

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.07.006

## 丝裂霉素 C-壳聚糖缓释微球抑制青光眼滤过术区瘢痕增殖的实验研究

胡辅华<sup>1</sup>,刘丽林<sup>2</sup>,季建<sup>3</sup>

(1.天津港口医院眼科 300456;2.天津市第五中心医院眼科 300456;3.天津医科大学眼科医院 300070)

**[摘要]** **目的** 研究丝裂霉素 C-壳聚糖(MMC-CS)缓释微球对兔青光眼滤过术区瘢痕增殖的疗效。**方法** 48只(96眼)新西兰大白兔分为4组,每组24眼,通过双眼行巩膜咬切术建立青光眼滤过术兔模型。其中24只兔的右眼术中植入MMC-CS缓释微球(A组),其左眼术中植入CS空白缓释微球(B组);另24只兔右眼术中应用含0.20 mg/mL MMC棉片(C组),其左眼行单纯巩膜咬切术(D组)。术后观察各组眼压、滤过泡、前房炎症反应、并发症、角膜内皮细胞计数等情况;术后第7、14、21天分批处死各组兔模型并行病理学检查。**结果** (1)眼压:A组能维持较长时间的低水平眼压,C组次之,B组与D组维持时间最短,组间差异有统计学意义( $P<0.01$ )。(2)滤过泡情况:A组滤过泡存活时间较其他各组长,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。(3)并发症:各组中均未出现术后并发症。(4)角膜内皮细胞计数:A组术前与术后的计数值差异无统计学意义( $P>0.05$ )。(5)病理结果:A组结膜上皮完整性较好,结膜下成纤维细胞较其他各组少,滤过口周围区无明显炎症浸润,新生胶原纤维也较少。**结论** MMC-CS缓释微球能安全有效抑制兔青光眼滤过术区的成纤维细胞及新生胶原纤维的增殖,显著提高青光眼滤过术的成功率。

**[关键词]** 丝裂霉素;壳聚糖;青光眼;缓释微球;抗瘢痕增殖**[中图分类号]** R779.6**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)07-0883-05

Experimental study on anti-proliferation of mitomycin C-chitosan microspheres sustained release microspheres during glaucoma filtering surgery in rabbit

Hu Fuhua<sup>1</sup>, Liu Lilin<sup>2</sup>, Ji Jian<sup>3</sup>

(1. Department of Ophthalmology, Hospital in Tianjin Port, Tianjin 300456, China; 2. Department of Ophthalmology, the Fifth Central Hospital in Tianjin, Tianjin 300456, China; 3. Eye Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the effect of mitomycin C(MMC)-chitosan (CS)sustained release microspheres on the scarring prevention of the filtering passage during glaucoma filtering surgery. **Methods** Filtering surgery model was established on 96 eyes of 48 healthy adult New Zealand white rabbits which were divided into 4 groups, 24 eyes in each group. The right eyes implanted MMC-CS microspheres in 24 rabbits(group A), whereas that of the fellow eyes implanted empty CS microspheres(group B), and in other 24 rabbits which right eyes only used 0.20 mg/mL MMC cotton(group C), on the opposite sides with no adjunctive treatment(group D). Intraocular pressure, filtering bleb, anterior chamber flare, complications and the numbers of corneal endothelial cells were observed after surgery. Rabbits were killed on the 7th, 14th and 21th day postoperatively in batch and histopathological examination was carried out. **Results** (1)the intraocular pressure:group A can maintain the low level of intraocular pressure for a long time, followed by group C, group B and group D, and difference between groups was statistically significant ( $P<0.01$ ). (2) The filtering blebs; the filtering bleb survival time of group A was longer than other group( $P<0.01$ ). (3)Complication; there was not any complication in the 4 groups. (4)The number of corneal endothelial cells; the number of corneal endothelial cells of group A preoperative and postoperative had no statistical significance differences( $P>0.05$ ). (5)Histopathologic findings; group A had better conjunctival epithelial integrity, subconjunctival fibroblast less than other groups, filtration had no obvious inflammation infiltration around the mouth area, but also had fewer new collagen fibers. **Conclusion** MMC-CS sustained release microspheres is a safe and effective treatment to inhibit inflammatory cells activity and fibroblast activity in surgery sites, and can significantly improve outcome of filtration surgery.

**[Key words]** mitomycin; chitosan; glaucoma; microspheres; anti-proliferation

青光眼(glaucoma)是在全球排第1位的不可逆性致盲性眼病。目前全球青光眼发病人数约6000万以上<sup>[1-2]</sup>。滤过性手术是目前治疗青光眼的最有效手段之一。但是,该手术常由于术后Tenon's囊成纤维细胞的过度增殖使滤过道瘢痕堵塞而导致手术失败<sup>[3]</sup>。有国外学者报道,在其随访观察的700例青光眼滤过手术患者中,约有30.0%的病例在术后6~8周因

滤过道瘢痕堵塞而失败<sup>[4]</sup>。近年来,临床上常在术中应用抗瘢痕化药物来抑制滤过道的瘢痕增殖,其中得到普遍认可的药物是丝裂霉素C(mitomycin C, MMC)<sup>[5]</sup>。但由于术中所用的0.20 mg/mL MMC棉片较强的细胞毒性作用,部分患者术后可能产生如滤过泡渗漏、角膜上皮和内皮损伤、脉络膜脱离、低眼压等严重并发症,且术后效果无法持久<sup>[6-7]</sup>。因此,降低术中

MMC 的用量和延长其作用时间具有重要意义。近年来,以壳聚糖(chitosan,CS)作为药物载体的缓释给药系统由于可生物降解和缓释、抗组织纤维化等诸多优点而成为药物治疗研究的热点之一<sup>[8-9]</sup>。为此,作者研制了 MMC-CS 缓释微球,并观察了它抑制青光眼滤过术区瘢痕增殖的效果,现报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 MMC-CS 缓释微球及其制作

首先将 MMC 与海藻酸钠预先混合,形成 0.45 mg/mL SRL 与 1.50 mg/mL 海藻酸钠的混合液。在室温电磁力搅拌条件下,将 10.0 mL MMC 与海藻酸钠的混合液通过恒流泵以 1 mL/min 的速度滴加到 10.0 mL(0.30 mg/mL)CaCl<sub>2</sub> 溶液中,滴加完毕后继续搅拌 30 min。同法将 5.0 mL 0.60 mg/mL 的 CS 溶液(含 0.1% 乙酸)滴加到上述混合液中,滴加完毕后继续搅拌 1 h,自发形成 MMC-CS 缓释微球。同法制备不载 MMC 的空白 CS 缓释微球,另制备 3 mm×3 mm 的浓度为 0.20 mg/mL 的 MMC 小棉片。

## 1.2 方 法

### 1.2.1 微球载药率和药物包封率的测定

取纳米微球制备溶液适量稀释,滴于铜网自然干燥后以透射电镜观察微球表面形态,在扫描电镜下,随机计数 500 个微球的直径,获得粒径分布特征的相关信息。将制备的含纳米粒子的混合液以  $3.0 \times 10^4$  r/min 超高速离心 20 min,取出上清液,并用 2.0 mL 双蒸水清洗沉淀 3 次,将洗涤液与上清液混合后测 BSA 浓度,以空白纳米粒子同法取得的上清液及沉淀液为空白对照,沉淀冷冻干燥后称质量。包封率(%)=[(SRL 投放总量-上清液及洗液中的 SRL 量)/(SRL 投放总量)]×100%,载药量(%)=[(SRL 投放总量-上清液及洗液中的 SRL 量)/不载 MMC 的空白 CS 缓释微球总量+SRL 投放总量]×100%。体外释药率试验:将纳米缓释微球适量稀释,吸取缓释微球溶液 5.0 mL,置入 100.0 mL 37℃ 恒温 HBS 中,加酸性乙醇 4.0 mL,旋涡振荡 5 min,低温离心 3 000 r/min,20 min,取上清液 1.0 mL,用荧光分光光度仪测定其荧光强度,计算标本中药物含量。

### 1.2.2 实验分组

健康成年新西兰大白兔 48 只(96 眼),分为 4 组,每组 24 眼。A 组:24 只兔的右眼巩膜咬切术中植入 MMC-CS 缓释膜;B 组:左眼巩膜咬切术中植入 CS 空白缓释膜;C 组:另 24 只兔右眼巩膜咬切术中应用含 0.20 mg/mL 的 MMC 棉片;D 组:左眼单纯巩膜咬切术。

### 1.2.3 手术方法

将 48 只兔采用盐酸氯胺酮注射液(50 mg/Kg)和盐酸氯丙嗪注射液(10 mg/Kg)肌内注射全身麻醉下手术。术眼点 0.5% 丁卡因滴眼液 3 次,开睑器开睑,于角膜缘的鼻上方做以穹隆部为基底的结膜瓣,充分暴露角膜缘,在距角膜缘后 2.0 mm 处做以角膜缘为基底的板层巩膜瓣 4.0 mm×3.0 mm,选择 24 只兔右眼术中应用含 0.20 mg/mL MMC 棉片 3 min(C 组),然后用 PBS 200.0 mL 冲洗干净,随后,在巩膜瓣的下方角巩膜缘处切除 2.0 mm×1.5 mm 深层巩膜组织,切除对应的周边虹膜,用 10-0 丝线缝合巩膜瓣两脚及结膜瓣切口。左眼行单纯巩膜咬切术,步骤同右眼(D 组)。另 24 只兔双眼先予行单纯巩膜咬切术,缝合结膜瓣后在兔右眼结膜下注入 BSS 稀释的 MMC-CS 缓释微球 0.5 mL(载 MMC 2.00 mg,CS-海藻酸钙 28.75 mg,A 组),另一组注入 0.5 mL CS 空白缓释微粒(B 组)。术毕予 48 只兔双眼结膜囊内涂妥布霉素地塞米松眼膏。术后每天给予妥布霉素滴眼液

滴眼 4 次,妥布霉素眼药膏涂眼每晚 1 次,至术后第 7 天。所有手术均由同一位熟练手术者施行。

## 1.2.4 检查项目

### 1.2.4.1 眼压

应用 TONO-PEN AVIA 眼压计分别于术前及术后第 1、2、3、5、7、10、14、21 天每组随机选取 8 只眼,测量眼压。0.5% 丁卡因滴眼液点被测眼 2~3 次,摆正兔子的头位后,使测量头尖轻轻垂直触碰角膜中央区,直至显示出结果(置信区间大于或等于 95% 时)后进行记录。每眼测量 3 次,取其平均值。

### 1.2.4.2 裂隙灯

分别于术后第 1、2、3、5、7、10、14、21 天应用裂隙灯显微镜观察各组术眼结膜充血、滤过泡的形态和存活时间、角膜水肿、前房反应及前房出血、晶体混浊等并发症情况。

### 1.2.4.3 角膜内皮细胞计数

应用角膜内皮细胞计数仪分别于术前与术后第 21 天测量各组实验动物的角膜内皮细胞数量(每组 8 眼),并作拍摄与记录。

### 1.2.4.4 房水中药物浓度的测量

分别于术后第 3、7、14、28 天,以上述麻醉方法全身麻醉 MMC-CS 缓释微球组实验动物后,在 ZEISS 手术显微镜下用 1.0 mL 注射器行前房穿刺取房水 0.2 mL,每次 4 眼,用 HPLC-MS 检测房水中的药物浓度。

### 1.2.4.5 组织病理学检查

分别于术后第 7、14、21 天各随机选取 8 只眼。眼球取出后置于 4% 的多聚甲醛中固定 24~28 h(4℃),切取经滤过泡区域眼球最大周径结构组织,做石蜡包埋后连续切片,行 Masson 染色,观察滤过泡区结膜上皮完整性,结膜下间隙、成纤维细胞增生,滤过泡区周围组织炎性细胞浸润情况。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS14.0 统计软件进行统计学处理,数值变量符合正态分布以  $\bar{x} \pm s$  描述,不符合正态分布以中位数和四分位数间距描述,分类变量以例数(*n*)及其百分比(%)描述。实验处理组间滤过泡存活时间的比较采用 Kaplan-Meier 法,显著性检验采用 log-rank 法。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 MMC-CS 缓释微球形态及载药率

电镜下观察制备的 MMC-CS 缓释微球形态规则均质,无粘连,平均粒径( $879.3 \pm 185.7$ )nm,包封率 81.7%,载药量 20.6%,在 14 d 内累积释药率接近 80.0%(图 1)。

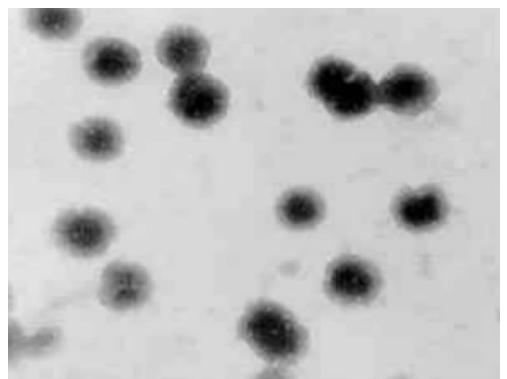


图 1 MMC-CS 缓释微球形态接近球形(TEM×10 000)

### 2.2 眼压

术后第 1 天,4 组平均眼压均较术前明显下降;术后第 2 天,D 组和 B 组快速升高,第 5 天以后基本达到一个稳

定水平;术后第 5 天,C 组开始升高,术后第 10 天时达术前水平;术后第 21 天,A 组平均眼压仍保持在较低水平,与术前比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),术后第 10 至 21 天,A 组平均眼压与 C 组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图 2。

**2.3 术后反应及并发症** 术后前 2 天,各组结膜充血情况相近;术后第 3 天开始,A 组与 C 组结膜充血逐渐减轻,而 B 组与 D 组在术后第 5 天后才逐渐减轻。C 组角膜水肿在术后第 1 天稍较其他各组重,3 d 后逐渐退去,其他各组角膜无明显水肿。各组术后第 1 天均出现轻微前房炎性反应,术后 3 d 左右均渐消失。各组均未见明显眼内炎、滤过泡渗漏、晶体混浊等并发症发生。

**2.4 滤过泡的形态** 术后第 1 天,各组滤过泡均呈现高度弥散隆起,充血明显。术后第 3 天,B 组和 D 组基本趋于扁平,充血仍明显。C 组于术后第 7 天左右开始缩小、局限化,充血明显减轻,第 10 天趋于扁平。A 组于术后第 7 天左右开始缩小、

局限化,但在术后第 14 天以后仍保持在一个平台,第 21 天时仍表现为局限隆起的滤过泡。见图 3。

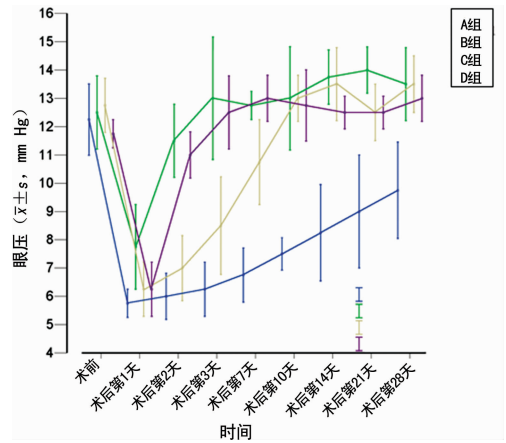


图 2 4 组术后眼压的比较

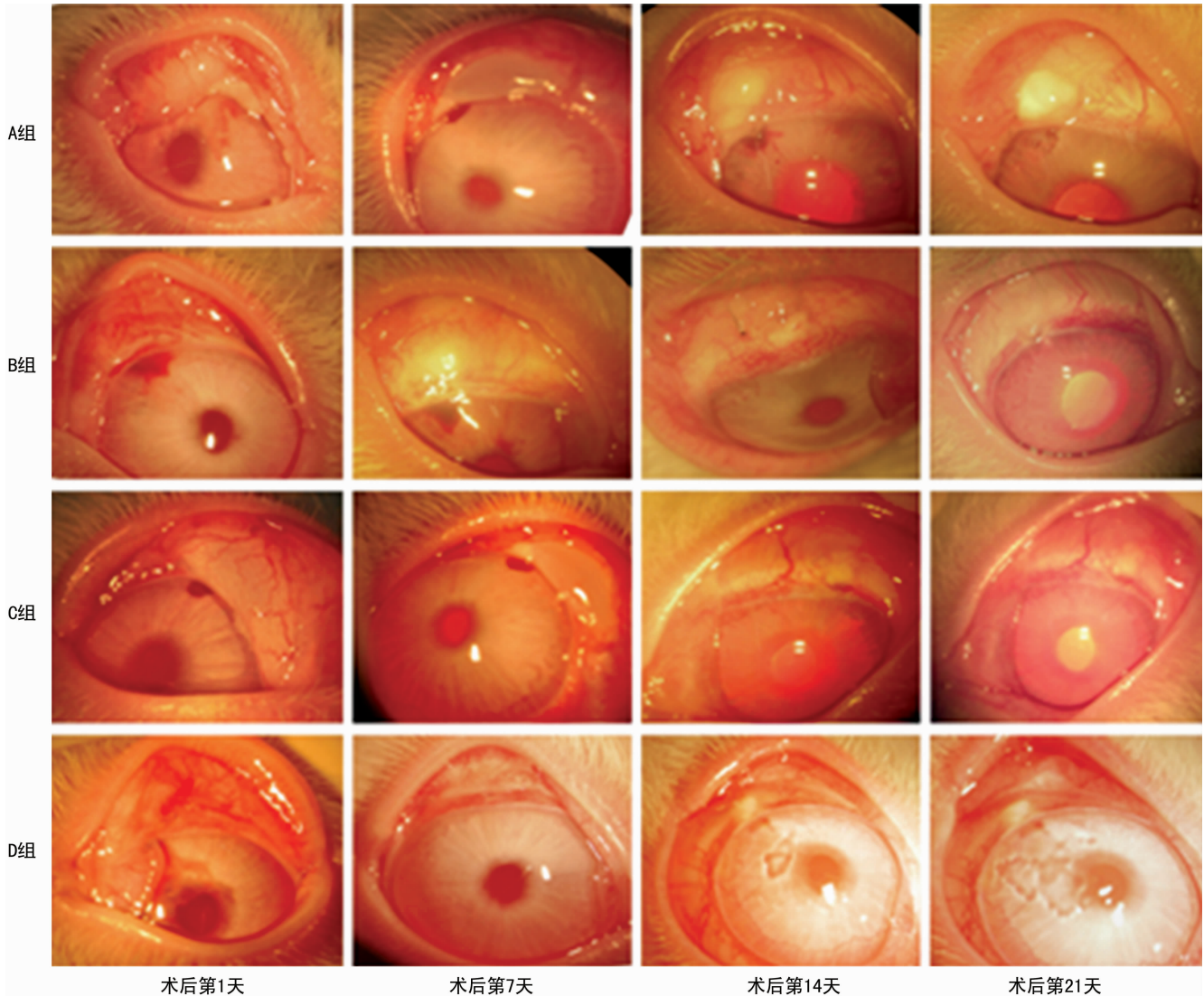


图 3 4 组青光眼滤过术后各时间点滤过泡的形态变化

**2.5 角膜内皮细胞数量的变化情况** 各组术前与术后第 28 天角膜内皮细胞数量对比无明显变化,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。由此可见,手术用药及缓释膜制剂对角膜内皮细胞无明显毒副作用,见表 1。

**2.6 房水中药物浓度** MMC-CS 缓释微球组术后第 3 天、第 7 天、第 14 天、第 28 天房水中的 SRL 的浓度分别为( $17.56 \pm 0.05$ )、( $16.62 \pm 0.05$ )、( $14.74 \pm 0.05$ )、( $8.74 \pm 0.05$ )ng/mL。由此可见,术后房水中的有效药物浓度维持时间达 2 周

以上。

**2.7 组织病理学观察** 术后各组结膜上皮完整, A 组术后第 7 和第 14 天术区的病理改变, 均显示结膜上皮完整, 结膜下巩膜滤过区周围轻微炎症细胞浸润, 结膜瓣与巩膜瓣间隙宽, Tenon's 囊中成纤维细胞与新生胶原纤维稀少疏松。B 组与 D 组术后第 7 天术区的病理改变, 显示结膜上皮完整, 结膜下巩膜滤过区周围炎症细胞浸润, 结膜瓣与巩膜瓣间隙狭窄, Tenon's 囊中成纤维组织致密, 见图 4。

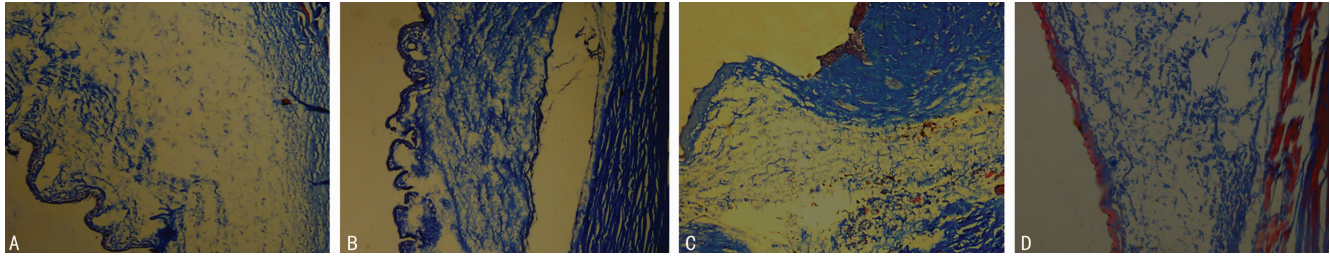


图 4 A 组(Masson×100); B 组(Masson×40); C 组(Masson×100); D 组(Masson×100)。

图 4 术后第 7 天组织病理学观察结果

### 3 讨 论

青光眼滤过手术的主要目的是建立新的房水引流途径, 是目前治疗青光眼的主要方法, 但有部分患者术后滤过泡难以形成, 手术失败<sup>[10]</sup>。其主要原因是手术区结膜下和巩膜之间成纤维细胞过度增生、纤维化、瘢痕形成致滤过道阻塞<sup>[1]</sup>。MMC 是目前青光眼滤过术抗增殖的最主要药物, 其常规用药方式为术中将有药物的棉片置于巩膜瓣上或巩膜瓣下。由于其较为明显的细胞毒性作用, 加之不同术者所采用的棉片的形状和大小不同, 浸泡的时间亦不同, 造成药物浓度差别很大, 术中、术后可能产生各种并发症<sup>[11]</sup>。此外, 由于仅仅在术中短暂浸泡棉片, 术后效果无法持久。因此, 降低术中 MMC 的用量和延长其作用时间具有重要意义<sup>[12]</sup>。

MMC 是一种抗代谢药物, 是由头状链霉菌层分离出的一种抗肿瘤抗菌药物, 其可与 DNA 的双螺旋形成交联, 破坏 DNA 的结构和功能, 抑制增殖期 DNA 的复制, 对增殖期中的细胞均有杀伤作用, 同时也作用于静止期的细胞, 因而可用来阻止手术区的血管再生<sup>[13]</sup>, 抑制青光眼滤过性手术后滤过道的纤维细胞增生和瘢痕化, 保持滤过道通畅, 提高手术成功率, 但较高浓度下其毒副作用及并发症也较为明显。因此, 降低术中 MMC 的用量和延长其作用时间具有重要意义<sup>[14]</sup>。

CS 研制和应用是近年来医学材料领域中的重大进展<sup>[15]</sup>, 其在体内无蓄积、无免疫性和抗原性, 对机体异物排斥反应小, 对周围邻近组织及全身无明显刺激作用及毒副作用<sup>[16]</sup>, 具有良好的生物相容性<sup>[16]</sup>, 改变 CS 缓释微球中组分的比例, 可以调整其自身降解的时间和药物释放的速度。其表面不断降解并形成微孔, 暴露其内部包封的药物, 可作为可控性释放药物的植入性载体<sup>[1, 17-18]</sup>。因此, 作者研制了 MMC-CS 缓释微球, 并观察了它抑制青光眼滤过术区瘢痕增殖的效果。缓释微球的研制不但有效减少了 MMC 的使用剂量, 减少了并发症的产生, 而且使 MMC 能够持续稳定地释放, 在局部达到一定的有效浓度, 作用时间也明显延长, 有望显著提高青光眼滤过手术的成功率。

表 1 各组角膜内皮细胞数量的比较( $\bar{x} \pm s$ , /mm<sup>2</sup>)

组别	n	术前	术后第 28 天	t	P
A 组	24	2 394.1±219.6	2 353.9±129.6	0.621	0.545
B 组	24	2 415.5±188.2	2 384.3±136.9	0.379	0.711
C 组	24	2 336.2±142.1	2 287.2±119.2	0.747	0.467
D 组	24	2 374.3±192.5	2 279.8±114.8	1.191	0.253
F		0.332	1.325		
P		0.802	0.286		

本实验结果显示, B 组(空白 CS 缓释微球)术后植入部位未见明显炎症反应、组织变性坏死及其他不良反应, 对角膜内皮及视网膜未见明显损伤表现, 表明 CS 体内生物相容性良好, 且无明显眼内毒性作用。A 组(MMC-CS 缓释微球)与 C 组(MMC 棉片)术后效果均较 D 组好, 维持低水平眼压时间较 D 组(单纯巩膜咬切术)长, 术后术区炎症浸润轻, 对虹膜、睫状体、角膜内皮细胞等均无毒性作用。但 A 组与 C 组相比, 更具有明显的效果, 术后维持低水平眼压时间较 C 组长, 术后炎症反应更轻, 滤过泡维持时间亦较 C 组长, 术后房水中药物浓度检测更进一步证明药物稳定持续地释放(>14 d), 病理结果进一步表明, A 组术后第 7、14、21 天结膜下间隙宽, 成纤维细胞与新生胶原纤维稀少疏松, 术区周围炎症细胞浸润更轻, 而其他各组术后第 21 天结膜下已形成了致密的瘢痕组织。根据青光眼滤过术后伤口的愈合过程可知, 术后 14 d 内为成纤维细胞增生最活跃的时期, 而 CS 载体能使 MMC 持续稳定释放长达 14 d 以上, 符合要求。C 组(MMC 棉片)中虽然显示未见明显炎症反应及毒副作用, 组织耐受性可, 但其作用时间短暂, 通过以 CS 为载体, 使其给药时间大为延长(>14 d), 达到实验要求的目的。

研究表明, MMC-CS 缓释微球能安全、有效地抑制滤过性手术后的炎症反应及成纤维细胞的增生, 防止滤过泡瘢痕化, 从而能够延长其维持低水平眼压的时间, 且未见毒性反应, 可以显著提高兔眼滤过性手术的成功率。本研究为今后研制、开发高效低毒的 MMC 缓释制剂用于抗滤过泡瘢痕化奠定了坚实的实验基础<sup>[20]</sup>。

### 参考文献

- [1] 王桂琴, 彭秀军, 王静. 青光眼早期诊断及个性化治疗[J]. 国际眼科杂志, 2012, 12(4): 761-762.
- [2] 中华医学会眼科学分会青光眼学组. 我国原发性青光眼诊断和治疗专家共识(2008)[J]. 中华眼科杂志, 2008, 44(9): 862-864.

- [3] 中华医学会眼科学分会青光眼学组. 我国原发性青光眼诊断和治疗专家共识(2014)[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(5):382-383.
- [4] Sakata LM, Lavanya R, Friedman DS, et al. Comparison of gonioscopy and anterior segment ocular coherence tomography in detecting angle closure in different quadrants of the anterior chamber angle[J]. Ophthalmology, 2008, 115(5):769-774.
- [5] 安玮, 郑琦, 路美侠. 丝裂霉素 C 在青光眼手术中的应用[J]. 国际眼科杂志, 2006, 6(2):417-419.
- [6] Khong JJ, Muecke J. Complications of mitomycinC therapy in 100 eyes with ocular surface meoplasia[J]. Ophthalmol, 2006, 90:819-822.
- [7] Hardillo J, Vanclooster C, Delaerep R. An investigation of airway wound healing using a novel in vivo model[J]. Laryngoscope, 2011, 111:1174-1182.
- [8] 林爱华, 刘奕明, 平其能. 壳聚糖纳米粒表面游离氨基与纳米粒特性研究[J]. 药学学报, 2007, 42(3):323-328.
- [9] Tokumitsu H, Ichikawa Y. Chitosan-gadopentetic acid complex nanoparticles for gadolinium neutron capture therapy of cancer: preparation by novel emulsion droplet coalescence technique and characterization [J]. Pharm Res, 2009, 16:1830-1835.
- [10] 赵堪兴, 杨培增. 眼科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010:102-103.
- [11] Song Y, Onishi H, Machida Y, et al. Particle characteristics of carboxymethyl-chitin-mitomycin C conjugate and N-succinyl-chitosan-mitomycin C conjugate and their distribution and histological effect on some tissues after intravenous administration [J]. Pharma Sciences, 2009, 5:162-170.
- [12] Khandare J, Minko T. Polymer-drug conjugates: Progress in polymeric prodrugs[J]. Prog Polym Sci, 2006, 31(4):359-397.
- [13] 黄健强, 毛应清, 杨蕴刘. MMC 的研究与展望[J]. 国外医药抗生素分册, 2009, 20(1):37-40.
- [14] 丁敏, 程圭芳, 赵洁. MMCC 还原代谢机理研究[J]. 分析化学研究报告, 2005, 33(1):5-8.
- [15] Agnihotri NN. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery [J]. J Control Release, 2005, 100:5-28.
- [16] Howling GI, Dettmar PW, Goddard PA, et al. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro [J]. Biomaterials, 2001, 22(22):2959-2966.
- [17] Aksungur P, Sungur A, Unal S, et al. Chitosan delivery systems for the treatment of oral mucositis: in vitro and in vivo studies [J]. J Control Release, 2004, 98(2):269-279.
- [18] Onishi H, Takahashi H, Yoshiyasu M, et al. Preparation and in vitro properties of N-succinylchitosan-or carboxymethylchitin-mitomycin C conjugate microparticles with specified size [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2001, 27(7):659-667.

(收稿日期:2015-09-08 修回日期:2015-11-26)

(上接第 882 页)

- [8] Yu B, Hao S, Sun S, et al. Experimental study on small interfering RNA silencing expression of tumor necrosis factor alpha and inhibiting osteolysis [J]. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2013, 27(8):994-999.
- [9] Gor DO, Rose NR, Greenspan NS. TH1-TH2: a procrustean paradigm [J]. Nat Immunol, 2003, 4(6):503-505.
- [10] Mitsias DI, Tzioufas AG, Veiopoulou C, et al. The Th1/Th2 cytokine balance changes with the progress of the immunopathological lesion of Sjogren's syndrome [J]. Clin Exp Immunol, 2002, 128(3):562-568.
- [11] Garcíe-Carrasco M, Font J, Filella X, et al. Circulating levels of Th1/Th2 cytokines in patients with primary Sjogren's syndrome: correlation with clinical and immunological features [J]. Clin Exp Rheumatol, 2001, 19(4):411-415.

(收稿日期:2015-09-18 修回日期:2015-11-28)

## 统计资料类型

统计资料共有三种类型: 计量资料、计数资料和等级资料。按变量值性质可将统计资料分为定量资料和定性资料。

定量资料又称计量资料, 指通过度量衡的方法, 测量每一个观察单位的某项研究指标的量的大小, 得到的一系列数据资料, 其特点为具有度量衡单位、多为连续性资料、可通过测量得到, 如身高、红细胞计数、某一物质在人体内的浓度等有一定单位的资料。

定性资料分为计数资料和等级资料。计数资料为将全体观测单位(受试对象)按某种性质或特征分组, 然后分别清点各组观察单位(受试对象)的个数, 其特点是没有度量衡单位, 多为间断性资料, 如某研究根据患者性别将受试对象分为男性组和女性组, 男性组有 72 例, 女性组有 70 例, 即为计数资料。等级资料是介于计量资料和计数资料之间的一种资料, 可通过半定量的方法测量, 其特点是每一个观察单位(受试对象)没有确切值, 各组之间仅有性质上的差别或程度上的不同, 如根据某种药物的治疗效果, 将患者分为治愈、好转、无效或死亡。