

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X·2008·04·017

· 论 著 ·

## 实时定量 PCR 检测 VEGF 在子宫内膜癌及外周血中的表达及其临床意义

马德花<sup>1</sup>, 赵淑萍<sup>1\*</sup>, 马先伟<sup>2</sup>(1. 青岛大学医学院附属医院 妇科, 山东 青岛 266003; 2. 日照市莒县寨里河乡中心医院 妇产科, 山东 莒县 276517)

[摘要] 目的: 检测血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因在子宫内膜癌、癌周组织、正常子宫内膜及外周血循环中的表达情况, 分析其在肿瘤生长、转移中的作用。方法: 采用荧光实时定量 PCR 方法检测 51 例子宫内膜癌患者的癌组织和癌周组织、40 例正常子宫内膜组织及其对应的患者外周血中的 VEGF 表达情况, 分析其与临床病理参数之间的关系。结果: 子宫内膜癌组织中 VEGF 表达水平显著高于癌周组织及正常子宫内膜组织( $P < 0.05$ ); 与临床分期、组织学分级、淋巴结转移、肌层浸润深度密切相关(均  $P < 0.05$ ), 但与肿瘤病理类型及患者是否绝经无明显相关性( $P > 0.05$ )。子宫内膜癌患者外周血中 VEGF 的表达明显高于正常对照( $P > 0.05$ ), 且与临床分期、组织学分级、病理类型及淋巴结转移有显著相关(均  $P < 0.05$ ), 但与肌层浸润程度及患者是否绝经无明显相关性。结论: 荧光实时定量 PCR 可以敏感、特异性地检测子宫内膜癌组织及外周血中 VEGF 的表达, VEGF 在子宫内膜癌的发生、侵袭、转移过程中可能起重要作用。

[关键词] 血管内皮生长因子基因; 子宫内膜肿瘤; 荧光实时定量 PCR

[中图分类号] R737.33; R730.23

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)04-0379-05

## Real-time quantitative PCR in determination of VEGF expression in endometrial carcinoma and peripheral blood and its clinical relevance

MA De-hua<sup>1</sup>, ZHAO Shu-ping<sup>1\*</sup>, MA Xian-wei<sup>2</sup>(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao 266003, Shangdong Province, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Central Hospital of Zhailihe Town, Juxian County, Rizhao 276517, Shandong Province, China)

[Abstract] **Objective:** To examine the expression of VEGF gene in the endometrial carcinoma tissues, para-tumor tissues, normal endometria and peripheral blood, and analyze the role of VEGF in tumor growth and tumor metastasis. **Methods:** Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of VEGF gene in 51 endometrial carcinoma samples and the corresponding para-tumor tissues, 40 normal endometria samples and their corresponding peripheral blood samples. The relation between the VEGF expression and clinical pathological parameters was analyzed. **Results:** The expression of VEGF gene was higher in the endometrial carcinoma tissues than in the corresponding para-tumour tissues and normal endometrial tissues ( $P < 0.05$ ). VEGF expression in endometrial carcinoma was significantly correlated with the clinical stage, histological grade, lymph node metastasis and depth of myometrial invasion (all  $P < 0.05$ ), but not with the presence of menopause or the pathological types of the tumor ( $P > 0.05$ ). The expression of VEGF in peripheral blood was higher in patients with endometrial carcinoma than that in the normal controls; and the expression was significantly correlated with the clinical stage, histological grades, pathological types and the presence of lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ), but not with the depth of myometrial invasion and the presence of menopause ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** Real-time fluorescent quantitative PCR can sensitively, specifically detect the expression of VEGF in the endometrial carcinoma tissues and peripheral blood samples. VEGF might play an important role in the development, invasion, and metastasis of endometrial carcinoma.

[Key words] Vascular endothelial growth factor gene; endometrial neoplasms; Real-time quantitative PCR

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(4): 379-387]

[基金项目] 青岛市科技局发展基金资助(No.051NS77). Supported by Science and Technology Foundation of Qingdao (No.051NS77)

[作者简介] 马德花(1980-),女,山东省日照市人,硕士,主要从事妇科肿瘤方面的研究

\* Corresponding author. E-mail: zhaoshuping2006@163.com

子宫内膜癌是女性生殖道常见的三大恶性肿瘤之一,占女性生殖道恶性肿瘤的 20% ~ 30%,近年发病率呈明显增高和低龄化趋势<sup>[1]</sup>,如何控制其复发和转移是临床的棘手问题。血管生成是肿瘤生长和转移的关键步骤,肿瘤的血管生成受到多种促血管生成因子的影响。血管内皮生长因子( vascular endothelial growth factor, VEGF )能特异性作用于血管内皮细胞,是一种对血管生长有极强诱导作用的因子。关于 VEGF 在子宫内膜癌组织中的表达和意义,国内外学者研究较多,但研究结果存在较大的差异。本课题以荧光实时定量 PCR 方法检测 VEGF 基因在子宫内膜癌和癌周组织、正常内膜及其外周血循环中的表达,探讨 VEGF 与子宫内膜癌临床病理参数的关系及其临床意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

51 例子宫内膜癌患者均为我院 2003 年 6 月至 2005 年 12 月手术治疗患者,患者年龄 25 ~ 77 岁,中位年龄 55 岁。按照 FIGO 2000 年子宫内膜癌分期标准,计有 I 期 28 例、II 期 13 例、III 期及以上 10 例;组织学分级高分化腺癌 15 例、中分化腺癌 20 例、低分化及未分化 16 例;术后证实无淋巴结转移 41 例,淋巴结转移 10 例;肌层浸润深度 ≤ 1/2 者 22 例,肌层浸润深度 > 1/2 者 29 例;所有病例均经病理证实,术前均未经任何治疗,临床资料完整。

### 1.2 标本采集

手术切除的子宫内膜癌标本离体后,立即于无菌状态下先取距肿瘤边缘 1 cm 外的癌旁组织,然后沿肿瘤边缘切取生长活跃的癌组织共 51 份。将所取组织切成长径为 3 ~ 5 mm 的组织小碎块装入无 RNA 酶污染的 EP 管内,立即放入液氮中,随后将其转入 -70 °C 冰箱内保存。采用同样的方法切取和保存同期因子宫肌瘤行全子宫切除患者的正常内膜组织 40 份作为对照组。同时采取所有标本采集对象外周血 5 ml 贮存于肝素抗凝管中。

### 1.3 主要试剂与仪器

RNA 提取试剂盒 Trizol Reagent 为美国 Gibco 公司产品,引物、荧光探针由上海生物化工有限公司合成,TAKARA ExScript™ RT-PCR Kit( Perfect Real Time )购自大连宝生生物工程有限公司,ABI PRISM 7500 荧光实时定量 PCR 仪为美国 PE 公司生产。

### 1.4 实时定量 PCR 检测子宫内膜癌、周组织及正常子宫内膜中 VEGF 的表达

取 50 ~ 100 mg 的标本应用 Trizol Reagent 试剂

盒,按说明书要求提取总 RNA,于 -70 °C 冰箱保存待用。20 μl 反转录反应体系中经特异性下游引物反转录成 cDNA 后,用 EASY Dilution 将 cDNA 液按 10<sup>0</sup>、10<sup>1</sup>、10<sup>2</sup>、10<sup>3</sup> 梯度稀释后,各取 2 μl 稀释好的 cDNA 进行 Real-time PCR 反应,检测目的基因的扩增效率和管家基因的扩增效率一致,可应用 ΔΔCt 方法进行相对定量<sup>[2]</sup>。

取 0.5 μg 总 RNA 按照 TAKARA ExScript™ RT-PCR Kit( Perfect Real Time )说明书进行,VEGF 探针: 5'-GCAAGGCGAGGCAGCTTGAGT- 3'; 引物,上游 5'-AAGATCCGCAGAC GTGTAATGTT-3',下游 5'-CGGCTTGTCACATGCAAGTA-3'。GAPDH 探针: 5'-CATGCCATCACTGCC ACCCAGAAGA-3',引物,上游: 5'-CTTAGCACCCCTGGCCAAG -3',下游: 5'-GATGTTCTGGAGAGCCCCG-3'。逆转录条件: 42 °C 15 min, 95 °C 2 min。PCR 循环参数: 95 °C 10 s, 95 °C 5 s, 60 °C 34 s, 40 个循环。按照下列公式计算样本中 VEGF 的相对表达量<sup>[2]</sup>: ΔCt( 目的基因 ) = 目的基因 Ct - 内对照基因 Ct; ΔΔCt = ΔCt( 目的基因 ) - ΔCt( 标准值 ); 目的基因的相对拷贝量为 2<sup>-ΔΔCt</sup>。

### 1.5 统计学处理

用 SPSS11.5 统计软件进行统计学处理,两组之间的比较采用 t 检验,组间的两两比较采用 S-N-K 法。

## 2 结果

### 2.1 VEGF 在子宫内膜癌、癌周组织及正常子宫内膜组织中的表达

实时定量荧光 PCR 检测显示,3 种组织中 VEGF 的表达量有显著性差异( F = 10. 24, P < 0. 05 ); VEGF 在子宫内膜癌中的表达量明显高于癌周组织( Q = 5. 42, P < 0. 05 ); 在癌周组织中的表达量显著高于正常子宫内膜组织( Q = 4. 27, P < 0. 05 ),见表 1。

### 2.2 VEGF 在子宫内膜癌组织中的表达与临床病理参数间的关系

检测结果显示,子宫内膜癌组织中 VEGF 的表达量与临床分期[ Q( I 期/ II 期 ) = 3. 97, P < 0. 05; Q( I 期/ ≥ III 期 ) = 6. 35, P < 0. 05; Q( II 期/ ≥ III 期 ) = 3. 50, P < 0. 05 ],组织学分级[ F = 5. 01, P < 0. 05; Q( G1/G2 ) = 4. 01, P < 0. 05; Q( G1/G3 ) = 5. 33, P < 0. 05; Q( G2/G3 ) = 4. 24, P < 0. 05 ],肌层浸润程度( t = 5. 30, P < 0. 05 )及淋巴结转移( t = 5. 23, P < 0. 05 )显著相关,但与癌症的病理类型( t

=2.98,  $P > 0.05$ )及患者是否绝经( $t = 3.10, P > 0.05$ )无明显相关(表2)。

实时定量 PCR 检测结果显示,子宫内膜癌患者外周血中 VEGF 的表达量明显高于正常对照组( $t = 76.27, P < 0.01$ ,表3)。

2.3 子宫内膜癌患者外周血中 VEGF 的表达

表1 实时定量 PCR 检测子宫内膜癌组织中 VEGF 的表达  
Tab.1 Expression of VEGF in endometrial carcinoma tissue by Real-time PCR

Group	n	ΔCt	-ΔΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>
Normal endometria	40	6.88 ± 1.03	0.00 ± 1.03	1(0.49 ~ 2.04)
Para-tumour tissue	51	3.14 ± 0.92	3.74 ± 0.92	13.36(7.06 ~ 25.28)
Endometrial carcinoma	51	1.02 ± 0.62	5.86 ± 0.92	58.08(30.70 ~ 109.90)

表2 子宫内膜癌组织 VEGF 的表达与临床病理参数间的关系

Tab.2 Relationship between VEGF expression in endometrial carcinoma tissue and clinicopathological parameters

Index		n	ΔCt	-ΔΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>	P
Clinical stage	I	28	1.499 ± 0.65	0.00 ± 0.65	1.00(0.64 ~ 1.56)	<0.05
	II	13	0.91 ± 0.67	0.58 ± 0.67	1.50(0.96 ~ 2.39)	
	≥ III	10	-0.16 ± 0.48	1.65 ± 0.48	3.16(2.25 ~ 4.42)	
Histological grade	G1	15	1.93 ± 0.53	0.00 ± 0.53	1.00(0.69 ~ 1.44)	<0.05
	G2	20	1.06 ± 0.42	0.87 ± 0.42	1.83(1.37 ~ 2.45)	
	G3	16	0.13 ± 0.67	1.80 ± 0.67	3.48(2.19 ~ 5.54)	
Myometrial invasion	≤ 1/2	22	1.77 ± 0.51	0.00 ± 0.51	1.00(0.70 ~ 1.42)	<0.05
	> 1/2	29	0.46 ± 0.53	1.31 ± 0.53	2.48(1.72 ~ 3.58)	
Lymph-node metastasis	No	41	1.31 ± 0.66	0.00 ± 0.66	1.00(0.63 ~ 1.58)	<0.05
	Yes	10	-0.16 ± 0.48	1.47 ± 0.48	2.77(1.98 ~ 3.88)	
Menopause	Yes	22	1.15 ± 0.88	0.00 ± 0.88	1.00(0.54 ~ 1.84)	>0.05
	No	29	0.93 ± 0.73	0.22 ± 0.73	1.16(0.70 ~ 1.93)	
Pathological type	Adenocarcinoma	45	1.03 ± 0.34	0.00 ± 0.34	1.00(0.79 ~ 1.27)	>0.05
	Others	6	0.99 ± 0.79	0.04 ± 0.79	1.03(0.59 ~ 1.78)	

表3 VEGF 在子宫内膜癌组及正常对照组外周血中的表达

Tab.3 Expression of VEGF in peripheral blood of patients with endometrial carcinoma and normal controls

Group	n	ΔCt	-ΔΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>	P
Control	40	7.14 ± 1.01	0.00 ± 1.01	1(0.50 ~ 2.01)	$P < 0.01$
Endometrial carcinoma	51	4.08 ± 0.97	3.06 ± 1.27	16.91(8.63 ~ 33.13)	

2.4 子宫内膜癌患者外周血中 VEGF 的表达与临床病理参数的关系

经统计学分析表明,子宫内膜癌患者外周血中

VEGF 的表达量与临床分期[ $Q(I \text{ 期}/II \text{ 期}) = 4.22, P < 0.05$ ;  $Q(I \text{ 期}/\geq III \text{ 期}) = 7.56, P < 0.05$ ;  $Q(II \text{ 期}/\geq III \text{ 期}) = 3.96, P < 0.05$ ],组织学分级[ $Q$

( $G_1/G_2$ ) = 3.01,  $P < 0.05$ ;  $Q(G_1/G_3) = 9.62, P < 0.05$ ;  $Q(G_2/G_3) = 5.20, P < 0.05$  ]、病理类型( $t = 1.33, P > 0.05$ )及患者是否绝经( $t = 0.623, P > 0.05$ )及淋巴结转移( $t = 11.74, P < 0.05$ )无明显相关(表4)。

表4 子宫内膜癌患者外周血中 VEGF 的表达与临床病理参数的关系  
Tab.4 Relationship between peripheral blood expression of VEGF in patients with endometrial carcinoma and clinicopathological parameters

Index		n	ΔCt	-ΔΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	P
Clinical stage	I	28	1.11 ± 0.23	0.00 ± 0.23	1.00(0.85 ~ 1.17)	<0.05
	II	13	0.45 ± 0.34	0.66 ± 0.34	1.58(1.25 ~ 2.00)	
	≥ III	10	-0.66 ± 0.29	1.77 ± 0.29	3.41(2.79 ~ 4.17)	
Histological grade	G1	15	1.72 ± 0.49	0.00 ± 0.49	1.00(0.71 ~ 1.40)	<0.05
	G <sub>2</sub>	20	0.91 ± 0.43	0.81 ± 0.43	1.75(1.30 ~ 2.36)	
	G <sub>3</sub>	16	-0.85 ± 0.37	2.57 ± 0.37	5.94(4.59 ~ 7.67)	
Myometrial invasion	≤ 1/2	22	0.78 ± 0.74	0.00 ± 0.74	1.00(0.60 ~ 1.67)	>0.05
	> 1/2	29	0.45 ± 0.66	0.33 ± 0.66	1.26(1.80 ~ 1.99)	
Lymph node metastasis	No	41	1.05 ± 1.00	0.00 ± 1.00	1.00(0.50 ~ 2.00)	<0.05
	Yes	10	-1.27 ± 0.81	2.32 ± 0.81	4.99(2.85 ~ 8.75)	
Menopause	Yes	22	0.46 ± 0.91	0.00 ± 0.91	1.00(0.53 ~ 1.88)	>0.05
	No	29	0.70 ± 0.78	-0.24 ± 0.78	0.85(0.49 ~ 1.45)	
Pathological type	Adenocarcinoma	45	0.97 ± 0.71	0.00 ± 0.71	1.00(0.61 ~ 1.64)	<0.05
	Others	6	-2.22 ± 0.74	3.19 ± 0.74	9.13(5.46 ~ 15.2)	

### 3 讨论

血管形成在实体肿瘤的生长、浸润、转移中起重要作用<sup>[4]</sup>。VEGF 是目前所认识的最主要的调控实体瘤血管发生和新生血管形成的因子之一,不仅有促血管新生的作用,还有促淋巴管形成的作用,已成为目前研究的热点。

已有研究表明,有些实体肿瘤中 VEGF 的表达明显高于正常组织<sup>[5]</sup>。本研究采用实时定量荧光 PCR 技术检测子宫内膜癌组织、癌周组织及正常内膜组织中 VEGF 基因的表达,结果显示 VEGF 在子宫内膜癌、癌周组织、正常子宫内膜中均有表达,但循正常子宫内膜→癌周组织→内膜癌组织的次序 VEGF 的表达进行性增高,这与项达军等<sup>[6]</sup>研究结果相符。本研究还发现子宫内膜癌组织临床分期越高、组织学分级越低、肌层浸润越深,VEGF 表达水平越高,由此提示 VEGF 表达水平在一定程度上反映肿瘤的局部浸润能力与转移潜能,反映肿瘤的负

荷和肿瘤进展的程度,与肿瘤的转移、分期及预后密切相关。本实验中还发现有盆腔淋巴结转移者 VEGF 表达水平显著高于无盆腔淋巴结转移者,提示 VEGF 表达与盆腔淋巴结转移密切相关,VEGF 表达水平高者更易发生盆腔淋巴结转移,这与 Hirai<sup>[7]</sup>及 Kamat<sup>[8]</sup>等研究结果相符。Ozuyal 等<sup>[9]</sup>的研究表明 VEGF 与子宫内膜癌的病理类型高度相关,易于转移的病理类型 VEGF 含量高;但本实验结果显示 VEGF 与子宫内膜癌的病理类型无关,这种结果的差异可能与多种调控因子对血管生成调节的复杂性有关,也可能是因为实验方法、实验数据处理分析方法不同而造成的。本研究观察到 VEGF 的含量与患者是否绝经无明显的相关性,这与 Kim<sup>[10]</sup>研究结果相符,后者认为子宫内膜癌 VEGF 的表达与雌激素和孕激素的水平无关,故本研究可以认为患者是否绝经并不是子宫内膜癌发生及转移的高危因素。

有关肿瘤患者外周血中 VEGF 含量测定的研究较少。本实验发现子宫内膜癌患者外周血中 VEGF

的含量明显高于正常对照者,子宫内膜癌组织临床分期越晚,组织分级越差,其外周血中 VEGF 的含量越高;VEGF 的表达在高分化腺癌→中分化腺癌→未分化癌中含量依次升高;有淋巴结转移者含量明显高于无淋巴结转移者,血液中 VEGF 含量越高,其后发生转移的可能性越大,推测可能是细胞侵袭转移及血管生成过程中,子宫内膜癌组织分泌大量 VEGF 进入血液循环,促进其转移和复发。VEGF 过表达又可以导致活跃的血管生成,且这些肿瘤新生血管具有明显的结构异常,促使具有转移潜能的癌细胞加快进入血循环,从而促进其在远处形成微转移<sup>[11]</sup>。外周血中 VEGF 含量与子宫内膜癌患者是否绝经无明显相关性,这与组织中的研究结果一致。VEGF 在组织中的含量与肌层浸润程度成正相关,但在血液中却未显示出两者之间的相关性。因此,本研究推测肌层浸润只是内膜癌发展的一个过程,只有当肿瘤生长到一定的体积时,即有脱落的肿瘤细胞进入血循环而发生血源性播散,外周血中 VEGF 的表达可能与循环中已存在的癌细胞有关。

实时定量荧光 PCR 检测子宫内膜癌组织及外周血中 VEGF 表达的方法具有较高的敏感性和特异性,且操作方便,在肿瘤诊断和转移的监测方面有一定的应用前景;对筛选高危患者、指导治疗、判断疗效以及评价预后也有一定的指导意义。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics, 2007[ J ]. CA Cancer J Clin, 2007, 57( 1 ): 43-66.
- [ 2 ] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C [ T ]) method[ J ]. Methods, 2001, 25( 4 ): 402-408.

- [ 3 ] Burger H, Foekens JA, Look MP, *et al.* RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer: correlation with chemotherapeutic response[ J ]. Clin Cancer Res, 2003, 9( 2 ): 827-836.
- [ 4 ] Saintigny P, Coulon S, Kambouchner M, *et al.* Real-time RT-PCR detection of CK19, CK7 and MUC1 mRNA for diagnosis of lymph node micrometastases in non small cell lung carcinoma[ J ]. Int J Cancer, 2005, 115( 5 ): 777-782.
- [ 5 ] Lee SJ, Lee SY, Jeon HS, *et al.* Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of primary lung cancer[ J ]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2005, 14( 3 ): 571-575.
- [ 6 ] 项达军, 薛文群, 冯一中, 等. CD44V6, bcl-2 和 VEGF 在子宫内膜癌中的表达及其意义[ J ]. 癌症, 2003, 22( 6 ): 592-596.
- [ 7 ] Hirai M, Nakagawara A, Oosaki T, *et al.* Expression of vascular endothelial growth factors ( VEGF-A/VEGF-1 and VEGF-C/VEGF-2 ) in postmenopausal uterine endometrial carcinoma[ J ]. Gynecol Oncol, 2001, 80( 2 ): 181-188.
- [ 8 ] Kamat AA, Merritt WM, Coffey D, *et al.* Clinical and biological significance of vascular endothelial growth factor in endometrial cancer[ J ]. Clin Cancer Res, 2007, 13( 24 ): 7487-7495.
- [ 9 ] Ozuyal S, Bilgin T, Ozan H, *et al.* Angiogenesis in endometrial carcinoma: correlation with survival and clinicopathologic risk factors[ J ]. Gynecol Obstet Invest, 2003, 55( 3 ): 173-177.
- [ 10 ] Kim YB, Berek JS, Martinez-Maza O, *et al.* Vascular endothelial growth factor expression is not regulated by estradiol or medroxyprogesterone acetate in endometrial carcinoma[ J ]. Gynecol Oncol, 1996, 61( 1 ): 97-100.
- [ 11 ] Tamura M, Ohta Y. Serum vascular endothelial growth factor C level in patients with primary nonsmall cell lung carcinoma: a possible diagnostic tool for lymph node metastasis[ J ]. Cancer, 2003, 98( 6 ): 1217-1222.

[ 收稿日期 ] 2008 - 03 - 26 [ 修回日期 ] 2008 - 07 - 01  
[ 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 *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中前 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<sub>r</sub>*、物质的量浓度 *c<sub>B</sub>* 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)