

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.05.004

黏蛋白 1 多肽通过 small MUC1 蛋白抑制肿瘤细胞生长

马吉春, 台桂香*, 赵小霞, 方芳, 张庆勇, 窦蕊, 陈文博, 柳忠辉(吉林大学白求恩医学院免疫学教研室, 吉林长春 130021)

[摘要] 目的: 探讨黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1) 串联重复序列多肽(简称黏蛋白 1 多肽, MUC1 多肽)对肿瘤细胞生长抑制的作用机制。方法: MUC1 多肽与多种肿瘤细胞 Jurkat、Raji、U937、MCF-7、SMMC7721 及活化的 T 细胞、小鼠巨噬细胞 RAW264.7 共同培养, 观察 MUC1 多肽对上述细胞生长的影响; 建立 BABL/c 小鼠 Jurkat 细胞皮下移植瘤动物模型, 应用 MUC1 多肽进行治疗; 采用 GST 免疫沉降实验鉴定与 MUC1 多肽结合的肿瘤细胞表面蛋白。结果: MUC1 多肽对 Jurkat、Raji、U937、MCF-7 和 SMMC7721 细胞的生长均有抑制作用, 对活化的 T 细胞和小鼠 RAW264.7 细胞生长无明显抑制作用。MUC1 多肽对 BABL/c 小鼠皮下 Jurkat 细胞移植瘤的生长均有明显抑制作用 ($P < 0.05$)。GST 免疫沉降实验显示, Jurkat 和 MCF-7 细胞裂解上清中与 MUC1 多肽结合的蛋白可与两种抗 MUC1 串联重复序列抗体(GP1.4 和 HMPV)及抗胞内段抗体(Ab5)发生反应, 相对分子质量大约 115 000, 提示可能是 MUC1 新的同种型, 命名为 small MUC1 (sMUC1)。结论: MUC1 多肽可通过与肿瘤细胞表面 small MUC1 蛋白的相互作用向细胞传导生长抑制信号。

[关键词] 黏蛋白 1 (MUC1); small MUC1; 肿瘤细胞; 生长抑制

[中图分类号] R730.54; R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)05-0442-05

MUC1 peptide inhibits tumor cell proliferation by binding small MUC1 protein

MA Ji-chun, TAI Gui-xiang*, ZHAO Xiao-xia, FANG Fang, ZHANG Qing-yong, DOU Rui, CHEN Wen-bo, LIU Zhong-hui (Department of Immunology, Norman Bethune Medicine College, Jilin University, Changchun 130021, Jilin, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory mechanism of mucin 1 tandem repeats peptide (MUC1 peptide) against the proliferation of tumor cells. **Methods:** Jurkat, Raji, U937, MCF-7, SMMC7721, activated T and RAW264.7 cells were co-cultured with MUC1 peptide; the inhibitory effects of MUC1 peptide on these cells were observed. Jurkat cell-inoculated BABL/c mouse model was established by s. c. injection of Jurkat cells, and then the tumor-bearing mice were treated with MUC1 peptide. The protein interacting with MUC1 peptide was identified by GST pull-down assay. **Results:** MUC1 peptide inhibited the proliferation of Jurkat, Raji, U937, MCF-7 and SMMC7721 cells, but had no measurable inhibitory effect on activated T cells and RAW264.7 cells. MUC1 peptide significantly inhibited the growth of implanted Jurkat tumors in BABL/c mice ($P < 0.05$). The protein interacting with MUC1 peptide in the lysates of Jurkat and MCF-7 cells was confirmed by GST pull-down assay, with its molecular weight being approximately 115 000. The protein could bind specifically to anti-MUC1 tandem repeat antibodies (GP1.4 and HMPV) and anti-MUC1 cytoplasmic domain antibody (Ab5), indicating it might be a novel isotype of MUC1, and it was named small MUC1 (sMUC1). **Conclusion:** MUC1 peptide can transduce growth inhibitory signal by interacting with small MUC1 on the surface of tumor cells.

[Key words] mucin 1 (MUC1); small MUC1 (sMUC1); tumor cell; growth inhibition

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(5): 442-446]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30972782); 吉林省科技发展计划项目(No. 20080931)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30972782); the Science and Technology Development Program of Jilin Province (No. 20080931)

[作者简介] 马吉春(1980-), 女, 黑龙江省嫩江县人, 博士生, 主要从事肿瘤免疫方面的研究

* 通信作者(Corresponding author)。E-mail: taiguixiang@163.com

黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1) 是黏蛋白家族成员之一, 主要分布在上皮细胞及其来源的肿瘤细胞以及多种血液肿瘤细胞表面^[1-3]。膜结合型 MUC1 有两个基本亚单位: N 末端亚单位 (MUC1-N 或 α 亚单位) 和 C 末端亚单位 (MUC1-C 或 β 亚单位), 两者通过非共价键形成异源二聚体^[4-5]。早期对膜结合型 MUC1 生物学功能的认识主要局限于其润滑、保护及调节细胞间的黏附等机械作用。随后越来越多的研究^[6-9]揭示, 膜结合型 MUC1 作为一个癌基因可导致正常细胞转化并可抑制细胞凋亡。体内研究^[10]发现, 在乳腺中过表达 MUC1 转基因鼠能导致乳腺癌; 而转染 MUC1 串联重复序列 (缺少 MUC1-CT) 的转基因鼠没有肿瘤生长, 提示 MUC1-CT 在细胞恶性转化中有重要作用。

本课题前期研究发现, 外源性 MUC1 串联重复序列多肽 (简称 MUC1 多肽) 对多种人肿瘤细胞生长具有直接抑制作用, 而且通过抗 MUC1 抗体封闭后抑制作用几乎消失^[11], 提示外源 MUC1 多肽可能与细胞膜 MUC1 作用从而抑制细胞生长。本研究试图观察 MUC1 多肽对 Jurkat、Raji、U937、MCF-7、SMMC7721 等肿瘤细胞及活化的 T 细胞、小鼠巨噬细胞 RAW264.7 生长的影响, 鉴定肿瘤细胞表面与 MUC1 多肽相互作用的蛋白, 深入探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

新生牛血清 (NCS) 购自杭州四季青公司, IMDM 培养基购自 Gibico 公司。MUC1-GST 蛋白、GST 蛋白及 MUC1 多肽 (由 MUC1 黏蛋白核芯肽胞外串联重复序列组成, 共含 130 个氨基酸) 为本室前期实验中制备^[12]。Glutathione Sepharose 4B 和 ECL 增强发光试剂盒购自美国 GE 公司, 小鼠抗人 MUC1 (HMPV) 单克隆抗体购自美国 BD 公司, 小鼠抗人 MUC1 (GP1.4) 单克隆抗体购自英国 Thermo Scientific 公司, 小鼠抗人 MUC1-CT 的单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司, Triton X-100、锥虫蓝 (trypan blue)、亮抑肽酶 (leuopectin) 购自美国 Sigma 公司, 抑肽酶 (aprotinin) 购自美国 Amrico 公司, 苯甲基磺酰氟 (PMSF) 购自美国 BBL 公司。免疫抑制剂 FTY-720 由吉林大学药学院王恩思教授提供。人 T 淋巴瘤细胞株 Jurkat、B 淋巴瘤细胞株 Raji、单核淋巴瘤细胞株 U937、肝癌细胞株 SMMC7721、乳腺癌细胞株 MCF-7 和小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 购自 ATCC。BALB/c 小鼠购自吉林大学实验动物中心, 合格证号为 SCXK (吉) 2007-0003。

1.2 细胞培养

人 T 淋巴瘤细胞株 Jurkat、B 淋巴瘤细胞株 Raji、单核淋巴瘤细胞株 U937、肝癌细胞株 SMMC7721、乳腺癌细胞株 MCF-7 和小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 在含 10% 新生牛血清、100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素的 IMDM 培养液中、5% CO₂ 孵箱 37 °C 培养。

1.3 锥虫蓝染色法检测 MUC1 多肽对细胞生长的影响

取对数生长期 Jurkat、Raji、U937 及活化的 T 细胞, 调细胞密度至 1×10^6 /ml; MCF-7、SMMC7721 和 RAW264.7 细胞调至 3×10^5 /ml; 100 μ l/孔加入 96 孔板, 并加入 MUC1 多肽 (终质量浓度为 10、20、40 μ g/ml), 5% CO₂ 孵箱中 37 °C 培养 48 h。采用锥虫蓝染色法计数活细胞。生长抑制率 (%) = (1 - 实验组细胞数/对照组细胞数) \times 100%。

1.4 PHA 诱导 T 淋巴细胞活化

采用淋巴细胞分离液分离健康人外周血淋巴细胞, 调细胞密度至 2×10^6 /ml, 100 μ l/孔加入 96 孔板, 5 μ g/ml PHA 刺激 72 h, PBS 洗涤 2 次后, 再用 100 U/ml IL-2 刺激 72 h。

1.5 MUC1 多肽对小鼠皮下 Jurkat 淋巴瘤模型作用的观察

将 BALB/c 小鼠用 6 Gy X 射线照射 4 h 后, 背部中央皮下接种 Jurkat 细胞 4×10^6 /只, 并随机分成 2 组, 每组 5 只饲养于无菌罩中; 并在接种细胞当天尾静脉注射 MUC1 多肽 50 μ g/只在对照组注射 PBS, 隔日 1 次, 共 3 次。为维持免疫抑制状态, 次日每天口服免疫抑制剂 FTY-720^[13], 3 mg/kg, 共 4 d。治疗 10 d 后给小鼠照相, 解剖, 测量肿瘤大小。肿瘤体积 = $1/2 \times$ 长 \times 宽²。

1.6 GST 免疫沉降实验检测肿瘤细胞表面与 MUC1 多肽相互作用的蛋白

取对数生长期 Jurkat 和 MCF-7 细胞, 冷 PBS 洗 3 次, 加入细胞裂解液 (1% Triton X-100, 0.15 mol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-Cl, 5 mmol/L EDTA, 1 mmol/L PMSF, 20 μ mol/L leuopectin, 0.23 U/ml aprotinin)。冰上裂解 30 min, 漩涡剧烈震荡 10 min。10 000 \times g, 4 °C, 离心 15 min, 收集裂解上清。BCA 法检测裂解上清的蛋白浓度。Glutathione Sepharose 4B 使用前用 PBS 洗 3 次, 不含蛋白酶抑制剂的裂解液洗 1 次。将 1 μ g MUC1-GST 或 GST 蛋白加入至 20 μ l Glutathione Sepharose 4B 中, 4 °C 震荡孵育 2 h, 10 000 \times g, 4 °C, 30 s 离心收集沉淀, 将沉淀用细胞裂解液洗 5 次, 500 μ l/次。制备成 MUC1-GST Sepharose 4B beads 和 GST Sepharose

4B beads。取总蛋白为 800 μg 细胞裂解上清加入 40 μl Glutathione Sepharose 4B 中和非特异性吸附,4 $^{\circ}\text{C}$ 震荡孵育 60 min,10 000 $\times g$,4 $^{\circ}\text{C}$,30 s 收集上清。取经过非特异性吸附后的细胞裂解上清各 400 μg 分别加至 MUC1-GST Sepharose 4B beads 和 GST Sepharose 4B beads,4 $^{\circ}\text{C}$ 震荡孵育 3 h。10 000 $\times g$,4 $^{\circ}\text{C}$,30 s,弃上清。沉淀用不含蛋白酶抑制剂裂解液洗 3 次。20 $\mu\text{l}/\text{EP}$,加入 2 \times loading buffer,煮沸 5 min。SDS-PAGE 分离蛋白,转移到 PVDF 膜上。3% BSA 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭过夜,PBS-T 洗膜 3 次。加入小鼠抗 MUC1 抗体 (GPI.4 或 HMPV 或 Ab5)至终质量浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$,摇床孵育 2 h。PBS-T 洗膜 3 次,加入 1:5 000 稀释的山羊抗 IgG-HRP,孵育 2 h。PBS-T 洗膜 3 次。加入 ECL 试剂(方法按说明书)孵育 2~5 min,用保鲜膜包裹,放上胶片,曝光 30 s~5 min,显液定影。

1.7 统计学处理

所有数据均为 3 次独立实验结果,以 $\bar{x} \pm s$ 表示;采用 SPSS10.0 软件进行统计学处理,各项指标组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 MUC1 多肽对各种肿瘤细胞生长的影响

MUC1 多肽对 Jurkat、Raji、U937、MCF-7、SMMC7721 细胞均以剂量依赖方式抑制肿瘤细胞的生长,与对照组相比,在给予 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MUC1 多肽刺激时,上述细胞增殖的变化均无统计学意义 ($P > 0.05$)。在给予 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MUC1 多肽刺激时,细胞增殖被抑制的细胞系有 Jurkat、MCF-7 和 SMMC7721,其抑制率分别为 $(36.8 \pm 2)\%$ ($P < 0.05$)、 $(16.3 \pm 6.3)\%$ ($P < 0.05$)、 $(14.7 \pm 2.7)\%$ ($P < 0.01$)。在给予 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MUC1 多肽刺激时,细胞增殖被抑制的细胞系有 Jurkat、MCF-7、Raji、SMMC7721 和 U937,其抑制率分别为 $(46 \pm 5)\%$ 、 $(24 \pm 2)\%$ 、 $(20.8 \pm 2)\%$ 、 $(34.7 \pm 1.5)\%$ 和 $(15.2 \pm 1.5)\%$ (均 $P < 0.01$)。而 MUC1 多肽 10、20、40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 对 RAW264.7 和活化的 T 细胞的生长均无影响 ($P > 0.05$,图 1)。

2.2 MUC1 多肽抑制 BABL/c 小鼠 Jurkat 细胞皮下移植瘤的生长

测量对照组与实验组 BABL/c 小鼠移植瘤体积,结果显示:对照组肿瘤的平均体积为 $(1.07 \pm 0.2)\text{cm}^3$,MUC1 多肽组肿瘤的平均体积为 $(0.55 \pm 0.12)\text{cm}^3$ 。MUC1 多肽组肿瘤的体积较对照组明显减小 ($P < 0.05$),证实 MUC1 多肽可以抑制 Jurkat 细胞皮下移植瘤的生长。

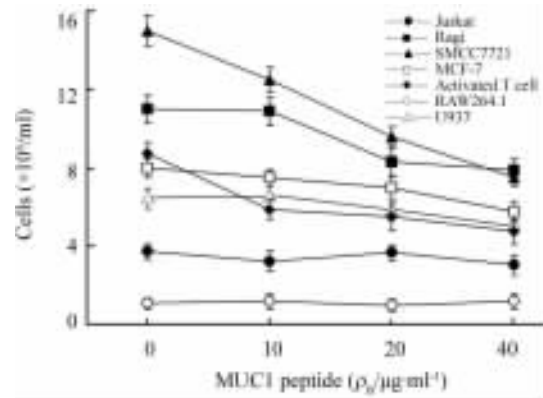


图 1 MUC1 多肽对 Jurkat、Raji、U937、MCF-7、SMMC7721、RAW264.7 和活化 T 细胞生长的影响

Fig.1 Effects of MUC1 peptide on growth of Jurkat, Raji, U937, MCF-7, SMMC7721, RAW264.7 and activated T cells

2.3 MUC1 多肽与 Jurkat 和 MCF-7 细胞表面 small MUC1 蛋白发生结合作用

前期工作提示 MUC1 多肽可能通过与 Jurkat 细胞表面 MUC1 蛋白的相互作用抑制细胞的增殖^[11]。为进一步证实这一设想,本研究进行了 GST 免疫沉降实验。结果显示:MUC1 多肽与 Jurkat 细胞裂解上清中蛋白存在相互作用,该蛋白分子相对分子质量大约 115 000,它可以与两种抗 MUC1 串联重复序列单克隆抗体(HMPV、GPI.4)和一种抗 MUC1-CT 单克隆抗体 Ab5 特异性结合,提示该蛋白既含有 MUC1 串联重复序列又含有胞内序列。通常的全长 MUC1 蛋白相对分子质量 $>250\ 000$ 。考虑新发现的蛋白可能是 MUC1 新的同种型,将其命名为 small MUC1 (sMUC1,图 2)。

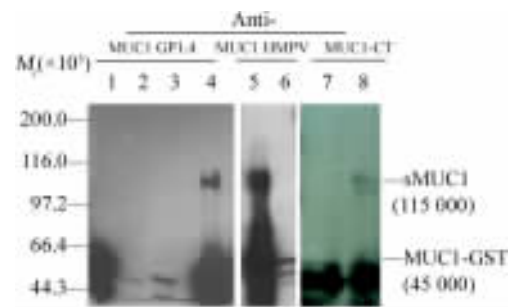


图 2 GST 免疫沉降实验鉴定 MUC1 多肽与 Jurkat 细胞相互作用的蛋白

Fig.2 Identification of protein on Jurkat cells interaction with MUC1 peptide by GST pull-down assay
1: GST-MUC1; 2: GST; 3,6,7: Jurkat cell lysates reacted with GST; 4,5,8: Jurkat cell lysates reacted with GST-MUC1
免疫沉降实验还显示:Jurkat 和 MCF-7 细胞除

可看到 230 000 和 240 000 条带外,还可看到与 MUC1 多肽结合的 115 000 条带(图 3)。提示 MUC1 多肽与 sMUC1 相互作用传导肿瘤生长的抑制信号;而且这一新的同种型蛋白与通常的 > 250 000 的 MUC1 相比可能不具备多态性。

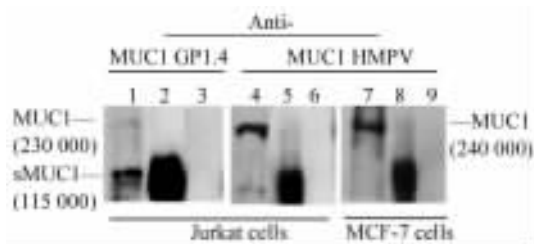


图 3 GST 免疫沉降实验分析 Jurkat 和 MCF-7 细胞表面的 MUC1 蛋白和 sMUC1 蛋白的表达

Fig.3 MUC1 and sMUC1 protein expressions on Jurkat and MCF-7 cells as detected by GST pull-down assay

1,4: Jurkat ; 2,5: Jurkat cell lysates reacted with GST-MUC1 ; 3,6: Jurkat cell lysates reacted with GST; 7: MCF-7 cell lysates ; 8: MCF-7 cell lysates reacted with GST-MUC1 ; 9: MCF-7 cell lysates reacted with GST

3 讨论

MUC1 基因在转录后会发生选择性剪接,因此形成不同的 mRNA 产物,其编码的蛋白即为 MUC1 的同种型。目前,共发现 5 种 MUC1 的同种型,即 MUC1/REP、MUC1/SEC、MUC1/X, MUC1/Y 和 MUC1/Z^[14-15]。MUC1/REP 是通常所说的膜结合型 MUC1, MUC1/SEC 是分泌型 MUC1,两者均含有串联重复序列,而 MUC1/X, MUC1/Y 和 MUC1/Z 蛋白序列中不含串联重复序列,不含糖链,相对分子质量也小得多(33 000 ~ 45 000),它们之间有十几个氨基酸的数量差别。本研究发现给予外源的 MUC1 串联重复序列多肽,即 MUC1 多肽,可明显抑制人 T 淋巴瘤 Jurkat 细胞、B 淋巴细胞瘤 Raji 细胞、单核淋巴瘤 U937 细胞、肝癌 SMMC7721 细胞及乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖。体内肿瘤模型实验也发现 MUC1 多肽可明显抑制人 T 淋巴瘤生长。进一步通过 GST 融合蛋白沉降实验发现,与 MUC1 多肽结合的肿瘤细胞表面分子可特异性与抗 MUC1 多肽串联重复序列的两种单克隆抗体(HMPV, GP1.4)和胞内抗体(Ab5)发生反应,证实细胞表面与外源 MUC1 串联重复序列多肽结合的分子属于 MUC1 蛋白,而且该蛋白既含有 MUC1 串联重复序列又含有胞内序列,但其分子量较小,大约 115 000,并且在多种来源

的肿瘤细胞中均存在,表达量较高,而在正常细胞中表达量较低,提示该蛋白可能是一种新的 MUC1 同种型。通常的全长 MUC1 蛋白分子量 > 250 000,具有多态性,即不同个体来源细胞分离的 MUC1 分子量大小不同。而本研究发现的 MUC1 分子量较小,因此本研究将该分子命名为 small MUC1 (sMUC1)。

目前许多实验证实全长 MUC1 作为癌基因主要通过 MUC1-CT 发挥作用,但也有一部分实验通过单纯转染 MUC1-CT 抑制了肿瘤的生长^[16],如何解释前后两种矛盾的结果?如果单纯 MUC1-CT 可以使细胞恶性转化,那么 MUC1 的高表达(大多数都用抗 MUC1 串联重复序列的抗体检测^[17])究竟有什么生物学意义?在细胞癌性转化中,其他 MUC1 的同种型是否也发挥作用?本研究发现外源 MUC1 多肽直接抑制肿瘤生长,而且进一步发现了一个新的 sMUC1 蛋白,其在本研究检测的各种肿瘤细胞上相对分子质量大约都是 115 000,且高表达。外源 MUC1 多肽通过结合 sMUC1 抑制肿瘤生长,因此 sMUC1 在肿瘤恶性转化中很可能起关键作用。以往通过抗 MUC1 重复序列抗体检测到的肿瘤细胞高表达的 MUC1 很可能是 sMUC1(因其包含串联重复序列)。细胞发生癌变,很可能与 sMUC1 的大量表达,过度转导细胞增殖和抗凋亡的信号有关。

最近研究^[18]报道,根据 MUC1-CT 区设计一个 15 个氨基酸的模仿肽链,能进入细胞内,阻止 MUC1-CT 与其他蛋白结合,抑制细胞的生长。MUC1/SEC(含有糖基化的串联重复序列)具有抗肿瘤作用,是通过调节天然免疫和 T 细胞免疫,在体内抑制了肿瘤的生长^[19]。而本研究发现外源性 MUC1 串联重复序列多肽具有直接抑制肿瘤生长的作用。

目前唯一报道的具有抗肿瘤作用的肿瘤抗原多肽是甲胎蛋白(AFP)^[20]。本研究发现的新的肿瘤抗原抑制多肽-MUC1 串联重复序列多肽,主要抑制淋巴瘤、肝癌细胞的生长。因此,直接应用肿瘤抗原多肽抑制肿瘤生长是一项非常有前途的抗肿瘤策略。因此,本研究对肿瘤抗原 MUC1 串联重复序列多肽抗肿瘤作用机制的深入探讨,不仅可以揭示 small MUC1 的结构、在细胞表面的存在形式、抗肿瘤作用以及细胞恶性转化机制,还为有效控制恶性肿瘤提供全新的研究思路以及为开发新的抗肿瘤药物奠定实验基础。

[参考文献]

[1] Mukherjee P, Tinder TL, Basu GD, et al. MUC1 (CD227) inter-

- acts with Ick tyrosine kinase in Jurkat lymphoma cells and normal T cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2005, 77(1): 90-99.
- [2] Yang E, Hu XF, Xing PX. Advances of MUC1 as a target for breast cancer immunotherapy [J]. *Histol Histopathol*, 2007, 22(8): 905-922.
- [3] Kawano T, Ito M, Raina D, *et al.* MUC1 oncoprotein regulates Bcr-Abl stability and pathogenesis in chronic myelogenous leukemia cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(24): 11576-11584.
- [4] Wei X, Xu H, Kufe D, *et al.* Human mucin I oncoprotein represses transcription of the p53 tumor suppressor gene [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1853-1858.
- [5] Ren J, Raina D, Chen W, *et al.* MUC1 oncoprotein functions in activation of fibroblast growth factor receptor signaling [J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(11): 873-883.
- [6] Leng Y, Cao C, Ren J, *et al.* Nuclear import of the MUC1-C oncoprotein is mediated by nucleoporin Nup62 [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(27): 19321-19330.
- [7] Meerzaman D, Shapiro PS, Kim KC. Involvement of the MAP kinase ERK2 in MUC1 mucin signaling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 281(1): L86-91.
- [8] Raina D, Ahmad R, Kumar S, *et al.* MUC1 oncoprotein blocks nuclear targeting of c-Abl in the apoptotic response to DNA damage [J]. *EMBO J*, 2006, 25(16): 3774-3783.
- [9] Creaney J, Segal A, Sterrett G, *et al.* Overexpression and altered glycosylation of MUC1 in malignant mesothelioma [J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(9): 1562-1569.
- [10] Schroeder JA, Masri AA, Adriance MC, *et al.* MUC1 overexpression results in mammary gland tumorigenesis and prolonged alveolar differentiation [J]. *Oncogene*, 2004, 23(34): 5739-5747.
- [11] 马吉春, 赵小霞, 高航, 等. 黏蛋白1多肽对T淋巴瘤Jurkat细胞生长的抑制及其机制 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2009, 16(1): 29-33.
- [12] 马吉春. 重组 MUC1 融合蛋白的制备及检测 MUC1 双抗体夹心 ELISA 方法的建立 [D]. 长春: 吉林大学白求恩医学院, 2007.
- [13] Nokolova Z, Hof A, Baumlin Y, *et al.* Combined FTY720/cyclosporine treatment promotes graft survival and lowers the peripheral lymphocyte count in a murine cardiac allotransplantation model [J]. *Transplantation*, 2001, 72(1): 168-171.
- [14] Levitin F, Stern O, Weiss M, *et al.* The MUC1 SEA module is a self-cleaving domain [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(39): 33374-33386.
- [15] Baruch A, Hartmann M, Yoeli M, *et al.* The breast cancer-associated MUC1 gene generates both a receptor and its cognate binding protein [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(7): 1552-1561.
- [16] Lillehoja EP, Lu W, Kiser T, *et al.* MUC1 inhibits cell proliferation by a β -catenin-dependent mechanism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(7): 1028-1038.
- [17] Rubinstein DB, Karmely M, Pichinuk E, *et al.* The MUC1 oncoprotein as a functional target: immunotoxin binding to α/β junction mediates cell killing [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(1): 46-54.
- [18] Bitler BG, Menzl I, Huerta CL, *et al.* Intracellular MUC1 peptides inhibit cancer progression [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(1): 100-109.
- [19] Ilkovitch D, Handel-Fernandez ME, Herbert LM, *et al.* Antitumor effects of Mucin 1/sec involves the modulation of urokinase-type plasminogen activator and signal transducer and activator of transcription 1 expression in tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(7): 2427-2435.
- [20] Mizejewski GJ, Muehleman M, Dauphinee M, *et al.* Update of alpha fetoprotein growth-inhibitory peptides as biotherapeutic agents for tumor growth and metastasis [J]. *Chemotherapy*, 2006, 52(2): 83-90.
- [收稿日期] 2009-07-15 [修回日期] 2009-09-10
[本文编辑] 韩丹

· 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 *FMRI*、原癌基因 *RAFI*(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)