

免疫与感染

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000168

RNA 干扰技术与肺部疾病的基因治疗

林时辉, 刘 琼

(重庆医科大学附属第一医院急诊科、重症医学科, 重庆 400016)

【中图分类号】R563.8; R329.2*8

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-01-29

RNA interference and gene therapy for thoracic diseases

Lin shihui, Liu Qiong

(Department of Emergency Medicine, Department of Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是一种转录后水平的基因沉默,它通过人为引入一段与体内基因同源的双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA),诱导与之同源的 mRNA 降解,致使转录后水平的基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS),也称 RNA 沉默,其抑制靶基因表达具有效果显著、特异性强、稳定性高等特点^[1-2]。RNAi 亦是一种有效的分子生物学工具,可用来测定生物内源性基因功能、分析相关信号通路等。对 RNAi 机制的研究和靶标的确认显示了 RNAi 在诊断学和治疗学上巨大的潜力。2006 年,Fire 和 Mello 也正是因发现 RNAi 机制而获诺贝尔奖。本文将探讨 RNAi 用于治疗的安全性和靶向运输途径有效性等临床关注的问题,并就 RNAi 技术在肺部疾病治疗中的应用情况及前景作一综述。

1 RNAi 现象与作用机制

迄今,研究发现:RNAi 在大多数真核细胞中是一种进化而保守的过程。自 Fire 等^[3]首次发现 RNAi 后,该现象逐步为人们所认识,并证实它是生物体为保持自身基因组的完整性以及抵御外源基因入侵损害的一种自我保护防御机制。由于这是一种机体内自然的发生过程,这就决定其机制与传统的核酶、反义核酸技术等沉默技术有所不同。

在自然界中,内源性 dsRNA 或病毒入侵等产生的外源性 dsRNA 分子,它们在细胞质中与 RNase-III 家族中被称为 Dicer 的核酸内切酶结合,形成复合物后随即被剪切成 21~23 nt 核糖核酸片段,即小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 双链。siRNA 双链与细胞质中的核酶复合物结合形成 RNA 诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)。RISC 形成后,siRNA 双链随即被裂解成 siRNA 单链(即 siRNA

反义链),并与其序列完全互补的同源性靶 mRNA 结合。结合后 siRNA 单链构象发生变化,RISC 中的 Dicer 酶作用于 siRNA 的结合区域,将 mRNA 剪切成多个 21~23 nt 的小分子片段,从而致使该基因转录产生的 mRNA 遭到破坏,使其功能抑制^[4]。新产生的 siRNA 双链可再次与核酸内切酶主要为 Dicer 酶结合,形成 RISC,再一次引起靶基因 mRNA 的降解,从而形成级联效应,加大了 siRNA 抑制效率。此外,在 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RDRP)的作用下,以 RNA(即 mRNA)为模板,siRNA 为引物,可以扩增产生大量的 dsRNA,与 Dicer 酶结合后可以产生更多的 siRNA^[2-3]。由于通过降解 mRNA 只导致相应蛋白的大量减少而并不会改变 DNA, RNAi 对某些存在蛋白量异常表达的疾病将可能是一种潜力巨大的临床治疗手段。

2 siRNA 的设计及肺部投递载体的选择

为了达到有效的基因沉默效果,siRNA 的设计以及其在肺部细胞的有效靶向投递显得至关重要。

2.1 siRNA 设计

设计有效的 siRNA 序列是进行 RNAi 最重要的一个步骤,它对于预防脱靶现象至关重要。因此,目前研究中常常针对目的基因合成不止一种 siRNA,以期有效控制脱靶效应。合成 siRNA 的方式有多种,常用的方法是:直接化学合成 siRNA、由插入质粒或病毒载体的短发夹 RNA(short-hairpin RNA, shRNA)转录生成。质粒转录是 1 个 DNA 分子插入 1 个大约 70 bp、编码靶基因的 shRNA 片段,该片段被克隆至质粒载体上。包含插入片段的质粒可转染到细胞并表达 shRNA,其在细胞质可被分割成 siRNA,从而干扰目的基因的表达^[4-5]。同时,siRNA 在体内的稳定性非常重要,目前所采用的改进手段多为提高反义核酸引物稳定性的方法(通常用于提高稳定性的修饰方法为硫代磷酸化(phosphorothioate, PS)。PS 可以避免核酸酶环境中 siRNA 的快速降解,延长其半衰期。需要注意的是有限的 PS 修饰可以保持 siRNA 的有效性,而过度

作者简介:林时辉, Email: linshihui07@126.com,

研究方向:急诊医学和危重病医学。

通信作者:刘 琼, Email: liuqiong1966@126.com。

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(编号:CSTC2011jjA0479)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000168.html>

的修饰则可能降低其有效性或增加毒性^[6-8]。此外常用的方法还有修饰 siRNA 的核苷酸,如 2'-羟基甲基化修饰等^[9]。

2.2 siRNA 的投递

siRNA 在肺部的有效投递主要存在 2 种障碍。第 1 种是复杂的肺部解剖结构及其固有的生物力学屏障(如:气道上皮细胞表面的黏液层);第 2 种是气道上皮细胞的胞膜。为达到肺部有效的基因沉默效果,siRNA 必须有效的投递到所需要作用的部位,并且维持其稳定性,而且在进入细胞后能够在细胞质中达到足够的浓度。目前 siRNA 投递到肺部可以分为病毒载体投递系统、非病毒载体投递系统。

2.2.1 病毒载体 病毒载体感染细胞种类多、效率高。有很多研究者认为:采用病毒载体,是比较有潜力的一种投递 RNAi 的方法。目前已经在一系列哺乳类动物细胞中得到有效投递,并取得较好的疗效^[10-12]。将基因片段插入到病毒质粒载体中能够编码 shRNA,以 U6 或 H1-RNA 启动子产生 siRNA。在体外肺模型中,腺病毒载体被证实能够很好的介导基因沉默效能^[13]。然而,目前有学者认为病毒 RNAi 治疗载体仍存在安全性、不良反应等问题(例如:腺病毒载体可能会引起机体的免疫反应从而阻碍了基因的递送),而部分研究却证实运用慢病毒载体投递 RNAi 可以取得良好效果^[12,14]。可见,病毒载体的使用效果与安全性将是未来使用 RNAi 技术中会持续关注的问题。

2.2.2 非病毒载体 主要为基于脂质体和聚合物的非病毒载体。无限细胞系能够成功转染非病毒载体,但迄今为止很难实现原代细胞的转染。对于有限细胞系或新鲜分离的原代细胞可能更适合病毒载体^[15]。大多数商业转染试剂都是基于阳离子脂质体系统。带正电荷转染试剂(脂质体和聚合物),它们能够络合并保护带负电荷的 siRNA,并协同其转入细胞内^[16-17]。很多因素影响 siRNA 转染效率如:细胞类型、传代次数、细胞融合度、siRNA-转染试剂复合物形成的时间和方式以及最佳的操作指南。目前,基于阳离子脂质体和聚合物的转染试剂已经在体外培养的细胞及全身性或局部动物模型中成功导入遗传物质。脂质体用配体修饰(如:叶酸可将 siRNA 靶向递送到特异的细胞类型如小鼠肺癌细胞)或采用小分子肽如 PTDs 来加强细胞膜的通透性;阳离子聚合物、纳米颗粒也被证实能够将 siRNA 投递至肺内细胞^[17-19]。针对流感病毒的 siRNA 联合聚乙炔亚胺注射可减少小鼠肺组织流感病毒滴度^[20-21]。注射 siRNA 后除了肺部的累积,在脾、肝、心脏和肾脏中也被发现。由于肺部具有丰富的血管网络(包含:毛细血管床等),静脉注射的遗传物质首先在这里实现分布,这就能解释肺部细胞快速吸收 siRNA 的原理。Kong 等^[19]采用阳离子壳聚多糖组成的纳米颗粒投递表达抗呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV) siRNA 的质粒,即在大鼠鼻内感染 RSV 前 1 d,将该复合物逐渐滴入到鼻内,这种处理方式减少了 RSV 的滴度,减轻了支气管炎症反应以及气道高反应性。然而,在体内不管是阳离子脂质体还是聚合物都会面临毒性的问题^[22]。

3 吸入型 siRNA 肺部靶向投递的研究

虽然,全身投递 siRNA 面临诸多障碍,包括靶器官和细胞的脱靶效应、被核酸酶的快速降解、全身性毒性以及快速

的排泄作用等。但是,对于肺部而言,经呼吸道雾化吸入的方式进行局部、靶向地 siRNA 投递,在某种程度上将可以克服这些困难。使用气雾剂在肺部投递药物由来已久,早在 16 世纪就有通过吸入含有颠茄成分的烟叶达到止咳的作用。气雾剂具有许多优点,包括局限性的靶向作用(例如:支气管哮喘)、非侵袭性、起效快以及低全身性毒性等。1992 年,Stribling 等^[23]人首次使用了雾化投递质粒 DNA 和阳离子脂质体形成的络合物。尽管气雾剂投递的传递效率相对较低,但这一方法在用于 siRNA 的投递中能够发挥有效作用^[24]。因为,siRNA 的一个突出优点是工作浓度低,但效率高。siRNA 的这种低剂量对于吸入剂来说具有独特的吸引力,即兼顾有效的传递量与低剂量的使用剂量的双重性。当然,需要注意的是在生产和雾化过程中 siRNA 稳定性的维持,以及避免雾化剪切力对 siRNA 产生的破坏作用。

目前,siRNA 治疗呼吸道疾病大多停留在临床前的实验阶段。使用鼻腔滴注投递 siRNA 至肺部的大多相关性动物体内研究已经取得了一些成效^[22,25]。鼻腔滴注方法已证实长类动物中有效。有研究表明,非典型肺炎冠状病毒特异性 siRNA 鼻腔滴注恒河猴,减轻了肺泡损伤和发热,减少了肺部病毒滴度^[25-26]。然而有多种因素(如:siRNA 剂量、转染试剂的选择、siRNA 稳定性、作用疗程等)影响着人体肺部 siRNA 递送方法的选择。新一代气雾吸入器最初的设计是用来输送蛋白的,然而采用它来投递可以使 siRNA 在肺部的有效浓度大大提高。Alnylam 公司的临床试验证实:使用喷雾器递送如微小喷雾法技术将会成为评价递送 siRNA 有效性的关键之一^[27]。因此,研发一些更尖端的喷雾装置以提高药物到肺部的有效效率,并且尽量减少生物分子的降解,将为 siRNA 治疗呼吸道疾病提供一个新的、更为有效的手段。

4 RNAi 在肺部疾病基因治疗中的运用

目前以 RNAi 为策略,靶向、局部作用于肺部,在治疗肺部或肺部相关性疾病的研究中显示出良好的治疗潜能,提示以 siRNA 为基础有可能成为肺部疾病的潜在治疗手段。

肿瘤细胞中大量基因表达改变,调控这些基因的表达是治疗肿瘤的一种策略。因此,siRNA 治疗学是当前治疗肿瘤的潜在方法。Ren 等^[28]研究 siRNA 介导的 HER2/neu 基因沉默效应。HER2/neu 为一致癌基因,在人类多种类型的肿瘤中高表达,并且与肿瘤的恶性程度、转移能力、血管生成、化疗耐药性以及预后相关。特异性 siRNA 质粒载体沉默非小细胞肺癌细胞株 SPC-A-1 的 HER2/neu 基因表达,能有效抑制了癌细胞的增殖,降低克隆形成率。在相似的研究中,Liu 等^[29]用慢病毒介导的 siRNA 直接沉默 ZEB-1 基因表达,可在抑制人肺腺癌细胞株 A549 和 H1299 细胞增殖并诱导其凋亡,显著抑制肺癌裸鼠移植瘤生长,研究结果显示慢病毒介导的 siRNA 能够特异降解 ZEB-1 基因,可能是治疗肺癌的新的潜在靶点。

囊性纤维化病是一种因氯化物运输障碍的遗传性疾病,可导致包括胰腺和肺在内的多种器官黏液堆积,引起营养不良,肺部慢性感染和损伤^[30]。含缬氨酸蛋白(valosin-containing protein, VCP)是一种膜结合糖蛋白,在囊性纤维化病中起到关键作用,它可以促使氯化物运输体和囊性纤维化跨膜转

导调节器的破坏。培养囊性纤维化病人的气管上皮细胞发现,用 siRNA 抑制 VCP 表达可恢复细胞对氯化物运输的能力^[30]。此外,研究还发现 VCP 可以通过直接调节 p53 和核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 表达,作为一种潜在的机制影响肿瘤细胞生长;在非小细胞肺癌中运用抗 VCP 的 siRNA 可以恢复 p53 和 NF- κ B 水平并且抑制癌细胞增殖及致癌性,为临床治疗提供了一种新的方法^[31]。

其他如局限性在肺部实现 siRNA 投递以治疗哮喘、慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 等的研究亦正在积极的探索之中。目前研究正集中在用动物模型评价气道高反应性与细胞因子的靶向作用。白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 和白细胞介素-13 (interleukin-13, IL-13) 是重要的细胞因子,在哮喘气道高反应性中可促进气道炎症发生^[32]。报道称慢病毒介导的 IL-4 和 IL-13 siRNA 气管内滴注,可显著减轻卵白蛋白诱导的哮喘模型小鼠气道炎症反应和气道高反应性^[32]。幼儿和免疫受损的成年人是 RSV 感染的高危人群。美国 Alnylam 生物制药公司研发了治疗 RSV 感染的抗 RSV 核衣壳蛋白的 siRNA 鼻喷剂 ALN-RSV01,并且改进了临床常规投递药物的方式,采用喷雾器投递^[27]。在进一步的随机、双盲、安慰剂对照的临床试验中证实了 ALN-RSV01 雾化吸入用于治疗 RSV 感染具有良好的安全性以及耐受性。此外,影响肺移植术后患者长期存活的最主要并发症之一就是闭塞性细支气管炎综合征,该临床研究亦发现,ALN-RSV01 可以显著降低肺移植并 RSV 感染病人新发或再发该并发症的发生率,从而改善肺移植患者术后的存活率^[27]。研究发现,肺远端气道中 IgG 免疫复合物 (IgG immune complexes, IgGICs) 沉积,将会导致小鼠急性肺损伤发生,造成肺泡毛细血管屏障功能受损,引起肺组织水肿、出血,肺间隔中性粒细胞或多形核白细胞浸润,而这些变化有依赖于 C5a 补体及其受体 (C5a receptor, C5aR) 相互作用。Sun 等^[33]在构建 IgGICs 诱导的急性肺损伤小鼠模型中,运用针对 C5aR 基因的 siRNA 腺病毒载体,可显著降低支气管上皮细胞和肺泡上皮细胞中 C5aR 合成,从而减少肺泡内蛋白质渗出、多形核白细胞集聚,降低肺泡灌洗液中促炎细胞因子水平。因此,运用针对 C5aR 基因 RNAi 技术,将为研究补体激活及多形核白细胞集聚在人类急性肺损伤急性呼吸窘迫综合征,以及如 COPD、支气管哮喘等上气道炎症反应疾病中的作用提供有效证据^[33]。此外在百草枯诱导的肺纤维化小鼠模型中,通过构建 Smad3 基因的 siRNA 腺病毒载体,可有效的抑制肺组织 I 型胶原和羟脯氨酸的合成,从而抑制肺纤维化发生发展,因此针对 Smad3 基因沉默,将为可能成为百草枯致肺纤维化的潜在治疗手段^[34]。

5 结论与展望

自 RNAi 现象被发现以来, RNAi 就一直成为分子生物学和医学等诸多领域研究的热点和前沿, 现已广泛应用于人类各重大疾病治疗的研究中。RNAi 技术为呼吸道疾病开创了一种新的治疗方法, 但是其真正作为药物治疗手段应用于临床治疗, 仍有一系列有待解决的问题, 如 siRNA 剂量、稳定性、转染试剂选择以及吸入方式等, 这些也是阻碍吸入性 RNAi 治疗研发的因素。RNAi 是一个令人兴奋的研究领域,

不仅引起分子生物学家的兴趣, 也颇受分子药理学领域专家的青睐。尽管 RNAi 应用于治疗目前仍存在诸多尚未攻克的问题, 但是作者相信随着肺部疾病相关分子机制的揭示, RNAi 机制研究的深入以及 RNAi 技术的不断改进, 运用 RNAi 技术治疗肺部疾病将有着巨大的市场价值和广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-strands RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 806-811.
- [2] Paul CP, Good PD, Winer I, et al. Effective expression of small interfering RNA in human cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(5): 505-508.
- [3] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference [J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-366.
- [4] Buchholz F, Kittler R, Slabicki M, et al. Enzymatically prepared RNAi libraries [J]. *Nat Methods*, 2006, 3(9): 696-700.
- [5] Sugao K, Hirose K. Enzymatic production of RNAi libraries from cDNAs and high-throughput selection of effective shRNA expression constructs [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 729: 123-139.
- [6] Hall AH, Wan J, Shaughnessy EE, et al. RNA interference using boranophosphate siRNAs: structure-activity relationships [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(20): 5991-6000.
- [7] Kala A, Friedman SH. Enhanced light-activated RNA interference using phosphorothioate-based dsRNA precursors of siRNA [J]. *Pharm Res*, 2011, 28(12): 3050-3057.
- [8] Sipka K, Sochacka E, Kazmierczak-Baranska J, et al. Effect of base modifications on structure, thermodynamic stability, and gene silencing activity of short interfering RNA [J]. *RNA*, 2007, 13(8): 1301-1316.
- [9] Sioud M, Furset G, Cekaite L. Suppression of immunostimulatory siRNA-driven innate immune activation by 2'-modified RNAs [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 361(1): 122-126.
- [10] Sumimoto H, Kawakami Y. Lentiviral vector-mediated RNAi and its use for cancer research [J]. *Future Oncol*, 2007, 3(6): 655-664.
- [11] Huang DD. The potential of RNA interference-based therapies for viral infections [J]. *Curr HIV/AIDS Rep*, 2008, 5(1): 33-39.
- [12] Whitehead KA, Langer R, Anderson DG. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(2): 129-138.
- [13] Li X, Pan Y, Fan R, et al. Adenovirus-delivered CIAPIN1 small interfering RNA inhibits HCC growth in vitro and in vivo [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(8): 1587-1593.
- [14] Zhou D, Zhang J, Wang C, et al. A method for detecting and preventing negative RNA interference in preparation of lentiviral vectors for siRNA delivery [J]. *RNA*, 2009, 15(4): 732-740.
- [15] Buttgerit P, Weinek S, Röpke G, et al. Efficient gene transfer into lymphoma cells using adenoviral vectors combined with lipofection [J]. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7(8): 1145-1155.
- [16] Demeneix B, Behr JP. Polyethylenimine (PEI) [J]. *Adv Genet*, 2005, 53: 217-230.
- [17] Merkel OM, Zheng M, Debus H, et al. Pulmonary gene delivery using polymeric nonviral vectors [J]. *Bioconjug Chem*, 2012, 23(1): 3-20.

免疫与感染

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000041

射频消融联合经肝动脉化疗栓塞治疗肝癌的疗效
与安全性系统评价

温 路, 吴忠均, 沈 艾, 张 超, 魏续福, 刘 锐

(重庆医科大学附属第一医院肝胆外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:系统评价射频消融(radiofrequency ablation, RFA)联合经肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的有效性 & 安全性。**方法:**计算机检索 PubMed、Cochrane Library、EMBase 及 CNKI 数据库中 1978 至 2013 年间的文献, 只纳入比较 RFA+TACE 与单独 RFA 治疗 HCC 的随机对照试验。**结果:**按照入选标准, 有 9 项临床试验纳入本研究。与单独 RFA 治疗 HCC 相比, RFA+TACE 能显著提高患者 1、3、5 年总生存期 ($OR_{1年}=2.34, 95\%CI=1.54\sim3.57, P=0.000; OR_{3年}=1.99, 95\%CI=1.43\sim2.77, P=0.000; OR_{5年}=2.26, 95\%CI=1.03\sim4.95, P=0.04$) 和 1、3 年无肿瘤复发生存期 ($OR_{1年}=1.74, 95\%CI=1.16\sim2.63, P=0.008; OR_{3年}=2.47, 95\%CI=1.61\sim3.80, P=0.000$)。2 组之间主要并发症发生率无明显差别 ($OR=1.24, 95\%CI=0.79\sim1.95, P=0.36$)。亚组分析显示: RFA+TACE 治疗能明显提高直径在 3~5 cm 之间的 HCC 患者的 1、3 年总生存期。**结论:**RFA+TACE 能显著延长 HCC 患者的无肿瘤复发生存期及总生存期, 尤其适合于直径介于 3~5 cm 之间的 HCC 患者。

【关键词】肝细胞性肝癌; 射频消融; 肝动脉化疗栓塞; 系统评价

【中图分类号】R657.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-06-19

作者介绍: 温 路, Email: wenlunsmc@163.com,

研究方向: 肝癌的防治。

通信作者: 吴忠均, Email: wzjtcy@126.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000041.html>

- [18] Gao K, Huang L. Nonviral methods for siRNA delivery [J]. Mol Pharm, 2009, 6(3): 651-658.
- [19] Kong X, Zhang W, Lockey RF, et al. Respiratory syncytial virus infection in Fischer 344 rats is attenuated by short interfering RNA against the RSV-NS1 gene [J]. Genet Vaccines Ther, 2007(5): 4-12.
- [20] Thomas M, Lu JJ, Ge Q, et al. Full deacylation of polyethyleneimine dramatically boosts its gene delivery efficiency and specificity to mouse lung [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(16): 5679-5684.
- [21] Barik S. siRNA for influenza therapy [J]. Viruses, 2010, 2(7): 1448-1457.
- [22] Bitko V, Musiyenko A, Shulyayeva O, et al. Inhibition of respiratory viruses by nasally administered siRNA [J]. Nat Med, 2005, 11(1): 50-55.
- [23] Stribling R, Brunette E, Liggitt D, et al. Aerosol gene delivery in vivo [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(23): 11277-11281.
- [24] Thomas M, Lu JJ, Chen J, et al. Non-viral siRNA delivery to the lung [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59(2-3): 124-133.
- [25] Tang Q, Li B, Woodle M, et al. Application of siRNA against SARS in the rhesus macaque model [J]. Methods Mol Biol, 2008, 442: 139-158.
- [26] Li BJ, Tang Q, Cheng D, et al. Using siRNA in prophylactic and therapeutic regimens against SARS coronavirus in Rhesus macaque [J]. Nat Med, 2005, 11(9): 944-951.
- [27] Zamora MR, Budev M, Rolfe M, et al. RNA interference therapy in lung transplant patients infected with respiratory syncytial virus [J].

Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(4): 531-538.

- [28] Ren XL, Xu YM, Bao W, et al. Inhibition of non-small cell lung cancer cell proliferation and tumor growth by vector-based small interfering RNAs targeting HER2/neu [J]. Cancer Lett, 2009, 281(2): 134-143.
- [29] Liu Y, Yan X, Liu N, et al. Lentivirus-delivered ZEB-1 small interfering RNA inhibits lung adenocarcinoma cell growth in vitro and in vivo [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(8): 1329-1338.
- [30] Vij N, Fang S, Zeitlin PL. Selective inhibition of endoplasmic reticulum-associated degradation rescues DeltaF508-cystic fibrosis transmembrane regulator and suppresses interleukin-8 levels; therapeutic implications [J]. J Biol Chem, 2006, 281(25): 17369-17378.
- [31] Valle CW, Min T, Bodas M, et al. Critical role of VCP/p97 in the pathogenesis and progression of non-small cell lung carcinoma [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e29073.
- [32] Lee CC, Huang HY, Chiang BL. Lentiviral-mediated interleukin-4 and interleukin-13 RNA interference decrease airway inflammation and hyperresponsiveness [J]. Hum Gene Ther, 2011, 22(5): 577-586.
- [33] Sun L, Guo RF, Gao H, et al. Attenuation of IgG immune complex-induced acute lung injury by silencing C5aR in lung epithelial cells [J]. FASEB J, 2009, 23(11): 3808-3818.
- [34] Dong XS, Hu XB, Liu W, et al. Effects of RNA interference-induced Smad3 gene silencing on pulmonary fibrosis caused by paraquat in mice [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2012, 237(5): 548-555.

(责任编辑: 冉明会)