


第7章 非线性回归

两个连续型变量间有可能呈曲线关系，即非线性关系。而传统的相关系数如皮尔森相关系数，主要衡量的是线性关系，对于非线性关系可能无法准确描述。

本章的知识点如下：

- ❑ 二项式曲线；
- ❑ 如何计算 EC_{50} 、 IC_{50} 等；
- ❑ 剂量-反应曲线；
- ❑ 酶动力学-米氏方程。

注意：非线性回归曲线类型较多，且特定非线性回归曲线又可分为不同形式，限于篇幅，无法一一举例。本章尽可能通过常见的非线性回归曲线的讲解，使读者融会贯通的同时，对于其他未讲解的内容做到举一反三、触类旁通。

7.1 非线性回归的常用模型

GraphPad Prism 中的非线性回归模型较多，对于大多数的非线性回归，需要指定模型的初始值，而后进行不断地迭代，以确定最佳拟合曲线。虽然模型初始值的选择对于非线性回归非常重要，但是并不需要特别准确，因为不同的初始值一般最终都会趋于一致，得到相差无几的结果。

虽然非线性回归模型较多，显得复杂而晦涩，但是也有一定的规律可循，并且常用模型有限，简要介绍如下。

- ❑ **Standard curves to interpolate:** 标准曲线插值，通过已知的标准品浓度和对应的测量值来创建标准曲线，并通过标准曲线来插值或者预测未知样本的浓度。
- ❑ **Dose-response-Stimulation:** 主要用于分析和绘制变量 X （药物或激素等）与变量 Y （激动反应）之间的关系。本选项适用于随着变量 X 的增加，变量 Y 不断增加的情形。此时变量 X 称为激动剂。
- ❑ **Dose-response-Inhibition:** 主要用于分析和绘制变量 X （药物或激素等）与变量 Y （抑制反应）之间的关系。本选项适用于随着变量 X 的增加，变量 Y 不断降低的情形。此时变量 X 称为抑制剂。
- ❑ **Dose-response-Special (X is Concentration):** 在拟合剂量-反应关系时，如果数据不符合

常见曲线形状可使用此菜单，此处提供了几种特殊模型，如不对称剂量-反应、钟形剂量-反应、双相剂量-反应等。另外，本菜单适用于当 x 轴（即药物或激素等的浓度）不是以对数形式表示，而是直接以浓度值表示时的情况。

- ❑ **Dose-response-Special (X is Log[Concentration]):** 含义与 Dose-response-Special (X is Concentration) 相同。另外，本菜单适用于 x 轴（即药物或激素等的浓度）以对数形式表示的情况。
- ❑ **Binding-Saturation:** 受体结合-饱和模型，主要用于描述分子间相互作用达到饱和状态的分析模型。
- ❑ **Binding-Competitive:** 受体结合-竞争性模型，主要用于分析和拟合竞争性结合的数据。
- ❑ **Binding-Kinetics:** 受体结合-动力学模型，研究受体与配体之间随时间变化相互作用的情况。
- ❑ **Enzyme kinetics-Inhibition:** 酶动力学中的抑制作用，许多药物通过抑制酶活性发挥作用。为确定酶抑制模型及抑制剂的抑制常数 K_i ，在不同种浓度抑制剂的情况下测量底物-速率曲线。在 GraphPad Prism 中可进行 6 种酶抑制模型：竞争、非竞争、无竞争、混合、底物抑制、严格抑制。
- ❑ **Enzyme kinetics-Velocity as a function of substrate:** 酶动力学-速度与底物呈函数关系，酶动力学实验是测量不同底物浓度下的酶促反应速度，以拟合底物速度曲线。其中最常用的是米氏方程。
- ❑ **Exponential:** 指数模型，如果某事发生的速率取决于存在的数量，则遵循指数模型。例如我们熟知的兔子的繁殖案例，就属于指数模型。
- ❑ **Lines:** 非线性回归可将数据拟合至任何模型，甚至是线性模型。因此，线性回归只是非线性回归的特例。需要注意的是此菜单下包含节段线性回归。
- ❑ **Polynomial:** 多项式模型。
- ❑ **Gaussian:** 可拟合高斯钟形曲线及累积高斯 S 形曲线。
- ❑ **Sine waves:** 正弦波，可描述振荡现象。
- ❑ **Growth curves:** 生长曲线，主要涉及对生物体（如细胞、植物、动物等）生长数据的拟合。较常用的如 Logistic 生长曲线和 Gompertz 生长曲线等。
- ❑ **Linear-quadratic curves:** 二项式曲线，用于特殊案例情况下曲线的拟合，比如因变量 Y 是细胞生存数、死亡数等。
- ❑ **Classic equations from old versions of Prism:** 旧版本中的经典曲线，不过多介绍。

7.2 二项式回归

二项式回归是一种多项式回归，用于描述因变量 Y 与自变量 X 之间的非线性关系，其中，因变量 Y 与自变量 X 之间的关系用二次函数表示。二项式回归模型的基本形式为 $Y = aX^2 + bX + c$ ，其中， a 、 b 和 c 是常数， X 是自变量， Y 是因变量。

注意：关于其他多项式回归，如三次项回归，步骤与二项式相似，不再举例。

7.2.1 住院天数与焦虑评分案例

本例分析住院天数与焦虑评分的关系，如表 7.1 所示，其中：

- ID: 受试者编号。
- Days: 住院天数，为连续性变量。
- Score: 焦虑评分，为连续型变量。

注意：焦虑评分不可能随着住院天数的增加而一直增加，一般是随着住院天数的增加，先快速增加，后缓慢增加，直至达到平台期，故本例拟合线性回归显然不合适，应考虑非线性回归中的二项式回归。建议读者做统计分析前应结合专业背景及理论知识，选择合适的分析方法，否则结论可能不可靠。

表 7.1 整理后的数据格式（部分数据）

ID	Days	Score
1	10	86
2	4	30
3	8	75
4	9	87
5	6	60

7.2.2 二项式回归分析

1. 创建分析文件

(1) 打开 GraphPad Prism 软件，如图 7.1 所示，在 CREATE 下选择 XY 选项。

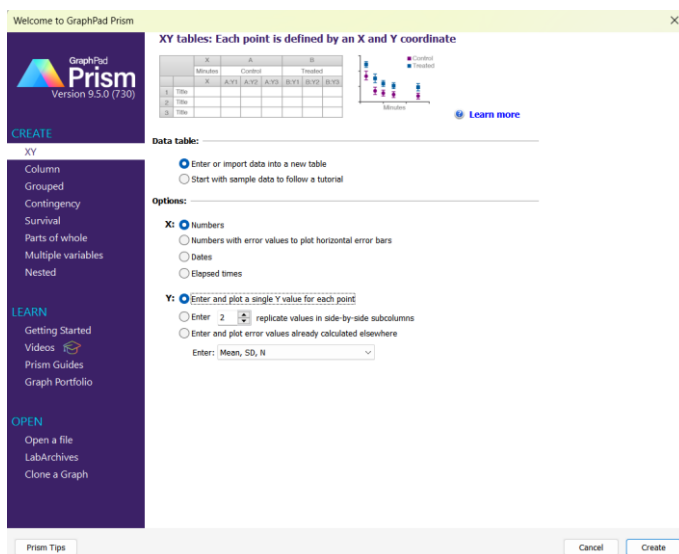


图 7.1 创建分析文件

(2) 选择 Data table 下的 Enter or import data into a new table 单选按钮，再选择 Options 下的 Numbers 和 Enter and plot a single Y value for each point 单选按钮。

(3) 单击 Create 按钮，完成分析文件的创建。

2. 导入数据

复制在 Excel 中整理好的数据，共有 3 列，分别是 XY、Days 和 Score，如图 7.2 所示。

Table format:		X	Group A	Group B
XY		Days	Score	Title
	X	X	Y	Y
1	1	10	86.00	
2	2	4	30.00	
3	3	8	75.00	
4	4	9	87.00	
5	5	6	60.00	
6	6	3	24.00	
7	7	5	42.00	
8	8	11	86.00	
9	9	7	71.00	
10	10	12	92.00	
11	11	2	12.00	
12	12	1	8.00	
13	Title			

图 7.2 数据复制

3. 二项式回归分析

在图 7.2 所示的导航栏中，Data Tables 表示数据界面，将本次的数据命名为 data。需要注意的是，Data Tables 中可以放置多个数据，单击 New Data Table 即可。Results 为统计分析结果对话框，如果单击 New Analysis，将开始分析并弹出新的对话框。Graphs 表示统计图形绘制对话框，如果单击 New Graph，将开始绘制散点图并弹出新的对话框。

(1) 单击图 7.2 导航栏 Results 下的 New Analysis，弹出数据分析对话框，如图 7.3 (a)

所示。在 XY analyses 下选择 Nonlinear regression(curve fit)，其他设置保持默认，单击 OK 按钮，弹出的对话框如图 7.3 (b) 所示。

(2) 在图 7.3 (b) 中，选择 Polynomial 下的 Second order polynomial(quadratic)选项，表示二项式回归。

注意：Third order polynomial(cubic)选项表示三项式回归。单击图 7.3 (b) 中的 Details 按钮与 Learn about this equation 可查看每个选项的详细功能及官方教程。

(3) 单击 OK 按钮，弹出二项式回归的详细结果。

4. 二项式回归分析结果解读

如图 7.4 所示为二项式回归分析的结果。

- B0 表示截距大小为-13.34，B1 表示一次项系数大小为 14.65，B2 表示二项式系数大小为-0.4763。
- 95%CI 表示上述指标的 95%置信区间。
- Goodness of Fit 表示模型的拟合精度，其中，Degrees of Freedom 表示自由度为 9。R squared 表示决定系数为 0.9757，拟合精度较好。Sum of Squares 表示平方和为 262.2。 $S_{y,x}$ 表示剩余标准差为 5.397。剩余标准差越小越好。

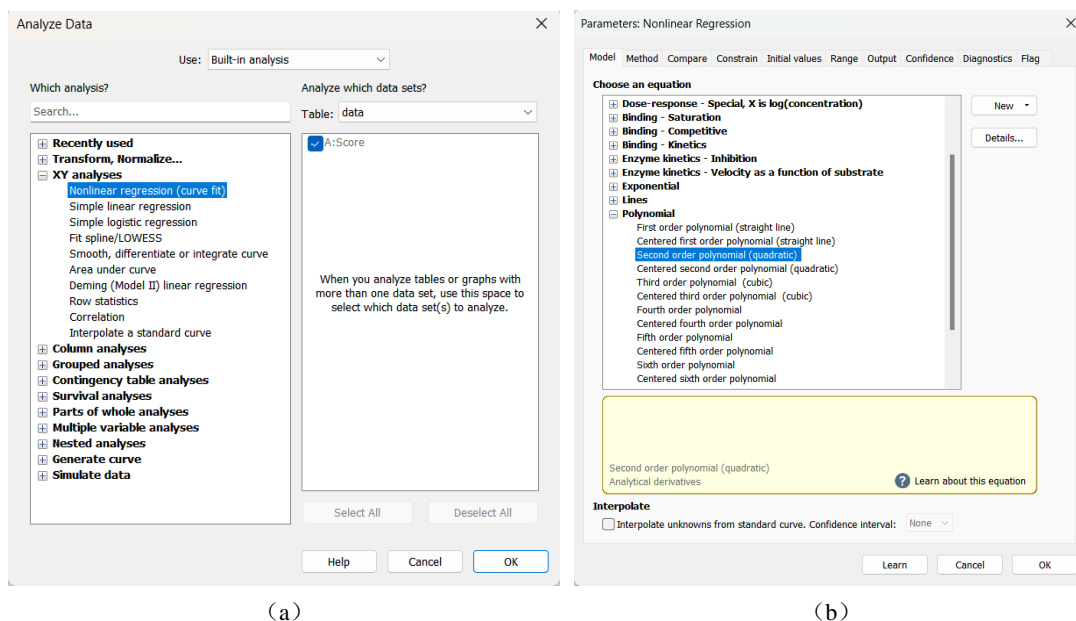


图 7.3 数据分析和方法选择对话框

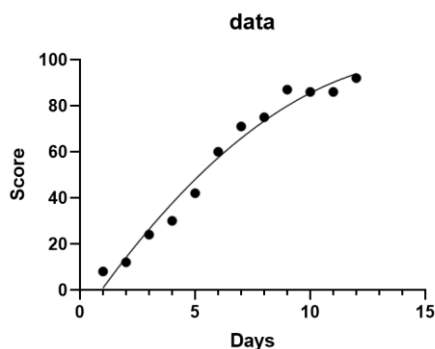
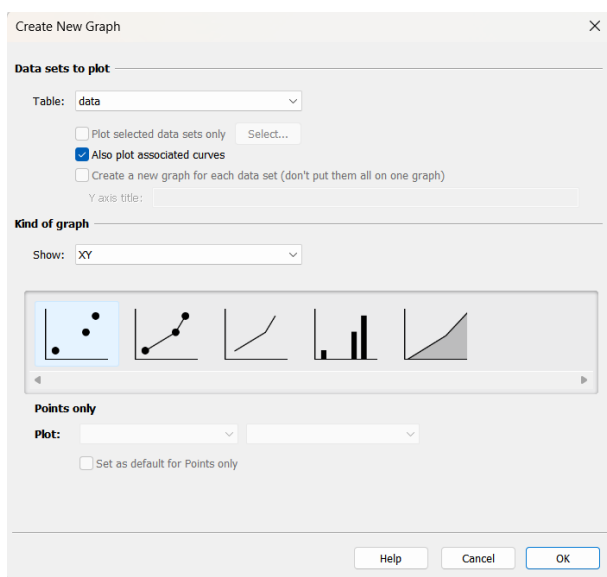
Nonlin fit		A
Table of results		Score
1	Second order polynomial (quadratic)	
2	Best-fit values	
3	B0	-13.34
4	B1	14.65
5	B2	-0.4763
6	95% CI (profile likelihood)	
7	B0	-25.96 to -0.7223
8	B1	10.19 to 19.11
9	B2	-0.8105 to -0.1421
10	Goodness of Fit	
11	Degrees of Freedom	9
12	R squared	0.9757
13	Sum of Squares	262.2
14	Sy.x	5.397
15		
16	Number of points	
17	# of X values	12
18	# Y values analyzed	12

图 7.4 二项式回归分析结果

7.2.3 绘制散点图与拟合曲线

(1) 单击图 7.2 导航栏 Graphs 下的 New Graph, 即可调出绘图对话框, 如图 7.5 (a) 所示。

- Data sets to plot 用于选择绘图数据, 通过 Table 选项选择需要绘图的数据表为 data, Also plot associated curves 选项表示绘制拟合曲线。
- Kind of graph 用于选择图形, 通过 show 选项选择 XY。在下方图形中选择第 1 个图形。此处共有 5 个图形可供选择, 在实操过程中每个图形均可尝试, 观察最终图形的样式是否满足个性化需求。
- 单击 OK 按钮即出现草图, 如图 7.5 (b) 所示。



(a)

(b)

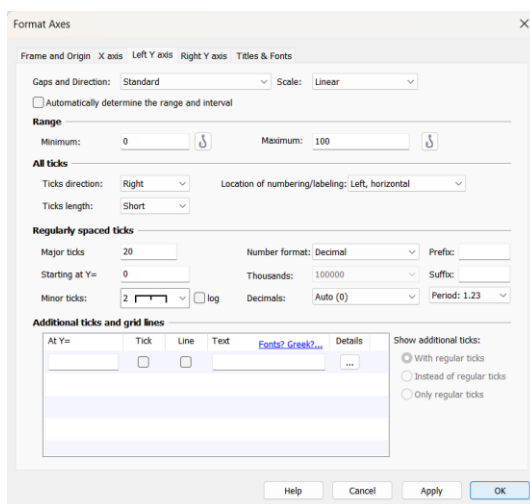
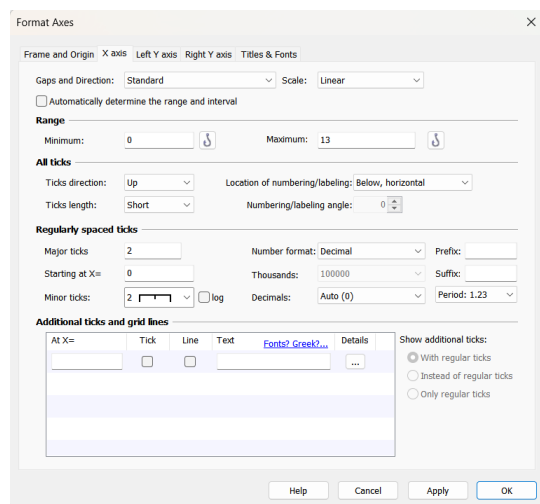
图 7.5 选择图形并绘制相关性分析草图

(2) 在图 7.5 (b) 的基础上, 进一步对图形进行美化。在草图的 x 轴任意处双击, 即可弹出 x 轴的设置对话框, 如图 7.6 (a) 所示。

- Automatically determine the range and interval** 选项默认是勾选的, 表示自动化处理 x 轴的范围和刻度线等, 此处取消勾选, 进行手动设置。
- Range** 系列选项表示坐标轴的范围, **Minimum** 选项表示 x 轴的最小值, 此处设置为 0, **Maximum** 选项表示 x 轴的最大值, 此处设置为 13。
- Ticks direction** 选项设置为 Up, 表示 x 轴的刻度线朝上, 即在图形内部。
- Ticks length** 表示刻度线长度的设置, 此处选择 Short, 即短刻度线。
- Regularly spaced ticks** 系列选项表示 x 轴刻度线的间隔设置。**Major ticks** 选项表示主刻度线的间隔, 此处设置为 2。
- Starting at X=** 选项表示 x 轴刻度线的起始值, 此处设置为 0。
- Minor ticks** 选项表示次刻度线, 选择 2 则次刻度线将主刻度间隔分成 2 段。
- 其他选项保持默认即可, 单击 OK 按钮。

(3) 在草图的 y 轴任意处双击, 即可弹出 y 轴的设置界面, 如图 7.6 (b) 所示。 y 轴与 x 轴的设置菜单完全相同, 此处不再赘述。

- 取消勾选 **Automatically determine the range and interval** 复选框, 进行手动设置。
- Minimum** 选项设置为 0, **Maximum** 选项设置为 100。
- Ticks direction** 选项设置为 Right。
- Ticks length** 选项设置为 Short。
- Major ticks** 选项设置为 20。
- Starting at Y=** 选项设置为 0。
- Minor ticks** 选项设置为 2。
- 其他选项保持默认即可, 单击 OK 按钮。



(a)


(b)

图 7.6 x 轴和 y 轴的设置

(4) 坐标轴名称的修改只需要在草图中单击 x 轴的名称 **Days**，在弹出的文本框中再单击一次 x 轴的名称即可修改。 y 轴的名称、图的名称修改方法与此相同。

(5) 在草图中双击散点，弹出散点的设置对话框，如图 7.7 (a) 所示，在其中可以设置散点的类型、颜色和大小等。在 **Show symbols** 系列选项中，**Color** 选项设置散点颜色为姜黄色，**Shape** 选项设置散点实心圆，**Size** 选项设置散点的大小为 3。其他选项保持默认，单击 **OK** 按钮。

(6) 在草图中双击曲线，弹出新的对话框，如图 7.7 (b) 所示。通过 **Show connecting line/curve** 系列选项设置线的特征，其中，**Color** 选项设置线的颜色为暗红色，**Thickness** 选项设置线的粗细为 1pt，**Style** 选项设置线的形式为普通线段，**Pattern** 选项设置线的类型为实线。其他选项保持默认，单击 **OK** 按钮。

(7) 单击工具栏中的  按钮，弹出 **Format Axes** 对话框。切换到 **Frame and Origin** 选项卡，如图 7.8 所示。将 **Frame and Grid Line** 系列选项中的 **Frame style** 选项设置为 **Plain Frame**，即图形有四边框。其他选项保持默认，单击 **OK** 按钮。

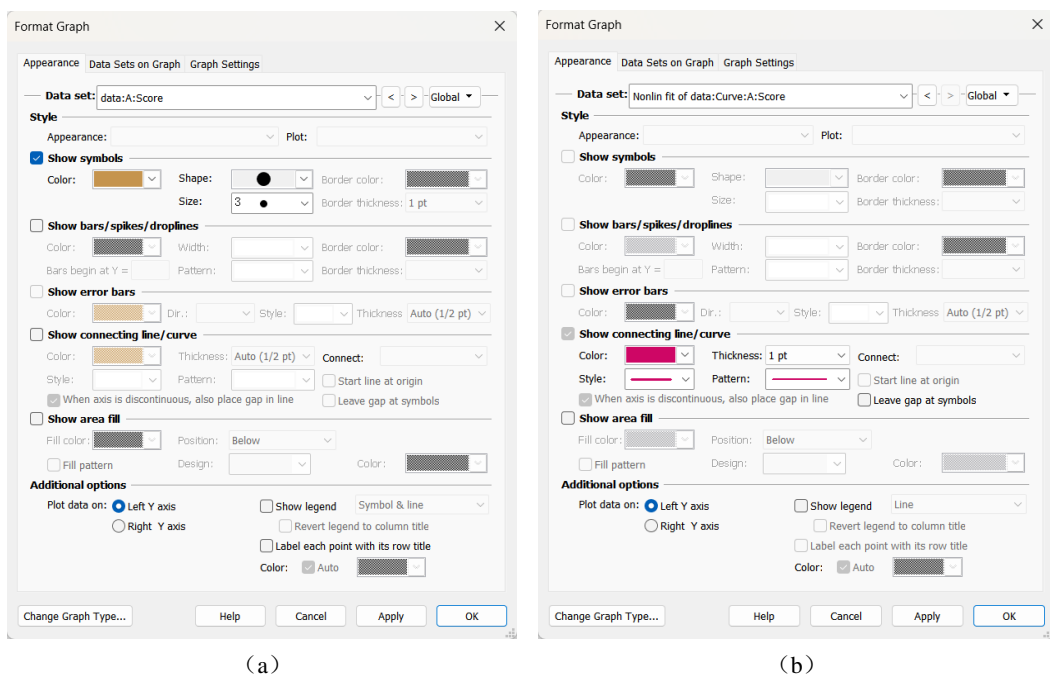


图 7.7 散点和拟合线设置对话框

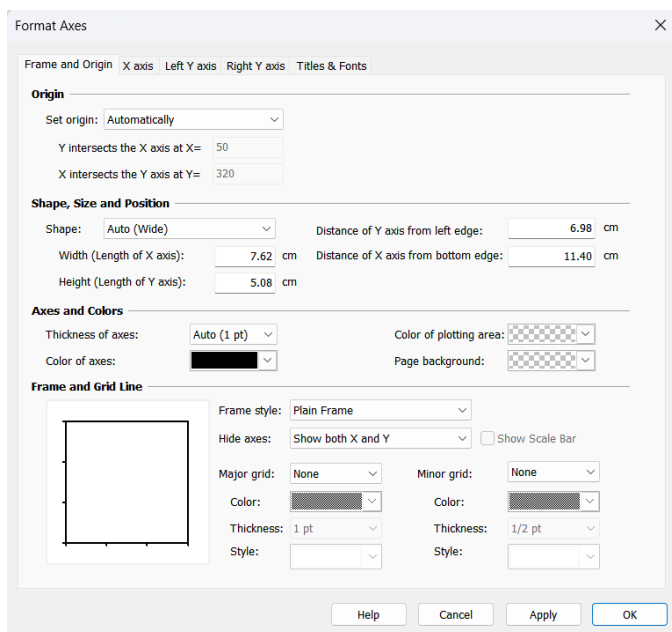


图 7.8 设置图的边框

(8) 单击工具栏中的 **T** 按钮，将鼠标移动到草图内部再次单击，即调出文本框。在文本框中输入相应文字后选中文本框，通过键盘的上、下、左、右键将文本框移动至图内的合适位置，最终的图形如图 7.9 (a) 所示。

注意：各位读者可尝试绘制出图 7.9 (b) 带有 95% 置信区间阴影的图形。在图 7.3 (b) 的操作中，需要在 Confidence 选项卡中勾选 Plot confidence/prediction bands 复选框，详见配书视频。另外，在本案例中每个住院天数下面只有一个焦虑评分值，若有多个焦虑评分值，还可以绘制均值误差线，此方法的实现可参阅 7.4 节。

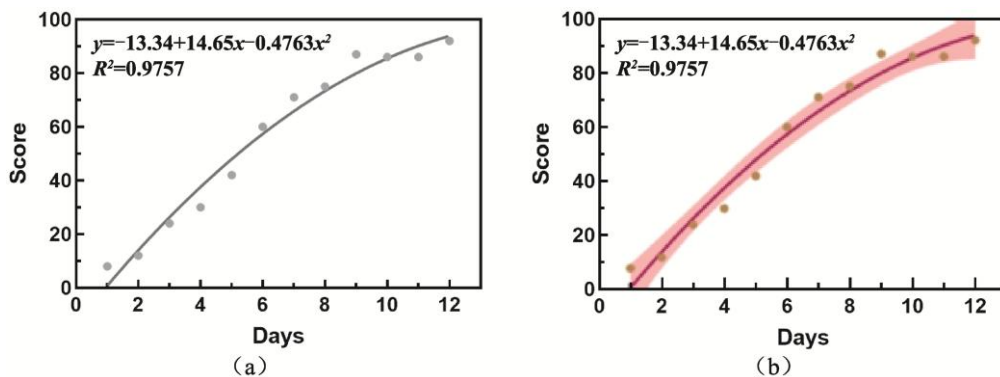


图 7.9 美化后的散点图及拟合线

7.3 剂量-反应曲线 1

剂量-反应曲线可以用于评估药物、激素或其他生物活性物质在不同剂量下对生物体产生的效应。在 GraphPad Prism 中，剂量-反应曲线的 x 轴一般是药物或激素的对数刻度，而 y 轴表示生物效应或反应。另外，剂量-反应曲线可分为激动反应和拮抗反应。激动反应是指随着变量 X 的增加，变量 Y 不断增加，拮抗反应是指随变量 X 的增加，变量 Y 不断降低，激动反应和拮抗反应需使用不同的菜单进行拟合。

注意：根据药物的原始数据是否已对数化处理，在 GraphPad Prism 中需要选择不同的选项进行分析。另外，根据因变量 Y 是否标准化，也需要选择不同的选项进行分析。

7.3.1 药物 EC_{50} 研究案例

本案例改编自相关资料，模拟一项关于杀灭跳蚤的药物剂量-反应研究。每个剂量对应的跳蚤为 500 只，观察被杀灭数量，估计其 EC_{50} 值。数据见表 7.2。其中：

- Dose: 药物的剂量，单位为 g。
- Response: 被杀死的跳蚤数量。

注意：本案例中每个剂量下面只有一个观测值，若有多个观测值，实现方法可参阅 7.4 节。

表 7.2 整理后的数据格式（部分数据）

Dose	Response
0.000000001	28
0.00000001	69
0.00000003	31
0.0000001	54
0.0000003	157

7.3.2 剂量-反应分析

1. 创建分析文件

- (1) 打开 GraphPad Prism 软件，如图 7.10 所示，在 CREATE 下选择 XY 选项。
- (2) 选择 Data table 下的 Enter or import data into a new table 单选按钮，再选择 Options

下的 Number 和 Enter and plot a single Y value for each point 单选按钮。

(3) 单击 Create 按钮，完成分析文件的创建。

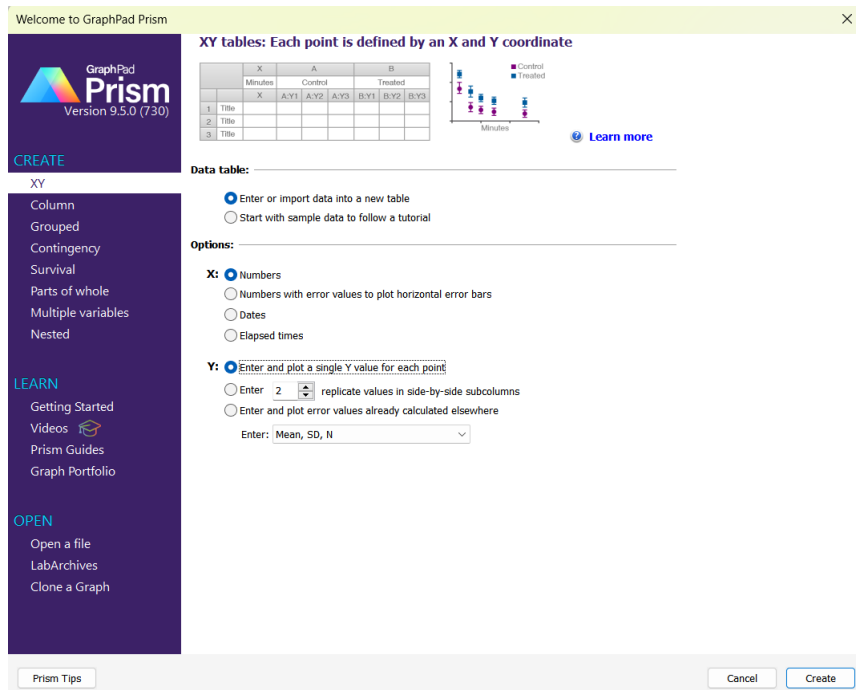


图 7.10 创建分析文件

2. 导入数据

直接复制在 Excel 中整理好的数据，共有 2 列，分别是 Dose 和 Response，如图 7.11 所示。其中，1.000000e-009 表示 1×10^{-9} ，即 0.000000001。

Table format:		X	Group A	Group B
XY		Dose	Response	Title
	X	X	Y	Y
1	Title	1.000000e-009	28	
2	Title	1.000000e-008	69	
3	Title	3.000000e-008	31	
4	Title	1.000000e-007	54	
5	Title	3.000000e-007	157	
6	Title	0.000001	177	
7	Title	0.000003	207	
8	Title	0.000010	347	
9	Title	0.000030	349	
10	Title	0.000100	405	
11	Title	0.000300	391	
12	Title			

图 7.11 数据复制

3. 剂量-反应分析

在图 7.11 所示的导航栏中，Data Tables 表示数据界面，将本次的数据命名为 data。需要注意的是，Data Tables 中可以放置多个数据，单击 New Data Table 即可。Results 表示统计分析结果界面，如果单击 New Analysis，将开始分析并弹出新的对话框。Graphs 表示统计图形绘制界面，如果单击 New Graph，将开始绘制散点图和拟合线并弹出新的对话框。

(1) 单击图 7.11 导航栏 Results 下的 New Analysis，弹出数据分析对话框，如图 7.12 (a) 所示。在 XY analyses 下选择 Nonlinear regression(curve fit)，其他设置保持默认，单击 OK 按钮，弹出新的对话框，如图 7.12 (b) 所示。

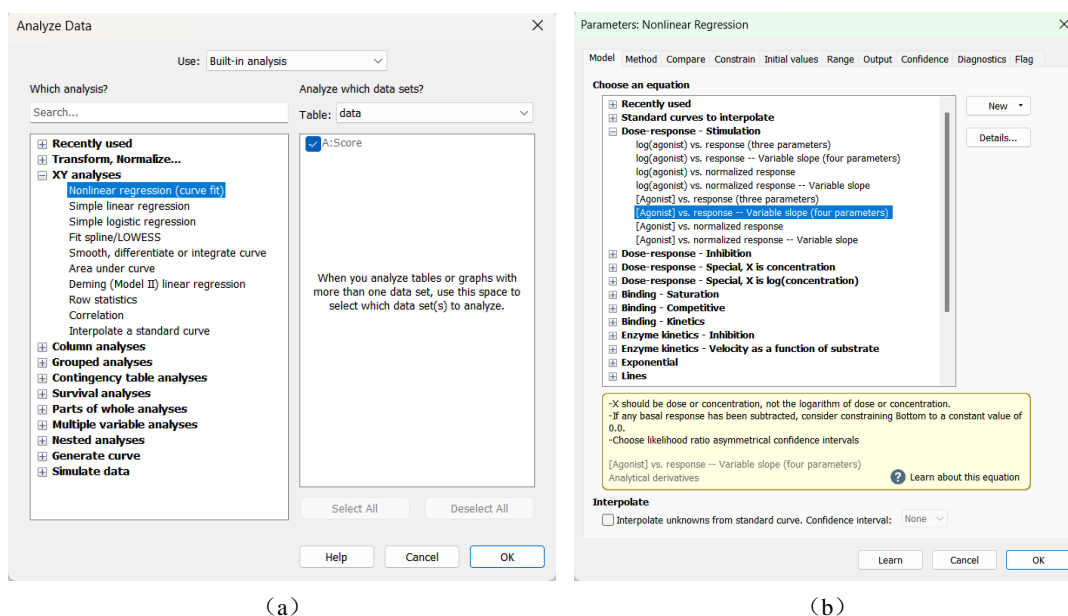


图 7.12 数据分析和方法选择对话框

(2) 在图 7.12 (b) 中选择 Dose-response-Stimulation 下的 [Agonist] vs. response--Variable slope(four parameters)选项，此选项表示[激动剂] vs. 反应-可变斜率。

注意：在本案例中，随着剂量 Dose 的不断增加，杀死跳蚤数量 Response 也不断增加，属于激动反应，因此在图 7.12 (b) 中选择 Dose-response-Stimulation；如果随着剂量 Dose 的不断增加，杀死跳蚤数量 Response 不断降低，则应选择 Dose-response-Inhibition。其次，本案例的药物浓度未经对数化处理，因此选择 [Agonist]，如果经过对数化处理，则选择 log[Agonist]。另外，如果 Response 已经标准化为 0~100%，则选用 Normalized 的选项，本案例中显然未对 Response 标准化，一般也不建议标准化，因此选用不带有 Normalized 的选项。最后，如果选项带有 Variable Slope，则表示可变斜率，未带有 Variable Slope，则为标准斜率，即 Hill 斜率等于 1.0，一般都选可变斜率。

(3) 单击 OK 按钮，弹出相应的结果。

4. 剂量-反应分析结果解读

在图 7.13 中罗列了剂量-反应分析的结果。

Nonlin fit Table of results		A Response
1	[Agonist] vs. response -- Variable slope (four parameters)	
2	Best-fit values	
3	Bottom	31.50
4	Hillslope	0.6510
5	Top	419.4
6	EC50	2.176e-006
7	logEC50	-5.662
8	Span	387.9
9	95% CI (profile likelihood)	
10	Bottom	-70.04 to 81.25
11	Hillslope	0.2606 to 1.286
12	Top	356.0 to 654.2
13	EC50	7.004e-007 to 1.853e-005
14	logEC50	-6.155 to -4.732
15	Goodness of Fit	
16	Degrees of Freedom	7
17	R squared	0.9701
18	Sum of Squares	6624
19	Sy.x	30.76
20	Constraints	
21	EC50	EC50 > 0
22		
23	Number of points	
24	# of X values	11
25	# Y values analyzed	11

图 7.13 剂量-反应分析结果

Best-fit values 表示拟合的最佳结果。其中：Bottom 表示底部值为 31.50，Hillslope 表示 Hill 斜率为 0.6510，Top 表示顶部为 419.4，EC₅₀ 表示半数有效浓度为 2.176e-006，logEC₅₀ 表示半数有效浓度的对数为 -5.662，Span 表示 Top 与 Bottom 的差值。

注意：如果是拮抗的剂量-反应分析，此处计算半数有效浓度称为 IC₅₀。虽然 EC₅₀ 与 IC₅₀ 的名称不同，但是二者的本质相同。

95%CI 表示上述指标的 95% 置信区间。

Goodness of Fit 表示模型的拟合精度。其中：Degrees of Freedom 表示自由度为 7，R squared 表示决定系数为 0.9701，拟合精度较好，Sum of Squares 表示平方和为 6624，S_{y,x} 表示剩余标准差为 30.76。

7.3.3 绘制剂量-反应曲线

(1) 单击图 7.11 导航栏 Graphs 下的 New Graph，即可调出绘图对话框，如图 7.14 (a) 所示。

Data sets to plot 为选择绘图数据菜单，通过 Table 选项选择需要绘图的数据表为 data。

Also plot associated curves 选项表示绘制拟合曲线。

Kind of graph 用于选择图形，通过 show 选项选择 XY。在下方的图形中选择第 1 个图

形。共有 5 个图形可供选择，在实操过程中每个图形均可以尝试，观察最终图形的样式是否满足个性化需求。

□ 单击 OK 按钮即出现图形，如图 7.14 (b) 所示。

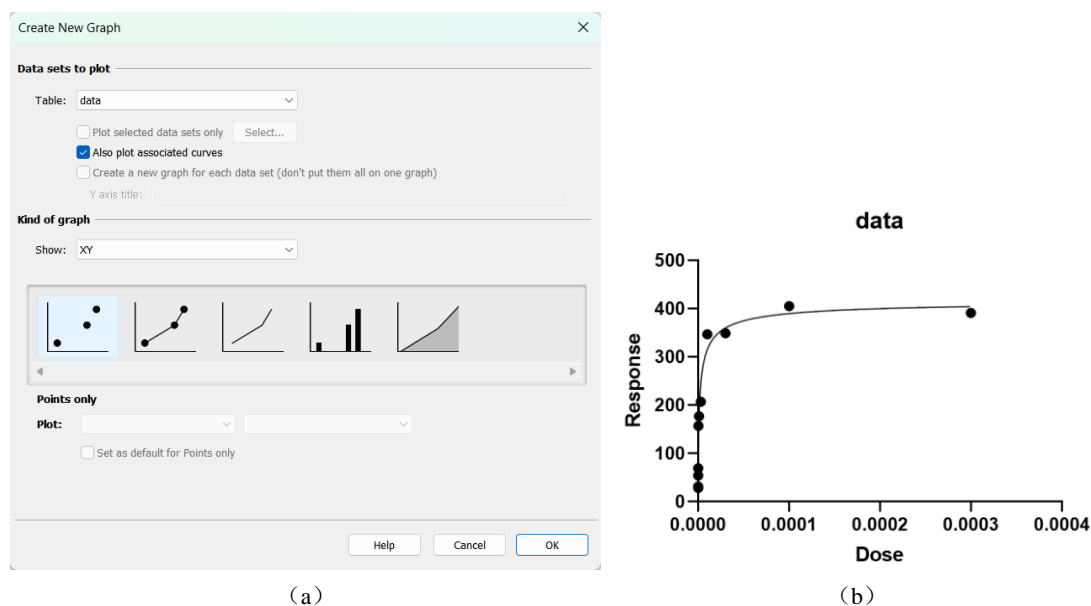


图 7.14 图形选择界面、剂量-反应分析草图

(2) 在图 7.14 (b) 的基础上，进一步对图形进行修饰与美化。在草图的 x 轴任意一处双击，即可弹出 x 轴的设置对话框。切换到 X axis 选项卡，如图 7.15 (a) 所示。

- Scale 选项表示 x 轴的尺度，此处我们需要将坐标轴进行对数化处理，选择 Log 10。
- Automatically determine the range and interval 选项默认是勾选的，表示自动化处理 x 轴的范围和刻度线等，此处取消勾选，进行手动设置。
- Minimum 选项表示 x 轴的最小值，此处设置为 $1e-009$ 。Maximum 选项表示 x 轴的最大值，此处设置为 0.001。
- Ticks direction 选项设置为 Up，表示 x 轴的刻度线朝上，即在图形内部。
- Ticks length 表示刻度线长度的设置，此处选择 Short，即短刻度线。
- Major ticks 选项表示主刻度线的间隔，此处设置为 1。
- Starting at X=选项表示 x 轴刻度线的起始值，此处设置为 $1e-009$ 。
- Minor ticks 选项表示次刻度线，如果选择 9，则次刻度线将主刻度间隔分成 9 节。
- 勾选 log 复选框，表示 x 轴的次刻度是对数化。
- 其他选项保持默认即可，单击 OK 按钮。

(3) 在草图的 y 轴任意一处双击，即可弹出 y 轴的设置对话框，如图 7.15 (b) 所示。 y 轴与 x 轴的设置对话框相同，此处不再赘述。

- 取消勾选 Automatically determine the range and interval 复选框，进行手动设置。
- Minimum 选项设置为 0，Maximum 选项设置为 500。
- Ticks direction 选项设置为 Right。

- Ticks length 选项设置为 Short。
- Major ticks 选项设置为 100。
- Starting at Y=选项设置为 0。
- Minor ticks 选项设置为 2。
- 其他选项保持默认即可，单击 OK 按钮。

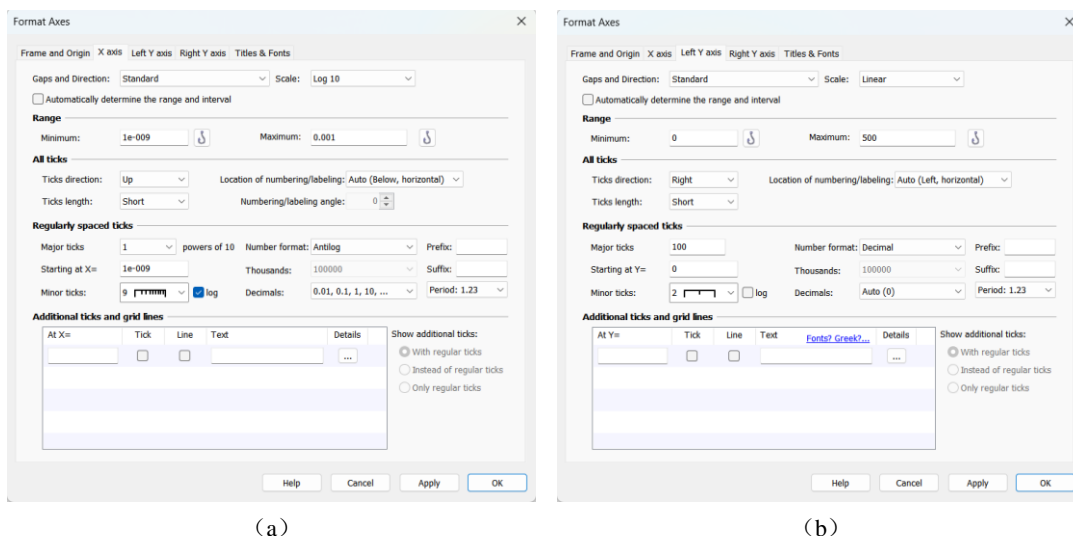


图 7.15 x 轴和 y 轴设置对话框

(4) 坐标轴名称的修改只需要在草图中，单击 x 轴的名称 Dose 即弹出文本框，在文本框中再单击一次，即可修改 x 轴的名称，y 轴的名称、图名称的修改方法与其相同。

(5) 在草图中双击散点，弹出散点设置对话框，如图 7.16 (a) 所示，在其中可设置散点的类型、颜色、大小等。在 Show symbols 系列选项中，Color 选项设置颜色为水绿色，Shape 选项设置散点实心圆，Size 选项设置散点的大小为 3。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

(6) 在草图中双击曲线，弹出新的对话框，如图 7.16 (b) 所示。通过 Show connecting line/curve 系列选项设置线的特征，Color 选项用于设置线的颜色为暗红色，Thickness 选项用于设置线的粗细为 1pt，Style 选项用于设置线的形式为普通线段，Pattern 选项用于设置线的类型为实线。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

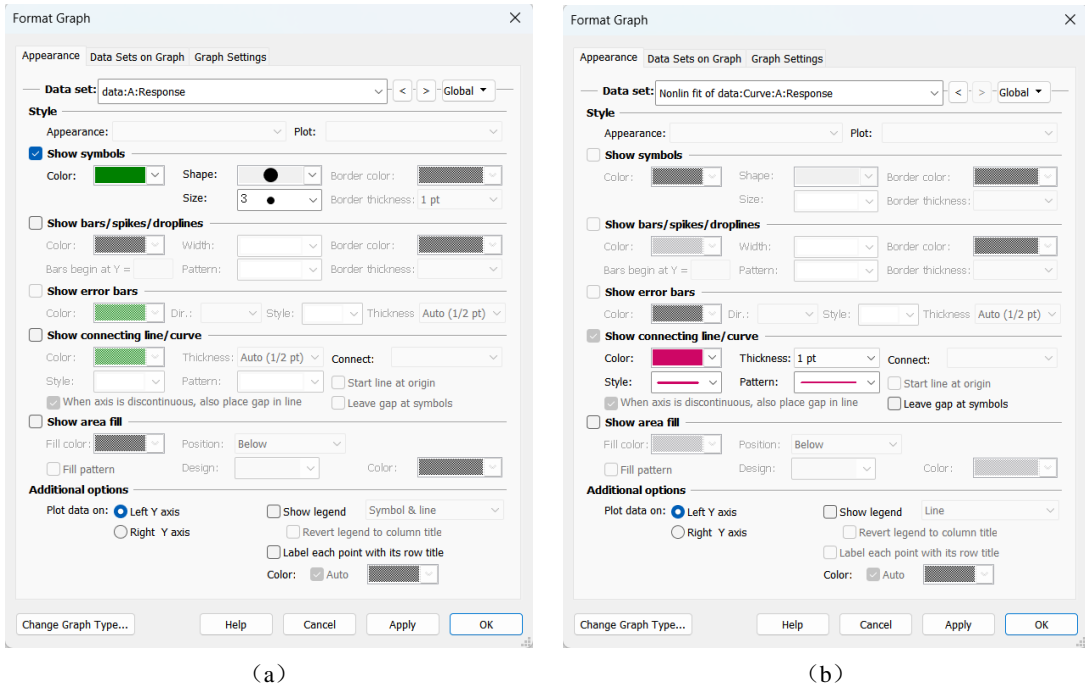



图 7.16 设置散点和拟合线

(7) 单击工具栏中的  按钮，弹出 Format Axes 对话框，切换到 Frame and Origin 选项卡，如图 7.17 所示。将 Frame and Grid Line 系列选项中的 Frame style 选项设置为 Plain Frame，即图形有四边框，其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

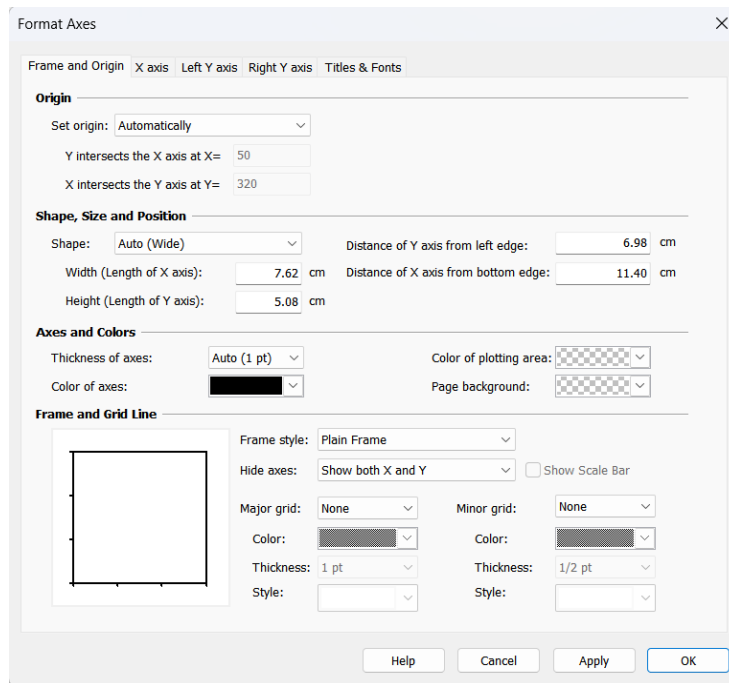


图 7.17 图的边框设置

(8) 单击工具栏中的 **T** 按钮，将鼠标移动到草图内部再次单击，即调出文本框。在文本框中输入相应文字后选中文本框，通过键盘的上、下、左、右键将文本框移动至图内的合适位置，最终的图形如图 7.18 (a) 所示。

注意：读者可以尝试绘制图 7.18 (b) 所示的带有 95% 置信区间阴影的图形。在图 7.12 (b) 的操作中，需要在 Confidence 选项卡中勾选 Plot confidence/prediction bands 选项，详见配书视频。另外，本案例中每个剂量下面只有一个观测值，若有多个观测值，图中还可绘制均值误差线，此方法的实现可参阅 7.4 节。

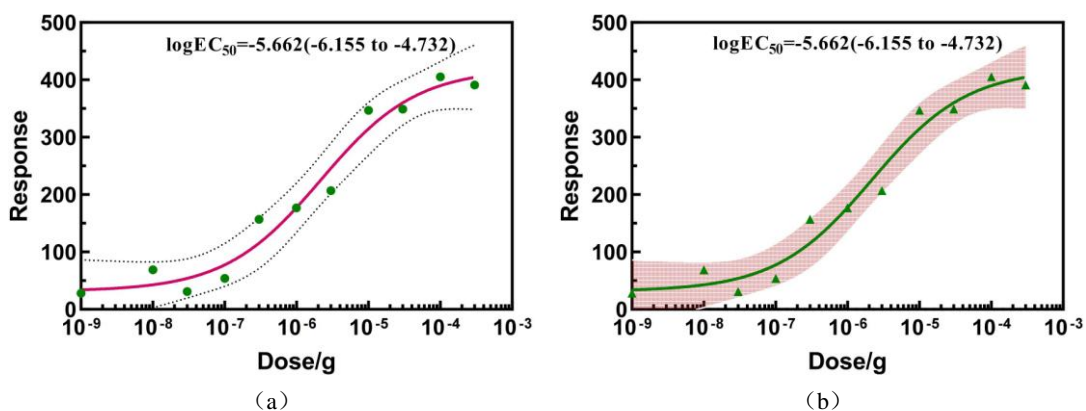


图 7.18 美化后的剂量-反应曲线

7.4 剂量-反应曲线 2

7.3 节的案例较为简单，本节分析两组间的剂量-反应曲线，并且观测每个剂量下多个值。其他非线性回归中的多组间且多个观测值的分析步骤与本节相似，不再赘述。

7.4.1 两条曲线 EC_{50} 研究案例

本案例参考相关资料模拟一项关于杀灭跳蚤的药物剂量-反应研究，观察 500 只跳蚤中被消灭的跳蚤数量，估计其 EC_{50} 值，数据如表 7.3 所示。

表 7.3 整理后的数据格式

log[Agonist], M	No inhibitor			Inhibitor		
	-10	7	9	13	4	6
-8	11	33	25			
-7.5	125	141	160	11	25	28
-7	190	219	197	52	55	61
-6.5	258	289	346	80	77	45

续表

log[Agonist], M	No inhibitor			Inhibitor		
-6	322	354	329	172	195	247
-5.5	355	359	370	289	230	243
-5	348	298	373	272	333	311
-4.5				360	307	297
-4	412	378	400	352	320	365
-3.5				389	339	

变量信息如下：

- log[Agonist], M: 药物剂量的对数值。
- No inhibitor: 在无抑制剂情况下观察的跳蚤被消灭的数量，每个剂量重复 3 次，个别存在缺失值。
- Inhibitor: 在有抑制剂情况下观察的跳蚤被消灭的数量，每个剂量重复 3 次，存在缺失值。

7.4.2 剂量-反应分析

1. 创建分析文件

(1) 打开 GraphPad Prism 软件，如图 7.19 所示，在 CREATE 下选择 XY 选项。

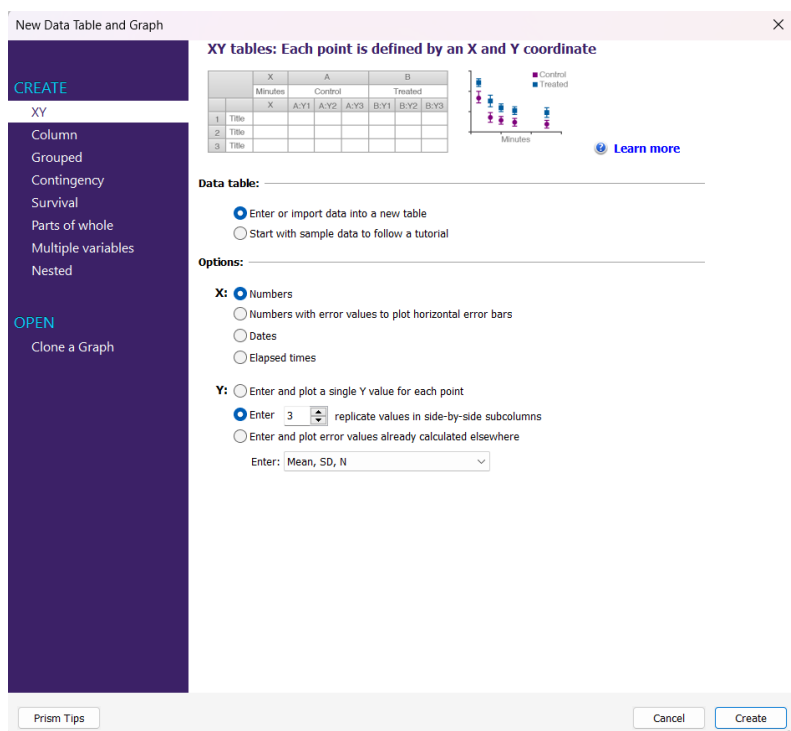


图 7.19 创建分析文件

(2) 选择 Data table 下的 Enter or import data into a new table 单选按钮, 再选择 Options 下的 Numbers 和 Enter 3 replicate values in side-by-side subcolumns 单选按钮。因为每个剂量下有 3 次实验, 即 3 个数值, 所以此处输入 3。

(3) 单击 Create 按钮, 完成分析文件的创建。

2. 导入数据

直接复制在 Excel 中整理好的数据, 共有 3 列, 分别是 log[Agonist], M、No inhibitor 和 Inhibitor, 如图 7.20 所示。

Table format:		X	Group A			Group B		
XY		log[Agonist], M	No inhibitor			Inhibitor		
		X	A:Y1	A:Y2	A:Y3	B:Y1	B:Y2	B:Y3
1	Title	-10.00	7	9	13	4	6	5
2	Title	-8.00	11	33	25			
3	Title	-7.50	125	141	160	11	25	28
4	Title	-7.00	190	219	197	52	55	61
5	Title	-6.50	258	289	346	80	77	45
6	Title	-6.00	322	354	329	172	195	247
7	Title	-5.50	355	359	370	289	230	243
8	Title	-5.00	348	298	373	272	333	311
9	Title	-4.50				360	307	297
10	Title	-4.00	412	378	400	352	320	365
11	Title	-3.50				389	339	
12	Title							

图 7.20 数据复制

3. 剂量-反应分析

在图 7.20 所示的导航栏中, Data Tables 表示数据界面, 将本次的数据命名为 data。需要注意的是, 在 Data Tables 中可以放置多个数据, 单击 New Data Table 即可。Results 表示统计分析结果界面, 如果单击 New Analysis, 将开始分析并弹出新的对话框。Graphs 表示统计图形绘制界面, 如果单击 New Graph, 将开始绘制散点图、拟合线并弹出新的对话框。

(1) 单击图 7.20 导航栏 Results 下的 New Analysis, 弹出数据分析对话框, 如图 7.21 (a) 所示。在 XY analyses 下选择 Nonlinear regression(curve fit), 其他设置保持默认, 单击 OK 按钮, 弹出新的对话框, 如图 7.21 (b) 所示。

(2) 在图 7.21 (b) 中选择 Dose-response-Stimulation 下的 log[Agonist] vs. response--Variable slope(four parameters)选项, 此选项表示: log[激动剂] vs.反应-可变斜率。

注意: 在本案例中, 随着剂量 Dose 的不断增加, 杀死的跳蚤数量 Response 也不断增加, 属于激动剂反应, 因此在图 7.21 (b) 中选择 Dose-response-Stimulation; 如果随着剂量 Dose 的不断增加, 杀死的跳蚤数量 Response 不断降低, 则应选择 Dose-response-Inhibition。其次, 本案例的药物浓度已经对数化, 因此选择 log[Agonist], 如果未经过对数化处理, 则选择[Agonist]。另外, 如果 Response 已经标准化为 0~100%, 则选用 Normalized 的选项, 在本案例中显然未对 Response 标准化, 一般也

不建议标准化，因此选用不带有 Normalized 的选项。最后，如果选项带有 Variable Slope，则表示可变斜率，未带有 Variable Slope，则为标准斜率，即 Hill 斜率等于 1.0，一般都选可变斜率。

(3) 单击 OK 按钮，弹出的相应结果。

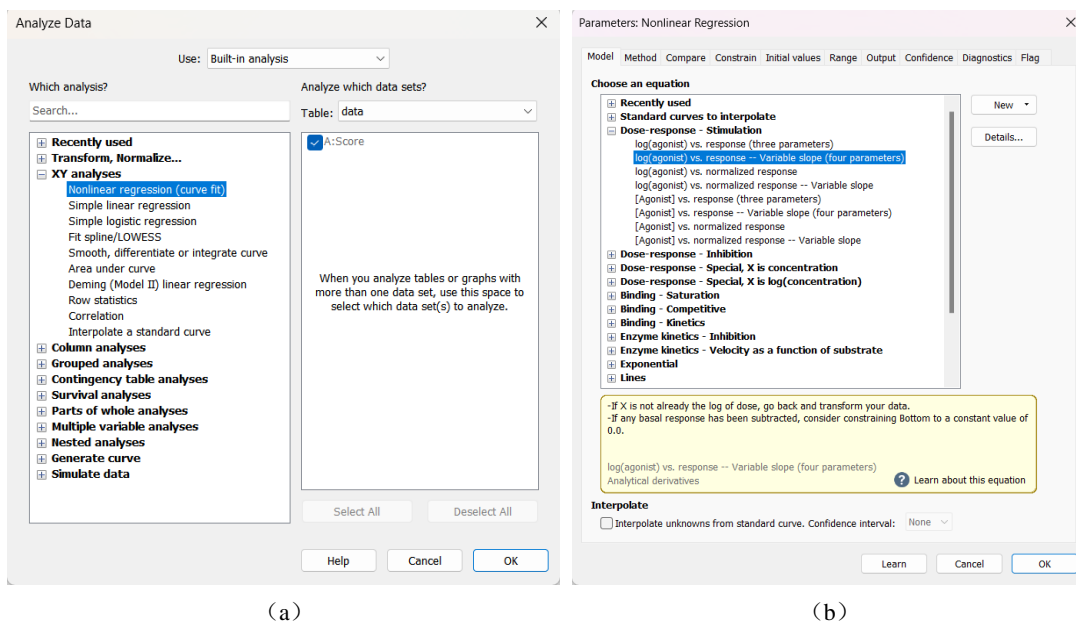


图 7.21 数据分析和方法选择对话框

4. 剂量-反应分析结果解读

在图 7.22 中显示了剂量-反应分析的结果。其中，A 列表示无抑制剂情况下的结果，B 列表示有抑制剂情况下的结果。

Nonlin fit		A	B
Table of results		No inhibitor	Inhibitor
1	log(agonist) vs. response -- Variable slope (four parameters)		
2	Best-fit values		
3	Bottom	-1.191	5.298
4	Top	370.2	348.2
5	LogEC50	-7.138	-6.011
6	HillSlope	0.9215	0.9010
7	EC50	7.275e-008	9.760e-007
8	Span	371.4	342.9
9	95% CI (profile likelihood)		
10	Bottom	-34.30 to 30.10	-23.43 to 30.53
11	Top	348.8 to 395.3	323.7 to 379.8
12	LogEC50	-7.304 to -6.965	-6.181 to -5.827
13	HillSlope	0.6829 to 1.247	0.6370 to 1.338
14	EC50	4.965e-008 to 1.085e-007	6.589e-007 to 1.490e-006
15	Goodness of Fit		
16	Degrees of Freedom	23	25
17	R squared	0.9645	0.9652
18	Sum of Squares	18685	18667
19	Sy.x	28.50	27.33
20			
21	Number of points		
22	# of X values	30	33
23	# Y values analyzed	27	29

图 7.22 剂量-反应分析结果

- ❑ **Best-fit values** 表示拟合的最佳结果。其中：**Bottom** 表示底部值，**HillSlope** 表示 Hill 斜率，**Top** 表示顶部值，**EC₅₀** 表示半数有效浓度，**logEC₅₀** 表示半数有效浓度的对数，**Span** 表示 **Top** 与 **Bottom** 的差值。
- ❑ **95% CI** 表示上述指标的 95% 置信区间。
- ❑ **Goodness of Fit** 表示模型的拟合精度的结果。其中：**Degrees of Freedom** 表示自由度，**R squared** 表示决定系数，**Sum of Squares** 表示平方和，**S_{y,x}** 表示剩余标准差。

7.4.3 绘制剂量-反应曲线

(1) 单击图 7.20 所示导航栏 Graphs 下的 New Graph，即可调出绘图界面，如图 7.23 (a) 所示。

- ❑ **Data sets to plot** 用于选择绘图数据。其中：**Table** 选项用于选择需要绘图的数据表，这里为 data。Also plot associated curves 表示绘制拟合曲线。
- ❑ **Kind of graph** 用于选择图形。在 show 选项中选择 XY。在下面的图形中选择第 1 个图形。共有 8 个图形可供选择，在实操过程中每个图形均可尝试，观察最终图形的样式是否满足个性化需求。
- ❑ **Plot** 选项设置为 Mean and Error 表示绘制均值与误差，此处误差选择 SD。
- ❑ 单击 **OK** 按钮即出现草图，如图 7.23 (b) 所示。

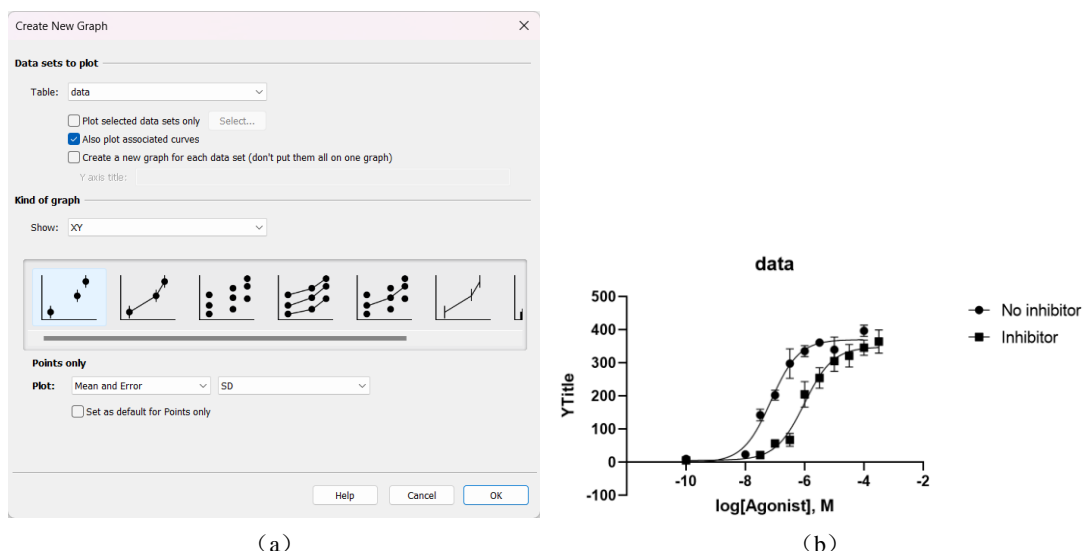


图 7.23 图形选择和剂量-反应分析草图

(2) 在图 7.23 (b) 的基础上，进一步对图形进行美化。在草图的 x 轴任意一处双击，即可弹出 x 轴的设置对话框。切换到 **X axis** 选项卡，如图 7.24 (a) 所示。

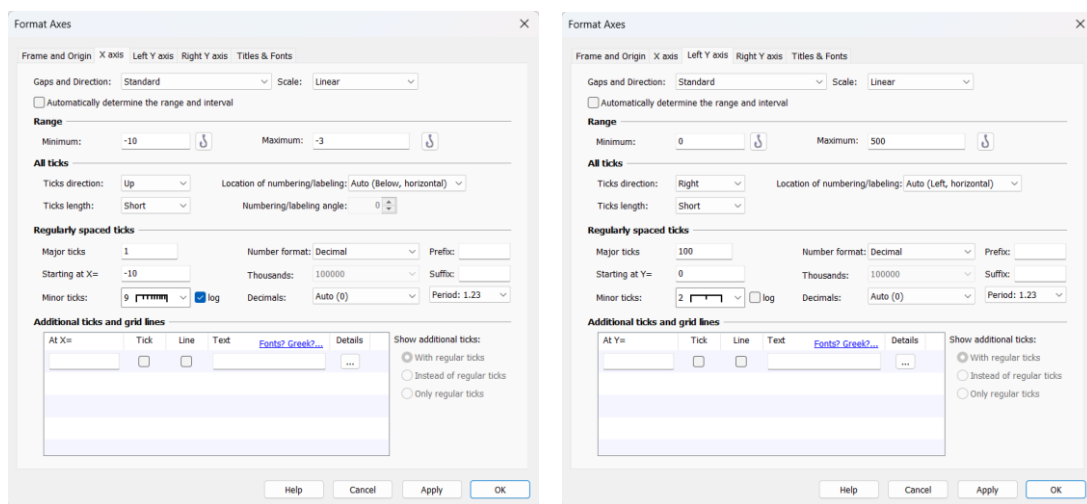
- ❑ **Automatically determine the range and interval** 选项默认是勾选的，表示自动化处理 x 轴

的范围、刻度线等，此处取消勾选，进行手动设置。

- Minimum** 选项表示 x 轴的最小值，此处设置为-10。**Maximum** 选项表示 x 轴的最大值，此处设置为-3。
- Ticks direction** 选项设置为 Up，表示 x 轴的刻度线朝上，即在图形内部。
- Ticks length** 表示刻度线长度的设置，此处选择 **Short**，即短刻度线。
- Major ticks** 选项表示主刻度线的间隔，此处设置为 1。
- Starting at X=**选项表示 x 轴刻度线的起始值，此处设置为-10。
- Minor ticks** 选项表示次刻度线，选择 9 表示次刻度线将主刻度间隔分成 9 节。
- 勾选 **log** 复选框表示次刻度线是对数化显示。
- 其他选项保持默认即可，单击 **OK** 按钮。

(3) 在草图的 y 轴任意处双击，即可弹出 y 轴的设置对话框，如图 7.24 (b) 所示。 y 轴与 x 轴的设置选项完全相同，此处不再赘述。

- 取消勾选 **Automatically determine the range and interval** 复选框，进行手动设置。
- Minimum** 选项设置为 0，**Maximum** 选项设置为 500。
- Ticks direction** 选项设置为 Right。
- Ticks length** 选项设置为 Short。
- Major ticks** 选项设置为 100。
- Starting at Y=**选项设置为 0。
- Minor ticks** 选项设置为 2。
- 其他选项保持默认即可，单击 **OK** 按钮。



(a)


(b)

图 7.24 x 轴和 y 轴设置对话框

(4) 坐标轴名称的修改只需要在草图中单击 x 轴的名称，在弹出的文本框中再单击一次 x 轴的名称即可修改。 y 轴的名称和图的名称的修改与此相同。

(5) 在草图中双击散点，弹出散点的设置对话框，如图 7.25 所示，在其中可设置散点的

类型、颜色和大小等。在 Show symbols 系列选项中，Color 选项用于设置散点颜色为水红色，Shape 选项用于设置散点类型为实心圆，Size 选项用于设置散点的大小为 3。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

注意：No inhibitor 与 Inhibitor 对应的散点需要单独设置。图 7.25 (a) 设置的是 No inhibitor 的散点，图 7.25 (b) 设置的是 Inhibitor 的散点。

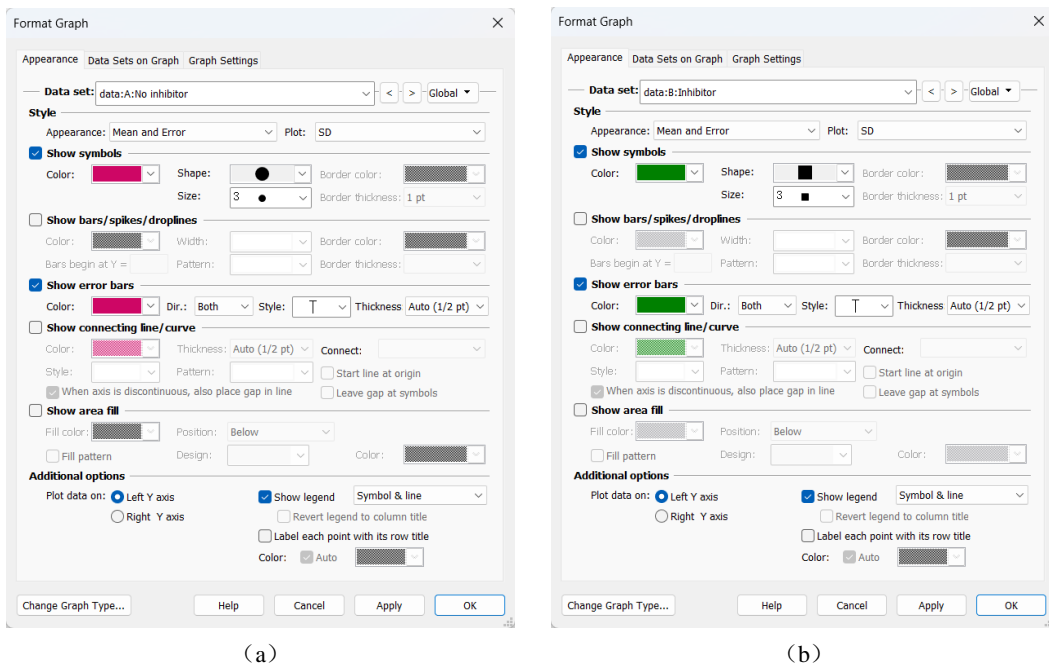


图 7.25 设置散点

(6) 在草图中双击曲线，弹出新的对话框，如图 7.26 所示。通过 Show connecting line/curve 系列选项设置线的特征，在 Color 选项中设置线的颜色为水红色，在 Thickness 选项中设置线的粗细为 1pt，在 Style 选项中设置线的形式为线段，在 Pattern 选项中设置线的类型为实线。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

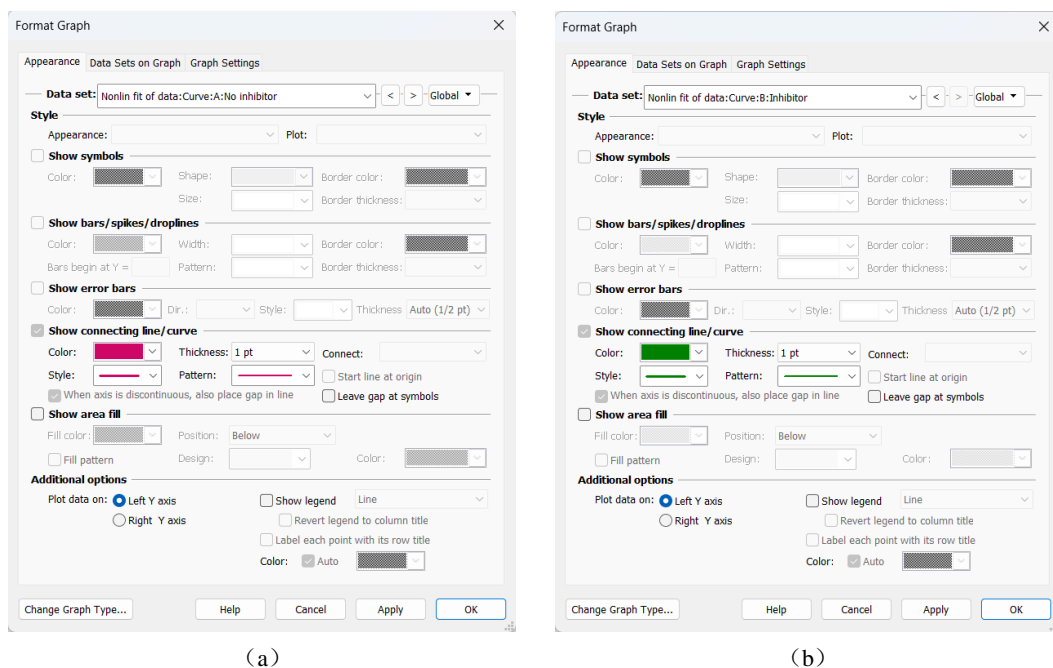



图 7.26 设置拟合线

注意: No inhibitor 与 Inhibitor 对应的拟合线需单独设置。图 7.26 (a) 设置的是 No inhibitor 的拟合线，图 7.26 (b) 设置的是 Inhibitor 的拟合线。

(7) 单击工具栏中的  按钮，弹出 Format Axes 对话框，如图 7.27 所示。在 Frame and Origin 选项卡中，将 Frame and Grid Line 系列选项中的 Frame style 选项设置为 Offset X & Y axes，即 x 轴、 y 轴离断。其他选项保持默认。单击 OK 按钮。

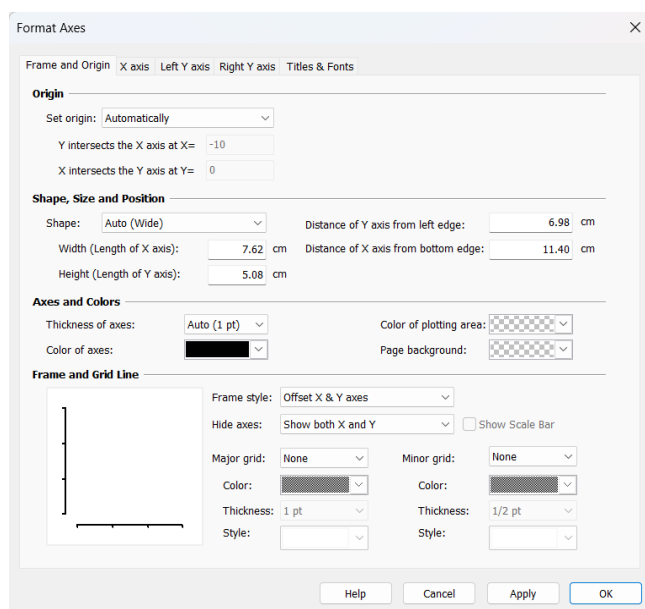


图 7.27 设置图的边框

(8) 单击工具栏中的 **T** 按钮，将鼠标移动到草图内部，再次单击，即调出文本框。在文本框中输入相应文字后选中文本框，通过键盘的上、下、左、右键将文本框移动至图内的合适位置，最终的图形如图 7.28 (a) 所示。

注意：各位读者可尝试绘制图 7.28(b)~(d)。在图 7.21(b) 的操作中，需要在 Confidence 选项卡中勾选 Plot confidence/prediction bands 复选框，详细步骤见配套视频。

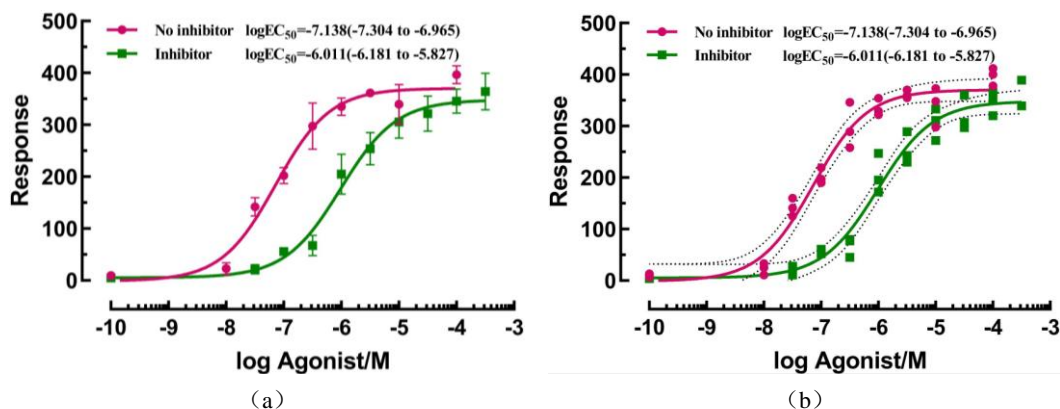


图 7.28 美化后的剂量-反应曲线

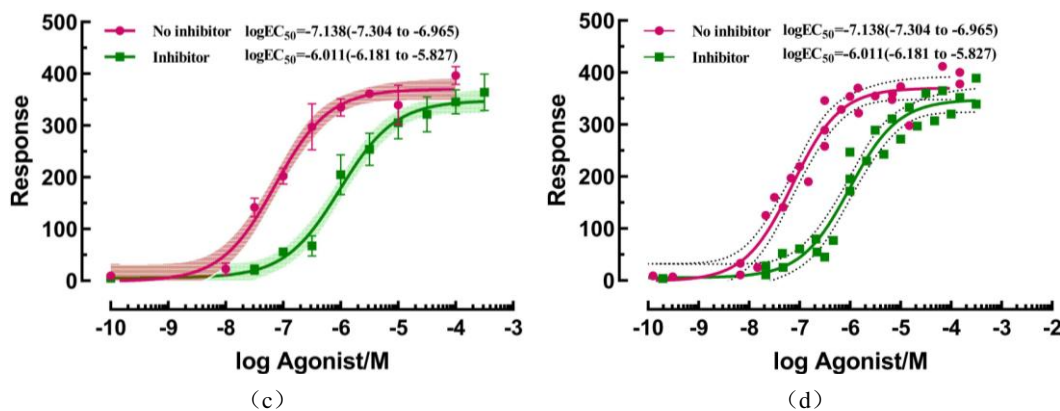


图 7.28 美化后的剂量-反应曲线 (续)

7.5 酶动力学-米氏方程

生物体内的化学反应需借助酶，以降低所需的活化能，使其以极缓慢的速度发生反应，酶动力学的研究有助于我们理解酶的功能和调控。常见的酶动力学实验是测量底物的不同浓度下酶促反应速度，通常拟合的模型是 Michaelis-Menten 模型，即米氏方程。

借助米氏方程能确定酶的最大反应速度，即 V_{\max} ，以及一半最大反应速度所需的底物浓度，即 K_m 。

7.5.1 米氏方程案例

本案例参考相关资料模拟一项酶动力学研究。观察不同底物浓度的酶催化化学反应的速率，即酶活性。数据见表 7.4。

表 7.4 整理后的数据格式（部分数据）

[Substrate]	Enzyme Activity		
1	261	245	199
3	525	483	501
5	666	801	750
7	881	897	902
9	888	846	858

变量信息如下：

- [Substrate]: 底物浓度。
- Enzyme Activity: 酶活性，每个底物浓度下重复 3 次。

7.5.2 米氏方程分析

1. 创建分析文件

(1) 打开 GraphPad Prism 软件，如图 7.29 所示，在 CREATE 下选择 XY 选项。

(2) 选择 Data table 下的 Enter or import data into a new table 单选按钮，再选择 Options 下的 Numbers 和 Enter 3 replicate values in side-by-side subcolumns 单选按钮。因为每个底物浓度下重复 3 次，故此输入 3。

(3) 单击 Create 按钮，完成分析文件的创建。

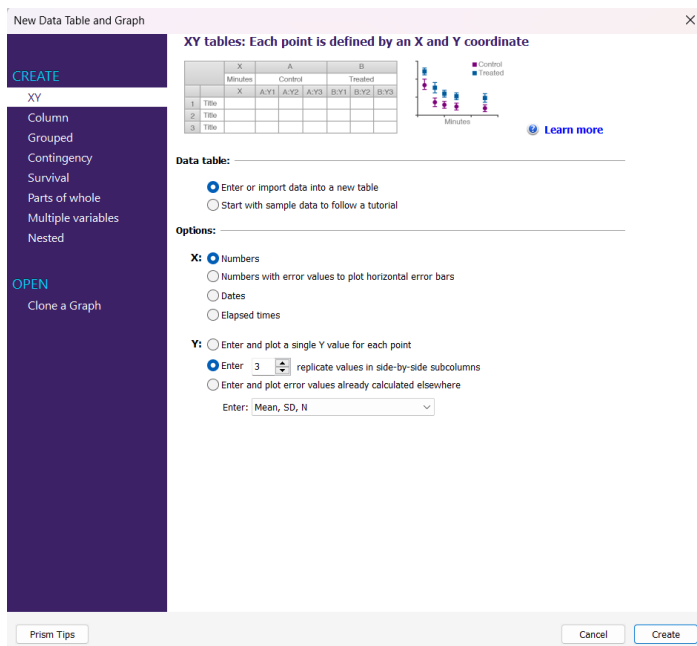


图 7.29 创建分析文件

2. 导入数据

直接复制在 Excel 中整理好的数据，共有 2 列，分别是 [Substrate] 和 Enzyme Activity，如图 7.30 所示。

3. 开始米氏方程分析

在图 7.30 导航栏中，Data Tables 表示数据界面，将本次的数据命名为 data。Results 表示统计分析结果界面，如果单击 New Analysis，将开始分析并弹出新的对话框。Graphs 表示统计图形绘制界面，如果单击 New Graph，将开始绘制散点图、拟合线并弹出新的对话框。

(1) 单击图 7.30 导航栏 Results 下的 New Analysis，弹出数据分析对话框，如图 7.31 (a) 所示。在 XY analyses 下选择 Nonlinear regression (curve fit)，其他设置保持默认，单击 OK 按钮，弹出新的对话框，如图 7.31 (b) 所示。

Table format:		X	Group A		
XY		[Substrate]	Enzyme Activity		
	X	A:Y1	A:Y2	A:Y3	
1	Title	1	261	245	199
2	Title	3	525	483	501
3	Title	5	666	801	750
4	Title	7	881	897	902
5	Title	9	888	846	858
6	Title	11	856	867	918
7	Title	13	936	1106	855
8	Title	15	983	958	995
9	Title	17	988	957	1101
10	Title	19	958	1025	991
11	Title				
12	Title				

图 7.30 数据复制

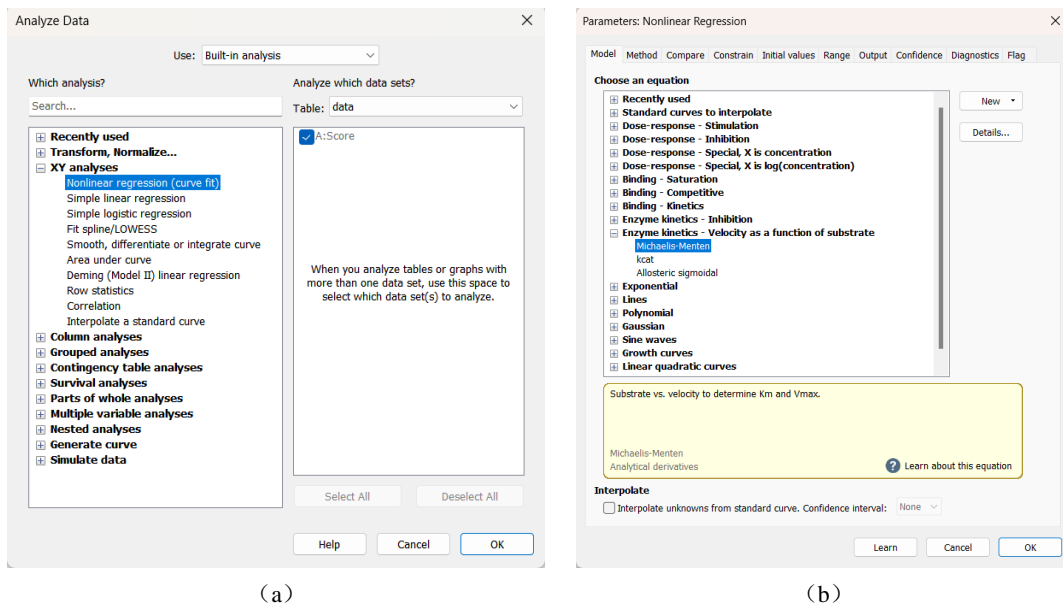


图 7.31 数据分析和方法选择对话框

(2) 在图 7.31 (b) 中选择 Enzyme kinetics-Velocity as a function of substrate 下的 Michaelis-Menten 选项, 此选项表示米氏方程。

(3) 单击 OK 按钮弹出相应结果。

4. 米氏方程分析结果解读

在图 7.32 中列出了米氏方程分析的结果。

□ Best-fit values 表示拟合的最佳结果。 V_{\max} 表示酶的最大反应速度为 1220, K_m 表示一半最大反应速度所需的底物浓度为 3.615。

□ 95% CI 表示上述指标的 95% 置信区间。

□ Goodness of Fit 表示模型的拟合精度的结果。其中: Degrees of Freedom 表示自由度, R squared 表示决定系数, Sum of Squares 表示平方和, $S_{y,x}$ 表示剩余标准差。

Nonlin fit		Enzyme Activity
Table of results		
1	Michaelis-Menten	
2	Best-fit values	
3	V_{\max}	1220
4	K_m	3.615
5	95% CI (profile likelihood)	
6	V_{\max}	1143 to 1310
7	K_m	2.834 to 4.597
8	Goodness of Fit	
9	Degrees of Freedom	28
10	R squared	0.9393
11	Sum of Squares	108105
12	$S_{y,x}$	62.14
13	Constraints	
14	K_m	$K_m > 0$
15		
16	Number of points	
17	# of X values	30
18	# Y values analyzed	30

图 7.32 米氏方程分析结果

7.5.3 绘制米氏方程曲线

(1) 单击图 7.30 导航栏 Graphs 下的 New Graph, 即可调出绘图界面, 如图 7.33 (a) 所示。

□ Data sets to plot 用于选择绘图数据, 通过 Table 选项选择需要绘图的数据表为 data。Also plot associated curves 选项表示绘制拟合曲线。

□ Kind of graph 用于选择图形, 通过 Show 选项选择 XY。在下方的图形中选择第 3 幅图形。共有 8 个图形可供选择, 在实操过程中每个图形均可尝试, 观察最终图形的样式是否满足个性化需求。

- Plot 选项设置为 Aligned 表示散点排列整齐。单击 OK 按钮，即出现草图，如图 7.33 (b) 所示。

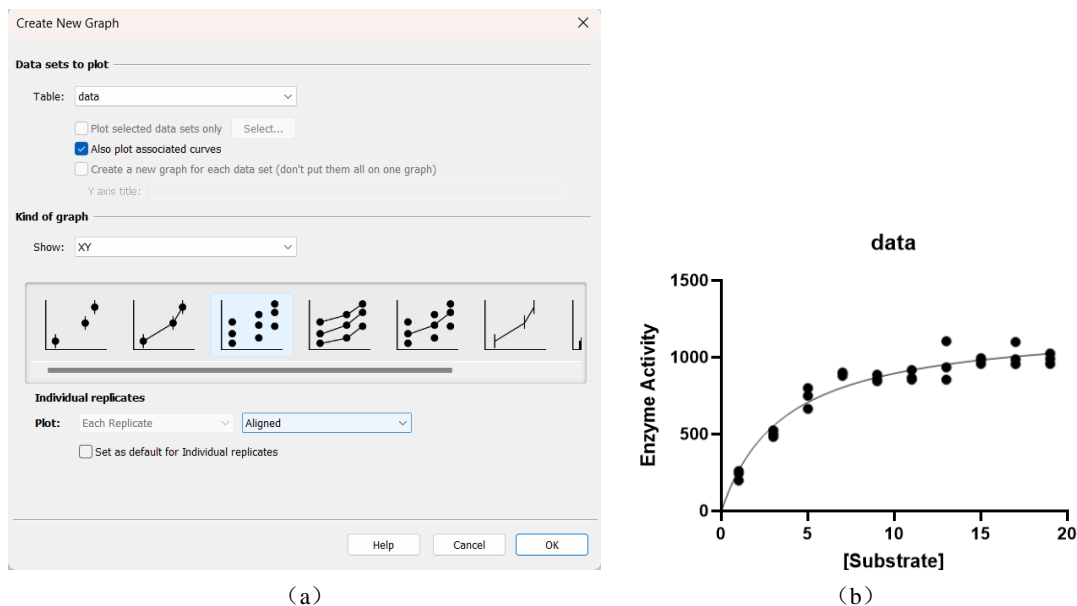


图 7.33 图形选择和米氏方程曲线草图

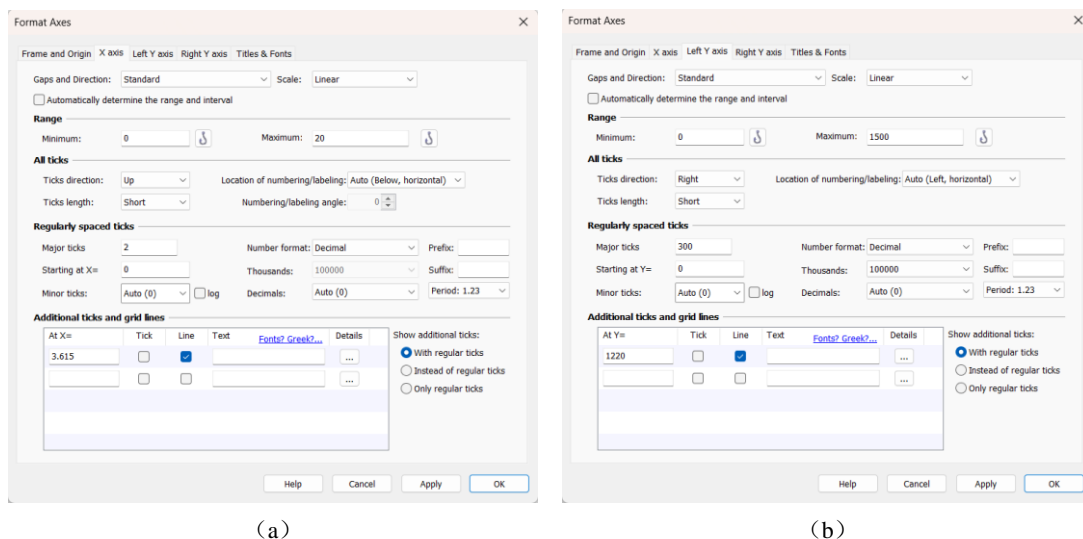
(2) 在图 7.33 (b) 的基础上，进一步对图形进行美化。在草图的 x 轴任意一处双击，即可弹出 x 轴的设置界面，如图 7.34 (a) 所示。

- 取消勾选 Automatically determine the range and interval 复选框，进行手动设置。
- Minimum 选项表示 x 轴的最小值，此处设置为 0，Maximum 选项表示 x 轴的最大值，此处设置为 20。
- Ticks direction 选项设置为 Up，表示 x 轴的刻度线朝上，即在图形内部。
- Ticks length 表示刻度线长度的设置，此处选择 Short，即短刻度线。
- Major ticks 选项表示主刻度线的间隔，此处设置为 2。
- Starting at X=选项表示 x 轴刻度线的起始值，此处设置为 0。
- Minor ticks 选项表示次刻度线，选择 0 表示无次刻度线。
- Additional ticks and grid lines 选项设置在 X=3.615 处，表示添加竖虚线。
- 其他选项保持默认即可，单击 OK 按钮。

(3) 在草图的 y 轴任意处双击，即可弹出 y 轴的设置对话框，图 7.34 (b) 所示。 y 轴与 x 轴的设置选项完全相同，此处不再赘述。

- 取消勾选 Automatically determine the range and interval 复选框，进行手动设置。
- Minimum 选项设置为 0，Maximum 选项设置为 1500。
- Ticks direction 选项设置为 Right。
- Ticks length 选项设置为 Short。
- Major ticks 选项设置为 300。
- Starting at Y=选项设置为 0。

- ❑ Minor ticks 选项设置为 0。
- ❑ Additional ticks and grid lines 选项设置 $Y=1220$ 处添加横虚线。
- ❑ 其他选项保持默认即可，单击 OK 按钮。

图 7.34 x 轴和 y 轴设置对话框

(4) 坐标轴名称的修改只需要在草图中单击 x 轴的名称，在弹出的文本框中再单击一次 x 轴的名称即可修改。 y 轴的名称和图的名称的修改方法与此相同。

(5) 在草图中双击散点，弹出散点的设置对话框，如图 7.35 (a) 所示，在其中可设置散点的类型、颜色、大小等。在 Show symbols 系列选项中，Color 选项设置散点颜色为浅绿色，Shape 选项设置散点类型为空心倒三角，Size 选项设置散点的大小为 3。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

(6) 在草图中双击曲线，弹出新的对话框，如图 7.35 (b) 所示。通过 Show connecting line/curve 系列选项设置线的特征，Color 选项设置线的颜色为深红色，Thickness 选项设置线的粗细为 1pt，Style 选项设置线的形式为线段，Pattern 选项设置线的类型为实线。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

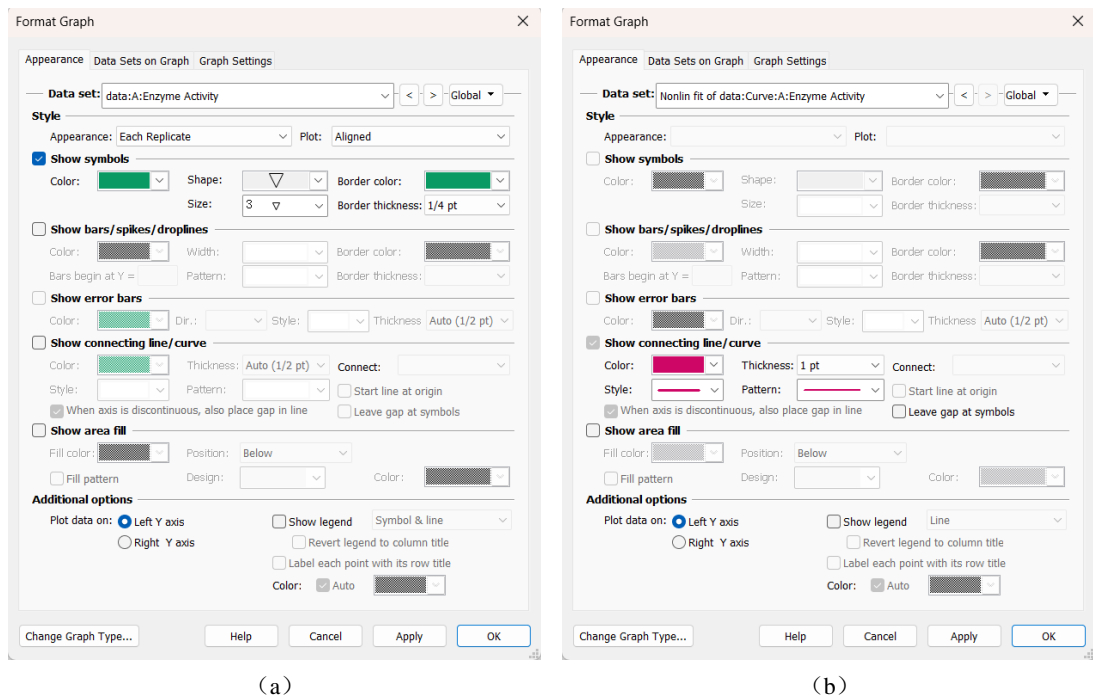


图 7.35 设置散点和拟合线

(7) 在草图中双击横虚线或竖虚线，弹出新的对话框，如图 7.36 所示。通过 Show Grid Line 系列选项设置参考线的颜色、粗细和形式等，其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

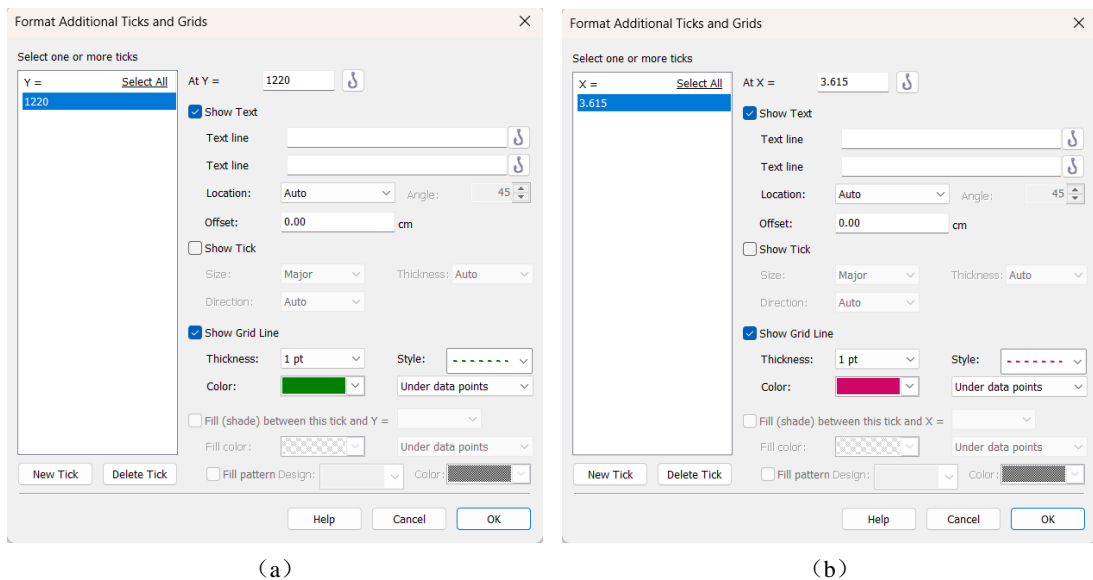


图 7.36 虚线设置

(8) 单击工具栏中的 按钮，弹出 Format Axes 对话框，切换到 Frame and Origin 选项卡，如图 7.37 所示。将 Frame and Grid Line 系列选项中的 Frame style 选项设置为 Offset X & Y

axes, 即 x 轴和 y 轴离断, 其他选项保持默认, 单击 OK 按钮。

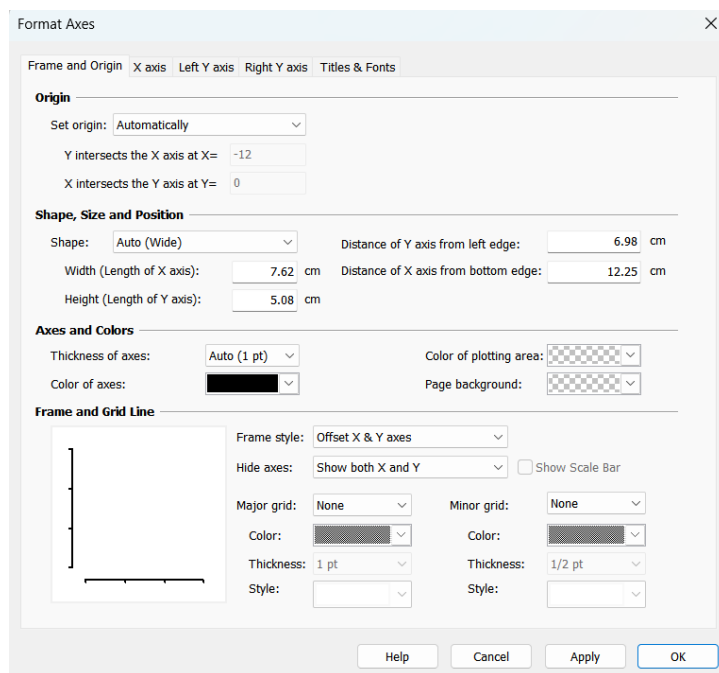


图 7.37 设置图的边框

(9) 单击工具栏中的 **T** 按钮, 将鼠标移动到草图内部, 再次单击即调出文本框。在文本框中输入相应文字后选中文本框, 通过键盘的上、下、左、右键将文本框移动至图内的合适位置, 最终图形如图 7.38 (a) 所示。

注意: 读者可尝试绘制图 7.38 (b) 所示的带有 95% 置信区间阴影的图形。在图 7.31 (b) 的操作中, 需要在 Confidence 选项卡中勾选 Plot confidence/prediction bands 选项, 详细步骤见配书视频。

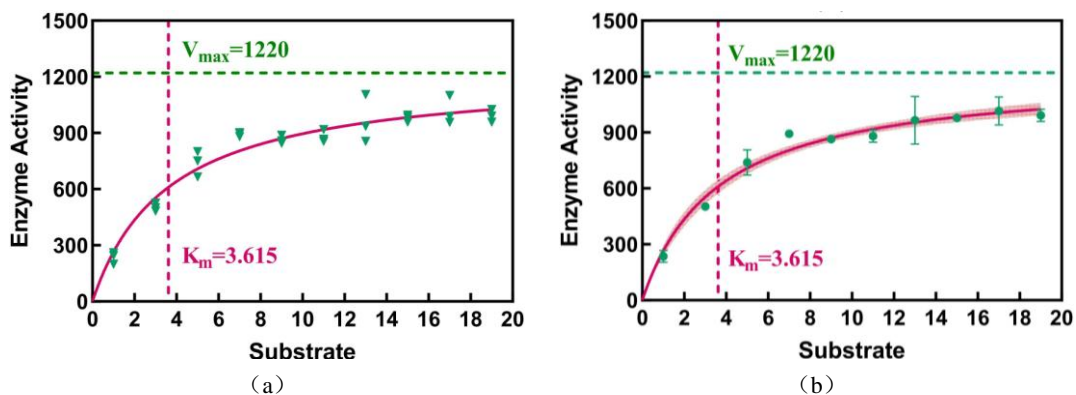


图 7.38 美化后的米氏方程曲线

7.6 Gompertz 生长曲线


Gompertz 生长曲线可以用于描述事物的发生和发展过程，其特点是曲线初期增长缓慢，中期增速加快，后期增速下降，并逐渐趋于饱和，最后接近水平线。在实际工作中除了 Gompertz 生长曲线外，还可以根据数据的性质来决定是否拟合马尔萨斯增长曲线、Logistic 曲线、贝塔增长衰减曲线等，不再过多介绍，感兴趣的读者可参阅 GraphPad Prism 官网，需要特别注意的是，每种生长曲线均有其适用范围，如 Gompertz 生长曲线和 Logistic 曲线适用于 S 型函数模型、马尔萨斯增长曲线适用于指数增长模型、贝塔增长衰减曲线适用于先增长后衰减模型。

7.6.1 男童身高案例

本案例参考相关资料模拟一项研究，罗列 7 岁以下男童身长/身高标准差单位值，见表 7.5。我们假定本案例数据适用于 Gompertz 模型。

表 7.5 整理后的数据格式（部分数据）

Month	-3SD	-2SD	-1SD	Median	+1SD	+2SD	+3SD
0	45.2	46.9	48.6	50.4	52.2	54	55.8
1	48.7	50.7	52.7	54.8	56.9	59	61.2
2	52.2	54.3	56.5	58.7	61	63.3	65.7
3	55.3	57.5	59.7	62	64.3	66.6	69
4	57.9	60.1	62.3	64.6	66.9	69.3	71.7
5	59.9	62.1	64.4	66.7	69.1	71.5	73.9
6	61.4	63.7	66	68.4	70.8	73.3	75.8

 注意：如果数据不满足 Gompertz 模型的要求，尽量不要拟合 Gompertz 模型。

变量信息如下：

- **Month**: 男童的年龄，单位为月。
- **-3SD**: 男童身长/身高低于均数 3 倍标准差值。
- **-2SD**: 男童身长/身高低于均数 2 倍标准差值。
- **-1SD**: 男童身长/身高低于均数 1 倍标准差值。
- **Median**: 男童身长/身高的中位数。
- **+1SD**: 男童身长/身高高于均数 1 倍标准差值。
- **+2SD**: 男童身长/身高高于均数 2 倍标准差值。
- **+3SD**: 男童身长/身高高于均数 3 倍标准差值。

7.6.2 Gompertz 模型分析

1. 创建分析文件

- (1) 打开 GraphPad Prism 软件，如图 7.39 所示，在 CREATE 下选择 XY 选项。
- (2) 选择 Data table 下的 Enter or import data into a new table 单选按钮，再选择 Options 下的 Numbers 和 Enter and plot a single Y value for each point 单选按钮。
- (3) 单击 Create 按钮，完成分析文件的创建。

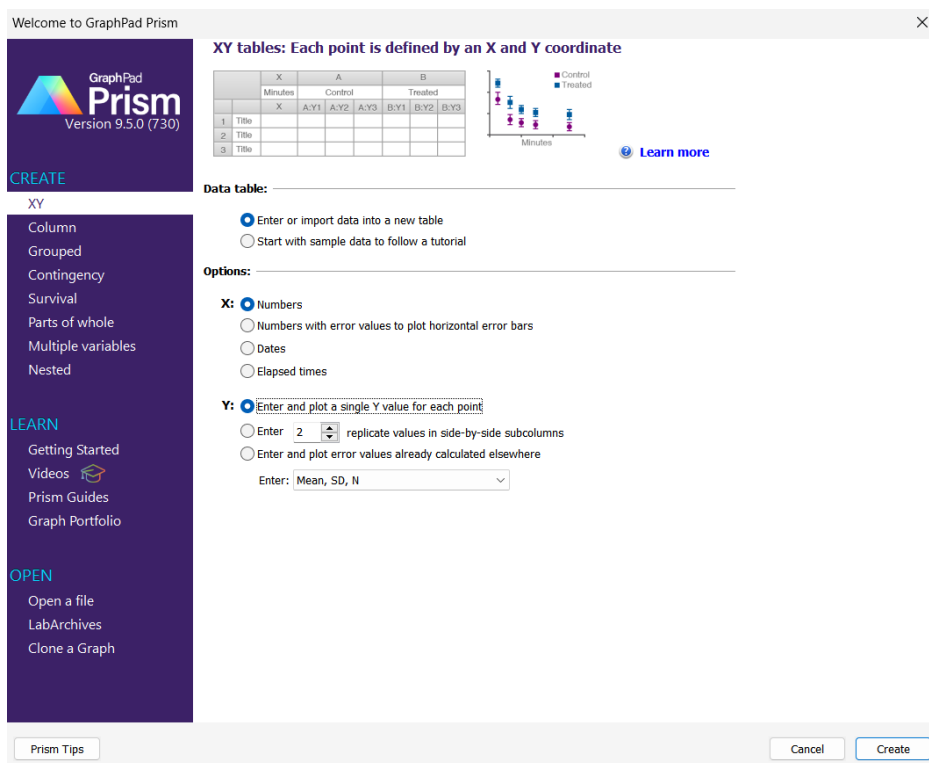


图 7.39 创建分析文件

2. 导入数据

复制在 Excel 中整理好的数据，如图 7.40 所示。

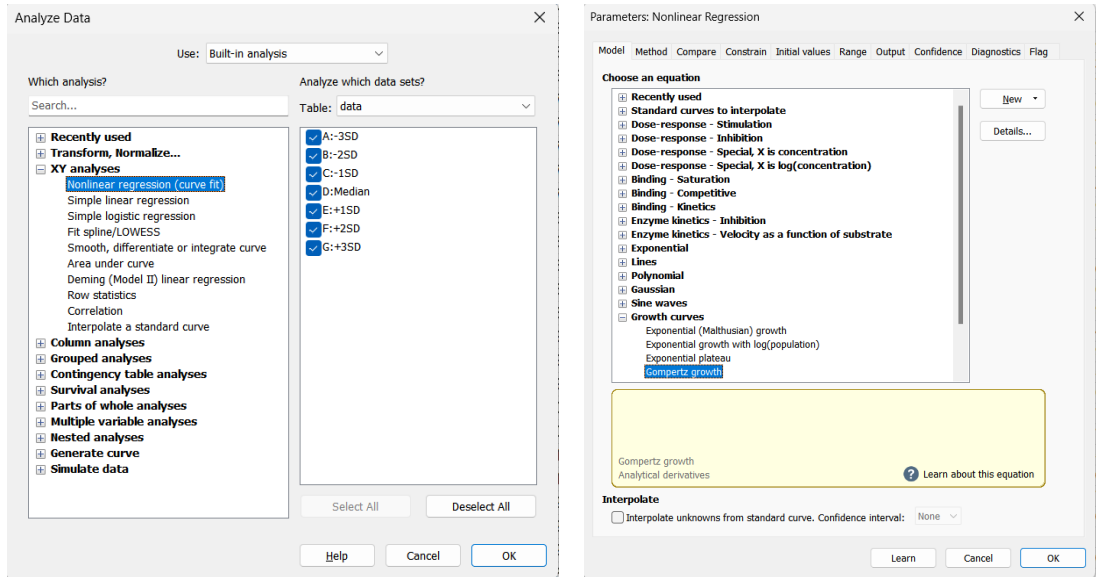
3. Gompertz分析

在图 7.40 所示的导航栏中，Data Tables 表示数据界面，将本次的数据命名为 data。Results 表示统计分析结果界面，如果单击 New Analysis，将开始分析并弹出新的对话框。Graphs 表示统计图形绘制界面，如果单击 New Graph，将开始绘制散点图、拟合线并弹出新的对话框。

Table format:		X	Group A	Group B	Group C	Group D
XY		Month	-3SD	-2SD	-1SD	Median
	X	X	Y	Y	Y	Y
1	Title	0	45.2	46.9	48.6	50.4
2	Title	1	48.7	50.7	52.7	54.8
3	Title	2	52.2	54.3	56.5	58.7
4	Title	3	55.3	57.5	59.7	62.0
5	Title	4	57.9	60.1	62.3	64.6
6	Title	5	59.9	62.1	64.4	66.7
7	Title	6	61.4	63.7	66.0	68.4
8	Title	7	62.7	65.0	67.4	69.8
9	Title	8	63.9	66.3	68.7	71.2
10	Title	9	65.2	67.6	70.1	72.6
11	Title	10	66.4	68.9	71.4	74.0
12	Title	11	67.5	70.1	72.7	75.3

图 7.40 数据复制

(1) 单击图 7.40 导航栏 Results 下的 New Analysis，弹出数据分析对话框，如图 7.41 (a) 所示。在 XY analyses 下选择 Nonlinear regression(curve fit)，其他设置保持默认，单击 OK 按钮，弹出新的对话框，如图 7.41 (b) 所示。



(a)

(b)

图 7.41 数据分析和方法选择对话框

- (2) 在图 7.41 (b) 中选择 Growth curves 下的 Gompertz growth 选项。
- (3) 单击 OK 按钮，弹出相应的结果。

4. Gompertz分析结果解读

在图 7.42 中列出了分析结果。

□ Best-fit values 表示拟合的最佳结果。其中：YM 表示 Gompertz 曲线 y 轴最大值，Y0 表示 Gompertz 曲线 y 轴起始值。K 用于确定滞后时间，1/K 表示 Gompertz 曲线转折点的 x 轴值。以 Median 为例，即图 7.42 中的 D 列，利用身长/身高中位数

拟合的 Gompertz 曲线, y 轴最大值为 122.7, y 轴起始值为 57.33, Gompertz 曲线转折点的 x 轴值为 28.12。

- 95%CI 表示上述指标的 95%置信区间。
- Goodness of Fit 表示模型的拟合精度的结果。其中: Degrees of Freedom 表示自由度, R squared 表示决定系数, Sum of Squares 表示平方和, $S_{y,x}$ 表示剩余标准差。

Nonlin fit Table of results		A	B	C	D
		-3SD	-2SD	-1SD	Median
1	Gompertz growth				
2	Best-fit values				
3	YM	108.3	113.0	117.7	122.7
4	Y0	51.42	53.36	55.30	57.33
5	K	0.03576	0.03566	0.03573	0.03556
6	1/K	27.97	28.04	27.99	28.12
7	95% CI (profile likelihood)				
8	YM	103.2 to 115.8	107.8 to 120.7	112.4 to 125.5	117.2 to 130.7
9	Y0	49.25 to 53.54	51.15 to 55.51	53.04 to 57.50	55.03 to 59.57
10	K	0.02787 to 0.04437	0.02798 to 0.04402	0.02823 to 0.04386	0.02825 to 0.04348
11	1/K	22.54 to 35.89	22.72 to 35.74	22.80 to 35.42	23.00 to 35.40
12	Goodness of Fit				
13	Degrees of Freedom	23	23	23	23
14	R squared	0.9837	0.9845	0.9852	0.9859
15	Sum of Squares	130.0	135.6	141.4	147.7
16	Sy.x	2.377	2.428	2.479	2.534
17	Constraints				
18	Y0	Y0 > 0	Y0 > 0	Y0 > 0	Y0 > 0
19	K	K > 0	K > 0	K > 0	K > 0
20					
21	Number of points				
22	# of X values	26	26	26	26
23	# Y values analyzed	26	26	26	26

图 7.42 Gompertz 分析结果

7.6.3 绘制 Gompertz 生长曲线

(1) 单击图 7.40 导航栏 Graphs 下的 New Graph, 即可调出绘图对话框, 如图 7.43 (a) 所示。

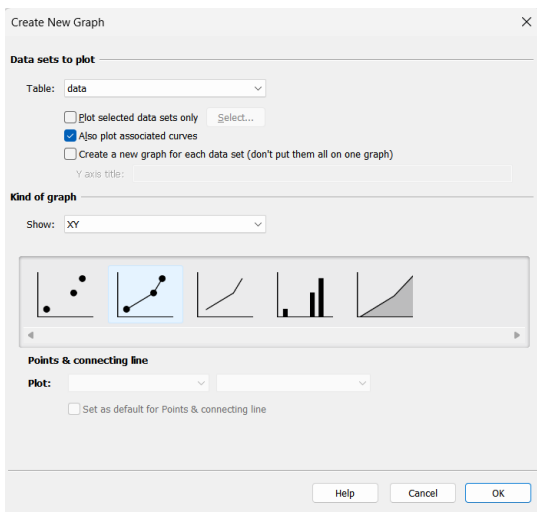
- Data sets to plot 用于选择绘图数据, 通过 Table 选项选择需要绘图的数据表为 data。Also plot associated curves 选项表示绘制拟合曲线。
- Kind of graph 用于选择图形菜单, 通过 Show 选项选择 XY。在下方的图形中选择第 2 个图形。共有 8 个图形可供选择, 在实操过程中每个图形均可尝试, 观察最终图形的样式是否满足个性化需求。
- 单击 OK 按钮, 即出现草图, 如图 7.43 (b) 所示。

(2) 在图 7.43 (b) 的基础上, 进一步对图形进行美化。在草图的 x 轴任意处双击, 即可弹出 x 轴的设置对话框, 切换到 X axis 选项卡, 如图 7.44 (a) 所示。

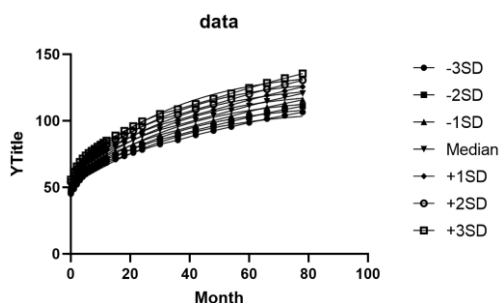
- 取消勾选 Automatically determine the range and interval 复选框, 进行手动设置。
- Minimum 选项表示 x 轴的最小值, 此处设置为 0。Maximum 选项表示 x 轴的最大值,

此处设置为 20。

- Ticks direction 选项设置为 Down，表示 x 轴的刻度线朝下，即在图形外部。
- Ticks length 表示刻度线长度的设置，此处选择 Short，即短刻度线。
- Major ticks 选项表示主刻度线的间隔，此处设置为 10。
- Starting at X=选项表示 x 轴刻度线的起始值，此处设置为 0。
- Minor ticks 选项表示次刻度线，选择 5 表示次刻度线将主刻度线分隔成 5 节。
- 其他选项保持默认即可，单击 OK 按钮。

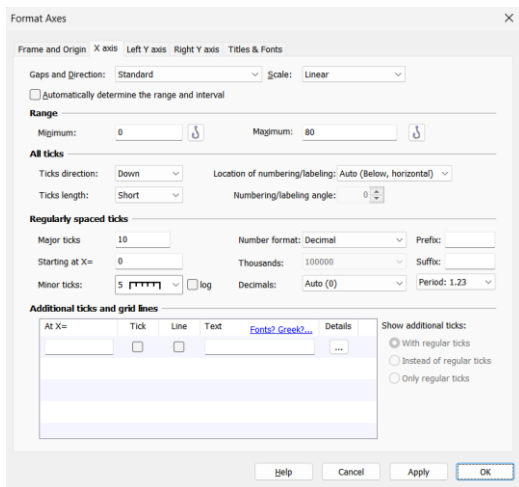


(a)

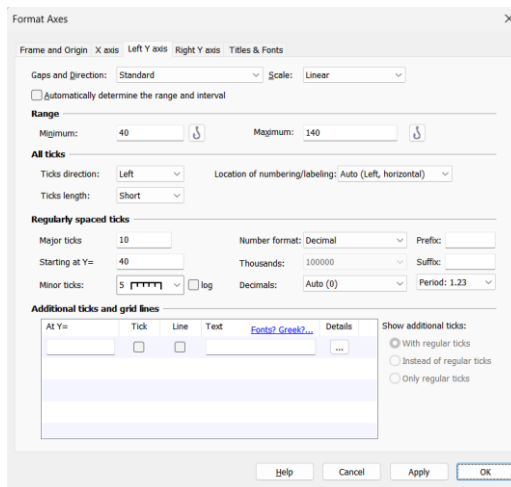


(b)

图 7.43 图形选择和 Gompertz 草图



(a)



(b)

图 7.44 x 轴和 y 轴设置对话框

(3) 在草图的 y 轴任意处双击，即可弹出 y 轴的设置对话框，如图 7.44 (b) 所示。y 轴与 x 轴的设置相同，此处不再赘述。

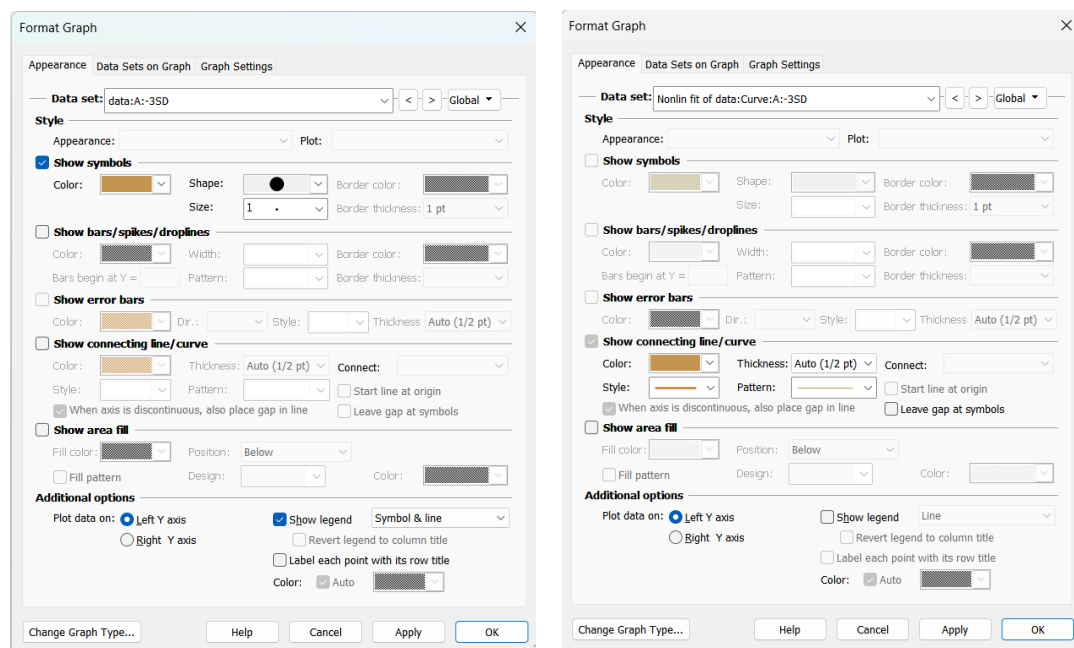
- 取消勾选 Automatically determine the range and interval 复选框，进行手动设置。
- Minimum 选项设置为 40，Maximum 选项设置为 140。
- Ticks direction 选项设置为 Left。
- Ticks length 选项设置为 Short。
- Major ticks 选项设置为 10。
- Starting at Y=选项设置为 40。
- Minor ticks 选项设置为 5。
- 其他选项保持默认即可，单击 OK 按钮。

(4) 坐标轴名称的修改只需要在草图中单击 x 轴的名称，在弹出的文本框中再单击一次 x 轴的名称即可修改。 y 轴的名称、图的名称的修改方法与此相同。

(5) 在草图中双击散点，弹出散点设置对话框，如图 7.45 (a) 所示，在其中可设置散点的类型、颜色和大小等。在 Show symbols 系列选项中，Color 选项用于设置散点颜色为姜黄色，Shape 选项用于设置散点类型为实心圆，Size 选项用于设置散点的大小为 1。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

注意：图 7.45 (a) 仅列出了-3SD 的散点设置，其他散点设置方法与此相同，不再赘述。

(6) 在草图中双击曲线，弹出新的对话框，如图 7.45 (b) 所示。通过 Show connecting line/curve 系列选项设置线的特征，Color 选项用于设置线的颜色为姜黄色，Thickness 选项用于设置线的粗细为 1/2pt，Style 选项用于设置线的形式为线段，Pattern 选项用于设置线的类型为实线。其他选项保持默认，单击 OK 按钮。




(a)

(b)

图 7.45 散点和拟合线设置对话框

注意：图 7.45 (b) 仅列出了-3SD 的拟合线设置，其他拟合线设置方法与此相同，不再赘述。

(7) 单击工具栏中的  按钮，弹出 Format Axes 对话框，切换到 Frame and Origin 选项卡，如图 7.46 所示。

- ❑ 将 Shape 选项设置为 Square，即正方形。
- ❑ 在 Width(Length of X axis)选项中设置 x 轴的宽度为 8，在 Height(Length of Y axis)选项中设置 y 轴的高度为 8。
- ❑ 在 Thickness of axes 选项中设置坐标轴边框线粗细为 1/2pt。在 Color of axes 选项中设置坐标轴边框线颜色为黑色。
- ❑ Frame style 选项设置为 Plain Frame，即四边框。
- ❑ 在 Major grid 选项中设置主刻度网格线，在 Minor grid 选项中设置次刻度网格线，在 Color 选项中设置网格线颜色为灰色，在 Thickness 选项中设置网格线粗细为 1/4pt，在 Style 选项中设置网格线类型。
- ❑ 其他选项保持默认，单击 OK 按钮。

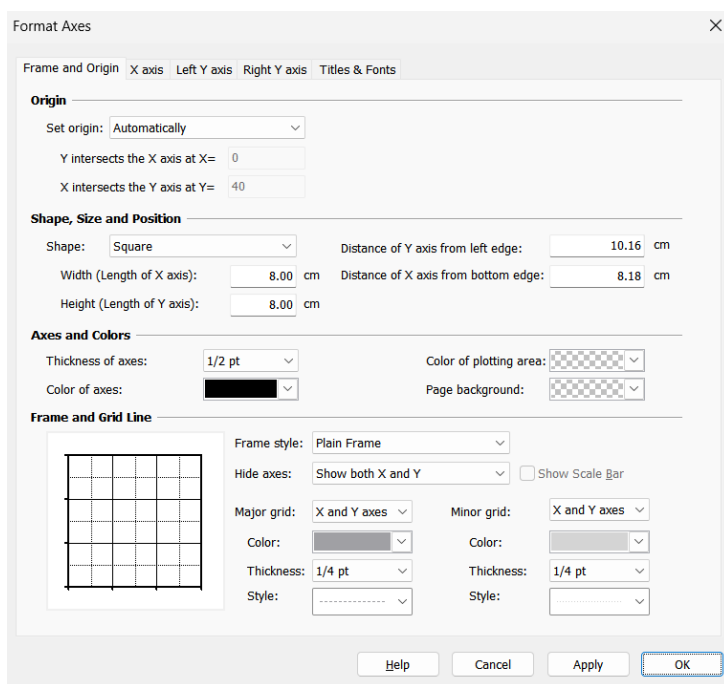


图 7.46 设置图的边框

(8) 通过键盘的上、下、左、右键将图例移动至图内的合适位置，最终的图形如图 7.47 (a) 所示。

注意：读者可尝试绘制图 7.47 (b)，详细步骤见配书视频。除此之外，本案例也可拟合 Logistic 生长曲线，操作步骤及最终图形与本节几乎相同。另外由于本案例的特殊性，每个时间点只有一个观测值，不可绘制误差线、置信区间等。

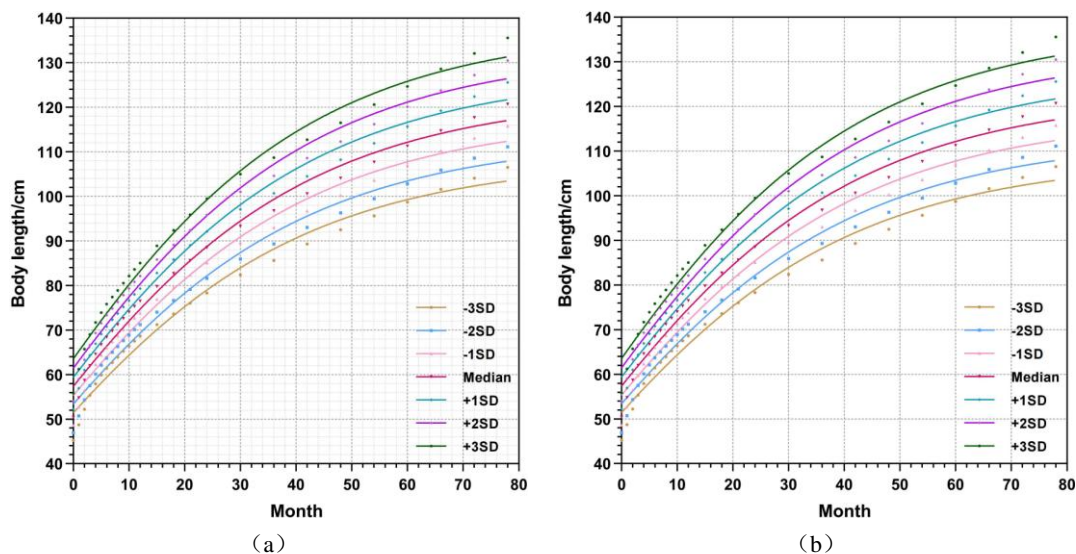


图 7.47 美化后的 Gompertz 生长曲线

7.7 小 结

本章介绍了几种常见的非线性回归模型的分析及绘图过程，并涉及各个模型的指标或参数计算。限于篇幅，这些参数的具体计算公式及原理并未展现，仅介绍了其含义及用法。如果读者需要深入理解这些参数，可参阅 GraphPad Prism 官网，本章的部分案例数据改编自 GraphPad Prism 官网的源文件。

对于未介绍的非线性回归模型，如受体结合曲线、Logistic 生长曲线、指数模型、正弦波等，GraphPad Prism 官网提供了示例文件，读者可结合本章的内容触类旁通。