对HBV的表达均有抑制作用, 其中, 以amiRNA-ASGPR1-610作用最为明显, 而阴性对照组对蛋白表达的影响不明显. amiRNA-ASGPR1-610在转染后的48、72和96 h三个时

### ■创新盘点

siRNA通过序列特异性的方式发挥作用, 而microRNA可以通过与靶mRNA完全或部分配对两种作用方式发挥其生物功能. 本研究首次采用microRNA介导的RNAi技术干扰宿主基因用于HBV基因治疗研究。

### ■应用要点

本文为HBV基因治疗的研究提供了新的思路,并为慢性HBV感染临床基因治疗提供新的基因靶点。

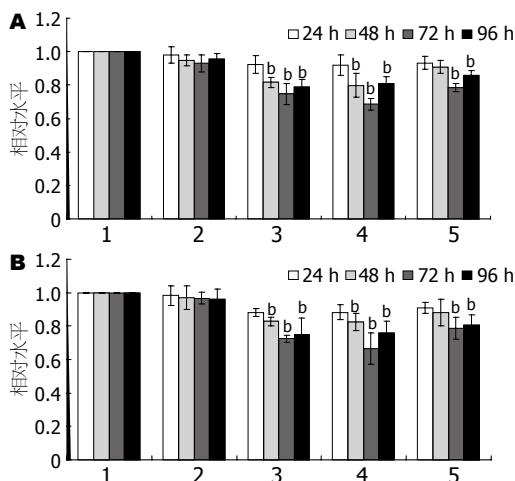


图3 瞬时转染amiRNA-ASGPR1对HBsAg和HBeAg的抑制作用. A: HBsAg; B: HBeAg. 1: mock; 2: negative control; 3: amiRNA-ASGPR1-188; 4: amiRNA-ASGPR1-610; 5: amiRNA-ASGPR1-772.

间点对HBsAg的抑制率分别为20.2%, 31.3%和19.1%(图3A), 对HBeAg的抑制率分别为17.6%, 33.6%和24.3%(图3B), 其他2个质粒的抑制率相对较低. 考虑到瞬时转染质粒的转染效率仅能达到50%-60%左右, 所以我们判断amiRNA-ASGPR1-610的实际抗原分泌抑制率最高能达到50-60%以上, 说明在提高转染效率的前提下, amiRNA-ASGPR1介导的RNA干扰能达到较好的治疗效果, 可以作为抗HBV的基因治疗靶位.

**2.5 瞬时转染amiRNA-ASGPR1对HBV DNA的抑制作用** 为明确amiRNA-ASGPR1转染后对HBV复制的影响, 对瞬时转染各个时间点培养上清中的HBV DNA水平采用实时荧光定量PCR进行了检测, 结果表明, 特异性靶向ASGPR1的amiRNA能降低细胞培养上清中的拷贝数. 与HBsAg和HBeAg抑制的作用相似, 3个质粒对培养上清中的HBV DNA也均有不同程度的抑制作用, 而阴性对照组载体对HBV DNA几乎没有作用(图4). 其中amiRNA-ASGPR1-610的抑制效果最为明显. amiRNA-ASGPR1-610在转染后48、72和96 h对HBV DNA的抑制率为23.2%, 29.7%和19.0%. 因为载体的转染效率较低只有50%-60%, 同样可以认为, amiRNA-HBV实际的病毒复制抑制率可以达到50%以上.

**2.6 amiRNA-ASGPR1转染对细胞增殖的影响** 质粒转染后, 每日在倒置显微镜下观察细胞形态, 治疗质粒转染组和对照组形态无明显变化, 在开始的24 h细胞生长较空白细胞生长的速度稍慢, 其后基本和空白对照生长速度一致. 在转染细胞后72 h, 加入MTT, 继续孵育4 h后, 490 nm

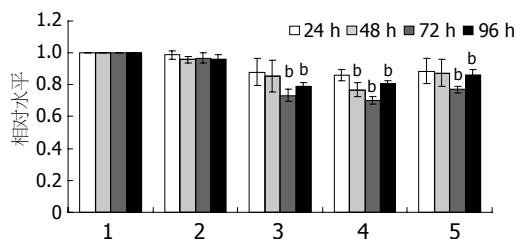


图4 瞬时转染amiRNA-ASGPR1对HBV DNA的抑制作用. 1: mock; 2: negative control; 3: amiRNA-ASGPR1-188; 4: amiRNA-ASGPR1-610; 5: amiRNA-ASGPR1-772.

波长检测各细胞培养孔中的吸光度, 以细胞对照组的A值为1, 计算各个质粒转染组的相对A值, 结果显示: 各质粒转染组的A值与空白细胞相比无显著性差异,  $P>0.05$ .

### 3 讨论

RNA干扰(RNA interference, RNAi)是一项新兴的基因沉默技术, 主要通过siRNA和microRNA(miRNA)两种小RNA分子来发挥作用<sup>[9]</sup>. 大量体内外实验研究已经证明, 使用siRNA控制HBV表达和复制具有高效性和可行性<sup>[10-13]</sup>. 但越来越多的研究发现, 许多病毒在治疗选择压力下可以通过靶基因序列的突变来逃避siRNA介导的RNAi, 针对病毒的RNAi治疗效果可能会因为病毒的变异而降低疗效, 甚至失去治疗作用<sup>[14-17]</sup>. microRNA通过两种作用方式发挥其生物功能: 当它们与靶mRNA完全或几乎完全配对时, 可以引起靶mRNA的剪切反应即RNA干扰作用; 在不完全配对的时候, 可以引起靶mRNA的翻译抑制<sup>[7-8]</sup>, 这是其较之siRNA优越之处.

外源性人工合成的microRNA(artificial microRNA, amiRNA)技术是指利用内源性miRNA前体分子产生小RNA去介导动物或植物中的靶基因沉默<sup>[18-20]</sup>. 最近, 几个基于miRNAs表达框架的pol II启动子驱动的RNAi载体被构建, 这种RNAi载体能表达外源性miRNA通过RNA干扰途径指导RNA的清除或转录抑制<sup>[8,21-22]</sup>. 利用microRNA表达框架产生外源性miRNA特异性降解靶基因的体内外实验已经展示了极好的应用前景. 我们采用的以microRNA介导的RNAi研究显示: 靶向ASGPR1的外源性miRNA表达质粒能特异性的显著降低ASGPR1 mRNA和蛋白水平的表达.

另一种有效的病毒RNAi治疗途径将是针对病毒感染和复制所需要的宿主细胞因素进行

RNA干扰研究. 以宿主基因为靶位RNAi治疗的优点是他不依赖于病毒的基因组, 因而能避免病毒通过突变逃避RNAi的缺点. Xue *et al*针对HCV复制所需的几个宿主基因进行了RNA干扰治疗研究. 结果显示针对宿主基因hVAP-A、La和PTB的siRNA能显著降低宿主基因的表达, 同时发现HCV的复制水平受到了显著的抑制<sup>[23-24]</sup>. 另外, 这些治疗对细胞的活性并没有明显的影响. 提示与病毒复制相关的宿主基因可能作为抑制病毒复制的一个靶点. ASGPR1不仅是HBV感染肝细胞的候选受体, 而且可以促进HBV在体内的复制. Yang *et al*<sup>[4]</sup>通过反义寡核苷酸技术研究显示: 靶向ASGPR1的反义寡核苷酸可以特异性和剂量依赖性地抑制HepG2.2.15细胞中的ASGPR1表达, ASGPR1表达下调后, HepG2.2.15细胞培养液中的HBV DNA, HBsAg和HBeAg的水平也显著降低, 证实阻断ASGPR1的表达可阻断HBV的复制. 我们采用的以microRNA介导的RNAi研究显示: 靶向ASGPR1的外源性amiRNA表达质粒能特异性的阻断ASGPR1 mRNA和蛋白水平的表达. 随后的病毒抑制水平检测显示: 阻断ASGPR1表达后, 细胞培养上清中的HBsAg、HBeAg和HBV DNA水平有明显的下降, 其中amiRNA-ASGPR1-610治疗组对HBV DNA的抑制率可以达到32.4%, 如果考虑到转染效率的影响, 我们判断实际的抑制率可以达到50%-60%左右, 与Yang *et al*的研究结果一致, 也和我们以前的稳转实验研究抑制效率相符<sup>[25]</sup>. 说明ASGPR1的确在HBV的感染和复制中起到重要作用, ASGPR1可以作为HBV抗病毒治疗的一个候选靶点. 目前尚无HBV易感的肝细胞株, 如果利用HBV易感肝细胞株进行可能会取得更理想的疗效. 另外, 为了证实靶向ASGPR1的外源性amiRNA对HBV的复制不是由质粒和脂质体的细胞毒性引起, 我们检测了治疗组转染细胞的细胞增殖情况. 实验结果显示, 在转染后72 h, 转染组细胞的形态无明显变化, 转染组细胞的A值与空白细胞对照组相比没有显著的差异, 因此, 可以判断对HBV复制的抑制并不是由细胞毒性引起的.

外源性amiRNA介导的RNA干扰可以高效阻断ASGPR1宿主靶基因的表达. ASGPR1的表达水平与HBV的复制和表达有密切关系, 进一步证实其在HBV的感染和复制中起着关键作用. 与HBV感染和复制相关的宿主基因可以作为HBV基因治疗的一个候选靶位. 在提高转染效

率的情况下, 外源性amiRNA能够作为一种新的抗HBV的基因治疗手段. microRNA介导的RNAi作为一种新型的HBV基因治疗技术, 展示了良好的应用前景, 但RNAi要应用于临床, 其组织靶向性和表达效率、药代动力学及如何选择最有效的靶序列等问题仍有待解决, 比如本研究中所采用的质粒载体, 若具有肝器官靶向性, 则可能提高其效果.

## 4 参考文献

- 1 Meier M, Bider MD, Malashkevich VN, Spiess M, Burkhard P. Crystal structure of the carbohydrate recognition domain of the H1 subunit of the asialoglycoprotein receptor. *J Mol Biol* 2000; 300: 857-865
- 2 Treichel U, Meyer zum Buschenfelde KH, Dienes HP, Gerken G. Receptor-mediated entry of hepatitis B virus particles into liver cells. *Arch Virol* 1997; 142: 493-498
- 3 Treichel U, Meyer zum Buschenfelde KH, Stockert RJ, Poralla T, Gerken G. The asialoglycoprotein receptor mediates hepatic binding and uptake of natural hepatitis B virus particles derived from viraemic carriers. *J Gen Virol* 1994; 75 ( Pt 11): 3021-3029
- 4 Yang J, Bo XC, Ding XR, Dai JM, Zhang ML, Wang XH, Wang SQ. Antisense oligonucleotides targeted against asialoglycoprotein receptor 1 block human hepatitis B virus replication. *J Viral Hepat* 2006; 13: 158-165
- 5 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297
- 6 Cullen BR. Derivation and function of small interfering RNAs and microRNAs. *Virus Res* 2004; 102: 3-9
- 7 Ossowski S, Schwab R, Weigel D. Gene silencing in plants using artificial microRNAs and other small RNAs. *Plant J* 2008; 53: 674-690
- 8 Stegmeier F, Hu G, Rickles RJ, Hannon GJ, Elledge SJ. A lentiviral microRNA-based system for single-copy polymerase II-regulated RNA interference in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 13212-13217
- 9 Agrawal N, Dasaradhi PV, Mohammed A, Malhotra P, Bhatnagar RK, Mukherjee SK. RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003; 67: 657-685
- 10 Arbutnot P, Longshaw V, Naidoo T, Weinberg MS. Opportunities for treating chronic hepatitis B and C virus infection using RNA interference. *J Viral Hepat* 2007; 14: 447-459
- 11 Ying RS, Zhu C, Fan XG, Li N, Tian XF, Liu HB, Zhang BX. Hepatitis B virus is inhibited by RNA interference in cell culture and in mice. *Antiviral Res* 2007; 73: 24-30
- 12 Li GQ, Gu HX, Li D, Xu WZ. Inhibition of Hepatitis B virus cccDNA replication by siRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 355: 404-408
- 13 Xuan B, Qian Z, Tan C, Min T, Shen S, Huang W. esiRNAs purified with chromatography suppress homologous gene expression with high efficiency and specificity. *Mol Biotechnol* 2005; 31: 203-209
- 14 Zheng ZM, Tang S, Tao M. Development of resistance to RNAi in mammalian cells. *Ann N Y*

## ■名词解释

MicroRNA (miRNA): 一种大小约22 nt的非编码小分子单链RNA, 他可以通过对靶基因mRNA的剪切或抑制靶基因mRNA的翻译调控靶基因的表达.

## ■同行评价

本文对靶向ASGPR1的外源性microRNA抑制HBV表达和复制进行了初步观察,其结果有较好的科学意义和潜在的应用价值。

- 15 Das AT, Brummelkamp TR, Westerhout EM, Vink M, Madiredjo M, Bernards R, Berkhout B. Human immunodeficiency virus type 1 escapes from RNA interference-mediated inhibition. *J Virol* 2004; 78: 2601-2605
- 16 Konishi M, Wu CH, Kaito M, Hayashi K, Watanabe S, Adachi Y, Wu GY. siRNA-resistance in treated HCV replicon cells is correlated with the development of specific HCV mutations. *J Viral Hepat* 2006; 13: 756-761
- 17 Wu HL, Huang LR, Huang CC, Lai HL, Liu CJ, Huang YT, Hsu YW, Lu CY, Chen DS, Chen PJ. RNA interference-mediated control of hepatitis B virus and emergence of resistant mutant. *Gastroenterology* 2005; 128: 708-716
- 18 Niu QW, Lin SS, Reyes JL, Chen KC, Wu HW, Yeh SD, Chua NH. Expression of artificial microRNAs in transgenic Arabidopsis thaliana confers virus resistance. *Nat Biotechnol* 2006; 24: 1420-1428
- 19 Zeng Y, Wagner EJ, Cullen BR. Both natural and designed micro RNAs can inhibit the expression of cognate mRNAs when expressed in human cells. *Mol Cell* 2002; 9: 1327-1333
- 20 Schwab R, Ossowski S, Riester M, Warthmann N, Weigel D. Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in Arabidopsis. *Plant Cell* 2006; 18: 1121-1133
- 21 Chung KH, Hart CC, Al-Bassam S, Avery A, Taylor J, Patel PD, Vojtek AB, Turner DL. Polycistronic RNA polymerase II expression vectors for RNA interference based on BIC/miR-155. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: e53
- 22 Du G, Yonekubo J, Zeng Y, Osisami M, Frohman MA. Design of expression vectors for RNA interference based on miRNAs and RNA splicing. *FEBS J* 2006; 273: 5421-5427
- 23 Xue Q, Ding H, Liu M, Zhao P, Gao J, Ren H, Liu Y, Qi ZT. Inhibition of hepatitis C virus replication and expression by small interfering RNA targeting host cellular genes. *Arch Virol* 2007; 152: 955-962
- 24 Zhang J, Yamada O, Sakamoto T, Yoshida H, Iwai T, Matsushita Y, Shimamura H, Araki H, Shimotohno K. Down-regulation of viral replication by adenoviral-mediated expression of siRNA against cellular cofactors for hepatitis C virus. *Virology* 2004; 320: 135-143
- 25 Gao YF, Yu L, Wei W, Li JB, Luo QL, Shen JL. Inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by artificial microRNA. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4684-4689

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 世界华人消化杂志名词术语标准

**本刊讯** 本刊名词术语一律标准化,前后统一,如原词过长且多次出现者,可于首次出现时写出全称加括号内注简称,以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准,药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准,国家食品药品监督管理局批准的新药,采用批准的药名;创新性新药,请参照我国药典委员会的“命名原则”,新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称),如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD<sub>50</sub>, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误,外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则:(1)有对等词者,直接采用原有英语词,如中风stroke,发热fever;(2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词,如八法eight principal methods;(3)英语中没有对等词或相应词者,宜用汉语拼音,如阴yin,阳yang,阴阳学说yinyangology,人中renzhong,气功qigong;汉语拼音要以词为单位分写,如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸),guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。(常务副总编辑:张海宁 2009-03-08)