

大健康教育与研究

第 1 期 (总第 4 期) 2020 年 6 月

目 次

· 健康医学研究 ·

1 河南省基层全科医生执业满意度调查分析

陈东明,任维存,李佳

5 低年资护士共情能力现状调查及影响因素分析

闫浚玮,吴玉娟

9 河南省医学本科生基层就业意愿及影响因素调查研究

衣志爽,杜晨旭,孙允芹,姜晓花,王 静

13 30 天全封闭减肥训练营对超重少年儿童体质健康水平的影响与跟踪研究

唐 华,党 珊,谷雨东

17 民办医学院校学生健康素养现状及影响因素分析

任维存,马 倩,李 佳,王允允,陈东明

21 新型冠状病毒肺炎疫情期期间医学生心理健康状况的调查报告

衣志爽,姜晓花,高焕君,谢 静,王诗雅

· 生物医药 ·

24 茉莉酸甲酯对地黄毛状根次生代谢的影响

宋小锋,原增艳,刘婉莹,朱昀昊

29 地黄 RgCDPK 基因的克隆与表达分析

原增艳,宋小锋,朱昀昊

34 硫化氢抑制 ATP 诱导 PC12 细胞摄取 Ca^{2+} 和 YO-PRO-1 的观察

杨坤丽,罗 虎,李东亮

40 荞麦叶大百合总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究

秦晶晶,钱慧琴,闫福林

45 六味降糖颗粒的制剂工艺研究

李春燕,薛金涛,樊江平,张学敏,岳 璐

48 γ -聚谷氨酸体外美白功效评价

宋小锋,原增艳,臧淑峰,许平辉,路灯云

52 女贞子化学成分及抗氧化活性研究

李彦灵,叶同生,苏慧慧,詹璐璐

· 教育创新研究 ·

58 虚实结合的医学生物化学实验教学实践与反思

王亚娟,杨全中,张乐晶,杨保胜

63 技术应用型高校生物医药集群课程建设及人才培养

闫福林,李印省,马矜烁,苏慧慧,李彦灵,

魏 婧

65 以 OBE 为导向的情景模拟教学法在《基础护理学》实训中的应用研究

胡晓云,乔美琪

68 高等职业教育差序格局视角下的身份危机与消解

吴泽杰,曹便利,李恒,张俊丽,贺志安

72 大学英语分级教学背景下的翻转课堂教学可行性研究—以新乡医学院三全学院为例

张松竹

76 在临床生物化学检验实验课中采用 PBL 教学方法的应用

贾克利,王卫芳,尤亚睢,李家磊,胡森

79 基于“课程思政”的《临床生物化学检验技术》实验课教学模式探究

曹便利,吴泽杰,李恒,徐佳,胡森

· 综述 ·

83 G-四聚体免标核酸分子探针在传感器中的应用及进展

胡亚平,郭亚萍,党珊,张金,王秀菊,

李静

88 细胞焦亡与其相关疾病的联系

章克,胡梁,孟彦辰,张婷,徐男,

崔唱

· 学术动态 ·

封二 新乡医学院三全学院生命科学技术学院科技创新团队简介——生育力保存科技创新团队

· 大健康产业资讯 ·

51 互联网健康领域已经开始崛起,巨头布局“大健康”战略

71 2020 年大健康产业未来已来

78 2020 大健康行业发展势不可挡,将成为健康行业趋势

82 发展大健康特色产业正当其时

91 疫情之后,大健康产业这八大趋势值得关注

92 大健康产业利好政策不断 2019 大健康产业市场现状及发展趋势分析

93 2020 年大健康产业市场达 80000 亿,将成重点产业

94 大健康产业,下一个弯道超车的领域

96 越是面对机遇,大健康产业的崛起,需要全行业的共同努力

96 新冠肺炎疫情带来的医科新思考

99 《大健康教育与研究》投稿须知

COMPREHENSIVE HEALTH EDUCATION AND RESEARCH

No. 1 (Gen. No. 4) Jun, 2020

Main Contents

· Health & Medicime Research ·

- 1 Investigation and analysis on the satisfaction of general practitioners in Henan Province
CHEN Dong-ming, REN Wei-cun, LI Jia
- 5 Investigation on empathy ability of junior nurses and analysis of its influencing factors
YAN Jun-wei, WU Yu-juan
- 9 Investigation and research on grass-roots employment intention of medical undergraduates in Henan Province and its influencing factors
YI Zhi-shuang, DU Chen-xu, SUN Yun-qin, JIANG Xiao-hua, WANG Jing
- 13 Impact of 30-day closed weight loss camp on physical health of overweight children and adolescents and follow-up study
TANG Hua, DANG Shan, GU Yu-dong
- 17 Investigation on health status of students in private medical college and analysis of its influencing factors
Ren Wei-Cun, Ma Qian, Li Jia, Wang Yun-Yun, Chen Dong-ming
- 21 Investigation report on mental health of medical students during the outbreak of novel coronavirus pneumonia
YI Zhi-shuang, JIANG Xiao-hua, GAO Huan-jun, XIE Jing, WANG Shi-ya
- 24 The effects of Methyl Jasmonate on secondary metabolism of hairy roots of *Rehmannia glutinosa*
SONG Xiao-feng, YUAN Zeng-yan, LIU Wan-ying, ZHU Yun-hao
- 29 Cloning and expression analysis of calcium-dependent protein kinase genes in *Rehmannia glutinosa*. L
SONG Xiao-feng, YUAN Zeng-yan, ZHU Yun-hao
- 34 Observation on Hydrogen sulfide restraining $[Ca^{2+}]_i$ and YO-PRO-1 uptake induced by ATP in PC12 cells
YANG Kun-li, LUO Hu, LI Dong-liang

40 Study on extraction process and antioxidant activity of total flavonoids in *cardiocrinum cathayanum*

QIN Jing-jing, QIAN Hui-qin, YAN Fu-lin

45 Study on preparation process of Liuwei hypoglycemic granules

LI Chun-yan, XUE Jin-tao, FAN Jiang-ping, ZHANG Xue-ming, YUE Lu

48 Evaluation of whitening efficacy of γ -PGA in vitro

SONG Xiao-feng, YUAN Zeng-yan, ZANG Shu-feng, XU Ping-hui, LU Deng-yun

52 Study on chemical constituents and antioxidant activities of *Ligustrum lucidum*

LI Yan-ling, YE Tong-sheng, SU Hui-hui, ZHAN Lu-lu

58 Practice and reflection on the teaching of medical biochemistry experiment combining virtual and reality approach

WANG Ya-juan, YANG Quan-zhong, ZHANG Le-jing, YANG Bao-sheng

63 Construction of biomedical cluster curriculum and talent cultivation in application-oriented universities

YAN Fu-lin, LI Yin-sheng, MA Jin-shuo, SU Hui-hui, LI Yan-ling, WEI Jing

65 Application study of OBE-oriented scenario simulation teaching method in Fundamental Nursing Care

HU Xiao-yun, QIAO Mei-qi

68 Identity crisis and elimination of higher vocational education from the perspective of differential sequence pattern

WU Ze-jie, CAO Bian-li, LI Heng, ZHANG Jun-li, HE Zhi-an

72 Research on the feasibility of flipped classroom teaching under the background of level-based College English teaching—Taking Sanquan College of Xinxiang Medical University as an example

ZHANG Song-zhu

76 Application of PBL in clinical biochemical laboratory teaching

JIA Ke-li, WANG Wei-fang, YOU Ya-sui, LI Jia-lei, HU Miao

79 Exploration on experimental course of Clinical Biochemistry Testing Technology based on “curriculum ideology and politics”

CAO Bian-li, WU Ze-jie, LI Heng, XU Jia, HU Miao

83 Application and progress of lable-free G-quadruplex nucleic acid molecular probes in sensors

HU Ya-ping, DANG Shan, GUO Ya-ping, ZHANG Jin, WANG Xiu-ju, Li Jing

88 The relationship between cell pyroptosis and related diseases

ZHANG Ke, HU Liang, MENG Yan-Chen, ZHANG Ting, XU Nan, Cui Chang

河南省基层全科医生执业满意度调查分析

陈东明, 任维存, 李 佳

(新乡医学院三全学院健康管理学院, 河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 了解河南省基层全科医生工作满意度现状及其影响因素。**方法** 依据人类发展指数抽取河南省24个样本乡镇社区,于2019年对在岗的全科医务工作者进行问卷调查。从总体满意度、执业状况、职业环境、职业支持几个维度评价,依据Liketer五级赋分法对满意度赋分。发放问卷450份,回收有效问卷416份,回收有效率为92.4%。**结果** 基层全科医生整体满意度评价(百分制)得分为76.83。Logistic回归方法分析得出基层全科医生满意度主要受年龄、学历和职称的影响($P < 0.05$)。**结论** 河南省基层全科医生工作满意度一般水平偏上。中年基层全科医生比青年基层全科医生工作满意度高,大学学历比中专以下学历满意度低,高级职称基层全科医生比低职称满意度高,主要工作职责为基本公共卫生服务的全科医生比主要职责为基本医疗的满意度高。

关键词: 基层全科医生;工作满意度;河南省;影响因素

中图分类号:R197

Investigation and analysis on the satisfaction of general practitioners in Henan Province

CHEN Dong-ming, REN Wei-cun, LI Jia

(School of Health Management, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To understand the present situation of general practitioners' job satisfaction and its influencing factors in Henan province. **Methods** Based on Human Development Index, 24 communities of villages and towns in Henan Province were selected as samples, and a questionnaire survey was conducted on the in-service general practitioners in 2019. According to the Liketer five-level assignment method, their satisfaction was evaluated according to the overall satisfaction degree, the practice condition, the occupation environment and the occupation support. 450 questionnaires were distributed and 416 valid questionnaires were recovered, with a recovery efficiency of 92.4%. **Results** General practitioners' overall satisfaction rating (percentage system) was 76.83. Logistic regression analysis showed that the satisfaction of general practitioners was mainly affected by age, education and professional title ($P < 0.05$). **Conclusion** The job satisfaction of grass-roots general practitioners in Henan province is higher than the average. Among them, the job satisfaction of middle-aged grass-roots general practitioners is higher than that of the young, those with university degree is less satisfied than those with degrees lower than secondary technical school, higher-grade general practitioners are more satisfied than lower-grade ones, and those orienting public health services are more satisfied than those orienting basic medical care.

Key words: general practitioners; job satisfaction; Henan Province; influencing factor

《基本医疗卫生和健康促进法》旨在保障公民享有基本医疗卫生服务,提高公民健康水平。《关于推进家庭医生签约服务的指导意见》提出,家庭医生团队为签约居民提供基本医疗、公共卫生和约定的健康管理服务。全科医生作为家庭医生团队的主要力量,充当了居民健康“守门人”,其工作满意度直接影响医疗卫生服务提供的质量和效率^[1]一定程度上决定了基层医疗卫生服务改革的成败^[2]。只有使服务基层的全科医生认同自己的职业,拥有

较高的工作满意度评价,健康守门人的角色才会落到实处,健康中国才有可能实现,这也是研究全科医生基层工作满意度及其影响因素的价值所在。

1 对象与方法

1.1 对象 本研究采用抽样调查方法。依据人类发展指数将我省区域分为4个层次,依此抽取4个样本市,8个样本县区,24个样本乡镇社区,72个样本村站,于2019年对在岗的全科医务工作者进

收稿日期:2020-03-29

基金项目:河南省教育厅人文社会科学研究项目资助(2019-ZZJH-061)——河南省全科医生服务农村社区的促进机制研究;国家重点研发计划“数字诊疗装备研发”试点专项(2018YFC0114501)。

作者简介:陈东明,男,副教授,硕士,研究方向:健康管理与法律,E-mail:50156858@qq.com。

行问卷调查。

1.2 方法 本研究采用自行设计的《河南省全科医生执业状况调查问卷》进行不记名面对面调查。问卷分为基本情况、执业状况、职业期待或规划、职业认知与职业素质、全科医学教育现状与需求 5 大部分 28 个题目和一个满意度调查表。其中和本研究相关的内容有:(1)基本情况,包括性别、年龄、学历、职称、是否在编。(2)岗位职责,包括基本医疗、公共卫生服务、其他服务。(3)满意度评价项目,包括政策管理、收入与福利、外部环境、工作内容。事先抽取 3 个样本乡镇社区预调查,进行信效度评价,问卷指标设计征求专家意见。调查前对调查人员进行规范化培训,并实行调查过程控制,回收的问卷实行双录入校验。本研究共发放问卷 450 份,回收有效问卷 416 份,回收有效率为 92.4%。

1.3 统计分析 采用 Epidata3.1 软件进行结果录入,采用 SPSS20.0 对调查结果进行统计分析。使用方差分析比较不同岗位职责全科医生间满意度的差异;应用二元 logistic 回归分析满意度的影响因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 416 例样本中,男性全科医生 159 人,占 38.2%;女性全科医生 257 人,占 61.8%。河南省农村地区全科医生从业者绝大部分是中青年人(占 95.9%),年龄为 18 - 35 岁的全科医生有 206 名,占 49.5%;年龄为 36 - 59 岁的全科医生有 193 名,占 46.4%;而 60 岁以上的全科医生有 17 人,仅占 4.1%。半数以上的河南省农村地区全科医生从业者未获得高等教育学历,其中具有中学学历的农

村全科医生有 124 人(占 29.8%),具有中专/中技学历的农村全科医生有 137 人(占 32.9%),具有大专以上学历的农村全科医生有 45 人(占 10.8%),具有本科及以上学历的农村全科医生有 110 人(占 26.5%)。农村地区的全科医生有相当一部分没有职称,本次调查中无职称者有 169 人,占 40.6%;同时受学历所限,获得医士职称者 119 人,占 28.6%;按照人数从多至少随后是医师、主治医师、副主任医师和主任医师,分别占 15.9%、11.3%、2.9% 和 0.7%。在编与否的全科医生基本持平,在编者 229 人,占 55%;非在编者 187 人,占 45%。全科医生承担的岗位职责以基本医疗为主,68.3% 的被调查者对此岗位职责持肯定态度。按照被调查者对于岗位职责持肯定评价的比重从高至低排列,紧随其后的是急诊急救(占 46.6%)、公共卫生服务(占 45.2%)和康复治疗(占 38.5%)。

2.2 工作满意度

2.2.1 满意度现状 接受调查的 416 名全科医生中,在政策管理方面,对职称晋升和政策落实很满意的分别为 119 和 120 人,只有 2 人感觉很不满意;在收入与福利方面,对工资收入和福利待遇很满意的分别为 107 和 83 人,分别有 0.48% 和 0.24% 的人感觉很不满意;在外部环境方面,对医疗设备、医患关系、职业风险、社会地位和工作环境很满意的分别为 84、120、134、126 和 127 人,分别有 0.48%、0.48%、1.20%、0.48% 和 0.00% 的人感觉很不满意;在工作内容方面,对成就感、工作时间和工作量很满意的分别为 131、90 和 154 人,分别有 0.00%、0.72% 和 0.96% 的人感觉很不满意,见表 1。

表 1 基层全科医生工作满意度情况表

维度	评价项目	很满意 (%)	满意 (%)	一般 (%)	不满意 (%)	很不满意 (%)
政策管理	职称晋升	119(28.61)	168(40.38)	110(26.44)	19(4.57)	0(0.00)
	政策落实	120(28.85)	131(31.49)	141(33.89)	22(5.29)	2(0.48)
收入与福利	工资收入	107(25.72)	134(32.21)	155(37.26)	18(4.33)	2(0.48)
	福利待遇	83(19.95)	203(48.80)	109(26.20)	20(4.81)	1(0.24)
外部环境	医疗设备	84(20.19)	166(39.90)	132(31.73)	32(7.69)	2(0.48)
	医患关系	120(28.85)	126(30.29)	145(34.86)	23(5.53)	2(0.48)
	职业风险	134(32.21)	125(30.05)	127(30.53)	25(6.01)	5(1.20)
	社会地位	126(30.29)	137(32.93)	143(34.38)	8(1.92)	2(0.48)
	工作环境	127(30.53)	138(33.17)	148(35.58)	3(0.72)	0(0.00)
工作内容	成就感	131(31.49)	145(34.86)	138(33.17)	2(0.48)	0(0.00)
	工作时间	90(21.63)	125(30.05)	159(38.22)	39(9.38)	3(0.72)
	工作量	154(37.02)	105(25.24)	104(25.00)	49(11.78)	4(0.96)

2.2.2 不同职责全科医生工作满意度评价 工作满意度量表的设计参照了明尼苏达工作满意度短式

量表,以及 Spector 工作满意度量表,结合研究特点设计为政策管理、收入与福利、外部环境、工作内容

4个维度12项内容。依据Liketer五级赋分法,将很满意、满意、一般、不满意和很不满意分别赋值为5、4、3、2、和1分。结果显示基层全科医生整体满意度评价得分为76.83,主要职责为基本医疗、公共卫生服务和其他的全科医生的满意度评价得分(百分制)分别为75.67、78.43和78.10分。具体至各评价维度,单因素方差分析结果显示,在政策管理方面,主要职责为基本医疗、公共卫生服务和其他的全科医生的满意度评价得分分别为7.64、7.99和8.02分,且不同职责全科医生间的满意度评价存在显著差异($F=3.3.87, P=0.035$);在收入与福利方面,不同职责的全科医生的满意度评价得分分别为7.53、7.76和7.64分,满意度评价差异不显著($P>0.05$);在外部环境方面,主要职责为基本医疗、公共卫生服务和其他的全科医生的满意度评价得分分别为18.91、19.67和19.57分,且不同职责全科医生间的满意度评价存在显著差异($F=3.050, P=0.048$);在工作内容方面,主要职责为基本医疗、公共卫生服务和其他的全科医生的满意度评价得分分别为11.31、11.64和11.62分,满意度评价差异不显著($P>0.05$),见表2。

表2 基层全科医生工作满意度评价

一级指标	基本医疗	公共卫生服务	其他	F	P
政策管理	7.64±1.39	7.99±1.35	8.02±1.32	3.387	0.035
收入与福利	7.53±1.44	7.76±1.28	7.64±1.38	1.272	0.281
外部环境	18.91±3.16	19.67±2.75	19.57±2.93	3.050	0.048
工作内容	11.31±2.11	11.64±1.82	11.62±2.06	1.300	0.274
总体满意度	45.40±6.88	47.06±5.90	46.86±6.59	3.117	0.045
总体(百分制)	75.67±11.47	78.43±9.84	78.10±10.99	—	—

2.2.3 全科医生工作满意度影响因素 依据各指标间关系,本研究应用二分类Logistic回归方法分析基层全科医生工作满意度的影响因素。依据严重程度将指标性别、年龄、学历、职称和满意度的不同结果分别赋值为0和1,表3。

表3 变量结果赋值表

指标	赋值
性别	男=0,女=1
年龄	<35岁=0, ≥35岁=1
学历	大学以下=0,大学及以上=1
职称	中级及以下=0,高级=1
满意度	<80分=0, ≥80分=1

回归分析结果显示基层全科医生满意度主要受年龄、学历和职称的影响($P<0.05$),性别对基层全科医生满意度不存在显著影响($P>0.05$),表4。

表4 基层全科医生满意度影响因素二分类Logistic模型回归结果

指标	B	S. E	Wals	P	OR	95% C. I
性别	0.316	0.236	1.792	0.181	1.371	0.864 2.178
年龄	-0.535	0.238	5.063	0.024	0.586	0.368 0.933
学历	-0.457	0.220	4.324	0.038	0.633	0.412 0.974
职称	1.529	0.676	5.117	0.024	4.614	1.227 17.354
常量	-0.253	0.877	0.083	0.773	0.776	— —

3 讨论

本次研究结果发现,全科医生的工作满意度得分为76.83分(百分制),余芳等^[3]调查的全科医生的工作满意度平均得分为(34.12±6.56)分(满分55分),王健等^[4]调查的全科医生的总体工作满意度结果为(69.63±10.44)分,河南省工作满意度在一般水平偏上,这和国家实施中部崛起战略,河南省在政策贯彻、优化资源配置、实施人才激励等方面密不可分。但不容忽视的是仍然有近三分之一的全科医生工作满意度得分较低,存在工作积极性不高,职业认同感不强,有人员流失可能性。调查研究显示基层全科医生工作满意度主要受年龄、学历和职称的显著影响。

3.1 全科医生工作满意度与年龄的关系分析 研究对象以35周岁为分水岭,结果显示35岁以下的青年全科医生工作满意度低于35周岁以上的中年全科医生工作满意度,这和张廷建^[5]的研究结果一致。近年来随着健康中国的战略推进,国家加大对基层的卫生资源投入,无论在硬件设施、人才资源配置还是资金投入方面都较之前有明显提高,年龄越大或工作时间越长的全科医生容易进行纵向对比,会感到工作环境、政策趋势等明显改善,满意度会相对较高。而年龄越小或工作时间越短的全科医生自由选择空间较大,个人牵绊的家庭等因素较少,信息化接受程度和个人价值追求高,更容易进行横向对比,无论是基层医疗机构和医院平台的比较,还是不同行业之间的比较,基层医疗机构的优势都不是太明显,尽管国家对基层加大了政策倾斜力度,但短时间内很难实现持平或超越,尤其是基层吸引人才除了行业因素外,还牵涉教育、工作环境、职业地位等社会因素,因此满意度相对较低。

3.2 全科医生工作满意度与学历的关系分析 研究对象以大专学历为分界线,研究结果显示大专以上学历的全科医生工作满意度低于中专及以下学历的全科医生工作满意度。这和邹宛均等^[6]的研究结果一致,学历越高就业期望值越高,而基层的平台

条件很难满足其需求,导致高学历人才与职业环境融合度低。王立国等^[7]研究表明,高职高专医学毕业生愿意考虑到基层工作的仅占40.9%,张锦平等^[8]研究结果显示只有27.8%的医学本科生愿意到基层工作,河南省医学类独立学院大学生基层就业意愿调查结果亦显示基层就业意愿不强^[9],而孙美娜等^[10]关于订单定向医学专科生基层就业意愿研究结果显示愿意到基层就业的也只占56.65%。因此,从高职高专学历到本科学历,从公办院校到独立学院,从10年前的研究到今天的研究,亦或是订单定向生,基层就业的意愿都不强烈,其中还有一部分到基层就业是因政策限制和抱着锻炼的心态。而学历层次较低的人群因就业形势严峻,就业期望值相对较低,加上国家政策导向,满意度相对较高。

3.3 全科医生工作满意度与职称的关系分析 研究结果显示职称与全科医生工作满意度有统计学意义($P < 0.05$),高级职称比中级以下职称的满意度高。这和李姝洁^[11]、杨明荣^[12]、杨伟^[13]、邹宛均等的研究结果一致。高职称的全科医生收入高、福利好、社会地位和职业认可度都较高,加上基层本来就缺高职称人才,单位领导比较重视。这与职业期待值比较相符,个人的成就感也会得到极大满足,因此满意度相对较高。而低职称群体由于业务熟练度不够,忙于晋升职称,除了完成日常工作之外还要兼顾科研任务,收入及福利、社会地位等都难以满足需求,综合导致压力较大,满意度偏低。

3.4 不同职责全科医生间的满意度评价分析 研究数据表明,主要职责为基本公共卫生服务的全科医生总体比主要职责为基本医疗服务的全科医生满意度高,且在外部环境和政策管理方面存在显著差异。基本公共卫生服务以基层全科医生为主,这说明国家基本公共卫生服务政策发生了积极效用。无论在职称晋升、政策落实,还是医疗设备、医患关系、职业风险、社会地位和工作环境等方面,基本公共卫生服务都存在满意度偏高的情况,这和国家对基本公共卫生服务的重视,职称晋升的政策倾斜,基层医疗设备的加强都有一定的关系。基本公共卫生服务主要对居民提供免费服务,并且风险低;而医疗服务需要付费并且风险相对较高,基层医疗水平不高,诊

疗装备不足,这也是导致满意度存在差异的主要原因。

综上,河南省基层全科医生工作满意度整体处于一般水平偏上,满意度与年龄、学历、职称等因素密切相关,国家可针对学历提升、职称评聘等方面制定激励政策,对医学生进行正确的价值观引导,切实培养出一支愿意到基层农村社区执业并能够干得好的全科医生队伍。

参考文献:

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. The World Health Report 2006: working together for health [R]. Geneva: World Health Organization, 2006.
- [2] 黄术生,张丽青,刘倩倩,等. 山东省全科医生工作满意度及其相关因素分析[J]. 中国卫生资源, 2018, 21(3): 257-261.
- [3] 余芳,郑艳玲,杨婷婷,等. 东中西部全科医生工作满意度现状及其影响因素分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(16): 2986-2990.
- [4] 王健,赵琦,袁立,等. 上海市全科医生工作满意度调查[J]. 中华全科医师杂志, 2017, 16(12): 921-925.
- [5] 张廷建. 全科医生工作满意度调查——以安徽省为例[J]. 中国卫生事业管理, 2019, 36(6): 422-424 + 442.
- [6] 邹宛均,张绍群,龚放. 重庆市基层全科医生工作满意度及其影响因素研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(31): 3819-3824.
- [7] 王立国,张远芝,杨敬博等. 高职高专医学生基层就业意愿调查[J]. 中国职业技术教育, 2009(34): 61-63.
- [8] 张锦平,周梅,吴林雄等. 医学本科毕业生基层就业意愿及其影响因素的调查分析[J]. 中国卫生事业管理, 2013, 30(3): 206-207 + 226.
- [9] 陈东明. 河南省医学类独立学院大学生基层就业意愿及影响因素分析——以新乡医学院三全学院为例[J]. 中国成人教育, 2019(13): 40-42.
- [10] 孙美娜,陈越超,袁丹,黄巧云,自蓉,姜焰凌,李伟明. 云南省订单定向培养医学专科生基层就业意愿及其影响因素[J]. 医学与社会, 2019, 32(7): 126-129 + 134.
- [11] 李姝洁,张海瑞. 全科医生工作压力和工作满意度现状及其影响因素研究[J]. 中国全科医学, 2015, 18(4): 387-390.
- [12] 杨明荣. 吉林地区全科医生工作满意度的调查分析[J]. 中国卫生产业, 2017, 14(31): 5-7.
- [13] 杨伟. 社区卫生服务中心中青年全科医生工作满意度及与专科医生的比较[D]. 上海: 复旦大学, 2014: 25.

(责任编辑:高姿)

低年资护士共情能力现状调查及影响因素分析

闫浚玮¹, 吴玉娟²

(1. 新乡医学院三全学院护理学院, 河南 新乡 453000; 2. 新乡医学院三全学院光明眼科学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 调查低年资护士共情能力现状, 并分析其相关影响因素。**方法** 采用一般资料调查问卷、杰弗逊共情量表、一般自我效能感量表, 对新乡市5所综合医院的536名低年资护士进行问卷调查。**结果** 低年资护士共情能力总分为(123.18 ± 17.75)分, 一般自我效能感与其共情能力呈显著正相关($P < 0.01$), 学历、聘用形式、工作满意度、科室和一般自我效能感是低年资护士共情能力的主要影响因素。**结论** 低年资护士共情能力处于中等偏上水平, 但群体内部差异性较大; 护理管理者应采取有针对性的措施, 提高其共情能力, 进而提升护理服务质量。

关键词: 低年资护士; 共情能力; 影响因素; 一般自我效能感

中图分类号: R471

Investigation on empathy ability of junior nurses and analysis of its influencing factors

YAN Jun-wei¹, WU Yu-juan²

(1. School of Nursing, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000; 2. School of Optometry, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To investigate the current situation of empathy ability of junior nurses and analyze its influencing factors. **Methods** A questionnaire survey was conducted among 536 junior nurses in 5 general hospitals in Xinxiang by using the general information questionnaire, the Jefferson Scale of Empathy (JSE-HP) and the General Self-Efficacy Scale (GSES). **Results** Total scores in junior nurses were (123.18 ± 17.75) points, and general self-efficacy was positively correlated with empathy ability ($P < 0.01$). Education background, employment mode, job satisfaction, department and general self-efficacy were the main influencing factors of empathy ability of junior nurses. **Conclusion** The empathy ability of junior nurses is above the average level and there exists significant difference within the group. Nursing managers should take targeted measures to improve the empathy ability of junior nurses, so as to improve the quality of nursing service.

Key words: junior nurses; empathy; influencing factors; general self-efficacy

共情是指从别人的角度, 对其情绪、需要与意图的一种设身处地的体会和理解。护士共情能力是一种情感体验能力, 指在临床护理实践中, 护士能够正确感知患者的情绪, 识别和评价患者的情感状态, 进而形成有效的护理干预^[1]。根据《全国护理事业发展规划(2016-2020)》, 预期到2020年注册护士总数将达到445万^[2], 新增加的护士大多数是低年资护士。由于缺乏共情能力和沟通技巧, 临床护士因护患关系紧张而被投诉^[3]。本研究中低年资护士(以下简称护士)是指工龄在3年以下的护士^[4]。一般自我效能感是指人们对自身能否利用所拥有的技能去完成某项工作行为的自信程度^[5]。有研究表明, 提高临床护士的一般自我效能感, 可间接提高其批判性思维能力, 进而提升护理质量, 从而更好地服务于临床护理工作^[6]。因此, 本研究旨在调查新乡市综合医院低年资护士共情能力现状, 并分析其

影响因素, 为日后提高低年资护士共情能力的干预策略提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2018年6~9月, 采用分层整群随机抽样的方法, 抽取新乡市5所综合医院(三级医院2所、二级医院2所、基层医院1所)共552名护士。纳入标准: 取得护士执业资格证, 在岗护士, 从事临床护理工作, 工作年限≤3年, 知情同意且自愿参与本研究。排除标准: 护理实习生, 进修护士。

1.2 研究方法

采用问卷法对符合纳排标准的研究对象进行问卷调查。本研究共发放问卷552份, 回收有效问卷536份, 有效回收率为97.1%。

1.2.1 调查工具

(1)一般资料调查问卷:该问卷由研究者根据研究的需要结合查阅文献自行编制^[7-9],包括性别、学历、是否独生子女、家庭结构、聘用形式、月收入、所在科室、对工作的满意度、所在医院或科室是否开展过共情能力相关培训等。

(2)杰弗逊共情量表(JSE - HP, the Jefferson Scale of Empathy - Health Professionals):由Hojat等^[10]研制,用于评价医务人员的共情能力。本研究采用安秀琴^[11]汉化版的JSE - HP,该量表内部一致性Cronhach's α 系数为0.75,分半系数为0.77,重测信度为0.66,因子分析选出3个公因子,累积贡献率达37.34%,说明其具有良好的信效度。量表包括3个维度共20个条目,分别为观点采择(10个条目)、情感护理(7个条目)和换位思考(3个条目)。采用Likert 7级计分法,每个条目依次记为1-7分,得分越高则共情能力水平越高。

(3)一般自我效能感量表(General Self - Efficacy Scale, GSES):由德国心理学家Schwarzer于1981年编制。本研究采用华南师范大学教授王才康^[12]译制并修订的中文版一般自我效能感量表,该量表内部一致性Cronhach's α 系数为0.76~0.90之间,具有良好的信效度,已在国内广泛使用^[13-14]。量表包含10个项目,运用Likert 4级计分法,分数越高提示一般自我效能感越强。

1.2.2 资料收集方法 将一般资料调查问卷、杰弗逊共情量表和一般自我效能感量表制成电子问卷,通过网络平台发放问卷,在问卷的开始界面告知研究对象调查目的、完成问卷的预计时间及填写要求,以取得其知情同意,接受调查者独立完成问卷后在网页平台提交问卷。

1.2.3 统计学方法 利用SPSS 25.0软件进行数据的录入和分析。计数资料采用频数、百分比表示,计量资料采用均数、标准差表示,单因素分析采用独立样本t检验及方差分析进行统计分析,多因素分析采用多元线性回归分析和Pearson相关性分析等进行统计分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低年资护士共情能力的单因素分析

不同学历、家庭结构、聘用形式、平均月收入、所在科室及对工作的满意度的低年资护士共情能力得分比较差异有统计学意义($P < 0.01$);而不同性别和是否为独生子女的低年资护士共情能力得分比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 一般自我效能感与共情能力相关性分析

一般自我效能感与共情能力相关性显著($P < 0.01$),一般自我效能感与观点采择、情感护理和换位思考3个维度分别存在显著性相关。见表2。

表1 不同一般资料的低年资护士共情能力得分比较($\bar{x} \pm s$,分)

项目	人数	共情能力	t/F	P	
性别	男	30	116.67 ± 20.98	1.766	0.087
	女	506	123.57 ± 17.49		
是否独生子女	是	76	122.12 ± 19.37	0.564	0.573
	否	460	123.36 ± 17.48		
学历	大专	302	114.76 ± 18.06	109.642	<0.001
	本科及以上	234	134.02 ± 9.58		
家庭结构	核心家庭	448	124.07 ± 17.55	15.378	<0.001
	单亲家庭	26	104.85 ± 18.29		
	祖孙三代家庭	62	124.44 ± 14.79		
聘用形式	人事代理护士	321	127.80 ± 14.93	29.806	<0.001
	合同护士	215	116.31 ± 19.45		
平均月收入(元)	<1500	190	118.92 ± 19.63	6.520	<0.001
	1500~2499	84	123.23 ± 17.54		
	2500~3499	63	127.00 ± 14.17		
	>3500	199	126.03 ± 16.16		
所在科室	内科	205	129.40 ± 13.07	12.031	<0.001
	儿科	26	126.15 ± 15.84		
	外科	102	118.94 ± 18.69		
	妇产科	35	117.63 ± 19.50		
	手术室	41	114.71 ± 19.02		
	急诊科	34	108.46 ± 21.85		
	其他	93	124.97 ± 17.20		
对工作的满意度	不满意	30	116.23 ± 20.07	8.166	<0.001
	基本满意	131	119.16 ± 18.31		
	满意	375	125.14 ± 17.01		

2.3 低年资护士共情能力影响因素的多因素分析

以单因素分析结果为基础,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,将学历(大专=1、本科及以上=2)、家庭结构(核心家庭=1、单亲家庭=2、祖孙三代家庭=3)、聘用形式(人事代理护士=1、合同护士=2)、平均月收入(1500元以下=1、1500~2499元=2、2500~3499元=3、3500元以上=4)、所在科室(内科=1、儿科=2、外科=3、妇产科=4、手术室=5、急诊科=6、其他=7)、对工作的满意程度(不满意=1、基本满意=2、满意=3)及经Pearson相关分析中与共情能力呈正相关的一般自我效能感得分作为自变量,共情能力得分作为因变量进行多元线性逐步回归分析。结果显示,学历、聘用形式、所在科室、对工作满意程度及一般自我效能感是影响低年资护士共情能力的主要因素($P < 0.05$),且 $R^2 = 0.380$,即

学历、聘用形式、所在科室、对工作满意程度及一般自我效能感可以解释共情能力的38.0%。见表3。

表2 低年资护士共情能力与一般自我效能感的相关分析(r 值, $n=536$)

因素	共情总分	观点采择	情感护理	换位思考	一般自我效能感
共情总分	1				
观点采择	0.953 ^a	1			
情感护理	0.917 ^a	0.776 ^a	1		
换位思考	0.872 ^a	0.763 ^a	0.769 ^a	1	
一般自我效能感	0.450 ^a	0.467 ^a	0.362 ^a	0.385 ^a	1

注:^a $P < 0.01$

表3 影响低年资护士共情能力的多元线性逐步回归分析

因素	β	SE	t	P	标准偏回归系数	偏回归系数 95% CI	
						下限	上限
学历	15.401	1.444	10.663	<0.001	0.438	12.564	18.238
一般自我效能感	0.360	0.132	2.723	0.007	0.121	0.100	0.619
聘用形式	-6.412	1.344	-4.772	<0.001	-0.181	-9.052	-3.773
工作满意程度	10.755	2.790	3.853	<0.001	0.139	5.271	16.238
所在科室	-0.817	0.220	-3.705	<0.001	-0.127	-1.250	-0.384

注: $R^2 = 0.380$

3 讨论

3.1 护士共情能力的一般情况

本研究显示低年资护士的共情能力总分为(123.18 ± 17.75)分,处于中等偏上水平,高于卢美玲等^[15]的研究结果。护士共情能力因自身的学历、对工作的满意度、聘用形式以及工作科室的差别而存在变化,并且各因素内部之间相比共情能力存在着差异性;护士共情能力与其一般自我效能感呈显著正相关,通过提高护士的一般自我效能感可提高其共情能力。

护士的共情能力虽然有差别性,但是整体普遍偏高^[16]。这与高校人才培养的要求有很大的关系。医学院校在做好专业教育的同时,十分重视“全人教育”,护士的职业素质教育已初见成效;同时,随着新医学模式的深入推进,疾病治疗不再是简简单单的治病救人,而是全方位的从生理到心理再到社会因素,良好的医患沟通与护患沟通是治疗的重要环节,对医护人员的综合素质提出了更高的要求;医院经营的激烈竞争,要求医护人员具备为病人提供全方位服务的能力,理解病人的感情、需求以及行动等的能力尤为重要。共情是缓和与化解护患矛盾的重要工具,临床工作一线的低年资护士的共情能力是影响卫生服务效果的首要因素。

3.2 影响低年资护士共情能力的主要因素

3.2.1 学历 在城市医院中护士的学历水平整体较高,一般都在大学专科水平以上,本科及以上学历层次与专科学历层次的护士共情能力比较有差异,

与殷彩欣等^[17]报道的结果一致。究其原因,多与医学院校的学制与人才培养的课程体系设置,以及教育教学方式有关。本科生在校时间长,为综合素质教育提供了更多的时间。同时,学校人才培养理念与水平也是影响护士共情能力的重要因素。因此,护理管理者要鼓励继续教育,给低年资护士创造更多的学习机会,尤其是心理学、社会学、人际沟通学等其他相关边缘学科的学习,进而提高其人文素质。

3.2.2 聘用形式 人事代理的低年资护士共情能力比合同制的相对较高,这与颜丽霞等^[18]研究不一致。分析原因,聘用关系是体现职工与单位关系的重要形式,同时也与职工退休后的待遇直接相关;聘用形式不同,护士工作的稳定性和工作压力不同,所以聘用形式决定着职工是否具有归属感与安全感,这种心理感觉会影响护士工作中共情能力的体现。

3.2.3 工作满意度 对工作满意的护士共情得分较高,究其原因,共情能力不仅仅是一种能力,更是一种态度^[19]。热爱工作的护士,其职业认同感较强,在工作态度上更积极主动,能够充分发挥自己的共情能力,更能够站在病人的角度分析问题和解决问题,注重病人的情感体验,与病人很好地沟通交流,表现出更高的共情能力。因此,护理管理者可以通过提高护士的社会地位、福利待遇等措施来提高护士的工作满意度,进而提高其共情能力。

3.2.4 科室 内科护士的共情能力得分最高,可能与内科病人大多都是慢性病病人,且住院的次数相对较多,需要护士更加温柔、贴心和有耐心的护理有关;儿科护士共情能力得分较高,可能与儿科病人的

特殊性有关,患儿年龄小,不能很好地表达自己的感受和需求,这就要求护士对患儿要有更多的感同身受和情感照护;急诊和手术室的护士共情能力得分相对较低,可能与其病人周转较快,以及其工作范围与性质有关。工作环境、服务对象、服务内容等因素对护士共情能力有很大的影响。

3.2.5 一般自我效能感与共情能力的相关性 本研究显示,护士共情能力及其各维度与一般自我效能感呈显著正相关($P < 0.01$),即护士共情能力越高,其一般自我效能感越强;反之,亦然。这与张燕贞等^[20]的研究一致。自我效能感代表了自我认同感,自我认同感越强,其工作主动性与积极性就会越高,进而其共情能力表现也会很高。因此一般自我效能感与共情能力存在着高度相关的内在逻辑关系,这也是共情能力表现的心理学基础,一般自我效能感是共情能力的风向标与晴雨表。

4 结语

本研究结果表明,整体上看,城市医院护士的共情能力处于中等偏上水平,但是在该群体内部有一定的差异性,这种差异性在一定程度上会影响医院的护理服务质量,也会加剧护患矛盾与纠纷。因此,在护士共情能力的培养上,既要注重护士学历层次的提升,还应关注护士的劳动关系差别带来的影响。对于不同科室护士共情能力的提高应因材施教;不同工作满意度对共情能力提高也有一定的影响,同时护士的一般自我效能感水平也能够反映护士共情能力水平的高低。因此,护理管理者应针对护士共情能力的影响因素,采取有针对性的方法和措施,有效提高护士的共情能力,进而提高护理服务质量。

参考文献:

- [1] 张风勤,丁娟. 着装老年模拟服体验式教学对新护士共情能力的影响[J]. 护理学杂志,2019,34(9):65-66.
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 全国护理事业发展规划(2016-2020年)[J]. 中国护理管理,2017,24(1):1-5.
- [3] 马丽. 浅谈如何有效降低护患纠纷的发生率[J]. 基层医学论坛,2017,21(15):1984-1985.
- [4] 贾霞,刘静悦,徐娜娜. SBAR 标准化沟通对心内科 CCU 低年资护士的影响[J]. 齐鲁护理杂志,2019,25(23):126-128.
- [5] Bandura A, Freeman W. H, Lightsey R. Self-Efficacy: The exercise of control[J]. Journal of Cognitive Psychotherapy, 1999, 13(2): 158-166.
- [6] 赵攸文. 精神科护士自我效能感及其影响因素分析[J]. 齐鲁护理杂志,2017,23(9):42-44.
- [7] 张帮峰. 精神科护士遭受工作场所暴力与其共情能力及沟通能力的相关性研究[J]. 护理研究,2019,33(19):1897-1901.
- [8] 程玉红,夏敏,黎雪花,等. 新护士共情能力现状及影响因素调查分析[J]. 国际护理学杂志,2017,36(8):1026-1030.
- [9] 李静. 精神科护士关怀能力与共情能力对工作满意度的影响[J]. 护理研究,2018,32(3):375-380.
- [10] Hojat M, Gonnella J S, Nasca T J, et al. Physician empathy: definition, components, measurement, and relationship to gender and specialty[J]. Am J Psychiatry, 2002, 159(9):1563-1569.
- [11] 安秀琴. 杰弗逊共情量表(JSE-HP)在护士中的应用研究[D]. [硕士学位论文]. 山西:山西医科大学,2008.
- [12] 王才康,胡中锋,刘勇. 一般自我效能感量表的信度和效度研究[J]. 应用心理学,2001,7(1):37-40.
- [13] 郑婧,梁秀凤,王静杰,等. 护理本科生实习早期自我效能感、感知教师支持与职业认同感关系的研究[J]. 中国实用护理杂志,2016,32(28):22-23.
- [14] 帕丽达·买买提,帕丽达·买买提,高丛菊,等. 护生实习前期职业认同感的影响因素分析[J]. 中华现代护理杂志,2017,23(36):46-55.
- [15] 卢美玲,罗志芹,李峥,等. 肿瘤专科医院护士共情能力现状调查及影响因素分析[J]. 中国实用护理杂志,2017,33(12):886-889.
- [16] 张旭. 三级甲等医院急诊护士共情能力及其影响因素分析[J]. 护理实践与研究,2016,13(10):1-4.
- [17] 殷彩欣,刘美玲,林艳,等. 687 名儿科护士共情能力水平分析[J]. 护理学报,2019,26(7):53-56.
- [18] 颜丽霞,张平. 产科护士共情能力对工作满意度的影响[J]. 中华护理杂志,2011,46(9):898-900.
- [19] 旷鹏,李征,李慧. 综合医院中医科护士共情能力对其工作满意度的影响[J]. 中华现代护理杂志,2019,25(32):4223-4225.
- [20] 张燕贞,张卫,伍秋林. 临床实习生共情与一般自我效能感的关系[J]. 职业与健康,2016,32(24):3392-3394.

(责任编辑:刘鹤香)

河南省医学本科生基层就业意愿及影响因素调查研究

衣志爽, 杜晨旭, 孙允芹, 姜晓花, 王 静

(新乡医学院三全学院临床学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 探讨河南省医学本科生基层就业意向及其影响因素,为缓解基层医疗卫生机构人才荒和医学生就业难提供新的视角与合理建议。**方法** 通过采用自编的医学生基层就业意向问卷调查表,对河南省5所医学院校的医学生进行随机抽样调查。**结果** 河南省医学生基层就业意愿与成绩排名、生源地、家庭经济状况、父母对基层就业的态度、对基层就业政策是否了解、学校对基层就业的宣传力度有关,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 促进和引导医学生到基层就业需政府、社会、高校、家庭及个人等方面多措并举,形成合力,方有成效。

关键词: 医学生;基层就业;影响因素;问卷调查

中图分类号: R195

Investigation and research on grass-roots employment intention of medical undergraduates in Henan Province and its influencing factors

YI Zhi-shuang, DU Chen-xu, SUN Yun-qin, JIANG Xiao-hua, WANG Jing

(School of Clinical Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To explore the intention of grass-roots employment of medical undergraduates in Henan province and its influencing factors, and to provide new perspectives and reasonable suggestions for alleviating the shortage of talents in grass-roots medical and health institutions and the employment difficulty of medical students. **Methods** A random sample survey of medical students in 5 medical colleges in Henan province was conducted by means of self-compiled questionnaire on employment intention of medical students. **Results** The willingness of medical students to be employed at the grass-roots level in Henan province was related to their scores, place of birth, family economic status, parents' attitude, their understanding of policies on grass-roots employment, and the propaganda of schools on grass-roots employment. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The government, society, universities, families and individuals should take multiple measures to form a joint force to promote and guide medical students to be employed at the grass-roots level.

Key words: medical students; employment at the grass-roots level; influencing factors; questionnaire survey

2009年,我国启动深化医药卫生体制改革以来,出台了一系列加强基层医疗卫生服务体系建设的政策措施,基层医疗卫生机构设施条件得到明显改善,基层医疗卫生服务体系逐步健全。但基层医疗卫生队伍建设相对滞后,农村基层临床医学人才匮乏、素质不高的问题日益成为制约我国基层医疗卫生事业发展的瓶颈^[1]。在此背景下,针对河南省的具体情况,现对河南省医学本科生基层就业意向进行调研,以期为学校、政府及相关部门促进和引导医学生面向基层就业提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 调查对象

本研究于2019年5月对河南省郑州大学医学院、河南大学医学院、新乡医学院、新乡医学院三全

学院、河南科技大学医学院共5所高校的临床医学专业大五年级的学生进行调查,采取整群随机抽样的方法每个学校抽取6个班级约200人。本次调查共发放问卷1000份,回收936份,其中有效问卷914份,有效率91.4%。

1.2 问卷设计

问卷由三大部分组成:第一部分是调查者的基本情况,包括性别、学校、年级、专业成绩排名、生源地、政治面貌、家庭经济状况等情况;第二部分是有关基层就业意愿的调查,包括愿意或不愿意去基层就业的原因;第三部分是促进基层就业,医学生希望学校及政府应做哪些工作。其中,对于医学生基层就业原因、促进大学生基层就业学校应加强哪些教育、如果去基层就业想得到的政府支持条件等项目进行列表打分,并采用Likert五分量表法进行测量,

其中1表示极不重要,5表示非常重要。

1.3 分析方法

运用 Epidata3.1 对调查问卷进行录入建立数据库,运用 SPSS 19.0 进行相关统计分析,采用 χ^2 检验和二分非条件 Logistic 回归分析进行就业意愿影响因素分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 调查结果

2.1 基本情况

在被调查学生中,男生为 333 (36.43%) 人,女生为 581 (63.57%) 人。学生成绩排名在前 20% 占

16.36%, 20% ~ 50% 占 55.15%, 50% 以后占 28.49%。生源地主要以农业户口为主,占 39.34%。政治面貌主要以共青团员为主,占 91.36%;中共党员占 5.7%。家庭经济状况比较好占 1.65%,一般占 64.15%,相对较差占 21.88%,贫困占 12.32%。

2.2 基层就业意愿调查及单因素分析

通过对 914 份合格问卷分析,性别、成绩排名、生源地、政治面貌、家庭经济状况、父母对基层就业的态度、对基层就业政策是否了解、学校对基层就业的宣传力度有关,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。学校与医学生到基层就业的意愿差异无统计学意义。见表 1。

表 1 基层就业意愿调查及单因素分析 (n, %)

变量	愿意	不愿意	χ^2	P	
学校	郑州大学医学院	75 (42.4)	102 (57.6)	1.073	0.585
	河南大学医学院	88 (46.8)	100 (53.2)		
	新乡医学院	86 (46.2)	100 (53.8)		
	新乡医学院三全学院	89 (46.4)	103 (53.6)		
	河南科技大学医学院	80 (46.8)	91 (53.2)		
性别	男	153 (45.9)	180 (54.1)	1.500	0.472
	女	298 (51.3)	283 (48.7)		
成绩排名	前 20%	57 (38.0)	93 (62.0)	12.372	0.001
	20% ~ 50%	235 (46.6)	269 (53.4)		
	50% 以后	136 (52.3)	124 (47.7)		
生源地	城市	95 (41.7)	133 (58.3)	20.320	0.000
	县城	156 (47.9)	170 (52.1)		
	农村	203 (56.4)	157 (43.6)		
政治面貌	中共党员	31 (59.6)	21 (40.4)	4.406	0.058
	共青团员	450 (53.9)	385 (46.1)		
	群众	11 (40.7)	16 (59.3)		
家庭经济状况	好	2 (13.3)	13 (86.7)	10.105	0.012
	一般	250 (42.7)	336 (57.3)		
	差	174 (55.6)	139 (44.4)		
去基层父母态度	支持	86 (60.1)	57 (39.9)	65.165	0.000
	反对	55 (41.4)	78 (58.6)		
	视情况而定	311 (48.7)	327 (51.3)		
对基层就业政策	了解	32 (61.5)	20 (38.5)	8.644	0.013
	略有耳闻	286 (44.3)	359 (55.7)		
	一点不了解	93 (42.9)	124 (57.1)		
学校对基层的宣传	强	48 (59.3)	33 (40.7)	9.471	0.024
	一般	241 (44.1)	305 (55.9)		
	弱	72 (40.9)	104 (59.1)		
	没有	44 (39.6)	67 (60.4)		

2.3 基层就业意愿的多因素分析

以是否愿意到基层工作为因变量(将愿意去基层设为 1,不愿意去基层设为 2),以成绩排名、生源地、家庭经济状况、父母对基层就业的态度、对基层就业政策是否了解、学校对基层就业的宣传力度有

关为自变量,结果表明,成绩排名在 20% ~ 50%、县城或农村户口、父母持支持态度、对基层就业政策了解及学校对基层就业的宣传力度强的同学更愿意去基层就业($P < 0.05$)。见表 2。

表2 基层就业意愿的多因素分析

变量	B	SE	Wald χ^2	OR	95% CI	P
成绩排名(参照组 = 前 20%)						
20% ~ 50%	0.673	0.332	4.116	1.959	1.023 ~ 3.752	0.042
后 50%	0.381	0.222	2.957	0.683	0.543 ~ 1.055	0.086
生源地(参照组 = 城市户口)						
普通县城	0.724	0.283	9.124	2.187	1.325 ~ 3.618	0.002
农村	0.756	0.314	8.254	2.122	1.293 ~ 3.472	0.006
家庭经济状况(参照组 = 好)						
一般	0.676	0.320, 255	5.337	1.978	1.215 ~ 3.459	0.02
差	0.586		4.925	1.865	1.154 ~ 3.892	0.037
父母对基层就业的态度(参照组 = 反对)						
支持	1.447	0.298	23.493	4.249	2.367 ~ 7.626	0
视情况而定	0.448	0.255	3.657	1.63	0.988 ~ 2.689	0.056
对基层就业政策是否了解(参照组 = 一点不了解)						
了解	2.153	0.554	15.238	8.652	3.045 ~ 4.257	0
略有耳闻	0.322	0.241	1.784	1.38	0.860 ~ 2.214	0.182
学校对基层就业的宣传力度(参照组 = 没有)						
强	1.725	0.363	22.575	0.178	0.087 ~ 0.363	0
一般	0.494	0.212	5.603	0.621	0.414 ~ 0.928	0.019
弱	0.664	0.365	3.113	1.904	0.931 ~ 3.892	0.078

2.4 基层就业原因分布

医学生愿意去基层就业的主要原因依次为:城市竞争太激烈,工作难找、积累宝贵经验与基层工作压力较小,这3项对毕业生愿意到基层就业的影响相对最大;而对于医学生为什么不愿去基层就业的主要原因依次为:基层工作条件差、基层工作没前途以及家长不同意。见表3,表4。

表3 医学生去基层就业的原因排序

原因	均值	标准差	重要性排序
相应党和国家的号召	3.79	0.780	4
基层工作压力较小	3.81	0.625	3
改变基层缺医少药面貌	3.65	0.863	5
城市竞争太激烈,工作难找	3.85	0.737	1
积累宝贵经验	3.83	0.794	2

表4 医学生不愿意去基层就业的原因排序

原因	均值	标准差	重要性排序
对基层工作没兴趣	3.45	0.753	4
基层工作没前途	3.87	0.751	2
去基层没面子	3.12	0.756	5
工作生活条件差	3.94	0.755	1
家长不同意	3.71	0.851	3

2.5 促进医学生基层就业,学校及政府应做哪些工作

促进大学生基层就业,学校应加强的教育依次为:服务基层的观念教育、合作医疗保障教育、三农政策教育、社情民情教育、传统美德教育;如果去基层就业,想得到的政府支持条件依次为:优先培训、

晋升的机会、服务期满后按比例推荐到上级医疗卫生单位工作、获得与城市同等工资待遇、一次性资金补助。见表5,表6。

表5 促进大学生基层就业,学校应加强哪些教育

教育	均值	标准差	重要性排序
服务基层的观念教育	4.15	0.650	1
社情民情教育	3.52	0.814	4
三农政策教育	3.76	0.724	3
合作医疗保障教育	3.98	0.712	2
传统美德教育	3.12	0.687	5

表6 如果去基层就业,您想得到的政府支持条件是

条件	均值	标准差	重要性排序
优先培训、晋升的机会	3.96	0.842	1
获得与城市同等工资待遇	3.77	0.821	3
服务期满后按比例推荐到上级医疗卫生单位工作	3.86	0.764	2
一次性资金补助	3.23	0.755	4
其他	2.88	0.719	5

3 讨论

3.1 完善基层就业优惠政策,加强基层建设

本调查发现,对国家引导和鼓励毕业生面向基层就业大多数医学生的态度是积极的。工作生活条件差、基层工作没前途、家长不同意是导致医学生不愿意到基层就业的主要原因,这与李玉刚等^[2]、张培芳^[3]、邵如月等^[4]的调查结果一致。而对于愿意到基层就业的医学生来说,更看重的是基层工作和

生活压力小,能够积累宝贵经验,同时也是基于当前严峻的就业形势做出的客观选择。为有效引导医学生“下得去、留得住”,政府应完善并修改相关优惠政策,使之更切合地方、医学生实需,具有可操作性,比如:优先培训和晋升的机会、服务期满后按比例推荐到上级医疗卫生单位工作、获得与城市同等工资待遇等;同时,加大对基层医疗机构的投入和扶持力度,加强基层医疗机构基础建设,改善基层医疗机构工作环境。

3.2 高校加大基层就业宣传力度,改革课堂设置

学校要充分利用各种媒介及课堂教学,加大对基层就业政策的宣讲和基层就业指导,让医学生对基层医疗卫生现状和未来行业发展有全面的认识,客观看待基层就业,而不是一味的排斥基层就业^[5]。同时为保证优质实用型的基层卫生人才有效输出,高校可以结合实情,针对性适当的降低一些专业录取分数线、开展学费减免、独立办班等方式^[6]。在改革课程设置方面,学校应加强服务基层的观念教育、合作医疗保障教育、三农政策教育、社情民情教育以及传统美德教育等,使医学生全面了解国家和各地医疗卫生改革进展,宏观综合掌握卫生系统运行规律和医疗卫生改革政策。

3.3 医学生自身及其家庭要转变观念

某些医学生或家长固守“医学生精英就业”的观念,无法接受受过高等教育的医学生回到偏远落后的基层工作之间的巨大落差。所以,大多数学生宁愿选择继续学业或者先待业,直至找到理想工作,也不愿意选择基层^[7]。医学生要充分了解当前就业形式,根据自身条件做好明确的职业发展定位。

其父母也要转变观念,认同基层工作也可有所作为的观点,在思想上、行动上给予子女选择基层就业大力支持。

虽然受基层待遇低、环境相对差等诸多因素影响,医学生仍热衷于到大型医院就业,但对基层并不完全排斥。畅通医学生到基层医疗机构就业道路,要靠政府、社会、学校、学生本人及家庭等多方力量相互配合,形成一个多元化、多层次、多维度的合力共同推进^[8]。

参考文献:

- [1] 何坪,刘平,潘传波,等.基层医疗卫生机构综合配套改革与实践分析[J].中国全科医学,2013,16(8):2561-2565.
- [2] 李玉刚,曹晓琳,吴洪涛,等.分级诊疗背景下医学生基层就业意愿影响因素分析[J].中国农村卫生事业管理,2016,36(8):972-975.
- [3] 张培芳.中部某省医学生基层医疗机构就业意向影响因素分析[J].人力资源管理,2017(12):617-619.
- [4] 邵如月,徐露,刘虹,等.重庆医药高等专科学校临床医学生基层就业倾向及影响因素分析[J].重庆医学,2019,48(12):2142-2146.
- [5] 敬媛媛,阴新强,何茜,等.川北医学院医学生毕业后基层就业意向调查[J].中国循证医学杂志,2013,13(3):286-295.
- [6] 方燕君,郑晓,原晓红,等.医学生基层就业对策研究[J].中国卫生事业管理,2011(8):617-619.
- [7] 任丽平,彭艳秋,王柳行.某医学院校临床医学专业学生基层就业意向的现状调查[J].中国高等医学教育,2017(5):47-48.
- [8] 吴磊.医学院校毕业生去基层就业的长效机制初探[J].中国高等医学教育,2010(9):38-40.

(责任编辑:高姿)

30天全封闭减肥训练营对超重少年儿童体质健康水平的影响与跟踪研究

唐 华¹, 党 珊², 谷雨东³

(1. 新乡医学院三全学院体育部, 河南 新乡 453000; 2. 新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453000; 3. 中国减肥达人北京分部, 北京 通州 101101)

摘要: **目的** 解决好少儿的超重、肥胖问题, 关系到国民体质健康水平的“起跑”位次, 关系到健身产业在某些线路上的科学性、长远性, 更关系到诸多由肥胖引起的少儿慢性病的研究价值。**方法** 通过深度访谈, 将有着丰富经验和较高学历的体育教师、营养师、教练、少儿体能训练师、生活老师, 和不同学校、不同年级、不同性别的、不同 BMI 区间的学生建议和意见, 融入到问卷当中; 通过问卷调查, 尽量减小不可抗力对于受试者的影响, 减小研究结果误差; 通过实验观察, 对五到八年级的 400 名超重学生进行为期 30 天的全封闭减肥训练营模式干预, 观察他们的各项指数变化, 并在 1 年后进行第 3 次追踪测试。**结果** 除心肺功能、折返跑、50 米跑 3 项外, 30 天的全封闭训练, 对于超重少年儿童的其余各项体成分和体质健康测试结果有明显的提升作用; 除多项已经明确的致胖因素外, 少年儿童的兴趣爱好, 与他们减重后的反弹有非常显著的相关性。**结论** 全封闭减肥训练营对于少儿体质有很好的提升作用, 现有训练营的运营模式, 并不能实现所有体成分和体质健康测试水平提高的要求; 解决超重、肥胖问题, 除已知的运动, 营养, 还要注重少儿兴趣爱好的培养。

关键词: 少年儿童; 超重; 训练营; 反弹; 兴趣爱好

中图分类号: R87

Impact of 30-day closed weight loss camp on physical health of overweight children and adolescents and follow-up study

TANG Hua¹, DANG Shan², GU Yu-dong³

(1. Sports Department, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000; 2. Basic Medical College, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000; 3. Beijing branch of China's Weight-loss Talent, Tongzhou, Beijing 101101)

Abstract: **Objective** To solve the problem of overweight and obesity in children. It is related to the “starting” rank of national physical health, the scientific and long-term nature of the fitness industry on some routes, and the research value of many chronic diseases in children caused by obesity. **Methods** Through in-depth interviews, suggestions and opinions from various people were integrated into the questionnaire, including those from physical education teachers, nutritionists, coaches, physical fitness trainers for children and life teachers with rich experience and higher education, and those from students of different schools, grades, genders and BMI ranges. Through the questionnaire survey, the influence of force majeure on subjects is minimized to reduce the error of the research results. In addition, 400 overweight students in grades 5 to 8 were given a 30-day closed-in training camp model intervention, and their index changes were observed, followed by a third follow-up test one year later. **Results** In addition to the cardiopulmonary function, round-tripping and 50-meter running, the 30-day closed training significantly improved the body composition and physical fitness of the overweight children. In addition to abundant factors identified, the interests and hobbies of children were significantly correlated with the rebound. **Conclusion** The closed training camp results in improved physical fitness of children, but the current mode cannot meet the requirements of improving all body components and physical fitness test level. Specific attention, therefore, needs to be given to the cultivation of interests and hobbies to solve the problem of overweight and obesity besides exercise and nutrition known to people.

Key words: children; overweight; training camp; rebound; interests and hobbies

收稿日期: 2020-03-18

基金项目: 河南省教育厅 2020 年度人文社会科学研究, 资助项目, 立项名称《体育运动对肥胖儿童审美价值观的干预研究》, 交叉学科/综合研究(编号: 2020-ZZJH-388)。

作者简介: 唐华, 男, 讲师, 硕士, 体质健康方向, 邮箱: 317498751@qq.com。

随着生活水平的提高,世界范围的儿童和青少年 BMI 指数不断攀升问题,日益引起各国重视^[1],作为东亚地区少儿占比最大的中国,能否在大健康时代,解决好少儿的超重、肥胖问题,关系到国民体质健康水平的“起跑”位次,关系到健身产业在某些线路上的科学性、长远性,更关系到诸多由肥胖引起的少儿慢性病的研究价值^[2]。减肥训练营的主旨是在亚健康的源头进行干预,防止其恶性延伸至只有医疗手段才可以干预的阶段。各个类型的减肥训练营对于少儿的体成分、体质健康水平改善是否能起作用、起到怎样的作用、作用的持续性又是怎样?本研究通过对 400 名中小學生以 30 天为试验周期的出、入营 8 项测试数据的对比以及跟踪研究,验证此模式是否会对超重少年儿童的体成分和体质健康产生积极作用。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

以中国体重指数分类标准^[3]为参考,在北京市平谷区 6 所中学、8 所小学中选取 BMI 处于超重标准的 400 名学生作为受试营员,所有受试营员均为在其年龄段 BMI 标准当中的超重人员,其中五年级 100 名(男 50 名, $20.3 \leq \text{BMI} < 23.6$; 女 50 名, $21.0 \leq \text{BMI} < 23.3$)、六年级 100 名(男 50 名, $21.0 \leq \text{BMI} < 24.7$; 女 50 名, $21.9 \leq \text{BMI} < 24.2$)、七年级 100 名(男 50 名, $21.9 \leq \text{BMI} < 25.7$; 女 50 名, $22.6 \leq \text{BMI} < 25.6$)、八年级 100 名(男 50 名, $22.6 \leq \text{BMI} < 26.4$; 女 50 名, $23.0 \leq \text{BMI} < 26.3$)。同时,用入营前体成分测量、体质健康测试和记名式问卷调查的形式,做初期数据收集,并排除可能由于遗传、激素、有系统训练经历、停训后至胖和伤病导致运动能力受损等^[4],对于封闭式训练效果不可控的受试者,最终确定 345 名接受入营前、后 8 项数据对比的受试者,并将问卷存档,为后续跟踪测试做准备。

1.2 研究方法

1.2.1 深度访谈 此项研究计划历时一年半,在受试者人员的确定上,以及超重、肥胖成因上,希望做出更有价值的数据和结论,因此在入营前,就已经对入营学生的自主能力,安全把控能力,运动能力做了深入访谈调查,并根据训练内容、研究方向、跟踪需求,3 个主要目的提前 4 个月设置了相应问卷,为保证问卷的信度,价值,以及与所研究内容的相关性,所以此问卷在设定过程中采用了深度访谈法,访谈对象主要包括成人、少儿体适能训练师、体育教师、

心理咨询师、减肥营地生活老师、健身教练以及不同年龄段的随机选取的学生;访谈的主要内容是对于问卷内容的设计和修订,包括训练、生活、审美、心理等多方面因素,通过各种渠道的反馈完善问卷内容。

1.2.2 问卷调查 受试者入营当天,需要完成记名式问卷调查,对入营人员的超重原因、是否有伤病、伤病是否影响运动、运动习惯、运动强度、是否可能提前退营、个人兴趣爱好等方面进行统计。在初期将受试者进行分类,避免毕营时由于非单纯性肥胖、伤病等不可抗力原因造成的封闭训练干预模式不起作用的结果。

1.2.3 实验方法 符合要求的 400 名受试者,根据全封闭减肥训练营的运营需要,以及训练效果和安全性,分为 18 个组,每组 25 人,进行为期四周的封闭训练干预。封闭减肥训练营与普通减肥运动不同,根据各年级放假时间和 21 天法则,2018 年 7 月 1 日开营,2018 年 7 月 30 日闭营,这期间每组在 25 名专业教练负责训练指导的同时,还按比例配有营养师,生活老师,心理咨询师,理疗师,营地主管等工作人员,负责其他环节的运营。以其中一组的日常计划为例:早晨 7:30 起床,8:00 食堂就餐(营养师按照营养成分和热量支出进行营养餐设计),9:00 开始按照课表进行 50 分钟的有氧训练(操场跑圈、跳绳、跑步机、动感单车、椭圆机等),休息 10 分钟后 10:00 开始周身力量循环训练(小重量,多组数多次数的哑铃、拉力带、杠铃、垫上、CROSS-FIT),10:50 结束,11:30 午餐,12:30-13:00,当天问题反馈和处理个人内务,13:00-14:00 午休,14:30 开始下午训练,同样两小时,17:30 用晚餐,18:30-20:00 由生活老师监督完成暑假作业,20:30,加餐时间,可在提供的粗纤维水果、蔬菜沙拉、小盒酸奶中任选其一,20:30-21:30 洗衣服或和父母联系,22:00 熄灯睡觉,教练配合生活老师巡视。如此循环,固定每周日下午为调整时间。经过 4 周时间,再对入营时的 8 个测试项目进行复测。

1.2.4 数理统计 综合考虑不同性别、年龄少年儿童所对应的《2014 年修订版全国中小学生体质健康测试标准》、北京市中考体育项目类别,数据以 Excel 2017 软件进行储存,对测试数据采用 SPSS 23.0 统计软件进行处理,对于体成分和体质健康测试的各组数据以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,同组入营前后采用配对样本 t 检验处理, $P < 0.05$, 设为差异显著性。于 1 年后跟踪研究的体重反弹情况与兴趣爱

好的相关性,采用秩和相关分析,多因素分析采用多因素非条件 Logistic 回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体成分和体质健康测试

通过 4 周训练营生活,综合比较出、入营的体成分和体质健康测试 8 项数据发现:所有受试者的 BMI 数据,出营平均值 20.5 低于入营 23.8,差异具

有显著性,其中女受试者 BMI 平均值从 23.9 下降到 20.3,具有非常显著的差异性,初级中学受试者的变化同样具有非常显著的差异性;腰腹围度变化普遍具有显著性差异,其中女受试者数据从 99.5 cm 下降到 91.3 cm,具有非常显著性差异;肌肉含量测试,除女受试者外,均具有显著性差异;肺活量、25 × 8 折返跑、50 米跑 3 项数据无显著性差异;1 分钟跳绳、1 分钟仰卧起坐二者各项测试数据显示均具有显著性差异,见表 1。

表 1 8 项实测数据出入营对比

测试项目	所有营员		男营员		女营员		小学营员		初中营员	
	入营	出营								
BMI	23.8 ± 3.0	20.5 ± 2.4*	23.6 ± 3.0	20.8 ± 2.3*	23.9 ± 1.7	20.3 ± 1.9**	22.9 ± 1.9	19.9 ± 1.7*	24.7 ± 2.7	21.1 ± 2.4**
腰腹围度(cm)	97.3 ± 21.4	89.9 ± 19.7*	98.9 ± 16.2	92.3 ± 15.7*	99.5 ± 14.9	91.3 ± 13.4**	95.2 ± 14.5	88.4 ± 16.0*	99.1 ± 18.6	91.1 ± 16.9*
肌肉含量(%)	25.9 ± 9.1	27.8 ± 8.8*	26.3 ± 5.3	28.9 ± 4.7*	25.7 ± 9.0	26.5 ± 8.7*	25.3 ± 8.7	26.1 ± 7.2*	26.2 ± 6.4	28.4 ± 7.7*
肺活量(ml)	1976.5 ± 603.0	2110.4 ± 572.5	1838.1 ± 493.7	2033.9 ± 505.6	1796.1 ± 566.0	1907.8 ± 307.7	1874.7 ± 705.0	2006.5 ± 670.6	2008.7 ± 567.3	2196.4 ± 560.0
1 分钟跳绳(次)	94.6 ± 32.6	119.7 ± 33.4*	93.0 ± 27.3	115.4 ± 25.0*	95.9 ± 30.2	121.8 ± 23.4*	90.6 ± 29.9	98.8 ± 33.2*	98.2 ± 24.6	124.7 ± 26.9*
1 分钟仰卧起坐(次)	20.0 ± 7.5	31.7 ± 6.6*	17.5 ± 6.6	23.2 ± 5.4*	27.1 ± 5.7	33.3 ± 5.1*	19.7 ± 4.4	28.3 ± 5.2*	20.7 ± 6.1	34.5 ± 5.2*
25 × 8 折返跑(秒)	71.3 ± 20.0	67.8 ± 24.8	68.3 ± 17.6	64.9 ± 19.4	72.4 ± 18.8	70.5 ± 21.1	71.2 ± 19.7	69.6 ± 23.0	171.5 ± 18.4	66.6 ± 20.6
50 米跑(秒)	11.3 ± 2.6	11.0 ± 3.1	11.0 ± 1.7	10.7 ± 2.0*	11.4 ± 3.0	11.1 ± 2.7	11.3 ± 2.3	11.2 ± 2.7	11.3 ± 2.5	10.9 ± 2.2

注:*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$,数据均为出营与入营比较

2.2 反弹率与兴趣爱好的相关性

2019 年 5 月,对 2018 暑期参加训练营的 345 名受试者进行第 3 次测试,最终 326 名受试者均测得真实有效数据(其中 19 名受试者由于变更手机号码、转学等未追踪到),结合入营留存的问卷调查发现,106 名受试者高于出营 BMI,反弹率占 32.5% (其中 85 名受试者 BMI 高于入营数值),106 名反弹受试者中,现九年级受试者达到 45 名,占反弹总人数的 42.5%。在对问卷调查中一个兴趣爱好的选择、排序题进行数据处理时发现,体重反弹学生对于

手游、动漫、国学、军事、时尚运动,5 个选项的选择和排序高度一致,于是将这些兴趣爱好的选择和排序做了量化处理并进行了 Logistic 回归分析,结果显示:以体重反弹为因变量,以 5 个兴趣爱好的选择和程度排序为自变量进行分析发现非反弹学生的数据处理结果虽然也存在一定相关性, $P > 0.05$;对于体重反弹学生,手游、动漫两选项为反弹的主要危险因素,剩余 3 项与反弹呈负相关,属于保护因素, $P < 0.05$;非九年级毕业生群体的相关性更为显著, $P < 0.01$,见表 2。

表 2 少年儿童体重反弹与某些兴趣爱好的相关性(所有反弹样本、非九年级学生反弹样本)

变量	回归系数	Wald 卡方 统计量	P	OR 值及 95% 置信区间	变量	回归系数	Wald 卡方 统计量	P	OR 值及 95% 置信区间
手游、电竞	2.271	7.399	0.007	2.341(1.161 - 5.834)	手游、电竞	2.366	8.978	0.001	2.276(1.172 - 5.864)
动漫、cosplay	1.834	5.998	0.009	1.078(0.801 - 3.016)	动漫、cosplay	1.967	7.639	0.003	1.106(1.011 - 2.937)
国学、古风	-1.104	2.624	0.014	0.509(0.221 - 1.917)	国学、古风	-1.426	2.501	0.017	0.51(0.221 - 1.810)
军事、国防	-2.466	3.635	0.013	0.515(0.007 - 0.935)	军事、国防	-1.101	3.79	0.014	0.739(0.011 - 0.979)
时尚运动	-0.826	5.412	0.018	0.82(0.013 - 0.980)	时尚运动	-0.653	4.223	0.019	0.612(0.097 - 2.115)

3 结论与建议

3.1 结论

30 天全封闭减肥训练营对于 BMI、腰腹围度、肌肉含量、1 分钟跳绳,1 分钟仰卧起坐 5 项干预效果显著。对于以往研究过程中观察得出的男性身体形态在营期间的变化明显优于女性的结果^[5],提供

了看似相反的数据支持。女性的脂肪含量和 BMI 较同龄段男性偏高,再加上肌肉含量的变与男性存在较大差距^[6],所以,即使腰腹围度和 BMI 变化显著性高于男性,依然从形态上会觉得男性优于女性。肺活量的变化需要有氧运动为主体,力量、柔韧为辅助的长期锻炼,并不是短期可以达到的效果,另外 BMI 和腰腹围度的变化,可能会对跳绳(自身体

重减小)和仰卧起坐(核心部位围度)项目产生有效干预,但是对于技术性,爆发力,灵敏度为主的体质健康测试项目,短时间的非针对性训练效果不明显。全封闭减肥训练营的反弹率是很多超重、肥胖少儿家长们担心的问题^[7],追踪研究结果显示,以体重反弹率为因变量,以少年儿童的五大类兴趣爱好为自变量进行多因素非条件 Logistic 回归分析,少儿的兴趣爱好和反弹率有显著正相关性,特别是手游、电竞,动漫、cosplay 是少儿减重后反弹的主要危险因素,手游、电竞以 $OR = 2.276, 95\% CI = 1.172 \sim 5.864$ 绝对优势成为非九年级学生反弹率较高的最主要相关爱好;而军事、国防,时尚运动,国学、古风,对于成功减重后少儿体成分的优化和维持,有较好作用,与少儿减肥后的反弹率呈负相关。

3.2 建议

(1)全封闭减肥训练营对于孩子良好生活习惯的形成,有一定的帮助作用,建议家长在选择时,不要将减重放在首位,毕竟少儿正处在青春期的发育过程中,代谢速率还没有固定,所以,一味追求在少儿时期短时间内的体重下降,不是一个明智的选择。

(2)少儿体成分和体质健康测试的优化,需要多举措并行,体育课、课外活动、各类型的训练营、运动习惯培养、体适能锻炼介入、膳食营养配合等都起着至关重要的作用^[8]。少儿阶段的体质健康水平,直接影响国民体质健康的现阶段水平和后续发展趋势,校园的硬件和时间优势,成为学生首选的运动场所,各界教育部口和学校应给予高度重视,保障使用基础时间和场所^[9],政策方面予以干预,例如体育课的实效,积极开展校园课外体育锻炼活动,有效实施阳光体育政策,执行并普及小升初体育评价机制,提高中考体育成绩比重,增加体育运动的过程性评价,将体适能的评价标准与现行考试形式结合等等既要考虑到执行、改革过程中的难度,又要看到推行

深入的价值,在磨合中找到与现行教育模式最为契合的体育锻炼新途径,预防、消除超重、肥胖现象发生。

(3)减重后的反弹,既说明减肥过程的失败,又为可能出现的为下一次减重增加难度,除已知的运动和营养两大因素外,此次跟踪研究的相关性结果,让我们确定了意识形态与超重、肥胖的关系^[10]。意识形态干预更多在家庭,陪伴、沟通、潜移默化的影响,个人习惯的榜样力量,这些对于少儿良好兴趣爱好的选择有积极的导向作用。

参考文献:

- [1] 赖晓红. 青少年超重人群体育健康促进干预性研究[J]. 体育教育, 2018, 10(5): 48-49 + 45.
- [2] 刘学, 曹庆隽. 早餐频率及食物种类与儿童肥胖及相关慢性病的关系[J]. 中国卫生工程学, 2019, 18(6): 834-836.
- [3] 季成叶. 中国学龄儿童青少年超重、肥胖筛查体重指数数值分类标准[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 25(2): 97-102.
- [4] 郭志恒. 少儿进行体能训练的必要性研究[J]. 江苏扬州: 扬州大学, 2015. 体育世界(学术版), 2019, 4(4): 154-154 + 150.
- [5] 朱琳, 刘景新, 于洋, 等. 高强度间歇训练对超重和肥胖青少年减脂效应的研究[J]. 广州体育学院学报, 2020, 40(01): 96-101.
- [6] Junting Liu, Yinkun Yan. Skeletal muscle reference for Chinese children and adolescents[J]. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle, 2019, 10(1): 155-164.
- [7] 朱为模. 95% 减肥失败的致因分析[J]. 体育科研, 2013, 34(1): 41-44.
- [8] 姚志强. 社区体育环境对儿童青少年身体活动的影响--以上海地区为例[D]. 上海: 上海外国语大学, 2019.
- [9] 张亚军. 课外体育锻炼对单纯性肥胖小学生体质健康影响的实验研究[D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2015.
- [10] 陆屹. 少儿趣味田径对小学生学习兴趣 and 身体素质的影响研究[J]. 当代体育科技, 2019, 9(22): 79-81.

(责任编辑:刘鹤香)

民办医学院校学生健康素养现状及影响因素分析

任维存, 马倩, 李佳, 王允允, 陈东明

(新乡医学院三全学院健康管理学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 调查了解民办医学院校大学生健康素养状况并分析其影响因素, 为提高大学生健康素养水平提供参考和依据。**方法** 于2019年10月使用网络问卷进行大学生健康素养水平调查, 了解河南省某民办医学院校大学生健康素养状况, 使用方差分析评价不同年级学生健康素养差异, 应用二元 logistic 回归方法分析健康素养的影响因素。**结果** 一、二、三年级学生的健康素养得分分别 78.47 ± 8.20 、 79.50 ± 8.03 、 81.39 ± 8.44 , 且得分比较差异有统计学意义 ($F = 3.058, P < 0.05$); 不同年级学生在躯体健康知识知晓、饮食与运动行为和技能、药品使用技能方面差异均有统计学意义 ($F = 6.621, 3.098, 4.759, 3.275$, 均 $P < 0.05$); 年级、母亲学历和是否参与过健康相关社会实践活动是大学生健康素养的主要影响因素 ($\beta = 0.700, 0.874, 0.514$, 均 $P < 0.05$)。**结论** 学校生活可提升民办医学院校大学生健康素养, 且学校应鼓励学生参与更多健康相关社会实践活动。

关键词: 民办医学院校; 健康素养; 影响因素

中图分类号: R193

Investigation on health status of students in private medical college and analysis of its influencing factors

Ren Wei-Cun, Ma Qian, Li Jia, Wang Yun-Yun, Chen Dong-ming

(School of Health Management, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To investigate and understand the health status of college students in private medical college and analyze its influencing factors, so as to provide reference for improving the health of college students. **Methods** An online questionnaire was used to investigate the health status of college students in a private medical college in Henan Province in October 2019, analysis of variance (ANOVA) was applied to evaluate the health differences among students of different grades, and the approach of binary logistic regression was applied to analyze the influencing factors. **Results** The health percentile scores of freshmen, sophomores and juniors were 78.47 ± 8.20 , 79.50 ± 8.03 , and 81.39 ± 8.44 respectively, showing significant statistical differences ($F = 3.058, P < 0.05$). Differences in health knowledge, diet and exercise behaviors, drug use skills among students in different grades were statistically significant ($F = 6.621, 3.098, 4.759, 3.275, P < 0.05$). Students' grades, mother's education, and participation in health-related social practices or not were the main influencing factors of college students' health ($\beta = 0.700, 0.874, 0.514, P < 0.05$). **Conclusion** College life can significantly improve the health of college students, and the college should encourage students to participate in more health-related social practices.

Key words: private medical college; health status; influencing factors

中华人民共和国国家卫生健康委员会发布的《健康66条》^[1]将健康素养界定为个体有能力获得、理解和应用基本健康信息及服务,并能够做出正确判断和决定来维持及促进自身健康^[2-4]。高校是培养未来人才的摇篮,找寻影响高校大学生健康素养水平的相关因素,并利用行之有效的方法,有针对性地增强和改善大学生健康素养状况,是值得探讨和研究的现实问题^[5-7]。教育部在2017年发布的《普通高等学校健康教育指导纲要》中提出了健康行为、疾病预防和心理健康等大学生健康素养提升的具体要求^[8]。刘环等^[9]通过对健康知识、生活方

式和行为的调查分析综合评价了大学生健康状况,张伟等^[10]研究了江苏民办高校本科阶段的学生健康素养的影响因素,朱晓飞等^[11]通过对高职院校学生健康素养微信公众平台干预效果的评价,为制定健康教育提升措施提供了依据。我们应用网络问卷从健康知识、健康技能和健康行为3个方面调查了解河南省新乡市某民办医学院校大学生的健康素养状况,并分析健康素养影响因素,为提高大学生健康素养提供参考和依据。

收稿日期:2019-11-28

基金项目:新乡医学院三全学院2019年度教学改革项目(编号:201915)。

作者简介:任维存,男,助教,硕士,研究方向:健康服务与管理;Email:1742823089@qq.com。

1 对象与方法

1.1 对象

本研究调查对象为河南省新乡市某民办医学院校3个年级的在校大学生,于2019年10月通过“问卷星”使用自制调查问卷从健康知识、健康行为和健康技能3个方面调查学生的健康素养状况。在3个年级的临床、医技、护理和健康管理4个专业中分别各随机抽取1个班级,共12个班级587名学生。由经过培训的健康管理专业本科生通过二维码向相应班级内所有学生发放问卷,并确定被调查者在线提交。共回收问卷560份,其中有效问卷542份,有效率96.79%。本研究已经过学校医学伦理委员会审核批准,且所有调查对象均已被口头和书面告知且同意参与调查。

1.2 方法

本研究借鉴《中国公民健康素养问卷》^[12]、《中国公民健康素养66条》^[13]和《河南省居民健康素养监测调查问卷》^[14],构建了包括健康知识、健康行为和健康技能3个一级指标的大学生健康素养评价指标体系。问卷中每个问题的答案均采用Likert方法被设置为5个等级,在分析时依据从低到高强度分别赋值为1~5分。为保证问卷内容可理解性、可读性和信效度,问卷在初步编制后进行了10人的预测试。依据测试结果修改了部分问卷问题的叙述,最终形成包含12个二级指标的评价体系。问卷的总体Cronbach's α 系数为0.867,内容有效性指数为0.84,均高于0.8,信效度良好。见表1。

表1 2019年河南省新乡市某民办医学院校大学生健康素养评价体系

指标	内容
健康知识	
躯体健康知识	对健康和健康体检的认知
日常饮食知识	对保健食品和食品的保质期等的了解
疾病相关知识	对疾病的产生、发展和治疗等知识的掌握
心理健康知识	对心理问题和人际关系的认知
健康行为	
日常健康行为	包括勤洗手、常洗澡和吸烟、饮酒等
饮食与运动	适量运动,控制饮食,保持正常体重
药品使用	催眠药和镇痛剂等成瘾性药物的使用
人际交往	对自我人际关系和情绪控制的评价
健康技能	
自我保护技能	掌握常见的危险标识和急救电话等
饮食与运动技能	合理安排膳食和熟练掌握多种锻炼方法
药品使用技能	能看懂药品、保健品等的标签和说明书
心理健康维护技能	人际关系协调能力和自我情绪调控能力

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0进行分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述,均数的比较采用 t 检验或方差分析,计数资料采用率进行描述,率的比较采用 χ^2 检验。采用多因素logistic回归进行影响因素分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

参与调查的542名在校大学生中,男生198人,女生344人;户籍为农村和城市的分别有386和156人;独生子女有136人;父亲和母亲学历为专科及以上的学生分别为108和84人。在经济压力方面,感觉压力小、一般和大的学生分别有62、348和132名;在社会实践参与方面,284名学生参加过与健康相关的社会实践活动,健康素养平均得分为 80.75 ± 7.83 ,与未参加过相关活动学生的得分比较,差异有统计学意义($t = 2.320, P < 0.05$)。见表2。一、二、三年级学生分别为168、176、180人,其健康素养总分分别为 78.47 ± 8.20 、 79.50 ± 8.03 、 81.39 ± 8.44 ,差异有统计学意义($F = 3.058, P < 0.05$)。

表2 2019年河南省某民办医学院校在校大学生基本情况

指标	人数(%)	健康素养得分($\bar{x} \pm s$)	F/t值	P值
性别			-0.727	0.468
男	198(36.53)	79.12 \pm 9.51		
女	344(63.47)	79.94 \pm 7.60		
户籍			-1.474	0.142
农村	386(71.22)	79.17 \pm 8.51		
城市	156(28.78)	80.81 \pm 7.83		
是否独生子女			0.639	0.523
是	136(15.09)	80.60 \pm 9.21		
否	406(84.91)	79.53 \pm 8.25		
父亲学历			4.214	0.016
小学及以下	90(16.61)	77.06 \pm 9.38		
初高中	344(63.47)	79.61 \pm 7.89		
专科及以上	108(19.92)	81.88 \pm 8.33		
母亲学历			3.306	0.038
小学及以下	172(31.73)	79.72 \pm 8.69		
初高中	286(52.77)	78.69 \pm 8.16		
专科及以上	84(15.50)	82.32 \pm 7.68		
BMI(kg/m ²)			0.200	0.819
<18.5	86(15.87)	79.92 \pm 7.73		
18.5~<24	370(68.26)	79.74 \pm 8.41		
≥ 24	86(15.87)	78.91 \pm 8.77		
经济压力			0.916	0.401
小	62(11.44)	81.53 \pm 7.76		
一般	348(64.21)	79.45 \pm 8.15		
大	132(24.35)	79.24 \pm 9.08		
是否参加过健康相关社会实践活动			2.320	0.021
是	284(52.40)	80.75 \pm 7.83		
否	258(47.60)	78.42 \pm 8.73		

注: BMI—体质指数。

2.2 不同年级学生各健康素养指标得分分析

不同年级的学生在健康技能掌握方面得分差异有统计学意义 ($F = 4.417, P < 0.05$), 在健康知识知晓和健康行为实施得分差异无统计学意义 ($F = 1.$

709, 0.094, $P > 0.05$)。各二级评价指标, 3 个年级的学生在躯体健康知识知晓、饮食与运动行为和技能、药品使用技能方面得分比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 2019 年河南省新乡市某民办医学院校不同年级在校大学生健康素养情况

指标	一年级 ($n = 186$)	二年级 ($n = 176$)	三年级 ($n = 180$)	F 值	P 值
健康知识					
躯体健康知识	3.69 ± 0.74	3.87 ± 0.66	4.06 ± 0.73	6.621	0.002
日常饮食知识	4.23 ± 0.71	4.11 ± 0.72	4.26 ± 0.81	0.769	0.464
疾病相关知识	4.20 ± 0.96	4.28 ± 0.99	4.24 ± 1.11	0.145	0.865
心理健康知识	4.09 ± 0.80	4.26 ± 0.65	4.28 ± 0.75	1.951	0.144
健康知识总分	16.20 ± 2.36	16.52 ± 2.21	16.83 ± 2.60	1.709	0.183
健康行为					
日常健康行为	4.24 ± 0.93	4.24 ± 0.85	4.29 ± 0.87	0.096	0.909
饮食与运动	3.80 ± 0.82	3.86 ± 0.76	3.56 ± 0.89	3.098	0.048
药品使用	4.71 ± 0.57	4.71 ± 0.58	4.73 ± 0.61	0.028	0.972
人际交往	3.84 ± 0.83	3.71 ± 0.84	3.88 ± 0.72	0.913	0.402
健康行为总分	16.59 ± 2.20	16.52 ± 2.09	16.46 ± 1.80	0.094	0.910
健康技能					
自我保护技能	3.94 ± 0.80	3.94 ± 0.81	4.18 ± 0.79	2.599	0.076
饮食与运动技能	3.38 ± 0.94	3.49 ± 0.89	3.79 ± 0.98	4.759	0.009
药品使用技能	3.38 ± 0.89	3.60 ± 0.88	3.71 ± 1.05	3.275	0.039
心理健康维护技能	3.60 ± 0.86	3.63 ± 0.83	3.86 ± 0.73	2.755	0.065
健康技能总分	14.29 ± 2.95	14.66 ± 2.99	15.54 ± 2.95	4.417	0.013

2.3 健康素养影响因素分析

基于大学生健康素养调查结果, 应用多因素 logistic 回归方法分析学生健康素养的影响因素。依据单因素分析和现有大学生健康素养影响因素研究结果, 为避免假阴性, 将健康素养总得分、年级、性别、户籍、父亲学历、母亲学历、BMI 和社会实践纳入回归模型。为保证模型拟合优度, 本研究将父亲学历、母亲学历和 BMI 二分类化, 将各指标结果分别赋值为 0 或 1。赋值情况见表 4。

采用进入法, 模型拟合优度为 0.783。回归分析结果显示大学生健康素养主要受年级、母亲学历和是否参与过健康相关社会实践活动的影响 ($\beta = 0.700, 0.874, 0.514$, 均 $P < 0.05$), 二年级、母亲拥有专科及以上学历和参与过健康相关社会实践活动学生的健康素养得分分别是三年级、母亲拥有专科以下学历和未参与过健康相关社会实践活动学生的 2.01、2.40 和 1.67 倍。见表 5。

表 4 赋值情况

变量	赋值
健康素养总得分	< 80 = 0; ≥ 80 = 1
年级	一年级 = 1; 二年级 = 2; 三年级 = 3
性别	女 = 0; 男 = 1
户籍	城市 = 0; 农村 = 1
父亲学历	专科以下 = 0; 专科及以上 = 1
母亲学历	专科以下 = 0; 专科及以上 = 1
BMI (kg/m ²)	< 24 = 0; ≥ 24 = 1

社会实践, 无 = 0; 有 = 1

表 5 河南省新乡市某民办医学院校在校大学生

健康素养的多因素 logistic 回归

变量	β	SE	Wals	P 值	OR 值(95% CI)
年级 *					
一年级	0.388	0.302	1.645	0.200	1.474(0.815 ~ 2.667)
二年级	0.700	0.342	4.199	0.040	2.014(1.031 ~ 3.936)
性别	0.361	0.268	1.812	0.178	1.434(0.848 ~ 2.425)
户籍	-0.253	0.319	0.629	0.428	0.777(0.416 ~ 1.45)
父亲学历	0.544	0.408	1.772	0.183	1.723(0.774 ~ 3.836)
母亲学历	0.874	0.433	4.063	0.044	2.396(1.024 ~ 5.603)
BMI	-0.209	0.418	0.251	0.617	0.811(0.358 ~ 1.839)
社会实践	0.514	0.257	3.980	0.046	1.671(1.009 ~ 2.768)
常数	-1.634	0.610	7.180	0.007	-

注: * : 以三年级为参照组; BMI—体质指数。

3 讨论

3.1 民办医学院校大学生健康素养水平总体中等

参与调查的大学生健康素养总体得分为 79.64, 与王大鹏^[15]的调查结果相一致。一、二三年级学生的总体得分差异有统计学意义 ($F = 3.058, P < 0.05$)。说明民办医学院校中医学相关知识的学习能够提高在校大学生康素养水平, 但大学生对医学和健康相关知识了解和掌握程度有待进一步提升, 以继续提高自身健康素养。

3.2 不同年级学生健康技能掌握水平存在差异

不同年级学生在健康技能掌握方面差异有统计学意义, 对饮食与运动和药品使用技能的掌握水平不相同。医学生经过长期的医学知识的学习和临床

实践,饮食和药品使用技能提升显著^[16-18]。学校应把医学教育和健康教育相结合,将健康理念渗透至医学课程教学全过程中,促进医学检验、治疗和康复等技术、手段仅用于健康干预实践,以达到强化培养学生健康素养的目标。

3.3 积极开展健康相关社会实践,提升学生健康素养水平

结果显示,母亲受教育程度低和未参与过健康相关社会实践活动的学生健康素养水平相对较低,这与侯娅婕等^[19]的研究结果相一致。母亲文化程度较高够有效的向子女演示、传授健康知识,引导其掌握健康相关技能,实施健康行为^[20-21]。同时,学校应积极开展健康行为讲座、慢病现况调查和防治宣传等健康相关的社会实践活动,并鼓励学生积极、主动参与,以提高自身健康知识和技能水平。

作者声明:本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 国家卫生健康委员会. 国家卫生计生委办公厅关于印发《中国公民健康素养——基本知识及技能(2015年版)》的通知[Z]. 国卫办宣传函[2015]1188号.
- [2] 卞毛毛,谢虹. 糖尿病患者健康素养测量工具研究进展[J]. 职业与健康,2019,35(15):2145-2148.
- [3] Kyung HL, Xu HZ, Wu B. Gender differences in quality of life among community-dwelling older adults in low-and middle-income countries: results from the Study on global AGEing and adult health [J]. BMC Public Health,2020,20(1):114.
- [4] 王平,刘婷,苗秀欣. 本科护生健康素养现状及影响因素的调查分析[J]. 中国多媒体与网络教学学报(上旬刊),2020(3):65-66.
- [5] Rababah JA, Hammouri MM, Drew BL. Health literacy: exploring disparities among college students[J]. BMC public health,2019,19(1):2-11.
- [6] 崔光辉,李少杰,尹永田,等. 医学生健康自我管理能力及影响因素[J]. 职业与健康,2020,36(1):102-105.
- [7] 张硕,吴妮欢,盛孟,等. 国内大学生健康素养研究现状综述[J]. 心理月刊,2020,15(4):237-238.
- [8] 中华人民共和国教育部. 教育部关于印发《普通高等学校健康教育指导纲要》的通知[Z]. 教体艺[2017]5号.
- [9] 刘环,张伟,邓小冬,等. 医学生健康素养现状调查及影响因素分析[J]. 中国医药导报,2017,14(35):33-36.
- [10] 张伟,蒋诗泉,陈建杰,等. 江苏民办高校学生健康素养状况及相关影响因素[J]. 职业与健康,2017,33(1):110-112.
- [11] 朱晓飞,浦阳,邱晓玲. 高职院校学生健康素养微信公众平台干预效果评价[J]. 预防医学,2019,31(9):967-969.
- [12] 朱晓霞,李彦蓉,张小凤. 中国公民健康素养—基本知识及技能健康教育效果评价[J]. 临床医药文献电子杂志,2014,1(3):257.
- [13] 中国公民健康素养66条[J]. 实践(思想理论版),2018(10):2.
- [14] 张玉林,王文文,闫歌,周刚. 2014年河南省居民健康素养现状分析[J]. 中国健康教育,2017,33(8):675-680.
- [15] 王大鹏. 辽宁省普通高校不同层次学生健康素质研究[J]. 当代体育科技,2014,4(32):144-145.
- [16] 王晶晶,王凯强,白羽,等. 医学院校大学生健康素养现状及其内部通径分析[J]. 中国健康教育,2017,33(5):416-420.
- [17] 田秀香. 山东省某医学院校本科护理新生电子健康素养现状及影响因素[J]. 职业与健康,2019,35(12):1693-1696.
- [18] 苏春娟. 苏州卫生类高职院校学生健康素养现况与对策[J]. 职业与健康,2018,34(11):1544-1547.
- [19] 侯娅婕,韩旭,刘扬,等. 某医学院校学生健康素养现状及影响因素[J]. 中华疾病控制杂志,2019,23(9):1067-1071.
- [20] 郑梦云,程晓庆,段春晓,等. 南京市大学生健康素养水平与生命质量关系[J]. 中国公共卫生,2019(5):1-5.
- [21] 高上雅. 河北省高校在校研究生健康素养调查研究[D]. 河北大学,2016.

(责任编辑:刘鹤香)

新型冠状病毒肺炎疫情期间医学生心理健康状况的调查报告

衣志爽, 姜晓花, 高焕君, 谢静, 王诗雅
(新乡医学院三全学院临床学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 调查新型冠状病毒肺炎疫情下医学生心理健康状况, 为后期提供针对性的心理干预提供科学依据。**方法** 采用 SCL-90 症状自评量表和自编问卷, 对我校 1234 名医学生进行网络问卷调查, 并将调查结果与国内大学生常模进行比较。**结果** 通过 SCL-90 测评分析研究, 发现疫情期间医学生的强迫、抑郁、焦虑测评结果分值均明显高于全国大学生常模, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 新冠肺炎疫情下, 医学生出现了不同程度的强迫、抑郁、焦虑心理问题, 高校及有关部门应对医学生进行精准心理健康教育。

关键词: 医学生; 新型冠状病毒肺炎; 心理健康; 健康教育

中图分类号: R395.1

Investigation report on mental health of medical students during the outbreak of novel coronavirus pneumonia

YI Zhi-shuang, JIANG Xiao-hua, GAO Huan-jun, XIE Jing, WANG Shi-ya

(School of Clinical Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To investigate the mental health of medical students under the outbreak of novel coronavirus pneumonia, and to provide scientific basis for later psychological intervention. **Methods** A network questionnaire survey was conducted among 1234 medical students in our university by using SCL-90 symptom self-rating scale and self-compiled questionnaire, and the results were compared with the norm of domestic college students. **Results** Through the evaluation and analysis of SCL-90, it was found that the scores of medical students on compulsion, depression and anxiety were significantly higher than the norm of national college students, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Under the epidemic of novel coronavirus pneumonia, there are psychological problems of compulsion, depression and anxiety in medical students with different degrees, so universities and relevant departments should implement accurate mental health education for medical students.

Key words: medical students; novel coronavirus pneumonia; mental health; health education

2019年岁末,一场突如其来的新型冠状病毒感染的肺炎疫情席卷荆楚大地,并迅速在全国蔓延开来。该病毒症状一般为发热、乏力、干咳、逐渐出现呼吸困难,严重者表现为急性呼吸窘迫综合征,脓毒症休克,难以纠正的代谢性酸中毒和凝血功能障碍^[1]。这是我国近年来继 SARS 疫情后发生的又一次影响范围较大,后果较严重的突发公共卫生事件。截止 2020 年 3 月 16 日,我国已有累计确诊病例 81134,死亡病例 3231^[2]。面对突如其来的疫情,我国采取了一系列严格的防控措施,包括封城、居家隔离、延期开学等等。这些措施最大程度的延缓或阻止了疫情的扩散,但也严重扰乱了学生原有的学习生活。有研究表明处于青年期的大学生身心发展尚未完全成熟,自我调节和控制能力不强,面对问题可能产生强烈的心理波动和冲突^[3-4]。各种内因和外因的作用,使得在新冠肺炎疫情影响下的大学生易

处于较高的心理应激水平,出现焦虑、抑郁、强迫等不良情绪,从而对大学生的心身健康造成有害影响。本研究调查新冠肺炎疫情期间医学生的心理健康状况,了解其心理压力,为后期提供针对性的心理干预提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 调查对象

选择新乡医学院三全学院临床医学专业三年级及四年级的学生进行了此次调查研究。采用网络问卷的形式,共回收问卷 1248 份,其中有效问卷 1234 份,有效率为 98.88%。

1.2 问卷设计

测量工具:采用 SCL-90 症状自评量表,该量表含 90 个条目,每 1 个项目均采取 5 级评分制:“无”为 1 分,“轻度”为 2 分,“中度”为 3 分,“偏

重”为4分,“严重”为5分。结果归纳为躯体化、强迫、人际敏感、抑郁、焦虑、敌对、恐怖、偏执、精神病性等9个因子。自编问卷主要包括学生基本情况(性别、专业、年级、政治面貌、户口所在地)、疫情期间运动、起居及疫情相关信息获取情况以及疫情的其他影响。调查通过电子问卷的形式下发,于2020年2月22~24日组织学生集中进行,采用无记名方式,由学生通过手机端自己独立完成。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

本次调查收集的1234份有效问卷中,其中男生462人(37.44%),女生772人(62.56%);三、四年级学生分别为797人(64.59%)、437人(35.41%);城市391(31.69%),农村843(68.31%);共产党员76人(6.16%),共青团员1122人(90.92%),群众36人(2.92%)。

2.2 疫情期间运动、起居及疫情相关信息获取情况

在疫情期间,46.76%的同学每天运动时间少于半小时;运动强度以低强度为主,占58.91%;生活起居规律的同学占47.57%,有点不规律的占41.73%;每天阅读疫情相关信息时间在0.5~1小时的同学最多,占66.37%;每天接收到正面疫情信息最多的同学占63.05%,负面信息最多的占3.97%,中性信息最多的占32.98%,见表1。

表1 疫情期间运动、起居及疫情相关信息获取情况

变量	频数	构成比(%)
平均每天运动时间	<0.5小时	577 46.76
	0.5~1小时	487 39.47
	1~1.5小时	99 8.02
	1.5~2小时	26 2.11
	>2小时	45 3.65
运动强度	低强度	727 58.91
	中等强度	474 38.41
	高强度	33 2.67
生活起居是否规律	规律	587 47.57
	有点不规律	515 41.73
	不规律	102 8.27
	非常不规律	30 2.43
每天阅读疫情相关信息时间	<1小时	819 66.37
	1~2小时	309 25.04
	2~3小时	68 5.51
	>3小时	38 3.08
每天接收到哪类疫情信息最多	正面信息	778 63.05
	负面信息	49 3.97
	中性信息	407 32.98

2.3 疫情期间医学生心理健康状况

通过SCL-90测评分析研究,我们发现医学生的强迫、抑郁、焦虑测评结果分值均明显高于全国大学生常模,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其他因子分值与常模比较,均无统计学差异($P > 0.05$),见表2。

表2 SCL-90各因子与全国大学生常模比较($\bar{x} \pm s$)

因子	测评结果 ($n=1234$)	全国大学生 ^[5] ($n=4141$)	t	P
躯体化	1.57 ± 0.52	1.45 ± 0.49	1.122	0.262
强迫	2.32 ± 0.83	1.99 ± 0.64	4.531	0.002
人际敏感	1.96 ± 0.69	1.98 ± 0.74	0.690	0.491
抑郁	2.14 ± 0.75	1.83 ± 0.65	3.298	0.010
焦虑	2.72 ± 0.86	1.64 ± 0.59	7.420	0.000
敌对	1.86 ± 0.66	1.77 ± 0.68	0.893	0.360
恐怖	1.48 ± 0.44	1.46 ± 0.53	0.993	0.381
偏执	1.88 ± 0.67	1.85 ± 0.69	0.936	0.354
精神病性	1.73 ± 0.65	1.63 ± 0.54	1.162	0.246

2.4 疫情的其他影响

因受疫情导致无法按时开学,46.6%同学有一些担心、焦虑,可以基本正常在家学习。疫情期间看到有医务人员被感染甚至部分人员死亡,对医学生将来的职业规划影响方面,59.0%的医学生选择觉得医护很伟大,将来要成为一名优秀的医务工作者。见表3。

表3 疫情的其他影响

变量	频数	构成比(%)
受疫情导致无法按时开学,对学习有无影响?		
有积极的影响,在家学习效率更高	162	13.13
没有影响,在家学习效率和在学校一样	359	29.09
让我有一些担心、焦虑,可以基本正常在家学习	575	46.60
让我非常焦虑、担心、烦躁,但是我还是能勉强在家学习	99	8.02
我非常焦虑、担心、烦躁,以至于我几乎没有办法在家里学习	39	3.16
看到有医务人员被感染甚至死亡,对你将来的职业规划有无影响		
有影响,毕业后坚决不当医生护士	27	2.19
有影响,觉得医护很伟大,将来要成为一名优秀的医务工作者	728	59.00
没有影响,和以前一样没有改变	322	26.09
我不确定有无影响	157	12.72

3 讨论

突发公共卫生事件具有突发性、公共属性和严重的社会危害性[6]。有研究指出,这些突发公共卫生事件给人们造成的生理损害可能在短时间内恢复,但对心理的影响却会持续很长时间[7]。在本研究调查的1234名医学生中,强迫、抑郁、焦虑测评结果分值均明显高于全国大学生常模,差异有统计学意义。由此可见,在新冠肺炎疫情应激状态下,医

学生的强迫、抑郁和焦虑情绪发生率明显上升。

针对以上问题,高校及有关部门应对医学生进行精准心理干预和健康教育措施。昌敬惠等^[8]对3881名广东大学生进行网络问卷调查,多因素分析结果显示:年龄越大、对新型冠状病毒肺炎的认知越高、日后将改变卫生行为越多的大学生焦虑和抑郁情绪越少,现所在地农村、非医学专业、疫情信息中负面信息接收量占一半以上的易产生焦虑情绪,女性、现所在地近郊、有饮酒史、疫情信息中负面信息接收量占一半以上的易产生抑郁情绪。在分析医学生心理问题原因的基础上,根据个体特点采取针对性的措施。通过个性化的沟通方式讲解疫情的病因、治疗、预防及康复,进行有效的引导,消除医学生焦虑、恐惧心理,树立战胜疾病的信心。

除此之外,为防止此次疫情升级,各高校延期开学,大学生必须减少外出,导致其无法正常到校学习和参与社交活动,不仅加剧了学生的强迫、抑郁和焦虑情绪,而且对其学习进度也造成了一定的影响。在此次新冠肺炎疫情期间,一批批的医务工作者变身战士,冲锋在前,面临被隔离、被传染、工作困难大、生命安全处于严重威胁状况,承受着巨大的身体和心理的双重压力。而医学生是未来医务工作者的接班人,看到有医务人员被感染甚至部分人员死亡,对医学生将来的职业规划也造成了一定的影响。所以,在对医学生进行心理干预和健康教育的同时,也应注意消除其他方面的影响。

在疫情期间,为相应国家教育部“停课不停学”的工作安排,各大高校都采用了网络直播课的形式,各高校也要充分利用网络课堂,或者通过微信、QQ以及公众号等学生群体喜闻乐见的形式开展广泛深入的心理健康教育和健康促进活动,可以使学生正确了解有关知识,增强学生的心理承受能力和应变能力^[9],提高学生群体自我认知、自我管理与自己教育的能力,从而促进情绪稳定健康发展。

综上所述,政府相关部门和高校都应加强监测和信息管理,及时针对大学生自身特点采取不同的心理危机干预和健康教育措施,利用网络课堂开展广泛深入的健康教育和健康促进活动^[10],使大学生正确了解新型冠状病毒肺炎的有关知识,提高自我防护意识和能力,引导大学生采取积极健康的行为方式,以减少疫情带来的心理损害和后续的心理社会问题。

参考文献:

- [1] Hui DS, I Azhar E, Madani TA, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health-The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China[J]. Int J Infect Dis. 2020, 93 (91):264-6.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 截至3月16日24时新型冠状病毒感染的肺炎疫情最新情[EB/OL]. (2020-03-05). <http://www.nhc.gov.cn/yjb/s7860/202003/6e02433f7786402d8ea162fb5b80b5a0.shtml>.
- [3] 谭晓东. 突发性公共卫生事件预防与控制[M]. 武汉:湖北省卫生出版社, 2003:45.
- [4] Shelley E. Taylor 健康心理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:167-9.
- [5] 张明圆. 精神科评定量表手册[M]. 第2版. 长沙:湖南科学技术出版社, 1998:16-27.
- [6] 杨超, 王世平, 郝艳华. 突发公共卫生事件应对技术丛书:应急处置技术指南. 第1版[M]. 北京:人民卫生出版社, 2014:71.
- [7] 胡俊峰, 侯培森. 当代健康教育与健康促进[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:410.
- [8] 昌敬惠, 袁愈新, 王冬. 新型冠状病毒肺炎疫情下大学生心理健康状况及影响因素分析[J/OL]. 南方医科大学学报[2020-03-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1627.r.20200303.1404.004.html>. 2
- [9] 苏莉, 韦波. 突发公共卫生事件下的群体心理反应与干预[J]. 中国行为医学科学, 2005, 14(12):1139-1141.
- [10] 裴学进. 大学生心理健康教育三维整合型视域建构原则与策略[J]. 中国学校卫生, 2015, 36(7):1097-100.

(责任编辑:高姿)

茉莉酸甲酯对地黄毛状根次生代谢的影响

宋小锋^{1,3}, 原增艳^{1,3}, 刘婉莹², 朱昀昊²

(1. 新乡医学院三全学院生命科学技术学院, 河南 新乡 453003; 2. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 3. 河南省山植综合利用工程研究中心, 河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 初步探索地黄毛状根在茉莉酸甲酯诱导下的次生代谢产物积累规律, 以期提高地黄毛状根中有效成分的产量。**方法** 将 0.2 g 毛状根接入 50 mL 的 1/2MS 液体培养基中, 分为实验组与对照组。培养至第 12 天时向实验组加入预实验效果最佳浓度 50 μM 茉莉酸甲酯, 分别在诱导后的第 0, 2, 4, 6, 8 天收获。梓醇与毛蕊花糖苷的含量使用 HPLC 法测定, 总环烯醚萜苷的含量采用紫外分光光度法测定。**结果** 毛状根中未检测到梓醇; 毛蕊花糖苷含量在诱导后的第 2 天达到最大值, 71.46 mg/g DW, 约为对照组 (50.72 mg/g DW) 的 1.41 倍。总环烯醚萜苷含量在诱导后第 8 天内变化呈现一定的波动性, 但实验组与对照组间无显著差异。**结论** 50 μM 的茉莉酸甲酯在毛蕊花糖苷合成期间可显著增加其积累量, 但积累量的增加也可能负反馈抑制其合成途径中关键酶的活性, 使毛蕊花糖苷含量下降。此外, 实验结果初步表明, 50 μM 的茉莉酸甲酯对总环烯醚萜苷积累的诱导作用可能不明显。

关键词: 茉莉酸甲酯; 地黄毛状根; 梓醇; 毛蕊花糖苷; 总环烯醚萜苷

中图分类号: Q943.2

The effects of Methyl Jasmonate on secondary metabolism of hairy roots of *Rehmannia glutinosa*

SONG Xiao-feng^{1,3}, YUAN Zeng-yan^{1,3}, LIU Wan-ying², ZHU Yun-hao³

(1. School of Life Science and Technology, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450046; 3. Henan Hawthorn Utilization Engineering Center, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To explore the accumulation of secondary metabolites of *Rehmannia glutinosa* roots induced by methyl jasmonate, so as to increase the yield of effective components in hairy roots of *Rehmannia glutinosa*. **Methods** Hairy roots of 0.2 g were inserted into 1/2MS liquid medium of 50 mL and divided randomly into the experimental group and control group. Methyl Jasmonate was added into the medium when hairy roots had been cultured for 12 days at the optimal concentrate of 50 μM . Ultimately hairy roots were harvested on the 0, 2nd, 4th, 6th and 8th day after elicitation respectively. The contents of catalpol and verbascoside were detected by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), and the production of iridoids was tested by ultraviolet spectrophotometry. **Results** HPLC analysis suggested that there was no catalpol in hairy roots of *Rehmannia glutinosa*. And the content of verbascoside reached 71.46 mg/g DW 2 days after elicitation, roughly 1.41 times that of the control group (50.72 mg/g DW). The total iridoids showed a certain fluctuation within 8 days after elicitation, but there was no significant difference between the experimental group and the control group. **Conclusion** 50 μM methyl jasmonate can significantly increase the accumulation of verbascoside during its synthesis, which may also negatively inhibit the activity of key enzymes in its synthesis pathway and decrease verbascoside. Meanwhile, 50 μM MeJA may have no significant effects on accumulation of iridoids according to available data.

Key words: methyl jasmonate; hairy roots of *Rehmannia glutinosa*; catalpol; verbascoside; iridoids

地黄是我国常用大宗药材之一。用药历史悠久, 在《神农本草经》、《千金翼方》、《本草蒙筌》等书籍中均有记载。现代研究认为地黄块根中的药效成分为环烯醚萜苷如梓醇、桃叶珊瑚苷、地黄苷 A;

以及苯乙醇苷类如毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷等, 其是地黄发挥补血、解热、抗衰老、抗溃疡、抗肿瘤等药理活性的物质基础^[1]。地黄的栽培目前存在严重的连作障碍, 重茬地黄因自毒作用无法形成可供药

收稿日期: 2019-12-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81603232); 新乡医学院三全学院创新团队 (STD201603)。

作者简介: 宋小锋, 男, 硕士, 研究方向: 生物制药方向, E-mail: songxiaofeng109@163.com。

通讯作者: 朱昀昊, 男, 博士, 研究方向: 药用植物分子生物学, E-mail: guxinhan123@163.com。

用的块根^[2],严重影响地黄药材的供应,同时致使地黄次生代谢产物的含量不稳定,药材的质量得不到保证。因此,如何利用新的技术和手段大幅提高地黄活性产物含量,已成为地黄资源及活性产物研究的重要内容和新的发展方向。地黄毛状根能够快速生长、不需添加生长调节物质、能够合成原植物中全部或部分次生代谢产物、遗传性质稳定等^[3-5],适合离体培养,是工业化生产植物有效代谢产物的理想材料。然而,一些毛状根中次生代谢产物的含量远没有达到工业化生产的要求,为寻求解决方法,很多报道通过添加生物或非生物诱导子以刺激毛状根次生代谢产物的合成:有学者使用黑曲霉与米曲霉菌制成混合诱导子,可使新疆紫草毛状根总萜醌量增至对照组的2.28倍^[6];晏琼等使用 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Co}^{2+}$ 使丹参毛状根中丹参酮产量增至对照组的4.1倍^[7];另有使用青菜炭疽病菌诱导子使人参毛状根中总皂苷含量增加的报道^[8]等。然而,目前国内有关地黄毛状根诱导试验的报道较少,本研究以前期诱导的地黄毛状根为材料,以茉莉酸甲酯为诱导子,以初步探索茉莉酸甲酯对地黄毛状根次生代谢产物的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料:地黄毛状根,为由课题组前期“北京3号”地黄叶片经发根农杆菌 Accel10060 诱导所得,继代培养于1/2MS固体培养基中。

供试仪器:C1000 TouchPCR仪(美国BIO-RAD公司)、Waterse2489高效液相色谱仪(沃特世科技有限公司)、立式恒温震荡器(美国精祺有限公司,型号:IS-RDV3)。

供试试剂:植物基因组DNA提取试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司,批号:00141505)、DNA Marker(DM2000,北京康为世纪生物科技有限公司,批号:01003/30410)、Es Taq mix(北京康为世纪生物科技有限公司,批号:01031/30325)、茉莉酸甲酯(北京索莱宝科技有限公司,纯度 $\geq 95\%$,批号:20180118)、梓醇标准品(四川省维克奇生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$,批号:180508)、毛蕊花糖苷标准品(四川省维克奇生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$,批号:180821)。

1.2 实验方法

1.2.1 毛状根的鉴定 样品中DNA提取按照植物基因组DNA提取试剂盒说明书进行。根据发根农杆菌 Accel10060 所携带 Ri 的 T-DNA 区分布的

rolB、rolC 基因序列设计 2 对特异引物 rolB - F (GCTCTTGCACTGCTAGATTT)、rolB - R (GAAGGT-GCAAGCTACCTCTG) 和 rolC - F (CTCCTGACAT-CAAACCTCGTC)、rolC - R (TGCTTCGAGTTATGGG-TACA)。以地黄毛状根 DNA 为模板,按照以下体系对 rolB、rolC 基因进行扩增:DNA 1.5 μL ; 引物各 1 μL ; 2X Es Taq mix 10 μL ; ddH₂O 6.5 μL 。反应程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min; 然后进行 30 个循环:95 $^{\circ}\text{C}$ 、60 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 、40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 、60 s; 循环结束后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。

1.2.2 毛状根的接种与诱导 配制 1/2MS 液体培养基,分装于 150 mL 锥形瓶中,每瓶 50 mL。在每瓶中接入 0.2 g 地黄毛状根。锥形瓶在立式摇床中以 25 $^{\circ}\text{C}$ 、110 rpm $\cdot \text{min}^{-1}$ 条件黑暗培养。精密吸取 573 μL 的茉莉酸甲酯纯品,加入少量无水乙醇溶解,后加入蒸馏水,并使用吐温-80 进行助溶,最终定容至 50 mL,用 0.22 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的微孔滤膜过滤除菌,备用。在毛状根培养至第 12 天时将其分为试验组与对照组,试验组加入茉莉酸甲酯,使培养液中茉莉酸甲酯达到项目前期预实验最佳浓度 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对照组中加入等体积按上述程序配置的不含茉莉酸甲酯的蒸馏水。对照组加入相同条件下培养,在诱导后的第 0、2、4、6、8 天收获取样,设置 3 次重复。

1.3 项目测定

由于 2015 版《中华人民共和国药典》中以梓醇(总环烯醚萜苷的代表成分)和毛蕊花糖苷含量作为控制地黄质量等级的主要评价指标,因此测定梓醇、毛蕊花糖苷和总环烯醚萜苷含量变化来评价茉莉酸甲酯对地黄毛状根次生代谢的影响。

1.3.1 地黄毛状根梓醇和毛蕊花糖苷含量的测定

参照 2015 年版《中华人民共和国药典》,使用薄层色谱法进行梓醇的定性鉴别。精密称取在 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥后的 3 种材料粉末 1 g 加入 100 mL 锥形瓶中,加 70% 甲醇 10 mL 超声 45 min,补足质量,过滤取滤液,定容至 50 mL 量瓶中,摇匀,精密量取 2.5 mL 于 50 mL 量瓶中,加 70% 甲醇至刻度。摇匀,作为供试液。梓醇和毛蕊花糖苷的测定条件与方法,参照 2015 年版《中华人民共和国药典》,梓醇测定用以乙腈-0.1% 磷酸溶液(1:99)为流动相;色谱柱为 ZORBAX SB - Aq (4.6 mm \times 250.0 mm, 5 - Micron),柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,流速 1 mL $\cdot \text{min}^{-1}$;紫外检测波长 210 nm。毛蕊花糖苷测定以乙腈-0.1% 醋酸溶液(16:84)为流动相;ZORBAX SB - Aq (4.6 mm \times 250.0 mm, 5 - Micron) 色谱柱;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;流速

1 mL · min⁻¹;检测波长为 334 nm。

1.3.2 毛状根中总环烯醚萜苷含量的测定 总环烯醚萜苷含量的测定采用二硝基苯肼显色法,测量梓醇溶液在 465 nm 下的吸光度^[9]。以纵坐标为吸光度值,横坐标为梓醇质量浓度,绘制标准曲线。求得总环烯醚萜苷回归方程: $y = 13.821x - 0.005$, $R^2 = 0.9973$,线性范围:0.35 ~ 0.92 mg。

1.4 数据处理

使用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,采用单因素方差分析中 LSD 法进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 时存在显著性差异。

2 结果

2.1 地黄毛状根的鉴定

将电泳后的凝胶置于凝胶成像系统进行分析,结果如图 1 所示。

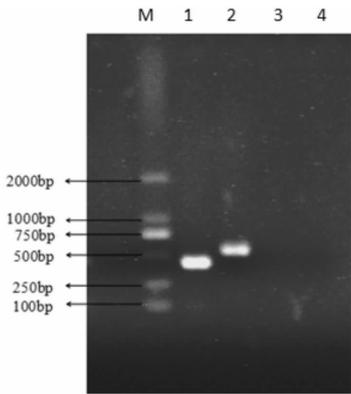


图 1 琼脂糖凝胶电泳结果

注:M. 2 000DM DNA marker;1,2. 地黄毛状根 DNA 的 PCR 产物;3,4. 地黄叶片 DNA 的 PCR 产物。

如图 1 所示,根据 rolB 和 rolC 引物对地黄毛状根和叶片进行检测,地黄毛状根中可扩增出预期条带,其中 rolB 基因扩增长度约为 420 bp,rolC 基因扩增片段长度为 620 bp。与报道结果一致,证明农杆菌中的 T-DNA 已整合入毛状根基因组中,该试验

所使用的毛状根是由发根农杆菌诱导所形成的。

2.2 毛状根中梓醇的定性鉴别

薄层色谱法显色后如图 2 所示。地黄毛状根提取液在相同位置处无明显斑点,因此认为供试品溶液中不含梓醇或其含量低于薄层法检测限。

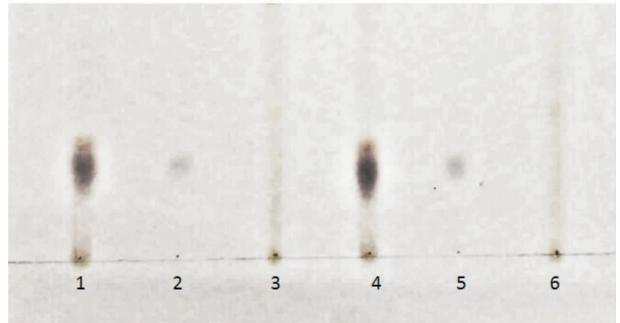


图 2 梓醇薄层鉴别

注:1,4. 地黄药材提取液;2,5. 梓醇标准品;3,6. 地黄毛状根提取液

2.3 毛状根中梓醇的含量测定

为进一步分析地黄毛状根中是否有梓醇的积累,采用 HPLC 法对其进行了分析。如图 3 所示,梓醇标准品溶液进样后,在约 10 分钟处出现色谱峰,而毛状根样品在该保留时间处未出现明显色谱峰,进一步表明毛状根中可能不含梓醇。

2.4 毛状根中毛蕊花糖苷含量的测定

由图 4 可以看出,在毛状根样品中可以检测到毛蕊花糖苷的存在。在诱导后的 8 d 内,试验组与对照组毛状根中毛蕊花糖苷含量均呈现先升后降的趋势(图 5),毛蕊花糖苷含量均在诱导第 2 天达到峰值。其中,试验组毛状根在诱导第 2 天时达到最大值 71.46 mg · g⁻¹ DW,约为对照组(50.72 mg · g⁻¹ DW)的 1.41 倍,具有显著差异($P < 0.05$)。但在诱导第 2 天后,试验组毛状根中毛蕊花糖苷含量较对照组下降趋势更快,在诱导第 6 天($P < 0.001$)、第 8 天($P < 0.01$)时显著低于对照组中毛蕊花糖苷含量。

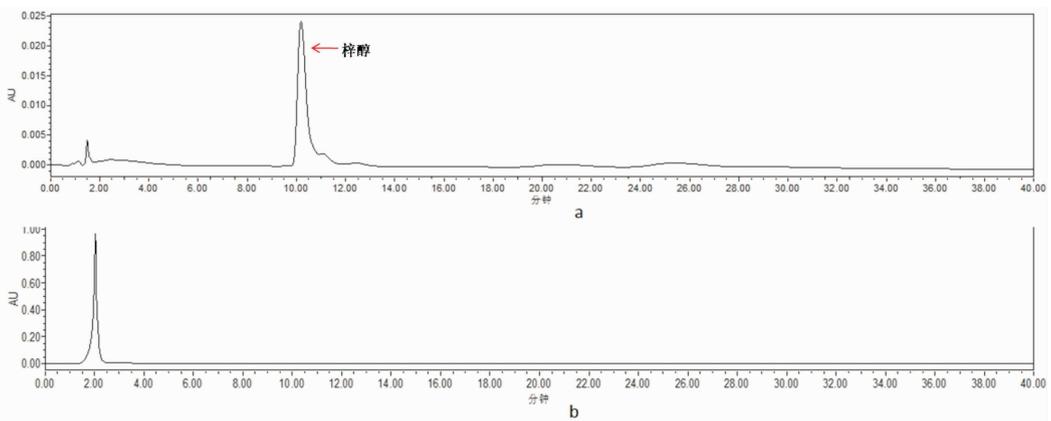


图 3 梓醇高效液相色谱出峰情况

注:a. 梓醇标准品;b. 毛状根样品。

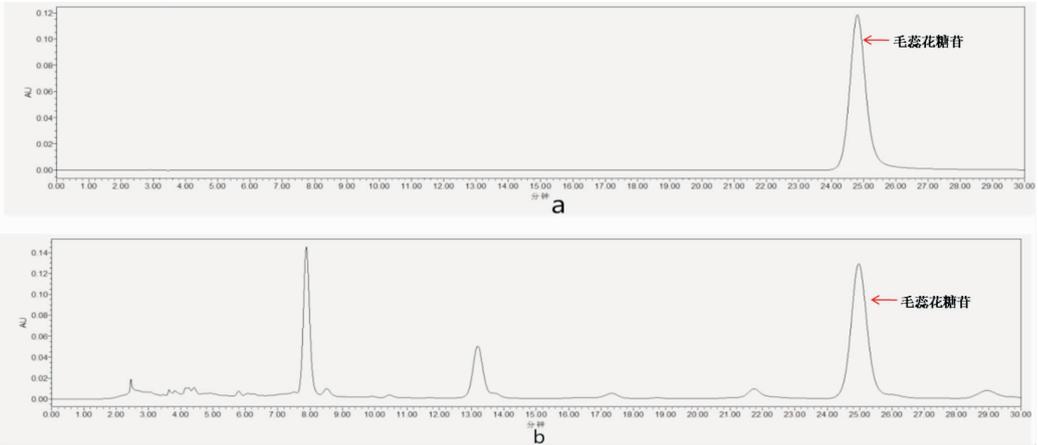


图 4 毛蕊花糖苷高效液相色谱出峰情况

注:a.毛蕊花糖苷标准品;b.毛状根样品

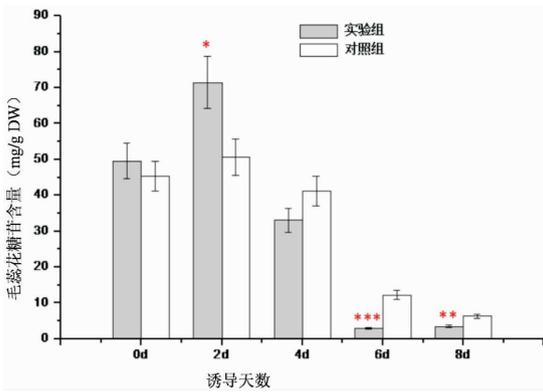


图 5 茉莉酸甲酯对地黄毛状根毛蕊花糖苷积累量的影响

注:***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$ vs 空白组, $n = 3$

2.5 毛状根中总环烯醚萜含量的测定

由图 6 可看出,在诱导第 2 天时,试验组与对照组中总环烯醚萜含量与第 0 天相比均出现显著下降(试验组 $P < 0.01$;对照组 $P < 0.05$),但在诱导第 4 天之后其含量开始回升至原有水平。而在第 8 天时再次出现下降趋势(试验组 $P < 0.05$;对照组 $P < 0.05$)。即在诱导后的 8 d 中,试验组与对照组中总环烯醚萜含量变化有一定波动性,但试验组与对照组间无明显差异。

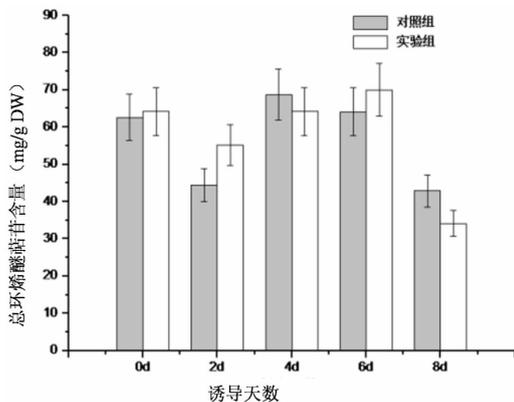


图 6 茉莉酸甲酯对地黄毛状根总环烯醚萜积累量的影响

3 讨论

试验中先采用薄层色谱法进行梓醇的定性鉴别,发现供试品中没有与梓醇标准品对应且显示相同颜色的清晰斑点。后由于高效液相色谱图中也未出现与梓醇标准品相同保留时间的色谱峰,因此认为毛状根中不含梓醇或仅含有很少量的梓醇。该试验中所测得的总环烯醚萜苷含量约占毛状根干质量的 4.29% ~ 7.01%,不低于部分地黄药材中的含量。梓醇是地黄药材中环烯醚萜苷的主要成分,而地黄毛状根中却检测不到梓醇的存在,这可能是由于毛状根中梓醇生物合成的后修饰酶,如糖基转移酶、细胞色素氧化酶 P450 等的表达与其它组织不同,催化梓醇合成最后几步的酶在毛状根中不存在,或者其它酶继续将梓醇修饰成其它同类物质。毛状根中主要合成了其它环烯醚萜苷类物质。这一结果在一些报道中也有体现。EWELINA 等^[4]使用质谱法在地黄毛状根中检测到了梓醇的存在,但未在高效液相中检测到色谱峰,说明梓醇含量极低,但同时检测到了大量的梓苷,梓醇与梓苷结构十分相近,因此推测梓醇在毛状根中可能进一步转化为梓苷存在。也有在地黄毛状根中检测到较高含量梓醇的报道。HWANG 等^[5]在考察 7 种不同培养基对地黄毛状根中梓醇产量的影响时,发现 WPM 培养基(含 4% 蔗糖)中毛状根的梓醇含量可达到干质量的 0.54%。造成结果不同的原因可能是多方面的。首先,影响最大的因素可能是诱导毛状根所用农杆菌的株系不同。EWELINA 等^[4]选用农杆菌 A4 株系进行诱导,毛状根中未检测到梓醇或梓醇含量极低;HWANG 等^[5]选用的是 ATCC15834 株系农杆菌,检测到了梓醇的存在。该试验中毛状根由发根农杆菌 Acce10060 诱导所得,结果经 HPLC 分析未检测到梓醇。这样的现象提示不同发根农杆菌诱导产生的毛

状根之间可能存在不容忽视的差异。另外,试验所用毛状根的遗传背景(外植体的品系)也会对结果造成影响。刘冬青等^[10]选择7种不同遗传背景的丹参植株作为外植体进行毛状根诱导,发现个别品系诱导率明显低于其它外植体;不同遗传背景的毛状根在生长率和对特定次生代谢产物的积累方面也显示出显著差异,索艳飞等^[11]用A4株系农杆菌侵染5个品种的地黄叶片,发现诱导率和毛状根中的毛蕊花糖苷含量均因遗传背景的不同而出现显著差异。

茉莉酸甲酯是内源植物生长调节剂茉莉酸的衍生物,可参与植物体在胁迫条件下的抗逆反应。目前茉莉酸甲酯作为诱导子已对多种植物毛状根或细胞悬浮体系产生显著影响,且其作用范围涵盖多种次生代谢产物。孙际薇等发现 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 茉莉酸甲酯可显著增加曼陀罗毛状根中莨菪碱的积累量;王学勇等^[13]使用 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 茉莉酸甲酯诱导9d后可使丹参毛状根中隐丹参酮和丹参酮II A含量分别增加23.8倍和4.0倍。在该研究中,试验组与对照组毛状根中毛蕊花糖苷在培养的第14天后达到最高,然后呈现下降趋势。诱导初期茉莉酸甲酯可显著增加其积累量,推测茉莉酸甲酯可能通过调节相关基因的表达,增强了毛蕊花糖苷合成途径中一个或几个关键酶的活性。同时,试验组中毛蕊花糖苷含量在第14天后下降速度明显高于对照组,有人认为,在进行诱导处理时,之所以出现次生代谢产物含量下降或先升后降的情况,原因可能是茉莉酸甲酯虽然增加了次生代谢产物的积累,但产物的增多可能负反馈抑制其合成途径中关键酶的作用^[14]。

试验组与对照组毛状根中总环烯醚萜苷含量在诱导后8d内变化有一定的波动性,但试验组与对照组不存在显著差异。EWELINA等^[15]认为,经茉莉酸甲酯处理后,地黄毛状根中的苯乙醇类,尤其是毛蕊花糖苷的变化比环烯醚萜类更为明显。该试验中使用的茉莉酸甲酯浓度较低,可能未达到影响总环烯醚萜苷积累的水平。总环烯醚萜苷属于萜类成分,其生物合成与苯乙醇苷类合成通路不同,各自途径中的关键酶也不同。茉莉酸甲酯对这2类化合物生物合成的作用机制可能存在差异。

毛状根是1种动态体系,在一定时间内,其次生代谢产物的合成与代谢呈现出动态变化的特征。茉莉酸甲酯加入时间、浓度、诱导天数均有可能会影响试验结果。因此,若要较全面地掌握茉莉酸甲酯对地黄毛状根次生代谢的影响,还需从地黄毛状根生

长动力学特征和次生代谢产物积累规律两方面考虑,尝试茉莉酸甲酯的不同浓度梯度和处理时间,从而比较得出最佳诱导条件。此外,还应该将毛状根中毛蕊花糖苷含量与已知关键酶基因的相对表达量做相关性分析,寻找茉莉酸甲酯发挥作用的效应基因,进一步理解茉莉酸甲酯对毛状根中次生代谢产物合成的调控作用。

参考文献:

- [1] 付国辉,杜鑫.地黄化学成分及药理作用研究进展[J].中国医药科学,2015,5(15):39-41.
- [2] 张重义,李明杰,陈新建,等.地黄连作障碍机制的研究进展与消减策略[J].中国现代中药,2013,15(1):38-44.
- [3] 刘连旺,张永清,祁建军,等.地黄毛状根的诱导及条件优化[J].山东农业科学,2015,10(1):47-50.
- [4] EWELINA Pia? tczak, ALEKSANDRA Kro' licka, MARZENA Wielanek. Hairy root cultures of *Rehmannia glutinosa* and production of iridoid and phenyl ethanoid glycosides [J]. Acta Physiol Plant, 2012, 34(3): 2215-2224.
- [5] HWANG S J. Growth characteristics and catalpol production in Chinese foxglove (*Rehmannia glutinosa* Libosch.) hairy roots transformed with *Agrobacterium rhizogenes* ATCC15834 [J]. Plant Biology, 2016, 48(9): 380-386.
- [6] 张璞,王芳,朱查山,等.真菌诱导子与吸附树脂对新疆紫草毛状根中萘醌积累的影响[J].生物工程学报,2013,12(2):214-223.
- [7] 晏琼,胡宗定,吴建勇,等.生物和非生物诱导子对丹参毛状根培养生产丹参酮的影响[J].中草药,2006,37(6):262-265.
- [8] 刘峻,丁家宜,周倩耘,等.真菌诱导子对人参毛状根皂苷生物合成和生长的影响[J].中国中药杂志,2004,29(4):302-305.
- [9] 朱昀昊,李璐,赵乐,等.地黄次生代谢产物生物合成基因表达水平与其含量的相关性分析[J].中国农业科技导报,2018,20(11):36-43.
- [10] 刘冬青.不同品系丹参毛状根诱导发生及生产效率的比较研究[D].成都:电子科技大学,2016.
- [11] 索艳飞.地黄毛状根诱导体系的建立及毛蕊花糖苷合成关键酶基因的鉴定[D].郑州:河南农业大学,2016.
- [12] 孙际薇,张鸿,王凤英,等.茉莉酸甲酯对曼陀罗毛状根中主要莨菪烷类生物碱成分积累和释放的影响[J].中国中药杂志,2013,11(6):1712-1718.
- [13] 王学勇,崔光红,黄璐琦,等.茉莉酸甲酯对丹参毛状根中丹参酮类成分积累和释放的影响[J].中国中药杂志,2007,4(2):300-302.
- [14] 谢腾,莫歌,张山山,等.不同诱导子对植物次生代谢的影响[J].中国实验室方剂学杂志,2015,21(7):210-215.
- [15] EWELINA Pią tczak, ŁUKASZ Kuzma, HALINA Wysokińska. The influence of methyl jasmonate and salicylic acid on secondary metabolite production in *Rehmannia Glutinosa* Libosch. hairy root culture [J]. Acta Biologica Cracoviensias. Botanica, 2016, 58(1): 57-65.

(责任编辑:刘鹤香)

地黄 *RgCDPK* 基因的克隆与表达分析

原增艳^{1,3}, 宋小锋^{1,3}, 朱昀昊²

(1. 新乡医学院三全学院生命科学技术学院, 河南 新乡 453003; 2. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 3. 河南省山楂综合利用工程研究中心, 河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 克隆地黄钙依赖蛋白激酶 (calcium - dependent protein kinases, CDPK) 基因, 并进行生物信息学及其组织特异性分析。**方法** 以地黄为材料, 设计特异引物, 克隆地黄 *RgCDPK* 基因全长序列, 并使用在线软件进行生物信息学分析, 采用荧光定量 PCR 技术进行组织特异性分析。**结果** 克隆得到的地黄 *CDPK* 基因长度为 1770 bp, 编码个 589 个氨基酸; 通过同源性分析发现目的蛋白含有钙依赖蛋白激酶典型结构域丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶区及 EF - 手性区。组织特异性分析得出 *RgCDPK* 在地黄叶中表达量最高。**结论** 本研究成功克隆出地黄 *CDPK* 基因, 为以后深入研究 *CDPK* 在地黄连作障碍等生物及非生物胁迫中的分子机制提供理论基础。

关键词: 地黄; 钙依赖蛋白激酶; 生物信息学; 组织特异性

中图分类号: Q943.2

Cloning and expression analysis of calcium-dependent protein kinase genes in *Rehmannia glutinosa*. L

SONG Xiao-feng^{1,3}, YUAN Zeng-yan^{1,3}, ZHU Yun-hao²

(1. School of Life Science and Technology, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450046; 3. Henan Hawthorn Utilization Engineering Center, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To clone and analyze the gene of calcium-dependent protein kinases in *Rehmannia glutinosa*, and to analyze its sequence information and tissue-specific expression. **Methods** In this study, a full-length cDNA of *RgCDPK* gene was cloned from *R. glutinosa*. Meanwhile, the bioinformatics analysis was used the online software, Quantitative real-time PCR technique was used to detect *RgCDPK* expression level in different tissues. **Results** The full-length cDNA sequence of *RgCDPK* gene was 1770 bp and encoded 589 amino acid residues. Homology a analysis showed that *RgCDPK* protein contained serine/threonine protein kinase region and EF-hand region, which were typical domains of calcium-dependent protein kinase. The expression analysis of *RgCDPK* in different tissues revealed that high transcript levels occurred at leaves. **Conclusion** The *CDPK* gene of *Rehmannia glutinosa* was successfully cloned. The results of this study provide theoretical basis for further study on the function of CDPK in biotic, abiotic stresses and continuous cropping obstacles.

Key words: *Rehmannia glutinosa*; calcium-dependent protein kinase; bioinformatics; tissue specificity

Ca^{2+} 是植物细胞中重要的第二信使, 当一些刺激信号使胞内 Ca^{2+} 浓度增加至阈值时, 产生信号并传递。钙依赖型蛋白激酶 (calcium - dependent protein kinase, CDPKS) 是一种普遍存的蛋白激酶, 当 CDPK 与 Ca^{2+} 结合后, CDPK 被活化发挥作用^[1]。CDPK 在植物响应高温、干旱、紫外等非生物胁迫和内生菌、虫害等生物胁迫中起重要作用, 同时, CDPK 也在植物的生长与发育、胞内激素调节等方面都发挥重要作用^[2-3]。CDPK 基因具有 4 个典型的结构域, 依次分别为, N 末端的可变区、催化区、自抑制区和调控区。调控区一般含有多个 Ca^{2+} 结合的 EF 手型结构 (EF - hand)。 Ca^{2+} 与 EF - hand 结合后, CD-

PK 空间结构发生变化, 导致自抑制区的抑制作用解除, 促使 CDPK 恢复其蛋白激酶活性, 进而磷酸化下游调控因子, 将信号传递至下游调控网络, 从而完成对信号的响应^[4-5]。地黄为玄参科植物地黄 (*Rehmannia glutinosa* Libosch.) 的新鲜或干燥块根, 具有清热生津、凉血止血、滋阴补血等功效^[6]。地黄栽培历史悠久, 历代名医对优质地黄产地的认识几经变迁, 自明朝以来, 即确立了怀庆地黄的道地地位。怀地黄具有悠久的药用历史, 用药需求不断增加, 但是在栽培生产上, 地黄具有严重的连作障碍, 每茬收获后需要 8 - 10 年后才能复种^[7]。张重义等^[8] 研究发现, 钙离子信号系统可能是地黄传递自毒物质

收稿日期: 2019 - 12 - 11

基金项目: 国家自然科学基金 (81603232), 新乡医学院三全学院创新团队 (STD201603)。

作者简介: 原增艳, 女, 硕士, 主要从事中药开发与利用研究, E-mail: yzyxx2008@126.com。

通讯作者: 朱昀昊, 男, 博士, 主要从事药用植物分子生物学研究, E-mail: guxinhan123@163.com。

信号,导致连作危害的罪魁祸首,其中 CDPK 在其中也发挥了重要作用。杨楚韵等^[9]在地黄中鉴定出了 21 个 CDPK 可能参与了连作地黄感知、传导和响应连作胁迫的进程。本研究在前期工作的基础上,从地黄转录组中查找到一条编码钙依赖性蛋白激酶的基因,并分析了该基因编码蛋白的理化特性、结构特征和亚细胞定位,检测了其在不同组织中的表达特性,以期为深入研究其在地黄连作障碍等生物及非生物胁迫中的分子机制提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

地黄 (*Rehmannia glutinosa*) 取自河南中医药大学植物园,经朱响昊副教授鉴定为玄参科地黄。所用地黄品种为“沁怀”,在 6 月份地黄开花时,挖取地黄植株整株洗净后分别取根、叶、花组织,用锡纸包好,液氮冷冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,以备后续使用。

1.2 RNA 的提取及 cDNA 的合成

取新鲜地黄叶片 0.1 g,在液氮中速冻,用 TRIzol 试剂 (Thermo Fisher Scientific) 提取 RNA。提取的 RNA 使用 1% 琼脂糖电泳凝胶检测纯度,检测合格后用于后续 cDNA 的合成。取 7 μL RNA 使用 TIANScript cDNA 第一链合成试剂盒 (天根生化科技 (北京) 有限公司),参照试剂盒说明书操作。

1.3 地黄 CDPK 基因的克隆

以地黄组培苗转录组数据库中一条注释为 CDPK 的 unigene 全长序列为参考序列,使用 Primer Premier 5 设计特异性引物。PCR 反应体系为 20 μL ,具体组分如下:模板 cDNA 2.0 μL 、2 \times Es Taq mix 10 μL 、上下游引物 (RgCDPK - F, RgCDPKR) 各 1.0 μL 、其余用 ddH₂O 补足。反应程序设计如下:95 $^{\circ}\text{C}$, 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$, 45 s, 58 $^{\circ}\text{C}$, 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$, 2 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,纯化回收得到目的片段,使用 pMD19 - T 载体进行目的片段的连接后转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,转化后产物于含氨苄青霉素的 LB 固体培养基上 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜后筛选白斑,菌液经 PCR 验证后送至生工生物工程股份有限公司测序。

1.4 地黄 CDPK 基因的生物信息学分析

使用 ORF finder (http://www.bioinformatics.org/sms2/orf_find.html) 进行开放阅读框查找;使用 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行序列的同源性搜索;使用 ProtParam (<http://www.expasy.ch/tools/protparam.html>) 预测蛋白的

分子量等理化性质;使用 SinalP4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测蛋白信号肽;使用 TMpred (https://embnet.vital-it.ch/software/TMPRED_form.html) 预测蛋白跨膜区;使用 NPSA server (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa-automat.pl?page=npsa_sopm.html) 预测蛋白二级结构,使用 PSORT (<https://www.psort.org/>) 预测蛋白亚细胞定位;使用 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 预测蛋白功能域;使用 NetPhos 3.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 预测蛋白磷酸化位点;使用 MEGA6.0 构建系统和进化树,使用 DNAMAN 进行多序列比对。

1.5 荧光定量 PCR

根据荧光定量引物设计方法,用 Primer5.0 设计引物 qRgCDPK - F, qRgCDPK - R, 以 TiP41 为内参基因。参照荧光定量 PCR 试剂盒的步骤,配成 20 μL 的体系:2 \times SYBR Green PCR Master Mix 10 μL 、引物各 0.4 μL 、QN Rox Reference Dye0.1 μL 、ddH₂O 7.1 μL 、模板 cDNA 2 μL 。PCR 反应程序如下:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 20 s;变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 s;退火 56 $^{\circ}\text{C}$ 20 s;延伸 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 s。40 个循环。60 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 s 进行扩增。反应结束后,根据得到的 Ct 值,利用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$, 分别计算不同组织的表达量。

表 1 引物序列及用途

引物名称	引物序列	用途
RgCDPK - F	GAGAAATGGGTAGCTGTT	基因克隆
RgCDPK - R	TCACAAGCGCCTTCAAAA	基因克隆
qRgCDPK - F	TCTCAGAAACAAGCCCGACT	荧光定量
qRgCDPK - R	TTCACCTCCTTCTCGAACCC	荧光定量
TiP41 - F	ATTGGGTAGATTGCCAGGAG	荧光定量内参
TiP41 - R	CCATTGCAGCCAATTCATC	荧光定量内参

2 结果

2.1 RgCDPK 基因的克隆

提取后的 RNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测可见 3 条清晰条带,条带无降解及杂带,说明 RNA 质量较高,无降解,可用于后续实验。如图 1 所示,特异性条带长度约为 1 800 bp。将 PCR 产物克隆到 pMD19 - T 载体后挑选阳性克隆双向测序。测序结果拼接后经 ORF Finder 预测,该序列含有一个大小为 1 770 bp 的完整的开放阅读框,编码 589 个氨基酸。测序结果使用 DNAMAN 软件与转录组序列进行多序列比对发现,克隆所得序列与转录组所得序列完全一致。通过 BLAST 程序检索,该片段与紫花风铃木 (*Handroanthus impetiginosus*, PIN08903.1)、

猴面花 (*Erythranthe guttata*, XP_012857661)、旋蒴苣苔 (*Dorcoceras hygrometricum*, KZV40794.1) CDPK 蛋白序列的同源性分别为 89%、86%、82%。

采用 InterProScan 在线工具预测对地黄 *RgCDPK* 蛋白的保守结构域进行分析, *RgCDPK* 具有 5 个保守结构域, 分别为在 126 ~ 386 位的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶催化结构域和 4 个 EF-hand, 钙离子结合结构域 (433 - 461, 470 - 498, 512 - 540, 542 - 570) 由此确定该序列为地黄 CDPK 基因的 cDNA 全长序列, 将其命名为 *RgCDPK*, 将其序列提交至 GenBank, 获得登录号为 MT024235。

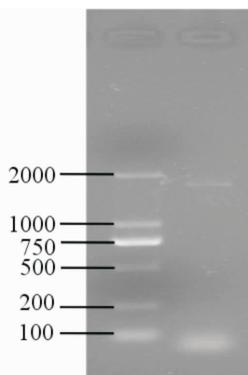


图 1 *RgCDPK* 基因扩增 PCR 产物

2.2 *RgCDPK* 的生物信息学分析

2.2.1 *RgCDPK* 蛋白质理化性质及疏水性分析

RgCDPK 基因的开放阅读框 (ORF) 为 1770bp, 编码 589 个氨基酸残基, *RgCDPK* 蛋白质的相对分子质量为 66.06kD; 理论等电点 (PI) 为 5.91, 原子组成 C2908H4624N832O890S18, 总原子数为 9272, 带负电的氨基酸有 80 个 (Asp + Glu), 带正电的氨基酸有 89 个 (Arg + Lys)。

蛋白质稳定性分析发现 CsCDPK17 的脂肪指数为 73.06, 不稳定系数为 45 蛋白, 推测其为不稳定蛋白质。总平均亲水系数为 -0.584, 属于亲水性蛋白。

2.2.2 *RgCDPK* 蛋白质特性分析 使用 TMpred 软件, 预测 *RgCDPK* 蛋白的跨膜区, 结果显示, *RgCDPK* 蛋白可能存在一个跨膜螺旋, 位置为 309 - 327, 方向由外到内。使用 SignalP-4.1 分析 *RgCDPK* 的信号肽, 结果显示无明显信号肽。 *RgCDPK* 可能定位于叶绿体。通过在线软件对地黄 *RgCDPK* 蛋白进行磷酸化位点预测, 结果如下: *RgCDPK* 蛋白整个多肽链有 71 个磷酸化位点 (>0.5), 其中丝氨酸 42 个, 苏氨酸 23 个, 酪氨酸 6 个。

2.2.3 *RgCDPK* 的结构预测 通过 NPSA server 在线软件对 *RgCDPK* 二级结构预测, 结果表明 *RgCDPK* 蛋白由 41.94% 的 α -螺旋、12.05% 的延伸链、

6.62% 的 β -转角和 39.39% 的无规卷曲组成。使用 Swiss-model 在线软件预测地黄 *RgCDPK* 的三级结构。同源建模结果显示 (图 2), *RgCDPK* 与拟南芥 CDPK (SMTL ID:3q5i.1) 相似度为 33.94%, 具有较高可信度 (>30%)。

通过在线软件对地黄 *RgCDPK* 蛋白进行磷酸化位点预测, 结果如下: *RgCDPK* 蛋白整个多肽链有 71 个磷酸化位点 (>0.5), 其中丝氨酸 42 个, 苏氨酸 23 个, 酪氨酸 6 个。



图 2 *RgCDPK* 蛋白的三级结构

2.2.4 *RgCDPK* 的系统进化及同源性分析

使用 MEGA6.0 构建系统进化树。拟南芥 CDPK 基因包括 I、II、III、IV 四个亚族, 其中 AtCDPK1、2、26 属于 I 家族; AtCDPK15、19、23、29、33、34 属于 II 家族; AtCDPK13、14、24 属于 III 家族; AtCDPK16、18、28 属于 IV 家族。如图 3 所示, *RgCDPK* 与 AtCDPK28 处于同一分支, 说明其可能属于 CDPK IV 家族, 与拟南芥 AtCDPK28 同源性最近。

运用 DNAMAN 在线软件, 将芝麻 SiCDPK16、SiCDPK18、SiCDPK28、紫花风铃木 HiCDPK 等与地黄 *RgCDPK* 进行多序列比对。如图 4 所示, *RgCDPK* 具有 4 个典型的 CDPK 结构域: 可变区、催化区、自抑制区和调控区。可变区位于 N 端, 同源性极低; 蛋白激酶区保守性较高, 由约 300 个左右的氨基酸构成, 因该区含有其催化作用的 Ser/Thr 蛋白激酶序列, 主要起到与 ATP 结合的作用; 在 C 端有 4 个 EFhand 结构, 此即为保守区, 主要起促进 Ca^{2+} 结合的作用, 末端保守性较差。

2.3 *RgCDPK* 的组织表达分析

使用荧光定量 PCR 技术分析地黄块根、叶、花瓣中的表达特性。结果显示 (图 5), *RgCDPK* 在地黄块根、叶和花瓣中均有表达, 其中叶中的表达量最高, 而在花瓣中的表达量最低。在根和叶中的表达量差异较小。

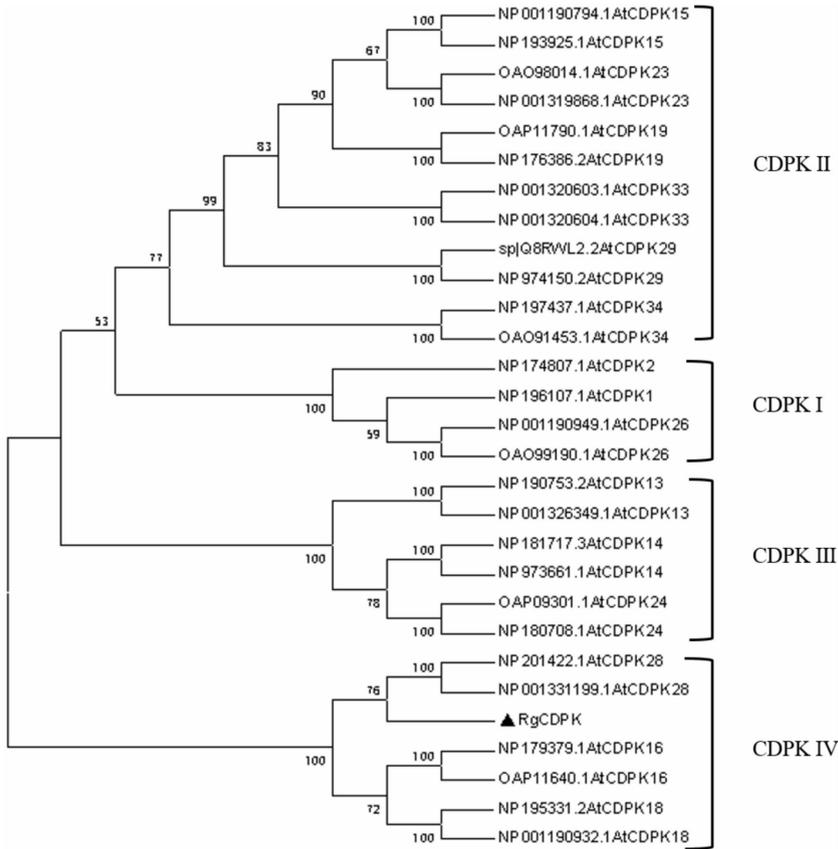


图3 RgCDPK 的系统进化树

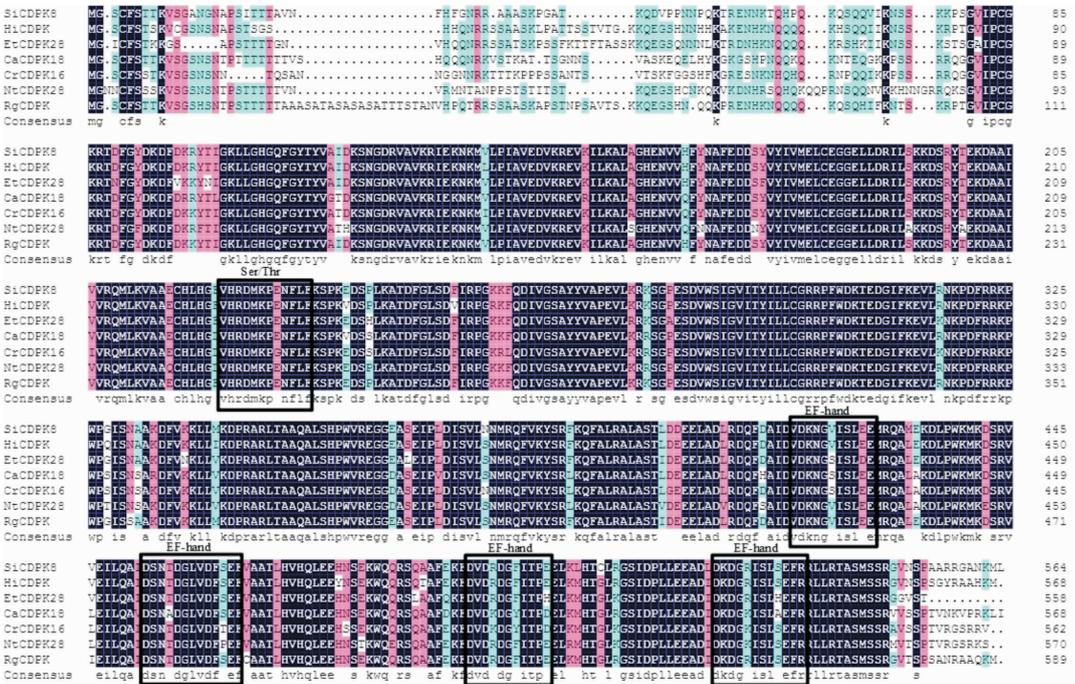


图4 RgCDPK 同源序列比对结果

注:芝麻 SiCDPK8(XP_011099853.1)、SiCDPK28(XP_011097051.1)、紫花风铃木 HiCDPK(PIN08903.1)、猴面花 EgCDPK28(XP_012857661)、咖啡豆 CaCDPK18(XP_012857661)、长春花 CrCDPK16(AGH25068.1)、普通烟草 NiCDPK28(XP_016507827.1)

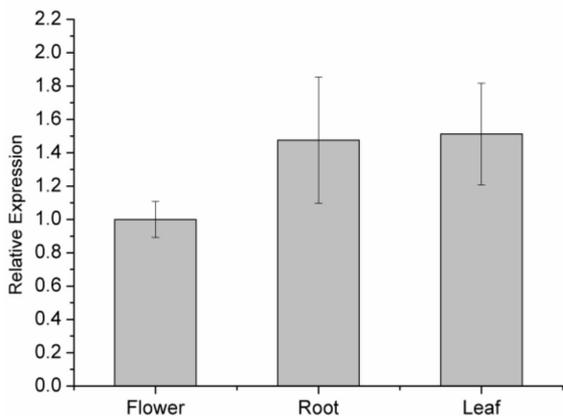


图 5 组织特异性分析

3 讨论

本研究克隆得到一条新的完整的 *RgCDPK* 基因,其开放阅读框大小为 1 770 bp,共编码 589 个氨基酸残基。对 *RgCDPK* 基因的结构及编码的蛋白进行分析发现,其保守结构具有 4 个典型的可变区、催化区、自抑制区和调控区,符合钙依赖蛋白激酶典型结构特征。CDPK 在植株中分布广泛,在根、叶、花、果实及种子等各器官中均能检测到 CDPK 基因的表达^[10-12]。本研究通过荧光定量 PCR 对 *RgCDPK* 在地黄不同组织中的特异性表达结果进行分析,发现 *RgCDPK* 在叶中表达量最高,其次是根,在花瓣中的相对表达量最少。铁皮石斛 DoCDPK1 也属于 CDPK IV 家族,但其在叶片中表达量最高,其次是茎,在根中表达量最低^[13]。说明 *RgCDPK* 的表达具有组织特异性,且不同植物中的 CDPK 即使属于同一亚家族,其表达模式也可能不同。本研究从地黄中克隆到一条新的 CDPK 基因,系统进化树分析发现,其可能属于 CDPKD 家族,与拟南芥 AtCDPK28 同源性最近。AtCDPK28 缺失引起拟南芥 NaCl 抗性降低,而其超表达则增加拟南芥对渗透胁迫的耐受性。同属于 CDPKD 家族的 DoCDPK1 在低温、ABA 与盐胁迫均可被诱导,因此推测其可能在地黄渗透胁迫等逆境环境中发挥调节作用。连作障碍是指连续在同一土壤上栽培同种作物或近缘作物引起的植物生长发育异常^[14],连作过程中植物也受到一定程度的胁迫。已经有研究发现钙信号系统在地黄连作障碍形成过程中扮演着重要的角色^[15],而钙依赖蛋白激酶(CDPK)在地黄连作的生理响应中可能也发挥着重要作用。CDPK11 基因在连作地黄膨大前、中、后期的表达量均显著高于头茬地黄,而 CDPK20 在膨大中期连作地黄中表达量显著高于头茬地黄,其他时期均下调^[17]。这可能是不同 CDPK 蛋白通过相互

补充和相互增益在地黄连作障碍的形成过程中承担不同的角色,从而介导地黄连作障碍的形成。*RgCDPK* 基因作为地黄 CDPK 基因家族中的一员,可能在地黄连作反应中发挥一定的功能,但本研究未对其在地黄连不同时期、不同组织中的表达特性进行研究,因此其如何参与地黄连作障碍中 Ca^{2+} 信号转导及具体的转导途径等均并不清楚,还需要进一步进行深入研究。

参考文献:

- [1] Qiyang Gao, Tiantian Xiong, Xueping Li, et al. Calcium and calcium sensors in fruit development and ripening[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 253: 412-421.
- [2] Romeis T, Piedras P, Jones J DG. Resistance gene dependent activation of a calcium-dependent protein kinase in the plant defense response[J]. Plant Cell, 2000, 12(5): 803-815.
- [3] Geiger D, Scherzer S, Mumm P, et al. Guard cell anion channel SLAC1 is regulated by CDPK protein kinases with distinct Ca^{2+} affinities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(17): 8023-8028.
- [4] Hetherington A, Trewavas A. Calcium-dependent protein kinase in pea shoot membranes[J]. FEBS Letters, 1982, 145(1): 67-71.
- [5] Harmona C, Putnamevans C, Cormier J A. A calcium-dependent but calmodulin-independent protein kinase from soybean[J]. Plant Physiology, 1987, 83(4): 830-837.
- [6] 李慧芬. 地黄药理作用和临床应用概况[J]. 药学研究, 2014, 33(6): 345-347.
- [7] 刘红彦, 王飞, 王永平, 等. 地黄连作障碍因素及解除措施研究[J]. 华北农学报, 2006(4): 131-132.
- [8] 张重义, 李明杰, 陈新建, 等. 地黄连作障碍机制的研究进展与消减策略[J]. 中国现代中药, 2013, 15(1): 38-44.
- [9] 杨楚韵, 李鑫宇, 李明杰, 等. 地黄钙信号体系相关基因的鉴定及其在连作条件下响应特征分析[J]. 药学学报, 2017, 52(12): 1951-1961.
- [10] Raices M, Gaegabini PR, Chinchilla D, et al. Regulation of CDPK isoforms during tuber development[J]. Plant Mol Biol, 2003, 52(5): 1011-1024.
- [11] 白晓璟, 廉小平, 王玉奎, 等. 甘蓝 SI 相关基因 BoCDPK14 的克隆与分析[J]. 作物学报, 2019, 45(12): 1773-1783.
- [12] 雷蕾, 王璐, 姚丽娜, 等. 茶树钙依赖性蛋白激酶基因 CsCDPK17 的鉴定及表达分析[J]. 茶叶科学, 2019, 39(3): 267-279.
- [13] 盛况, 高燕会, 斯金平, 等. 铁皮石斛 DoCDPK6 基因及启动子的克隆与表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(4): 588-598.
- [14] 王刚, 景炜明, 陈永利. 蔬菜连作障碍原因与防治措施[J]. 西北园艺, 2019, 04: 53-54.
- [15] 郭冠琪, 李明杰, 王鹏飞, 等. 地黄连作障碍中钙信号系统的异常变化分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1471-1478.

(责任编辑:刘鹤香)

硫化氢抑制 ATP 诱导 PC12 细胞摄取 Ca^{2+} 和 YO-PRO-1 的观察

杨坤丽¹, 罗 虎¹, 李东亮^{1,2}

(1. 新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453000; 2. 新乡医学院基础医学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 研究硫化氢(H_2S)的供体氢硫化钠(NaHS)对三磷酸腺苷(ATP)诱导的 PC12 细胞活力、细胞内 Ca^{2+} 浓度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)和膜通透性变化的影响。**方法** 对数生长期高分化 PC12 细胞随机分为 4 组,分别给予或不给予 ATP、NaHS、KN-62(P2X_7 受体阻滞剂)处理。MTT 检测各组细胞活力,Fura-2/AM 荧光染料检测各组 $[\text{Ca}^{2+}]_i$,检测 YO-PRO-1 摄取相对荧光单位以反映膜的通透性。**结果** 浓度 $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ATP 对细胞活力无影响,但 1、3、5、10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 ATP 则明显降低细胞活力。200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 NaHS 干预可明显逆转 ATP 引起的细胞活力下降($P < 0.05$),而 800 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS 则加剧 ATP 对 PC12 细胞的损伤($P < 0.05$)。此外,ATP 以剂量依赖的方式增加 PC12 细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$,以剂量依赖和时间依赖的方式增加 PC12 细胞膜通透性。然而,NaHS 则显著降低 ATP 诱导的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 和膜通透性增加。**结论** NaHS 能减轻 ATP 诱导的 PC12 细胞损伤,这可能与抑制 ATP 诱导的胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 和膜通透性增加有关。

关键词: 三磷酸腺苷(ATP);硫化氢(H_2S); P2X_7 受体;PC12 细胞

中图分类号: Q26

Observation on Hydrogen sulfide restraining $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and YO-PRO-1 uptake induced by ATP in PC12 cells

YANG Kun-li¹, LUO Hu¹, LI Dong-liang^{1,2}

(1. School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. School of Basic Medicine, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of sodium hydrosulfide (NaHS), a donor of hydrogen sulfide (H_2S), on intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) and membrane permeability induced by adenosine triphosphate (ATP) in PC12 cells. **Methods** Highly differentiated PC12 cells of logarithmic phase were randomly divided into four groups, which were treated with or without ATP, NaHS and KN-62 (P2X_7 receptor blocker) for indicated time, respectively. MTT was performed to detect cell viability, Fura-2/AM staining was used for detection of $[\text{Ca}^{2+}]_i$, and YO-PRO-1 uptake assay was conducted for determination of PC12 cells membrane permeability in each group. **Results** ATP at $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ had no effect on PC12 cell viability, while ATP at 1, 3, 5, 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ significantly reduced PC12 cell viability in a dose-dependent manner. NaHS at 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ significantly reversed the PC12 cell viability decrease induced by ATP, while NaSH at 800 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ enhanced the impairment of ATP on PC12 cells. In addition, ATP rapidly increased $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in PC12 cells in a dose-dependent manner, and it also increased PC12 cell membrane permeability in both dose-dependent and time-dependent manners. However, NaHS significantly reduced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and PC12 cell membrane permeability induced by ATP. **Conclusion** NaHS could protect PC12 cells from injury induced by ATP, which might be related with its inhibition on increased $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and cell membrane permeability induced by ATP.

Key words: adenosine triphosphate (ATP); hydrogen sulfide (H_2S); P2X_7 receptor; PC12 cells

In recent years, the effects of purinergic signaling pathway in cerebral ischemia-reperfusion injury have gradually grasped public attention, and research on P2X_7 receptor subtype has become a focal issue. P2X_7 receptors usually act as cation channels, but they would also become membrane pores allowing pass of mole-

cules smaller than 900D with repeated or prolonged exposure to ATP at high concentrations^[1]. Increasing membrane pores result in cell edema, vacuolization, apoptosis and necrosis eventually^[4]. Under physiological conditions, ATP activates P2X_7 receptor, causing Ca^{2+} influx, Na^+ influx and K^+ efflux and resulting in cell

收稿日期: 2019-09-04

基金项目: 河南省科技攻关项目(192102310083), 学校创新团队项目(STD201601), 河南省高校重点科研计划项目(20A310015)。

作者简介: 杨坤丽, 女, 助教, 硕士, 研究方向: 脑细胞损伤及干预, E-mail: 824998738@qq.com。

depolarization. In cerebral ischemia – reperfusion injury, damaged neurons and glial cells release large amounts of ATP^[2]. The high concentration of ATP stimulates P2X₇ receptors, which not only can enhance the inward current amplitude of neurons depolarization over time, but can form “large membrane pore” allowing substances with molecular weight smaller than 900D (such as NMDG + , YO – PRO – 1, Ethidium) to pass freely^[3]. All these effects of ATP further cause the release of inflammatory mediators including reactive oxygen species, valley acid, ATP and others, and the formation of inflammasome, which further results in secondary injury (such as cell swelling, vacuolization, and even apoptosis and necrosis) in brain and nerve tissue^[4]. The concept of considering high concentrations of extracellular ATP as “death factor” has already been widely recognized by researchers, and the injury effects of ATP have also been confirmed by recent studies^[5–6]. There have already been kinds of theory about how H₂S fights against ischemia – reperfusion injury, such as activation of KATP channel, suppression of excitotoxicity, antioxidant, and so on^[7–8]. Our previous findings^[9] have confirmed that the PC12 cell injury induced by ATP is closely related to P2X₇ receptor. In this paper, we focus on the protective mechanism and key molecular target of H₂S in ATP – induced PC12 cell injury, and attempt to provide some experimental evidence for clinical application of H₂S.

1 Materials and Methods

Reagents MTT, ATP, NaHS, P2X₇ receptor blocker KN – 62 and DMEM medium were all purchased from Sigma (St. Louis, MO, USA). Fura – 2/AM was purchased from Dojindo Laboratories (Kumamoto Prefecture, Kyushu Island, Japan). YO – PRO – 1 Iodide (MD:629) was purchased from Invitrogen (Carlsbad, Canada). Fetal bovine serum (FBS) was purchased from Hyclone (Logan, Utah, USA). Multifunctional microplate reader (Bio – Tek ELX800, USA) was used for absorbance detection.

Using sterile triple – distilled water, ATP was diluted to the concentration of 500 mmol · L⁻¹ and NaHS to the concentration of 50 mmol · L⁻¹. And KN – 62 was diluted using sterile DMSO to the concentration of 1

mmol · L⁻¹^[10]. All of these three solutions mentioned above were stored at –20 °C in the dark and were diluted to the working concentration before use, respectively.

Cell Culture and treatment PC12 cells were purchased from Chinese Academe of Science Shanghai Life Science Cell Resource Center (Shanghai, China). PC12 cells were maintained in DMEM media supplemented with 10% FBS and cultured in a 5% CO₂ incubator at 37 °C.

PC12 cells were divided into 4 groups, including control group (cells were maintained in DMEM containing 10% FBS), ATP group (cells were treated with 3 mmol · L⁻¹ ATP for 3 h), NaHS + ATP group (cells were pre – treated with NaHS for 30 min, and then 3 mmol · L⁻¹ ATP was added to the system for 24 h), and KN – 62 + ATP group (cells were pre – treated with KN – 62 for 30 min, and then the same treatment with NaHS + ATP group was repeated).

MTT assay PC12 cells were seeded in 96 – well plate with 5000 cells in each well. And, 10 μL MTT (5 mg · mL⁻¹) was added. After 4 h incubation at 37 °C, the supernatant was removed and 100 μL DMSO was added. The absorbance at 490 nm wavelength of each well was detected. Cell viability was calculated according to the following formula: cell viability (%) = A (treatment group) – A (blank group) / A (control group) – A (blank group) × 100%. This assay was repeated for 3 times and 5 wells were set in each group.

[Ca²⁺]i assay PC12 cells were seeded in 35 mm culture dish at a density of 2 × 10⁵ mL⁻¹ and cultured for 24 h. Afterwards cells were treated as described above. PC12 cells were incubated with 5 μmol · L⁻¹ Fura – 2/AM for 30 min and then washed for 3 times with Hank’s Balanced Salt Solution (HBSS). HBSS was added and incubated for another 30 min. Fluorescence microscopy was used to detect [Ca²⁺]i. The ratio of fluorescence at 340 nm to fluorescence at 380 nm (F340/F380) was considered to be [Ca²⁺]i.

YO – PRO – 1 intake assay When membrane pores are formed in cells, YO – PRO – 1 with a molecular weight of 629D can enter cells and bind with nucleic acid to produce green fluorescence, thus the cell mem-

brane permeability can be reflected by green fluorescence intensity. YO - PRO - 1 ($2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and ATP were added to cells of each group simultaneously, and were incubated in $37 \text{ }^\circ\text{C}$ for 1 h. Multifunctional microplate reader was used for absorbance detection (excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 516 nm). The formula was as follows: YO - PRO - 1 fluorescence intensity = (Absorbance of experimental groups) / (Absorbance of control group) \times 100%. Fluorescence intensity of control group in this study was set to be 100%.

Statistical Analysis All data were presented as mean \pm standard error of mean (SEM). SPSS 12.0 software was used for statistical analysis. One - way ANOVA was conducted for significant test between multiple groups. $P < 0.05$ was considered to be significantly different.

2 Results

Effects of NaHS on decreased cell viability induced by ATP To determine the PC12 cells viability under ATP treatment and the effects of NaHS on it, MTT was conducted. After 3 h treatment with ATP, PC12 cell viability was reduced in a dose - dependent manner, and the reduction was significant compared to control group (Fig. 1A) ($P < 0.05$). ATP might therefore cause cell injury.

To clarify the effect of NaHS on ATP - induced cell injury, cells were pretreated with NaHS for 30 m, and then $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP was added and incubated for 24 h. After treatment, MTT was performed to detect PC12 cells viability. As shown in Fig. 1B, when NaHS concentration was $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, no significant effect was found, while when NaHS concentration was $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, cell viability was significantly higher than that treated with ATP only ($P < 0.05$). However, when NaHS concentration was $800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, cell viability was significantly lower than that treated with ATP only ($P \leq 0.01$). The results showed that $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS could protect PC12 cells from ATP - induced injury, while $800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ could damage cells.

(A) ATP reduced the viability of PC12 cells in a dose - dependent manner. (B) Effects of NaHS on viability of PC12 cells injured by ATP. * * $P < 0.01$

compared with control group. # $P < 0.05$ compared with ATP group. $n = 3$.

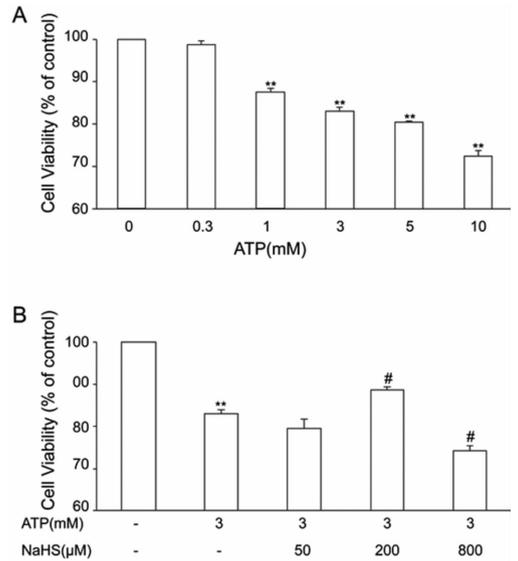


Fig. 1 Effects of NaHS on viability of PC12 cells injured by ATP

ATP evokes $[Ca^{2+}]_i$ increase in PC12 cells To elucidate effect of ATP on $[Ca^{2+}]_i$ in PC12 cells, fluorescence microscopy with Ca^{2+} imaging system was used to detect $[Ca^{2+}]_i$. The results showed that $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP had no significant effect on $[Ca^{2+}]_i$ (Fig. 2A) ($P > 0.05$), while $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP increased $[Ca^{2+}]_i$ significantly compared with control group with an increase up to 50% and 66.3%, respectively (Fig. 2B, Fig. 2C and Fig. 2D) ($P < 0.01$). The results suggested that ATP at certain concentration activated corresponding purine receptors and then increased $[Ca^{2+}]_i$, indicating that Ca^{2+} might be a crucial factor in intracellular transmission of purine signaling molecules.

Fig. 2

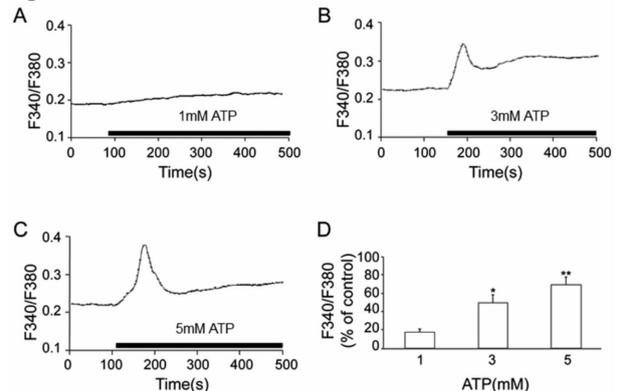


Fig. 2 Effect of ATP at different concentrations on $[Ca^{2+}]_i$ of PC12 cells

(A) 1 mmol · L⁻¹ ATP exhibited no significant effect on [Ca²⁺]_i of PC12 cells. (B) 3 mmol · L⁻¹ ATP increased [Ca²⁺]_i of PC12 cells. (C) 5 mmol · L⁻¹ ATP increased [Ca²⁺]_i of PC12 cells. (D) Histogram of increased [Ca²⁺]_i peak of PC12 cells induced by ATP. * P < 0.05 compared with control group. * * P < 0.01 compared with control group. n = 20.

KN-62 and NaHS inhibit ATP-mediated [Ca²⁺]_i increase In previous study²³, it was found that ATP could increase [Ca²⁺]_i through activating P2X₇ receptor and then cause cells injury. To investigate whether ATP-mediated [Ca²⁺]_i increase was related with P2X₇ receptor, and effects of NaHS on increase [Ca²⁺]_i, fluorescence microscopy was used to detect [Ca²⁺]_i as described above. KN-62 treatment of 500 nmol · L⁻¹ had no obvious effect on [Ca²⁺]_i (Fig. 3A and 3G). However, when cells were pretreated with KN-62 for 30 min before 3 mmol · L⁻¹ ATP treatment, [Ca²⁺]_i was significantly lower (P < 0.01) when compared with cells treated with ATP only, and the [Ca²⁺]_i increase in the two groups were 14.5% and 50% respectively (Fig. 3C, Fig. 3D and 3G).

As for effects of NaHS on ATP-mediated [Ca²⁺]_i increase, NaHS treatment at 200 μmol · L⁻¹ had no effect on [Ca²⁺]_i (Fig. 3B and 3G). But when cells were pretreated with NaHS for 30 min before 3 mmol · L⁻¹ ATP treatment, [Ca²⁺]_i was significantly lower than cells treated with ATP only, and the increase of [Ca²⁺]_i in the two groups was 21.3% and 50% respectively (Fig. 3E and 3G) (P < 0.01). However, when NaHS and ATP were added simultaneously, the increase of [Ca²⁺]_i was 42.6% and was not significantly different from cells treated with ATP only (Fig. 3F and 3G) (P > 0.05). The results showed that KN-62 and NaHS could not activate P2X₇ receptor, ATP-mediated [Ca²⁺]_i increase was related with P2X₇, and KN-62 (a P2X₇ receptor blocker) could reduce ATP-mediated [Ca²⁺]_i. NaHS had similar effects with KN-62 on ATP-mediated [Ca²⁺]_i increase, and the effects were dependent on the time of NaHS action, and a 30 min pretreatment of NaHS could reverse ATP-mediated [Ca²⁺]_i.

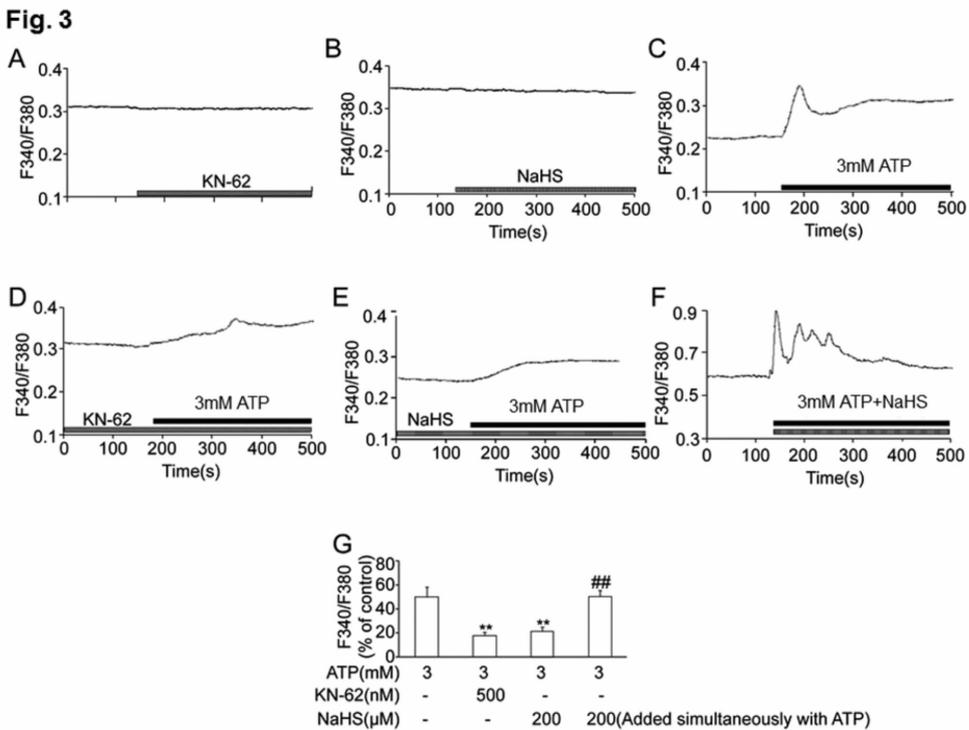


Fig. 3 Effect of KN-62 or NaHS on increase of [Ca²⁺]_i induced by ATP in PC12 cells

(A) KN-62 exhibited no effect on [Ca²⁺]_i in PC12 cells. (B) NaHS exhibited no effect on [Ca²⁺]_i

in PC12 cells. (C) 3 mmol · L⁻¹ ATP increased [Ca²⁺]_i in PC12 cells. (D) Pretreatment with KN-

62 before ATP application lowered $[Ca^{2+}]_i$ induced by ATP. (E) Pretreatment with NaHS before ATP application lowered $[Ca^{2+}]_i$ in PC12 cells. (F) NaHS exhibited no effect on $[Ca^{2+}]_i$ increase induced by ATP when added simultaneously with ATP. (G) Histogram of $[Ca^{2+}]_i$ in PC12 cells of different group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group. ## $P < 0.01$ compared with NaHS group. $n = 20$.

ATP promotes membrane pores formation in PC12 cells To evaluate effects of ATP on membrane pores formation and cell permeability in PC12 cells, YO-PRO-1 uptake test was conducted. When treated with ATP of certain concentrations for 1 h, YO-PRO-1 uptake by cells was increased in a concentration-dependent manner (Fig. 4A). Meanwhile, when cells were treated with $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP for indicated time, YO-PRO-1 uptake by cells was increased in a time-dependent manner (Fig. 4B). The results showed that ATP promoted membrane pore formation in PC12 cells in a dose- and time-dependent manner, and that ATP could enhance membrane permeability in PC12 cells.

Fig. 4

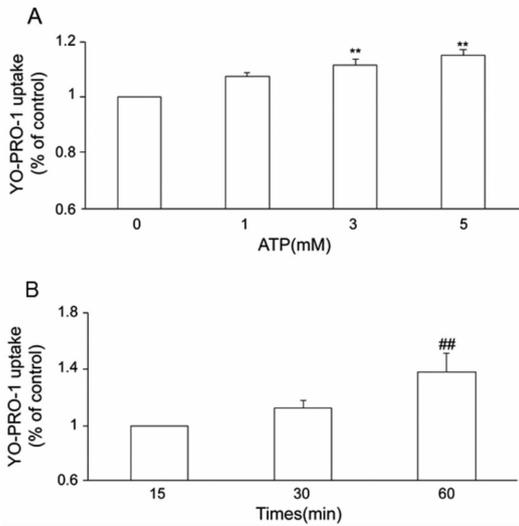


Fig. 4 Effect of ATP on YO-PRO-1 uptake in PC12 cells

(A) ATP increased YO-PRO-1 uptake in a dose-dependent manner. (B) ATP increased YO-PRO-1 uptake in a time-dependent manner. PC12 cells were treated with ATP for 1 h in A, and ATP concentration was $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ in B. ** $P < 0.01$ compared with control group. ## $P < 0.01$ compared with group treated with ATP for 15 min. $n = 3$.

N-62 and NaHS inhibit membrane pores forma-

tion promoted by ATP To detect effects of KN-62 and NaHS on membrane pores formation promoted by ATP in PC12 cells, YO-PRO-1 uptake detection was performed. Cells were pretreated with $500 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KN-62 or $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS for 30 min respectively. Then $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP was added and incubated for another 1 h. As shown in Fig. 5, YO-PRO-1 uptake of cells in KN-62 + ATP group and NaHS + ATP group were both significantly lower than that in ATP group ($P < 0.01$). The results showed that both KN-62 and NaHS could inhibit membrane pores formation promoted by ATP in PC12 cells.

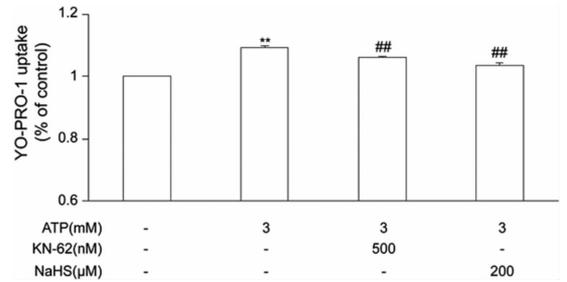


Fig. 5 Effects of KN-62 and NaHS on ATP-induced YO-PRO-1 uptake in PC12 cells

To clarify effects of KN-62 or NaHS on membrane permeability affected by ATP, YO-PRO-1 test was performed. ** $P < 0.01$ compared with control group. ## $P < 0.01$ compared with ATP group. $n = 3$.

3 Discussion

PC12 cells are a type of rat adrenal pheochromocytoma cells, and share similarities with neurons in differentiation, growth and physiological functions under nerve growth factor (NGF) induction^[11]. High concentrations of ATP treatment in PC12 cells can mimic injuries on normal neuron surrounding lesions induced by high concentrations of ATP, which was released by damaged neurons and glial cells under various pathological conditions, such as ischemia, inflammation, shock^[12-13]. In this study, it was found that ATP could reduce PC12 cells viability in a dose-dependent manner, especially when ATP was at high concentration, and that ATP at high concentrations can cause PC12 cells injury and even death.

The protection of NaHS on PC12 cell from ATP-induced injury was related with NaHS concentration. The results showed that $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS could significantly increase cell viability inhibited by ATP,

while $800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS exhibited aggravated damages on ATP-treated PC12 cells. It has been reported that excessive H_2S is a potent inhibitor of cytochrome oxidase, and it may bind with Fe^{3+} in oxidized cytochrome oxidase within mitochondrial respiratory chain, causing cellular hypoxia through inhibiting electron transfer and oxygen use, and resulting in cellular suffocation finally^[14]. Additionally, Jinlan Meng et al^[15] have proved that NaHS of 50 to $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ can enhance survivin expression in a dose-dependent manner, $800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS, however, will decrease survivin expression significantly compared with control group. Our data is consistent with this report, suggesting that $800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS may cause injury on PC12 cells.

As reported, activation of P2X_7 receptor in vitro requires ATP of more than $1 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, while activation of other P2 receptors only needs less than $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[16]. In this study, only ATP at concentrations more than $1 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ could increase $[\text{Ca}^{2+}]_i$ significantly in PC12 cells, indicating that the increase of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by ATP may be achieved via P2X_7 receptor activation. The treatment of KN-62, a blocker of P2X_7 receptor, could antagonist $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increase induced by ATP in PC12 cells, confirming the view mentioned above. Besides, NaHS could reverse ATP-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increase only when it was incubated with cells for 30 min before ATP was added. These data suggest that pretreatment with NaHS can inhibit P2X_7 receptor activation in PC12 cells, providing experimental basis for the clinical use of NaHS.

Based on YO-PRO-1 uptake test, it was found that ATP could promote formation of membrane pores in PC12 cells in a dose- and time-dependent manner, which was consistent with previous reports^[9]. Moreover, this effect of ATP was related with P2X_7 receptor activation due to inhibition of KN-62 on ATP promoted membrane pores formation, and this was also consistent with results in Auger's research^[17], which specifically indicated that P2X_7 receptor specific blocker o-ATP could inhibit ATP-promoted membrane pores formation in astrocytes. All these data provide further experimental basis for clarifying the important role of P2X_7 receptor in ATP-promoted membrane pores formation.

Along with the formation of membrane pores promoted by ATP, permeability of cell membrane has changed and allowed free access of organic matters with molecular weight less than 900D, resulting in the imbalance in intracellular homeostasis and cell death followed^[18]. Protections of H_2S on cells from injury have already been proved in many organs^[19]. Whether H_2S can protect cells from injury through regulating activation of membrane pores formation is still unclear. In this paper, pretreatment of NaHS for 30 min could reduce ATP-induced YO-PRO-1 uptake in PC12 cells, suggesting that NaHS could reduce membrane permeability to macromolecules and reduce injury of PC12 cells. Data mentioned here provide primary proofs for view of NaHS regulating activation of membrane pores formation.

In summary, current study shows that NaHS can reduce ATP-induced PC12 cells injury, and inhibit ATP-mediated Ca^{2+} influx and YO-PRO-1 uptake in PC12 cells, thus playing a protective role in PC12 cells.

References:

- [1] Cisneros-Mejorado A, Gottlieb M, Cavaliere F, et al. Blockade of P2X_7 receptors or pannexin-1 channels similarly attenuates postischemic damage[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2015, 35(5):843-850.
- [2] Skaper S D, Debetto P, Giusti P. The P2X_7 purinergic receptor: From physiology to neurological disorders [J]. *The FASEB Journal*, 2009, 24(2):337-345.
- [3] Rassendren F, Buell G N, Virginio C, et al. The Permeabilizing ATP Receptor, P2X_7 : Cloning and Expression of a Human cDNA [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(9):5482-5486.
- [4] Burnstock G, Skaper S D, Apolloni S, et al. P2X_7 Receptors: Channels, Pores and More [J]. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets)*, 2012, 11(6):705-721.
- [5] Skaper S D, Debetto P, Giusti P. The P2X_7 purinergic receptor: From physiology to neurological disorders [J]. *The FASEB Journal*, 2009, 24(2):337-345.
- [6] Bai H Y, Li A P. P2X_7 receptors in cerebral ischemia [J]. *Neuroscience Bulletin*, 2013, 29(3):390-398.
- [7] Li L, Rose P, Moore P K. Hydrogen Sulfide and Cell Signaling [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2011, 51(1):169-187.
- [8] Zhou J, Wu PF, Wang F, et al. Targeting gaseous molecules to protect against cerebral ischaemic injury: Mechanisms and prospects [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2012, 39(6):566-576.

荞麦叶大百合总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究

秦晶晶, 钱慧琴, 闫福林

(新乡医学院三全学院药学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 研究荞麦叶大百合总黄酮的乙醇提取工艺及其抗氧化活性, **方法** 在单因素实验基础上, 以乙醇浓度(A)、提取温度(B)、料液比(C)、提取时间(D)为自变量, 总黄酮提取率为因变量, 运用正交实验探索乙醇回流提取荞麦叶大百合中总黄酮的最佳工艺条件。同时, 测定荞麦叶大百合总黄酮对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH)的清除活性。**结果** 荞麦叶大百合中总黄酮提取的最佳工艺条件为乙醇浓度为 70%, 提取温度 60 ℃, 料液比为 1:10 和提取时间为 30 min。此条件下, 总黄酮提取率达到 10.90 mg/g, 重复性试验结果表明, 此方法稳定可靠, 提取率高, 适于荞麦叶大百合中总黄酮的提取。荞麦叶大百合总黄酮和 VC 对(DPPH·)的半数清除率 EC₅₀ 分别是 4.439、18.746 μg·mL⁻¹。**结论** 乙醇回流提取荞麦叶大百合总黄酮的最佳工艺条件, 提取率高, 且方法稳定可靠, 由抗氧化试验结果看出, 荞麦叶大百合中总黄酮对于 DPPH 自由基的清除能力优于抗氧化剂 VC, 具有较强的抗氧化活性。

关键词: 荞麦叶大百合, 总黄酮, 正交实验法, 抗氧化

中图分类号: R931.6

Study on extraction process and antioxidant activity of total flavonoids in cardiocrinum cathayanum

QIN Jing-jing, QIAN Hui-qin, YAN Fu-lin

(Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, 453000)

Abstract: **Objective** To study the ethanol extraction technology and antioxidant activity of the total flavonoids in cardiocrinum cathayanum. **Methods** Based on the single-factor experiment, ethanol concentration (A), extraction temperature (B), material-liquid ratio (C), and extraction time (D) were used as independent variables, and the total flavonoid extraction rate as the dependent variable. Orthogonal experiments were used to explore optimum technological conditions for the extraction of total flavonoids by ethanol reflux from cardiocrinum cathayanum. Meanwhile, the scavenging activity of total flavonoids of cardiocrinum cathayanum on 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine free radical (DPPH) was determined. **Results** The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: ethanol concentration was 70%, extraction temperature 60 ℃, ratio of raw material to liquid 1:10 (g·mL⁻¹) and extracting time 30min. Under these conditions, the yield of total flavonoids was 10.90 mg/g. Repeated tests showed that this method was stable and reliable with high extraction rate. The half-clearance EC₅₀ of total flavonoids and VC pairs (DPPH) of cardiocrinum cathayanum were 4.439 and 18.746 μg/mL, respectively. **Conclusion** Ethanol reflux extraction of total flavonoids from cardiocrinum cathayanum was optimized with the high extraction rate, stability and reliability. The results of antioxidant test in vitro showed that the scavenging effect of total flavonoids extracted from cardiocrinum cathayanum to DPPH· was better than that of vitamin C solution at the same concentration.

Key words: cardiocrinum cathayanum; total flavonoids; orthogonal test method; antioxidant activities

荞麦叶大百合(Cardiocrinum cathayanum)属于百合科(Liliaceae)百合属(Lium)多年生单子叶植物,是国家卫生部审批通过的第一批药食两用植物之一^[1-3]。研究发现,百合具有抗氧化、消炎、抗疲劳、抗抑郁、降血糖、改善呼吸功能等作用,百合主要化学成分为黄酮、多糖、皂苷,生物碱物质^[4]。其中黄酮类化合物是广泛存在于植物界的一大类天然产物,酮类化合物具有多种生物活性,如抗氧化、抗炎、抗病毒、强心、镇静、镇痛、抗衰老和抗肿瘤等作

用^[5-10]。其中最为重要的是它能减少自由基形成和清除自由基的抗氧化活性,还具有抗脂质过氧化作用,是一类值得深入研究的天然有机抗氧化剂^[11]。目前,尚未有荞麦叶大百合中总黄酮提取工艺及其抗氧化性的研究报道,因此,本研究以河南南阳桐柏县为产地的荞麦叶大百合作为研究对象,通过乙醇回流提取荞麦叶大百合总黄酮,以总黄酮提取率(mg/g)为评价指标,考察乙醇浓度、提取温度、料液比、提取时间对黄酮提取率的影响,并在单因素

收稿日期:2019-06-21

基金项目:河南省高等学校重点科研项目计划(编号:17A350002);河南省高等学校重点科研项目计划(编号:17B350006);该成果是由学校科技创新团队基金资助的。

作者简介:秦晶晶,女,讲师,理学硕士,研究方向:天然产物活性成分研究。

通讯作者:闫福林,男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:天然产物活性成分研究,E-mail:yannz2009@163.com。

的实验基础上,进行了四因素三水平正交实验,从而优化荞麦叶大百合总黄酮提取工艺。由于黄酮具有较强的抗氧化作用,因此在荞麦叶大百合总黄酮的最佳提取工艺条件下通过 DPPH 试验来初步研究其抗氧化活性,以期为荞麦叶大百合的综合利用和提取荞麦叶大百合黄酮作为天然食品抗氧化剂等提供了理论基础。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

荞麦叶大白合采自南阳桐柏县,60 ℃ 烘至恒重,粉碎,过 40 目筛,备用。芦丁对照品,购自中国食品药品检定研究院(批号:100080-201408);1,1-二苯基-2-苦基胍自由基(DPPH),购自东京化成工业株式会社(CAS:1898-66-4);95%乙醇、NaNO₂、Al(NO₃)₃、NaOH 等试剂均为分析纯,购于天津市德恩化学试剂有限公司。

电子分析天平(上海象平仪器仪表有限公司)、SG-4054 型数控精密恒温水浴锅(上海硕光电子科技有限公司)、KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、R206 型旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)、SHZ-3 型循环水式真空泵(郑州杜甫仪器厂)、101-8 型电热鼓风恒温干燥箱(江苏金坛市佳美仪器有限公司)、T6 新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 芦丁标准曲线绘制 精密称取芦丁对照品 25 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加入少量 95%乙醇溶解并定容至刻度,摇匀即得芦丁对照品溶液(5 mg·mL⁻¹)。精密吸取芦丁对照品溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,分别置于 10 mL 具塞试管中,各加水至 5.0 mL,分别加入 5%亚硝酸钠 0.6 mL,摇匀,放 6 min,加入 10%硝酸铝 0.6 mL,摇匀后放置 6 min,加入 4%NaOH 3.0 mL,加水至刻度,摇匀后放置 15 min。以第一管做空白,于 506 nm 波长处测定吸收度 A^[12],以芦丁浓度 C(μg·mL⁻¹)为横坐标,吸收度 A 为纵坐标,绘制标准曲线, $y = 0.0702x + 0.0013$ $R^2 = 0.9997$ 。

1.2.2 样品总黄酮的测定 称取荞麦叶的大百合粉末 2.5 g,置于圆底烧瓶中,在一定的提取温度、乙醇液料比、乙醇浓度和提取时间的条件下进行总黄酮的回流提取,然后将得到的提取液抽滤,定容至 25 mL 容量瓶,备用。按“1.2.1”项下方法测吸光度,根据芦丁标准曲线计算出总黄酮含量。

1.2.3 单因素对黄酮提取率的影响 按“1.2.1”方法,研究单因素乙醇浓度(50%、60%、70%、80%、90%),提取温度(40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃、80 ℃),料液比(1:5、1:10、1:20、1:30、1:40),提取时间(10 min、20 min、30 min、40 min、50 min)对荞麦叶大百合总黄酮的影响。

1.2.4 最佳提取工艺研究 为了获得以乙醇作为溶剂,回流提取荞麦叶大百合黄酮的最佳工艺条件,在单因素实验结果基础上,以荞麦叶大百合总黄酮得率为考察指标,进行 L₉(3⁴) 正交试验,具体因素与水平设计见表 1。

表 1 L₉(3⁴) 正交试验的因素与水平

水平	因素			
	A 乙醇浓度/%	B 提取温度/℃	C 料液比/g·mL ⁻¹	D 提取时间/min
1	70	60	1:5	20
2	80	70	1:10	30
3	90	80	1:15	40

1.2.5 荞麦叶大百合总黄酮对 DPPH 自由基清除活性的测定 荞麦叶大百合浓缩液加无水乙醇配制成质量浓度分别为 8、16、24、32、40、48、64、72、80 μg·mL⁻¹ 的样品溶液。参考文献^[13],在 10 mL 试管中分别加入 2 mL 的 1.3 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹ DPPH 溶液和 2 mL 的不同浓度的各样品溶液,密封,避光反应 30 min,于 517 nm 处测定各样品溶液的吸光度为 A₁,同时以等量乙醇溶液作为空白对照,并且平行测定用乙醇溶液作参比时的吸光度 A₂(即为 2 mL 的 1.3 × 10⁻⁵ mol·L⁻¹ DPPH 溶液加入 2 mL 的无水乙醇溶液),测定 2 mL 的无水乙醇溶液和 2 mL 不同浓度的各样品液混合液的吸光度为 A₀。根据下面的公式计算清除率及 EC₅₀。

$$\text{清除率}(\%) = A_2 - (A_1 - A_0) / A_2 \times 100$$

A₂ 2 mL DPPH 中加入 2 mL 的无水乙醇的吸光度

A₁ 2 mL DPPH 中加入 2 mL 各样品溶液的吸光度

A₀ 2 mL 无水乙醇中加入 2 mL 各样品液的吸光度

1.3 统计学处理

采用 SPASS20.0、Microsoft Excel 2007 进行实验数据处理、分析及绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 不同乙醇浓度对荞麦叶大百合黄酮提取工艺的影响 由图 1 可知:乙醇浓度为 80% 时,黄酮

提取率最高为 11.11 mg/g, 当乙醇浓度为 50% ~ 80% 时, 所提取黄酮质量随着乙醇浓度增大而增加。而当乙醇浓度 > 80% 时, 黄酮的质量随浓度增加而减小, 其原因可能是因为随着乙醇浓度增加, 黄酮类物质的溶出趋于饱和, 随着乙醇体积分数增加, 提取溶剂的极性相对降低, 促进亲脂性强的化学成分的溶出, 最终导致黄酮类化合物的溶解度降低。因此, 选择乙醇浓度为 80% 优化黄酮提取。

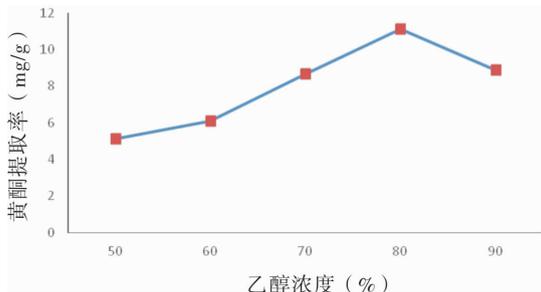


图1 不同乙醇浓度对荞麦叶大百合黄酮提取工艺影响

2.1.2 不同提取温度对荞麦叶大百合黄酮提取工艺的影响

由图2可知: 提取温度为 80 °C 时, 黄酮提取率最高为 10.91 mg/g, 提取黄酮质量随着乙温度的增高而增高, 可能是由于温度升高, 有利于加快分子运动的速度, 荞麦叶大百合黄酮类化合物的渗透、扩散和溶解速度也会加快, 黄酮类物质溶出量增加, 而且由于 80% 乙醇浓度的沸点约为 80 °C, 因此选择提取温度为 80 °C 优化黄酮提取。

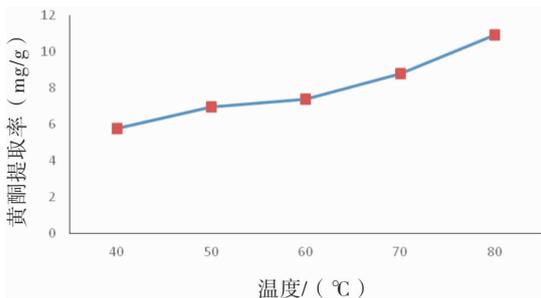


图2 不同温度对荞麦叶大百合黄酮提取工艺影响

2.1.3 不同料液比对荞麦叶大百合黄酮提取工艺的影响

由图3可知: 料液比为 1:10 时黄酮提取率最高, 为 10.11 mg/g; 当料液比为 1:5 ~ 1:10 时, 所提取黄酮质量随着料液比增大而增加。其原因可能是刚开始随着料液比增加, 荞麦叶大百合颗粒与乙醇之间的接触面增加, 提高了黄酮类化合物像溶剂中转移的扩散系数, 使得更多的黄酮类化合物转移到提取溶剂中。而当料液比为 1:10 ~ 1:40 时, 所提取黄酮质量随着料液比增大反而降低。可能是由于随着料液比继续增加, 提取溶剂极性减小, 那么会导致亲脂性化合物大量溶出、或者部分黄酮类化合物不稳定, 与溶剂长时间接触导致结构破

坏, 从而导致黄酮类化合物含量降低。因此选择料液比为 1:10 时优化黄酮提取。

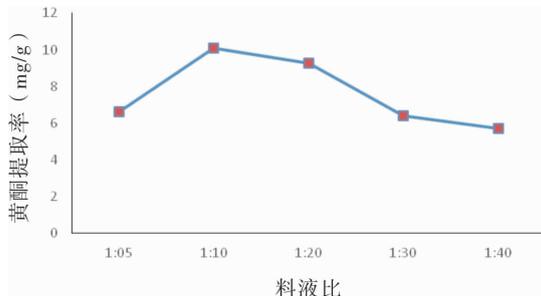


图3 不同料液比对荞麦叶大百合黄酮提取工艺影响

2.1.4 不同提取时间对荞麦叶大百合黄酮提取工艺的影响

由图4可知: 提取时间为 30 min 时, 黄酮提取率最高, 为 10.01 mg/g。当提取时间为 10 ~ 30 min 时, 黄酮含量随着提取时间增加而增加。超过 30 min 时, 黄酮含量随着提取时间反而降低。其原因可能是因为随着提取时间延长, 溶剂与荞麦叶大百合颗粒充分接触, 使其里面的黄酮类化合物充分溶出, 从而使黄酮含量增高; 但是当一定温度时, 时间越久, 由于提取溶剂中乙醇易挥发, 导致提取溶剂极性增加, 根据相似相容原理, 极性小的黄酮类化合物反而析出, 从而导致黄酮类化合物含量降低。因此选择提取时间为 30 min 时优化黄酮提取。

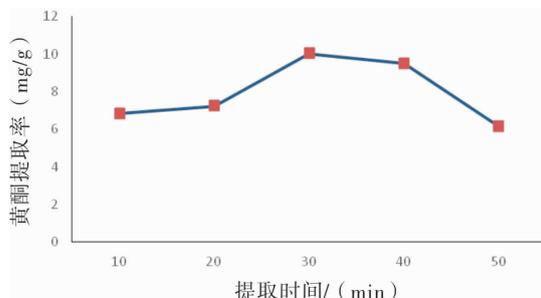


图4 不同提取时间对荞麦叶大百合黄酮提取工艺影响

2.2 正交实验结果分析

由表2可知: R 值越大, 说明该因素的水平变动对试验结果的影响越大, 影响荞麦叶大百合黄酮提取四个因素顺序为料液比(C) > 乙醇浓度(A) > 提取温度(B) > 提取时间(D)。方差分析表3显示: 料液比对黄酮提取率的影响存在统计学差异 ($P < 0.05$), 而提取温度和提取溶剂对黄酮提取率的影响无统计学差异 ($0.05 < P < 0.1$)。综合考虑黄酮的最佳提取工艺条件组合为 $A_1B_1C_1D_2$, 即乙醇浓度为 70%, 提取温度 60 °C, 料液比为 1:10 和提取时间为 30 min。

2.3 最佳工艺条件验证

根据所筛选的最佳工艺条件提取荞麦叶大百合 3 份, 按照“1.2.1”项下方法测定总黄酮的得率, 实

验结果见表如下:

偏差(RSD)为0.27%,总黄酮提取量较高,重现性

结果表明总黄酮得率为10.90 mg/g,相对标准

较好,表明此提取工艺稳定合理。

表 2 正交实验结果直观分析

试验号	A(乙醇浓度/%)	B(提取温度/℃)	C(料液比)	D(时间/min)	总黄酮得率/(g/mg)
1	1	1	1	1	9.88
2	1	2	2	2	10.11
3	1	3	3	3	9.76
4	2	1	2	3	10.39
5	2	2	3	1	9.29
6	2	3	1	2	9.85
7	3	1	3	2	9.66
8	3	2	1	3	9.11
9	3	3	2	1	10.06
K1	29.74	29.93	28.83	29.23	
K2	29.52	28.50	30.55	29.61	
K3	28.83	29.66	28.71	29.25	
k1	9.91	9.98	9.61	9.74	
k2	9.84	9.50	10.18	9.87	
k3	9.61	9.89	9.57	9.75	
R	0.91	1.43	1.85	0.38	

主次水平 C > A > B > D
优方案 A₁B₁C₁D₂

表 3 方差分析结果

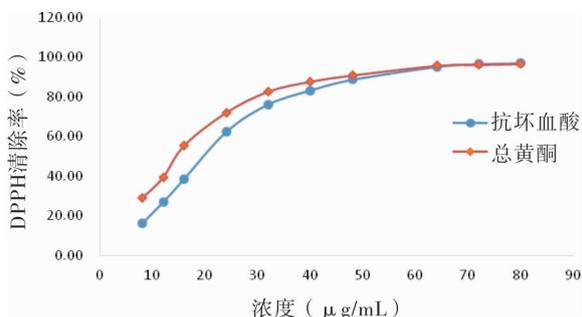
因素	偏差平方和	df	均方	F	P
A 提取溶剂	0.153	2	0.076	5.136	0.163
B 提取温度	0.379	2	0.190	12.740	0.073
C 料液比	0.714	2	0.357	24.010	0.04
误差	0.030	2	0.015		

表 4 验证实验结果

反应条件	实验序号	总黄酮得率(%)
A ₁ B ₁ C ₁ D ₂	1	11.24
	2	10.89
	3	10.57
	平均值	10.90
	RSD	0.27

2.4 DPPH 自由基清除作用的测定

不同浓度的荞麦叶大百合的总黄酮溶液、对照品 VC 溶液对 DPPH 清除率结果见图 6。在浓度 0 - 24 μg · mL⁻¹ 范围内其清除能力随总黄酮浓度的升高



而加强,当浓度增加为 32 μg · mL⁻¹,清除率达到 95.72%,此后其清除率基本趋于平衡。根据 SPSS20.0 软件数据分析,得到荞麦叶大百合总黄酮 EC50 为 4.439 μg · mL⁻¹和 VC 的 EC50 为 18.746 μg · mL⁻¹,可见,荞麦叶大百合总黄酮对 DPPH 清除率明显高于 VC。

3 结论

目前,国内外对龙牙百合花、香水百合中总黄酮提取工艺及抗氧化性有研究^[2-6],但荞麦叶大百合黄酮提取工艺及抗氧化性尚未出现报道,此外由于黄酮类化合物不溶于水,易溶于乙醇等有机溶剂,因此本试验初步采用乙醇回流法提取荞麦叶大百合中总黄酮,用醇溶液进行提取时,脂溶性物质如黄酮类可被大量溶出,因此以总黄酮提取率为指标确定最佳提取工艺,优化后得到的最佳提取工艺参数:乙醇体积分数为 70%,液料比为 1 : 10 g · mL⁻¹,回流提取时间为 30 min,提取温度为 60 ℃,在此工艺条件下进行回流提取,得到荞麦叶大百合总黄酮的平均提取率为 10.90 mg/g,此提取工艺重现性良好。此结果为进一步研究荞麦叶大百合总黄酮适合于工业化生产的最佳提取工艺打下良好基础。

体外抗氧化初步研究表明:荞麦叶大百合中总黄酮对于 DPPH 自由基的清除能力显著优于抗氧化剂 VC,具有较强的抗氧化活性,为其在食品、药品等领域开发天然抗氧化剂提供一定的理论依据。

图 5 不同浓度的荞麦叶大百合总和抗坏血酸对 DPPH 的清除率

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第37卷) [M]. 北京:科学出版社,1985:422.
- [2] 薛梅,李晓庆,周卫平. 龙牙百合花总黄酮提取工艺及抗氧化性[J]. 江苏农业科学,2017,45(2):182-184.
- [3] 薛梅,周卫平. 龙牙百合鳞茎总黄酮提取工艺及抗氧化性[J]. 中国药学杂志,2017,45(3):10-12.
- [4] 周菊峰,彭爱娇. 三波长分光光度法测定药用百合中总黄酮中总黄酮[J]. 西北药学杂志,2011,26(3):165-166.
- [5] 许丽璇. 微波提取百合总黄酮及抗氧化性研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(8):2069-2071.
- [6] 杜鹃,罗秋水,杜华英,等. 香水百合中总黄酮提取及其抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):320-322.
- [7] GUOR, GUO X, LI T, et al. Comparative assessment of phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries [J]. *Food Chem*, 2017, 221(2017):997-1003.
- [8] 王全泽,袁堂丰,刘磊磊,等. 响应面法优化闪式提取罗汉松总黄酮及其抗氧化活性[J]. 精细化工,2018,35(1):65-71.
- [9] WANG P Q, KONG X M, KANG W Y. Antioxidant activity of *Slavica miltiorrhiza* Bunge and different processed products [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26(7):1132-1136, 1042.
- [10] Lulu Zhang, Hui Lin, Wei Liu, et al. Antifungal activity of the ethanol extract from *Flos Rosae Chinensis* with activity against Fluconazole-Resistant Clinical *Candida* [J]. *Iran Journal Biotech*, 2016, 14(1):51-55.
- [11] 李登昌,陈毓. 香水百合中总黄酮的含量测定[J]. 安徽农业科学,2013,41(57):6900-6901.
- [12] 张迪. 响应面法优化马鞭草总黄酮闪式提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2019,40(3):173-178.
- [13] 钱慧琴,秦晶晶,赵媛,等. 月季不同部位总黄酮含量分析及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发,2018,39(20):19-22.
- (责任编辑:廉添添)
-
- (上接第39页)
- [9] Hui S, Yaling Y, Chaokun L I, et al. Exogenous ATP induces formation of membrane pore in PC12 cells [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2014, 30:1603-1609.
- [10] Li D L, Liu X, Xia R, et al. Pharmacological properties of ATP-sensitive purinergic receptors expressed in human G292 osteoblastic cells [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2009, 617(1-3):12-16.
- [11] Souvenir R, Flores J J, Ostrowski R P, et al. Erythropoietin Inhibits HIF-1 α Expression via Upregulation of PHD-2 Transcription and Translation in an In Vitro Model of Hypoxia - Ischemia [J]. *Translational Stroke Research*, 2014, 5(1):118-127.
- [12] Macvicar B A, Thompson R J. Non-junction functions of pannexin-1 channels [J]. *Trends in Neurosciences*, 2010, 33(2):93-102.
- [13] Locovei S, Scemes E, Qiu F, et al. Pannexin1 is part of the pore forming unit of the P2X(7) receptor death complex [J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(3):483-488.
- [14] Guo B Q, Ma G Y, Shang H. Clinical analysis of 26 cases acute hydrogen sulfide poisoning [J]. *Gansu Medical Journal*, 2013; 32:688-690.
- [15] Meng J, Mo L, Wang J, et al. Effects of hydrogen sulfide on survivin expression and its neuroprotective effect in PC12 cells [J]. *Chinese Journal of Neuromedicine*, 2010; 9:586-589.
- [16] Cao S, Yuan S, Hou Q. Progress in P2X₇ and inflammatory diseases of the respiratory system [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2013; 48:1183-1188.
- [17] Auger R, Motta I, Benihoud K, et al. A Role for Mitogen-activated Protein Kinase Erk1/2 Activation and Non-selective Pore Formation in P2X₇ Receptor-mediated Thymocyte Death [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(30):28142-28151.
- [18] Lajdova I, Oksa A, Chorvat, D, et al. Purinergic P2X₇ Receptors Participate in Disturbed Intracellular Calcium Homeostasis in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Chronic Kidney Disease [J]. *Kidney and Blood Pressure Research*, 2012, 35(1):48-57.
- [19] Hu L F, Lu M, Tiong C X, et al. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models [J]. *Aging Cell*, 2010, 9(2):135-146.
- (责任编辑:马忠诚)

六味降糖颗粒的制剂工艺研究

李春燕¹, 薛金涛², 樊江平², 张学敏¹, 岳璐¹

(1. 新乡医学院三全学院生物与基础医学实验教学中心, 河南 新乡 453000; 2. 新乡医学院药学院, 河南 新乡 453002)

摘要: **目的** 本研究拟对六味降糖颗粒的提取工艺和制剂工艺进行研究。**方法** 对处方活性成分提取工艺进行影响因素和指标成分分析。以干膏重、总黄酮含量为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交实验考察加水量、煎煮次数、煎煮时间对水提效果的影响, 优选最佳水提工艺; 并采用 $L_9(3^4)$ 正交实验考察药液比、醇沉浓度、醇沉时间对醇沉效果的影响, 优选最佳醇沉工艺; 采用湿法制粒法观察不同辅料制软材的难易程度, 优选制剂工艺。**结果** 水提取的最佳工艺是煎煮3次, 每次煎煮1 h, 每次加入10倍量的水; 醇沉的最佳工艺是乙醇浓度50%, 醇沉时间12 h, 药液比1:2; 最佳辅料为 β -环糊精。**结论** 水提醇沉工艺可行性较强, 科学合理; 制粒工艺制得的颗粒成药性良好。

关键词: 六味降糖颗粒; 制剂工艺; 正交实验

中图分类号: R944.2

Study on preparation process of Liuwei hypoglycemic granules

LI Chun-yan¹, XUE Jin-tao², FAN Jiang-ping², ZHANG Xue-ming¹, YUE Lu¹

(1. Experimental Education Center of Biology and Basic Medical Science, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453002; 2. School of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453002)

Abstract: **Objective** To study the extraction and preparation process of Liuwei hypoglycemic granules. **Methods** The influencing factors and the index composition were analyzed on the extraction process of active ingredients in prescription. Taking dry paste weight and total flavonoid content as indicators, $L_9(3^4)$ orthogonal experiment was used to investigate the effects of water addition, decoction frequency and the decoction time on water extraction, and the best water extraction process was selected; $L_9(3^4)$ orthogonal experiment was also conducted to investigate the effects of drug-liquid ratio, alcohol precipitation concentration, and alcohol precipitation time on alcohol precipitation, and the optimum alcohol precipitation process was selected. The wet granulation method was applied to observe the difficulty of making soft materials with different excipients. **Results** The optimum water extraction technology was 3 times of decoction, each time for 1h, each time adding 10 times the amount of water. The best process for alcohol precipitation was 50% for ethanol concentration, 12h for precipitation time, and 1:2 for liquid ratio. The best excipient was β -cyclodextrin. **Conclusion** The water extraction and alcohol precipitation process is more feasible and scientific; the granules prepared by the granulation process are with good medicinal properties.

Key words: Liuwei hypoglycemic granules; preparation process; orthogonal experiment

目前全球有4亿多成年人患有糖尿病, 其中大部分是II型糖尿病。中药在治疗糖尿病及其并发症上具有独特的优势。六味降糖颗粒是由丹参、葛根等6味中药制成的中药降糖颗粒。其中主药葛根能解表退热、生津止渴, 葛根中的黄酮类化合物具有良好的扩血管作用, 临床上葛根素用于改善由于糖尿病等造成的微循环障碍。丹参能活血调经, 祛瘀止痛, 养心安神, 药理学研究表明丹参具有降血糖、防治糖尿病并发症和改善微循环的作用^[1-3]。本研究采用正交实验法探究最佳水提醇沉工艺, 并筛选最佳辅料, 所制备的颗粒剂稳定可行, 成药性良好。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

紫外可见分光光度计(日本岛津公司, 型号:UV-2700); 葛根素对照品(中国食品药品检定研究所, 批号:110752-201514); 无水乙醇(天津市天力化学试剂有限公司, 批号:R0170308, 分析纯); 可溶性淀粉(天津市德恩化学试剂有限公司, 批号:20100317); β -环糊精(北京索莱宝科技有限公司, 批号:20140703)。

1.2 实验方法

1.2.1 处方吸水率 按六味降糖药的处方量称取

收稿日期:2020-03-18

基金项目:河南省民办教育协会课题(HMXL-20190246); 河南省高等学校重点科研项目(17A360026)。

作者简介:李春燕, 女, 助理实验师, 硕士, 主要从事中药质量分析和制剂工艺研究, E-mail:591728004@qq.com。

通讯作者:薛金涛, 男, 副教授, 博士, 硕士研究生导师, 主要从事中药质量分析和药效作用研究, E-mail:xuejintao.2008@163.com。

9份,分别放入烧杯中,加入400 mL水,浸泡时间分别为0、10、20、30、40、50、60、90、120 min,测定吸水率^[4]。

1.2.2 水提醇沉工艺 以总黄酮含量和干膏重为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验^[5],水提工艺考察加水量、煎煮次数、煎煮时间这三个因素对水提效果的影响,醇沉工艺考察药液比、醇沉浓度和醇沉时间这三个因素对醇沉效果的影响。

1.2.3 总黄酮含量测定 取葛根素对照品约15 mg,精密称定,置入100 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,作为对照品母液。精密量取葛根素对照品母液0.25 mL、0.50 mL、0.75 mL、1.00 mL、1.50 mL和2.00 mL至25 mL的容量瓶中,加30%的乙醇溶液定容,摇匀,在251 nm处测定吸光度,并绘制标准曲线。将水提醇沉工艺中的中药药液过滤后,精密量取1 mL药液至50 mL的容量瓶中,加水定容,摇匀,过滤,精密量取0.5 mL至50 mL的容量瓶中,30%乙醇定容,摇匀,在251 nm处测定吸光度,代入上述标准曲线中计算总黄酮的含量。

1.2.4 干膏的制备 将药液搅拌均匀,精密量取15 mL置已干燥并恒重的坩埚中,平行制备3组,在105 ℃下干燥,测定干膏重量。

2 结果和讨论

2.1 处方吸水率

吸水率实验结果见图1,处方药材浸泡20 min后吸收率基本保持稳定,故最佳浸泡时间为20 min。

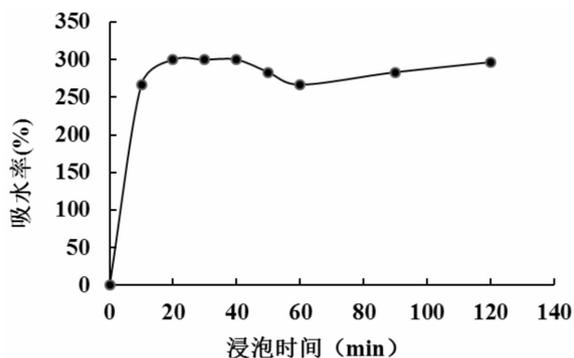


图1 处方吸水率测定结果

2.2 水提工艺的筛选

如表1,根据极性大小判断各因素对水提工艺的影响大小,极差越大,影响越大,故水提工艺各因素影响大小次序为C(煎煮次数) > A(加水量) > B(煎煮时间)。每个因素下,各水平的比较主要参考均值的大小,均值越大,该因素相应的水平提取效果越好,故水提的最佳工艺为 $A_3B_1C_3$,即煎煮3次,每次加10倍的水,每次煎煮1h。在大生产中,综合考虑表1实验结果与大生产中的时间成本和能源消耗,煎煮次数中煎煮2次(均值-7.596)与煎煮3次(均值-8.350)差别不大,故可以煎煮2次以节约成本;另外加水量考察中,8倍量水(均值-7.526)与10倍量水(均值-7.626)的差异很小,故定为8倍量加水量更利于实际生产。

表1 水提工艺正交实验结果

	A(加水量/倍)	B(煎煮时间/h)	C(煎煮次数/次)	总黄酮含量(g/付)	干膏重量(g/付)	综合(g/付)
实验1	6	1.0	1	0.885	5.884	5.784
实验2	6	1.5	2	0.938	6.405	6.198
实验3	6	2.0	3	1.140	7.242	7.314
实验4	8	1.0	2	1.346	8.079	8.448
实验5	8	1.5	3	1.485	8.638	9.212
实验6	8	2.0	1	0.715	5.367	4.917
实验7	10	1.0	3	1.408	7.667	8.525
实验8	10	1.5	1	0.960	6.230	6.211
实验9	10	2.0	2	1.214	8.592	8.142
均值1	6.432	7.586	5.637			
均值2	7.526	7.207	7.596			
均值3	7.626	6.791	8.350			
极差	1.194	0.795	2.713			

2.3 醇沉工艺的筛选

由表2可知,各因素影响大小次序为C(醇沉时间) > B(醇沉浓度) > A(药液比),故醇沉的最佳工

艺为 $A_3B_3C_1$,即乙醇浓度50%,醇沉时间12 h,药液比1:2。在大生产中,综合考虑表2实验结果与大生产中的时间成本和能源消耗,乙醇浓度40%

(均值 -7.361)与乙醇浓度 50% (均值 -7.392) 差别很小,故可将醇沉浓度定为 40% 以节约成本;另外药液比考察中,药液比 1 : 1.5 (均值 -7.259) 与

药液比 1 : 2 (均值 -7.403) 的差异较小,故可将药液比定为 1 : 1.5。

表 2 醇沉工艺正交实验结果

	A(药液比)	B(醇沉浓度/%)	C(醇沉时间/h)	总黄酮含量(g/付)	干膏重(g/付)	综合(g/付)
实验 1	1 : 1.5	30	12	1.480	6.489	7.391
实验 2	1 : 1.5	40	24	1.240	7.182	6.890
实验 3	1 : 1.5	50	36	1.472	6.818	7.497
实验 4	1 : 1	30	24	0.945	5.788	5.375
实验 5	1 : 1	40	36	1.374	7.467	7.438
实验 6	1 : 1	50	12	1.417	7.017	7.398
实验 7	1 : 2	30	36	1.326	7.184	7.171
实验 8	1 : 2	40	12	1.425	7.851	7.757
实验 9	1 : 2	50	24	1.291	7.746	7.281
均值 1	7.259	6.646	7.515			
均值 2	6.737	7.361	6.515			
均值 3	7.403	7.392	7.368			
极差	0.666	0.746	1.000			

2.4 最佳辅料的筛选

分别以可溶性淀粉、 β -环糊精、低聚果糖、果糖二磷酸钠作为辅料,药与辅料 1 : 1.5 研磨均匀,用 70% 的酒精做润湿剂,将制好的软材过 14 目筛,制得的颗粒放入电热鼓风干燥箱(60 ℃)干燥,过 40 目筛,筛去细粉。

外观:研究发现低聚果糖制软材效果不好,太黏;其余辅料制软材效果较好。

溶性:按中国药典(2015 版)制剂通则中颗粒剂的检查法,取颗粒 1 g 至 20 mL 的热水中,搅拌 5 min,立即观察。以可溶性淀粉制得的颗粒有明显的沉淀,果糖二磷酸钠和低聚果糖为辅料制得的颗粒有轻微浑浊,以 β -环糊精的颗粒溶性良好。

吸湿性:结果表明以低聚果糖为辅料的颗粒全部黏在一起,以果糖二磷酸钠和可溶性淀粉为辅料的颗粒较好;以 β -环糊精为辅料的颗粒无明显吸湿性,颗粒外观良好。

综上所述, β -环糊精制粒效果好,故以 β -环糊精为本制剂的辅料。

2.5 总黄酮含量测定

取葛根素线性溶液,在 251 nm 处测定吸光度,以线性溶液浓度与紫外吸收绘制标准曲线如图 2,结果表明在 1.579 ~ 12.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的范围内线性良好。

六味降糖颗粒是由葛根、丹参等 6 味中药组成的复方制剂,本实验采用以干膏重、总黄酮的含量为指标,分别采用正交实验优选最佳水提工艺和醇沉

工艺,并优选最佳辅料,所制备的颗粒制剂工艺科学合理,可行性较强,成药性良好。

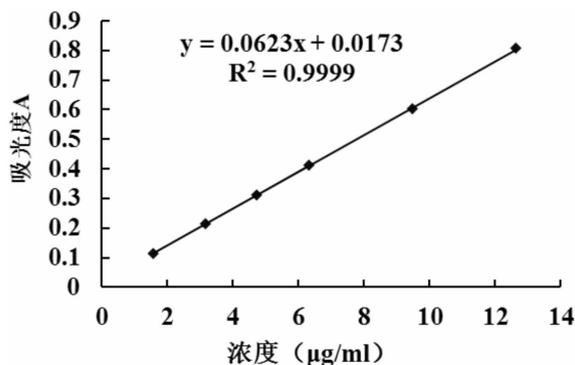


图 2 葛根素对照品标准曲线

参考文献:

- [1] 张伟涛,李德坤,岳洪水等.丹参水提取物成分的定性与半定量研究[J].中草药,2019,50(15):3598-3606.
- [2] 魏峰.葛根素佐治血糖控制不佳 2 型糖尿病患者 52 例效果分析[J].临床研究,2019,27(9):132-133.
- [3] 郭龙,薛紫鲸,张丹等.丹参酮类成分治疗心脑血管疾病药理活性研究进展[J].亚太传统医药,2019,15(2):190-192.
- [4] 杨爱霞,易凯,易艳东等.正交试验优选中药祛白颗粒的水提工艺[J].中国药师,2016,19(10):1849-1852.
- [5] 荆云,卢慧娟,薛金涛,李鹏.超微粉碎联合超声辅助法提取芥菜多糖工艺研究[J].食品研究与开发,2018,14:30-34.

(责任编辑:袁会峰)

γ-聚谷氨酸体外美白功效评价

宋小锋^{1,2}, 原增艳¹, 臧淑峰², 许平辉², 路灯云¹

(1. 新乡医学院三全学院生命科学技术学院, 河南 新乡 453000; 2. 新乡博凯生物技术有限公司, 河南 新乡 453000)

摘要: 目的 体外评价 γ-聚谷氨酸的体外美白功效, 为 γ-聚谷氨酸更广泛应用于化妆品和药品的提供理论依据。方法 采用对 ·OH 自由基、DPPH 自由基、ABTS 自由基的清除率和酪氨酸酶的抑制率评价 γ-聚谷氨酸的体外美白功效。结果 γ-聚谷氨酸质量浓度 12 mg · mL⁻¹ 时对 ·OH 自由基清除率达到 92.7% (IC₅₀ = 3.928 mg · mL⁻¹); γ-聚谷氨酸质量浓度 27 mg · mL⁻¹ 时, 对 DPPH 自由基清除率达到 93.4% (IC₅₀ = 21.937 mg · mL⁻¹); γ-聚谷氨酸质量浓度 40 mg · mL⁻¹ 时对 ABTS 自由基清除率达到 92.4% (IC₅₀ = 24.303 mg · mL⁻¹); γ-聚谷氨酸质量浓度 35 mg · mL⁻¹ 时, 酪氨酸酶抑制率达到 93.9% (IC₅₀ = 23.433 mg · mL⁻¹)。结论 γ-聚谷氨酸具有良好的体外美白功效。

关键词: γ-聚谷氨酸; 美白; 酪氨酸酶; 自由基

中图分类号: Q819

Evaluation of whitening efficacy of γ-PGA in vitro

SONG Xiao-feng^{1,2}, YUAN Zeng-yan¹, ZANG Shu-feng², XU Ping-hui², LU Deng-yun¹

(1. School of Life Science and Technology, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. Xinxiang Biocar Co., Ltd, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To investigate the whitening efficacy of γ-PGA (γ-polyglutamic acid) in vitro, and provide a theoretical basis for its wider application in cosmetics and pharmaceuticals. **Methods** The efficacy was evaluated by ·OH, DPPH and ABTS methods. The inhibitory action of γ-PGA in tyrosinase were studied by using L-tyrosinase and L-DOPA as the substrates. **Results** The experiment showed that the highest eliminating ratio of hydroxyl radical was 92.7% when the mass concentration of γ-PGA was 12 mg / mL (IC₅₀ = 3.928 mg / mL); the highest eliminating ratio of DPPH radical was 93.4% (IC₅₀ = 21.937 mg · mL⁻¹); the highest eliminating ratio of ABTS radical was 92.4% (IC₅₀ = 24.303 mg · mL⁻¹); and when the mass concentration of γ-PGA was 35 mg · mL⁻¹, the tyrosinase inhibition rate reached 93.9% (IC₅₀ = 23.433 mg / mL). **Conclusion** It suggested that γ-PGA was good in whitening efficacy in vitro and might be expected to be widely applied in medicine and cosmetics.

Key words: γ-PGA; whitening; tyrosinase; radicals

随着生活水平的提高和技术的进步, 人们使用化妆品不再满足于仅仅通过化妆修饰自身的容貌, 更希望化妆品中含有安全的具有美白、抗衰老、祛斑的功效成分, 可以从根本上改善肌肤问题^[1], 因此寻找具有安全、无毒副作用的美白活性物质已经成为开发护肤品的一个切实可行的途径和研究热点, Sa-haeng Kang^[2]研究表明可以通过酪氨酸酶抑制率和自由基清除率进行体外评估药物美白活性, 目前化妆品行业美白功效成分高通量筛选时也通过此方法^[3]。γ-聚谷氨酸(poly-γ-glutamic acid, γ-PGA)是迄今发现的少数几个可以利用微生物发酵得到的聚合氨基酸之一, 具有水溶性、可食用、生物相容性、生物可降解、安全无毒等特性。其分子侧链

上存在大量的 -NH₂ 和 -COOH 等官能团, 通过这些官能团不仅可以被细胞表面的配体识别, 还可以将多肽、氨基酸、蛋白质等生物活性分子固定于材料表面, 进一步提高 γ-PGA 材料的细胞亲和性^[4]。γ-PGA 具有较好的吸水和保湿能力^[5], 同时其又具有药物缓释功效^[6]。因此本研究通过检测酪氨酸酶抑制率和 ·OH、DPPH 和 ABTS 自由基的清除率初步评价 γ-PGA 的体外美白功效, 为其在化妆品和药品中更广泛应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

γ-PGA (新乡博凯生物技术有限公司, 枯草杆

收稿日期: 2019-12-07

基金项目: 封丘县重大专项计划项目 (Fkt2017-02); 新乡医学院三全学院创新团队 (STD201603)。

作者简介: 宋小锋, 男, 高级工程师, 硕士, Email: songxiaofeng109@163.com。

通讯作者: 许平辉, 男, 教授级高级工程师, 硕士, Email: pinghuixu@163.com。

菌 *Bacillus subtilis* D7 发酵生产);1,1, - 二苯基 - 2 - 苦基肼自由基(DPPH,索莱宝);2,2' - 联氮双(3 - 乙基苯并噻唑啉 - 6 - 磺酸)二铵盐(ABTS,阿拉丁);L - 多巴(德国 Sigma);酪氨酸酶(德国 Sigma);其它试剂均为分析纯;96 孔板(3590 型);全波长酶标仪(Thermo Fisher,型号 1510 - 01410)。

1.2 实验方法

1.2.1 \cdot OH 自由基清除率的测定 根据文献[7]方法并做适当修改,精密量取 $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 FeSO_4 溶液 $50 \mu\text{L}$, $9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水杨酸 - 乙醇溶液 $50 \mu\text{L}$, 不同质量浓度的 γ - PGA 样品溶液 $50 \mu\text{L}$, $8.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 溶液 $50 \mu\text{L}$, 依次分别加入 96 孔板中, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 30 min 后,测定其在 510 nm 处的吸光度(A_i);测定超纯水代替样品时的吸光度(A_0);测定超纯水代替 H_2O_2 溶液时的吸光度(A_j)。并按下式计算 γ - PGA 对 \cdot OH 自由基的清除率,同时应用 SPSS 25.0 软件计算 γ - PGA 对 \cdot OH 自由基的半数清除浓度(IC_{50})。

$$\text{自由基清除率}(\%) = [1 - (A_i - A_j) / A_0] \times 100\%$$

1.2.2 DPPH 自由基清除率的测定 采用文献[8]方法进行测定,同时应用 SPSS 25.0 软件计算 γ - PGA 对 DPPH 自由基的半数清除浓度(IC_{50})。

1.2.3 ABTS 自由基清除率的测定 采用文献[8]方法进行测定,同时应用 SPSS 25.0 软件计算 γ - PGA 对 ABTS 自由基的半数清除浓度(IC_{50})。

1.2.4 酪氨酸酶活性抑制实验 采用酪氨酸酶多巴氧化法^[9]测定抑制酪氨酸酶活性。根据表 1 设定反应液的组成方案^[10-11],依次分别加入 PBS 缓冲液($\text{pH} = 6.8, 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、不同质量浓度的 γ - PGA 样品溶液、L - 多巴($0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)于 96 孔板中, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 10 min 后,再加入酪氨酸酶($100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$),立即使用酶标仪测定其在 475 nm 处的吸光度,根据公式计算酪氨酸酶抑制率,同时应用 SPSS 25.0 软件计算 γ - PGA 对酪氨酸酶的半抑制浓度(IC_{50})。

$$\text{酪氨酸酶抑制率}(\%) = [1 - (A_c - A_d) / (A_a - A_b)] \times 100\%$$

注:公式中 A_a 为含底物 L - 多巴、酪氨酸酶溶液的吸光度; A_b 为含底物 L - 多巴的吸光度; A_c 为含底物 L - 多巴、 γ - PGA 样品、酪氨酸酶溶液的吸光度; A_d 为含底物 L - 多巴、 γ - PGA 样品的吸光度。

1.2.5 统计学处理 数据用平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,组间采用单因素方差分析比较,以 $P < 0.05$ 表示具有统

计学差异。

表 1 酪氨酸酶抑制率测定中反应液组成

试剂	a 液/ μL	b 液/ μL	c 液/ μL	d 液/ μL
PBS 缓冲液	50	50	50	50
L - 多巴溶液	100	150	50	100
待测 γ - PGA 样品	-	-	50	50
酪氨酸酶液	50	-	50	-

2 结果

2.1 γ - PGA 对 \cdot OH 自由基的清除效果

随着 γ - PGA 质量浓度的增加,对 \cdot OH 自由基的清除能力显著增强,当 γ - PGA 质量浓度 $12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对 \cdot OH 自由基清除率达到 92.7%,在实验设置浓度范围内二者呈现明显量效关系,计算 γ - PGA 对 \cdot OH 自由基的半数清除率浓度 IC_{50} 为 $3.928 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,见图 1。表明 γ - PGA 具有良好的体外清除 \cdot OH 自由基作用。

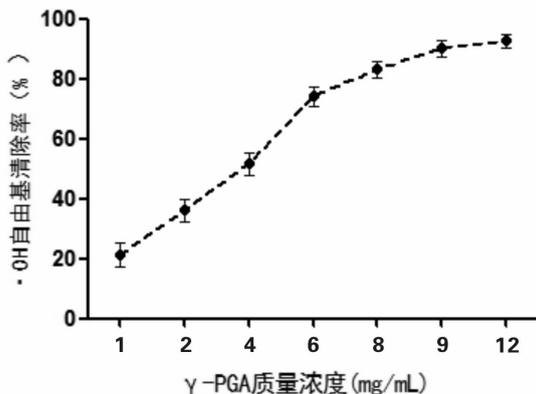


图 1 γ - PGA 对 \cdot OH 自由基的清除作用 ($n = 5$)

2.2 γ - PGA 对 DPPH 自由基的清除效果

随着 γ - PGA 质量浓度的增加,对 DPPH 自由基的清除能力显著增强,当 γ - PGA 质量浓度 $27 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,DPPH 自由基清除率达到 93.4%,在实验设置浓度范围内呈现明显量效关系,计算 γ - PGA 对 DPPH 自由基的 IC_{50} 为 $21.937 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,见图 2。表明 γ - PGA 具有良好的体外清除 DPPH 自由基作用。

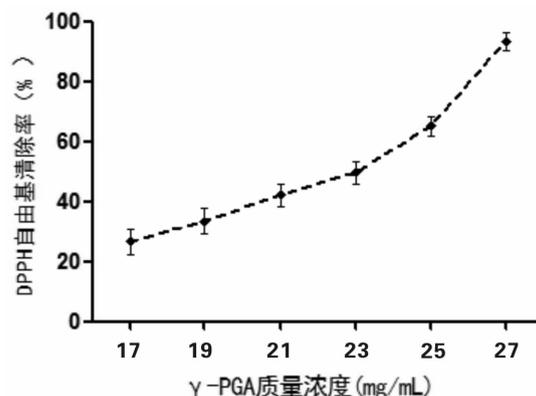


图 2 γ - PGA 对 DPPH 自由基的清除作用 ($n = 5$)

2.3 γ -PGA 对 ABTS 自由基的清除效果

随着 γ -PGA 质量浓度的增加,对 ABTS 自由基的清除能力显著增强,当 γ -PGA 质量浓度 $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,ABTS 自由基清除率达到 92.4%,在实验设置浓度范围内呈现明显量效关系,计算 γ -PGA 对 ABTS 自由基的 IC_{50} 为 $24.303 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,见图 3。表明 γ -PGA 具有良好的体外清除 ABTS 自由基作用。

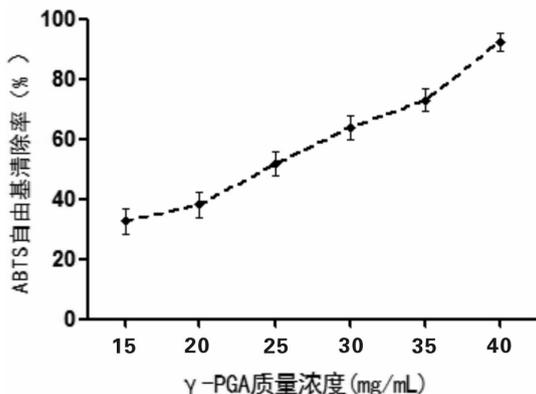


图 3 γ -PGA 对 ABTS 自由基的清除作用 ($n=5$)

2.4 γ -PGA 对酪氨酸酶的抑制效果

随着 γ -PGA 质量浓度的增加,对酪氨酸酶的抑制能力显著增强,当 γ -PGA 质量浓度达到 $35 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,酪氨酸酶抑制率达到 93.9%,在实验设置浓度范围内呈现明显量效关系,计算 γ -PGA 对酪氨酸酶的半抑制浓度 IC_{50} 为 $23.433 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,见图 4。表明 γ -PGA 具有良好的体外抑制酪氨酸酶作用。

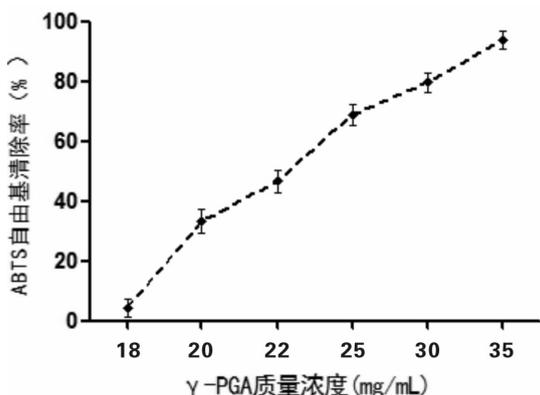


图 4 γ -PGA 对酪氨酸酶活性的影响 ($n=5$)

3 讨论

皮肤作为人体最外层的组织,直接暴露于环境容易引起氧化应激反应造成氧化损伤^[13],导致皮肤衰老、皮肤肿瘤、光老化、红斑狼疮等皮肤疾病^[14]。自由基作为新发现的致病因子已经引起广泛关注,它与炎症、肿瘤、心血管等疾病的发生有关。医学毒理学和生物学副作用研究发现,人工合成的抗氧化

剂存在一定的毒副作用,会引起皮肤过敏、肝脏损伤,甚至诱发癌症^[15],在崇尚回归自然的潮流中,寻找出具有安全、无毒副作用的天然美白功效原料,已成为开发护肤品、抗氧化损伤药物的一个切实可行的途径和研究热点。清除自由基在细胞脂质过氧化反应中可消除反应产生的游离自由基,阻止损害细胞膜的脂质过氧化反应的进行^[16],进而保护皮肤。采用 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除法、DPPH 法和 ABTS 法评价药物的自由基清除能力,具有快速、简便、灵敏的优点,在化妆品行业可实现大量样本的快速筛查^[17-18]。实验表明 γ -PGA 同时对 $\cdot\text{OH}$ 、DPPH、ABTS 自由基均具有良好的清除效果, γ -PGA 对 3 种自由基的清除率均可以达到 92% 以上。对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的 $\text{IC}_{50} = 3.928 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,DPPH 自由基的 $\text{IC}_{50} = 21.937 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,对 ABTS 自由基的 $\text{IC}_{50} = 24.303 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。表明其具有良好的自由基清除活性。

酪氨酸酶可将多巴氧化为多巴醌,进而产生一系列引起皮肤褐变的色素类物质,是人体黑色素合成过程中所需的关键限速酶^[19],因此通过抑制酪氨酸酶的活性可减少黑色素的形成^[20]。通过评估美白活性成分对酪氨酸酶的抑制率和对自由基的清除率来表征其美白功效,操作简单、结果呈现快速、所需成本低,适用于对美白活性成分的高通量筛选。实验结果表明 γ -PGA 对酪氨酸酶抑制率可达到 93.9%,初步表明其具有良好的美白功效。

Lee NR^[21] 研究表明 γ -PGA 具有良好的皮肤保湿保湿效果,加上其良好的体外美白功效,同时 OGUNLEYE^[1] 和刘霞^[2] 研究表明 γ -PGA 对皮肤具有极高的安全性,因此 γ -PGA 在化妆品或药品行业具有较高的应用价值和商业化前景。

参考文献:

- [1] KORNHABER R, VISENTIN D, THAPA D K, et al. Cosmetic camouflage improves quality of life among patients with skin disfigurement: A systematic review[J]. Body Image, 2018, 27: 98-108.
- [2] KANG S H, JEON Y D, CHA J Y, et al. Antioxidant and skin-whitening effects of aerial part of Euphorbia supina Raf. extract[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2018, 18(6): 256-264.
- [3] 赵华,王楠. 化妆品功效评价 III—美白功效宣称的科学支持[J]. 日用化学工业, 2018, 48(3): 129-139.
- [4] OGUNLEYE A, BHAT A, IRORERE V U, et al. Poly- γ -glutamic acid: production, properties and applications[J]. Microbiology, 2015, 161(1): 1-17.
- [5] 刘霞,刘飞,刘少英,等. 聚谷氨酸的保湿功效及安全性评价[J]. 日用化学工业, 2015, 45(5): 275-278.
- [6] 宋小锋,原增艳,许平辉. γ -聚谷氨酸在生物制品中应用的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29(2): 221-224.

- [7] 安全,王亚琳,李魁,等. 云南白药发酵液的抗衰老及美白功效探究[J]. 日用化学工业,2018,48(2):103-108.
- [8] 张声源,庄远杯,罗铝铿,等. 红冬蛇菰提取物抗氧化及抑制亚硝化作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2017,29(12):2081-2086.
- [9] ASHRAF Z, RAFIG M, SEO S Y, et al. Kinetic and in silico studies of novel hydroxy-based thymol analogues as inhibitors of mushroom tyrosinase [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 98:203-211.
- [10] PILLAIYAR T, MANICKAM M, NAMASIVAYAM V. Skin whitening agents; medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors [J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2017, 32(1):403-425.
- [11] 张青,徐勇威,刘薇,等. 中华猕猴桃水提液清除羟自由基以及抑制酪氨酸酶活性的研究[J]. 日用化学工业,2018,48(3):162-171.
- [13] 邓映,钟建桥. 皮肤光损伤与氧化应激研究进展[J]. 临床皮肤科杂志,2018,48(3):162-171.
- [14] 刘清,江娜,朱慧兰. 植物来源的抗氧化剂及其在皮肤科的应用[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2015,22(4):339-342.
- [15] GRICE H C. Safety evaluation of butylated hydroxyanisole from the perspective of effects on forestomach and oesophageal squamous epithelium [J]. Food Chemical Toxicology, 1988, 26:717-723.
- [16] JAMES P K, LARS O K. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health [J]. Critical Reviews in Toxicology, 2015, 45:765-798.
- [17] 王笑晴. 基于 DPPH 自由基清除能力的姜黄提取物抗氧化活性评价[J]. 天津药学,2010,22(5):67-71.
- [18] 卢引,李光勇,魏金凤. 清除 ABTS 自由基微量模型的建立[J]. 天然产物研究与开发,2013,25:1533-1535.
- [19] FENOLL L. G., PE? ALVER M. J, RODRIGUEZ-LÓPEZ, J. N, et al. Tyrosinase kinetics discrimination between two models to explain the oxidation mechanism of monophenol and diphenol substrates [J]. The International Journal of Biochemistry & Biology, 2004, 36:235-246.
- [20] SON K H, HEO M H. The evaluation of depigmenting efficacy in the skin for the development of new whitening agents in Korea [J]. International Journal of Cosmetic Science, 2013, 35(1):9-18.
- [21] LEE N R, GO T H, LEE S M, et al. In vitro evaluation of functional properties of poly- γ -glutamic acid produced by Bacillus subtilis D7 [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2014, 21:153-158.

(责任编辑:刘鹤香)

互联网健康领域已经开始崛起,巨头布局“大健康”战略

在“互联网+”发展战略的推动下,互联网正在逐步渗透到多个领域,与国计民生密切相关、拥有巨大市场潜力的健康领域肯定也不例外。

互联网企业方面,百度等互联网巨头正在积极通过自己的平台优势和大数据资源来进行健康服务的布局;传统医疗方面,如上海松江区中心医院通过手机客户端的方式来开拓线上市场,开展掌上业务,打造新型健康服务;此外,一些新兴的互联网医疗平台诸如好大夫在线、寻医问药网等健康网站,也在凭借自己积累的经验成为互联网健康领域的行家里手。

虽然从表面上来看,互联网健康行业发展得如火如荼,但事实上仍处于发展初期,各方面的发展还很不成熟。由于医疗健康相关行业专业化程度高,且存在较高的门槛,因此,在未来只有通过产业合作和商业并购并行,才能将这一产业带入正轨,实现高速发展。

2013年2月,百度与国家药监局就达成了合作。前者通过平台来向用户提供包括健康信息查询在内的各项服务,后者则为前者开放药品数据库等信息。

商业并购则是非健康领域的企业迅速涉足这一领域的另一条捷径。作为国内最大的视频社交平台,天鸽互动于2015年年初以千万金额收购了移动互联网健康信息服务公司杭州希禾,而这一巨额收购主要是天鸽互动看中了希禾在健康管理信息化和健康信息服务研发推广方面的显著优势。借助这一优势踏足健康领域、布局移动医疗。

巨头们的动作往往能在很多领域掀起风浪,在互联网健康领域同样如此。当然,鉴于这个行业仍处在发展初期,各方面还未成熟,谈及成败为时尚早,小型的健康平台仍然可以通过差异化发展道路,挖掘出自己的生存空间。但是要想深耕这一细分领域,如果没有强大力量的支撑,仍难免后继乏力,最终可能出现危机。

不难预见,未来健康领域的发展仍旧会被巨头占据大部分优势,其长期积累的资金、资源和产品优势是小型平台无法比拟的,若不加以干预,医疗健康领域也会呈现出马太效应。直到市场尘埃落定,不但小型企业难有立足之地,其他大型互联网企业也将难以渗透……

信息来源:百度
(供稿人:陈圆圆)

女贞子化学成分及抗氧化活性研究

李彦灵¹, 叶同生², 苏慧慧¹, 詹璐璐¹

(1. 新乡医学院三全学院药学院, 河南 新乡 453003; 2. 河南省中医药研究院附属医院, 河南 郑州 450004)

摘要: **目的** 研究中药女贞子的化学成分及其抗氧化活性, 为女贞子进一步开发利用提供科学依据。**方法** 运用超高效液相-高分辨质谱联用技术(UHPLC-TOF-MS)对女贞子中的化学成分进行快速分析, 以甲醇浸提, 乙醇热溶冷沉法纯化制备女贞子总三萜, 并采用 2,2-二苯基-1-苦基肼(DPPH)法测定总三萜的抗氧化能力。**结果** 产于河南的女贞子样品在正负离子模式下, 设定响应值大于 5000 共检测出 27 种化合物, 其中有 6 种化合物相对含量达 5% 以上, 橄榄苦苷达 15.89%, 齐墩果酸达 14.55%。制备的女贞子总三萜纯度为 93.33%, 浓度在 $214.9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 DPPH 的清除率为 94.65%, 与维生素 C(VC)的清除率 96.78% 接近。**结论** 此女贞子中化合物种类较多, 为进一步提取橄榄苦苷及齐墩果酸提供了依据。乙醇热溶冷沉法制备女贞子总三萜纯度高, 其抗氧化能力与 VC 接近。

关键词: 超高效液质联用; 女贞子; 化学成分; DPPH

中图分类号: R931.6

Study on chemical constituents and antioxidant activities of Ligustrum lucidum

LI Yan-ling¹, YE Tong-sheng², SU Hui-hui¹, ZHAN Lu-lu¹

(1. School of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 45300; 2. Affiliated Hospital of Henan Institute of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450004)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents and antioxidant activity of Ligustrum lucidum, and to provide scientific basis for its further development and utilization. **Methods** The chemical constituents of Ligustrum lucidum were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UHPLC-TOF-MS). The total triterpenoids of Ligustrum lucidum were purified by methanol and ethanol. The antioxidant activity of total triterpenoids was determined by 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazine (DPPH). **Results** 27 compounds were detected in the Ligustrum lucidum from Henan Province under the positive and negative ion mode, with a set response value of more than 5000. Among them, 6 compounds had a relative content of more than 5%, olivopierin was 15.89%, and oleanolic acid was 14.55%. The purity of total triterpenoids of Ligustrum lucidum was 93.33%. When the concentration was $214.9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the DPPH scavenging rate was 94.65%, which was close to that of vitamin C (VC) of 96.78%. **Conclusion** There are many kinds of compounds in Ligustrum lucidum, which provides a basis for further extraction of olivopierin and oleanolic acid. The purity of total triterpenoids from Ligustrum lucidum prepared by ethanol hot-dissolution and cold-precipitation method is high, and its antioxidant activity is close to that of VC.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UHPLC-TOF-MS); Ligustrum lucidum; chemical constituents; DPPH

女贞子为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实, 是一味补肾滋阴、养肝明目的中药, 可用于肝肾不足、头晕耳鸣、头发早白及两目昏糊等病症。三萜类化合物为其主要化学成分, 且含量高, 有文献报道其含量可达到 6.08%^[1-4]。三萜类化合物具有降血脂、抗肿瘤、抗炎等药理活性^[5-6], Xiao 等^[7-8] 从中药材中分得的三萜类化合物具有抗免疫缺陷病毒(HIV)活性。为深入研究女贞子中的化学成分, 作者对河南产女贞子进行系统的化学成分研究, 并从中提取分离得到了高纯度的

总三萜, 通过测试女贞子总三萜对 DPPH 自由基的清除能力, 评价其抗氧化活性, 为进一步的系统研究奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FW-100 型高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司); 岛津 SHIMADZU AUX320 万分之一电子天平; KH-600DE 型数控超声波清洗器; 岛津 LC-30A 色谱仪; AB SCIEX Triple TOF5600 + 质谱

收稿日期: 2019-07-30

基金项目: 1. 新乡医学院三全学院 OBE 专项教学改革项目(编号: 201811); 2. 项目经费来源: 校级科技创新团队(新药研发科技创新团队, 编号: STD201602); 3. 新乡医学院三全学院校级重点教改课题(应用技术型院校生物医药专业集群建设与人才培养研究, 200706)。

作者简介: 李彦灵, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 天然药物化学, E-mail: muzi871203@163.com。

仪(SCIEX公司,产地:美国);T6新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

1.2 材料

样品女贞子于2017年12月采自河南省原阳县,植物标本由新乡医学院药学院苏慧慧老师鉴定,经鉴定为木犀科植物女贞的干燥成熟果实,样本存放于新乡医学院三全学院药学院天然药物化学研究室。熊果酸购自中国食品药品检定研究院(批号:110742-201622);2,2-二苯基-1-苦基肼(DP-PH)、VC、高氯酸为优级纯;香草醛、冰乙酸、甲醇、无水乙醇均为分析纯。用于色谱分析的甲醇为色谱纯(Fisher公司);纯水为自制。

2 实验方法

2.1 化学成分测定

2.1.1 供试品制备方法 精密称取粉碎过60目筛的女贞子粉末0.2g,置于玻璃试管内,加入5mL 50%甲醇-水溶液,称定重量。室温浸泡4h,40℃超声40min,补足损失的重量,取上清液1300r/min离心10min,0.22μm微孔滤膜过滤后,备用。同样条件制得空白对照品,备用。所有样品放入4℃冰箱保存,在分析前取出(保存时间不能超过24h)。

2.1.2 色谱条件 色谱仪器为:岛津LC-30A。色谱柱C18(1.7μm,2.1×100mm);柱温40℃;流速为0.25mL/min;进样量5μL;流动相采用甲醇-0.2%甲酸水溶液的梯度洗脱,具体见表1。

表1 流动相梯度洗脱程序

Time (min)	A(0.2% 甲酸水)	B(甲醇)
0.01	95	5
15	75	30
35	5	95
37	5	95
37.1	95	5
40	stop	

2.1.3 质谱条件 质谱仪器为AB SCIEX Triple TOF 5600+。离子化模式为电喷雾正离子模式,离子源电压为5500V,离子源温度为500℃,去簇电压(DP)为100V,碰撞能量(CE)35eV,碰撞能量扩展(CES)15eV。雾化气体为氮气,辅助气1为50PSI,辅助气2为50PSI,气帘气为40PSI。一级质谱母离子扫描范围为50~1000,IDA设置响应值超过100cps的6个最高峰进行二级质谱扫描,子离子扫描范围为50~1000,开启动态背景扣除(DBS)。

离子化模式为电喷雾负离子模式,离子源电压分别为-4500V,离子源温度为500℃,去簇电压

(DP)为100V,碰撞能量(CE)为-35eV,碰撞能量扩展(CES)分别为15eV。雾化气体为氮气,辅助气1为50PSI,辅助气2为50PSI,气帘气为40PSI。一级质谱母离子扫描范围为50~1000,IDA设置响应值超过100cps的6个最高峰进行二级质谱扫描,子离子扫描范围为50~1000,开启动态背景扣除(DBS)。

2.2 总三萜制备

取女贞子药材30kg,100L甲醇浸提3次,每次4~7天,合并浸提液,60℃减压回收溶剂至浸膏状。以水分散混悬,石油醚萃取至颜色不再加深,回收溶剂至浸膏,备用。水相继续用乙酸乙酯萃取至颜色不再加深,回收溶剂,得乙酸乙酯部位浸膏。

取50g乙酸乙酯部位浸膏,65℃超声振荡溶于500mL无水乙醇中,自然冷却至室温,析出三萜沉淀,抽滤,室温下用无水乙醇洗涤。滤液与前母液合并。合并后母液60℃减压浓缩至溶液浑浊,开始析出固体,自然冷却至室温,析出三萜沉淀。

2.2.1 标准曲线的制备 精密称取3.3mg熊果酸定容至25mL容量瓶,加甲醇溶解定容,摇匀即得浓度为0.132mg·mL⁻¹的对照品溶液。称取熊果酸对照品溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL置于试管中,100℃水浴蒸干甲醇,加入新配制的5%香草醛-冰乙酸溶液0.2mL和1.00mL高氯酸溶液,密塞,在60℃水浴加热15min后,移入冰水浴,再加入5.00mL冰乙酸摇匀,在545nm处测定吸光度。

2.2.2 重复性试验 精密称取同一样品10.0mg,共5份,按“2.2”项下制备样品溶液,精密吸取供试品溶液1.0mL,按标准曲线项下操作,在545nm处测定吸收值。

2.2.3 稳定性试验 精密称取同一样品10.0mg,按“2.2”项下制备样品溶液,精密吸取供试品溶液1.0mL,按标准曲线项下操作,分别在0、30、60、90、120min 545nm处测定其吸光度值。

2.2.4 加样回收率试验 取同一样品10.0mg,共6份,精密称定,分别精密加入对照品3.0mg,按“2.2”项下制备样品,精密吸取供试品溶液1.0mL,按标准曲线项下操作,测定各样品的吸光度值。

2.2.5 总三萜含量的测定 精密称取制备好的三萜样品10.0mg,至100mL容量瓶,加甲醇溶解,定容至刻度备用。精密吸取样品溶液1.0mL至试管中,分光光度计测定总三萜含量。

2.3 抗氧化实验

2.3.1 DPPH溶液的配制 DPPH母液:精密称取

14.40 mg DPPH 至 50 mL 容量瓶。乙醇溶解,定容。

DPPH 稀释液:精密吸取 20 mL DPPH 母液至 100 mL 容量瓶,乙醇定容。

2.3.2 样品溶液的配制 精密称取 30.7 mg 女贞子三萜样品,至 100 mL 容量瓶中,无水乙醇溶解,定容至刻度,备用。

2.3.3 抗氧化标准曲线的绘制 取 11.3 mg VC 至 100 mL 容量瓶,用乙醇定容,得 VC 浓度为 $0.113 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。精密吸取上述 VC 溶液 0.1、0.2、0.6、0.8、1.6、2.0、4.0、6.0、10.0、16.0、20.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中,乙醇定容。分别吸取上述不同浓度 VC 溶液 1.0 mL 至试管中,依次加入 2.0 mL DPPH 稀释液,摇匀,避光反应 30 min 后在 517 nm 处测吸光度 D_1 。再分别吸取上述不同浓度 VC 溶液 1.0 mL 至试管中,分别加入 2.0 mL 乙醇,摇匀,避光反应 30 min 后在 517 nm 处测吸光度 D_2 。取 1 支试管,加入 2.0 mL DPPH 和 1.0 mL 乙醇,摇匀,避光反应 30 min 后在 517 nm 处测吸光度 D_0 。按照以下公式计算 VC 对 DPPH 的清除率:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = \left(1 - \frac{D_1 - D_2}{D_0}\right) \times 100\%$$

2.3.4 总三萜抗氧化能力的测定 分别吸取 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0 mL 的样品溶液各两份至不同的试管中,一份样品加入 2.0 mL DPPH 稀释液、不同体积的乙醇溶液使总积均为 10.0 mL,摇匀,避光反应 30 min 后用无水乙醇作参比,在 517 nm 处测定测定吸光度 D_1 。另一份样品加入乙醇溶液使总体积均为 10.0 mL,摇匀,避光反应 30 min 后以无水乙醇作参比,在 517 nm

处测定测定吸光度 D_2 。取 2.0 mL DPPH 溶液至试管中,加入 8.0 mL 乙醇溶液,摇匀,避光反应 30 min 后用无水乙醇作参比,在 517 nm 处测定测定吸光度 D_0 。计算样品溶液 DPPH 清除率。以 VC 及样品浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标, DPPH 清除率为纵坐标绘制曲线,见图 4。

3 实验结果

3.1 女贞子化学成分分析

通过近五年文献调研,查找了 57 种女贞子活性成分,建立女贞子活性成分数据库,采用飞行时间高分辨质谱对数据库中的活性成分匹配,定性分析女贞子中药活性成分。通过无目标物搜索,从质谱图中找到响应值超过 500 的成分共 7961 种;通过数据库中药活性成分目标物搜索,女贞子提取物正负离子模式下共检测到 32 种中药活性成分,其中响应值大于 5000 的活性成分共有 27 种。总离子流图见图 1 和图 2。女贞子中化学成分的匹配结果及详细信息见表 2。

3.2 总三萜的制备

女贞子药材 30 kg,共制备总三萜粗品 950 g。按“2.2”方法分离纯化总三萜,合并 3 次沉淀物,得总三萜 25.61 g。

3.2.1 标准曲线 以熊果酸对照品浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标,吸光度 (A) 为纵坐标绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 42.28X - 0.003$, $r = 0.9999$,表明熊果酸在含量为 0.00 ~ 0.0213 mg 范围内与吸光度呈良好线性关系。

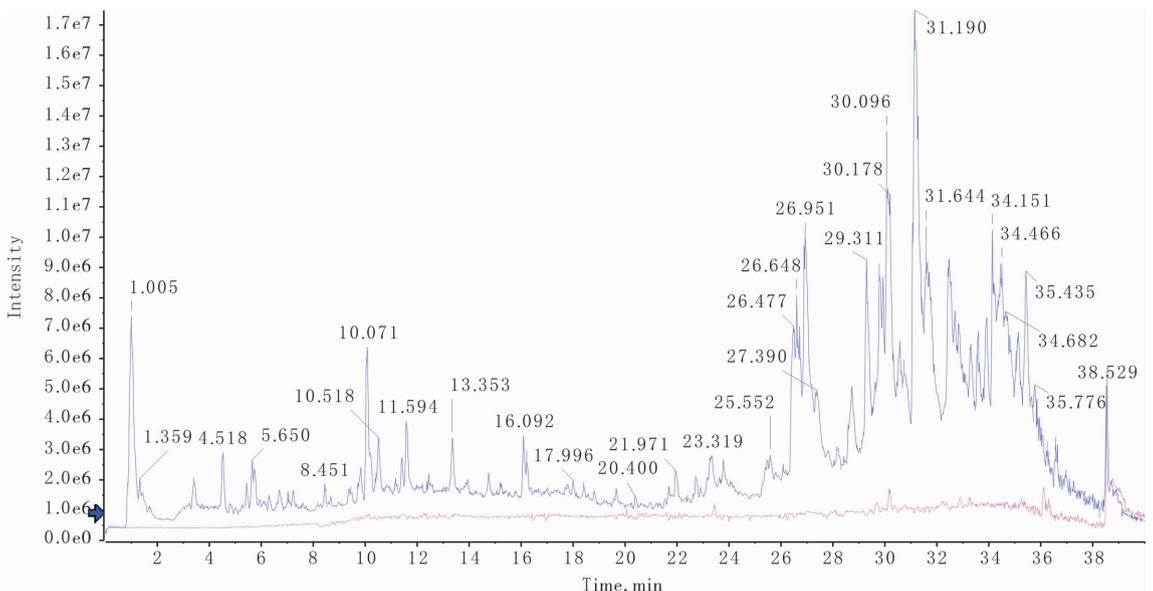


图 1 女贞子提取物与空白正离子模式下总离子流图

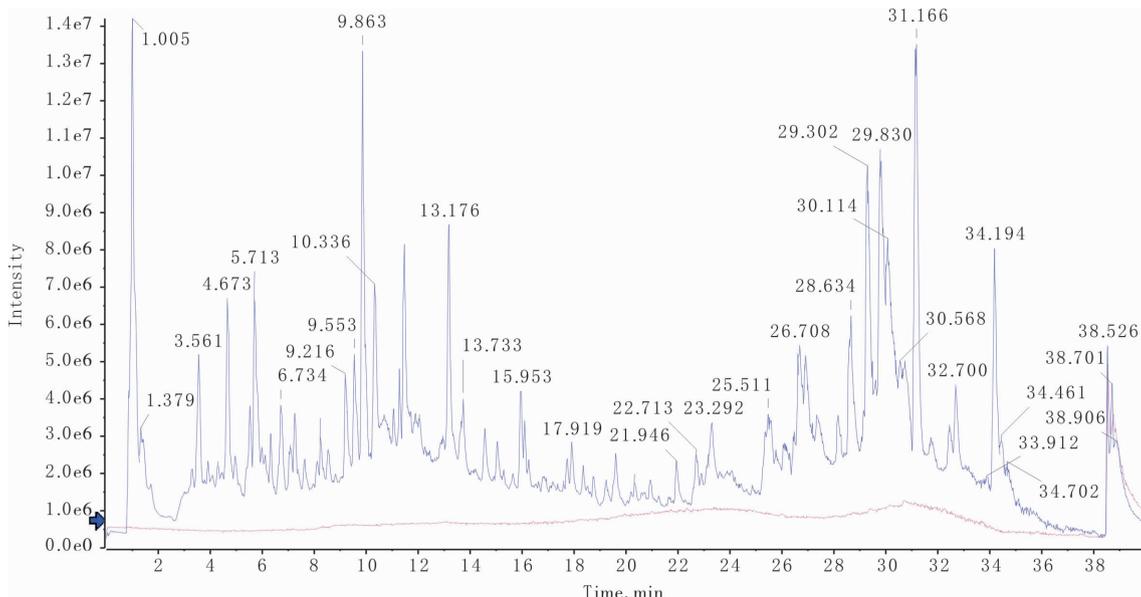


图 2 女贞子提取物与空白负离子模式下总离子流图

表 2 女贞子化学成分、质量及相对含量

Number	Name	Formula	Adduct	Found Mass	Error	RT	Instensity	% Relative content
1	橄榄苦苷	C25H32O13	-H	539.17723	0.4	13.18	2448227	15.89%
2	齐墩果酸	C30H48O3	-H	455.35352	1	31.17	2242290	14.55%
3	熊果酸	C30H48O3	-H	455.35352	1	31.17	2242290	10.95%
4	乙酰熊果酸	C32H50O4	-H	497.36393	0.6	34.19	1664551	10.80%
5	19-a-羟基-3-乙酰乌索酸	C32H50O5	-H	513.35898	0.8	30.13	1598729	10.38%
6	3-O-香豆酰-委陵菜酸	C39H54O7	-H	633.38044	1.2	28.62	1316328	8.54%
7	委陵菜酸	C30H48O5	-H	487.34308	0.4	23.26	576714	3.74%
8	3,4-二羟基苯乙基-β-葡萄糖苷	C14H20O8	-H	315.10873	0.6	3.49	498546	3.24%
9	特女贞苷	C31H42O17	-H	685.23557	0.9	11.29	408339	2.65%
10	槲皮苷	C21H20O11	+H	449.10814	0.7	10.09	392668	2.55%
11	木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷	C21H20O11	+H	449.10814	0.7	10.09	392668	2.55%
12	女贞苷	C25H32O12	-H	523.18172	-0.7	15.05	313373	2.03%
13	芦丁	C27H30O16	-H	609.14558	-0.9	9.27	309931	2.01%
14	芹菜素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C21H20O10	-H	431.09795	-1	11.52	246461	1.60%
15	芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷	C21H20O10	-H	431.09795	-1	11.52	246461	1.60%
16	芹菜素	C15H10O5	-H	269.04609	2	16.83	188648	1.22%
17	女贞子酸	C17H24O14	-H	451.10868	-1.4	3.82	72196	0.47%
18	对羟基苯乙基-β-D-葡萄糖苷	C14H20O7	-H	299.11392	1	4.44	40887	0.27%
19	红景天苷	C14H20O7	-H	299.11392	1	4.44	40887	0.27%
20	葡萄糖	C6H12O6	-H	179.05699	4.9	1.02	38749	0.25%
21	硬脂酸	C18H36O2	-H	283.26501	2.7	36.26	30341	0.20%
22	十七烷酸甲酯	C18H36O2	-H	283.26501	2.7	36.26	30341	0.20%
23	磷脂酰胆碱	C42H80N08P	+H	758.56912	-0.4	34.86	19233	0.12%
24	岩藻糖	C6H12O5	-H	163.0619	4.3	0.97	14381	0.09%
25	乙酸龙脑酯	C12H20O2	-H	195.13999	4.8	22.69	5954	0.04%
26	槲皮素	C15H14O9	-H	337.05662	0.3	6.41	5815	0.04%
27	阿拉伯糖	C5H10O5	-H	149.04596	2.7	1.05	5514	0.04%
28	右旋-花旗松素	C15H12O7	+H	305.06584	0.9	7.25	4778	0.03%
29	对-羟基苯乙醇	C8H10O2	+H	139.07551	1.1	4.27	2993	0.02%
30	胡萝卜苷	C35H60O6	+H	577.44625	0	34.4	2945	0.02%
31	高圣草素	C16H14O6	+H	303.08635	0.1	23.61	1922	0.01%
32	十四烷酸甲酯	C15H30O2	-H	241.21818	3.6	32.9	1142	0.01%

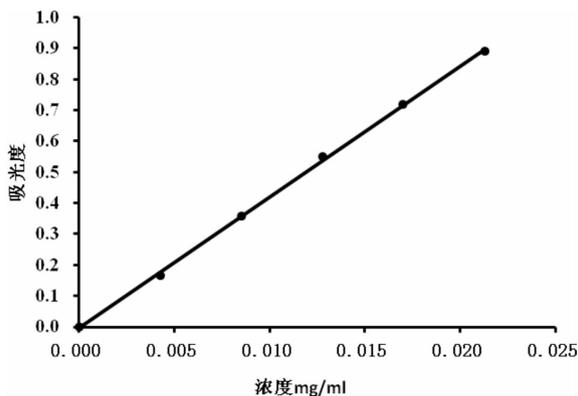


图3 女贞子三萜含量测定标准曲线

表3 女贞子三萜含量测定加样回收率试验结果

序号	取样量 (mg)	样品中三萜含量 (mg)	加入熊果酸 (mg)	吸光度	测得三萜含量 (mg)	加样回收率 (%)	平均加样回收率 (%)	RSD (%)
1	10.3	9.61	3.0	0.856	12.60	99.83	99.51	1.28
2	10.2	9.52	3.0	0.841	12.38	98.50		
3	10.0	9.33	3.0	0.832	12.24	99.05		
4	10.3	9.61	3.0	0.843	12.41	97.85		
5	10.1	9.43	3.0	0.849	12.49	100.72		
6	10.2	9.52	3.0	0.858	12.63	101.12		

3.2.5 总三萜含量测定 取女贞子样品5份,按标准曲线项下方法,测得总三萜含量为93.33%,RSD

3.2.2 重复性试验 取女贞子样品5份,进行总三萜含量测定,重复性试验RSD为3.08%,表明该方法重复性良好。

3.2.3 稳定性试验 取女贞子样品一份,分别在0,30,60,90,120 min测定总三萜含量,结果显示RSD为1.41%,表明样品在120 min内稳定性良好。

3.2.4 加样回收率试验 取女贞子样品,按标准曲线项下操作,测得平均加样回收率为99.51%,试验RSD值为1.28%。见表3。

值为3.12%。见表4。

表4 女贞子三萜含量测定结果

序号	取样量 (mg)	吸光度	三萜浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	三萜含量 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	10.2	0.675	16.04	97.47	93.33	3.12
2	10.1	0.642	15.26	93.65		
3	10.3	0.637	15.14	91.12		
4	10.0	0.644	15.30	94.88		
5	10.3	0.626	14.88	89.55		

3.3 抗氧化实验

由图4可知,VC清除自由基的能力在 $66.64 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,清除率达到97.05%,女贞总三萜清除DPPH能力随着浓度的增大而增大,当浓度超过约 $107.45 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,清除率达到92.59%,之后随着浓度的增大清除率变化不大。

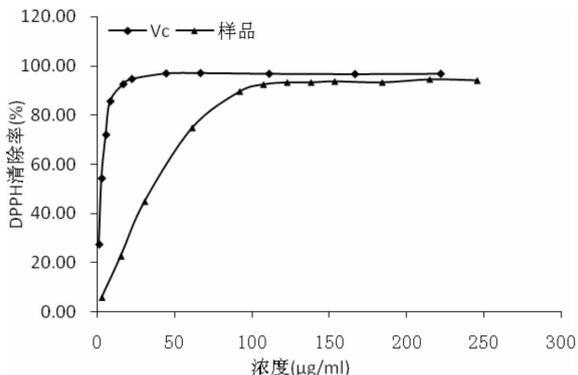


图4 VC和女贞子总三萜DPPH清除能力

4 讨论

女贞子是常见的中药材,临床用量较大。其中含有齐墩果酸、红景天苷等,具有保肝、治疗糖尿病的作用,同时对人的心血管系统也有良好的保护作用^[9-11]。河南地区中药材女贞子的产量非常大。该研究所用女贞子采摘于河南原阳县黄河大堤旁,利用高分辨质谱,在正负离子模式下,设定响应值大于5000共检测出27种化合物,其中有6种化合物相对含量达5%以上,橄榄苦苷达15.89%,齐墩果酸达14.55%。高分辨质谱给出的精确分子式信息,结合多级质谱提供的特征碎片离子及裂解途径分析策略^[12-14],为女贞子的物质基础研究、质量控制提供了准确、快速的检测方式。

DPPH在有机试剂中以一种稳定的自由基存在,其乙醇溶液显紫色,在517 nm附近有最大吸收。当DPPH溶液中加入自由基清除剂(如Vc),DPPH

的单电子被配对,在 517 nm 处的吸光度变小,颜色变浅,且这种颜色的变浅程度与配对电子数成正比关系^[14-16]。因此,可通过在此波长处吸光度的测定来评价样品清除自由基的能力,从而评价样品的抗氧化能力。

女贞子中的三萜类化合物是其主要活性成分之一,且含量较高。本实验利用女贞子中三萜类化合物在冷热乙醇中溶解度差异较大的特性制备女贞子总三萜,该方法简单、高效,总三萜纯度达 93.33%。在 DPPH 清除实验中,女贞子三萜显示了良好的清除自由基的能力,在浓度为 3.07 ~ 245.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,其抗氧化活性均接近 Vc。通过测定女贞总三萜对 DPPH 的清除率,结果表明其具有抗氧化活性,样品浓度在 214.9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对 DPPH 的清除率为 94.65%,与 VC 的清除率 96.78% 接近。常霞等^[17]对金银花中的三萜进行研究发现金银花总三萜具有一定的清除自由基的能力,清除率 50% 即 IC50 所对应浓度分别为 26.1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 18.8 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,且清除能力随总三萜含量增加而增强,呈现出良好的剂量效应关系。这与姚文红等^[18]对女贞花的研究结果相类似。该研究可为女贞子的综合利用提供参考。

参考文献:

- [1] 王雪竹,吴顺红,赵光远.超高压提取女贞子总三萜工艺条件的优化[J].安徽医药,2016,20(4):639-642.
- [2] 吴修红,孙泽,杨恩龙,等.响应面法优化女贞子中总三萜的提取工艺研究[J].上海中医药杂志,2016,50(1):83-87.
- [3] 谭文广,刘伟,鲁菲菲,等.女贞子中三萜化合物的提取与含量测定[J].食品科学,2006(11):260-262.
- [4] 江洪波,董小萍.女贞子总三萜的制备及抗氧化活性研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2015,17(1):189-191.
- [5] 包海鹰,史幛婷,冯爽.多孔菌科真菌中羊毛甾烷型三萜类成

分及其药理作用研究进展[J].中草药,2018,49(9):2172-2187.

- [6] 王存琴,王宏婷,陈娟,等.苦丁茶三萜类成分及药理作用研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2016,21(6):703-709.
- [7] Xiao WL, Yang LM, Zhang HB, et al. Chemical constituents from the leaves and stems of *Schisandra lancifolia* [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2010, 58(6):852-855.
- [8] Xiao W L, Zhu H J, Shen Y H, et al. Lancifodilactone G: a unique nortriterpenoid isolated from *Schisandra lancifolia* and its anti-HIV activity [J]. Organic letters, 2005, 7(11):2145-2148.
- [9] 刘先芳,梁敏钰,孙建博,等.女贞子化学成分和药理活性研究进展[J].海峡药学,2018,30(1):1-8.
- [10] 祝侠丽,张迪文,谢彩侠,等.不同产地女贞子化学质量特征分析[J/OL].天然产物研究与开发,2019:1-11.
- [11] 冯素香,李柯,冯志毅,等.不同干燥条件对女贞子有效成分影响的初步研究[J].沈阳药科大学学报,2019(6):492-496 + 510.
- [12] 孟志娟,孙文毅,赵丽敏,等.气相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查农产品中 70 种农药残留[J/OL].分析化学,2019:1-19.
- [13] 潘智然,王腾华,朱首伦,等.基于超高压液相色谱-高分辨多级质谱联用技术的中药淡竹叶化学成分分析[J].广东药学院学报,2016,32(3):300-306.
- [14] 黄勤英,张海全,王文君,等.苦丁茶齐墩果酸的优化提取及其抗氧化作用[J].现代中药研究与实践,2019(4):43-46.
- [15] 熊双丽,卢飞,史敏娟,等.DPPH 自由基清除活性评价方法在抗氧化剂筛选中的研究进展[J].食品工业科技,2012,33(8):380-383.
- [16] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等.DPPH 法评价抗氧化活性研究进展[J].食品科学,2014,35(9):317-322.
- [17] 常霞,景炳年,范毅,等.金银花总三萜提取工艺及其抗菌抗氧化活性[J].江苏农业科学,2019,47(16):198-202.
- [18] 姚文红,李飞阳,王娟,等.女贞花总黄酮提取及清除 DPPH 自由基作用的研究[J].食品研究与开发,2016,37(14):42-45 + 67.

(责任编辑:廉添添)

虚实结合的医学生物化学实验教学实践与反思

王亚娟, 杨全中, 张乐晶, 杨保胜

(新乡医学院三全学院基础医学院 河南 新乡 453000)

摘要: 医学生物化学实验在教学过程中存在耗时长,操作复杂,仪器昂贵,试剂毒性等问题,且我校实验室周转紧张,学生不能系统学习相关实验,针对这种情况,我校引入相关兄弟院校的虚拟仿真实验,开展虚实结合的相关实验教学模式。根据不同的专业选择不同的实验模块进行线上线下结合进行学习。这种模式的教学解决了我校实验教学的实际问题,同时可以提高学生自学能力以及学习生物化学实验的兴趣,取得了良好的教学效果。但在虚拟仿真实验教学中需要做到虚实结合,相互补充,能实不虚的原则。

关键词: 医学生物化学实验,虚拟仿真,教学改革

中图分类号: G642.0

Practice and reflection on the teaching of medical biochemistry experiment combining virtual and reality approach

WANG Ya-juan, YANG Quan-zhong, ZHANG Le-jing, YANG Bao-sheng

(School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: In the teaching process of medical biochemistry experiments, there exist some problems including time-consuming procedures, complicated operations, expensive instruments and toxic reagents. Moreover, the laboratory turnover of our school is tight, and students cannot learn medical biochemistry experiments systematically. Consequently, our school introduced virtual simulation experiments and carried out the teaching model combining virtual and reality approach. According to majors, different experimental modules were selected for online and offline learning. This model of teaching achieved good effect by solving practical problems of biochemistry experiment teaching in our school and improving students' active learning and interest. In the virtual simulation experiment teaching, however, virtual approach needs to be combined and complemented with real ones, and the latter needs to be highlighted.

Key words: medical biochemistry experiment, virtual simulation, teaching reform

医学生物化学是所有医学院校的必修课程,是医学专业的基础课程之一^[1]。而医学生物化学实验对于强化医学生的基本实验技能以及相关理论知识的掌握起到非常重要的作用^[2]。同时还可以通过实验提高医学生的动手能力和分析解决问题的能力^[3]。新乡医学院三全学院本科生从一年级下学期,专科生从一年级上学期开始安排医学生物化学理论及实验课程。根据不同专业不同层次的学生们的知识结构以及新乡医学院三全学院的教学现状,将医学生物化学实验分为以下几个模块:医学生物化学实验基本功训练模块;分子生物学基本技术模块和蛋白质实验基本技术模块;设计型实验模块;创新型实验模块。

1 医学生物化学实验目前开展现状

常规的医学生物化学实验不但耗时长,操作复杂,而且一些有毒试剂和致癌试剂还有可能引起一些安全隐患,对人体产生一定的危害,同时有些生化仪器比较昂贵^[4],种种因素制约着医学生物化学实验的开展。

另外目前常规的医学生物化学实验都是老师讲解,学生操作。这种模式限制了学生学习的积极性,使学生在学习过程中主体意识不强,缺乏独立思考的机会^[5-6]。而且结合我校实际情况,全校用于医学生物化学的分析测试实验室只有 4 个,而每年需要开设全校 31 个专业,将近 130 个班级的实验任

收稿日期:2019-11-14

基金项目:河南省教育厅 2018 年人文社会科学研究项目(2018-ZZJH-430),河南省医学教育研究课题(Wjxl2017093),河南省医学教育研究课题(Wjxl2017096)新乡医学院三全学院 2018 年 OBE 专项教学改革项目(201801,201804)。

作者简介:王亚娟,女,讲师,研究方向:生物化学与分子生物学教学研究与改革、蛋白质表达纯化,E-mail:13512138@sqmc.edu.cn。

务,实验室周转较为紧张。大部分专业的学生只能选做 4~5 个实验内容,限制了学生系统学习实验内容的机会,且因为种种因素的制约,学校开设的实验大部分都是演示型综合实验^[7],很难培养学生的动

手能力,创新能力和科研思维。为此,对 2015 级临床专业 290 名学生进行了问卷调研,主要是关于目前开设的实验课存在问题进行调查,见图 1。

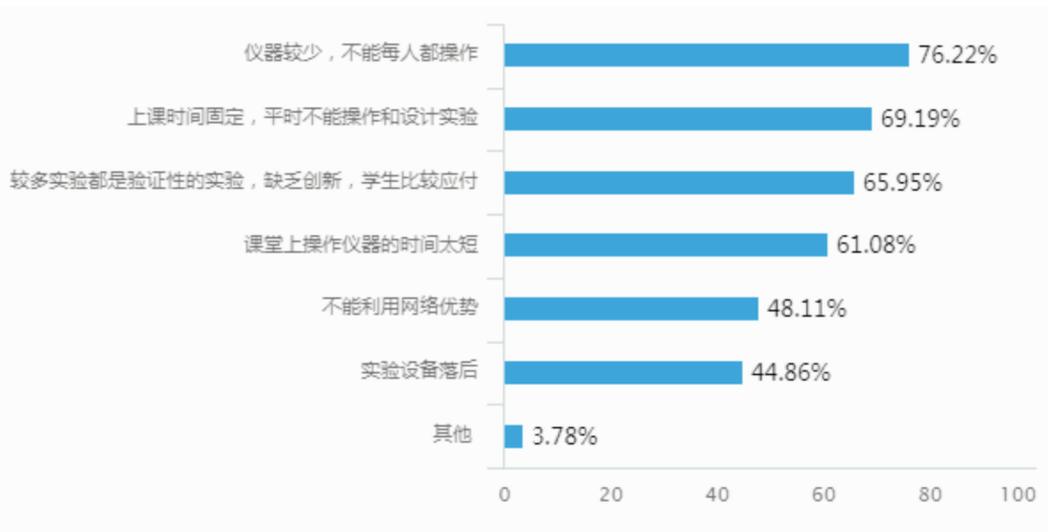


图 1 目前医学生物化学实验存在的问题

从调查结果可以看出,目前我校开设的医学生物化学实验存在着一定的问题,这些问题的存在阻碍了学生学习的积极性,限制了学生自主学习的能力,导致实验课堂效率不高,学生学习兴趣不浓。

而虚拟仿真实验具有开放性,共享性,自主性等特点,可以有效避免上述提到的问题,同时也改变了学生被动参与实验的现象,突出了学生作为学习主体的地位,与国家最新发布的专业类教学质量工程标准相符。

2 虚实结合的医学生物化学实验教学实践

根据我校的实际情况,在安排医学生物化学实验时做如下安排:临床医学和检验专业实验学时 50 学时,专业学生特点开设不同的虚拟仿真实验模块,所开设的虚拟仿真实验结合线上教学平台,进行线上线下的虚实结合教学模式。具体虚实结合实验教学模式如图 2:

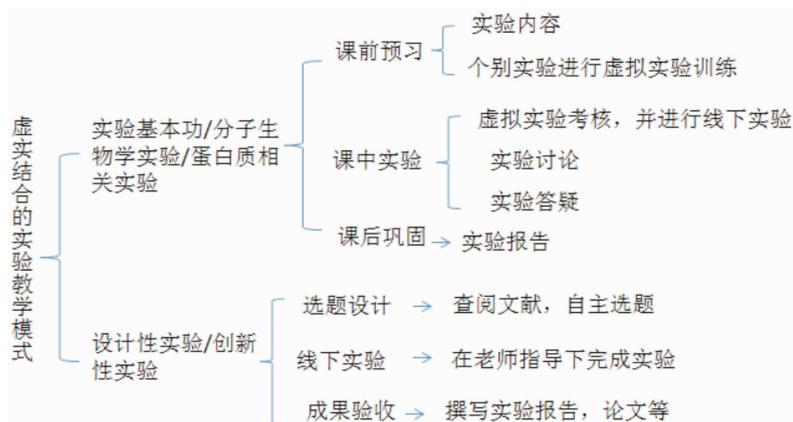


图 2 虚实结合生物化学实验教学模式

2.1 医学生物化学实验基本功训练模块

此模块实验包括实验室守则,实验室安全,玻璃仪器的清洗、溶液的配制和混匀,加样枪的使用、刻度吸量管的使用、离心机的使用、分光光度计的使用。此模块比较简单,各专业、各层次都需要进行线上学习并结合实验室进行实际操作训练。

这部分内容主要在我校校级网络平台上进行在

线学习,在学期的前两周进行,第一周学习实验室守则,实验室安全,玻璃仪器的清洗,溶液的配制和混匀,学习完之后在线进行测试。第 2 周学习加样枪的使用、刻度吸量管的使用、离心机的使用、分光光度计的使用,首先在课余时间线上模拟学习操作,完成学习并进行测试,测试合格后在实体实验室进行实体操作。

2.2 分子生物学基本技术模块和蛋白质实验基本技术模块

此模块在校级网络课程平台虚拟仿真实验一栏,此模块实验包括 RNA 的提取、纯化和鉴定, DNA 的提取、纯化和鉴定、重组质粒的连接、转化及筛选、聚合酶链式反应(PCR)扩增,蛋白质的提取、蛋白质浓度的测定、蛋白质凝胶电泳、免疫印迹,凝胶过

滤层析(图3)。在操作上首先要求学生线上进行虚拟实验并在线提交预习报告,包括实验原理,操作步骤,注意事项等,预习报告审批合格后,再申请进入实验室进行操作。这样学生对整个实验流程都比较熟悉,再通过实体实验,虚实结合可以真正体会到实验所带来的成就感,同时也提高了学生的自信以及对生物化学实验的兴趣。

虚拟仿真实验	
<input type="checkbox"/>	名称
<input type="checkbox"/>	实验一 紫外分光光度法测定DNA的浓度和纯度
<input type="checkbox"/>	实验二 糖的旋光性和变旋现象
<input type="checkbox"/>	实验三 粗脂肪含量的测定(Soxhlet抽提法)
<input type="checkbox"/>	实验四 蛋白质浓度测定(微量凯氏定氮法)
<input type="checkbox"/>	实验五 蛋白质浓度测定(Folin-酚试剂法)
<input type="checkbox"/>	实验六 蛋白质浓度测定(紫外光吸收法)
<input type="checkbox"/>	实验七 蛋白质浓度测定(考马斯亮蓝结合法)
<input type="checkbox"/>	实验八 用DNS法鉴定蛋白质或多肽的N-端氨基酸
<input type="checkbox"/>	实验九 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质的相对分子质量
<input type="checkbox"/>	实验十 用等电聚焦电泳法测定蛋白质等电点
<input type="checkbox"/>	实验十一 酵母RNA的提取 & 实验64 RNA的定量测定(苔黑酚法)
<input type="checkbox"/>	实验十二 动物肝脏中DNA的提取 & 实验66 DNA的定量测定(二苯胺法)
<input type="checkbox"/>	实验十三 DNA琼脂糖凝胶电泳
<input type="checkbox"/>	实验十四 α -淀粉酶的活力测定
<input type="checkbox"/>	实验十五 α -淀粉酶的疏水层析

图3 分子生物学及蛋白质相关实验

2.3 设计型实验模块

该实验模块主要针对临床和检验专业,安排在学年的第11~14周,在此模块开展之前,学生都有了一定的实验基础,掌握了一定的实验技能。学生在此基础上根据已有知识在线提交设计方案,经老师审核后,网上申请进入实体实验室完成实体实验,通过线上线下虚实结合让学生对整体实验有了一个清晰的认识,培养了学生的综合思维和科研思维。

2.4 创新型实验模块

此模块只针对临床医学卓越班的学生开放,并且需要网上申请,最终只通过30名同学,这个模块对学生的科研素质要求较高。此模块主要用于进一步提升学生的创新能力,开放思维能力。在此模块,学生需要先在网提交创新型实验申请书,然后根据学生的申请书筛选出30名同学,随机分成6组,每组在网上选创新型实验主题,根据自己所选题目,设计实验,并在线提交设计方案,由老师进行在线审核,审核合格后进行预实验,发现问题,提出问题,并在线进行讨论分析,分析之后得出结论,然后申请进

入实体实验室,在老师的指导下完成实验,并根据实验数据撰写实验论文。通过这个实验的线上线下实验,可以培养学生的开放思维,创新思维以及科研思维。

3 虚实结合医学生物化学实验实施效果

本校于2018年9月至2019年6月开展了两学期的虚实结合的医学生物化学实验改革,实验对象均为临床专业卓越班,每班人数为30人左右,人数每期270人左右。

为了使学生养成自主学习的习惯,我们对学生的实验学习过程进行了形成性评价,具体分为线上线下两大部分,其中线上部分占30%权重,具体包括:(1)提交预习报告(10%);(2)进行虚拟实验训练15%;(3)在线答疑讨论5%;线下部分占70%权重,具体包括:(1)上课出勤情况(10%);(2)实验报告的书写(20%);(3)实验技能测试(20%);(4)实验理论测试(20%)。

通过两个学期的成绩分析,发现通过这种教学

方式不但可以有效提高学生学习生化实验的积极性,并且大大提高了学生的自主学习能力,创新能力,加深了对理论知识的理解,学习成绩与往届相比有明显提高,图 4 为两种教学模式下学生成绩的比较。

单从成绩评价来说,这种线上线下虚实结合的实验教学模式效果显著,比较符合学生的学习兴趣。并且通过调查问卷以及学生访谈的模式调研,发现学生比较倾向于这种虚实结合的实验学习形式,认为这种实验教学模式比较符合我校实际情况,可以提高学生的自主学习能力,动手能力,创新能力,同时解决了生物化学实验耗时长,操作复杂,仪器昂贵和试剂危害性的问题,是一种很好的教学模式^[8]。图 5-6 为通过调查问卷调查学生对虚拟仿真实验的态度以及评价。

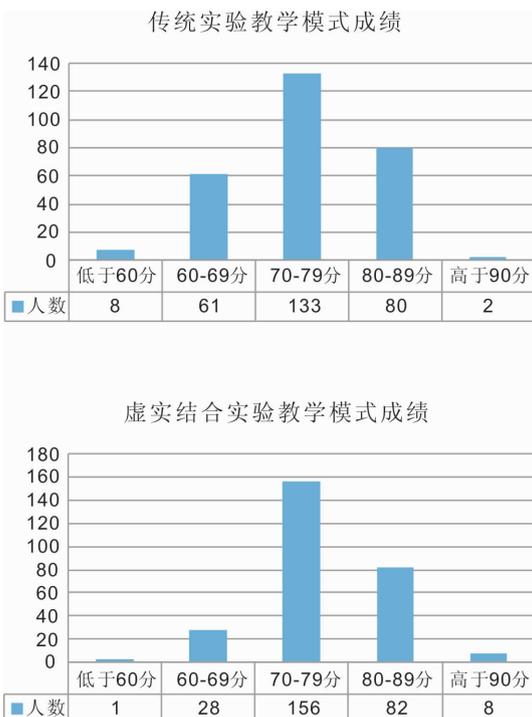


图 4 两种教学模式下学生成绩的比较 (以临床专业 2016 级和 2017 级为例)

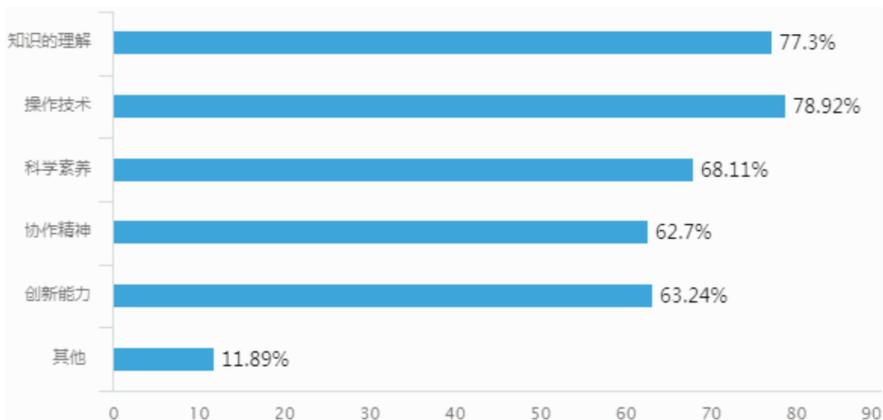


图 5 通过虚拟仿真实验学生获得的能力

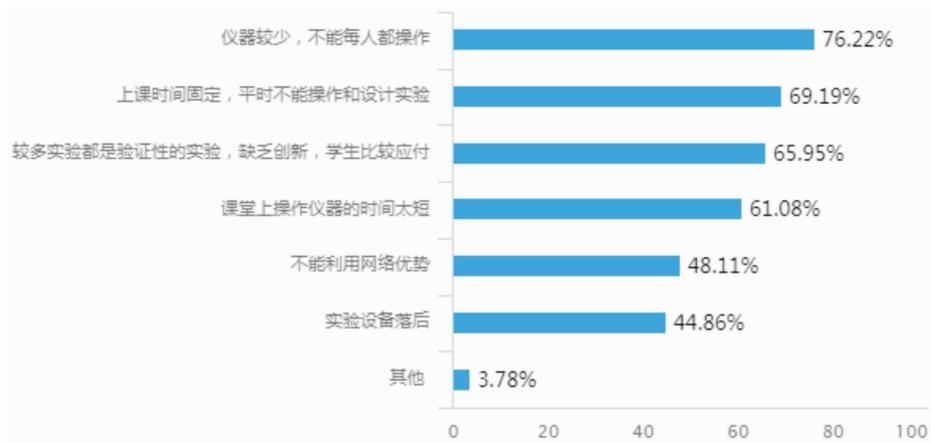


图 6 虚拟仿真实验与传统实验室相比的优势

4 讨论

通过虚实结合的医学生物化学实验教学模式的

实践,发现这种教学模式有助于提高学生的学习兴趣,培养学生自主学习的习惯,创新了医学生物化学实验教学模式,实现了现代教育技术与医学教育的

深度融合^[9]。另外虚拟仿真实验应用于教学打破了时间和空间的限制^[10],学生可以随时根据自己的情况进行预习和复习,提高了老师教学与学生学习的效率。

4.1 对教学模式的反思

虚拟仿真实验的引入,改变了传统生物化学实验的课堂教学模式,学生有了虚拟仿真实验的基础,使得课堂的授课更容易接受,学生也更容易理解实验的原理和过程,操作上也更得心应手,提高了课堂的学习效率。同时虚拟仿真实验的开设打破了时间和空间上的界限,学生可以根据自己的时间进行线上的虚拟仿真实验的学习,对时间的利用效率更高。

4.2 对虚拟仿真实验教学的反思

尽管虚拟仿真实验教学有很大的好处,同时也需要明白虚拟实验替代不了真实的实验,如果不结合真实实验,学生将没有动手操作的机会,违背了提高学生动手能力的初衷,另外在这种虚实结合的教学模式中也可能存在一些问题需要进一步改善和提高。

(1)在互联网普遍的今天,学生能否自主利用课余时间进行虚拟仿真实验学习,如何保证学生能有效利用虚拟仿真实验,切实掌握一些实验技能?因此建议在后期的虚拟实验教学过程中逐渐形成学生学习与教师评价一体化的教学模式,加强教师的后台监督力度,确保学生的学习效率^[12-13]。

(2)虚拟仿真实验的结果过于理想和单一,而现实中的实验会出现多种的干扰因素,无法全面展现复杂的真实实验过程^[4]。建议后期虚拟实验平台建设时,将实验进一步细化,比如,不同的实验剂量,不同的操作手法,以及不同的操作顺序得出不同的实验结果^[14]。

(3)虚拟仿真实验一般都是个人学习行为,与同学之间很少有交流沟通^[9],而真实的实验一般都是以小组为单位完成,有明确的分工,需要共同协作完成实验,因此虚拟仿真实验不能培养学生的团队协作精神。建议后期虚拟实验平台建设时考虑组内以及组间成员的合作与交流意识^[15],提高学生学习的能动性。

(4)虚拟仿真实验都是在电脑端完成的,无法感受真实的实验仪器设备^[16],因此仅进行虚拟仿真实验无法真正提高学生的实际动手能力,只能起到模拟操作和示教作用^[17]。因此在进行生物化学实验教学时,不能完全依赖线上的虚拟仿真实验,必须做到虚实结合、相互补充、能实不虚的原则。

5 结语

医学生物化学实验作为医学生的必修课程,适用于临床医学、检验、影像、护理、助产等多个专业,具有抽象复杂,试剂毒性,仪器昂贵等特点,受实验教学资源的限制,学校完全依靠传统的实验教学模式,已不能满足学生的学习需求,引入虚拟仿真实验教学是对传统实验教学的补充,二者有机结合起来取得了良好的教学效果。

参考文献:

- [1] 王慧莲,吕社民,马捷,等.医学生物化学综合性实验改革的设计与探索[J].实验科学与技术,2018,16(5):53-57.
- [2] 赵颖岚,马小英,贾方兴,等.基于整合思想的生物化学与分子生物学实验课教学改革与实践[J].生命的化学,2018,38(6):866-874.
- [3] 王亚娟,杨全中.基于VR技术的实验教学设计的生物化学实验教学中的应用探讨[J].河南医学研究,2019,28(5):863-865.
- [4] 徐岚,朱旻,高上上.虚拟实验在生物化学实验中的应用[J].基础医学教育,2017,19(11):866-868.
- [5] 王臻,陈梁,李先磊,等.高校生物化学实验教学改革与创新型人才培养的研究[J].山东化工,2019,48(12):165,167.
- [6] 杨丹聃,王志飞,王艳玲,等.基础医学虚拟仿真实验模式探究[J].实验技术与管理,2017,34(3):124-126.
- [7] 刘华颖.浅谈虚拟仿真实验教学中心的构建[J].实验科学与技术,2018,16(3):150-152.
- [8] 叶红,何苏萍,陈云,等.“线上线下”结合的化学实验教学模式的改革[J].化学教育(中英文),2018,39(22):37-41.
- [9] 秦丽玮,胡原,万建,等.分子生物学虚拟仿真实验平台的建设与应用[J].实验技术与管理,2018,35(7):140-143,147.
- [10] 王勇,高艳清,韩立荣,等.虚拟仿真在“植物化学保护”课程教学中的应用[J].河北农业大学学报(农林教育版),2018,20(4):17-20.
- [11] 熊伟,左绍远,林春榕,等.对医学类本科专业医学生物化学的教学反思[J].基础医学教育,2015,17(7):591-594.
- [12] 吴金栋,任光辉,黄东键,等.基于虚拟仿真技术开展实践教学改革的研究与实践[J].实验室研究与探索,2018,37(5):240-244.
- [13] 李林,李凤霞,兰山,等.基于MOOC的虚拟仿真实验方法探究[J].实验室研究与探索,2017,36(4):111-113,130.
- [14] 樊守艳,王继浩.基础医学虚拟仿真实验教学现状分析与展望[J].中国教育信息化,2018,(2):88-89.
- [15] 韩浩贤,刘运德,赵珊,等.医学类虚拟仿真实验教学中心建设的SWOT分析[J].中国高等医学教育,2018,(11):16-17.
- [16] 陈丹,刘小菊,张美芝.浅析虚拟仿真技术在人体解剖实验教学中的应用[J].解剖学研究,2018,40(3):227-229.
- [17] 王晓岚,陈俊良.应用机能学虚拟仿真实验教学系统的感悟[J].南方医科大学学报,2018,38(7):71-75.

技术应用型高校生物医药集群课程建设及人才培养

闫福林, 李印省, 马矜烁, 苏慧慧, 李彦灵, 魏婧

(新乡医学院三全学院药学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 根据生物医药市场集群化发展的趋势,提出了生物医药专业课程集群建设和人才培养思路。改革原有的课程体系,多专业融合,把原有的不同专业的课程有机融合和规划,探索出一个适应生物医药集群市场需求发展的复合型人才培养模式。改变授课形式和考试模式,企业深度参与学生的教育和教学,使学生早日走向社会,与市场接轨,提高综合素质和工作能力,以适应我国生物医药行业集群化、规模化发展需求。

关键词: 生物医药集群,课程建设,人才培养

中图分类号: G642.0

Construction of biomedical cluster curriculum and talent cultivation in application-oriented universities

YAN Fu-lin, LI Yin-sheng, MA Jin-shuo, SU Hui-hui, LI Yan-lin, WEI Jing

(School of Pharmacy, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: According to the cluster trend of biomedical market, the idea of biomedical cluster curriculum construction and talent cultivation is discussed in this paper. First, the original curriculum system has been reformed and multiple disciplines have been integrated. By properly integrating and planning the courses from different disciplines, the training model of compound talents that meets biomedical market demands has been explored. Additionally, teaching and examination are changed, and enterprises are included largely in the education and teaching, which improve the comprehensive quality and competence of students, and ensure that students are closely connected with society and market, thus meeting the needs of biomedical cluster in large scale in China.

Key words: biomedical cluster, curriculum construction, talent? cultivation

生物医药行业在国内外发展迅速且出现强劲的集群化趋势^[1-2]。在生物医药领域中,大量的药物研发及生产经营机构、生物技术创新机构、生物技术企业以及相关的中介机构和公共服务平台在地理空间或相近行业上的集聚,通过合作竞争,形成了拥有强大的企业规模、产业链和增值链以及强劲、持续的竞争优势和创新能力的产业形态,这就是生物医药的产业集群,是目前生物医药产业强劲发展的态势^[3-4]。但集群建设离不开科研机构和高校的参入^[5]。通过对生物医药集群的发展现状、趋势、前景分析可以看出,生物医药行业的集群发展需要大量具有综合能力的药学技术应用型人才,即复合型药学人才。目前药学类专业院系培养的毕业生还不能满足医药行业的快速发展对药学技术应用型人才的需求,我国的生物医药集群发展给生物药学类专业院校提出了新的要求和挑战,有关高校必须改革现有课程体系,以适应生物医药集群化目标要求。

我们作为一个应用技术型的独立院校来说,主要的任务就是结合当地经济发展需要,积极与政府和企业通力合作,进行专业调整和课程改革,加速培养生物医药集群急需的技术人才。由此可见,对应用技术型的独立院校和民办高校来说,进行生物医药专业集群建设与人才培养探索研究具有重要的意义。

1 生物医药专业集群课程改革目标

1.1 课程重组和改革 首先形成有生物制药、药学、药物制剂及制药工程等多学科、多专业形成的专业集群。打破原有课程的局限束缚,在课程体系设置上,设置专业集群课程体系。理论课程由必修课程、选修课程、扩展课程组成。必修课为学生必须掌握的专业基础和专业课;选修课为学生应该熟悉或了解的有关专业的专业基础和专业课程;扩展课为各学科或专业的一些桥梁课程或学生感兴趣的边缘学科或相关学科的扩展内容,增大学生知识面,具有

较宽广的视野让学生从专到面,能够适应生物医药集群的人才需求。并建立一个多元教师参与、教学场地灵活、授课形式多样的学习体系。在这一过程中,重点在于课程的交互性,教师的诠释性与学生的参与性并立,完全不同于以往的较封闭的专业体系。

1.2 全面提高学生的综合素质和市场经济适应能力 通过生物医药专业集群课程培养和培养模式的改革,拓宽了学生的视野,增加了知识面,建立了生物制药、大药学、药物制剂和制药工程等多专业的联系,使学生毕业后能很快进入角色,融会贯通。通过学校内和实践基地联合培养模式,培养政治素质和职业道德素养良好,在药物生产、使用、流通、监管、服务等行业领域,具有技术创新和实际解决问题能力,能够从事药物临床应用、药物制备关键技术与工艺、药物质量分析与监控、生物制药等相关工作的综合性应用型人才。

1.3 培养和储备一批既有专业理论又有实践技能的“双师型”教师 生物医药专业课程集群建设与人才培养对教师提出了新的要求,要适应生物医药专业集群建设与人才培养的新形势,拓宽知识面,扎实基本功,练就多面手。教师不能仅仅会讲一门或几门专业课程,要对生物医药专业集群建设有宏观的认识,把理论与实践联系起来,把相关专业知识联系起来,把学校授课与企业实践联合起来,把基础理论与产品研发、实际生产结合起来。把自己变成专业老师、学业导师、产教融合师、市场分析师、生产工艺设计师等多才多艺的高手。

2 改革措施及效果

2.1 修订教学计划和培养方案 设立创新创业双创课程,培养学生的创新意识和创新能力。“大众创业、万众创新”已成为我国的国家战略,作为一个专门培养国家建设后备人才的高校,尤其是技术应用型的民办高校和独立院校也应把创新创业作为学校的重要任务。为此,我们在新的教学计划中设立“双创课程”,在课程内容、授课形式、考核方法等方面变革,分为4个阶段完成。首先理论课程讲座;然后学生查阅文献、设计课题、开题报告;下一步在老师指导下科学研究、获得第一手科研数据;最后撰写研究报告、论文答辩。建立科技创新实验室和设立创意工作室,为学生创新创业者提供平台。组建各种大学生科技创新团队,让学生大学期间直接参与科研工作。通过开展课外科技创新课题设计、论文答辩、企业和社会调查、校企交流等活动,使学生尽

早与社会接轨,适应社会,了解就业创业的艰辛,尽量避免目前大学生普遍存在的眼高手低的现象发生。在学生中设立科技创新学分,直接计入总学分,激发学生科技创新的积极性。通过双创课程和创意工作室设立,大大增强了学生分析问题和解决问题的能力。

2.2 进行课程体系改革 打破原有的每个专业固有的课程设计,课程体系按专业集群设置,增加学生选课的自由度,根据自己的兴趣和需求选课。在课程设置时,适度增加实用性和技术性的选修课程,拓宽视野,各种课程尽可能与企业需求接轨,和企业共同研讨设置。到企业广泛调研,听取企业总管、车间主任、一线工人的意见,设置产教融合课程,由学校和企业共同编写教材,专业老师、企业主管及技术骨干共同授课。此项措施的实施能极大地激发学生的学习积极性。

2.3 创新学生培养模式 把学生管理由学校管理到校企共管,实现真正意义上的产教融合。走出去,请进来,开放式办学。为了培养学生的科研创新意识和实际动手能力,实行“3+1”授课模式,压缩学生在校理论学习时间,一些实训课搬到企业去上,由企业工程师或一线技术人员授课;药事管理和市场营销等课程由企业老总和市场总监“现教现卖”。整个教学过程都有企业参与,学生通过与药企的早期接触,产生感性认识,提前“上岗”。在学生自愿的基础上,与企业合作对接,设立企业课程,将企业理念、企业管理、企业文化等因素引入课堂。同时,将部分企业的研发项目和研发人员引入我校科研平台,共建产教融合研发平台,与我校教师共同担任学业导师,指导学生共同进行科研项目、生产工艺改进及产品研发。目前已有近30项课题通过开题报告,进入研发平台。

2.4 重视学生综合素质培养和提高 学生培养做到“德才兼备、以德为先”。为达到培养目标,在学生毕业前要完成“五个一”:开展一次志愿者活动;参与一次扶贫活动;参加一次交规执勤或宣传活动;举办一次医药法规宣传活动;进行一次市场调查,写一份市场调查报告或职业规划报告。这些活动的开展使学生增进了对各行各业人与人之间的理解和社会责任感。

2.5 改进考核模式 改进标准化考试模式,毕业考试将大学期间所学内容全覆盖。用两周时间,根据教师提供的原材料和仪器设备,把大学4年所学知识综合起来进行实验设计,完成两个(下转第67页)

以 OBE 为导向的情景模拟教学法在《基础护理学》实训中的应用研究

胡晓云, 乔美琪

(新乡医学院三全学院护理实验教学中心, 河南 新乡 453000)

摘要: 目的 研究以 OBE 为导向的情景模拟教学方法在《基础护理学》实训中对本科护生学习的影响及对护理本科生人才锻炼、培养的意义。方法 从 2017 级在校本科生中抽取 83 名护生对部分实训课内容采用情景模拟教学方法, 课程结束当场以问卷调查方式评估教学效果。结果 83.13% 的护生对情景模拟教学方法感兴趣; 91.57% 的护生认为此教学方法能够更有效地进行课前预习; 92.77% 的护生觉得通过此教学方法可以提高学习积极性; 79.52% 的护生很喜欢这种授课方式; 90.36% 的护生认为此教学方法能更好地掌握学习内容; 93.98% 的护生觉得此教学方法对以后临床实践更有帮助。结论 以 OBE 为导向的情景模拟教学法在《基础护理学》实训中的应用能更好地激发护生的学习积极性, 并能引导护生主动学习, 有助于护生对基础护理学实训课程知识的理解、把握和运用。

关键词: OBE; 情景模拟教学; 护理本科生; 基础护理学

中图分类号: G642.0

Application study of OBE-oriented scenario simulation teaching method in Fundamental Nursing Care

HU Xiao-yun, QIAO Mei-qi

(Nursing Experimental Teaching Center, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To study the effect of OBE-oriented scenario simulation teaching method on the learning of undergraduate nursing students in the practical training of Fundamental Nursing Care and its significance of training and cultivating undergraduate nursing talents. **Methods** 83 nursing students were selected from undergraduates in 2017 to adopt the scenario simulation teaching method for some practical training courses. At the end of the course, the teaching effect was evaluated by questionnaire survey. **Results** 83.13% of nursing students were interested in this teaching method; 91.57% thought it could be used for pre-class preparation more effectively; 92.77% thought that it could improve their learning enthusiasm; 79.52% showed their preference toward this method; 90.36% thought that it facilitated mastering the learning content; 93.98% thought it would be more helpful for clinical practice in the future. **Conclusion** The application of OBE-oriented scenario simulation teaching method in the practical training of Fundamental Nursing Care can better stimulate the learning enthusiasm and guide active learning of nursing students, which is helpful for their understanding, mastering and application of the knowledge learned in this course.

Key words: OBE; scenario simulation teaching; undergraduate nursing students; Fundamental Nursing Care

情景模拟教学方法符合现在教学改革的方向, 在其实施的过程中需要护生积极主动地参与, 这样可以激发护生学习的积极性, 与传统的教学方式相比, 学生更喜欢这样逼真的场景模拟学习方式。OBE (Outcome - Based Education)^[1] 是以成果为导向的教育, 是以学生为主体, 以成果为导向的反向设计理念。本研究以 OBE 为导向的开展情景模拟教学法, 以期提高学生的主动学习能力、教学效果^[2]。

1 研究对象及方法

1.1 研究对象

从 2017 级在校本科生中随机抽取 83 名护生,

他们均是通过全国普通高等教育考试统一招生入学的, 现是护理专业二年级学生, 其中男 14 名, 女 69 名, 年纪 18 ~ 23 岁, 平均年龄 (20.22 ± 0.95) 岁。本批护生体验过基础护理学实训课程传统的教学方式, 对于以 OBE 为导向的情景模拟教学法充满期待, 能更好的对两种教学方式做出对比。

1.2 步骤

1.2.1 情景设计 开始前, 以 OBE 为导向为学生列出教学目标。知识目标: 掌握操作项目整体流程, 熟悉操作目的、注意事项。情感目标: 提高护患沟通技巧, 能更好地与患者进行有效沟通。然后老师根据课程内容的要求选取实训操作项目并依照此项目

设计相关病例,由于本科二年级学生还未学习内外妇儿4门课程,老师需对案例的内容进行简单分析,提示学生角色如何分配。

1.2.2 学生演练 以小组为单位,每组3~5人,进行情景模拟,规定护生在一定时间(15 min)全面分析病例,结合理论知识和实训操作项目讨论角色的具体分配,这个过程中可以上网查阅相关资料,相互讨论,也可以咨询老师,要求将患者、家属、医生及护士的角色人物进行深度剖析并选出合适的护生来担任相应角色。角色分配好后每组人员现场进行演示,其中必须包含本次实验课的操作项目,并在演示过程中完成此项目。

1.2.3 总结 每组自行演示结束后,老师随机抽取一组护生进行场景模拟,其余组观摩并在结束后进行自评、互评及讨论,之后老师再对护生的表现进行评估。结合案例从护生的护患沟通、团队协作、操作

的规范性为护生进行全面总结、分析与指导(具体内容见表1),提出优点,指出并讲解不足之处,最后护生再次进行操作训练,以加深印象。在这个过程中学生的自评,互评及讨论非常重要,她们在模拟结束后,观摩同学已经可以发现较多问题,例如护士对患者解释不到位、患者对疾病所表现出的精神状态不合适、家属没表现出对患者的关心,护士操作内容有误等。这些问题的提出既可以帮助学生加深印象同时也提高了学习效率。而学生没发现的问题再由老师提示并指正,学生也会恍然大悟,记忆更加深刻。课程结束后会给学生布置作业,对实训内容进行总结,需要写出实训操作流程和反思,其中反思处需写出整个情景模拟过程出现的问题及改正后的效果,这样学生在课下又一次巩固了课程内容再次加深印象。

表1 护生情景模拟分析依据表

参考项目	依据(每个1分)					
	1	2	3	4	5	6
护患沟通(6分)	礼貌称呼	语言温和	神态亲切	目光柔和	解释到位	关心患者
团队协作(4分)	彼此信任	分工明确	配合默契	反应敏锐		
操作的规范性(5分)	整体熟练	核对全面	物品齐全	步骤完整	物品处理正确	

1.2.4 评价 课程结束后,当场以问卷调查形式进行无名调查。评价项目:A.你对情景模拟教学感兴趣吗;B.情景模拟教学法能让你更有效的进行课前预习吗;C.你觉得情景模拟教学可以提高学习积极性吗;D.你喜欢情景模拟教学法的授课方式吗;E.情景模拟教学法能更好的掌握学习内容吗;F.你觉得情景模拟教学法对以后临床实践更有帮助吗。

2 结果

发放问卷83份,回收有效问卷83份,回收率100%。调查结果见表2。

表2 情景模拟教学调查问卷表(n=83)

评价项目	同意人数(%)	一般人数(%)	不同意人数(%)
A	69 (83.13)	14 (16.87)	0(0.00)
B	76 (91.57)	7 (8.43)	0(0.00)
C	77 (92.77)	6 (7.23)	0(0.00)
D	66 (79.52)	16 (19.28)	1(1.2)
E	75 (90.36)	7 (8.43)	1(1.2)
F	78 (93.98)	5 (6.02)	0(0.00)

3 讨论

从护生反馈看,总体而言以OBE为导向的情景模拟教学方法适应教学改革要求,能更好地激发护

生学习兴趣,引导其主动学习、思考并能更好的掌握课程内容,完成教学目标,并对以后临床见习、实习更有帮助^[3]。在整个情景模拟过程,83.13%的护生对此教学法很感兴趣,他们认为这种授课方式更加生动有趣,使课堂气氛更加活跃,很多比较内向的学生也能融入进来。91.57%的护生觉得此方法比起传统能够更好地进行课前预习,在上课前,学生会根据实训操作内容有目的地自习,学习操作流程。92.77%的护生认为此方法能提高学习积极性,此教学方法涉及的内容比较广,不止是单一的操作,护生还需要分析案例,所以必须查阅相关理论知识,全面地做好课程预习。99.52%的护生很喜欢这种授课方式,他们认为这样的上课形式新颖有趣,很容易接受。90.36%的护生表示此授课方式能使他们更好地掌握学习内容,在整个过程中,学生经过准备阶段、演示阶段、自评互评阶段、讨论阶段及老师点评阶段,这5个阶段能使他们互相学习,查漏补缺,知识掌握的更加牢固,提高了学习效率^[4]。93.98%的护生认为情景模拟教学法对以后临床实践更有帮助。比起传统授课方式,此教学法更贴近临床,更具真实性^[5]。在进行模拟场景时,护生能够体会到每个人物角色的不同心理,尤其是患者及患者家属,有助于帮助护生培养移情的心理过程,更深刻地体会

理解每个角色的心理过程,起到提前适应临床环境的作用,提高了护患沟通技巧,逐渐学习处理护患关系,将来可以更加轻松的融入临床一线工作环境^[6]。

综上所述,以OBE为导向情景模拟教学方法在《基础护理学》实训课中的展开,护生在老师的引导下,把传统的课堂变为工作一线,帮助护生培养角色意识,更加现实地去看待问题,解决问题,同时有助于学生提高学习积极性与患者沟通的技巧,更好地掌握课程内容,适合广泛推广。

参考文献:

[1] 潘红平,江智霞,张亭亭,等.情景模拟教学法在《基础护理学》

实验教学中的应用[J].齐齐哈尔医学院学报,2012,33(14):1929-1930.

[2] 李慎刚,赵文,康玉梅.基于OBE理念的PBL教学法设计[J].当代教育实践与教学研究,2019,卷,2019(1):66-67.

[3] 汪艳,金宗兰,杨巧兰,等.情景教学法在护理教育中的应用及研究进展[J].现代医学与健康研究电子杂志,2018,2(20):137-138.

[4] 李威.虚拟现实技术背景下情景模拟教学法在护理学教学中的应用与改良[J].护理研究,2018,32(16):2649-2652.

[5] 梁春光,安辉,刘涛,等.PBL理念指导下的临床情景模拟教学效果评价[J].中国高等医学教育,2016(11):19-20.

[6] 彭小红,袁芳.情景模拟教学法在临床护理实践培训中的应用效果[J].当代护士(中旬刊),2019,26(4):156-158.

(责任编辑:高姿)

(上接第64页)

内容:一是完成从药材中活性成分提取分离、纯化、分析及颗粒制剂生产等过程,写出报告;二是根据提供的原料和试剂完成某一原料药的制备和产品制作,并用指定仪器进行成分含量测定及其他性质测试和鉴定,写出报告。通过实际的药物制备和质量检测,对学生所学的专业知识的系统性、关联性、实用性、技能性等进行连贯考核,为毕业后的工作奠定了扎实的基础。

3 结语

从生物医药产业发展特点和集群化态势可以看出,生物医药专业的技术应用型大学专业集群建设对产业集群发挥着重要的作用,是需要认真研究的一个课题^[6-8],但目前很少有生物医药专业课程集群化创新建设的报道。我们根据医药市场集群发展的趋势和需求,提出了生物医药专业集群建设思路,改革原有的课程体系,多专业融合,探索出一个适应市场需求的复合型人才培养模式。打破了原有的学生“温室培养”,改变授课形式和考试模式,企业深度参与学生的教育和教学,使学生早日走向社会,与市场接轨,提高综合素质和工作能力,以适应我国制药行业集群化、规模化发展需求。生物医药专业集群建设与人才培养,主要是科学的课程设置及构建

出科学合理的综合性人才培养体系。怎样把原有的不同专业的课程有机融合和规划也是首要解决的问题。同时,校企齐抓共管,建立双方深度融合的长效机制,也是保障生物医药专业集群建设的重要方面。

参考文献:

[1] 许吉黎,杨帆,薛德升.德国汉堡生物医药集群研发和商务知识的网络结构与空间流动[J].地理科学,2019,39(2):325-333.

[2] 叶敏忠,苏瑞波,冯方平.美国生物医药产业集群发展的经验模式及对广东省生物医药发展的启示[J].广东科技,2012,(15):20-21.

[3] 张思文,龚晓楠,赵迪.辽宁省生物医药产业集群SWOT分析及对策研究[J].时代经贸,2019,(32):58-59.

[4] 邵荣祯,邢潇倩,褚淑贞.江苏省生物医药产业集群竞争力研究[J].中国药业,2018,27(19):69-72.

[5] 江育恒,赵文华.研究型大学在区域创新集群中的作用研究:以美国五大生物医药集聚区为例[J].高等工程教育研究,2017,(5):102-108.

[6] 连桂玉,杨莉,陈玉文.我国生物医药产业集群建设研究[J].科技管理研究,2012,32(8):98-100.

[7] 朱艳梅,席晓宇,褚淑贞.我国生物医药产业集群的影响因素分析[J].中国新药杂志,2013,22(8):900-904.

[8] 裴志东,张慧,谢明.生物医药产业集群发展中创新集群的建设对策[J].中国卫生产业,2015,(10):55-56.

(责任编辑:刘鹤香)

高等职业教育差序格局视角下的身份危机与消解

吴泽杰, 曹便利, 李 恒, 张俊丽, 贺志安

(新乡医学院三全学院医学检验学院, 河南 新乡 453000)

摘要: 我国高等职业教育面临着身份弥散与认同度较低的身份危机,这在一定程度上与中国传统社会差序格局的投射现象相关。差序格局是形塑高等职业教育身份的文化力量,但也带来相应的负面效应。为此,应通过建立稳定的身份、优化竞争-分层关系和增强高等职业教育的适应性等措施来消解高等职业教育的身份危机。

关键词: 差序格局;高等职业教育;身份危机;团体格局

中图分类号: G646

Identity crisis and elimination of higher vocational education from the perspective of differential sequence pattern

WU Ze-jie, CAO Bian-li, LI Heng, ZHANG Jun-li, HE Zhi-an

(School of Medical Laboratory Sciences, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: Higher vocational education in China is facing crisis of low identity and low recognition, which is related to the projection of the traditional pattern of social disparity in China to some extent. This differential pattern is a cultural force shaping the identity of higher vocational education, which also brings corresponding negative effects. Therefore, the identity crisis of higher vocational education should be eliminated and resolved by establishing stable identities, optimizing competition-stratification relations and enhancing the adaptability of higher vocational education.

Key words: differential pattern; higher vocational education; identity crisis; group pattern

高等职业教育是我国现代高等教育体系的重要组成部分,是推进高等教育大众化发展的主要力量^[1],在人才培养模式、方法与手段等方面有别于“以学术目的为主”的普通高等教育,承担着培养高级技术技能型人才的使命,具有独特的文化身份与存在价值。1985年《中共中央关于教育体制改革的决定》颁布,之后多项政策法规的出台,使高等职业教育在法律、政策层面的合法性身份逐步确立。但是高等职业教育仍然不是社会公众的自觉之选,未能获得文化、认知层面的高度认同,面临着严重的身份危机。本文认为,身份的概念是广义的,包括“本体”与“关系”两个维度,既指身份的本来意义与文化归属(“是谁”的问题),也指与他者的关系定位(地位、等级、姿态以及他者的认可度)。而由于无法取得一种确定的身份而造成的身份弥散,以及难以获得“多重他者”的自觉认识和肯定,都属于一定的身份危机。对于文化研究而言,身份是一种文化的建构,因为形成身份要素的那些话语源泉在性质上是文化的^[2]。身份危机其实是各种文化要素在个体塑造过程中的交叉与碰撞,因而,高等职业教育身份危机的出现,不得不从中国本土文化传统与社

会结构——差序格局中探寻原因与应对之策。

1 差序格局:形塑高等职业教育身份的文化力量

1.1 差序格局概念

1947年,费孝通在《乡土中国》一书中首次提及差序格局,但他并未进行明确、严格的学术界定,而是借助水波纹式的结构,作以叙事式的描述,呈现出一幅动态直观图,形象生动地比拟了差序格局的多维内涵,也给学术界留下了充分的探讨空间。费孝通^[3]认为:“我们的社会结构……好像一块石头丢在水面上所发生的一圈圈推出去的波纹,每个人都是他社会影响所推出去的圈子的中心。”为了更加清晰地表述中国社会的特点,费孝通采用了比较研究法,以西方社会结构——团体格局(西洋的社会有些像我们在田里捆柴,几根稻草束成一把,几把束成一捆,几捆束成一挑……,这些单位就是团体……我们不妨称之为团体格局)为镜鉴,反观中国的社会现象,将差序格局的概念置于中西方对比的框架之下进行明确区分。可以说,差序格局是描述中国社会结构的本土社会学概念,由费孝通独创,并为国

收稿日期:2019-12-16

基金项目:河南省医学教育研究项目(编号:WJLX2018121),新乡医学院三全学院教改立项(编号:200708)。

作者简介:吴泽杰,女,助教,本科,研究方向:临床生物化学检验,E-mail:466723774@qq.com。

际社会学界所广泛接受。此外,差序格局是一种客观存在的社会结构,本身并无褒贬之分,也不必然意味着落后。

差序,即为儒家思想中的“伦”,也就是一种有差等的次序。差序格局是个立体的结构,既包含横向的、弹性的以自我为中心的“差”,也包含纵向的、刚性的等级化的“序”^[4]。由此,差序格局主要有以下几方面的社会学含义:一是以“己”为中心,与“己”有利益关系的个体散落在各个等级圈中,远近亲疏有异;二是等级分化,身份地位有尊卑贵贱之别;三是秩序固化,人治色彩浓厚。

1.2 差序格局对高等职业教育的形塑作用

1.2.1 厚植文化土壤,形塑高等职业教育的身份文化

差序格局表征着中国深厚而又独具特色的社会结构,是一种具有强大生命力的传统文化。以“己”为中心、以“伦”为基石的差序格局具有典型的身份特性,身份、等级文化在中国社会的差序格局当中是一种显性文化,看重身份、注重等级的观念早已根深蒂固。基于传统文化与社会构型下,作为社会活动的高等职业教育同样受到潜移默化的影响,并被赋予一定的身份特性。此外,身份是以有意识的具体的特定文化构型为基础的社会认同^[5],社会公众对高等职业教育的认可程度,深受社会传统文化背景的影响。因此,差序格局与高等职业教育身份的形成有着较强的关联性,中国传统社会的差序格局是形塑高等职业教育身份的重要文化力量。

1.2.2 营造文化氛围,孕育高等职业教育的先赋身份

就高等职业教育而言,其先赋身份则是指经由代际传承下来的历史身份。1902 - 1904年的“壬寅一癸卯”学制规定了近现代意义上最早的高等职业院校——高等实业学堂,并与高等学堂在横向上平行存在。由此,高等职业教育从隐性形式进入国家学制,在规上获得正式身份。但是其先赋身份的形成并不仅限于此,而是受到几千年来的社会文化的影响,尤其是中国传统社会的差序格局的作用。技艺传授、技能教育获得相对较低的身份地位和社会认同,经由代际传承,便对高等职业教育的先赋身份造成深刻影响。

1.2.3 内含文化动因,暗合高等职业教育的身份建构逻辑

差序格局强调以“己”为中心,没有“己”的存在,维系格局的关系也不会产生^[6]。高等职业教育除了拥有先赋身份以及由国家在政策层面赋予的标签化身份之外,最重要的还在于对自身身份的认知、打造与调试,这是一个主动建构的过程。也就是

说,高等职业教育要在本体框架中定位自我身份,并形成持续发展的自我,以满足远近、大小利益圈层对自身的身份期望。同时,与差序格局的维系机制相同,高等职业教育通过对自身身份的建构,有可能实现向上的社会流动,从而提高自身的地位与公众认同度,占有更优质的资源和更高的话语权。

2 身份危机

高等职业教育身份的形成暗含着根深蒂固的差序格局思想。在文化传统、政治体制等因素的影响下,独具中国特色的差序格局一方面塑造着高等职业教育的本土文化身份,另一方面也导致一定的身份危机。差序格局是基于权利和资源配置而形成的立体结构,在很大程度上驱动着高等职业教育的身份建构,也难免催生高等职业教育在“差”格和“序”格上的身份危机。身份危机包括两种具体的指向:一是自我内在的认知不明,二是社会意义上的群体性认同感较低。

2.1 “差”格——横向类别身份的趋同化

《现代职业教育体系建设规划(2014 - 2020年)》指出,职业教育的层次结构包括初等职业教育、中等职业教育和高等职业教育。高等职业教育是在办好现有专科层次的高等职业学校基础上,发展应用技术类型高校,与其他普通本科学校具有平等地位。就理论上而言,高等职业教育与“以学术目的为主”的普通高等教育属于横向类别上的划分,二者拥有各自的利益圈层,承担着不同的教育使命。然而强势的分层关系导致了对横向分类的僭越,使得原本就重分层轻分类的情况更为加重,社会公众更加忽视其中的横向分类。因此,为增强资源获取和生存能力,获得与普通高等教育同样的社会地位与认可度,高等职业教育在不断地进行着自我身份的建构,但马丁·特罗^[7]提出,高等教育的竞争一方面越来越导致多样性,另一方面又越来越导致同一性。长此以往,除了在学制上有所不同外,高等职业教育在课程内容设置、人才培养模式等方面,逐渐与普通高等教育趋于同形。例如,多数高等职业院校热衷于“升格”为普通大学,获取全新的后致身份(与先赋身份相对)。但由于急于撇清原有的高等职业教育身份,以新角色获取新的竞争地位,导致办学特色不明显、专业设置趋同等一些普遍存在的问题,反而使得高等职业教育的生命力与核心竞争力有所下降。高等职业教育与普通高等教育在横向类别身份上的趋同化,使其丧失了对本体身份的

认知,这是高等职业教育在自主建构身份的过程中造成的身份弥散。

2.2 “序”格——纵向等级身份的凝固化

如前所述,身份除了涵盖事物的“本来意义”之外,还包括“等级”“地位”等内容,这与社会意义上的群体性认同紧密相关,社会等级观塑造了高等职业教育身份的“序”格,主要体现在以下方面。一方面,定型观念造成的等级身份凝固。受传统观念的影响,现代社会仍然是一个讲究身份的时代,人们总在心理层面带有与身份相连的一种情结——身份情节。传统社会的差序格局孕育了高等职业教育的先赋身份,几千年来,“技艺为末”的思想、“重学轻术”的思想为高等职业教育贴上“二流教育”、“次等生的教育”等身份标签,社会地位不断受到贬损。由此,文化渊源与历史传统使公众对高等职业教育的集体记忆产生定型观念(stereotype),以较低层次的等级身份而存在。另一方面,管理层面上的问题加固了等级层次的划分。例如高等职业教育在教育管理体制结构中低于普通高校,在高考招生中被放置于后面批次,这在一定程度上向社会公众暗示着高等职业教育相对较低的社会地位。诚然,等级层次的划分在缓解高等教育资源约束、实施重点工程加速推进“双一流”建设等方面成效明显,但也助推了等级层次的划分,如“国家示范性高等职业院校计划”则为高等职业教育内部等级的划分奠定了基础。

3 消解路径

身份发展和演化到一定程度,就会出现另一种状态,即身份危机,身份危机的出现促使其进入一个新的建设阶段,并且是一个新的身份、角色或状态的开始。与中国社会的差序格局相比,西方社会的团体格局的特点为无中心、泛中心、多中心,在地位上无绝对的差等分别。在思考如何消解高等职业教育身份危机等问题时,不妨引入西方团体格局的思想。

3.1 建立稳定的身份

高等职业教育的身份定位,来源于复杂的社会关系及层次网,身份认同找到了,就能够形成稳定的、可持续性发展的自我。因此高等职业教育建立稳定的身份,不仅仅有益于自身发展,同样对社会大环境也有深远影响。差序格局下赋予的高等职业教育身份及其带来的负面影响也需要新的结构性的身份予以消除,即从国家层面出发,从顶层认可并规范高等职业教育在教育体系中的地位与作用。只有这

样高等职业教育才能跳出原有教育格局,摆脱目前的发展困境。2019年1月,《国家职业教育改革实施方案》的出台,其中表示要完善现代职业教育体系,健全国家职业教育制度框架,建设多元办学格局。多元化的人才未来社会所需的。因此我国高等教育的发展必须以“二元重点发展”为目标,创建普通高等教育与高等职业教育协同发展模式,培养不同类型的人才,除运行方式和路径不同外没有层次高低之分。为此,应从以下两个方面建立学制框架。一方面应建立复杂有序的教育联结系统。高职教育不仅肩负着培养技术人才的重要任务,也是实现我国高等教育由大众化向普及化过渡的重要载体。职业资格证书与岗位胜任能力要匹配,学历教育与职业资格证相互认可,建成满足社会需求的高等职业教育是我们努力实现的目标。另一方面要建立“高职专科—技术应用型本科—专业学位研究生”的高等职业教育体系,找准高等职业教育的定位,明确发展的方向。

3.2 优化竞争—分层关系

普通高等教育与高等职业教育之间,异质性的分层会强化其中的资源争夺和恶性竞争,放任其不平等竞争,甚至放任它对社会地位分配和职业阶梯体系的构建等产生强大的影响力,则会更加固化其中的恶性竞争。基于职业性高等教育的“高等性”内涵,高等职业教育不再呈现出“本科压缩饼干”或“次高等性”的尴尬样态,而是趋向走特色发展之路的全新样态。这一样态在学术氛围、大学精神内核、培养目标定位等方面都将散发出全然不同于普通高等教育的气息和特质^[8]。鼓励同类高校之间的竞争则更有益于相互成长。而目前衡量高等学校优劣的标准从高等学校的质量和水平变成了所属的学校类型。从长远及可持续发展的眼光来看,重构高等教育之间的结构,优化竞争—分层的关系,对高等职业教育的发展具有重大意义。而优化其中的竞争—分层关系,加大分类管理的力度需要依靠中国教育行政部门,因为他们才是高等教育格局变革中起主导作用的主力军。优化竞争—分层关系需要考虑以下两个方面:一是为防止异类竞争同时鼓励同类竞争,需建立分类管理相关制度;二是为保证同类竞争健康有序的运行,还需建立完善的分类评价体系。

3.3 增强高等职业教育的适应性

文化活动本质上是一种利益活动,利益的必要性源于需要^[9]。显而易见,高等职业教育属于一种文化活动,其身份定位需依据各文化利益主体的需

要。根据适者生存理念,现代高等职业教育出现了身份危机,而该危机的出现就源于其无法满足各文化利益主体对高等职业教育的需要。如医学检验技术专业职业教育需要改变传统、滞后的培养目标定位,应以就业为导向,不断满足医学检验发展的人才需求,不拘泥于原本的医院检验科模式,主动适应新环境下如第三方实验中心、检验仪器和耗材试剂的生产销售、“维修工程师”等,以逐步达到提升检验人员素质、优化产业人员结构的目的^[10]。为此要推进高等职业教育的市场化,增强高等职业教育的适应性,主要体现在办学理念与定位、专业设置与发展、课程整合与开发、师资引进与培养、实训基地建设、校企合作等诸多方面。高等职业院校定位的出发点是要强调市场特色及社会价值,社会价值的大小,培养出适应社会需求的专业技术技能型人才。办学有特色,且能推动地方经济健康可持续发展,才能得到政府、行业、社会等教育消费者的认同。只有这样才能打开高等职业教育的生源市场和就业市场,才能提高高等职业教育的核心竞争力,使家长、学生和社会各界等对高等职业教育有充分的认知,进而产生对高等教育人才培养质量、人才培养的岗

位胜任力、就业率及社会价值等的认同。

参考文献:

- [1] 潘懋元. 高等职业教育:体系、定位、发展与模式(笔谈)[J]. 教育研究,2005(5):26-29.
- [2] C. Barker. The SAGE Dictionary of Cultural Studies[M]. SAGE Publications,2004:93.
- [3] 费孝通. 乡土中国[M]. 上海:上海观察社,1947:24,23.
- [4] 廉如鉴.“差序格局”概念中三个有待澄清的疑问[J]. 开放时代,2010(7):46-57.
- [5] [美]弗里德曼,郭建如译. 文化认同与全球性过程[M]. 商务印书馆,2004:356.
- [6] 叶桂仓,马陆亭. 文化影响与道路选择:我国高教研究学科化的差序格局解释[J]. 江苏高教,2017(3):10-14.
- [7] 伯顿·克拉克等著,王承绪等编译. 高等教育新论——多学科的研究[M]. 杭州:浙江教育出版社,1998:183.
- [8] 匡璞. 高等职业教育的“高等性”之感及其当代破解[J]. 华东师范大学学报(教育科学版),2020,38(1):12-22.
- [9] 谭培文. 马克思主义的利益理论[M]. 人民出版社,2002:24.
- [10] 李玮玮,江海东,廖奔兵. 高职医学检验技术专业人才培养现状和创新探索[J]. 卫生职业教育,2016,34(2):8-10.

(责任编辑:袁会峰)

2020 年大健康产业未来已来

人民健康是民族昌盛和国家富强的重要标志,预防是最经济最有效的健康策略。近日,国家出台了《健康中国行动(2019—2030年)》等相关文件,围绕疾病预防和健康促进两大核心,提出将开展15个重大专项行动,促进以治病为中心向以人民健康为中心转变,努力使群众不生病、少生病。

政策支持下,中国大健康产业市场前景广阔,大健康产业包括医疗服务、医药保健产品、营养保健产品、女性产后健康服务、休闲保健服务、健康咨询管理等多个与人类健康紧密相关的生产和服务领域。大健康产业不同于传统医疗产业发展模式,是一种从单一救治模式转向“防一治一养”一体化模式。

2019年数据显示:中国人健康大数据不容乐观,疾病总人口和发病率数据超乎你的想象。慢性病患病率已达23%,死亡数已占总死亡数的86%。过去十年,平均每年新增慢性病例接近了2倍。心脏病和恶性肿瘤病例增加了近1倍。慢性病、恶性肿瘤将成为威胁中国人健康的致命因素,70后、80后已经成为癌症青睐的对象了。一项保险行业的数据显示,重大疾病平均索赔年龄是42岁。女性易得妇科疾病;男性面临猝死、过劳等问题;慢性病患病率已达20%,死亡数已占总死亡数的83%。

目前,我国大健康产业发展处于初级阶段,具有巨大的市场潜力,美国著名经济学家保罗·皮尔泽曾将其称为继IT产业之后的全球“财富第五波”,特别对于中国来说,目前“健康中国”战略进一步提升了大健康产业的地位,未来大健康产业前景光明。随着健康中国战略的持续推进,健康产业正在逐渐占据顶层设计的重要位置,成为各方资本竞相追逐的朝阳产业。

摘自:腾讯新闻

供稿人:陈圆圆

大学英语分级教学背景下的翻转课堂教学可行性研究—以新乡医学院三全学院为例

张松竹

(新乡医学院三全学院外语系,河南 新乡 453000)

摘要: 在全国各高等院校不断推行教学改革和创新的背景下,适应创新潮流、摸索新的教学方式并进行教学改革已成为高等院校各学科继续发展的必由之路。大学英语教学在教学改革和创新方面从没有停止过探索。为进一步提升教育水平、进一步提升学生对英语学习的积极性和有效性,新乡医学院三全学院外语系积极探索并引入新的大学英语教学方法,在实行分级教学改革的基础上引入“翻转课堂教学”。通过探索该教学模式在民办高校大学英语分级教学背景下的可行性,帮助学生在不断提升英语学习能力的基础上更好地适应不断发展的社会需求。

关键词: 大学英语;分级教学;翻转课堂教学

中图分类号: G642.0

Research on the feasibility of flipped classroom teaching under the background of level-based College English teaching—Taking Sanquan College of Xinxiang Medical University as an example

ZHANG Song-zhu

(Foreign Language Faculty, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: In the context of the continuous implementation of teaching reform and innovation in various colleges and universities across the country, adapting to the trend of innovation, exploring new teaching methods and implementing teaching reforms have become the only way for the disciplines of higher education to continue to advance and develop. College English teaching has never stopped exploring in terms of teaching reform and innovation. In order to further improve students' enthusiasm and effectiveness in English learning, the Foreign Language Faculty of Sanquan College of Xinxiang Medical University actively explores new methods of college English teaching, and introduces the "Flipped Classroom Teaching" under the background of level-based English teaching. Through exploring the feasibility and effectiveness of this teaching model in the context of college English teaching in private colleges, the project aims to help students better adapt to the evolving social needs on the basis of continuous improvement of English learning ability.

Key words: college English; level-based teaching; flipped classroom teaching

伴随全球范围内信息技术的不断发展,国内外各层次院校都在不断推进教育教学改革。《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020)》指出,要“把改革创新作为教育发展的强大动力^[1]”。在此背景下,新乡医学院三全学院在教学方面也不断进行探索并实施教学改革。自2014年开始实施大学英语分级教学改革以来,积累了一定的经验。在此基础上,外语系不断进行新的探索,进一步实施新的教学改革,引入“翻转课堂教学模式”。通过研究翻转课堂教学模式在民办高校大学英语分级教学背景下的可行性及适应性,帮助学生在不断提升英语学习能力和水平的同时,实现学生自身个性化、特性和区别化的发展。

1 大学英语分级教学

大学英语教学是中国高等教育体系的一个有机组成部分。但是各地区教育资源的不均衡分布,导致学生个体差异较大。以新乡医学院三全学院为例,作为一所生源丰富的医学类独立院校,大班授课的情况比较普遍。庞大的班级规模导致教师在组织授课时面临许多困难。除此之外,目前国内高校大学英语教学中普遍存在的一些共性问题也使得分级教学改革势在必行。

首先,班级规模过大,影响教学效果。大学英语对课堂容量有较高的要求。小班授课可以让老师尽可能多的关注到每一个学生,也可以让尽可能多的学生参与到课堂学习中。但是伴随高考扩招,接受

收稿日期: 2019-11-12

基金项目: 新乡医学院三全学院2017年校级教学研究与改革一般项目(编号2017029)。

作者简介: 张松竹,女,硕士,讲师,主要从事英语翻译理论与实践、大学英语教学与研究, E-mail: 641996841@qq.com。

高等教育的学生越来越多,而高校师资力量却不能随之大幅度增长,因此很多高校不得不通过扩大班级规模来应对。大班授课对大学英语授课造成了直接的负面影响:教师在授课时需要付出的关注度越来越多,分配到每位学生身上的关注度却越来越少;课堂上师生无法有效互动,学生兴趣缺失,教学效果越来越差;课下学生作业无法及时全面批改,部分学生无法认识到自己学习中的具体问题,生生差距越来越大。同时,同一班级学生学习程度差距过大,迫使教师把更多关注放在学习程度中等和较差的学生身上,导致课堂教学进度整体推进缓慢。

其次,传统教学模式老套,无法迎合学生兴趣。网络信息技术的不断发展给学生们提供了越来越多接受新知识和新学习方法的渠道。除课堂知识外,学生还可通过网络、手机软件、微信公众号、自媒体等各种渠道接收新的信息和知识。但是,传统的教学方法,一方面容易让学生失去学习兴趣,另一方面容易让学生养成依赖心理,缺少自主学习意识和独立承担学习责任能力。大学英语在大学阶段中仅持续4个学期,但在以后的学习和工作中却发挥着极为重要的作用。要让学生在较短的时间内掌握应对未来工作和学习的语言知识和技能,依靠传统教学模式下的大班教学显然难以实现。

新乡医学院三全学院外语系于2014年开始探索并实施大学英语分级教学改革。具体实施措施如下:新生入学两周内组织大学英语分级考试。考试结束后,根据学生分级考试的成绩,将学生编入A、B、C 3个级别的班级。除第一次分级在学期初外,每学期结束时按照学生在期末考试中的表现再次进行分级。通过适时调整班级人员,高进低出,在激励学生努力学习不掉队的同时最大限度的保证同一水平的学生可以获得相应水平的教育。

针对3个不同层次班级的学生,具体的授课方法和授课重点也有所不同:A级学生一般已具备较为扎实的语言素质且学习态度较为端正,能够做到自主主动学习,因此,课堂重点放在鼓励并创造条件让学生积极表达和团队协作方面。通过在课前借助“雨课堂”进行自主预习与自学、presentation、演讲、辩论,课中在教师引导下进行小组讨论以答疑解惑,课后借助“U校园”学生版进行在线测试等形式让学生在学以致用的同时不断提高其自主学习能力、语言输出能力、团队协作能力和辩证思维能力。B级学生通常已具备一定的英语基础能力,学习态度较为端正,但缺乏自主学习的能力,因此在教学过程

中需侧重课前预习和课中巩固:课前教师可通过提前布置预习作业(观看知识点相关短视频、完成课前测试等)的方式让学生主动去探索;课中教师在帮助该部分学生继续巩固听、说、读、写、译五个方面综合能力的同时,尝试通过丰富课堂活动、以及合作式学习和反思性学习等方法增加其语言实践的机会,调动学生在英语学习过程中的主动性和创新性,提升B级学生对英语学习的兴趣和爱好。C级班学生由于人数较多,且在英语基础知识和能力方面较为薄弱。在具体的授课过程中选择采用传统的教学模式,以课本为依托,从单词、表达、段落和课文的分析入手,并通过设置与其语言学习能力相匹配的任务,让他们在完成后获得成就感的方式帮助他们逐渐建立并增强其学习英语的自信心和决心,帮助C级学生逐步稳定地提高英语水平。

2 翻转课堂教学模式

翻转课堂(Flipped Classroom/Inverted Classroom),又称反转课堂或颠倒课堂,是指在信息化环境中,课程教师提供以教学视频为主要形式的学习资源,学生在上课前完成对教学视频等学习资源的观看和学习,师生在课堂上一起完成作业答疑、协作探究和互动交流等活动的一种新型的教学模式^[2]。简言之,就是老师在课前将课堂的主要内容以微视频的形式进行录制并上传至网络,学生借助互联网在课前进行自主学习并完成相应的练习。

相对于传统的教学模式,翻转课堂教学具备以下特点:首先是授课流程的翻转。翻转课堂教学将传统课堂“课堂讲解—课后讨论”的授课流程反转为“课前自学—课堂讨论^[3]”,让学生在课前通过网络自主学习课本内容,到了课堂上则针对自己在自学中不懂的题目进行自主讨论。这种模式不仅可以督促学生更加充分地利用课前时间,帮助其养成良好的学习习惯,还把课堂更多的还给了学生,让学生自己学、主动学,培养其独立思考和自主学习的能力。其次是教学过程中师生角色的翻转。翻转课堂教学的课堂主体不是老师,而是学生;课堂内容不是老师对知识的逐字逐句讲解和学生的被动接受与记忆,而是学生的主动讨论和在教师引导下的答疑解惑。再次是教学工具的翻转。传统的教学模式多以黑板或多媒体课件为主要教学工具。此类教学工具不仅容易受到各种客观条件的限制而使教学活动难以展开,而且往往具备一次性的特点,不便保存且无法重复使用,因而不利于学生的复习和对知识点的

巩固;翻转课堂教学则充分利用当前互联网技术迅速发展的优势,不仅使授课不受时间和地点的限制,让学生可以充分利用碎片化时间来进行随时随地的学习,并可以通过学习社区进行学习交流、沟通探讨;同时,PPT课件和视频资料一方面可以利用手机移动端随时进行播放;另一方面,其可重复性及便于保存的特点让学生可以多次观看并有针对性的查漏补缺,让学生的学习真正做到了“由传统向现代、由封闭向开放、由实体向虚拟”的突破。

3 大学英语分级教学背景下的翻转课堂教学及具体实施策略

新乡医学院三全分级教学自2014年开始实施,积累了一定的经验,也取得了一定的效果。在此基础上,一线教师于2017年在继续积极探索在分级教学的背景上引入翻转课堂教学的可行性及其具体效用,这对外语系承担大学英语教学任务的老师来说既是机遇,亦是挑战。

首先,确定研究对象。新乡医学院三全学院设有临床医学、护理、检验、影像等二十多个专业。各专业学生在人数和学习成绩方面均存在较大的差异,比如说,临床医学专业的学生人数较多且学习程度普遍较好,学校也为临床医学专业部分优等生专门设置有卓越班;而一些相对较小的专业学生人数较少且录取分数相对稍低。这些班级的学生均不具备普遍性。因此,本次教学实验选取了专业人数相对较多且学生成绩具有普遍代表意义的2017级护理专业49-56班和57-64班两个大班的学生为研究对象。然后,依据学生在分级考试中的成绩并参考高考英语成绩对其进行横向和纵向的分级分班:不同教学模式(翻转课堂教学模式和传统模式)同一学习水平(A级)编为实验一(A)班(即49-56班A级)和实验二(A)班(即57-64班A级),相同教学模式(翻转课堂教学模式)不同学习水平(A、B、C)编为实验一(A)班(即57-64班A级)、实验一(B)班(即49-56班B级)和实验一(C)班(即57-64班C级),以确保试验结果的可对比性及科学性。

其次,准备并开展具体的教学实验。在学期初开展师生访谈,倾听学生的声音,从学生的角度了解影响大学英语教学质量和学生英语综合能力水平的因素。在此基础上制定具体的教学改革实验方案并付诸实施:针对使用翻转课堂教学模式的三个实验班级,首先在教学过程中引入学堂在线与清华大学

在线教育办公室共同研发的智慧教学工具“雨课堂”和外研社Unipus旗下的在线学习平台“U校园”APP。使用雨课堂,教师可以将带有MOOC视频、习题、语音的课前预习课件推送到学生手机,让师生之间的沟通与反馈更加及时全面;U校园为大学英语教学提供教、学、评、测、研一站式混合教学解决方案,既为学生提供了随时随地学习、练习和测试的工具,也为老师提供了实时监测学生学习和进步的工具。两种学习新工具引入到大学英语的课堂教学,使得翻转传统的“课堂教师讲授,学生被动接受—课下学生谈论,被动完成作业”的教学模式得以实现:课前,授课老师在糅合单元重点、难点及新知识的基础上创建PPT、制作短视频和课前在线测试内容并上传至“雨课堂”微信公众号,让学生利用课余时间预先了解该单元的新知识与重难点,并要求其在完成新的课程内容学习后自主完成在线测试。课中,将学生划分为若干小组并以小组为单位在课堂上进行课堂活动展示、讨论、交流与反馈。课堂活动展示主要以小型演讲、分组辩论等形式进行展开;讨论和交流内容包括学生在自主学习时所采用的策略、自己在课前自学中发现的问题和难题、学习材料的难易度及自我效能感等。反馈则重在处理学生在预习时遇到的难题,特别是在经过课堂讨论仍无法解决的难题,需要教师给出进一步的指导后学生自行进行进一步的探索。通过课堂上师生、生生之间的互动交流、合作、共享与讨论,真正做到对新知识的完全理解和熟练掌握。课后,师生、生生协作互动:学生需在规定时间内通过手机或电脑客户端完成教师发布在U校园学生版APP上的单元测试;教师对学生成绩进行归档,详细分析并总结学生在本单元的学习中反映出来的共性问题,然后适当调整下一单元教学工作的侧重点;小组各位成员对各自对本单元的学习和任务完成情况进行自评和互评,同时每位学生将通过与小组成员交流所获得的知识进行归纳整合,并做出口头和书面报告。

最后,记录并归档学生表现和成绩。参与翻转课堂教学实验的学生最终成绩由两部分组成,在档案记录上显示为平时成绩和期末考试成绩。其中平时成绩由学生课前预习情况、课前在线测试成绩、课堂出勤、课堂活动参与度、U校园平台自主学习时长及任务完成情况、网络单元测试、学生自评互评等几部分组成,占最终成绩的30%;期末考试成绩主要有听力成绩和笔试成绩两部分组成,占最终成绩的70%。

教学实验结束后,对参与教学改革实验的学生发放调查问卷并选择部分学生进行访谈。问卷调查主要包括两个部分:第一部分为学生的基本信息,第二部分为封闭式问题和开放式问题的结合,以了解学生对分级教学和翻转课堂教学的具体理解和接受情况、学习时间、学习内容、学习过程与效果,并通过开放式问题的设置从学生的角度了解本次教学改革实验中存在的一些问题及改进的方向。访谈的问题则围绕参与教学改革后的学习时间、学习动机、学习内容、学习效果等几个维度进行,以了解学生参与教学改革试验的具体感受。

4 分级教学背景下翻转课堂教学的效果及思考

经过四个学期的教学实验,通过对比参与教学实验的四个班级学生在课堂活动上的参与程度、小组项目的完成情况以及部分学生在演讲比赛等活动上的表现和实验班级学生期末考试成绩可以看出,本次在新乡医学院三全学院实行的分级教学背景下翻转课堂教学改革对于满足学生个性化学习的需求、培养学生自主学习和独立思考能力以及提升学生英语语言综合应用能力方面是比较成功的:入学时同一学习水平采用不同教学模式的班级(A级班)相比,采用翻转课堂教学模式的班级学生成绩进步幅度更大。采用翻转课堂教学模式的不同学习水平的学生学习成绩也有一定进步,但相对来说A级班同学更加适应该教学模式且进步幅度更加明显。大多数A班同学表示通过参与翻转课堂教学活动,可以帮助提高自己的自主学习能力和独立思考的能力,特别是对自己的口语表达方面提供了更多训练的机会。B级班部分同学表示在该教学模式下学习较为吃力,课堂上往往不能准确表达自己,特别是在听说方面较为欠缺。多数C级班学生表示适应该教学模式比较困难,特别是在课堂讨论环节,薄弱的听说基础导致他们甚至无法参与其中。

本次教学改革取得了一定的成效,但其中也存在一些问题,需要我们在以后的教学改革和实践中加以考虑和借鉴。首先,就新乡医学院三全学院大学英语教学而言,虽分级后班级规模缩小,班级人数

也有了较大幅度的减少,但由于硬件设施、师资力量的限制,经过分级后各班级人数仍超过60人,多数班级人数仍保持在80人以上,距最佳授课师生比仍存在较大的差距。过多的班级人数和有限的课程时间,再加上学生自身的惰性等原因,使得部分同学无法全身心的参与到课堂活动中去,而是过度依赖小组其他成员,导致自身训练不足。其次,针对不同专业、学习能力水平的学生,教师在具体的课堂实践中应做出不同的调整,做到充分考虑学生的专业特点差异和学习者的具体学习水平。最后,教师在微课制作方面的能力和水平需进一步提高。部分教师在PPT、短视频制作等方面缺乏经验、专业技术方面能力不足,制作的部分微课视频质量不高,存在短视频时间把握不准确、画质声音不够清晰、重难点不够突出、讲解语言不规范、缺乏感染力以及过于注重知识性而忽略了趣味性等问题。

5 结语

“路漫漫其修远兮,吾将上下而求索”,大学英语改革的道路既阻且长。作为大学英语教学的一线教师,既要看到翻转课堂引入到独立院校大学英语分级教学在帮助学生的在不断提升英语学习能力和水平的同时帮助实现其自身个性化、特性和区别化的发展方面的积极意义,也一定不能忽略在教学改革实验中出现的课堂合理容量、学生的个性化学习以及教师课前资料准备等一系列的问题。只有正视这些问题并积极地寻求解决的方法,才能为持续进行中的大学英语教学改革提供更多的参考和借鉴,从而切实推动大学英语课程体系构建的深入发展。

参考文献:

- [1] 国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010-2020年). 中华人民共和国教育部. 2010.
- [2] 钟晓流,宋述强,焦丽珍. 信息化环境中基于翻转课堂理念的教学模式研究[J]. 开放教育研究, 2013(1):58-64.
- [3] 李艳平. 基于翻转课堂的大学英语分级教学模式建构[J]. 全球教育展望, 2015(6):113-119.

(责任编辑:陈圆圆)

在临床生物化学检验实验课中采用 PBL 教学方法的应用

贾克利¹, 王卫芳¹, 尤亚睢², 李家磊¹, 胡 森¹

(1. 新乡医学院三全学院医学检验学院, 河南 新乡 453000; 2. 新乡医学院三全学院医学影像学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 研究临床生物化学检验实验课中采用 PBL 教学方法的效果。**方法** 随机抽取新乡医学院三全学院医学检验技术专业 100 名学生作为研究对象, 将其均分为对照组和实验组, 分别采用传统的讲授法和 PBL 教学方法进行授课, 最后对各个小组成员进行实验考核。**结果** 实验组同学的平均分数高于对照组。**结论** PBL 教学方法在该课程实验教学过程中具有应用价值。

关键词: PBL 教学方法; 临床生物化学检验; 医学检验技术

中图分类号: G642.0

Application of PBL in clinical biochemical laboratory teaching

JIA Ke-li¹, WANG Wei-fang¹, YOU Ya-sui², LI Jia-lei¹, HU Miao¹

(1. School of Medical Laboratory Sciences, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000; 2. School of Medical Imaging, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: **Objective** To study the effects of PBL teaching in clinical biochemical laboratory experiments. **Methods** 100 students from Sanxiang College of Xinxiang Medical University were randomly selected and divided into the control group and experimental group evenly. They were then given classes with the traditional teaching approach and the PBL method respectively. Finally, each group member was tested and assessed. **Results** The evaluation showed that the average score of students in the experimental group was higher than that in the control group. **Conclusion** PBL teaching method has application value in the experimental teaching process of this course.

Key words: PBL; clinical biochemical laboratory experiments; medical laboratory technology

问题式学习(Problem - Based Learning, PBL)是 1969 年由美国神经病教授 Barrows 在加拿大的麦克马斯特大学首创的一种与传统教育模式不同的新型的教育模式^[1]。通过这种教学方法,从根本上提高学生自主学习能力和创作能力,培养学生团队协作的意识^[2]。PBL 开始用于医学教育,与医学教育的特殊性有关。医学是一门需要博爱的人道职业,属于人道的皇冠职业。医护人员要面对的是一个鲜活的病人,培养优秀的医护人员也就需要特殊的培养模式,PBL 教育模式在此背景下应运而生。20 世纪 90 年代以来,中国医科大学、北京医科大学和宁波大学医学院等引进了 PBL 教学模式,这些学校在实验课、基础课和临床理论课中试行 PBL 教学并达到了预期效果^[3]。2013 年以来,医学检验专业发生了巨大的变化,学制由 5 年改 4 年,学科由医学改为理学,其人才的培养目标转变为技术人员^[4]。寻求新的教育模式对于医学检验技术专业的人才显的尤为重要。作者结合医学检验技术专业的现状,首次

在临床生物化学检验实验课中采用 PBL 教学方法,以实验课血清钙的测定中为例与传统的讲授法进行对比,逐渐扩大应用范围(包括实验血清转氨酶测定、血清胆红素测定和血清 GSP 测定等),最终通过对学生学习的内容进行测定,对测试结果进行分析,得到更适合的教学方式。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

本研究对象来自于新乡医学院三全学院医学检验技术专业学生,其知识水平相似,各科考试成绩差距较小,从中选取 100 例,其中男生 40 例,女生 60 例。年龄为 18 - 20 岁,采用随机分组的方式将其均分为对照组 50 例与实验组 50 例,他们均学习了普通生物化学等基础的课程,且课时一致。

1.2 研究方法

1.2.1 对照组传统的教学模式 以教师上课的讲授为主,发挥教师在教学过程中的主导作用^[5]。以

《临床生物化学检验技术》《临床生物化学检验技术实验指导》教材为基础,借助多媒体开展教学。教学过程为:对上次学习内容复习—引入新课—对本次教学目标进行阐述—讲授新课内容—对本次课程内容进行总结—布置课后作业^[6]。

1.2.2 实验组进行 PBL 教学法

(1) 课前准备:①根据教学目标结合临床案例设计合适的问题或者案例开展教学活动;②随机分组,每组至少 6 人最多不超过 10 人,并且设置有组长和记录者,课前每位同学都要认真查阅相关的资料,记录提出的问题,认真收集有关资料,解决问题,对于未解决的问题进行标记。

(2) 课堂讨论:①组内讨论,针对课前提前给同学们设计出的问题或者案例,先让各个小组内成员进行组内讨论,并做好记录。(针对不太活跃的小组,课堂教师要进行积极的引导)教师在小组讨论过程中需要时刻关注,避免同学们脱离问题核心。②组间讨论分析,对于提出的问题组间相互提问,查漏补缺。

(3) 同学总结:每队由记录同学针对问题进行解答,并进行合适的衍生,最后提出新的问题让大家解答,同时也回答其他小组的问题,增加组间的互动。

(4) 教师总结:根据学生的讨论结果,教师进行全方位的阐述和小结。

(5) 课后作业:利用课前提出的问题或者案例为主,对本次课堂内容进行总结,制作出具体的文字文件,其内容包括具体的知识点,文字文件经过组内每一位同学的参与,最后每位同学上交一份文字文件,作为本次实验成绩。

(6) 作业批改:教师将每一份汇报进行详细的批改,总结大家都掌握的知识信息,及时发现知识的漏洞,下次上课进行查漏补缺。

2 结果

对对照组和实验组学生进行考试,具体考试内容为本次实验课实验原理(占分的比重为 50%)、实验操作(占分的比重为 50%)其中考试总分为 100 分,60 分以上为合格,60 分以下为不合格。对对照组和实验组学生的成绩进行分析,结果:实验组学生考试合格率 100%,平均分数 84.5 分;对照组学生

考试合格率 90%,平均分数 68.5 分,实验组合格率和平均成绩均高于对照组,详见表 1。

表 1 对照组和实验组学生考试结果

组别	n	平均分	合格	不合格	合格率(%)
对照组	50	68.5	45	5	90
实验组	50	84.5	50	0	100

3 讨论

与国外相比,我国的 PBL 教学模式与国外相比研究起步较晚,研究尚比较匮乏。随着医学教育研究的不断深入,研究方法逐步增加,现阶段我国医学教育方法及手段不断加强。同时教育手法在实际运用过程中的不足也逐渐暴露出来,还需做进一步的思考^[7]。临床生物化学检验的教学方式多以传统的教学方式为主,教师作为课堂的核心,“填鸭式”的教学模式依旧存在,因此提出新的教学方法有利于改变当前的教学状态。本研究采用 PBL 问题式学习的教学方法,以学生作为课堂学习的主角,教师作为辅助作用对学生进行积极正确的引导,并在学生之间进行小组讨论,旨在通过这种教学方法提高学生学习的积极性/主动性/自主性,培养学生的创新能力^[8]。另一方面结合“互联网+”提高学生分析问题和解决问题的能力^[9]。

现阶段的大学生具备着思维敏捷,知识来源多样,在教学过程中对教师具有极大的挑战。在教学过程中采用 PBL 这种教学方法,一方面对于教师的整体知识结构以及教师的自身的综合素质要求较高,另一方面对于学生的素质水平也有较高的要求。因此,坚持新乡医学院三全学院“全面适应社会需求,全面实施素质教育,全面培育医学英才”^[10]的办学方针,加快提升教师综合能力,提高学生综合素质,有利于快速培养高质量的医学人才,为社会培养“四有”人才,为国家注入新的血液。

参考文献:

- [1] Robert Delisle. 问题导向学习在课堂教学中的运用[M]. 方彤,译. 中国轻工业出版社,2004.
- [2] 张慧. 论 PBL 教学模式在医学检验教育应用中的探索[J]. 中国卫生产业,2017,14(33):87-88.
- [3] 全裔,李云秋,蓝秀华,等. 新形势下构建四年制医学检验技术本科一体化多层次实践教学新体系的研究与实践[J/OL]. 医学教育研究与实践,2018(4):544-547.
- [4] Shao LN, Qiu LH, Zhan FL, et al. Application of PBL combined

with SP method in during-course practice of endodontics for undergraduate dental students [J]. Shanghai Journal of Stomatology, 2016, 25(5):621-625.

[5] 欧阳翌国. 多媒体与传统教学方式在《生物化学》中的应用[J]. 中医药导报, 2007年第13卷第4期, 111.

[6] 杜丽东, 吴国泰, 王志旺, 等. PBL教学法在药理学教学中的探索和实践[J]. 甘肃中医药大学学报, 2017(1):101-103.

[7] 张英杰. PBL教学模式在我国医学教育中的应用研究[J]. 医学教育, 2018 Vol. 18 No. 70, 280-281

[8] 赖焱烽, 何冰, 杨丰等. 浅析 PBL 教学模式对于医学生解决问题能力的影响[J]. 高校医学教学研究(电子版), 2017年12月, 7(4):25-28.

[9] 东方红. PBL教学模式在普通化学课程中的研究与应用[J]. 科教文汇, 2019年12月(下):93-94.

[10] 创新人才培养模式 争办人民满意教育——新乡医学院三全学院简介. 中国卫生经济, 2010-06-05.

(责任编辑:刘鹤香)

2020 大健康行业发展势不可挡, 将成为健康行业趋势

目前, 中国健康行业发展迎来了空前的黄金机遇。从 GDP 的占比来看, 欧美等国家的健康产业生产总值占 GDP 比重超过了 15%, 而中国健康产业生产总值仅占 GDP 的 5% 左右。未来十年内, 这一数字将快速上升到 15% 以上, 预计到 2030 年, 中国健康产业的规模可望突破 16 万亿。

有关专家表示, 中国大健康行业高度契合未来中国发展趋势, 老龄化的加速、中产阶级的快速形成等趋势共同聚力之下, 将为中国大健康产业的发展插上腾飞的翅膀。

1. 人口老龄化加速

中国已全面进入老龄化社会。2015 年, 中国大陆 60 岁以上老年人占总人口的比例已超过 15%, 超过 2 亿人。

中国老龄化人口的快速增长, 催生老年健康保健、康复护理、居家养老、社区养老、养老地产、养生地产、中医养生等等健康服务行业的快速崛起, 市场规模迅速扩大。

2. 慢性病人群增加

慢性病是威胁中国人民健康的头号杀手, 占死亡原因的 86.6%, 疾病负担的 69%。据调查统计, 我国慢性病患者已超过 2.6 亿人。

另一项统计显示, 城市白领的亚健康状况非常普遍, 约 98.8% 的白领具有不同程度的亚健康状况, 其中信息技术和通信行业的亚健康状况最差。科学管理健康、延长寿命、提高生活质量已成为一个十分重要的课题。

3. 收入水平和购买力提高

根据瑞士信贷研究所发布的《2015 年全球财富报告》, 中国中产阶级人数已升至世界首位, 达到 1.09 亿。2000 年以来, 中国中产阶级财富增长了 330%, 2015 年就已达到 7.3 万亿美元, 占中国财富的 32%。随着中产阶级人数的增加, 消费者购买力也在上升, 对养生的需求也在急剧增加。

4. 政策和投资持续加码

近年来, 伴随着“健康中国”理念上升为国家战略以后, 一系列扶持、促进健康产业发展的政策紧密出台, 在国家政策暖风的催化下, 大量投资正加速涌入大健康领域, 健康产业的投资、并购日益频繁。

与此同时, 健康企业的数量、产品的种类不断增多、健康产业的整体容量、涵盖领域、服务范围正在不断放大, 正呈现出市场与政策双轮驱动的格局。

5. 营养保健和生态养生

伴随着社会的快速发展, 居民的健康消费需求也随之发生了转变——从局限于对疾病防治转向了对自身健康水平与生命质量的关注; 除关注身体、生理功能和行为习惯方面的健康之外, 更注重情志、心理、思想、精神乃至道德和信仰多方面的健康; 环境因素对人的健康影响日益受到重视, 人们开始注重生态环境与生命健康和谐共生的有机联系。营养保健和生态养生已经成为人们追求健康的新趋势。

信息来源: 搜狐
(供稿人: 陈圆圆)

基于“课程思政”的《临床生物化学检验技术》实验课教学模式探究

曹便利, 吴泽杰, 李恒, 徐佳, 胡森

(新乡医学院三全学院医学检验学院, 河南 新乡 453000)

摘要: “课程思政”是新时代高校思政教育发展的一个重大创新, 将思想政治融入专业课、通识课, 以解决大学生思政教育的“孤岛困境”。为了实现检验专业“立德树人”的育人目标, 充分发挥专业课堂力量, 本文从医学检验专业《临床生物化学检验技术》实验课教学现状出发, 结合思政课堂面临的困境, 探讨思想政治教育融入《临床生物化学检验技术》实验课教学的新模式。

关键词: 课程思政; 医学检验; 实验课; 新模式

中图分类号: G641

Exploration on experimental course of Clinical Biochemistry Testing Technology based on “curriculum ideology and politics”

CAO Bian-li, WU Ze-jie, LI Heng, XU Jia, HU Miao

(School of Medical Laboratory Sciences, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: “Curriculum ideology and politics”, a major innovation in the development of ideological and political education in colleges and universities in the new era, integrates ideology and politics into professional and general courses to solve the “island dilemma” of ideological and political education for college students. In order to achieve the educational goal of “morality education” in the laboratory major and give full play to the strength of professional classroom, this article starts from the teaching status of the medical laboratory sciences, combines the difficulties faced by the ideological and political teaching, and discusses a new teaching model of the integration of ideological and political education into the experimental course of Clinical Biochemical Testing Technology.

Key words: curriculum ideology and politics; medical laboratory sciences; experimental course; new teaching model

习近平总书记在全国高校思想政治工作会议上强调:“思想政治理论课要坚持在改进中加强, 提升思想政治教育的亲和力和针对性, 满足学生成长发展需求和期待, 其他各门课都要守好一段渠、种好责任田, 使各类课程与思想政治理论课同向同行, 形成协同效应”^[1]。这一重要指示, 不仅为高校的思想教育政治教育改革指明了方向, 同时也给高校教师提出了新的要求。教书不仅仅是传道、授业、解惑, 更要以身作则, 促进在校大学生身心健康协同发展, 树立正确的世界观、人生观和价值观。《临床生物化学检验技术》是医学检验专业学生的必修基础课程, 而《临床生物化学检验技术》实验课是与之相对应的实践操作课程。知识内容具有很强的专业性、联系性、趣味性, 同样蕴藏着人文主义以及思想政治元素。“课程思政”即以课程为载体、以立德树人为根本, 充分挖掘专业知识、实验课程中的德育元素, 使通识课、专业课与道德教育有机结合, 将德育贯穿到

教育和教学的全过程^[2]。如引导学生掌握理论知识的同时强化实践意识, 提高动手实践能力, 培养学生的科学研究意识, 加强职业素养以及创新能力等。思想政治教育与专业课有机结合, 结合大学生思想政治教育现状, 结合思想政治工作的规律, 教书育人的规律, 遵循学生成长的规律找出有效的途径。

1 大学思政课教育现状

1.1 大学生未正确认识大学思政课

思政课与专业课不同, 由于其特殊的课程属性很容易被忽视。从小学就开始接触思想品德课, 但是从开始就没有将思想品德课放在一个很重要的位置, 被认为只是一种课外读物, 这种看法其实在目前的大学生甚至大学生家长的思维里已经根深蒂固。尤其大学接触专业课后, 学生更是认为思政课与专业课不同, 与自身发展以及将来所从事职业关系不大, 只要自身没有特别严重的道德问题、素质问题,

大学思政课听不听都无所谓,只要考试不挂科就行,因此思政课逃课现象较为严重,但学生有时候迫于点名的压力不得不去上课。这种错误的想法、错误的认识导致大学生的思政课教育效果不佳。

1.2 思政课缺乏趣味性,教学方式单一

大学思想政治课教材课程设置十多年来除小部分变动外,无大范围调整,教材内容繁杂且与高中内容有大量重复^[3],加上思政课理论性强,乏味而且枯燥,很容易引起学生消极对待。最重要的是授课教师上课缺乏能动性,只是采用单一讲解形式,没有重点,缺乏创造性与互动性。理论与实际不能联系起来,无法激发学生的课堂学习兴趣。

1.3 大班授课学生多

思政课作为大学生教育的公共课,各个专业的大学生都要开设思政课,而思政课代课教师人员有限,因此大学生思政教育需要庞大的工作量来完成。所以目前我国各个高校基本都?

采用大班授课的方式。大班授课学生多,甚至有不同专业的学生一块上课,又增加了思政教育教学的困难性和复杂性。学生过多,集中注意力听讲时间有限,很容易开小差,不自觉的玩手机、玩游戏;有的学生在思政课的课堂上看其他方面的书或者做专业作业;甚至有的学生在课堂上睡觉。教师既要讲好课程又要调动学生的积极性,活跃课堂气氛,关注学生的听课情况等,因此大学生思政教育困难重重。

1.4 思政课教育目标仍不够明确

医学检验专业大学生思政教育首先要明确的是“培养什么样的检验人才、如何培养人才以及为谁培养人才”这个根本问题。现有思想政治课在教育模式上过于宽泛,针对性不强,导致了大学生思政课效果不佳。思政课教育是一套系统教育,包括政治思想、公民意识、人生价值、职业精神四个方面。就目前当代大学生而言,生活学习比较浮躁,沉迷网络游戏、自媒体传播,做什么样的人、成为什么样的人,就大学生本身而言就比较迷茫。加上思政教育目标摇摆于专业化和广博化之间,不清晰,不明确,很难给学生指明人生方向,因此思政教育工作任重而道远^[4]。

2 “课程思政”融入《临床生物化学检验技术》实验课教学的意义

2.1 有利于培养学生的科学精神和严谨的态度

医学检验专业《临床生物化学检验技术》实验

课不仅可以提升学生的动手实践能力、观察分析解决问题的能力,培养学生团队协作、组织协调能力,同时它在培养学生严谨的治学态度和科学精神等方面具有重要作用^[5]。如在实验课的教学内容中有验证性实验,老师讲授实验内容后由学生动手操作,学生已经理解本次实验内容,那么在做实验时就会不自觉的忽略掉不符合实验原理的数据,直到得到一个符合实验原理的数据。在这个过程中忽略掉了自身真实实验过程的记录,失败原因无迹可寻。这时就需要实验指导老师在指导实验过程认真观察,及时发现这些问题并予以纠正,引导学生去分析问题,思考问题、解决问题,分析数据差异来源,要让学生明白,出现差异大的数据并不可怕,研究数据背后的因素比数据本身更重要,从而培养学生严谨的实验态度和科学精神、“工匠精神”。如“两弹一星”元勋黄纬禄院士,在他的遗物中有一本全英文微分方程课堂笔记,字体工整如印刷体一般,书写的便是科学严谨的沉淀过程;上海飞机制造有限公司的高级钳工技师靠双手打磨大飞机精密零件,35年日复一日重复一个动作,加工过数十万的零件,但从没有出现过一个次品,这便是“大国工匠”科学严谨的制造过程。

2.2 有利于培养学生的职业自觉性和职业责任感

医学检验专业培养的是具有基础医学、临床医学、医学检验等方面的基本理论知识和基本能力,能在各级医院、血站、防疫部门及医学检验所、医学检验产品公司、生物技术研发部门等从事医学检验及生物技术类实验室工作的医学检验高级应用型人才。将来所从事的工作的特殊性就要求学生具有强烈的自觉性与责任感。进入实验室必须穿长袖白大衣,禁止穿拖鞋、短裙、短裤进入实验室,食物、饮料、水杯禁止带入实验室,女生在实验室不准披发等,以上列入考核内容,增强学生的自律性。在实验过程中总有些“特别的”学生,实验课不动手做实验,通过伪造数据来完成实验报告的书写。针对学生数据造假、实验过程模糊不清的情况,授课教师要及时进行制止,并以临床实例、时代新闻给学生强调,身为检验人员,检测结果的真实可靠与病人的身心健康、生命安全都息息相关,能够影响一个家庭的幸福甚至社会的安定。身为检验人员要对病人负责,更要对自己负责。自觉遵守职业道德,具有强烈的职业责任感,是检验人员的基本素养。

2.3 有利于促进学生专业能力与道德水平同步提高

受传统教学理念的束缚,专业课教师在课堂上

往往较注重知识的讲解,实验课的开展将理论联系实际,理论课与实践课相结合,巩固了学生的理论知识同时也提高了学生的动手实践能力。但在这个过程中常常忽略了对学生综合素质和职业道德水平的关注。将“课程思政”理念融入实验课教学中可以让思想政治教育贯穿于医学检验专业教育的全过程,教师通过深度挖掘《临床生物化学检验技术》实验课课程中的思政元素,引导学生正确的价值观、社会观,在学生专业学习、专业技能的同时,培养学生的诚信意识和敬业精神,促进其专业能力与职业道德水平共同提高。

3 “课程思政”融入医学检验专业实验课实践路径

3.1 教学方法创新,灵活多样

创新性、多样性、灵活性的教学方法是极其重要的,《临床生物化学检验技术》实验课内容多又复杂,在教学中,应把握教学重点,根据每次实验的不同特点,选择最佳的教学方法,以保证教学效果。如设计性的实验内容,以学生自学为主、指导为辅。在学生设计实验过程中如果产生了争议,则可以发挥辩论式教学方法的优点。通过不同形式的活动设计和情境设置,引导学生自觉主动地去翻阅资料、查找文献,追求真理。同时实验课程的导入部分可以加入与检验有关的历史故事、时代新闻、名人轶事等使课程思政有效开展。如著名科学家屠呦呦,60多年的探索发现,带领团队攻坚克难发现了青蒿素,为人类带来了一种全新结构的抗疟新药,为中医药科技创新和人类的健康事业作出了巨大贡献。生化实验以分组形式开展,认真进行实验过程、实验结果、实验误差的分析总结,严禁抄袭等有违诚信的事情发生。同时为了避免学生因为对课堂内容不感兴趣,出现一直低头玩手机的现象,小组成员互相监督,更有助于学生的诚信意识和团队意识的培养。

3.2 教学内容丰富趣味,激发学生思维

实验课堂教学设计中,充分挖掘其中的人文精神,强化创新意识、科学素养、人文关怀、生命健康和职业素养教育,增加学生学习的乐趣和情感认同,提高对本专业的认同感和自信心,获得情感教育和人文关怀并提升职业素养^[6]。开设实验课的目的不仅仅要提高学生的实践能力,还要锻炼学生的思维能力。因此实验课课程设置时,往往加入探索性、设计性实验,增加学生的兴趣,激发学生的思维。如“心肌酶检测”等设计性实验,带课教师只讲解实验

主线,具体操作过程、实验影响因素、干扰因素等则由学生独立设计完成,引导学生积极主动去探索发现,认真思考问题、解决问题。心脏指标的检测与心肌梗死密切相关,心肌梗死作为一种急性发病的心血管疾病极易造成死亡。随着医疗技术的进步,急性心肌梗死的死亡率有所下降,但是此病对于1/3左右的患者仍然是致命的,以此引导学生要认真对待工作,担负起责任,敬重每一个生命。因为作为检验人员,所从事的工作与人们的日常生活、身体健康甚至生命息息相关,检测的每一个标本,每一个数据都能够影响一个人生活甚至生命。

3.3 课堂延伸,简短精致

专业实验课是学生理论联系实际,提升实践能力的主阵地。因此,要打破对现有实践教学狭隘的理解,不断丰富实践教学内容,找到课堂延伸的切入点。通过实例、事例传播探索求真的勇气、坚韧不拔的意志和博大的爱国情怀等,激发学生追求真善美、热情,传承勇于探索的科学精神和大无畏的奉献精神等。实验课所用的标本一般为血液、尿液标本等,因此生物污染及生物安全是应该关注及重视的问题,除预防样本交叉污染外,还要预防自身感染。尤其遇到一些具有传染病的病人标本如艾滋病、梅毒、乙肝等,更要做好安全防护,认真对待。同时也应该对学生的心理进行疏导,遇到潜在危险的标本不能害怕退缩,在岗位及国家需要的时候要迎难而上,挺身而出。新型冠状病毒的出现对医护人员进行了一次巨大的考验,新型冠状病毒感染的肺炎主要传播途径是经呼吸道飞沫传播,亦可通过接触传播,因此来自冠状病毒感染病人的非呼吸道样本同样也具有潜在的感染性。这种情况下仍有无数医护人员、检验人员不惧危险奔赴一线,这是一种大无畏的奉献精神,更是一种伟大的爱国情怀。课堂之上的实例分析使德育教育晓之以理、动之以情,更能提升“课程思政”的说服力和实效性。

4 结语

将思想政治教育融入《临床生物化学检验技术》实验课堂,深入挖掘专业课堂、实验课堂的德育元素,提升专业教师的德育意识和水平同时,也能使其真正做到“传道、授业、解惑”,教书、育人相辅相成。通过“课程思政”把思想政治教育工作贯穿于检验专业实验课程教学的全过程,真正做到传授知识与技能培养同步进行,专业引导与价值教育相互补充,更有利于实现高校多元化、高水平检验技术型

人才培养的目标。

参考文献:

- [1] 习近平. 把思想政治工作贯穿教育教学全过程 开创我国高等
教育事业发展新局面[N]. 人民日报, 2016-12-09(001).
- [2] 石利琴. 高职院校专业课程思政德智融合路径探究[J]. 改革
与开放, 2018, 32(17): 138-140.
- [3] 楚梦园. 大学思政课所面临的困境及对策分析[J]. 智库时代,
2019, 3(35): 83.

- [4] 李丽. “课程思政”视域下师范生德育工作模式探析[J]. 决策
探索(下), 2019, 34(8): 67-68.
- [5] 唐笑, 吴朝文, 李登峰, 等. 《实践论》指导下的大学物理实验课
教学改革理念与模式创新研究[J]. 大学物理实验, 2018, 31
(8): 107-107.
- [6] 陈阳建, 李凤燕, 张立飞, 罗方. “课程思政”在生物化学教学中
的探索实践[J]. 管理观察, 2018, 37(26): 126-127.

(责任编辑: 袁会峰)

发展大健康特色产业正当其时

在 2020 年第 2 期的《中华流行病学》杂志上, 中国疾病预防控制中心新冠肺炎应急响应机制流行病学组发表研究论文, 对截至 2 月 11 日中国内地报告的超过 7 万病例的流行病学特征进行描述和分析。从合并基础性疾病的情况来看, 患有高血压、糖尿病、心血管疾病和呼吸道传染病的患者比例合计占 24.7%, 而四类基础病患者死亡病例合计达 90%, 基础病患者在感染新冠病毒时死亡病例占比极高……

找准产品竞争赛道。2020 年 3 月 4 日, 对京东网上在售的营养保健类产品进行统计, 包含 9 个大类, 其中增强免疫商品 12830 个, 骨骼健康商品 12332 个, 减肥塑身商品 12368 个, 美容养颜商品 12282 个, 肠胃养护商品 12092 个, “孕期营养”共 600+ 件, 明目益智商品 7063 个, 缓解疲劳商品筛选共 4672 个, 清咽利喉商品 7062 个。由此可见, 增强免疫、骨骼健康、减肥塑身、美容养颜、肠胃养护等商品已成为当前社会需求的热点。应适时对此组织人员进行专题研究, 注重甄别市场需求, 开发具有比较优势的特色产品。

布局多层次产品。针对不同人群开发不同的营养食品, 满足健康个性化的新需求。例如, 婴幼儿需求 DHA、牛磺酸、叶黄素、维生素等产品, 老年人需求 EPA、高钙、维生素 D、少脂肪等产品, 孕妇需求 DHA、胆碱、叶酸、维生素 D 等产品, 甲亢病人需求忌碘、高热量、高蛋白、高维生素等产品。应加强食品营养素对特殊膳食人群健康改善的研究, 开发市场潜力大, 例如针对高血压、高血脂、肥胖等问题针对性解决的产品。

开拓多维度市场。针对消费市场需要, 开发中成药、特医食品、保健品、生态健康食品等不同医疗或营养价值不同的产品。

提高科技支撑力。按照“小而精”“小而美”的产业方向, 支持产品地域特色、营养成分等具有比较优势的产品研发, 注重高质量发展, 进行产品精深加工, 在产品特殊人群需求的针对性、消费场景的适用性、品牌建设的精准性上下功夫, 提高产品附加值。

强化数据融合力。应注重“互联网+”健康食品、“互联网+”功能食品、“互联网+”营养食品、“互联网+”保健食品、“互联网+”健康管理、“互联网+”健康设备等形式的研究和打造, 对用户进行精准画像, 准确把握用户需求; 对产品市场进行精准切分、聚集粉丝打造粉丝经济。通过数据融合, 提高产品的竞争力、市场的穿透力。

加强品质控制。借助“食品安全云”已经形成的品质控制、质量监督、产品追溯、产品认证等大数据应用和服务, 加强中药材及产品、生态特色食品等全程跟踪、质量控制、安全防范、追溯认证, 实现高品质、低风险、数字化的产品形象, 加强产品在互联网市场的竞争力和品牌传播力。

摘自: 2020 年第八届中国(北京)国际大健康产业博览会

(供稿人: 王玺秀)

【综述】

G - 四聚体免标核酸分子探针在传感器中的应用及进展

胡亚平, 郭亚萍, 党 珊, 张 金, 王秀菊, 李 静

(新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453000)

摘要: 核酸分子探针具有高效杂交特异性, 巧妙应用核酸的结构及其识别能力的特点, 将相关的生命信息转化为易于检测的信号。G - 四聚体是一段具有富 G 序列的 DNAzyme, 与氯化血红素结合后具有类辣根过氧化氢酶催化活性, 具有简单、可视化、经济等优点。近年, 基于 G - 四聚体核酸分子探针构建的生物传感器, 已经成为一个热点。本文重点评述了近年来 G - 四聚体核酸传感器的研究进展, 并展望其发展前景。

关键词: 核酸分子探针, G - 四聚体, 催化活性, 综述

中图分类号: R34

Application and progress of lable-free G-quadruplex nucleic acid molecular probes in sensors

HU Ya-ping, DANG Shan, GUO Ya-ping, ZHANG Jin, WANG Xiu-ju, Li Jing

(School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan, 453000)

Abstract: The nucleic acid molecular probe is characterized by high-efficiency hybridization, which makes good use of the structure and recognition ability of nucleic acid, converting related vital information into signals that are easy to detect. G-quadruplex is a section of DNAzyme with a G-rich sequence, and combined with heme chloride, it will be equipped with horseradish peroxidase (HRP)-mimicking catalytic DNAzyme. It has the advantages of high stability, low cost, simple synthesis, visualization and easy modification. In recent years, biosensors based on G-quadruplex nucleic acid molecular probes have become a hot spot. This article reviews the research progress of G-quadruplex nucleic acid sensors in recent years and looks forward to its development prospects.

Key words: nucleic acid molecular probe, G-quadruplex, catalytic activity, review

核酸分子探针是一种非常重要的分子生物学研究手段, 它非常巧妙的应用了核酸的结构及其识别能力的特点, 例如核酸的杂交特异性^[1]、立体构象转变^[2]、与蛋白质^[3]、寡聚高分子^[4]甚至金属离子^[5]特异性结合等, 结合分子水平的信号传导机制, 将相关生命信息转化为易于检测的信号, 比如拉曼^[6]、荧光^[3]、化学发光^[7]、电流^[8]、比色^[9]等。DNAzyme 是通过体外选择^[10]分离出来的具有生物催化活性的核酸酶, G - 四聚体是一段富含 G 序列的 DNAzyme, G 碱基相互之间的氢键相互作用形成 4 - G - 平面结构, 这种结构有很强的范德华作用力, 并且一些芳香族平面结构型配体如卟啉及金属卟啉易于堆积到 G - 四聚体的平面结构上, 形成的 G - 四聚体复合物具有和蛋白酶相似的生物催化活性^[9, 11]。常见的富 G - DNA 序列形成的 G - 四聚体, 一般包括分子内四聚体结构^[12]和分子间的四聚体结构^[13]。四聚体结构又分平行四聚体和反平行

四聚体, 平行结构和反平行结构可分别用圆二色谱表征^[14]。与功能化的核酸荧光探针相比, 且富 G 序列形成的 G - 四聚体不易被核酸酶降解, 能作为探针进入细胞内并稳定存在。G - 四聚体具有免修饰、探针简单易合成、抗核酸酶降解且可视化等优点。与蛋白酶相比, 这种具有催化活性的 DNAzyme 具有可降低非特异性吸收的优点^[15]。构建基于 G - 四聚体的核酸传感器在生物分子检测、临床诊断、环境检测等方面具有广阔的应用前景。本文重点评述 G - 四聚体的核酸传感器的应用及进展。

1 G - 四聚体的核酸传感器的应用

1.1 荧光检测应用

1.1.1 卟啉衍生物嵌入 G - 四聚体荧光检测 卟啉是卟吩环上拥有取代基的一类大环化合物的总称。在分析化学中常用到的卟啉衍生物包括阳离子卟啉、阴离子卟啉、金属卟啉。一般认为阳离子卟啉

与 DNA 主要有 3 种结合方式:插入到碱基对之间、沟槽结合和外部自堆积结合^[16]。研发新型抗肿瘤药物是当今医学与化学生物学中极其重要的研究之一,其代表是卟啉体系,其中阴离子卟啉具有更好的膜通透性,应用较广。利用卟啉及其衍生物特殊的亲和力,确定肿瘤的相关信息。例如利用注射进入肿瘤患者体内的金属卟啉会聚集在肿瘤部位,通过金属卟啉的特殊电子吸收和及荧光吸收与患者肺肿瘤部位进行区分,即可确定患者体内肿瘤的性质及位置,是否水肿。

1979年,Fiel等^[17]最早发现 meso-四(N-甲基-4-吡啶基)卟啉(TMPyP)可以嵌入小牛胸腺 DNA(ct-DNA),卟啉与 DNA 的相互作用被进一步深入研究。1996年,Li等^[18]分离出来一些富 G 序列的核酸适体,并且对 N-methylmesoporphyrin IX(NMM)具有选择性相应,之后发现这些核酸适体也可以作为 DNAzyme 催化金属卟啉。能够嵌入 G-四聚体核酸探针结构中研究最多的阳离子卟啉越来越多的集中在 5,10,15,20,-四(1-甲基-4吡啶基)-21,23,-二氢-卟啉(TMPyP4)^[19-20]。

Wang^[21]报道了一个利用功能化的 DNA 自组装成 G-四聚体作为载体,将阳离子卟啉 TMPyP4 载入癌细胞内,进行癌症的治疗。他们利用两条功能化的 DNA,DNA 包括 Sgc8、TD05 核酸适体和可以自组装成 G-四聚体的两段富 G 序列,Sgc8,TD05 核酸适体作为靶向,可以特异性识别癌细胞,两段富 G 序列自组装成的 G-四聚体作为光敏剂 TMPyP4 的载体。当两条功能化的 DNA 同时存在,两段富 G 序列可自组装成分子间的 G-四聚体,当加入光敏剂阳离子卟啉 5,10,15,20,-四(1-甲基-4吡啶基)-21,23,-二氢-卟啉(TMPyP4),TMPyP4 可嵌入到 G-四聚体的平行结构。由于 Sgc8,TD05 核酸适体可特异性与癌细胞结合,使嵌入了阳离子卟啉的 G-四聚体探针在细胞表面富集并进入到癌细胞内,在紫外光照射下,阳离子卟啉可与氧气作用,产生单线态氧,利用单线态氧达到抑制并杀死癌细胞的目的。这种典型的 G-四聚体-核酸适体平台可作为有效运载载体,并具有特异性结合癌细胞的靶向性。该方法与其他类似方法相比,简单,不用标记,在细胞内可避免核酸酶的降解,具有药物浓度低、反应时间短、放射能量低等优点,可有效降低光动力学治疗的副作用。

Smirnov^[22],Kotch^[23]等发现对于 G-四聚体的形成有很好的稳定作用。刘涛^[24]构建了一个利用

G-四聚体及 Exo III 核酸外切酶,用于检测 Pb^{2+} 离子荧光检测的生物传感器。 Pb^{2+} 可辅助切割由 DNAzyme 与底物探针结合物中的底物中的 RNA 碱基,使底物的 MB 环断裂,从而释放 DNAzyme, DNAzyme 可循环与底物结合并被 Pb^{2+} 切割,底物探针断裂形成的 Y 形探针,其可与 MB 结合打开其发夹结构,产生荧光信号,此结构可在 Exo III 核酸外切酶作用下,从 3'端开始降解被打开的 MB 信标探针,底物探针被释放,并循环与下一个 MB 探针结合切割,是荧光信号二次循环放大,从而实现 Pb^{2+} 的高灵敏检测。与本方法类似的还有其他离子稳定的 G-四聚体,如 Thakur 等^[25]利用 G-四聚体同时连接生物相容性良好的分子 Fe^{3+} 和 Ca^{2+} ,形成能大容量载药的超级水凝胶分子体系,通过 pH 调控实现载药阿霉素长时间稳定释放。

1.1.2 luminol 化学发光检测 化学发光是在化学反应中,物质分子吸收了反应过程中释放的化学能而被激发发光的现象^[26]。在分析化学中应用最多的化学发光试剂是鲁米诺 luminol(3-氨基邻苯二甲酰肼),又称发光氨、光敏灵,在碱性溶液中,鲁米诺容易被许多氧化剂氧化而发出引人注目的蓝色光,其中 H_2O_2 最为常用^[26]。在催化剂催化下,双氧水将分解为 H_2O 和 O_2 。由于血红蛋白含有催化性质的铁,可促使 H_2O_2 氧化鲁米诺化学发光。所以 luminol 化学发光可用来检测血红蛋白中的铁血红素。研究发现,当单链的富-G 核酸序列和高铁血红素 hemin 结合,富-G 核酸序列折叠形成 G-四聚体结构,形成的这种 G-四聚体/hemin 复合物的结构具有更强的生物催化活性,在过氧化氢存在下氧化 luminol,产生生物化学发光,比单独的 hemin 的催化活性强 250 倍^[27]。

G-四聚体是一段富含 G 序列的 DNAzyme, G 碱基相互之间的氢键相互作用形成 4-G-平面结构,这种结构有很强的范德华作用力,并且一些芳香族平面结构型配体中所述卟啉及金属卟啉易于堆积到 G-四聚体的平面结构上^[18]。这些配体里面,hemin Fe^{3+} 卟啉是最经典的,hemin 可以和 G-四聚体可以特异性结合,并具有很高的结合力^[28,18]。常把这种富含 G 碱基的核酸链可以叫做 hemin-binding aptamers (HBAs)。形成的 G-四聚体/hemin 复合物具有过氧化物酶活性,在过氧化氢存在下氧化 luminol,产生生物化学发光。这种 G-四聚体/hemin 复合物其实就是一种新的 DNAzyme,已经广泛应用与 DNA、蛋白质、小分子及金属离子的检

测^[25,29-30]。

Pavlov^[30]和 Xiao^[31]等用提出用 G-四聚体核酸探针放大检测 DNA 和端粒酶活性。端粒酶 Telomerase 是基本的核蛋白逆转录酶,可将端粒 DNA 加至真核细胞染色体末端,是真核细胞染色体末端的特殊结构,人端粒是由六个碱基重复序列 TTAGGG 和结合蛋白组成,具有重要的生物学功能,可稳定染色体的功能,防止染色体 DNA 降解、末端融合,保护染色体结构基因 DNA,调节正常细胞生长^[32]。端粒酶是使端粒沿 3'端方向延伸合成端粒重复序列的反转录 DNA 合成酶^[33]。在很多恶性肿瘤细胞中,端粒酶显著增加,造成癌细胞无节制增长,因此端粒酶可以作为癌细胞的重要标记物。

Pavlov^[34]首先将巯基标记的 DNA 引物固定到金膜覆盖的玻璃板上,分析物作为连接物,与引物及加入的富 G 序列的信号表达探针相互杂交,加入 hemin,信号探针形成 G-四聚体结构,放大催化 luminol 化学发光,从而检测目标 DNA;当检测端粒酶活性时,Pavlov 将含端粒重复序列的标记巯基的 DNA 当作引物固定到金膜覆盖的玻璃板上,当加入 dNTP 及端粒酶时,引物在 3'端聚合延伸出重复的 GGGTTAG 序列,延伸出的序列与多个富 G 序列的信号探针相互杂交,当 hemin 加入可形成很多个 G-四聚体结构,双重放大催化 luminol 化学发光。

Freeman 等^[35]又利用 hemin/G-四聚体核酸探针化学发光,并和硒化镉/硫化锌量子点之间发生化学发光共振能量转移 CRET 来检测 DNA、金属离子、小分子。所示,该文将包含 G-四聚体结构的 DNAzyme 和三磷酸腺苷的核酸适体或者富含 T 碱基可以识别汞离子的探针固定到不同尺寸的量子点上,当三磷酸腺苷或者汞离子存在时,探针自组装成 hemin/G-四聚体 DNAzyme 结构,当 H₂O₂ 存在时, hemin/G-四聚体 DNAzyme 将催化 luminol 化学发光,催化产生的化学发光能量共振转移到硒化镉/硫化锌量子点,从而激发量子点的荧光。同样,将含有富 G 序列的发夹结构固定到硒化镉/硫化锌量子点上可用来检测目标 DNA,当目标 DNA 存在时,将发夹结构打开,形成自由的 hemin/G-四聚体 DNAzyme 结构,从而和量子点产生共振能量转移。该方法可以采用大小不同的量子点及不同的核酸底物,通过 CRET 来检测不同的分析物。

能量转移体系可以用来检测赭曲毒素 A^[36],G-四聚体和毒素发生能量转移,信号放大后可实现毒素的灵敏检测。

1.2 可视化比色检测

相对于荧光检测及化学发光检测,比色检测更直观,利用颜色的变化,直接用肉眼即可观察到。

G-四聚体/hemin 催化活性比单独的 hemin 强 250 倍,G-四聚体/hemin DNAzyme 不仅可以催化氧化 luminol 化学发光,还可以将无色的 ABTS 氧化为绿色的 ABTS⁺,利用颜色变化可放大检测一系列的分析物^[37-39]。Kolpashchikov^[37]利用 G-四聚体/hemin 类过氧化物酶的催化活性,可视化放大检测编码老年痴呆症的目标 DNA 的单核苷酸多形态 (SNP),其方法是:当目标物老年痴呆症目标 DNA 存在时,2:2 劈成两半的富 G 碱基的 DNAzyme 末端延伸出的捕获探针可与编码老年痴呆症的目标 DNA 互补结合,形成 hemin/G-四聚体 DNAzyme 结构,催化 ABTS 显色;反之,当目标 DNA 不存在时,ABTS 不显色,即无信号。该信号 on 的体系,和金纳米颗粒检测 SNP 相比,不需要修饰,且对温度没有要求,但劈开的 DNAzyme 重组的 G-四聚体催化活性较完整的 DNAzyme 略弱,检测限比较高。若将 G-四聚体的部分序列封闭到发夹结构的茎部,当目标 DNA 存在时发夹结构打开, hemin/G-四聚体 DNAzyme 结构形成,催化 ABTS 显色。这也是一个 on 的体系,检测限可达 200 nM^[31]。若将目标 DNA 作为一个连接物,分别将连有 G-四聚体结构的探针和核酸 DNA 互补连接在一起,检测限可达 1 nM^[30]。

如果将 G-四聚体和聚合酶联用,检测效果会更好^[40-41]。Weizmann^[40]等将催化反应和聚合反应联用来检测 M13 噬菌体 DNA。M13 噬菌体 DNA 是环状单链 DNA。发夹结构的环部可以刻 M13 噬菌体 DNA 互补将发夹结构打开,一端茎部序列可与另一长链 (machine) 部分杂交,并作为聚合反应的引物,引发聚合酶链反应, machine 链上设计有 N. BbvC IA 切刻酶的切刻位点,当加入 N. BbvC IA 切刻酶时,可将聚合产生的双链切刻开,从而引发新的聚合酶链反应,聚合产生的新链连续与富 G 的序列发生链置换,不断释放 G-四聚体 DNAzyme,检测限可达 0.01 pM。该体系包括两个功能化的发夹结构,利用目标物引发自组装形成 hemin/G-四聚体 DNAzyme 结构纳米线,多重放大检测目标 DNA,检测达到 0.01 pM。该体系不需要蛋白酶,反应时间缩短,灵敏度很高,简单,价格低廉。

Tao 等^[14]利用免标变构双 DNAzyme 比色检测重金属离子。他设计了一个同时包括三部分的单分

子探针: I : DNA 切刻 DNAzyme (D - DNAzyme), 包括 DNA 与 DNAzyme 的底物; II : G - 四聚体 DNAzyme (G - DNAzyme); III : 有部分 G - DNAzyme, 并代表 D - DNAzyme。当目标金属离子不存在时, 由于单分子探针分子内作用力很强, II - III 两个部分无法形成的 G - 四聚体结构, 只能形成可被金属离子切刻的 D - DNAzyme。当目标金属离子存在时, 单分子探针分子内作用力被金属离子切刻 DNA 底物破坏, 构型转变成 G - DNAzyme 结构, 可催化 TMB 显色, 该方法将免标双 DNAzyme、底物、信号探针在一个探针分子内, 利用分子内的作用解决了探针间杂交不稳定、不灵敏的问题, 用 hemin/G - 四聚体 DNAzyme 的催化活性, 实现了可视化灵敏检测 Cu²⁺。同理, 其他金属离子也可通过其对应的 DNAzyme 和 G - DNAzyme 联用, 实现可视化放大检测。

2 结论与展望

以上综述了基于 G - 四聚体核酸分子探针应用于检测的各种方法的发展现状。G - 四聚体核酸探针在理论研究及体外检测目标 DNA、小分子、蛋白质以取得很大的进展, 并在环境污染检测方面, 可视化检测重金属离子有一定的应用。G - 四聚体核酸探针与功能化的核酸探针相比, 它的低消耗、简便性以及可视化的检测, 表现出了格外的吸引力, 从而使其备受关注。G - 四聚体核酸探针在细胞及活体应用仍有极大的潜力等待科学家们去研究。G - 四聚体广泛的应用潜能正在吸引越来越多的分析、生物、及医学研究者的注意, 未来将有越来越多的精力投入到这个领域的发展。

References:

- [1] Xie Yiming, Niu Feina, Yu Aimin. Proximity Binding-Triggered Assembly of Two MNzymes for Catalyzed Release of G Quadruplex DNAzymes and an Ultrasensitive Homogeneous Bioassay of Platelet-Derived Growth Factor [J]. Anal. Chem. 2020, 92 (1): 593-598.
- [2] Wang Xiaolin, Huang Jing, Zhou Yangyang. Conformational Switching of G-Quadruplex DNA by Photoregulation [J]. Angew. Chem. 2010, 122 (31): 5433-5437.
- [3] Lu Danqing, He Lei, Zhang Ge. Aptamer-assembled nanomaterials for fluorescent sensing and imaging [J]. Nanophotonics. 2017, 6 (1): 109-121.
- [4] Li Bingling, Qin Chuanjing, Li Tao. Fluorescent Switch Constructed Based on Hemin-Sensitive Anionic Conjugated Polymer and Its Applications in DNA-Related Sensors [J]. Anal. Chem. 2009, 81 (9): 3544-3550.
- [5] Biniuri Y, Albada B, Wolff M. Probing ATP/ATP-Aptamer or ATP-Aptamer Mutant Complexes by Microscale Thermophoresis and Molecular Dynamics Simulations: Discovery of an ATP-Aptamer Sequence of Superior Binding Properties [J]. ACS Catalysis, 2018, 8 (3): 1802-1809.
- [6] Zayats M, Kharitonov A., Pogorelova S. Probing Photoelectrochemical Processes in Au? CdS Nanoparticle Arrays by Surface Plasmon Resonance: Application for the Detection of Acetylcholine Esterase Inhibitors [J]. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125 (51): 16006-16014.
- [7] Shi Lin, Sun Yudie, Mi Lan. Target-Catalyzed Self-Growing Spherical Nucleic Acid Enzyme (SNAzyme) as a Double Amplifier for Ultrasensitive Chemiluminescence MicroRNA Detection [J]. ACS Sensors. 2019, 4 (12): 3219-3226.
- [8] Sun Yudie, Wang Qiwei, Mi Lan. Target-Induced Payload Amplification for Spherical Nucleic Acid Enzyme (SNAzyme)-Catalyzed Electrochemiluminescence Detection of Circulating microRNAs [J]. Anal. Chem. 2019, 91, 20: 12948-12953.
- [9] Chen Weiju, Hu Yaping, Li Jishan. Colorimetric detection of ATP with DNAzyme: design an activatable hairpin probe for reducing background signals and improving selectivity [J]. Anal. Methods. 2014, 6: 3219-3222.
- [10] Peracchi A, Bonaccio M, Clerici M. A mutational analysis of the 8 - 17 deoxyribozyme core [J]. Mol. Biol. 2005, 352 (4): 783-794.
- [11] Gabelica V, Baker E, Teulade-Fichou M P. Stabilization and Structure of Telomeric and c-myc Region Intramolecular G-Quadruplexes: The Role of Central Cations and Small Planar Ligands [J]. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129 (4): 895-904.
- [12] Li Tao, Dong Shaojun, Wang Erkang. A Lead (II)-Driven DNA Molecular Device for Turn-On Fluorescence Detection of Lead (II) Ion with High Selectivity and Sensitivity [J]. J. Am. Chem. Soc. 2010, 132 (38): 13156-13157.
- [13] Kolpashchikov Dmitry M. Split DNA Enzyme for Visual Single Nucleotide Polymorphism Typing [J]. J. Am. Chem. Soc. 2008, 130 (10): 2934-2935.
- [14] Li Tao, Wang Erkang, Dong Shaojun. Parallel G-Quadruplex-Specific Fluorescent Probe for Monitoring DNA Structural Changes and Label-Free Detection of Potassium Ion [J]. Anal. Chem. 2010, 82 (18): 7576-7580.
- [15] Huang Jing, Wang Ming, Zhou Yangyang. Visual observation of G-quadruplex DNA with the label-free fluorescent probe silole with aggregation-induced emission [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2009, 17 (22): 7743-7748.
- [16] McMillin DR, Shelton AH, Bejune SA. Understanding Binding Interactions of Cationic Porphyrins with B-form DNA [J]. Coordination Chemistry Reviews. 2005, 249 (13-14): 1451-1459.
- [17] Fiel RJ, Howard JC, Mark EH. Interaction of DNA with a porphyrin ligand: evidence for intercalation [J]. Nucleic Acids Res. 1979, 6 (9): 3093-3118.
- [18] Li Yingfu, Sen. D. A catalytic DNA for porphyrin metallation [J]. Nat. Struct. Biol. 1996, 3: 743 - 747.

- [19] Zhu Lina, Zhao Shujuan, Wu Bin. A New Cationic Porphyrin Derivative (TMPipEOPP) with Large Side Arm Substituents: A Highly Selective G-Quadruplex Optical Probe [J]. PLOS ONE. 2012, 7(5):e35586.
- [20] Martino L, Pagano B, Fotticchia I. Shedding light on the interaction between TMPyP4 and human telomeric quadruplexes. J Phys Chem B. 2009, 113:14779-14786.
- [21] Wang Kelong, You Mingxu, Chen Yan. Self-Assembly of a Bifunctional DNA Carrier for Drug Delivery [J]. Angew. Chem. 2011, 123(27):6222-6225.
- [22] Smirnov I, Shafer RHJ. Lead is unusually effective in sequence-specific folding of DNA [J]. Mol. Biol. 2000, 296(1):1-5.
- [23] Kotch F. W, Fettinger JC, Davis, JT. A lead-filled G-quadruplex; insight into the G-quartet's selectivity for Pb^{2+} over K^{+} [J]. Org. Lett. 2000, 2:3277.
- [24] Liu Tao, Li Dan, Liang Jie. A Fluorescence Biosensor for Lead Ion Detection Based on DNAzyme and Exonuclease III [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry. 2020, 48(2):248-254.
- [25] Thakur Neha, Sharma Bhagwati, Bishnoi Suman. Biocompatible Fe^{3+} and Ca^{2+} Dual Cross-Linked G Quadruplex Hydrogels as Effective Drug Delivery System for pH-Responsive Sustained Zero-Order Release of Doxorubicin [J]. ACS Appl. Bio Mater. 2019, 2(8):3300-3311.
- [26] 李磊, 高希宝. 仪器分析化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015, 62-64.
- [27] Travascio, P.; Li, Y.; Sen, D. DNA-enhanced peroxidase activity of a DNA aptamer-hemin complex [J]. Chem. Biol. 1998, 5(9):505-517.
- [28] Li T, Shi L, Wang Erkang. Multifunctional G-Quadruplex Aptamers and Their Application to Protein Detection [J]. Chem. Eur. J. 2009, 15:1036-1042.
- [29] Zhou Jiajia, Wen Shihui, Liao Jiayan. Activation of the surface dark-layer to enhance upconversion in a thermal field [J]. Nature Photonics. 2018, 12:154-158.
- [30] Pavlov V, Xiao Y, Gill R, Dishon A, Kotler M, Willner I. Amplified Chemiluminescence Surface Detection of DNA and Telomerase Activity Using Catalytic Nucleic Acid Labels [J]. Anal. Chem. 2004, 76(7):2152-2156.
- [31] Xiao, Y, Pavlov, V.; Niazov, T. Catalytic beacons for the detection of DNA and telomerase activity. J. Am. Chem. Soc. 2004, 126:7430-7431.
- [32] Blackburn, E. H. Switching and signaling at the telomere [J]. Cell 2001, 106:661-673.
- [33] Lingner, J, Hughes, T. R, Shevchenko, A. Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase [J]. Science. 1997, 276:561-567.
- [34] Pavlov V, Xiao Y, Gill R. Amplified Chemiluminescence Surface Detection of DNA and Telomerase Activity Using Catalytic Nucleic Acid Labels [J]. Anal. Chem. 2004, 76(7):2152-2156.
- [35] Freeman R, Liu Xiaoping, Willner I. Chemiluminescent and Chemiluminescence Resonance Energy Transfer (CRET) Detection of DNA, Metal Ions, and Aptamer-Substrate Complexes Using Hemin/G-Quadruplexes and CdSe/ZnS Quantum Dots [J]. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133(30):11597-11604.
- [36] Armstrong-Price DE, Deore PS, Manderville RA. Intrinsic "Turn-On" Aptasensor Detection of Ochratoxin A Using Energy-Transfer Fluorescence [J]. J. Agric. Food Chem. 2020, 68:2249-2255.
- [37] Kolpashchikov DM. Split DNA enzyme for visual single nucleotide polymorphism typing. J Am Chem Soc, 2008, 130:2934-2935.
- [38] Luo Yingping, Yu Haixiang, Alkhamis O. Label-Free, Visual Detection of Small Molecules Using Highly Target Responsive Multimodule Split Aptamer Constructs [J]. Anal. Chem. 2019, 91(11):7199-7207.
- [39] Willner I, Baron R, Willner, B. Integrated nanoparticle-biomolecule systems for biosensing and bioelectronics [J]. Biosens. Bioelectron. 2007, 22(9-10):1841-1852.
- [40] Weizmann Y, Beissenhirtz MK, Cheglakov Z. A Virus Spotlighted by an Autonomous DNA Machine [J]. Angew. Chem. 2006, 45:7384-7388.
- [41] Li XiaoYu, Cui YunXi, Du YiChen. Label-Free Telomerase Detection in Single Cell Using a Five-Base Telomerase Product-Triggered Exponential Rolling Circle Amplification Strategy [J]. ACS Sens. 2019, 4(4):1090-1096.

(责任编辑:刘鹤香)

细胞焦亡与其相关疾病的联系

章克, 胡梁, 孟彦辰, 张婷, 徐男, 崔唱

(新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 目前研究认为, 焦亡是一种程序性细胞死亡, 伴随着炎症反应, 通过不同的激活途径广泛参与到多种疾病的发生发展中。对机体的整个生命进程有着重要的意义。本文探讨了细胞焦亡与脓毒症、糖尿病、酒精性胃炎的内在联系及相关研究进展, 为深入研究疾病的发生机制提出新的方向, 获得更有效的防治措施。

关键词: 细胞焦亡; 焦亡机制; 焦亡相关疾病

中图分类号: R363

The relationship between cell pyroptosis and related diseases

ZHANG Ke, HU Liang, MENG Yan-Chen, ZHANG Ting, XU Nan, Cui Chang

(School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000)

Abstract: According to current research, pyroptosis is believed as a kind of programmed cell death, accompanied by inflammatory reaction, which is widely involved in the occurrence and development of a variety of diseases through different activation pathways. It is of great significance to the whole life process of the organism. This article discusses the internal relationship between cell pyroptosis and sepsis, diabetes mellitus and alcoholic gastritis, reviews related research progress, and provides a new direction for further study on the pathogenesis of diseases to obtain more effective prevention and treatment measures.

Key words: cell pyroptosis; pyroptosis mechanism; pyroptosis-related diseases

细胞焦亡 (pyroptosis) 这一概念, 首次由 Zychlinsky 等^[1]于 1992 年提出, 是一种新型促炎程序性细胞死亡形式, 它的本质是依赖于胱天蛋白酶 - 1 (caspase - 1) 的激活, 使细胞内外渗透压改变, 肿胀破裂, 胞膜形成孔洞, 胞质快速裂解, 原生质释放, 进而引发机体强烈的炎症反应。因此细胞焦亡又称为细胞炎性坏死^[2]。所受刺激不同, 细胞诱导焦亡发生的通路也会不同。

1 细胞焦亡机制

1.1 经典细胞焦亡途径

经典细胞焦亡途径是由 caspase - 1 的所介导的^[3]。炎性小体与经典焦亡途径关系密切, 炎性小体参与了细菌、病毒等机体内危险信号分子的识别, 是细胞在受到内外源性刺激时作出相应组装而成^[4-5]。caspase - 1 的 N 端具有 caspase 募集结构域 (caspase recruitment domain, CARD), 能结合其它含有 CARD 的蛋白。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 1 (NLRP1)、NLRP3、NOD 样受体 C4 (NLRC4) 等具有 CARD 结构域和/或热蛋白结构域 PYD^[6]。凋亡相关微粒蛋白 (apoptosis - associated speck - like protein, ASC) 含有 CARD 和 PYD 结构

域, 是炎性小体与 caspase - 1 的连接者。炎性小体通过募集结构域之间的联系集结大量 caspase - 1 前体, 释放出具有活性的 caspase - 1, 活化的 caspase - 1 作用于 GSDMD 蛋白 (Gasdermin D protein), 形成具有成孔活性和亲膜脂性的 N 端结构域, 进而引起焦亡的发生^[7]。活化的 caspase - 1 可诱导巨噬细胞增多, 产生大量促炎细胞因子, 然后激活 IL - 1 β 、IL - 18 发生免疫反应^[8]。

1.2 非经典细胞焦亡途径

细胞在受到内源性 LPS 刺激后, caspase - 4、caspase - 5 和 caspase - 11 可以与细胞直接结合启动焦亡过程, 导致胞膜破裂形成穿孔、出现炎症反应、并致细胞溶解死亡^[9-11]。这类死亡方式称为非经典焦亡途径。其机制是结合了 LPS 的 caspase - 11 的水解活性被激活, 直接剪切 GSDMD 蛋白形成 GSDMD - N, GSDMD 蛋白的切割是细胞发生焦亡的必要条件, 这种蛋白的 N 端片段使胞膜屏障受损, 引起焦亡的发生^[12]。但 C 端会与 N 端发生自抑反应, 阻止炎症因子的释放, 活化的 caspase - 1 和 caspase - 11 使 GSDMD - N 摆脱自抑状态, GSDMD - N 通过结合膜磷酸肌醇聚集到质膜上形成穿孔,

收稿日期: 2019 - 09 - 16

作者简介: 章克, 男, 在读本科生, 临床医学专业, E-mail: 1316323340@qq.com。

通讯作者: 崔唱, 女, 硕士, 研究方向: 神经生物学, E-mail: 359426922@qq.com。

引起细胞不断渗透、膨胀、裂解死亡^[13]。目前新发现了一种与 pannexin - 1 蛋白(Panx 1)通路有关的非经典焦亡途径,Panx 1 活化导致核苷酸的释放,如三磷酸腺苷和三磷酸尿苷,活化的 Caspase - 11 使 Panx 1 裂解,自身通道的开放,诱导胞浆 ATP 的释放^[14-16],长时间的 ATP 刺激可激活 P2X₇ 通道开放,细胞内外渗透压紊乱,发生肿胀破裂诱发细胞死亡。这种方式也能引起钾离子的外流进而刺激 NLRP 3 介导的焦亡^[17-18]。

2 焦亡相关疾病

细胞焦亡是细胞死亡的又一重要形式,有助于强化机体的抗原抗体反应,清除病原微生物。焦亡与炎性因子 IL - 1 β 、IL - 18 的释放密切相关,在各种炎症相关的疾病中扮演着重要的角色。研究表明,细胞焦亡在脓毒症、糖尿病疾病及酒精性胃炎的发生发展中起到了关键性的作用。

2.1 脓毒症

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征,是导致多器官功能障碍的主要病因。细胞焦亡是防御细菌感染所必需的,适当的焦亡可以将组织损伤降到最低,但过度激活时焦亡会导致脓毒性休克、多器官功能障碍综合征(MODS)或增加继发感染的风险^[19-21]。caspase - 1、caspase - 4、caspase - 5 和 caspase - 11 对 GSDMD 蛋白的水解作用是 LPS 激活的天然免疫细胞进行吞噬作用的关键步骤。焦亡细胞释放损伤相关模式分子(DAMPs),募集大量免疫细胞进入感染性病变。单一的配体和炎性小体传感器之间的结合可以引发一系列级联反应,最终导致焦亡,这决定了宿主体内的病理反应^[22]。研究证明^[23-25],GSDMD 组和 caspase - 11 组小鼠均在 LPS 致死剂量下存活,验证了 GSDMD 在致死性脓毒症和败血症休克中的作用。Wu 等^[26]建立了大鼠脓毒症模型,研究了 NLRP 3 在脓毒症中的作用,NLRP 3 通过恢复肝细胞转运蛋白的丰度和抑制脓毒症期间肝细胞因子、中性粒细胞的滤过和巨噬细胞焦亡的产生来减轻高血糖血症。NLRP 3 的失调也会加重脓毒症,如何限制 NLRP3 的激活可能成为治疗脓毒症引发的疾病的新方向。自噬相关基因 Agt 7 的缺乏能通过一种未知的机制加重脓毒症炎症反应和焦亡发生^[27]。

2.2 糖尿病

细胞焦亡主要影响 II 型糖尿病,炎性小体 NLRP 3 的活化可引起高血糖症及高胰岛素血症^[28]。

在经过高脂肪饮食喂养的小鼠体内其功能异常的脂肪细胞会刺激炎性小体活化,激活焦亡通路。焦亡细胞释放的 IL - 1 β 可以降低胰岛素的表达,减少了葡萄糖的摄取,最后容易发生胰岛素抵抗、糖耐量异常、炎性反应,甚至肥胖。邱振等^[29]的研究表明由活性氧簇介导的 NLRP 3 可激活经典焦亡途径,可能在糖尿病大鼠的心肌缺血/再灌注(MI/R)损伤中起重要作用,炎性体抑制剂或活性氧清除剂(NAC)可以减轻糖尿病性心肌梗死的损伤。抑制 NLRP 3 炎性体的活化以减少细胞焦亡可能是缓解心肌损伤的新方向^[30]。需要进一步研究证明炎性小体 NLRP 3 在糖尿病的发生发展中的重要作用。

2.3 酒精性胃炎

酒精性胃炎是一种很常见的疾病,及时预防和治疗可以减轻对机体的伤害,但目前的一些治疗方法会有较大的副作用。干细胞经乙醇处理后可造成 DNA 的永久性损伤并使胞内 caspase - 1 活化,中性粒细胞聚集增多,产生并释放白细胞介素 IL - 1 β 和 IL - 18^[31]。因此,证明乙醇可以介导细胞焦亡。由此可见细胞焦亡 caspase - 1 抑制剂参与了酒精引起的胃炎的发生和发展,caspase - 1 抑制剂 Ac - yvad - CMK 能有效地减轻酒精所致的胃黏膜细胞炎性小体的数量,是治疗酒精性胃炎的一种潜在的药物^[32]。

3 结语

目前细胞焦亡作为一种细胞的自主性自杀程序,本应是机体一种抵制内、外源刺激的有力武器。然而在某些条件下焦亡被过度激活,炎症反应得不到控制,导致了相关疾病的发生和发展,更甚至威胁生命。因此,对于细胞焦亡机制的研究不仅有利于人们进一步了解细胞程序性死亡的多样性,而且为焦亡所导致的相关疾病的治疗和药物的开发提供新的靶点。

参考文献:

- [1] Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages[J]. Nature, 1992, 358 (6382): 167-169.
- [2] Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated programmed necrotic cell death[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2017, 42 (4): 245-254.
- [3] Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: Effectors of Pyroptosis [J]. Trends in cell biology, 2017, 27(9): 673-684.
- [4] Aachoui Y, Sagulenko V, Miao EA, et al. Inflammasome-mediated pyroptotic and apoptotic cell death, and defense against infection

- [J]. *Current opinion in microbiology*, 2013, 16(3):319-326.
- [5] 金芬芬, 宋若会, 屠彦红. NLRP3 炎性小体研究进展[J]. *中医药临床杂志*, 2018, 30(3):564-567.
- [6] Fritz JH, Ferrero RL, Philpott DJ. Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease[J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(12):1250-1257.
- [7] Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575):660-665.
- [8] Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling[J]. *Nature reviews Immunology*, 2016, 16(7):407-420.
- [9] Hagar JA, Powell DA, Aachoui Y, et al. Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock[J]. *Science*. 2013, 34(1):1250-1253.
- [10] Shi JJ, Zhao Y, Wang YP, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS[J]. *Nature*. 2014, 51(4):187-92.
- [11] Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, et al. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR 4[J]. *Science*. 2013, 34(1):1246-1249.
- [12] Kayagaki N, Stowe I B, Lee B L, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling[J]. *Nature*, 2015, 526(7575):666-671.
- [13] Ding J, Wang K, Liu W, et al. Pore-forming activity and structural auto-inhibition of the gasdermin family[J]. *Nature*, 2016, 535(7610):111-116.
- [14] Yang D, He Y, Munoz-Planillo R L, et al. Caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X₇ pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock[J]. *Immunity*, 2015, 43(5):923-932.
- [15] Solle M, Labasi J, Perregaux DG, et al. Altered cytokine production in mice lacking P2X₇ receptors[J]. *J Biol Chem*. 2001, 276(6):125-132.
- [16] Chekeni FB, Elliott MR, Sandilos JK, et al. Pannexin 1 channels mediate "find-me" signal release and membrane permeability during apoptosis[J]. *Nature*, 2010, 467(7317):863-867.
- [17] Elliott EI, Sutterwala FS. Initiation and perpetuation of NLRP3 inflammasome activation and assembly[J]. *Annual Review of Immunology*. 2015, 26(5):35-52.
- [18] Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores[J]. *Nature*, 2016, 535(7610):153-158.
- [19] Anja Pfalzgraff, Lena Heinbockel, Qi Su, et al. Synthetic anti-endotoxin peptides inhibit cytoplasmic LPS-mediated responses[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2017, 140:64-72.
- [20] Aglietti, Robin A, Dueber, Erin C. Recent insights into the molecular mechanisms underlying pyroptosis and gasdermin family functions[J]. *Trends in immunology*, 2017, 38(4):261-271.
- [21] Esquerdo K. F, Sharma N. K, Brunialti M. K. C, et al. Inflammasome gene profile is modulated in septic patients, with a greater magnitude in non-survivors[J]. *Clinical & Experimental Immunology*. 2017, 189(2):232-240.
- [22] Yu-Lei Gao, Jian-Hua Zhai, Yan-Fen Chai. Recent advances in the molecular mechanisms underlying? pyroptosis? in sepsis[J]. *Mediators Inflamm*. 2018, 2018(5):823-823.
- [23] Kayagaki, Nobuhiko, Stowe, Irma B, Lee, Bettina L, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling[J]. *Nature*, 2015, 526(7575).
- [24] R. A. Aglietti, A. Estevez, A. Gupta, et al. GsdmD p30 elicited by caspase-11 during pyroptosis forms pores in membranes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(28):7858-7863.
- [25] Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575):660-665.
- [26] Wu Y, Ren J, Zhou B, et al. Gene silencing of non-obese diabetic receptor family (NLRP3) protects against the sepsis-induced hyperbile acidemia in a rat model[J]. *Clinical and Experimental Immunology: An Official Journal of the British Society for Immunology*, 2015, 179(2):277-293.
- [27] Pu Qinqin, Gan Changpei, Li Rongpeng, et al. Atg 7 Deficiency Intensifies Inflammasome Activation and Pyroptosis in Pseudomonas Sepsis[J]. *The Journal of Immunology: Official Journal of the American Association of Immunologists*, 2017, 198(8):3205-3213.
- [28] Martinon F, Petrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome[J]. *Nature*, 2006, 440:237-241.
- [29] Zhen, Qiu, et al. NLRP3 Inflammasome Activation-Mediated Pyroptosis Aggravates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Diabetic Rats[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(2017):1-17.
- [30] 韩蓉, 吴东明, 许颖. 细胞焦亡的分子机制及其临床意义[J]. *生命的化学*, 2017, 37(2):255-261.
- [31] Li Gang, Zhu Lei, Cao Zhigang, et al. A New Participant in the Pathogenesis of Alcoholic Gastritis: Pyroptosis[J]. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 2018, 49(1).
- [32] Calzadilla Bertot Luis, Adams Leon Anton. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease[J]. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17(5).

(责任编辑:刘鹤香)

疫情之后,大健康产业这八大趋势值得关注

2019年12月以来爆发的新冠病毒肺炎疫情引发了全国上下对于大健康产业的高度关注。健康中国战略如今已经上升为国家战略,领导人也指出——没有全民健康,就没有全面小康,这是一次全民的健康教育。那么,在这样的疫情冲击下,将会对健康中国战略的推动带来哪些深远的影响和意义?大健康产业是否将迎来发展机遇?

01、免疫力类产品将成为生活必需品

免疫系统是生物进化的宝贵遗产,能通过自身调节消灭大部分入侵机体的致病体。比如身体的炎症,就是因为受感染死去的细胞释放出了信息素造成局部血液流量升高。这些信息素不仅能干扰病毒复制,还能吸引白细胞前来。而白细胞是很多致病体的天敌,能吞噬(吞噬细胞),能毒杀(NK细胞),足以消灭大部分的病菌、病毒。

如果它们还解决不了问题,身体就会调动特异性免疫细胞,一边释放抗体结合病毒使它们无法感染别的细胞,一边杀灭被感染的细胞,在体内彻底消除病毒,并用记忆细胞记住病毒的特征,在下次再遇到时能快速产生相应的抗体……

02、健康体系从治疗到促进全链条

健康产业本来就是消费升级的重点领域,国家一向重视。此次疫情事件,可谓举全国之力,耗费以及损失的金额数以万亿!健康行业管理者更加知道了“防患于未然”的重要性,国家政策会大力支持医药研究、保健养生品的开发。其一可以预防群体性疾病突发事件,其二可以切实提高人民健康生活水平,早日实现“中国梦,健康梦”……

03、促进全民健康生活新观念

2003年以SARS的爆发之后,全社会对医疗预防工作日趋重视,促使人们健康体检意识进一步增强,疾病的早发现、早诊断、早治疗已经逐渐成为人们的共识,人们对健康体检的需求呈现逐年递增的趋势,健康体检市场随之也在快速升温,健康体检行业步入快速增长期。

随着国家鼓励健康体检行业发展的政策相继出台,行业监管政策日趋规范,全社会健康意识的不断提高,众多民营机构和社会资本不断进入健康体检领域,有力的促进了健康体检市场的快速发展,健康体检行业发展前景广阔……

04、健康城市建设成为发展新目标

武汉作为全国七大中心城市之一,全市人口突破1400万人。面对此次疫情大面积爆发,可以看到医疗卫生资源与城市体量不匹配、高度城市化加速疾病传播等问题。值得反思的是,是否城市建设之初就应该防范此类问题发生?……

05、基层健康医疗机构地位提升

2020年1月,武汉市新冠肺炎防控指挥部发布通告,对全市发热市民实行分级分类诊疗服务,由社区医院进行初级筛查诊断,将排查出来的辖区发热病人及时送至当地诊疗医院对病情进行筛选、分类,严格实施隔离,再依据病情,重者由防疫车辆送至定点医院收治,轻者由社区督促在家进行自我隔离观察。

分级诊疗启动后,轻度病患被“分流”进入社区医院,武汉各大定点医院门诊排队拥挤现象得到明显缓解,与此同时,市内四百余家社区卫生服务中心迅速行动,成为战“疫”前线。经过社区卫生服务中心初筛,疑似病患携带初步检查资料前往定点医院,使医生可以更加快速做出针对性诊断,有效提升了接诊效率……

06、中医外治将得到认可与普及

中医能治大病、难病,中医外治的方法更简便易行,性价比更高,安全更有保障。如果说中医是中华

文明的一项皇冠，那么中医外治是这顶皇冠上的璀璨明珠。艾灸、膏贴、拔罐、刮痧、熨烙、推拿、正骨等等，以前被认为是偏科、冷门的外治技艺和方法，如今将登上大雅之堂，重新获得重用……

07、互联网健康医疗迎来发展机遇

就像当年 SARS 推动网络购物快速发展，并成就像淘宝等一批世界级电商企业一样，这次疫情极可能成为互联网医疗的转折点和突破点，在 5G 的推动下，中国有可能诞生一批世界级互联网和远程医疗服务机构。

新型冠状病毒来势汹汹，大批发热病人短时间内涌入定点医院，使得发热门诊拥挤不堪、医护人员疲惫不堪。此时，互联网医疗因其便捷、高效的特点，在疫情防控方面起到了非常重要的作用……

08、加速健康产业高精技术发展

高新医疗技术能否真正惠民，健全体系、加强监管是重点，《新英格兰医学杂志》在 1 月 31 日发布的一项报告显示，吉利德公司在研抗病毒药物瑞德西韦成功帮助美国首例确诊患者缓解病症，揭示了这一药物在治疗新冠病毒感染方面的巨大潜力。在国内，此药已在各部门协调合作下迅速展开临床试验，以进一步评价其有效性和安全性……

摘自：HNC 健康营养展 2 月 20 日

（供稿人：刘芳）

大健康产业利好政策不断 2019 大健康产业市场现状及发展趋势分析

人民健康是民族昌盛和国家富强的重要标志，预防是最经济最有效的健康策略。近日，国家出台了《健康中国行动（2019—2030 年）》等相关文件，围绕疾病预防和健康促进两大核心，提出将开展 15 个重大专项行动，促进以治病为中心向以人民健康为中心转变，努力使群众不生病、少生病。随着生活水平的逐步提高，人民对健康服务的需求非常迫切，政策支持下，中国大健康产业市场前景广阔。

大健康产业囊括内容广泛

大健康产业包括医疗服务、医药保健产品、营养保健产品、医疗保健器械、休闲保健服务、健康咨询管理等多个与人类健康紧密相关的生产和服务领域。大健康产业不同于传统医疗产业发展模式，是一种从单一救治模式转向“防—治—养”一体化模式。

三大因素促进大健康产业发展

1、人口老龄化加剧

中国已经成为世界上老年人口最多的国家，也是人口老龄化发展速度最快的国家之一。据国家统计局数据，截至 2018 年年末，60 周岁及以上人口为 24949 万，占比 17.9%。其中，65 岁及以上人口为 16658 万人，占 11.9%。随着我国的人口老年化不断加快，消费群体和规模进一步扩大，对大健康产业形成了较大的助推力。就目前而言，中医药及大健康产业发展方兴未艾，未来发展前景一片光明。

2、国家政策鼓励

在政府层面，我国重视以人为本，将民众始终放在工作中的首位。为提高全民健康水平，提出了切实可行的新医改方案和“健康中国 2020”的健康发展战略，将“健康强国”提升至国家战略高度，政策层面的利好将极大地鼓舞大健康产业的发展；“健康中国 2030 战略”又对人民健康水平，健康服务能力，健康体系完善提出了更高的要求，鼓励为实现全民健康而努力。

3、健康意识提升

疾病可分两种，一种是先天性遗传疾病，另一种则是后天导致的，不健康的生活习惯给疾病侵入人体提供了机会，一旦发作往往猝不及防，十分可怕。而更为可怕的是，许多人并不意识到病症的存在，因此，年轻人在毫无察觉的情况下瞬间辞世。在 10—20 年前，有愿望经常了解自己身体状况的人群大多在 50 岁以上，而如今 20—30 岁人群的体检普及率已大大提高，受益于此，未来 20 年内，中国人的人均寿命可望提高 20 岁。

大健康产业市场广阔

目前，我国大健康产业发展处于初级阶段，具有巨大的市场潜力，美国著名经济学家保罗·皮尔泽曾

将其称为继 IT 产业之后的全球“财富第五波”，特别对于中国来说，目前“健康中国”战略进一步提升了大健康产业的地位，未来大健康产业前景光明。2017 年国内大健康产业总产值约 6 万亿元，国家卫健委政策研究室主任张毓辉日前表示，到 2020 年大健康产业 8 万亿的产业规模目标有望实现。

资本积极布局大健康产业

随着健康中国战略的持续推进，健康产业正在逐渐占据顶层设计的重要位置，成为各方资本竞相追逐的朝阳产业。目前布局大健康产业主要有三种类型企业：1、以康美药业为代表的医药健康领军企业，其主要围绕原油核心业务打造大健康产业神态，完善产业整体布局。2、以万达、恒大为代表的房地产企业，其力图通过合作、并购、自建等方式快速进入大健康领域，抢占未来发展先机。3、以腾讯、百度、阿里为代表的互联网企业，其希望将移动互联网、人工智能等信息技术与大健康产业向融合，打造新兴领域。

大健康产业发展趋势分析

1、高科技化。未来我们用可穿戴设备、远程医疗、双向音频远程、慢病监测、区块链医学等高科技将在医学领域大范围应用。

2、精准化、标准化和专业化。未来将通过精准的检测、治疗、康养来实现个性化、专业化的全生命周期健康的照顾管理系统。

3、智能化。人工智能、物联网+等新技术将为大健康产业带来变革。AI 智能等信息化技术够提升诊断治疗的智能化的水平。

4、融合化。未来的大健康产业将与文化、旅游深度融合。

5、国际化。国际合作与资源共享是未来医疗健康产业发展的趋势。通过“一带一路”大健康驿站建设，为中国与世界医疗健康产业合作搭建平台。

信息来源：东方财富网

(供稿人：陈圆圆)

2020 年大健康产业市场达 80000 亿，将成重点产业

健康产业已成为全球热点，将成为继 IT 产业之后的全球“财富第五波”。

近年来，亚健康状态在中青年群体中不断蔓延。世界银行针对中国慢性病做的调查数据称，在今后的 20 年，40 岁以上人群，慢性病的发病人数会增长三倍。

01 何为健康

所谓大健康，就是围绕人的衣食住行、生老病死，对生命实施全程、全面、全要素地呵护，既追求个体生理、身体健康，也追求心理、精神等各方面健康。

当前，我国发展大健康产业既具有重要意义，又具有良好条件。积极发展大健康产业，不仅有利于提高人民群众健康水平和生活质量，而且有利于调整产业结构、推动经济社会可持续发展。

02 大健康产业是刚需

健康是促进人的全面发展的必然要求，是国家富强和人民幸福的重要标志。没有全民健康，就没有全面小康。党的十八届五中全会从协调推进“四个全面”战略布局出发，提出“推进健康中国建设”的宏伟目标，凸显了国家对维护国民健康的高度重视和坚定决心。

近年来，各级政府在这方面做了大量工作，如建立了覆盖城乡的居民医保体系、逐年提高医保补助标准、推进县级公立医院改革、破除以药养医等，都使医疗卫生服务水平有了很大提高。

这使得当前我国的基本医疗卫生服务与人民群众的需求之间仍有较大差距。卫生资源总量仍然不足，结构不合理，卫生服务的公平性和可及性仍然较差，公共卫生、医疗服务和药物政策在制定、调整等方面仍存在滞后或缺失，执行力度也不够。与此同时，随着我国经济社会快速发展，人们的生活环境、生活方式发生巨大变化，慢性病、老年病、肥胖症以及亚健康等趋于增多。

解决这些问题，迫切需要树立大健康理念，发展大健康产业。

03 大健康产业的黄金时期

1、中国经济总量排行世界第二

任何一个国家，如果经济不发达，这个国家的健康产业还是发展不了。

2、中国老年人口将赶超4亿

目前，我国老年人口数量为2.12亿，到2050年将达到4.8亿，老龄化水平为15.5%。老人数量越多对健康需求、关注、迫切度越高，这也是健康产业飞速发展的一个原因。

3、慢病死亡占疾病死亡率85%

因为慢病而引起的疾病负担占到中国整个疾病负担的70%，但是这些慢病是可防、可控的，正是因为我们日常生活中的不注意、生活方式不健康，这些慢病才会发生，发生到一定程度就会造成慢性疑难不治症。

4、中国居民素养水平将达到20%

健康素养就是说我要吃什么才健康、我怎么运动才健康、怎样的生活方式健康。2008年中国健康素养水平是6.68%，预计在2020年提升到20%。

5、2020年健康产业市场总额达8万亿

健康产业作为一种新兴服务业，具有巨大发展潜力。2020年，我国健康服务业规模将达到8万亿，占GDP比重将达到6.5%。而美国2009年已达到17.6%。

04 自我保健对抗慢性病

糖尿病、高血压等疾病被称为慢性非传染性疾病，已经成为人类健康的最大杀手之一。在专家看来，这些病实质上都是由可避免的行为性风险因素造成，如：不健康的饮食、缺乏锻炼、吸烟和过量饮酒。也就是说，这些疾病都可以通过自我保健来预防和规避。

对于健康管理和疾病预防，公众很容易感到不知所措，实际上有许多目标都是非常容易实现的，但需要掌握生命和健康科学常识，并加以运用。“八成的心脏病、中风、II型糖尿病及三分之一的癌症个案都可以通过自我保健减低患病风险，这不但对个人及家人有益处，亦大大减轻政府有关医疗开支的压力。”

摘自：搜狐网

(供稿人：陈圆圆)

大健康产业，下一个弯道超车的领域

01 养老产业

人口老龄化使养老产业受益，以每位老人每年消费1万元计算，目前养老产业市场规模超过2万亿。

根据全国老龄办数据，2020年全国60岁老年人口将达2.48亿，老龄化水平为17%。从2015年到2020年间，随着经济发展、国人养老观念的改变，老年人消费水平也将有所提高，以GDP增速作为老年人均年消费金额增长率计算，假设未来五年GDP复合增长率为6.5%，那么到2020年，则每位老人每年消费金额约为1.37万元，养老产业市场规模达3.4万亿元……

02 健康管理

我国健康管理市场潜在规划大约600亿元，而现阶段仅完成了30亿左右，超过500万市场空缺有待填补，健康管理产业未来发展空间巨大。其中体检中心、体外诊断、微量元素检测、生殖健康、中医养生、月子中心和康复中心成为最具投资潜力的领域。

健康管理正处于市场培育阶段，市场认知度低，一些健康管理理念还不能被公众普遍接受，行业总体来说盈利水平较低，但健康体检等细分领域盈利状况较佳。随着人们对健康管理认识的不断深入，将翘起一块巨大的市场。健康管理门槛适中，对资金、技术无严苛要求企业应当尽早布局。

03 商业医保

商业医保是朝阳产业，医疗信息化水平提高，市场规模达到千亿级别，预计未来十年有望达1.8万亿元。

随着政府对大病医疗保险建设的推进，大病医疗保险的保费出险爆发式增长，2015年上半年大病医疗保险保费约172亿元，已超过2014年全年的156亿元。在大病医疗保险领域，中国人寿和人保集团基本瓜分了整个市场，中国人寿占据超过一半的市场份额，人保集团紧随其后2014年全年市场份额为42%，2015年上半年提升至45%……

04 医疗美容

2015年中国整形手术占据了全球总量的16%以上，成为全球第三整容大国。女性是医疗美容主力军，占消费者83%，而且医疗美容消费群体年龄年轻化趋势明显。

2009 - 2015 年，我国医疗美容保持 15% 的年复合增长速度，其中非手术医疗美容增速高于全行业整体，达到 18.9%，手术医疗美容增速只有 10.7%。我国医疗美容服务行业高度分散，有超过 24000 家医疗美容机构及诊所。

公立医院医疗美容科室占据市场份额的 34%，民营单店经营占 26%，民营连锁经营占 21%，还有 19% 为非法美容沙龙。

05 在线医疗

近几年，国内在线医疗发展迅速，2014 年在线医疗市场规模为 108.8 亿元，2015 年市场规模超 170 亿元，预计未来 3 - 5 年将有望突破 500 亿元。

2010 年之前，在线医疗领域获投资非常少，2010 年之后开始呈几何级数增长态势，投资规模增长迅速，且投资轮数多为种子天使轮。可见，我国在线医疗行业目前正处于快速发展的成长期。

06 养生旅游

养生旅游占总旅游交易规模的 1% 左右，2015 年中国旅游市场总交易规模为 41300 亿元，养生旅游的交易规模约为 400 亿元。

现阶段，养生旅游市场拥有良好的市场发展环境，发展空间巨大。未来五年养生旅游的市场规模将呈快速增长态势，年复合增长率有望达到 20% 左右。2020 年市场规模将在 1000 亿元左右。养生旅游作为大健康产业和旅游产业的复合型产业，值得投资者重点关注……

07 智慧医疗

我国约 47% 的医院已经制定全面信息化规划，约 95% 的医院制定了部分或全面的信息化发展规划。目前国内人均医疗信息化投入约为 2.5 美元，相比美国人均医疗信息化近 85 美元的水平，仅为美国的 3%。2015 年我国智慧医疗的市场规模约为 260 亿，未来五年年复合增长率或在 30% 左右，到 2020 年市场规模有望达到约 1000 亿元。

医院信息化（智慧医院系统）、区域医疗信息化（区域卫生系统）、健康管理信息化（家庭个人健康管理）是智慧医疗最重要的三个子板块，共同组成了智慧医疗的金字塔。

08 康复医疗

预测至 2020 年我国康复医疗产业规模有望达到 700 亿元左右，年复合增速不低于 20%。

我国卫生总费用从 2005 年 0.8 万亿增长到 2015 年 3.9 万亿，占 GDP 比重稳步上涨；入院人数也从 0.7 亿增长到 2 亿，人均卫生费用翻两番，行业空间巨大。

目前康复资源主要分布在残联、卫生、人事及社会保障、民政、教育以及社会机构六大方面。

值得注意的是，我国康复医疗行业虽然需求巨大，但体系不完善，我国综合医院康复科及康复专科机构数为 3800 家，占比 28.4%，康复床位数 98992，占比 2.2%，康复医护人员数 39833，占比 0.72%，未形成系统、完备、充足的康复医疗供给体系。此外，缺乏统一的行业管理标准；康复机构规模小、档次低、数量少，建设水平有待提高；康复机构定位不明确，缺乏可借鉴的成功模式。

09 医药电商

中国医药电商现在仍处于成长初期，政府对于处方药销售监管严格是制约其发展的主要原因。

“十二五”期间，中国网上药店市场的总体规模由 2011 年的 4 亿元迅速增长至 2015 年的 152 亿元，五年间的年均复合增长率高达 171.67%。中国医药电商的渗透率目前仅为 0.35%，未来五年，医药电商年均复合增长率有望达到 50% 以上，至 2020 年，我国医药电商市场规模将超过 1100 亿元。

目前医药电商所售商品主要包括医疗器械、计生用品、医药和保健品四大类。未来医药物流必将走向专业化，第三方物流模式会成为医药物流的主要模式，医药电商的快速发展将会带动医药冷链物流需求，为该行业带来发展机遇。

10 基因测序

从全球范围来看，近几年来基因测序市场飞速发展，从 2007 年的 7.94 亿美元增长到 2013 年的 45 亿美元，年复合增长率为 33.5%，预计未来几年依旧会保持快速增长，2018 年将达到 117 亿美元，年复合增长率为 21.1%。

基因测序仪增速已经放缓，预计 2014 - 2020 年测序仪的复合增长率是 15.4%；基因测序生物信息学全球市场（目前测序行业最大的难点和瓶颈），2012 - 2018 复合增长率 23%。下游应用市场以科学研究为主，肿瘤检测占下游最大的市场份额，下游应用市场开拓也是未来基因测序行业的主要增长动力来源……

越是面对机遇，大健康产业的崛起，需要全行业的共同努力

2020年初，一场新冠肺炎疫情的集中爆发，让中国举全民之力奋起反击，同时，蔓延全球的疫情也无疑成为世界公共卫生健康的一场大考，也深刻影响着各个产业未来的发展格局。

但与此相对的是，以大健康产业为代表的诸多行业却“疫”外走红，除口罩、体温计等防疫产品需求爆发增长外，公众对健康观念的意识再一次上升到高点。各类运动器械、提升免疫力的保健食品、家庭清洁产品等热销，在疫情影响之下逆势上扬。

随着疫情在国内的逐渐平稳，被疫情推动到高段位的大健康产业也迎来了“后疫情时代”。在需求与环境的共同作用下，市场显现出一片蓝海。但可以预见的是，公众对多层次、多样化的大健康产品消费的需求也将日益高涨，这对于大健康产业的从业者而言，是挑战，也是机遇。

全民抗疫的过程，更像是一次健康观念的普及过程。随着抗疫的各种健康习惯和知识宣导，强身健体、增强免疫力、改善体质，将成为更多人长期的健康意识，也推动了消费需求的巨大升级。

这一改变，在大健康产业中很多养生指南服务平台、企业以及众多从业者都感同身受。根据近段时间与行业同仁接触沟通获悉，自从发生疫情以来，大众长时间使用网络、远程办公、线上游戏、网络授课等带来的连锁影响，各种保健食品生产需求一直在持续跃升，尤其是提高免疫力相关产品更是得到了较高的市场欢迎。

对企业而言，要想在产业新风口下把握好机遇、实现新的发展，就需要主动适应市场变化，升级产品服务，更好地打造自身品牌价值。在养生指南服务平台的产品结构中，原本居家生活、康复理疗、基础营养、养生保健四大类别占比相当，但在疫情催生的市场需求面前，企业安全复工后快速调整生产结构比例，增加保健食品类产品的生产计划，各类资源向增强免疫力类的产品倾斜，并多方拓展人员招募渠道，全力保障市场供应。而由于疫情期间要确保生产员工的安全，企业又通过加强防疫管理、错时排班、增加生产频次等方式，发挥生产、研发、质检、物流、仓储等多方面的产业链优势，兼顾防疫与产能的双向保障。

经历过疫情的大众消费者，对于消费品的选择将会更加聚焦于产品背后的品牌保障。而在特殊时期下，企业品牌形象更集中体现在社会责任感上，疫情下的公益行动、企业的文化内涵更使得品牌价值被放大。

越是面对机遇，越需要企业修炼内功，大健康产业的崛起，需要全行业的共同努力，向规模化、专业化和规范化方向持续发展，锐意探索，助推大健康产业的转型升级。

（供稿人：陈圆圆）

摘自：腾讯-新闻

新冠肺炎疫情带来的医科新思考

这场新冠肺炎疫情，给人类健康、社会经济发展带来了重大损失。疫情发生后，公共卫生体系、医疗救助体系以及医学教育受到前所未有的重视和关注。

1. 疫情对我国医疗卫生体系及医学教育提出了新需求，要求我们更加重视“大健康”。

2016年，全国卫生与健康大会召开，吹响健康中国建设的集结号，提出了要“全过程”“全周期”管理健康的“大健康”概念，强调自我健康管理、提倡健康生活方式，强调预防、治疗、康养和健康管理关联。

这次疫情，进一步凸显了健康管理、疾病预防和健康生活方式的重要性，也凸显了医疗卫生工作中贯彻“大健康”理念的重要性。打造一支优秀的医疗卫生人才队伍，是落实“健康中国”战略的关键要素

之一。这次新冠肺炎疫情，对医学人才的岗位胜任力、对复合型医学人才培养、对跨学科人才培养、对个体健康与群体健康服务体系等都提出了新的要求。我们必须将“健康中国”战略的内涵和建设计划落实到新一代优秀医学人才培养体系中，推动医疗卫生工作重点从“以疾病治疗为中心”转向“以促进健康为中心”。

2. 疫情对我国公共卫生与疾病防控体系提出了新挑战，要求我们更加重视“群健康”。

这次新冠肺炎疫情，加上2000年以来不断暴发的诸如SARS、MERS、埃博拉、禽流感等重大疫情，提醒我们两点：一是重大传染病离我们并不遥远，不是罕见的“黑天鹅”，而是常见的“灰犀牛”，稍有侥幸，则随时可能引发灾难性事件，我们必须始终保持高度戒备，建立一个完善的常态应对机制。二是我们要加强临床医院的卫生防疫体系建设，改变卫生防疫科只关注“院内感染”监测的现状，进一步明确其职责范围，使其在疾控与传染病申报机制中起到最灵敏的“感受器”作用，成为“临床医疗—疾病防控”协同合作的桥梁和纽带。如果把疾控中心比作“瞭望台”，那么医院卫生防疫科就是“感应器”：一旦社会上出现突发传染病或者突发公共卫生事件，医院就会第一时间感知到，卫生防疫科就可快速汇总分析传递信息，启动申报应对机制。卫生防疫科要像消防系统一样，做到每天监控，看是否有异常疫情发生，是否有医护人员感染。

这次疫情同时提示我们，在医科建设和人才培养体系中，要加强对医学生有关公共卫生突发事件应对知识与技能的教育和培训，培养医学生对公共卫生突发事件和重大传染病的职业敏感性，提高传染病与流行病学课程分量，增加相关实训锻炼，加强医学生对传染病的防护意识，加强公共卫生法教育。要让公共卫生成为医科各专业学生必修的“专业通识课程”，全面提升其公共卫生素养，提高其应对公共卫生突发事件能力和科学防疫抗疫能力。

3. 疫情对人类提出了新启示，要求我们更加重视“同健康”。

新冠肺炎疫情在全球蔓延，从另一个角度印证，人类命运共同体既是人类经济社会发展兴衰相关的“共同体”，也是在重大传染病等灾难性事件发生时休戚与共的“共同体”。不同国家、不同社会制度、不同文化要抛开成见和偏见，相互合作与支持，以人民福祉为宗旨，共同打造“人类健康共同体”——即“同健康”。

未来，我们的医科建设和人才培养体系，也必须加强“同健康”理念，开设“全球健康”（Global health）相关课程，关注全球健康公共问题，扩大医学生的国际视野，提升其参与国际间医疗卫生合作与交流的能力，提升其在国际医疗卫生协调机构或组织内供职的岗位胜任力。

4. 疫情对人类与自然的关系提出了新警告，要求我们更加重视“全健康”。

全健康的理念最早萌芽于19世纪末，当时法国、德国医学界先后提出“人畜共患病”的概念。经过一个多世纪的“打磨”，该理念成熟于21世纪初，国际野生动物保护协会兽医学家William Karesh正式提出了“One Health”这一新概念。上海交通大学副校长陈国强院士首倡将其翻译成“全健康”，意指“人类健康、动物健康和环境健康三者统合为一个健康整体”。

这次新冠肺炎疫情再次凸显了“全健康”理念的重要性。“全健康”理念涵盖人与自然和谐相处，涉及人类和动物健康、环境卫生、食品安全、农林畜牧业、生态和谐等方方面面，也符合我国提出的“创新、协调、绿色、开放、共享”的发展理念。据统计，人类近百年来新发传染病大多数为“人畜共患病”，且主要来自野生动物。21世纪以来先后暴发的SARS、MERS、寨卡病毒、埃博拉病毒等疫情，都属于这类疾病，这再次提醒我们打造“全健康”体系的重要性。

所以，在医科建设和人才培养体系中，我们要更加突出和贯彻“全健康”理念，倡导人与自然和谐相处，将人类健康与生态健康关联起来考虑，在具体课程设置中要适当增加有关动物传染病、生态健康方面的课程。

5. 疫情对医科人才培养提出了新目标，要求我们更加重视“复合型”人才培养。

这次重大灾难性疫情从正反两方面全方位展示了以全程健康管理为核心的“大健康”，以全民健康为目标的“群健康”，以全球健康为理念的“同健康”，以人与自然和谐相处为内涵的“全健康”这四种健康模式之间相互演变、相互作用的“网格”布局。再一次凸显传统的医学人才培养模式已明显不能适应

新的社会发展和人民健康需要，医科人才培养体系迫切需要加大“复合型创新拔尖人才”的培养力度。

优秀的复合型临床医学人才，在总体层面必须有胸怀世界的“国际视野”、服务人民的“家国情怀”、医者仁术的“大爱精神”、悬壶济世的“精湛医术”；在专业层面应具有四种能力，即：自主学习能力、创新实践能力、交流沟通能力和分析思辨能力；在知识结构上，应具有厚实的临床医学功底、相当程度的预防医学知识、一定的理工科基础、良好的人文科学素养。

就发展方向来讲，优秀的复合型医学创新人才，要么具备扎实的医学功底和突出的科学研究能力，能够成为引领医学创新发展的“医学科学家”；要么具备多学科知识背景，擅长医工医理结合，成为引领医学技术发展的“跨学科领军人才”。我们必须进一步优化医学人才培养体系，优化学制设置，统筹协调好院校教育、毕业后教育和继续教育，明确各自的定位、分工及其关联。完善本科教育、研究生教育、住院医师规范化培训的顶层设计和相互之间的衔接机制。设置跨学科交叉人才培养的机制和路径，培养更多兼具医工、医理、医文扎实基础的跨学科复合型人才。

6. 疫情对医科建设的组织保障提出了新呼唤，要求我们抓紧落实“医教协同”。

这次战疫的经历，也让我们感受到了加强医教协同的重要性和紧迫性。医教协同不仅是指医学教育系统要与临床医疗系统协同，而且包含医学教育系统要与疾病控制和公共卫生系统协同。从这次疫情来看，后者尤其重要，但目前协同得远远不够。今后，建议医学院校预防医学、流行病学和传染病学等学科领域的专家、教授，与临床医生、疾控中心专业人员建立一些日常沟通和合作机制，组建不同层面的联合专家委员会，从临床医疗、疾病防控和预防医学等不同角度密切关注与监测重大疾病，特别是重大传染性疾病发生与传播动态，及时进行分析与预警，为卫生管理部门和政府综合部门提供准确而科学的应对预案和解决方案。通过有效的医教协同，我们可以形成支撑医疗卫生体系的“铁三角”，即“医学教育—临床医疗”“医学教育—疾病防控”和“临床医疗—疾病防控”三方稳定的协同架构。

这次疫情，暴露出医教协同不够、机制体制不顺的问题。在疫情过后，医科建设任务繁重、头绪复杂、时间紧迫，迫切需要我们强化组织保障，深入推进医教协同建设。

7. 疫情对新医科建设和社会科教系统提出了新希望，要求我们更加重视“全民科普”。

“健康中国”的一个重要内涵就是全民健康科学素养的全面提升。这次疫情再次提醒我们提高全民健康科学素养的重要性和紧迫性。我们要在社会层面充分利用现代立体化信息手段，建立起强大的医药卫生与健康科普体系。不仅针对医学生、医务工作者，还需要包括政府行政管理人员、各行各业的工作人员、普通市民，要让全体国民增强健康意识、增强重大传染病自我防护意识。

通过科普，我们还要进一步把公共卫生突发事件应急机制通俗化，根据不同的应急响应机制，明确政府部门该干什么、单位社区该干什么、居民该干什么。一旦警报拉响，各自进入自己的角色，科学地应对疫情。而在医学院校，应探索设立健康科普专门人才培养体系，打造健康科普工作的专业队伍，改变现有科普体系“劣币驱逐良币”和“鸠占鹊巢”的不正常现象，全面提升全社会健康科普水平。

一部人类发展史，从某种意义上说，也是一部与灾难做斗争、从灾难中总结、从灾难中崛起的历史。我们医学教育界要认真开展总结，进一步优化完善“新医科”建设计划，出台相关措施，打造“国际一流、中国特色”的医学教育体系，为健康中国建设和“两个一百年”目标的实现作出应有的贡献。

摘自：《光明日报》（2020年04月16日07版）

（供稿人：王玺秀）

【读者·作者·编者】

《大健康教育与研究》投稿须知

《大健康教育与研究》(Comprehensive health Education and Research) 是新乡医学院三全学院主办的内部资料性出版物。是侧重于医药卫生内容, 服务地方大健康产业发展的学术研究、技术应用、资讯信息类出版物。

办刊宗旨: 以服务国家大健康战略和区域大健康产业发展为宗旨, 以宣传党和国家的教育、卫生和科技政策, 推动科学研究, 促进学术交流为目标, 依托学校的办学优势和特色学科、专业, 发表具有创新性和前瞻性的学术论文, 全面反映本校各学科应用性研究的新理论、新技术、新成果、新进展以及合作单位技术及产品研发成果, 全面反映本校教育创新研究与实践成果, 为推动区域健康产业发展及学校人才培养、教学改革、转型发展做出积极贡献。

栏目设置及内容: 专家论坛; 健康医学研究(包括基础医学、临床医学、预防医学及卫生学、康复医学、预测医学、护理研究等); 生物医药(包括生物技术、生物工程、生物制药、药学、药物制剂); 医疗装备与技术(包括人工智能、大数据、云计算、移动互联、虚拟与增强技术在医学健康领域研究与应用, 医学检验与影像设备研发与应用, 眼视光学技术和口腔医学技术与设备的研发与应用, 康复设备研发与应用, 假肢矫形工程等); 医养结合(包括政策与模式研究与应用、养老机构管理、养老技术与设备研发与应用等); 健康与医疗管理(包括区域医疗政策研究与实践, 健康与医疗机构管理的政策和技术研究, 现代健康与医疗市场人力资源与营销理论研究与实践等); 综述; 教育创新研究(包括产教融合与应用型高校建设研究与实践, 学科与专业集群建设、应用型课程建设、现代教育技术与教育教学深度融合研究与实践、教学管理等); 学术动态(校内作者发表在国内外权威杂志或网上研究论文的摘要内容, 学校及所有合作单位的研究进展、研究团队及其科室介绍、名人介绍等); 大健康产业资讯(通过查阅杂志或网络收集大健康产业方面的政策性或学术技术性前沿信息等, 学校及所有合作企事业单位的产品推介、成果展示)等。

作者和读者对象: 新乡医学院三全学院全体教师和管理干部, 新乡医学院全体教师, 与三全学院有产学研合作或交流的企事业单位工作者等。

稿件要求:

1 稿件内容要求: 稿件应具有一定创新性、科学性、学术性和实用性、规范性。做到内容充实, 观点明确, 论证严密, 资料准确, 层次清楚, 结构合理。文内所附图表力求简明清晰。研究性论著每篇 5000 - 8000 字, 普通稿件每篇 3000 - 6000 字, 学术动态和大健康产业资讯每篇 500 - 3000 字。

2 稿件格式与写作要求

根据国家标准的规定及国内外医学期刊的常规要求, 医学论文(论著)写作格式及内容按顺序如下: 文题、作者署名、摘要、关键词、中图分类号、引言、正文(材料与方法、结果、讨论)、致谢、参考文献。

2.1 文题 要求简明、准确、醒目、有专指性。文题中不应出现非公知公用的缩略语、元素符号、分子式等。

2.2 作者

2.2.1 作者署名 置文题下, 顶格排, 多位作者之间用逗号“,”分隔。作者排序应在投稿时确定, 在编排过程中不应再作更动。

2.2.2 作者单位 指作者从事该项研究所在的单位。置文题下圆括号“()”内, 包括单位全称(应具

体到所在部门), 所在省、市、自治区及邮政编码。单位名称与省、市、自治区名之间用逗号“,”分隔。不同单位的作者应在姓名右上角加注阿拉伯数字序号, 并在其工作单位名称之前加与作者姓名序号相同的数字; 各工作单位之间连排时以分号“;”隔开。例如:

韩英铎¹, 王仲鸿¹, 林孔兴², 相永康², 黄其励³, 蒋建民³

(1. 清华大学电机工程与应用电子技术系, 北京 100084; 2. 华中电力集团公司, 湖北 武汉 430027; 3. 东北电力集团公司, 辽宁 沈阳 110006)

2.3 作者及通讯作者简介 附第一作者和通讯作者简介, 包括姓名、性别、职称、学位、研究方向、E-mail 地址。在简介前加“作者简介:”作为标识。(注于文章左下角或文章末尾)

2.4 摘要和关键词

2.4.1 中文摘要和关键词 摘要应能客观地反映论文主要内容(包括:目的、方法、结果、结论), 具有独立性和自明性。研究性论著采用结构式摘要, 其他文章采用报道性摘要或指示性摘要。字数以300~400为宜。关键词一般3~8个。

2.4.2 英文摘要和关键词 文题、作者姓名(汉语拼音)和单位、摘要和关键词均采用中英文对照。

(1) 英文文题应与中文文题对应。文题首词的首字母大写, 其余小写, 删去所有非功能词, 如“The”、“study on…”、“observation of…”等。

(2) 作者姓名应全部写出, 姓全大写, 名首字母大写, 复名之间用连字符连接, 如: ZHANG Ying (张英), WANG Xi-lian (王锡联), ZHUGE Hua (诸葛华)。外国作者姓名写法遵从国际惯例。

(3) 英文摘要一般不超过250个词, 包括 Objective、Method(s)、Result(s)、Conclusion(s) 4部分, 并与中文摘要对应。

(4) 英文关键词与中文关键词应一一对应。英文关键词前冠以“Key words:”作为标识。例如: Key words: free radicals; electron spinresonance spectrum; Lipids peroxidation

2.5 中图分类号 中图分类号以《中国图书馆分类法》(第4版)为准。

2.6 引言 正文前的一段短文, 简述研究目的、研究背景、国内外研究现状及本研究的主要方法和时间等。一般不超过300个字。“引言”不用标出来。

2.7 正文 包括材料与方法、结果、讨论等3个部分。

2.7.1 材料与方法 说明观察或实验对象的选择方法和标准; 所用药物、试剂或仪器的来源和批号; 详细叙述实验方法(包括统计学方法)及实验步骤等。对经典方法提出方法名字即可; 对已发表的但未被人们所熟知的方法, 简要叙述并提供参考文献; 对自己创新的方法或改进部分应详细叙述。

2.7.2 结果 按逻辑顺序用文字、图或表叙述该研究的结果。凡用简要文字不能将结果表达清楚者可用图表, 如果应用图表则在正文中不应重复图、表中的所有数据, 只需强调该研究的主要结果。

2.7.3 讨论 对本研究结果进行分析和解释, 着重讨论本研究新的和重要的发现, 以及由此可以得出的结论。讨论不应简单重复结果内容, 应结合国内外近期相关文献进行比较和分析, 正确评价他人和自己的研究成果及其意义, 解释偶然性和必然性, 有充分依据时可以提出新的假设及(或)有待进一步研究的问题。讨论中避免提出本研究结果不足以支持的结论。

2.8 致谢 致谢应置文后。为论文作出过贡献而其贡献又不够作者署名资格者, 可在文后给予致谢, 但必须得到致谢人的同意。

2.9 参考文献

2.9.1 应用原则 参考文献必须是作者亲自阅读的、最新的(3~5年)、最主要的公开发表的文献。“内部资料”和“个人通讯”不能列为参考文献。论文中引用的参考文献应仔细核对, 保证准确无误。参考文献的数量一般论著不少于10篇, 综述不少于20篇, 其他论文不少于5篇。

2.9.2 文内标注方法 采用顺序编码制, 按照参考文献在正文中出现的先后顺序, 用阿拉伯数字放在方括号内依次标注在引用处右上角(如[1], [2~4], [5, 6]), 并与文后著录的序号一致。

2.9.3 文后著录格式 采用GB/T 7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》。按照参考文献在正文中出现的先后顺序, 用带有方括号的阿拉伯数字依次编排。文后参考文献表中的作者, 1~3名全部列

出, 3 名以上只列前 3 名, 后加“、等”或其他与之相应的文字。外文刊名用缩写, 以《Index Medicus》中的格式为准; 中文期刊用全名。每条参考文献均需著录起止页码, 最后均以“.”结束。根据 GB/T 3469 规定, 以单字母方式标识各类参考文献的文献类型与文献载体代码: 专著 [M], 论文集 [C], 期刊文章 [J], 学位论文 [D], 标准 [S], 专利 [P] 等。各类参考文献条目的著录格式如下:

(1) 专著 [序号] 作者. 书名 [M]. 版次. 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码.

(2) 期刊文献 [序号] 作者. 题名 [J]. 期刊名, 年, 卷 (期): 起止页码.

(3) 论文集析出的文献 [序号] 作者. 析出文献题名 [C] // 论文集主编. 论文集名. 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码.

(4) 电子文献 [序号] 作者. 电子文献题名 [J/OL]. 电子文献的出处或可获得地址: 发表或更新日期.

3 图表应用

文中需要用图或表者, 应将主要结果用文字简要叙述后注出“见图 × 或表 ×”。

3.1 表 采用三横线表, 不用纵线和斜线。表内数据要求同一指标有效位数一致。表序、表题放在表的上方居中对。

3.2 图 图的大小以 8cm (宽) × 5cm (高) 为宜。图序、图题放在图的下方居中对。图中所有数字、符号、文字一律用印刷体植字。图片要有良好的清晰度和对比度。病理学照片应注明染色法和放大倍数。

4 单位、数字、名词术语的应用

4.1 计量单位 严格执行 GB 3100 ~ 3102 - 93 《量和单位国家标准》。凡有单位符号者宜使用符号, 单位符号一律用正体字母。

4.2 数字 执行 GB/T 15835 - 2011 《出版物上数字用法》。

4.3 名词术语 名词术语应规范, 全文一致。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的医学名词系列, 药品名以《中华人民共和国药典》为准。

4.4 统计学 要求给出统计软件、版本, 每种观察 (检测) 指标的具体统计学方法, 检验水准, 统计量、P 值的具体值。统计学符号以 GB 3358.1 ~ 3358.3 - 92 《统计学名词及符号》为准。符号的大小写及斜体应表示清楚。

5 投稿相关说明:

(1) 投稿方式为电子邮件投稿 (WORD 格式), 投稿邮箱: sqxyxb@sqmc.edu.cn

(2) 基金资助项目产出的论文以“基金项目:”作为标识, 注明基金项目名称并在圆括号内注明其项目编号。多项基金项目应依次列出, 其间以分号“;”隔开。(注于文章左下角或文章末尾)。

(3) 请做好学术不端检查, 查重率不得超过 30%。

(4) 附联系电话, 以便编辑部及时与作者联系。(注于文章末尾)

(5) 来稿一律文责自负, 编辑部对来稿做文字修改、删节, 凡涉及原意的修改则提请作者考虑。

(6) 编辑部对来稿审理及时并严格实行“三审制”。由于编辑部人手有限, 一般不退稿, 请作者自留底稿。

(7) 《大健康教育与研究》目前为内部期刊, 在内部期刊上发表论文, 不录入知网, 不影响以后在 CN 刊物发表。

(8) 《大健康教育与研究》发表的学术论文要求为首次发表, 不接收已在 CN 期刊上发表过的论文。

编辑部地址: 河南省新乡市平原新区长江大道西段新乡医学院三全学院行政楼二楼。

邮政编码: 453003 电话: 0373 - 7375053 联系人: 陈圆圆 13937338212

投稿邮箱: sqxyxb@sqmc.edu.cn