

网络出版时间: 2012-5-4 9:14 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1086.R.20120504.0914.006.html>

◇论 著◇

siRNA 沉默 β -arrestin2 促进肝星状细胞凋亡

宋 杨 孙妩弋 胡姗姗 汪庆童 魏 伟

(安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药理学教育部重点实验室,
抗炎免疫药物安徽省工程技术研究中心, 安徽 合肥 230032)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2012.05.006

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2012)05-0612-05
中国图书分类号: R-332; R322.47; R329.25; R575.202.2

摘要: 目的 研究小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 干扰 β -arrestin2 表达对大鼠肝星状细胞株 (hepatic stellate cell T6, HSC-T6) 凋亡的影响。方法 将化学合成的 siRNA β -arrestin2 以 Lipofectamine 包裹 转染 HSC-T6 细胞, 设阴性对照和空白对照; 采用逆转录-聚合酶链反应和 Western blot 检测细胞 β -arrestin2 表达; 采用 Western blot 检测细胞 Bcl-2、Bax 的表达; 采用流式细胞仪检测细胞凋亡。结果 转染 siRNA 的 HSC-T6 细胞 β -arrestin2 基因及蛋白表达水平明显下调, β -arrestin2 mRNA 水平和蛋白表达水平比对照组分别下调了 $70\% \pm 1.76\%$ 和 $68.43\% \pm 2.88\%$ ($P < 0.01$); Bcl-2 蛋白被抑制了 $32.58\% \pm 3.46\%$ ($P < 0.01$), 而 Bax 表达增加 $38.00\% \pm 3.72\%$ ($P < 0.01$); 转染 β -arrestin2 siRNA 的 HSC-T6 细胞凋亡率为 37.5% , 明显高于正常 HSC 对照组。结论 siRNA β -arrestin2 能高效抑制 HSC-T6 细胞 β -arrestin2 表达明显减少 Bcl-2 的表达, 增加 Bax 的表达, 从而促进 HSC-T6 凋亡, 具有预防及治疗肝纤维化的潜力。

关键词: 肝星状细胞; 小分子干扰 RNA; β -arrestin2; 凋亡; Bcl-2; Bax; 肝纤维化

肝纤维化是诸多慢性肝病发展至肝硬化过程中所共有的病理变化, 是影响慢性肝病预后的重要环

收稿日期: 2011-12-23, 修回日期: 2012-02-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No 30973543; 81173075); 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (No 20113420120002); 安徽高校省级自然科学基金项目 (No KJ2012A153); 安徽省自然科学基金项目 (No 090413108); 安徽省高等学校省级优秀青年人才基金项目 (No 2010SQRL079)

作者简介: 宋 杨 (1988-), 女, 硕士生, 研究方向: 抗炎免疫药理学, E-mail: sy0012006@126.com;

孙妩弋 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 抗炎免疫药理学, E-mail: sunwyi51@hotmail.com, 对该文章有同等贡献;

魏 伟 (1960-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 抗炎免疫药理学, 通讯作者, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn

节。肝纤维化的主要病理特征是细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 在肝内的过量沉积^[1]。目前认为, 活化的肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 是肝纤维化 ECM 的主要来源细胞。HSC 在多种因素刺激后被激活转换为肌成纤维样细胞, 细胞大量增殖, 合成 ECM, 并在肝内过量沉积, 发生肝纤维化^[2]。促进活化的 HSC 凋亡是防治肝纤维化的重要途径, HSCs 的凋亡被认为是肝纤维化自我修复的中心环节。凋亡途径不但可以减少增生活化的 HSC 数量, 使 ECM 分泌减少, 而且凋亡的细胞可在数小时内被周围的细胞所吞噬, 很少引起微环境的炎症损伤, 是一种理想的清除增生 HSC 的方式^[3]。

β -arrestins 对绝大部分 G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor, GPCR) 介导的信号转导通路具有调节作用。越来越多的研究表明, β -arrestin 除了调节 GPCR 信号通路以外, β -arrestin 作为调节分子也在其他多种细胞内信号通路中发挥重要作用^[4-5]。有研究表明, β -arrestin2 在细胞增殖中起重要作用^[6-7], β -arrestin2 还有抗细胞凋亡的作用, 其能通过多种信号通路介导和调节细胞凋亡^[8-9]。然而, β -arrestin2 对肝纤维化 HSC 凋亡的影响尚未见相关报道。本课题组在肝纤维大鼠的肝组织中 β -arrestin2 表达明显增强的先前研究基础上 (另文发表), 采用脂质体转染技术, 将体外合成的靶向 β -arrestin2 的小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 导入肝星状细胞株 HSC-T6 中, 选择性沉默 β -arrestin2 基因, 观察其对 Bcl-2 和 Bax 表达和 HSC 凋亡的影响, 初步探讨 siRNA β -arrestin2 促 HSC 凋亡作用。

1 材料

1.1 细胞株 HSC-T6 细胞为永生化大鼠肝星状细胞株, 由上海肝病中医药研究所提供。

1.2 主要材料与试剂 Lipofectamine 2000 为 Invitrogen 公司产品; 抗 β -arrestin2 抗体: 购自 Santa cruz 公司; 抗 Bcl-2、Bax、 β -actin 抗体: 北京中杉金桥生物技术有限公司; 预染蛋白质分子量标准: MBI

Fermentas 公司; 辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG (H + L): 北京中杉金桥生物技术有限公司产品; 氟化聚偏乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 微孔转移膜: Millipore 公司; SuperSignal West Femto Kit (超敏感底物发光试剂盒): Pierce 公司, 4℃ 保存。所有 siRNA 均由上海吉玛制药技术有限公司合成。RT-PCR 引物由 Invitrogen (上海) 贸易有限公司合成; DMEM、FBS: Gibco 公司产品; 逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 试剂盒: Fermentas 公司产品; 凋亡试剂盒: 贝博生物公司。

1.3 仪器 Olympus IX-71 型光学显微镜 (日本); 流式细胞仪 (美国 Beckman 公司, FC500 型); Spot-Advanced 显微摄像系统 (美国); 电泳仪 (DYY-10, 北京六一仪器厂); Image-Pro plus 图像处理系统; PCR 仪 (美国 Biorad 公司, My Cycler)。

2 方法

2.1 HSC-T6 细胞培养和传代 HSC-T6 细胞采用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 置 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。当细胞生长达 80% 融合时, 用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。转染前 24 h 将处于对数生长期的 HSC-T6 细胞以 5×10^5 / 孔接种于 6 孔板中。

2.2 siRNA 瞬时转染 HSC-T6 细胞株

2.2.1 靶向 β -arrestin2 的 siRNA 设计与合成 根据 β -arrestin2 全基因序列设计 4 个 siRNA 序列如下: siRNA-1: 正义链 5'-AGCGUGACUUUGUGGAU-CATT-3', 反义链 5'-UGAUCCACAAAGUCACG-CUTT-3'; siRNA-2: 正义链 5'-GACCGGAAAGUGUU-UGUGATT-3', 反义链 5'-UCACAAACACUUCCG-GUCTT-3'; siRNA-3: 正义链 5'-GACCGACUGCUGA-AGAAGUTT-3', 反义链 5'-ACUUCUUCAGCAGUC-GGUCTT-3'; siRNA-4: 正义链 5'-UCGAGCCUUCU-GUGCCAAATT-3', 反义链 5'-UUUGGCACAGAAG-GCUCGATT-3'。

2.2.2 实验分组 实验共分 3 组: (1) 空白对照组, 以等体积的无牛血清无双抗 DMEM 培养液代替转染液, 作为转染前 β -arrestin2 水平; (2) 阴性对照组, 以转染 scrambled RNA 的细胞观察 β -arrestin2 表达的变化; (3) siRNA β -arrestin2 组 (R1、R2、R3、R4), 转染针对 β -arrestin2 的 siRNA, 特异性干扰目的基因 β -arrestin2 的表达。

2.2.3 转染 常规培养 HSC-T6 细胞至细胞密度达 80% 时, 用无牛血清无双抗培养液分别稀释 Lipofectamine 2000 和 siRNA 至所需浓度 (siRNA 终浓度为 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 分装, -20°C 保存), 室温静置 5

min。将稀释后的 siRNA 与 Lipofectamine 2000 小心混匀, 室温再静置 20 min, 使形成稳定的 siRNA-脂质体混合物。随后弃去培养液, 将上述混合物加入待转染细胞, 6 h 后更换为完全培养液继续培养。

2.3 RT-PCR 检测 β -arrestin2 mRNA 的表达 使用 TRizol 试剂提取细胞总 RNA, 并进行逆转录反应。PCR 引物为 β -arrestin2: 5'-CCACGTCACCAA-CAATTCTG (上游), 5'-TTGCTGTCTTCGTGCTTGAG-3' (下游); 内参 GAPDH 5'-TCAAGAAGGTGCT-GAAGCAG-3' (上游), 5'-AGGTGGAAGAATGG-GAGTTG-3' (下游)。PCR 条件: 94℃ 5 min; 94℃ 30 s; 58℃ 30 s; 72℃ 30 s; 72℃ 10 min; 4℃ 10 min (循环 30 次)。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

2.4 Western blot 检测 β -arrestin2、Bcl-2、Bax 蛋白的表达 收集细胞, 加蛋白裂解液抽提细胞蛋白。Lowry 法蛋白定量, 每泳道 20 μl 蛋白上样进行 SDS-PAGE, 在转移缓冲液中, 以 200 mA 的电流转移到 PVDF 膜上。后封闭 2 h, 再加入抗 β -arrestin2、Bcl-2、Bax 单抗, 4℃ 孵育过夜。洗涤后, 继以辣根过氧化物酶结合的二抗室温孵育 2 h, ECL 试剂盒显色。用 Image-Pro plus 图像处理系统分析计算蛋白印迹值。

2.5 细胞凋亡的检测 采用 Annexin V/PI 双染色法。消化收集各组细胞, PBS 重悬细胞。按照试剂盒说明进行操作, 流式细胞仪进行检测。图中右上象限为凋亡晚期或坏死细胞区, 左下象限为活细胞区, 右下象限为早期凋亡细胞区。测定 3 次, 计算各组细胞的平均凋亡率。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计学软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析比较各组间差异。

3 结果

3.1 siRNA β -arrestin2 对 β -arrestin2 基因表达的抑制作用 RT-PCR 结果经计算机灰度扫描并与内参照比较分析后显示, 在转染 siRNA3 后 HSC-T6 β -arrestin2 mRNA 较空白对照组和阴性对照组 mRNA 水平分别下降 $70\% \pm 1.76\%$ 和 $69\% \pm 1.93\%$, 而在转染 siRNA1、siRNA2 和 siRNA4 后 mRNA 下降不明显。提示 siRNA3 β -arrestin2 对 β -arrestin2 mRNA 表达有抑制作用。阴性对照组灰度与空白对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见 Fig 1。

3.2 siRNA β -arrestin2 对 HSC-T6 细胞 β -arrestin2 蛋白表达的抑制作用 Western blot 分析结果显示, HSC-T6 在转染 siRNA2 和 siRNA3 后 β -arrestin2 蛋白表达被抑制了 $29.00\% \pm 1.68\%$ 和 $68.43\% \pm 2.88\%$, 而阴性对照组及空白对照组细胞

的 β -arrestin2 蛋白表达无明显变化,与 β -arrestin2 mRNA 下降趋势基本相同(见 Fig 2)。

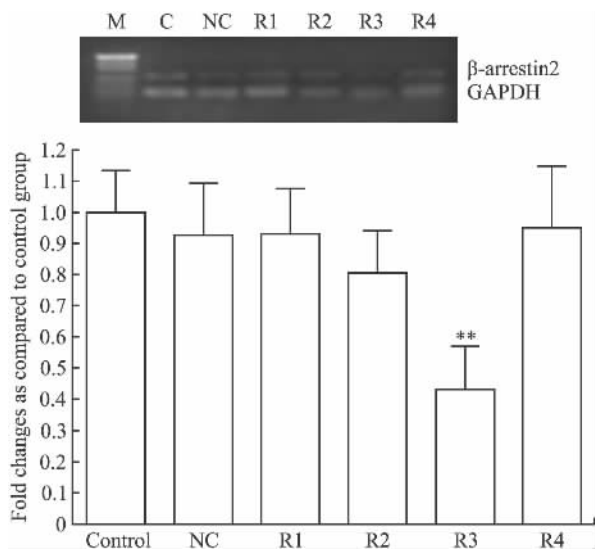


Fig 1 Transcriptional expression of the β -arrestin2 in the stable HSC-T6 cells transfected with β -arrestin2 siRNA

M: Marker; C: Blank control; NC: Negative control; R1: siRNA1; R2: siRNA2; R3: siRNA3; R4: siRNA 4; Each sample was tested in triplicate. Densitometry values in the histograms were expressed as -fold change relative to the blank control, which was assigned a value of 1. ** $P < 0.01$ vs blank control.

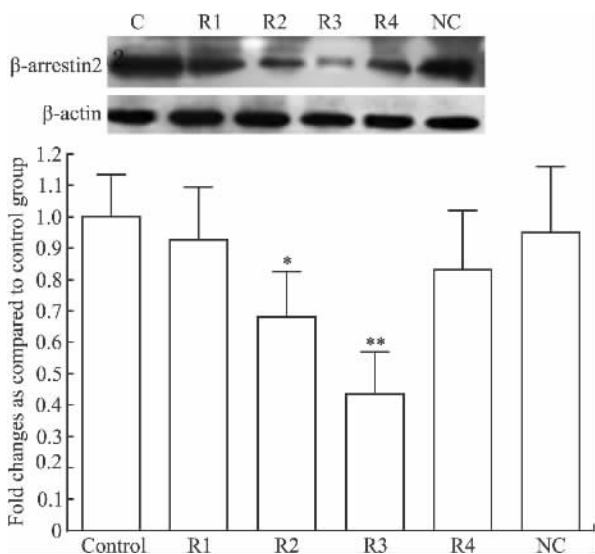


Fig 2 Protein level of the β -arrestin2 in the HSC-T6 cells transfected with β -arrestin2 siRNA

C: Blank control; NC: Negative control; R1: siRNA1; R2: siRNA2; R3: siRNA3; R4: siRNA 4; Each sample was tested in triplicate. Densitometry values in the histograms were expressed as -fold change relative to the blank control, which was assigned a value of 1. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs blank control.

3.3 siRNA β -arrestin2 对 HSC Bcl-2 和 Bax 表达的影响 Fig 3 结果表明,转染 siRNA3 的 HSC-T6 细

胞 β -arrestin2 Bcl-2 表达被抑制了 $32.58\% \pm 3.46\%$ ($P < 0.01$),Bax 的表达增加了 $38\% \pm 3.72\%$ ($P < 0.01$),而阴性对照组与空白对照组细胞比,Bcl-2 和 Bax 表达无变化。

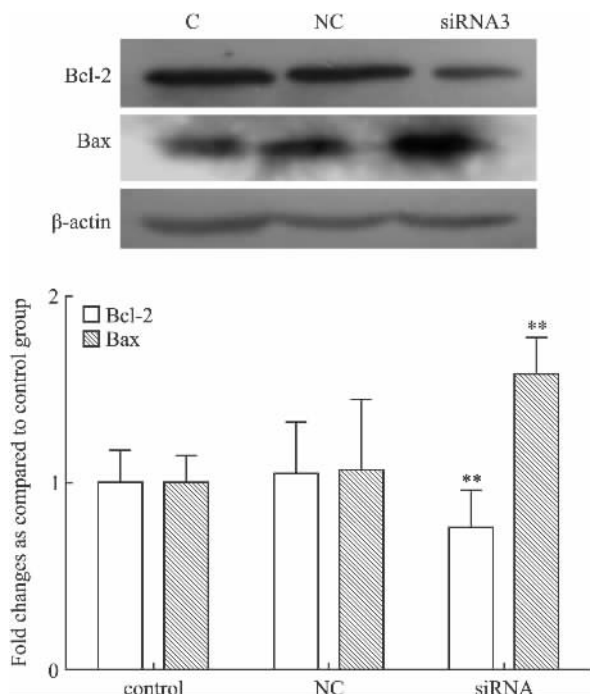


Fig 3 Effects of silencing HSCs β -arrestin2 gene on the expression of Bcl-2, Bax

C: Blank control; NC: Negative control; siRNA3: siRNA3 targeting β -arrestin2. Densitometry values in the histograms were expressed as -fold change relative to the blank control, which was assigned a value of 1. ** $P < 0.01$ vs blank control.

3.4 siRNA β -arrestin2 对 HSC-T6 细胞凋亡的影响 流式细胞术分析表明,正常组细胞的凋亡率为 3.5%,阴性对照细胞的凋亡率为 4.7%。与未转染组相比,转染 siRNA β -arrestin2 处理组细胞凋亡率明显增加达 37.5% (Fig 4)。

4 讨论

HSC 的激活及 ECM 的大量产生是肝纤维化的中心环节,因此,寻找促进 HSC 凋亡的途径是防治肝纤维化的重要策略。大多数研究表明^[10-11]活化的 HSC 主要通过凋亡途径消除,是纤维化消退的主要机制。Bcl-2 基因家族在调节细胞凋亡中发挥重要作用。Bcl-2 是重要的凋亡抑制基因,Bax 是 Bcl-2 基因家族中重要的凋亡促进基因,其基因产物 Bcl-2、Bax 是重要的凋亡调控蛋白。Bcl-2 和 Bax 互为负相关,Bcl-2/Bax 比例高低决定了细胞凋亡的方向即抑制凋亡或是促进凋亡^[12-13]。

Arrestins 是一种分子量为 48 ~ 55 ku 的可溶性

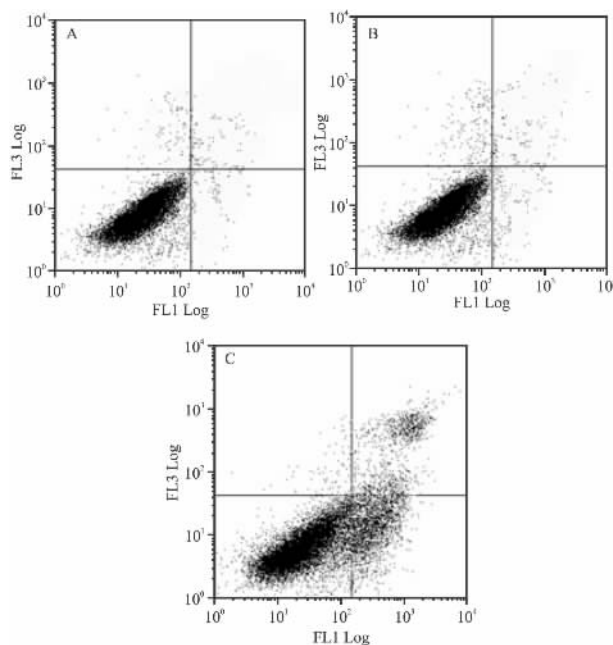


Fig 4 Effects of siRNA β -arrestin2 on the apoptosis of HSC-T6

A: blank control; B: negative control; C: HSC transfected with siRNA β -arrestin2

蛋白。在脊椎动物中, Arrestins 家族包括两种仅表达在视网膜杆状和锥状体感光细胞的 Arrestin 1、Arrestin 4 和广泛表达于各组织的 β -arrestins, 包括 β -arrestin1 和 β -arrestin2(也称作 Arrestin 2 和 Arrestin 3)。 β -arrestins 为多功能蛋白, 不仅能引起 GPCRs 的脱敏和内吞以调节 GPCRs 信号转导, 还可以调节其他一些非 GPCRs 跨膜受体的信号转导途径调节细胞的增殖、凋亡等多种功能活动^[14-16]。本课题组先前研究了 β -arrestins 在大鼠肝纤维化发展过程中的变化, 结果发现随着肝纤维化的发展, β -arrestin2 表达明显增加, 而 β -arrestin1 表达无明显变化。结果提示 β -arrestin2 在肝纤维化的发生发展中起着重要的作用。

β -arrestin2 不仅参与调节 GPCRs 信号转导, 而且作为支架蛋白调节许多信号通路发挥其抗凋亡的作用^[17-18]。有研究表明在非活化和活化的 CD4⁺T 细胞中 β -arrestins 促进 Bcl-2 的表达^[19]。另有研究表明^[20] 在 DEN 诱发的小鼠肝癌模型中, 肝脏 β -arrestin2 表达明显增加, 其可能通过增加 Bcl-xL 和减少 Bax 的表达, 抑制 p53 导致抗凋亡作用。p53 的激活的下游信号通路涉及许多细胞凋亡相关蛋白, 有 Bcl-xL(抗凋亡, Bcl-2 的家庭成员), Bax(促凋亡), p53 的凋亡调节作用是通过上调 Bax 和下调 Bcl-2 或 Bcl-xL 等实现的, 通过他们的相互作用调节着细胞线粒体的通透性, 从而影响着下游的促凋

亡基因的功能^[21-22]。 β -arrestin2 可能通过调节 MDM2 蛋白的亚细胞定位, β -arrestin2 的低聚物可以调节 p53 的功能^[23], 因此 β -arrestin2 可能通过影响 p53 的功能, 继而影响细胞增殖和凋亡等功能。

本实验结果显示, 在 siRNA β -arrestin2 转染 HSC 后, 细胞内 Bcl-2 基因蛋白表达下调, 而 Bax 基因表达上调, 表明 β -arrestin2 干扰具有影响两种凋亡因子介导细胞凋亡信号通路的作用。通过流式细胞仪检测 AnnexinV/PI 双染细胞凋亡, 显示转染 siRNA β -arrestin2 的 HSC-T6 细胞凋亡率明显上升。以上研究结果提示 β -arrestin2 干扰能通过改变活化 HSC 的信号转导通路促进肝细胞凋亡。因此, siRNA 介导的 β -arrestin2 沉默可能对肝纤维化具有潜在治疗前景。

参考文献:

- [1] Wirkowska A, Paczek L. Liver fibrosis and cirrhosis—chosen cytokines, growth factors and proteins. Part II[J]. *Przegl Lek*, 2011, 68(4): 228–30.
- [2] 孙妮戎, 魏伟. 肝星状细胞信号转导机制及可能的抗肝纤维化药物作用新靶点[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(12): 1433–8.
- [2] Sun W Y, Wei W. Signal transduction in hepatic stellate cells and possible drug targets[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 22(12): 1433–8.
- [3] Qu Z, Lou D, Pan Y. The role of IkappaBalpha in TNF-alpha-induced apoptosis in hepatic stellate cell line HSC-T6[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2007, 27(4): 407–10.
- [4] Natarajan K, Berk B C. Crosstalk coregulation mechanisms of G protein-coupled receptors and receptor tyrosine kinases[J]. *Methods Mol Biol*, 2006, 332: 51–77.
- [5] Kovacs J J, Hara M R, Davenport C L, et al. Arrestin development: emerging roles for beta-arrestins in developmental signaling pathways[J]. *Dev Cell*, 2009, 17(4): 443–58.
- [6] Li T T, Alemayehu M, Aziziyeh A I, et al. Beta-arrestin/Ral signaling regulates lysophosphatidic acid-mediated migration and invasion of human breast tumor cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(7): 1064–77.
- [7] McLennan G P, Kiss A, Miyatake M, et al. Kappa opioids promote the proliferation of astrocytes via Gbetagamma and beta-arrestin 2-dependent MAPK-mediated pathways[J]. *J Neurochem*, 2008, 107(6): 1753–65.
- [8] Sun X, Zhang Y, Wang J, et al. Beta-arrestin 2 modulates resveratrol-induced apoptosis and regulation of Akt/GSK3ss pathways[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(9): 912–8.
- [9] Wagener B M, Marjon N A, Revankar C M, et al. Adaptor protein-2 interaction with arrestin regulates GPCR recycling and apoptosis[J]. *Traffic*, 2009, 10(9): 1286–300.
- [10] Yu F S, Yang J S, Yu C S, et al. Safrole induces apoptosis in hu-

- man oral cancer HSC-3 cells[J]. *J Dent Res*, 2011, **90**(2): 168-74.
- [11] Saile B, DiRocco P, Dudas J, et al. IGF-I induces DNA synthesis and apoptosis in rat liver hepatic stellate cells (HSC) but DNA synthesis and proliferation in rat liver myofibroblasts (rMF) [J]. *Lab Invest*, 2004, **84**(8): 1037-49.
- [12] Spampinato C, De Maria S, Sarnataro M, et al. Simvastatin inhibits cancer cell growth by inducing apoptosis correlated to activation of Bax and down-regulation of BCL-2 gene expression[J]. *Int J Oncol*, 2012, **40**(4): 935-41.
- [13] Li X, Ye H, Cai L, et al. Millimeter wave radiation induces apoptosis via affecting the ratio of Bax/Bcl-2 in SW1353 human chondrosarcoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2012, **27**(3): 664-72.
- [14] Wagener B M, Marjon N A, Revankar C M, et al. Adaptor protein-2 interaction with arrestin regulates GPCR recycling and apoptosis[J]. *Traffic*, 2009, **10**(9): 1286-300.
- [15] Kocan M, Pflieger K D. Detection of GPCR/beta-arrestin interactions in live cells using bioluminescence resonance energy transfer technology[J]. *Methods Mol Biol*, 2009, **552**: 305-17.
- [16] Miyatake M, Rubinstein T J, McLennan G P, et al. Inhibition of EGF-induced ERK/MAP kinase-mediated astrocyte proliferation by mu opioids: integration of G protein and beta-arrestin 2-dependent pathways[J]. *J Neurochem*, 2009, **110**(2): 662-74.
- [17] Ma L, Pei G. Beta-arrestin signaling and regulation of transcription [J]. *J Cell Sci*, 2007, **120**(Pt 2): 213-8.
- [18] Sun X, Zhang Y, Wang J, et al. Beta-arrestin 2 modulates resveratrol-induced apoptosis and regulation of Akt/GSK3 β pathways [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, **1800**(9): 912-8.
- [19] Shi Y, Feng Y, Kang J, et al. Critical regulation of CD4⁺ T cell survival and autoimmunity by beta-arrestin 1 [J]. *Nat Immunol*, 2007, **8**(8): 817-24.
- [20] Khan M S, Devaraj H, Devaraj N. Chrysin abrogates early hepatocarcinogenesis and induces apoptosis in N-nitrosodiethylamine-induced preneoplastic nodules in rats [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, **251**(1): 85-94.
- [21] Cai Q, Guo Y, Xiao B, et al. Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 3C Stabilizes Gemin3 to Block p53-mediated Apoptosis [J]. *PLoS Pathog*, 2011, **7**(12): e1002418.
- [22] Boulaiz H, Alvarez P J, Prados J, et al. gef Gene Expression in MCF-7 Breast Cancer Cells is Associated with a Better Prognosis and Induction of Apoptosis by p53-Mediated Signaling Pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, **12**(11): 7445-58.
- [23] Boularan C, Scott M G, Bourougaa K, et al. beta-arrestin 2 oligomerization controls the Mdm2-dependent inhibition of p53 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(46): 18061-6.

Small interfering RNA targeting β -arrestin2 promoted apoptosis of hepatic stellate cells

SONG Yang, SUN Wu-yi, HU Shan-shan, WANG Qing-tong, WEI Wei

(Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immunopharmacology, Ministry of Education, Anhui Engineering Technology Research Center of Anti-inflammatory and Immunodrugs, Hefei 230032, China)

Abstract: Aim To investigate the effect of synthetic small interfering RNA (siRNA) targeting β -arrestin2 on the apoptosis of hepatic stellate cells (HSC) *in vitro*. **Methods** Synthetic siRNA targeting β -arrestin2 was transfected into HSC-T6 cells by lipofectamine package. Negative siRNA transfection and no transfection were used as negative and blank control, respectively. After incubation with siRNA, total RNA and protein of HSC-T6 cells were extracted. The expression of β -arrestin2 gene and protein was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blotting. HSC-T6 apoptosis was measured by flow cytometry. The expression of Bcl-2 and Bax were determined by Western blot. **Results** After HSC-T6 cells were transfected with β -arrestin2 siRNA, the lev-

el of β -arrestin2 mRNA and protein expression was decreased by 70% \pm 1.76% ($P < 0.01$) and 68.43% \pm 2.88% ($P < 0.01$) as compared with the control group. Bcl-2 expression was also inhibited by 32.58% \pm 3.46% ($P < 0.01$), while Bax expression was increased by 38.00% \pm 3.72% ($P < 0.01$). The apoptosis rate of HSC-T6 transfected with β -arrestin2 siRNA was 37.5%, which was significantly higher than control. **Conclusion** Inhibition of β -arrestin2 by siRNA may have a potential effect on prevention and treatment of hepatic fibrosis by promoting apoptosis of HSC.

Key words: hepatic stellate cells; small interfering RNA; β -arrestin2; apoptosis; Bcl-2; Bax; hepatic fibrosis