

标书撰写与方案设计

刘成海

提纲

- 选题

- 想做什么？

- 为何要做？

- 研究方案（如何去做？）

- 工作基础（能不能做？）

- 一点点体会与建议

国家自然科学基金申请书的主要内容

- 基本信息（项目名称、类别等 — 做什么？）
- 立项依据（为何做？）
- 研究方案（如何做？）
 - 研究内容、研究目标、以及解决关键问题
 - 拟采用的研究方案及可行性分析
 - 特色与创新
 - 年度计划与预期结果
- 研究条件与工作基础（能不能做？）

选题- 重要性

- 爱因斯坦：“提出一个问题往往比解决一个问题更重要。因为解决一个问题也许仅是一个数字上或实验上的技能而已。而提出一个新的问题、新的可能性，从新的角度去看旧的问题，却需要有创造性的想象力，而且标志着科学的真正进步。”
- 医学科研选题，是在医学基本理论指导下，采用科学的研究方法，确定准备探索或解决的某一个临床或基础的研究课题。
- 选题是整个科学研究带有方向性的关键决策，集中体现作者的学科信息、科学思维、学术水平及实验能力。

选题- 范围

■ 1. 临床研究选题

- 紧紧围绕常见病、多发病及严重危害人民健康的疾病，如心脑血管疾病、恶性肿瘤、肝炎、糖尿病、老年期痴呆、及骨质疏松症等疾病为重点深入开展发病机制、防治规律/方法及药物的研究。
- 注意国家需求- 国家中长期科技规划---，对社会造成重大影响的疾病，如艾滋病、病毒性肝炎、戒毒等，进行针对性研究。
- 重视临床中确有疗效治疗方法的作用原理与物质基础研究。

选题- 范围

■ 2. 基础研究选题

- 基础研究选题要根据中医药基础理论研究现状，选择对中医药发展有重大影响并有研究基础和优势的研究领域，瞄准中医药学科发展的前沿开展重点基础研究。如采用现代科学语言进行中医基础理论的概念、定义及使用范围的确定，学科特征的表述等研究，为科学划定学科，界定学术内涵，完善和发展医学基础理论提供科学依据。

选题- 种类

■ 1 基础研究

- 以增加科学技术知识，解决未知领域的理论问题为目的，探索医学领域中，带有全局性的一般规律的科学研究。如疾病的病因与病理机制，中医药学的阴阳学说、经络学说与证候理论，药物作用的物质基础及作用机制等。
- 特点：不以具体应用为目的，探索性强，自由度大，风险高。由于未知因素多，在课题设计上要求比较原则，对研究手段要求高。他们的重要成果常常对整个学科领域甚至生命科学产生深刻的影响。

选题- 种类

■ 2. 应用研究

- 以应用为目的，针对医学实践中的某一具体问题进行研究并提出解决问题的方案、方法或药物。如各科疾病的预防、诊疗、康复研究，中药种源、栽培、养殖、采收、炮制等研究，药物的药理、药效、毒理及临床研究等。
- 特点：采用基础研究提供的理论和成果，解决具体的问题，因此实用性强，理论和方法比较成熟，风险较小，在课题设计上要求技术路线清晰，方法具体可行。目前这类研究是招标的主体，也是重点资助的领域。

选题- 种类

- **3. 开发研究**
- 以物化研究为目的，运用基础和应用研究的成果，研制出产品性物质，或对生产中间环节进行技术工艺改进的创造性研究。如新药开发研究，诊疗仪器研制及中药制药仪器和设备的研究等。
- 特点：采用较成熟的理论和技术进行新产品研究，未知因素较少，风险低，成功率高，具有投资大，经济效益高的特点。这类研究多与企业合作进行，也是提倡和鼓励的方向。

选题原则—需求性

- 必须从国家经济建设和社会发展的需要出发面向临床、面向生产、面向现代化；
- 要贯彻“统贯全局，突出重点，有所为，有所不为”的原则；
- 分析研究二十一世纪或十一五期间面临的任务和挑战，针对当前及今后一段时间内中医药对社会、经济和卫生事业发展有重大影响的关键问题开展重点研究。例如，目前我国发病率和死亡率居前位的疾病，如心脑血管疾病、恶性肿瘤、肝炎、老年病、以及呼吸系统疾病等是严重危害人民健康的重大疾病，开展防治这些疾病的研究具有迫切的需求。

选题原则—创新性

- 创新是科研的生命线，科研选题必须具有创新性才有意义，同水平或低水平的重复很难获得资助，同时也是人力、财力的浪费。基础研究的选题要以丰富和发展医学基础理论作为重点，通过研究有新见解，获得新发现的可能性。
- 创新性不仅包括前人或他人未研究过的课题，还包括在前人或他人工作基础上的进一步深入、发展、补充或修正，在研究手段和研究深度上都可以有突破和提高。

选题原则—科学性

- 首先体现在科研选题来源于临床实践，有客观事实或合乎逻辑推理的理论根据，不是主观臆想或凭空猜想。
- 其次正确处理继承和发扬之间关系，要贯彻继承不泥古，发扬不离宗的宗旨，选题不能违背一般的科学规律和理论。
- 选题的科学性主要表现在实验设计上：选题具体而明确，试验设计类型选择正确，统计学设计合理，在专业设计上，研究因素、研究对象及观察指标的选择合乎研究目的的要求，设计规范严谨，技术路线清晰，方案具体可行，试验步骤合理，实验方法先进。
- 选题的科学性不仅反映了申报者学术思路是否清楚和深刻，也反映了作者的科学素养及科学精神。

选题原则—可行性

- 是否具备实施的条件。包括申请者是否具备开展本项研究的工作经验和研究能力，是否具备相关的前期工作基础，申请单位是否具备相关的基本工作条件，课题组成员年龄层次，知识结构是否恰当，所需资金预算是否合理等。
- 选题要从实际出发，量力而行，不切实际的选题，即使中标了，由于条件的短缺也很难完成预定任务，给国家造成损失，影响申报单位和申报者的信誉。因此对待选题要持慎重的态度。

选题的困惑

■ 国家需求

- 基金委招标指南，一定要符合招标的基本要求、范围、类别等。
- 自然科学基金是基础研究，不是新药或诊疗规范研究。不要走错门。

■ 个人专长与兴趣

- 术业有专攻。
- 发表论文，获得学位，晋升职称等。/提高疗效，阐明原理，发挥社会与经济效益。/学之不如好之，好之不如乐之。

选题的困惑

- 新与旧的矛盾。

- 创新，是关键，但基础工作缺乏。
- 传承既往工作，深入拓展，面孔熟悉，显得创新不够。

- 建议

- 有工作基础，如临床疗效或动物实验效果，再研究相关的作用原理。

选题的困惑

■ 实验与理论相脱离。

- 实验属于实践的范畴，通过反复实验应上升为认识，发展新理论，再指导包括临床的实践。
- 基础理论与临床有较大差距，新的研究结果不一定很快能用于临床实践。
- 传统上中医理论来自人体试验(trial)，而不是动物实验(experiment)。（中医理论难以体现在动物上）
- **一实验无用？** (Today science, tomorrow medicine)

选题与研究的困惑

- 举证倒置，先临床，再基础实验。
- 没有针对性很强的临床疗效，很难获得开展相关机制研究的资助。
 - 类似中药新药开发，先是临床有效，再要老鼠点头。
 - 先临床验证有效，再通过老鼠问为什么有效。
- 但中药或其他干预手段靶向作用较弱，若无功效基础，探讨其作用原理无较大意义。

选题依据阐述-立项依据

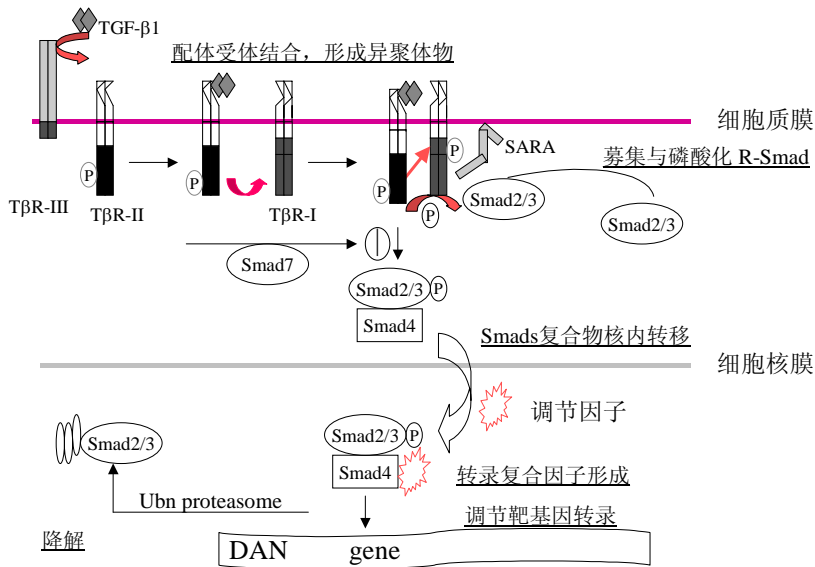
- To educate/persuade reviewers
- 解释题目中关键词或所涉及的概念，其内涵与外延，影响或作用，明确是什么，提示重要性。
 - 比如，肝硬化？— 针灸穴位？—
- 相关进展（国内外同行或前人在此方面已经做了什么）。相关、简要、新近。
- 分析存在的问题。—影响这些问题的原因是什么？
- 提出自己的科学假说：针对存在的问题，提出解决问题的新假说，有何影响？

建议

- 有“综”有“述”：研究现状重在分析，不能仅仅罗列文献，可按内容集中段落，列标题论述。
- 简要：不是教科书，内容要精炼。可用图示。
- 全面：标书中涉及的重要概念、机制（通路）、指标等，都要解释明白。
- 摆事实，讲数据，使重要性喻而不言，含而不露。
- 参考文献宜新而精，不宜太多太旧。

举例：刘成海，等. 05自然科学基金

TGF- β 1的信号跨膜与胞内信号转导过程



- 图1. TGF- β 1信号跨膜及其胞内转导过程示意图^[5]。①胞外TGF β 1经TGF- β III型受体 (T β R-III) 递呈与T β R-II, T β R-I结合, 形成配体受体复合物, 并激活T β R-I胞内激酶。②经胞内“Smad锚着受体蛋白” (SARA) 作用, T β R-I激酶使Smad2与Smad3磷酸化。③磷酸化的Smad2, 3与Smad4结合, 转位细胞核内, 直接与调节因子形成转录复合子, 以调控目的基因表达。Smad7抑制胞内R-Smad磷酸化及与Smad4的结合, 促进受体的降解, 起负性调节作用。

研究方案设计

- 关键问题是什么？
- 主要步骤与内容？

拟解决的关键问题

■ 大科学经常问：

- 什么是学科发展的关键问题？
- 什么是制约学科发展的关键问题？
- 什么是解决问题的办法？

宽时空、大体量；
混沌、复杂、无
序。

■ 小科学经常问：

- 临床有效方药主要通过什么途径发挥作用？
- 一种方药在不同病理阶段（纵向发展）、相似病理不同疾病（横向比较）有何特点？
- 方药中哪些物质成分起主要作用（物质基础）？这些组成药物及其成分之间怎样相互联系（配伍原理）？

拟解决的关键问题

- 主要为科学性问题，针对假说的关键证据，是实验设计的核心。
 - 如“脾虚患者唾液淀粉酶活性变化的病理生理意义”
 - 假说“唾液淀粉酶活性变化是脾虚的重要物质基础”
 - 关键问题“唾液淀粉酶在正常人、脾虚患者与非脾虚患者中的表现特点；不同程度脾虚患者的酶活性变化规律”。
- 常见误区：将技术手段视为科学问题，如RT-PCR、细胞模型建立、某种活性成分检测等。

实验研究方案的常见问题

- **忘了目的（阐明疗效的机制）。**没有疗效（终点生效应）指标，一头扎进复杂深奥的机制中。

- 清热解毒：不量体温；
- 减肥降脂：不称体重；
- 抗纤维增生：不测疤痕与胶原等等。

尽管临床疗效优良，但对具体模型动物或模型细胞有效吗？

- **只管药效指标，不管是否毒性。**

- 对模型动物或细胞有效，对正常动物或细胞怎样？
- 动物用药剂量可以成人体重或体表面积换算，细胞用药如何换算？细胞无限量（>1g/ml）添加药物，泥浆水也有用啊！

毒性作用—正常
药理作用—病理

物理作用—非生理条件
生物效应—生理条件

大毒治病，十去八九。毒效相关，对于细胞，**IC50、ID50**要明白。动物、细胞也要“**I期临床试验**”。

实验研究方案的常见问题

■ 模型选用不当

- 用细胞株代替原代细胞（不死性细胞株的基因与功能表型已改变，药理意义有限）。
- 自限性预防模型，用于治疗（无药也可好啊！）
药物反证证候模型。大黄—脾虚泄泻—四君子汤？
- 湿热环境—湿温模型（桑拿如何？）

■ 不鉴定模型

- 自创模型。这本身就是一个课题。
- 无动物或细胞模型的标志性指标(Marker)，只是关注药效指标（皮之不存，毛将焉附？）

实验研究方案的常见问题

■ 不设对照，或错误比较。

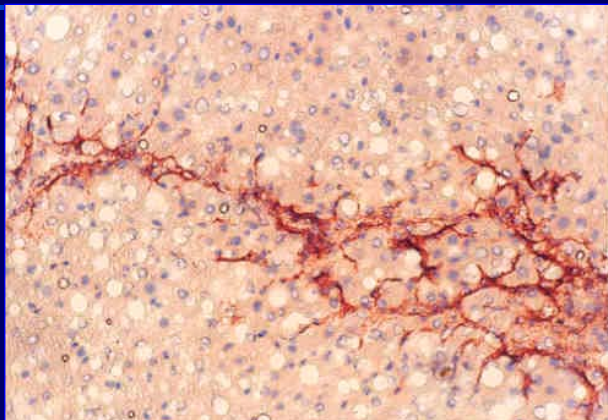
- 不设立药物对照（阴、阳性），甚至无正常对照。
- 探讨机理环节无针对性阳性对照（小分子化合物）。5类对照中时有错误应用。

■ 方法滥用，一知半解。

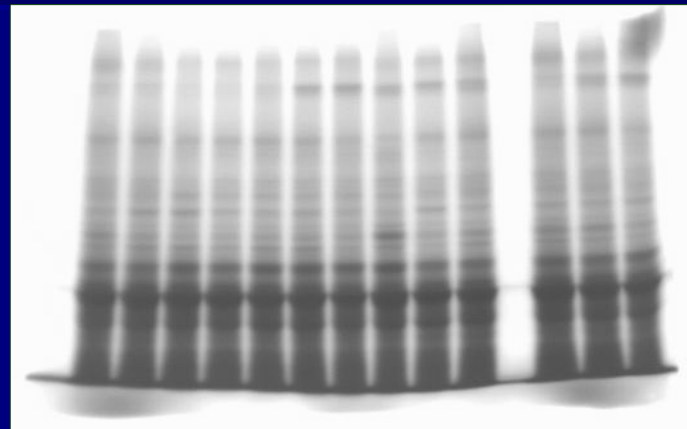
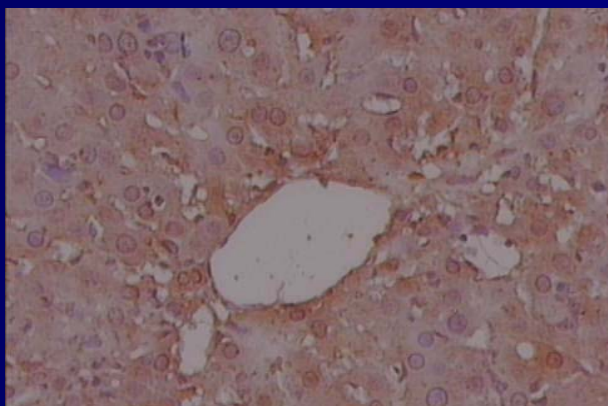
- 病理形态+图像分析，代替生化定量。
- 用PCR代替Northern印迹杂交。
- 用蛋白表达，代替蛋白的活性功能。
- 定性、定位、定量；数量、功能之区别未理解。

举例：蛋白印记与免疫组化区别很大

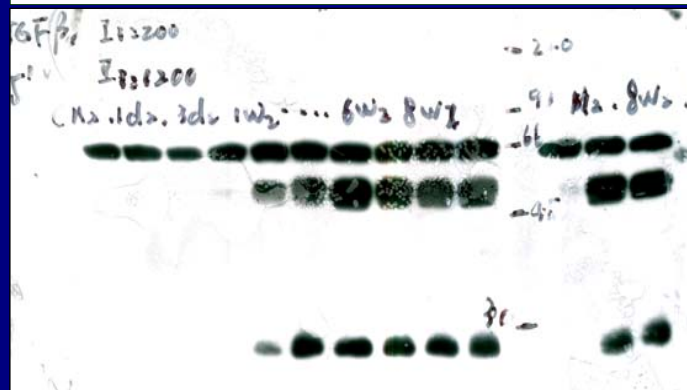
较好免疫组化染色



较差免疫组化染色



考马斯染色总蛋白



非特异性杂交带

← 25kd, TGF-b1

- 免疫组化主要在于表达部位与定性分析，受抗体特异性、标本与图像取样的抽样误差，最多能半定量，不能代替生化定量分析方法。

实验研究方案的常见问题

■ 简单拿来，不管复杂干扰。

- 药物血清可较好用于细胞的蛋白、基因等生物效应实验，但对基因调控的细胞信号转导仍然可用吗？
- 某细胞因子+细胞+药物血清：血清中有许多细胞因子等活性物质，对细胞信号转导有复杂的影响。

■ 贪大求新，缺乏系统。

- 基因组学、蛋白组学分析正常、模型与药物组之差异表达，这些完整的差异谱是什么？差异水平怎样？什么导致这种差异？
- 缺乏完成下游工作（面上项目也难以完成），来自混沌，归于混沌。

少则得，多则惑。

课题的工作基础

- 在申报领域长期耕耘，有建树。-不能哪里有钱/热闹即往哪里跑。
- 描述相关积累，发表论文、他人引用、学术专著、专利等。
- 预初工作。实验结果，最好有实物数据。
- 个人学术成绩。奖励、既往承担课题、学会任职等。

体会与建议- 重视细节

- 对细节的重视程度反应了个人的基本素质。
- 对细节的考虑反应了作者对所涉及问题的充分掌握与把握；反应了作者认真严谨的治学态度。
- 标书涉及什么细节？
 - 标点符号、引文标注、符号形式、缩写等
 - 遣词造句、逻辑行文
 - 方法学选择与描述、段落大意、关键问题等归纳

实验设计之建议

■ 主要材料交代清楚。

- 药物：规范名称、来源、鉴定、制备与治疗控制等。
- 关键抗体、探针：来源、特性等。

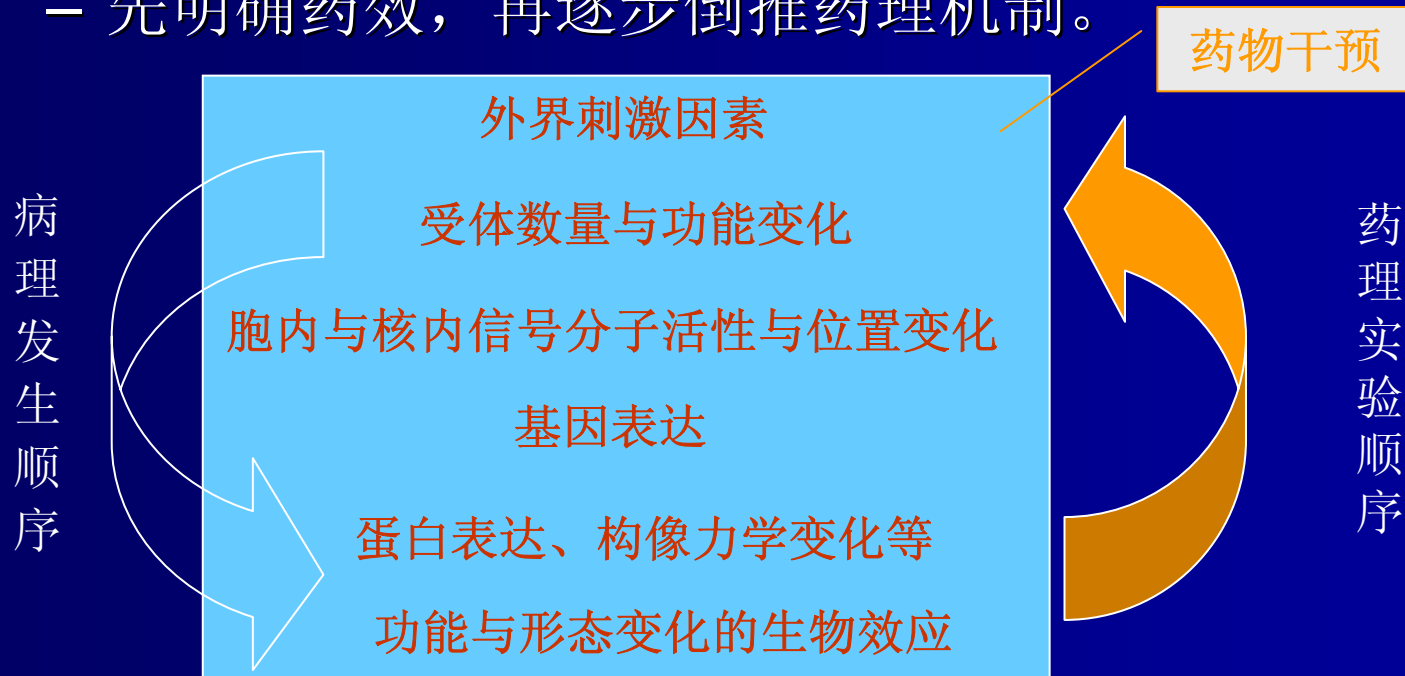
■ 选用公认、有代表性、可行的模型。

■ 处理措施交代清楚。

- 什么时间开始干预，干预多长时间等。
- 多少处理因素？

实验设计之建议

- 观察内容与方法，条理清楚，提炼主题，逐级说明。（不是检验科查个指标）
 - 先做毒性，摸清剂量范围（如果需要）。
 - 先明确药效，再逐步倒推药理机制。



实验设计之建议

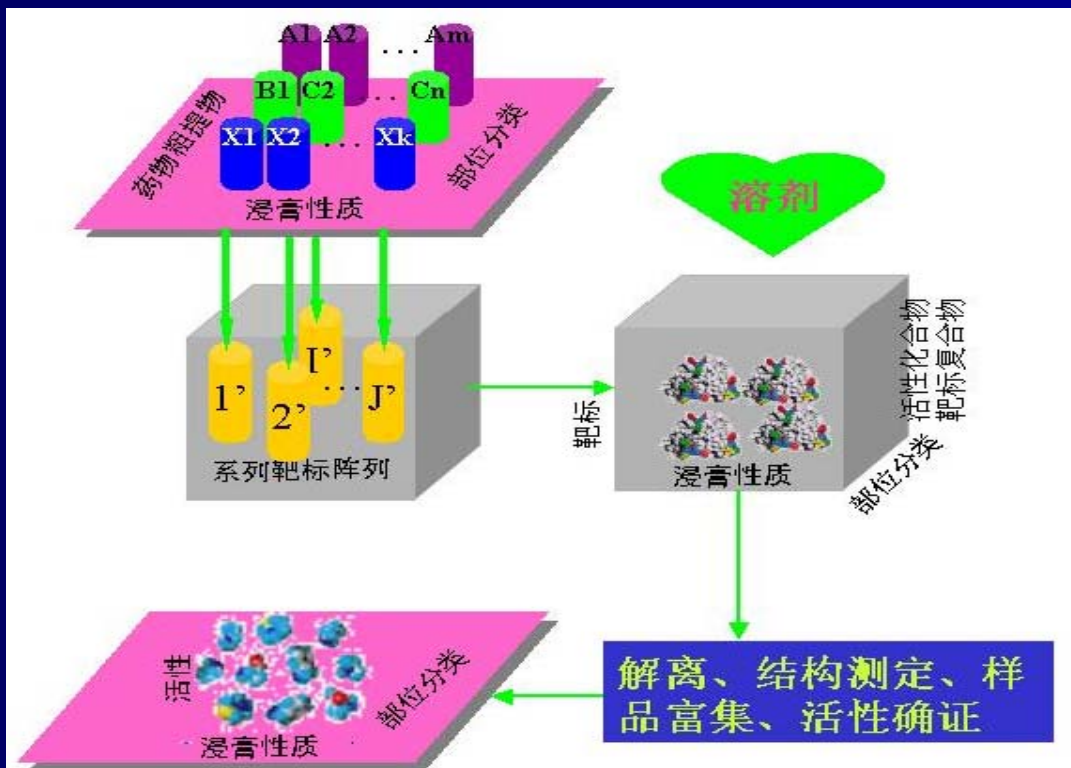
■ 方法简要交代清楚。

- 关键处理步骤，不要都是试剂盒方法。
- 适当图表，加强表述。（较文字10倍信息量以上，并且直观）
- 关键方法，引证文献，尤其是权威文献与自己发表的文献。

■ 预初实验结果详细描述。

■ 研究内容、研究目标与研究方案之间相统一衔接。根据目标拟方案，根据方案定内容。

举例：刘平，等。'05国家自然科学基金重点项目

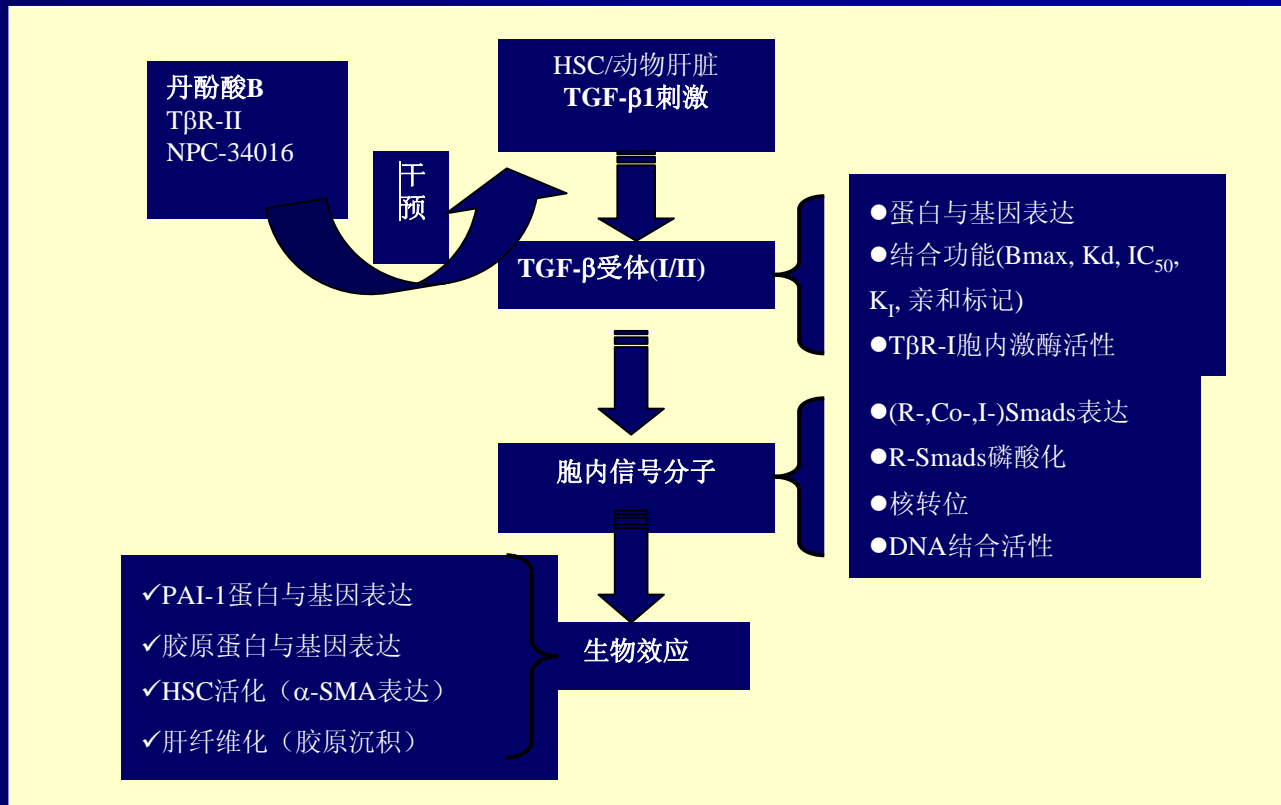


以不同组分与特定靶标作用，寻找主要活性物质；

以特定成分与不同靶标作用，寻找关键作用靶点。

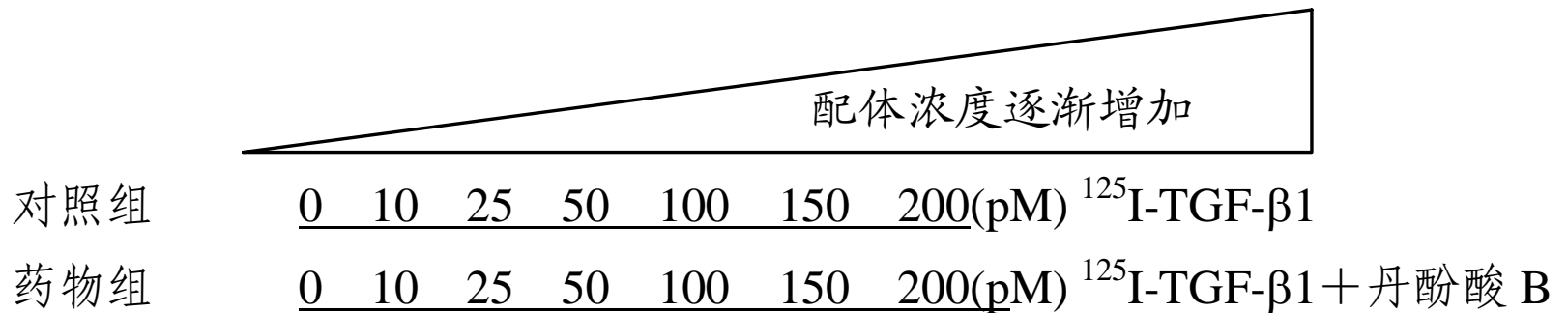
配体垂钓技术探讨显效方剂的主要作用靶点及物质基础

举例：刘成海，等. 05自然科学基金



■ 图2. 主要研究内容与技术路线示意图

举例：刘成海，等. 05自然科学基金



- 图4. TGF- β 受体的竞争结合反应实验示意图. 竞争结合反应。固定竞争（丹酚酸B）与受体数量（培养细胞），改变放射性配体数量，与Scatchard作图。对照组参照Friedman等方法，以10—200pM浓度 [^{125}I]-TGF- β 1温育细胞2h^[6,7]，药物组除外不同浓度 [^{125}I]-TGF- β 1，再添加以上较好效应浓度的丹酚酸B。另设平行对照加50倍量（50 x）未标记TGF- β 1，计数细胞中总结合放射量与非特异性结合放射量。求得饱和曲线，Scatchard作图，并计算最大结合浓度（Bmax）与解离常数（Kd）。



上海中医药大学新校园- 浦东张江高科技园区

肝病所实验室

