

41

医学科学研究基本功讲座 资料选编

北京市卫生局科技处编印

1981年

-0
170

前 言

为了提高科技人员和科研管理人员的科研课题设计、科研管理水平，我们自一九八〇年四月九日至八月六日举办了一期不脱产的医学科学研究的基本功讲座。参加听讲的有市属各医疗科研单位的主治医师、高年住院医师、助理研究员和高年实习研究员共一百零四名正式学员，不少科研管理人员、付研究员和主任医师也参加了听课。根据大家的要求，现将讲座资料汇编成册，以供参考。

汇编工作承蒙北京第二医学院、北京市结核病研究所、北京市肿瘤研究所、卫生部生物制品研究所、北京积水潭医院等单位的大力支持，谨致谢意！

北京市卫生局科技处

目 录

科学研究的基本要求.....	裘祖源 (1)
基础医学研究对发展医学科学的作用.....	刘培南 (3)
临床实验设计.....	曾纪霖 (11)
医学现场实验设计.....	王忠仁 (23)
新药临床评价问题.....	金有豫 (32)
关于动物实验设计问题.....	都本业 (36)
在生物医学研究中动物模型的选择.....	李树珩 (44)
生物学和医学论文写法.....	刘曾复 (73)
如何查阅医学文献.....	陈加尔 (79)
试谈怎样制订医药卫生科学技术规划和技划.....	黄爱辰 (87)
医学科学研究中的数理统计方法.....	马斌荣 (104)

科学研究的基本要求

北京市结核病研究所 袁祖源

(一)

科学研究的重要性,已越来越受到人们的重视。我们在科学研究中曾提出“三严”,即:严肃的态度,严密的方法,严格的要求。但是,实际工作中常有严重迷信古人、外人,以及被主观想象所束缚的现象,还有过早地、甚至轻率地下结论的情况。这些都可以成为获得正确结论的严重障碍。科学研究结果必须是别人可以重复的,否则就经不起历史的考验。历史上,甚至在近年中,这样的例子是不少的。印度以往每年饿死的人数达数十万之多,现在贮粮量比日本还多。所以农村增产的专家的威信是很高的。某大专家曾因一项增产研究得到一万美元的奖金。就是这个人后来发表了另一报告,说他培养的麦子不单产量高,而且其中所含的营养物比别的种子都高许多。但是他的结果不能为别的专家以及政府的调查组所重复。原来是他的工作人员为了迎合他的主观想象所作的假报告。他不理睬对这个事实的检举,导致他的工作人员在12年中有8个人以自杀表示抗议。

科学研究的基本要求有四个,即:逻辑性,思想性,目的性和计划性。

任何科研的课题都来自积累观察的提示,而不是异想天开的,凭空臆造的。比如我们远祖多次发现身体某处冲撞可以止痛,于是逐渐产生了砭石治疗,这就是我国针灸治疗的原始阶段。又如第七世纪巢元方论到癆病说:“染而得疾,以至天门,”明朝(400多年前)徐春甫提到“能杀其虫则虽不生亦可绝后人传瘥身”。这都是不知经历过多少次观察得出来的结论,虽然在当时为历史条件下不可能进一步证实他们的观点。所谓逻辑性,是指研究是有所“本”的,不是漫无边际,意思出来的。不论选题方面及工作中的那个阶段,特别是取材更要具有逻辑性。当然在选题之前,要复习以往的有关文献,一来可以从中汲取有益的启示,二来可以避免重复人家已经解决了的课题。

思想性是为什么样的最终目的服务的问题。为真理,为人类的利益去解决某一个或几个问题,就会给我们巨大的推动力和鼓舞。不管研究结果是肯定的还是否定的。

目的性是具体的性质,是解决哪一个实际问题,是与思想性相连系的。研究某个问题为了什么目的?外国人作了,你也想试试,不能不考虑我们是否实际需要。在我们这样贫穷的国家,能用于研究的人力、物力、财力是非常有限的,不允许浪费于毫无实际应用价值和理论价值的“研究”。

做任何事情之前都应该有个计划,没有周密的计划就要走弯路,甚至毫无所获。医学研究的对象——人,是十分复杂的,受到遗传、外界环境、体质、营养、年龄、性别、心理、风俗习惯等等因素的影响。在对人体的研究中不考虑到这些因素,势必不会全面或不能得出正确的结论。

(二)

科学研究最忌讳主观性。主观性是与科学性相违背的，是必须努力避免的。

近代科学实验为了避免主观因素，特别强调以下诸点：

1. 研究对象必须有代表性，真正代表同一个类型。如果以结核性脑膜炎为对象，每一例必须是肯定的结核性脑膜炎，而不是别的性质的脑膜炎。

2. 要有数理概念。根据一例或几例的结果所得出的结论，往往不可靠，因为偶然性很大。要多少对象才能得出可靠的结论呢？一般认为25例以下（不包括对照组）得出的百分率可靠性不大。例数是否越大越好呢？固然数量大，代表性大，可靠性也大，但是过大数量是不必要的。因为一是收集困难，二是时间因素会影响质量。统计学上有“小数量”和“大数量”的推算方法，使得结果有统计学的意义。自然，像结核性脑膜炎（证实的）这样不治绝大多数必然死亡的病，用某种疗法治愈少数病例的结果，也是可以认为基本成立的。

3. 结果的指标最好用客观指标，有计数的指标更好。某些自觉症状的好转或恶化，如食欲好转，精神振奋，盗汗减少，受病人主观性的影响过多，不宜作为好转的指标。

4. 医学的研究都应当设有对照组，而且对照组与实验组应当具有可比性，如性别、年龄的分布，病变的多少，轻重度，以前的治疗经过等等。对照组最好用安慰剂或不得已而用已知疗效的药。不拘用什么，两组的药在外表、味道、颜色等方面应当完全一致。两组用药最好是“双盲”——即发药的人员（医生及护士）及病人都不知用药的种类。两组对象应当随机分配而不是有选择的。有些研究用不同的抽签方法进行分组。

询问副作用时不可带有提示性的词句。在分析结果时应当将两组中因反应、恶化或自动中途停药或换药的病人数交代清楚。反应的频率、种类、轻重都应深入分析。慢性病时还需在停药后观察至少一年的复发率。

最后用统计方法加以比较，统计学方法只能协助作出正确的结论。但是进行统计学处理时必须具备这样的前提，即一定是一个正确的实验设计：（1）样本有代表性：明确规定总体的条件，保证每个个体都符合总体条件，并且是随机抽样。（2）有可比性：对比的两组，除一项对比条件外，其余条件（各种影响因素）必须保持平衡，而且在数目上相近。

上述科学研究的基本要求，是从数十年的经验中总结出来的，虽然一般都知道，但实际应用中常出现偏差。这些要求看起来似乎很琐碎，要求过严，但科研是个十分严肃的事，不严是不行的。有的科学家对研究得出的结果，并不急于发表论文，而是千方百计地试图推倒它，推不倒才感到满意。可惜有这样严肃的态度的人不多！

巴夫洛夫临终时劝告青年人，要渐进、要虚心、要热情。他说：“科学需要一个人贡献出毕生的精力；假定你们每个人有两次生命，这对于你们来说也还是不够的，科学要求每个人有极紧张的工作和巨大的热情”。

我国近代学者王国维在他的《人间词话》中说：“古今之成大事业，大学问者，必经过三种之境界”：“昨夜西风凋碧树。独上高楼，望尽天涯路”。此第一境也。“衣带渐宽终不悔，为伊消得人憔悴”。此第二境也。“众里寻他千百度，蓦然回首，那人却在，灯火阑珊处”此第三境也。为祖国的四个现代化还不是大事业，科学研究还不是大学问？

基础理论研究对发展医学科学的作用

北京市肿瘤防治研究所 刘培楠

1977年4月3日《人民日报》有个短评，题目是“多看几步，走在前面”。其中写道：“我国要在公元二千年实现四个现代化，科学研究如果上不去，四个现代化就不可能实现，因此，发展着的大好形势，要求科学研究多看几步，走在前面”。这些话简单明了，不搞科学研究生产就上不去，如果科学研究仅仅只顾眼前的需要，生产也不得发展，所以要提倡理论的科学研究。

科学研究，按其目的，可以分为两类。一类是为了解决实际问题，例如工农业中的生产技术方法问题，医学上的诊断或治疗问题，这种研究称之为应用科学研究，在这些研究中常常要应用已经知道的理论或原则去解决问题。另一类的科学研究是为了探讨某一理论问题，它的最终目的也是为了解决实际问题，只是因为目前还不了解某一项实际问题的本质，不认识其中变化的规律，所以必须去探索。因此，这种研究就被称为理论研究。因为“理论才解决本质问题”。所以归根结底研究的目的还是为了解决实际问题，可以说理论问题是来源于实际。所不同者，研究问题有大小深浅之别，不一定立刻就能解决问题。严格说来，所谓“纯理论”的科学研究，基本上是不存在的。

一、为什么要进行基础理论研究？

基础理论研究是基础科学的理论性研究的简称。在没有谈到本题之前，让我们回顾一下文化大革命中“四人帮”千方百计地搞破坏和捣乱，疯狂地反对自然科学中基础科学的理论研究，他们肆意篡改马克思主义，宣扬“代替论”，“无用论”，胡说什么“基础理论的基础是马克思主义的哲学，最基础的理论是马克思主义，离开了马克思主义的理论，那里有自然科学的理论”，妄图以这种荒谬论点取消我国的基础科学研究，他们提出“理科向工科靠拢的口号，搞“产品教学”，取消大学理科对于自然科学基础理论的教学和研究。这种破坏我国社会主义建设的根基手段，真是毒辣之极，用心之险恶，为古今中外所罕见。

“四人帮”把基础理论诬蔑为“脱离实际”，“资产阶级的学院式的研究”，“纯理论研究”，“个人兴趣”、“非当务之急”等等，使不少科学工作者视基础理论研究为畏途，产生很大的顾虑。在医学界也是如此，许多人明知基础理论研究对发展医学有重大的作用，也因怕担风险，洗手不干。

现在形势虽是大好，为了实现四个现代化，有些人口头上也说基础理论研究很重要，但在思想上仍然没有解决问题，总觉得基础理论研究和当前实际有距离，仍然有搞理论研究收效慢，提倡应用科学研究保险，看来对这个问题仍然是认识不足，心中无数，因而下不了决心。

早在五十年代周总理就高瞻远瞩地指出：“如果我们不及时地加强对于长远需要和理论工作的注意，那么我们就要犯很大的错误，没有一定的理论科学的研究作基础，技术上就不可能有根本性质的进步和革新”，周总理这几句话是完全符合科学技术的发展规律的。

现在我想从两个方面来谈谈为什么要搞基础理论研究。

（一）从实际需要方面。任何方面的工作，无论是工业或农业的生产，医疗卫生、地质、气象，各行各业的工作，都需要不断的发展和改进。在发展的过程中也都会遇到困难，要求人们来解决它。可是仅仅利用现有的知识和技术，往往感到不足，因此就需要有人从事各方面的研究工作。有人说，在工程技术方面，世界上已经有些国家比我们先进，可以进口成套设备和引进新技术资料，生产很快就能发展，医疗事业也可以引进最新设备、器材和药品，马上可以办起现代化的医院。我想在目前需要迫切的情况下，未使不可。但究竟只是暂时解决目前的迫切需要，究竟是依赖外国。要自己解决问题，必须有解决问题的基础，这就是必须自力更生、发奋图强，主要依靠自己的力量，来研究所出现问题的本质，寻找其规律，才有可能提出解决问题的措施。然而要寻找事物的本质，并非垂手可得，一蹴即成，而要一步一步地探索，由浅入深，从表及里，而且在探索过程中往往需要先解决较理论性的根本性问题。看上去，似乎脱离实际，距离原定目标远了，事实上，不如此是难以达到目的的。此外，还要估计到有时会失败，会走弯路。更重要的，我们不能等待出现什么问题时，才去考虑这方面的理论研究，而是要考虑“科学的储备”，亦要考虑科学本身的发展，不能只顾眼前的需要。为此，要求科学研究要“多看几步，走在前面”。这就是要开展基础理论研究，建立必要的基地，培养优秀人材的原因。

（二）从科学本身的角度看，近代科学发展很快，新事物层出不穷，引导科学发展的新理论也不断出现。为了便于更好地发展科学和能更细致深入地去进行研究，必然产生分科愈来愈细的趋向；另外，各个有关科学之间的关系日趋密切，这样又产生了所谓边缘学科，提供更完备的理论和新颖的技术。这也是科学发展的自然规律。为此，罗列在我们面前的现象和问题，是十分复杂的。所以我们要解决一个问题，必须寻找它的根本和关键，这就是要搞基础理论研究的原因，例如，肿瘤是一个非常复杂的问题，当前为了解除病人的痛苦，必须寻求最好的医治措施。但是要解决根本性问题，则必须研究肿瘤的发病机制，必须明了肿瘤细胞的性能，最根本的问题是研究它的物质结构，结构搞清楚了，肿瘤细胞的活动便容易理解了。但是物质的种类很多，特别是其中关系密切的大分子，如核酸和蛋白质的结构，是相当关键的，然而都是十分艰巨的工作。人们在不理解这些意义时，往往就认为是“脱离实际”，或认为“非当务之急”，可以先放在一边。从辩证法的观点看问题，物质的结构决定它的功能，结构和功能是物质的两个侧面，了解了一种物质的结构，就能更好地认识它的功能。这方面的例子是很多的。象肿瘤这样威胁人类健康最大的疾病，是非常艰巨而困难的问题，二百多年来医学家、生物学家、药学家、化学家进行了大量研究工作，对于肿瘤是怎样发生的，还不能作出答案，这就是为什么要进行肿瘤的基础理论研究的原因。现在世界上从事肿瘤研究的科学工作者很多，在生物科学中有十多个学科从不同的角度参与这种疾病的研究，每年发表的论文数量十分可观，其中绝大部分属于理论性的探讨，这也是发展的所趋。

二、基础理论研究在发展医学科学中的作用

现在我想举些实例来说明基础理论研究对医学的贡献。

(一) 有一种在非洲中部流行很广的遗传病, 称为镰刀细胞贫血症, 它的症状有再发性疼痛、发烧、咳嗽、晕眩、贫血, 而最突出的是红血球不呈圆形而呈镰刀形状, 所以有此名称。镰刀形红血球的形成和血液中含氧量低有关, 如果将镰刀细胞与氧接触, 就能恢复为园形的红血球。由于镰刀细胞不及正常红血球之柔软, 不能顺利通过毛细管, 造成疼痛的症状。

以后查明这些症状的主要原因是因镰刀细胞里含有异常的血红素(用HbS表示之)。HbS分子能凝集在一起, 成为类似晶状的结构, 从而使红血球挤成不正常的镰刀状。大约在Herrick首先描述此病的症状之后四十七年(1957年)Ingram发现正常血红蛋白(Hb)和HbS的唯一区别仅仅是在Hb的 β 肽链的第6位的谷氨酸被缬氨酸所替代($Hb = \alpha_2\beta_2$)。那么, 这样微小的改变怎样会造成如此严重的症状呢? 进一步的理论研究表明:

(1) Hb的 β 链的第六位的谷氨酸带着负电荷, 而在HbS上同一位置的缬氨酸则不带电荷。可能由于缬氨酸的疏水(排水)链, 使HbS分子凝集在一起, 而谷氨酸分子与之相反, 是亲水的。由此可知在Hb分子的表面分布着带电荷的氨基酸侧链, 保证了它在水中的高度溶解性, 至于它的内部结构则因为是碳氢侧链, 为不溶性, 水不能透入, 所以有一定的稳定性。然而在镰刀细胞中的HbS的这种防水屏障, 却因氨基酸的替代而被破坏了, 使它失去了稳定性而在镰刀细胞中沉淀, 这种沉淀使红血球成为坚硬, 但却是脆弱的细胞。这种现象称为Hb的变性。

(2) Hb的变性使其中血红蛋白分子的正常的铁离子 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , 由于这种铁离子的氧化, 与铁结合的氧分子首先被还原为超氧化物离子, 然后从血红蛋白分离, 并在周围水中产生过氧化氢离子, 羟基, 和其它氧化剂。这些氧化剂, 其中以羟基的氧化力最强, 都可以作用于红血球的细胞膜的脂质, 而使膜破裂, 发生溶血现象。这就是镰刀细胞贫血症状的原因。

以上的结果主要是从血红蛋白分子结构的研究得来的。在血红蛋白的氨基酸顺序(一级结构)的研究中发现了非常关键性的氨基酸的替代问题。从血红蛋白的高级结构中发现了血红蛋白的三维结构表面和内部氨基酸侧链的物理化学性质, 从而说明了红血球既有稳定性又有活动性的两个方面。这些结果体现了蛋白质结构研究工作的重要性。

(3) Hb分子 β 链第六位谷氨酸被缬氨酸所替代, 是由于遗传信息(基因)的异常引起的, 而且仅仅是一个核苷酸的改变, 现在已经证明这是因为合成血红蛋白 β 链的信使核糖核酸的一个核苷酸密码的改变, 而信使核糖核酸上密码的改变是由于细胞核里脱氧核糖核酸上基因的突变所造成, 这些结果是从核酸的结构研究得来的。

(4) 镰刀细胞贫血症是一种遗传病, 所产生的异常血红蛋白(HbS)是基因突变的结果。这种基因的突变可以遗传下去。但是一个人如果他父母中的一个人(只带着单纯变种的基因的纯合子)遗传了HbS分子的基因, 又从他父母中另一人遗传了正常的Hb的基因, 他变携带着正常和变种的两种基因的杂合子。他可以没有这种疾病的症状, 但他却携带着此病常染色体隐性的特点。这是从遗传学研究所得的结果。

(5) 由于人们对镰刀细胞贫血症的病因和发病机制有深入的了解，对它治疗的方法便不难找到。现在只要给病人口服适量（每公斤体重10~25毫克）的氰酸盐，即可使镰刀细胞恢复为园形的正常红细胞，一切症状都消失了。用氰酸盐处理镰刀细胞，使HbS与氰的亲合力增强；用氰酸盐处理血液可以释出足量的氧到组织中去，并增进红细胞的生存率。但对人类氰酸盐的毒性较大。

上述例子体现了从蛋白质（血红蛋白）的结构研究而发展到了解一种遗传病的病因，又从血红蛋白的自身氧化作用研究，不但找出溶血的机制，还寻找出对这种遗传病的治疗措施。这些成就充分地说明基础理论研究是不应忽视的。由于镰刀细胞贫血症的研究成就，又发现了其他血红蛋白疾病的相似病因，现已知的血红蛋白异常的疾病有200多种，它们也是因 α 链上或 β 链的一个氨基酸被别的氨基酸所替代而出现症状。

(二) 有一个美国人，叫James Watson跑到英国同叫H.F.C. Crick的合作，研究脱氧核糖核酸的结构，于1953年提出脱氧核糖核酸（DNA）的双螺旋结构模型的理论。他们是从Wilkins等早年间DNA的X射线衍射研究的结果和Charaff等所发现DNA中腺嘌呤脱氧核糖核苷酸（dA）的量等于胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸（dT）的量，和鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸（dG）的量等于胞嘧啶脱氧核糖核苷酸（dc）的量的关系得到启发，根据这个理论，DNA是由两条脱氧核糖核苷酸链结合而成，它们依靠两条链上的核碱之间的氢链相连接（图—4），dA和dT结合，dG和dC结合，称为互补式的结合。这两条链因不同原子之间的吸引力的差别，使这两条链扭成“麻花”的形状。因为双螺旋结构是以较弱的氢链相结合，在适当的情况下就可以分开成单链，单链又可合成双链。Watson和Crick就是用这样的DNA双螺旋结构来解释DNA的生物功能。现简述如下：

(1) 既然DNA双螺旋结构是以较弱的氢链所形成，所以它较易分开成单链，为DNA的复制创造了条件。这个结果是和人们长期观察到细胞分裂和物种遗传有密切的关系。

(2) DNA双螺旋结构不易被有关的酶所破坏，表现它具有一定的稳定性。这是使物种能够保存下来的基本条件。所以DNA双螺旋结构既有稳定性又有反应性，这是生命的延续和物种的保存的关键。

(3) DNA的双螺旋结构孕藏着DNA生物合成的调节和控制的一套机制。

(4) DNA的双螺旋结构也阐明了遗传信息（基因）的复制、传递和蛋白质生物合成的奥秘，解释了蛋白质特异性的原因，证明了基因的存在，基因的物质基础便是DNA片段，产生的遗传密码的概念。

(5) 由于基因概念的确立，生物的突变原因便不难得得到答案，对各种药剂毒物，紫外射线和一些自然环境引起的基因突变，都得到科学的根据。这样对物种的异变和进化亦可究其根源。

所以，从生物学和医学的角度看，DNA的结构阐明，对了解生物的生长、发育、以至衰老，疾病的机理是有一定的贡献的。这个例子说明通过核酸的结构研究，解决了生物的一些根本性问题。

(三) 遗传性代谢缺陷疾病——最早观察到的遗传性疾病为黑尿症，患者的尿中含有大量的2、5二羟苯乙酸，即黑尿酸。经过仔细研究，查明这种病是因为患者缺乏一种特异的酶（尿黑酸氧化酶），而其根本原因则是合成这种酶的基因有缺陷。又如糖尿病是人

类最流行的一种代谢缺陷，在一百万个八岁到十二岁少年中有四百人患此病，在一百万个40—50岁的成年人中可有33000人患糖尿病，70岁以上约为7%。临床大夫都知道此病可因胰腺中产生胰岛素的细胞萎缩，在人群中至少有两个隐性的缺陷基因占高比例数。有些成年糖尿病患者对注入胰岛素的敏感度下降，这有两种可能性：一是胰岛素受体数目低，二是由于受体的结构缺陷所致。这都可能来源于基因的缺陷。又如人类的胶元病，称为Ehlers—Danlos综合症，表现为再发性关节脱位，脊柱弯曲。有一种是缺乏胶元蛋白原肽酶，另一种是缺乏Ⅰ型胶元蛋白。因羟氨酸含量低，阻碍胶元蛋白中有效的交联作用。又如在糖元代谢中有几种遗传性缺陷病。有人在运动之后肌肉疼痛和僵直，因为缺乏肌肉糖元磷酸化酶，糖元在这种病人肌肉中储存起来。也有因糖元酵解作用被抑制造成糖元储病，有关的酶缺陷包括肌肉磷酸果糖激酶、肝磷酸化酶激酶、肝磷酸化酶，和肝葡萄糖—6—磷酸酶。也有因糖元合成中的支链酶缺乏。还有因溶酶的 β -1, 4葡萄糖苷酶缺乏。又如“枫浆尿病”，这种病人尿中含有大量 β -酮酸，发出“枫浆”的气息，这种 β -酮酸是由缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸的转氨作用而成，由于相应的氧化脱羧酶的缺乏，这些产物能继续降解，于是便由尿中排出。又如常见痛风病，一千人中可有三人患此病。这种病的产生是因尿酸过量，不能由肾脏排出，它缺乏次黄嘌呤—鸟嘌呤磷酸核糖转移酶，使这些嘌呤不能重新被利用，于是氧化为尿酸，造成痛风病的症状。痛风可引起精神症状，如咬自己的手。

在过去三十年中遗传性代谢缺陷病陆续被发现，大都是由于某些特异酶的缺陷所造成。酶是蛋白质，造成酶的基因必定来自DNA。现在已经搞清楚的遗传缺陷有五十多种，没有搞清楚还有许多。这种疾病造成代谢紊乱，常常影响智力的发育，缩短寿命，发生于儿童为多。虽然是稀少的疾病，但关系到阐明代谢环节问题，不仅是为了医疗，对于人类进化的研究也是有用的，我认为儿科医生对这类疾病更应注意。

（四）肿瘤的疾病机制。肿瘤的主要特征是细胞的异常增殖，牵涉到细胞分裂的调控失常、细胞分化的异常、细胞中核酸和蛋白质合成代谢的异常、免疫调节机能的衰退、以及细胞膜性质的改变等问题。这些问题都和细胞中基因的活动有密切的关系。当前多数学者认为从基因的角度来研究肿瘤的生长、侵袭和转移，是肿瘤研究中的根本问题。我们知道肿瘤的发病有下列几种外来的因素，如致癌化合物、电离辐射、某些病毒、某些激素，这些因素大都直接或间接作用于细胞染色体的DNA，因此一般认为引起细胞癌变的基本原因是体细胞突变，即细胞中的某些基因发生突变，也就是某些DNA片段上的核苷酸发生改变。这方面的研究工作是很多的。已经发表了大量的资料来证明了这个观点。但是近年来在胎儿组织中发现一些特异蛋白质亦可以在肿瘤组织中找到，而在正常组织则不存在，说明能表达胎儿组织中某些蛋白质的基因，在正常细胞也是存在，但是没有表达，而在肿瘤组织中则被表达，可能是表达胎儿组织的某种蛋白质的基因的一套调节控制的机制，在正常组织里被抑制，所谓处于关闭状态，而肿瘤组织中又被活化，所谓处于开启状态。说明肿瘤生长中基因的活化是一种开关式的调节。这种观点称为基因外癌变，或表型癌变，认为恶性变是由于基因功能的改变而不是基因结构的改变所造成。

正常细胞中DNA的复制，虽然受其中基因的控制，但外界环境的影响（如上述几致癌因子的影响），也不可能没有差错，因此在细胞中有一套相当复杂的酶体系来纠正这种

差错,即所谓DNA的修复。肿瘤细胞的基因突变,似乎是难以纠正的。如果按恶性变是基因表达失调的观点,那么,只要调控机制正常化,癌变就有希望被制止。这是很鼓舞人心的观点,究竟如何,需要我們进行深入的研究工作。这个例子表明理论研究的发展,使长期公认的观点也发生变化。

(五) 内分泌疾病。上面谈到基因表达的调节控制,这对内分泌是十分重要的。我们知道内分泌参加了机体的生长、发育、代谢调节和生殖机能中的生物化学反应。内分泌器官的正常生理功能是维持健康的必要条件;这些器官的病变和失调,必然导致疾病的发生。所以在激素的研究中,应当①了解激素是怎样合成的;②这些合成是受什么因素所控制;③合成了的激素对于与其有关的靶细胞是怎样作用的;④这些作用又怎样引起一系列的生物化学反应,从而反应于机体的生理功能…。这一系列问题都是了解内分泌作用的关键问题。

在1958年以前激素的研究仅仅停留在分泌生理和代谢反应的观察,对于激素的作用机制虽然也有些探讨,进展不大。近二十年中激素的研究才有较大的发展,其中有两个影响深远的假说,指引着这些问题的进展:一、环状腺苷酸是一个第二信使的假说;二、激素是和靶细胞中的某些蛋白质(称为受体)相结合的假说。环状腺苷酸和许多激素的作用有密切的关系,它参加了甾体类激素生成的控制,使我們对于正常的和肿瘤的细胞生长控制有了进一步的认识。受体是广泛地存在于细胞的各个部分,细胞膜上的受体尤其受到更多的注意,不同细胞具有不同的受体。这些假说都为不同的激素作用开辟了新的园地。

激素的作用机制联系到一个很广泛的领域,包括DNA、RNA和蛋白质的生物合成、受体的作用和有关染色体上所发生的事件。这些问题的阐明,对细胞分化的控制、组织生长发育的调节、以及病态变化的发生都将有重大的贡献,不但在理论上有所发展,而且在治疗内分泌疾病、节育、肿瘤治疗、心血管病高血压的控制都将发生一定的效果。我国对内分泌的基础研究开展的不多,临床单位对之作较深的研究还太少,是应该引起重视的。

现在我拟举些例子说明激素合成或作用的调节与基因表达的关系。

1. 肾上腺皮质细胞中甾体类激素生成的调节:①脑下垂体分泌的促肾上腺皮质激素(ACTH)调节肾上腺皮质的合成步骤是ACTH和肾上腺皮质细胞膜上的受体作用(ACTH是含有39个氨基酸的多肽链,而激活ACTH受体的部位,则在这个多肽链的4—10的氨基酸之间),转而激活肾上腺皮质细胞膜上的腺苷酸环化酶,此酶然后催化了ATP转变为环状腺苷酸(cAMP)。cAMP就和特异的受体蛋白结合成为复合物。此复合物于是激活蛋白质激酶。活化了的蛋白质激酶利用ATP使细胞中某些蛋白质磷酸化,磷酸化了的蛋白转而活化在脂肪微滴中的胆固醇脂化酶,使胆固醇脂成为游离的胆固醇。胆固醇转入线粒体中,经侧链断裂体系细胞色素p-450体系的作用而成为孕(甾)烯醇酮。孕(甾)烯醇酮的生成还需要ACTH通过cAMP活化一个某蛋白质的前身,成为调节蛋白质,促使胆固醇转变为孕(甾)烯醇酮。

②ACTH不仅是控制皮质甾体类激素的合成,也调节肾上腺的生长和它的大小,和肾上腺皮质细胞的分裂。ACTH的这些效应在Cushing氏病中可以观察到。

2. 雌性激素的作用模式:用 ^3H 雌二醇(E)注入大鼠子宫组织,此激素能选择性地与其中一种分子量约为200,000的蛋白质(受体)紧密地结合成为复合物,此复合物是

由细胞浆移入细胞核，结合在染色体上的若干部位，结果使某些基因的转录增加，从信使RNA的生成便可以表现出来。没有受体就没有这些反应。这种反应的强弱与细胞内受体的浓度有直接的关系，而且在一种组织内，受体浓度并非固定不变的，可随年令、发育过程的生理状态等而变化。

关于基础理论研究促进医学科学的例子是很多的，我只是选了几个独特的例子。在这些例子中大家可以看到一般认为高深莫测的理论研究，与实际问题的距离很远的蛋白质结构与功能，核酸结构与功能，基因的结构和活化等等，究竟对解决实际问题起不起作用。目前有许多医学问题之所以没有解决，是因为我们的理论研究水平还较低，还不能认识问题的实质，并不是理论研究不解决眼前问题，并不是“远水救不了近火”。另外一点，我所选的例子都是围绕着一个中心问题——基因的突变和表达。这是近年来生物学的一个重大发展，因为有这个发展才能推动医学科学的发展，可是这个问题在我国医学界还没有得到重视，还没看到这方面工作的开展。去年我在若干场合都讲了这个基因研究的问题，就是要引起大家的注意。医学研究归根到底是生物学的研究。可是我们的中小学对生物学重视很不够，是不是“生物无用论”的谬论还有一点影响？

三、怎样开展医学科学的基础理论研究？

近年来举国上下都认识到我国各项建设被“四人帮”糟塌得不成样子，尤其是科学技术落后，严重地影响了国家经济的发展和人民生活水平的提高。医学科学也是如此。某些领域与外国比较差距达二三十年。因此要提倡向外国学习先进的科学技术，同时也要提倡自力更生，大干快上。

每一个国家的科学技术发展有它自己的过程和它们自己的措施来推动。近几年的事实证明科学技术的进步的确能使经济建设迅速发展，从而也提高了人民的生活水平；其中经济学科的进展是起了很大的作用。第二次世界大战后的两个战败国，日本和西德的经济的发展，在世界上名列前茅。这两个国家都是很重视基础理论的研究的。

1. 办什么研究所？

办研究所要根据需要，也要考虑可能。这个道理很容易理解。一个地方（省、市）要办某一研究所，一方面应当根据地区存在的问题，要有特色。另一方面，社会主义的科学事业是有统一计划的，它既根据国家的当前需要，又要考虑长远的发展方向。地区的研究单位就应考虑国家规划与本地区的情况相结合，并不需要国家规划里有的样样都办，要有全局观点，要避免重复浪费，更不应把凡是国家列为重点项目的都办起来。与这一点关系密切的是可能性问题，我认为最重要的是物色合适的人材，就是说要有精通这项研究工作的人材。这个道理看上去很浅显，但是不少地区往往是先办研究所，以后再物色人材，一时物色不到，工作就难以开展，并且在研究所建设中，难免有浪费和失当的情况。

2. 如何办一个研究所？

对一个研究所来说，首先要明确研究的范围和方向。现代科学发展，任何问题都是十分复杂，牵涉面很广，一个研究所如果包罗万象，对发展不是有利而是有害。因为不能围绕一个中心问题来协作，工作难以深入，进展不会很快。因此必须加强科学研究的课题组织工作。这和各个研究室各有自己的研究方向是不矛盾的。如何去组织研究工作是一个研究

所负责人或领导核心的主要责任。所以一个研究所的规模不宜过大，各级人员的配备必须恰当，要有利于研究工作的进展和研究技术人员的提高。一个十分庞大的研究所不可能发挥领导人的作用，事实上成为大小山头的集合体。

3. 如何发挥个人专长？

研究工作是一项高度的脑力劳动，我们不能不承认每个人的经验和认识不相同。对一个问题探讨，在观点上和措施上应有差别。所以在研究所应该重视发挥科学研究人员的专长，允许标新立异，不宜限制，即使他们的见解和各级领导人有矛盾，也要让他们去实践，这一点很重要。西方科学技术的发展，就在于这种传统观点的影响。我们过去批判这是“自由主义”，因而使科学研究人员死死地执行计划里的条文，不敢越雷池一步。显然这对科学工作的发展是不利的。事实上科学研究计划是一种估计，一种推理，究竟能否达到目的，要在实践之后才知道，所以估计难免错误，推理也未见都是正确，何况在实践中还会出现新问题和现象。作为所的领导人对此应加鼓励，而不是阻挠，这不但是研究所领导人的主要责任，而且也是对他的学术水平的要求。

4. 理论研究和应用研究的比例问题

前面已经谈到理论研究来源于实际需要，原则上不应规定理论研究和应用研究的比例。一个课题的提出要有明确的目的性，然后考虑用什么措施去探讨。但在实践过程中往往遇到新问题和现象。必须解决了才能前进一步。如果需要从本质上去探讨，于是研究工作便转入理论的研究了。这是科学研究工作发展的自然过程。所以说，一切理论研究都是从实用研究开端的。当然有不少问题是在前人的研究工作基础上发展起来的，不需要我们再从头做起。目前医学科学中的问题大都是这种状况，那么我们要开展医学问题的研究，就没有必要定什么比例。再则，一个医学研究所通常有临床和基础两部分的研究工作，这是研究性质和领域范围上的分工，而不应看作学术上的分工。当然，由于个人的精力所限，技术不同，使一个人的工作范围有局限性，这不等于界限上的划分。因此，提倡互相协作是很重要的，可以使不同领域都有发展，都能提高。

5. 当前科学研究中存在的一些问题

① 一个课题的方向的制定要经周密的考虑，制定下来后便要坚持下去，不要轻易更换。特别是单位领导要坚决支持，不要急于求成，同时也应了解进展情况，善于分析，并解决困难。搞科学研究要认识它的艰巨性，既要有信心，也要有毅力。从事科学研究的人，每前进一步都要做周密的设计，精细的操作，在取得实验结果之后要细致地分析，反复验证，一步一步地深入。在实验中观察到一种新现象，究竟是新的物质的表现呢，还是新反应的反映？或者是复杂情况中的假象，必须反复证实，排除其他因素的混淆，还要从文献资料中寻找类似的报告加以比较，不要轻率地下结论，更不要盲目地干下去。这就是科学方法。我们要从工作中锻炼自己，提高自己，培养成为有经验和有修养的科学工作者。

② 由于林彪、“四人帮”的破坏和捣乱，使我们的科技人员的成长不能按部就班地发展，造成当前人材的困难。我们现在的科技队伍还不强，每个人除了自己努力学习基本知识之外，最重要的是从工作中提炼，这种办法收效是快的。在有了一定工作经验之后，才能使工作深入，也便于再深入地学习。目前有一种不正确的认识，以为只要听听课，听听演讲，便能提高自己的工作水平；现在许多人都想出国进修，我认为如果没有切实的工

临床实验设计

北京市结核病研究所 曾纪霖

临床实验设计的必要性

做任何事情都要有个计划,根据这个计划进行工作。在实践中检验计划是否切合实际,经过总结,修改其不正确的部分,肯定其正确的部分,才能不断提高工作质量。搞临床科研也是这样,必须先有个实验设计,拟定一个方案,按照这个方案去做,然后加以总结,才能提高诊断水平或医疗质量。这是一般原则,在具体工作中如何理解临床实验设计的必要性呢?

1. 在临床工作中,我们经常要遇到诊断与治疗上的困难,总会感到目前的诊断与治疗方法不能完全满足要求,希望有新的药物或新的治疗方法。一旦有了新的药物或新的治疗方法,临床医师必然都很关心,想搞清楚新药或新疗法是否确实有效?疗效有多高?能否取代目前的治疗方法,并希望能够尽快得出结论。然而,要是没有精密的、合乎科学的实验设计,则我们往往只能得到模棱两可的结果,甚至结果互不一致。这是因为生物间存在着个体差异,尤其是人是有思想的,更易受外界环境的影响,受时间、地点、条件的影响。因此,不同的个体,对同一种药物(或刺激)可以产生不同的反应,甚至同一个体在

作经验和一定的专业水平,出国学习在短期内未见得收效好。有些单位鼓励外语学习,但没有做适当的安排,使科技人员放松了科技工作,既影响了工作,也妨碍科技人员的成长。此外,成批地送出国学习,亦要想到他们回来的工作条件。毕竟我们的工作基础与外国比较差距较大,如果在国内没有设立好工作基础,他们回来后也难以发挥作用。

③ 关于科研的仪器设备问题。目前国家经济困难,科研经费短少,现有的经费分配和使用也还有不甚合理的地方。再则,国内仪器设备的生产技术水平还较低,物资订购和分配的办法还不健全,效率很低,这一切当然影响科研工作的进展,希望抓后勤的领导注意改进。

上面谈到每一个研究室的研究课题的提出,应该结合本单位的任务和急需解决的实际问题,同时也要考虑有关学科的发展。因此,对于开展什么基础理论研究工作是根据工作的开展而定,是“有的放矢”的。所以在一个时期内如何装备一个研究室,要有计划,要根据需要。并非都必须有十分精密的仪器设备不可。例如,以前进行蛋白质和核酸的分子量测量,常用分析型的超速离心机。这种仪器在构造上非常精密,操作要求十分严密,需要专人管理,而且价格昂贵。近年发展用聚丙烯酰胺凝胶电泳法就能估计蛋白质和核酸的分子量,既简单又经济,人人都能掌握。又如蛋白质的氨基酸组分测定和顺序分析是很重要的研究工作,但是在一个地区有一台这样的仪器领够用了,毋须每个研究所都要设置这种装备。应该充分发挥这种仪器的作用。同时也应充分发展一个地区的协作。

不同时间重复做一个实验时，各次反应也不尽相同。这样就可能使某些新药物或疗法的效果长期得不出正确的结论，或者是对一些实际有效的药物或疗法错误地做出无效的结论，而对一些实际无效的药物或疗法却错误地做出有效的结论。这两种错误都会造成很大的损失。这些错误或损失是否可以设法加以避免呢？可以。当然，经过长期的临床实践，逐步积累经验，也可以把问题搞清楚。但这需要很长的时间，病人健康受损失，人力、物力的浪费就非常之大。假如我们有合乎科学的实验设计，拟订一个方案，排除各种干扰，不但可以避免上述的错误，尽快得出较可靠的结论，也可节省很多人力与物力。

2. 我们进行科学研究的目的是寻找事物间的客观规律性，并运用这些规律性来能动地改造世界。当然我们希望这些规律能应用于研究对象的全体，而不是其中的一部分。例如用利福平治疗50例肺结核，疗效良好，我们的结论将是利福平对肺结核有良好疗效，而不是利福平能治好某50例肺结核。我们把研究对象的全体称为总体 (Population)，总体中的每个成员称为个体 (individual)。我们无论在临床试验中或动物实验中都往往不可能直接对总体进行研究。如上面所提到的，要研究利福平对肺结核的疗效，我们不可能让全部肺结核病人都服利福平，只能从总体中抽取一部分个体组成样本 (Sample)，而对此样本进行观察、加以研究。又如要比较两种药物对高血压病的降压作用，这时研究的总体是全体高血压病人，但实际上也不可能对总体直接进行试验，只能抽两个样本，分别给以两种不同药物，然后根据样本的治疗结果，对总体作出判断。从这里我们可以看出，研究的对象是总体，可是具体被试验者却是样本，从样本得出结论，然后再推论总体。这就关系到样本能否代表总体，如何选择样本才能代表总体等问题。当然样本越大，代表性越强，但代价太大，要化很多人力、物力、时间。反之，如果样本太小，虽然省人力、物力、时间，但代表性不够，不足以得出明确的结论。那么如何使样本的大小恰到好处呢？实验设计可以解决这个问题，即采用统计学的方法，确定样本的大小，选择样本的条件以及研究对象的分组等。这样就可以既不费太多的人力、物力、时间，又可以尽快地得出明确的结论。

实际上，我们日常阅读的科技论文中，有价值的并不很多，而且许多报道的结果不能被重复。这是因为事先没有合乎科学的实验设计，故所得的结果不能反映客观实际情况。

临床实验设计的原则

临床实验设计一般应遵循以下原则：

1. 对照 (Control)

“有比较才有鉴别”。医学研究大都是对比性实验，如果缺乏对照，就无从获得明确的结论。可能有人要说，没有对照也同样可以得出明确的结论，例如链霉素和青霉素的疗效就可不用对照。我们说没有对照组是难以得出明确结论的。例如有人用某药治疗感冒，五天后治愈60%，于是就认为该药疗效很好。这是没有说服力的。因为许多感冒的病人，就是不给药物治疗，五天后也会“自愈”的。又如几十年前用金制剂治疗肺结核，由于没有对照组，结果持续好多年也得不出明确的结论。没有对照组不但得不出明确的结论，有时还会引来不愉快的后果。例如，前几年在“全国中草药新医疗法展览会”上有人介绍，柿蒂避孕有效，共试用249例，随访13例，共351个月经周期（见《全国中草药新医疗法展

览会技术资料》计划生育部分)。某大队合作医疗站以此作为避孕措施之一,用于20名育龄妇女,结果在6个月内10例怀孕,显然说明没有什么避孕效果。问题就在于,原报告中没有设相应对照组,未能排除各种偏因—特别是哺乳期长短对受孕的影响,结果当然不可靠。这里意思绝不是说中草药不科学,而是说明统计学知识、临床实验设计的重要性。尤其对那些药物疗效不很明确,或对那些会“自然痊愈”或随季节变化的疾病,都应设对照组。再让我们来谈谈链霉素及青霉素问题。链霉素被应用于治疗结核病以前,结核性脑膜炎几乎是100%的死亡率,而链霉素问世后约有半数的病人免于死亡。没有对照组不也照样解决问题吗?又如青霉素初用于临床时,病情可在短期内获得显著的好转,给人以深刻的印象。不用对照不也照样可以明确青、链霉素有良好的疗效吗?不错,这两种情况从表面上看确实是没有同时设对照组,但实际上是与以前的大量病例、大量实践相比较而得出结论的,所以实际上还是有对照的。这叫做“历史”对照(historical control)。一般说来,这种历史对照是不理想的,不值得提倡的。当然链霉素与青霉素因为疗效特别突出容易得出结论,这是特殊情况。一般情况下,都要求遵循“齐同对比”的原则。临床反应不仅受治疗方法的影响,而且还受时间、环境、气候、机体特异性、防御机能等影响。这些“干扰”因素有时会超过治疗的作用。所以必须用对照组来排除这些干扰因素。就是试验治疗组和对照组之间,除了治疗方法不同外,其他对治疗结果可能有影响的因素(如病情轻重、病变性质、年龄、性别、病程长短、季节等等)要尽可能一致。这样才能看出某一新药或新的治疗方法是否确属有效或确较旧的药物或旧的治疗方法为优越。如果不遵循这个原则,即使有对照组,也不能得出正确的结论。例如,有人从1950年起以考的松治疗17例结节性多动脉炎,并以该院1941—1949年19例发病时年龄、性别及全身情况相似的病例作为对照。这些病例的诊断均经活检证实,但是有一点不同,即对照组中约有半数并发高血压,而治疗组中仅1例并发高血压。这一重要的不同,使两组成为不可比。因此作者强调指出,由以往的病例中去找对照的“回顾性对照”不是一种好方法。以前由于科研设计还没有普及,所以临床报道大多是回顾性总结。例如要总结某种新药的疗效,事先没有实验设计,没有对照组,只是在新药治疗结束后,进行临床总结时,从前一时期或同一时期中寻找除了治疗不同,而其他条件(如性别、年龄、病情等等)基本相同的病例作为对照组,进行比较,这种回顾性总结固然比完全没有对照组者好些,但其最大缺点仍然是资料不全。因为事先没有设计,许多情况的变化没有记录,甚至有些必要的检查也没有做(因为有些重要的征象在早年大家都还没有经验,所以就不可能有这种记录或检查),这往往是无法弥补的,因而所得结论,其正确性、可靠性也就差些。因为随着时间的变化,其他条件也都在改变,所谓“时过境迁”也。我们的确经常可以看到一些报告,为了找对照组,事后才从旧病例中或以别人的试验结果作为对照,这样就很难获得确切的结果。因为除了治疗方法不同之外,其他方面,如年龄、性别、病情、判断方法、水平等,可能均不相同。因此,不能排除两组的结果不同是由于其他因素不同所致。人们往往会感到很可惜,做了这么多工作,结果不能用。是否可以想想办法,用统计学的方法来加以弥补?不能!许多材料只好忍痛割爱了。犹如一碗很好的菜馊了,只好例弃,不能再吃了。所以应该提倡临床实验设计而不宜提倡回顾性总结。

再举一例,有人研究两种不同草药对慢性支气管炎的疗效,用两组病人互相比较。第

一组病人选自公社社员，治疗时间在12—2月间，第二组病人选自工厂工人，治疗时间在3—5月间。结果认为，第二组疗效显著高于第一组。这种结论显然不可靠，因为不但公社社员与工厂工人具体情况不同，而关键的问题是，第二组病人是在天气回暖季节进行治疗的。一般经验，慢性支气管炎在天气回暖时症状可自行缓解，这就难以区别疗效到底是由于药物的作用或是天气回暖的关系，这种形式上有对照组，而实际上两组无可比性，仍然不能得出正确的结论。因此在设对照组时必须遵循“齐同对比”的原则。

2. 重覆 (replication)

假如我们要比较氯霉素及某种中药对病疾的作用，我们给某病人服氯霉素，观察其治疗效果，我们就不能再在同一病人身上也用中药，一般只能给另一个病人服中药，也观察其疗效。前面已经说过，生物存在着个体差异，所以即使这种药物观察的结果有差别，也不能断然认为这是由于药物效果不同或仅是由于个体差异所致，因为我们无法找到两个在各方面完全相同的人。所以“齐同对比”，也还不能排除生物个体差异的影响。又如我们给一个人服药预防感冒，另一个人不服药作为对照，这就可能得出四种结果：（一）两个人都不患感冒；（二）两个人都患感冒；（三）服药人不患感冒，不服药的患感冒；（四）未服药的人不患感冒，而服药的人反而感冒。无论是那一种结果，我们都不能下肯定的结论。但是假如我们给100人服药，另100人不服药，结果服药组绝大多数不患感冒，而未服药组绝大多数患感冒，我们就可以说，该种药物有预防感冒的作用。就是说只有在绝大多数人中重复出相似的结果，才可以肯定其效果。如果在绝大多数人重复不出相似的结果，基本上就可以得出否定的结论。一般说，例数越多，重复的次数越多，其可靠性越大。但这样在时间、人力、物力上是不经济的。要避免浪费，又能得出可靠的结论，就需要用统计学的方法估计出适宜的病例数，预先做好实验设计。从上面所说的可以看出，除了“齐同对比”之外，还需要有一定数量的病例数。

3. 随机化

上而我们谈到，我们研究的对象是总体，可是具体被试验者却是样本，从样本得出结论，然后再推论总体，这就涉及到所选的样本是否能代表总体的问题。要做到样本可以用来推论总体，必须满足以下两个要求：（一）样本的可靠性。要使样本具有可靠性，必须避免系统误差。系统误差是由操作技术、实验条件等所造成的，是可以避免的，也是应该避免的（另一种误差叫做抽样误差，是不可避免的，但可应用统计方法掌握研究其大小及其机率，从而可以确定用样本推论总体的可靠程度。）（二）样本的代表性。“样本必须是总体的一个具体的缩影”，也就是说样本除了比总体小之外，其他在组成、变异等特点方面均应与总体相同。要达到这个目的，在抽样时必须按照随机化的原则。“随机”不是随便。随机化分组不是有意或无意地按某种倾向把研究对象分配于试验组或对照组，而是使每一个对象都有同等的可能性进入试验组或对照组。这句话说起来容易，但要严格、正确执行往往就不容易。例如：有人想比较手术疗法与非手术疗法对消化性溃疡合并穿孔的疗效。把全身情况好，不伴休克和穿孔范围小的病例分入非手术组，而把全身情况严重、穿孔范围较大的病例分入手术组，然后比较两种方法以那一种优越。这种结论显然是不科学的，因而也是靠不住的。因为两组的差别很可能是由于病情不同所致，而不是治疗方法优劣的结果。因此两组没有可比性。正确的做法应该是根据研究目的和预先确定研究对象