

## siRNA 靶向干扰 IL28RA 基因对缺氧复氧心肌细胞损伤的保护作用

贡 歌<sup>1</sup>, 李妍妍<sup>1\*</sup>, 耿红玉<sup>1</sup>, 卢新政<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学第一附属医院老年医学科,<sup>2</sup>心脏科,江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 探讨小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 靶向干扰白细胞介素 28 受体  $\alpha$  (interleukin 28 receptor alpha, IL28RA) 基因对心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用。方法: 设计合成干扰 IL28RA 基因表达的 3 对 siRNA (siRNA-6158, siRNA-6160, siRNA-6162), 采用脂质体转染原代乳大鼠心肌细胞, 分为正常对照组、单纯缺氧复氧组、缺氧复氧+阴性对照转染组、缺氧复氧+siRNA-6158 转染组、缺氧复氧+siRNA-6160 转染组、缺氧复氧+siRNA-6162 转染组, 探索 siRNA 转染心肌细胞的合适浓度, 检测心肌细胞存活率、培养液中 LDH 的水平及心肌细胞 IL28RA 蛋白表达, 观察 siRNA 干扰 IL28RA 基因对心肌细胞缺氧复氧过程中的保护作用。结果: 采用脂质体转染法, siRNA 浓度在 80 nmol/L 对心肌细胞具有较高的转染效率。与单纯缺氧复氧组和缺氧复氧+阴性对照转染组比较, 缺氧复氧+siRNA-6158 转染组和缺氧复氧+siRNA-6160 转染组的 LDH 活性明显降低 ( $P < 0.05$ ), 心肌细胞存活率明显升高 ( $P < 0.05$ ), IL28RA 蛋白表达明显减少 ( $P < 0.05$ )。结论: 干扰 IL28RA 基因的表达有望成为保护缺氧复氧心肌损伤的重要手段。

**[关键词]** 白细胞介素 28 受体  $\alpha$ ; siRNA 转染; 缺氧复氧; 心肌细胞; 心肌损伤

**[中图分类号]** R541

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)10-1344-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20151002

## Protective effects of siRNA targeted IL28RA gene on hypoxia reoxygenation cardiomyocytes injury

Gong Ge<sup>1</sup>, Li Yanyan<sup>1\*</sup>, Geng Hongyu<sup>1</sup>, Lu Xinzheng<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Geriatrics, <sup>2</sup>Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the protective effects of small interference RNA (siRNA) targeted interleukin 28 receptor alpha (IL28RA) gene on the hypoxia reoxygenation cardiomyocytes injury. **Methods:** A complex was designed and synthesized, which consisted of three pairs of siRNA (siRNA-6158, siRNA-6160, siRNA-6162) interfering IL28RA gene expression. Liposome transfection method was used to transfect the siRNA into primary neonatal rat cardiomyocytes. The cells were divided into six groups including the normal control group, hypoxia and reoxygenation group (H/R group), H/R group + negative control transfection group, H/R + siRNA-6158 transfection group, H/R + siRNA-6160 transfection group, and H/R + siRNA-6162 transfection group. The cell survival rate and lactate dehydrogenase (LDH) level in the supernatant were detected. The appropriate transfection concentration was explored. The IL28RA protein expression was observed in the H/R process by using Western blot method. **Results:** The siRNA of 80 nmol/L is the appropriate transfection concentration. Compared with the H/R group and H/R group + negative control transfection group, the LDH activity in the H/R + siRNA-6158 group and H/R + siRNA-6160 group was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the survival rate in the both groups was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the IL28RA protein in the both groups was significantly reduced ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Inhibiting IL28RA gene expression was expected to be an important method of protecting anoxic myocardial disease.

**[Key words]** IL28RA; siRNA transfection; hypoxia and reoxygenation; cardiomyocytes; myocardial damage

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(10): 1344-1348]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81100073);南京医科大学优秀中青年教师支持计划(2013-2015, JX2161015034);江苏高校优势学科建设工程资助项目;江苏省高校优秀中青年骨干教师和校长境外研修项目

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: lyynjmu123@126.com

心肌缺血再灌注损伤是临床上常见的一种病理生理现象,常常导致心律失常的发生、心肌梗死面积的扩大、慢性心功能不全等状况,积极寻求更有效的防治心肌缺血再灌注损伤措施成为当前研究的热点<sup>[1]</sup>。Ⅲ型干扰素(interferon, IFN)即 IFN-λs 是一种新型干扰素,IFN-λs 家族的功能性受体复合物是由 CRF2-12 (IFN-λ-R1/IL-28Rα, IL28RA) 和 CRF2-4 (IL10-R-β, IL10RB) 链组成的异二聚体。白细胞介素 28 受体 α (IL28RA) 链是 IFN-λs 特有的,其基因定位在 1 号染色体上 (1p36.11), 邻近编码 IL22-R 的基因<sup>[2]</sup>。IFN-λs 及其受体 Cytokine R (IL28RA/IL10RB) 在人体的各种组织中广泛存在,尤其在心脏组织中高表达<sup>[3]</sup>。IFN-λs 除了抗病毒增殖<sup>[4]</sup>,还有治疗多发性硬化<sup>[5]</sup>,抗肿瘤增殖等生物学功能<sup>[6-7]</sup>。2011 年, Tsai 等<sup>[8]</sup>用低剂量氯丙嗪诱导制备了的小鼠心肌病模型,持续给低剂量氯丙嗪 3 周之后做心肌组织半定量逆转录 PCR 发现,抗心肌细胞凋亡的 Bcl-2 基因表达明显下降,而 IL-28RA 基因表达明显升高,由此推测, IL-28RA 基因可能与促进心肌细胞凋亡,导致心肌损伤及猝死有关。为了探讨 IL28RA 基因在心肌细胞缺氧复氧损伤中的作用,本研究设计了靶向干扰 IL28RA 基因的小分子干扰 RNA (small interference RNA, siRNA), 采用脂质体转染法转染心肌细胞, 进行缺氧复氧干预研究<sup>[9-10]</sup>, 观察其在缺氧复氧损伤中对心肌细胞的保护作用, 为后续在体研究 IL28RA 基因在心肌缺血再灌注损伤中的作用机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

出生 1~3 d 的纯种、体重 6~8 g、健康 Sprague-Dawley (SD) 大鼠由江苏省实验动物中心提供。

Lipofectamine™2000 (Invitrogen 公司, 美国)。胶原蛋白酶、细胞培养基 DMEM 及胎牛血清 (FBS) (Gibco 公司, 美国)。乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 检测试剂盒 (南京建成生物有限公司)。Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 细胞增殖-毒性检测试剂盒 (Dojindo 公司, 日本)。IL28RA 兔抗大鼠单克隆抗体 (Sigma 公司, 美国), GAPDH 兔抗大鼠单克隆抗体 (Cell Signaling 公司, 美国), HRP 标记的羊抗兔二抗 (Santa Cruz 公司, 美国)。针对 SD 大鼠 IL28RA 基因的 3 对 siRNA 及阴性对照羟基荧光素 (FAM) 标记 siRNA (FAM-siRNA), 均由上海吉玛制药公司设计合成。其核苷酸序列见表 1。

表 1 IL28RA siRNA 核苷酸序列

Table 1 Nucleotide sequence of siRNA for IL28RA gene	
siRNA	序列
siRNA-6158	5'-CUCUCCGGUUGGAGAAUAUTT-3'(正义)
	5'-AUAUUCUCCAACCGGAGAGTT-3'(反义)
siRNA-6160	5'-GGACUCCUCUUUAUAAGAUUTT-3'(正义)
	5'-AUCUUUAUAAGAGGAGUCCTT-3'(反义)
siRNA-6162	5'-GGUCACUGGAACUCAAGUATT-3'(正义)
	5'-UACUUCAGUCCAGUGACCTT-3'(反义)
FAM-siRNA	5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'(正义)
	5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'(反义)

### 1.2 方法

#### 1.2.1 心肌细胞分离培养<sup>[11]</sup>

取出生 1~3 d 的 SD 大鼠, 酒精擦洗消毒开胸取出心脏, 立即放入 4℃ 磷酸盐缓冲液 (PBS) 中, 反复冲洗 3~5 次, 将心室组织剪碎后加入 0.1% 胶原酶 10 mL, 37℃ 摇床中分次消化心肌组织。收集各次消化的上清液, 于 4℃ 离心机 1 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液 8 mL 制成单细胞悬液, 接种于大培养皿中。37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 90 min, 吸出细胞悬液, 调整浓度为 3×10<sup>5</sup> 个/mL, 接种于 96 孔板和 6 孔板中继续培养, 第 3 天随机分组进行实验。

实验分为 6 组, 分别为正常对照组、单纯缺氧复氧组、缺氧复氧+阴性对照转染组、缺氧复氧+siRNA-6158 转染组、缺氧复氧+siRNA-6160 转染组、缺氧复氧+siRNA-6162 转染组。

#### 1.2.2 siRNA 转染效率的测定

将原代心肌细胞培养 3 d 后, 换成不含双抗的 DMEM 培养基, 将 FAM 标记的 siRNA 随机分为 40、80、120、160 nmol/L 组, 每个组 3 个复孔。将 Lipofectamine 2000 溶于不含血清和双抗的 DMEM 培养液中静置 5 min, 然后与 siRNA 混合, 室温放置 20 min 形成 Lipofectamine-siRNA 混合物, 并加入对应孔中, 混匀。6 h 后用荧光显微镜检测转染效率, 以 100 倍的视野为标准, 计算相同视野下绿色荧光细胞数与自然光下总细胞数的百分比, 共计 3 个视野, 取其平均值作为转染效率<sup>[12]</sup>。

#### 1.2.3 建立心肌细胞缺氧复氧损伤模型<sup>[13]</sup>

对转染后培养 3 d 的单层心肌细胞, 更换缺氧处理的低糖 DMEM, 细胞置于无菌密闭的 5% CO<sub>2</sub> 和 95% N<sub>2</sub> 的无氧袋中, 保持 37℃, 孵育 6 h。模拟复氧: 将心肌细胞从无氧袋中取出, 培养液换成含有血清的高糖 DMEM 培养液, 放在 21% O<sub>2</sub> 与 5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱内, 保持 37℃, 常规培养 2 h。

1.2.4 心肌细胞搏动频率的检测和计算方法

缺氧后常规培养 2 h, 在倒置显微镜下随机选择 1 个视野, 观察每组 3 个复孔的每分钟搏动次数, 取其平均值。

1.2.5 CCK-8 检测心肌细胞存活率

向每孔中加入 10  $\mu$ L 的 CCK-8 溶液, 将培养板放在培养箱内孵育 1 h, 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。细胞存活率 (%) = [(实验组吸光度值 - 空白对照吸光度值) / (正常培养组吸光度值 - 空白对照吸光度值)]  $\times$  100%。空白对照不加细胞只加含有 CCK-8 溶液的培养基。

1.2.6 细胞培养基上清 LDH 活性测定

取各组细胞培养基上清 20  $\mu$ L, 用 LDH 检测试剂盒, 测定各组培养基的 LDH 活性, 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。LDH 活性 (U/L) = [(各组吸光度值 - 对照吸光度值) / (标准吸光度值 - 空白吸光度值)]  $\times$  标准品浓度 (0.2 mmol/L)  $\times$  1 000。

1.2.7 Western blot 检测 IL28RA 蛋白表达

用 RIPA 裂解液分别提取细胞全蛋白, 蛋白定量后, 取 36  $\mu$ g 总蛋白, 经 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上, 用 5% 脱脂奶粉分别加入兔抗大鼠 IL28RA (1:1 000), 兔抗大鼠 GAPDH (1:1 000) 于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; 加入 HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体 IgG (1:5 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育 2 h, 加发光试剂曝光显影。

1.3 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件进行统计分析, 计量资料均用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。多组间的比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 SNK 法。P  $\leq$  0.05

表 3 各组心肌细胞搏动频率、细胞存活率和培养上清 LDH 活性水平的比较

Table 3 Comparison results of cardiomyocytes beat frequency, survival rate and supernatant LDH content among the six groups

组别	搏动频率(次/min)	存活率(%)	LDH 活性(U/L)
正常对照组	62.57 $\pm$ 5.74	100	239.52 $\pm$ 19.56
单纯缺氧复氧组	46.29 $\pm$ 1.11*	61.39 $\pm$ 11.62*	295.99 $\pm$ 22.34*
缺氧复氧+阴性对照转染组	46.71 $\pm$ 1.80	62.60 $\pm$ 12.37	289.38 $\pm$ 22.10
缺氧复氧+siRNA-6158 转染组	57.86 $\pm$ 3.63 $\Delta$	78.71 $\pm$ 17.99 $\Delta$	232.65 $\pm$ 18.79 $\Delta$
缺氧复氧+siRNA-6160 转染组	57.71 $\pm$ 2.98 $\Delta$	76.32 $\pm$ 12.94 $\Delta$	244.71 $\pm$ 21.29 $\Delta$
缺氧复氧+siRNA-6162 转染组	49.86 $\pm$ 3.48	65.99 $\pm$ 11.57	288.99 $\pm$ 18.10

与正常对照组比较, \*P < 0.05; 与单纯缺氧复氧组和缺氧复氧+阴性对照转染组比较,  $\Delta$ P < 0.05。

2.3 3 对 IL28RA siRNA 转染心肌细胞后的 LDH 水平的比较

与正常对照组比较, 单纯缺氧复氧组培养上清中 LDH 水平明显增加 (P < 0.05)。与单纯缺氧复氧

表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同 FAM-siRNA 浓度的转染效率比较

将 FAM-siRNA 分为 40、80、120、160 nmol/L 组转染心肌细胞 6 h 后, 选择 3 个不同视野计算同一视野下的荧光细胞数目 (表 2)。与转染组相比, 未转染组未见荧光信号。在各个浓度转染组中, 80 nmol/L FAM-siRNA 转染组荧光信号明显多于 40、120、160 nmol/L 等浓度转染组 (P < 0.05)。

表 2 不同浓度 FAM-siRNA 转染心肌细胞效率比较

Table 2 The transfection efficiency comparison results among different FAM-siRNA concentration groups

组别	转染效率(%)
40 nmol/L siRNA 转染组	58.29 $\pm$ 3.05
80 nmol/L siRNA 转染组	89.03 $\pm$ 2.80*
120 nmol/L siRNA 转染组	78.18 $\pm$ 3.23
160 nmol/L siRNA 转染组	76.25 $\pm$ 2.80

与其他 3 个浓度组比较, \*P < 0.05。

2.2 3 对 IL28RA siRNA 转染心肌细胞后的存活率比较

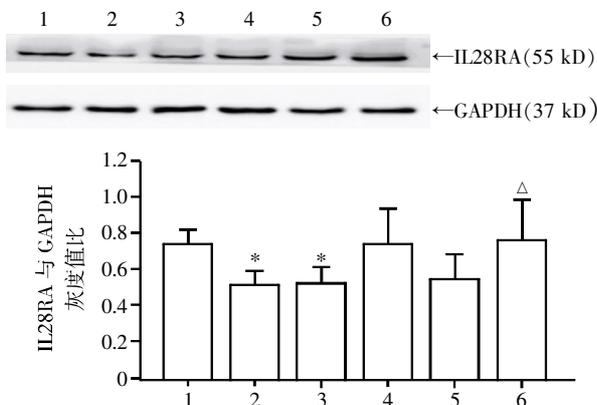
显微镜下可见未贴壁细胞呈圆形, 贴壁后渐呈梭形、多角形生长, 细胞大小均匀, 单个细胞跳动, 第 3 天时融合成岛屿状搏动。经过缺氧复氧干预后, 心肌细胞的搏动频率和存活率较正常对照组明显减低 (P < 0.05)。与单纯缺氧复氧组和缺氧复氧+阴性对照转染组相比, 转染 siRNA-6158 组和 siRNA-6160 组的细胞存活率明显升高 (P < 0.05), siRNA-6162 组无明显变化 (P > 0.05), siRNA-6158 组和 siRNA-6160 组之间的作用无明显差别 (P > 0.05, 表 3)。

组和缺氧复氧+阴性对照转染组比较, siRNA-6158 转染组和 siRNA-6160 转染组的 LDH 水平明显降低 (P < 0.05), siRNA-6162 转染组的 LDH 水平无明显变化 (P > 0.05), siRNA-6158 转染组和 siRNA-6160

转染组之间的作用无明显差别( $P > 0.05$ ,表 3)。

#### 2.4 Western blot 法检测 IL28RA 蛋白的表达

参照 GAPDH 条带吸光度值计算各组 IL28RA 蛋白相对表达量。与单纯缺氧复氧组和缺氧复氧+阴性对照转染组相比,缺氧复氧+siRNA-6158 转染组和缺氧复氧+siRNA-6160 转染组的 IL28RA 蛋白表达量明显下降( $P < 0.05$ ),缺氧复氧+siRNA-6162 转染组的 IL28RA 蛋白表达量未见明显改变 ( $P > 0.05$ );与正常对照组相比,单纯缺氧复氧组的 IL28RA 蛋白表达量明显增加( $P < 0.05$ ,图 1)。结果提示 siRNA-6158 和 siRNA-6160 可显著抑制 IL28RA 蛋白的表达。



1: 缺氧复氧+阴性对照转染组; 2: 缺氧复氧+siRNA-6158 转染组; 3: 缺氧复氧+siRNA-6160 转染组; 4: 缺氧复氧+siRNA-6162 转染组; 5: 正常对照组; 6: 单纯缺氧复氧组。与单纯缺氧复氧组和缺氧复氧+阴性对照转染组比较, \* $P < 0.05$ ; 与正常对照组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图 1 6 组原代大鼠心肌细胞 IL28RA 蛋白表达的 Western blot 结果分析

Figure 1 The western blot results analysis of IL28RA protein expression among the six groups of primary neonatal rat cardiomyocytes

### 3 讨论

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 采用溶栓和腔内成形术治疗, 常发生心肌缺血再灌注损伤, 导致 AMI 病情加重, 防治心肌缺血再灌注损伤成为治疗 AMI 和充血性心力衰竭后遗症的主要手段<sup>[14]</sup>。RNAi (RNA interference) 即 RNA 干扰, 是 siRNA 与靶向信使 RNA (mRNA) 中的同源序列互补结合, 从而阻止 mRNA 翻译产生蛋白质, 导致基因沉默。RNAi 抑制基因的表达较传统的基因敲除方法简单方便, 与反义寡核苷酸、核酶和脱氧核酶等技术相比具有高度的特异性和高效性<sup>[15]</sup>, siRNA 也已经被证实能成功抑制蛋白基因表达<sup>[16]</sup>。Lin 等<sup>[17]</sup>用转染 siRNA 的方法抑制 MMP-2 的表达

来保护缺血再灌注损伤的心肌细胞。本实验用脂质体转染 IL28RA 的 siRNA 至心肌细胞, 通过 CCK-8 法和测定 LDH 活性法检测, 筛选出最佳抑制效率和保护作用的 siRNA, 并用 Western blot 法检测了各组心肌细胞间 IL28RA 蛋白表达的差异。

本研究结果显示, 与正常对照组比较, 单纯缺氧复氧组心肌细胞存活率明显降低、LDH 水平明显增加 ( $P < 0.05$ ), 表明成功建立了心肌细胞的缺氧复氧损伤模型。在初步功能检测实验中发现, 靶向干扰 IL28RA 基因的 siRNA-6158 和 siRNA-6160 转染心肌细胞后, 心肌细胞的搏动频率、存活率明显高于单纯缺氧复氧组及阴性对照转染组, LDH 水平明显低于单纯缺氧复氧组及阴性对照转染组 ( $P < 0.05$ ), 而 siRNA-6162 转染组和阴性对照转染组无明显变化 ( $P > 0.05$ )。缺氧复氧损伤后心肌细胞 IL28RA 蛋白明显增加, 而转染 siRNA-6158 和 siRNA-6160 后, IL28RA 蛋白表达明显减少 ( $P < 0.05$ )。由此提示心肌细胞的缺氧复氧损伤可能与 IL28RA 蛋白增加有关, 减少 IL28RA 蛋白可能对心肌细胞的缺氧复氧损伤具有保护作用。siRNA-6162 对心肌细胞缺氧复氧损伤无明显保护作用, 可能与其对 IL28RA 基因干扰效果欠佳有关。IL28RA 基因作为细胞增殖的负性调控基因之一, siRNA 干扰 IL28RA 基因的表达可造成 IL28RA 蛋白减少, 从而对心肌细胞缺氧复氧损伤发挥保护作用, 可能与促进了 JAK-STAT 信号通路的激活, 包括下游的 PI3K/AKT、MAPK 等信号通路, 从而抑制心肌细胞凋亡有关, 其具体机制有待将来深入研究<sup>[3]</sup>。

综上所述, siRNA 干扰 IL28RA 基因的表达能够对缺氧复氧损伤的心肌细胞发挥保护作用。IL28RA 基因可望成为诊断和临床治疗 AMI 的一个潜在新靶点。本实验筛选出了对 IL28RA 基因抑制效果较好的两条 siRNA, 为下一步在体研究 IL28RA 基因在 AMI 中的作用奠定了基础。

#### [参考文献]

- [1] Pu J, Yuan A, Shan P, et al. Cardiomyocyte-expressed farnesoid-X-receptor is a novel apoptosis mediator and contributes to myocardial ischaemia/reperfusion injury [J]. Eur Heart J, 2013, 34(24):1834-1845
- [2] Mordstein M, Michiels T, Staeheli P. What have we learned from the IL28 receptor knockout mouse? [J]. J Interferon Cytokine Res, 2010, 30(8):579-584
- [3] Yang L, Luo Y, Wei J, et al. Integrative genomic analyses

- on IL28RA, the common receptor of interferon-lambda1, -lambda2 and -lambda3[J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(5): 807-812
- [4] Thomas E, Gonzalez VD, Li Q, et al. HCV infection induces a unique hepatic innate immune response associated with robust production of type III interferons [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 978-988
- [5] Lopez de Lapuente A, Alloza I, Goertsches R, et al. Analysis of the IL28RA locus as genetic risk factor for multiple sclerosis[J]. *J Neuroimmunol*, 2012, 245(1): 98-101
- [6] Dumoutier L, Tounsi A, Michiels T, et al. Role of the interleukin (IL)-28 receptor tyrosine residues for antiviral and antiproliferative activity of IL-29/interferon-lambda 1: similarities with type I interferon signaling [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(31): 32269-32274
- [7] Yang L, Wei J, He S. Integrative genomic analyses on interferon-lambdas and their roles in cancer prediction[J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(5): 299-304
- [8] Tsai CT, Ikematsu K, Sakai S, et al. Expression of Bcl211, Clef1, IL-28ra and Pias1 in the mouse heart after single and repeated administration of chlorpromazine [J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2011, 13(5): 221-225
- [9] 杭黎华, 杨建平, 殷伟, 等. siRNA-pool 抑制大鼠脊髓背角神经细胞 TDAG8 的表达 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(12): 1699-1701
- [10] 吴剑, 张敏, 戴天阳, 等. siRNA 干扰 MACC1 基因对食管癌细胞 TE-1 的生物学影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2014, 36(5): 442-445
- [11] 曾石秀, 廖伟. 原代心肌细胞培养 [J]. *赣南医学院学报*, 2012, 32(2): 167-169
- [12] 刘思兰, 杨建平, 王丽娜, 等. 有效抑制小胶质细胞上 TLR4 表达的 siRNA 筛选及转染复合物细胞毒性的检测 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(4): 457-461
- [13] 张辉, 李妍妍, 卢新政, 等. 人 PI3KCG 慢病毒载体的构建及其在乳大鼠原代心肌细胞中的表达和初步功能检测 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2013, 33(1): 11-15
- [14] Paul A, Binsalamah ZM, Khan AA, et al. A nanobiohybrid complex of recombinant baculovirus and Tat/DNA nanoparticles for delivery of Ang-1 transgene in myocardial infarction therapy [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(32): 8304-8318
- [15] 李海霞, 韩晶晶, 张云, 等. 靶向 hTERT 的特异性 siRNA 抑制 SMMC-7721 肝癌细胞增殖机制研究 [J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(5): 605-609
- [16] Caplen NJ. Gene therapy progress and prospects. Down-regulating gene expression: the impact of RNA interference [J]. *Gene Therapy*, 2004, 11(16): 1241-1248
- [17] Lin HB, Cadete VJJ, Sra B, et al. Inhibition of MMP-2 expression with siRNA increases baseline cardiomyocyte contractility and protects against simulated ischemic reperfusion injury [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 810-371

[收稿日期] 2015-03-29

## 科技出版物中阿拉伯数字的书写规则

1. 为使多位数字便于阅读, 可将数字分成组, 从小数点起, 向左或向右每 3 位分成 1 组, 组间留空隙 (约为一个汉字的 1/4), 不得用逗号、圆点或其他方式。
2. 纯小数必须写出小数点前用以定位的“0”。
3. 阿拉伯数字不得与除万、亿及法定计量单位词头外的汉字数字连用。如 453 000 000 可写成 45 300 万或 4.53 亿或 4 亿 5 300 万, 但不能写成 4 亿 5 千 3 百万; 三千元写成 3 000 元或 0.3 万元, 但不能写成 3 千元。
4. 一个用阿拉伯数字书写的数值, 包括小数与百分数, 不能拆开转行。
5. 表示用阿拉伯数字书写的数值范围, 使用波浪号“~”。如 10%~20%, (2~6)×10<sup>3</sup> 或 2×10<sup>3</sup>~6×10<sup>3</sup>, 30~40 km。

(本刊编辑: 接雅俐)