论著

文章编号:1000-5404(2006)13-1420-04

丙型肝炎病毒慢性感染与IL-8、IP-10、Mig表达相关性研究

王 健[1],赵金红[1],江水清[2],项桂菊[2] ([1]安徽理工大学医学院病原学与免疫学教研室,淮南 232001;[2]淮南第二矿工医院感染科,淮南 232052)

提 要:目的 探讨HCV慢性感染与CXC趋化因子mRNA表达水平的相互关系。**方法** 以Real-time PCR法动态检测慢性丙肝患者IFN-α联合利巴韦林治疗前、治疗3、6个月后IL-8、IP-10、Mig mRNA的表达水平。以趋化因子与GAPDH比值为趋化因子的最终相对表达量。**结果** 慢性丙肝患者HCV-RNA平均水平2.09×10^6拷贝/ml,IL-8、IP-10、Mig mRNA表达水平分别为(1.243 7±0.071 2)、(0.682 8±0.073 8)、(0.668 3±0.075 4),与正常对照相比,差异有显著性($P<0.01$)。IFN-α治疗3个月后HCV-RNA平均水平6.70×10^3拷贝/ml,IL-8、IP-10、Mig mRNA表达水平分别为(1.089 1±0.094 6)、(0.551 2±0.090 2)、(0.560 2±0.096 0),与治疗前相比,差异有显著性($P<0.001$)。IFN-α治疗6个月后HCV-RNA平均水平3.86×10^2拷贝/ml,IL-8、IP-10、Mig mRNA表达水平分别为(1.012 2±0.058 6)、(0.439 5±0.091 3)、(0.420 5±0.084 4),与治疗前相比,差异有显著性($P<0.01$)。HCV 1b和HCV 2a型患者各趋化因子表达水平相似,差异无显著性($P>0.05$)。**结论** 慢性丙肝患者PBMC内IL-8、IP-10、Mig mRNA表达升高,其表达水平与体内HCV-RNA复制水平有关,但与HCV基因型无关。IFN-α能显著抑制HCV复制,间接下调IL-8、IP-10、Mig mRNA表达水平。IFN-α这种综合作用效果,对降低患者体内炎性反应,控制病情发展十分有利。

关键词:丙型肝炎;趋化因子;mRNA;real-time PCR

中图法分类号:R392.13;R512.63;R977 **文献标识码**:A

Relationship between HCV chronic infection and expression of IL-8, IP-10, Mig

WANG Jian[1], ZHAO Jin-hong[1], JIANG Shui-qing[2], XIANG Gui-ju[2] ([1]Department of Etiology and Immunology, Medical College, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, [2]Department of Infectious Diseases, Huainan Second Miner Hospital, Huainan 232052, China)

Abstract: Objective To study the relationship between HCV chronic infection and expression of CXC chemokines mRNA. **Methods** The levels of IL-8, IP-10 and Mig mRNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of chronic hepatitis C patients were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) before, and 3, 6 months after combined therapy of interferon-α (IFN-α) and Ribavirin. The rate of chemokine/GAPDH was regarded as the extreme level of chemokine. **Results** The mean level of HCV-RNA and expressive levels of IL-8, IP-10, Mig mRNA in peripheral blood of HCV chronic infection were 2.09×10^6 copies/ml, and (1.243 7±0.071 2), (0.682 8±0.073 8), (0.668 3±0.075 4), with significant difference with those of normal controls ($P<0.01$). After 3-month treatment, the mean level of HCV-RNA and the expressive levels of IL-8, IP-10, Mig mRNA were 6.70×10^3 copies/ml, (1.089 1±0.094 6), (0.551 2±0.090 2), (0.560 2±0.096 0), respectively. After 6-month treatment, the mean level of HCV-RNA and the expressive levels of IL-8, IP-10, Mig mRNA were 3.86×10^2 copies/ml, (1.012 2±0.058 6), (0.439 5±0.091 3), (0.420 5±0.084 4), respectively. There was a significant difference before and after treatment ($P<0.01$). Similar expression of chemokines was found in the patients with gene type of HCV 1b and HCV 2a ($P>0.05$). **Conclusion** The expressions of IL-8, IP-10 and Mig mRNA in PBMC are high in patients with chronic hepatitis C, and associated with the replication level of HCV, and less associated with the gene type of HCV. IFN-α can effectively restrain the replication of HCV and down-regulate the levels of IL-8, IP-10 and Mig mRNA near to normal level in patients with chronic hepatitis C. IFN-α plays an important role in down-regulating inflammation response and controlling the development of the patients' condition.

Key words: hepatitis C; chemokine; mRNA; real-time quantitative polymerase chain reaction

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金资助重点项目(2003kj027zd)

Supported by the Key Program of the Natural Science Foundation by Department of Education of Anhui Province (2003kj027zd)

作者简介:王 健(1962-),男,浙江省永康市人,硕士,教授,主要从事病毒性肝炎与细胞免疫方面的研究,发表论文50余篇。电话:(0554)6659942, E-mail: wangjian8237@sina.com

收稿日期:2005-06-17;**修回日期**:2006-01-18

干扰素-α（interferon-α，IFN-α）是 FDA 推荐的用于治疗慢性丙型肝炎的药物，其对 HCV 具有较强抑制作用[1]。趋化因子（chemokine）是一类结构功能相似、具有趋化吸引性的小分子量蛋白质，由多种细胞产生和分泌，通过诱导中性粒细胞、单核细胞、NK 细胞、淋巴细胞和成纤维细胞等趋化游走，在炎症部位聚集、活化，参与组织损伤和修复[2]。国内外已有关于趋化因子与类风湿性关节炎、肾脏炎性疾病、气道炎性疾病的关系等方面报道，但与 HCV 相互作用国内尚少见报道。为了解趋化因子在慢性丙肝致病过程中的作用，本研究选择 54 例慢性丙肝患者采用 IFN-α 治疗，以 real-time PCR 动态、定量检测部分 CXC 趋化因子 mRNA 表达水平，现将结果报告如下。

1　材料与方法

1.1　临床资料

54 例慢性丙肝患者为 2003 年 4 月至 2005 年 4 月淮南第二矿工医院收治的患者，其中男性 30 例，女性 24 例，年龄 21～51（35±11）岁。另选 22 例体检正常献血员为对照，其中男性 12 例，女性 10 例，年龄 24～48（25±3）岁。临床诊断符合 2000 年西安全国病毒性肝炎会议修订的诊断标准。患者满足以下条件：血清抗-HCV 和 HCV-RNA 阳性，谷丙/草转氨酶正常并维持 6 个月以上。病程均超过 6 个月，无合并 HAV、HBV、HDV、HEV、HIV 感染，无其他自身免疫性疾病，3 个月内未系统用过抗病毒和免疫抑制剂治疗。

1.2　治疗方法

以 IFN-α 联合利巴韦林分组治疗，IFN-α 治疗 3MU/次，3 次/周，肌注，3 个月为 1 疗程，共 2 个疗程。利巴韦林 750 mg/d，口服，26 周为 1 疗程。分别于治疗前、治疗 3、6 个月后动态检测外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cells，PBMC）内趋化因子 mRNA 表达水平。

1.3　试剂与仪器

Trizol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。Ficoll-Hypaque 淋巴细胞分离液购自上海试剂二厂。LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I 购自德国 Roche 公司。iCyclez® 荧光实时定量 PCR 仪购自 Bio-Rad 公司（美国产）。血清 HCV-RNA 检测试剂盒购自深圳匹基生物技术有限公司。

1.4　Real-time PCR 检测

分别于治疗前、治疗 3、6 个月后分批集中采取患者晨起空腹静脉血 5 ml，分别置于 2 支含肝素的无菌抗凝 Eppendorf 管和 1 支普通 Eppendorf 管，以 Ficoll-Hypaque 常规分离 PBMC，用 Hanks 液洗涤 2 次，以 1640 完全培养液调整细胞数至（1～2）×10^6个/ml。以 Trizol 试剂抽提患者 PBMC 总 RNA，并逆转录为 cDNA 置 -86℃冰箱备检。采用 SYBR Green I 荧光定量检测趋化因子 mRNA 的水平，总反应体系为 25 μl，包括引物 1 μmol/L，$MgCl_2$ 2.5 mmol/L，Ex-*Taq* 1 U，20 mmol/L dNTPs，PCR buffer（500 mmol/L KCl，100 mmol/L Tris，20 mg/ml gelatin，pH 8.3），5×SYBR™ Green I 液。2 μl 标准品或模板 cDNA，模板 cDNA 以 1∶4 稀释。趋化因子引物设计参照 Osawa 等[3,4]的方法进行，GAPDH 引物序列为正义：5′-GGTATCGTGGAAGGACTCATGAC-3′，反义：5′-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAGC-3′；IL-8 引物序列为正义：5′-GCCAACACAGAAATTATTGT-3′，反义：5′-CTGATTCTTGGATACCACAG-3′；IP-10 引物序列为正义：5′-GATGGACCACACAGAGGCTG-3′，反义：5′-CTGAAGGTGACGGTAGGAGG-3′；Mig 引物序列为正义：5′-GAGTGCAAGGAACCCCAGTAGT-3′，反义：5′-GCTGAATCTGGGTTTAGACATG-3′；扩增片段长度分别为 188 bp、150 bp、408 bp、184 bp。为减少引物二聚体形成，增加反应特异性，将每种趋化因子引物浓度控制在 0.4 μmol/L。Real-time 扩增反应参数如下：95 ℃预变性 300 s，95 ℃变性 50 s，55 ℃退火 40 s，72 ℃延伸 90 s，共 35 个循环，最后 72 ℃延伸 300 s。收集慢性丙型肝炎患者治疗前、治疗 3、6 个月时外周静脉血，分离血清，用 real-time RT-PCR 方法定量检测 HCV-RNA 含量，HCV-RNA≥1 000 拷贝/ml 被判为 HCV-RNA 复制，HCV-RNA < 1 000 拷贝/ml 被判为 HCV-RNA 阴性（非复制）。

1.5　标准品和标准曲线的制备

采用 GAPDH 的 PCR 产物为外参标准。为确定定量扩增的效率和灵敏度，每次检测对外参标准品行 10 倍梯度稀释，取 4 个梯度（10^5拷贝/μl、10^4拷贝/μl、10^3拷贝/μl 和 10^2拷贝/μl）作为扩增标准品绘制标准曲线。

1.6　统计学分析

为克服系统误差，以趋化因子 log cDNA/log GAPDH 比值的 $\bar{x}\pm s$ 表示趋化因子 mRNA 平均表达水平，以排除在 RNA 提取和逆转录过程中出现的变异，组间均数比较采用 t 检验。

2　结果

慢性丙型肝炎患者 PBMC 内 IL-8、IP-10、Mig mRNA 水平升高，与正常对照组比较，差异有显著性（$P<0.01$），见表 1。IFN 对 HCV-RNA 具有明显的抑制作用，阴转率较高，治疗 3～6 个月后，体内病毒含量逐渐减少，各趋化因子水平也相应降低，见表 2。IFN 治疗 3 个月和 6 个月后，复制组趋化因子水平仍较高，与非复制组相比，差异有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$），见表 3。对比观察不同基因型 HCV 趋化因子表达情况，发现 HCV 1b 和 HCV 2a 型患者趋化因子表达水平相似，差异无显著性（$P>0.05$），具体见表 4。

表 1　慢性丙肝患者 chemokine mRNA 的表达水平（log cDNA / log GAPDH）

组别	例数	IL-8 mRNA	IP-10 mRNA	Mig mRNA
正常对照	22	0.994 8±0.060 7	0.383 2±0.084 0	0.375 3±0.064 3
慢性丙肝	54	1.243 7±0.071 2[a]	0.682 8±0.073 8[a]	0.668 3±0.075 4[a]
t		14.390 3	15.470	15.995 3
P		<0.01	<0.01	<0.01

a：$P<0.01$，与正常对照组相比

表2 病毒含量(拷贝/ml)与 chemokine mRNA 表达水平的关系(log cDNA / log GAPDH)

组别	例数	IL-8 mRNA	IP-10 mRNA	Mig mRNA
正常对照	22	0.994 8 ±0.060 7	0.383 2 ±0.084 0	0.375 3 ±0.064 3
治疗前(2.09×10^6)	54	1.243 7 ±0.071 2	0.682 8 ±0.073 8	0.668 3 ±0.075 4
治疗3个月(6.70×10^3)	54	1.089 1 ±0.094 6[a]	0.551 2 ±0.090 2[b]	0.560 2 ±0.096 0[b]
治疗6个月(3.86×10^2)	54	1.012 2 ±0.058 6	0.439 5 ±0.091 3[a]	0.420 5 ±0.084 4[a]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与治疗前相比

表3 病毒复制与 chemokine mRNA 表达水平的关系(log cDNA / log GAPDH)

组别	例数	IL-8 mRNA	IP-10 mRNA	Mig mRNA
治疗前	54	1.243 7 ±0.071 2	0.682 8 ±0.073 8	0.668 3 ±0.075 4
治疗3个月				
非复制组	42	1.057 0 ±0.083 6	0.521 0 ±0.087 2	0.538 7 ±0.092 0
复制组	12	1.201 4 ±0.088 1[a]	0.657 0 ±0.100 7[a]	0.635 3 ±0.110 0[a]
治疗6个月				
非复制组	38	0.998 0 ±0.056 6	0.402 1 ±0.078 3	0.380 0 ±0.081 4
复制组	16	1.045 9 ±0.064 4[b]	0.528 3 ±0.085 1[a]	0.516 7 ±0.091 5[a]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与非复制组相比；复制：HCV-RNA ≥ 1 000 拷贝/ml；非复制：HCV-RNA < 1 000 拷贝/ml

表4 病毒类型与 chemokine mRNA 表达水平的关系(log cDNA / log GAPDH)

组别	例数	IL-8 mRNA	IP-10 mRNA	Mig mRNA
HCV-1b				
治疗前	44	1.239 0 ±0.068 2	0.681 6 ±0.069 6	0.667 9 ±0.071 6
治疗3个月	44	1.085 8 ±0.081 4	0.541 9 ±0.086 8	0.555 0 ±0.092 4
治疗6个月	44	1.015 5 ±0.055 2	0.433 5 ±0.077 5	0.411 0 ±0.080 2
HCV-2a				
治疗前	10	1.264 2 ±0.084 4	0.688 0 ±0.092 3	0.670 2 ±0.092 1
治疗3个月	10	1.103 6 ±0.098 7	0.592 3 ±0.105 2	0.582 9 ±0.111 8
治疗6个月	10	0.997 8 ±0.073 6	0.465 7 ±0.092 6	0.462 5 ±0.102 9

3 讨论

IFN-α 包括普通 IFN-α、复合 IFN-α 和聚乙二醇(PEG)化 α 干扰素(PEG-IFN-α)，已知 IFN-α 至少可通过 2′5′ OAS (2′5′-oligoadenylate synthetase)、PKR (protein kinase R)和 P56-eIF3 3 种途径发挥直接抗病毒或免疫调节作用[5]。本研究结果显示，IFN-α 治疗3个月和6个月后，54 例慢性丙肝患者血清 HCV-RNA 平均水平分别下降至 6.70×10^3 拷贝/ml 和 3.86×10^2 拷贝/ml，提示 IFN-α 对 HCV 确有肯定的阴转作用，具有较好的应答率。有 2 例患者治疗 3 个月后 HCV-RNA 水平降低，但治疗 6 个月后，发现其血清中 HCV-RNA 含量重新升高，可能的原因为 HCV 变异，产生免疫逃逸，从而对 IFN-α 产生耐药性，或由于 IFN-α 作用于受染靶细胞，使靶细胞溶解破裂，使细胞内 HCV-RNA 释放入血，使血清 HCV-RNA 暂时性升高。

趋化因子是能使细胞发生趋化作用的细胞因子总称[6]，分为 CXC、CC、C、CX3C 四个亚家族(C 代表半胱氨酸，X 代表任意氨基酸)，以 CXC 和 CC 亚家族最为重要。当趋化因子与相应受体结合后，通过 G-蛋白进行信号传导，引起表达相应受体的靶细胞发生迁移、脱颗粒等一系列生物学效应，在机体抗感染、抗病毒等多种炎性疾病中起重要作用。

IL-8 是趋化因子 CXC 亚家族一员，由 IL-1、TNF-α、IFN-γ 诱导，由单核/巨噬细胞、成纤维细胞、肝细胞等多种细胞分泌产生，对中性粒细胞、T 淋巴细胞等趋化和激活，是许多抗病毒、抑细菌等炎性反应的重要调节因子。本研究结果显示，慢性丙肝患者 PBMC 内 IL-8 mRNA 水平升高，且在 IFN-α 治疗过程中，IL-8 mRNA 表达水平与患者血清 HCV-RNA 含量呈正向相关，并且病毒复制组 IL-8 mRNA 水平升高更明显，与非复制组相比差异有显著性，提示 HCV 复制活跃是导致 IL-8 mRNA 升高的主要原因，此与 Polyak 等[7]报道类似，而与 MacQuillan 等[8]报道不同。Polyak 等[7]研究发现 HCV 的 NS5A 能诱导 IL-8 mRNA 和其蛋白的表达，而 IL-8 能抑制 IFN-α 的抗病毒作用，不仅有利于 HCV 在机体内持续感染而且对 IFN-α 的治疗起到一定的抵抗作用。MacQuillan 等[8]则证实慢性丙肝患者 IL-8 mRNA 表达水平与正常对照类似，差异无显著性。本研究通过动态观察发现，IFN-α 治疗后随着病毒含量下降，IL-8 的表达也逐渐下降至正常水平，提示 IL-8 与慢性 HCV 感染密切相关。已知 IFN-α 可通过 2′5′-OAS、STAT/JAK 等途径，干扰 HCV 蛋白的合成从而抑制体内 HCV 复制，但用基因芯片法研究显示患者 PBMC 体外经 IFN-α 刺激后，IL-8 的表达并未下降，推测在治疗过程中 IL-8 表达水平的下降可能是由于 IFN-α 控制感染后，降低了单核/巨噬细胞、受染肝细胞正常代谢，使其分泌 IL-8 减少，从而患者 IL-8 水平降低，因此更加肯定了 IL-8 与 HCV 慢性感染的关系。进一步分析不同基因型与趋化因子相互关系，发现不同基因型慢性丙肝患者 IL-8 对 INF-α 的诱导反应类似，差异无显著性($P>0.05$)。

Mig 和 IP-10 均为趋化因子 CXC 亚家族成员，均可由 IFN-γ 诱导，由单核/巨噬细胞、肝细胞、成纤维细胞、角质形成细胞和内皮细胞等分泌，通过其共同受体 CXCR3 对活化的 T 细胞、NK 细胞等趋化和激活，发挥抗感染、抗病毒等多种生物学功能[9]。本研究表明慢性丙肝患者 PBMC 内 Mig 和 IP-10 mRNA 水平均显著升高，并在 IFN-α 治疗过程中，HCV 非复制组 Mig 和 IP-10 水平明显降低，而 HCV 复制组 Mig 和 IP-10 仍维

持较高水平，差异有显著性（$P<0.001$），提示患者体内 HCV 的复制增殖很可能是诱导该趋化因子表达的原因之一。进一步分析不同基因型与趋化因子相互关系，发现不同基因型慢性丙肝患者 Mig 和 IP-10 对 INF-α 的诱导反应类似，差异无显著性（$P>0.05$）。此与 Mihm 等[4]报道相同，Mihm 等[4]通过 RT-PCR 技术发现慢性丙肝患者肝内 IP-10 mRNA 和血清中 IP-10 蛋白浓度都均表达，炎症局部浸润细胞主要为 Th1 和 Th0，无 Th2 细胞，也有单核/巨噬细胞的浸润，这与 IP-10 作用的靶细胞一致。本试验患者经 INF-α 治疗后，随着病毒含量下降，Mig 和 IP-10 的表达也逐渐降至正常水平。已知 INF-α 可通过 PKR（protein kinase K）和 P56 途径抑制 HCV 复制，但基因芯片技术显示 INF-α 并不会直接下调患者 PBMC 内趋化因子 Mig 和 IP-10 的表达，因此推测在治疗过程中 Mig 和 IP-10 表达的下降可能是 INF-α 控制 HCV 感染后带来的间接效应，也进一步肯定了 Mig 和 IP-10 与 HCV 慢性感染的关系。

综上所述，慢性丙肝患者 IL-8、IP-10 和 Mig mRNA 表达水平增高，IL-8、IP-10 和 Mig mRNA 异常增高与 HCV 感染的基因型无关，而与 HCV-RNA 含量呈平行关系。IFN-α 能抑制患者体内 HCV-RNA 复制，下调 IL-8、IP-10、Mig mRNA 至较低水平，减少某些趋化因子过度表达导致的局部炎症和组织损伤，对稳定患者病情、控制病情发展十分有利。

参考文献：

[1] NOMURA H, TANIMOTO H, SOU S, *et al*. Pilot study of prolonged interferon-alpha retreatment in chronic hepatitis C patients with genotype 1b[J]. Hepatol Res, 2003, 27(4): 266－271.

[2] HERNANDEZ-HANSEN V, BARD J D, TARLETON C A, *et al*. Increased expression of genes linked to FcepsilonRI Signaling and to cytokine and chemokine production in Lyn-deficient mast cells[J]. J Immunol, 2005, 175(12): 7880－7888.

[3] OSAWA Y, NAGAKI M, BANNO Y, *et al*. Tumor necrosis factor alpha-induced by interleukin-8 production *via* NF-kappaB and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathways inhibits cell apoptosis in human hepatocytes[J]. Infect Immun, 2002, 70(11): 6294－6301.

[4] MIHM S, SCHWEYER S, RAMADORI G. Expression of the chemokine IP-10 correlates with the accumulation of hepatic IFN-gamma and IL-18 mRNA in chronic hepatitis C but not in hepatitis B[J]. J Med Virol, 2003, 70(4): 562－570.

[5] WANG C, PFLUGHEBER J, SUMPTER R, Jr., *et al*. Alpha interferon induces distinct translational control programs to suppress hepatitis C virus RNA replication[J]. J Virol, 2003, 77(7): 3898－3912.

[6] LAING K J, SECOMBES C J. Chemokines[J]. Dev Comp Immunol, 2004, 28(5): 443－460.

[7] POLYAK S J, KHABAR K S, PASCHAL D M, *et al*. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response[J]. J Virol, 2001, 75(13): 6095－6106.

[8] MacQUILLAN G C, MAMOTTE C, REED W D, *et al*. Upregulation of endogenous intrahepatic interferon stimulated genes during chronic hepatitis C virus infection[J]. J Med Virol, 2003, 70(2): 219－227.

[9] APOLINARIO A, MAJANO P L, LORENTE R, *et al*. Gene expression profile of T-cell-specific chemokines in human hepatocyte-derived cells: evidence for a synergistic inducer effect of cytokines and hepatitis C virus proteins[J]. J Viral Hepat, 2005, 12(1): 27－37.

（编辑　王　红）

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母，也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 x，卡方的符号是希腊字母 χ^2，自由度的符号是希腊文"υ"，不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r"，不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号，都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"－"或"＋"表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{3-} 等等，不采用 Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2} 表示。核素的质子素（质量数）应写在元素符号的左上角，例如：^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角，例如：$^{99}Tc^{m}$、$^{113}In^{m}$。查目投论文和专著中下面写核素的中文名称，即不能写成"^{131}碘、钝^{99m}、P^{32}、Tc^{99m}"。

近几年分子生物学发展很快，并已渗透到许多学科，大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式，要对符号的来源及其内涵有深刻的了解，使用时不致发生错误，例如：RNA 有 rRNA（ribosomal RNA）、tRNA（transfer RNA）、mRNA（messenger RNA）3 类，r、t、m 是表示类型的符号应小写，RNA 应大写。

本刊编辑部