

试验设计类型之可以考察部分交互作用的多因素设计:重复测量设计

沈 宁¹, 胡良平^{1,2*}

(1. 军事医学科学院生物医学统计学咨询中心, 北京 100850;

2. 世界中医药学会联合会临床科研统计学专业委员会, 北京 100029

* 通信作者: 胡良平, E-mail: lphu812@sina.com)

【摘要】 本文目的是介绍一种广泛应用于生物医学和临床试验研究中的多因素试验设计类型, 即重复测量设计。根据试验分组因素数目和重复测量因素数目的不同, 此设计类型具有多种不同的亚型。此设计类型特别适用于需要考察接受不同处理的受试对象随着时间的推移、定量指标取值的动态变化规律。此设计类型的一个突出特点是定量指标在不同时间点之间具有不相等的相关性, 在对其定量资料进行差异性分析时, 需要采用多种不同的方差协方差结构的方差分析模型, 并依据特定的判定标准, 从中选择最合适的方差分析模型给出最终的分析结果。

【关键词】 试验设计; 重复测量设计; 相关; 协变量; 方差协方差结构

中图分类号: R195.1

文献标识码: A

doi:10.11886/j.issn.1007-3256.2017.02.004

Types of the multifactor experimental designs with partial interactions: repeated measurement design

Shen Ning¹, Hu Liangping^{1,2*}

(1. Consulting Center of Biomedical Statistics, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

2. Specialty Committee of Clinical Scientific Research Statistics of World Federation of Chinese Medicine Societies, Beijing 100029, China

* Corresponding author: Hu Liangping, E-mail: lphu812@sina.com)

【Abstract】 The purpose of this paper was to introduce a multifactor experimental design that was widely used in biomedical field and clinical trials, that was repeated measurement design. This design type had many different subtypes depending on both the number of factors distinguishing groups and the number of repeated measurement factors. This type of design is particularly suitable to examining the dynamic changes of quantitative indicators of subjects exposed to varied treatments over time. One of the salient features of this design type is that there are unequal correlations among the values of quantitative indicator at different time points. When differential analysis should be carried out on these quantitative data, a series of different variance-covariance structure models should be adopted, and the final and the most appropriate results could be chosen based on these certain criterias.

【Keywords】 Experimental design; Repeated measurement design; Correlation; Covariate; Variance-covariance structure models

1 概 述

1.1 何为重复测量设计

重复测量的含义很容易理解, 若在一个特定试验条件下的受试对象, 在多个不同时间点或多个对称部位上被重复观测某定量指标的取值, 就被称为“重复测量”。例如医生对一组 30 例 2 型糖尿病患者, 在进餐后 2、4、6、8 小时, 测定其血糖数值, 将所获得的血糖数值排列成 30 行 4 列的形式, 我们就说该定量资料为来自“具有一个重复测量因素的单因素设计一元定量资料”。

在动物试验或临床试验研究中, 假定试验分组

因素有 m 个, 与重复测量有关的因素有 k 个, 测量了 P 个定量指标的取值, 我们就可给这项试验研究获得的定量资料取如下的名称: 即具有 k 个重复测量因素的 $(m+k)$ 因素设计 P 元定量资料。这里涉及到三个数字: 第 1 个数字 m 为试验分组因素, 也就是说, 全部受试对象是依据这 m 个试验因素水平的全面组合被分成了很多个独立的小组 (小组数目为 m 个因素水平数之乘积)。每个小组中的全部受试对象 (被称为重复试验数目, 即每个小组的样本含量) 再在 k 个因素水平组合的条件 (假定共有 t 种) 下被重复观测 P 项定量指标的数值。

1.2 为何需要了解重复测量设计

由基本常识和临床专业知识可知, 一组受试对

象接受了一种特定的处理后,其体内的内环境会发生改变,而且,这种改变是随着处理作用的时间长度的变化而变化的。因此,当这种处理直接影响某些有关的定量指标时,其取值自然会随着时间的变化而变化。研究者常常需要了解不同定量指标的取值是如何随时间推移而动态变化的规律,采用重复测量设计就是最好的选择。这就是为什么重复测量设计在生物医学试验和临床试验研究中出现频率非常高的原因。

2 六种略有区别的重复测量设计^[1-2]

2.1 具有一个重复测量因素的单因素设计

【例 1】某外科医生在每一位患者的手术过程中的 3 个不同阶段测得患者门静脉压力资料见表 1,该资料所代表的试验属于具有一个重复测量因素的单因素设计。

表 1 10 例患者在手术过程中的 3 个不同阶段门静脉压力的测定结果

病例号	门静脉压力(cmH ₂ O)			
	阶段:	A ₁	A ₂	A ₃
1		40	36	36
2		19	17	18
.....	
10		36	37	38

2.2 具有一个重复测量因素的两因素设计

【例 2】研究者将某药物分成三种不同剂量,每

表 3 不同处理和不同剂量作用下不同时间点上 NFS-60 细胞凋亡情况

处理组 (因素 A)	照射剂量(Gy)	样品编号	200 个细胞中凋亡细胞数					
			时间 T(h):	T ₁ (12)	T ₂ (24)	T ₃ (36)	T ₄ (48)	T ₅ (60)
A ₁ (照射)	0	1		3	7	7	10	17
		2		5	3	5	7	18
		3		5	6	8	14	14
	3	1		4	7	10	20	33
		2		3	4	14	22	37
		3		3	5	9	19	31
	10	1		6	18	38	83	101
		2		4	16	42	91	120
		3		5	18	45	92	117
A ₂ (加 Perv)	0	1		4	6	4	12	14
		2		2	4	6	14	17
		3		3	7	3	11	19

个剂量组用 6 只大鼠做试验,考察服药后不同时间点上大鼠的心率,资料见表 2。

表 2 大鼠分别接受某药三种不同剂量后在三个不同时间点上心率的测定结果

药物剂量	鼠号	心率(次/分)			
		给药后时间(min):	0	2	4
低剂量组	1		205	246	215
	2		313	338	340

中剂量组	7		277	268	275
	8		339	296	284

高剂量组	13		221	193	205
	14		278	245	253

2.3 具有一个重复测量因素的三因素设计

【例 3】某研究者为了探讨两种不同处理(因素 A)和不同剂量(因素 B)作用下不同时间点(因素 T)上 NFS-60 细胞凋亡情况,将全部样品随机均分为 6 个组,每组含 3 个样品。对各组中的每个样品在处理 5 个不同时间点上观测 200 个细胞,数出凋亡细胞个数。因素 A 分为: A₁(单纯照射)、A₂[照射 + 过钒酸钠(Perv)],各处理组的照射剂量(因素 B, Gy)又分为 0、3、10。设计格式和资料见表 3,该资料为具有一个重复测量的三因素设计。

续表 3:

3	1	5	7	7	14	17
	2	3	5	9	12	19
	3	7	6	6	15	16
10	1	5	10	16	33	49
	2	4	12	12	37	44
	3	3	9	14	36	52

2.4 具有一个重复测量因素的四因素设计

内给予特殊营养物对肠粘膜吸收功能和能量代谢的影响”时,采用 40 只大鼠,每组 5 只,所做试验设计和收集的资料如表 4。

【例 4】某研究者在研究“小肠缺血再灌流时肠

表 4 葡萄糖和丙氨酸对缺血再灌流大鼠小肠吸收功能(ΔIsc)的影响(μA/cm²)(n=5)

缺血再灌流与否	葡萄糖用否	丙氨酸用否	吸收功能(ΔIsc)(μA/cm ²)($\bar{x} \pm s$)	
			缺血 60 min	再灌 60 min
是	不用	不用	83 ± 10	85 ± 7
		使用	80 ± 12	86 ± 9
	使用	不用	78 ± 14	90 ± 12
		使用	89 ± 14	93 ± 16
否	不用	不用	45 ± 5	54 ± 4
		使用	19 ± 6	25 ± 5
	使用	不用	55 ± 4	64 ± 5
		使用	17 ± 6	29 ± 5

2.5 具有两个重复测量因素的两因素设计

同时,4 次给予阿托品治疗,每次均为 2 mg/kg,在每次给予阿托品治疗后的 2 min、5 min、10 min 观测膈肌对电刺激产生的反应,用“面积”表示,面积越大,治疗效果越好。设计和资料见表 6,该资料为具有两个重复测量的三因素设计。

【例 5】具有两个重复测量的两因素设计实例:用贲门癌患者的标本制成液体,在三种不同处理条件下观测鸡胚背根神经节与鸡胚交感神经节中长出突起神经节的比例。现有贲门癌患者 10 例,将每个人的标本均分成三份,分别给予三种不同的处理(因素 A),即 A₁(加入 100 ng/mL 神经生长因子)、A₂(加入 200 ng/mL 神经生长因子)和 A₃(单用贲门癌培养液);并对每种处理后的标本中的两种类型的神经节(因素 B),即 B₁(背根神经节)与 B₂(交感神经节),观测长出突起神经节的比例(Y)。设计格式和资料见表 5,该资料为具有两个重复测量的两因素设计。

表 5 贲门癌患者的标本经三种处理后两种神经节中长出突起神经节的比例

病例号	Y(长出突起神经节的比例)					
	A ₁ (B ₁ B ₂)		A ₂ (B ₁ B ₂)		A ₃ (B ₁ B ₂)	
1	0.50	0.43	0.50	0.43	0.80	0.50
2	0.63	0.38	0.55	0.50	0.71	0.63
3	0.50	0.50	0.54	0.50	0.83	0.67
4	0.43	0.43	0.50	0.38	0.70	0.57
5	0.50	0.40	0.50	0.57	0.70	0.71
6	0.44	0.38	0.63	0.50	0.77	0.63
7	0.43	0.50	0.50	0.38	0.69	0.50
8	0.63	0.44	0.40	0.38	0.70	0.50
9	0.44	0.50	0.50	0.44	0.67	0.50
10	0.44	0.43	0.45	0.40	0.60	0.75

2.6 具有两个重复测量因素的三因素设计

【例 6】具有两个重复测量的三因素设计实例:某研究者为了研究阿托品累计用量对有机磷药物中毒后的治疗效果,将 10 只大鼠随机均分为两组,第一组 5 只接受有机磷农药使之中毒,第二组 5 只未接受有机磷农药。两组大鼠均给予一次乙酰胆碱,

表 6 连续 4 次给阿托品治疗不同时间点上膈肌对电刺激产生反应的观测结果

是否中 毒(A)	大鼠 编号	面积(单位)						
		B 与 C:	B ₁ (2 5 10)			B ₂ (2 5 10)		
是	1		48.0	48.6	51.0	52.8	50.6	49.7
	2		45.1	47.7	48.7	47.1	45.7	42.3
	3		45.1	47.7	48.7	46.0	46.0	43.7
	4		41.4	41.1	42.0	39.1	38.0	35.4
	5		57.7	60.6	61.4	58.6	56.8	52.0
否	1		64.8	66.3	67.1	66.0	65.1	62.0
	2		59.7	59.7	59.1	59.4	59.1	59.4
	3		53.1	54.6	54.6	52.3	51.7	49.1
	4		61.1	62.9	60.6	56.8	52.8	47.1
	5		84.6	85.1	84.3	80.3	77.1	72.3

注:表中右边还有 6 列数据未列出,其表头为“B₃(2 5 10)min”和“B₄(2 5 10)min”

3 对上述六种重复测量设计的解读

3.1 对表 1 所反映的实际问题的解读

在表 1 中,全部受试对象没有被分组,即属于“单组”。该组中的全部受试对象都在手术过程中的三个时间节点上被测定门静脉压力(cmH₂O)的数值,故得名“具有一个重复测量因素的单因素设计”。这里“具有一个重复测量因素”与“单因素”指的是同一个因素,即“时间”。前者为强调与“重复测量”有关的因素的个数,后者强调在整个试验中所涉及到的全部因素的个数(包括试验分组因素和重复测量因素,本例为 0+1=1)。

3.2 对表 2 所反映的实际问题的解读

在表 2 中,全部 18 只大鼠被随机分配进入三个药物剂量组中,所以,“药物剂量”为试验分组因素。每组中的 6 只大鼠都在三个时间点上被重复测量“心率”的数值,故“时间”为重复测量因素,故得名“具有一个重复测量因素的两因素设计”。值得注意的是:若第 1 个时间点是用药后即刻,则将时间因素视为具有三个水平;若第 1 个时间点是用药前,则将该列数据作为“协变量”的值更为妥当,此时,时间因素应视为只有两个水平。

此类重复测量设计在生物医学和临床试验研究类学术杂志的论文中出现的频率很高,在本刊中也不例外。例如,在文献[3]第 223 页上的表 1,就属于“具有一个协变量且具有一个重复测量因素的两因素设计二元定量资料(因篇幅所限,此处未呈万方数据

现原表)”。其中,有一个试验分组因素,原文中叫做“组别”,明确的名称为“治疗药物的配伍(分为‘单用舍曲林’与‘舍曲林+乌灵胶囊’)”;重复测量因素叫做“治疗后的观测时间”,其有 4 个水平,分别为“治疗 1 周末”“治疗 2 周末”“治疗 4 周末”“治疗 6 周末”(注意:“基线期”这个时间点上观测到的为定量指标的“本底值”,最好将其视为“协变量”)。同时,观测了两项定量指标的取值,即“HAMD-17 评分”与“HAMA 评分”。文献[3]第 236 页上的表 1 和表 2,文献[4]第 321 页上的表 2,文献[4]第 334 页上的表 1 和表 2,文献[4]第 355 页上的表 2,几乎在该杂志的每期上,都有几篇论文涉及此种设计类型。因篇幅所限,暂不详细列举。

3.3 对表 3 所反映的实际问题的解读

在表 3 中,全部 18 个样品被随机均分入 6 个处理组中去,每组中的 3 个样品都在 5 个时间点上被重复观测“200 个细胞中凋亡细胞数”。6 个处理组是由“照射基础上是否加过钋酸钠(Perv)(不加与加)”与“照射剂量(0,3,10Gy 三种剂量)”水平全面组合而成。故得名“具有一个重复测量因素的三因素设计”。

3.4 对表 4 所反映的实际问题的解读

在表 4 中,全部 40 只大鼠被随机均分入 8 个处理组中去,每组的 5 只大鼠都在两个时间点上被重复观测“吸收功能(ΔI_{sc})($\mu A/cm^2$)”的数值。8 个处理组是由“缺血再灌注与否(两个水平)”“葡萄糖用否(两个水平)”与“丙氨酸用否(两个水平)”水平全面组合而成。故得名“具有一个重复测量因素的四因素设计”。

3.5 对表 5 所反映的实际问题的解读

在表 5 中,全部 10 个受试对象未被分组,即“单组”;每个受试对象都在 A(3 个水平)与 B(2 个水平)两个因素水平全面组合下被重复观测“长出突起的神经节的比例”的数值。显然,试验分组因素的个数为 0,而与重复测量有关的因素个数为 2,故得名“具有两个重复测量因素的两因素设计”。

3.6 对表 6 所反映的实际问题的解读

在表 6 中,全部 10 只大鼠被随机均分入“中毒组”与“未中毒组”中。每组中的每只大鼠都在 B(第 1 次、第 2 次、第 3 次、第 4 次给予阿托品治疗)

与 C(三个时间点,即 2 min、5 min、10 min)两个因素水平的全面组合条件下被重复观测“面积”的数值。显然,只有 1 个试验分组因素,但有 2 个重复测量因素,故得名“具有两个重复测量因素的三因素设计”。

4 运用重复测量设计时应注意的两个事项

4.1 至少有一个重复测量因素

若一个试验安排被称为“重复测量设计”,那么,在这个试验安排中至少有一个因素与重复测量有关。也就是说,至少在该因素的不同水平下从同一个体身上观测到同一个定量指标的多个数值。

4.2 重复测量因素有哪些不同表现

通常情况下,重复测量因素为“时间”;有时,重复测量因素为“部位”(例如患者或动物的四肢);有时,重复测量因素为“时间”与其他因素的水平组合(参见表 6);还有时,重复测量因素为“处理”与“类型(或部位)”的水平组合(参见表 5)。

4.3 重复测量设计的特点

由于在重复测量设计中,测自同一个体的同一个定量指标的数值之间存在关联性,即同一组内的全部个体在任何两个时间点上的测定结果之间就存在相关性。由基本常识可知,任何两个时间点之间的相关性是不同的,且时间间隔越小,相关性越强;时间间隔越大,相关性越小。事实上,时间点之间的相关性会因具体问题不同而不尽相同。而且,不同问题中的时间点之间的相关性的程度或情况错综复

杂,很难直接准确度量出来。

4.4 判定一个定量资料是否来自重复测量设计的意义

一旦判定某试验研究属于某种具体的重复测量设计,就应当采用相应的方差分析模型去拟合定量资料。重复测量设计方差分析模型不同于一般非重复测量设计方差分析模型之处在于,需要给出定量资料中的“方差协方差结构”的“假定”。因为通过这种结构可以比较好地揭示拟分析的定量资料中“相关性”,其目的是尽可能减少或降低其对分析结果的影响。

在 SAS 软件中,可以假定的“方差协方差结构”大约有三十多种(在 SAS 9.0 版本之前,只有二十多种)。其中,以“TYPE = VC(方差分量型)、TYPE = CS(复合对称型)、TYPE = UN(无结构型)、TYPE = AR(1)(一阶自回归型)和 TYPE = SP(POW)(空间幂型)”这 5 种最为常见^[5]。

参考文献

- [1] 胡良平. 统计学三型理论在实验设计中的应用[M]. 北京:人民军医出版社, 2006:107-120.
- [2] 胡良平. 面向问题的统计学——(1)科研设计与统计基础[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012: 183-186.
- [3] 王芳,郭宏. 舍曲林联合乌灵胶囊对抑郁症的临床疗效观察[J]. 四川精神卫生, 2016,29(3): 221-224.
- [4] 马素杰,王润泽,马元业. 阿戈美拉汀治疗首发抑郁症的临床疗效[J]. 四川精神卫生, 2016,29(4): 319-322.
- [5] 胡良平. Windows SAS 6.12 & 8.0 实用统计分析教程[M]. 北京:军事医学科学出版社, 2001: 222-241.

(收稿日期:2017-04-05)

(本文编辑:吴俊林)