

成釉细胞蛋白基因多态性与氟斑牙关系的研究

焦永卓 牟李红 王应雄 晏维 蒋苗

【摘要】 目的 观察成釉细胞蛋白(AMBN)基因多态性在重庆市燃煤型氟中毒人群中的分布,探讨 AMBN 基因多态性与氟斑牙的关系。方法 采用病例对照研究,在重庆市巫山、奉节县 2 个燃煤型氟中毒病区抽取 8~12 岁氟斑牙患病儿童 100 例、成人 30 例作为病例组;分别抽取非氟斑牙患病 8~12 岁儿童 100 例、成人 30 例作为内对照组,另在渝北区(非病区)抽取 50 名儿童、30 名成人作为外对照组。采集所有研究对象外周静脉血,提取 DNA,采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法测定 3 组人群 AMBN 基因 7 号外显子(538_540delGGA)、10 号外显子(657A>G)和 13 号外显子(986C>T)位点基因型,观察并分析比较组间各基因型分布差异。结果 病例及内、外对照组 GGA/GGA 基因频率分别为 61.2%(74/121)、78.5%(102/130)和 74.3%(52/70),GGA/-基因频率分别为 24.0%(29/121)、15.4%(20/130)和 22.9%(16/70),-/- (GGA 完全缺失)基因频率分别为 14.8%(18/121)、6.1%(8/130)和 2.8%(2/70),各组间的差异有统计学意义($\chi^2=14.353, P=0.006$);病例及内、外对照组 AA 基因频率分别为 86.8%(105/121)、93.1%(121/130)和 91.4%(64/70),AG 基因频率分别为 13.2%(16/121)、6.9%(9/130)和 8.6%(6/70),各组间差异无统计学意义($\chi^2=2.972, P>0.05$);病例及内、外对照组 CC 基因频率分别为 81.0%(98/121)、90.0%(117/130)和 87.1%(61/70);CT 基因频率分别为 19.0%(23/121)、10.0%(13/130)和 12.9%(9/70),各组间差异无统计学意义($\chi^2=4.319, P>0.05$)。与两对照组相比,病例组的 GGA/GGA 基因型频率降低(χ^2 值分别为 8.957、3.405, P 值均 <0.05),GGA 完全缺失基因型频率增高(χ^2 值分别为 5.134、6.833, P 值均 <0.05)。单因素分析显示,携带-/-基因型的个体发生氟中毒的风险增高(病例组与内、外对照组比较,OR 值分别为 2.7、5.9, P 值均 <0.05)。与内对照组比较,病例组 CT 基因型频率增高($\chi^2=4.139, P<0.05$)。病区携带 CT 基因型的个体发生氟中毒的风险增高($OR=2.1, P<0.05$)。结论 AMBN 基因 7 号外显子 538_540delGGA 和 13 号外显子 986C>T 位点多态性可能是影响氟斑牙发病的易感性因素之一。

【关键词】 氟斑牙;成釉细胞蛋白;燃煤污染;基因多态性

Association between ameloblastin gene polymorphisms and the susceptibility to dental Fluorosis
 JIAO Yong-zhuo¹, MU Li-hong¹, WANG Ying-xiong², YAN Wei³, JIANG Miao¹. 1 Department of Epidemiology, School of Public Health and Management, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2 Faculty of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University; 3 Institution of Endemic Disease Prevention, Chongqing Center for Disease Control and Prevention
 Corresponding author: MU Li-hong, Email: mulihong@yahoo.com
 This work was supported by a grant from the Chongqing Geological Prospecting Development Authority (No. [02. 2010]).

【Abstract】 Objective To study the distribution of ameloblastin(AMBN) gene polymorphism in coal-fire caused fluorosis (CFCF) in Chongqing municipality and the relationship between AMBN gene polymorphism and the susceptibility to dental fluorosis. **Methods** Under a case-control study, 100 children aged 8-12 and 30 adults with dental fluorosis were enrolled in Wushan and Fengjie counties of Chongqing from December 2010 to February 2011. Another 100 children aged 8-12 and 30 adults with non-dental fluorosis were chosen as internal control groups together with 50 children

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.01.007

基金项目:重庆市地质矿产勘探开发局资助([2010]科函02号)

作者单位:400016 重庆医科大学公共卫生与管理学院流行病学教研室(焦永卓、牟李红、蒋苗),基础医学院(王应雄);重庆市疾病预防控制中心地方病防治所(晏维)

通信作者:牟李红, Email: mulihong@yahoo.com

and 30 adults without dental fluorosis were selected as external control groups in the non-epidemic area of Yubei district. DNA was extracted from peripheral blood sample of these people. Genotype of AMBN gene 7 exon 538_540delGGA, 10 exon 657A>G and 13 exon 986C>T loci were detected using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. **Results** The rates of 7 exon 538_540delGGA loci among case, internal and external control groups were as follows: GGA/GGA -- 61.2% (74/121), 78.5% (102/130), 74.3% (52/70); GGA/- : 24.0% (29/121), 15.4% (20/130), 22.9% (16/70); -/- : 14.8% (18/121), 6.1% (8/130), 2.8% (2/70), the difference was statistically significant ($\chi^2=14.353$, $P<0.05$). The AA appeared to be 86.8% (105/121), 93.1% (121/130), 91.4% (64/70) and AG were 13.2% (16/121), 6.9% (9/130), 8.6% (6/70), with difference not statistically significant ($\chi^2=2.972$, $P>0.05$). CC appeared as 81.0% (98/121), 90.0% (117/130), 87.1% (61/70) while CT as 19.0% (23/121), 10.0% (13/130), 12.9% (9/70), with difference not statistically significant ($\chi^2=4.319$, $P>0.05$). In comparing with the two control groups, the frequency of GGA/GGA was decreasing (χ^2 values were 8.957, 3.405, respectively, $P<0.05$) while the frequency of -- was increasing (χ^2 values were 5.134, 6.833, respectively, $P<0.05$). Results from the univariate analysis showed that the individuals who were carrying -- genotype had an increased risk of suffering from fluorosis (OR values were 2.7, 5.9, respectively, $P<0.05$). When compared with the internal control group, the CT genotype of case group showed an increase ($\chi^2=4.139$, $P<0.05$) while individuals that carrying CT genotype had an increased risk of suffering from fluorosis (OR=2.1, $P<0.05$), in epidemic-area. **Conclusion** Our results showed that the 7 exon 538_540delGGA and the 13 exon 986C>T loci polymorphism in AMBN gene might serve as the susceptibility factors causing the coal-fired fluorosis.

【Key words】 Dental fluorosis; Ameloblastin; Coal-fired polluting; Gene polymorphism

有研究表明^[1,2], 居住于同一病区人群, 其个体患病与否以及患病程度有所不同, 可能与遗传易感性或耐受性有关。近来研究已发现与氟中毒有关的单核苷酸多态性(SNP)位点^[3,4]。氟斑牙本质的病理改变是牙釉质成熟缺陷^[5], 而成釉细胞蛋白(AMBN)在氟斑牙形成机制中处于关键地位^[6]。本研究对病区氟中毒患者和非患者及非病区正常对照的 AMBN 基因中 7 号外显子(538_540delGGA)、10 号外显子(657A>G)和 13 号外显子(986C>T)上位点的多态性进行检测分析, 探讨 AMBN 基因多态性与氟斑牙发病的关系。

对象与方法

1. 样本选择: 在重庆市 13 个地方性氟中毒乡镇中, 随机抽取奉节、巫山两县, 再分别随机抽取兴隆镇和笃坪乡, 根据 Dean 法在两乡中随机抽取 100 例 8~12 岁患氟斑牙儿童(极轻度占 13%, 轻度占 87%)作为病例组(每年龄组男、女性各 5 例), 以年龄、性别、居住条件为匹配因素在当地选取非患者作为内对照组(共 100 例), 另在非病区渝北区抽取性别和年龄构成与病例组一致的 50 名非患者作为外对照组。根据《地方性氟骨症临床分度诊断标准》和《氟骨症 X 线诊断标准》(WS 192-2008), 在巫山县笃坪乡抽取氟骨症患者 30 例(男性 19 例, 女性 11 例), 年龄(45±12.53)岁, 其中氟骨症病情中度 21 例、重度 9 例, 按年龄(相差<3 岁)、性别、居住条件在当地及渝北区别选取 30 例非患者作为内、外对照组, 年

龄分别为(43±14.22)岁、(42±15.38)岁。

2. 研究方法: 根据知情同意的原则, 采集所有调查对象 5 ml 静脉血于肝素抗凝管中, 采用离心柱型全血基因组提取试剂盒(北京 Bioteke 公司)提取 DNA, -20℃ 保存备用。应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法测定 AMBN 基因型。

(1) PCR 扩增 AMBN 基因: 参照文献[7]设计 7 号(538_540delGGA)、10 号(657A>G)和 13 号(986C>T)的引物(由上海生工生物工程技术有限公司合成)。3 个位点的引物分别为: 上游: 5'-CAT TGC AAA CTC TTG GGT CAT A-3', 下游: 5'-GAC CTT GTG GAT CAG GAA AAT C-3'; 上游: 5'-GGG ATG TGC CTG TGA GAA TTA-3', 下游: 5'-AAG GCA CGT ACA ACA TTC CTG-3'; 上游: 5'-ATG GCA TCT TTG ACG AAT GT-3', 下游: 5'-ATC CTT AGG GAG AGC AAG GA-3'。PCR 反应体系: Premix Taq 25 μl, 上下游引物(10 μmol/L)各 1 μl, 模板 DNA 5 μl, 灭菌蒸馏水 16 μl。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min; 63℃ (538_540delGGA)、59℃ (657A>G)、57℃ (986C>T)退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环, 72℃ 延伸 10 min。2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物, 110 V 电压电泳 40 min, 使用冷冻法对扩增产物进行提纯。

(2) RFLP 分型: 20 μl 酶切反应体系包括 PCR 产物 10 μl, 限制性内切酶 BsaJI、Hpy188III、BpmI(美国 NEB 公司)0.5 μl, 10×NEB Buffer 2 μl, 10 号 657A>G 和 13 号 986C>T 需加 100×BSA 0.2 μl, 无菌去离

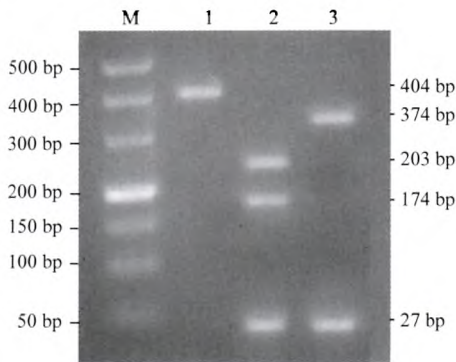
子水补足体积。BsaJI 酶切条件为 60 °C 温育 16 h, Hpy188III 和 BpmI 酶切条件为 37 °C 温育 16 h。反应产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳, 在 UVP 凝胶成像仪下观察结果, 根据电泳条带的数目和位置判断基因型。

实验中为控制 PCR 和酶切质量, 抽取 10% 的样本进行重复试验, 检测其可靠性。

3. 统计学分析: 基因多态性分析, 以 Hardy-Weinberg(H-W) 遗传平衡吻合度检验对照组遗传平衡状况。用 SPSS 17.0 软件进行 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 计算 OR 值及其 95% CI。

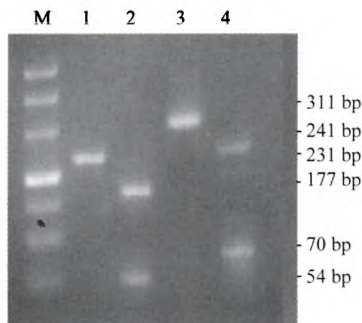
结 果

对照组各基因型分布符合 H-W 遗传平衡定律。各位点酶切结果: 含 538_540delGGA 的 PCR 产物 (401 bp) 可被 BsaJI 酶切为 374 和 27 bp 两个片段, 而野生型 (404 bp) 则被切为 27、174 和 203 bp 三个片段; 含 657A>G 的 PCR 产物可被 Hpy188III 酶切为 177 和 54 bp 两个片段, 野生型 (231 bp) 不能被切开; 含 986C>T 的 PCR 产物可被 BpmI 酶切为 241 和 70 bp 两个片段, 野生型 (311 bp) 不能被切开 (图 1、2)。



注: M: DNA Marker; 1: GGA/GGA 型; 2: GGA/-型; 3: -/-型

图 1 AMBN 基因 7 号外显子 538_540delGG 位点酶切产物电泳图



注: M: DNA Marker; 1: AA 型; 2: AG 型; 3: CC 型; 4: CT 型

图 2 AMBN 基因 10 号外显子 657A>T 和 13 号外显子 986C>T 位点酶切产物电泳图

1. 7 号外显子上 538_540delGGA 位点基因型及等位基因频率分布: 该位点各基因型频率组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=14.353, P<0.05$), 见表 1。与两对照组比较, 病例组 GGA/GGA 基因型频率降低 (χ^2 值分别为 8.957、3.405, P 值均 <0.05), -/- 即 GGA 完全缺失基因型频率明显增高 (χ^2 值分别为 5.134、6.833, P 值均 <0.05)。单因素分析显示, 携带 -/- (GGA 完全缺失) 基因型的个体比携带其他两种型个体发生氟斑牙的风险增高 (病例组与内对照组、外对照组比较, OR 值分别为 2.7、5.9, P 值均 <0.05)。病例组与内、外对照组等位基因频率比较也显示, GGA 缺失型患病的风险增高 (OR 值分别为 2.3、2.2, P 值均 <0.05)。

2. 10 号外显子上 657A>G 位点基因型及等位基因频率分布: 该位点各基因型频率组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=2.972, P>0.05$), 见表 2。等位基因频率在 3 组间分布的差异亦无统计学意义 ($\chi^2=2.821, P>0.05$)。

3. 13 号外显子上 986C>T 位点基因型及等位基因频率分布: 该位点各基因型频率组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=4.319, P>0.05$), 见表 3。等位基因频率在 3 组间分布的差异有统计学意义 ($\chi^2=123.476, P<0.05$)。与内对照组比较, 病例组的 CT 基因型频率增高 ($\chi^2=4.139, P<0.05$)。单因素分析显示, 病区携带 CT 基因型的个体比携带 CC 型的个体发生氟斑牙的风险增高 (病例组与内对照组比较 $OR=2.1, P<0.05$)。

讨 论

对于氟斑牙本质的病理改变, 早期发表的文献认为是由于成釉细胞受损、成釉活动停止造成釉质发育不良。近年来许多学者认识到, 病区人群接触氟的剂量通常不高, 难以严重影响成釉细胞增生、分化而造成釉质发育不良, 认为氟斑牙的病理机制更可能是釉质的成熟缺陷。正常情况下成釉细胞分泌的釉原蛋白在釉质发育成熟和矿化过程中将被蛋白酶分解并从釉基质中移出, 如果釉原蛋白滞留在基质中, 釉质就不能正常发育成熟和充分矿化, 这可能是导致釉质多孔性和低矿化的基本环节^[6,8], 而 Shintani 等^[9]认为, AMBN 在成熟期可为釉质深层蛋白逸出保留通道。成釉细胞蛋白是酸性非釉原蛋白的组成成分之一, 主要分布于釉柱周围。体外实验表明, AMBN 能选择性吸附于合成的磷灰石表面, 抑制晶体进一步生长, 而其小分子降解产物则降低

表 1 3 组人群 AMBN 基因 7 号外显子上 538_540delGGA 酶切位点基因型分布

组别	例数	基因型频数			等位基因频数	
		GGA/GGA	GGA/-	-/-	GGA	-
病例组	121	74(61.2)	29(24.0)	18(14.8)	177(83.5)	65(16.5)
内对照组	130	102(78.5)	20(15.4)	8(6.1)	224(86.2)	36(13.8)
外对照组	70	52(74.3)	16(22.9)	2(2.8)	120(85.7)	20(14.3)
合计	321	228(87.2)	65(20.2)	28(8.7)	521(81.2)	121(18.8)
OR 值		0.4 ^a	1.7 ^a	2.7 ^a	0.4 ^a	2.3 ^a
		0.5 ^b	1.1 ^b	5.9 ^b	0.5 ^b	2.2 ^b
95%CI		0.25 ~ 0.75 ^a	0.92 ~ 3.27 ^a	1.11 ~ 6.38 ^a	0.28 ~ 0.69 ^a	1.45 ~ 3.59 ^a
		0.29 ~ 1.04 ^b	0.53 ~ 2.13 ^b	1.34 ~ 26.43 ^b	0.26 ~ 0.79 ^b	1.27 ~ 3.83 ^b
χ ² 值		8.957 ^a	2.940 ^a	5.134 ^a	13.207 ^a	
		3.405 ^b	0.030 ^b	6.833 ^b	8.105 ^b	
P 值		0.003 ^a	0.087 ^a	0.023 ^a	0.000 ^a	
		0.065 ^b	0.826 ^b	0.009 ^b	0.004 ^b	

注: 括号内数据为百分比(%); 病例组与^a内对照组、^b外对照组比较

表 2 3 组人群 AMBN 基因 10 号外显子上 657A>G 酶切位点基因型分布

组别	例数	基因型频数			等位基因频数	
		AA	AG	GG	A	G
病例组	121	105(86.8)	16(13.2)	0(0.0)	226(93.4)	16(6.4)
内对照组	130	121(93.1)	9(6.9)	0(0.0)	251(96.5)	9(3.5)
外对照组	70	64(91.4)	6(8.6)	0(0.0)	134(95.7)	6(4.3)
合计	321	290(90.3)	31(9.7)	0(0.0)	611(95.2)	31(4.8)
OR 值		0.5 ^a	2.05 ^a		0.5 ^a	2.0 ^a
		0.6 ^b	1.60 ^b		0.6 ^b	1.6 ^b
95%CI		0.21 ~ 1.15 ^a	0.87 ~ 4.83 ^a		0.22 ~ 1.17 ^a	0.86 ~ 4.56 ^a
		0.23 ~ 1.65 ^b	0.61 ~ 4.38 ^b		0.24 ~ 1.66 ^b	0.60 ~ 4.14 ^b
χ ² 值			2.774 ^a		2.628 ^a	
			0.942 ^b		0.884 ^b	
P 值			0.096 ^a		0.105 ^a	
			0.332 ^b		0.347 ^b	

注: ^a 同表 1

表 3 3 组人群 AMBN 基因 13 号外显子上 986C>T 酶切位点基因型分布

组别	例数	基因型频数			等位基因频数	
		CC	CT	TT	C	T
病例组	121	98(81.0)	23(19.0)	0(0.0)	219(90.5)	23(9.5)
内对照组	130	117(90.0)	13(10.0)	0(0.0)	247(95.0)	13(5.0)
外对照组	70	61(87.1)	9(12.9)	0(0.0)	131(93.6)	9(6.4)
合计	321	276(86.0)	45(14.0)	0(0.0)	597(93.0)	45(7.0)
OR 值		0.5 ^a	2.1 ^a		0.6 ^a	2.0 ^a
		0.6 ^b	1.6 ^b		0.7 ^b	0.2 ^b
95%CI		0.23 ~ 0.98 ^a	1.01 ~ 4.39 ^a		0.25 ~ 1.01 ^a	0.99 ~ 4.03 ^a
		0.27 ~ 1.45 ^b	0.69 ~ 3.66 ^b		0.29 ~ 1.46 ^b	0.09 ~ 0.25 ^b
χ ² 值			4.139 ^a		3.913 ^a	
			1.203 ^b		1.093 ^b	
P 值			0.042 ^a		0.057 ^a	
			0.273 ^b		0.000 ^b	

注: ^a 同表 1

了对磷灰石表面的亲和力,使矿物发生沉积,从而控制晶体生长。有研究提出:釉质晶体生长的控制依赖于一些抑制性蛋白,AMBN 即为抑制性蛋白之一。AMBN 在亲水性 c-末端微肽被酶解去除后,成为以疏水为主的分子,聚集在釉基质中,构成的 AMBN 网状结构凝聚体能够为生长中的晶体提供物理性支架。有助于支持和引导未成熟晶体沿正确的方向生长,从而决定了其最终的结构。有学者报道,AMBN 分子有矿物离子结合能力,可作为釉质矿化过程中离子储库。而成熟期 AMBN 作为釉质蛋白降解产物的逸出通道,可能与氟斑牙形成过程中被水解的釉质蛋白不能被顺利移出,从而阻碍牙釉质的成熟和进一步矿化有关。

AMBN 基因是一种牙胚发育特异性基因,定位于 4q21^[10],有学者推测该基因可能是釉质发育不全的致病基因。国内外学者对该基因与牙源性肿瘤的关系进行了研究,发现了多处突变的 SNP 位点。本文为该基因与地方性氟中毒相关的研究,测定 3 处 SNP 位点,其中 7 号外显子上 538_540delGGA 和 13 号外显子上 986C>T 均在编码区,并能引起氨基酸的改变,而处于 10 号外显子的 657A>G 不能引起氨基酸改变。

本文结果显示,与两个对照组相比,病例组 -/- 即 GGA 完全缺失基因型频率明显增高,在相同氟暴露水平下病例组该位点上 GGA 缺失频率高于正常人,提示该地区人群氟斑牙、氟骨症的易感性可能与 7 号外显子上这一位点的变化有关。单因素分析也显示,携带 -/- (GGA 完全缺失) 基因型的个体比携带其他两种型的个体发生氟斑牙的风险增高(病例组与内对照组、外对照组比较,OR 值分别为 2.7、5.9, P 值均 < 0.05),暴露于病区高氟环境中携带有 GGA 完全缺失基因型的个体患地方性氟中毒风险是非病区不携带该基因型个体的 5.9 倍,提示高氟暴露环境使得该位点 GGA 缺失的风险增大。对 AMBN 基因 13 号外显子上 986C>T 位点基因型频率比较结果显示,与内对照组相比,病例组的 CT 基因型频率增高(χ² = 4.139, P < 0.05);单因素分析显示,病区携带 CT 基因型的个体比携带 CC 型的个体发生氟中毒的风险增高

(OR=2.1, P<0.05),说明病区氟斑牙/氟骨症的易感性与13号外显子上这一位点的变化有关。

AMBN在牙釉质形成过程中的重要功能以及其SNP位点在病例与对照组间存在的差异,说明该地区燃煤型地方性氟中毒病例的易感性可能与7号外显子上538_540delGGA和13号外显子上986C>T位点的出现有关。由于AMBN基因多态性存在个体及地区差异,因此需进一步扩大抽样地区及样本量,以探索该位点变化与氟斑牙/氟骨症的关系,并筛选更多与氟中毒有关的基因,以制订科学合理的防治措施。

参 考 文 献

[1] Aoba T, Fejerskov O. Dental fluorosis: chemistry and biology. Crit Rev Oral Boil Med, 2002, 13(2):155-170.

[2] Deng HW, Chen WM, Conway T, et al. Determination of bone mineral density of the hip and spine in human pedigrees by genetic and life-style factors. Genet Epidemiol, 2000, 19(2): 223-226.

[3] Everett ET, Yan D, Weaver M, et al. Detection of dental fluorosis-associated quantitative trait Loci on mouse chromosomes 2 and 11. Cells Tissues Organs, 2009, 189(1-4):212-218.

[4] Ba Y, Yang YJ, Yin GJ, et al. Study on the relationship between

collagen type I alpha 2, osteocalcin genes polymorphisms, serum calcitropic hormone levels and dental fluorosis. Chin J Endemiol, 2009, 28(2):142-145. (in Chinese)

巴月,杨跃进,银恭举,等. I型胶原 $\alpha 2$ 和骨钙素基因多态性及钙调节相关激素与氟斑牙的关系. 中国地方病学杂志, 2009, 28(2):142-145.

[5] Zhang AJ. The formation mechanism of dental fluorosis. Chin J Endemiol, 2011, 30(1):16-20. (in Chinese)

张爱君. 氟斑牙的形成机制. 中国地方病学杂志, 2011, 30(1): 16-20.

[6] Robinson C, Connell S, Kirkham J, et al. The effect of fluoride on the developing tooth. Caries Res, 2004, 38(3):268-276.

[7] Perdigião PF, Gomez RS, Pimenta FJ, et al. Ameloblastin gene (AMBN) mutations associated with epithelial odontogenic tumors. Oral Oncol, 2004, 40(8):841-846.

[8] DenBesten PK. Biological mechanisms of dental fluorosis relevant to the rise of fluoride supplements. Community Dent Oral Epidemiol, 1999, 27(1):41-47.

[9] Shintani S, Kobata M, Toyosawa S, et al. Identification and characterization of ameloblastin gene in a reptile. Gene, 2002, 283(1-2):245-254.

[10] Krebsbach PH, Lee SK, Matsoki Y, et al. Full-length sequence, localization, and chromosomal mapping of ameloblastin. A novel tooth-specific gene. Gene, 1996, 271(8):4431-4435.

(收稿日期:2012-07-04)

(本文编辑:张林东)

读者·作者·编者

本刊对统计学方法的要求

统计学符号按GB 3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定一律采用斜体排印,常用:①样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} (中位数用M);②标准差用英文小写s;③标准误用英文小写 s_x ;④t检验用英文小写t;⑤F检验用英文大写F;⑥卡方检验用英文小写 χ^2 ;⑦相关系数用英文小写r;⑧自由度用英文小写v;⑨概率用英文大写P(P值前应给出具体检验值,如t值、 χ^2 值、q值等),P值应给出实际数值,不宜用大于或小于表示,而用等号表示,小数点后保留3位数。

研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。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4个基本原则(重复、随机、对照、均衡)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。

资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_R)$ 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。

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点图,选用合适的回归类型,不应盲目套用直线回归分析;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。

统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)时,应说对比组之间的差异具有统计学意义,而不应说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),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 $P < 0.01$ 三种表达方式即可满足需要,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,再给出95%可信区间。