

TLR2 单克隆抗体对大鼠角膜移植术后植片存活的保护作用

白浪 郑艳华 梁伟怡

【摘要】 背景 Toll 样受体 2 (TLR2) 在移植免疫相关疾病中的作用越来越受到关注, 阻断 TLR2 对心脏和肾脏移植物的保护作用已有研究报道, 但 TLR2 是否具有抑制角膜移植排斥反应的作用尚未证实。目的 观察 TLR2 单克隆抗体对同种异体大鼠角膜移植术后植片存活情况的影响。方法 取 24 只 SPF 级雌性 Wistar 大鼠作为受体, 12 只 SPF 级 SD 大鼠作为供体, 体质量均为 180 ~ 220 g。采用同种异体角膜移植的方法在 Wistar 大鼠右眼实施穿透角膜移植术, 制备大鼠角膜移植模型。采用随机数字表法将模型眼分为单纯模型组和 TLR2 单克隆抗体组, TLR2 单克隆抗体组分别于术后 0、2、4、6、8 d 球结膜下注射 TLR2 单克隆抗体 15 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$, 单纯模型组大鼠同法注射等容量生理盐水。术后每日于裂隙灯显微镜下观察各组大鼠角膜植片水肿程度、透明度和新生血管形成情况, 参照 Holland 等的评分标准对排斥反应指数 (RI) 进行评分; 分别于术后第 9 天、第 15 天收集各组 3 只大鼠角膜组织, 另取 3 只正常 Wistar 大鼠眼球作为正常对照, 行常规组织病理学检查。各组取 6 只大鼠用于生存分析观察。结果 术后 1 ~ 4 d, 裂隙灯显微镜下 2 个组角膜均轻度水肿, 术后 9 ~ 14 d, 单纯模型组大鼠角膜植片布满新生血管, 可见植片水肿、混浊, 而 TLR2 单克隆抗体组大鼠植片至术后第 15 天开始混浊。术后 5、9、15 d, 单纯模型组大鼠 RI 评分均明显高于 TLR2 单克隆抗体组, 差异均有统计学意义 ($t=4.183, 4.954, 13.506$, 均 $P<0.05$); TLR2 单克隆抗体组角膜植片存活时间为 15.5 d, 95% 可信区间 (CI) 为 14.9 ~ 16.1, 单纯模型组角膜植片存活时间为 9.5 d, 95% CI 为 8.7 ~ 10.3, 2 个组间差异有统计学意义 ($Z=12.728, P=0.001$)。角膜组织病理学检查显示, 单纯模型组大鼠角膜基质层水肿明显, 角膜组织中可见大量炎性细胞浸润和新生血管管腔形成, 而在 TLR2 单克隆抗体组中仅见少量炎性细胞和新生血管。结论 TLR2 单克隆抗体能减轻角膜移植术后的炎症反应, 延长角膜植片的存活时间。

【关键词】 Toll 样受体 2; 单克隆抗体/用法和用量; 穿透角膜移植/病理; 植片排斥/病理; 植片存活/药物作用; 动物模型

Protective role of anti-TLR2 monoclonal antibody to corneal graft survival after allograft corneal transplantation in rats Bai Lang, Zheng Yanhua, Liang Weiyi. Department of Ophthalmology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Bai Lang, Email: bailangsfy@126.com

【Abstract】 **Background** The effects of Toll-like receptor 2 (TLR2) in grafting-related immune diseases have attracted more and more attention. Blocking TLR2 signal pathway can extend the survival time of heart and kidney grafts. However, the effects of anti-TLR2 monoclonal antibody on corneal graft have not been confirmed.

Objective This study was to investigate the influence of anti-TLR2 monoclonal antibody on corneal graft survival in the rats received penetrating keratoplasty (PKP). **Methods** Allograft corneal transplantation was performed on the right eyes of 24 SPF female Wistar rats to establish PKP models, with 12 SD rats as donors. The model eyes were randomized into the TLR2 monoclonal antibody group and the model group. Anti-TLR2 monoclonal antibody of 15 $\mu\text{g}/30 \mu\text{l}$ was subconjunctivally injected on day 0, 2, 4, 6 and 8 following the modeling in the TLR2 monoclonal antibody group, and equal amount of normal saline was injected in the same way in the model group. The edema, transparency and neovascularization were observed under the slit lamp microscope after surgery, and rejection index

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.005

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81170887); 南方医科大学南方医院横向课题匹配基金项目 (G201202)

作者单位: 510515 广州, 南方医科大学南方医院眼科

通信作者: 白浪, Email: bailangsfy@126.com

(RI) was scored based on the criteria of Holland. Corneal tissue sections of the rats were prepared for the histopathological examination on day 9 and 15 after operation. The research protocol was approved by the Southern Medical University Ethics Committee. **Results** Mild corneal edema was found in the two groups 1-4 days after operation. A lot of new blood vessels, edema and opacification of corneas were seen in the model group 9-14 days after operation, but in the TLR2 monoclonal antibody group, corneal opacification was found 15 days after operation. The RI scores were significantly higher in the model group than those in the TLR2 monoclonal antibody group 5, 9, 15 days after operation ($t=4.183, 4.954, 13.506$; all at $P<0.05$). The survival time in the TLR2 monoclonal antibody group was 15.5 days, with the 95% confidence interval (CI) 14.9-16.1; while that in the model group was 9.5 days, with the 95% CI 8.7-10.3, showing a significant difference between the two groups ($Z=12.728, P=0.001$). The corneal histopathological examination revealed that corneal stromal edema, infiltration of inflammatory cells and vascular lumen were more prominent 9 and 15 days after operation in the model group than those in the TLR2 monoclonal antibody group. **Conclusions** Anti-TLR2 monoclonal antibody can inhibit inflammatory response after allograft corneal transplantation and therefore extend the survival time of graft in rats.

[Key words] Toll-like receptor 2; Antibodies, monoclonal/administration & dosage; Keratoplasty, penetrating/pathology; Graft rejection/pathology; Graft survival /drug effects; Disease models, animal

由于角膜组织具有不含血管和淋巴管及存在前房相关免疫偏离的特点,角膜处于相对免疫赦免状态,使得角膜移植的成功率高于其他组织器官移植。尽管如此,角膜移植排斥仍是导致角膜移植失败的主要原因^[1]。角膜移植术后免疫排斥反应是一个多因素参与、极其复杂的过程^[2]。供体植片移植后随着抗原的递呈,激活 CD4⁺ T 细胞,促使辅助性 T 细胞 1 分化,分泌白细胞介素-2、 γ 干扰素和肿瘤坏死因子- α 等,介导破坏性的迟发性超敏反应,在角膜移植排斥反应中起主导作用^[3-4]。最新研究表明,先天免疫系统在角膜移植排斥反应中也起着重要作用^[5]。Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是连接天然免疫与获得性免疫的桥梁,其中 TLR2 是目前已克隆的人类 TLRs 家族中表达范围最广、识别病原微生物及其产物种类最多的分子。近年来,TLR2 在移植免疫相关疾病中的作用越来越受到关注,阻断 TLR2 对心脏和肾脏移植物的保护作用已有研究报道^[6-7]。我们前期的研究也表明,TLR2 单克隆抗体能降低角膜移植术后植片中 TLR2 及其下游信号分子髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88) 的表达,认为 TLR2/MyD88 信号系统参与了角膜移植排斥反应^[8],但 TLR2 单克隆抗体能否延长角膜移植排斥反应后植片的存活时间尚不清楚。本研究中建立同种异体角膜移植大鼠模型,并利用 TLR2 单克隆抗体进行干预,观察角膜植片排斥反应的发生和发展,探讨 TLR2 单克隆抗体对角膜移植排斥反应的影响,为临床防治角膜移植排斥提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级雌性 Wistar 大鼠 24 只,SPF 级 SD 大鼠 12 只,体质量均为 180 ~ 220 g。实验动物均由南方医科大学实验动物中心提供及饲养。本研究经南方医科大学伦理委员会批准,实验动物的使用和喂养遵循美国 ARVO 声明。

1.1.2 主要试剂 质量分数 3% 戊巴比妥钠注射液 (南方医科大学南方医院实验动物中心配制);复方托吡卡胺滴眼液 (日本参天制药株式会社);TLR2 单克隆抗体 (美国 BioLegend 公司);质量分数 0.9% 氯化钠注射液 (山东鲁抗辰欣药业有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验的分组处理及动物模型的建立 采用随机数字表法将 Wistar 大鼠分为单纯模型组和 TLR2 单克隆抗体组,每组 12 只眼。由同一实验操作人员以 SD 大鼠双眼角膜作为供体,Wistar 大鼠的右眼作为受体,行穿透角膜移植术,建立同种异体角膜移植模型。用 3% 戊巴比妥钠行大鼠腹腔内注射进行全身麻醉。以复方托吡卡胺滴眼液点眼 2 ~ 3 次以充分扩瞳,盐酸丁卡因滴眼液点眼行表面麻醉,生理盐水冲洗结膜囊,常规消毒铺巾。采用直径 3.5 mm 环钻钻出 SD 大鼠角膜植片印痕,以无菌注射器针头穿刺角膜植片,前房注入少许透明质酸钠凝胶形成前房,用维纳斯手术剪沿植片印迹剪下植片,浸于无菌生理盐水的细胞培养皿中待用。同法在 Wistar 大鼠右眼制作直径为 3.0 mm 的植床,将供体角膜植片植入受体植床,以 10-0 缝线间断缝合 8 ~ 10 针。术毕前房内注入无菌空气形成前房,结膜囊内涂氧氟沙星眼膏,缝合眼睑。术后用氧氟沙星滴眼液点眼,每日 3 次,每次 0.1 ml。造模后 TLR2 单克隆抗体组给予 TLR2 单克隆抗体 15 μ g/30 μ l,单纯模型组给予 30 μ l 生理盐水,分别于术后第 0、2、

4、6、8 天结膜下注射给药,共 5 次。术后 24 h 剪开眼睑缝线,不拆除角膜缝线。

1.2.2 角膜排斥反应的观察 造模后第 1 天起每日行裂隙灯显微镜观察,记录术眼排斥反应指数(rejection index, RI),包括角膜透明度、水肿程度、新生血管分布以及角膜排斥反应发生时间,参照 Holland 等^[9]的评分标准对角膜炎症反应进行评分,评价标准包括混浊、水肿和新生血管,3 个指标之和 ≥ 5 分,或者植片混浊一项达到 3 分时,即认为发生免疫排斥反应。造模后 5 d 内因手术操作等因素发生前房出血、前房消失及术后植片感染导致手术失败者 5 只眼,剔除后及时补充相应数量的实验动物。每组 6 只大鼠用于生存分析观察。

1.2.3 角膜植片的组织病理学检查 分别于术后第 9 天和第 15 天每组任意处死 3 只大鼠,摘取眼球,用质量分数 4% 多聚甲醛液固定、脱水、石蜡包埋,5 μm 厚连续切片,行苏木精-伊红染色,光学显微镜下观察角膜组织的炎症情况及植片的形态学变化。另取 3 只正常 Wistar 大鼠眼球作为正常对照。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件(美国 IBM 公司)进行统计分析。本研究中角膜炎症评分的数据资料经 K-S 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用完全随机分组两水平实验设计,单纯模型组和 TLR2 单克隆抗体组大鼠在造模后不同时间点角膜 RI 评分的差异比较采用重复测量两因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验。2 个组大鼠角膜植片的存活时间以中位数(*M*)进行表达,采用 Kaplan-Meier 生存分析法评估植片的存活时间,绘制植片累积生存曲线,分别计算植片存活时间的 95% 可信区间(confidence interval, CI),采用 Wilcoxon 秩检验比较 2 个组大鼠植片生存曲线的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模后角膜炎症表现

术后 1~4 d,裂隙灯显微镜下单纯模型组角膜均轻度水肿,但植片透明,1 只眼植床开始出现新生血管。术后 5~8 d,单纯模型组大鼠植片中度水肿,基质层增厚,但仍可见虹膜血管,植床可见不同程度的新生血管,其中 2 只眼植片内开始出现新生血管;TLR2 单克隆抗体组角膜轻度水肿,植片透明,植床有大量新生血管长入。术后 9~14 d,单纯模型组大鼠角膜植片布满新生血管,可见植片水肿和混浊较重,虹膜血管窥不清;TLR2 单克隆抗体组大鼠植片上角膜新生血管长

入,但植片透明,瞳孔清晰可见。术后 15 d,TLR2 单克隆抗体组新生血管继续生长,植片开始混浊(图 1)。单纯模型组术后 5、9 和 15 d 大鼠角膜植片平均 RI 评分均明显高于 TLR2 单克隆抗体组,差异均有统计学意义($t = 4.183, 4.954, 13.506$, 均 $P < 0.05$)。单纯模型组和 TLR2 单克隆抗体组术后 9 d 和 15 d 大鼠角膜植片平均 RI 评分均明显高于术后 5 d,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 1)。大鼠植片排斥反应时间分别为 9.5、10、9、8.5、10 和 11 d,而 TLR2 单克隆抗体组分别为 15.5、15、15、17、15.5 和 16 d, Kaplan-Meier 法生存分析显示,单纯模型组大鼠角膜植片存活时间为 9.5 d,95% CI 为 8.7~10.3;TLR2 单克隆抗体组为 15.5 d,95% CI 为 14.9~16.1。TLR2 单克隆抗体组角膜植片的存活时间较单纯模型组明显延长,差异有统计学意义($Z = 12.728, P = 0.001$)(图 2)。

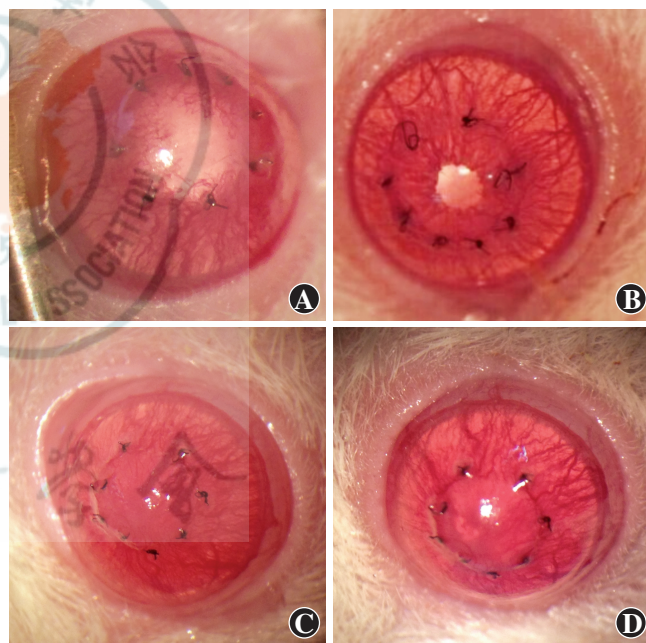


图 1 术后不同时间点各组大鼠角膜植片裂隙灯显微镜下表现 A: 术后 9 d 单纯模型组角膜植片中度水肿 B: 术后 9 d TLR2 单克隆抗体组角膜植片透明 C: 术后 15 d 单纯模型组角膜植片水肿、混浊 D: 术后 15 d TLR2 单克隆抗体组角膜轻度水肿

表 1 各组大鼠术后不同时间点角膜植片 RI 评分($\bar{x} \pm s$)

组别	术后不同时间 RI 评分		
	5 d (n=12)	9 d (n=6)	15 d (n=6)
单纯模型组	3.50 \pm 0.48	5.25 \pm 0.52 ^{ab}	8.92 \pm 0.58 ^{ab}
TLR2 单克隆抗体组	2.33 \pm 0.52	3.75 \pm 0.52 ^b	5.08 \pm 0.38 ^b

注: $F_{\text{分组}} = 169.000, P < 0.01; F_{\text{时间}} = 203.444, P < 0.01; F_{\text{交互作用}} = 25.333, P < 0.01$ 。与各自时间点 TLR2 单克隆抗体组比较,^a $P < 0.05$;与各自组内术后 5 d 值比较,^b $P < 0.05$ (重复测量两因素方差分析, LSD-*t* 检验) RI: 排斥反应指数; TLR: Toll 样受体

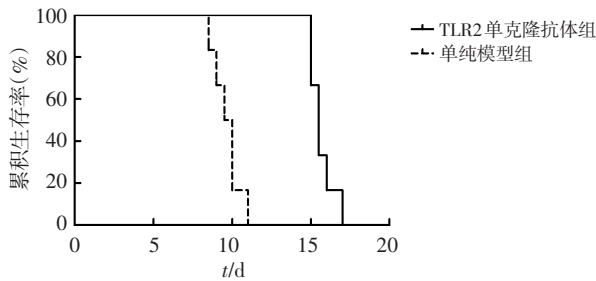


图2 各组大鼠角膜植片生存曲线 单纯模型组大鼠角膜植片存活时间为9.5 d, 95% CI 为8.7~10.3; TLR2 单克隆抗体组为15.5 d, 95% CI 为14.9~16.1 TLR: Toll 样受体

2.2 各组角膜植片的组织病理学表现

正常角膜组织分为5层,各层结构清晰,角膜基质层胶原疏松、排列整齐,无炎性细胞浸润(图3A)。术后9 d,单纯模型大鼠角膜植片不同程度水肿、增厚,角膜基质层结构紊乱,可见新生血管管腔,有大量炎性细胞浸润(图3B); TLR2 单克隆抗体组角膜各层结构尚清晰,角膜基质层中仅有少量炎性细胞浸润(图3C)。术后15 d,单纯模型组角膜植片明显水肿、增厚,角膜基质层结构不清,可见大量新生血管管腔及大量炎性细胞浸润(图3D); TLR2 单克隆抗体组角膜各层结构尚清晰,角膜基质层中仅可见少量炎性细胞浸润(图3E)。

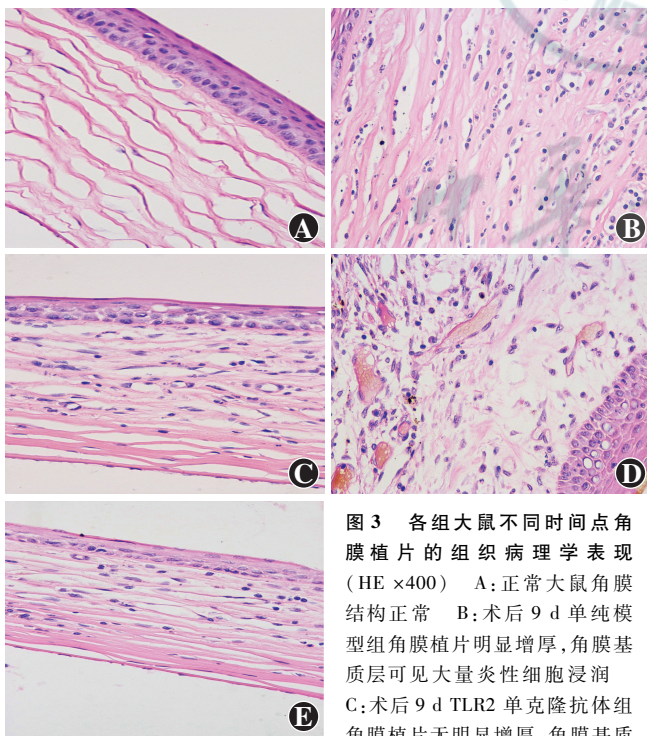


图3 各组大鼠不同时间点角膜植片的组织病理学表现(HE ×400) A: 正常大鼠角膜结构正常 B: 术后9 d 单纯模型组角膜植片明显增厚,角膜基质层可见大量炎性细胞浸润 C: 术后9 d TLR2 单克隆抗体组角膜植片无明显增厚,角膜基质层可见少量炎性细胞浸润 D: 术后15 d 单纯模型组角膜植片异常增厚,角膜基质层结构不清,其间可见大量炎性细胞浸润和新生血管管腔形成 E: 术后15 d TLR2 单克隆抗体组角膜基质层仅见少量炎性细胞浸润

层可见少量炎性细胞浸润 D: 术后15 d 单纯模型组角膜植片异常增厚,角膜基质层结构不清,其间可见大量炎性细胞浸润和新生血管管腔形成 E: 术后15 d TLR2 单克隆抗体组角膜基质层仅见少量炎性细胞浸润

3 讨论

TLRs 是连接天然免疫与获得性免疫的桥梁。Goldstein^[10]研究发现,排斥反应依赖于 TLRs 介导的 MyD88 信号传导过程, MyD88 信号在移植排斥反应中对树状突细胞(dendritic cells, DCs)的成熟、CD8⁺ 同种免疫的启动和随之发生的 Th1 依赖的同种免疫中发挥重要作用。TLRs 参与器官移植排斥的机制可能是 DCs 或受损细胞产生的内源性配体激活 TLRs, 通过 MyD88 信号传导通路激活前炎性细胞因子的分泌, 进一步促使 DCs 成熟并表达共刺激分子和细胞因子, 从而激活 T 细胞, 最终使角膜作为免疫赦免区的优势消失, 介导移植排斥反应^[11]。

研究证实, TLR2 信号通路能对器官移植排斥反应起调控作用。OPN305 是一种人源化的抗 TLR2 单克隆抗体, 能够阻断 TLR2/1 和 TLR2/6 介导的信号传导, 减少 TLR2 介导的促炎细胞因子的产生, 被认定为孤儿药, 其预防与器官移植和相位相关的缺血-再灌注损伤的 I 期临床试验已启动, 目前已获取了健康成人受试者静脉注射 OPN305 后的安全性、耐受性、药物动力学和药效学研究数据, 并取得预期效果^[12-13]。Wang 等^[14]研究表明, TLR2 (-/-) 的小鼠移植肾的功能提高了 65%, 移植的肾脏组织中 T 细胞、DCs 和巨噬细胞减少了 45%。Goldstein 等^[15]的皮肤移植模型研究表明, 与同窝出生的野生型小鼠相比, TLR2 (-/-) 小鼠的移植存活时间显著延长。我们前期在大鼠穿透角膜移植排斥反应实验中观察到, 使用妥布霉素地塞米松滴眼液治疗后, 角膜组织中 TLR2 mRNA 的表达明显降低, 糖皮质激素可能通过抑制角膜 TLR2 的表达及其介导的信号转导来抑制排斥反应, 使得角膜植片炎症反应减轻, 延缓排斥反应的发生^[16]。为进一步论证 TLR2 在角膜移植排斥反应中的重要作用, 本研究中采用球结膜下注射 TLR2 单克隆抗体的方法, 观察同种异体大鼠角膜移植术后角膜植片的存活情况及排斥反应的发生和发展。

本研究结果显示, 单纯模型组角膜植片的平均存活时间为 9.5 d, 与 Goldstein 等^[15] 以及我们的前期研究^[16] 结果一致, 表明本研究中所建立的模型稳定可靠, 具有可重复性; 而 TLR2 单克隆抗体组角膜植片平均存活时间为 15.5 d, 较单纯模型组明显延长。这一结果也从组织病理学检查中得到了证实, 本研究中 2 个组角膜植片均有不同程度的炎症改变, 这可能是因为 TLR2 识别内源性配体而引发了创伤性炎症; 在术后 9 d 和 15 d, 与正常大鼠和 TLR2 单克隆抗体组大鼠

比较,单纯模型组大鼠角膜植片水肿更严重,基质层结构紊乱、新生血管管腔增多及炎性细胞浸润均更明显,我们推测可能与应用 TLR2 单克隆抗体后,其特异性地与配体结合,阻断 MyD88 的信号传递有关^[8]。这一结果提示我们,通过阻断 TLR2 及其信号传导通路可以延缓角膜排斥反应的发生和发展。结合我们前期的研究结果,认为 TLR2 参与了角膜移植免疫排斥反应,这为角膜移植免疫排斥反应启动前通过抗体阻断、病毒转染、基因敲除等方法进行干预提供了可能,为临床防治角膜移植排斥反应提供了新的靶点。

参考文献

- [1] Waldock A, Cook SD. Corneal transplantation: how successful are we? [J]. Br J Ophthalmol, 2000, 84(8): 813-815. doi: 10.1136/bjo.84.8.813.
- [2] Ayliffe W, Alam Y, Bell EB, et al. Prolongation of rat corneal graft survival by treatment with anti-CD4 monoclonal antibody [J]. Br J Ophthalmol, 1992, 76(10): 602-606.
- [3] 宋静, 黄一飞. 同种异体角膜移植后角膜内皮细胞的特征表现及生物学意义[J]. 中华眼科杂志, 2011, 47(3): 281-284. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2011.03.022.
- [4] Amirzargar A, Lessanpezheshki M, Fathi A, et al. TH1/TH2 cytokine analysis in Iranian renal transplant recipients [J]. Transplant Proc, 2005, 37(7): 2985-2987.
- [5] Bai L, Lu XH, Sun FY, et al. Blockade of toll-like receptor 2 expression and membrane translocation in rat corneal epithelial cells by glucocorticoid (TobraDex) after penetrating keratoplasty [J]. Cornea, 2011, 30(11): 1253-1259. doi: 10.1097/ICO.0b013e318213f389.
- [6] Arslan F, Smeets MB, O'Neill LA, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury is mediated by leukocytic toll-like receptor-2 and reduced by systemic administration of a novel anti-toll-like receptor-2 antibody [J]. Circulation, 2010, 121(1): 80-90. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.880187.
- [7] Leemans JC, Stokman G, Claessen N, et al. Renal-associated TLR2 mediates ischemia/reperfusion injury in the kidney [J]. J Clin Invest, 2005, 115(10): 2894-2903. doi: 10.1172/JCI22832.
- [8] 郑艳华, 白浪, 梁伟怡, 等. TLR2/MyD88 信号系统在大鼠角膜移植术后排斥反应中的作用 [J]. 眼科新进展, 2015, 35(6): 506-510. doi: 10.13389/j.cnki.rao.2015.0000.
- [9] Holland EJ, Chan CC, Wetzig RP, et al. Clinical and immunohistologic studies of corneal rejection in the rat penetrating keratoplasty model [J]. Cornea, 1991, 10(5): 374-380.
- [10] Goldstein DR. Toll like receptors and acute allograft rejection [J]. Transpl Immunol, 2006, 17(1): 11-15. doi: 10.1016/j.trim.2006.09.012.
- [11] 陈辉星, 尹路, 彭承宏. Toll-样受体在器官移植免疫中的作用 [J]. 国际外科学杂志, 2006, 33(1): 41-43. doi: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2006.01.013.
- [12] 钟静静, 万岩岩, 刁昱文, 等. Toll 样受体靶向药物的研究进展 [J]. 生命科学, 2015, 27(4): 439-444. doi: 10.13376/j.cbls/2015057.
- [13] Reilly M, Miller RM, Thomson MH, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating phase I, healthy subjects study of intravenous OPN-305, a humanized anti-TLR2 antibody [J]. Clin Pharmacol Ther, 2013, 94(5): 593-600. doi: 10.1038/clpt.
- [14] Wang S, Schmaderer C, Kiss E, et al. Recipient Toll-like receptors contribute to chronic graft dysfunction by both MyD88- and TRIF-dependent signaling [J]. Dis Model Mech, 2010, 3(1-2): 92-103. doi: 10.1242/dmm.003533.
- [15] Goldstein DR, Tesar BM, Akira S, et al. Critical role of the Toll-like receptor signal adaptor protein MyD88 in acute allograft rejection [J]. J Clin Invest, 2003, 111(10): 1571-1578. doi: 10.1172/JCI200317573.
- [16] 白浪, 陆晓和, 钟彦彦, 等. 糖皮质激素对角膜移植术后大鼠角膜 TLR2 表达的影响 [J]. 眼科研究, 2009(11): 1011-1014. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2009.11.014.

(收稿日期: 2015-04-14)

(本文编辑: 尹卫靖)

本刊对论文中统计学方法描述的要求

读者·作者·编者

本刊投稿论文中如有量化测试指标时须有统计学处理的内容, 并在方法部分提供统计学方法的描述。实验中反应变量为单变量时, 请提供测量指标数据资料的性质(如定量数据资料及定性数据资料的表达方式)、样本均数正态分布检验的名称及方差齐性检验的名称、实验设计方法及与之相匹配的统计学设计方法(如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等)、与统计学设计相应的统计方法名称(如配对 t 检验、独立样本 t 检验, 重复测试的方差分析等)以及检验标准。选择方差分析统计学设计时, 应根据单因素或多因素设计选择正确的方法, 不宜简单套用单因素方差分析。经正态分布检验或方差齐性检验不能满足条件的数据资料应采用非参数检验。定性数据资料应根据与实验设计相匹配的统计学方法, 不宜简单套用 χ^2 检验。实验中反应变量为双变量时, 应根据实验设计正确选择简单直线相关分析、回归分析或其他, 不宜简单套用直线相关分析。统计学的检验标准请提供为双侧性检验或单侧性检验。论文结果部分的统计学处理内容可用相应的图表表达。

统计学符号的著录执行 GB 3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定, 统计学量值符号一律采用斜体, 如样本的算术平均数用英文小写 $\bar{x} \pm s$ (中位数仍用 M); 标准差用英文小写 s ; 标准误用英文小写 s_x ; t 检验用英文小写 t ; F 检验用英文大写 F ; 卡方检验用希文小写 χ^2 ; 相关系数用英文小写 r ; 确定系数用 R^2 , 自由度用希文小写 ν ; 概率用英文大写 P 。

统计结果的解释和表达采用对比组或比较对象之间的差异有统计学意义的描述方法, 而不用对比组之间的差异具有显著性(或极显著性)的描述。论文结果部分需提供统计学量值和相应的概率值(如: $t = -5.88, P = 0.00; \chi^2 = 4.38, P < 0.05; F = 0.39, P = 0.37; q = 10.69, P < 0.01$ 等), 如不能提供统计学量值时, 概率值应用原值而不用不等式的形式。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, 请给出 95% 可信区间。

(本刊编辑部)