

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.02.010

· 基础研究 ·

HER-2 RNA 干扰对乳腺癌细胞及其种植肿瘤化疗敏感性的影响

胡孝渠, 叶志强, 郭贵龙, 尤捷(温州医学院附属第一医院肿瘤外科, 浙江温州 325000)

[摘要] 目的: 观察 RNA 干扰(RNAi)下调 HER-2 受体后乳腺癌细胞及其移植肿瘤对化疗药物表柔比星(epirubicin, EPI)敏感性的变化。方法: 构建能够表达 HER-2 siRNA 的质粒载体 HER-2shRNApU6, 转染 HER-2 阳性的乳腺癌细胞 SKBR-3, RT-PCR 与 Western blotting 检测 SKBR-3 细胞 HER-2 mRNA 与蛋白的表达。受转染细胞与不同浓度的化疗药物表柔比星共培养, MTT 法检测细胞增殖活性及药物 IC₅₀; 构建裸鼠乳腺癌模型, 观察经 HER-2shRNApU6 治疗后, 肿瘤对化疗的敏感性。结果: SKBR-3 细胞转染 HER-2shRNApU6 后, HER-2 mRNA 及蛋白表达出现明显下调, 细胞增殖活性出现明显下降($P < 0.05$), 治疗组肿瘤细胞对表柔比星的化疗敏感性 IC₅₀ 为 0.25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 而阴性对照及空白对照分别为 3.46 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 和 3.69 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。裸鼠移植肿瘤模型中, 治疗组肿瘤重量明显低于空白对照和阴性对照[(2.17 \pm 0.58) vs (3.13 \pm 0.38), (3.21 \pm 0.89) g]。结论: HER-2 的 RNA 干扰显著抑制乳腺癌 SKBR-3 细胞 mRNA 和蛋白表达, 从而明显提高肿瘤细胞及其种植瘤对表柔比星的敏感性。

[关键词] 乳腺肿瘤; RNA 干扰; 表柔比星; 化疗敏感性

[中图分类号] R733.9; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)02-0151-05

HER-2 RNA interference improves sensitivity of breast cancer cells to chemotherapy *in vitro* and *in vivo*

HU Xiao-qu*, YE Zhi-qiang, GUO Gui-long, YOU Jie (Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the sensitivities of breast cancer cells and its implanted tumors to chemotherapeutic drug epirubicin after down-regulation of HER-2 expression by RNA interference (RNAi). **Methods:** HER-2siRNApU6 vector containing HER-2 RNAi was constructed and was used to transfect HER-2 positive breast cancer cell line SKBR-3. The expression of HER-2 mRNA and protein were analyzed by RT-PCR and Western blotting, respectively. Transfected SKBR-3 cells were treated with different concentrations of epirubicin; the growth of SKBR-3 cells and IC₅₀ of epirubicin were observed by MTT. SKBR-3 cells were injected into nude mouse to establish breast cancer model; the sensitivity of mouse model to epirubicin was observed after HER-2shRNApU6 treatment. **Results:** Expression of HER-2 mRNA and HER-2 protein were down-regulated in SKBR-3 cells after transfection with HER-2shRNApU6. Furthermore, the proliferation of SKBR-3 cells transfected with HER-2shRNApU6 was significantly decreased compared with mock transfected group ($P < 0.05$). Chemo-sensitivity of SKBR-3 cells to epirubicin was enhanced after treatment with HER-2shRNApU6, with the IC₅₀ values of HER-2shRNApU6, mock, and negative transfected group being 0.25, 3.46 and 3.69 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, respectively. The tumor weight was significantly lower in HER-2shRNApU6 group than those in the mock and negative control group [(2.17 \pm 0.58) vs (3.13 \pm 0.38), (3.21 \pm 0.89) g]. **Conclusion:** HER-2 RNAi obviously inhibits the expression of HER-2 mRNA and HER-2 protein in SKBR-3 breast cancer cells, thus increases their sensitivities to epirubicin *in vitro* and *in vivo*.

[Key words] breast neoplasms; RNA interference; chemo-sensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(2): 151-155]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30801118); 浙江省自然科学基金资助项目(No. Y207301)。Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 30801118) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province(No. Y207301)

[作者简介] 胡孝渠(1976-), 男, 浙江省温州市人, 博士, 讲师, 主要从事乳腺癌临床与基础研究

* 通讯作者(Corresponding author). E-mail: drhxj@163.com

乳腺癌(mammary carcinoma)是人类最常见的一种恶性肿瘤,也是危害妇女健康的主要恶性肿瘤之一。HER-2是具有跨膜酪氨酸激酶活性的生长因子受体,是人类表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)家族中的成员之一,25%~30%的乳腺癌组织高表达HER-2^[1-2]。临床上HER-2阳性的病例往往发展快、预后较差、容易转移复发^[3],其中一个最主要的原因就是对系统治疗尤其是化疗药物的耐药。RNA干扰(RNAi)是机体基因表达的一种调控方式,通过小干扰RNA(siRNAs)特异性地结合并降解一个或多个目的mRNA而起到抑制基因表达的作用。近年来, RNAi已经成为一种有效的基因阻断工具,被广泛地应用于基因功能、肿瘤基因治疗的研究^[4-5]。研究^[6-7]表明, siRNA可以沉默在恶性肿瘤发生、发展中出现扩增的基因,达到抑制肿瘤发生、发展的目的。本研究利用HER-2 RNA干扰下调乳腺癌细胞株SKBR-3及其移植瘤组织中HER-2表达,观察肿瘤对化疗药物表柔比星(epirubicin, EPI)化疗敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

质粒载体psilencer1.0-U6购自Ambion公司,HER-2阳性乳腺癌细胞株SKBR-3购自中科院上海细胞库。脂质体转染试剂Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司。4~6周龄雌性BALB/c(neu)裸鼠购自中山大学动物实验中心,合格证号:SYXK(粤)2007-0081。化疗药物表柔比星购自辉瑞公司。

1.2 siRNA表达质粒载体的构建

采用含有Pol III U6启动子的质粒载体psilencer1.0-U6。设计插入的针对HER-2 mRNA序列的双链DNA序列为:HER-2 shRNA(624~642 nt),正义链5'-TCACAGGGGCCTCCCCAGGTTCAAGAGACCTGGGGAGGCCCTGTGACATTTTTT-3',反义链5'-AATTAATAAAATGTCACAGGGGCCTCCCCAGGTC TC TTGAACCTGGGGAGGCCCTGTGAGGCC-3';对照组采用可以产生GFPsiRNA的序列,GFPshRNA(1483~1501 nt)正义链5'-GACGTAAACGGCCACAAGTTTCAAGAGAAGTTGTGCGCGTTTACGTCGCTTTTTT-3',反义链5'-AATTAATAAAAGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCTCTTGAAACTTGTGCGCGTTTACGTCGCGCC-3'。质粒构建按公司说明书进行。

1.3 细胞培养及转染

HER-2高表达细胞株SKBR-3应用高糖DMEM培养液(添加10%胎牛血清),置于含5% CO₂、

37℃的细胞培养箱中培养。待细胞生长至约占瓶壁80%面积时开始进行转染实验。载体转染采用脂质体转染试剂Lipofectamine 2000,转染操作按照试剂说明书进行,分别转染能够表达HER-2 siRNA(HER-2shRNApU6)、GFP siRNA(GFPshRNApU6)的质粒及空白载体,转染后4 h换成完全培养液。

1.4 RT-PCR分析转染后细胞HER-2 mRNA的表达

转染后72 h,采用Trizol RNA提取试剂提取细胞总RNA,计算浓度及纯度。利用Fermentas公司第一链合成试剂盒合成HER-2 cDNA。HER-2上游引物5'-CTC GTTGAAGAGGAGCAGC-3',下游引物5'-CTGAATGGGTCGCTTTTGT-3',扩增片段理论长度为200 bp;对照β-actin上游引物5'-CCTCGCCTTTGCCGA TCC-3',下游引物5'-GGATCTTCAT GAGGT AGTCA GTC-3',扩增片段理论长度为620 bp。反应体系:10×RNA PCR buffer 2.5 μl, dNTPmix 5 mmol/L, cDNA 2 μl 上下游引物(20 μmol/L) 0.5 μl, Taq DNA聚合酶0.5 μl, 灭菌蒸馏水18 μl。反应条件在94℃预变性5 min后加入Taq DNA聚合酶,94℃变性30 s,58℃退火30 s,72℃延伸30 s,共进行30个循环,最后72℃延伸7 min。产物凝胶电泳,Polaroid凝胶成像系统摄像及分析。

1.5 Western blotting检测细胞转染后HER-2蛋白的表达

转染后72 h,将各处理组细胞裂解提取各组总蛋白。Bradford法蛋白质样品定量。取50 μg样品蛋白进行SDS-PAGE,水浴电转移后与小鼠抗人HER-2/neu单克隆抗体和β-actin单克隆抗体进行孵育,完成二抗孵育后利用ECL化学发光试剂盒曝光,图像分析。

1.6 MTT法检测HER-2 siRNA干扰对肿瘤细胞生长的影响

每孔1×10⁴个细胞接种于96孔培养板(每一处理组设8个复孔),培养24 h。以空白载体pU6转染组为空白对照。细胞转染72 h之后,每孔加入20 μl MTT溶液(5 g/L),继续培养4 h。弃去培养液,每孔加入150 μl的DMSO,振荡10 min。测定D₅₉₅光密度值,测定细胞活性。

1.7 检测HER-2 siRNA干扰后肿瘤细胞对表柔比星的化疗敏感性变化

细胞转染72 h之后,处理组及对照/空白组分别设置8个浓度表柔比星处理,质量浓度分别为0、0.1、0.5、1.4、8、12、16 μg/μl,置于培养箱中继续培养24 h。弃去培养液,每孔加入150 μl的DMSO,置

于振荡仪上室温振荡 10 min。测定 D_{595} 值。计算表柔比星对 SKBR-3 细胞的半数抑制浓度。

1.8 HER-2 阳性乳腺癌动物模型的建立

4~6 周龄雌性 BALB/c (neu) 裸鼠适应性喂养 1 周后,右侧胸部皮下注射对数生长期的 SKBR-3 细胞 1×10^7 个,成瘤时间一般为 7~10 d;肿瘤生长至 $1.5 \text{ cm} \times 1.5 \text{ cm} \times 1.5 \text{ cm}$ 时,取肿瘤组织切成 1 mm^3 组织块,利用 16 号带针芯的套管针,将之送入到 24 只裸鼠的右侧第二对乳房垫下进行种植,1~2 周后成瘤,大小比较均匀。

1.9 乳腺癌动物模型的治疗实验

24 只模型鼠分为 3 组,分别为空白对照组(表柔比星 + pU6),阴性对照组(表柔比星 + GFPshRNApU6),治疗组(表柔比星 + HER-2shRNApU6)。采用瘤内注射载体,1 次/3 d,载体与脂质体比为 $1 \mu\text{g}: 2.5 \mu\text{l}$,每次注射 100~400 μl (根据肿瘤大小);表柔比星采用尾静脉注射,10 mg/kg。每周测量裸鼠肿瘤大小及生存状态。

1.10 统计学处理

各项统计分析采用 spss11.0 软件,采用的方法主要有 t 检验及单因素方差分析。

2 结果

2.1 HER-2shRNA pU6 转染对 SKBR-3 细胞 HER-2 mRNA 及蛋白表达水平的影响

半定量 RT-PCR 分析显示,在琼脂糖凝胶上可观察到相应的特异性条带出现,HER-2 引物扩增片段为 200 bp, β -actin 引物扩增片段为 620 bp。凝胶成像的图像分析显示,HER-2shRNA pU6 转染细胞后,HER-2 mRNA 及蛋白的表达分别下降约 60% 与 55%;GFPshRNA pU6 转染细胞和对照组细胞无明显变化(图 1、2)。

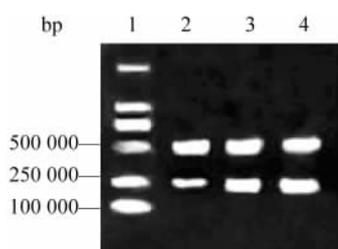


图 1 RT-PCR 检测乳腺癌细胞株 SKBR-3 转染 HER-2shRNApU6 后 HER-2 mRNA 表达的变化
Fig. 1 HER-2 mRNA expression in breast cancer cell line SKBR-3 after transfected with HER-2 shRNApU6 as detected by RT-PCR

1: Marker; 2: HER-2 shRNApU6;
3: GFP shRNApU6; 4: pU6

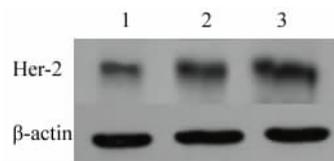


图 2 Western blotting 检测 SKBR-3 细胞转染 HER-2shRNApU6 后 HER-2 蛋白表达的变化
Fig. 2 HER-2 protein expression in breast cancer cell line SKBR-3 after transfected with HER-2shRNApU6 as detected by Western blotting

1: HER-2 shRNApU6; 2: GFP shRNApU6; 3: pU6

2.2 HER-2 RNA 干扰对乳腺癌细胞增殖的影响

HER-2shRNA pU6 转染抑制 HER-2 基因表达后,对乳腺癌 SKBR-3 细胞生长活力的单因素方差分析表明,相对空白组(GFPshRNApU6 转染)的活细胞百分数为 $(0.95 \pm 0.04)\%$,而干预组活细胞百分数为 $(0.70 \pm 0.08)\%$,干预组细胞增殖受到明显抑制($P < 0.05$,图 3)。

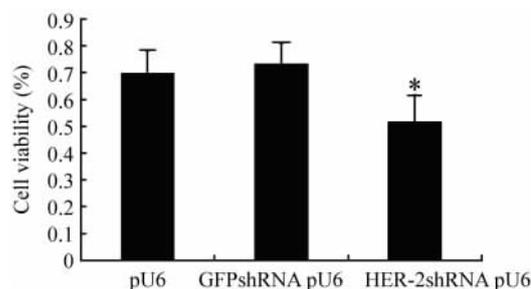


图 3 MTT 法检测 HER-2 RNA 干扰对 SKBR-3 细胞增殖的影响

Fig. 3 HER-2 RNAi reduced viability of SKBR-3 cells as detected by MTT

* $P < 0.05$ vs GFP shRNApU6 group or pU6 group

2.3 HER-2 RNA 干扰后乳腺癌细胞对表柔比星敏感性的变化

HER-2shRNA pU6 转染乳腺癌细胞抑制 HER-2 基因表达后,对表柔比星化疗敏感性指标 IC_{50} (半数抑制浓度)为 $0.25 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (95% CI 为 $0.1044 \sim 0.5962 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), GFPshRNA pU6 转染组及空白对照组的 IC_{50} 分别为 $3.46 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (95% CI $2.417 \sim 4.949 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)与 $3.69 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (95% CI $1.704 \sim 7.995 \mu\text{g}/\mu\text{l}$),对照组及空白组的 IC_{50} 为 HER-2shRNA pU6 转染组的 10 多倍,即 HER-2 抑制后,化疗敏感性提高了 10 多倍(图 4)。

2.4 HER-2 RNA 干扰致裸鼠肿瘤模型对表柔比星

敏感性的变化

经过 10 周的肿瘤局部载体注射及尾静脉表柔比星注射后,断颈处死裸鼠,解剖肿瘤,计量。最后的肿瘤重量,HER-2shRNApU6 加表柔比星治疗组为 (2.17 ± 0.58) g,其他两组分别为 (3.13 ± 0.67) g 与 (3.21 ± 0.89) g,HER-2shRNApU6 加表柔比星化疗组相较空白组及阴性对照组明显地抑制肿瘤的生长(图 5, P < 0.05),也即 HER-2 RNA 干扰后模型肿瘤对表柔比星的敏感性有了明显的提高。

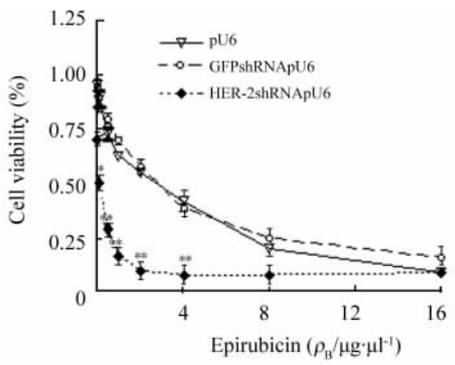


图 4 HER-2 RNA 干扰后 SKBR-3 细胞对表柔比星敏感性的变化

Fig. 4 Relationship between viability of SKBR-3 cells and different concentrations of epirubicin after transfected with HER-2 shRNApU6

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs pU6-GFP or HER-2shRNApU6

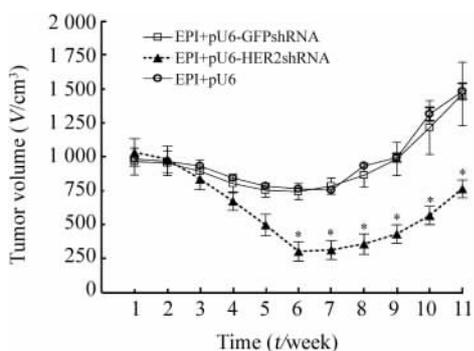


图 5 HER-2 RNA 干扰后模型裸鼠肿瘤对多柔比星敏感性的变化

Fig. 5 Tumor sizes in mice treated with different concentrations of epirubicin after transfected with HER-2 shRNApU6

* P > 0.05 vs EPI + pU6-GFP shRNA or EPI + pU6

3 讨论

乳腺癌患者中约有 25% ~ 30% 的癌组织高表达表皮细胞生长因子受体 HER-2^[1-2],往往提示预后较差,这主要跟 HER-2 的生物学特性有关。HER-2 高表达可以导致乳腺细胞恶性转化,可以通过激活

细胞信号途径导致增殖增加,凋亡下降,促进肿瘤血管生成,促进肿瘤转移,导致细胞对化疗耐药等作用^[8]。因此如何对 HER-2 阳性的乳腺癌病人进行有效的治疗一直是研究的热点。

化疗是乳腺癌术后最常用的辅助治疗措施,HER-2 阳性的乳腺癌对临床最常用的蒽环类化疗药物表柔比星是否敏感存在争议。很多大型临床研究^[9]认为,应用含蒽环类化疗药物治疗 HER-2 阳性乳腺癌要比不含蒽环类药物效果要好;而另外的研究却持相反的观点,认为乳腺癌 HER-2 的表达状态不能对蒽环类药物的敏感性起提示作用^[10]。

本研究结果显示,HER-2 RNA 干扰后,与表柔比星产生了明显的协同作用,增强了肿瘤细胞对表柔比星的化疗敏感性。虽然其中的机制尚不明确,Knuefermann 等^[11]的研究提示,PI-3K/Akt 途径的激活可能是主要的原因。研究发现 MCF-7 乳腺癌细胞导入 HER-2 后,PI-3K 依赖的 Akt 激活,而后者同细胞耐药性有关,当选择性抑制 PI-3K 或者 Akt 后,细胞对化疗的敏感性明显增加。蒽环类药物表柔比星作为乳腺癌最常用的化疗药物之一,最主要的毒性作用为心脏毒性,心脏毒性同药物的累积剂量有关。HER-2 RNA 干扰增加该药的敏感性意味着可以降低用药剂量,从而减低药物的累积剂量,减轻了药物的心脏毒性。

虽然单克隆抗体 Herceptin 针对 HER-2 的治疗也能够增加乳腺癌细胞对蒽环类药物的敏感性^[12-13],但蒽环类联合应用单克隆抗体能够增加对心脏的毒性^[14],这主要同人源化抗体本身的特性有关;而 RNA 干扰却无此类毒性作用。本研究及先前的 siRNA^[15]及载体介导的 RNA^[16]干扰体内研究均未出现心脏毒性,因此,利用 HER-2 RNA 干扰联合蒽环类药物治疗 HER-2 阳性的乳腺癌是可行的。

在本研究中,在肿瘤细胞中导入 RNA 干扰机制主要是采取肿瘤局部注射的方式,然而,乳腺癌是一种全身性的疾病,在早期乳腺癌中就可能存在全身其他地方微小转移灶,进而可能发展到影响生命的转移性病灶。采用局部注射方式不可能解决全身性的问题,因此如何将 RNA 干扰机制选择性地导入到全身 HER-2 高表达的癌灶中是关键。Song 等^[17]的研究为解决靶向性导入 RNAi 提供了很好的思路,该研究利用单链抗体融合蛋白携带 siRNA,与癌细胞表面表达的相应受体结合,通过细胞内吞作用将 siRNA 导入癌细胞内,完成了特异性的 RNA 干扰机制的细胞内导入。另一方面,先前有研究表明,HER-2 的单链抗体融合蛋白可以将质粒载体成功

地导入 HER-2 阳性的乳腺癌中而阴性则无^[18]。这些结果提示利用单链融合蛋白技术有可能将 HER-2 的 RNA 干扰选择性地导入 HER-2 阳性乳腺癌细胞中,解决 RNA 干扰在体内导入的难题^[19]。

总之,本研究表明 RNA 干扰具有强大的基因抑制功能,是潜在的乳腺癌基因治疗手段;HER-2 下调能够抑制 HER-2 阳性乳腺癌生长,与化疗药物对表柔比星联合应用具有协同效应,增加乳腺癌细胞对表柔比星化疗的敏感性。但能否将 HER-2 RNA 干扰应用于临床,关键是如何特异性地将 RNAi 机制导入到 HER-2 阳性细胞内,该问题有待进一步研究解决。

[参 考 文 献]

- [1] Hynes NE, Stern DF. The biology of erbB-2/neu/HER-2 and its role in cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1198(2-3): 165-184.
- [2] Dean-Colomb W, Esteva FJ. HER-2-positive breast cancer: herceptin and beyond[J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(18): 2806-2812.
- [3] Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy[J]. *Oncologist*, 1998, 3(4): 237-252.
- [4] Ohrt T, Schwille P. siRNA modifications and sub-cellular localization: a question of intracellular transport[J]? *Curr Pharm Des*, 2008, 14(34): 3674-3685.
- [5] 张立智,蔡宣松,钱志康,等. VEGF 特异 siRNA 对骨肉瘤细胞凋亡和仿血管发生的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2007, 14(4): 352-356.
- [6] Shen Y. Advances in the development of siRNA-based therapeutics for cancer[J]. *IDrugs*, 2008, 11(8): 572-578.
- [7] 贾如江,侯丽艳,刘奇,等. siRNA 对人结肠癌细胞黏附力和侵袭性的抑制作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15(6): 561-565.
- [8] Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER-2[J]. *Ann Oncol*, 2001, 12(Suppl 1): S3-S8.
- [9] Pritchard KI, Messersmith H, Elavathil L, et al. HER-2 and topoisomerase II as predictors of response to chemotherapy[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(5): 736-744.
- [10] Konecny G, Fritz M, Untch M, et al. HER-2/neu overexpression and in vitro chemosensitivity to CMF and FEC in primary breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2001, 69(1): 53-63.
- [11] Knuefermann C, Lu Y, Liu B, et al. HER-2/PI-3K/Akt activation leads to a multidrug resistance in human breast adenocarcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2003, 22(21): 3205-3212.
- [12] Baselga J, Norton L, Albanell J, et al. Recombinant humanized anti-HER-2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER-2/neu overexpressing human breast cancer xenografts[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(13): 2825-2831.
- [13] 李志革,宋向群,于超涛,等. Herceptin 联合化疗对 HER-2 过度表达的转移性乳腺癌治疗的初步观察[J]. *肿瘤防治研究*, 2006, 33(9): 673-674.
- [14] Perez EA. Cardiac toxicity of ErbB2-targeted therapies: what do we know[J]? *Clin Breast Cancer*, 2008, 8(Suppl 3): S114-S120.
- [15] Glover DJ, Lipps HJ, Jans DA, et al. Towards safe, non-viral therapeutic gene expression in humans[J]. *Nat Rev Genet*, 2005, 6(4): 299-310.
- [16] Urban-Klein B, Werth S, Abuharheid S, et al. RNAi-mediated gene-targeting through systemic application of polyethylenimine (PEI)-complexed siRNA *in vivo*[J]. *Gene Ther*, 2005, 12(5): 461-466.
- [17] Song E, Zhu P, Lee SK, et al. Antibody mediated *in vivo* delivery of small interfering RNAs via cell-surface receptors[J]. *Nat Biotechnol*, 2005, 23(6): 709-717.
- [18] Li X, Stuckert P, Bosch I, et al. Single-chain antibody-mediated gene delivery into ErbB2-positive human breast cancer cells[J]. *Cancer Gene Ther*, 2001, 8(8): 555-565.
- [19] Li SD, Huang L. Targeted delivery of siRNA by nonviral vectors: lessons learned from recent advances[J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2008, 9(12): 1317-1323.

[收稿日期] 2008 - 12 - 24

[修回日期] 2009 - 02 - 21

[本文编辑] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符,它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法,切不可混淆使用。现根据有关标准和规则,把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1)生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体,例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori*。(2)各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体),例如人脆性 X 智力低下基因 1 *FMR1*、原癌基因 *RAF1*(人)、病毒癌基因 *v-raf-1*(鼠)、抑癌基因 *p53*(鼠)等。(3)限制性内切核酸酶缩写符号前 3 个字母应斜体,例如 *Hind* III、*Bam* H I、*Sal* I 等。(4)各种统计学符号应斜体,例如样本数 *n*、均数 \bar{x} 、样本标准差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5)各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外),例如长度 *L*、面积 *A*(或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M_r*、物质的量浓度 *c_B* 等。(6)化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基位等符号应斜体,例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7)数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8)英文中使用的某些拉丁词应斜体,例如 *et al*、*vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。

(本刊编辑部)