

· 基础研究 ·

# 龟鹿二仙胶不同提取部位对豚鼠软骨细胞活性的影响

邱慈鑫, 余添赐, 杨树华, 魏迎辰, 陈泽华, 林海英, 王和鸣, 李楠

(福建中医药大学, 福建 福州 350122)

**摘要 目的:**探讨龟鹿二仙胶不同提取部位对豚鼠软骨细胞活性的影响。**方法:**采用溶剂极性依次递增分离法分别制备龟鹿二仙胶的三氯甲烷提取物、正丁醇提取物和水提取物。然后分别以三氯甲烷提取物(烷提组)、正丁醇提取物(醇提组)和水提取物(水提组)及生理盐水(对照组)对 4 组 Wistar 大鼠进行灌胃,制备含药血清,再分别以这些含药血清对体外培养的豚鼠软骨细胞进行干预。干预结束后分别采用免疫组织化学技术、实时荧光定量聚合酶链式反应法及酶联免疫吸附法测定经 4 种含药血清干预后的豚鼠软骨细胞中 II 型胶原蛋白、Bcl-2 和 Bax 基因及 MMP-3 水平。**结果:**① II 型胶原蛋白水平。4 组细胞 II 型胶原蛋白水平比较,差异有统计学意义[(0.178 ± 0.002), (0.188 ± 0.003), (0.177 ± 0.003), (0.173 ± 0.001),  $F = 32.905, P = 0.000$ ]; 对照组 II 型胶原蛋白水平低于其余 3 组( $P = 0.003, P = 0.000, P = 0.023$ );醇提组高于烷提组和水提组( $P = 0.000, P = 0.000$ );烷提组和水提组比较,差异无统计学意义( $P = 0.367$ )。② Bcl-2 基因和 Bax 基因水平。4 组细胞 Bcl-2 基因水平比较,差异有统计学意义[(0.569 ± 0.052), (1.000 ± 0.000), (0.636 ± 0.072), (0.387 ± 0.061),  $F = 136.767, P = 0.000$ ]; 对照组低于其余 3 组( $P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$ );醇提组高于烷提组和水提组( $P = 0.000, P = 0.000$ );烷提组低于水提组( $P = 0.045$ )。4 组细胞 Bax 基因水平比较,差异有统计学意义[(1.789 ± 0.240), (1.000 ± 0.000), (1.374 ± 0.226), (2.251 ± 0.196),  $F = 47.445, P = 0.000$ ]; 对照组高于其余 3 组( $P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$ );醇提组低于烷提组和水提组( $P = 0.000, P = 0.003$ );烷提组高于水提组( $P = 0.000$ )。③ 基质金属蛋白酶 3 水平。4 组细胞基质金属蛋白酶 3 水平比较,差异有统计学意义[(11.828 ± 0.363) ng · mL<sup>-1</sup>, (10.685 ± 0.317) ng · mL<sup>-1</sup>, (11.397 ± 0.314) ng · mL<sup>-1</sup>, (13.136 ± 0.379) ng · mL<sup>-1</sup>,  $F = 71.401, P = 0.000$ ]; 对照组高于其余 3 组( $P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$ );醇提组低于烷提组和水提组( $P = 0.000, P = 0.000$ );烷提组高于水提组( $P = 0.019$ )。**结论:**龟鹿二仙胶的三氯甲烷、正丁醇和水 3 种提取部位均能提高软骨细胞中 II 型胶原和 Bcl-2 基因水平,降低 Bax 基因和基质金属蛋白酶 3 水平,其中以正丁醇提取部位的作用最强。

**关键词** 龟鹿二仙胶 提取部位 软骨细胞 胶原 II 型 Bcl-2 Bax 基质金属蛋白酶类 动物实验

**Effect of different extract fraction of GUILU ERXIAN gelatin on the chondrocytes activity in Guinea pigs** Qiu Cixin\*, Yu Tianci, Yang Shuhua, Wei Yingchen, Chen Zehua, Lin Haiying, Wang Heming, Li Nan. \* Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian, China

**ABSTRACT Objective:** To study the effect of different extract fraction of GUILU ERXIAN gelatin on the chondrocytes activity in Guinea pig. **Methods:** The trichloromethane extractive, n-butanol extractive and water extractive were made from GUILU ERXIAN gelatin respectively by the separation method of increasing solvent polarity progressively. The Wistar rats in 4 groups were intragastric administrated with trichloromethane extractive, n-butanol extractive, water extractive and normal saline respectively. Then the chondrocytes of Guinea pigs cultured in vitro were intervened by the medicated serums extracted from the Wistar rats respectively. After intervention, the levels of Collagen Type II, Bcl-2 gene, Bax gene and MMP-3 in the chondrocytes of Guinea pigs were determined by using immunohistochemical technique, real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction and enzyme linked immunosorbent assay respectively. **Results:** There was statistical difference in the level of Collagen Type II between the 4 groups (0.178 ± 0.002, 0.188 ± 0.003, 0.177 ± 0.003, 0.173 ± 0.001,  $F = 32.905, P = 0.000$ ). The level of Collagen Type II was lower in the control group compared with the other 3 groups ( $P = 0.003, P = 0.000, P = 0.023$ ) and was higher in the n-butanol extractive group compared with trichloromethane extractive group and water extractive group ( $P = 0.000, P = 0.000$ ) and there was no statistical difference between n-butanol extractive group and water extractive group ( $P = 0.367$ ). There was statistical difference in the level of Bcl-2 gene between the 4 groups (0.569 ± 0.052, 1.000 ± 0.000, 0.636 ± 0.072, 0.387 ± 0.061,  $F = 136.767, P = 0.000$ ). The level of Bcl-2 gene was lower in the control group com-

基金项目:国家自然科学基金项目(30772814),福建省教育厅重点项目(JA13153)

通讯作者:李楠 E-mail:mr.linan@126.com

pared with the other 3 groups ( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ), and was higher in the n-butanol extractive group compared with trichloromethane extractive group and water extractive group ( $P=0.000, P=0.000$ ) and was lower in the trichloromethane extractive group compared with water extractive group ( $P=0.045$ ). There was statistical difference in the level of Bax gene between the 4 groups ( $1.789 \pm 0.240, 1.000 \pm 0.000, 1.374 \pm 0.226, 2.251 \pm 0.196, F=47.445, P=0.000$ ). The level of Bax gene was higher in the control group compared with the other 3 groups ( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ) and was lower, in the n-butanol extractive group compared with trichloromethane extractive group and water extractive group ( $P=0.000, P=0.003$ ) and was higher in the trichloromethane extractive group compared with the water extractive group ( $P=0.000$ ). There was statistical difference in the level of MMP-3 between the 4 groups ( $11.828 \pm 0.363, 10.685 \pm 0.317, 11.397 \pm 0.314, 13.136 \pm 0.379 \text{ ng/mL}, F=71.401, P=0.000$ ). The level of MMP-3 was higher in the control group compared with the other 3 groups ( $P=0.000, P=0.000, P=0.000$ ) and was lower in the n-butanol extractive group compared with trichloromethane extractive group and water extract group ( $P=0.000, P=0.000$ ) and was higher in the trichloromethane extractive group compared with water extractive group ( $P=0.019$ ). **Conclusion:** The extract fraction of GUILU ERXIAN gelatin including trichloromethane, n-butanol and water can up-regulate the levels of Collagen Type II and Bcl-2 gene and down-regulate the levels of Bax gene and MMP-3, and the effect of n-butanol is the strongest.

**Key words** GUILU ERXIAN gelatin; Extract fraction; Chondrocytes; Collagen Type II; Bcl-2; Bax; Matrix Metalloproteinases; Animal experimentation

中药复方的提取部位是指中药复方中认为是有效成分的化学性质相近的一类(或几类)化合物的混合物,它是一个具有中医药特色的概念,既能体现中药多成分、多靶点、多层次产生药理作用的特点,保留原方治疗上的优点,又能提高中药复方的作用强度、临床疗效及质量控制水平,改变传统中成药“粗、大、黑”的形象<sup>[1]</sup>。现代药理学研究显示龟鹿二仙胶具有益肾壮阳、补血、提高体液免疫和细胞免疫、抗辐射、抗衰老等作用<sup>[2]</sup>,而针对其拆方不同配伍的研究显示,龟鹿配伍人参可促进软骨细胞 II 型胶原蛋白合成,龟鹿配伍枸杞显著抑制软骨细胞凋亡<sup>[3-7]</sup>。为了进一步筛选龟鹿二仙胶治疗骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 的有效提取部位,我们对龟鹿二仙胶不同提取部位的药效进行了分析研究。

## 1 材料与仪器

**1.1 实验动物** 4 周龄 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 60 只,体质量 ( $200 \pm 20$ ) g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物合格证号:2007000542767; 3 月龄普通级豚鼠 5 只,体质量 ( $300 \pm 20$ ) g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物合格证号:200700110。

**1.2 实验试剂** 鹿角胶、龟板胶、人参、枸杞(采购自福建省中医药研究院门诊部中药房); DMEM、胎牛血清(Hyclone 公司)、胰酶(Sigma 公司)、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR) 聚合酶(TransGen 公司); 分析纯正丁醇、分析纯三氯甲烷(南京利盛化学试剂有限公司)。

**1.3 实验仪器** 立式高压灭菌锅(山东新华医疗器械有限公司); HERA cell 150i 细胞生物恒温培养箱(Thermo 公司); ELx800 酶标仪(BIO-TEK 公司); 7500 Fast 实时定量 PCR 仪(ABI 公司)。

## 2 方法

**2.1 提取物制备** 按照《中医骨伤科学基础》教材附录,以鹿角胶 6 g、龟板胶 9 g、人参 6 g、枸杞 9 g 的配伍比例称取实验用中药:鹿角胶 180 g、龟板胶 270 g、人参 180 g、枸杞 270 g。采用溶剂极性依次递增分离法,依次采用三氯甲烷、正丁醇、水为溶剂回流提取,将龟鹿二仙胶 3 种不同溶剂的提取物配制成相当于含原药  $0.54 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的药液备用。

**2.2 含药血清制备及分组** 将 60 只 Wistar 大鼠随机分为 4 组,每组 15 只。根据“人和动物体质量换算关系”计算各组大鼠给药的等效剂量后,烷提组、醇提组、水提组大鼠分别以三氯甲烷提取物、正丁醇提取物和水提取物灌胃,对照组以等量生理盐水灌胃,每天 1 次,连续 7 d。末次灌胃 1 h 后,以 10% 水合氯醛腹腔麻醉下腹主动脉采血,  $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,过滤分装,  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

**2.3 软骨细胞分离培养** 脱颈处死豚鼠,取膝关节软骨按照文献[3-5]的方法建立豚鼠软骨细胞体外培养体系。

**2.4 II 型胶原蛋白水平测定** 将浓度为  $1 \times 10^4$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  的 F2 代软骨细胞接种于铺有圆形盖玻片的 24 孔板中,每孔 500  $\mu\text{L}$ 。接种 24 h 后,加入含 10% 各组含药血清的 DMEM 培养基,干预 48 h 后取

出爬片滴加 II 型胶原一抗(1: 100);增加 1 组爬片当作阴性对照组,以 5 mg · mL<sup>-1</sup> 的 BSA 代替一抗。4 ℃ 孵育过夜,过夜后按说明书滴加二抗,DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封片后倒置显微镜摄片。免疫组化图片采用 Image - Pro Plus6.0 软件分析,每个样本随机选取 6 个视野,计算各视野平均光密度值。

**2.5 Bcl - 2 基因和 Bax 基因水平测定** 取 F3 代细胞以 2 × 10<sup>5</sup> 个 · mL<sup>-1</sup> 的浓度接种于 25 cm<sup>2</sup> 的培养瓶中,加入含 10 % 各组含药血清的完全培养基,隔天换液,5 d 后提取总 RNA。使用 Primer Premier 5 软件设计 Bcl - 2、Bax 及内参 GAPDH 的上下游引物序列(表 1),由上海生工合成。

表 1 实时荧光定量 PCR 所用引物序列

名称		引物序列	引物长度(bp)
Bcl - 2	Forward	5' - TACCGTCGTGACTTCGCAGAGAT - 3'	319
	Reverse	5' - AGGAGAAATCAAACAGAGGTCGC - 3'	
Bax	Forward	5' - TTTGCTACAGGGTTTCATCCAGG - 3'	275
	Reverse	5' - CAAAGTAGAAGAGGGCAACCACG - 3'	
GAPDH	Forward	5' - ACACCCACTCCTCCACCTTTGAC - 3'	189
	Reverse	5' - TCTCTCTTCTCTTGTGCTCTTGCT - 3'	

**2.6 基质金属蛋白酶 3 水平测定** 取 F3 代细胞以 2 × 10<sup>5</sup> 个 · mL<sup>-1</sup> 的浓度接种于培养瓶中,加入含 10 % 各组含药血清的完全培养基,隔天换液,各组干预 24 h 后收集细胞上清液检测,按照 Elisa 试剂盒说明书操作步骤进行基质金属蛋白酶 3(Matrix Metalloproteinase 3, MMP - 3)水平检测。

**2.7 统计分析** 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,4 组软骨细胞经干预后 II 型胶原、Bcl - 2 和 Bax 基因及 MMP - 3 水平的组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验,检验水准 α = 0.05。

**3 结果**

**3.1 II 型胶原蛋白水平** 各组细胞经苏木素复染后胞核均呈蓝紫色,烷提组、醇提组、水提组及对照组软骨细胞胞浆中均有阳性特异性染色(棕黄色颗粒);阴性对照组未见特异性的棕黄色阳性染色(图 1)。4 组细胞 II 型胶原蛋白水平比较,差异有统计学意义;对照组 II 型胶原蛋白水平低于烷提组、醇提组及水提组(P = 0.003, P = 0.000, P = 0.023);醇提组高于烷提组和水提组(P = 0.000, P = 0.000);烷提组和水提组比较,差异无统计学意义(P = 0.367)。见表 2。

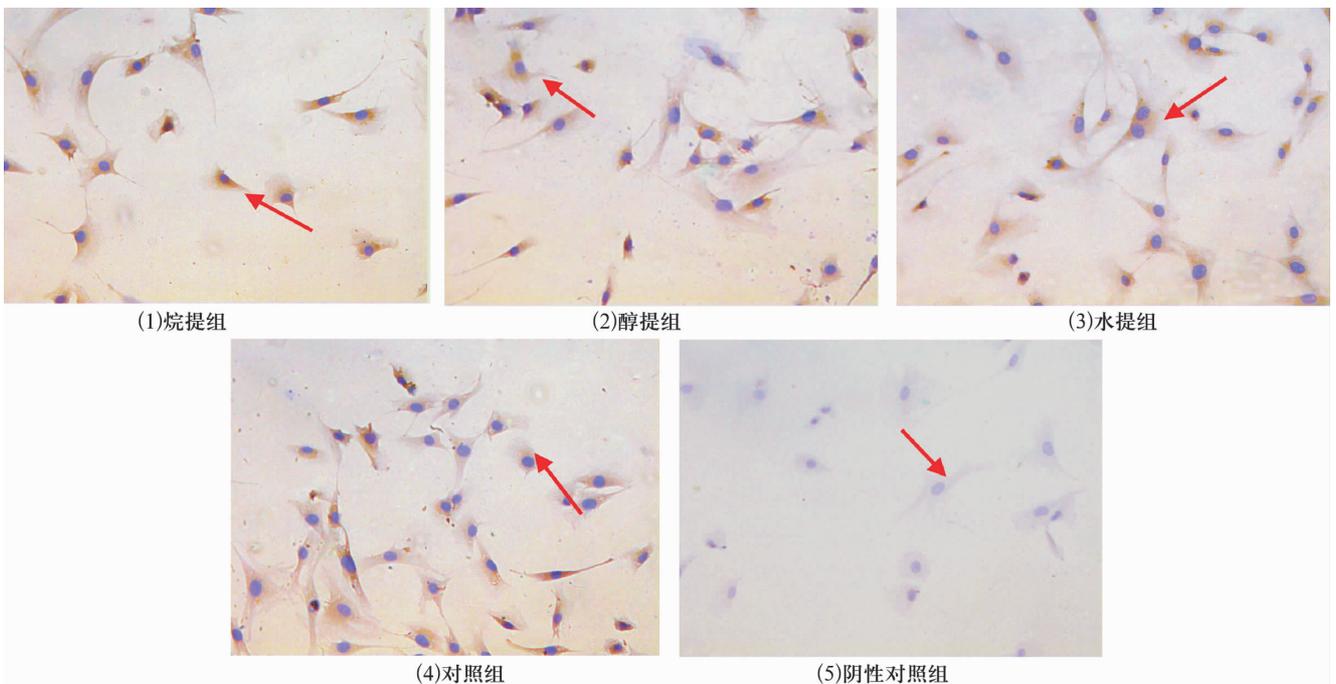


图 1 各组软骨细胞 II 型胶原表达(×200)

**3.2 Bcl - 2 基因和 Bax 基因水平** 4 组细胞 Bcl - 2 基因水平比较,差异有统计学意义;对照组低于其余

3 组(P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000);醇提组高于烷提组和水提组(P = 0.000, P = 0.000);烷提组低于

水提组( $P=0.045$ )。4 组细胞 Bax 基因水平比较, 差异有统计学意义; 对照组高于其余 3 组( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ); 醇提组低于烷提组和水提组( $P=0.000$ ,  $P=0.003$ ); 烷提组高于水提组( $P=0.000$ )。见表 2。

表 2 各组软骨细胞中 II 型胶原、Bcl-2 和 Bax 基因及 MMP-3 水平测定结果

组别	II 型胶原(光密度值)	Bcl-2 基因(RQ 值)	Bax 基因(RQ 值)	MMP-3( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
烷提组	0.178 ± 0.002	0.569 ± 0.052	1.789 ± 0.240	11.828 ± 0.363
醇提组	0.188 ± 0.003	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	10.685 ± 0.317
水提组	0.177 ± 0.003	0.636 ± 0.072	1.374 ± 0.226	11.397 ± 0.314
对照组	0.173 ± 0.001	0.387 ± 0.061	2.251 ± 0.196	13.136 ± 0.379
F 值	32.905	136.767	47.445	71.401
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

#### 4 讨论

鹿角胶主要含有睾酮、孕酮、垂体泌乳素、雌二醇 4 种甾体类生物激素, 以及无机盐、氨基酸、多肽、蛋白质等物质, 其中甾体类生物激素易溶于醇类溶剂, 无机盐、氨基酸、蛋白质类易溶于水, 亲脂性的甾体类物质可溶于烷类溶剂<sup>[8]</sup>。龟板胶的主要有效化学成分为甾族类化合物、氨基酸、钙、微量元素、脂肪酸及脂肪酸酯等物质, 其中甾族类化合物易溶于醇类溶剂, 脂肪酸及脂肪酸酯可溶于醇类及烷类溶剂, 氨基酸、钙及微量元素易溶于水<sup>[9]</sup>。人参的主要有效化学成分为皂苷和多糖类物质, 其中人参皂苷可溶于醇类溶剂, 人参多糖易溶于水<sup>[10]</sup>。枸杞的主要有效化学成分为枸杞多糖、黄酮类、甜菜碱、维生素、微量元素及氨基酸等, 其中枸杞多糖、维生素、氨基酸、微量元素易溶于水, 黄酮类易溶于醇类溶剂, 生物碱易溶于烷类溶剂<sup>[11]</sup>。因此, 龟鹿二仙胶正丁醇提取部位主要含有甾体类生物激素及其化合物、皂苷以及黄酮类物质, 水提取部位主要包含多糖类、氨基酸、蛋白质、维生素、无机盐等, 三氯甲烷提取部位主要含有脂肪酸、脂肪酸酯、生物碱及部分亲脂性的甾体类物质。

人参皂苷可明显提高 OA 患者关节软骨细胞中 II 型胶原基因的水平<sup>[12]</sup>, 抑制成纤维细胞中 MMP-1 和 MMP-3 的分泌<sup>[13]</sup>, 而且人参皂苷 Rb1、Rg1 可分别提高大鼠脑神经元及兔晶状体上皮细胞中 Bcl-2 基因的水平, 抑制有关细胞凋亡<sup>[14-15]</sup>。上调 Bcl-2 基因、下调 Bax 基因可延缓软骨细胞凋亡, 降低 MMP-3 水平可减少细胞外基质降解, 稳定软骨细胞表型, 综合来看, 其作用可概括为增强软骨细胞活性、抑制凋亡, 从中医角度可理解为抗衰老。中医理论对衰

3.3 MMP-3 水平 4 组细胞 MMP-3 水平比较, 差异有统计学意义; 对照组高于其余 3 组( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ); 醇提组低于烷提组和水提组( $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ); 烷提组高于水提组( $P=0.019$ )。见表 2。

老机制的阐释有众多学说, 最为经典的是“肾虚”。目前中医抗衰老的主要治则为补益肝肾、健脾活血化瘀<sup>[16]</sup>, 以及综合应用补肾法及活血法形成的补肾活血法<sup>[17]</sup>。鹿角胶具有益肾壮阳、活血化瘀的功效, 与补肾活血法抗衰老的治则相符。鹿角胶所包含的睾酮、孕酮、雌二醇等性激素的作用可归属于中医“肾”的功效, 因此推测鹿角胶所含激素与其益肾温阳功效有关<sup>[8]</sup>。人参为大补元气之品, 根据中医“气分阴阳”的理论, 它既可与鹿角胶配伍起到益气助阳的功效, 又可与龟板胶配伍起到益气养阴的作用。人参的主要活性成分人参皂苷和鹿角胶中的甾体类生物激素均易溶于醇类溶剂, 这可能就是龟鹿二仙胶正丁醇提取部位可明显增加软骨细胞中 II 型胶原和 Bcl-2 基因水平, 降低 Bax 基因和 MMP-3 水平的作用机制。

我们的研究结果显示, 龟鹿二仙胶 3 种提取部位均能提高软骨细胞中 II 型胶原和 Bcl-2 基因水平, 降低 Bax 基因和 MMP-3 水平, 其中以正丁醇提取部位的作用最强。

#### 5 参考文献

- [1] 吴文博. 中药复方提取部位的功能与母方整体效应关系之思考[J]. 医学与哲学, 2008, 29(7): 85.
- [2] 郑本端, 罗自文. 龟鹿二仙膏的药理学研究[J]. 中成药, 2000, 22(12): 860-861.
- [3] 王和鸣, 余丹丹, 汤亭亭, 等. 龟鹿二仙胶汤及其拆方对关节软骨细胞增殖的作用[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2007, 15(7): 45-49.
- [4] 李楠, 黄远鹏, 杜江, 等. 龟鹿二仙胶及其拆方对体外培养豚鼠软骨细胞活性的影响[J]. 福建中医药大学学报, 2012, 22(5): 18-21.

[5] 李楠,尹玉彪,雒焕生,等. 龟鹿二仙胶及其拆方对豚鼠软骨细胞 II 型胶原蛋白多糖合成的影响[J]. 中华中医药杂志,2011,26(11):2524-2528.

[6] 李楠,雒焕生,赵诣,等. 龟鹿二仙胶汤及其拆方对大鼠软骨细胞凋亡基因表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2011,19(7):1-3.

[7] 杜江,黄远鹏,李奕修,等. 龟鹿二仙胶及其拆方对去势骨关节炎大鼠血清雌二醇浓度及膝关节软骨细胞 II 型胶原表达的影响[J]. 中医正骨,2013,25(3):11-20.

[8] 曹胜男,包海鹰. 鹿角的化学成分及药理活性研究进展[J]. 经济动物学报,2011,15(4):230-233.

[9] 李长泉. 龟甲药理作用及临床应用的现代研究[J]. 长春中医学院学报,2003,19(4):55-56.

[10] 唐斌,程绪菊,刘江,等. 人参皂苷药理作用研究进展[J]. 西南军医,2005,7(3):45-47.

[11] 魏永祥,商希礼,张杰,等. 枸杞天然活性成分提取的研究进展[J]. 山东化工,2009,38(7):18-20.

[12] 张业勇,程文丹,陈哲峰,等. 人参皂苷 Rg1 对软骨细胞 II 型胶原表达的影响[J]. 中国组织工程研究,2013,17(11):1917-1924.

[13] 邓茂,钟桂书,雷启蓉. 人参皂甙 Rd 对培养光老化真皮成纤维细胞影响的实验研究[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2010,17(6):403-406.

[14] 杨朝鲜,李雷激,高小青,等. 大鼠局灶性脑缺血时人参皂甙 Rb1 抑制细胞凋亡和调控凋亡基因的表达[J]. 中风与神经疾病杂志,2008,25(1):12-16.

[15] 何勇川,李平华. 人参皂甙 Rg1 对氧化损伤兔晶状体上皮细胞凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 表达影响[J]. 重庆医科大学学报,2006,31(5):662-665.

[16] 李佳佳,马健. 中医衰老理论与抗衰老的实验研究进展[J]. 中医学报,2013,28(2):213-216.

[17] 彭勇,张荣华,蔡宇,等. 补肾活血法延缓衰老的机理探讨[J]. 陕西中医,2004,25(2):142-144.

(2014-07-01 收稿 2014-09-15 修回)

· 作者须知 ·

论文中对数据进行统计学处理时需要注意的问题

**1 对基线资料进行统计学分析** 搜集资料应严格遵守随机抽样设计,保证样本从同质的总体中随机抽取,除了对比因素外,其他可能影响结果的因素应尽可能齐同或基本接近,以保证组间的齐同可比性。因此,应对样本的基线资料进行统计学分析,以证明组间的齐同可比性。

**2 选择正确的统计检验方法** 研究目的不同、设计方法不同、资料类型不同,选用的统计检验方法则不同。例如:2 组计量资料的比较应采用 *t* 检验;而多组 ( $\geq 3$  组) 计量资料的比较应采用方差分析(即 *F* 检验),如果组间差异有统计学意义,想了解差异存在于哪两组之间,再进一步做 *q* 检验或 LSD-*t* 检验。许多作者对多组计量资料进行比较时采用两两间 *t* 检验的方法是错误的。又如:等级资料的比较应采用 Ridit 分析或秩和检验或行平均得分差检验。许多作者对等级资料进行比较时采用卡方检验的方法是错误的。

**3 假设检验的推断结论不能绝对化** 假设检验的结论是一种概率性的推断,无论是拒绝  $H_0$  还是不拒绝  $H_0$ ,都有可能发生错误(I 型错误和 II 型错误)。因此,假设检验的推断结论不能绝对化。

**4 *P* 值的大小并不表示实际差别的大小** 研究结论包括统计结论和专业结论两部分。统计结论只说明有无统计学意义,而不能说明专业上的差异大小。*P* 值的大小不能说明实际效果的“显著”或“不显著”。统计结果的解释和表达,应说对比组之间的差异有(或无)统计学意义,而不能说对比组之间有(或无)显著的差异。 $P \leq 0.01$  比  $P \leq 0.05$  更有理由拒绝  $H_0$ ,并不表示  $P \leq 0.01$  时比  $P \leq 0.05$  时实际差异更大。只有将统计结论和专业知识有机地结合起来,才能得出恰如其分的研究结论。若统计结论与专业结论一致,则最终结论也一致;若统计结论与专业结论不一致,则最终结论需根据专业知识而定。判断被试因素的有效性时,要求在统计学上和专业知识上都有意义。

**5 假设检验的结果表达** *P* 值传统采用 0.05 和 0.01 这 2 个界值,现在提倡给出 *P* 的具体数值和检验统计量的具体数值(小数点后保留 3 位有效数字),主要理由是:①以前未推广统计软件之前,需要通过查表估计 *P* 值,现在使用统计软件会自动给出具体的 *P* 值和检验统计量的具体值(*t* 值、*F* 值、 $\chi^2$  值等)。②方便根据具体情况判断问题。例如  $P = 0.051$  与  $P = 0.049$  都是小概率,不能简单地断定  $P = 0.051$  无统计学意义而  $P = 0.049$  有统计学意义。③便于对同类研究结果进行综合分析。

**6 统计学符号的使用** 统计学符号的使用应按照 GB3358—82《统计名词及符号》的规定,具体可参阅本刊投稿须知中的有关要求。