

• 论 著 •

PCI-24781 抑制上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的研究

黄 晴¹, 汤春辉^{2△}

(1. 南通大学附属吴江医院妇产科, 江苏苏州 215200; 2. 南通大学附属第一医院妇产科, 江苏南通 226000)

摘 要:目的 研究组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACis)PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖、迁移及 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响。方法 采用 xCELLigence RTCA 检测 SKOV-3 细胞的增殖与迁移, 流式细胞仪 DCFH-DA 探针检测细胞内活性氧(ROS)的生成情况, 免疫蛋白印迹法(Western blot)检测 Ac-H3、Ac-H4、 β -catenin、P53 的表达。结果 PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞呈剂量-时间依赖性抑制细胞增殖, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其 48 h 的半数有效抑制水平(IC₅₀)值为 0.193 0 μ mol/L。PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞迁移影响不明显, 各组 Cell Index 差异无统计学意义($P > 0.05$)。PCI-24781 可提高细胞内 ROS 水平($P < 0.05$), 且高水平组的 PCI-24781 提高细胞内 ROS 水平更明显增加。Western blot 检测可见随 PCI-24781 水平升高, β -catenin 表达水平减弱、Ac-H3、Ac-H4、P53 表达水平增强。结论 PCI-24781 可增加细胞内 ROS 水平, 上调组蛋白乙酰化水平, 促进抑癌基因 P53 表达, 抑制经典 Wnt/ β -catenin 信号通路, 从而抑制细胞增殖, 产生抗肿瘤作用。

关键词:组蛋白去乙酰化酶抑制剂; 上皮性卵巢癌; 细胞增殖; 活性氧; Wnt/ β -catenin 信号通路

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.20.035 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)20-3069-04

Inhibition on Wnt/ β -catenin signaling pathway in epithelial ovarian cancer cell line SKOV-3 by PCI-24781

HUANG Qing¹, TANG Chunhui^{2△}

(1. Department of Gynaecology and Obstetrics, Wujiang Hospital Affiliated to Nantong University, Suzhou, Jiangsu 215200, China; 2. Department of Gynaecology and Obstetrics of the First Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226000, China)

Abstract:Objective To study the antitumor effects of Histone deacetylase inhibitors(HDACis)PCI-24781 on the proliferation and migration of epithelial ovarian cancer cell line SKOV-3 and the effects on the expression of wnt/ β -catenin signaling pathway. **Methods** xCELLigence RTCA Multi-function real time non labeled cell analyzer was used to detect the proliferation and migration of SKOV-3 cells, flow cytometry was used to detect the production of intracellular ROS by DCFH-DA probe, Western blot was used to detect the expression of Ac-H3, Ac-H4 and β -catenin, P53. **Results** PCI-24781 could inhibit the proliferation of epithelial ovarian cancer cell line SKOV-3 in a concentration-time dependent manner, the difference was statistically significant($P < 0.05$), the IC₅₀ value of 48h treatment was 0.193 0 μ mol/L. The effect of PCI-24781 on the migration of SKOV-3 cells was not significant, and there was no statistical significance($P > 0.05$) of Cell Index in each group. PCI-24781 could improve the intracellular ROS level ($P < 0.05$), and ROS production increased remarkably in the high concentration PCI-24781 treatment group. Western blot detection showed that with the increase of PCI-24781 concentration, the expression level of β -catenin was decreased, the expression of Ac-H3, Ac-H4 and P53 were enhanced. **Conclusion** PCI-24781 could increase the level of intracellular ROS, increase the level of histone acetylation, up-regulate the expression of tumor suppressor gene P53, inhibit the Wnt/ β -catenin signaling pathway, thereby, inhibit cell proliferation, produce antitumor effects.

Key words: histone deacetylase inhibitor; epithelial ovarian cancer; cell proliferation; reactive oxygen species; Wnt/ β -catenin signaling pathway

上皮性卵巢癌(EOC)的特点是同源重组 DNA 修复的基因成员出现频繁的遗传和表观遗传变异^[1]。表观遗传学的改变包括组蛋白修饰、DNA 甲基化和 microRNA 的表达。其中异常组蛋白尾部修饰在基因调控中的核心作用已引起人们的关注。如乙酰化与肿瘤进展密切相关, 不规则的组蛋白乙酰化模式已被假定是人类癌细胞中沉默的肿瘤抑制基因^[2]。PCI-24781 是美国 Celera Genomics 基因公司开发的一种广谱的组蛋白去乙酰化酶(HDACs)抑制剂(HDACis), 属于苯基异羟肟酸类, 抑制所有的 I 类和 II 类 HDACs 亚型, 低水平下对多种

实体瘤便具有广泛的抗肿瘤活性^[3]。本实验通过多功能实时无标记细胞分析仪(RTCA)检测 PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞抗肿瘤细胞活性的评估, 提供动态实验数据, 讨论其作用机制, 探讨作为表观基因的靶向治疗, 组蛋白修饰类药物用于治疗上皮性卵巢癌的价值。

1 材料与方法

1.1 材料来源 上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞(中科院细胞库上海贮藏中心)细胞培养于 5% CO₂、37 ℃ 恒温培养箱, RPMI 1640 Medium 培养基含 10% 胎牛血清(Gibco)。

1.2 仪器与试剂 主要试剂:10 mg PCI-24781(Selleck 公司生产,货号:S1090)溶于 503 μL 二甲基亚砜(DMSO)(Amresco)配成 50 mmol/L 的储存液,−20 $^{\circ}\text{C}$ 分装冻存。其余试剂:胰酶(碧云天生产),磷酸盐缓冲液(PBS,北京中杉生产),活性氧检测试剂盒(eBioscience 公司生产), β -catenin, Ac-H3、Ac-H4、P53 抗体(Santa Cruze 公司生产),PVDF 膜(Millipore 公司生产)。主要仪器:电热压力蒸汽消毒器(浙江绍兴医疗器械总厂生产),超净工作台(苏州净化设备公司生产), CO_2 培养箱(Sanyo 公司生产),电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂生产),低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂生产),xCELL-Ligence RTCA 多功能实时无标记细胞分析仪、16 孔增殖板、16 孔迁移板(艾森生物公司生产),influx 流式细胞仪及 FACS Software 系统(BD 公司生产),电泳仪及电泳槽(Bio-rad 公司生产),倒置显微镜、照像系统(Olympus 公司生产)。

1.3 方法

1.3.1 细胞增殖实验 16 孔增殖板基线确定接触正常,所有孔 Cell Index 低于 0.063。在各孔中加入 100 μL 混合均匀的 SKOV-3 细胞悬浮液,使每孔细胞数为 5×10^4 mL。放置入培养箱中的 RTCA 工作平台上。18 h 后加入不同水平(0.00、0.25、0.50、0.75、1.00 $\mu\text{mol/L}$)PCI-24781 工作液分别作为对照组、低水平组、中水平组、高水平组,每个水平设 3 个重复组,连续培养至 70 h,15 min 观察 1 次。DP 系统计算不同时间点的半数有效抑制水平(IC_{50})值和 R^2 值。

1.3.2 细胞迁移实验 在 16 孔迁移板上室各孔中加入 100 μL 混合均匀的 SKOV-3 细胞悬浮液,使每孔细胞数为 5×10^4 mL。放置入培养箱中的 RTCA 工作平台上,3 h 后待细胞贴壁后取出,加入不同水平(0.00、0.25、0.50、1.00 $\mu\text{mol/L}$)PCI-24781 工作液,再放置入培养箱中的 RTCA Station 上。每个水平设 3 个重复组,连续培养 65 h,15 min 观察 1 次。

1.3.3 活性氧(ROS)荧光检测 流式细胞术(FCM)通过 DCFH-DA 探针检测不同水平 PCI-24781 对 SKOV-3 细胞内 ROS 水平的影响。取对数生长期的 SKOV-3 细胞,以 5×10^4 mL 接种于 6 孔板培养 18 h,加入不同水平 PCI-24781 工作液处理 48 h,用胰酶消化处理后的细胞(0.25%的胰酶消化 2~3 min),加入培养基终止消化,制成细胞悬液,离心 5 min 收集细胞,用 PBS 洗涤 2 次,离心收集细胞沉淀,每管加入 100 μL ROS 检测染色液,37 $^{\circ}\text{C}$ 培育 60 min 后用于流式细胞仪荧光检测(发射波长为 502 μm ,最大波峰为 530 μm),评估细胞内荧光强度。

1.3.4 蛋白免疫印迹法检测 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白 不同水平 PCI-24781 处理各组细胞 48 h 后,收集细胞 PBS 洗涤 2 次,蛋白质的裂解物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 1 h,1:500 一抗孵育过夜,TBS-T 缓冲液洗膜 3 次,二抗孵育 90 min 后洗膜 3 次,显影定影。

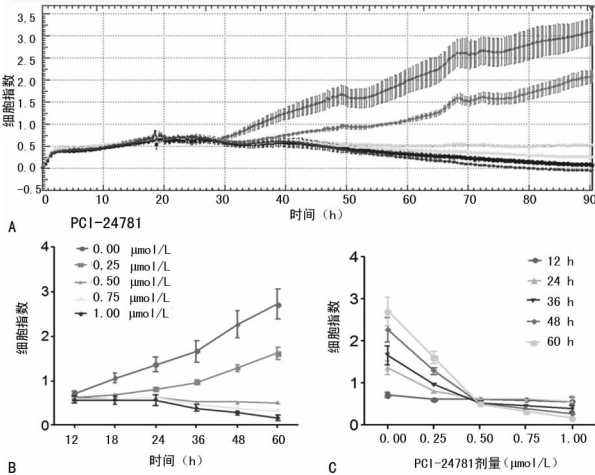
1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 及 GraphPad Prism 5 统计分析软件进行处理,采用重复测量资料的方差及单因素方差分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 ANOVA、LSD 法两两分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖的影响

以不同水平 PCI-24781 在连续时间内处理上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞,xCELLigence RTCA DP 多功能实时无标记细胞分析仪检测结果提示:在此水平范围内可明显抑制细胞增殖,且该作用呈现剂量-时间依赖性关系。各水平剂量组与对照组比较,细胞抑制明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。高水平组抑制作用更为明显,具有时间交互作用。见图 1。RTCA DP 系统计算出各时间点 IC_{50} 及 R^2 ,其中 48 h IC_{50} 值为 0.193 0 $\mu\text{mol/L}$ 。见表 1。

2.2 PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞迁移的影响 以不同水平 PCI-24781 在连续时间内处理 SKOV-3 细胞,xCELLigence RTCA DP 多功能实时无标记细胞分析仪检测结果提示对细胞迁移作用不明显。各水平组与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。



注:A 为 RTCA 多功能实时无标记细胞分析仪检测不同水平 PCI-24781 处理 SKOV-3 细胞(0~90 h)后的增殖抑制情况,曲线从上至下分别对应 0.00、0.25、0.50、0.75、1.00 $\mu\text{mol/L}$ PCI-24781 处理水平组,加药点为 18 h;B、C 为 PCI-24781 对 SKOV-3 细胞抑制增殖曲线

图 1 PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖的影响

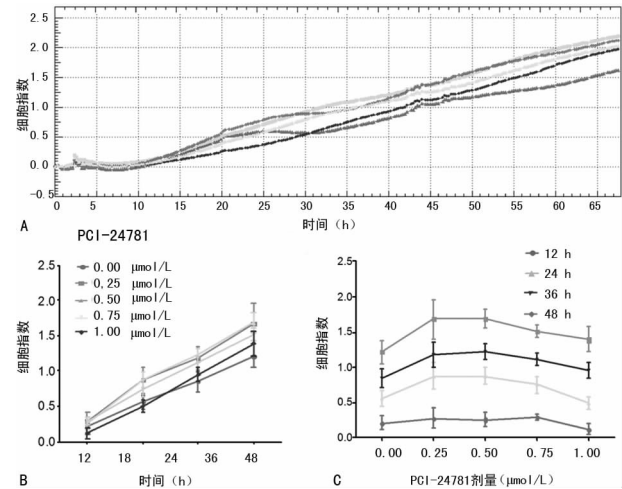
表 1 PCI-24781 作用后各时间点的 IC_{50} 及 R^2 比较

指标	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h
$\text{IC}_{50}(\mu\text{mol/L})$	0.285 2	0.268 9	0.298 1	0.193 0	0.201 3
R^2	0.948 2	0.974 8	0.994 2	0.996 3	0.997 1

2.3 不同水平 PCI-24781 处理上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞 48 h 后对细胞内 ROS 的影响 实验提示 PCI-24781 可明显提高上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞内 ROS 水平,其增加程度呈现水平依赖性的关系。与较低水平组及中水平组相比,高水平组的 PCI-24781 提高细胞 ROS 水平更为明显,波峰明显右移。见表 2。

2.4 PCI-24781 处理上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞 48 h 后 β -catenin 蛋白的表达下调,Ac-H3、Ac-H4、P53 蛋白的表达上调 不同水平 PCI-24781 作用 SKOV-3 细胞 48 h 后,Western blot 检测细胞内的 β -catenin、Ac-H3、Ac-H4、P53 蛋白的表达情况。实验提示细胞内 β -catenin 蛋白的表达量随剂量的升高逐渐下降,Ac-H3、Ac-H4、P53 蛋白的表达量随剂量的升高逐渐上升。其中低水平组与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),高水平组变化更为明显,与对照组对比差异有统计学意义。

义($P<0.05$)。见图 3。



注:A 为 RTCA 多功能实时无标记细胞分析仪检测不同水平 PCI-24781 处理 SKOV-3 细胞(0~70 h)后的迁移情况,加药点为 3 h; B、C 为 PCI-24781 对 SKOV-3 细胞抑制迁移曲线

图 2 PCI-24781 对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞迁移的影响

表 2 不同水平 PCI-24781 对 SKOV-3 细胞处理 48 h 后细胞内 ROS 水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	药物水平($\mu\text{mol/L}$)	SKOV-3 细胞内 ROS 水平
对照组	0.00	8.3 $\pm$ 0.5
低水平组	0.25	667.0 $\pm$ 4.6*
中水平组	0.50	736.0 $\pm$ 1.7*
高水平组	1.00	2 301.0 $\pm$ 6.2*

注:与对照组相比,* $P<0.05$

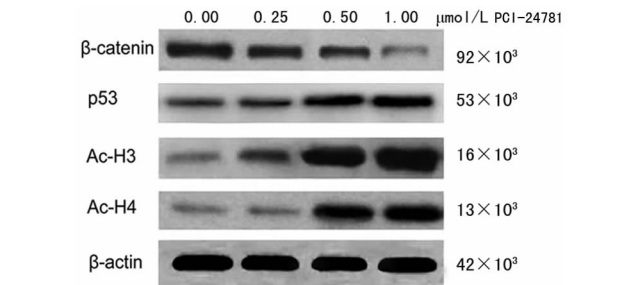


图 3 不同水平 PCI-24781 对 SKOV-3 细胞相关蛋白表达水平变化的影响

3 讨 论

组蛋白乙酰化酶(HATs)和 HDACs 拮抗地调节组蛋白的乙酰化水平从而实现了染色质功能的调节。在哺乳系人类, HDACs 分为四类:Ⅰ类 HDACs(HDAC1、2、3、8)为核酶,主要负责蛋白质翻译后修饰,在不同类型的组织中广泛表达;Ⅱ类 HDACs(HDAC4、5、6、7、9、10)和Ⅳ类 HDACs(HDAC11),主要位于细胞质内,具有明显的组织特异性;Ⅲ类 HDACs(SIRT1-8),NAD⁺ 依赖性酶,在不同的亚细胞定位,包括组蛋白 H3K9、h1k26、H4K16,具有底物特异性。HDACs 除了脱乙酰组蛋白,也能脱乙酰非组蛋白,包括 p53、转录因子 STAT3、YY1、GATA1、E2F1 和 Hsp90。HDACs 的生物作用具有特殊复杂性,影响着蛋白质的稳定性,DNA 的转录活性。HDACs

介导的转录功能异常能导致癌变,在肿瘤样本中 HDACs 的异常表达已被报道^[4]。PCI-24781 是一种广谱 HDACis,靶向作用于 HDAC1,对 HDACs 2、3、6、10 有适中的抑制性,推荐用于实体瘤治疗。目前治疗肉瘤和淋巴瘤进入Ⅰ/Ⅱ期临床试验,但对于实体瘤如上皮性卵巢癌等的抗肿瘤效果及相关数据稀少^[5]。

本研究 RTCA 的检测结果显示 PCI-24781 可明显抑制上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞的增殖,且增殖抑制作用具有剂量、时间依赖性的特点。其中 48 h 的 IC₅₀ 为 0.193 0 μmol/L,符合目前文献 IC₅₀ 分布范围。提示 PCI-24781 在较低水平即可产生较明显的抑制肿瘤作用。但本研究显示 PCI-24781 对于细胞迁移的作用影响不明显,差异无统计学意义($P>0.05$)。推测可能原因有 Wnt 信号通路激活可能是导致肿瘤发生的早期事件,E-cadherin 介导的黏附功能失调,细胞之间的连接破坏肿瘤细胞从原发部位脱落,可能是肿瘤的晚期事件。此外 HDACis 对 HDACs 抑制作用较短,缺乏持续作用及观察的可能^[6]。本研究通过流式细胞仪的检测结果显示 PCI-24781 可明显提高细胞内 ROS 水平,其增加程度呈现水平依赖性的关系。横向分析各组间,与低水平组及中水平组相比,高水平组的 PCI-24781 提高细胞内 ROS 水平更为明显。本实验提示 PCI-24781 具有明显的抗肿瘤活性作用,抑制增殖、诱导 ROS 生成是其抗肿瘤一个重要作用机制。说明 HDACis 的一个潜在的重要作用是诱导 ROS 包括超氧阴离子,导致氧化应激的增加和细胞凋亡。ROS 介导调控细胞分化、生命进程与其不同水平有关,少量的 ROS 保持细胞正常活力,ROS 水平升高与增殖抑制、细胞周期阻滞有关,急剧大幅度升高则可引发毒性氧化细胞损害及坏死。目前有相关实验研究 ROS 作为第二信号机制参与调节经典 Wnt/β-catenin 信号通路^[7-8]。推测 ROS 作为复杂的时空调控信号分子,上调或下调 Wnt 活性依赖于其胞膜水平和定位,具有细胞膜脂筏依赖性,产生双重作用。

Western blot 结果显示,经 PCI-24781 处理细胞后,β-catenin 蛋白表达水平明显下降。β-catenin 在卵巢浆液性癌等上皮性卵巢癌组织对比正常卵巢组织间差异有统计学意义($P<0.05$),可能造成肿瘤的发生、发展、侵袭及转移,可以作为评价其转移复发的有效指标之一^[9]。β-catenin 是 Wnt 信号中枢介质,动态分布在多个亚细胞位置。β-catenin 蛋白中端 R3-10 区域与 E-cadherin 形成复合物,调节细胞黏附作用,在细胞质中与支架蛋白 Axin、抑癌基因 APC、糖原合成激酶 GSK3β 形成复合物。当经典 Wnt 信号通路的活化,游离的 β-catenin 可进入细胞核结合 T 细胞合成因子(TCF),激活或抑制下游组基因的启动子。β-catenin 蛋白 N 端包括丝氨酸 ser45,酪蛋白激酶 1α 磷酸化位点和赖氨酸 Lys49,是乙酰化的乙酰转移酶 p300/CBP 相关因子(PCAF)。N 端的磷酸化、泛素化、乙酰化调节其稳定性和对下游信号的传导。其他多种因素包括炎症反应、缺氧也可影响 β-catenin 蛋白游离水平和转录程序,而卵巢癌与炎症反应相关,低氧也是卵巢癌存在的重要微环境。

在本研究的 Western blot 实验中 PCI-24781 下调 β-catenin 蛋白表达同时升高组蛋白乙酰化 H3、H4、抑癌基因 p53 水平,提示 HDACis 的另一个潜在的重要作用是调控异常的组蛋白乙酰化水平,调节非组蛋白,抑制细胞中 Wnt/β-cate-

nin 信号传导通路,从而控制转录过程,抑制肿瘤增殖。抑癌基因 p53 蛋白定位于细胞核,是一种 DNA 结合和转录激活域,也可伴随负调节蛋白 MDM2、E3 泛素连接酶转移细胞质,通过翻译后修饰的差异激活磷酸化和乙酰化,抑制肿瘤生长。Chen 等^[10]的实验研究提示 HDAC1 介导 p53 蛋白去乙酰化降解,输尿管细胞实验中 HDAC1 和 HDAC2 的缺失导致 p53 乙酰化增加,提示 HDAC1/2 抑制 p53 乙酰化和活化,从而在细胞增殖中起着重要的作用。HDAC1/2 可能通过与 β -catenin 竞争作用于 TCF 蛋白,调节 Wnt/ β -catenin 信号通路。当 Wnt 处于激活状态,HDAC 从阻遏蛋白复合物解离。一旦 HDAC 的抑制被解除, β -catenin 结合并激活 LEF,启动 Wnt 信号下游靶基因^[11]。同时, β -catenin 也是 HDAC6 底物,HDAC6 与 β -catenin 结合后, β -catenin 去乙酰化,表皮生长因子(EGF)诱导 HDAC6 异位,导致 β -catenin 入核,激活经典 Wnt 信号通路的活化,结合并启动下游 TCF/LEF/c-myc 通路,利于肿瘤增殖。HDACs 对 HDAC6 的调控,也利于抑制 Wnt 信号通路,对肿瘤生长实现调控。因此 HDACs 在 HDACs 相互作用、反馈,使 Wnt 信号恢复平静状态,保持靶基因低乙酰化水平,抑制下游基因转录^[12]。

综上所述,细胞的生长和增殖受由多个著名通路的调控,通过多个信号通路相互调节以最终达到一定的生物现象的精细调节。HDACs 通过多种途径抑制经典 Wnt/ β -catenin 信号通路,对上皮性卵巢癌 SKOV-3 细胞发挥抑制细胞增殖的抗肿瘤作用。

参考文献

[1] Alsop K, Fereday S, Meldrum C, et al. BRCA Mutation Frequency and Patterns of Treatment Response in BRCA Mutation-Positive Women With Ovarian Cancer: A Report From the Australian Ovarian Cancer Study Group [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(21): 2654-2663.

[2] Zhang Z, Zhang R. Epigenetics in autoimmune diseases: Pathogenesis and prospects for therapy [J]. Autoimmun Rev, 2015, 14(10): 854-863.

[3] Choy E, Flamand Y, Balasubramanian S, et al. Phase 1 study of oral abexinostat, a histone deacetylase inhibitor,

in combination with doxorubicin in patients with metastatic sarcoma [J]. Cancer, 2015, 121(8): 1223-1230.

[4] 姚毅武, 姚和权, 蒋晟, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂抗肿瘤临床研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(3): 294-311.

[5] Evens AM, Balasubramanian S, Vose JM, et al. A Phase I/II Multicenter, Open-Label Study of the Oral Histone Deacetylase Inhibitor Abexinostat in Relapsed/Refractory Lymphoma [J]. Clinical Cancer Res, 2016, 22(5): 1059-1066.

[6] Ecker J, Oehme I, Mazitschek R, et al. Targeting class I histone deacetylase 2 in MYC amplified group 3 medulloblastoma [J]. Acta Neuropathol Commun, 2015, 3(1): 1-14.

[7] Vrzi S, Reiter S, Galliot B. Cell death: a program to regenerate [J]. Curr Top Dev Biol, 2014, 108: 121-151.

[8] Sandieson L, Hwang JT, Kelly GM. Redox regulation of canonical Wnt signaling affects extraembryonic endoderm formation [J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(10): 1037-1049.

[9] Mao Y, Xu J, Li Z, et al. The role of nuclear β -catenin accumulation in the Twist2-induced ovarian cancer EMT [J]. PLoS, One, 2013, 8(11): e78200.

[10] Chen S, Yao X, Li Y, et al. Histone deacetylase 1 and 2 regulate Wnt and p53 pathways in the ureteric bud epithelium [J]. Development, 2015, 142(6): 1180-1192.

[11] Liu C, Zhang Y, Li J, et al. p15RS/RPRD1A (p15INK4b-related sequence/regulation of nuclear pre-mRNA domain-containing protein 1A) interacts with HDAC2 in inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. J Biol Chem, 2015, 290(15): 9701-9713.

[12] Kim W, Kim M, Jho EH. Wnt/ β -catenin signalling: from plasma membrane to nucleus [J]. Biochem J, 2013, 450(1): 9-21.

(收稿日期: 2017-04-29 修回日期: 2017-06-07)

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。