

文章编号 1006-8147(2022)02-0123-06

论著

利用加权基因共表达网络分析识别胆道闭锁相关的枢纽基因

周红¹, 吴梅¹, 李鑫²

(1. 宜宾市第一人民医院儿科, 宜宾 644000; 2. 乌鲁木齐儿童医院普外科, 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的: 通过加权基因共表达网络分析(WGCNA)识别胆道闭锁(BA)发病相关的枢纽基因。方法: 从基因表达汇编(GEO)数据库下载 BA 基因芯片数据集 GSE46960, 利用 WGCNA 构建基因共表达网络, 识别与 BA 相关的模块与枢纽基因, 对关键模块进行基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析。结果: 通过 WGCNA 分析构建了 20 个基因共表达模块, 确定与 BA 显著相关的模块为黄色模块($r=0.69, P<0.05$), 将黄色模块中的基因按基因连通性及基因显著性的不同阈值进一步筛选出 16 个枢纽基因。对黄色模块进行 GO 及 KEGG 分析显示, 与 BA 显著相关的基因主要富集在细胞外基质(ECM)、细胞黏附分子、色氨酸代谢、甘油磷脂代谢、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)信号通路。结论: 利用 WGCNA 方法识别出与 BA 相关的关键模块和 16 个枢纽基因, 其中新发现有 12 个基因可能与 BA 发病相关, 可能帮助阐明 BA 发病的机制。

关键词 胆道闭锁; 加权共表达网络分析; 枢纽基因

中图分类号 R722.1

文献标志码 A

Identification of hub genes in biliary atresia by weighted gene co-expression network analysis

ZHOU Hong¹, WU Mei¹, LI Xin²

(1. Department of Paediatrics, Yibin First People's Hospital, Yibin 644000, China; 2. Department of General Surgery, Urumqi Children's Hospital, Urumqi 830000, China)

Abstract Objective: To identify hub genes related to the pathogenesis of biliary atresia (BA) by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). **Methods:** The BA gene chip dataset GSE46960 was downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and the gene co-expression network was constructed by WGCNA. The modules and hub genes related to biliary atresia were screened out, and the key module were analyzed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). **Results:** Twenty gene co-expression modules were constructed through WGCNA, and the module related to biliary atresia were identified as yellow modules ($r=0.69, P<0.05$). The genes in the yellow module were further screened for 16 hub genes according to different thresholds of gene connectivity and gene significance. The results of GO and KEGG analysis on yellow module genes showed that genes significantly associated with biliary atresia were mainly enriched in extracellular matrix, cell adhesion molecules, tryptophan metabolism, glycerophospholipid metabolism and PPAR signaling pathway. **Conclusion:** WGCNA method is used to identify the key modules and 16 hub genes related to biliary atresia, of which 12 genes may be related to the pathogenesis of biliary atresia, which may help to clarify the pathogenesis of biliary atresia.

Key words biliary atresia; WGCNA; hub gene

胆道闭锁(biliary atresia, BA)是一种婴幼儿期常见的极为严重的疾病,特点为发生于生后3个月内的部分或者全部肝外胆道完全性纤维化梗阻,如果不治疗,将发展为肝硬化、肝衰竭,不经治疗的平均生存期在1年左右,主要的治疗方式是肝门肠吻合术(hepatopertoenterostomy, HPE)和肝移植^[1-4]。即使在出生后45 d内进行HPE,2岁时未进行肝移植的生存率仅为65.5%^[5]。BA面临早期诊断非常困难、手术治疗效果不佳、肝移植后并发症和免疫抑制管

理困难等多种挑战。目前BA的发病机制、病因仍不清楚^[6-7],近年来专注于鉴定BA相关的遗传和免疫因子作用的研究成为热点。且BA是新生儿胆汁淤积最常见的原因,BA与非BA的胆汁淤积性疾病在临床表现和实验室检查上非常相似,除手术探查外的方法难以鉴别^[8],因此寻求一种无创的方法以鉴别这两种疾病非常有必要。

加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)是一种分析多个样本基因表达模式的分析方法,将具有类似表达模式的基因整合到同一的模块,并分析模块与特定性状或表型之间的关联关系^[9-11]。本研究拟利用WGCNA

基金项目 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2019D01A12)

作者简介 周红(1990-),女,医师,学士,研究方向:儿科学,E-mail: 734179691@qq.com。

筛选出与 BA 相关的基因模块及枢纽基因,以期为 BA 的发病机制及临床诊治带来新的理解。

1 材料与方法

1.1 数据集的收集 从美国国立生物信息技术中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)的基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)下载 GSE46960 数据集,芯片测序平台为 GPL6244。从该数据集中选取 64 例诊断为 BA 的肝脏样本(BA 组),14 例非 BA 的胆汁淤积性疾病肝脏样本(Non_BA 组)以及 7 名已故无肝脏疾病捐赠者的肝脏样本(Normol 组)数据进行分析。采用 R 软件进行数据的处理。

1.2 加权共表达基因网络的构建 以表达量为筛选条件,选择平均表达量最高的 5 000 个基因在 R 软件的 WGCNA 包构建加权基因共表达网络。为确保无尺度网络分别计算所有基因之间的成对 Pearson 相关系数,设置阈值进行筛选,以将成对相关矩阵转换为邻近相关矩阵。采用动态混合剪切树算法标准,设置每个基因模块最少基因数目为 30,并且依次计算每个模块的特征向量值,然后对模块进行聚类分析,将距离较近的模块合并为新的模块。

1.3 模块特征相关性的计算 通过 WGCNA 算法计算模块基因与疾病分组表型之间的相关性,相关性的强度通过热图反应出来。当 $P < 0.05$ 时,认为单个模块与表型显著相关。选择与 BA 相关系数最高的模块作为关键模块。

1.4 枢纽基因的筛选 计算每个共表达模块与基因特征值的皮尔森相关系数。选取模块身份(module membership,MM) > 0.8 且基因显著性(gene significance,GS) > 0.65 的基因为枢纽基因。

1.5 关键模块的富集分析 提取关键模块中的基因,利用 R 软件 ClusterProfiler 包进行基因本体论(Gene Ontology,GO)功能注释和《京都基因和基因组百科全书》(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

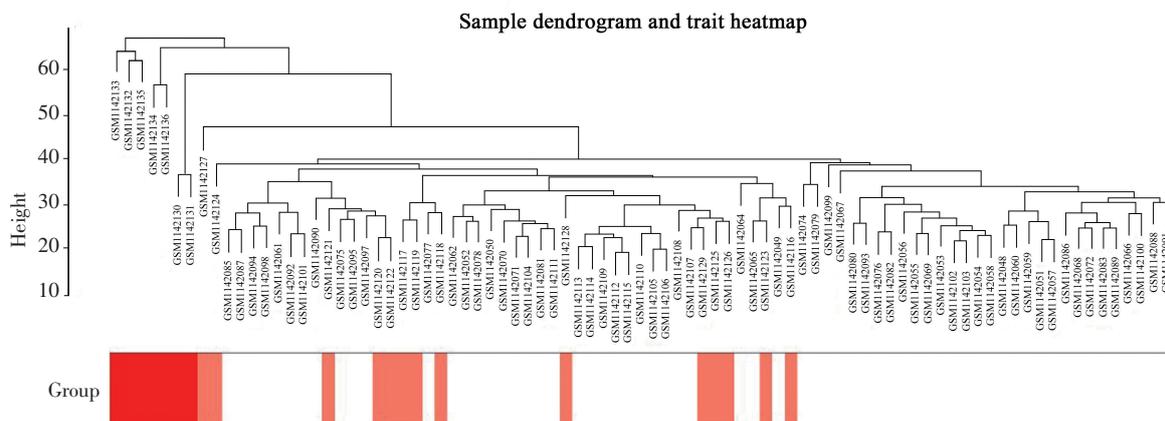
2.1 样本数据筛选 经过归一化和基因 ID 转换生成 18 762 个基因和 85 个样本的表达矩阵。选取平均表达量最高的 5 000 个基因构建基因共表达模块。数据集处理后进行离群值检测,分析结果显示该数据集中无明显离群值,故直接进行下一步分析,将基因聚类模块与临床分组表型进行分析(图 1)。

2.2 软阈值计算 利用 WGCNA 构建共表达网络需先确定软阈值(soft-thresholding power),本研究设定 1~20,对每个软阈值计算无标度拓扑拟合指数 R^2 (scale free topology fitting index R^2)和平均连通性(mean connectivity)。软阈值对应的 $R^2 > 0.8$ 且平均连通性接近零,说明此网络符合无尺度条件。因此,本研究选取软阈值 $\beta = 9$ (图 2)。

2.3 构建基因共表达模块 使用动态混合切割构建层次聚类树,树上的每一片叶子代表一个基因,具有相似表达数据的基因靠在一起,形成树的一个分支,代表一个基因模块,生成了 20 个模块(图 3)。

2.4 共表达模块之间的相关性分析 将层次聚类得到的基因模块进行相关性分析,观察模块与模块之间的关联,颜色越深则表示模块之间相关性越高(图 4)。

2.5 共表达模块的关联分析 根据拓扑重叠程度,选择全部的基因制作热图(图 5)。



注:图中颜色深浅代表不同的组别(白色:BA 组;粉色:Non_BA 组;红色:Normal 组)

图 1 基于欧几里得距离的样本聚类树图

Fig 1 The sample cluster tree diagram based on Euclidean distance

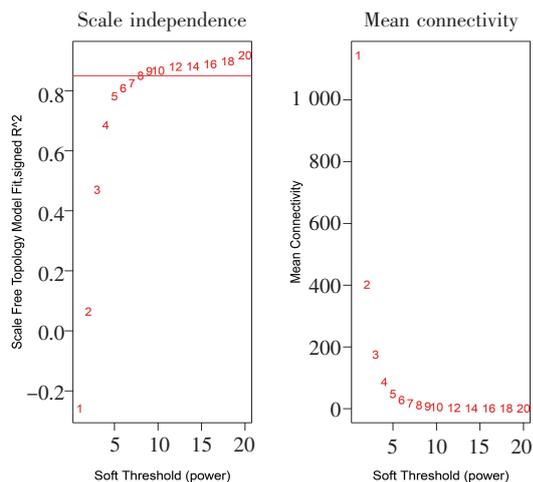


图 2 软阈值参数的确定

Fig 2 Determination of soft threshold parameters

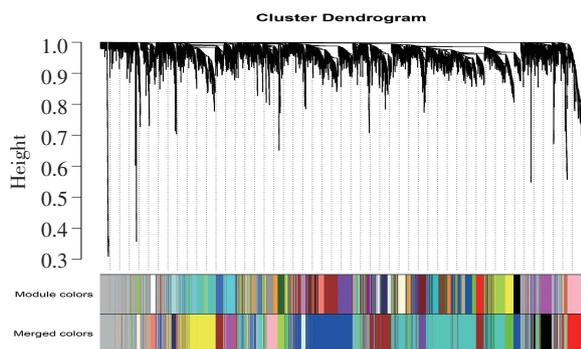


图 3 模块构建

Fig 3 Construction of modules

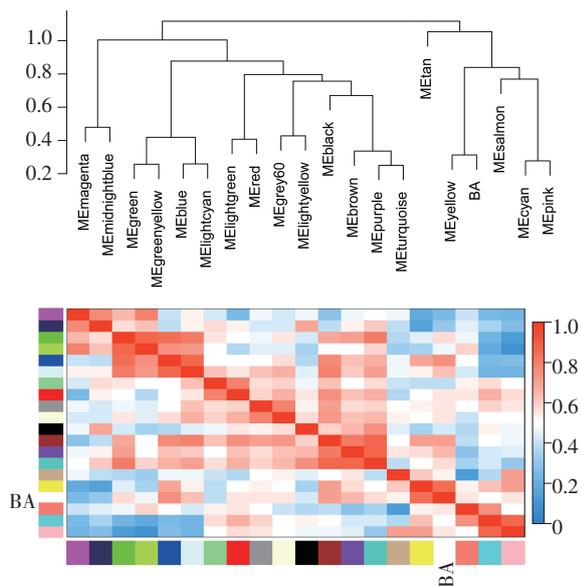
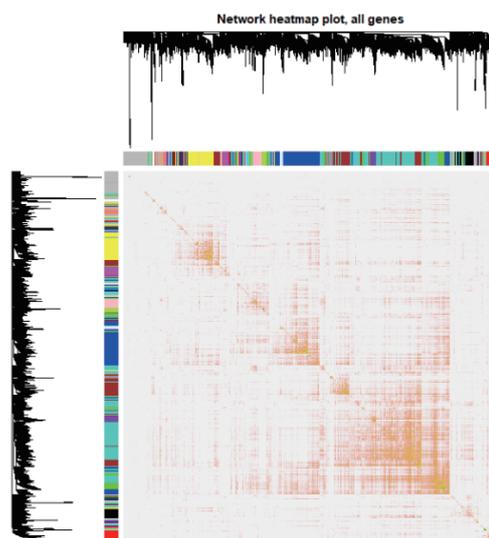


图 4 特征基因树图和特征基因邻接图

Fig 4 Characteristic gene tree diagram and characteristic gene adjacency diagram

2.6 计算 BA 疾病相关的模块相关性 对于每一个模块,计算基因表达与不同疾病组之间的相关性。与 BA 相关性最大的模块是黄色模块,相关系数



注: 热图描述了分析中包含的所有模块之间的拓扑重叠矩阵 (TOM); 浅色表示较低的重叠, 逐渐变深的红色表示重叠增加

图 5 共表达网络的热图可视化

Fig 5 Thermal graph visualization of co-expression network

为 0.69 ($P < 0.05$), 同时黄色模块与非 BA 的胆汁淤积性疾病及正常组是负相关关系(图 6), 故将黄色模块识别为关键模块。

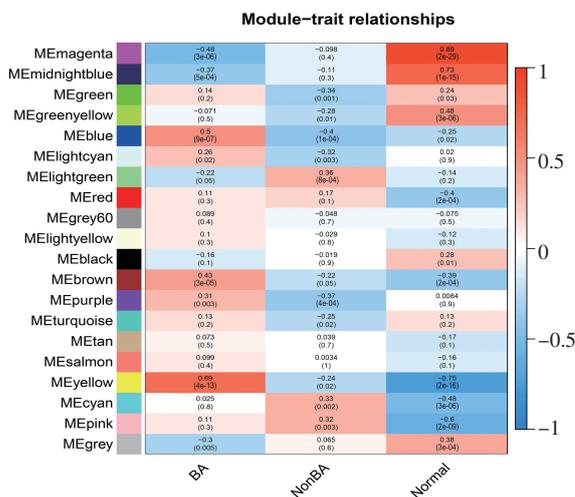


图 6 模块基因与临床表型相关性图

Fig 6 Correlation between modular genes and clinical phenotypes

2.7 识别关键模块内的枢纽基因 分析黄色模块内基因连通性(MM)及基因显著性(GS)之间的相关性,二者相关性良好,呈明显线性相关(图 7)。以模块身份 $MM > 0.8$ 且基因显著性 $GS > 0.65$ 作为筛选条件,共筛选出 16 个枢纽基因,包括基质金属蛋白酶 7(matrix metalloproteinase 7, *MMP7*)、重组人分泌型磷蛋白 1(secreted phosphoprotein 1, *SPPI*)、多功能蛋白聚糖(versican, *VCAN*)、含 V-Set 域 T 细胞激活抑制因子 1(V-set domain containing T cell activation inhibitor, *VTCNI*)、重组人光蛋白聚酶(lumican,

LUM)、G-蛋白信号转导调节子 4 (regulator of G protein signaling 4, *RGS4*)、上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, *EPCAM*)、超长链脂肪酸延伸酶 7 (elongation of very long fatty acid elongase 7, *ELOVL7*)、MET 转录调节因子 *MACC1* (MET transcriptional regulator *MACC1*, *MACC1*)、层黏连蛋白 $\gamma 2$ (laminin subunit gamma 2, *LAMC2*)、染色体 12 开放阅读框 75 (chromosome 12 open reading frame 75, *C12orf75*)、IV 型胶原蛋白基因 $\alpha 1$ (collagen type IV alpha 1 chain, *COL4A1*)、波形纤维蛋白 (vimentin, *VIM*)、跨膜蛋白 (transmembrane protein 156, *TMEM156*)、胸腺素 $\beta 10$ (thymosin beta 10, *TMSB10*)、肌球蛋白重链 9 (myosin heavy chain 9, *MYH9*) (表 1)。

2.8 模块的富集分析 黄色模块 GO 富集结果表明,生物学过程 (biological process, BP) 主要富集在细胞外基质组织和细胞外结构组织,细胞成分 (cel-

lular component, CC) 主要富集于含胶原的细胞外基质,分子功能 (molecular function, MF) 主要富集于细胞黏附分子。黄色模块 KEGG 富集结果示,BA 的发生可能与色氨酸代谢、甘油磷脂代谢、过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 信号通路等密切相关。见图 8。

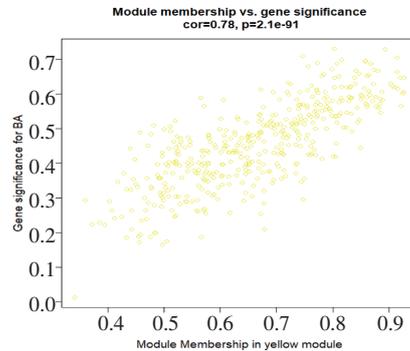


图 7 黄色模块基因相关性散点图

Fig 7 Scatter plot of module eigengenes in the yellow module

表 1 黄色模块中的枢纽基因

Tab1 Hub gene in yellow module

基因	全称	基因显著性	模块身份
<i>MMP7</i>	matrix metalloproteinase 7	0.670 474 6	0.873 711 5
<i>SPP1</i>	secreted phosphoprotein 1	0.687 182 8	0.807 872 6
<i>VCAN</i>	versican	0.728 468 5	0.893 717 3
<i>VTCN1</i>	V-set domain containing T cell activation inhibitor	0.666 443 5	0.841 651 7
<i>LUM</i>	lumican	0.695 849	0.858 175 4
<i>RGS4</i>	regulator of G protein signaling 4	0.650 556 1	0.810 945 3
<i>EPCAM</i>	epithelial cell adhesion molecule	0.694 122 8	0.857 116 2
<i>ELOVL7</i>	elongation of very long fatty acid elongase 7	0.704 755 3	0.914 462 3
<i>MACC1</i>	MET transcriptional regulator <i>MACC1</i>	0.666 557 9	0.881 042 9
<i>LAMC2</i>	laminin subunit gamma 2	0.698 071 1	0.816 055 4
<i>C12orf75</i>	chromosome 12 open reading frame 75	0.687 011 4	0.868 222 8
<i>COL4A1</i>	collagen type IV alpha 1 chain	0.663 508 6	0.914 289 4
<i>VIM</i>	vimentin	0.652 633 5	0.860 467 1
<i>TMEM156</i>	transmembrane protein 156	0.658 251 1	0.846 368 2
<i>TMSB10</i>	thymosin beta 10	0.730 025 4	0.802 455 3
<i>MYH9</i>	myosin heavy chain 9	0.653 789 4	0.864 651 7

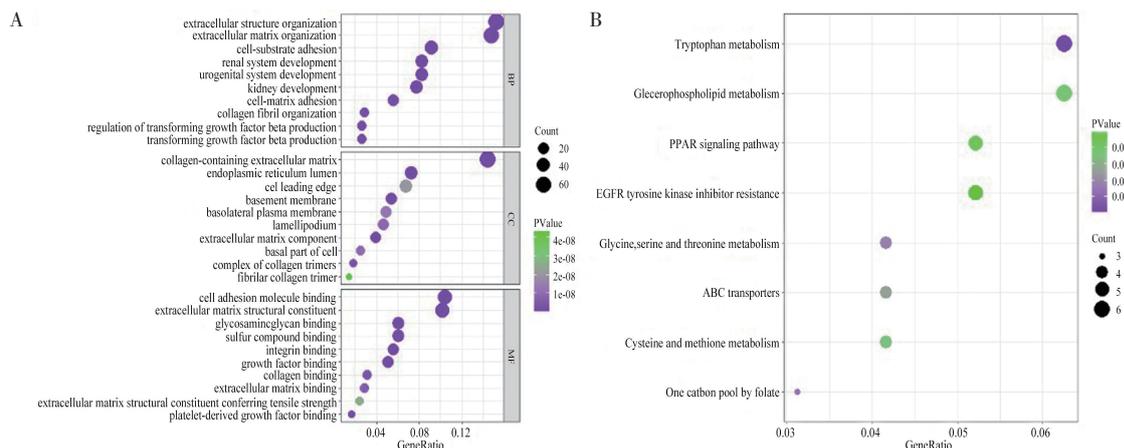


图 8 GO 和 KEGG 富集气泡图

Fig 8 Bubble diagrams of GO and KEGG enrichment

3 讨论

BA 是发生在婴幼儿期的一种严重的先天性疾病,由于肝门附近的胆道系统狭窄、闭锁或缺如,结合胆红素排入肠道受阻,最终导致肝脏胆汁性硬化、肝衰竭,甚至死亡,生后 1 个月内行 HPE 治疗肝脏存活率明显增高,但诊断该疾病需排除非 BA 的胆汁淤积性疾病,如果不能区分 BA 与非 BA 的胆汁淤积性疾病可能导致手术治疗的延迟^[1-2]。既往的研究通过差异分析的方法鉴定 BA 的特征性基因,可能忽略一些具有重要功能但差异表达不明显的基因,也可能混杂与非 BA 的胆汁淤积性疾病的相关基因。WGCNA 是一种无监督的层次聚类方法,能够识别与表型相关的“基因模块”,即可以整合在基础生物学途径中的高度互连的基因。与基因差异分析相比,WGCNA 划分的基因模块具有明显的生物学意义。结合临床信息分析,可以确定与疾病发病机制相关的重要模块和潜在枢纽基因^[3]。为进一步分析 BA 的发生、发展机制,并将非 BA 的胆汁淤积性疾病加以鉴别,本研究采用 WGCNA 分析 BA、非 BA 的胆汁淤积性疾病和无肝脏疾病肝脏转录组数据。

本研究构建了 20 个基因共表达模块,鉴定了 1 个与 BA 高度相关的基因模块即黄色模块,其与非 BA 的胆汁淤积性疾病和无肝脏疾病无明显相关性。本研究对关键模块进行 GO 及 KEGG 富集,发现与 BA 显著相关的基因主要富集在细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、细胞间黏附分子、色氨酸代谢、甘油磷脂代谢、PPAR 信号通路。ECM 含有大量信号分子,参与调节细胞的迁移、增殖、凋亡或分化,细胞不断通过合成、降解、重新组装和化学改造来重建和改造 ECM,以保持组织平衡,不良的 ECM 可能加剧疾病进展^[13]。PPAR 受体激动剂能减少肾小球硬化和肾小管间质损伤^[14]。

本研究根据模块身份和基因重要性识别出 16 个 BA 相关的枢纽基因,包括 *MMP7*、*SPPI*、*VCAN*、*VTCN1*、*LUM*、*RGS4*、*EpCAM*、*ELOVL7*、*MACC1*、*LAMC2*、*C12orf75*、*COL4A1*、*VIM*、*TMEM156*、*TMSB10* 和 *MYH9*。有研究显示 *MMP7* 是一种肝星形细胞分泌的蛋白酶,与 BA 的肝纤维化与组织重塑相关^[15]。血清蛋白组学研究提示 *MMP7* 测定具有高灵敏度和特异性,可区别 BA 与非 BA 的胆汁淤积性疾病,可作为 BA 的可靠的生物标志^[16-18]。这些提示 *MMP7* 直接参与了 BA 发病,但 *MMP7* 对于诊断 BA 的截断值尚未统一(1.43~52.85 ng/mL)^[18],因此 *MMP7* 的临床应用仍需要更大规模的研究。*SPPI* 在胆汁异常患者中被过

度表达,但它的灭活并没有影响表型的发展^[19],这表明 *SPPI* 可能涉及肝脏对胆汁损伤的一般生理反应,但不一定与 BA 的发病机制有关。在 BA 患者及 BA 动物模型的肝脏中均检测到未成熟的 *EpCAM*,且 *EpCAM* 阳性的不成熟胆道上皮细胞在短时间内迅速增生,*EpCAM* 可能是 BA 患儿肝纤维化进展迅速的主要原因^[20]。文献报道 *ELOVL7* 能产生对于构建正常功能的人巨细胞病毒包膜必需的饱和超长链脂肪酸^[21],这与 BA 的病因可能是病毒感染的说法一致。已有研究显示 16 个枢纽基因中的部分基因在 BA 发病中可能发挥重要作用,表明本研究采用的鉴定枢纽基因的方法精确可靠。*VCAN*、*VTCN1*、*LUM*、*ELOVL7*、*MACC1*、*LAMC2*、*C12orf75*、*COL4A1*、*VIM*、*TMEM156*、*TMSB10* 及 *MYH9* 在 BA 发病机制中的研究,枢纽基因及富集分析所示功能是否能减缓甚至逆转 BA 的进展,有待进一步深入研究。

综上所述,基于 WGCNA 识别了与 BA 发病相关的 1 个关键模块及 16 个枢纽基因,新发现了 12 个可能和 BA 的发病密切相关的基因,值得进一步实验验证。

参考文献:

- [1] HARTLEY J L, DAVENPORT M, KELLY D A. Biliary atresia[J]. *Lancet*, 2009, 374(9702): 1704-1713.
- [2] 蔡威, 孙宁, 魏光辉. 小儿外科学[M]. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 370-375.
- [3] KAZUHIKO B, REENA M, PRANAVKUMAR S, et al. Gene expression signature for biliary atresia and a role for interleukin-8 in pathogenesis of experimental disease[J]. *Hepatology*, 2014, 60(1): 211-223.
- [4] LIU J, ZHANG C, WU H, et al. Parkin ubiquitinates phosphoglycerate dehydrogenase to suppress serine synthesis and tumor progression[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(6): 3253-3269.
- [5] SERINET M O, WILDHABER B E, BROUÉ P, et al. Impact of age at Kasai operation on its results in late childhood and adolescence: a rational basis for biliary atresia screening[J]. *Pediatrics*, 2009, 123(5): 1280-1286.
- [6] BEDNAREK J, TRAXINGER B, BRIGHAM D, et al. Cytokine-producing B cells promote immune-mediated bile duct injury in murine biliary atresia[J]. *Hepatology*, 2018, 68(5): 1890-1904.
- [7] KLEMANN C, SCHRÖDER A, DREIER A, et al. Interleukin 17, produced by $\gamma\delta$ T cells, contributes to hepatic inflammation in a mouse model of biliary atresia and is increased in livers of patients[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(1): 229-241.
- [8] LANE E, MURRAY K F. Neonatal cholestasis[J]. *Pediatr Clin North Am*, 2017, 64(3): 621-639.
- [9] PROM-ON S, CHANTHAPHAN A, CHAN J, et al. Enhancing biological relevance of a weighted gene co-expression network for functional module identification[J]. *J Bioinform Comput Biol*, 2011, 9(1): 111-129.
- [10] LIU Q, JIANG C, XU J, et al. Genome-wide temporal profiling of

- transcriptome and open chromatin of early cardiomyocyte differentiation derived from hiPSCs and hESCs[J]. *Circ Res*, 2017, 121(4):376-391.
- [11] BETTENCOURT C, FOTI S, MIKI Y, et al. White matter DNA methylation profiling reveals deregulation of HIP1, LMAN2, MOBP, and other loci in multiple system atrophy[J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 139(1): 135-156.
- [12] YIN K, ZHANG Y, ZHANG S, et al. Using weighted gene co-expression network analysis to identify key modules and hub genes in tongue squamous cell carcinoma[J]. *Medicine*, 2019, 98(37):e17100.
- [13] BONNANS C, CHOU J, WERB Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(12): 786-801.
- [14] NÉMETH Á, MÓZES M M, CALVIER L, et al. The PPAR γ agonist pioglitazone prevents TGF- β induced renal fibrosis by repressing EGR-1 and STAT3[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1): 245.
- [15] HUANG C, CHUANG J, CHOU M, et al. Matrilysin (MMP-7) is a major matrix metalloproteinase upregulated in biliary atresia-associated liver fibrosis[J]. *Mod Pathol*, 2005, 18(7): 941-950.
- [16] LERTUDOMPHONWANIT C, MOURYA R, FEI L, et al. Large-scale proteomics identifies MMP-7 as a sentinel of epithelial injury and of biliary atresia[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(417).
- [17] JIANG J, WANG J, SHEN Z, et al. Serum MMP-7 in the diagnosis of biliary atresia[J]. *Pediatrics*, 2019, 144(5):e20190902.
- [18] YANG L, ZHOU Y, XU P, et al. Diagnostic accuracy of serum matrix metalloproteinase-7 for biliary atresia[J]. *Hepatology*, 2018, 68(6): 2069-2077.
- [19] HERTEL P M, CRAWFORD S E, FINEGOLD M J, et al. Osteopontin upregulation in rotavirus-induced murine biliary atresia requires replicating virus but is not necessary for development of biliary atresia[J]. *Virology*, 2011, 417(2):281-292.
- [20] BRINDLEY S, LANHAM A, KARRER F, et al. Cytomegalovirus-specific T-cell reactivity in biliary atresia at the time of diagnosis is associated with deficits in regulatory T cells[J]. *Hepatology*, 2012, 55(4): 1130-1138.
- [21] KURIAN S, WILLIAMS A, GELBART T, et al. Molecular classifiers for acute kidney transplant rejection in peripheral blood by whole genome gene expression profiling[J]. *Am J Transplant*, 2014, 14(5): 1164-1172.

(2021-09-24 收稿)

·读者·作者·编者·

《天津医科大学学报》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》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。

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,选择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 $P<0.01$ 3 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