

先天性角化不良症细胞遗传不稳定性研究

李园 赵馨 李洋 彭广新 李建平 杨文睿 武志洁 宋琳
叶蕾 樊慧慧 周康 井丽萍 刘强 张凤奎 张莉

【摘要】 目的 研究先天性角化不良症(DC)患者细胞遗传不稳定性、分析其可能的机制及其与造血衰竭严重程度的相关性。方法 应用彗星试验检测4例DC患者、29例Fanconi贫血患者和24名正常志愿者的外周血淋巴细胞,比较各组彗星头部DNA百分比(HeadDNA%)、彗星尾部DNA百分比(TailDNA%)、尾矩(TM)、Olive尾矩(OTM)和彗星细胞率(CCP),结合丝裂霉素C(MMC)试验和骨髓造血细胞常规染色体核型结果进行分析。结果 ①4例DC患者均未发现克隆性异常染色体核型。②DC组的TM(6.77 ± 0.90)、OTM(6.19 ± 0.80)和CCP[(46.00 ± 5.03)%]均明显高于正常对照组[0.61 ± 0.49 、 0.66 ± 0.42 、(5.91 ± 3.19)%],差异均有统计学意义(P 值均 <0.05),与Fanconi贫血组[7.81 ± 3.58 、 6.65 ± 2.21 、(56.03 ± 13.47)%]比较差异无统计学意义(P 值均 ≥ 0.05)。③在MMC 80 $\mu\text{g/L}$ 条件下DC组畸变细胞率明显低于Fanconi贫血组[(21.00 ± 3.16)%对(31.97 ± 6.33)%, $P=0.003$]。④DC患者的CCP、OTM、TailDNA%、TM与其外周血HGB水平和PLT、中性粒细胞绝对计数无明显相关性($P>0.05$)。结论 DC患者细胞遗传不稳定性显著增高,而DNA损伤修复机制基本正常;DC遗传不稳定性与已经发生的造血衰竭严重程度无相关。

【关键词】 先天性角化不良; 微卫星不稳定性; 彗星试验; 贫血,再生障碍性

The study of genetic instability in patients with Dyskeratosis congenital Li Yuan*, Zhao Xin, Li Yang, Peng Guangxin, Li Jianping, Yang Wenrui, Wu Zhijie, Song Lin, Ye Lei, Fan Huihui, Zhou Kang, Jing Liping, Liu Qiang, Zhang Fengkui, Zhang Li. *Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Zhang Li, Email: choli@medmail.com.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the genetic instability in patients with Dyskeratosis congenita. **Method** The spontaneous chromosome instability of lymphocytes from 4 DC patients, 29 FA patients and 24 healthy volunteers was assessed with comet assay. The percent of DNA in comet head (HeadDNA%), the percent of DNA in comet tail (TailDNA%), tail moment (TM), olive tail moment (OTM), the comet cell percentage (CCP) were compared between groups. And the results of MMC test, PNH clones and karyotype were analysed additionally. The correlation between TM, OTM, CCP and the severity degree of bone marrow failure in DC group were evaluated. **Result** ①PNH clones and karyotype abnormalities were not found in 4 DC patients. ②TM(6.77 ± 0.90), OTM(6.19 ± 0.80) and CCP [(46.00 ± 5.03)%] in DC were significantly higher than those in normal control group [0.61 ± 0.49 , 0.66 ± 0.42 , (5.91 ± 3.19)%, $P<0.05$], however, not distinguished from FA patients [7.81 ± 3.58 , 6.65 ± 2.21 , (56.03 ± 13.47)%, $P\geq 0.05$]. The aberrant cell percent at the MMC concentration of 80 $\mu\text{g/L}$ in DC group was significantly lower than that in FA group [(21.00 ± 3.16)% vs (31.97 ± 6.33)%, $P=0.003$]. ③The correlation between TM, OTM, CCP and the severity of bone marrow failure in DC group were not found ($P>0.05$). **Conclusion** DC patients were of significantly increased genetic instability and normal DNA repair, which was different from that in FA patients. And there was no correlation between the degree of genetic instability and the severity of bone marrow failure in DC patients presenting as aplastic anemia.

【Key words】 Dyskeratosis congenital; Microsatellite instability; Comet assay; Anemia, aplastic

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.09.011

作者单位: 300020 天津, 中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院贫血诊疗中心(李园、赵馨、李洋、彭广新、李建平、杨文睿、武志洁、宋琳、叶蕾、樊慧慧、周康、井丽萍、张凤奎、张莉); 中国医学科学院放射医学研究所(刘强)

通信作者: 张莉, Email: choli@medmail.com.cn

端粒是位于真核细胞染色体末端的特殊DNA序列,由(TTAGGG)_n重复序列及蛋白复合体(shelterin)组成,其功能是保护染色体结构完整性,阻止染色体DNA降解、末端融合、断裂和重组,保护结构基因的完整,调节细胞生长。端粒的长度反映了细胞的增殖分化能力及生命周期。细胞学试验和动物模型研究显示端粒缩短可引致染色质物质丢失或获得,增加遗传不稳定性^[1]。先天性角化不良症(dyskeratosis congenita, DC)是典型的遗传性“短端粒综合征”,除特征性皮肤黏膜三联征[指(趾)甲角化不良、口腔黏膜白斑、皮肤色素沉着]、特发性肺纤维化和进行性骨髓造血衰竭外,还表现为早老症和肿瘤易感性。Alter等^[2]报告,DC患者肿瘤发生率是正常人群的11倍,在先天性骨髓造血衰竭疾病中其肿瘤易感性仅次于Fanconi贫血(FA)。由于DC较为罕见,关于DC遗传不稳定性的研究少见,本研究我们采用彗星试验和丝裂霉素C(MMC)试验对DC患者遗传不稳定性进行了研究,并分析其可能的机制及其与造血衰竭严重程度相关性,现报告如下。

病例和方法

1. 病例:2009年7月至2014年1月我科连续收治的DC的患者4例,均为男性,中位年龄13.5(3.9~23.0)岁,诊断符合文献[3-4]。患者均伴有骨髓造血功能衰竭,并表现典型皮肤黏膜三联征:指(趾)甲角化不良、口腔黏膜白斑和皮肤色素沉着。4例患者分别来自4个不同家庭,父母均非近亲婚配。患者一般临床特征见表1。以29例同期诊断的FA患者和24名正常人为对照。标本的采集均征得受试者知情同意。

2. 主要试剂及仪器:正常熔点琼脂糖凝胶为法国Biowest公司产品;低熔点琼脂糖凝胶为普洛麦格(北京)生物技术有限公司产品;Tris-HCl、二甲基

亚砷(DMSO)、Triton X-100和秋水仙素为美国Sigma公司产品。染色体培养基购自天津瑞爱金生物科技有限公司,丝裂霉素C(MMC)购自日本协和发酵工业株式会社。水平电泳仪为美国BIO-RAD公司产品;90i荧光显微镜为日本Nikon公司产品;FACS Calibur流式细胞仪为美国BD公司产品。

3. 外周血细胞锚连蛋白测定:采用藻红蛋白(PE)标记鼠抗人CD55抗体及鼠抗人CD59抗体,流式细胞术及CellQuest软件采集和分析所有患者PNH克隆水平,计数10 000个外周血成熟红细胞、粒细胞,CD55⁻、CD59⁻细胞率>5%即为PNH克隆阳性。自2011年以后我院开展荧光标记的嗜水气单胞菌溶素变异体(Flaer)检测,以Flaer阴性粒-单核细胞大于1%为阈值,判定为PNH克隆阳性。

4. 染色体核型分析:采集DC患者和FA患者骨髓细胞,24 h短期培养法制片,热变性姬姆萨R显带,根据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN)1995》描述染色体核型。

5. 彗星试验:取患者及正常志愿者静脉血1 ml,肝素钠抗凝,分离单个核细胞(MNC),PBS洗涤2次,调整细胞密度为2×10⁶/ml,置于4℃冰箱备用。彗星试验操作参照文献[5]并稍加改良。取100 μl正常熔点琼脂糖凝胶铺于微电泳槽内,置于4℃冰箱固化1 min;取25 μl MNC悬液与75 μl低熔点琼脂糖凝胶混匀后铺于第一层凝胶上面,置于4℃冰箱固化1 min,胶板置于新鲜配制的碱性裂解液(NaCl 2.5 mol/L、乙二胺四乙酸二钠100 mmol/L、Tris缓冲液10 mmol/L、1%聚乙二醇辛基苯基醚和10% DMSO, pH=10)中,4℃裂解2 h;双蒸水漂洗后加入缓冲液(NaOH 300 mmol/L、乙二胺四乙酸1 mmol/L, pH=12),4℃电泳液中静置20 min,在20 V、200 mA条件下电泳20 min,加入2 μg/ml溴化乙锭(EB)染色,双蒸水漂洗,荧光显微镜观察彗星,图像采集系统随机摄取彗星图像,每份样品拍摄

表1 患者的一般临床特征

例号	性别	发病年龄(岁)	确诊年龄(岁)	临床表现							初诊外周血细胞计数		
				指(趾)甲角化不良	口腔黏膜白斑	皮肤色素沉着	色素脱失	舌体短小	泪腺狭窄	肺纤维化	HGB(g/L)	ANC(×10 ⁹ /L)	PLT(×10 ⁹ /L)
1	男	4.5	7.5	+	+	+	+	-	-	-	136	1.83	27
2	男	2.0	20.0	+	+	+	+	+	+	+	109	0.90	30
3	男	3.0	23.0	+	+	+	-	-	-	-	55	1.86	14
4	男	1.6	3.9	+	+	+	-	-	-	-	69	0.49	16

注:+:有;-:无;ANC:中性粒细胞绝对计数

200个彗星图像,采用波兰Wroclaw大学提供的CASP系统自动分析进行分析。选取彗星头部DNA百分比(HeadDNA%,定义为彗星头部DNA含量占总DNA含量的百分比)、彗星尾部DNA百分比(TailDNA%,定义为彗星尾部DNA含量占总DNA含量的百分比)、尾矩(TM,定义为TailDNA%×尾长)和Olive尾矩(OTM,定义为TailDNA%×彗星头部中心至尾部中心的距离)、彗星细胞率(CCP,即计算一定量细胞中彗星样细胞所占的比例)作为分析指标。

6. MMC试验:操作参照文献[6],取肝素化外周血0.3~0.5 ml加入4 ml染色体培养基中,37℃恒温培养24 h,加入MMC,终浓度分别为0、40、80 μg/L。继续培养至第68 h后,加入终浓度0.6 μg/ml的秋水仙素,继续培养至第72 h,收获。制片、镜检。每份标本分析至少100个分裂象。进行染色体畸变分析、计数。畸变类型分析包括断片(F)、双着丝粒(D)、环(R)、互换(E)等。分别记录染色体畸变细胞数及各种类型染色体畸变细胞数,总畸变率(%)=各种类型总畸变数/分析细胞数×100%。

7. 统计学处理:使用SPSS16.0软件进行统计学分析。应用方差分析比较各组彗星试验和MMC试验的参数均数,如果方差齐,则应用最小显著性差异(LSD)法进行事后检验(Post Hoc),并应用Pearson相关系数分析两变量之间的相关性;若方差不齐,则应用最短距离(Tamhane's T2)法进行事后检验,应用Spearson相关系数分析两变量之间的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. PNH克隆和染色体核型分析:全部4例DC和29例FA患者外周血细胞CD55和CD59检测均未发现PNH克隆。4例DC患者骨髓细胞染色体均为正常核型,未发现克隆性细胞遗传学异常。

2. 彗星试验:彗星试验结果见表2。4例DC患者TailDNA%、TM、OTM、CCP分别为(20.91 ±

2.68)%、6.77±0.90、6.19±0.80和(46.00±5.03)%,均明显高于正常对照者[(2.03±0.79)%、0.61±0.49、0.66±0.42及(5.91±3.19)%];与FA患者比较,DC患者CCP稍低[(46.00±5.03)%对(56.03±13.47)%, $P = 0.05$]外,余差异均无统计学意义(P 值均>0.05)。

3. MMC试验:MMC试验结果见表3。在0 μg/L MMC条件下,DC患者细胞畸变率高于正常对照组($P < 0.01$);在低浓度MMC(40 μg/L)和高浓度MMC(80 μg/L)条件下,DC患者与正常对照组细胞畸变率比较差异无统计学意义($P > 0.05$);在高浓度MMC(80 μg/L)条件下,FA患者细胞畸变率高于DC患者及正常对照组(P 值均<0.05)(表3)。

表3 丝裂霉素C试验细胞总畸变率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	MMC浓度(μg/L)		
	0	40	80
正常对照组	0.38±0.92	6.79±0.83	15.33±0.82
先天性角化不良组	4.00±0.00	7.00±0.82	21.00±3.16
Fanconi贫血组	4.38±1.21	8.79±4.11	31.97±6.33

4. 遗传不稳定性与造血衰竭严重程度:分析4例DC患者的彗星试验结果(CCP、OTM、TailDNA%、TM)与其HGB、PLT、ANC的关系,各组相关系数见表4,均未发现相关性(P 值均>0.05)。表明DC患者的遗传不稳定性与造血衰竭严重程度不相关。

表4 先天性角化不良症患者遗传不稳定性与造血衰竭外周血参数相关性分析相关系数

组别	HGB(g/L)	PLT(×10 ⁹ /L)	ANC(×10 ⁹ /L)
CCP	-0.416	-0.743	-0.015
OTM	0.054	-0.384	0.447
TailDNA%	0.759	0.456	0.698
尾矩	0.256	-0.187	0.462

注:CCP:彗星细胞率;OTM:Olive尾矩;TailDNA%:彗星尾矩DNA百分比;ANC:中性粒细胞绝对计数

表2 彗星试验参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	HeadDNA%(%)	TailDNA%(%)	TM	OTM	CCP(%)
正常对照组	24	97.97±0.79	2.03±0.79	0.61±0.49	0.66±0.42	5.91±3.19
先天性角化不良组	4	79.05±2.63	20.91±2.68	6.77±0.90	6.19±0.80	46.00±5.03
Fanconi贫血组	29	75.18±8.77	24.83±8.77	7.81±3.58	6.65±2.21	56.03±13.47

注:HeadDNA%:彗星头部DNA百分比;TailDNA%:彗星尾部DNA百分比;TM:尾矩;OTM:Olive尾矩;CCP:彗星细胞率

讨 论

DC 是由端粒酶复合物或端粒庇护蛋白复合物基因突变引起的非常罕见的遗传性端粒维持障碍性疾病,目前已经发现十种突变相关基因^[7],以 DKC1 基因突变 X 连锁隐性遗传性 DC 最为常见,临床表现也最为突出和典型。DC 患者有核细胞染色体端粒较同年龄正常人明显缩短,当合并骨髓造血衰竭时,其外周血白细胞端粒不再表现正常人随年龄增长而逐渐缩短之规律,提示此时其端粒长度已达到极短的程度。端粒过度缩短则丧失其保护作用,染色体形成融合和断裂-融合-桥接(BFB, Breakage-Fusion-Bridges)循环^[8],最终导致染色体失衡、基因放大、非交互异位和遗传表达异常。

以往,最常用的遗传不稳定性测定方法为细胞遗传学检查,包括常规染色体异常检测和(或)丝裂原刺激的细胞姐妹染色体互换,不仅费用昂贵、费时耗力,还受到分裂中期细胞数量少而难以观察中期分裂象的限制,这在骨髓造血衰竭患者表现尤其突出。除此之外,我们的研究还表明采用常规细胞遗传学方法研究先天骨髓造血衰竭遗传不稳定性敏感性也不能令人满意,全部 4 例 DC 和 18 例 FA 患者骨髓细胞染色体核型均正常,未能显示遗传不稳定增高迹象。这与 Savina 等^[9]研究 Nijmegen 断裂综合征、FA 和 Williams-Beuren 综合征遗传不稳定性提示常规细胞遗传学方法不敏感结果一致,我们认为也是文献[10]中该方法研究 DC 遗传不稳定结果各异的重要原因。

彗星试验也称单细胞凝胶电泳,检测遗传不稳定更为敏感^[11],可快速定量分析单细胞 DNA 断裂并提供可视性结果,操作简便,仅需少量且非必需分裂中期细胞^[12],在造血衰竭患者该优势更为突出,近年该方法被广泛用于遗传毒性检测、生物监测、肿瘤进展以及遗传不稳定性研究。其基本原理是 DNA 受损伤时,其高级结构发生变化,超螺旋结构松散断裂,这种细胞经裂解、DNA 解链等过程后再进行电泳,损伤的 DNA 片段从核中移出,向阳极方向迁移,呈现尾形分布,未损伤的 DNA 部分保持球形,两者构成彗星状图形。DNA 迁移的距离(表现为彗尾长度)、受损的 DNA 含量(例如 TailDNA%)与 DNA 损伤程度呈正相关。TM 和 OTM 既代表了 DNA 的损伤程度,又反映了损伤方式,常为国际上所采用。CCP 反映了遗传不稳定细胞的广泛程度。

本研究结果表明,与 FA 相似,DC 患者外周血

淋巴细胞具有明显增高的内源性遗传不稳定性,不仅提示 DNA 损伤构成的 CCP 明显增高($P=0.001$),而且反映 DNA 损伤程度的彗星细胞尾 DNA 含量($P=0.002$)和 OTM 值也较正常对照明显增高($P=0.002$),这与目前对于端粒生物学功能的认识相一致,也为 DC 患者高风险骨髓造血衰竭和易感肿瘤提供了直接证据支持^[13]。尽管 DC 与 FA 相似,均表现内源性遗传不稳定性增高,但二者遗传不稳定增高产生的机制并非一致。FA 以 DNA 修复机制缺陷,对 DNA 交联剂异常敏感为特征,在生物化学上表现为机体细胞不能有效清除交联剂,或对交联剂产生的氧化压力反应异常^[11],MMC 试验染色体断裂、异形变明显增多。在本研究中,4 例 DC 患者 MMC 试验与正常人对照结果无异,与 Coulthard 等^[14]采用博来霉素、DEB、MMC 和 γ 射线照射研究 DC 细胞获得结果一致;另外,在 MMC 80 $\mu\text{g/L}$ 浓度条件下 FA 细胞较 DC 细胞染色体异常检出明显为多($P=0.003$),进一步提示 DC 患者细胞 DNA 损伤修复机制可能正常,与 FA 明显不同。因而,我们认为 Coulthard 等^[14]提出可根据细胞对 DNA 交联剂反应的不同鉴别 DC 和 FA 是合理可行的。

经典 DC 主要由 DKC1 基因突变,或纯合性/复合杂合性 TERC/TERT 基因突变引致,是仅次于 Hoyeraal Hreidarrson 综合征的最严重端粒维持异常疾病。端粒缩短、功能异常致使遗传不稳定性增高并启动 DNA 损伤反应,细胞不可逆性停止分裂并衰老凋亡或死亡。造血干/祖细胞凋亡过多表现为再生障碍性贫血(AA);极少数细胞获得突变,逃逸了凋亡,成为潜在恶性细胞。DC 患者临床表现型与端粒缩短、功能异常的严重程度和持续时间有关^[15]。我们研究的该 4 例经典 DC 患者,在检测其细胞遗传不稳定性时均已处在临床和血液学明显的骨髓造血衰竭阶段,其中 1 例患者甚至已经符合重型 AA 标准,1 例患者接近于重型 AA 标准。因而,本研究 DC 遗传不稳定性严重程度与造血衰竭严重程度无相关性并不意味着端粒缩短程度与患者发生造血衰竭的时间早晚无关,而是进一步支持合并造血衰竭时 DC 患者端粒已极度缩短,并不随造血衰竭严重程度加重而继续缩短,应慎重解释。

总之,我们采用常规细胞遗传学、单个核细胞 DNA 电泳和 MMC 诱导染色体断裂和 DNA 修复方法研究结果为 DC 患者细胞遗传不稳定性明显增高提供了直接证据;另外,我们发现与 FA 遗传不稳定性增高不同,DC 患者细胞 DNA 损伤修复机制基本

正常;并且,合并AA患者,其遗传不稳定程度与造血衰竭严重程度无明显相关性。

参考文献

- [1] Artandi SE, DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(1):9-18.
- [2] Alter BP, Giri N, Savage SA, et al. Cancer in dyskeratosis congenita[J]. Blood, 2009, 113(26):6549-6557.
- [3] Kirwan M, Dokal I. Dyskeratosis congenita, stem cells and telomeres[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1792(4):371-379.
- [4] Calado RT. Telomeres and marrow failure[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2009:338-343.
- [5] Banáth JP, Fushiki M, Olive PL. Rejoining of DNA single- and double-strand breaks in human white blood cells exposed to ionizing radiation[J]. Int J Radiat Biol, 1998, 73(6):649-660.
- [6] Bauchinger M, Blakely WF, Darrroudi F, et al. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment, a manual [C]. International Atomic Energy Agency, Vienna, 2001.
- [7] Guo Y, Kartawinata M, Li J, et al. Inherited bone marrow failure associated with germline mutation of ACD, the gene encoding telomere protein TPP1[J]. Blood, 2014, 124(18): 2767-2774.
- [8] Desmaze C, Soria JC, Freulet-Marrière MA, et al. Telomere-driven genomic instability in cancer cells[J]. Cancer Lett, 2003, 194(2):173-182.
- [9] Savina NV, Smal MP, Kuzhir TD, et al. Biomarkers for genome instability in some genetic disorders: a pilot study [J]. Biomarkers, 2012, 17(3): 201-208.
- [10] Coulthard S, Chase A, Pickard J, et al. Chromosomal breakage analysis in dyskeratosis congenita peripheral blood lymphocytes [J]. Br J Haematol, 1998, 102(5):1162-1164.
- [11] Maluf SW, Erdtmann B. Genomic instability in Down syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single-cell gel electrophoresis [J]. Cancer Genet Cytogenet, 2001, 124(1):71-75.
- [12] Zhang H, Buchholz TA, Hancock D, et al. Gamma-radiation-induced single cell DNA damage as a measure of susceptibility to lung cancer: a preliminary report [J]. Int J Oncol, 2000, 17: 399-404.
- [13] Howden SE, Gore A, Li Z, et al. Genetic correction and analysis of induced pluripotent stem cells from a patient with gyrate atrophy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(16):6537-6542.
- [14] Coulthard S, Chase A, Pickard J, et al. Chromosomal breakage analysis in dyskeratosis congenita peripheral blood lymphocytes [J]. Br J Haematol, 1998, 102(5):1162-1164.
- [15] Bessler M, Wilson DB, Mason PJ. Dyskeratosis congenital [J]. FEBS Lett, 2010, 584(17): 3831-3838.

(收稿日期:2015-03-31)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计学符号:按GB 3358—1982《统计学名词及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。例如:调查设计分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究;实验设计应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等;临床试验设计应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等。主要做法应围绕重复、随机、对照、均衡4个基本原则概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表达近似服从正态分布的定量资料,用中位数(四分位数间距)[$M(Q_R)$]表达呈偏态分布的定量资料。用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚。用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则。用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析。对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对各因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)时,应表述为对比组之间的差异有统计学意义,而不应表述为对比组之间具有显著性(或非常显著性)差异;应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 表达方式,无须再细分为 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出95%可信区间。

本刊编辑部