

# 实时荧光定量RT-PCR检测结直肠癌中外周血端粒酶逆转录酶mRNA的表达及其临床意义

司君利, 亓玉琴, 周长宏, 刘吉勇

## ■背景资料

端粒酶活性检测对于恶性肿瘤的诊断具有较强的专一性, 被认为是目前最具特异性和普遍性的恶性肿瘤标志物。本研究采用敏感的实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测结直肠癌患者外周血端粒酶逆转录酶(hTERT)mRNA表达, 探讨其对结直肠癌微转移的诊断价值。

司君利, 亓玉琴, 周长宏, 青岛大学医学院附属青岛市立医院消化科 山东省青岛市 266011

刘吉勇, 山东省立医院消化科 山东省济南市 250021

司君利, 硕士, 副主任医师, 主要从事肿瘤转移的基础临床研究。

青岛市科技计划资助项目, No. kzd-19

作者贡献分布: 此课题由司君利与亓玉琴设计; 研究过程由司君利, 亓玉琴及刘吉勇操作完成; 研究所用器材及试剂由周长宏提供; 数据分析及论文写作由司君利与亓玉琴完成。

通讯作者: 亓玉琴, 266011, 山东省青岛市胶州路1号, 青岛大学医学院附属青岛市立医院消化科, zxz3842417@126.com

收稿日期: 2008-10-26 修回日期: 2008-11-14

接受日期: 2008-11-17 在线出版日期: 2008-12-28

## Detection of peripheral blood human telomerase reverse transcriptase mRNA in colorectal cancer with real-time fluorescent quantitative RT-PCR and its clinical significance

Jun-Li Si, Yu-Qin Qi, Chang-Hong Zhou, Ji-Yong Liu

Jun-Li Si, Yu-Qin Qi, Chang-Hong Zhou, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao Medical College of Qingdao University, Qingdao 266011, Shandong Province, China

Ji-Yong Liu, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021, Shandong Province, China

Supported by: the Science and Technology Program Foundation of Qingdao, Shandong Province, No. kzd-19

Correspondence to: Yu-Qin Qi, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao Medical College of Qingdao University, Qingdao 266011, Shandong Province, China. zxz3842417@126.com

Received: 2008-10-26 Revised: 2008-11-14

Accepted: 2008-11-17 Published online: 2008-12-28

## Abstract

**AIM:** To establish a real-time fluorescent quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) system for determining the expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA in colorectal cancer (CRC), and to evaluate their diagnostic value for micrometastasis of CRC.

**METHODS:** The expression of hTERT mRNA in 53 CRC patients and 21 healthy subjects was

determined using real-time fluorescent quantitative RT-PCR. Correlations between their expression and clinical pathological characteristics of CRC were analyzed. Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to evaluate the diagnostic value for micrometastasis of CRC.

**RESULTS:** The expression levels of peripheral blood hTERT mRNA were significantly higher in CRC patients than in the normal controls ( $t' = 7.953, P < 0.05$ ), and their expressions were correlated with lymph node metastasis, hematogenous metastasis and TNM staging of CRC ( $t'/t = 2.334, 2.149, 2.460$ , all  $P < 0.05$ ). The area under ROC curve of hTERT mRNA in diagnosing CRC was 0.91, and the cutoff value was  $Ct \leq 32$ .

**CONCLUSION:** Real-time fluorescent quantitative RT-PCR has an advantage of giving the quantitative expression of hTERT mRNA compared with the traditional PCR which was only applied to the qualitative expression. Peripheral blood hTERT mRNA is a novel and excellent marker for micrometastasis of CRC.

**Key Words:** Colorectal neoplasms; Micrometastasis; Human telomerase reverse transcriptase; Real-time fluorescent quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction

Si JL, Qi YQ, Zhou CH, Liu JY. Detection of peripheral blood human telomerase reverse transcriptase mRNA in colorectal cancer with real-time fluorescent quantitative RT-PCR and its clinical significance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(36): 4066-4070

## 摘要

**目的:** 建立外周血端粒酶逆转录酶(hTERT)mRNA表达量检测的实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)系统, 检测结直肠癌患者hTERT mRNA的表达并探讨其对结直肠癌微转移的诊断价值。

**方法:** 用实时荧光定量RT-PCR技术检测53例结直肠癌患者和21名健康人的外周血标本hTERT mRNA表达情况, 分析其表达与肿瘤

## ■同行评议者

刘连新, 教授, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普通外科; 王健生, 副教授, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

临床病理特征的关系并应用接受者操作特征曲线(ROC曲线)分析hTERT mRNA检测对结直肠癌的诊断价值。

**结果:** 结直肠癌组外周血hTERT mRNA表达水平显著高于正常对照组( $t' = 7.953, P < 0.05$ ), 其表达与肿瘤淋巴结转移、血行转移和TNM分期相关( $t'/t = 2.334, 2.149, 2.460$ , 均 $P < 0.05$ )。hTERT mRNA诊断结直肠癌的ROC曲线下面积0.91, 诊断界值为 $Ct \leq 32$ 。

**结论:** 应用实时荧光定量RT-PCR技术克服了传统PCR只能定性检测而不能定量检测的缺点; 外周血hTERT mRNA可作为诊断结直肠癌微转移的标记物。

**关键词:** 结直肠肿瘤; 微转移; 外周血端粒酶逆转录酶(hTERT)mRNA; 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应

司君利, 元玉琴, 周长宏, 刘吉勇. 实时荧光定量RT-PCR检测结直肠癌中外周血端粒酶逆转录酶mRNA的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(36): 4066-4070  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/4066.asp>

## 0 引言

传统的PCR技术由于不能准确的定量, 敏感度及特异性较差等缺点, 在临床上的应用受到限制。因此为更准确地进行定量, 人们对PCR技术不断革新, 其中实时荧光定量PCR技术是最成功的一种, 目前广泛用于mRNA定量研究<sup>[1]</sup>。

结直肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 约50%新诊断的结直肠癌患者最终发生转移, 接受根治手术者约20%-45%于5年内出现转移<sup>[2-3]</sup>, 而这些患者在术中探查和手术前后常规检查(包括B超、CT、常规病理检查等)时可能并未发现显性转移灶。因此, 早期发现结直肠癌微转移具有重要意义。本研究采用敏感的实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测结直肠癌患者外周血端粒酶逆转录酶(hTERT)mRNA的表达水平, 进一步了解其对诊断结直肠癌微转移的诊断价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 青岛市市立医院2007-01/2008-02 53例住院结直肠癌患者外周血标本为肿瘤组, 诊断经病理学检查证实, 未接受过化疗、放疗和免疫治疗, 其中男34例, 女19例, 年龄25-78(平均58)岁。同期21名健康体检者的外周血标本作为正常对

照组, 其中男12例, 女9例, 年龄23-55(平均42)岁。主要试剂和仪器: Ficoll分离液和Simply P总RNA提取试剂盒(杭州博日科技有限公司); SYBR Green I 嵌合荧光法实时RT-PCR试剂盒(TaKaRa公司)。实时荧光定量PCR仪(ABI 7500 Real-time PCR System, Applied Biosystems)。

### 1.2 方法

**1.2.1 外周血单个核细胞分离:** 采集受试者空腹静脉血5 mL, EDTA-Na抗凝, 3 h内经Ficoll分离液分离, 反复离心、洗涤细胞, 末次离心后弃上清, -70℃低温冰箱保存。

**1.2.2 RNA提取:** 严格按照试剂盒操作说明进行。所得RNA  $A_{260nm}/A_{280nm}$  介于1.7-2.2之间, 符合纯度要求。

**1.2.3 实时荧光定量RT-PCR:** 根据GenBank中的相应序列, 以Primer Premier 5.0软件设计引物, 由上海生工生物工程技术有限公司合成(表1)。逆转录和PCR反应严格按照试剂盒操作说明进行: 10  $\mu$ L逆转录反应体系: 5 $\times$ PrimeScript<sup>TM</sup> Buffer 2  $\mu$ L, PrimeScript<sup>TM</sup> RT Enzyme Mix 0.5  $\mu$ L, Oligo dT Primer 0.5  $\mu$ L, Random 6 mers 0.5  $\mu$ L, Total RNA 2  $\mu$ L, RNase Free dH<sub>2</sub>O 4.5  $\mu$ L, 反应条件: 37℃ 25 min, 85℃ 1 min, -20℃保存备用。20  $\mu$ L PCR反应体系中含SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>TM</sup> 10  $\mu$ L、正义和反义PCR引物(6  $\mu$ mol/L)各0.7  $\mu$ L、ROX<sup>TM</sup> Passive Reference Dye 0.4  $\mu$ L、dH<sub>2</sub>O 6.2  $\mu$ L和模板mRNA 2  $\mu$ L, 反应条件: 95℃ 10 s; 95℃ 5 s, 60℃ 45 s, 共40个循环, 反应结束后, 由电脑自动分析计算出定量结果。

**1.2.4 结果判断:**  $\Delta$ 循环阈值(cycle threshold, Ct) = 样品Ct均值-内参照Ct均值,  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct - (\text{随机阴性对照样品Ct均值} - \text{该样品内参照Ct均值})$ , 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示样品中目的基因初始cDNA相对表达量。

**统计学处理** 应用SPSS11.5统计软件, 组间计量资料的比较采用 $t$ 检验。计算各截断点Ct值诊断结直肠癌的敏感性、特异性、阳性预测值(PPV)和阴性预测值(NPV), 确定接受者操作特征曲线(ROC曲线)的曲线下面积(AUC)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 结直肠癌患者与正常对照组hTERT mRNA表达情况** 结直肠癌患者外周血中hTERT mRNA的荧光定量扩增曲线呈现典型的S型曲线(图1), 融解曲线分析可见只有单峰值, 排除了非特异性扩增(图2), 其表达水平平均明显高于正常对照

### ■ 研发前沿

前期研究显示端粒酶与结直肠癌组织相关性的研究取得了重大进展, 近年来外周血肿瘤微转移成为研究的热点, 但是传统影像学检查手段如B超、CT等以及血清肿瘤标记物检测难以发现肿瘤微转移灶, 因此外周血端粒酶逆转录酶(hTERT)mRNA表达有可能成为判断结直肠癌微转移是否发生的一项敏感指标。

## ■创新盘点

本文应用实时荧光定量RT-PCR技术从mRNA水平阐述hTERT mRNA表达对结肠直肠癌微转移的诊断价值。

表 1 PCR引物序列

目的基因	序列	产物长度(bp)
hTERT	正义 5'-CAG CTC CCA TTT CAT CAG CAA-3'	115
	反义 5'-GCG ACA TCC CTG CGT TCT T-3'	
GAPDH (内参照)	正义 5'-TCA TGG GTG TGA ACC ATG AGA A-3'	146
	反义 5'-GGC ATG GAC TGT GGT CAT GAG-3'	

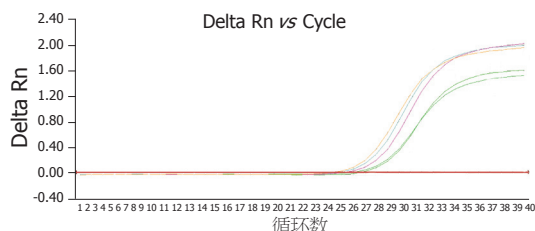


图 1 部分患者标本hTERT mRNA荧光定量扩增曲线。

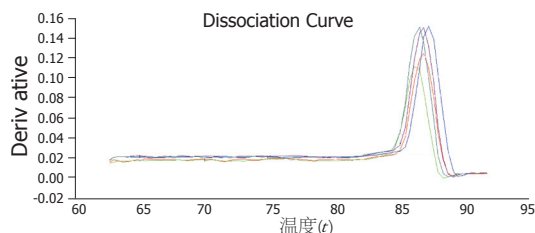


图 2 部分患者标本hTERT mRNA荧光定量溶解曲线。

组( $P<0.05$ , 表2)。

**2.2 结肠直肠癌患者外周血hTERT mRNA表达与临床参数的关系** 53例结肠直肠癌患者按患者的年龄、性别及肿瘤的临床分期, 有无血行转移和淋巴结转移, 浸润深度, 分化程度, 肿瘤直径的大小进行分组, 观察外周血hTERT mRNA在结肠直肠癌患者中的表达情况。由表3可见: 结肠直肠癌患者外周血中hTERT mRNA的检出率与患者的淋巴结转移、血行转移及临床分期呈正相关( $P<0.05$ ), 而与患者的年龄、性别、肿瘤大小、分化程度等临床病理参数差异无统计学意义(表3)。

**2.3 ROC曲线分析** 根据各组标本hTERT mRNA的Ct值, 作ROC曲线分析, 肿瘤组与健康对照组的ROC曲线中曲线下面积(AUC)为0.91(图3); 以第3个截割点即Ct≤32为临床诊断参考值阈点较佳, 在该截割点诊断的敏感性和特异性均较高, hTERT mRNA敏感性与特异性之和为最大, 即发现真正患病者和非患病者的总能力最大(表4)。

### 3 讨论

实时荧光定量PCR是检测PCR过程中每一个循环产物的有效而可靠的方法, 在最佳实验条

表 2 各组外周血hTERT mRNA的阳性表达水平(mean ± SD,  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )

分组	n	hTERT mRNA	t值	P
肿瘤组	53	13.9990 ± 7.7552	7.953	<0.05
对照组	21	0.4770 ± 0.3855		

表 3 结肠直肠癌患者外周血hTERT mRNA表达与临床参数的关系

临床参数	n	hTERT mRNA表达	t值或t'值	P值
性别			0.483	0.631
男	34	13.6119 ± 7.2253		
女	19	14.6918 ± 8.7891		
年龄			1.070	0.319
<50	16	12.3686 ± 7.3889		
≥50	37	14.7040 ± 7.9014		
肿瘤直径(cm)			0.350	0.728
<5	30	14.3280 ± 6.7292		
≥5	23	13.5699 ± 9.0623		
分化程度:			0.308	0.760
高中分化	24	14.3623 ± 6.8191		
低未分化	29	13.6983 ± 8.5610		
浸润深度			0.518	0.607
未及浆膜	18	13.2245 ± 5.9136		
浸及浆膜	35	14.3973 ± 5.6523		
淋巴结转移			2.334	0.024
无转移	28	11.7445 ± 8.2543		
有转移	25	16.5240 ± 6.4099		
血行转移			2.149	0.036
无转移	35	12.4113 ± 8.9409		
有转移	18	17.0861 ± 2.9671		
TNM分期			2.460	0.017
I - II	27	11.5443 ± 8.3420		
III - IV	26	16.5481 ± 6.2816		

件、相同扩增效率的前提下, 反应体系产生一定强度的荧光信号所需的扩增循环数与反应体系中的原始模板数成反比。在实时PCR指数扩增期的某一个时刻, 标本发出的信号比背景信号强得多, 此时即为阈值, 因此PCR反应进行需要一定数量的循环, 使产物能产生足够的荧光



表 4 结直肠癌患者外周血hTERT mRNA检测各截断点诊断价值分析

指标	截断点 Ct值	结直肠癌组 阳性例数(n)	正常对照组 阳性例数(n)	敏感性 (%)	特异性 (%)	PPV (%)	NPV (%)
hTERT	<20	9	0	17.0	100.0	100.0	32.3
mRNA	<24	33	1	62.3	95.2	97.1	50.0
	<28	41	2	77.4	90.5	95.3	61.3
	≤32	47	2	88.7	90.5	95.9	76.0
	>32	6	19	11.3	9.5	24.0	4.1
	>36	3	15	5.7	28.6	16.7	10.7

## ■应用要点

本文对hTERT mRNA进行检测为结直肠癌转移的早期发现, 早期治疗提供依据。

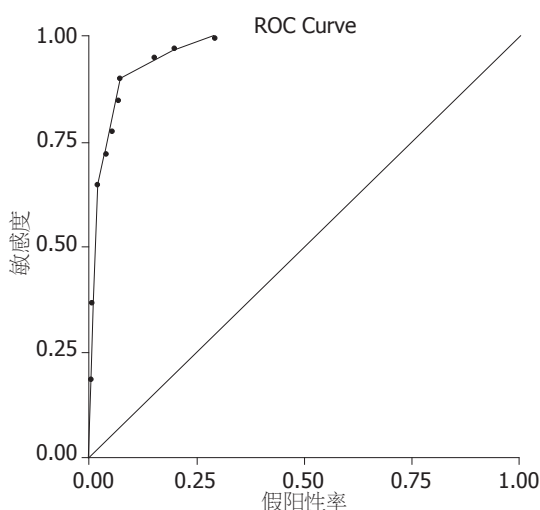


图 3 hTERT mRNA检测ROC曲线。

以达到阈值, 此时的循环数称为Ct, 当扩增完成后, 自动生成荧光强度曲线, 曲线横坐标为扩增循环数, 纵坐标为荧光强度, 阳性标本呈现典型的S型曲线, 而阴性对照是一条不规则的波浪线, 根据阴性对照的最高点确定此次反应的基线, 基线与荧光强度曲线相交的点即为拐点, 其对应的横坐标的循环数为Ct值。其方法操作简便, 具有高度的敏感性和可信的特异性, 目前广泛用于mRNA定量研究。

消化系统恶性肿瘤微转移的诊断是临床难题之一, 许多早期肿瘤患者循环血中可能已有肿瘤细胞存在, 但传统影像学检查手段如B超、CT等以及血清肿瘤标记物检测难以发现微转移灶。外周血不仅是早期转移阶段肿瘤细胞播散的最主要途径, 而且具有取材方便、重复性好、便于筛查、随访等优点, 因此外周血肿瘤微转移指标成为近年研究的热点<sup>[4]</sup>。选择合适的检测指标是肿瘤转移诊断最重要的环节。我们应用端粒重复序列扩增(TRAP)-银染法在国内率先系统研究了端粒酶与消化系统肿瘤的相关性。前期研究显示端粒酶在结直肠癌组织中高表达, 阳

性率达95.3%<sup>[5]</sup>。近年端粒酶与恶性肿瘤相关性的研究取得了重大进展, 很多实验证明在永生化的细胞中, 如肿瘤细胞, 端粒酶是保持高度活性的, 其活性与多种癌症肿瘤的预后有密切的相关性<sup>[6-8]</sup>。Dasi *et al*采用实时定量RT-PCR半定量测定结直肠癌、胰腺癌及淋巴瘤患者血清和血有核细胞中hTERT mRNA的表达定量均高于健康对照者的最高值, 差异有显著统计学意义<sup>[9-10]</sup>。Miura *et al*<sup>[11]</sup>应用该技术检测了78例原发性肝细胞癌患者的血清hTERT mRNA, 89.7%的患者结果阳性。Lledó *et al*<sup>[12]</sup>以实时定量RT-PCR检测结直肠癌患者外周血hTERT mRNA, 结果显示其表达量均高于健康对照者的最高值。本研究采用实时荧光定量RT-PCR结合相应熔解曲线分析, 发现结直肠癌患者外周血hTERT mRNA表达水平显著高于正常对照组, 其表达水平与肿瘤淋巴结转移、血行转移和TNM分期相关, 并同时结合ROC曲线分析提示其对结直肠癌微转移的诊断具有重要意义。

用ROC曲线下面积评价诊断实验的准确性, 一般认为, ROC曲线下面积在0.7-0.9时, 有一定准确性, 面积在0.9以上时有较高的准确性<sup>[13-14]</sup>。本研究中hTERT mRNA检测诊断结直肠癌的AUC为0.91, 提示hTERT mRNA检测对结直肠癌外周血微转移具有较高的诊断价值。

总之, 本研究使用的实时荧光定量聚合酶链反应检测提示hTERT mRNA在结肠癌外周血中有高表达, 外周血hTERT mRNA可作为诊断结直肠癌微转移的标志物。

## 4 参考文献

- Gomes AL, Melo FL, Werkhauser RP, Abath FG. Development of a real time polymerase chain reaction for quantitation of *Schistosoma mansoni* DNA. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101 Suppl 1: 133-136
- Zhang XW, Yang HY, Fan P, Yang L, Chen GY. Detection of micrometastasis in peripheral blood by

## ■同行评价

本文针对结直肠癌患者血中的端粒酶逆转录酶的表达,应用荧光定量实时PCR进行检测,分析其与结直肠癌微转移的关系,设计合理,具有一定的临床应用价值;其方法较为先进,有一定的可操作性和先进性;统计了较多的临床资料,有一定的普遍性。

- 3 Wang JY, Wu CH, Lu CY, Hsieh JS, Wu DC, Huang SY, Lin SR. Molecular detection of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer using RT-PCR: significance of the prediction of postoperative metastasis. *World J Surg* 2006; 30: 1007-1013
- 4 Kodera Y, Nakanishi H, Ito S, Nakao A. [Clinical significance of isolated tumor cells and micrometastases in patients with gastric carcinoma] *Gan To Kagaku Ryoho* 2007; 34: 817-823
- 5 元玉琴, 刘吉勇, 朱菊人. 端粒酶在大肠活检组织中的表达及其临床意义. *中华内科杂志* 2000; 39: 186-187
- 6 Yang C, Przyborski S, Cooke MJ, Zhang X, Stewart R, Anyfantis G, Atkinson SP, Saretzki G, Armstrong L, Lako M. A key role for telomerase reverse transcriptase unit in modulating human embryonic stem cell proliferation, cell cycle dynamics, and in vitro differentiation. *Stem Cells* 2008; 26: 850-863
- 7 Sanz-Casla MT, Vidaurreta M, Sanchez-Rueda D, Maestro ML, Arroyo M, Cerdán FJ. Telomerase activity as a prognostic factor in colorectal cancer. *Onkologie* 2005; 28: 553-557
- 8 Barclay JY, Morris A, Nwokolo CU. Telomerase, hTERT and splice variants in Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 221-227
- 9 Dasí F, Martínez-Rodes P, March JA, Santamaría J, Martínez-Javaloyas JM, Gil M, Aliño SF. Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in the plasma of patients with prostate cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1075: 204-210
- 10 Dasí F, Lledó S, García-Granero E, Ripoll R, Marugán M, Tormo M, García-Conde J, Aliño SF. Real-time quantification in plasma of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA: a simple blood test to monitor disease in cancer patients. *Lab Invest* 2001; 81: 767-769
- 11 Miura N, Shiota G, Nakagawa T, Maeda Y, Sano A, Marumoto A, Kishimoto Y, Murawaki Y, Hasegawa J. Sensitive detection of human telomerase reverse transcriptase mRNA in the serum of patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2003; 64: 430-434
- 12 Lledó SM, Garcia-Granero E, Dasí F, Ripoli R, García SA, Cervantes A, Aliño SF. Real time quantification in plasma of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA in patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2004; 6: 236-42
- 13 余松林. 医学统计学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1642-1678
- 14 Florkowski CM. Sensitivity, Specificity, Receiver-Operating Characteristic (ROC) Curves and Likelihood Ratios: Communicating the Performance of Diagnostic Tests. *Clin Biochem Rev* 2008; 29 Suppl 1: S83-S87

编辑 史景红 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 世界华人消化杂志外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, V<sub>max</sub>不能写Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*ln*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白. (常务副总编辑: 张海宁 2008-12-28)