

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.017

钙结合蛋白 S100A13 在肝癌组织中的表达及其临床意义

张鹏, 黄朋, 郭先文, 雷荣娥, 岳成思, 凌敏, 林文珍, 蔡丹昭, 贺菽嘉, 唐文珏, 周素芳(广西医科大学 生物化学与分子生物学教研室, 广西 南宁 530021)

[摘要] 目的: 探索钙结合蛋白 S100A13(S100 calcium binding protein A13, S100A13)在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中的表达及其临床意义。方法: 收集广西医科大学第一附属医院 34 例 HCC 及相应癌旁组织、18 例正常肝组织标本, 商业购置 197 例肝癌及相应癌旁高密度组织芯片。应用原位 RT-PCR 技术检测 HCC 组织、癌旁组织、正常肝组织中 S100A13 mRNA 的表达, 使用免疫组织化学技术检测 HCC 组织、癌旁组织、正常肝组织中 S100A13 蛋白的表达, 并用 Image-Pro Plus 软件分析免疫组织化学光密度值。结果: S100A13 mRNA 在 HCC、相应癌旁和正常肝组织中表达的阳性率分别为 70.21%、51.06% 和 33.33%; S100A13 mRNA 定位主要在胞核, 多表达于核膜。S100A13 蛋白在 HCC、相应癌旁和正常肝组织中表达的阳性率分别为 55.84%、38.96% 及 26.32%, HCC 组织中的平均 D 值最高(0.038 ± 0.051), 其次是癌旁组织(0.022 ± 0.034), 正常肝组织(0.01 ± 0.009)最低($P < 0.05$); S100A13 蛋白主要表达于 HCC 细胞的胞质中, 部分细胞核偶见表达, 此外在癌旁次生胆小管中及部分炎细胞中也存在高表达。S100A13 蛋白在 HCC 中的表达与患者的性别、年龄及病理分级无关。结论: HCC 组织高表达 S100A13 蛋白, S100A13 可能具有作为肝癌治疗靶点的潜力。

[关键词] S100A13; 肝细胞性肝癌(HCC); 原位 RT-PCR; 免疫组织化学

[中图分类号] R735.7; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)02-0206-05

Expression of S100 calcium binding protein A13 in hepatocellular carcinoma and its clinical significance

ZHANG Peng, HUANG Peng, GUO Xian-wen, LEI Rong-e, YUE Cheng-si, LING Min, LIN Wen-zhen, CAI Dan-zhao, HE Su-jia, TANG Wen-jue, ZHOU Su-fang (Department of Biochemistry & Molecular Biology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expression of S100 calcium binding protein A13 (S100A13) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues and its clinical significance. **Methods:** Thirty-four HCC tissues, 18 corresponding paracancerous tissues, and 9 normal liver tissues were obtained from First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, and the high density chips of 197 HCC tissues and corresponding paracancerous tissues were obtained from commercial company. *In situ* RT-PCR was used to detect the expression of S100A13 mRNA in HCC tissues, paracancerous tissues, and normal liver tissues. Immunohistochemistry was used to detect the expression of S100A13 protein in HCC tissues, paracancerous tissues, and normal liver tissues. We analyzed the optical density of immunohistochemistry results by Image-Pro Plus. **Results:** The expression rates of S100A13 mRNA in HCC tissues, their corresponding paracancerous tissues and normal liver tissues were 70.21%, 51.06%, and 33.33%, respectively. S100A13 mRNA was mainly expressed in the nucleus, especially in nuclear membranes. The expression rates of S100A13 protein in HCC tissues, their corresponding paracancerous tissues and normal liver tissues were 55.84%, 38.96%, and 26.32%, respectively. The highest average optical density was found in HCC tissue (0.038 ± 0.051), followed by paracancerous tissues (0.022 ± 0.034), and the lowest was found in normal liver tissues (0.01 ± 0.009) ($P < 0.05$). S100A13 protein was mainly expressed in the cytoplasm of HCC cells, occasionally in the nucleus; the secondary bile canaliculi and some inflammatory cells also showed high

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.30760233); 广西自然科学基金资助项目(No.0728121)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30760233), and the Natural Science Foundation of Guangxizhuang Autonomous Region of China (No.0728121)

[作者简介] 张鹏(1986-), 男, 内蒙古自治区乌兰察布市人, 硕士生, 主要从事肝癌肿瘤抗原方面研究。E-mail: zhp303170003@163.com

[通讯作者] 周素芳(ZHOU Su-fang, corresponding author), E-mail: zsf20000@yahoo.com.cn

S100A13 protein expression. There was no correlation between S100A13 expression and the sex, age, and tumor grade of HCC patients. **Conclusion:** S100A13 protein is highly expressed in HCC, and it might serve as a potential target in HCC therapy.

[**Key words**] S100A13; hepatocellular carcinoma (HCC); *in situ* RT-PCR; immunohistochemistry

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(2): 206-210]

S100 蛋白家族是一个由 21 个成员组成的钙结合蛋白家族,通过对钙离子的调节及与靶蛋白的相互作用,发挥多种生物学功能^[1]。钙结合蛋白 S100A13(S100 calcium binding protein A13)属于钙结合蛋白家族的一个较新成员, S100A13 和其他 S100 蛋白家族的同源性在 50.5% ~ 59.3%。多项研究^[2-5]表明, S100A13 与组织炎症反应、新管腔结构生成及肿瘤生长、浸润、转移关系密切。本课题组前期^[6]利用 SEREX 技术已从人胚胎干细胞 cDNA 文库中筛选出多个肝癌相关抗原,并发现 S100A13 与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)相关。目前国内外对 S100A13 在 HCC 及相关组织中的表达分布未见文献报道。本研究利用免疫组织化学技术和原位 RT-PCR 技术探索肝癌相关抗原 S100A13 在肝癌组织中的表达,评估其作为肝癌诊断和治疗靶标的潜力。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

本课题全部病理标本 231 例 HCC 及相应癌旁组织中,有 34 例收集自广西医科大学第一附属医院肝胆外科,并于广西医科大学医学实验中心进行切片;另外 197 例为商业购置的肝癌及相应癌旁高密度组织芯片,由桂林泛谱生物技术有限公司及上海芯超生物科技有限公司提供。所有 231 例 HCC 组织标本结构清晰,且经病理医师辨认;患者术前均未进行放化疗,年龄为 25 ~ 76 岁,其中男性 208 例、女性 23 例。在分析 S100A13 表达与临床病理分级之间的关系时,仅选取其中 132 例病理资料较为齐全者,包括 Edmondson 病理分级 I 级者 17 例、II 级者 100 例、III 级者 15 例。18 例正常肝组织来源于临床肝穿刺,收集自广西医科大学第一附属医院病理科。Digox-dUTP 购自美国 ROCH 公司, Mouse Anti-digox IgG-AP 购自武汉博士得生物公司,兔抗人 S100A13 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司。RT-PCR 试剂盒购自 MBI 公司,超敏即用型二步法(非生物素)检测试剂盒(即用型二抗检测系统)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。S100A13 引物由上海生物工程技术有限公司合成。

1.2 原位 RT-PCR 检测肝癌组织中 S100A13 mRNA 的表达

原位 RT-PCR 检测了全部 231 例 HCC 及相应癌旁组织标本中的 47 例、全部 18 例正常肝组织标本中的 9 例。将事先确定的阳性 HCC 组织切片,用 DNase I 消化过夜后,进行 RT-PCR 反应,作为阳性对照切片;与阳性对照相同的 HCC 组织切片不用 DNase I 消化,直接进行普通 PCR 反应,作为阴性对照切片;若阳性片为阴性可判断假阴性,若阴性片为阳性可判断假阳性。具体实验操作过程为:二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,胃蛋白酶消化;利用 Oligo (dT)18 引物及 AMV 逆转录酶,42 °C、60 min 逆转录反应;70 °C 5 min 灭活逆转录酶后,加入 PCR 体系在原位 PCR 仪上进行 PCR。然后用 1 × SSC 溶液(含 0.2% BSA)52 °C 洗芯片 5 min,加适量 1:300 Mouse Anti-digox IgG-AP,室温反应 30 min。BCIP/NBT 缓冲液洗芯片 1 min,BCIP/NBT 显色液 37 °C 暗处显色 10 ~ 15 min 至信号出现,蒸馏水终止反应并照相。

1.3 免疫组织化学检测肝癌组织中 S100A13 蛋白的表达

免疫组织化学检测全部 231 例 HCC 及其相应癌旁组织、全部 18 例正常肝组织。其中 HCC 组织有 132 例病理资料齐全,用于 S100A13 表达与临床病理分级间关系的分析。

HCC 组织芯片经二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,使用柠檬酸盐抗原修复液经微波进行抗原修复。之后使用 3% H₂O₂ 溶液封闭内源过氧化物酶 10 min,10% TBS 山羊血清封闭非特异抗原 30 min。TBS 配制的兔抗人 S100A13 一抗(1:200)4 °C 孵育过夜后加入羊抗兔二抗(即用型),检测系统室温孵育 30 min,TBS 漂洗 2 次,每次 2 min,DAB 显色 5 ~ 10 min,苏木精复染、分化、脱分化,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封片,观察拍照。阳性对照为事先确定阳性的 HCC 组织切片,阴性对照标本与阳性对照相同,仅以 TBS 代替一抗;染色深于阴性对照判断阳性,阳性强弱以平均光密度值为准。

1.4 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件,以 χ^2 检验和 Welch

扩展方差分析进行统计学分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织中 S100A13 mRNA 的表达

使用原位 RT-PCR 技术检测 S100A13 mRNA 在 47 例 HCC 及相应癌旁组织、9 例正常肝组织的表达分布, S100A13 mRNA 在细胞中主要在胞核表达, 并多表达于核膜(图 1)。其中肝癌组织中有 33 例呈

阳性表达, 14 例阴性表达, 阳性率为 70. 21% (33/47); 癌旁组织中有 24 例呈阳性表达, 23 例阴性表达, 阳性率为 51. 06% (24/47)。正常肝组织有 3 例阳性表达, 6 例阴性表达, 阳性率为 33. 33% (3/9)。经两两比较, 肝癌组与正常组 S100A13 mRNA 表达阳性率有统计学差异 ($P < 0.05$), 肝癌组与其相应癌旁组之间 mRNA 表达阳性率无统计学差异 ($P > 0.05$), 癌旁组与正常组之间 mRNA 表达阳性率无统计学差异 ($P > 0.05$)。

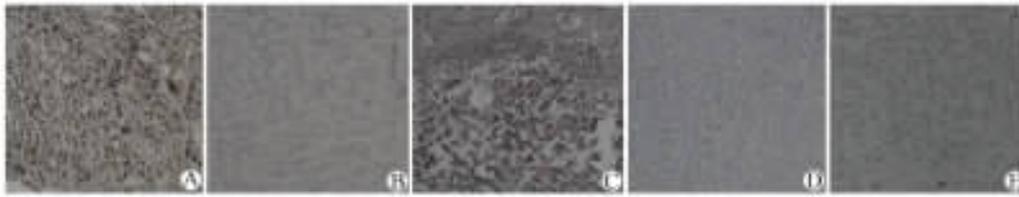


图 1 原位 RT-PCR 检测肝癌组织、癌旁组织及正常肝组织中 S100A13 mRNA 的表达(×100)

Fig.1 Expression of S100A13 mRNA by in situ RT-PCR in HCC tissues, HCC paracancerous tissues and normal liver tissues(×100)

A: Positive control (normal liver tissues, DNA enzyme I free); B: Negative control (normal liver tissues, digested by DNA enzyme I, no RT); C: Positive expression of S100A13 mRNA in HCC (digested by DNA enzyme I, RT); D: HCC paracancerous tissues (digested by DNA enzyme I, RT); E: Normal liver tissues (digested by DNA enzyme I, RT)

2.2 S100A13 蛋白表达及组织细胞分布

免疫组织化学技术检测 231 例 HCC 及相应癌旁组织和 18 例正常肝组织的 S100A13 蛋白的表达。S100A13 蛋白在 HCC 组织的阳性率为 55. 84% (129/231), 其中, 弱阳性比例为 10. 39% (24/231 例), 阳性为 24. 24% (56/231), 强阳性为 21. 21% (49/231); 阴性为 44. 16% (102/231)。癌旁组织中 S100A13 蛋白的阳性率为 38. 96% (90/231), 其中, 弱阳性比例为 4. 33% (10/231), 中阳性为 28. 57% (66/231), 强阳性为 6. 06% (14/231); 阴性为 61. 03% (141/231)。正常肝组织中 S100A13 蛋白的阳性率为 27. 78% (5/18), 其中弱阳性为 16. 67% (3/18), 中阳性为 11. 11% (2/18), 阴性为 72. 22% (13/18)。由此可见, S100A13 在 HCC 组织中的阳性率最高, 其次是 HCC 相应癌旁组织, 正常肝组织阳性率最少 ($P < 0.05$)。

在 400 倍视野拍摄图像后经 Image-Pro Plus 图像分析软件分析光密度值。HCC 组织中 S100A13 蛋白平均光密度值最高 (0.038 ± 0.051), 其次是癌旁组织 (0.022 ± 0.034), 正常肝组织 (0.01 ± 0.009) 表达最低 ($P < 0.05$)。比较不同病理分级 (I、II、III 级) 的 HCC 中 S100A13 蛋白的表达 (0.214 ± 0.317 vs 0.416 ± 0.552 , 0.331 ± 0.421),

差异无统计意义 ($P > 0.05$)。

S100A13 蛋白在组织中的定位, HCC 细胞中表达较高, 此外在癌旁次生胆小管中及部分炎性细胞中也存在高表达。在细胞定位中, S100A13 蛋白主要表达于胞质中, 部分细胞核也见表达(图 2)。

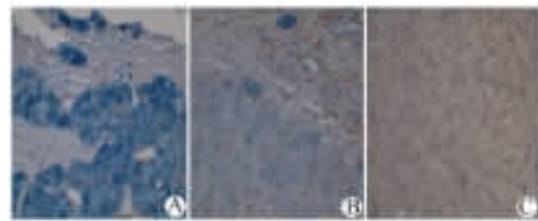


图 2 免疫组织化学检测 S100A13 在肝癌组织、癌旁组织及正常肝组织中的表达(×400)

Fig.2 Expression of S100A13 in HCC (A), HCC paracancerous (B) and normal liver tissues(C) (×400)

2.3 S100A13 与 HCC 临床病理特征之间的关系

S100A13 蛋白的表达与 HCC 临床特征之间的关系见表 1。比较不同性别组 (男、女) HCC 中 S100A13 蛋白表达阳性率, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.26, P > 0.05$); 比较不同年龄组 (≤ 50 、 > 50) HCC 中 S100A13 表达阳性率, 差异无统计学意义 ($\chi^2 =$

1.88, $P > 0.05$); 比较不同病理分级(I、II、III) HCC 中的阳性率, 差异无统计学意义($\chi^2 = 1.48, P > 0.05$)。由此可见, S100A13 蛋白在 HCC 中的表达与性别、年龄及病理分级等病理指标无关。

表 1 S100A13 蛋白的表达与 HCC 临床病理特征间的关系
Tab. 1 Relationship between S100A13 protein expression and clinicopathological features of HCC

Feature	N	S100A13 expression [n(%)]	P
Sex	231		
Male	208	115(55.3)	0.61
Female	23	14(60.9)	
Age	231		
≤50	159	84(52.8)	0.17
>50	72	45(62.5)	
Tumor grader	132		
I	17	7(41.2)	0.48
II	100	57(57.0)	
III	15	8(53.3)	

3 讨论

肝癌相关抗原 S100A13 基因定位在人类染色体 1q21, 相对分子质量为 27 000。S100A13 作为一个二聚体存在, 每个单体有两个 Ca^{2+} 结合。单体包含 4 个 α 螺旋, 形成一对 EF 手性结构^[7]。本研究发现 S100A13 mRNA 在亚细胞结构上主要定位在核内及核膜上; S100A13 蛋白主要定位在胞质中, 部分细胞核周染色较深; 与 Katrin 等^[8]应用激光共聚焦显微镜的观察结果一致。

S100A13 与多个膜蛋白相互作用^[9], 且在热休克、应激等情况下介导 FGF-1(酸性成纤维细胞生长因子) 和 IL-1 α 的跨膜转运。S100A13 凭借其羧基端的碱性氨基酸残基与 FGF-1 第 3 位上的酸性半胱氨酸 Cys 结合, 在 Ca^{2+} 和 Cu^{2+} 的参与下, 使 FGF-1 由胞内向胞外转运。由于 FGF-1 缺少信号肽且无法通过经典的内质网-高尔基体途径运输, 故只能结合 S100A13 以非经典的折叠状态进行分泌^[10-14]。FGF-1 是一种强血管生成因子和促有丝分裂原, 能够刺激血管内皮细胞和平滑肌细胞的增生和迁移, 刺激内皮细胞分泌胶原酶和蛋白水解酶, 促进胶原的水解和沉积, 诱导管腔样结构的形成, 促进癌转

移^[15]。而 S100A13 的作用正是通过介导 FGF-1 由胞内向胞外跨膜转运, 增强 FGF-1 的表达和功能, 如活化加工 t-PA(tissue-type plasminogen activator) 介导的纤维蛋白溶酶原功能^[16], 参与腺腔结构生成和炎症反应等^[17]。本研究发现, 在新增生的胆管中 S100A13 蛋白有高表达, 部分 HCC 中也会出现 S100A13 高表达的管腔样组织, 因此可推测 S100A13 在肝癌中的表达与 FGF-1 的作用相关。同时在部分肿瘤浸润交界部位 S100A13 高度阳性, 也证实了有关报道^[4]中的 S100A13 mRNA 表达与肿瘤入侵表型成正相关的推论。本研究还发现, 不同的肿瘤病理分级中 S100A13 的表达差异无统计学意义, 可能是与获取的 HCC 标本中病理分级 I 级和 III 级的病例数较少有关, 需要进一步增加病例数后进行后续研究。

本实验中原位 RT-PCR 检测 S100A13 mRNA 与免疫组化检测 S100A13 蛋白质的阳性率基本吻合, 但相同组织 mRNA 表达率要高于蛋白的表达率, 此外 HCC 与癌旁之间 mRNA 无统计学差异, 而 HCC 与癌旁组织之间 S100A13 蛋白表达有差异。可能的解释有: (1) 与转录后调控有关, 部分组织中的 S100A13 基因转录成 mRNA 后并没有继续翻译成蛋白质。(2) 滞后效应的影响, 由于蛋白质生成滞后于 mRNA, 使得本该翻译蛋白的组织细胞还未及翻译。(3) 原位 RT-PCR 检测精度高于免疫组织化学, 部分 S100A13 蛋白表达量较少的组织能检测出 mRNA 表达而无法检测出 S100A13 蛋白。(4) 检测 mRNA 表达的组织例数较少。具体情况需进一步实验加以验证。

本课题所使用的原位 RT-PCR 技术是常规的原位杂交与 PCR 的有机结合, 即通过 PCR 技术对靶核酸序列在染色体上或组织细胞内进行原位扩增, 使其拷贝数增加, 然后通过原位杂交技术进行检测, 从而对靶核酸序列进行定性、定位和定量分析。该方法的灵敏性比单独用原位杂交高 2 个数量级^[18-19]。

在本次研究中, S100A13 除在 HCC 中有较高表达外, 在癌旁及正常组织中都有一定程度的表达, 但 HCC 中的表达率及表达量均明显高于癌旁及正常组织。之前已经发现, S100A13 可能与黑素瘤的血管生成相关^[20], 进一步研究其对肝癌组织影响, 若对正常组织作用较小而对癌组织影响较大, 仍然有望发掘出其作为肝癌治疗靶点的潜力; 同时, 继续对 S100A13 的血清学进行研究也可以判断其作为肝癌早期诊断指标的价值。综上所述, S100A13 蛋白对

肝癌的发展有重要影响,具有作为肿瘤诊断标志物及治疗靶点的潜力。

[参 考 文 献]

- [1] Donato R. S100: A multigenic family of calcium- modulated proteins of the EF- hand type with intracellular functional roles [J]. *Ira Biochem Cell Biol*, 2001, 33(7): 637-668.
- [2] Smirnov DA, Zweitzig DR, Foulk BW, et al. Global gene expression profiling of circulating tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(12): 4993-4997.
- [3] Baird K, Davis S, Antonescu CR, et al. Gene expression profiling of human sarcomas: Insights into sarcoma biology [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(20): 9226-9235.
- [4] Pierce A, Barron N, Linehan R, et al. Identification of a novel, functional role for S100A13 in invasive lung cancer cell lines [J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(1): 151-159.
- [5] 曹仁贤, 田利娜, 文芳, 等. 过表达 S100A13 基因对甲状腺癌 TT 细胞增殖特性的影响 [J]. *癌症*, 2008, 27(8): 822-827.
- [6] 孙泽峰, 郭雪婷, 李雅娟, 等. 人肝癌血清对人体胚胎干细胞文库的筛选及方法改进 [J]. *生物技术通报*, 2008, 26(S1): 160-164.
- [7] Imai FL, Nagata K, Yonezawa N, et al. Structure of calcium-bound human S100A13 at pH 7.5 at 1.8 Å resolution [J]. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 2008, 64(Pt2): 70-76.
- [8] Ridinger K, Schäfer BW, Durussel I, et al. S100A13 biochemical characterization and subcellular localization in different cell lines [J]. *Biol Chem*, 2000, 275(12): 8686-8694.
- [9] Daily AE, Rajalingam D, Kumar TK. Interactions defined between S100A13 and annexin peptides: Insight into non-classical secretion [J]. *Biophysical Journal*, 2009, 96(3): 446a-447a.
- [10] Matsunaga H, Ueda H. Evidence for serum-deprivation-induced co-release of FGF-1 and S100A13 from astrocytes [J]. *Neurochem Int*, 2006, 49(3): 294-303.
- [11] Matsunaga H, Ueda H. Synergistic Ca^{2+} and Cu^{2+} requirements of the FGF1-S100A13 interaction measured by quartz crystal microbalance: An initial step in amlexanox-reversible non-classical release of FGF1 [J]. *Neurochem Int*, 2008, 52(6): 1076-1085.
- [12] Graziani I, Doyle A, Sterling S, et al. Protein folding does not prevent the nonclassical export of FGF1 and S100A13 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381(3): 350-354.
- [13] Mohan SK, Rani SG, Kumar SM, et al. S100A13-C2A binary complex structure – a key component in the acidic fibroblast growth factor for the non-classical pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380(3): 514-519.
- [14] Rani SG, Mohan SK, Yu C. Molecular level interactions of S100A13 with amlexanox; Inhibitor for formation of the multiprotein complex in the nonclassical pathway of acidic fibroblast growth factor [J]. *Biochemistry*, 2010, 49(11): 2585-2592.
- [15] Billotet C, Janji B, Thiery JP, et al. Rapid tumor development and potent vascularization are independent events in carcinoma producing FGF-1 or FGF-2 [J]. *Oncogene*, 2002, 21(53): 8128-8139.
- [16] Semov A, Moreno MJ, Onichtchenko A, et al. Metastasis-associated protein S100A4 induces angiogenesis through interaction with annexin II and accelerated plasmin formation [J]. *Biol Chem*, 2005, 280(21): 20833-20841.
- [17] Soren H, Stanimir K, Ivan K. Endoglin (cd105) and S100A13 as markers of active angiogenesis in endometriosis [J]. *Reprod Biol*, 2005; 5(1): 51-67.
- [18] Nuovo GJ. *In situ* PCR: Protocols and applications [J]. *Genome Res*, 1995, 4(4): s151-s167.
- [19] Nuovo GJ, Gallery F, MacConne P. Analysis of nonspecific DNA synthesis during *in situ* PCR and solution-phase PCR [J]. *PCR Methods Applic*, 1994, 4(2): 89-96.
- [20] Massi D, Landriscina M, Piscazzi A, et al. S100A13 is a new angiogenic marker in human melanoma [J]. *Mod Pathol*, 2010, 23(6): 804-813.

[收稿日期] 2010 - 11 - 20 [修回日期] 2011 - 03 - 01

[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* 等。(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 的符号为 *FMRI*、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中前 3 个字母应斜体,例如 *Hind* III、*Bam* HI、*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*(*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 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。

(本刊编辑部)