

鹿瓜多肽及骨髓基质干细胞经股动脉注入治疗骨折不愈合的实验研究

蔡俊 郑光磊 沈晓强 顾晓氏

【摘要】 目的 观察经股动脉注入鹿瓜多肽和骨髓基质干细胞(BMSC)治疗骨折不愈合的疗效。方法 将 21 只新西兰兔分为对照组(A组)、穿刺组(B组)、经股动脉组(C组)3组,每组 7 只,锯断单侧股骨造成横行骨折,再将骨折端切除 0.5cm,骨折远近端剥除约 0.5cm 骨膜,固定后形成骨折不愈合模型。术后每周 A 组经股动脉导管注入 0.9%氯化钠注射液 10ml, B 组经皮穿刺直接在骨折端注入鹿瓜多肽注射液(0.5ml/kg)及转染的荧光 BMSC(1×10^6 个细胞, 0.5ml)混合液,混合液稀释至 10ml, C 组经股动脉导管注入等量鹿瓜多肽注射液(0.5ml/kg)及转染的荧光 BMSC(1×10^6 个细胞, 0.5ml)混合液,均共 7 次。术后第 1、4、7 周行骨痂 X 线检查及 Nordsletten 评分评定疗效,并抽取静脉血行碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(OCN)水平检测。第 7 周处死动物后取骨折端的 BMSC,用 MATLAB 图像分析软件处理各组荧光细胞图像,并计算 B、C 两组荧光细胞所占面积(ΔS)/图像总面积(S)比值。结果 术后第 1、4、7 周, C 组骨痂生成量均高于 A 组和 B 组,骨痂 Nordsletten 评分除第 1 周 C 组和 B 组差异无统计学意义外($P > 0.05$),其余 C 组均高于 A 组和 B 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); C 组 ALP、OCN 水平均较 A、B 组明显升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); B、C 组在荧光显微镜下均可见明显呈活性状态的 BMSC,且 C 组的 $\Delta S/S$ 比值高于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 鹿瓜多肽和 BMSC 经股动脉注入操作简单,疗效安全,能有效促进骨折愈合。

【关键词】 鹿瓜多肽 骨髓基质干细胞 骨折 不愈合

Experimental study on the treating nonunion of bone by femoral artery injection of cervus and cucumis polypeptide combined with transfected green fluorescent bone marrow stromal cells CAI Jun, ZHENG Guanglei, SHEN Xiaoqiang, et al. Department of Orthopaedics, the Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, China

【Abstract】 Objective To study the effects of cervus and cucumis polypeptide combined with bone marrow stromal cells by femoral artery injection for nonunion of bone. Methods Twenty-one New Zealand rabbits were randomly divided into three groups, were modelled 0.5 cm bone defects in the unilateral femur. Both end of the osteotomy were stripped of 0.5 cm periosteum, and the bone defects were fixed with kirschner wires. Once a week, the group A was injected 0.9% sodium chloride 10 ml by femoral artery; the group B was injected the same amount of cervus and cucumis polypeptide(0.5ml/kg) combined with transfected green fluorescent BMSC(1×10^6 cells, 0.5ml) by percutaneous puncture; the group C was injected the same amount of cervus and cucumis polypeptide (0.5ml/kg) combined with transfected green fluorescent BMSC (1×10^6 cells, 0.5ml) by femoral artery. The change of X-ray was evaluated, the changes of the ALP and OCN activity were examined at 1, 4 and 7 weeks postoperatively. All rabbits were executed after 7 weeks postoperatively, and were intercepted 1.5cm bone segments around fracture. Cells were derived from bone marrow. Transfected green fluorescent cells were detected and analysed by fluorescent microscopy. Results At 1, 4 and 7 weeks postoperatively, the mean X-ray Nordsletten scores in group C was higher than in group A and B ($P < 0.05$), and the expression of ALP and OCN in group C also increased compared with group A and B ($P < 0.05$). Transfected green fluorescent cells grew well, and more transfected green fluorescent cells aggregation were detected and analysed by fluorescent microscopy in group C ($P < 0.05$). Conclusion Injection of BMSC combined with cervus and cucumis polypeptide by femoral

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.22.2019-529

基金项目:杭州市卫生科技计划 A 类项目(2016A16)

作者单位:310015 杭州师范大学附属医院骨科

通信作者:蔡俊, E-mail:jun-u571@yeah.net

artery is safe treatment pathway, and can promote effectively regeneration of bone defect.

【Key words】 Cervus and cucumis polypeptide Bone marrow stem cell Fractures Nonunion

高能量损伤患者骨折程度常较严重,且多伴有骨质缺损,容易发生骨折不愈合(约占长骨骨折的5%~10%^[1-2])。骨折不愈合具有病程长、需多次手术和常发生骨畸形等特点,临床治疗有一定难度,治疗方法也多种多样,但疗效和安全性褒贬不一。为此,本研究通过建立新西兰兔骨折不愈合模型,然后经股动脉注入鹿瓜多肽和转染的荧光骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cell, BMSC)混合液,观察其治疗骨折不愈合的疗效和安全性,并探讨其机制,现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 普通级新西兰兔[杭州师范大学医学实验动物中心,许可证号:SYXK(浙)2016-0014],FBS(德国PAN公司),鹿瓜多肽(哈尔滨誉衡制药有限公司,4ml/支,批号:1602629),兔BMSC和慢病毒(美国赛业生物公司,1×10⁶/管,病毒颗粒≥1×10⁸/TU,批号:VB150915-10026),碱性磷酸酶试剂盒(德国德赛公司),骨钙素试剂盒(德国Roche公司),倒置相差显微镜(日本Nikon Ti-E公司),荧光显微镜(德国Leica DMi8公司),全自动生化仪(美国Beckman-Coulter AU5800公司)和全自动免疫分析仪(德国Roche E602公司)。本实验严格遵守实验动物福利准则。

1.2 方法

1.2.1 造模 选取21只健康雄性新西兰兔,体重(2.5±0.5)kg,所有实验动物均单独饲养,每只兔均选取左后肢用于实验。无菌原则下全身麻醉后,聚维酮碘消毒左后肢。暴露股骨后锯断股骨,造成横行骨折,将骨折端切除0.5cm,剥除骨折远近端约0.5cm骨膜,然后使用直径1.5~2.0mm克氏针固定,造成骨折不愈合模型。常规饲养,术后应用抗生素预防感染。

1.2.2 分组及用药 将21只新西兰兔按随机数字表法分为对照组(A组)、穿刺组(B组)、经股动脉组(C组)3组,每组7只。A、C组骨折不愈合模型建立同时于同侧股动脉插入留置针导管并引出体外。再通过留置导管注入对比剂,确认股动脉及分支通畅情况。兔BMSC溶液经慢病毒转染制成显绿色荧光的BMSC后,与鹿瓜多肽注射液混合应用。A组:首次于手术结束时通过股动脉导管注入0.9%氯化钠注射液10ml,术后再每周1次,共7次;B组:首次于手术结束时经皮穿刺直接在骨折端注入鹿瓜多肽注射液(0.5ml/kg)及转染的荧光BMSC

(1×10⁶个细胞,0.5ml)混合液,用0.9%氯化钠注射液稀释至10ml,术后再每周1次,共7次;C组:首次于手术结束时通过股动脉导管注入同B组的混合液,术后再每周1次,共7次。

1.2.3 骨痂X线检查与Nordsletten评分 术后第1、4、7周摄X线片,观察骨痂生成、骨折愈合情况,以X线片可见骨痂通过骨折线且骨折线接近消失作为骨折愈合判定标准,由2位有工作经验的放射学医师按照骨痂Nordsletten评分标准^[3]进行独立评价:0级:无骨痂;1级:仅见少量骨痂;2级:骨痂量正常;3级:骨痂量过度。

1.2.4 碱性磷酸酶(ALP)和骨钙素(OCN)水平测定 分别采用免疫发光法和电化学发光法。术后第1、4、7周抽取耳缘静脉血5ml离心后取上清液,分别应用全自动生化仪和全自动免疫分析仪行ALP和OCN水平检测。

1.2.5 荧光细胞观测和分析 第7周给药后第2天处死动物,截取股骨骨折远近端1.5cm骨质,用高糖DMEM培养基溶液反复冲洗骨质,吹洗出其中的BMSC,经离心后接种于培养皿中,在荧光显微镜200倍条件下观察转染的荧光BMSC的形态和聚集情况,并对同一视野用倒置相差显微镜100倍条件下观察所有BMSC。用MATLAB图像分析软件在200倍条件下对A、B、C组的荧光图像进行处理,以未转染组荧光图像的背景基础亮度为最低阈值,比较B、C两组荧光细胞所占面积(ΔS),并以此面积占图像总面积(S)的百分数即ΔS/S比值(%)进行统计学分析。

1.3 统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组新西兰兔骨痂X线检查结果和Nordsletten评分比较 术后A组第1周无骨痂生成,第4周骨折近端少量骨痂生成,骨折移位,第7周少量骨痂反而部分吸收,骨折线清晰,骨折不愈合模型确立;B组第1周可见骨折端外侧少量骨痂生成,第4周外侧可见明显骨痂生成,包裹骨折端,内侧骨痂未见生成,骨折线清晰,第7周骨折端外侧骨痂生成明显,内侧骨痂少量生成,骨折线基本消失;C组第1周可见骨折端内侧少量骨痂生成,第4周内外侧可见较多骨痂生成,包裹骨折端,尤以内侧骨痂生成明显,骨折线不清,第7周骨折端内外侧

明显骨痂生成,骨折线消失,骨折塑形良好,见图 1。C 组骨痂 Nordsletten 评分不同时间点均高于 A 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);C 组骨痂 Nordsletten 评分第 1 周和 B 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),第 4、7 周则均明显高于 B 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 1。

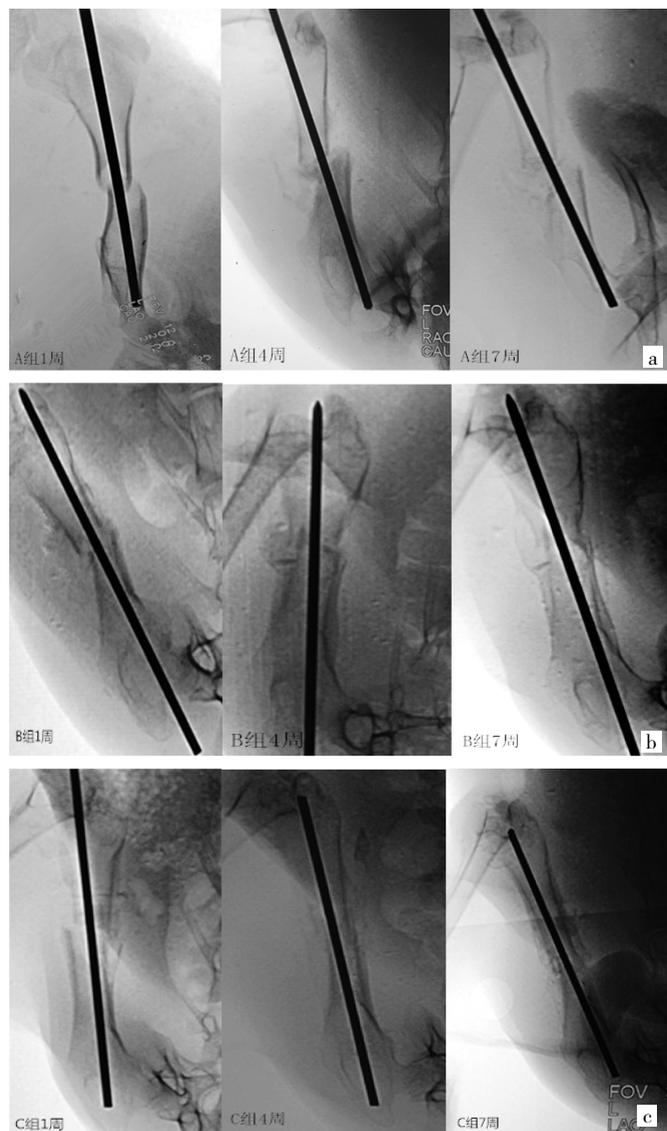


图 1 3 组新西兰兔术后骨痂 X 线检查结果(a:A 组第 1、4、7 周; b:B 组第 1、4、7 周; c:C 组第 1、4、7 周)

表 1 3 组新西兰兔骨痂 Nordsletten 评分比较(分)

组别	n	第 1 周	第 4 周	第 7 周
B 组	7	0.71 ± 0.49	1.29 ± 0.49*	1.31 ± 0.49*
C 组	7	1.14 ± 0.38	2.14 ± 0.38	2.57 ± 0.54
A 组	7	0.29 ± 0.49*	0.57 ± 0.54*	0.43 ± 0.54*
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与 C 组比较,* $P < 0.05$

2.2 3 组新西兰兔 ALP 和 OCN 水平比较 术后 C 组第 1、4、7 周血清 ALP 水平均较 A 组和 B 组均有明显升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),各组第 7 周 ALP 水平反而比第 4 周减少;C 组术后第 1、4、7 周血清 OCN 水平较 A 组和 B 组明显升高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 2、3。

表 2 3 组新西兰兔 ALP 水平比较(U/L)

组别	n	第 1 周	第 4 周	第 7 周
B 组	7	112.34 ± 0.86*	140.33 ± 1.18*	134.61 ± 3.16*
C 组	7	121.69 ± 1.94	146.30 ± 1.70	141.53 ± 2.11
A 组	7	97.59 ± 1.75*	116.01 ± 0.72*	114.26 ± 0.82*
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与 C 组比较,* $P < 0.05$

表 3 3 组新西兰兔 OCN 水平比较(ng/ml)

组别	n	第 1 周	第 4 周	第 7 周
B 组	7	28.87 ± 0.60*	41.79 ± 1.25*	48.83 ± 0.61*
C 组	7	34.51 ± 1.55	47.11 ± 1.17	54.29 ± 0.78
A 组	7	24.26 ± 1.42*	37.71 ± 0.78*	43.10 ± 1.26*
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与 C 组比较,* $P < 0.05$

2.3 3 组新西兰兔荧光细胞的形态、聚集情况和 $\Delta S / S$ 比值比较 B、C 组均可见明显呈活性状态显绿色荧光的 BMSC,且 C 组可见更多 BMSC 聚集,A 组则无荧光细胞可见。同一视野下倒置相差显微镜显示 B、C 两组注入经转染显绿色荧光的 BMSC 和动物本身 BMSC 共同生长良好,形态上无明显差别,见图 2、3(插页)。C 组 $\Delta S / S$ 比值明显高于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 两组新西兰兔 $\Delta S / S$ 比值比较(%)

组别	n	$\Delta S / S$ 比值
B 组	7	19.40 ± 0.72*
C 组	7	21.60 ± 0.91
P 值		<0.05

注:与 C 组比较,* $P < 0.05$

3 讨论

目前临床上治疗骨折不愈合的方法以内、外固定加植骨手术为主^[4-7],但新的方法如含促骨形成基因的腺病毒载体疗法和低强度脉冲超声技术也在不断涌现^[8-9]。然而,由于自体供骨来源有限,供体部位手术创伤大,易发生感染、疼痛等并发症,极大地限制了这些技术的应用。BMSC 在体内不仅可以增殖并向成骨细胞转化,直接参与骨折的修复,而且成骨细胞分泌的一些细胞因子也为

修复提供了微环境,加速骨折的修复,其应用为临床上治疗骨折不愈合提供了一种新的方法^[10-11]。国外学者的研究显示在内固定同时接受 BMSC 植入是一种安全有效的治疗方法,患者术后影像学检查表现出骨痂生成更快,而骨痂早期生成能极大地改善患者的运动功能^[10-11]。国内童培建等^[12-13]经皮注射或经旋股内外动脉注射 BMSC 治疗股骨头坏死,经长期随访取得了良好的临床疗效,这一方法有利于恢复股骨头内血液供应,提高局部成骨能力,促进死骨修复。本研究 C 组经股动脉注入鹿瓜多肽和 BMSC 混合液后骨痂生成量、ALP 和 OCN 水平均较 A 组、B 组明显增加,差异有统计学意义,且通过荧光示踪技术可以观察到转染的荧光 BMSC 经股动脉注入后能顺利到达骨折端并发挥作用,与兔自身 BMSC 共存,无一实验兔因感染或排斥反应而死亡,该方法操作简单易行,鹿瓜多肽和 BMSC 混合液经血管注入安全性较高,能明显促进骨折愈合。

目前建立动物骨折不愈合模型方法有截骨法、机械活动法和组织嵌入法等^[14-15]。本研究将新西兰兔骨折端切除 0.5cm,并剥除骨折远端约 0.5cm 骨膜,然后使用克氏针固定,造成骨折不愈合模型,A 组术后第 7 周骨折线仍清晰,骨痂量少且出现骨痂吸收情况,达到临床骨折不愈合标准,表明该方法操作简单,造模成功。B 组和 C 组随着细胞和药物干预时间延长,骨痂生成增多,至第 7 周骨折线基本消失,但是 C 组较 B 组骨痂生成量更多,且内外骨痂生成量均明显,C 组第 1、4、7 周骨痂 Nordsletten 评分均比 A 组、B 组高(仅第 1 周与 B 组相比差异无统计学意义)。笔者认为原因有:A 组因骨痂生成量少,骨折端不稳定,微动又可影响骨痂生成;B 组需每次透视下穿刺给药,且范围局限,在骨折周围重新建立新生血管需要一定时间;而 C 组直接将药物及细胞注入股动脉,不但短时间内直接作用到骨折受损血管,而且能通过供血动脉和侧支循环直接作用于骨折端,促进成骨。这也与 C 组在荧光显微镜下观察到更多 BMSC 聚集和 $\Delta S/S$ 比值更高相一致,表明经股动脉注入鹿瓜多肽及 BMSC 更能够促进骨痂生成,更有效地治疗骨折不愈合。

现已证明 ALP 是成骨细胞早期分化的特异性标志物之一,参与调节成骨细胞分化,提供骨盐,利于成骨,其活性越高,说明前成骨细胞向成熟成骨细胞分化越明显^[16-18]。OCN 仅由成骨细胞合成,是成骨细胞分化成熟和骨形成的指标^[17-19]。本研究各组术后第 7 周 ALP 水平反而比第 4 周减少,这与 ALP 是成骨细胞早期分化因子,而第 7 周 B 组和 C 组已处于骨塑形阶段,A 组处于

骨不愈合阶段有关。OCN 是成骨细胞在基质矿化阶段的表达产物,因而各组术后第 1、4、7 周血清 OCN 水平随着细胞和药物作用时间延长而逐渐升高。C 组术后第 1、4、7 周 ALP 和 OCN 水平均较 A 组、B 组明显升高,差异均有统计学意义,这表明经股动脉注入鹿瓜多肽及 BMSC 能增强 ALP 和 OCN 的表达,从而促进成骨细胞分化,有利于骨折愈合,这也在影像学观察中得到了证明。

BMSC 只有聚集在骨折端才能更有效发挥促成骨细胞分化作用,从而为骨折愈合奠定基础。B、C 组从截取骨折段吹洗出经慢病毒转染显绿色荧光的 BMSC 可以直接在荧光显微镜下观测,C 组较 B 组 BMSC 聚集更多,形态上无明显差别,都呈单层生长,多为长梭形或类三角形,这与 BMSC 正常培养的活性状态一致。倒置相差显微镜下可见注入的荧光 BMSC 与兔本身 BMSC 共同生长,形态亦无差别,因而具有可比性。用 MATLAB 图像软件分析 $\Delta S/S$ 比值,C 组较 B 组高,差异有统计学意义。这直接说明经股动脉注入鹿瓜多肽及 BMSC 治疗骨折不愈合安全有效,BMSC 能够顺利到达骨折端,并与动物本身 BMSC 共生,显示出良好活性状态,无排斥反应。C 组因为注入的 BMSC 聚集到骨折端周围更多,从而成骨、促进骨折愈合作用更明显,这与影像学观察和相关成骨因子指标检测结果相一致。

鹿瓜多肽注射液可经血管滴注,是骨科常用的一种较为安全的中药复方制剂,药理研究表明不仅可以促进成骨细胞分化表达,且能降低骨折局部毛细血管通透性,减少炎性渗出,减轻疼痛,同时还能降低全血黏度和红细胞聚集程度,改善骨折周围血液循环,为骨细胞提供一个良好的生长环境^[20]。故本研究选用此药物,结果证明其与 BMSC 制成混合液后,BMSC 能保持活性状态,而且可以协同发挥促骨形成作用。

总之,经股动脉注入鹿瓜多肽及 BMSC 治疗骨折不愈合操作简单可行,安全性高,能有效促进骨折愈合,疗效确切。但本研究存在样本量偏少、缺乏硬组织切片观察等缺点,有待进一步研究验证。

4 参考文献

- [1] Borrelli J, Prickett WD, Ricci WM. Treatment of nonunions and osseous defects with bone graft and calcium sulfate[J]. Clin Orthop Relat Res, 2003, 6 (411): 245-254. DOI: 10.1097/01.blo.0000069893.31220.6f.
- [2] 刘建恒,张里程,唐佩福.骨折延迟愈合和不愈合的诊治现状[J].中华外科杂志,2015,53(6):464-467. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2015.06.015.
- [3] Nordsletten L, Madsen JE, Almaas R, et al. The neuronal regulation of fracture healing: effects of sciatic nerve resection in rat

- tibia[J]. Acta Orthop Scand, 1994, 65(3): 299-304. DOI: 10.3109/17453679408995457.
- [4] Marquez-Lara A, Luo TD, Senehi R. Exchange nailing for hypertrophic femoral nonunion[J]. J Orthop Trauma, 2017, 31(8): 23-25. DOI: 10.1097/BOT.0000000000000905.
- [5] Gubin AV, Borzunov DY, Marchenkova LO, et al. Contribution of G.A. Ilizarov to bone reconstruction: historical achievements and state of the art[J]. Strategies Trauma Limb Reconstr, 2016, 11(3):145-152. DOI: 10.1007/s11751-016-0261-7.
- [6] Patel AA, Ricci WM, McDonald DJ, et al. Treatment of periprosthetic femoral shaft nonunion. J Arthroplasty[J]. 2006, 21(3): 435-442. DOI: 10.1016/j.arth.2005.04.036.
- [7] Bernstein M, Fragomen AT, Sabharwal S, et al. Does integrated fixation provide benefit in the reconstruction of posttraumatic tibial bone defects?[J]. Clin Orthop Relat Res, 2015, 473(10): 3143-3153. DOI: 10.1007/s11999-015-4326-6.
- [8] Emara KM, Diab RA, Emara AK. Recent biological trends in management of fracture non-union[J]. World J Orthop, 2015, 6(8): 623-628. DOI: 10.5312/wjo.v6.i8.623.
- [9] Padilla F, Puts R, Vico L, et al. Stimulation of bone repair with ultrasound: a review of the possible mechanic effects[J]. Ultrasonics, 2014, 54(5): 1125-1145. DOI: 10.1016/j.ultras.2014.01.004.
- [10] Imam MA, Holton J, Ernstbrunner L, et al. A systematic review of the clinical applications and complications of bone marrow aspirate concentrate in management of bone defects and nonunions[J]. Int Orthop, 2017, 41(11): 2213-2220. DOI: 10.1007/s00264-017-3597-9.
- [11] Ismail HD, Phedy P, Kholinne E, et al. Mesenchymal stem cell implantation in atrophic nonunion of the long bones: a translational study[J]. Bone Joint Res, 2016, 5(7): 287-293. DOI: 10.1302/2046-3758.57.2000587.
- [12] 童培建, 叶福生, 张善星, 等. 超选动脉骨髓基质干细胞灌注治疗非创伤性股骨头坏死中长期疗效分析[J]. 中国骨伤, 2014, 27(7): 565-569. DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2014.07.008.
- [13] 童培建, 金红婷, 何帮剑, 等. 干细胞介入治疗股骨头缺血性坏死的实验研究[J]. 中华骨科杂志, 2016, 30(6): 600-606. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2010.06.013.
- [14] Brownlow HC, Simpson AH. Metabolic activity of a new atrophic nonunion model in rabbits[J]. J Orthop Res, 2000, 18(3): 438-442. DOI: 10.1002/jor.1100180316.
- [15] 郭征, 郭霞, 郑振耀. 组织隔离法与机械活动法在兔胫骨骨不连模型建立中的作用[J]. 中华创伤骨科杂志, 2004, 6(11): 1261-1264. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-7600.2004.11.019.
- [16] Mendes SC, Tibbe JM, Veenhof M, et al. Relation between in vitro and in vivo osteogenic potential of cultured human bone marrow stromal cells[J]. 2004, 15(10): 1123-1128. DOI: 10.1023/B:JMSM.0000046394.53153.21.
- [17] Zhou W, Liu Q, Xu B. Improvement of bone defect healing in rats via mesenchymal stem cell supernatant[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(2): 1500-1504. DOI: 10.3892/etm.2017.5534.
- [18] Wu Z, Weng S, Yan D, et al. Administration of cinnamaldehyde promotes osteogenesis in ovariectomized rats and differentiation of osteoblast in vitro[J]. J Pharmacol Sci, 2018, 138(1): 1-7. DOI: 10.1016/j.jphs.2018.09.002.
- [19] 朱金土, 刘波, 车菲, 等. 人脂肪干细胞复合珊瑚支架在三维培养下成骨活性的初步研究[J]. 浙江医学, 2013, 35(19): 1715-1717, 1772.
- [20] 杨垒. 鹿瓜多肽注射液的临床应用综述[J]. 当代医学, 2009, 15(10): 12-13. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2009.10.010.

(收稿日期: 2019-02-21)

(本文编辑: 俞骏文)

读者·作者·编者

《浙江医学》对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计学分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据采用的设计类型、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以及分析目的, 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的回归分析资料, 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学分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。应写明所用统计学分析方法的具体名称(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)。

2. 统计结果的解释和表达: 当 $P < 0.05$ 或 < 0.01 时, 应说明对比较组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比较组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 统计量的具体值(如 t 值, χ^2 值, F 值等)应尽可能给出具体的 P 值; 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, 再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部