多个样本均数比较的方差分析

- 前章介绍了两样本均数比较的*t*检验。在医学科学研究中，常常要通过多个样本均数比较来推断各处理组间是否存在差别，此时若多次重复使用*t*-test，会使犯第Ⅰ类错误（假阳性错误）的概率增大，且脱离了原先的实验设计，将多个样本均数的同时比较转变为两个样本均数的多次比较。若采用实验设计所对应的方差分析同时分析多个样本均数的差别，则可避免以上问题。

第一节 方差分析的基本思想和应用条件

- 方差分析（analysis of variance, ANOVA）的理论依据是*F*分布，故又称*F*检验。在处理实验设计资料时，主要用于推论多个处理组处理效应的差别。
- 下面结合例11-1的试验结果，介绍方差分析的基本思想及其应用条件。

- **例11-1** 为了解烫伤后不同时期切痂对肝脏三磷酸腺苷（简写为ATP）的影响，将30只雄性大鼠随机分成3组, 每组10只：A组为烫伤对照组，B组为烫伤后24小时(休克期)切痂组，C组为烫伤后96小时（非休克期）切痂组。全部动物统一在烫伤后168小时处死并测量其肝脏的ATP含量，结果见表11-1。这一问题的解决可以归结为三组ATP总体均数差别的比较。如果三组ATP的总体均数存在差别，则推论B组和C组的处理对ATP有影响。

表 11-1　　大鼠烫伤后肝脏 ATP 的测量结果（mg）

	A 组	B 组	C 组	
X_{ij}	7.76	11.14	10.85	
	7.71	11.60	8.58	
	8.43	11.42	7.19	
	8.47	13.85	9.36	
	10.30	13.53	9.59	
	6.67	14.16	8.81	
	11.73	6.94	8.22	
	5.78	13.01	9.95	
	6.61	14.18	11.26	
	6.97	17.72	8.68	
n_i	10	10	10	30（N）
$\overline{X}_i$	8.04	12.76	9.25	10.02 （$\overline{X}$）
$T_i=\sum_{j=1}^{n_i} X_{ij}$	80.43	127.55	92.49	300.47（$\sum X$）
$Q_i=\sum_{j=1}^{n_i} X_{ij}^2$	676.32	1696.96	868.93	3242.21（$\sum X^2$）

一、方差分析的基本思想

由表11-1 资料可以看到以下三种变异，即总变异、组间变异、组内变异。

1．总变异

30 只大鼠肝脏的 ATP 的测量结果大小各不相同，各测量值与总均数($\bar{X}=10.02$)的离差平方和称之为总变异（total variation），其大小可用全体数据（30 个数据）的方差表示，或称总均方$MS_{总}$。按方差的计算公式，

$MS_{总}=SS_{总}/\nu_{总}$，其中$SS_{总}=\sum_{i=1}^{k}\sum_{j=1}^{n_i}(X_{ij}-\bar{X})^2$，$k$为组数，$n_i$为第$i$组例数，$\nu_{总}=N-1$为总的自由度，$N$表示总例数。$MS_{总}$是各观察值$X_{ij}$与总均数$\bar{X}$的方差。

2. 组间变异

三组大鼠肝脏 ATP 的均数 $\overline{X}_i$ 大小不等，其与总均数 $\overline{X}$ 的离差平方和称之为组间变异(variation among groups)。组间变异反映了处理因素的作用（处理确有作用时），也包括了随机误差（包括个体差异及测量误差）。

其大小可用组间均方 $MS_{组间}$ 表示，即 $MS_{组间}=SS_{组间}/\nu_{组间}$，其中，$SS_{组间}=\sum_{i=1}^{k}n_i(\overline{X}_i-\overline{X})^2$，$\nu_{组间}=k-1$

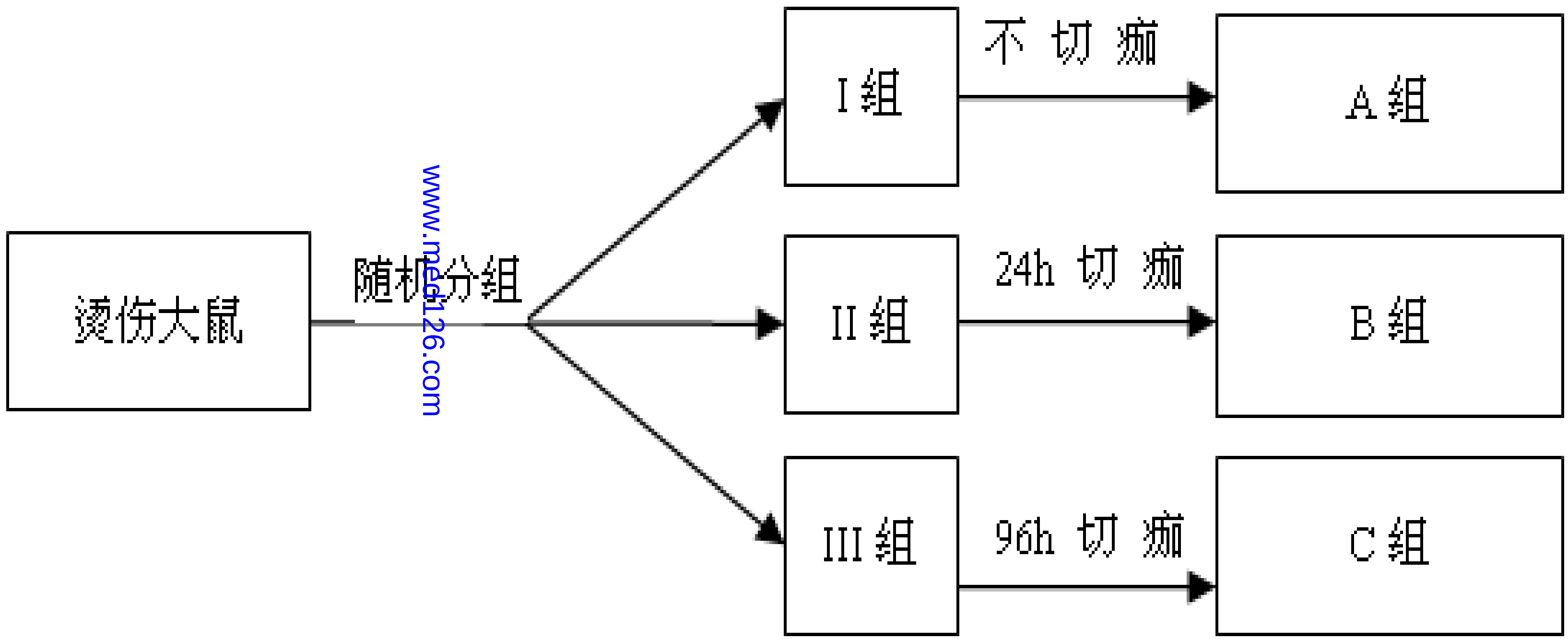
为组间自由度。$MS_{组间}$ 表示各组均数与总均数的方差。

3. 组内变异

各组内部 ATP 含量值大小不等，各组测量值 X_{ij} 与该组均数 $\overline{X}_j$ 的离差平方和称之为组内变异(variation within groups)。组内变异反映了随机误差的作用，其大小可用组内均方 $MS_{组内}$ 表示，$MS_{组内}=SS_{组内}/\nu_{组内}$，

其中 $SS_{组内}=\sum_{i=1}^{k}\left[\sum_{j=1}^{n_i}\left(X_{ij}-\overline{X}_j\right)^2\right]$，$\nu_{组内}=N-k$。$\nu_{组内}$ 为组内自由度。$MS_{组内}$ 表示各组内随机误差的方差。

可以证明，$SS_{总} = SS_{组间} + SS_{组内}$，且 $\nu_{总} = \nu_{组间} + \nu_{组内}$。



组间误差=随机误差　　组间误差=随机误差+干预作用？

$MS_{组间} = MS_{组内}$　　$MS_{组间} \geq MS_{组内}$ ？

图 11-1　组间误差与组内误差示意图

图11-1说明：若$\mu_1=\mu_2=\mu_3$（干预前三组大鼠肝脏ATP含量的总体均数相同），则$MS_{组间}$与$MS_{组内}$应十分接近，$MS_{组间}$和$MS_{组内}$有差别的原因可解释为随机误差，两者的比值$F=MS_{组间}/MS_{组内}\approx 1$（样本数据由于抽样误差的影响，$F$值一般不正好等于1，而是接近于1）。若干预因素有效，即$\mu_1=\mu_2=\mu_3$的假设不成立，$MS_{组间}$将明显大于$MS_{组内}$（$MS_{组间}$增加了干预因素的作用），因此F值也明显大于1。F值要大到多少才有统计学意义？可查F界值表（附表4）得到相应的P值，然后按所取的检验水准做出结论。

F值是进行多组均数间差别比较的一个重要的检验统计量，它服从自由度为ν_1，ν_2的F分布，其中ν_1为分子均方的自由度，ν_2为分母均方的自由度。附表4中的F分布的界值记为F_{α,ν_1,ν_2}。

方差分析的应用条件

- ①各组样本是相互独立的随机样本且来自正态总体。
- ②各组总体方差相等，即方差齐性（homoscedasticity）。
- 上述两个条件与两均数比较的*t*检验的应用条件是相同的。实际上，当组数为2时，方差分析与两均数比较的*t*检验是等价的，且对同一资料有。

第二节 完全随机设计资料的方差分析

- 完全随机设计（completely random design）只设计一个处理因素（该因素有两个或两个以上水平），采用完全随机的方法直接将受试对象分配到各个处理水平组。各处理水平组例数可以相等亦可以不等。以例11-1为例，先将30只大鼠按体重大小编号，从附表15中第10行第6列、第7列向下开始取2位的随机数，即63，73，65，……。随机数排出序号后，序号1~10为A组，序号11~20为B组，序号21~30为C组。

例 11-2（续例 11-1） 试根据表 11-1 的试验结果，检验三组大鼠肝脏的 ATP 的总体均数是否相同

解：

1．建立假设、确定检验水准α。

H_0：$\mu_1=\mu_2=\mu_3$（不同时期切痂对 ATP 含量无影响）；

H_1：μ_1,μ_2,μ_3不等或不全相等（不同时期切痂对 ATP 含量有影响）；

$\alpha=0.05$ 。

2．计算 F 值。

（1）离均差平方和的分解

完全随机设计资料总的离均差平方和$SS_{总}$可以分解为$SS_{组间}$和$SS_{组内}$(或称为$SS_{误差}$)，若记

$$C=\frac{(\sum X)^2}{N}$$

则有

$$SS_{总}=\sum_{i=1}^{k}\sum_{j=1}^{n_j}(X_{ij}-\bar{X})^2=\sum X^2-C\text{，}\qquad \nu_{总}=N-1 \qquad \text{(11-1)}$$

$$SS_{组间}=\sum_{i=1}^{k}n_i(\bar{X}_i-\bar{X})^2=\sum_{i=1}^{k}\frac{(\sum_{j=1}^{n_j}X_{ij})^2}{n_i}-C$$

$$=\sum_{i=1}^{k}\frac{T_i^2}{n_i}-C\quad\text{，}\qquad \nu_{组间}=k-1 \qquad \text{（11-2）}$$

$$SS_{组内}=SS_{总}-SS_{组间}\quad\text{，}\quad \nu_{组内}=\nu_{总}-\nu_{组间}=N-k \qquad \text{（11-3）}$$

（2）计算各离均差平方和SS，自由度ν、均方MS和F值

整个计算过程可用表 **11-3** 表示。

表 11-3　　完全随机设计方差分析计算表

变异来源	SS	DF	MS	F 值	值
组间	$SS_{组间}$	$\nu_{组间}=k-1$	$MS_{组间}=\dfrac{SS_{组间}}{\nu_{组间}}$	$F=\dfrac{MS_{组间}}{MS_{组内}}$	
组内(误差)	$SS_{组内}=SS_{总}-SS_{组间}$	$\nu_{组内}=\nu_{总}-\nu_{组间}=N-k$	$MS_{组内}=\dfrac{SS_{组内}}{\nu_{组内}}$		
总变异	$SS_{总}$	$\nu_{总}=N-1$			

本例　$C=\dfrac{(300.47)^2}{30}=3009.4074$

$$SS_{总}=3242.21-3009.4074=232.8026，\qquad \nu_{总}=30-1=29$$

$$SS_{组间}=\frac{(80.43)^2}{10}+\frac{(127.55)^2}{10}+\frac{(92.49)^2}{10}-3009.4074=119.8314，\quad \nu_{组间}=3-1=2$$

$$SS_{组内}=SS_{总}-SS_{组间}=232.8026-119.8314=112.9712，\qquad \nu_{组内}=30-3=27$$

代入方差分析表中并求出相应的 MS 及 F 值，见表 **11-4**。

表 11-4　表 11-1 资料的方差分析表

变异来源	SS	DF	MS	F值	P值
组 间	119.8314	2	59.916	14.32	< 0.05
组 内	112.9712	27	4.184		
总变异	232.8026	29			

3．查 F 界值表，确定 P 值，下结论。

由附表 4 查得 $F_{0.05,2,27}=3.35$，因 $F=14.32>F_{0.05,2,27}$，所以 $P<0.05$。

结论：按 $\alpha=0.05$ 水准，拒绝 H_0，接受 H_1，认为三组的差别具有统计学意义，不同时期切痂对大鼠肝脏的 ATP 含量有影响。

- 方差分析的结果只能说明多组间是否有差别，有时我们更关心哪两组间有差别(如本例更关心两个切痂组的ATP含量是否有差别)。这时可进行多个均数的两两比较，详见本章第四节。

第三节 随机区组设计资料的方差分析

- 随机区组设计（**randomized block design**）亦称配伍组设计或单位组设计，是配对设计的扩展。具体做法是首先将受试对象按可能影响试验结果的属性分组（非随机分组），如按动物的性别、体重分组，按病人的年龄、职业、病情分组等。分组的原则是属性相同或相近的分在同一组内，共形成***b***个区组，再分别将各区组内的受试对象随机分配到各处理组。其设计特点是：每个区组的受试对象数与处理组数相等，区组内的受试对象生物学特性较均衡，可减少试验误差，提高统计假设检验的效率。

- 例**11-4**（续例11-3） 根据表11-6的试验结果，检验甲、乙、丙、丁不同浓度的血水草总生物碱对小鼠体内的尾蚴存活率的影响。（注：这里的小鼠体内的尾蚴存活率是测量指标，不同于第四章计数资料统计指标的“率”）

表 11-7　　随机区组设计方差分析计算表

变异来源	SS	DF	MS	F 值	P 值
处理组间	$SS_{处理}$	$\nu_{处理}=k-1$	$MS_{处理}=\frac{SS_{处理}}{\nu_{处理}}$	$F_{处理}=\frac{MS_{处理}}{MS_{误差}}$	
区组间	$SS_{区组}$	$\nu_{区组}=b-1$	$MS_{区组}=\frac{SS_{区组}}{\nu_{区组}}$	$F_{区组}=\frac{MS_{区组}}{MS_{误差}}$	
误差	$SS_{误差}=SS_{总}-SS_{处理}-SS_{区组}$	$\nu_{误差}=\nu_{总}-\nu_{处理}-\nu_{区组}$ $=(k-1)(b-1)$	$MS_{误差}=\frac{SS_{误差}}{\nu_{误差}}$		
总变异	$SS_{总}$	$\nu_{总}=N-1$			

表 11-8 例 11-4 方差分析结果表

变异来源	SS	DF	MS	F值	P值
处理组间	0.9478	3	0.3159	16.7294	<0.01
区组间	0.4840	11	0.0440	2.3300	<0.05
误差	0.6231	33	0.0189		
总变异	2.0549	47			

注意问题

- 在实际工作中，一般只对试验的研究因素感兴趣，即注重处理组间差别的假设检验，必要时也可对区组间的差别进行假设检验。本例，，，区组间的总体均数有差别，说明小鼠体重（或各区组的试验条件）对小鼠体内尾蚴存活率有影响。

第四节 多个均数间的两两比较

- 经方差分析，若各组的均数差别无统计学意义，则不需要作进一步的统计处理，但是当方差分析结果为$P<\alpha$时，只说明*k*组总体均数不相同或不全相同，不能说明各组总体均数间有差别。如果要分析哪两组间均数有差别，需进行多个均数间的两两比较（multiple comparison）。在进行两两比较时若仍用两均数比较*t*检验，将会增加第一类错误的概率，把本来无差别的两个总体均数判为有差别。

例如，有 4 个均数比较，两两比较的次数为 $C_4^2 = 6$ 次，用 t 检验作 6 次比较，设每次检验的 $\alpha = 0.05$，则每次比较不犯第一类错误的概率为 $(1-0.05)=0.95$，6 次不犯第一类错误的概率为 $0.95^6 = 0.7351$。此时犯第一类错误的概率可能增大至 $1-0.7351=0.2649$，远大于预先设定的 0.05。因此，多重均数的比较不能用两样本均数比较 t 检验。本节介绍三种多重比较方法：SNK-q 检验法、LSD-t 检验法和 Dunnett-t 检验法。

SNK-*q*检验

- SNK为Student-Newman-Keuls三人姓氏的缩写，检验统计量为*q*，亦称*q*检验，适用于多个均数的两两比较，常用于探索性研究。*q*的计算公式如下

$$q=\frac{\left|\overline{X}_i-\overline{X}_j\right|}{S_{\overline{X}_i-\overline{X}_j}} \qquad (11\text{-}6)$$

其中 $$S_{\overline{X}_i-\overline{X}_j}=\sqrt{\frac{MS_{误差}}{2}\left(\frac{1}{n_i}+\frac{1}{n_j}\right)} \qquad (11\text{-}7)$$

式中，$\overline{X}_i$，n_i 为第 i 组的样本均数及样本例数，$\overline{X}_j$，n_j 为第 j 组的样本均数及样本例数。$MS_{误差}$ 为方差分析表中的误差均方。完全随机设计资料，$MS_{误差}$ 即是 $MS_{组内}$。

LSD-*t*检验

- 即最小显著差异（least significant difference）*t*检验。适用于某一对或几对在专业上有特殊价值的均数间差别的比较。

三、Dunnett-*t*检验

- 适用于*k*-1个实验组与一个对照组均数差别的多重比较，检验统计量为Dunnett-*t*值，

第五节 多组样本的方差齐性检验

进行方差分析比较多组样本均数差别时，要求所对比的各组总体方差相等，即：$\sigma_1^2=\sigma_2^2=\sigma_3^2=\cdots=\sigma_k^2$。因此

在做方差分析之前，应先对资料进行方差齐性检验，在样本方差悬殊时尤应如此。两样本方差进行齐性检

验的方法前已介绍（见第十章），多个样本方差齐性检验较为常用的是 Bartlett 法，其检验统计量为 χ^2。

第六节 重复测量数据的方差分析 *

- 对于临床上常见的重复测量数据（repeated measurement data），也称监测数据（monitoring data），即每个患者的临床观察结果是多次重复测量结果的连线（见图11-2），统计分析的目的是比较这些连线变化趋势的特征。

一、最佳选择题

1. 各组数据的（　　　　　　）时，不可直接作方差分析。

A. 均数相差较大　　B. 中位数相差较大　　C. n相差较大

D. 变异系数相差较大　　E. 方差相差较大

2. 完全随机设计方差分析中的组间均方是表示（　　　）。

A. 抽样误差大小　　B. 某因素的效应大小

C. 某因素效应与抽样误差综合结果　　D. 全部数据的离散程度

E. 不可预见的误差

3. 完全随机设计与随机区组设计相比较（　　　）。

A. 随机区组设计的变异来源比完全随机设计分得更细

B. 随机区组设计的误差一定小于完全随机设计

C. 完全随机设计的效率高于随机区组设计

D. 两组设计试验效率一样

4. 四个样本均数经方差分析后，$p<0.05$，为进一步弄清四个均数彼此之间有无差别，须进行（　　）。

A. χ^2检验　　B. q检验　　C. u检验　　D. t检验　　E. $Dunnett$-t检验

5. 两样本均数的比较，可用（　　）

A. 方差分析　　B. t检验　　C. q检验

D. 方差分析与t检验均可　　E. u检验