

• 综述 •

Duffy 血型抗原的 G-蛋白偶联受体作用

张志琴¹ 李树中^{1△} 李中华² 张黎雯¹

[关键词] Duffy 抗原;G 蛋白偶联受体;趋化因子;免疫机制;疟原虫受体;HIV 病毒受体

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.02.025

[中图分类号] R457.1 [文献标志码] A

Role of G-protein coupled receptor in duffy blood group antigen

Summary Duffy antigen is involved in G protein-coupled receptor function in the form of chemokine receptors. The Fuff3 antigen of the Duffy system is expressed on the extracellular loop 3 which is a G protein-coupled receptor binding site. The G protein-coupled receptor of Duffy antigen is an important component of red blood cell immunity and is involved in various human immune functions, such as the invasion of red blood cells by Plasmodium, the proliferation of tumor cells, and the helper receptor for HIV virus to enter the cell.

Key words Duffy antigen; G protein-coupled receptor; chemokine; immune mechanism; plasmodium receptor; HIV viral receptor

Duffy 抗原是红细胞膜表面抗原,属于红细胞系统抗原。抗原表达在 Fy 糖蛋白的膜外环上。

G 蛋白偶联受体,是指 G 蛋白的受体作用。表达 Duffy 抗原的 Fy 糖蛋白就是一种 G 蛋白,具有结合配体的作用。

有关 Duffy 抗原的论述,国内已有张志琴等^[1]作过详细的报道,本文在此不作更多论述。本文只对 Duffy 抗原的 G 蛋白的偶联受体作用,以及 G 蛋白偶联受体与红细胞血型抗原之间的关联性,在此作一研究探讨^[1]。

1 Duffy 抗原

Duffy 抗原是 cutbush 在 1950 年发现的,抗原名取自先证者 Duffy 女士名。

2010 年,国际输血协会(ISBT)确认和命名了 Duffy 抗原属于“系统”抗原,抗原命名为“Fy”。确认这个系统有 5 个抗原。抗原的基因位点在 1 号染色体长臂,1q22-23。基因名为“DARC”,基因由 2 个外显子组成。基因产物是“Fy 糖蛋白”(GP-FY),Fy 糖蛋白由 336 个氨基酸组成,糖蛋白肽链 7 次穿过红细胞膜,肽链的 N-端在膜外,C 端在膜内,是Ⅲ型的 α 螺旋状肽链。Duffy 抗原大多表达在膜外 N 端肽链,只有 Fy3 表达在膜外第 3 环上。

1991 年 Daybomme 等发现了 Duffy 抗原糖蛋白是“趋化因子受体”(DARC),是红细胞免疫的重要组成部分。而 DARC 是 G-蛋白家族成员,也具有 G 蛋白的偶联受体作用。Duffy 抗原的 7 次跨膜结构,以及各个抗原的表位见图 1。只有 Fy3 抗

原表达在膜外第 3 环上,其他 Fy 抗原都表达在 N 端膜外段上^[2-6]。

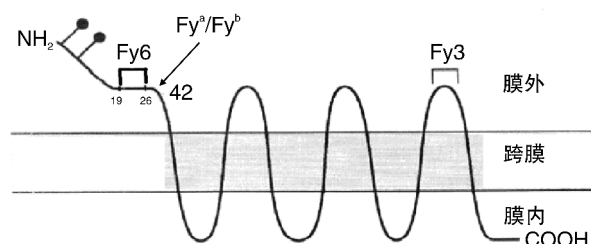


图 1 Duffy 抗原

2 G 蛋白偶联受体

2012 年,诺贝尔化学奖授予 2 位美国科学家 Robert. Lefkowitz 和 Brian Kobilka。他们研究的项目就是“G-蛋白偶联受体”。

2007 年,美国斯坦福大学的 Brian Kobilka 教授,用 T4 溶菌酶法,分析了非视紫红素 GPCR-人 β2 肾上腺素受体。之后,人们利用 X 射线晶体成像技术,对配体 β2 肾上腺素和受体 G 蛋白结合物进行了三维构像结构图照像,发现了 G 蛋白的 3 个亚单位,和 G 蛋白的偶联激活作用。

研究 G 蛋白的偶联受体作用,最大的成果就是 G 蛋白偶联受体相关药物的研发。尤其在抗肿瘤药物研究中,有重要进步。在目前的新药中,至少有 1/3 是 GPCR 的激动剂或抑制剂,比如抗充血性心力衰竭的 Coreg、抗高血压的 Cozaar、抗乳腺癌的 Zoladex 等,都是因 G 蛋白研究成果的后续研究结果。

2.1 G 蛋白

是指三聚体 GTP 结合调节蛋白(GTP binding

¹ 江苏大学附属昆山一院(江苏昆山,215300)² 黑龙江省牡丹江市第二人民医院

△ 审校者

通信作者:李树中,E-mail:kssyylsz@sina.cn

protein),也称鸟苷酸结合调节蛋白。在结构上都有 7 次跨在膜外留有 3 个环,在膜内留有 3 个环,其肽链的 N 端在膜外,C 端在膜内,是Ⅲ型 α 螺旋肽链。

在肽链的第 5、6 跨膜段上,有鸟苷酸结合蛋白点(即 G 蛋白)。在膜外第 3 环上,有信号结合位点。所以,G 蛋白也称鸟苷结合蛋白。

在 36 个血型系统抗原中,有许多抗原是跨膜糖蛋白肽链抗原,但只有 Duffy 抗原才具 7 次跨膜和 G 蛋白偶联受体功能。

2.2 G 蛋白偶联受体

G 蛋白偶联受体(G-protein-coupled Receptors, GPCRS),是指 G 蛋白的功能。G 蛋白具有结合配体的作用,是许多小分子的糖类、多肽、脂类等配体的受体。

G 蛋白,通过偶联作用,与配体结合。配体本身只起到触发作用,不与受体发生化学反应。而受体 G 蛋白则发生化学反应,本身解离出信号传导物质,信号传导物质激活效应蛋白,效应蛋白参与蛋白合成。

这种偶联作用不同于酶作用,也不同于膜转运蛋白功能。许多红细胞抗原都有转运蛋白作用,参与膜内外的物质转运;也有的红细胞抗原具有酶活性,或者灭酶活性。只有 Duffy 抗原是以偶联方式参与人体生理生化代谢和免疫功用。

GPCRS 是体内最大的受体超家族,主要作用是参与体内的生理、生化、病理调节作用。是人类重要的免疫机制之一。

红细胞 Duffy 系统的 Fy3 抗原,就是膜上 G 蛋白偶联受体的结合位点,此位点结合配体后,被激活,并由此激活一系列的细胞信号传导,见图 2。

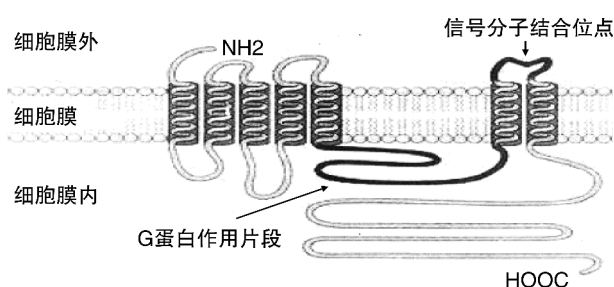


图2 G 蛋白偶联受体结合位点

G 蛋白偶联受体大致可分为 6 类:A 类(或称第 1 类)是视紫红质受体;B 类(或称第 2 类),是分泌素受体家族;C 类(或称第 3 类)是代谢型谷氨酸受体;D 类(或称第 4 类)是真菌交配信息素受体;E 类(或称第 5 类)是环磷苷酸受体;F 类(或称第 6 类)是 Frizzled/Smoothed 受体。根据人类基因组的研究结果,预测 G 蛋白大约有近千个基因。

在目前已经由国际输血协会(ISBT)确认的 36 个红细胞系统抗原中,有 21 系统抗原具有膜分化抗原(CD)编号。其中糖链抗原 7 个,连接在糖基磷脂酰肌醇(GPI)上的有 5 个。其余的 24 个系统抗原都是穿膜结构抗原。在这 24 个系统抗原中,只有 RH 抗原属于磷脂脂蛋白抗原,其余的 23 个都是糖蛋白抗原。人类红细胞膜抗原,是人类生化代谢的重要参与者,是人类免疫机制组成之一。在目前的 36 个红细胞血型系统抗原中,只有 Duffy 抗原具有 G 蛋白偶联受体作用^[7-12]。

3 G 蛋白偶联受体与配体

G 蛋白偶联受体只见于真核细胞中。其配体可以是糖类小分子,也可以是脂类、多肽类大分子。有膜抗原、趋化因子、激素等,也有气味、视紫红质(感光细胞中)。G 蛋白偶联受体与配体结合后被激活,参与细胞内外的信号传递。传递信号的通道有多种。G 蛋白偶联受体结合位点,在结合于配体后,构像发生改变,表达出鸟苷酸交换因子(GEF)特性,使 G 蛋白上与 GTP 结合的 α 亚基变为激活态,见图 3。

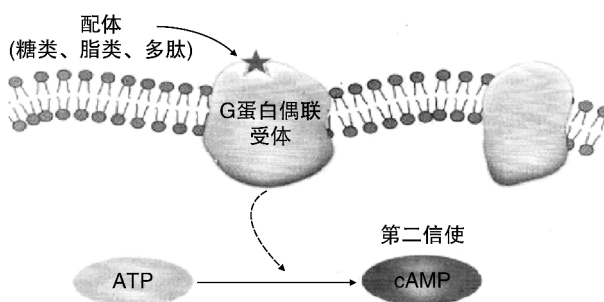


图3 G 蛋白偶联受体与配体

G 蛋白由 3 个亚单位组成三聚体,静止时与 GDP 结合。当与配体结合后被激活时,GDP- $\alpha\beta\gamma$ 复合物在 Mg^{2+} 的参与下,与膜内的 GTP 交换,转化为 GDP- $\alpha\beta\gamma$,并使 GDP- α 与 GDP- $\beta\gamma$ 分离,同时激活效应蛋白,并且配体-受体分离。促使 GTP 水解为 GDP,即 $GDP-\alpha\beta\gamma \rightarrow GTP-\alpha\beta\gamma \rightarrow GTP-\alpha + GTP-\beta\gamma \rightarrow GDP-\beta\gamma + GDP-\alpha \rightarrow GDP-\alpha\beta\gamma$ 。最终还原为 GDP- $\alpha\beta\gamma$ 三聚体。

G 蛋白被配体激活后,配体本身不参与信号传递,只是起到激活作用。G 蛋白三聚体被激活后,分离为 GTP- α 和 GTP- $\beta\gamma$,同时传递信号。激活效应蛋白后,还原为 GDP- $\alpha\beta\gamma$ 三聚体静止状态。结合了配体被活化的 G 蛋白,在三维结构上发生改变,主要是第 5、第 6 跨膜部分的肽链会向膜外移动,使膜外第 3 环扩大,膜外第 3 环的三维构像进一步扭曲,形成一定的特殊结构改变。G 蛋白被活化后,其第 5、第 6、膜外第 3 环的 α 螺旋肽链拉长,

不仅使膜外第 3 环扩大,也使肽链 C 端的膜内段拉长。G 蛋白偶联受体被激活后,具有“酶”的性质,可活化效应蛋白,使无活性的效应蛋白,变为有活性的蛋白激酶 A,蛋白激酶 A 在细胞内调控活化基因调控蛋白,并通过磷酸化作用,参与 DNA-RNA→蛋白肽链的合成,见图 4。

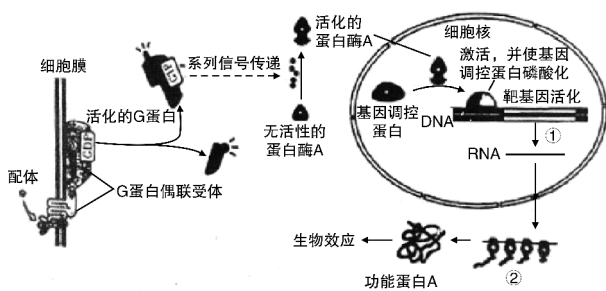


图 4 G 蛋白被活化后的作用

G 蛋白偶联受体不仅表达在红细胞膜上,还广泛表达在许多细胞膜上。表达在红细胞膜上的 G 蛋白,以 Duffy 抗原的趋化因子受体参与红细胞免疫机制。此外,G 蛋白还广泛参与人体生理生化代谢和免疫反应。

3.1 嗅觉

表达在鼻腔内嗅上皮细胞上的 G 蛋白,以偶联受体的功能,能结合许多的配体,如费洛蒙。这些嗅觉受体,可以感知配体分子,感知气味。

3.2 行为和情绪调节

表达在大脑细胞上的 G 蛋白偶联受体,是神经、行为、情绪等配体的受体,如血清素、多巴胺、 γ -氨基丁酸、谷氨酸等配体。

3.3 免疫调节

表达在许多组织细胞、红细胞上的 G 蛋白偶联受体,参与炎症、过敏反应的组织胺释放,这类 G 蛋白被为趋化因子受体。在红细胞 Duffy 抗炎缺失表型的 Fy(a-b-)、和 Fy3(-)时,趋化因子受体类 G 蛋白缺失,使配体间日疟原虫失去结合受体,则无法进入红细胞,从而不会被疟原虫感染。

3.4 自主神经系统调节

交感神经、副交感神经的传导都有 G 蛋白的参与,这些神经传导控制着血压、心跳、呼吸、消化。

3.5 细胞密度调节

具有脂质激酶活性的 G 蛋白,具有调节细胞密度的作用。这种作用不仅反馈控制造血干细胞。还反馈控制水盐在血循环中的量以调节细胞密度数量。

3.6 维持稳定调节

G 蛋白作为人体重要的信号传导受体,广泛分布在人体许多组织和血细胞膜上,是细胞运动、生

长、基因转录的重要调控者,不仅是人体生理生化、免疫控制的主要参与者,也是肿瘤生产的调控者,在卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等高表达有 G 蛋白^[13-16]。

4 Duffy 抗原的 G 蛋白受体作用

4.1 Duffy 抗原以趋化因子受体(DARC)的形式,发挥 G 蛋白作用

趋化因子是一类能够趋化细胞定向移动的小分子分泌蛋白。大多由 70~100 个氨基酸组成,目前已报告的趋化因子有 40 多种。大致分为 4 个亚基,分类是根据 N 末端的 2 个 C 之间是否有氨基酸插入。①CXC 类,也称 α 类趋化因子,在 C 之间插入了一个氨基酸(如 IL-8)。② CC 类,也称 β 类趋化因子,不插入如 MCP-1。③ CX3C 类,在 C 之间插入了 3 个氨基酸,如 Fractalkine。④ C 类,其 N 端仅有 1 个 C,如 Lymphotoxin。

趋化因子以 $\alpha\beta 2$ 类为主,作为 G 蛋白配体,与 G 蛋白家族的趋化因子受体结合。趋化因子受体,是 G 蛋白家族成员,大多表达在免疫细胞、内皮细胞、红细胞膜上。趋化因子受体的 G 蛋白偶联受体主要结合配体—趋化因子的位点也是膜外第 3 环上,但需要膜外的 N-末端,则不能结合配体,失去作为趋化因子受体作用。

表达红细胞膜上的 Duffy 抗原/趋化因子受体,在与趋化因子结合的受体—配体结合反应试验中,一个趋化因子受体可结合多个趋化因子配体。

4.2 趋化因子受体的作用

4.2.1 疟原虫受体 Duffy 抗原/趋化因子受体(DARC),是红细胞膜上的多种趋化因子的结合受体,也是间日疟原虫侵入红细胞的受体。间日疟原虫,以 Duffy 抗原作为趋化因子受体。这种配体—受体结合后,启动膜上肌动蛋白,胞膜发生胞饮作用,吞入疟原虫。在不表达 Duffy 抗原的 Fy(a-b-)红细胞,缺少了趋化因子受体(DARC),使疟原虫无法结合受体,也不会启动膜胞饮作用。

4.2.2 HIV 辅助受体 趋化因子受体是 HIV 病毒进入细胞的辅助性受体。HIV 病毒首次以膜上 CD4 为受体,结合后,尚需趋化因子受体 CCR5、CCR4 结合,后者作为 HIV 病毒的辅助进入细胞的受体。HIV 侵入巨噬细胞的辅助受体是趋化因子受体 CCR5(称 M-珠),侵入 T 淋巴细胞辅助受体是趋化因子受体 CCR4(称 T 珠)。由于 HIV 的高变异性,持续感染者还发现 CCR2、CCR3、CXCR2 等都可以作为 HIV 感染细胞的辅助受体。

4.2.3 肿瘤细胞趋化受体 不同的肿瘤细胞,具有不同的趋化因子作用。所启动结合的受体也不相同。趋化因子受体,对肿瘤的发生和发展,有正向和负向两方面的不确定性。一方面,趋化因子受

体通过免疫细胞的细胞,控制或抑制肿瘤的生成或生长。另一方面,某些趋化因子受体,具有促进肿瘤细胞增生、繁殖的作用^[17-25]。

5 结束语

G 蛋白偶联受体,是人体重要的生理生化代谢物质,也是人体免疫机制的重要组成部分。

本文主要探讨了 Duffy 抗原以趋化因子受体(DARC)形式,发挥其 G 蛋白偶联受体功能,和作为疟原虫入侵红细胞的受体作用。

近年来,对红细胞抗原的深入研究,陆续发现了许多红细胞抗原的生理作用和参与免疫机制的功能,尤其是 2010 年之后发现的、新的红细胞血型系统抗原,如: FORS 抗原、JR 抗原、LAN 抗原、VEL 抗原、CD59 抗原、AUG 抗原等,不仅是重要的输血免疫抗原,还都是重要的红细胞 CD 和转运蛋白,在人体代谢化学和红细胞免疫中起重要作用^[26-34]。

随着今后不断的深度研究,会有更多的红细胞抗原生理机制被发现,也会有更多的红细胞抗原新功能被认知和了解。

参考文献

- [1] 张志琴,李树中. Duffy 抗原的研究进展[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(4): 327—333.
- [2] Kessler A, Dankwa S, Bernabeu M, et al. Linking EPCR-Binding PfEMP1 to Brain Swelling in Pediatric Cerebral Malaria[J]. Cell Host Microbe, 2017, 22: 601—614.
- [3] Mahamar A, Attaher O, Swihart B, et al. Host factors that modify Plasmodium falciparum adhesion to endothelial receptors[J]. Sci Rep, 2017, 7: 13872.
- [4] Sheppard CA, Bolen NL, Eades B, et al. Red blood cell phenotype prevalence in blood donors who self-identify as Hispanic [J]. Immunohematology, 2017, 33: 119—124.
- [5] da Silva-Malta MCF, Sales CC, Guimarães JC, et al. CC Sales. The Duffy null genotype is associated with a lower level of CCL2, leukocytes and neutrophil count but not with the clinical outcome of HTLV-1 infection [J]. J Med Microbiol, 2017.
- [6] Niangaly A, Karthigayan Gunalan, Amed Ouattara, et al. Plasmodium vivax Infections over 3 Years in Duffy Blood Group Negative Malians in Bandiagara, Mali [J]. Am J Trop Med Hyg, 2017, 97: 744—752.
- [7] Martins ML, da Silva AR, Santos HC, et al. Duffy blood group system: New genotyping method and distribution in a Brazilian extra-Amazonian population [J]. Mol Cell Probes, 2017, 35: 20—26.
- [8] Yamamoto A, Saito N, Ogasawara S, et al. Intracellular Storage of Duffy Antigen-Binding Chemokines by Duffy-Positive Red Blood Cells [J]. Clin Lab, 2017, 63: 717—723.
- [9] Lin GY, Du XL, Shan JJ, et al. MNS, Duffy, and Kell blood groups among the Uygur population of Xinjiang, China [J]. Genet Mol Res, 2017, 16.
- [10] McManus KF, Taravella AM, Henn BM, et al. Population genetic analysis of the DARC locus (Duffy) reveals adaptation from standing variation associated with malaria resistance in humans [J]. PLoS Genetics, 2017, 13: e1006560.
- [11] Höher G, Fiegenbaum M, Almeida S. Molecular basis of the Duffy blood group system [J]. Blood Transfus, 2018, 16: 93—100.
- [12] Kano FS, Souza-Silva FA, Torres LM, et al. The Presence, Persistence and Functional Properties of Plasmodium vivax Duffy Binding Protein II Antibodies Are Influenced by HLA Class II Allelic Variants [J]. Plos Neg Trop Dis, 2016, 10: e0005177.
- [13] Hostetler JB, Lo E, Kanjee U, et al. Independent Origin and Global Distribution of Distinct Plasmodium vivax Duffy Binding Protein Gene Duplications [J]. Plos Neg Trop Dis, 2016, 10: e0005091.
- [14] Then WL, McLiesh H, Aguilar MI, et al. Duffy blood group (Fy^a & Fy^b) analysis using surface plasmon resonance [J]. Biomed Microdevices, 2016, 18: 101.
- [15] Roche B, Rougeron V, Quintana-Murci L, et al. Might Interspecific Interactions between Pathogens Drive Host Evolution? The Case of Plasmodium Species and Duffy-Negativity in Human Populations [J]. Trends Parasitol, 2017, 33: 21—29.
- [16] Cheng Y, Lu F, Wang B, et al. Plasmodium vivax GPI-anchored micronemal antigen (PvGAMA) binds human erythrocytes independent of Duffy antigen status [J]. Sci Rep, 2016, 6: 35581.
- [17] Zacarias JM, Langer IB, Visentainer JE, et al. Profile of Rh, Kell, Duffy, Kidd, and Diego blood group systems among blood donors in the Southwest region of the Paraná state, Southern Brazil [J]. Transfus Apher Sci, 2016, 55: 302—307.
- [18] Ntumngia FB, Thomson-Luque R, Torres Lde M, et al. A Novel Erythrocyte Binding Protein of Plasmodium vivax Suggests an Alternate Invasion Pathway into Duffy-Positive Reticulocytes [J]. Mbio, 2016, 7: e01261—16.
- [19] Costa DC, Schinaider AA, Santos TM, et al. Erratum to "Frequencies of polymorphisms of Rh, Kell, Kidd, Duffy and Diego systems of Santa Catarina, southern Brazil" [Rev Bras Hematol Hemoter] [J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2016, 38: 371—372.
- [20] Ngassa Mbenda HG, Gouado I, Das A. An additional observation of Plasmodium vivax malaria infection in Duffy-negative individuals from Cameroon [J]. J Infect Dev Ctries, 2016, 10: 682—686.
- [21] Gunalan K, Lo E, Hostetler JB, et al. Role of Plasmodium vivax Duffy-binding protein 1 in invasion of Duffy-null Africans [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016,

- 113:6271-6276.
- [22] Abdelraheem MH, Albsheer MM, Mohamed HS, et al. Transmission of Plasmodium vivax in Duffy-negative individuals in central Sudan[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2016, 110:258-260.
- [23] Łukasik E, Waśniowska K. Duffy blood group antigens: structure, serological properties and function [J]. Postępy Hig Med Dosw(Online), 2016, 70:143-161.
- [24] Farawela HM, El-Ghamrawy M, Farhan MS, et al. Association between Duffy antigen receptor expression and disease severity in sickle cell disease patients [J]. Hematology, 2016, 21:474-479.
- [25] Davis MB, Walens A, Hire R, et al. Distinct Transcript Isoforms of the Atypical Chemokine Receptor 1 (ACKR1)/Duffy Antigen Receptor for Chemokines (DARC) Gene Are Expressed in Lymphoblasts and Altered Isoform Levels Are Associated with Genetic Ancestry and the Duffy-Null Allele [J]. PLoS One, 2015, 10:e0140098.
- [26] 李树中, 卞洁, 徐姿, 等. Junier 血型系统 [J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(10):913-915.
- [27] 李凌波, 李树中, 等. 新血型系统 LAN(LAN, 033) 的研究进展 [J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29(5):544-546.
- [28] 方莹, 李树中, 李凌波, 等. forssman 血型系统 [J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(2):171-174.
- [29] 徐姿, 李树中, 卞洁, 等. 红细胞血型抗原的研究进展 [J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(4):345-350.
- [30] 刘芸, 陆敏, 徐姿, 等. 多凝集红细胞研究进展 [J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(6):512-517.
- [31] 倪强, 李树中, 雒晶, 等. Gil 抗原的研究进展 [J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(10):812-814.
- [32] 俞黎娅, 李树中, 雒晶晶. VEL 抗原研究进展 [J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(2):161-163.
- [33] 刘芸, 李树中, 李中华. AUG 血型抗原研究进展 [J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(6):485-490.
- [34] 范春丽, 李树中, 李中华. P1PK 血型抗原研究进展 [J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(8):643-648.

(收稿日期:2018-11-02)

论文中表格的使用规范

表应具有“自明性”,表的内容不可与文字、插图重复。表应随正文,一般先见文字后见表。

表一律用阿拉伯数字依序连续编排序号,统一从 1 开始,只有一个表则应标明“表 1”。文中应按表序排列。

一般采用“三线表”,即除上下表线(正线)外,加排表头横线(反线)。必要的合计应在其上方加一横线(反线)。表应按统计学的制表原则设计,力求结构简洁,主、谓位置合理,主语一般置表的左侧,谓语一般置表的右侧。

每一表应有简短确切的表题,连同表序居中置于表上。

表的各栏应标明标目词,参数栏的标目词一般为量或测试项目及单位符号。如表中所有参数的单位相同,可标注在表的右上方。平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)应标在表的右上方“单位”后。若各栏参数单位不同,则应采用“物理量名称/单位符号形式”[如:BP/mmHg, TC/(mmol·L⁻¹)]标注在各栏标目词后。表格中的计量单位一律使用外文符号,而不用中文名称。表中的量、单位、符号、缩略语等必须与正文一致。

表内小数点后位数要统一。表内不宜用“同上”、“同左”等类似词,一律填入具体数字或文字。表内“-”或“…”(因“-”可能与代表阴性反应相混)代表未测或无此项,“0”代表实测结果为零。

表中不设“备注”栏,如有需说明的事项(例如 *P* 值等),可在表内有关内容的右上角用小号阿拉伯数字并加半圆括号(如¹⁾、²⁾、³⁾)标注(不宜用星号“*”,以免与数学上共轭和物质转移的符号相混),在表下用精练的文字注释。*P* 值应按 $P < 0.05$ 、 $P > 0.01$ 、 $P < 0.01$ 顺序排列,一般情况下 $P > 0.05$ 可不标注。

需要转页的表,应在续表的右上角或左上角注明“续表”。