

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.23.007

BDNF 及其受体在多囊卵巢综合征大鼠中的表达*

吴敏敏¹, 蒋立艳^{1,2△}, 操思凡¹

(1. 广东药学院公共卫生学院, 广州 510000; 2. 广东药学院附属第一医院妇产科, 广州 510000)

[摘要] **目的** 研究脑源性神经营养因子(BDNF)及其受体基因在来曲唑诱导的多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠模型卵巢组织中的定量表达。**方法** 将SD大鼠分成两组,模型组20只,对照组20只,每日定时称量大鼠体质量并观察两组大鼠的体质量变化。应用来曲唑诱导大鼠PCOS模型,放射免疫法测定血清性激素水平,苏木素-伊红(HE)染色法观察卵巢组织学变化,实时定量荧光PCR法检测BDNF及TrkB、p75基因的表达。**结果** 模型组增加的体质量显著高于对照组($P<0.01$)。与对照组比较,模型组血清睾酮、促黄体生成激素、促卵泡激素水平显著增高,雌二醇、孕酮水平显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。模型组卵巢体积增大,囊状扩张卵泡明显增多,黄体数量明显减少。模型组卵巢组织中BDNF mRNA和p75 mRNA水平显著高于对照组($P<0.05$),而TrkB mRNA水平显著低于对照组($P<0.05$)。**结论** 卵巢组织内BDNF/TrkB/p75表达水平的变化可能与PCOS卵泡发育障碍相关。

[关键词] 多囊卵巢综合征;疾病模型,动物;脑源性神经营养因子;受体,TrkB;受体,p75

[中图分类号] R711.75 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)23-3190-06

Expression of BDNF and its receptors in polycystic ovary syndrome in rats*

Wu Minmin¹, Jiang Liyan^{1,2△}, Cao Sifan¹

(1. School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510000, China;

2. Department of Gynecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its receptors mRNAs in ovary tissues of letrozole-induced polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats. **Methods** The SD rats were divided into two groups (model group and control group), 20 rats in each group. The rat models of PCOS were established by letrozole. Serum sex hormone levels were determined by radioimmunoassay. The histologic changes in ovaries were observed by Hematoxylin-eosin staining, and the expression of BDNF and its receptors gene in ovary tissues was detected by Real-time PCR. **Results** Although the serum testosterone, follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone levels in model group were markedly increased more than those in the control group ($P<0.01$), estradiol and progesterone in model group showed a considerable reduction ($P<0.05$). When compared with the control group, model group rats showed increased ovarian volume and high incidence of subcapsular ovarian cysts together with decreased number of corpora lutea. The expression of BDNF and p75 mRNAs was significantly higher in model group than that in the control group ($P<0.05$), but the expression of TrkB mRNA reduced ($P<0.05$). **Conclusion** BDNF/TrkB/p75 expressed in ovarian tissues may play a specific role on follicular developmental disorders in letrozole-induced PCOS rats.

[Key words] polycystic ovary syndrome; disease models, animal; brain-derived neurotrophic factor; receptor, TrkB; receptor, p75

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是青春期及育龄女性中最常见的高度异质性的内分泌与代谢紊乱疾病,是引起无排卵性不孕的主要原因,表现为窦前卵泡数量增多、窦卵泡发育和优势卵泡选择障碍^[1-2]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)作为卵巢局部的一种重要调节因子,在PCOS发病中的相关机制成为近年来的研究热点。目前的研究认为,BDNF可能参与人类卵泡发育和卵母细胞成熟等过程^[3],并发现BDNF在PCOS患者卵泡液中表达水平显著升高^[4],但PCOS患者卵巢组织内BDNF改变与卵泡发育障碍之间的相互关系尚未有深入的研究报道。

因此,应用来曲唑诱导的PCOS大鼠模型,通过实时定量荧光PCR(RT-PCR)法在分子水平上探讨BDNF及其受体TrkB/p75在PCOS大鼠卵巢组织中的表达情况,为PCOS发病机制的研究和临床治疗提供一些实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 6周龄SPF级雌性SD大鼠40只(平均体质量178.5g),购于广东省医学实验动物中心,合格证号:SCXK(粤)2013-0002。饲养于清洁级环境,温度20~24℃,湿度50%~80%,每日光照14h,给予自由饮食。

1.2 方法

* 基金项目:广东省医学科研基金(A2010288);广东省人口和计划生育委员会科研项目(2009345)。 作者简介:吴敏敏(1988-),住院医师,硕士,主要从事多囊卵巢综合征研究。 △ 通讯作者, E-mail: jlyby@sina.com。

表 1 RT-PCR 引物

| 基因 | 上游引物(5'-3') | 下游引物(5'-3') | 产物大小(bp) |
|----------------|-------------------------|-----------------------|----------|
| BDNF | AAGGCACTGGAACTCGCAAT | TTATGAACCGCCAGCCAATT | 92 |
| TrkB | AAATCCAGCCCCGACACTCAG | TGGTCACAGACTTCCCTTCCT | 151 |
| p75 | CAGGCCAGGCCCTCAAG | GGTATCCCCGTTGAGCAGTTT | 92 |
| β -Actin | CATTGTCACCAACTGGGACGATA | GGATGGCTACGTACATGGCTG | 188 |

1.2.1 主要试剂 来曲唑片购自江苏恒瑞医药股份有限公司;羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose,CMC)购自 Sigma 公司;放射免疫试剂盒购自北京北方生物技术研究所;Trizol 试剂(Invitrogen 公司);逆转录酶(Superscript III system)、dNTP、Taq 酶和荧光定量试剂均购自 Life technology 公司,利用 Primer5.0 程序设计引物并由 Invitrogen 公司合成。

1.2.2 PCOS 模型的建立及评判 将 SD 大鼠分成两组,模型组 20 只,对照组 20 只。模型组大鼠灌胃服用来曲唑 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (溶于 1%羧甲基纤维素中),对照组灌胃服用 1%羧甲基纤维素,两组均连续灌服 21 d。在此期间每日定时称量大鼠体质量并观察两组大鼠的体质量变化,每日定时做大鼠阴道涂片加巴氏染色以监测两组大鼠的动情周期有无改变。模型组在最后一次灌服来曲唑 24 h 后(并禁食禁饮 10 h),经 10%水合氯醛麻醉,快速心脏采血 5 mL 致死,对照组在其动情间期同法处死。采血 5 mL,2 000 r/min 离心 20 min,将上层血清转入 Eppendorf 氏管中, $-40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。取出卵巢称取质量后,一侧卵巢液氮冻存,一侧立即置于体积分数为 4%的多聚甲醛中固定。

1.2.3 卵巢组织学检查 实验大鼠一侧卵巢经固定脱水后,以最大平面作为待检平面行石蜡包埋,每个石蜡块分别以 4 μm 厚度连续切片,常规脱蜡水化后苏木素-伊红(HE)染色 10 min,1%盐酸乙醇分化,1%伊红溶液染色 10 s,脱水,透明,中性树脂封片,光镜下观察卵巢组织学形态变化。

1.2.4 血清性激素检测 应用放射免疫法测定血清中促黄体生成激素(LH)、促卵泡激素(FSH)、雌二醇(E_2)、孕酮(P)、睾酮(T),以评定内分泌改变。批内变异系数 $CV < 10\%$,批间变异系数 $CV < 15\%$,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.5 RT-PCR 检测 BDNF 及受体在卵巢组织中的表达 Trizol 抽提总 RNA,经 Superscript III system 逆转录合成 cDNA 后,行 RT-PCR 扩增和检测,反应体系 20 μL :样品模板 1.0 μL ,上下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 0.5 μL ,10 \times PCR buffer 2 μL ,镁离子(50 mmol/L)1 μL ,dNTPs(10 mmol/L)0.5 μL ,20 \times SYBR(R) GREEN I 荧光试剂 0.3 μL ,Taq 酶(5 u/ μL)0.2 μL ,超纯水 14 μL 。反应条件:先 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、2 min 预变性;然后 $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 s 变性,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 退火,70 $^{\circ}\text{C}$ 45 s 延伸,共进行 40 个循环,并在每个循环延伸末端点收集荧光信号,绘制扩增曲线;40 个循环后设置(95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,70 $^{\circ}\text{C}$ 45 s)反应步骤,并且对 60 $^{\circ}\text{C}$ 到 95 $^{\circ}\text{C}$ 升温整个过程进行全程荧光信号收集,绘制融解曲线。每个样品设置 3 个重复。融解曲线(纵坐标是荧光信号强度,横坐标是温度),峰的位置就代表产物的 T_m 值;扩增曲线(纵坐标是荧光信号强度,横坐标是反应的循环数),反应的循环数与荧光阈值的交汇点代表 CT 值。选用 β -Actin 基

因为内参基因,分析扩增曲线及融解曲线,从而得出 mRNA 表达量。引物序列见表 1。

1.3 统计学处理 采用 SAS 9.0 统计软件包进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较均采用独立样本 t 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般情况比较 模型组每 3 天所称量的体质量均大于对照组,模型组增加的体质量(最后 1 次灌胃后第 2 天与第 1 次灌胃前第 1 天差值)显著高于对照组 [(90.2 \pm 16.0) g vs. (49.4 \pm 7.1) g, $t = -7.42, P < 0.01$],见图 1。模型组有 80% 大鼠阴道涂片从 4 d 规律动情周期转变为无周期性改变,而对照组未出现此改变。

2.2 卵巢组织形态学改变 肉眼观察对照组大鼠卵巢色泽红,表面可见较多黄体;镜下可见多个黄体及不同发育阶段的各级卵泡,包括次级卵泡、优势卵泡、新鲜黄体等。而模型组卵巢色泽苍白,体积较对照组增大,表面可见较多透亮的囊泡,极少见黄体;其镜下可见较多早期初级卵泡和闭锁卵泡,特征性的可见较多囊性扩张卵泡,囊内未见卵母细胞及放射冠等基本结构,伴 1~2 层或无颗粒细胞,另外卵泡膜增厚,间质细胞明显增生,黄体数量明显减少,见图 2。

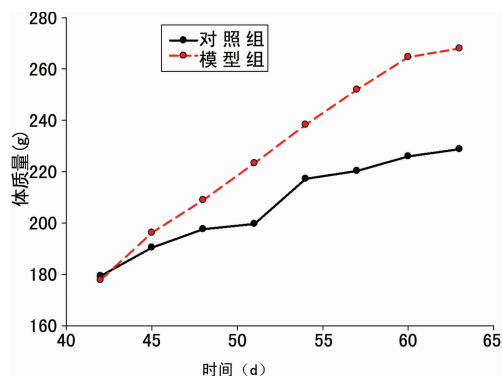


图 1 大鼠体质量增长曲线

2.3 血清性激素水平比较 模型组大鼠血清 T、LH 和 FSH 水平较对照组显著增高,而血清 E_2 和 P 水平显著降低 ($P < 0.05$),见表 2。

2.4 RT-PCR 检测 BDNF/TrkB/p75 mRNA 在卵巢组织中的表达 4 个基因的融解曲线均显示为单峰, T_m 值分别为 88.05 $^{\circ}\text{C}$ (β -Actin)、83.91 $^{\circ}\text{C}$ (BDNF)、87.32 $^{\circ}\text{C}$ (TrkB) 和 86.23 $^{\circ}\text{C}$ (p75),表明均为 PCR 扩增有限产物的扩增结果,无非特异性扩增。模型组 BDNF mRNA 的表达较对照组明显增加 (0.28 \pm 0.08 vs. 0.21 \pm 0.02, $t = -2.5, P < 0.05$),TrkB mRNA 的表达明显减少 (0.037 \pm 0.013 vs. 0.048 \pm 0.009, $t = 2.15, P < 0.05$),p75 mRNA 的表达明显增加 (0.004 \pm 7

0.001 9 vs. 0.003 1±0.000 6, $t = -2.48$, $P < 0.05$), 差异均有统计学意义。BDNF/TrkB/p75 基因的扩增曲线及融解曲线

见图 3。

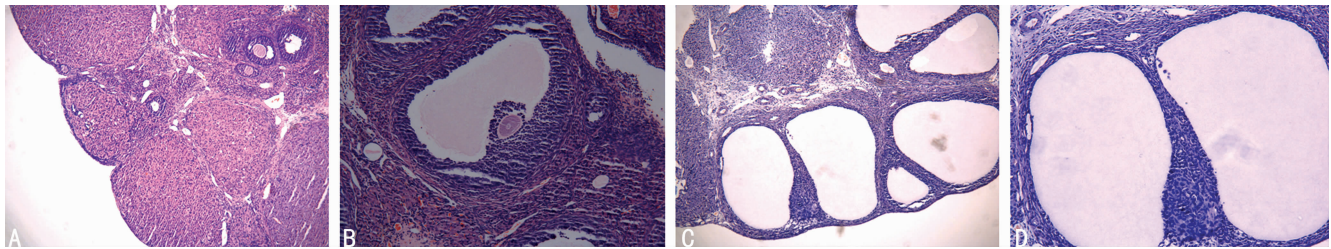


图 2 卵巢组织学变化
A: 对照组, 显示不同发育阶段的卵泡及多个黄体(HE×100); B: 对照组, 显示正常次级卵泡(HE×200); C: 模型组, 显示较多个颗粒细胞层数减少的囊状退化卵泡(HE×200); D: 模型组, 显示颗粒细胞层数减少的囊状退化卵泡(HE×200)。

表 2 模型组及对照组血清性激素水平比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | T(ng/mL) | LH(mIU/mL) | FSH(mIU/mL) | P(ng/mL) | E ₂ (pg/mL) |
|----------|-----------|------------|-------------|------------|------------------------|
| 对照组 | 0.51±0.29 | 2.80±1.02 | 0.47±0.20 | 23.63±8.25 | 11.84±3.81 |
| 模型组 | 3.48±1.85 | 3.83±0.56 | 0.86±0.22 | 7.91±1.34 | 6.28±0.90 |
| <i>t</i> | -4.30 | -2.71 | -4.35 | 6.24 | 4.71 |
| <i>P</i> | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

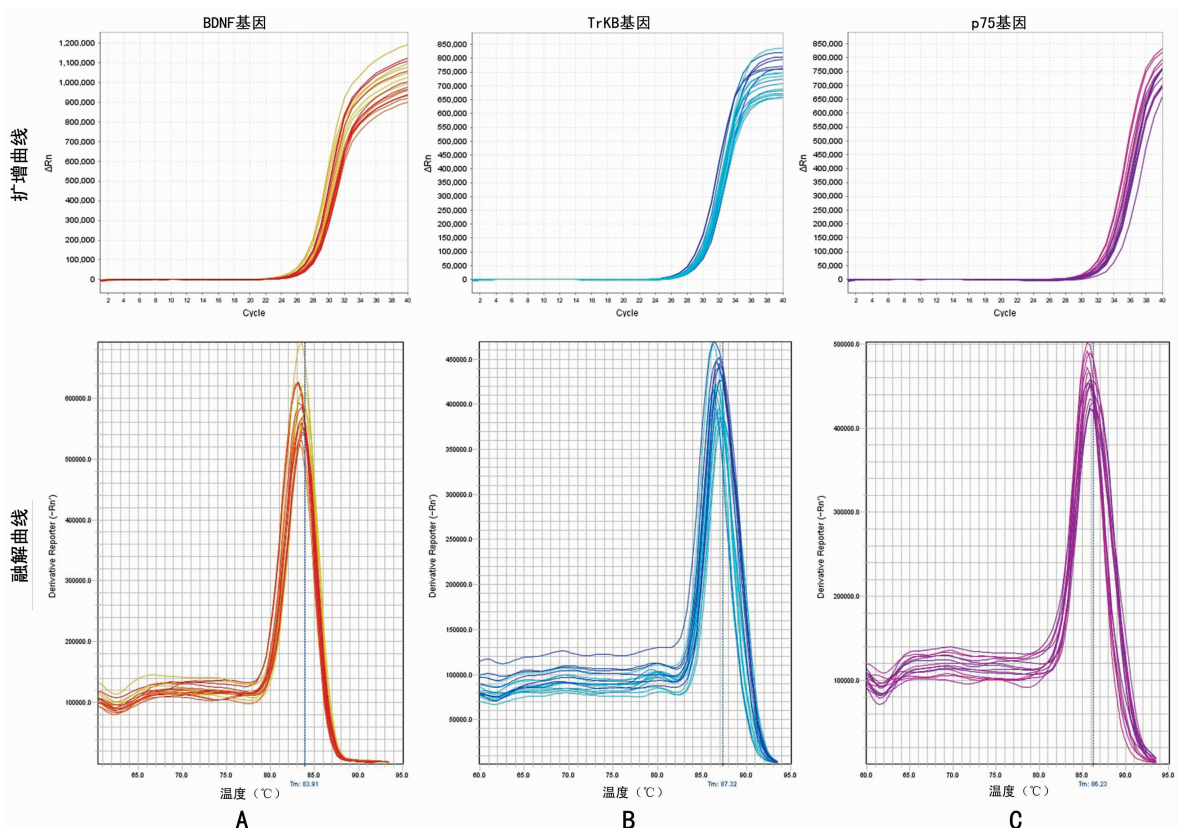


图 3 BDNF/TrkB/p75 基因的扩增曲线及融解曲线

3 讨论

3.1 来曲唑诱导 PCOS 大鼠模型的评价 Kafali 等^[5]首次用来曲唑灌胃法成功构建 PCOS 大鼠模型, 表现为排卵障碍, 性激素水平改变, 卵巢多囊样变, 与人类 PCOS 患者临床表现非常相似。本研究结果显示, 相比对照组, 模型组大鼠血清性激素水平显著升高, 卵巢体积增大及出现较多囊性扩张卵泡等组织学形态表现, 血清孕激素水平降低、黄体数减少及无规律

动情周期提示稀发排卵或无排卵, 同时符合 2003 年鹿特丹会议和 2006 年雄激素过多协会提出的 PCOS 诊断标准。另外, 模型组大鼠体质量增加远高于对照组, 与 PCOS 患者多表现肥胖相符。也有实验表明来曲唑诱导的 PCOS 大鼠亦具有胰岛素抵抗等代谢功能改变^[6]。

本实验造模方法以芳香化酶为 T 和雄烯二酮向雌激素转化的最关键的限速酶为理论依据, 利用一种非甾体类芳香化酶

抑制剂,即来曲唑,阻断雄激素向雌激素的转化,减少雌激素的产生,通过下丘脑-垂体-卵巢轴反馈增强了 LH 的分泌,刺激卵巢间质及卵泡膜细胞合成过多雄激素;同时持续分泌的 LH,不能形成 LH 峰,抑制排卵,也导致孕激素水平下降,低水平的 P 又负反馈促进 LH 分泌增加。大鼠体内雄激素过多,持续无排卵的恶性循环,导致卵巢多囊样改变。模型组大鼠血清 FSH 水平增高是该模型的不足之处,但大鼠具有稳定的遗传背景、经济可操作性、较短的生殖周期和动情周期,以及模型组大鼠与人类 PCOS 高度相似性等优点。因此,来曲唑诱导的 PCOS 动物模型对于研究人类 PCOS 的发病机制是一种较为理想的动物模型。

3.2 BDNF-TrkB/p75 信号通路与 PCOS 卵泡发育障碍的关系 PCOS 患者卵泡发育障碍可能是由异常的内分泌及旁分泌因子、代谢障碍及卵泡内微环境的改变共同作用的^[7]。卵巢内因子的异常影响颗粒细胞-卵母细胞之间的信号传递作用、卵泡发育、卵母细胞成熟和早期胚胎发育等过程^[8],目前发现的卵巢内因子有转化生长因子 β 家族(如抗苗勒管激素、卵泡抑素、激活素、抑制素、生长分化因子-9、骨形态发生蛋白-15)、神经营养因子、表皮生长因子、胰岛素样生长因子、瘦素等^[9]。而 BDNF 作为神经营养因子家族的第 2 个成员,在中枢神经系统发育过程中,对神经元的存活、分化、迁移和生长发育起重要作用,也是成熟的中枢及周围神经系统的神经元维持生存及正常生理功能所必需。近年的研究表明,BDNF 及其受体在人类及其他哺乳动物的卵巢中也有表达,推测 BDNF 可能是促进卵泡发育、颗粒细胞增殖和卵母细胞成熟的生理性调节剂^[10-11]。Buyuk 等^[12]研究发现在诸多原因所致的不孕症患者中,患有卵巢储备功能减退、子宫内膜异位症的患者卵泡液中 BDNF 水平明显下降,但多囊卵巢患者卵泡液中 BDNF 水平增加与对照组无明显差异。而 Russo 等^[4]和 Johnstone 等^[13]采用酶联免疫吸附试验测定 PCOS 患者卵泡内 BDNF 水平,结果均显示 PCOS 患者卵泡液中 BDNF 水平远高于对照组。目前对 BDNF 在 PCOS 个体卵巢内表达情况尚无一致结论。本研究在基因水平上测定了大鼠卵巢组织中 BDNF 的表达,结果显示 PCOS 模型组 BDNF mRNA 的表达较对照组明显增加,与国外 Russo 和 Johnstone 的研究结果是一致的。

TrkB 为一种酪氨酸受体激酶,是 BDNF 的特异性高亲和受体,主要表达于卵母细胞及颗粒细胞,BDNF 作用于 TrkB 通过 G 蛋白促进磷脂酶 C 和肌醇三磷酸依赖的 Ca 离子释放^[14],或者上调细胞内超氧化物歧化酶、谷胱甘肽酶和谷胱甘肽过氧化物酶等,激活 RAS/MAPK 信号通路,从而调节相关基因的转录,促进细胞生存^[12]。p75 为肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族成员,低亲和性但可结合所有神经营养因子,缺乏酪氨酸激酶活性,又似乎有信号传递功能。p75 主要表达于卵巢间质细胞和卵泡膜细胞。当 Trk 受体无效突变时,p75 可以诱导卵母细胞和颗粒细胞凋亡,而 p75 无效突变时,却能使初级卵泡和次级卵泡的数目增加,提示神经营养因子受体 p75 可能在抑制始基卵泡发育的过程中起调节作用^[15]。TrkB 及 p75 在 PCOS 个体卵巢内表达尚未有研究涉及。本研究首次测定了 PCOS 大鼠卵巢组织中 BDNF 受体的表达,TrkB mRNA 在 PCOS 大鼠模型卵巢组织中低于对照组,而 p75 mRNA

在 PCOS 大鼠模型组卵巢组织中高于对照组。

从本研究结果可以推测颗粒细胞及卵母细胞上 TrkB 表达不足,导致卵巢内卵泡发育障碍或者卵泡闭锁,颗粒细胞及卵母细胞凋亡增多。BDNF-TrkB 信号通路是卵泡发育所必需的,维持卵母细胞的生存同时又促进颗粒细胞的增殖,BDNF 的特异性高亲和受体 TrkB 表达不足可能导致 BDNF 抵抗现象促使 BDNF 表达增多,而且 PCOS 体内较高水平的 LH 又促进颗粒细胞合成分泌 BDNF,提示 BDNF-TrkB 信号通路障碍促使卵巢内卵泡发育障碍,卵母细胞凋亡,颗粒细胞增殖受限,从而出现多个囊状扩大的卵泡及闭锁卵泡。另外,p75 表达增多可能导致 PCOS 卵巢组织中卵泡膜增厚,间质细胞明显增生,而卵泡膜细胞在维持卵泡的完整性及其功能中起着十分重要的作用,也是正常卵巢雄激素生成的主要部位,p75 表达增多也可能是引起 PCOS 高雄激素的原因之一。

总之,来曲唑诱导的大鼠 PCOS 模型是理想的,可以用来研究 PCOS 内分泌及组织学的变化。本实验通过 RT-PCR 法测定 BDNF 及受体 mRNA 表达水平,而 PCOS 大鼠模型卵巢组织中 BDNF 及 TrkB、p75 在卵泡发育及卵母细胞成熟这一系列精细复杂的过程中具体是如何相互作用调节的仍有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group[J]. *Fertil Steril*, 2012, 97(1):28-38.
- [2] Webber LJ, Stubbs S, Stark J, et al. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary[J]. *Lancet*, 2003, 362(9389):1017-1021.
- [3] Anderson RA, Bayne RA, Gardner J, et al. Brain-derived neurotrophic factor is a regulator of human oocyte maturation and early embryo development[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(5):1394-1406.
- [4] Russo N, Russo M, Daino D, et al. Polycystic ovary syndrome: brain-derived neurotrophic factor (BDNF) plasma and follicular fluid levels[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2012, 28(4):241-244.
- [5] Kafali H, Iriadam M, Ozardali I, et al. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease[J]. *Arch Med Res*, 2004, 35(2):103-108.
- [6] Maliqueo M, Sun M, Johansson J, et al. Continuous administration of a P450 aromatase inhibitor induces polycystic ovary syndrome with a metabolic and endocrine phenotype in female rats at adult age[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1):434-445.
- [7] Dumesic DA, Abbott DH. Implications of polycystic ovary syndrome(PCOS) on oocyte development[J]. *Semin Reprod Med*, 2008, 26(1):53-61.
- [8] Yu Y, Yan J, Li M, et al. Effects of combined epidermal

- growth factor, brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 on human oocyte maturation and early fertilized and cloned embryo development[J]. Hum Reprod, 2012, 27(7): 2146-2159.
- [9] Qiao J, Feng HL. Extra-and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: impact on oocyte maturation and embryo developmental competence[J]. Hum Reprod Update, 2011, 17(1): 17-33.
- [10] Dominguez MA, Cho N, Zhang BJ, et al. Brain-derived neurotrophic factor expression in granulosa lutein cells[J]. Reprod Biomed Online, 2011, 22(1): 17-24.
- [11] Linher-Melville K, Li JL. The roles of glial cell line-derived neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor during the final stage of folliculogenesis: a focus on oocyte maturation[J]. Reproduction, 2013, 145(2): R43-54.
- [12] Buyuk E, Seifer DB. Follicular-fluid neurotrophin levels in women undergoing assisted reproductive technology for different etiologies of infertility[J]. Fertil Steril, 2008, 90(5): 1611-1615.
- [13] Johnstone EB, Shelly WB, Mellon S, et al. Brain-derived neurotrophic factor is elevated in follicular fluid of women with PCOS[J]. Fertil Steril, 2008, 90 Suppl 1: S256.
- [14] Dorfman MD, Garcia-Rudaz C, Alderman ZA, et al. Loss of Ntrk2/kiss1r signaling in oocytes causes premature ovarian failure [J]. Endocrinology, 2014, 155(8): 3098-3111.
- [15] Dissen GA, Garcia-Rudaz C, Ojeda SR. Role of neurotrophic factors in early ovarian development[J]. Semin Reprod Med, 2009, 27(1): 24-31.

(收稿日期: 2015-02-08 修回日期: 2015-07-16)

(上接第 3189 页)

- liver injury[J]. Can J Gastroenterol, 2000, 14(3): 175-180.
- [7] Sugahara K, Tokumine J, Teruya K, et al. Alveolar epithelial cells: differentiation and lung injury[J]. Respirology, 2006, 11: S28-31.
- [8] Xiao J, Zhong R, Shi SY, et al. An investigation of the protective effect of prostaglandin E1 liposome on acute lung injury in pig[J]. Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 2008, 20(6): 345-348.
- [9] 王德明, 龙宏杰, 徐经大, 等. 前列腺素 E1 治疗犬油酸型急性肺损伤的实验观察[J]. 南华大学学报: 医学版, 2003, 31(3): 278-280, 311.
- [10] 李湘灵, 姜远旭. 前列腺素 E1 脂微球制剂对大鼠急性肺损伤的影响[J]. 数理医药学杂志, 2009, 22(1): 24-26.
- [11] Dorn GW. Mitochondrial pruning by Nix and BNip3: an essential function for cardiac-expressed death factors[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2010, 3(4): 374-383.
- [12] Diwan A, Wansapura J, Syed FM, et al. Nix-mediated apoptosis links myocardial fibrosis, cardiac remodeling, and hypertrophy decompensation [J]. Circulation, 2008, 117(3): 396-404.
- [13] Schwarten M, Mohrlüder J, Ma P, et al. Nix directly binds to GABARAP: a possible crosstalk between apoptosis and autophagy[J]. Autophagy, 2009, 5(5): 690-698.

(收稿日期: 2015-02-08 修回日期: 2015-07-15)

《重庆医学》杂志对运用统计学方法的有关要求

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。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或是横断面调查研究), 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。
3. 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 $M(QR)$ 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, 要清楚区分百分率和百分比。
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点图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析; 对于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。
5. 统计结果的解释和表达: 应写明采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), 统计量的具体质(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, 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)时, 再给出显著性检验结果的同时, 应再给出 95% 可信区间(CI)。