

记忆、瞬时记忆均与教育水平正相关,表明受教育程度高对记忆损害可能有一定的缓解或保护作用。本研究进一步显示,瞬时记忆与睡眠结构无关;短时记忆与醒觉睡眠比例,4期睡眠有关;长时记忆与总睡眠时间、睡眠潜伏期、4期睡眠有关。尽管有研究认为,快动眼睡眠(REM)和慢波睡眠(SWS)对不同的记忆有不同的重要作用^[9,10],本研究未能发现长短时记忆以及瞬时记忆与快动眼睡眠密切相关,故认为快动眼睡眠在记忆中,尤其在长时记忆、短时记忆方面的作用可能并不重要,而非快动眼睡眠的慢波睡眠,尤其4期睡眠可能对记忆有着更为重要的作用,正如宋国萍等^[1]认为,快动眼睡眠和记忆之间的关系并没有那样密切,无论对于有无意义的材料,快动眼睡眠没有优于慢波睡眠,有研究发现^[11],慢波睡眠过程中视皮质和海马神经元的再现活动在时间上是同步的,活动形式上是协调的,提示可能通过海马和新皮质,即视皮质之间的相互作用发生记忆转移,并最终形成长时记忆储存于新皮质;慢波睡眠过程中海马活动的再次激活具有记忆巩固的作用,上述结果均提示慢波睡眠在记忆形成过程中可能起着更为重要的作用。

本研究亦显示,失眠者病程的长短与记忆功能改变无明显相关性,可能提示失眠者的记忆改变存在着不同于其他脑器质性疾病的发生机制。总之,失眠症患者记忆功能受损,可能与睡眠结构紊乱和教育水平

有关,文化程度,即受教育水平对记忆可能有缓解或保护作用。

参考文献

- 1 宋国萍,苗丹民,皇甫恩. 睡眠和记忆之间关系的研究[J]. 心理科学,2004,27(6):1454-1456
- 2 陶庆,夏兰,陈贵海. 原发性失眠各亚型的记忆功能比较[J]. 中国临床医生,2013,41(7):24-25
- 3 王嫄,陈景元,张云,等. 睡眠剥夺对大鼠空间学习记忆能力的影响[J]. 卫生研究,2007,36(2):234-236
- 4 黄景斌,吴茜,许良,等. 失眠症伴记忆力减退患者事件相关电位P300的特点研究[J]. 上海中医药大学学报,2010,24(6):50-53
- 5 失眠定义、诊断及药物治疗共识专家组. 失眠定义、诊断及药物治疗专家共识[J]. 中华神经科杂志,2006,39(2):141-143
- 6 龚耀先. 韦氏记忆量表修订本手册[M]. 长沙:湖南医学院,1981
- 7 赵忠新. 临床睡眠障碍学[M]. 上海:第二军医大学出版社,2003:29
- 8 李冲,贾福军,杜好瑞,等. 失眠症患者的多导睡眠图研究[J]. 中华精神杂志,1999,32(1):33-35
- 9 Sutherland GR, Mc Naughton B. Memory trace reactivation in hippocampal and neocortical neuronal ensembles[J]. Curr Opin Neurobiol,2000,10(2):180-186
- 10 Maquet P. The role of sleep in learning and memory[J]. Science,2001,294(5544):1048-1052
- 11 Rasch B, Buechel C, Gais S, et al. Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation[J]. Science,2007,315(5817):1426-1429

(收稿日期:2014-03-01)

(修回日期:2014-04-01)

增龄对大鼠阴茎组织中DDAH2/ADMA/eNOS通路的影响

王建华 岳建华 张 辉 张克勤 姜 斌 傅 强

摘 要 **目的** 探讨增龄对大鼠阴茎组织中DDAH2/ADMA/eNOS通路的影响。**方法** 以18月龄和3月龄雄性大鼠分别作为老年组和青年组。测定两组大鼠阴茎海绵体内压(intracavernous pressure, ICP)及海绵体内注射罂粟碱后的ICP,采集阴茎组织,应用电镜比较两组大鼠阴茎海绵体细胞显微结构的差别,应用ELISA测定两组大鼠阴茎组织中环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)、不对称二甲基精氨酸(asymmetrical dimethylarginine, ADMA)含量,应用Western blot比较两组阴茎组织中内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、二甲基精氨酸二甲胺水解酶2(dimethylarginine dimethylaminohydrolases 2, DDAH2)的差别。**结果** 老年组基础ICP(9.84 ± 1.63 mmHg)与青年组(10.66 ± 1.66 mmHg)比较差异无统计学意义($P > 0.05$),注射罂粟碱后老年组ICP(33.46 ± 5.37 mmHg)明显低于青年组(39.71 ± 3.67 mmHg) ($P < 0.05$)。电镜下老年组大鼠

基金项目:山东省科技攻关计划基金资助项目(2007GG2N02074)

作者单位:250021 济南,山东大学附属省立医院泌尿外科(王建华、张辉、张克勤、姜斌、傅强);262100 安丘市人民医院泌尿外科(岳建华)

通讯作者:傅强,电子信箱:qiangfu68@163.com

阴茎海绵体细胞与青年组相比纤维化明显,内皮细胞内线粒体肿胀、聚集、空泡化明显,线粒体、内质网等细胞器明显减少,核膜变形、染色质异常时见。ELISA 检测老年组大鼠阴茎组织中 cGMP 浓度 $178.87 \pm 19.53 \text{ pmol/g}$ 明显低于青年组 $268.67 \pm 25.28 \text{ pmol/g}$ ($P < 0.05$),而老年组 ADMA 浓度 $61.04 \pm 4.19 \mu\text{mol/g}$ 明显高于青年组 $42.85 \pm 4.09 \mu\text{mol/g}$ ($P < 0.01$)。Western blot 法检测老年组阴茎组织中 eNOS、DDAH2 表达均明显低于青年组。**结论** DDAH2/ADMA/eNOS 通路的改变可能是导致老年性阴茎勃起功能障碍 (erectile dysfunction, ED) 的重要原因。

关键词 老年性 勃起功能障碍 不对称二甲基甲基精氨酸二甲胺水解酶 2 不对称二甲基精氨酸 内皮型一氧化氮合酶
[中图分类号] R698 [文献标识码] A

Effects of Aging on DDAH2/ADMA/eNOS Pathway in Penile Tissue. Wang Jianhua, Yue Jianhua, Zhang Hui, et al. Department of Urology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Shandong 250021, China

Abstract Objective To investigate the effects of aging on DDAH2/ADMA/eNOS pathway in penile tissue. **Methods** Ten male SD rats of 3 months and 10 male SD rats of 18 months were assigned respectively to the young group and the aged group. Intracavernous pressure (ICP) was measured before and after hydrochloride papaverine injection. Penile tissue was sliced and observed under transmission electron microscope. The rest was collected and preserved. Cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and asymmetrical dimethylarginine (ADMA) of penile tissue were detected by ELISA. Expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and dimethylarginine dimethylaminohydrolases 2 (DDAH2) were measured by western blot. **Results** There was no difference between aged group and young group in the baseline level of ICP (9.84 ± 1.63 vs $10.66 \pm 1.66 \text{ mmHg}$, $P > 0.05$). Significant difference between aged group and young group was found in papaverine induced ICP (33.46 ± 5.37 vs $39.71 \pm 3.67 \text{ mmHg}$, $P < 0.05$). Under the electron microscope, the fibration was evident in aged penile tissue. The mitochondria of the endothelial cells was concentrated, swollen, cavitated, and the organelles decreased significantly in aged penile tissue. The karyon of the endothelial cells was deformed with sporadic abnormalities of chromatin in aged penile tissue. Compared with young group, the ADMA increased (61.04 ± 4.19 vs $42.85 \pm 4.09 \mu\text{mol/g}$, $P < 0.01$) while the concentration of cGMP (178.87 ± 19.53 vs $268.67 \pm 25.28 \text{ pmol/g}$, $P < 0.05$) and the expression of eNOS and DDAH2 decreased significantly in aged penile tissue. **Conclusion** The changes of DDAH2/ADMA/eNOS pathway might play a key role in age-related ED.

Key words Age; Erectile dysfunction; Dimethylarginine dimethylaminohydrolases 2; Asymmetrical dimethylarginine; Endothelial nitric oxide synthase

随着生活水平的提高和人均寿命的增加,老年性阴茎勃起功能障碍 (erectile dysfunction, ED) 已成为目前研究的热点,但其发病机制尚未完全清楚。一氧化氮 (nitric oxide, NO) 是引起阴茎勃起的主要递质,勃起功能障碍与阴茎组织中的 NO 含量下降密切相关^[1]。不对称二甲基精氨酸 (ADMA) 是内皮型一氧化氮合成酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 的竞争性抑制剂,可通过抑制 eNOS 活性使 NO 的合成明显减少。而二甲基精氨酸二甲胺水解酶 2 (dimethylarginine dimethylaminohydrolases 2, DDAH2) 是 ADMA 的水解酶,在调节 ADMA 的浓度和 NO 的生成过程中起重要作用^[2]。据报道,DDAH2 异常与心血管系统疾病密切相关,但其在老年性阴茎勃起功能障碍机制中的研究较少。本研究通过研究增龄对大鼠 ICP 的变化及阴茎组织内 DDAH2、ADMA (asymmetrical dimethylarginine)、eNOS 和环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 的含量变化,探讨 DDAH2/ADMA/eNOS 通路在老年性勃起功能障碍中的意义。

材料与方法

1. 实验动物:随机抽取 18 月龄清洁级雄性健康 SD 大鼠 10 只,3 月龄清洁级雄性健康 SD 大鼠 10 只,由成都达硕生物科技有限公司提供。

2. 主要试剂及仪器:兔抗大鼠 DDAH2 抗体 (Santa Cruz, 美国)、兔抗大鼠 eNOS 抗体 (Santa Cruz, 美国),BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (博彩,中国),RIPA、PMSF、PVDF 膜、ECL 发光试剂盒 (Millipore, 美国),大鼠 cGMP 酶联免疫分析试剂盒 (Bioswamp, 中国)、大鼠 ADMA 酶联免疫分析试剂盒 (Bioswamp, 中国),酶标仪 (BIO-TEK, 美国),凝胶成像仪 (LAS-4000mini, 美国),BL-420V 生物功能实验系统,透射电镜 (JEM JEOL-1200EX, 日本)。

3. 阴茎海绵体内压的测定:大鼠称重,给予 2% 戊巴比妥钠以 1 ml/kg 腹腔注射,麻醉满意后取仰卧位固定四肢,下腹正中切开皮肤形成约 3 cm 切口,暴露阴茎及球海绵体肌。将皮肤向周围游离约 1.5 cm ,用 37°C 生理盐水浸湿的纱布覆盖切口。每 5min 更换 1 次纱布,使切口处保持恒温。取两个 6 号针头,一个充满肝素后与压力换能器相连,另一个连接 1 ml 注射器。在阴茎头体交界处平行将两个针头刺入两侧海绵体,深度约 0.5 cm 。用 BL-420V 生物机能试验系统记录每只大鼠的基础 ICP,然后用注射器注入浓度为 3 g/ml 的罂粟碱

0.14ml,记录 ICP 变化。

4. 标本提取:处死大鼠后,从阴茎根部截取阴茎组织,用 0.9% 生理盐水洗净血污,修剪成 $1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 1\text{mm}$ 小块放入固定液中,剩余组织放入冻存管,迅速置于 -80°C 冰箱保存备用。

5. 透射电镜组织制备及观察:组织块经 2% 戊二醛固定 2h,1% 锇酸固定 1h,PBS 漂洗后梯度丙酮脱水,Epon812 环氧树脂包埋,半包切片定位海绵体细胞层,切片机切片,醋酸双氧铀-柠檬酸双重染色,透射电镜观察。

6. ELISA 检测阴茎组织 cGMP、ADMA:阴茎海绵体组织称重后加 PBS 匀浆后严格按照试剂盒说明书依次进行标准品稀释、加样、温育、洗涤、加酶、温育、洗涤、显色、终止、测定。

7. Western blot 法检测 DDAH2、eNOS 在阴茎组织中的表达:取约 100mg 组织于生理盐水中洗净剪碎后加入 PMSF 与 RIPA 比例为 1:100 的混合液 $303\mu\text{l}$,匀浆器研磨后冰上静置 5min。20000 $\times g$ 4°C 离心 30min。吸取上清到新 EP 管中,BCA 法测定蛋白浓度,金属浴变性。配置 SDS-PAGE 凝胶,取 $40\mu\text{g}$ 总蛋白 30V 电泳 60min 压线后改为 100V 电泳 90min。100V 转膜后牛奶封闭 1h, 4°C 冰箱内一抗(1:200)孵育过夜。洗膜后加入二抗室温孵育 2h。再次洗膜,增强化学发光显影,比较各条带灰度值。

8. 统计学方法:实验结果中计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用统计软件 SPSS 17.0 对结果进行独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. ICP 的测定:老年组基础 ICP 为 $9.84 \pm 1.63\text{mmHg}$ ($1\text{mmHg} = 0.133\text{kPa}$),青年组基础 ICP 为 $10.66 \pm 1.66\text{mmHg}$,老年组与青年组之间基础 ICP 无明显差异($P > 0.05$)。注射罂粟碱后 ICP 升高,老年组为 $33.46 \pm 5.37\text{mmHg}$,青年组为 $39.71 \pm 3.67\text{mmHg}$,老年组 ICP 明显低于青年组($P < 0.05$)。结果见图 1。

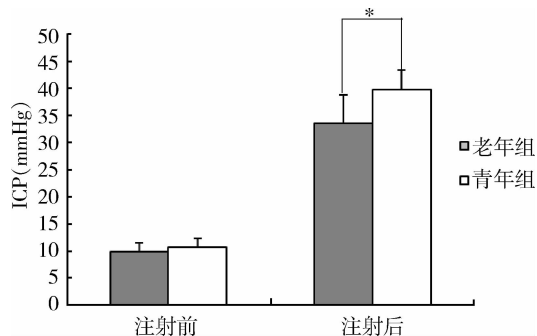


图 1 两组大鼠 ICP 的比较

* $P < 0.05$

2. 阴茎海绵体细胞形态学变化:透射电镜观察老年组大鼠阴茎组织与青年组相比纤维化现象明显,内

皮细胞核核膜变形、染色质聚集和异染色质边集;胞质内细胞器减少,线粒体聚集、空泡化,时见自噬体,详见图 2、图 3。

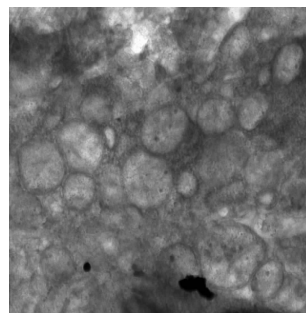


图 2 老年组内皮细胞线粒体肿胀、聚集 ($\times 12000$)

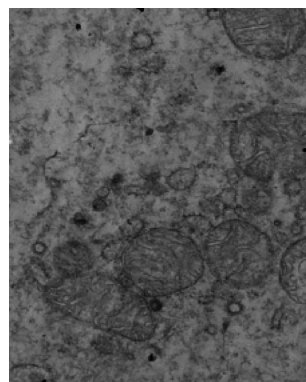


图 3 青年组正常线粒体 ($\times 20000$)

3. 阴茎组织 cGMP、ADMA 的测定:老年组阴茎组织 cGMP、ADMA 与青年组相比均有统计学差异($P < 0.01$),老年组 cGMP 明显低于青年组,老年组 ADMA 明显高于青年组($P < 0.01$),详见表 1。

表 1 两组大鼠阴茎组织中 cGMP、ADMA 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	cGMP (pmol/g)	ADMA ($\mu\text{mol/g}$)
老年组	$178.87 \pm 19.53^*$	$61.04 \pm 4.19^*$
青年组	268.67 ± 25.28	42.85 ± 4.09

与青年组相比, * $P < 0.01$

4. 阴茎组织中 eNOS、DDAH2 的检测:Western blot 法检测结果见图 4。灰度值分析后结果如图 5 所示,老年组阴茎组织内 eNOS、DDAH2 含量均低于青年组含量($P < 0.05$)。

讨 论

随着人口的老龄化及生活水平的提高,老年性 ED 逐渐引起关注。在引起 ED 的诸多危险因素中,年龄是一项非常显著的高危因素。据报道,30 ~ 60

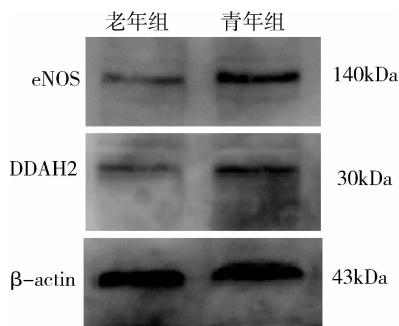


图 4 大鼠阴茎组织中 eNOS、DDAH2 的表达

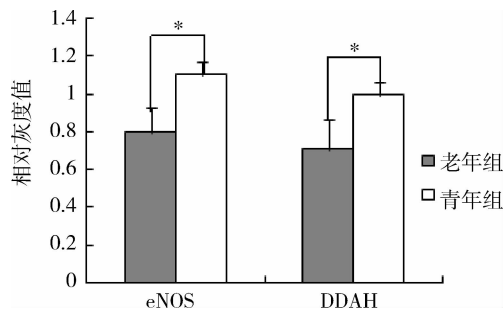


图 5 老年组与青年组大鼠阴茎组织中 eNOS、DDAH2 表达的灰度值比较

* $P < 0.05$

岁男性 ED 患病率为 4.3%, 其中 40~49 岁患病率为 3.4%, 50~59 岁患病率为 9.8%^[3]。老年性 ED 给患者及家庭带来了极大的痛苦。

NO 是引起阴茎平滑肌舒张的最重要的神经递质之一, 阴茎组织内的 NO 含量增加可明显改善 ED 症状^[4]。NO 主要由 NOS 合成, NOS 是勃起过程中的主要限速酶。NOS 各亚型中起主要作用的是 eNOS, 其表达量远高于其他亚型, 主要定位于内皮细胞和平滑肌细胞, 由其产生的内皮源性 NO 对维持勃起过程起重要调节作用^[5~7]。eNOS 表达减少与活性下降均可对 NO 的合成产生影响。NO 在细胞中可与鸟苷酸环化酶 (GC) 中的亚铁血红素结合, 导致 GC 活化, 使细胞中 cGMP 含量增加, 通过一系列反应使平滑肌舒张, 而引起阴茎的勃起^[8]。

ADMA 主要由含甲基化精氨酸的蛋白质分解形成, 存在于内皮细胞内, 可以竞争性抑制 NOS 活性, 诱导内皮细胞发生衰老和凋亡^[9~11]。目前多种研究证明 ADMA 的浓度水平与 ED 密切相关^[12, 13]。研究发现 ADMA 与阴茎勃起后血流状态也有密切关系^[14]。DDAH 是 ADMA 的水解酶, 绝大部分 ADMA 经 DDAH 分解后通过肾脏排泄。DDAH 有两种亚型, DDAH1 和 DDAH2, 其中 DDAH2 与 eNOS 关系密

切, 主要在 eNOS 分布的区域表达^[15]。内皮细胞中 DDAH2 的含量相当丰富, 在调节 NO 合成方面具有重要作用^[16]。有研究认为 DDAH2 和 eNOS 表达下调可能是内皮细胞功能紊乱的重要原因^[17]。

本研究发现, 罂粟碱诱导阴茎勃起后老年组大鼠 ICP 明显低于青年组, 说明增龄可明显降低大鼠勃起功能。老年大鼠与青年大鼠相比, 阴茎组织中 DDAH2 表达下降, ADMA 含量升高, eNOS 表达下降, cGMP 含量下降。DDAH2 表达减少导致阴茎组织中 ADMA 浓度升高, 进而导致 NOS 活性下降, 与 eNOS 表达减少协同作用使 NO 的合成减少, 阴茎组织中 cGMP 浓度降低, 最终导致勃起功能障碍。而 Imamura 等^[18]证明 DDAH 以及 NOS 等酶与 ED 的发病密切相关, 与本研究结果一致。因此本研究认为 DDAH2/ADMA/eNOS 通路的改变可能是老年性阴茎勃起功能障碍的发病机制之一。另外, 本研究还发现老年大鼠阴茎组织纤维化、细胞核结构的改变和细胞器的减少等衰老改变可能是 DDAH2/ADMA/eNOS 通路改变的器质性因素。

目前治疗勃起功能障碍的方法主要有口服磷酸二酯酶抑制剂、雄激素替代疗法等, 均有部分患者效果不理想^[19]。通过对 DDAH2/ADMA/eNOS 通路的研究, 对开发新的药物干预此通路, 可提供了一个治疗老年性 ED 的新途径。

参考文献

- 1 Simonsen U, Prieto D, Delgado JA, *et al.* Nitric oxide is involved in the inhibitory neurotransmission and endothelium - dependent relaxations of human small penile arteries [J]. Clin Sci: Lond, 1997, 92 (3): 269 - 275
- 2 Park K, Lee DG, Kim SW, *et al.* Dimethylarginine dimethylaminohydrolase in rat penile tissue: reduced enzyme activity is responsible for erectile dysfunction in a rat model of atherosclerosis [J]. Int J Impot Res, 2009, 21 (4): 228 - 234
- 3 Zhang H, Yip AW, Fan S, *et al.* Sexual dysfunction among Chinese married men aged 30 - 60 years: a population - based study in Hong Kong [J]. Urology, 2013, 81 (2): 334 - 339
- 4 Soni SD, Song W, West JL, *et al.* Nitric oxide - releasing polymeric microspheres improve diabetes - related erectile dysfunction [J]. J Sex Med, 2013, 10 (8): 1915 - 1925
- 5 Seyam RM, Huynh HT, Brock GB. Neuronal and endothelial nitric oxide synthase isoforms: quantification of protein and mRNA in the normal rat penis [J]. Int J Impot Res, 1999, 11 (6): 301 - 308
- 6 Seyam RM, Huynh HT, Brock GB. Neuronal and endothelial nitric oxide synthase isoforms: quantification of protein and mRNA in the normal rat penis [J]. Int J Impot Res, 1999, 11 (6): 301 - 308
- 7 Bivalacqua TJ, Liu T, Musicki B, *et al.* Endothelial nitric oxide syn-

- these keeps erection regulatory function balance in the penis[J]. *Eur Urol*, 2007, 51(6):1732-1740
- 8 Galiano M, Pignot G, Costa C, *et al.* Erectile dysfunction and cavernosal endothelial cells[J]. *Prog Urol*, 2010, 20(3):188-193
 - 9 Tran CT, Fox MF, Vallance P, *et al.* Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins[J]. *Genomics*, 2000, 68(1):101-105
 - 10 Scalera F, Borlak J, Beckmann B, *et al.* Endogenous nitric oxide synthesis inhibitor asymmetric dimethyl L-arginine accelerates endothelial cell senescence[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(10):1816-1822
 - 11 Jiang DJ, Jia SJ, Dai Z, *et al.* Asymmetric dimethylarginine induces apoptosis via p38 MAPK/caspase-3-dependent signaling pathway in endothelial cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 40(4):529-539
 - 12 Tomada N, Tomada I, Botelho F, *et al.* Endothelial function in patients with metabolic syndrome and erectile dysfunction: a question of Angiopoietin imbalance? [J]. *Andrology*, 2013, 1(4):541-548
 - 13 Wierzbicki AS, Solomon H, Lumb PJ, *et al.* Asymmetric dimethyl arginine levels correlate with cardiovascular risk factors in patients with erectile dysfunction[J]. *Atherosclerosis*, 2006, 185(2):421-425
 - 14 Ioakeimidis N, Vlachopoulos C, Rokkas K, *et al.* Relationship of asymmetric dimethylarginine with penile Doppler ultrasound parameters in men with vasculogenic erectile dysfunction[J]. *Eur Urol*, 2011, 59(6):948-955
 - 15 Leiper JM, Santa MJ, Chubb A, *et al.* Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases[J]. *Biochem J*, 1999, 343 Pt 1:209-214
 - 16 Wang D, Gill PS, Chabrashvili T, *et al.* Isoform-specific regulation by N(G), N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium-derived relaxing factor/NO[J]. *Circ Res*, 2007, 101(6):627-635
 - 17 Feng J, Luo H, Qiu Y, *et al.* Down-regulation of DDAH2 and eNOS induces endothelial dysfunction in sinoaortic-denervated rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 661(1-3):86-91
 - 18 Imamura M, Waseda Y, Marinova GV, *et al.* Alterations of NOS, arginase, and DDAH protein expression in rabbit cavernous tissue after administration of cigarette smoke extract[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293(5):R2081-2089
 - 19 Tsertsvadze A, Fink HA, Yazdi F, *et al.* Oral phosphodiesterase-5 inhibitors and hormonal treatments for erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Intern Med*, 2009, 151(9):650-661

(收稿日期:2014-03-20)

(修回日期:2014-03-29)

人巨细胞病毒即刻早期基因功能研究

马晓蒙 顾绍庆 李文静 韦 苇 赵 媛

摘 要 **目的** 探讨人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)在体外增殖过程中即刻早期(immediately early, IE)基因的作用。**方法** 设计并化学合成3条靶向IE基因外显子序列的siRNA,应用阳离子脂质体法将干扰序列转染入人胚肺成纤维(human embryonic lung fibroblast, HELF)细胞,用HCMV感染已转染入siRNA的细胞,同时设置正常对照组、阴性对照组、阳性对照组和转染试剂对照组。采用流式细胞术检测转染效果,荧光定量PCR和琼脂糖凝胶电泳方法检测分析导入的siRNA对IE基因和GAPDH阳性对照基因的抑制效果以及早期(E)基因和晚期(L)基因的表达情况。**结果** siRNA成功导入HELF细胞内,6孔板内5 μ l脂质体可导入的最佳siRNA量约为100pmol,阳性对照组GAPDH表达量较其他对照组有明显的下降($P < 0.05$),抑制率为70.8%;干扰组中3条siRNA对IE基因的表达均有抑制作用。IE基因表达下调后,E基因和L基因的表达较对照组也有明显下降($P < 0.05$)。**结论** 在体外,靶向IE基因的siRNA能有效抑制IE基因的表达从而影响E基因和L基因的表达,表明IE基因的有效表达是E基因和L基因表达的基础。

关键词 人巨细胞病毒 即刻早期基因 干扰RNA 基因表达

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Immediate-early Gene Function of Human Cytomegalovirus in Virus Replication. Ma Xiaomeng, Gu Shaoqing, Li Wenjing, *et al.* School of Clinical Medicine, Jiangsu University, Jiangsu 212001, China

基金项目:江苏省自然科学基金资助项目(BK 2008238)

作者单位:212001 镇江,江苏大学临床医学院(马晓蒙、李文静、韦苇、赵媛);212001 镇江市第一人民医院儿科(顾绍庆)

通讯作者:马晓蒙,电子信箱:380602753@qq.com;顾绍庆,电子信箱:gsqcc@sohu.com