

内部资料 免费交流
中国 河南 新乡

COMPREHENSIVE
HEALTH EDUCATION AND RESEARCH

大健康教育与研究

DAJIANKANG JIAOYU YU YANJIU



No.3
Sep.
2021

3



大健康教育与研究
第 3 期（总第 8 期）2021 年 9 月
目 次

- 健康医学研究 ·
- 1 SLC39A7 在肝癌中的表达及免疫细胞浸润的生物学信息学分析
周艳琳, 李勇莉
- 7 目标导向性活动在痉挛型双瘫患儿立位功能及痉挛的效果分析
杨阳, 袁志焱, 吕楠, 尚清
- 10 肝细胞癌新型潜在预后生物标记物 CENP - N 的鉴定与分析
周艳琳, 张思雨, 马慧玲, 李勇莉
- 15 人脐带间充质干细胞源外泌体对黑色素瘤细胞生长的影响
姬国杰, 胡焕焕, 肖志轩,
田存章, 孙志彬, 沈宇杰
- 20 miR-27a 抑制 Sfrp1 促进肾小管上皮细胞 EMT 的机制研究
田平平, 李枋沅, 邹琴, 卢雨微, 郭兵, 石明隽
- 25 1990 - 2017 年中国人群炎症性肠病发病率及患病率变化趋势
张建华, 金怀亮, 田玉慧
- 生物医药 ·
- 29 基于网络药理学探讨金银花治疗结肠癌活性成分及作用机制
周清安, 王献红, 祝希泉, 衣志爽, 杨凯, 孙允芹,
梁宁
- 36 响应面法优化辛夷总黄酮的提取工艺
秦晶晶, 魏婧, 钱慧琴

· 健康与医疗管理 ·

- 41 河南省 35 岁以上城乡居民基层就医行为及影响因素分析
陈东明

· 教育创新 ·

- 45 “双创”背景下应用本科毕业论文管理探索

王耀峰,陈东明,高滑

- 48 叙事医学与电影叙事的碰撞

——影视教育中的医学人文

张松竹,李雪峰

- 52 翻转课堂在药学教学中的应用研究

周小丽,赵媛,钱慧琴,李彦灵,苏慧慧

- 54 泛在学习视域下医学院校大学英语课程思政的

融合路径研究

马斐,崔倩

- 58 创新驱动背景下大学生创新创业教育体系构建

衣志爽,王静,王诗雅,高焕君,姜晓花

- 61 基于翻转课堂的人体解剖绘图比赛在人体解剖

学教学中的应用体会

毛文锋,黄敏杰,苗莹莹

- 65 疫情下校企合作开展《临床血液学检验技术》

混合课的探索与实践

贺志安,付毓平,王侠,马晓娟,李家磊,杨亚文,

刘从祺

· 综述 ·

- 69 外泌体与肿瘤发生及诊治相关性的研究进展

张思雨,王佩瑾,武辉,周艳琳

COMPREHENSIVE HEALTH EDUCATION AND RESEARCH

No. 3 (Gen. No. 8) Sep, 2021

Main Contents

· Health & Medicime Research ·

- 1 Expression and immune infiltration of SLC39A7 in hepatocellular carcinoma based on bioinformatics**

ZHOU Yan-lin, LI Yong-li

- 7 Effect of goal-oriented activities on standing function and spasticity in children with spastic diplegia**

YANG Yang, YUAN Zhi-yao, LV Nan, SHANG Qing

- 10 Identification and analysis of new potential prognostic biomarker CENP-N gene in hepatocellular carcinoma**

ZHOU Yan-lin, ZHANG Si-yu, MA Hui-ling, LI Yong-li

- 15 Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell derived exosomes on growth of melanoma cells**

JI Guo-Jie, HU Huan-huan, XIAO Zhi-xuan, TIAN Cun-zhang, SUN Zhi-bin, SHEN Yu-jie

- 20 Mechanism of miR-27a inhibiting Sfrp1 and promoting EMT in renal tubular epithelial cells**

TIAN Ping-ping, LI Fang-yun, ZOU Qin, LU Yu-wei, GUO Bing, SHI Ming-jun

- 25 Temporal trends in the incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the population of China from 1990 to 2017**

ZHANG Jian-hua, JIN Huai-liang, TIAN Yu-hui

· Biology & Pharmacology ·

- 29 Active ingredients and mechanism of *Lonicerae Japonicae* Flos in the treatment of colon cancer based on network pharmacology**

ZHOU Qing-an, WANG Xian-hong, ZHU Xi-quan, YI Zhi-shuang, YANG Kai, SUN Yun-qin, NIANG Ning

36 Optimization of reflux extraction process of total flavonoids from *Magnolia biondii* Pamp
QIN Jing-jing, WEI Jing, QIAN Hui-qin

· **Health & Medical Management** ·

41 Primary hospital medical care seeking behavior of urban and rural residents over 35 years old in Henan province and its influencing factors
CHEN Dong-ming

· **Education Innovation & Research** ·

45 Thesis management of undergraduates under the background of “mass entrepreneurship and innovation”
WANG Yao-feng, CHEN Dong-ming, GAO Hua

48 The collision of medicine and film narrative—medical humanistic education in films and television programs
ZHANG Song-zhu, LI Xue-feng

52 Application research of flipped classroom in pharmacy teaching
ZHOU Xiao-li, ZHAO Yuan, QIAN Hui-qin, LI Yan-ling, SU Hui-hui

54 Integration path of ideological & political education in college English courses of medical colleges based on ubiquitous learning
MA Fei, CUI Qian

58 Construction of college students' innovation and entrepreneurship education system under innovation-driven background
Yi Zhi-shuang, Wang Jing, Wang Shi-ya, Gao Huan-jun, Jiang Xiao-hua

61 Application of anatomical drawing competition based on flipped classroom in Human Anatomy teaching of medical undergraduates
MAO Wen-feng, HUANG Min-jie, MIAO Ying-ying

65 Cooperation of universities and enterprises in implementation of Medical Hematology Laboratory blending course under the pandemic
HE Zhi-an, FU Yu-ping, WANG Xia, MA Xiao-juan, LI Jia-lei, YANG Ya-wen, LIU Cong-qi

· **Literature Review** ·

69 Study advances in correlation between exosome and genesis, diagnosis and treatment of tumor
ZHANG Si-yu, WANG Pei-jin, WU Hui, Zhou Yan-lin

SLC39A7 在肝癌中的表达及免疫细胞浸润的生物信息学分析

周艳琳, 李勇莉

(新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 基于生物信息学方法分析锌转运蛋白家族 7(SLC39A7)在肝细胞癌中的表达、预后、生物学功能及免疫细胞浸润关系。**方法** 基于 TIMER 和 GEPIA 数据库筛选 SLC39A7 在肝癌组织中表达。基于 Kaplan - Meier plotter 数据库预测 SLC39A7 表达与肝癌患者预后的关系。基于 UALCAN 数据库分析 SLC39A7 的表达与肝癌患者肿瘤分期与分级的关系。利用 LinkedOmics 数据库预测 SLC39A7 在 TCGA 肝癌相互调节基因,基于 DAVID 数据库对互作基因进行 GO 分析及 KEGG 分析,利用 TIMER 数据库分析 SLC39A7 表达与 6 种肿瘤浸润免疫细胞的相关性,通过 cBioPortal 数据库分析 SLC39A7 表达在拷贝数变异、突变及甲基化水平的变化。**结果** SLC39A7 在肝细胞癌组织中的表达显著高于正常组织。随着肿瘤分期和分级的进展 SLC39A7 的表达量明显升高,在肝细胞癌患者中 SLC39A7 高表达患者总体生存期明显低于低表达患者。与 SLC39A7 存在较明显相互作用的基因有 SLC35B2, LEMD2, KLF9, KLF6 等,主要富集在阴离子稳态,细胞质囊泡,磷脂结合和氨基酸的生物合成等过程。SLC39A7 的表达与突变,甲基化均有关。SLC39A7 的表达与 6 种肿瘤免疫细胞变化均相关。**结论** SLC39A7 可作为肝癌潜在预后标志物,SLC39A7 与肝癌肿瘤免疫有关。

关键词: 肝细胞癌;锌转运蛋白家族 7;预后标志物;生物信息学;肿瘤免疫

中图分类号: R735.7

Expression and immune infiltration of SLC39A7 in hepatocellular carcinoma based on bioinformatics

ZHOU Yan-lin, LI Yong-li

(School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To analyze expression, prognosis, biological functions and immune infiltration of Zinc transporter family 7 (SLC39A7) in hepatocellular carcinoma (HCC) based on bioinformatics. **Methods** Expression of SLC39A7 in HCC was analyzed based on TIMER and GEPIA database. The relationship between SLC39A7 expression and prognosis of patients in HCC was analyzed based on Kaplan-Meier plotter database; the relationship between SLC39A7 expression and tumor stage and grade was analyzed based on UALCAN database. Mutual regulatory genes were calculated based on LinkedOmics database. GO analysis and KEGG analysis were carried out based on DAVID database. Correlation between SLC39A7 expression and 6 tumor infiltrating immune cells was analyzed based on TIMER database. Changes of SLC39A7 expression at copy number alteration, mutation and methylation level were calculated based on cBioPortal database. **Results** SLC39A7 was highly expressed in HCC cancer tissues than that in normal tissues. Expression of SLC39A7 increased with progression of tumor stage and grade. The overall survival of SLC39A7 high expression patients in HCC patients was significantly lower than that in low expression patients. Genes including LC35B2, LEMD2, KLF9, KLF6 and so on, were significantly interacted with SLC39A7, which mainly enriched in anion homeostasis, cytoplasmic vesicle, phospholipid binding, biosynthesis of amino acids to activate tumors. SLC39A7 expression is associated with mutation, methylation and changes of 6 tumor immune cells. **Conclusion** SLC39A7 may be a new potential prognostic marker, which is related to tumor immunity in HCC.

Key words: HCC; SLC39A7; prognostic marker; bioinformatics; tumor immunity

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球常见的恶性肿瘤之一,死亡率在所有癌症中排名第三^[1]。随着诊断技术的发展, HCC 患者越来越多的在早期得到诊断。然而,由于其高复发率,快速进

展,短生存期, HCC 患者的预后并不令人满意^[2]。因此,有必要筛选和鉴定新的潜在肝癌预后生物标志物,对降低 HCC 患者死亡率,改善预后和实现个体化靶向治疗都有重要的意义。锌转运蛋白家族 7

收稿日期: 2021 - 05 - 27

基金项目: 河南省科技攻关项目 (192102310333); 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (2018020385); 河南省高等学校重点科研项目 (21A310018); 河南省医学教育研究项目 (Wjlx2020319); 新乡医学院三全学院骨干教师培育项目 (SQ2020GGJS01); 新乡医学院三全学院校级教改课题 (201918)。

作者简介: 周艳琳, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 抗感染免疫, E-mail: 867531709@qq.com。

通讯作者: 李勇莉, 女, 硕士, 教授, 研究方向: 消化道肿瘤发生及转移机制和药物干预研究, E-mail: liyonglixly@126.com。

(Zinc transporter protein family 7, ZIP7/SLC39A7) 是锌转运蛋白 (Zinc transporter protein, ZIP) 的一种, 定位于内质网和高尔基体^[3]。SLC39A7 参与多种细胞生理过程, 包括发育过程中的内质网应激和成体组织的动态平衡^[4]。有研究证实, SLC39A7 参与了乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌、结直肠癌等肿瘤的发生、发展^[5-7]。然而, SLC39A7 在 HCC 中的表达情况和作用机制尚不完全清楚。本研究通过生物信息学方法分析 SLC39A7 在 HCC 中的表达、预后、临床特征、生物学功能及与免疫细胞浸润的关系, 为 HCC 的临床诊治和预后提供新思路。

1 材料和方法

1.1 数据获取

基于 TIMER (<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>) 数据库^[8] 通过 Diff Exp 模块检索 SLC39A7 在各种肿瘤组织和正常对照组织中的表达。利用 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>) 数据库进一步验证 SLC39A7 在肝癌中的表达。设定筛选条件如下: $|\text{Log}_2\text{FC}| \text{ Cutoff}; 1, p\text{-value Cutoff}; 0.05, \text{Match TCGA normal and GTEx data}$, 共包括 369 例肝癌组织样品和 160 例正常对照组织样品。

1.2 SLC39A7 的表达与肝癌患者临床病理指标的关系

基于 Kaplan - Meier plotter (<https://kmplot.com/analysis>) 数据库^[9] 分析 SLC39A7 的表达与 TCGA - 肝癌患者预后的相关性, 根据 SLC39A7 表达值的中位数, 将肝癌患者分为高表达组和低表达组, 计算危险比 (HR)、95% 置信区间及 P 值, 绘制总体生存期 (OS) 曲线。利用 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/>) 数据库^[10] 分析 SLC39A7 的表达与肝癌患者肿瘤分期与分级的关系, T 检验进行数据处理, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

1.3 SLC39A7 在肝癌中相关调节基因的筛选与富集分析

利用 LinkedOmics (<http://linkedomics.org/>) 数据库^[11] 分析 SLC39A7 在 TCGA 肝癌患者组织相关调节基因情况, 共 371 例肝癌患者, 检索在肝癌中 SLC39A7 相关上调基因和下调基因。筛选条件: LIHC, RNAseq, SLC39A7, RNAseq, Spearman 检验进行数据处理。将筛选的与 SLC39A7 相关上调基因和下调基因载入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库^[12] 进行富集分析, 以人源基因为背景, 进行 GO 富集分析及 KEGG 富集分析, GO 分析主要用于对基因进行注释, 包括生物过程 (biological process, BP)、细胞成分 (cellular component, CC) 和分子功能

(molecular function, MF)。

1.4 SLC39A7 基因组水平分析

通过 cBioPortal (<http://www.cbioportal.org/>) 数据库^[13] 分析 HCC 中 SLC39A7 表达在基因组水平的变化。共 1045 例 HCC 患者, 筛选条件为拷贝数变异 (Copy number alterations, CNA) 和突变 (Mutations, Mut), 在 Plot 模块通过 Spearman 和 Pearson 检验分析 SLC39A7 表达与突变和甲基化的相关性, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

1.5 SLC39A7 与免疫细胞浸润的关系

利用 TIMER 数据库, 通过 Gene 模块检索分析 SLC39A7 表达与各种肿瘤浸润免疫细胞的相关性, 包括 B 细胞、CD8 + T 细胞、CD4 + T 细胞、单核细胞、中性粒细胞和树突状细胞, Spearman 检验处理数据, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 SLC39A7 在肝癌中的表达情况

基于 TIMER 数据库筛选 SLC39A7 在多种肿瘤组织中显著高表达, 在肝癌组织中 SLC39A7 mRNA 表达水平高于正常对照组织 (图 1A), 具有极显著统计学差异性 ($P < 0.001$)。基于 GEPIA 数据库进一步验证 SLC39A7 在肝癌中的表达, 包含 369 例肝癌样品和 160 例正常对照样品, 结果显示, SLC39A7 在肝癌中的表达量显著高于正常组织 (图 1B), 差异性具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 SLC39A7 与肝癌患者预后的关系

基于 Kaplan - Meier plotter 数据库, 可得到 268 例 SLC39A7 高表达肝癌患者和 96 例 SLC39A7 低表达肝癌患者的总体生存曲线 (图 2A), 结果显示, SLC39A7 高表达肝癌患者 ($\text{HR} = 1.86, 95\% \text{ CI}: 1.21 \sim 2.86, \text{logrank } P = 0.0044$) 总体生存期明显低于低表达患者。利用 UALCAN 数据库分析 SLC39A7 的表达与肝癌患者临床病理参数的相关性 (图 2), 结果显示, SLC39A7 的表达随着肿瘤分期进展而升高 (图 2B), 差异具有显著统计学意义 ($P < 0.05$); SLC39A7 的表达随肿瘤分级进展而升高 (图 2C), 差异具有显著统计学意义 ($P < 0.05$)。表明 SLC39A7 可作为肝癌病理分期和分级的指标之一, 且 SLC39A7 高表达与肝癌患者 OS 存在相关性, 可作为肝癌患者预后不良指标。

2.3 SLC39A7 在肝癌中相关调节基因的筛选与富集分析

基于 LinkedOmics 数据库分析 SLC39A7 在肝癌中相关调节基因, 筛选出差异显著的 Top50 关联基因绘制热图 (图 3), 包括上调基因 25 个与下调基因

25 个,结果显示,在肝癌中与 SLC39A7 的表达呈正相关的基因有 SLC35B2,LEMD2,YIPF3 等(图 3A),与 SLC39A7 的表达呈负相关的基因有 PSD3,KLF9,KLF6 等(图 3B)。将 Top50 关联基因载入 DAVID

数据库进行 GO 分析与 KEGG 分析(表 1),结果显示,这些关联基因主要富集在阴离子稳态,细胞质囊泡,磷脂结合和氨基酸的生物合成等过程。

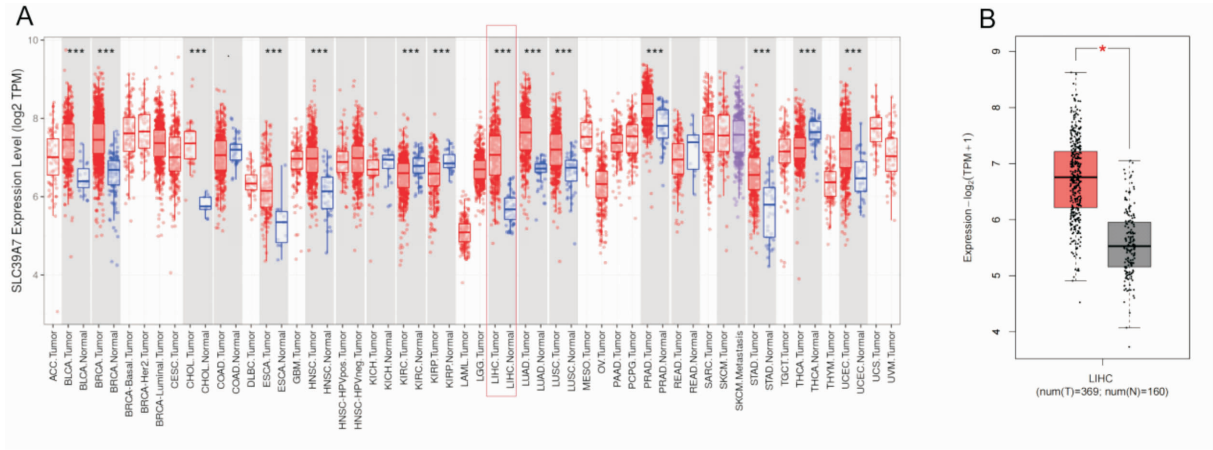


图 1 SLC39A7 在肝癌中的表达情况

注:A:基于 TIMER 数据库分析 SLC39A7 在肿瘤组织中的表达;B:基于 CEPIA 数据库分析 SLC39A7 在肝癌中表达。

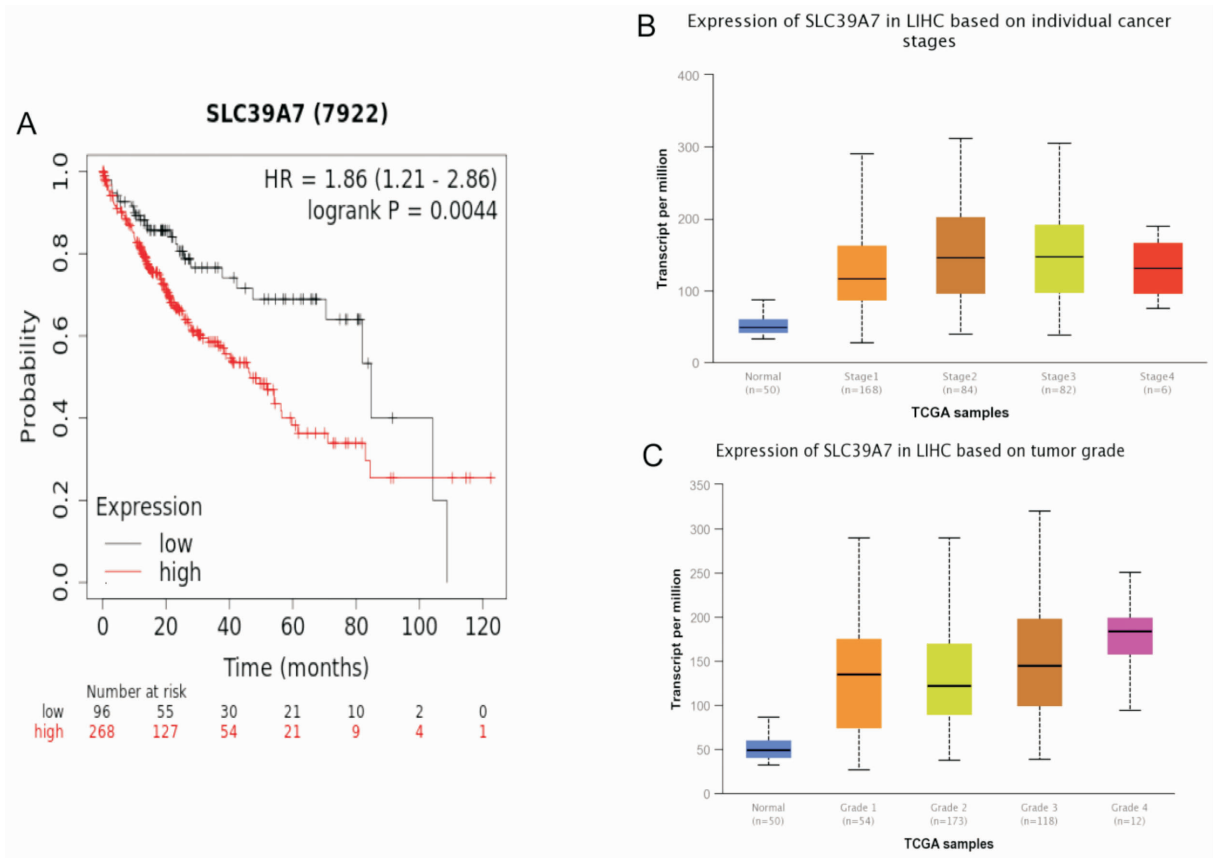


图 2 SLC39A7 的表达与肝癌患者临床病理指标的关系

注:A:总生存期;B:肿瘤分期;C:肿瘤分级

2.4 SLC39A7 在肝癌患者中的基因组表达分析

通过 cBioPortal 数据库分析 SLC39A7 的基因组水平变化(图 4),结果显示,在选取的 3 组 HCC 研

究中,SLC39A7 均发生突变和基因拷贝数扩增(图 4A),并且 SLC39A7 突变的发生与分数基因组改变呈正相关性(图 4B),差异性具有统计学意义

(Spearman $r = 0.16, P = 1.728e - 5$; Pearson $r = 0.19, P = 3.75e - 7$), SLC39A7 的表达与甲基化呈负相关(图 4C), 差异性具有统计学意义(Spearman

$r = -0.37, P = 1.31e - 13$; Pearson $r = -0.35, P = 3.42e - 12$)。提示 SLC39A7 在肝癌中高表达与基因突变, 拷贝数异常扩增和甲基化均相关。

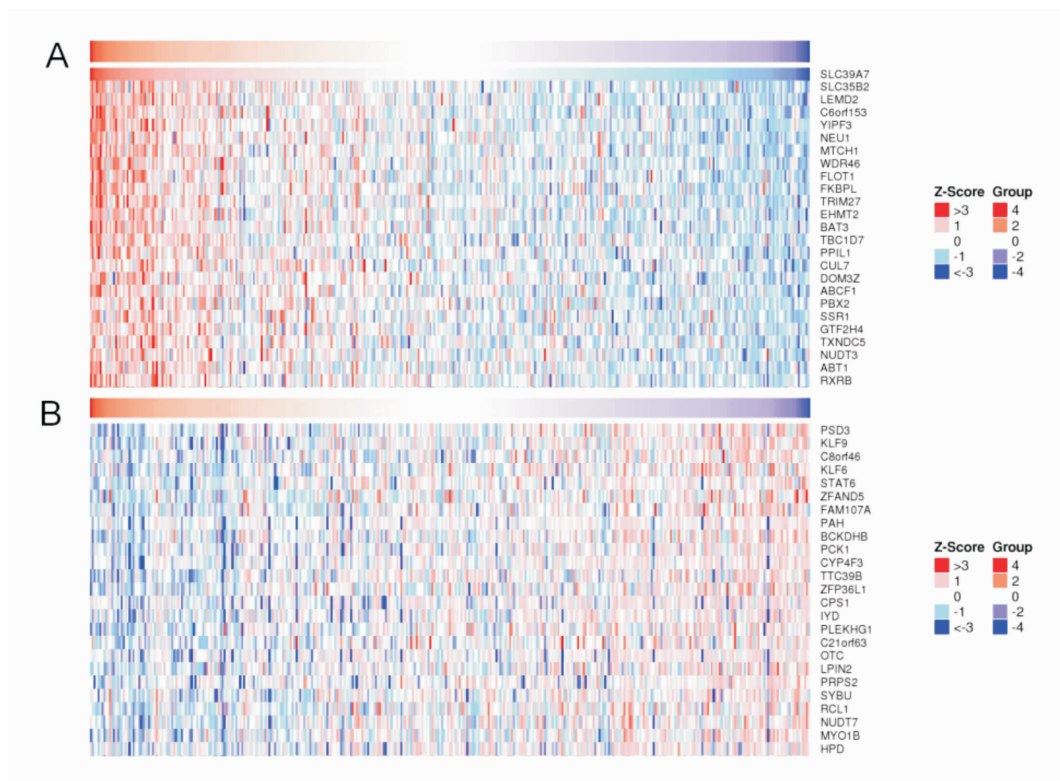


图 3 SLC39A7 在肝癌中相关调节基因

注:A:上调基因 top25;B:下调基因 top25

表 1 SLC39A7 关联基因的 GO 分析与 KEGG 分析

Category	Term	P Value
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0055081 ~ anion homeostasis	0.005 115 081
	GO:0071320 ~ cellular response to cAMP	0.007 831 456
	GO:0019240 ~ citrulline biosynthetic process	0.010 204 604
	GO:0000480 ~ endonucleolytic cleavage in 5' - ETS of tricistronic rRNA transcript	0.015 268 692
	GO:0000447 ~ endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU - rRNA from 5.8S rRNA and LSU - rRNA from tricistronic rRNA transcript	0.020 307 471
	GO:0007494 ~ midgut development	0.022 817 408
	GO:0006559 ~ L - phenylalanine catabolic process	0.027 818 453
	GO:0000050 ~ urea cycle	0.030 309 592
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0031410 ~ cytoplasmic vesicle	0.016 792 594
	GO:0005654 ~ nucleoplasm	0.020 216 391
	GO:0016023 ~ cytoplasmic, membrane - bounded vesicle	0.040 243 167
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0005789 ~ endoplasmic reticulum membrane	0.046 914 898
	GO:0000287 ~ magnesium ion binding	0.014 125 196
	GO:0005543 ~ phospholipid binding	0.019 357 242
KEGG_PATHWAY	GO:0050072 ~ m7G(5')pppN diphosphatase activity	0.027 038 026
	hsa01230; Biosynthesis of amino acids	0.001 467 94
	hsa01130; Biosynthesis of antibiotics	0.028 858 011
	hsa01100; Metabolic pathways	0.029 288 302

2.5 SLC39A7 表达与免疫细胞浸润的关系

TIMER 数据库分析发现, 肝癌中 SLC39A7 表达

水平与 6 种免疫细胞浸润水平均呈显著正相关(图 5), 包括 B 细胞($r = 0.241, P = 6.29e - 06$)、CD8 +

T 细胞 ($r = 0.116, P = 3.17e - 02$)、CD4 + T 细胞 ($r = 0.282, P = 9.87e - 08$)、巨噬细胞 ($r = 0.291, P = 4.24e - 08$)、中性粒细胞 ($r = 0.22, P = 3.66e - 05$)

和树突状细胞 ($r = 0.218, P = 4.95e - 05$), 差异均有统计学意义。表明 SLC39A7 可能通过影响免疫细胞浸润调控肝癌的发生和发展。

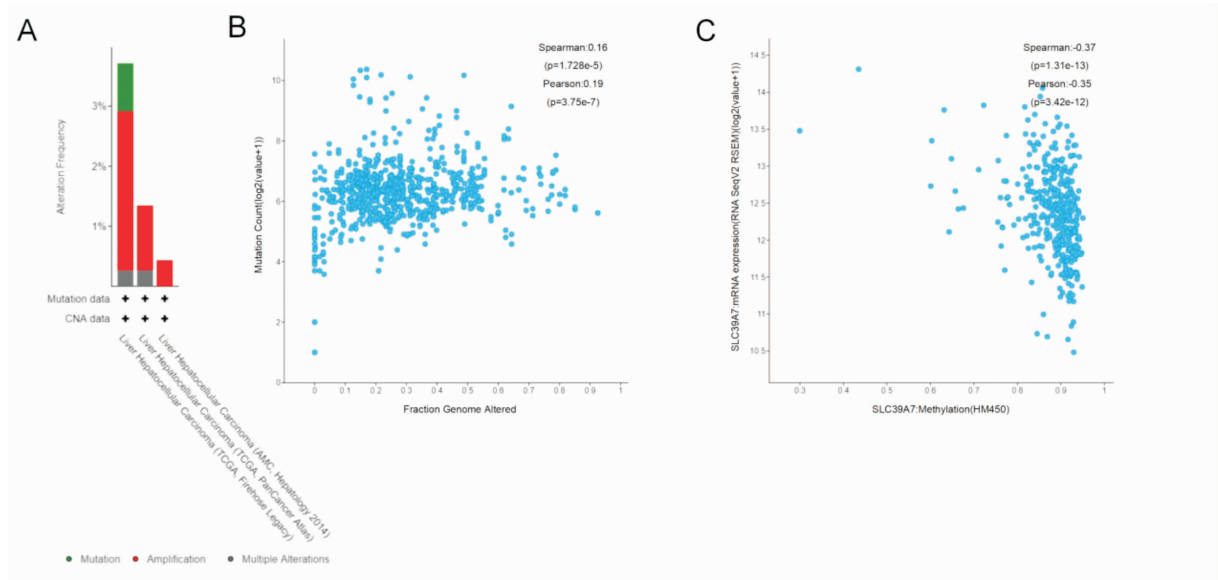


图 4 SLC39A7 表达在肝癌患者中的基因组表达分析

注:A:SLC39A7 在 3 组肝癌研究中变化情况;B:SLC39A7 突变与分数基因组改变的关系;C:SLC39A7 与甲基化的关系。

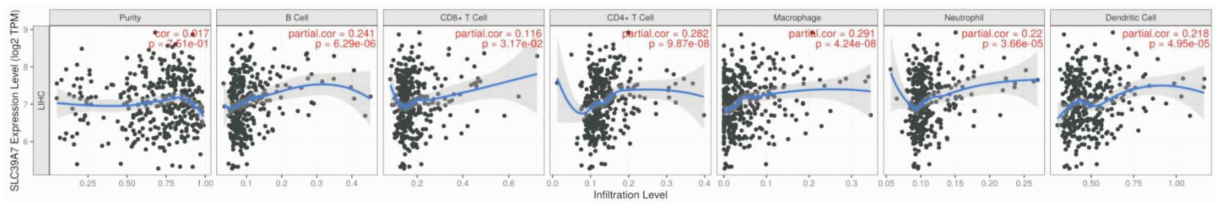


图 5 在 TCGA - 肝癌中 SLC39A7 表达与免疫细胞浸润的相关性

3 讨论

锌离子是人体生命过程中所必需的重要金属离子,SLC39/ZIPs 通过调控锌离子稳态参与酶、受体及转录因子的调节^[14]。目前研究发现,SLC39 家族包括 14 种亚型,分别是 SLC39A1/2/3/4/5/6/7/8/9/10/11/12/13/14,SLC39 家族基因的表达与多种肿瘤相关^[15]。Gartmann 等^[16]的研究证实,SLC39A4 与 SLC39A14 参与了肝癌、乳腺癌、胰腺癌等的发生、发展,是以上肿瘤的不良预后生物标志。KLF6 通过调控肝细胞生长和分化基因调控肝癌细胞增殖和迁移^[17]。KLF9 通过直接与 p53 启动子近端区域的 GC 盒结合来调节 p53 水平调控肝癌细胞的增殖^[18]。本研究发现,SLC39A7 与 SLC39A14、KLF9、KLF6 等均存在密切互作联系,提示 SLC39A7 也可能参与肝癌的发生与发展。通过检索 PUBMED 并未发现 SLC39A7 与肝癌的相关研究。

本研究利用肝癌的多个数据库结合生物信息学方法,分析 SLC39A7 在肝癌中的表达、预后、生物学

功能及免疫细胞浸润关系。本研究发现,基于 TIMER 和 GEPIA 数据库分析,SLC39A7 在肝癌组织中显著高表达;基于 UALCAN 数据库分析,随之肿瘤分期和分级的进展,SLC39A7 在肝癌患者中均呈现高表达趋势;基于 Kaplan - Meier plotter 数据库分析,相比低表达患者,SLC39A7 高表达肝癌患者总生存率更低,提示 SLC39A7 可作为肝癌患者不良预后的标志物之一。进一步探究 SLC39A7 调控肝癌的可能机制,基于 LinkedOmics 数据库分析,与 SLC39A7 存在较明显相互作用的基因有 SLC35B2, LEMD2, KLF9, KLF6 等,基于 DAVID 数据库分析,这些关联基因主要富集在阴离子稳态,细胞质囊泡,磷脂结合和氨基酸的生物合成等过程。有研究发现,miR - 128 - 3p 通过靶向下调 SLC39A7 表达,改变锌离子稳态,促进内质网应激,诱导卵巢癌细胞凋亡^[19],这与本研究预测的 SLC39A7 调控肝癌的可能机制吻合。肿瘤组织体细胞拷贝数变异在调节基因表达环节具有重要作用,基因的拷贝数异常扩增是引起基因异常高表达的重要原因。DNA 甲基

化是一种表观遗传调控机制,通过甲基转移酶将甲基(CH₃)基团修饰到特定DNA核酸位点,从而影响基因表达。因此本研究进一步探究了SLC39A7基因组水平拷贝数变异、突变与甲基化的变化,结果显示,基于cBioPortal数据库分析,在1045例HCC中,SLC39A7的高表达与基因拷贝数异常扩增、突变及甲基化均有关。免疫细胞浸润已被证明可以影响肿瘤的发生和复发,并对肿瘤的免疫治疗和临床效果具有重要的作用^[20]。本研究利用TIMER数据库分析,SLC39A7表达与B细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞、单核细胞、中性粒细胞和树突状细胞均呈正相关性,提示SLC39A7可能通过影响肿瘤免疫微环境,调控肝癌的发生、发展,为肿瘤发生和癌症治疗的免疫机制提供新的见解和思路。

综上所述,SLC39A7参与了HCC的发生发展过程,提示SLC39A7可作为肝癌新的预后标志物和靶向治疗的潜在分子靶点,为临床诊治提供新思路。

参考文献:

- [1] Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis[J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2): e191 - e203.
- [2] Linn YL, Chee MY, Koh YX, et al. Actual 10 - year survivors and 10 - year recurrence free survivors after primary liver resection for hepatocellular carcinoma in the 21st century: A single institution contemporary experience[J]. *J Surg Oncol*, 2021, 123(1): 214 - 221.
- [3] Ollig J, Kloubert V, Taylor KM, et al. B cell activation and proliferation increase intracellular zinc levels[J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 64: 72 - 79.
- [4] Woodruff G, Bouwkamp CG, de Vrij FM, et al. The Zinc Transporter SLC39A7 (ZIP7) Is Essential for Regulation of Cytosolic Zinc Levels[J]. *Mol Pharmacol*, 2018, 94(3): 1092 - 1100.
- [5] Sheng N, Yan L, You W, et al. Knockdown of SLC39A7 inhibits cell growth and induces apoptosis in human colorectal cancer cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2017, 49(10): 926 - 934.
- [6] Wei Y, Dong J, Li F, et al. Knockdown of SLC39A7 suppresses cell proliferation, migration and invasion in cervical cancer [J]. *EXCLI J*, 2017, 16: 1165 - 1176.
- [7] Zhang Y, Bai J, Si W, et al. SLC39A7, regulated by miR - 139 - 5p, induces cell proliferation, migration and inhibits apoptosis in gastric cancer via Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(2): BSR20200041.
- [8] Li T, Fu J, Zeng Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor - infiltrating immune cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): W509 - W514.
- [9] Menyhart O, Nagy A, Gyorffy B. Determining consistent prognostic biomarkers of overall survival and vascular invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *R Soc Open Sci*, 2018, 5(12): 181006.
- [10] Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya S, et al. UALCAN: A Portal for Facilitating Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses [J]. *Neoplasia*, 2017, 19(8): 649 - 658.
- [11] Vasaikar SV, Straub P, Wang J, et al. LinkedOmics: analyzing multi - omics data within and across 32 cancer types [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D956 - D963.
- [12] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44 - 57.
- [13] Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(5): 401 - 404.
- [14] Myers S, Shastri MD, Adulcikas J, et al. Zinc and Gastrointestinal Disorders: A Role for the Zinc Transporters Zips and ZnTs [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(16): 2328 - 2332.
- [15] Wang J, Zhao H, Xu Z, et al. Zinc dysregulation in cancers and its potential as a therapeutic target [J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(3): 612 - 625.
- [16] Gartmann L, Wex T, Grungriff K, et al. Expression of zinc transporters ZIP4, ZIP14 and ZnT9 in hepatic carcinogenesis - An immunohistochemical study [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2018, 49: 35 - 42.
- [17] Kremer - Tal S, Narla G, Chen Y, et al. Downregulation of KLF6 is an early event in hepatocarcinogenesis, and stimulates proliferation while reducing differentiation [J]. *J Hepatol*, 2007, 46(4): 645 - 654.
- [18] Sun J, Wang B, Liu Y, et al. Transcription factor KLF9 suppresses the growth of hepatocellular carcinoma cells in vivo and positively regulates p53 expression [J]. *Cancer Lett*, 2014, 355(1): 25 - 33.
- [19] 李静萍, 冯勤梅, 杨芳, 等. 微RNA - 128 - 3p 靶向 SLC39A7 基因促进卵巢癌细胞内质网应激诱导的细胞凋亡 [J]. *中华生物医学工程杂志*, 2019, 25(05): 558 - 559.
- [20] Galli F, Aguilera JV, Palermo B, et al. Relevance of immune cell and tumor microenvironment imaging in the new era of immunotherapy [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 89.

(责任编辑:刘鹤香)

目标导向性活动在痉挛型双瘫患儿立位功能及痉挛的效果分析

杨阳¹, 袁志焱¹, 吕楠², 尚清²

(1. 新乡医学院三全学院康复医学院, 河南 新乡 453003; 2. 河南省儿童医院康复医院, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 探讨目标导向性活动在痉挛型双瘫患儿立位功能及痉挛的疗效。**方法** 将50例痉挛型双瘫采用单盲法随机分为对照组和观察组, 每组各25例。两组患儿均给予痉挛型双瘫常规康复训练, 观察组在对照组基础上增加目标导向性活动。于治疗前后3个月分别进行GMFM粗大运动功能D区(立位功能区)和CSS综合痉挛量表进行疗效评定。**结果** 两组患儿治疗后观察组D区总分和CSS总分均较对照组有显著改善($P < 0.001$), 且观察组明显优于对照组($P < 0.05$)。**结论** 目标导向性活动可提高痉挛型双瘫患儿立位功能, 并有效缓解痉挛。

关键词: 目标导向性活动; 痉挛型双瘫; 立位功能; 痉挛

中图分类号: R729

Effect of goal-oriented activities on standing function and spasticity in children with spastic diplegia

YANG Yang¹, YUAN Zhi-yao¹, LV Nan², SHANG Qing²

(1. School of Rehabilitation, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 4530003. 2. Medical Rehabilitation Hospital of Henan Children's Hospital, Zhengzhou, Henan 450000)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of goal-oriented activities on the standing function and spasticity of children with spastic diplegia. **Methods** 50 cases of spastic diplegia were randomly divided into control group and observation group by single-blind method, with 25 cases in each group. Children in both groups were given routine rehabilitation training for spastic diplegia, and the observation group was given goal-oriented activities on the basis of the control group. 3 months before and after treatment, GMFM gross motor function D area (standing function area) and CSS comprehensive spasm scale were performed to evaluate the efficacy. **Results** After treatment, the total scores of area D and CSS of the observation group were significantly improved compared with those in the control group ($P < 0.001$), and the observation group was significantly better than the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Goal-oriented activities can improve the standing function of children with spastic diplegia and effectively relieve spasticity.

Key words: goal-directed activity; spastic diplegia; standing function; spasticity

脑瘫是一组持续存在的中枢性运动和姿势发育障碍、活动受限症候群, 这种症候群是由于发育中的胎儿或婴幼儿脑部非进行性损伤所致^[1], 其中痉挛型脑瘫发病率最高, 临床中痉挛型双瘫较为常见, 双下肢表现为尖足、马蹄足内、外翻, 膝关节屈曲或过伸展, 髋关节屈曲、内旋、内收, 行走时剪刀步态、易摔倒等^[2]。目前该疾病的康复治疗主要以 Bobath 等神经发育学疗法、核心训练、悬吊训练等, 辅以中医传统康复治疗的综合康复治疗。随着康复治疗技术不断发展拓新, 目标导向性训练逐渐在成人及儿童康复中应用, 且临床效果较好, 但尚处于起步阶段^[3-9]。现将此方法应用于痉挛型双瘫患儿, 旨在研究目标导向性活动对其立位功能及痉挛的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2018年2月-2018年9月在河南省儿童医院进行康复的2-4岁痉挛型脑瘫患儿50例, 诊断及临床分型均符合2014年4月第六届全国儿童康复和第十三届全国小儿脑瘫康复学术会议通过的诊断标准^[1]。纳入标准:(1)痉挛型双瘫;(2)生命体征稳定;粗大运动功能测试量表(Gross Motor Function Measure, GMFM)^[10-11]:D区评定立位功能评分 ≥ 10 分;(3)综合痉挛量表(Composite Spasticity Scale, CSS)^[12]评分 ≥ 7 分;(4)未进行任何手术治疗;(5)未服用或注射抗痉挛药物治疗;(6)患儿家长知情同意。排除标准:(1)其他类型脑瘫;(2)严重视听及智力障碍;(3)癫痫发作期;(4)伴遗传

收稿日期:2021-04-27

基金项目:河南省科技攻关计划-婴幼儿运动障碍功能评估及运动康复技术规范性研究(NO.162102310223)。

作者简介:杨阳,女,硕士,讲师,研究方向:儿童康复及康复教育,E-mail:1029901478@qq.com。

通讯作者:尚清,女,主任医师,研究方向:儿童康复,E-mail:sq-kingerd@163.com。

代谢性疾病。

将符合上述标准的患儿随机分为对照组和观察组,每组各 25 例。两组在性别、年龄无显著性差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组一般情况比较

组别	例数	性别		年龄 ($\bar{x} \pm s$), 月
		女	男	
对照组	25	14	11	33.60 ± 7.27
观察组	25	15	10	34.88 ± 7.85
$\chi^2(t)$ 值		0.082 ^a		-0.598
<i>P</i>		0.774		0.553

1.2 研究方法

两组患儿均给予痉挛型双瘫常规康复训练,观察组在对照组基础上增加目标导向性活动。治疗项目每次 30 min,每天 1 次,每周进行 6 d 训练,连续治疗 3 个月。玩具根据患儿兴趣选择,如患儿出现哭闹,目标性活动可调整次序进行。

1.2.1 常规康复训练

(1)功能训练:对患儿的痉挛肌群进行被动牵伸,被动及主动活动髋关节及膝关节;抑制异常站立及步行模式,促通正确姿势的控制,骨盆关键点控制;立位平衡训练,蹲起-起立训练等肌力训练,步态训练等每次 30 min,每天 2 次,每周进行 6 d 训练。

(2)物理因子治疗:采用痉挛肌治疗仪对下肢内收肌、腘绳肌、腓肠肌部位进行治疗,每次 20 min,每天 1 次,每周进行 6 d 训练,两个疗程休息间隔 7 d,达到松解肌肉痉挛的作用;采用蜡饼对内收肌、腓肠肌进行蜡饼包裹,外包塑料布进行保温,通过温热作用缓解下肢肌张力的作用,每天 1 次,每周进行 6 d 训练,两个疗程休息间隔 7 d。

(3)推拿:采用按揉法、拿捏法按摩股四头肌、内收肌、腘绳肌及腓肠肌,配合屈髋屈膝、踝关节背屈和背伸等被动活动,推拿手法注意轻柔、力度适中,循经施治,以达疏通经络、缓解痉挛。每次 20 min,每天 1 次,每周进行 6 d 训练。

(4)康复工程:每日佩戴踝足或膝踝足矫形支具下进行站立及行走训练 30 min,每日 2 次,每日佩戴踝足矫形支具不少于 3 h。

以上治疗项目均连续治疗 3 个月。

1.2.2 目标导向性活动

(1)骨盆、躯干控制练习:患儿取站立位和(或)双膝跪立位,治疗师诱导患儿启动上肢向左右前上方伸手(同时伸髋)够玩具。

(2)坐-站练习:患儿取屈髋屈膝,双脚置于地面上,在地面上放置颗粒玩具积木,诱导患儿从地面

上拿积木后下肢起立放置于适当高度的台面上的积木盒中,然后语言诱导患儿有控制的坐下,可多次进行。

(3)小腿肌肉锻炼:患儿立于楔形垫上,在其前方置一台面,让患儿在台面上画画或者玩耍,尽可能多的让患儿重复抬起或放下脚后跟。

1.3 评定方法

于治疗前后 3 个月由经过专业培训的康复治疗师采用粗大运动功能测试量表(Gross Motor Function Measure, GMFM) D 区立位功能、综合痉挛量表(Composite Spasticity Scale, CSS) 分别评估两组患儿的立位功能及痉挛程度。

(1)粗大运动功能测试量表 D 区立位功能:包括 13 个项目(共 39 分),总分越高显示患儿立位功能越好。

(2)综合痉挛量表:包括踝跖屈肌群肌张力、跟腱反射、踝阵挛 3 个项目,总分 16 分,总分越高显示患者痉挛程度越重。

(3)评估选择在安静室内,由患儿家长陪同进行,室温 22 ℃ ~ 25 ℃;评估人员由同一康复治疗师评估,该治疗师对分组不知情。

1.4 统计学分析

数据采用 SPSS 17.0 软件进行分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$),计数资料比较采用 χ^2 检验,描述采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义

2 结果

两组患儿治疗后 GMFM 量表 D 区总分显著提高($P < 0.001$)、CSS 总分显著降低($P < 0.001$)。治疗后观察组 GMFM 量表 D 区总分及 CSS 量表总分改善明显优于对照组($P < 0.05$)。见表 2、表 3。

两组患儿均在院接受 3 个月康复治疗,中途未有退出患儿,治疗期间未见明显不良反应如:肌肉损伤、头晕等等。

表 2 治疗前后 GMFM 量表 D 区总分对比

组别	<i>n</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	25	20.76 ± 5.42	23.96 ± 5.33	-11.022	<0.001
观察组	25	20.76 ± 5.21	27.96 ± 5.72	-21.709	<0.001
<i>t</i>		-0.106	-2.557		
<i>P</i>		0.916	0.014		

表 3 治疗前后 CSS 量表总分对比

组别	<i>n</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	25	11.12 ± 2.24	10.40 ± 1.98	6.647	<0.001
观察组	25	10.88 ± 1.97	8.76 ± 2.31	6.781	<0.001
<i>t</i>		0.403	2.693		
<i>P</i>		0.689	0.010		

3 讨论

目标导向性训练是基于运动控制理论的康复训练方法,运动控制是在目标性指令下,参照活动目标和活动背景所提供的信息,进行内在的认知、感知觉及运动等全方位信息自动整合和调控,并根据实践和适应不断完善、精准^[13-14]。它是运用有明确活动目标、有意义的功能训练。

本试验中两组患儿经过近3个月康复训练,评估结果显示GMFM量表D区总分较治疗前提高,CSS总分较治疗前降低,观察组增加目标导向性训练后总分改变程度大于对照组,临床效果优于对照组。研究结果证实该方法可改善患儿的站立姿势及功能,明显缓解下肢痉挛,提高下肢运动控制能力,从而让患者更好地参与日常生活活动。

目标导向性活动赋予了主动运动具有实际意义^[15]。执行目标活动时涉及到听、视觉、触觉、前庭觉和本体觉的判断、大脑对信息的整合和记忆、神经对运动的有效支配等,再经过失败和成功的反馈,不断调整运动模式,形成优化的控制程序,支配相关肌肉以特定的顺序、速度和力量配合完成这项具体的目标性活动,促进自动习得适应能力、前馈能力和协调能力^[16],目标越明确,效果越显著。但是,如果下肢只做屈伸而无具体目标目标的话,就会失去上述综合信息的输入和整合,运动的生物力学特点也完全不同,变成一项空泛无意义的关节活动^[17];如果训练缺乏兴趣性及挑战性,很难诱发患者的主动参与性。

吴耀敏等^[18]认为个体不断适应变化的目标和环境,通过感觉统合的反馈提高个体步行姿势控制的感知及调节能力,从而促使中枢神经系统的功能重建,最大限度的解决其步行运动障碍的问题。李晓捷等^[19]认为目标导向性活动是改善脑瘫患儿功能的有效干预措施。FergusonGD等^[20]强调脑瘫儿童应进行有趣的目标并且有效的引导功能性运动,所有的目标都应融于游戏之中,以提高患儿参与治疗的积极性。

综上所述,目标导向性训练在患儿感兴趣的环境下完成目标活动,诱发患儿主动运动,发挥运动潜能,提高运动控制训练效果,值得临床推广和应用,今后将在患儿的高年龄组或其他功能方面做进一步研究。

参考文献:

[1] 唐久来,秦炯,邹丽萍,等.中国脑性瘫痪康复指南(2015)第一部分[J].中国康复医学杂志,2015,30(7):747-754.

[2] 李晓捷.儿童康复学[M].北京:人民卫生出版社,2018,206.

[3] 张艳明,胡洁,宋为群,等.目标导向式重复性运动训练对脑卒中患者上肢运动功能的效果[J].中国康复理论与实践,2016,22(12):1380-1383.

[4] Aye AT,Sawitri W,Nomjit N.Effects of task-oriented training on upper extremity functional performance in patients with sub-acute stroke;a randomized controlled trial[J].Phys Ther Sci.,2019,31(1):82-87.

[5] Nilay A,Ela T,Devrim T.Effects of Video Games-Based Task-Oriented Activity Training(Xbox 360 Kinect) on Activity Performance and Participation in Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis:A Randomized Clinical Trial[J].Am J Phys Med Rehabilitation,2019,98(3):174-181.

[6] Ogwumike O,Badaru UM,Adeniyi AF,et al.Effect of task-oriented training on balance and motor function of ambulant children with cerebral palsy[J].Rehabilitation(Madr),2019,53(4):276-283.

[7] Eun JK,In YS,Hye JM.Effect of Group-Task-Oriented Training on Gross and Fine Motor Function,and Activities of Daily Living in Children with Spastic Cerebral Palsy[J].Phys Occupation Ther Pediatr,2020,40(1):18-30.

[8] Jong-Hoon M,Jin-Hwa J,Suk-Chan H.The effects of task-oriented training on hand dexterity and strength in children with spastic hemiplegic cerebral palsy;a preliminary study[J].Phys Ther Sci,2017 Oct;29(10):1800-1802.

[9] 庞伟,李鑫,范艳萍,等.目标导向性训练对痉挛型脑性瘫痪儿童粗大运动功能及步行功能的疗效[J].中国康复医学杂志,2016,31(1):30-34.

[10] Chunhee C,Wonjeong H,Sujin H,et al.Treadmill Training with Virtual Reality Improves Gait,Balance,and Muscle Strength in Children with Cerebral Palsy[J].Tohoku J Exp Med,2016,238(3):213-218.

[11] 康贝贝,徐磊,卢明甲,等.儿童悬吊训练系统对脑瘫儿童躯干控制及粗大运动功能的影响[J].中国儿童保健杂志,2017,25(9):891-893.

[12] 刘志华,胡春维,秋艳萍.中医推拿按摩对脑瘫患儿CSS评分及踝关节活动度的改善作用[J].世界中医药杂志,2015,10(2):1340-1341.

[13] 黄真.“运动学习”相关理论及其在脑性瘫痪康复中的应用[J].中国康复医学杂志,2007,22(7):652-655.

[14] Chol,Soon Uk,Kang h.The effects of patient-centered task-oriented training on balance activities of daily living and self-efficacy following stroke[J].PhysTherSci,2015,27(9):2985-2988.

[15] Weel FR,Meer AL,Lee DN.Effect of task on movement control in cerebral palsy; implications for assessment and therapy[J].Dev Med Child Neurol,1991,33(5):419-426.

[16] 黄真,王翠.目标性活动优化早期发育[J].中国实用儿科杂志[J].2017,32(11):830-832.

[17] Zhao H,Wu YN,Miriam H.Changes of calf muscle-tendon biomechanical properties induced by passive-stretching and active-movement training in children with cerebral palsy[J].Appl Physiology(1985),2011,111(2):435-436.

[18] 吴耀敏,沈杰,王古月,等.下肢目标导向性训练对脑卒中患者步行能力的影响[J].颈腰痛杂志,2017,38(5):494-495.

- [19] 李晓捷,梁玉琼. 基于循证医学的脑性瘫痪康复治疗新进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志,2020,35(12):885-889. dination Disorder; Neuromotor Ihsk Training and Nintendo Wii Fit Thining [J]. Res Dev Disabil,2013,34(9):2449-2461.
- [20] Ferguson GD, Jelsma D, Jelsma J, et al. The efficacy of two task - orientated interventions for children with Develop - mental Coor - (责任编辑:刘培培)

肝细胞癌新型潜在预后生物标记物 CENP - N 的鉴定与分析

周艳琳, 张思雨, 马慧玲, 李勇莉

(新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 目的 基于 GEO 数据库分析 CENP - N 基因在肝癌中的表达, 及对肝癌患者预后的临床意义。方法 通过 GEO 数据库下载 GSE46408 微阵列数据集进行分析, 包含 6 个 HCC 样本和 6 个相邻的非肿瘤组织样本, 鉴定 HCC 与正常组织之间差异表达的基因 (differentially expressed genes, DEGs), 对 DEGs 进行 GSVA、GO 和 KEGG 富集通路进行分析。最后, 利用 TCGA 数据库和 GSE46408 进行验证, 分析 CENP - N 在 HCC 患者不同分期中的表达和对 HCC 患者生存率的影响。结果 CENP - N 在 HCC 中显著高表达, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 随着肿瘤分期的进展 CENP - N 表现出升高的趋势, CENP - N 高表达的 HCC 病人有更差的总体生存率和无病生存率。结论 CENP - N 可作为肝细胞癌新的潜在预后标志物, 对降低 HCC 患者死亡率, 改善预后和实现个体化靶向治疗提供新的思路。

关键词: 肝细胞癌; 预后标志物; CENP - N

中图分类号: R373.1

Identification and analysis of new potential prognostic biomarker CENP-N gene in hepatocellular carcinoma

ZHOU Yan-lin, ZHANG Si-yu, MA Hui-ling, LI Yong-li

(School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To analyze the expression and prognostic significance of CENPN gene in hepatocellular carcinoma (HCC) based on GEO database. **Methods** GSE46408 microarray data set from GEO database was downloaded and analyzed. This microarray data set contained 6 HCC samples and 6 adjacent non-tumor tissue samples. The deferentially expressed genes (DEG) between HCC and non-tumor tissues were identified and analyzed with GSVA, GO and KEGG enrichment pathways. Finally, TCGA databases and GSE46408 were used to verify. The expression of CENP-N gene in different stages of HCC patients were analyzed and the effect of CENP-N genes on survival rate of HCC patients were analyzed. **Results** CENP-N significantly expressed in HCC ($P < 0.05$). CENP-N showed an upward trend as the stage of tumor progresses. HCC patients with CENP-N highly expressed had poorer overall and disease-free survival. **Conclusion** CENP-N may be a new potential prognostic marker for HCC patients. CENP-N gene may provide a new idea for reducing HCC mortality, improving prognosis and realizing individualized targeted therapy.

Key words: hepatocellular carcinoma; prognostic marker; CENP-N

HCC 是全球最常见的恶性肿瘤之一。肝癌的死亡率在所有癌症中排名第二^[1], 接受切除手术或消融术后 5 年内约有 70% 的 HCC 复发^[2]。导致不良预后的主要原因是肿瘤转移和术后复发^[3]。最近的研究表明, mRNA 可作为癌症预后的潜在生物标志物^[4]。有证据显示 ANLN, ECT2, HMMR, KIF20A, NCAPG, PBK, RACGAP1 和 ZWINT 等 mRNA 可作为肝癌诊断和治疗的候选靶点, 通过基因的异常表达或改变参与了肝癌的发生发展^[5]。随着生物信息技术成熟, 已被广泛用于分析肝癌相关

的差异表达基因和相关信号通路^[6-7], 提高肝癌筛查和治疗的比率。本研究将通过生物信息学从大样品临床标本中筛选肝癌组织和正常组织差异表达基因, 进行基因集变异分析 (gene set variation analysis, GSVA)、GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。此外, 利用癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库进行验证, 分析 CENP - N 在 HCC 患者不同分期中的表达和对 HCC 患者生存率的影响。为肝细胞癌潜在预后标志物提供新思路, 为临床治疗和随访中制定更多的个性化治疗计划提供理论

收稿日期: 2021 - 02 - 28

基金项目: 河南省科技攻关项目 (192102310333); 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (2018020385); 河南省高等学校重点科研项目 (21A310018); 河南省医学教育研究项目 (Wjlx2020319); 新乡医学院三全学院骨干教师培育项目 (SQ2020GGSJ01); 新乡医学院三全学院校级教改课题 (201918)。

作者简介: 周艳琳, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 抗感染免疫, E-mail: 867531709@ qq. com。

通讯作者: 李勇莉, 女, 硕士, 教授, 研究方向: 消化道肿瘤发生及转移机制和药物干预研究, E-mail: liyonglixly@ 126. com。

依据。

1 材料和方法

1.1 数据获取

GEO(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)是一个高通量基因表达数据库。在本研究中,来自中国台北的 GSE46408 基因表达数据集从 GEO 下载。GSE46408 包含 6 个 HCC 样本和 6 个相邻的非肿瘤组织样本。该数据集是使用 GPL4133 平台(Agilent - 014850 Whole Human Genome Microarray 4x44K G4112)进行的分析。对下载的 GSE46408 表达矩阵进行均一化处理,以便进一步进行差异分析。

1.2 差异基因的筛选

运用 R 语言的“limmr”包鉴定在 GSE46408 数据集中 HCC 和癌旁组织中差异表达的基因,并且计算 FC 和 FDR。满足 $|\log_2 FC| \geq 1.0$ 且 $FDR < 0.05$ 的基因被认为具有统计学意义,称为 DEG。利用 ggplot 包绘制差异基因的火山图,用 TBtools 软件绘制差异基因前 20 的热图。

1.3 基因富集分析

使用 R 语言中的“ClusterProfiler 软件包”分别对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,其中 GO 分析包括细胞成分(Cellular component, CC),生物学过程(Biological process, BP),分子功能(Molecular function, MF)。同时,通过 GSEA 包进一步对数据集进行了基因集变异分析(Gene Set Variation Analysis, GSEA)。GSEA 是一种非参数的无监督分析方

法,主要用来评估芯片转录组的基因集富集结果,通过将基因在不同样品间的表达量矩阵转化成基因集在样品间的表达量矩阵,从而来评估不同的通路在不同样品间是否富集。

1.4 蛋白互作网络的构建

用检索相互作用基因的搜索工具(String)数据库(版本 10.0;<http://string-db.org/>)用于构建 PPI 网络,评估潜在的蛋白质相互作用可以确定疾病发展中的可能机制。综合得分 >0.7 的 PPI 被认为具有统计学意义。

1.5 关键基因的鉴定与分析

在本研究中,与 PPI 网络具有高度连接性的前 30 个基因被鉴定为关键基因。基因表达谱分析互动分析(GEPIA;<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>)是一种在线工具,用于分析来自癌症基因组图谱和基因型组织表达计划的癌症和正常组织的基因表达数据。通过 PUBMED 检索发现 CENP - N 未在 HCC 中报道,本研究使用 GEPIA 进一步验证了 CENP - N 在 HCC 中的表达情况,及在预后中的意义。

2 结果

2.1 数据均一化处理

本研究对下载的 GSE46408 数据集进行均一化处理,以便于后续进行差异分析,表达矩阵在处理前后的情况如图 1 所示。结果显示经过均一化处理后,表达矩阵有较好的均一性。

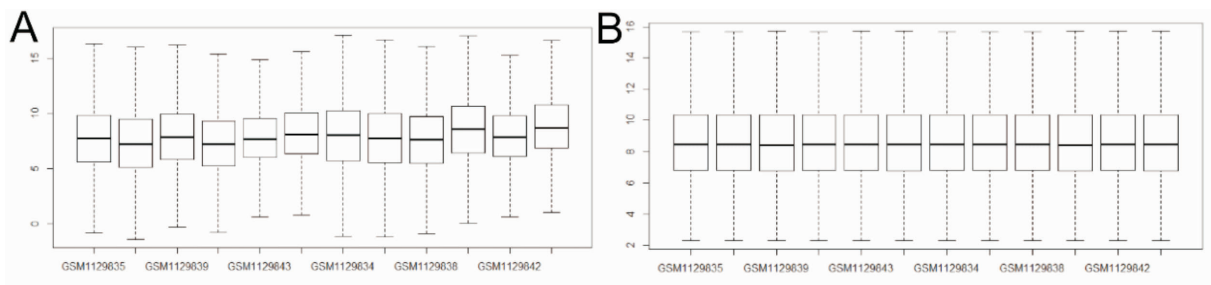


图 1 矩阵均一化

注:A:矩阵均一化前的情况;B:矩阵均一化后的情况。

2.2 与肝癌相关 DEGs 的筛选和鉴定

差异分析显示,HCC 肿瘤组织中和癌旁组织中共鉴定出 674 个 DEGs,包括 375 个下调的基因和 299 个上调的基因(图 2A)。其中差异较显著的前 20 个基因的表达进行热图分析(图 2B)。

2.3 DEGs 作用的分子机制分析

进一步分析 DEGs 在 HCC 的潜在分子机制,GO 富集分析结果表明,DEGs 的富集的 Bp 主要涉及小分子分解、DNA 复制、氨基酸代谢、有机酸分解等,所富集的 CC 主要有染色质区域、着丝粒区域、浓缩的染色体中、复制复合体中、血浆脂质颗粒中等,所

富集的 MF 主要有辅酶的结合过程、羧酶的结合过程、有机酸结合过程、NADPH 结合过程等(图 3A)。KEGG 富集结果显示,差异基因主要和细胞周期通路、小细胞肺癌通路、PPAR 信号通路、DNA 复制以及脂肪酸代谢等通路相关(图 3B)。随后,通过 GSEA 进一步探索在肿瘤中富集的通路,结果表明,在肿瘤组织中被激活的通路主要有 E2F 靶向通路、MYC 靶向通路、G2M 检查点通路、TGF beta 信号通路、P53 信号通路、PI3K AKT 信号通路等,在肿瘤中被抑制的通路主要有 WNT beta catenin 信号通路、TNF A 信号通路、脂肪酸代谢通路等(图 3C)。

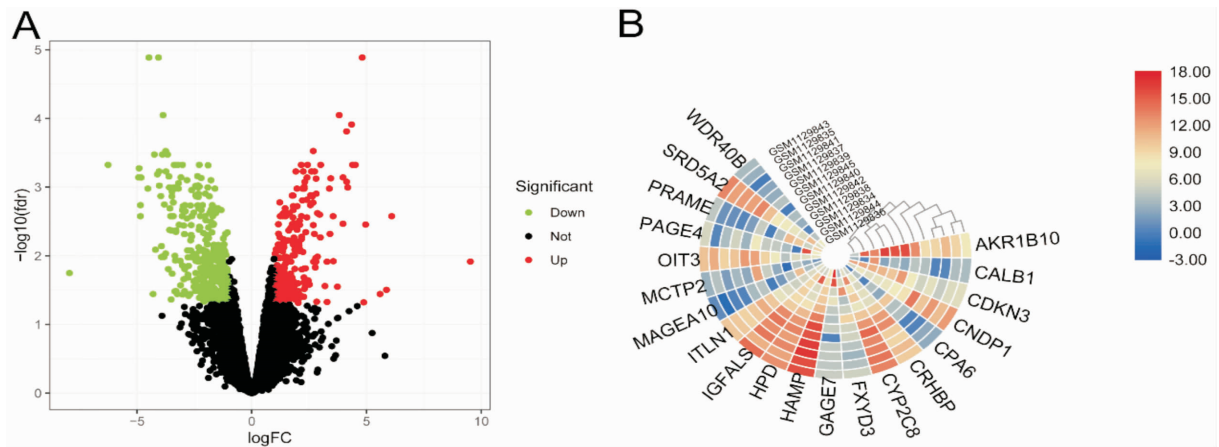


图 2 与 HCC 相关 DEGs 的筛选

注:A:DEGs 的火山图;B:前 20 个 DEGs 的热图

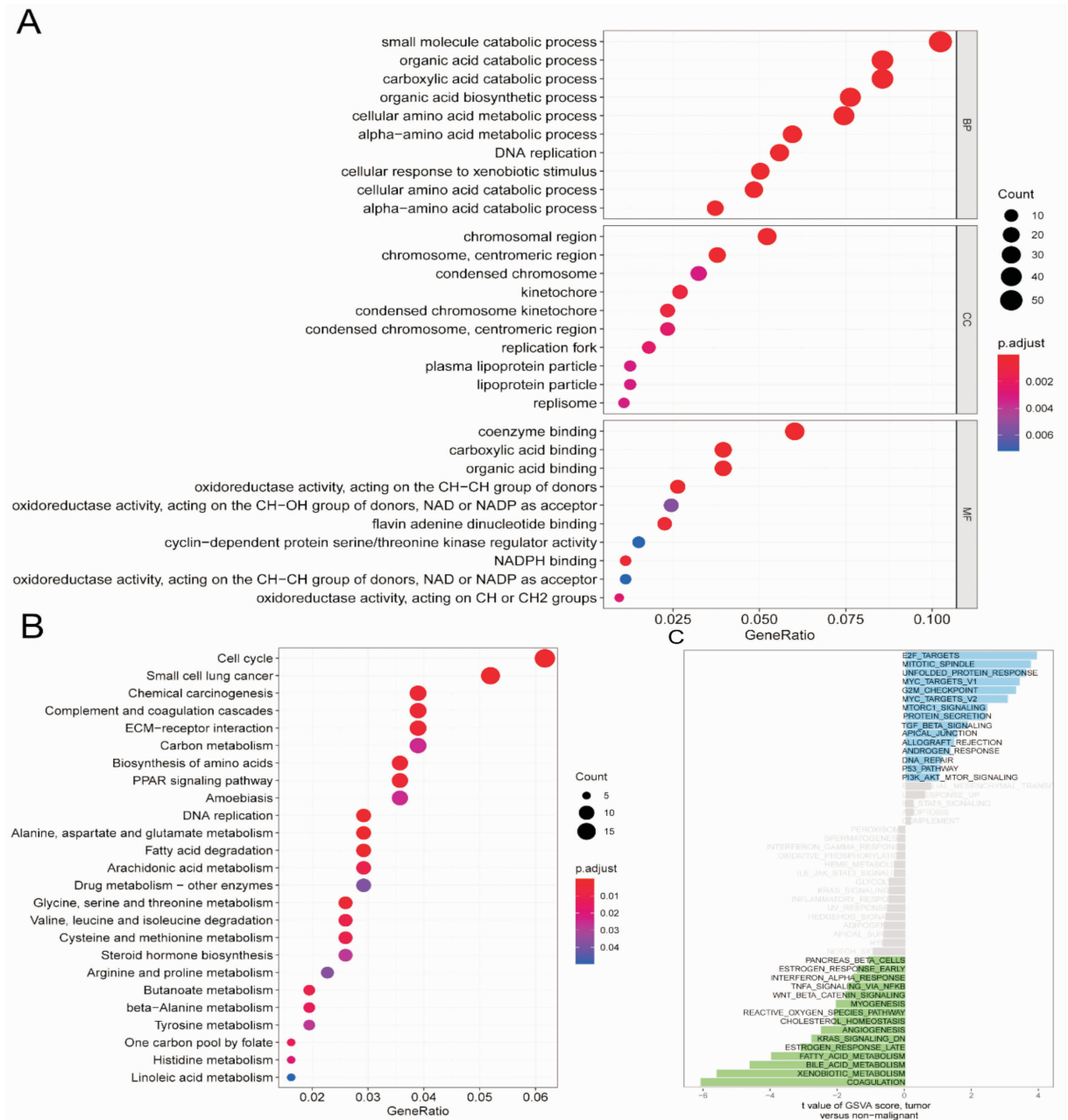


图 3 DEGs 作用的分子机制分析

注:A:GO 富集分析;B:KEGG 富集分析;C:GSVA 富集分析。

2.4 CENPN 的鉴定与预后生存分析

通过对 DEGs 进行 PPI 分析,筛选出分子连接度排名前 30 的基因作为关键基因(图 4A)。随后,通过 PUBMED 检索发现 CENP - N 在 HCC 中的表达及功能还尚未被研究。通过 GEPIA 数据库进一步验证 CENP - N 在 HCC 中的表达情况,结果显示,与正常组织相比,CENP - N 在 HCC 中显著高表达($P < 0.05$)(图 4B)。CENP - N 在 HCC 不同分期中的表达结果显示,CENP - N 随着肿瘤分期的进展

表现为升高趋势(图 4C),由于 Stage IV 的病人只有 4 例,所以 Stage IV 期的数据可能存在一定的统计学偏差。基于 GEPIA 数据库绘制 CENP - N 在 HCC 中的生存曲线图,CENP - N 在 HCC 中对总体生存率结果显示,CENP - N 高表达的 HCC 病人有更差的总体生存率(图 4D)。CENP - N 在 HCC 中对无病生存率结果显示,CENP - N 高表达的 HCC 病人有更差的无病生存率(图 4E)。

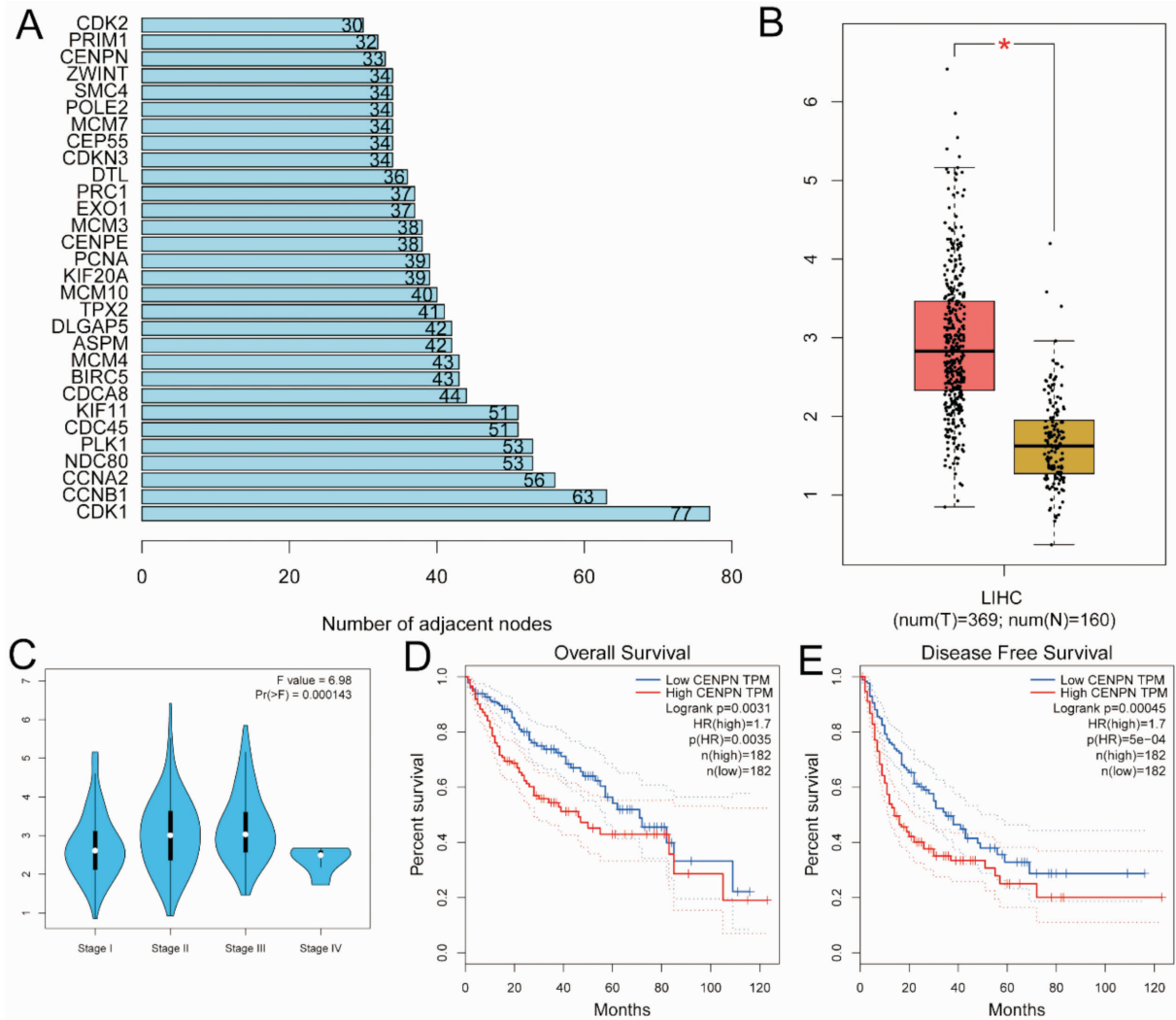


图 4 CENP - N 的鉴定与预后生存分析

注:A:连接度 Top20 的 DEGs 分析;B:CENP - N 在 HCC 中表达验证分析;C:CENP - N 的表达量与 HCC 临床分期的关系;
D:CENP - N 在 HCC 中总体生存率分析;E:CENP - N 在 HCC 中无病生存率分析

3 讨论

着丝粒是染色体的短臂和长臂的交叉点,在有丝分裂的着丝粒染色质上形成动粒^[8]。在细胞分裂过程中,线粒体蛋白通过纺锤体微管调节 DNA 的分离,因此,着丝粒在细胞周期调控和染色体分离中极为重要^[9]。着丝粒蛋白(CENPs)包含 18 个亚型,在有丝分裂期间通过微管调节与缔合和解离动力学相关。CENP - A 整合着丝粒染色质的代替组蛋白

H3 进行维护着丝粒染色质^[10]。近年来基于生物信息学的研究显示,CENP - A 在肝癌、乳腺癌、结直肠癌、肺癌等 20 种不同类型的实体癌中表达升高^[11-13],这种过表达与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移及预后等密切相关。CENP - B 影响着丝粒外区域异染色质,参与乳腺癌的发生、发展^[14]。CENP - E 是一个重要的纺锤体检查点蛋白,通过参与细胞分裂后期的着丝粒点对微管的捕捉和染色体的移动,调控肝癌、乳腺癌、肺癌等实体癌的发生发

展^[15-17]。CENP-E通过影响染色体数目,引起染色体非整倍数变化,导致肝癌的发生^[18]。CENP-F和CENP-H在乳腺癌中过表达,其高表达水平与乳腺癌进展、预后以及染色体不稳定性密切相关^[19]。CENP-N可直接结合CENP-A的着丝粒靶向结构域。通过PUBMED检索发现CENPN在HCC中的表达及功能还尚未被研究。

本研究结果显示,CENP-N在HCC中显著高表达,差异性具有统计学意义($P < 0.05$),CENP-N随着肿瘤分期的进展表现为升高趋势,由于Stage IV的病人只有4例,所以Stage IV期的数据可能存在一定的统计学偏差。此外,CENP-N高表达的HCC病人有更差的总体生存率和更差的无病生存率。CENP-N的消耗会导致几种CENP的下调,并且被认为对于制造新的着丝粒是必不可少^[20],这可能与CENP-N直接结合CENP-A的着丝粒靶向结构域有关。

综上所述,CENP-N可作为肝细胞癌新的潜在预后标志物,对降低HCC患者死亡率,改善预后和实现个体化靶向治疗提供新的思路。

参考文献:

- [1] 颜丽,魏莲花,齐发梅,等.血清TSGF,AFP,CEA和FER联合检测在肝脏恶性肿瘤诊断中的应用价值[J].现代检验医学杂志,2018,33(05):24-26+141.
- [2] El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis[J]. Gastroenterology, 2011, 140(7):2557-76.
- [3] Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address wbe, Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive and Integrative Genomic Characterization of Hepatocellular Carcinoma[J]. Cell, 2017, 169(7):1327-41 e23.
- [4] Budhu A, Forgues M, Ye QH, et al. Prediction of venous metastases, recurrence, and prognosis in hepatocellular carcinoma based on a unique immune response signature of the liver microenvironment[J]. Cancer Cell, 2006, 10(2):99-111.
- [5] 吴良银,李文丽,刘俊.肝细胞癌患者生存预后相关长链非编码RNA(LncRNA)的生物信息学分析[J].现代检验医学杂志,2019,34(04):18-21.
- [6] 张鑫浩,张涛元,李俏,等.基于GEO芯片数据的肝癌关键生物标志物的筛选与鉴定及生物信息学分析[J].现代检验医学杂志,2020,35(04):26-31.
- [7] Cancer Genome Atlas Research Network. Electronic address wbe, Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive and Integrative Genomic Characterization of Hepatocellular Carcinoma[J]. Cell, 2017, 169(7):1327-41 e23.
- [8] Hoischen C, Yavas S, Wohland T, et al. CENP-C/H/I/K/M/T/W/N/L and hMis12 but not CENP-S/X participate in complex formation in the nucleoplasm of living human interphase cells outside centromeres[J]. PLoS One, 2018, 13(3):e0192572.
- [9] Westhorpe FG, Straight AF. The centromere: epigenetic control of chromosome segregation during mitosis. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2014, 7(1):a015818.
- [10] Cheeseman IM, Desai A. Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(1):33-46.
- [11] Zhang Y, Yang L, Shi J, et al. The Oncogenic Role of CENPA in Hepatocellular Carcinoma Development: Evidence from Bioinformatic Analysis[J]. Biomed Res Int, 2020 Apr 8, 2020;3040839.
- [12] Sun X, Clermont PL, Jiao W, et al. Elevated expression of the centromere protein-A (CENP-A)-encoding gene as a prognostic and predictive biomarker in human cancers[J]. Int J Cancer, 2016 Aug 15, 139(4):899-907.
- [13] Fei X, Zhu L, Zhou H, Qi C, Wang C. A Novel Intergenic Region between CENPA and DPYSL5-ALK Exon 20 Fusion Variant Responding to Crizotinib Treatment in a Patient with Lung Adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2019 Sep, 14(9):e191-e193.
- [14] Otake K, Ohzeki JI, Shono N, et al. CENP-B creates alternative epigenetic chromatin states permissive for CENP-A or heterochromatin assembly[J]. J Cell Sci, 2020 Aug 11, 133(15):jcs243303.
- [15] 闫琛,凌康,刘子杰,等. CENP-E变异体在不同肿瘤细胞株及癌组织中的表达差异[J].中国生物制品学杂志,2010,23(07):678-682+691.
- [16] El-Arabey AA, Salama SA, Abd-Allah AR. CENP-E as a target for cancer therapy: Where are we now[J]. Life Sci, 2018 Sep 1;208:192-200.
- [17] Kung PP, Martinez R, Zhu Z, et al. Chemogenetic evaluation of the mitotic kinesin CENP-E reveals a critical role in triple-negative breast cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(8):2104-15.
- [18] He P, Hu P, Yang C, et al. Reduced expression of CENP-E contributes to the development of hepatocellular carcinoma and is associated with adverse clinical features[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 123:109795.
- [19] Auckland P, Roscioli E, Coker HLE, et al. CENP-F stabilizes kinetochore-microtubule attachments and limits dynein stripping of corona cargoes[J]. J Cell Biol, 2020 May 4, 219(5):e201905018.
- [20] Tian T, Li X, Liu Y, et al. Molecular basis for CENP-N recognition of CENP-A nucleosome on the human kinetochore[J]. Cell Res, 2018, 28(3):374-8.

(责任编辑:刘鹤香)

人脐带间充质干细胞源外泌体对黑色素瘤细胞生长的影响

姬国杰¹, 胡焕焕², 肖志轩², 田存章¹, 孙志彬², 沈宇杰²

(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 453003; 2. 新乡医学院三全学院生命科学技术学院, 河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 探讨人脐带间充质干细胞源外泌体对黑色素瘤细胞生长的影响。**方法** 利用差速超速离心法提取人脐带间充质干细胞源外泌体,并用透射电子显微镜、Western blot 方法鉴定外泌体形态、粒径和蛋白;利用 CCK-8 法、细胞划痕实验、Transwell 实验检测不同浓度人脐带间充质干细胞源外泌体对黑色素瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力的影响。**结果** 人脐带间充质干细胞源外泌体呈杯托状,平均粒径 70 nm 左右,表达标志性蛋白 CD63 和 CD9。4 种浓度人脐带间充质干细胞源外泌体对黑色素瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力均具有促进作用,在 hUC- MSC- Exo 浓度 300 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时达到最高,而在浓度 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 促进率开始明显下降。**结论** 人脐带间充质干细胞源外泌体能促进黑色素瘤细胞生长,且有时间、剂量依赖性。

关键词: 外泌体;黑色素瘤;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭

中图分类号: R563.9

Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell derived exosomes on growth of melanoma cells

Ji Guo-Jie¹, HU Huan-huan², XIAO Zhi-xuan², TIAN Cun-zhang¹, SUN Zhi-bin², SHEN Yu-jie²

(1. Experimental Teaching Center of Biology and Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. College of Life Science and Technology, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To explore the effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes (hUC-MSC-Exo) on the growth of melanoma cells. **Methods** The exosomes derived from hUC-MSCs were extracted with the differential ultracentrifugation method; body shape, particle size and protein were identified with the transmission electron microscope and Western blot methods. CCK-8 method, cell scratch test, Transwell test were used to detect the effects of different concentrations of hUC-MSC-Exo on the proliferation, migration and invasion of melanoma cells. **Results** The exosomes derived from hUC-MSCs were cup-holder-shaped, average diameter of about 70 nm, and expressed the landmark proteins CD63 and CD9. 4 concentrations of hUC-MSC-Exo could promote the proliferation, migration and invasion of melanoma cells, with the highest promotion when the hUC-MSC-Exo concentration was 300 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. At the concentration of 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the promotion rate decreased significantly. **Conclusion** HUC-MSC-Exo can promote the growth of melanoma cells in a time-dose-dependent manner.

Key words: exosomes; melanoma; cell proliferation; cell migration; cell invasion

恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是一种来源于黑色素细胞异常增生,恶性程度较高的皮肤肿瘤,转移发生早,预后效果差,晚期和有远端转移的患者平均生存期仅有 6-10 个月^[1]。恶性黑色素瘤在过去几十年里全球发病率逐渐提高,占有皮肤癌的 5%^[2]。全部皮肤癌死亡人数中的 75% 都为恶性黑色素瘤患者,每年全球约有 13.2 万恶性黑色素瘤患者^[3-4]。外泌体(exosomes)直径 30-150 nm,具有磷脂双分子层膜结构,内含母细胞源蛋白、miRNA、核酸等物质,执行细胞间信号传递功能^[5]。外泌体对肿瘤进展的影响已经受到广泛关注,间充

质干细胞源外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-Exo)可通过支持或抑制两种方式影响肿瘤的发展^[6],MSCs-Exo 与 MSCs 具有类似的生物学活性,如免疫原性低、向病变部位归巢的能力等^[7-8]。有研究提示,骨髓 MSCs 来源的外泌体(BMSCs-Exo)在骨肉瘤和胃癌细胞系中通过激活 Hedgehog 信号通路促进肿瘤生长^[9]。虽然 MSC-Exo 在肿瘤微环境中主要介导肿瘤促进作用,但也有研究表明 MSC-Exo 具有抑制肿瘤活性的能力^[6,10]。目前,MSCs 到底对肿瘤是起到促进或抑制作用尚有很大争议^[11]。本研究探讨不同浓度人脐

收稿日期:2021-05-28

基金项目:新乡医学院三全学院科学研究培育基金项目(XJKT201924, XJKT201916);新乡医学院三全学院骨干教师培育项目(SQ2019GGJS06);河南省大学生创新创业训练计划项目(S201913505005);新乡市科技攻关(GG2019022);河南省高校重点科研项目(20B310013)。

作者简介:姬国杰,男,本科,初级实验师,研究方向:生物制药, E-mail: jiguojie87@163.com。

通讯作者:胡焕焕,女,硕士,讲师,研究方向:干细胞和生育力保存, E-mail: huanhuan1987@163.com。

带间充质干细胞来源的外泌体(hUC-MSc-Exo)对黑色素瘤细胞增殖、迁移、侵袭的影响,为hUC-MSc-Exo影响黑色素瘤发生及发展机制提供实验依据,并为寻找黑色素瘤治疗靶点提供启示。

1 材料与方法

1.1 细胞株

黑色素瘤 B16 细胞,本实验室保存。

人脐带间充质干细胞,本实验室通过脐带组织块分离培养得到。

1.2 主要试剂与仪器

胎牛血清购自 Thermo 公司,2.5% 胰蛋白酶、CCK-8 试剂、RPMI Medium 1640 培养基、L-谷氨酰胺均购自索莱宝公司,BCA 蛋白质定量检测试剂盒购自碧云天公司,人间充质干细胞无血清培养液 Ultroser G、Ultraculture 购自 Lonza 公司,双抗购自 Gibco 公司,PE 标记的 CD73、CD105、CD34、CD45、HLA-DR 抗体及 FITC 标记的 CD90 抗体均购自 Biologend,CD63 购自 Abclonal,CD9 (Abcam)。CO₂ 培养箱 (Heracell 150i)、高速冷冻离心机 (ST16R)、酶联免疫检测仪 (Multiskan FC) 均购自美国 Thermo 公司,倒置荧光显微镜 (IM-5) 购自日本 Olympus 公司,超速离心机 (Optima XE-90) 购自美国 Beckman 公司,透射电子显微镜 (HT 7700) 购自日本日立公司。

1.3 方法

1.3.1 hUC-MSc 的分离培养 研究获得新乡医学院三全学院伦理委员会的批准,通过新乡医学院第三附属医院征求产妇及家属同意后,无菌采集足月剖宫产新生儿脐带大于 15cm,无菌剥离出华通氏胶,剪成约 1 mm³ 大小组织块,均匀接种于 T75 培养瓶,用 5ml 完全培养基(2% Ultraculture + 5% L-谷氨酰胺 + 1% 双抗)培养组织块过夜,待组织块牢固贴壁后弃去旧培养基,重新添加完全培养基,3d 换 1 次培养液,待组织块周围长出足量人脐带间充质细胞,胰酶消化传代,取 2 代细胞进行试验。

1.3.2 hUC-MSc 流式细胞术鉴定 收集第 3 代人脐带间充质细胞按照韩潇等^[12]所述方法进行流式细胞仪检测。

1.3.3 hUC-MSc-Exo 的提取及鉴定 参考并改进 ZHANG 等^[13]所述方法提取外泌体;加入适量生理盐水重悬,用 BCA 蛋白质定量试剂盒对进行蛋白定量检测,562 nm 处测量吸光值,0.22 μm 针头式过滤器过滤,生理盐水调整浓度,分装 500 μL/

管,-80℃ 冰箱保藏备用。参考 Kalimuthu 等所述方法^[14]用 HT 7700 透射电子显微镜对外泌体观察和图像采集^[14]。利用 Western blot 方法测定外泌体表面标志物 CD63、CD9 的表达。

1.3.4 细胞增殖实验 消化收集对数生长期细胞,调整细胞浓度以 1×10^4 个·mL⁻¹ 为最佳,接种在 96 孔培养板中,每孔 100 μL,CO₂ 培养箱中培养过夜。显微镜下观察细胞铺满孔底 80% 即可加药。实验组分别加入 hUC-MSc-Exo 终浓度为 100、200、300、400 μg·mL⁻¹ 的培养基。对照组分别加入等量生理盐水的培养基。空白组只加入等量培养基,在 CO₂ 培养箱中培养 24 h 和 48 h。待测孔中添加 10 μL CCK-8 试剂,再次放入 CO₂ 培养箱培养 3 h。450 nm 处检测吸光度。

增殖率 = (加药组细胞平均吸光度/对照组细胞平均吸光值 - 1) × 100%

1.3.5 细胞迁移实验 参考吕达等^[15]所述方法取对数生长期细胞,加入 hUC-MSc-Exo 处理,实验组分别加入 hUC-MSc-Exo 终浓度为 100、200、300、400 μg·mL⁻¹ 的培养基。对照组加入等量生理盐水。分别在 0、24、48h 固定观察划痕位置并拍照。

1.3.6 细胞侵袭实验 参考叶锦豪等^[16]所述方法,将接种过细胞的 transwell 小室置于 37℃,5% CO₂ 培养箱培养 24h 后检测。用棉签将上室未侵袭细胞擦除,移去 transwell 小室,倒置并风干。PBS 漂洗,再用 0.1% 结晶紫染色。PBS 缓慢漂洗 3 次并用棉签擦拭,倒置显微镜下取不同视野拍照计数。

1.3.7 统计学分析 采用 SPSS 15.0 统计软件。计算资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUC-MSc 的分离培养

组织块原代培养 hUC-MSc,组织块贴壁 5 d 后,有大量细胞从爬出(图 1A);细胞融合 70% - 80% 时传代培养,传代后细胞以梭形为主,半透明状,轮廓清晰,折光性好(图 1B)。

2.2 hUC-MSc 的鉴定

hUC-MSc 稳定高表达 CD73(99.94%)、CD90(99.97%)、CD105(99.96%) 均大于 99%,不表达 CD34、CD45、HLA-DR(<0.5%)。结果表明,本实验室所得 hUC-MSc,符合国际细胞治疗协会 ISCT 间充质干细胞标准^[17]。

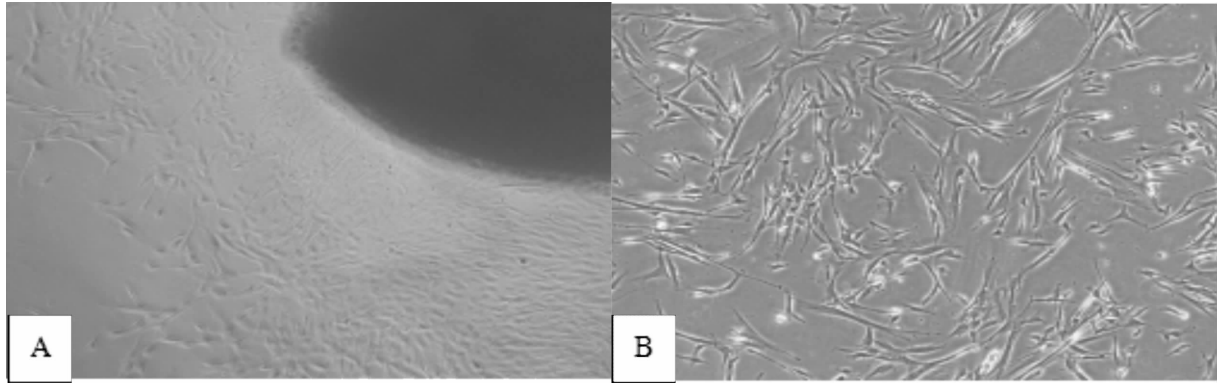


图 1 脐带中分离的人间充质干细胞(100 ×)

注:A. 组织块培养原代细胞(P0) B. 传代培养 2 代细胞(P2)

2.3 hUC - MSC - Exo 的鉴定

绘制 OD 568 处吸光度相关 - 回归曲线(图 2)。回归方程 $y = 0.599x + 0.042$ ($R^2 = 0.999$), 人间充质干细胞分泌的 Exosome 浓度为 $1759 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

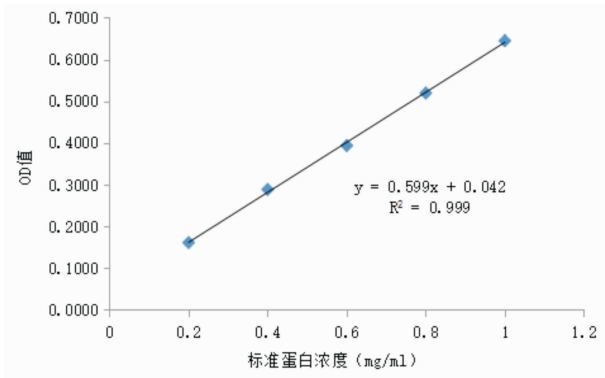


图 2 相关 - 回归曲线

透射电子显微镜下, hUC - MSC - Exo 具有双层膜结构, 整体呈杯托状(图 3), 本研究所得提取物粒径主要集中在 70 nm 左右, 且大多数粒径集中在 50 - 90 nm, 从电镜结果可以看出, 本实验所得提取物主要以外泌体为主。

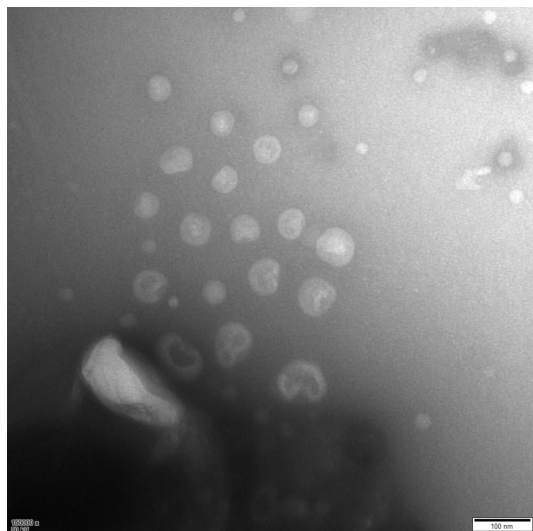


图 3 透射电子显微镜鉴定结果

Western blot 结果显示, 所得外泌体阳性表达特定标志物 CD63 和 CD9(图 4), 符合文献[18]报道, 说明成功获得了 hUC - MSC - Exo。

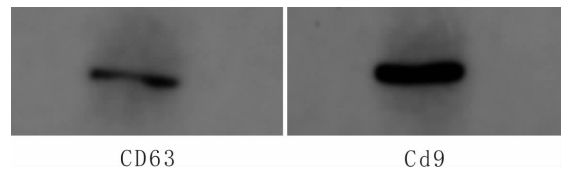


图 4 Western blot 分析结果

2.4 hUC - MSC - Exo 促进黑色素瘤细胞的增殖、迁移和侵袭

由图 5 可知, 随着 hUC - MSC - Exo 浓度的增大和作用时间的延长, 促进率逐渐增大, 并在 hUC - MSC - Exo 浓度 $300 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组达到最高, 而在浓度 $400 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 促进率开始明显下降。综上可知, hUC - MSC - Exo 对 B16 细胞的增殖具有促进作用, 且 hUC - MSC - Exo 对 B16 细胞增殖的促进作用具有时间依赖性 ($P < 0.05$)。

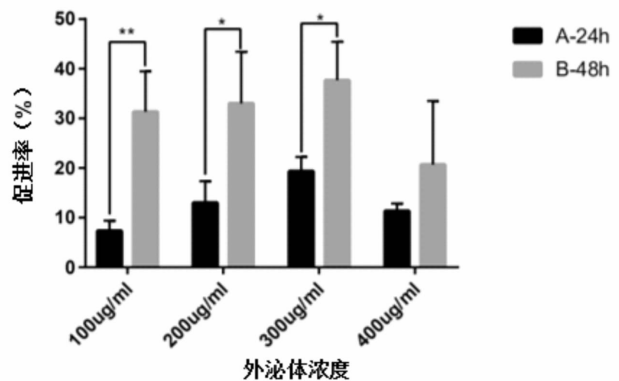


图 5 不同浓度 hUC - MSC - Exo 对 B16 细胞增殖影响

注:A - B: 含不同浓度 hUC - MSC - Exo 培养基培养 24 h, 48 h

由图 6 可知, hUC - MSC - Exo 组随着浓度增高, 划痕愈合能力逐渐增强, 细胞迁移能力逐渐上升, 并在 $300 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度达到最高, 而在浓度 $400 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 细胞迁移能力开始下降。

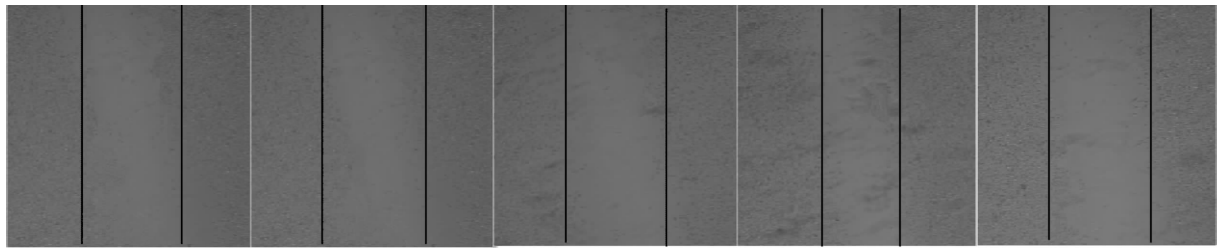


图6 不同浓度 hUC - MSC - Exo 对 B16 细胞迁移影响 (40 ×)

由图7可知,随着 hUC - MSC - Exo 浓度的增大,B16 细胞穿膜数量逐渐增多,并在300 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

的浓度达到最高,而在浓度 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 穿膜细胞数量开始减少。

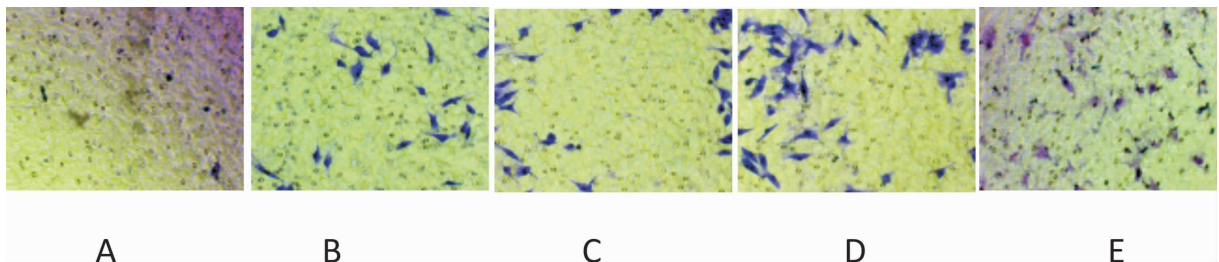


图7 不同浓度 hUC - MSC - Exo 对 B16 细胞侵袭影响 (40 ×)

注:A - E:含 0、100、200、300、400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ hUC - MSC - Exo 培养基培养 24 h

3 讨论

在众多潜在的分子机制中,以往的研究尚未对 MSC 的分子机制完全阐明, MSC - Exo 被认为是至关重要的^[19-20]。2017年,有研究表面, hBMSC - Exo 能够促进骨肉瘤细胞及胃癌细胞的生长^[9]。也有研究表明, hUC - MSC - Exo 通过激活 Akt 信号通路,增强胃癌细胞 HGC - 27 迁移和侵袭能力^[21], WANG 等^[22]也证实了 MSC - Exo 可将 miRNA - 221 转移至胃癌 HGC - 27 细胞,从而促进其生长及迁移。更多研究表明, MSC - Exo 能够促进鼻咽癌^[23]、乳腺癌细胞^[22,24]、前列腺癌^[25]的增殖及迁移。Dong 等证实了 MSC - Exo 参与肿瘤微血管的形成并促进肿瘤细胞的生长,如 MSC - Exo 中可通过转移 miR - 410 促进体内肺腺癌细胞增长^[26]。

但也有研究表明 MSC - Exo 具有抑制肿瘤活性的能力^[6,10], MSC - Exo 通过抑制血管内皮生长因子的表达^[27],从而抑制乳腺癌细胞生长。LOU 等^[28]研究指出人脂肪 MSCs 转染 miR - 122 后,外泌体通过改变肝癌细胞中 miR - 122 靶基因的表达,提高对索拉非尼的敏感性,增强抗肿瘤效果。Pakravan 等^[29]认为 BMSC - Exo 能抑制癌细胞的生长和增殖。还有研究发现, miR - 302A 负载的 hUC - MSC - Exo 可通过抑制细胞周期蛋白 D1 的表达和 AKT 信号通路而抑制子宫内膜癌细胞的增殖和迁移,同时这些外泌体还具有肿瘤归巢能力^[30]。

上述研究结果之间的差异可能与多种因素相

关, Vakhshiteh 等^[6]研究表明 MSCs 的来源对肿瘤的抑制或促进至关重要,另外 MSCs 培养的标准化条件也有一定的影响,因为 MSCs 培养条件可能影响分泌生物活性因子的整体特征^[31]。

本研究结果显示,不同浓度 hUC - MSC - Exo 对黑色素瘤 B16 细胞增殖、迁移、侵袭均具有促进作用,且呈时间和剂量依赖性。并在 hUC - MSC - Exo 浓度为 300 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时达到最大值, 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 开始明显下降。关于 hUC - MSC - Exo 浓度在更高浓度时是否具有抑制作用有待后续研究,另外 hUC - MSC - Exo 对 B16 细胞的调控作用是通过什么机制完成的,还需要进一步探究。

参考文献:

- [1] Claus G, Eigentler T K, Ulrich K, et al. Systematic review of medical treatment in melanoma; current status and future prospects [J]. *The oncologist*, 2011, 16(1): 5 - 24.
- [2] Anna M C, Miguel V, Sebastian M, et al. Epigenetic mechanisms involved in melanoma pathogenesis and chemoresistance [J]. *Annals of translational medicine*, 2015, 3(15): 209 - 217.
- [3] Liu X P, Zhou S T, Li X Y, et al. Anti - tumor activity of N - trimethyl chitosan - encapsulated camptothecin in a mouse melanoma model [J]. *BioMed Central*, 2010, 29(1): 76 - 84.
- [4] Harhaji L, Mijatovic S, Maksimovici D, et al. Anti - tumor effect of *Coriolus versicolor* methanol extract against mouse B16 melanoma cells: In vitro and in vivo study [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(5): 1825 - 1833.
- [5] Tkach M, They C. Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go [J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1226 - 1232.

- [6] Vakhshiteh F, Atyabi F, Ostad S N, et al. Mesenchymal stem cell exosomes: a two-edged sword in cancer therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, (14): 2847-2859.
- [7] Tetta C, Bruno S, Fonsato V, et al. The role of microvesicles in tissue repair [J]. *Organogenesis*, 2011, 7(2): 105-115.
- [8] Stefania B, Cristina G, Chiara D M, et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury [J]. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 2009, 20(5): 1053-1067.
- [9] Qi J, Zhou Y L, Jiao Z Y, et al. Exosomes Derived from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Promote Tumor Growth Through Hedgehog Signaling Pathway [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 42(6): 2242-2254.
- [10] Norozi F, Ahmadzadeh A, Shahrabi S, et al. Mesenchymal stem cells as a double-edged sword in suppression or progression of solid tumor cells [J]. *Tumor Biology*, 2016, 37(9): 11679-11689.
- [11] 武雪, 钱曼青, 吴东梁, 等. 间充质干细胞来源外泌体对肿瘤的调控效应 [J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(25): 4083-4088.
- [12] 韩潇, 白海, 赵强, 等. 人脐带间充质干细胞体外分离培养及其生物学特性的研究 [J]. *重庆医学*, 2016, 45(7): 876-879.
- [13] Zhang Y T, Hao Z C, Wang P F, et al. Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells enhance fracture healing through HIF-1 α -mediated promotion of angiogenesis in a rat model of stabilized fracture [J]. *Cell Proliferation*, 2019, 52(2): 12570.
- [14] Kalimuthu S, Gangadaran P, Li X J, et al. In Vivo therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles with optical imaging reporter in tumor mice model [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 30418.
- [15] 吕达, 崔恒宓. 脐带间充质干细胞及其外泌体对宫颈癌 HeLa 细胞的作用初探 [J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2020, 41(04): 54-58+70.
- [16] 叶锦豪, 陈静, 季杨, 等. 低氧预处理脐带间充质干细胞来源的外泌体对内皮细胞功能的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(08): 1351-1358.
- [17] 甘霓, 吴小勇, 郑传进等. 黑木耳多糖对 B16 黑色素瘤细胞抗肿瘤作用研究 [J]. *广东药科大学学报*, 2017, 6: 758-762.
- [18] Feng Y, Lu S H, Wang X, et al. Biological characteristics of exosomes secreted by human bone marrow mesenchymal stem cells. [J]. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi*, 2014, 22(3): 595-599.
- [19] Wang K, Jiang Z, Keith A. et al. Enhanced Cardioprotection by Human Endometrium Mesenchymal Stem Cells Driven by Exosomal MicroRNA 21 [J]. *STEM CELLS Translational Medicine*, 2017, 6(1): 209-222.
- [20] Liang X T, Ding Y, Zhang Y L, et al. Paracrine Mechanisms of Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy: Current Status and Perspectives [J]. *Cell Transplantation*, 2014, 23(9): 1045-1059.
- [21] Gu H B, Ji R B, Zhang X, et al. Exosomes derived from human mesenchymal stem cells promote gastric cancer cell growth and migration via the activation of the Akt pathway [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14(4): 3452-3458.
- [22] Wang M, Zhao C, Shi H, et al. Deregulated microRNAs in gastric cancer tissue-derived mesenchymal stem cells: novel biomarkers and a mechanism for gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(5): 1199-1210.
- [23] Shi S, Zhang Q C, Xia Y F, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitate nasopharyngeal carcinoma progression [J]. *American journal of cancer research*, 2016, 6(2): 459-472.
- [24] Vallabhaneni K C, Patrice P, Santosh D, et al. Extracellular vesicles from bone marrow mesenchymal stem/stromal cells transport tumor regulatory microRNA, proteins, and metabolites [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7): 4953-4967.
- [25] Takahara K, Li M, Inamoto T, et al. MicroRNA-145 mediates the inhibitory effect of adipose tissue-derived stromal cells on prostate cancer [J]. *Stem Cells*, 2016, 25(17): 1290-1298.
- [26] Dong L Y, Pu Y N, Zhang L N, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote lung adenocarcinoma growth by transferring miR-410 [J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(2): 218.
- [27] Lee J K, Park S R, Jung B K, et al. Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells Suppress Angiogenesis by Down-Regulating VEGF Expression in Breast Cancer Cells [J]. *PLOS ONE*, 2013, 8(12): e84256.
- [28] Lou G H, Song X L, Yang F, et al. Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue-derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2015, 8(6): 122.
- [29] Pakravan K, Babashah S, Sadeghizadeh M, et al. MicroRNA-100 shuttled by mesenchymal stem cell-derived exosomes suppresses in vitro angiogenesis through modulating the mTOR/HIF-1 α /VEGF signaling axis in breast cancer cells [J]. *Cellular Oncology*, 2017, 40(5): 457-470.
- [30] Li X F, Li Z M. Effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells on co-cultured ovarian carcinoma cells [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2019, 82(6): 898-902.
- [31] 黄磊, 宋嘉琪, 罗超, 等. 间充质干细胞来源外泌体在恶性肿瘤中的研究进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2019, 46(22): 1185-1188.

(责任编辑:刘鹤香)

miR-27a 抑制 Sfrp1 促进肾小管上皮细胞 EMT 的机制研究

田平平¹, 李枋云¹, 邹琴², 卢雨微², 郭兵², 石明隽²

(1. 新乡医学院三全学院护理学院, 河南 新乡 453003; 2. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的** 检测高糖诱导的肾小管上皮细胞(NRK-52E)中 miR-27a 是否通过调控分泌型卷曲相关蛋白 1 (Secreted Frizzled-related Protein 1, Sfrp1) 的表达促进肾小管上皮细胞向间质细胞转分化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)。 **方法** 1. 将 NRK-52E 细胞分为正常糖(NG 5.5 mmol·L⁻¹)和高糖(HG 30 mmol·L⁻¹)两组, 分别利用 qRT-PCR、Western Blot 检测各组 NRK-52E 细胞中 miR-27a、Sfrp1、E-钙粘蛋白(E-cadherin)、 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、IV 型胶原(col-IV)的表达变化; 2. 利用荧光素酶报告基因检测验证 miR-27a 与 Sfrp1 的相互作用; 3. 在高糖诱导下将 NRK-52E 细胞设 miR-27a mimics 组(miR-27a m)、miR-27a mimics negative control 组(miR-27a mnc)、miR-27a inhibitor 组(miR-27a i)、miR-27a inhibitor negative control 组(miR-27a inc), 分别利用 qRT-PCR、Western Blot 检测各组 NRK-52E 细胞中 miR-27a、Sfrp1、E-cadherin、 α -SMA、col-IV 的表达变化。 **结果** 与 NG 组比较, HG 组 miR-27a RNA 表达水平增高, α -SMA、col-IV RNA 和蛋白水平均增高($P < 0.05$), Sfrp1、E-cadherin 表达水平下调($P < 0.05$); 荧光素酶报告基因显示 miR-27a 能够靶向调控 Sfrp1 mRNA 3' UTR; 细胞转染实验结果发现: 与 miR-27a mnc 组比较, miR-27a m 组 miR-27a RNA 水平增高($P < 0.05$), α -SMA、col-IV RNA 和蛋白水平均增高($P < 0.05$); Sfrp1、E-cadherin 表达水平下调($P < 0.05$); 与 miR-27a inc 组比较, miR-27a i 组 miR-27a 表达水平下调, α -SMA、col-IV RNA 和蛋白水平均降低($P < 0.05$), Sfrp1、E-cadherin 表达水平增加($P < 0.05$)。 **结论** miR-27a 可以通过抑制 Sfrp1 的表达促进肾小管 EMT, 参与糖尿病肾病肾纤维化的发生。

关键词: miR-27a; 分泌型卷曲相关蛋白 1; NRK-52E; 上皮细胞向间质细胞转分化

中图分类号: R361

Mechanism of miR-27a inhibiting Sfrp1 and promoting EMT in renal tubular epithelial cells

TIAN Ping-ping¹, LI Fang-yun¹, ZOU Qin², LU Yu-wei², GUO Bing², SHI Ming-jun²

(1. Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract: **Objective** To detect whether miR-27a can promote the occurrence of epithelial-mesenchymal transition (EMT) through regulating the expression of secreted frizzled related protein 1 (Sfrp1) in renal tubular epithelial cells (NRK-52E) induced by high glucose. **Methods** 1. NRK-52E cells were divided into normal glucose (NG 5.5 mmol·L⁻¹), high glucose (HG 30 mmol·L⁻¹); miR-27a, Sfrp1, E-cadherin, α -SMA, col-IV were detected by using the qRT-PCR and Western blot. 2. The interaction between miR-27a and Sfrp1 was verified by luciferase reporter gene detection. 3. NRK-52E cells cultured in high glucose were divided into miR-27a mimics (miR-27a m), miR-27a mimics negative control group (miR-27a mnc), miR-27a inhibitor group (miR-27a i) and miR-27a inhibitor negative control group (miR-27a inc). The mRNA and protein expression level of miR-27a, Sfrp1, E-cadherin, α -SMA, col-IV were detected by using the qRT-PCR and Western blot. **Results** The mRNA level of miR-27a and expression level of α -SMA, col-IV were higher in HG group than those in NG group ($P < 0.05$), and the expression levels of Sfrp1 and E-cadherin were down-regulated ($P < 0.05$); luciferase reporter gene assay showed that miR-27a could target the 3' UTR region of Sfrp1 mRNA; the mRNA level of miR-27a and expression level of α -SMA, col-IV were higher in miR-27a m group than those in miR-27a mnc group ($P < 0.05$), and the expression levels of Sfrp1 and E-cadherin were down-regulated ($P < 0.05$); the mRNA level of miR-27a and expression level of α -SMA and col-IV were down-regulated in miR-27a i group than those in miR-27a inc group ($P < 0.05$), the expression levels of Sfrp1 and E-cadherin were higher ($P < 0.05$). **Conclusion** miR-27a can promote the epithelial-mesenchymal transition and involve the occurrence of renal fibrosis by inhibiting the expression of Sfrp1.

Key words: miR-27a; Sfrp1; NRK-52E; EMT

收稿日期: 2021-06-21

基金项目: 贵阳市科技计划项目-阿托伐他汀通过调节 microRNA 治疗糖尿病肾病肾间质纤维化的研究(筑科合同[20161001]42号)。

作者简介: 田平平, 女, 硕士, 助教, 研究方向: 肾脏纤维化, E-mail: 1344566318@qq.com。

通讯作者: 石明隽, 女, 博士, 教授, 研究方向: 肾脏纤维化, E-mail: smjtyf@126.com。

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是导致终末期肾衰的常见原因。近年来研究发现微小核糖核酸(microRNA, miRNA)的异常表达与慢性肾脏疾病(chronic kidney diseases, CKD)的发生密切相关^[1-5],且miR-27a、miR-34a、miR-342等是CKD早期重要的生物标志物。作为miR-27家族成员之一,miR-27a被认为是乳腺癌^[6]、口腔鳞状细胞癌^[7]、胃癌^[8]等疾病的调控因子,并参与EMT的过程。也有研究报道^[9],在NRK-52E细胞中,miR-27a靶向调控PPAR γ 的表达,激活TGF β /Smad3信号通路,最终引起肾小管间质纤维化的发生,而EMT在肾脏纤维化的发生发展中扮演着重要的角色。有研究发现Sfrp1是miR-27a最主要的靶基因,过表达miR-27a可以抑制Sfrp1蛋白的表达,引起乳腺癌细胞发生增殖、侵袭、迁移等^[10]。本课题组的前期研究发现Sfrp1表达减少可以活化Wnt/ β -catenin信号通路促进DN肾纤维化的发生^[11-12]。因此,我们拟从体外水平分别观察过表达和敲低miR-27a后对Sfrp1及EMT相关分子表达的影响,探索在高糖环境下的miR-27a能否通过调控Sfrp1的表达影响EMT的发生。

1 材料与方法

1.1 材料

大鼠近端肾小管上皮细胞株(NRK-52E细胞),购于美国菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)。Trizol Regent(ambion公司);Sfrp1和 β -actin引物(上海生工生物技术工程有限公司);Revert Aid TM Firststrand cDNA Synthesis Kit(Thermo公司);2 \times SuperReal PreMix Plus(天根生化科技有限公司);Bulge-LoopTMmiRNA qRT-PCR Primer试剂盒(广州锐博生物公司);miRNA negative control、miR-27a mimics(广州瑞博生物科技有限公司);pMIR-REPORT-Sfrp1野生型和突变型(上海毅乐生物科技有限公司);兔抗大鼠多克隆抗体Sfrp1、E-cadherin(北京博奥森生物技术有限公司);小鼠抗大鼠单克隆抗体col-IV抗体(美国Sigma公司);小鼠抗大鼠单克隆抗体 β -actin抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗鼠IgG、辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG(武汉普美克生物技术有限公司);兔抗大鼠多克隆抗 α -SMA抗体(武汉proteintech公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养与转染 NRK-52E细胞培养于含10%胎牛血清DMEM培养基中,5%CO₂37℃培养箱中培养。细胞长至70%时分为NG(5.5 mmol·L⁻¹)

组、HG(30 mmol·L⁻¹)组48h后收取蛋白或RNA备用;高糖培养的NRK-52E细胞长至70%时分成miR-27a m(miR-27a mimics)组、miR27a mnc(miR-27a mimics negative control)组、miR-27a i(miR-27a inhibitor)组、miR27a inc(miR-27a inhibitor negative control)组转染4-6h后用新鲜高糖培养基替换原培养基,48h后收取蛋白或RNA备用。

1.2.2 Western Blot 按照蛋白提取试剂盒说明书提取NRK-52E细胞总蛋白,SDS-PAGE凝胶电泳分离后,将其转至PVDF膜上,5%脱脂牛奶封闭1h,TBST洗膜3次 \times 5min,一抗孵育,浓度分别为 β -actin(1:4000)、Sfrp1(1:500)、E-cadherin(1:300)、 α -SMA(1:300)、col-IV(1:1000);4℃冰箱孵育过夜;1%脱脂牛奶配置的二抗室温孵育1h,TBST洗膜3 \times 10min,ECL液显色,Bio-Rad凝胶成像系统扫描检测PVDF膜上的目的蛋白灰度,检测PVDF膜上的目的蛋白,Image Lab 5.1图像分析软件分析蛋白信号的相对含量,以 β -actin为内参,计算各目标蛋白的相对含量。

1.2.3 qRT-PCR Trizol法提取NRK-52E细胞总RNA,按照RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit(美国Thermo公司)说明书逆转录cDNA,按照Talent qPCR PreMix(SYBR Green)说明书行qRT-PCR实验;分别按照RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit(美国Thermo公司)和Bulge-LoopTMmiRNA Qrt-PCR Primer试剂盒(广州锐博生物公司)试剂盒说明书行miR-27a的逆转录。应用荧光定量PCR仪(美国Bio-rad公司)进行检测,引物序列为见表1。mRNA的相对表达量用2^{- $\Delta\Delta$ ct}方法分析。

表1 qRT-PCR引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')	T _m	引物长度
β -actin	F:GCCAACACACTGCTCT	63.9℃	212bp
	R:AGGAGCAATGATCTTGATCTT		
Sfrp1	F:CTCTCCAAGTGGCAGAGGAC	63.9℃	186bp
	R:GAGGACACTGGCTGGACTTC		
E-cadherin	F:ACTTTGGTGTGGGTCTGGAG	60.3℃	166bp
	R:TCTGTGCAATGATGAGAGC		
α -SMA	F:GGCATCCACGAAACCACT	60.3℃	212bp
	R:CCGCCGATCCAGACAGAAT		
col-IV	F:AAGACCTTGTACTIONCTGGGC	54.0℃	158bp
	R:AGTAATTGGGGCCATGTCCA		

1.2.4 荧光素酶报告基因实验 利用TargetScan和miRanda生物信息软件预测miR-27a和Sfrp1mRNA的3'UTR区的结合位点,并由上海毅乐生物科技有限公司设计Sfrp1野生型和突变型质

粒,分别命名为 pMIR - REPORT - Sfrp1 野生型 (wt Sfrp1 - 3' UTR) 和 pMIR - REPORT - Sfrp1 突变型 (mt Sfrp1 - 3' UTR)。进行转染前一天,将 NRK - 52E 细胞铺入 24 孔板中,使转染时细胞密度达到 50% 左右,分别取 50nM miR - 27a mimics (或) miR - 27a mimics negative control、20 ng 海肾荧光质粒和 200 ng Sfrp1 野生型 (或突变型质粒) 混合于 DMEM 培养基中,转染 4 - 6 h 后弃去培养基,加入含 2% 血清的高糖培养基;48 h 后按照 Dual - Luciferase® Reporter Assay System (Promega) 说明书操作。弃去细胞培养液,冰 PBS 清洗细胞 3 次;吸净 24 孔板中 PBS 液,每孔加入 100μL PLB,于水平摇床上常温裂解 15 - 20 min;冰上吹打细胞,使充分裂解,将裂解液吸至 1.5 mL EP 管中,4℃ 12 000 rpm 离心 3 min;离心后,每孔吸等量上清至新的 1.5 mL EP 管中;上机检测,分别加入 100 μL LAR II 和 100 μL Stop & Glo® Buffer 液,利用荧光素酶报告基因检测仪检测萤火虫荧光值与海肾荧光值的比值,并进行统计。

1.2.5 统计分析 SPSS 17.0 统计软件,数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,数据符合正态分布。两组间采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 示差异具有统计学意义。

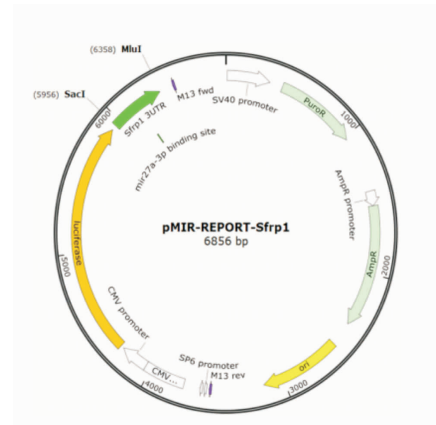


图 1 pMIR - REPORT - Sfrp1 质粒图谱

2 结果

2.1 NG 和 HG 两组细胞中相关指标 RNA 和 (或) 蛋白的表达水平

qRT - PCR 结果显示,与 NG 组相比,HG 组 miR - 27a 表达明显增高 ($P < 0.05$),而 Sfrp1 的表达降低 ($P < 0.05$),见图 2A;Western Blot 结果显示,与 NG 组比较,HG 组 Sfrp1、E - cadherin 表达降低 ($P < 0.05$),而 col - IV、α - SMA 的蛋白表达上调 ($P < 0.05$),见图 2B、C。

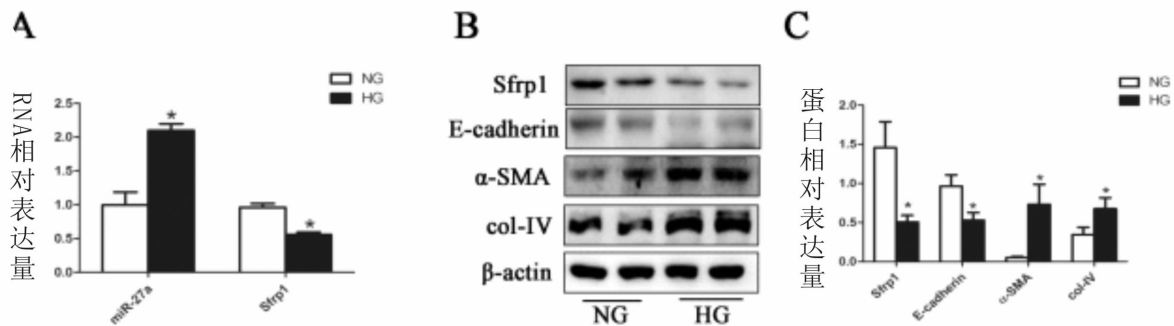


图 2 NG、HG 两组细胞中相关指标表达情况

2.2 miRNA - 27a 靶向调控 Sfrp1

荧光素酶报告基因实验结果显示,与野生型重组质粒 wt Sfrp1 - 3' UTR + miR - 27a mnc 相比,野生型重组质粒 wt Sfrp1 - 3' UTR + miR - 27a m 组的相对荧光素酶活性降低 ($P < 0.05$);而当 Sfrp1 基因 3' UTR 的潜在结合位点发生点突变后,突变型质粒 mt Sfrp1 - 3' UTR + miR - 27a mnc 与 mt Sfrp1 - 3' UTR + miR - 27a m 组未见明显差异 ($P > 0.05$),见图 3。说明 miR - 27a mimics 和 miR - 27a mimics negative control 无法抑制突变型质粒荧光素酶活性。以上结果表明,miR - 27a 能与 Sfrp1 mRNA 3' UTR 区结合,而且 miR - 27a 能特异性的作用于这一位点,抑制 Sfrp1 的表达。

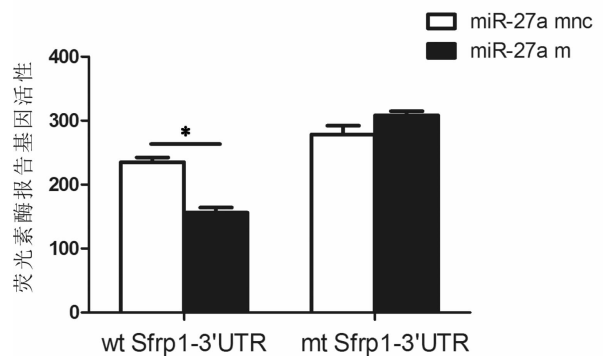


图 3 荧光素酶报告基因检测 miR - 27a 靶向调控 Sfrp1
2.3 过表达 miR - 27a 对 NRK - 52E 细胞中 Sfrp1、E - cadherin、col - IV、α - SMA 表达水平的影响

qRT-PCR 结果显示,与 miR-27a mnc 组相比,miR-27a m 组 miR-27a 表达明显增高 ($P < 0.05$),而 Sfrp1 的表达降低 ($P < 0.05$),见图 4A。Western Blot 结果显示,与 miR-27a mnc 组比较,

miR-27a m 组 Sfrp1、E-cadherin 表达降低 ($P < 0.05$);而 col-IV、 α -SMA 的蛋白表达明显上调 ($P < 0.05$),见图 4B、C。

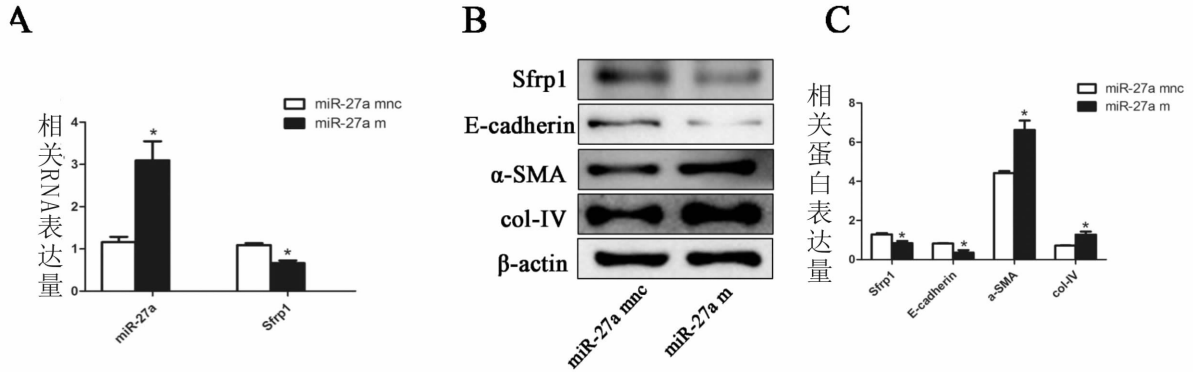


图 4 过表达 miR-27a 后相关指标表达情况

2.4 抑制 miR-27a 对 NRK-52E 细胞中 Sfrp1、E-cadherin、col-IV、 α -SMA 表达水平的影响

qRT-PCR 结果显示,与 miR-27a inc 组相比,miR-27a i 组 miR-27a 表达明显降低 ($P < 0.05$),而 Sfrp1 的表达增加 ($P < 0.05$),见图 5。Western

Blot 结果显示,与 miR-27a inc 组比较,miR-27a i 组 Sfrp1、E-cadherin 表达增加 ($P < 0.05$);而 col-IV、 α -SMA 的蛋白表达下调 ($P < 0.05$),见图 5A、B。

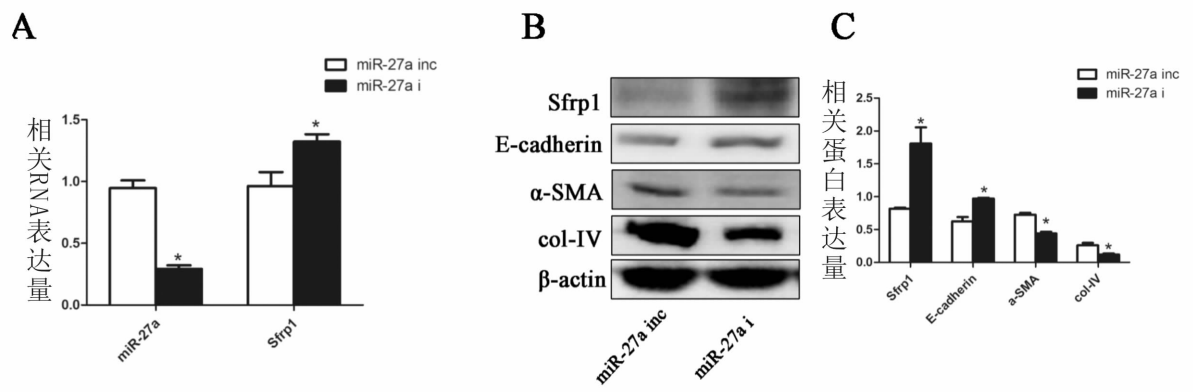


图 5 抑制 miR-27a 后相关指标表达情况

3 讨论

DN 是 DM 所致的一种主要微血管并发症,是导致终末期肾脏疾病(end-stage renal disease, ESRD)的常见原因,其晚期主要特征性病理变化为肾小球硬化和肾小管间质纤维化。而 EMT 是促进肾纤维化进程的重要原因之一。EMT 是上皮细胞向间质细胞转变并执行间质细胞的功能的一种形态学变化。当发生 EMT 时可引起 E-cadherin 表达减少或丢失,同时 α -SMA 表达增多。 α -SMA 是肌成纤维细胞的标志蛋白,肌成纤维细胞能够分泌大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)如胶原蛋白并发生沉积,最终引起肾脏纤维化的发生。

本次实验以 NRK-52E 细胞为研究对象,分别

给予正常糖和高糖处理 48 h,结果显示高糖组 E-cadherin 表达减少, α -SMA、col-IV 表达增多,提示高糖可以诱导 EMT 的发生,参与肾脏纤维化的过程。

miRNA 是一类由内源基因编码的长度约为 19-25 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,能与 mRNA 3' UTR 区的靶序列特异性结合,抑制靶蛋白的翻译。miRNA 在哺乳动物中高度保守,调节相当数量的基因并参与一些关键的生命过程,miRNA 的失调可能导致细胞功能受损,并且与多种疾病的发生发展有关^[13-15]。研究发现,miRNA 是引起肾脏疾病的一个新的重要因素。然而,其具体调控机制仍不清楚。Qiao 发现在口腔鳞状细胞癌中,miRNA-27a-3p 可以通过靶向调控 Sfrp1 促进肿瘤细胞

EMT 的发生^[7]。本次实验结果显示高糖培养的 NRK - 52E 细胞中, miR - 27a 表达增多, Sfrp1 表达减少。于是我们利用 TargetScan 和 miRanda 两个生物信息学软件分别预测发现, Sfrp1 可能为 miR - 27a 的靶基因。荧光素酶报告基因实验显示, 在共同转染了 miR - 27a mimics 和 Sfrp1 野生型质粒时, 荧光活性明显减弱; 而在突变型质粒组未见明显变化, 证实 miR - 27a 可以靶向调控 Sfrp1; 此与 Qiao 的结果一致。

Sfrp1 是 Wnt 信号通路抑制因子之一。本课题组前期研究结果发现^[12], 在糖尿病肾病大鼠肾组织中, Sfrp1 mRNA 和蛋白表达较正常组大鼠均减少, 导致 Wnt 信号通路活化并促进了肾脏纤维化的发生。为进一步证实 miR - 27a 对肾纤维化的影响, 本实验分别将高糖培养的 NRK - 52E 细胞转染 miR - 27a mimics 和 inhibitor, 结果发现在过表达 miR - 27a 后, Sfrp1 表达减少, E - cadherin 表达降低, α - SMA、col - IV 表达增多。说明过表达 miR - 27a 可以抑制 Sfrp1 的表达进而促进高糖状态下 NRK - 52E 细胞 EMT 的发生; 而抑制 miR - 27a 后, 可逆转这一现象, 进一步证实了 miR - 27a 可以通过调控 Sfrp1 的表达而影响高糖诱导的 NRK - 52E 细胞 EMT 进程。

综上所述, 高糖环境下, NRK - 52E 细胞中 miRNA - 27a 可以靶向调控 Sfrp1 mRNA 和蛋白的表达, 影响 EMT 的发生, 从而参与糖尿病肾病肾脏纤维化的过程。

参考文献:

- [1] Wu L, Wang QZ, Guo F, et al. MicroRNA - 27a Induces Mesangial Cell Injury by Targeting of PPAR γ , and its In Vivo Knockdown Prevents Progression of Diabetic Nephropathy [J]. Scientific Reports, 2016, (10): 26072.
- [2] Jiang ZH, Tang YZ, Song HN, et al. miRNA - 342 suppresses renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy by targeting SOX6 [J]. Int J Mol Med. , 2020, 45(1): 45 - 52.
- [3] Liu Y, Bi X, Xiong J, et al. MicroRNA - 34a Promotes Renal Fibrosis by Downregulation of Klotho in Tubular Epithelial Cells [J]. Mol Ther. , 2019, 27(5): 1051 - 1065.
- [4] Chen B. The miRNA - 184 drives renal fibrosis by targeting HIF1AN in vitro and in vivo [J]. Int Urol Nephrol. , 2019, 51(3): 543 - 550.
- [5] Conserva F, Barozzino M, Pesce F, et al. Urinary miRNA - 27b - 3p and miRNA - 1228 - 3p correlate with the progression of Kidney Fibrosis in Diabetic Nephropathy [J]. Sci Rep. , 2019, 9(1): 11357.
- [6] 杨钢, 郭爽, 黎锦. 等. miR - 27 调整 SOD2 对乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(13): 1597 - 1602.
- [7] Qiao B, He BX, Cai JH, et al. MicroRNA - 27a - 3p Modulates the Wnt/ β - Catenin Signaling Pathway to Promote Epithelial - Mesenchymal Transition in Oral Squamous Carcinoma Stem Cells by Targeting SFRP1 [J]. Sci Rep. , 2017, 20(7): 44688.
- [8] Wu F, Li J, Guo N, et al. MiR - 27a promotes the proliferation and invasion of human gastric cancer MGC803 cells by targeting SFRP1 via Wnt/ β - catenin signaling pathway [J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(3): 405 - 416.
- [9] Hou XY, Tian J, Geng J, et al. MicroRNA - 27a promotes renal tubulointerstitial fibrosis via suppressing PPAR γ pathway in diabetic nephropathy [J]. Oncotarget, 2016, 7(30): 47760 - 47774.
- [10] Kong LY, Xue M, Zhang QC, et al. In vivo and in vitro effects of microRNA - 27a on proliferation, migration and invasion of breast cancer cells through targeting of SFRP1 gene via Wnt/ β - catenin signaling pathway [J]. Oncotarget, 2017, 28(9): 15507 - 15519.
- [11] 田平平, 刘忠强, 孔静, 等. DNA 甲基转移酶及分泌型卷曲相关蛋白 1 在糖尿病肾脏疾病大鼠肾组织中的表达研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2018, 26(07): 594 - 598.
- [12] 孔静, 田平平, 李圆圆, 等. WNT4 及其抑制因子 SFRP1 在糖尿病肾病大鼠肾组织中的表达 [J]. 基础医学与临床, 2018, 38(02): 194 - 199.
- [13] Fridrichova I, Zmetakova I. MicroRNAs Contribute to Breast Cancer Invasiveness [J]. Cells. 2019, 8(11): 1361.
- [14] Ba S, Xuan Y, Long ZW, et al. MicroRNA - 27a Promotes the Proliferation and Invasiveness of Colon Cancer Cells by Targeting SFRP1 through the Wnt/ β - Catenin Signaling Pathway [J]. Cellular physiology and biochemistry, 2017, 42(5): 1920 - 1933.
- [15] Wang L, Gao J, Zhang Y, et al. Silencing miRNA 1297 suppresses the invasion and migration of prostate cancer cells via targeting modulation of PTEN and blocking of the AKT/ERK pathway [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2021, 22(1): 1 - 9.

(责任编辑: 刘培培)

1990 - 2017 年中国人群炎症性肠病发病率及患病率变化趋势

张建华¹, 金怀亮², 田玉慧¹

(1. 新乡医学院三全学院健康管理学院, 河南 新乡, 453003; 2. 商水县人民医院肿瘤科, 河南 商水, 466100)

摘要: **目的** 分析 1990 - 2017 年炎症性肠病 (IBD) 在我国的发病和患病情况及其变化趋势。**方法** 使用 2017 年全球疾病负担研究的结果, 采用发病人数和发病率来评估发病水平, 采用患病人数和患病率来评估患病水平, 并按照性别和年龄分组来评价不同人群的发病和患病现状, 以及分析 1990 - 2017 年以来的变化趋势。**结果** 与 1990 年相比, 2017 年我国 IBD 的发病人数 (率) 和患病人数 (率) 都呈现上升趋势。1990 - 2017 年我国 IBD 的发病率及患病率均为女性高于男性, 且在性别构成中, 男性的发病人数构成为下降趋势, 女性为上升趋势; 我国 IBD 的发病率及患病率均为 50 ~ 岁年龄组最高, 5 ~ 岁年龄组最低, 在年龄构成中, 5 ~ 岁年龄组和 15 ~ 岁年龄组的发病和患病人数构成均呈现缓慢下降趋势, 而 50 ~ 岁年龄组和 ≥ 70 岁年龄组构成均呈现缓慢上升趋势。**结论** 1990 - 2017 年我国 IBD 的发病率和患病率均明显升高, 其在性别、年龄方面均存在差异, 需要加强基于人群的 IBD 流行病学研究。

关键词: 炎症性肠病; 发病率; 患病率

中图分类号: R574

Temporal trends in the incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the population of China from 1990 to 2017

ZHANG Jian-hua¹, JIN Huai-liang², TIAN Yu-hui¹

(1. School of Health Management, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453000; 2. Department of Oncology, Shangshui People's Hospital, Zhoukou, Henan 466100)

Abstract: **Objective** To analyze the incidence and prevalence of inflammatory bowel disease (IBD) in China from 1990 to 2017 and the changing trend. **Methods** Based on the results of the 2017 Global Burden of Disease Study, the incident number and incident rate of patients were used to assess the incidence; the prevalent number and prevalent rate were used to assess the prevalence; the incidence and prevalence of different population and changing trend from 1990 - 2017 were assessed. **Results**

The incident and prevalent number of patients with IBD in 2017 showed an upward trend compared with 1990. From 1990 to 2017, the incidence and prevalence of IBD in women were both higher than that in men; the incident number of male showed a downward trend, female an upward trend; the incidence and prevalence of IBD in China were highest in the 50-year-old age group and lowest in the 5-year-old age group; the incidence and prevalence of patients in the 5-year-old age group and the 15-year-old age group all showed a slow downward trend, while the 50-year-old age group and the age group ≥ 70 years old showed a slow upward trend. **Conclusion** From 1990 to 2017, the incidence and prevalence of IBD in China have increased significantly, and there are differences in gender and age. It is necessary to strengthen the population-based epidemiological study of IBD.

Key words: inflammatory bowel disease; incidence; prevalence

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种以非感染性慢性炎症为特征的胃肠道疾病, 主要包括克罗恩氏病 (可影响从口腔到肛门的胃肠道的任何部分), 溃疡性结肠炎 (仅限于结肠黏膜) 和不确定性结肠炎^[1-2]。与克罗恩氏病相比, 溃疡性结肠炎直肠出血的发生频率更高, 但克罗恩氏病患者通常会出现体重减轻和肛周疾病^[3]。从基于人群的研究得出的最新结果表明, 高收入地区 (例如欧洲, 北美和大洋洲) 的 IBD 流行率很高^[4]。此外, 最近在新兴工业化国家中, 据报道发病率也在迅速增加, 但在我国尚无此类大规模的人群流行病学研

究。因此, 本研究利用 GBD 2017 的数据, 分析了 1990 年至 2017 年中国人群 IBD 的发病率和患病率情况及其变化趋势, 以期为我国 IBD 的防控和管理提供参考。

1 资料与方法

资料来源: 本研究使用的数据均来源于 2017 年全球疾病负担研究 (GBD2017) (具体数据来源可查询网址 <http://ghdx.healthdata.org/geography/china>)。GBD 是迄今为止评估全球疾病、伤害和危险因素负担的最全面和系统的工作, GBD2017 采用了

收稿日期: 2021 - 03 - 11

基金项目: 新乡医学院三全学院 2019 年度教学改革项目 (编号: 201927)。

作者简介: 张建华, 男, 硕士, 助教, 研究方向: 流行病学与医学统计学, E-mail: 373024118@qq.com。

基于贝叶斯的偏回归 DisMod - MR 2.1 模型对 1990 - 2017 年间 195 个国家和地区的 359 种疾病和伤害, 282 个死亡原因和 84 种行为、环境、职业和代谢风险因素进行了详细的汇总, 具体方法见文献 [5, 6]。本研究中采用 ICD - 10 的国际标准对 IBD 进行分类, 克罗恩氏病为 K50, 溃疡性结肠炎为 K51, 不确定性结肠炎为 K52。我们将收集到的发病和患病数据按照年龄 (5 ~ , 15 ~ , 50 ~ , ≥ 70 岁) 和性别进行分组, 分析 1990 - 2017 年 IBD 的发病率和患病率及其变化趋势。采用 Excel2016 软件进行数据录入, 应用 R3.4.1 软件包对数据进行描述性分析并作图。

2 结果

2.1 IBD 发病患病情况

从 1990 到 2017 年我国 IBD 发病人数从 65.4 万增长至 103.5 万, 增幅 58.36%; 患病人数从 104.8 万增长至 266.5 万, 增幅 154.30%; 标化发病率从 55.69/10 万增长至 60.37/10 万, 增幅 8.40%; 标化患病率从 101.27/10 万增长至 136.25/10 万, 增幅 34.54% (表 1)。

表 1 1990 年与 2017 年我国炎症性肠病发病与患病情况

指标	1990	2017	变化率 (%)
发病			
人数	653684	1035161	58.36
粗率 (/10 万)	54.61	73.29	34.21
标化率 (/10 万)	55.69	60.37	8.40
患病			
人数	1047992	2665081	154.30
粗率 (/10 万)	87.55	188.68	115.51
标化率 (/10 万)	101.27	136.25	34.54

2.2 IBD 发病率及患病率变化趋势

从 1990 年起, 我国 IBD 的粗发病率一直呈现缓慢上升趋势, 2012 年后上升速度加快; 标化发病率先是呈现缓慢下降趋势 (1990 - 2012), 2012 年后逐渐上升。从 1990 年起, 我国 IBD 的粗患病率一直呈现上升趋势, 且在 2005 年后上升速度加快; 标化患病率先是趋于平缓 (1990 - 2004), 2005 年后逐渐上升, 而 2012 年后又趋于平缓 (图 1)。

2.3 不同性别人群的 IBD 发病率及患病率变化趋势

1990 - 2017 年, 男性和女性的粗发病率均呈现一直上升的趋势, 而标化发病率均呈现先缓慢下降, 再逐渐上升的趋势; 男性和女性的粗患病率也一直

呈现上升趋势, 而标化患病率均呈现先平缓再逐渐上升又趋于平缓的趋势。从 1990 到 2017 年间, 女性的发病率和患病率均高于男性 (图 2)。

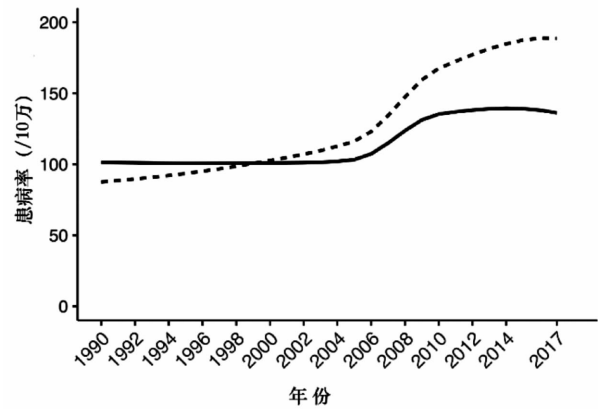
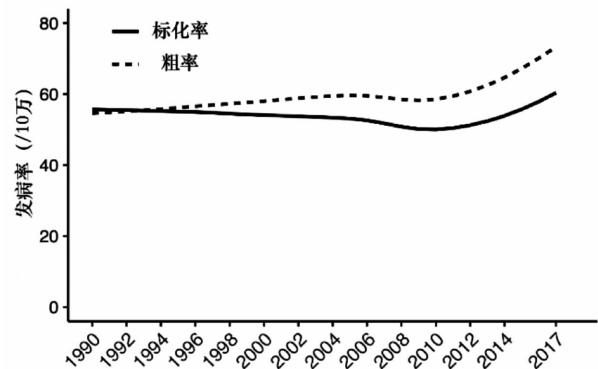


图 1 1990 - 2017 年中国炎症性肠病发病率和死亡率变化趋势

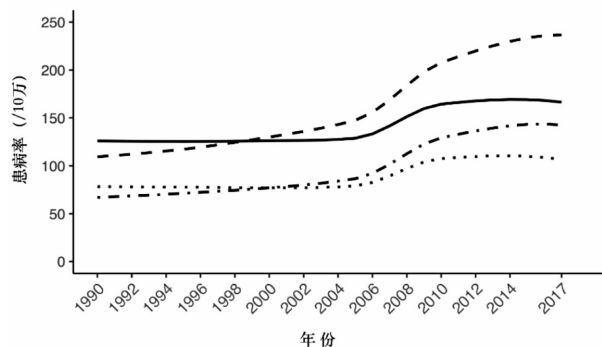
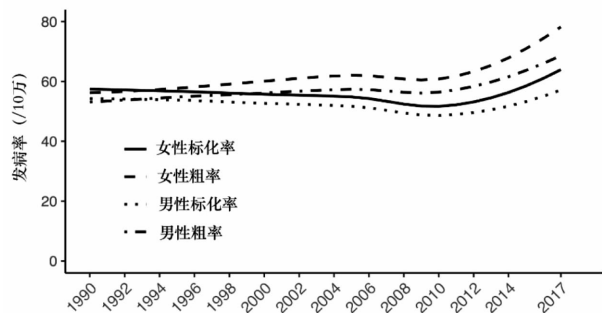


图 2 1990 - 2017 年中国炎症性肠病分性别发病率和死亡率变化趋势

2.4 不同年龄组人群的 IBD 发病率及患病率变化趋势

1990-2017年我国 IBD 的发病率及患病率均为 50~岁年龄组最高,5~岁年龄组最低。50~岁年龄组和 15~岁年龄组人群发病率均呈现先平缓再逐渐上升的趋势,而≥70岁年龄组人群发病率呈现先平缓再下降又上升的趋势;50~岁年龄组和≥70岁年龄组人群的患病率均呈现先平缓后上升又平缓的趋势,15~岁年龄组人群的患病率呈现先缓慢下降后上升又平缓的趋势;而 5~岁年龄组人群的发病率与患病率均保持稳定(图 3)。

2.5 不同性别、年龄组人群的 IBD 发病和患病人数构成分布

在性别构成中,男性的发病人数构成为下降趋势,女性为上升趋势;而男性和女性的患病人数构成趋于稳定,男女比例为 2:3。在年龄组构成中,15~岁年龄组发病人数所占构成比最大,然后是 50~岁年龄组和 5~岁年龄组,≥70岁年龄组最小;15~岁年龄组和 50~岁年龄组患病人数所占构成比较大,其次是≥70岁年龄组,5~岁年龄组最小。随着时间的变化,5~岁年龄组和 15~岁年龄组的发病和患病人数构成均呈现缓慢下降趋势,而 50~岁年龄组和≥70岁年龄组构成均呈现缓慢上升趋势(表 2)。

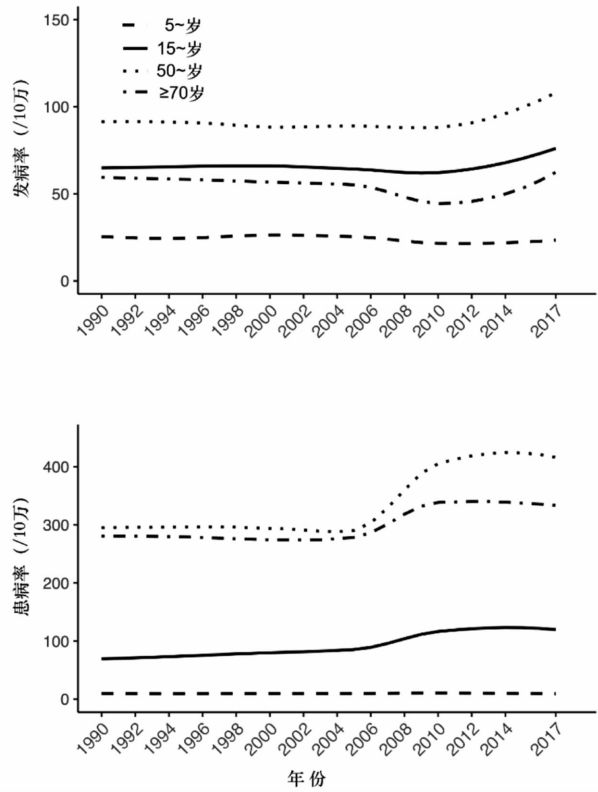


图 3 1990-2017年中国不同年龄组炎症性肠病发病率和死亡率变化趋势

表 2 1990-2017年分年龄、性别的炎症性肠病发病人数与患病人数构成(%)

指标	1990年	1992年	1994年	1996年	1998年	2000年	2002年	2004年	2006年	2008年	2010年	2012年	2014年	2017年
发病率														
年龄组														
5~	8.1	7.9	8.0	8.1	8.2	7.9	7.0	6.0	5.3	4.6	4.1	3.8	3.6	3.3
15~	66.7	66.8	66.6	66.3	65.9	65.5	65.1	64.2	63.2	62.6	62.2	61.0	58.7	54.8
50~	21.7	21.7	21.6	21.7	21.8	22.4	23.5	25.2	26.8	28.3	29.3	30.6	32.8	36.0
>70	3.5	3.6	3.8	3.9	4.1	4.2	4.4	4.6	4.7	4.5	4.4	4.6	4.9	5.9
性别														
男	50.2	50.3	50.4	50.3	50.1	49.9	49.6	49.4	49.4	49.4	49.3	49.1	48.7	47.8
女	49.8	49.7	49.6	49.7	49.9	50.1	50.4	50.6	50.6	50.6	50.7	50.9	51.3	52.2
患病率														
年龄组														
5~	1.9	1.8	1.8	1.8	1.7	1.6	1.4	1.2	1.0	0.8	0.7	0.6	0.6	0.5
15~	44.3	44.6	45.0	45.0	45.1	44.7	44.4	43.8	42.7	41.5	40.6	39.4	37.2	33.4
50~	43.5	43.0	42.3	42.1	41.9	42.2	42.5	43.0	44.3	45.8	47.1	48.4	50.6	53.8
>70	10.3	10.6	10.9	11.1	11.3	11.5	11.7	12.0	12.0	11.9	11.7	11.6	11.6	12.3
性别														
男	39.5	39.5	39.5	39.3	39.0	38.7	38.3	38.4	38.4	39.2	39.5	39.4	39.2	38.6
女	60.5	60.5	60.5	60.7	61.0	61.3	61.7	61.6	61.6	60.8	60.5	60.6	60.8	61.4

3 讨论

炎症性肠病目前处于全球扩张状态,其患病率在过去三十年间增加了约三分之一。GBD2017的

结果显示以前患病率较低的地区(包括东亚和南亚,大洋洲和撒哈拉以南非洲),IBD的年龄标化患病率均有所增加^[7-8]。本研究发现,与1990年相比,我国2017年IBD的标化发病率与标化患病率均

明显增加,且标化发病率从2012年后上升速度加快,而标化患病率由2005年后开始明显上升,于2012年后逐渐稳定。从性别看,发病率和患病率上升主要是因女性患者增加。中国疾病预防控制中心统计显示,中国2005-2014年间IBD的总病例数约为35万,预计到2025年IBD患者将达到150万例^[9],这与我们的研究结果相一致。IBD发病率的增加可能与我国社会经济状况的改善、饮食变化和其他生活方式的改变、卫生条件的改善、微生物群的变化以及环境因素有关^[10-11]。结果提示IBD已经成为我国的常见病和多发病,应该加强对IBD的防控和研究力度。

本研究结果显示,从1990-2017年,我国女性IBD的发病率和患病率均高于男性,且随着年份的增加有上升的趋势。既往研究发现西方国家女性IBD发病率多高于男性,而东亚IBD统计数据结果显示男性IBD发病率均高于女性^[12],与我们的研究结果不一致,可能的原因是地域差异,及样本的代表性问题。而不同性别间发病率的差异,这可能与男女之间自身的生物学差异有关,最近的研究表明性激素可能影响炎症性肠病发病机制和上皮屏障功能,且炎症性肠病的一些遗传易感性位点已被证明只存在于X染色体上^[13]。此外,一些研究指出激素对脑-肠道-菌群轴的影响是IBD预后中性别差异的原因,但这种复杂病理生理学的机制仍未完全了解^[14]。

本研究结果显示,我国IBD的发病率及患病率均为50~岁年龄组最高。研究表明西方国家IBD一般有两个发病高峰,分别为20-39岁和60-70岁,而亚洲国家IBD第二高峰少见,多为50-60岁^[15],这与我们的研究结果相一致。此外,除5~岁年龄组外,近年来各年龄组的发病率与患病率均有上升的趋势,且15~岁年龄组发病人数所占构成比最大,这表明IBD的发病可能有年轻化的趋势,提示我国应该提高对基于人群的IBD流行病学研究的重视。

IBD的自然病程、低死亡率以及高生存率都会导致该病的患病率增加,再加上人口老龄化的程度进一步加重,预计将来患病率将继续增加,这将对我国健康和经济产生重要影响。我们的发现可能指导健康相关政策的制定者更好地利用和分配资源,从而能够应对越来越多的IBD患者。

参考文献:

- [1] Sairenji T, Collins K L, Evans D V. An Update on Inflammatory Bowel Disease[J]. Primary care, 2017, 44(4): 673-692.
- [2] Baumgart D C, Carding S R. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology[J]. The Lancet, 2007, 369(9573): 1627-1640.
- [3] Yang S K. How does the epidemiology of inflammatory bowel disease differ between East and West? A Korean perspective[J]. Inflammatory intestinal diseases, 2017, 2(2): 95-101.
- [4] Ng S C, Shi H Y, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies[J]. The Lancet, 2017, 390(10114): 2769-2778.
- [5] Alatab S, Sepanlou S G, Ikuta K, et al. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2020, 5(1): 17-30.
- [6] Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, et al. Inflammatory bowel disease: estimates from the global burden of disease 2017 study[J]. Alimentary pharmacology & therapeutics, 2020, 51(2): 261-270.
- [7] Mathers C D, Stevens G A, Boerma T, et al. Causes of international increases in older age life expectancy[J]. The Lancet, 2015, 385(9967): 540-548.
- [8] Katz S, Pardi D S. Inflammatory bowel disease of the elderly: frequently asked questions (FAQs)[J]. American Journal of Gastroenterology, 2011, 106(11): 1889-1897.
- [9] 何琼,李建栋. 炎症性肠病流行病学研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(18): 2962-2966.
- [10] Kaplan G G. The global burden of IBD: from 2015 to 2025[J]. Nature reviews Gastroenterology & hepatology, 2015, 12(12): 720-727.
- [11] Frolkis A D, Dykeman J, Negrón M E, et al. Risk of surgery for inflammatory bowel diseases has decreased over time: a systematic review and meta-analysis of population-based studies[J]. Gastroenterology, 2013, 145(5): 996-1006.
- [12] Wang Y, Ouyang Q, APDW 2004 Chinese IBD Working Group. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients[J]. Journal of gastroenterology and hepatology, 2007, 22(9): 1450-1455.
- [13] Shah S C, Khalili H, Gower-Rousseau C, et al. Sex-based differences in incidence of inflammatory bowel diseases—pooled analysis of population-based studies from Western Countries[J]. Gastroenterology, 2018, 155(4): 1079-1089. e3.
- [14] Lee J C, Biasci D, Roberts R, et al. Genome-wide association study identifies distinct genetic contributions to prognosis and susceptibility in Crohn's disease[J]. Nature genetics, 2017, 49(2): 262.
- [15] 王玉芳,欧阳钦,胡仁伟,等. 炎症性肠病流行病学研究进展[J]. 胃肠病学, 2013, 18(1): 48-51.

(责任编辑:陈圆圆)

基于网络药理学探讨金银花治疗结肠癌活性成分及作用机制

周清安^{1,2}, 王献红³, 祝希泉⁴, 衣志爽¹, 杨凯¹, 孙允芹¹, 梁宁¹

(1. 新乡医学院三全学院临床学院, 新乡 453003; 2. 河南理工大学第一附属医院, 焦作 454000; 3. 郑州澍青医学高等专科学校, 郑州 450064; 4. 全军精神疾病防治研究所, 焦作 454003)

摘要: **目的** 利用网络药理学技术探讨金银花治疗结肠癌的活性成分及其作用机制。**方法** 从中药系统药理学分析平台(TCMSP)中筛选出金银花化学成分和作用靶点;通过基因组注释数据库(GeneCards),在线《人类孟德尔遗传》数据库(OMIM)查找结肠癌相关基因;取金银花靶点基因和结肠癌相关基因的交集,即得 Venn 图;绘制 Cytoscape 金银花治疗结肠癌的可视化药理学网络图;在 STRING 平台构建金银花靶点基因和结肠癌相关基因相互作用(PPI)网络;进行 Gene Ontology(GO)分析,利用 KEGG 数据库对核心靶点进行相关通路富集。**结果** 选择口服利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18 作为金银花有效成分的筛选条件,共筛选出 23 个活性成分和 449 个作用靶点;结肠癌的相关基因 13883 个;到药物-疾病共同靶点 175 个,关键靶点涉及 PTGS1、PTGS2、NCOA2、PYGM、GABRA1、ESR1、AKT1、VEGFA、BCL2、CASP9、MMP2、JUN 等。GO 分析共包含 172 条富集结果($P < 0.01$),主要涉及核受体活性、转录因子活性、直接配体调节序列特异性 DNA 结合、类固醇激素受体活性、细胞因子受体结合、细胞因子活性等。KEGG 相关通路富集,筛选出 154 条通路($P < 0.01$),主要涉及糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、血流剪切应力与动脉粥样硬化、前列腺癌、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、乙型肝炎等。**结论** 金银花中的活性化合物 Mandenol(亚油酸乙酯)、Ethyl linolenate(亚麻酸乙酯)、phytofluene(15-顺式-八氢番茄红素)等能作用于 PTGS1、PTGS2、NCOA2 等靶点调节多条信号通路治疗结肠癌。揭示金银花多成分、多靶点、多途径治疗结肠癌,可为后续靶向药物研发提供支持。

关键词: 金银花;结肠癌;网络药理学

中图分类号:R285

Active ingredients and mechanism of Lonicerae Japonicae Flos in the treatment of colon cancer based on network pharmacology

ZHOU Qing-an^{1,2}, WANG Xian-hong³, ZHU Xi-quan⁴, YI Zhi-shuang¹, YANG Kai¹, SUN Yun-qin¹, NIANG Ning¹

(1. Clinical School, Sanquan college of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. The First Affiliated Hospital of Henan Polytechnic University, Jiaozuo, Henan 454000; 3. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou, Henan 450064; 4. The Mental Diseases Prevention and Treatment Center of the Chinese PLA, Jiaozuo, Henan 454003)

Abstract: **Objective** To explore the active ingredients and mechanism of Lonicerae Japonicae Flos in the treatment of colon cancer by network pharmacology. **Methods** The chemical constituents and targets of Lonicerae Japonicae Flos were screened from the TCM systematic pharmacology analysis platform (TCMSP). The genome Annotation Database (GeneCards) and the online Human Mendelian Inheritance database (OMIM) were used to search for colon cancer related genes. The intersection of Lonicerae Japonicae Flos target gene and colon-cancer related gene was taken to obtain the Venn diagram to draw the visual pharmacologic network diagram of Cytoscape Lonicerae Japonicae Flos for colon cancer treatment; a network of interaction between Lonicerae Japonicae Flos target genes and colon cancer related genes (PPI) was constructed on the STRING platform. The Gene Ontology (GO) analysis was carried out, and the core targets were enriched with related pathways using KEGG database.

Results A total of 23 active ingredients and 449 targets were selected as the screening conditions for the effective ingredients of Lonicerae Japonicae Flos with oral availability (OB) ≥ 30% and druidness (DL) ≥ 0.18. There were 13,883 genes related to colon cancer, 175 common drug-disease targets, the key targets involved PTGS1, PTGS2, NCOA2, PYGM, GABRA1, ESR1, AKT1, VEGFA, BCL2, CASP9, MMP2, JUN, etc. GO analysis included 172 enrichment results ($P < 0.01$), mainly involving nuclear receptor activity, transcription factor activity, direct ligand regulation sequence-specific DNA binding, steroid hormone receptor activity, cytokine receptor binding, cytokine activity, etc. The KEGG related pathways were enriched, and 154 pathways

收稿日期:2020-05-04

基金项目:军区后勤科研计划项目-金银花抗结肠癌活性成分的研究(No. JN13W027);新乡医学院三全学院应用型课题项目-慢病防治研究(No. XJKT201923)。

作者简介:周清安,男,博士,教授,硕士生导师,研究方向:慢病防治的基础与临床研究, E-mail:13782863582@189.cn。

were selected ($P < 0.01$), mainly involving age-RAGE signaling pathway of diabetic complications, blood flow shear stress and atherosclerosis, prostate cancer, herpes virus infection associated with Kaposi's sarcoma, hepatitis B, etc. **Conclusion** The active compounds Mandenol, Ethyl linolenate and phytofluene in *Lonicerae Japonicae* Flos can act on PTGS1, PTGS2 and NCOA2 in the treatment of colon cancer. The discovery of *Lonicerae Japonicae* Flos' multi-ingredient, multi-target and multi-pathway treatment for colon cancer can provide support for the subsequent research and development of targeted drugs.

Key words: *Lonicerae Japonicae* Flos; colon cancer; network pharmacology

结肠癌死亡率位居发达国家恶性肿瘤死亡率第2位^[1]。Eilstein等^[2]预计,每个活到70岁以上的人均有30%的概率患结肠肿瘤,每个人一生中有3.6%的机会患结肠癌。2015年中国癌症统计显示,我国结直肠癌发病率和死亡率均居全部恶性肿瘤中第5位,新发37.6万例,死亡19.1万例。结肠癌治疗以手术、放疗及化疗为主。同时,药理学研究表明中医药是综合治疗结肠癌的重要手段之一^[3]。金银花防治肿瘤具有巨大的潜能与前景^[4]。本文运用网络药理学,通过网络数据库及计算机计算,构建“药物-成分-靶点-疾病”网络,探讨金银花的活性成分及其主要作用靶点与结肠癌的相关性,从系统生物学角度阐述金银花抗结肠癌的作用机制。对金银花中抑制结肠癌发生发展的主要成分、作用靶点以及信号通路进行筛选和分析,可为进一步研究金银花抗结肠癌提供新的思路和线索。

1 数据来源及检索方法

1.1 金银花化学成分收集与筛选

运用中药系统药理学数据库及分析平台(TCM-SP)(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)查找金银花的成分。以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 为标准,筛选出金银花候选成分,保存为 ingredients.txt 文件中。

1.2 金银花所筛选成分的对应靶点

运用TCMSP数据库查找金银花的作用靶点。数据库里面该药所有成分对应的全部靶点之中再滤出候选成分所对应的靶点,保存为 targetName.txt 文件中。

1.3 结肠癌病理相关基因的筛选

通过 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)和 OMIM(<http://www.omim.org/>)数据库筛选出结肠癌相关基因,保存为 disease.txt 文件中。

1.4 金银花的靶基因和结肠癌的相关基因取交集,绘制 Venn 图

下载安装 R 软件,安装 Venn Diagram 包,金银花的靶基因(drug.txt)和结肠癌的相关基因(disease.txt)取交集,得到 Venn.tiff 图,并为 Cytoscape 网络药理学可视化准备 Drug_Disease.txt 文件。

1.5 金银花的网络药理学可视化处理

下载安装 Jre-8u211 软件(<https://java.com/en/download/manual.jsp>)和 Cytoscape3.7.1(<https://cytoscape.org/>)导入文件点击运行,绘制 Cytoscape 金银花治疗结肠癌的可视化药理学网络图。

1.6 金银花靶蛋白和结肠癌相关基因相互作用(PPI)网络构建

在 STRING 平台输入交集基因,物种为“Homo sapiens(人类)”,最低相互作用阈值设为中等置信度 0.4“medium confidence”,其余参数保持默认设置,构建 PPI 网络。

1.7 PPI 网络核心基因查找及可视化

运用 count.R 脚本运行 string_interactions.tsv 文件,对 PPI 网络连接节点进行计数,查找 PPI 网络中前 30 个关键靶蛋白,得到 count.xls 和 barplot.tiff 柱状图。

1.8 GO (gene ontology) 生物过程富集和 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 信号通路富集分析(KEGG pathway analysis)

安装 Bioconductor 的 org.Hs.eg.db 包,运行 symbol2id.R 脚本,Drug_Disease.txt 生成 id.txt,得到交集基因 id;安装 Bioconductor 的 DOSE、clusterProfiler 和 pathview 包,运行 clusterProfilerGO.R,得到金银花治疗结肠癌的生物过程的 barplot.tiff、dotplot.tiff 和 GO.xls。

进行 KEGG 信号通路富集分析,与 GO 分析相似,运行 clusterProfilerKEGG.R 脚本,得到 barplot.tiff、dotplot.tiff 和 KEGG.xls,分析金银花治疗结肠癌作用靶点的主要信号通路。

2 结果

2.1 金银花主要活性成分筛选

运用TCMSP数据库查找金银花的成分,共得到236种化学成分。进一步通过OB $\geq 30\%$ 及 DL ≥ 0.18 条件筛选,得到23个ADME性质较好的化合物进行后续研究,见表1。

2.2 构建活性成分对应结肠癌疾病相关靶标网络图

运用TCMSP数据库查找金银花的靶点1647

个,进一步筛选出主要活性成分对应的 449 个靶点。基因分别是 13755 个和 128 个。经过处理发现,金通过 GeneCards 和 OMIM 数据库筛选出结肠癌相关 金银花和结肠癌交集基因 175 个,见图 1。

表 1 金银花主要活性物质参数

Mol ID	Molecule Name	MW	OB(%)	DL
MOL001494	Mandenol	308.56	42	0.19
MOL001495	Ethyl linolenate	306.54	46.1	0.2
MOL002707	phytofluene	543.02	43.18	0.5
MOL002914	Eriodyctiol (flavanone)	288.27	41.35	0.24
MOL003006	(-)-(3R,8S,9R,9aS,10aS)-9-ethenyl-8-(beta-D-glucopyranosyloxy)-2,3,9,9a,10,10a-hexahydro-5-oxo-5H,8H-pyrano[4,3-d]oxazolo[3,2-a]pyridine-3-carboxylic acid_qt	281.29	87.47	0.23
MOL003014	secologanicdibutylacetal_qt	384.57	53.65	0.29
MOL002773	beta-carotene	536.96	37.18	0.58
MOL003036	ZINC03978781	412.77	43.83	0.76
MOL003044	Chryseriol	300.28	35.85	0.27
MOL003059	kryptoxanthin	552.96	47.25	0.57
MOL003062	4,5'-Retro-.beta.-, .beta.-Carotene-3,3'-dione,4',5'-didehydro-	562.9	31.22	0.55
MOL003095	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone	358.37	51.96	0.41
MOL003101	7-epi-Vogeloside	432.47	46.13	0.58
MOL003108	Caeruloside C	550.57	55.64	0.73
MOL003111	Centaurosides_qt	434.48	55.79	0.5
MOL003117	IoniceracetalidesB_qt	314.37	61.19	0.19
MOL003124	XYLOSTOSIDINE	415.51	43.17	0.64
MOL003128	dinethylsecologanoside	434.44	48.46	0.48
MOL000358	beta-sitosterol	414.79	36.91	0.75
MOL000422	kaempferol	286.25	41.88	0.24
MOL000449	Stigmasterol	412.77	43.83	0.76
MOL000006	luteolin	286.25	36.16	0.25
MOL000098	quercetin	302.25	46.43	0.28

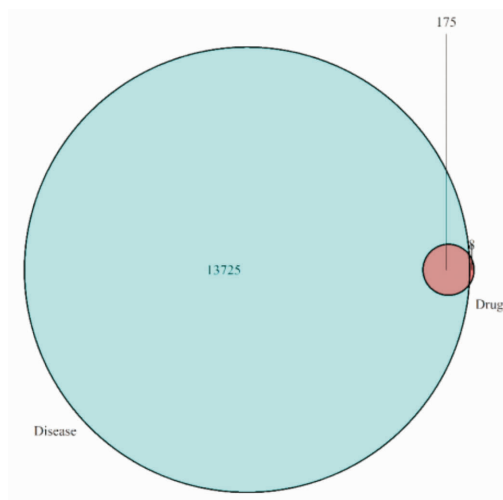


图 1 金银花与结肠癌靶点韦恩图

2.3 金银花的网络药理学可视化处理

Cytoscape 绘制金银花治疗结肠癌的可视化药物-成分-靶点-疾病相互作用的网络图。见图 2。

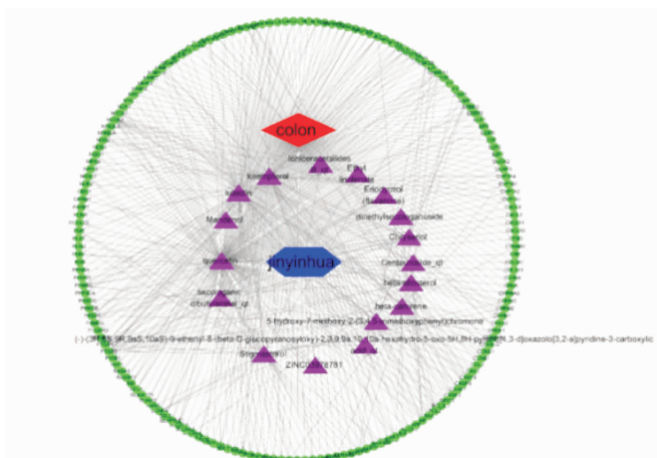


图 2 药物-成分-靶点-疾病相互作用的网络

2.4 金银花靶蛋白和结肠癌相关基因相互作用 (PPI) 网络构建和核心基因查找并可视化

PPI 网络中前 30 个核心基因柱状图,见图 3,排在前 30 的靶标为 AKT1、ALB、IL6、VEGFA、CASP3、JUN、EGFR、MAPK8、MYC、PTGS2、EGF、MAPK1、

MMP9、CXCL8、ESR1 等,见图 4。

2.5 GO 生物过程富集分析

金银花治疗结肠癌的 GO 生物过程的柱状图 barplot. tiff、点状图 dotplot. tiff 和 GO. xls,见图 5(1)和图 5(2)。175 个潜在靶点经 R 语言运行后可得

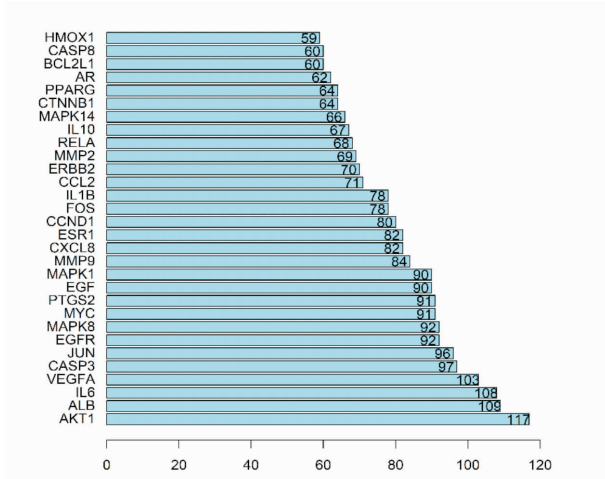


图 3 PPI 网络中前 30 个核心基因柱状图

到 GO 分析($P < 0.01$)得到 GO 条目 172 个,主要为 nuclear receptor activity、transcription factor activity、direct ligand regulated sequence – specific DNA binding、steroid hormone receptor activity、cytokine receptor binding、cytokine activity 等。

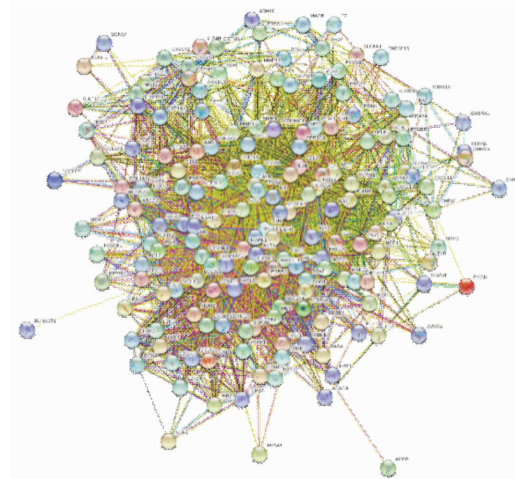


图 4 蛋白相互作用网络

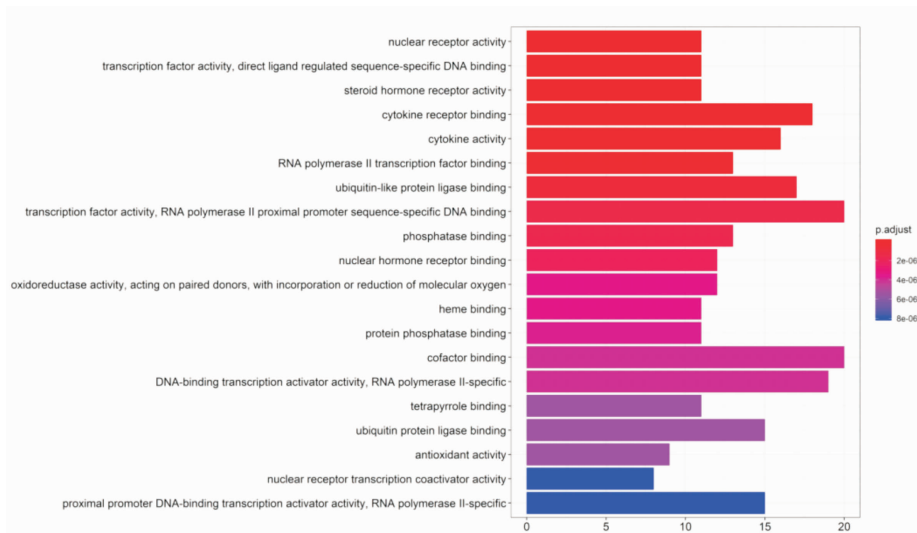


图 5 (1) 金银花治疗结肠癌的 GO 生物过程的柱状图

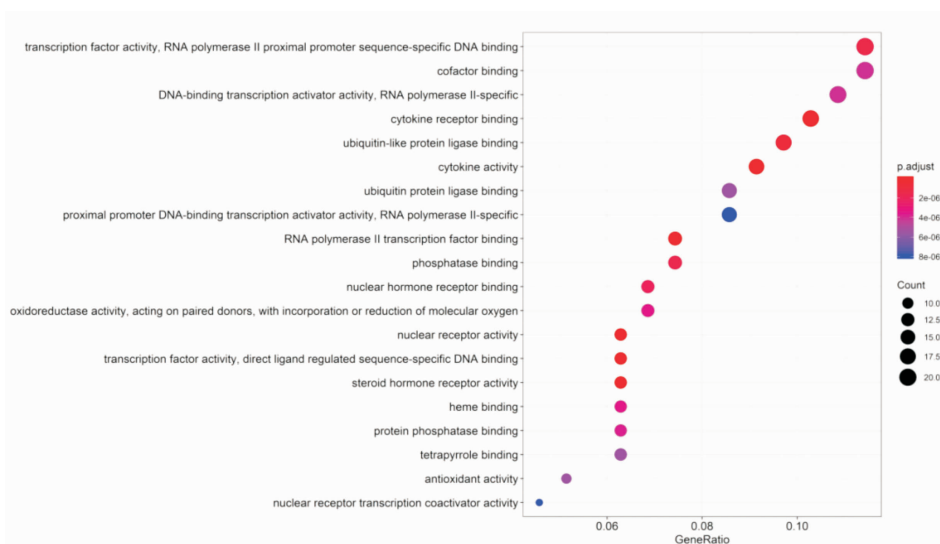


图 5 (2) 金银花治疗结肠癌的 GO 生物过程的散点图

2.6 KEGG 信号通路富集分析

金银花治疗结肠癌主要信号通路 KEGG 分析 ($P < 0.01$) 共富集于 154 条信号通路, 见图 6, 主要与 AGE - RAGE signaling pathway in diabetic compli-

cations、Fluid shear stress and atherosclerosis、Prostate cancer、Kaposi sarcoma - associated herpesvirus infection、Hepatitis B 等有着密切联系。

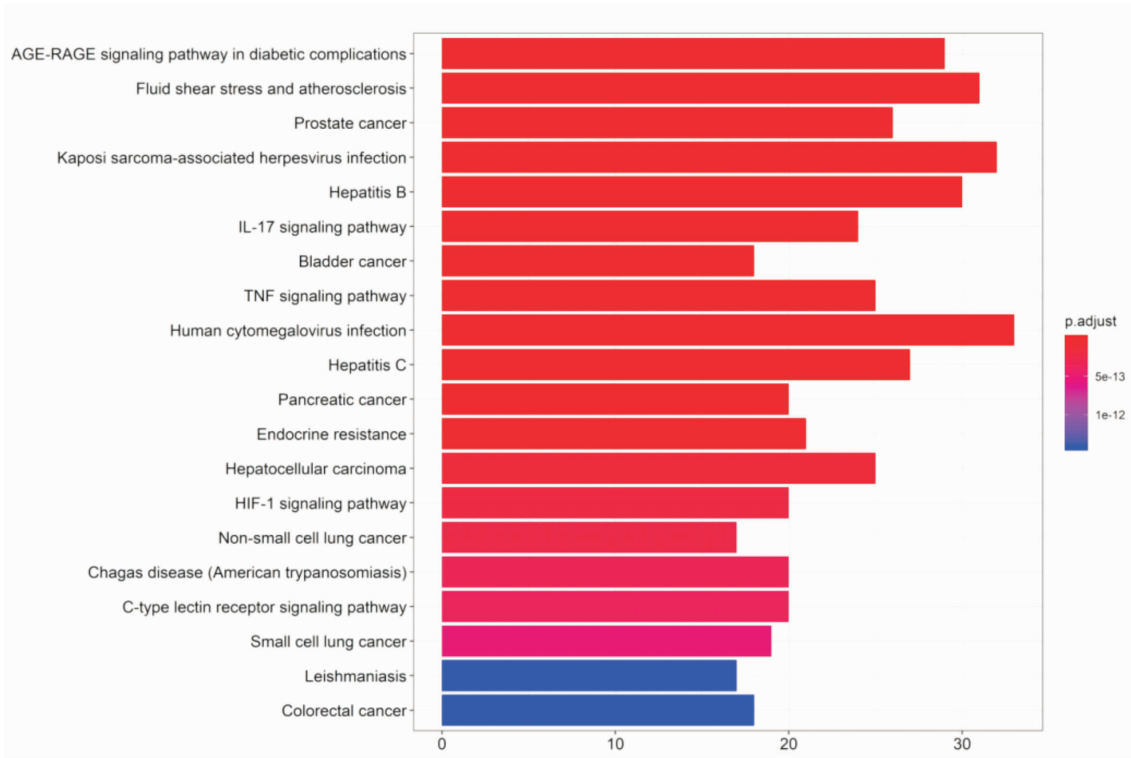


图 6(1) KEGG 信号通路富集分析柱状图

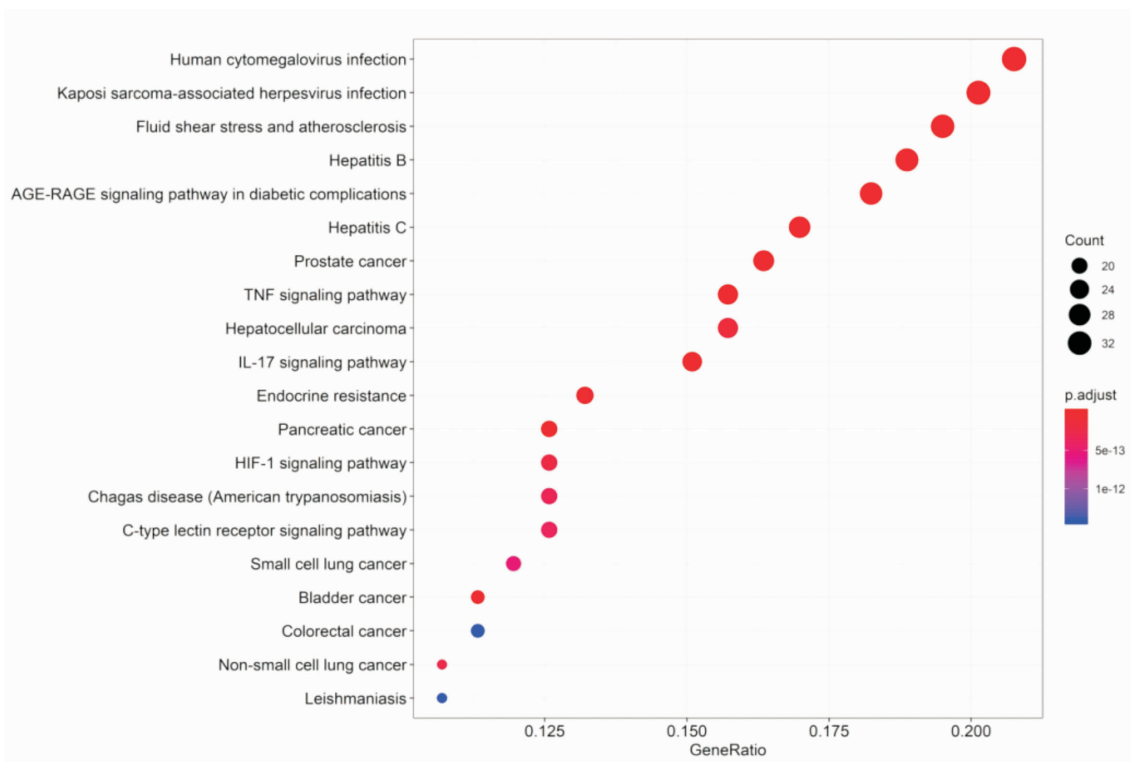


图 6(2) KEGG 信号通路富集分析散点图

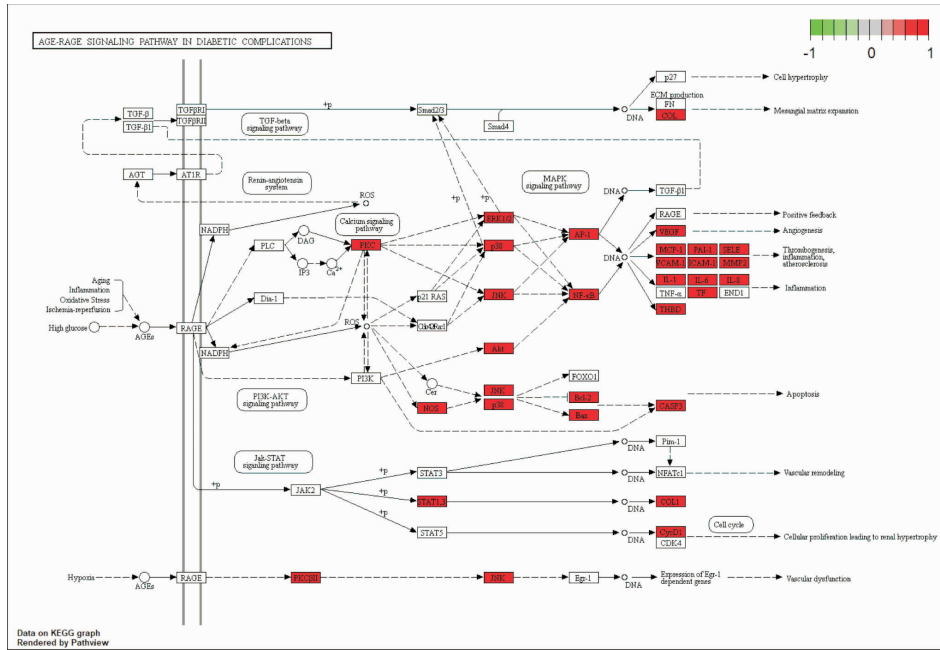


图 6(3) 糖尿病并发症 AGE - RAGE 信号通路

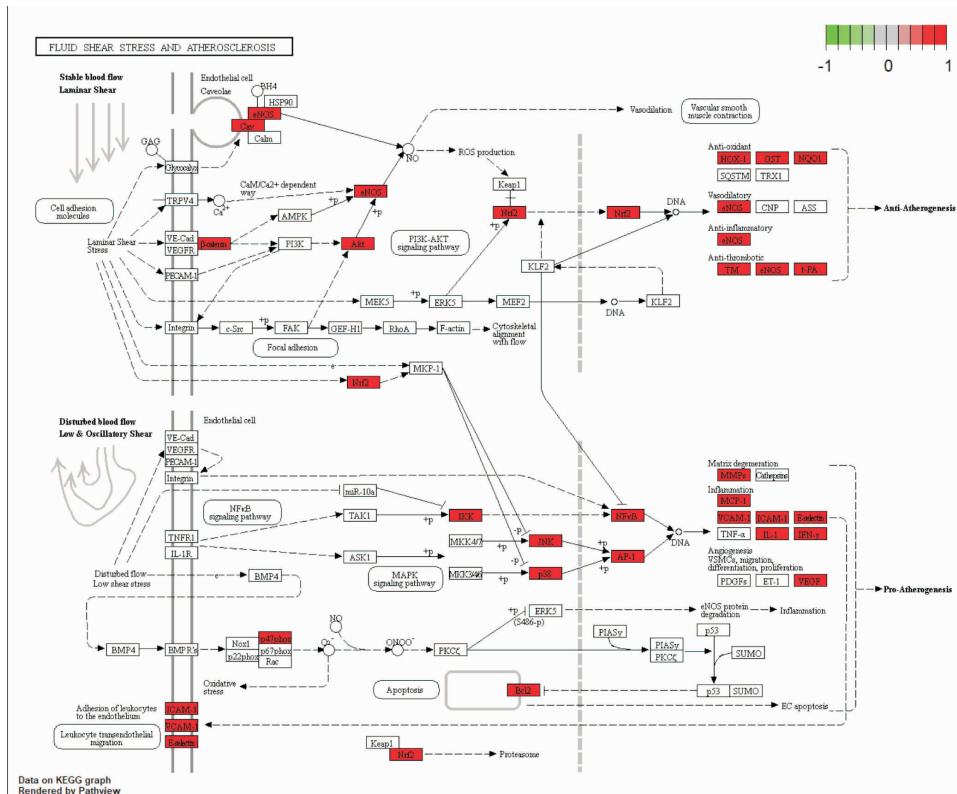


图 6(4) 血流剪切应力与动脉粥样硬化

3 讨论

中医药历史悠久,蕴藏着巨大的新药创制资源,是发展个体化医疗、发现多靶点药物的源泉^[5]。金银花有确切的抗病原微生物、抗肿瘤等效果,其药用价值高且市场前景广阔^[6]。本文揭示金银花多成分、多靶点、多途径治疗结肠癌,并筛选出金银花中包括 Mandenol(亚油酸乙酯)、Ethyl linolenate(亚麻

酸乙酯)、phytofluene(15-顺式-八氢番茄红素)等在内的 23 个主要活性成分及 PTGS1、PTGS2、NCOA2 等在内的主要靶点 449 个,结肠癌的相关基因 13 883 个,药物-疾病共同靶点 175 个,关键靶点为 PTGS1、PTGS2、NCOA2 等。

金银花木犀草苷可以通过抑制 SGLTI 的葡萄糖转运起到抗癌作用,也可以通过抑制细胞内某些激酶的活性而间接抑制肿瘤细胞增殖。木犀草苷可

使 HeLa, SW20 细胞内的磷酸化组蛋白含量降低,影响极光激酶 B 的活性,从而抑制 HeLa, SW20 的细胞增殖,起到抗肿瘤的作用^[7-8]。紫苏油的研究显示^[9], 亚麻酸、亚油酸降低结肠黏膜鸟氨酸脱羧酶活性,抑制直肠癌细胞生长。Rowles 等^[10]发现番茄和番茄制品的消费及番茄红素的循环水平与结肠癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌的风险负相关。研究认为^[11-12], β -谷甾醇被是有效的抗癌剂,对结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、胃癌、卵巢癌和白血病具备抗癌特性。槲皮素可通过增加细胞凋亡、抑制细胞周期、抑制血管生成及转移等机制发挥抗结肠癌的作用^[13]。前列腺素合成的主要限速酶 PTGS2,在肿瘤、心血管疾病、炎症中都发挥着重要的作用^[14]。在炎症和促有丝分裂刺激下诱导 PTGS2 的表达,进而参与前列腺素 E2 的表达,前列腺素 E2 则参与肿瘤细胞增殖、血管生成和侵袭等过程^[15]。临床研究已表明^[16],在大肠癌早期治疗中,选择性 PTGS2 抑制剂是具有较显著的抗肿瘤作用。

Shimomoto 等^[17]研究表明,高糖高亚油酸饮食诱导产生 AGEs 通过与 RAGE 相互作用可大幅度促进结肠癌生长。本文对金银花治疗结肠癌进行 GO 和 KEGG 富集分析,显示出中药抗肿瘤治疗疾病的整体性和系统性。GO 分析包含 172 条富集结果,主要涉及核受体活性、转录因子活性、直接配体调节序列特异性 DNA 结合、类固醇激素受体活性、细胞因子受体结合、细胞因子活性等生物过程。利用 KEGG 数据库对入选的靶标进行相关通路富集,筛选出 154 条通路,主要涉及糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、血流剪切应力与动脉粥样硬化、前列腺癌、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染等信号通路。

本文依托数据库,通过数据挖掘金银花抗结肠癌的成分和作用机制,需要在未来基础和临床实验中进一步核实;口服利用度和类药性的筛选也存在着局限,药物在人体的吸收利用不仅通过口服,还可有提取物的注射剂;在以后的新药预测和开发中还是需要重视口服利用度较低的成分,或有更广泛的潜在治疗作用^[18]。故本文仅为进一步科研及临床提供基础,仍需要不断完善。

参考文献:

[1] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world[J]. Clin Oncol, 2006, 24: 2137-2150.
[2] Eilstein D, Hedelin G, Schaffer P. Incidence of colorectal cancer in Bas-Rhin, trend and prediction in 2009 Bull[J]. Cancer, 2000, 87: 595.

[3] 张欢, 耿耘, 陈熙. 近年中医药治疗结肠癌的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2015, 34(2): 305-307.
[4] 黄艳英, 黄敏, 陆中海. 金银花炮制的实验研究[J]. 中药材, 1994, 17(1): 25-26.
[5] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
[6] 吴娇, 王聪, 于海川. 金银花中的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 225-234.
[7] Xie F, Lang Q, Zhou M, et al. The dietary flavonoid luteolin inhibits Aurora B kinase activity and blocks proliferation of cancer cells[J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 46(5): 388-396.
[8] 王继双, 何焱, 张文静, 等. 木犀草素的药理作用研究进展[J]. 生命科学, 2013, 5(6): 560-565.
[9] Stayrook K R, Makinzie J H, Burck Y D, et al. Induction of the apoptosis-promoting protein Bak by perillyl alcohol in pancreatic ductal adenocarcinoma relative to untransformed ductal epithelial cells[J]. Carcinogenesis, 1997, 18(8): 1655-1658.
[10] Rowles J L 3rd, Ranard K M, Smith J W, et al. Increased dietary and circulating lycopene are associated with reduced prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis[J]. Prostate Cancer and Prostatic Diseases, 2017, 20(4): 361-377.
[11] Bin Sayeed MS, Ameen SS. Beta-Sitosterol: A Promising but Orphan Nutraceutical to Fight Against Cancer[J]. Nutr Cancer, 2015, 67(8): 1214-1220.
[12] Mahaddalkar T, Suri C, Naik P K, et al. Biochemical characterization and molecular dynamic simulation of β -sitosterol as a tubulin-binding anticancer agent[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 760: 154-162.
[13] Darband SG, Kaviani M, Yousefi B, et al. Quercetin; a functional dietary flavonoid with potential chemopreventive properties in colorectal cancer[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(9): 6544-6560.
[14] Williams C, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development[J]. Oncogene, 2000, 18(55): 7908-7916.
[15] Hsu HH, Lin YM, Shen CY, et al. Prostaglandin E2-Induced COX-2 expressions via EP2 and EP4 signaling pathways in human LoVo colon cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(6): 1132-1148.
[16] Benelli R, Venè R, Ferrari N. Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (cyclooxygenase-2), a complex target for colorectal cancer prevention and therapy[J]. Transl Res, 2018, 196(6): 42-61.
[17] Shimomoto T, Luo Y, Ohmori H, et al. Advanced glycation end products (AGE) induce the receptor for AGE in the colonic mucosa of azoxymethane-injected Fischer 344 rats fed with a high-linoleic acid and high-glucose diet[J]. J Gastroenterol, 2012, 47(10): 1073-1083.
[18] Long W, Zhang S C, Wen L, et al. In vivo distribution and pharmacokinetics of multiple active components from Danshen and Sanqi and their combination via inner ear administration[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 156: 199-208.

(责任编辑:刘培培)

响应面法优化辛夷总黄酮的提取工艺

秦晶晶, 魏婧, 钱慧琴

(新乡医学院三全学院药学院, 河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 优选辛夷总黄酮的最佳提取工艺条件。**方法** 在乙醇浓度、料液比、提取温度和回流时间四个单因素试验基础上, 对影响辛夷总黄酮提取量的工艺因素进行响应面优化。**结果** 辛夷总黄酮最佳工艺条件为: 乙醇浓度 60.0%、料液比 35:1、提取温度 70.0℃、提取时间 40 min, 总黄酮提取量为 $(41.65 \pm 0.01) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与模型预测值 $(41.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1})$ 相对误差为 0.99%。**结论** 响应面分析法优化后的辛夷提取总黄酮工艺稳定、准确、提取率高。

关键词: 辛夷; 总黄酮; 回流提取; 响应面

中图分类号: R284.2

Optimization of reflux extraction process of total flavonoids from *Magnolia biondii* Pamp

QIN Jing-jing, WEI Jing, QIAN Hui-qin

(Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: **Objective** To optimize the extraction process of total flavonoids from *Magnolia biondii* Pamp. **Methods** The response surface optimization was performed for the process conditions that influence yield of total flavonoids from *Magnolia biondii* Pamp on the basis of four single factor tests of ethanol concentration, material-to-liquid ratio, extraction temperature and reflux time. **Results** Optimal extraction conditions were: ethanol concentration of 60.0%, liquid-to-material ratio of 35:1 ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$), extraction temperature of 70.0 °C and extraction times of 40 min. The yield of total flavonoids was $(41.65 \pm 0.001) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, which had a relative error was 0.99% with the expected yield of $41.77 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. **Conclusion** Optimization of the response surface for extracting total flavonoids from *Magnolia biondii* Pamp is stable and feasible, easy to operate, and high in extraction efficiency.

Key words: *Magnolia biondii* Pamp; total flavonoids; reflux extraction; response surface

辛夷为木兰科木兰属植物望春花 (*Magnolia biondii* Pamp.)、玉兰 (*Magnolia denudata* Desv.) 或武当玉兰 (*Magnolia sprengeri* Pamp.) 的干燥花蕾^[1], 具有温肺通窍、祛风散寒等功效。研究表明, 辛夷富含黄酮、三萜类、维生素类与微量元素等活性成分^[2-5], 黄酮类化合物作为辛夷中最重要的活性成分, 在抗氧化、抗菌、抗衰老等方面具有显著功能^[6-10]。汪远红^[11]、王琪^[12]等人用分光光度法检测玉兰总黄酮的含量, 并确定了玉兰总黄酮含量提取的最佳测定条件, 但目前对辛夷总黄酮提取工艺研究鲜见报道, 为获得辛夷黄酮回流提取最佳工艺, 本研究以辛夷作为研究对象, 采用回流提取法在单因素实验的基础上, 考察了乙醇浓度、液料比、提取温度、提取时间等对辛夷中总黄酮提取量的影响, 并通过响应面法优化辛夷中总黄酮的提取工艺, 以期对辛夷总黄酮的应用提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

辛夷采自河南省南召县, 新乡医学院药学院中药学教研室鉴定为木兰科木兰属植物望春花 (*Magnolia biondii* Pamp.) 干燥花蕾; 芦丁对照品购自中国食品药品检定研究院 (批号: 100080-201408); 95% 乙醇、 NaNO_2 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaOH 等试剂均为分析纯, 购于天津市德恩化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

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 型旋转蒸发器 (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

收稿日期: 2021-05-10

基金项目: 河南省大学生创新创业训练项目-辛夷总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性 (202013505009)。

作者简介: 秦晶晶, 女, 副教授, 硕士, 研究方向: 天然产物活性成分研究, E-mail: 904180799@qq.com。

通讯作者: 钱慧琴, 女, 讲师, 硕士, 研究方向: 天然产物活性成分研究, E-mail: 957618126@qq.com。

见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 辛夷总黄酮的提取 辛夷在 60 ℃ 恒温干燥箱中干燥 6 h, 烘至恒重, 粉碎, 过 40 目筛, 得辛夷粉; 称取辛夷粉 1 g, 精密称定, 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回流提取, 过滤, 滤液合并, 减压回收溶剂至少量, 转移至 25 mL 容量瓶中, 以 95 % 乙醇定容, 摇匀, 备用。

1.3.2 总黄酮的测定

(1) 芦丁标准曲线的绘制: 精密称取芦丁对照品 25 mg, 置于 25 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 ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。精密吸取芦丁对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 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, 加水稀释至刻度, 摇匀后放置 15 min。于 510 nm 波长处测定吸收度 $A^{[9]}$, 以芦丁浓度 $C (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ 为横坐标, 吸收度 A 为纵坐标, 绘制标准曲线, $y = 0.0127x - 0.0713$, $R^2 = 0.9998$ 。

(2) 辛夷总黄酮的测定: 精密量取样品溶液 0.2 mL 于 10 mL 容量瓶中, 按照“1.3.2.1”中所述方法进行提取, 按下式计算黄酮提取量。

$$W (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{c \times D}{m}$$

式中: W 表示黄酮提取量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$); c 表示根据吸光度值计算出的溶液质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); D 表示溶液稀释倍数; m 表示药材取样量 (g)。

1.3.3 单因素对黄酮提取量的影响 考察单因素乙醇浓度 (40%、50%、60%、70%、80%、90%), 提取温度 (40、50、60、70、80、90 ℃), 料液比 (1:5、1:15、1:25、1:35、1:45、1:55) $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 提取时间 (10、20、30、40、50、60 min) 对黄酮提取量的影响, 乙醇浓度、提取温度、料液比和提取时间 4 个因素的固定水平分别为 60%、80 ℃、1:35 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、30 min, 在对各因素进行单因素试验探究时, 其他因素均取固定水平。

1.3.4 响应面实验设计 本实验以总黄酮提取量为响应值, 在单因素试验结果基础上, 基于 Box - Benhnken 中心组合实验设计原理选取提取温度 (A)、乙醇浓度 (B)、料液比 (C)、提取时间 (D) 四因素三水平进行试验设计, 因素水平见表 1:

表 1 因素水平编码

水平	因素			
	A	B	C	D
-1	70	50	1:30	20
0	80	60	1:35	30
+1	90	70	1:40	40

注: A 为提取温度 (°C), B 为乙醇浓度 (%), C 为料液比 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), D 为提取时间 (min)

1.4 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2007、Design Expert 8.0.6 软件进行实验数据处理、分析及绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.2.1 不同乙醇浓度对总黄酮提取量的影响 如图 1 所示, 当乙醇浓度达到 70 % 时, 黄酮提取量最高, 为 $74.70 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 而当乙醇浓度 > 70 % 时, 黄酮提取量反而减小, 这可能因为当乙醇浓度达到一定程度之后, 提取溶剂极性反而降低, 导致脂溶性的和极性小的杂质会被提取出来, 从而降低了总黄酮的提取量。因此, 选择乙醇浓度 70% 为提取辛夷黄酮的最佳乙醇浓度。

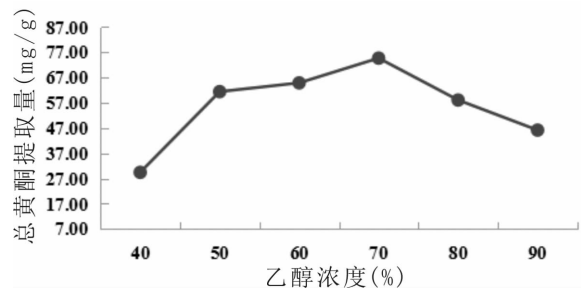


图 1 不同乙醇浓度对辛夷黄酮提取量的影响

2.2.2 料液比对总黄酮提取量的影响 由图 2 可知: 当料液比为 1:35 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 时, 辛夷总黄酮提取量达到最大, 为 $26.89 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。黄酮提取量随着料液比的增加反而降低。这可能因为料液比过高时, 溶剂会把物料充分包裹, 致使其他易溶杂质也会提取出来, 降低了总黄酮提取量, 因此选择料液比为 1:35 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为辛夷总黄酮提取的最佳料液比。

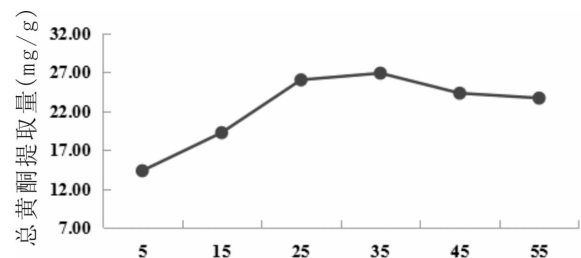


图 2 不同料液比对辛夷总黄酮提取量的影响

2.2.3 提取温度对总黄酮取量的影响 由图3可知:当温度达到80℃时,总黄酮提取量达到最大,为30.99 mg·g⁻¹;黄酮提取量随着温度的增高反而降低,这可能由于温度升高使提取出来的部分黄酮类化合物发生分解或者失活所导致的。因此,选择80℃为辛夷黄酮提取的最佳提取温度。

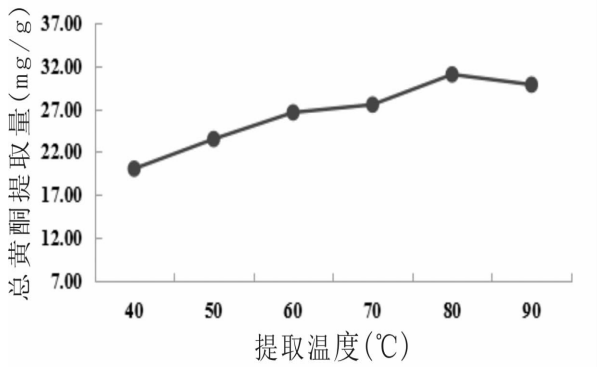


图3 不同提取温度对辛夷总黄酮提取量的影响

2.2.4 提取时间对总黄酮提取量的影响 由图4可知:提取时间为50 min时,总黄酮提取量达到最大,为28.89 mg·g⁻¹;提取时间超过50 min时,黄酮提取量随着时间的增加反而降低,这可能是由于乙醇具有挥发性,时间越久乙醇浓度越小,提取溶剂极性变大,导致一些极性小的黄酮类化合物析出来,或者极性较大的一些杂质会被提取出来所导致黄酮提取量偏低。因此选择50 min为辛夷黄酮提取的最佳提取时间。

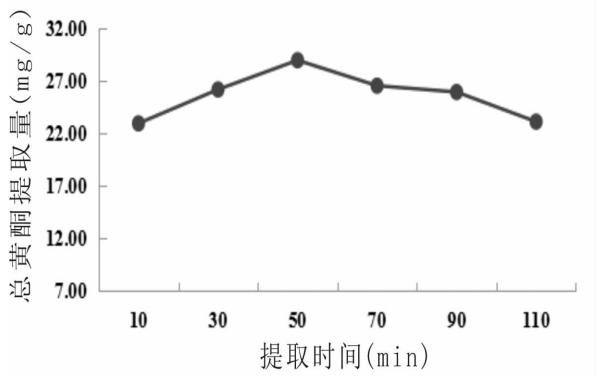


图4 不同提取时间对辛夷总黄酮提取量的影响

2.3 Box - Behnken 响应面法实验结果与分析

2.3.1 响应面回归模型建立与分析 从表2可知,利用软件对试验结果进行二次多项式回归模型方程拟合,获得的回归模型方程如下:

$$R1 = 37.21 - 3.97A - 0.49B + 1.75C + 0.19D + 0.025AB - 2.16AC - 6.52AD + 1.17BC - 0.76BD + 1.55CD - 5.07A^2 - 0.65B^2 - 0.36C^2 - 1.05D^2$$

式中:R1 为总黄酮

表2 响应面设计及结果

序号	A	B	C	D	黄酮提取量(mg·g ⁻¹)
1	1	0	0	-1	36.94
2	0	-1	0	1	36.39
3	0	-1	1	0	39.38
4	0	-1	-1	0	20.38
5	-1	-1	0	0	35.94
6	0	1	0	-1	39.98
7	-1	0	1	0	35.11
8	1	0	0	1	32.59
9	0	0	1	-1	26.12
10	0	0	1	1	31.48
11	-1	1	0	0	36.40
12	0	0	-1	1	34.76
13	1	1	0	0	34.42
14	0	1	-1	0	29.44
15	0	0	0	0	36.18
16	0	0	-1	-1	26.77
17	0	-1	0	-1	27.82
18	1	0	-1	0	36.60
19	0	0	0	0	38.38
20	1	0	1	0	39.89
21	-1	0	0	-1	33.42
22	0	0	0	0	27.85
23	0	1	1	0	36.02
24	-1	0	0	1	37.64
25	-1	0	-1	0	39.23
26	1	-1	0	0	27.85
27	0	1	0	1	38.70
28	0	0	0	0	37.64
29	0	0	0	0	39.23

注:A 为提取温度,B 为乙醇浓度,C 为料液比,D 为时间

表3 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	604.58	14	43.18	24.81	< 0.000 1
A	188.89	1	188.89	108.51	< 0.000 1
B	2.87	1	2.87	1.65	0.220 2
C	36.72	1	36.72	21.09	0.000 4
D	0.42	1	0.42	0.24	0.632 4
AB	2.50E -03	1	2.50E -03	1.44E -03	0.970 3
AC	18.62	1	18.62	10.7	0.005 6
AD	170.04	1	170.04	97.68	<0.000 1
BC	5.45	1	5.45	3.13	0.098 5
BD	2.33	1	2.33	1.34	0.266 3
CD	9.64	1	9.64	5.54	0.033 7
A2	166.53	1	166.53	95.66	<0.000 1
B2	2.73	1	2.73	1.57	0.231
C2	0.83	1	0.83	0.47	0.502 2
D2	7.1	1	7.1	4.08	0.063
残差	24.37	14	1.74		
失拟项	18.02	10	1.8	1.13	0.491 4
纯误差	6.35	4	1.59		
总误差	628.95	28			

由表 3 可知,回归模型的 $P < 0.0001$,表明该回归模型极显著;失拟项 $P > 0.05$,不显著,说明该模型成立。模型的相关系数 $R^2 = 0.9613$,校正相关系数 $R^2_{Adj} = 0.9225$,模型的相关系数 R^2 和校正相关系数 R^2_{Adj} 均较高且接近,说明模型准确性和通用性较高;变异系数 $CV = 3.85\% < 10.00\%$,说明实验稳定性良好;因此,可以用此模型来预测辛夷总黄酮最佳提取工艺条件。

由 4 个影响因素的 F 值大小可以得出,各因素对辛夷总黄酮提取量的影响顺序为提取温度 > 料液比 > 乙醇浓度 > 提取时间,提取温度对辛夷总黄酮提取量有较大影响。一次项 B、D,交互项 AB、BC、BD,二次项、 B^2 、 C^2 、 D^2 差异不显著 ($P > 0.05$),一次

项 A、C,二次项、交互项 AC、CD、AD,二次项、 A^2 对辛夷总黄酮提取量均有极显著的影响 ($P < 0.01$)。

2.3.2 响应面交互作用分析与优化 响应曲面坡度越陡峭,说明响应值对于该因素的改变越敏感,而曲面坡度越平滑,该因素的改变对响应值的影响也就越小,各因素交互作用辛夷中总黄酮提取量影响的响应曲面以及等高线如图 5 所示。在有交互作用的影响下,乙醇浓度和提取温度、料液比和提取温度、提取时间和提取温度交互影响作用显著,乙醇浓度和料液比、乙醇浓度和提取时间、料液比和提取时间交互影响作用都不显著,这与表 3 中交互项值的分析一致。

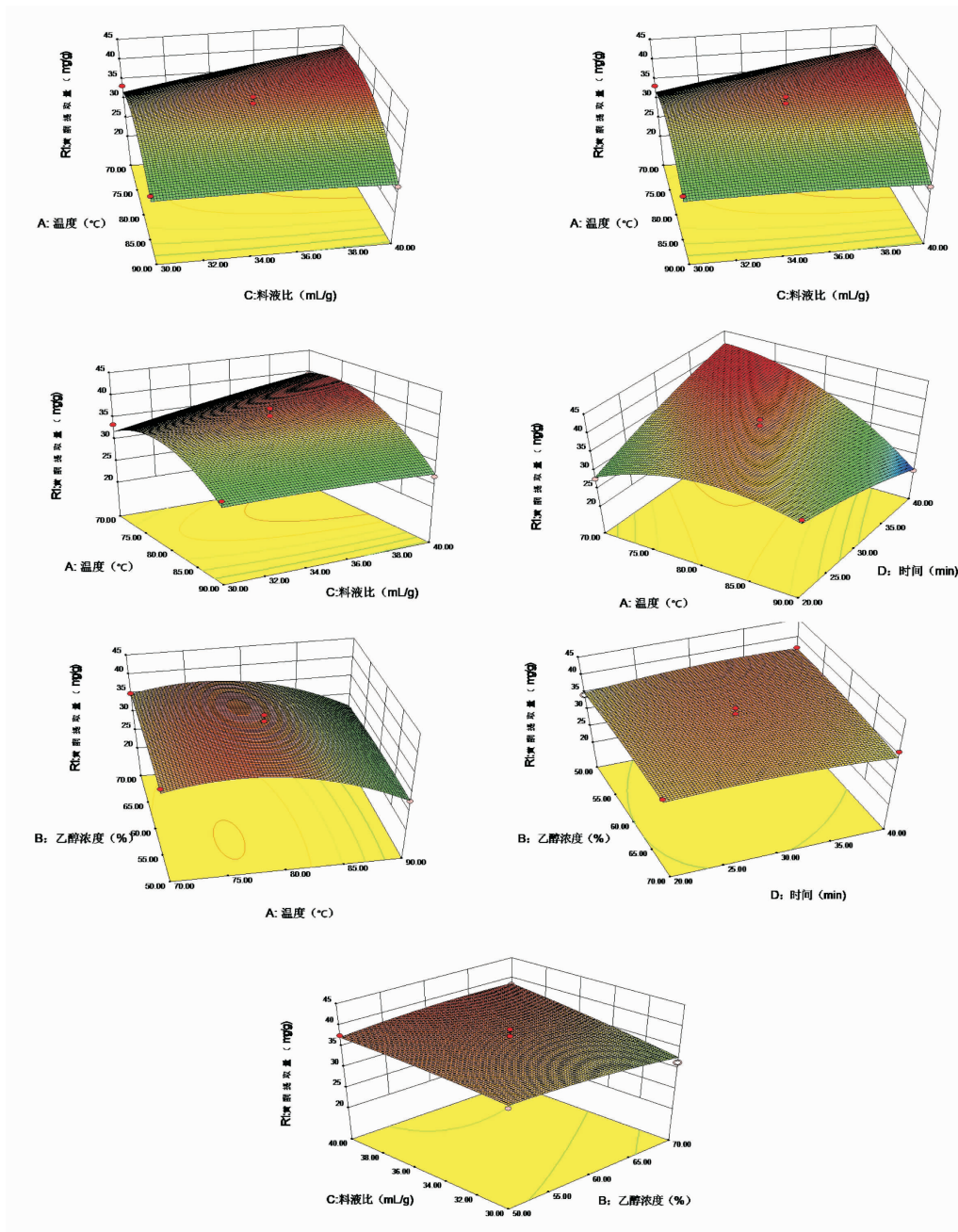


图 5 各因素交互作用总黄酮提取量的响应面与等高线图

2.4 最佳提取条件的确定及验证

通过软件对二次多项式回归方程进行分析预测,乙醇回流提取辛夷总黄酮的最佳提取工艺条件:提取温度为 76.02 ℃,乙醇浓度 60.81%、料液比 1:36.89 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、提取时间为 35.14 min。综合考虑将其最佳工艺条件调整为提取温度为 75 ℃,乙醇浓度 60%,料液比为 1:35 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),提取时间为 40 min,以此条件下对建立的数学模型进行验证试验,结果预测值 $40.33 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,实际值 $39.89 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,预测误差 0.98%。

3 小结

本文通过回流提取法提取辛夷中总黄酮,在单因素实验的基础上,利用响应曲面法对辛夷总黄酮提取工艺进行优化,实验获得的最佳提取工艺条件为:提取温度为 75 ℃,乙醇浓度 60%,料液比为 1:35 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),提取时间为 40 min,获得的辛夷总黄酮的实际测得值为 $(39.89 \pm 0.01) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,预测值为 $40.33 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,预测误差为 0.98%,表明了 Box-Behnken 优化结果真实可靠,可用于辛夷总黄酮回流提取工艺的优化,黄酮类化合物的提取方法主要有热水提取、有机溶剂提取、超声波和微波辅助提取以及酶解提取等。因此,此研究也为采用其他方法对辛夷总黄酮提取工艺的研究提供了参考依据,从而为辛夷总黄酮最佳的提取方法及提取工艺

提供了一定的理论基础。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典, I 部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:189.
- [2] 于培明,田智勇,许启泰,等. 辛夷研究的新进展[J]. 时珍国医国药,2005,16(07):652-653.
- [3] 顾国明,周宇红,于桂华,等. 辛夷花有效成分研究[J]. 中草药,1994,25(8):397397.
- [4] 陈雅研,高从元,乔梁,等. 辛夷水溶性成分研究[J]. 药学学报,1994,29(7):506506.
- [5] 万楷杨,李秋芳. 不同产地望春花药材中挥发油的化学成分分析[J]. 亚太传统医药,2020,16(02):63-68.
- [6] 朱雄伟,杨晋凯,胡道伟,等. 辛夷成分及其药理应用研究综述[J]. 海峡药学,2002,14(5):55.
- [7] 李振雨,何嘉莹,童培珍,等. 基于 UPLC 指纹图谱和多成分定量的辛夷药材产地差异性研究[J]. 中草药,2021,52(01):234-240.
- [8] 马羚,周兵冰,马逾英,等. 武当玉兰与望春花嫁接辛夷的抗炎镇痛作用试验[J]. 中国医药科学,2016,6(07):46-48.
- [9] 秦晶晶,钱慧琴,魏琬絮,等. 柿叶总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技,2020,41(13) 32-38.
- [10] 赖毅勤,周宏兵. 近年来黄酮类化合物提取和分离方法研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(4):54-58.
- [11] 汪远红,汪红武,郑俊辉. 分光光度法测定玉兰总黄酮的含量[J]. 西北药学杂志,2008,23(06):356-358.
- [12] 王琪,李洪玲. 中药辛夷质量标准研究——比色法测定辛夷中总黄酮的含量[J]. 中草药,2003,34(05):424-425.

(责任编辑:刘培培)

河南省35岁以上城乡居民基层就医行为及影响因素分析

陈东明

(新乡医学院三全学院健康管理学院,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 了解河南省城乡居民基层就医行为及影响因素,为基层医疗资源配置进而满足居民卫生服务需求提供依据。**方法** 依据人类发展指数抽取河南省4个省辖市的72个样本村站,于2019年对35岁以上的城乡居民,从被调查对象的基本情况、就医习惯及就医满意度、体检频次及期望、对基层医生的学历和素质需求几个维度进行问卷调查。发放问卷832份,回收有效问卷806份,回收有效率为96.9%。使用方差分析比较城乡居民间需求的差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。**结果** 城乡居民在体检频率及期望、患病首选诊疗机构、就医满意度、对基层医生的学历期望方面存在显著差异($P < 0.05$),而在基层医生素质方面的需求没有明显差异。**结论** 城乡居民在医疗卫生资源获取及就医行为上有差异,但在整体的医疗服务需求上具有趋同性。

关键词: 35岁以上城乡居民;基层就医行为;影响因素

中图分类号: R197

Primary hospital medical care seeking behavior of urban and rural residents over 35 years old in Henan province and its influencing factors

CHEN Dong-ming

(School of Health Management, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan, 453003)

Abstract: **Objective** To understand the primary hospital medical care seeking behavior of urban and rural residents in Henan Province and its influencing factors, to provide evidence for the allocation of grassroots medical resources and meet the needs of health services. **Methods** According to the human development index, 72 sample villages in four provincial cities in Henan Province were selected. In 2019, a questionnaire survey conducted in urban and rural residents over 35 years old from the general conditions of the respondents, medical care seeking habits and satisfaction, frequency of physical examination and expectation, and the education and quality demand of grass-roots doctors. 832 questionnaires were issued, 806 valid questionnaires were recovered, and the recycling efficiency was 96.9%. Variance analysis was performed to compare differences of demand between urban and rural residents, with $P < 0.05$ as significant difference. **Results** There were significant differences in the frequency of physical examination and expectation, preferred diagnosis and treatment institutions, medical care seeking satisfaction, and educational expectation of grassroots doctors ($P < 0.05$); there was no significant difference in the demand for the quality of grassroots doctors. **Conclusion** There are differences for the urban and rural residents in the access of medical and health resources and medical seeking behavior, but they have convergence in the overall demand for medical services.

Key words: urban and rural residents over 35 years old; primary hospital medical care seeking behavior; influence factors

《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。35岁以上的居民作为接受医疗健康服务的主要群体,了解他们的就医行为,有助于了解他们对基层医生和医疗卫生服务的真实需求,对基层医疗资源的配置和基层医生的人才培养具有重要意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

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,依次抽取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35岁以上的城乡居民进行问卷调查。

1.2 研究方法

本研究采用自行设计的《河南省居民基层医疗

收稿日期:2021-04-14

基金项目:河南省高等学校重点科研项目计划(19B630017);河南省教育厅人文社会科学研究项目资助(2019-ZZJH-06);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:卫生政策,E-mail:50156858@qq.com。

服务需求调查》进行不记名面对面调查。问卷主要分为基本情况、健康状况及就医习惯、认知情况和对基层医疗服务的需求4大部分21个条目。其中和本研究相关的内容有:(1)基本情况,包括性别、年龄、受教育程度、医保类型。(2)就医习惯,包括体检频率、患病首选、服务满意度。(3)对基层医生服务的需求,包括学历期望、期望体检频次、基层医生应具备的素质。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832份,回收有效问卷806份,回收有效率为96.9%。

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。使用方差分析比较城乡居民需求的差异;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

806例样本中,男性450人,占55.8%;女性356人,占44.2%。36-59岁的520人,占64.5%;60岁及以上的老年人286人,占35.5%。受教育程度方面,本科及以上学历41人,占5.1%;大专学历55人,占6.8%;中专/高中学历161人、初中292人、小学及以下257人,依次占20%、36.2%、31.9%。参加城镇职工/居民医保392人,占48.6%;农村合作医疗414人,占51.4%。见表1。

表1 基本情况表

类别	数量	占比
性别		
男	450	55.8
女	356	44.2
年龄		
36-59	520	64.5
60岁以上	286	35.5
受教育程度		
小学及以下	257	31.9
初中	292	36.2
中专/高中	161	20.0
大专	55	6.8
本科及以上学历	41	5.1
医保类型		
城镇职工/居民医保	392	48.6
农村合作医疗	414	51.4

2.2 就医习惯及就医满意度

接受调查的806名居民,在“体检频率”方面,2年以下体检一次的城市居民普遍比农村居民的比例相对较高,而2年以上或从不体检的比例农村居民比城市居民相对较高,城乡居民存在显著差异($P < 0.05$);在“患病首选”方面,选择首选去社区卫生服务站或村卫生室就医的,农村居民相对城市居民的比例较高,选择首选去市级以上医院的,城市居民比农村居民的比例相对较高,总体上城乡居民存在显著差异($P = 0.003$);在就医满意度方面,城市居民比农村居民的满意度比例相对较高,城市居民满意度达49.5%,不满意达5.9%,而农村居民不满意度达11.1%,两者存在显著差异($P < 0.05$)。见表2。

表2 城乡居民体检、就医习惯及就医满意度情况表

	城镇职工/居民医保		农村合作医保		卡方	P值
	数量	占比	数量	占比		
体检频率						
小于1年	151	38.5	103	24.9	63.390	<0.001
1-2年	178	45.4	143	34.5		
2年以上	41	10.5	84	20.3		
从不体检	22	5.6	84	20.3		
患病首选						
在家吃药	149	38.0	143	34.5	15.835	0.003
社区卫生服务站/村卫生室	159	40.6	201	48.6		
社区卫生服务中心/乡镇卫生院	31	7.9	37	8.9		
县级医院	29	7.4	27	6.5		
市级以上医院	24	6.1	6	1.4		
服务满意度						
满意	194	49.5	144	34.8	21.533	<0.001
一般	168	42.9	219	52.9		
不满意	23	5.9	46	11.1		
不确定	7	1.8	5	1.2		

2.3 居民的全科医疗服务需求

城市居民在对全科医生的学历期望方面比农村居民比例相对较低,被调查的城市居民中持无所谓的占35.7%,农村居民占25.6%,城乡居民存在显著差异($P=0.020$);在医疗服务内容需求方面,城市居民在定期体检和健康教育上比农村居民更关注,在慢性病的防治与监控上农村居民比城市居民更关注,而在其他方面差异并不大,整体上城乡居民

的医疗服务需求没有明显差异($P>0.05$);在期望体检频次方面,城市居民比农村居民的需求比例相对更高,而视身体情况确定体检频次的,农村居民比城市居民相对比例较高,城乡居民具有显著差异($P<0.05$);在医疗方式需求($P>0.05$)和全科医生应具备的素质需求($P>0.05$)方面,城乡居民不具有明显差异。见表3。

表3 城乡居民的全科医疗服务需求情况表

	城镇职工/居民医保		农村合作医保		卡方	P值
	数量	占比	数量	占比		
学历期望						
无所谓	140	35.7	106	25.6	9.833	0.020
大专及以下	139	35.5	172	41.5		
本科	87	22.2	107	25.8		
硕士及以上	26	6.6	29	7.0		
期望体检频次						
1年	202	51.5	179	43.2	19.670	<0.001
1-2年	160	40.8	162	39.1		
2-5年	19	4.8	38	9.2		
视身体情况而定	11	2.8	35	8.5		
全科医生应具备素质(多选)						
出色的医疗技术	240	61.2	246	59.4	4.309	0.506
全面的医疗知识	265	67.6	295	71.3		
较高责任心、爱心、同情心	226	57.7	258	62.3		
良好的表达能力和沟通技巧	165	42.1	185	44.7		
优秀的管理能力	137	34.9	132	31.9		
熟悉预防保健工作	143	36.5	126	30.4		

3 讨论

(1)城市居民的健康素养相对较高,农村居民在健康体检和健康教育等方面关注度不够。调研数据显示,城市居民在定期体检和健康教育上比农村居民更关注,这和居民健康素养有关。健康素养直接影响个体获取、理解和处理基本的健康信息和服务,并据此做出正确判断和决定,继而维持和促进自身健康^[1]。数据显示,在期望体检频次方面,城市居民的需求比例相对较高,而视身体情况确定体检频次的,农村居民的比例较高。这一方面是城市居民的文化程度相对于农村居民普遍较高,城市居民健康意识相对较强,单位安排体检也比较便利;另外一方面城市的健康教育水平和途径更丰富,居民能够及时掌握较为全面的信息和享受到较好的服务,便于自己及时作出决策。这和周崔红等的研究结果具有一致性,即城市居民获取健康信息、运用健康技能的能力较强,能够主动积极参与健康体检^[2]。岳川等^[3]、吴仿东^[4]、何旺杰等^[5]、唐丽红

等^[6]研究结果也显示文化程度、职业是影响居民总体健康素养水平的重要因素,城市居民的健康素养具备率高于农村。因此,政府需要制定针对性的相关政策,提高农村居民的平均文化水平,优化基层卫生资源配置,开发适合农村居民的健康教育资源,提升其慢性病防治素养,优化干预措施。

(2)农村居民对全科医生的学历有较高期望。研究显示,城乡居民对基层全科医生的学历需求存在显著差异($P=0.020$),在医疗服务满意度方面,城市居民不满意达5.9%,而农村居民不满意度达11.1%,两者存在显著差异($P<0.05$)。农村基层全科医生大多是由基层卫生院或社区卫生中心医生转岗培训后获得的资质,学历层次较低,配套的培养体系不如科班生完善,这就导致基层全科医生整体水平相对低下,无论在技术还是理解执行政策方面存在不足,在为居民提供医疗服务时,时常不能解决真正问题,社会认可度不高,就医满意度层面不如城市^[7],这和前面的研究结果一致。农村居民对受过高等学历教育的基层全科医生认可度较高,更相信

他们具备提供高质量医疗卫生服务的能力,这和国家推行优秀的卫生人才下基层的政策是吻合的,有助于分级诊疗制度的落实。

(3)强化农村居民基层首诊,合理引导城市居民基层首诊。居民患病首选去社区卫生服务站或村卫生室就医的,研究显示农村居民相对城市居民的比例较高,城乡居民存在显著差异($P=0.003$)。王颖等^[8]、郑慧凌等^[9]研究结果显示低收入者的基层首诊意愿更强,因为基层首诊能降低医疗支付压力。李华等研究指出,根据分级诊疗的急慢分治原则,将慢病和常见病患者引导至基层医疗机构进行医治,居民在享受健康教育、预防保健和康复等服务过程中更有利于强化其健康意识,降低大病重病发生率,从而降低医疗费用,明显减轻家庭医疗经济负担^[10]。相对来讲,农村居民经济水平总体低于城市居民,患病就医更加关注医疗费用支付情况,基层诊疗无论从费用总支出还是费用报销等方面都具有明显优势。另外,农村居民多为留守老年人,他们是基层首诊的主力军^[11],对慢性病防控具有较高需求,这和前面的研究结果具有一致性。农村地区受条件所限,大部分只能选择基层首诊,强化农村居民基层首诊,合理引导城市居民基层首诊,对实现基本公共卫生服务均等化和分级诊疗制度具有重大意义。

(4)城乡居民在整体的医疗服务需求上趋同,需要均衡城乡卫生资源配置。在就医满意度方面,城市居民的满意度比例相对较高;但在医疗方式需求($P>0.05$)和全科医生应具备的素质需求($P>0.05$)方面不具有明显差异,城乡居民的需求具有较高的一致性,即都需要具备高超技术的医疗服务人员,都能够提供全面、便利的医疗服务。这说明虽然城乡居民在就医行为上受多种因素影响存在差异,但在追求身体健康及美好生活的的需求方面,并不受经济条件、文化水平及地域的影响,是每个人都享有

的权利。政府要加快基层卫生资源配置,除常规的医疗技术人员、医疗设备、医疗机构配置外,还要重点关注尤其是乡镇卫生院的基层医疗机构设备管理能力提升^[12],借助信息化手段,逐步缩小城乡差距,实现卫生资源共享的公平可及性。

参考文献:

- [1] 董海莲,林莎,李杨.青少年视力不良检出情况与相关影响因素探讨[J].中国医疗设备,2017,32(S1):76.
- [2] 周崔红,苗春霞,孙泓,等.徐州市城乡居民对分级诊疗制度的评价及影响因素研究[J].中国卫生事业管理,2021,38(02):109-113+160.
- [3] 岳川,张楠,赵娅男,等.北京市西城区居民健康素养综合干预效果分析[J].中国健康教育,2020,36(01):44-48.
- [4] 吴仿东,吴华锋,钟秋雄,等.佛山市南海区居民健康素养现状及影响因素分析[J].华南预防医学,2021,47(02):248-252.
- [5] 何旺杰,马国民,李国涛,等.2017年南阳市居民健康素养水平及影响因素分析[J].华南预防医学,2019,45(6):551-555.
- [6] 唐丽红,毛树存,马华禹,等.2017年河南省许昌市居民健康素养水平及其影响因素分析[J].中国健康教育,2019,35(04):359-362+370.
- [7] 陈东明,王彦杰,田庆丰.河南省城乡居民基本公共卫生服务利用现状及满意度调查分析[J].中国公共卫生,2020,36(12):1789-1792.
- [8] 王颖,牟墨涵,赵世超,等.分级诊疗背景下山东省居民基层首诊意愿影响因素研究[J].医学与社会,2021,34(02):77-81.
- [9] 郑慧凌,张娜娜,高山,等.患者基层首诊行为与医疗支付压力的影响关系研究[J].中国医院管理,2019,39(08):20-22.
- [10] 李华,徐英奇,高健.分级诊疗对家庭医疗经济负担的影响——基于基层首诊视角的实证检验[J].江西财经大学学报,2018(05):49-61.
- [11] 戴璟,李怡诺,李伟.昆明市城乡居民医疗服务利用偏好及影响因素研究[J].护理研究,2020,34(09):1511-1516.
- [12] 何卓文,王彦杰,吴建,等.贫困地区基层医疗机构设备管理现状分析[J].中国卫生事业管理,2021,38(01):18-21+28.

(责任编辑:陈圆圆)

“双创”背景下应用本科毕业论文管理探索

王耀峰, 陈东明, 高滑

(新乡医学院三全学院健康管理学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 随着大批应用型本科高校的转型和国家“双创”计划实施,为应用型本科毕业论文培养模式的教学改革提供了新的思路。通过对应用型本科毕业论文存在的问题进行调研,针对学生的职业意向,对毕业论文进行分类管理,通过“双创”教育、以赛代教等不同形式,以满足学生多样化的需求,学生的最终毕业论文质量、创业能力、就业率和用人单位满意度均取得一定成效。

关键词: 毕业论文;分类管理;应用本科

中图分类号: G643.0

Thesis management of undergraduates under the background of “mass entrepreneurship and innovation”

WANG Yao-feng, CHEN Dong-ming, GAO Hua

(School of Health Management, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: The transformation of many application-oriented universities and implementation of the national “mass entrepreneurship and innovation” provide a new idea for the teaching reform of thesis training mode for undergraduates in application-oriented universities. Based on research of problems theses in the undergraduates, the graduation theses were classified and managed aiming at students’ vocational interest. The quality of final thesis, entrepreneurship, employment rate and satisfaction of employing companies were achieved through the education of “mass entrepreneurship and innovation”, “replacing teaching with competition” to meet the diversified needs of students.

Key words: graduation thesis; classified management; application-oriented universities

近年来,随着我国高等教育招生规模逐年扩大,大批的地方性本科院校面临应用本科转型,应用型本科高校大多属于地方性高校,师资规模与水平有待进一步提升,毕业论文是检验本科生综合能力的关键指标。各应用本科大多关注前期教学,对于后期毕业论文的质量监控不够完善。应用型本科高校也因为招生规模扩大,生师比例增加,导致教师精力投入不足,尤其是对专业应用实践教学的重视不够,毕业生毕业论文总体质量下降,应用型研究的毕业论文比例减小,毕业论文和实践应用脱节。在国家提出“大众创业、万众创新”的背景下,如何能将本科毕业论文的设计和选题与国家的“双创”计划结合起来,培养多元化的应用型本科生,是我们面临的问题。本文以新乡医学院三全学院为例,开展了对应用本科论文分类管理和“双创”能力培养教学模式的改革和探索,以期应用本科毕业论文的教学改革工作和提高人才培养质量,提供借鉴参考^[1-2]。

1 应用本科毕业论文现状

(1) 大多学生致力于考研或应聘,对毕业论文的重视程度不够。近年来越来越多的大学生选择考研,或忙于就业,二者都与毕业设计时间发生了冲突。一般高校的毕业论文工作安排在第8学期,很多学生的考研复试也在这学期的4月底,复试又是最后关头,学生们不敢怠慢;而这学期择业的学生又刚好忙于应聘,有些单位的试用期也已开始,这些原因都导致学生难以安心毕业设计,对毕业论文敷衍了事。其次是部分学生对毕业论文不够重视,综合素质还亟待提高。在他们看来毕业论文只是走走形式,因此对毕业论文的态度极为轻视、散漫。

(2) 指导教师精力投入不足。近些年各大高校不断扩招,学生人数连年增加,师资力量相对不足。高校的教师面临大量的教学任务和科研任务,用于指导毕业论文的精力相对不足,主动性不强;也有部分教师在选题、课题设计等程序上责任心不强、要求

收稿日期:2021-06-03

基金项目:2019年度河南省医学教育研究项目-“双创”背景下应用型本科毕业论文(设计)教学模式改革研究(wjlx2019118)。

作者简介:王耀峰,男,讲师,硕士,研究方向:医学高等教育改革研究,E-mail:153321720@qq.com。

不严、缺乏监督管理,导致学生对毕业论文不重视、不认真,敷衍了事。指导教师对毕业论文的监管不严,是毕业论文的质量难以得到有效保障的重要因素。

(3)毕业论文没有做到科学选题,应用型不强。选题是论文环节的第一步,它是学生顺利完成论文工作的前提,是完成一篇高质量毕业设计的关键。选题过程出现的问题主要有:①部分学生不切实际,既不了解论文的内容又不清楚自己的能力,单凭兴趣盲目选题;②有些学生避难就易,只求顺利通过,随意选题,选题没有结合新技术、新思路、经济建设和社会发展的需要和目的,未能达到培养目标的要求;③一些指导教师未能与时俱进及时更新选题,导致题目陈旧。学生毕业论文和专业实践的契合度不高,应用型和创新性不强。定性研究多,理性分析少。论文写作中以理论研究和文学资料的定性研究居多,缺少理性分析和调查等定量分析,与应用型人才的培养目标有偏差。

(4)毕业论文管理及监控力度不足。毕业论文需要学生搜集相关材料,查阅文献,整理数据等,环节多、时间跨度大、自由活动地点范围广,而学生分散到各个实习企业和基地,整个过程管理、考核和监控难度大,至今仍缺乏有效的质量保障体制。

2 应用本科毕业论文教学模式改革探索

实施分类培养和分类管理是提高毕业论文的重要手段,有宏观分类,也有微观分类^[3-6],还有按照学生的就业取向进行分类培养,本校采用按照学生就业取向进行分类培养,加强学生在校“双创”教育、合理安排毕业论文时间,以赛代教等形式,开展对毕业论文教学改革实践探索^[6]。

(1)依据学生就业取向,分类指导和培养。论文的选题要突出学生的主体地位。针对不同专业和个性的学生,论文的形式也各不相同。考研的学生要注重“文献课-专业课-课题研究-毕业论文”链条式训练模式;就业学生侧重“专业课-学科竞赛-社会调研-毕业设计”的教学链条式训练模式;对于有创业意向的学生采取“专业课程-社会调研-学期论文-创新创业竞赛”的训练模式。

(2)强化“专创”融合,增强基本知识的培养。应用型本科的培养目的是应用,为促进专业课程体系与应用型人才培养目标的有机融合,优化课程结构,改进教学方法,结合创新、创业的时代背景,开设专创融合基础课程、创新思维及技术课程,提高毕业论文的实践性和应用性,为学生未来创业和就业打下良好的基础。为激励教师开展专业教育和创新教育课程融合改造,学院设立了专创融合课程,建设了

专项教学改革项目。

(3)毕业设计教育不断线,构建全程渐进式毕业设计模式。以提升学生素质和应用能力为根本,构建全程渐进式毕业论文设计模式。把毕业论文的设计与课程教学、毕业实习、学术报告、学科竞赛等教学活动有效衔接为一体,把毕业论文教学贯穿于本科教育全过程,由浅入深地安排训练环节,提高毕业论文教学效果。结合地方经济发展特点,在每个学期安排一到两次社会实践项目训练,通过参与社会实践工作,检验学生所学知识的实践应用能力,形成学期论文报告。毕业论文的选题可以从学期论文报告中遴选,尽量做到选题与经济社会相关联,体现毕业论文的应用价值,进而培养学生的创新能力。

(4)以赛代教,提升学生就业、创业能力。应用型本科教育培养目标是服务地方,面向一线行业的高级人才。因此,应用型本科毕业论文教学更应着眼于学生职业能力与创新能力,着眼学生就业能力的提升。因此要多举办一些比赛,如营销策划大赛、创新创业大赛、生存挑战赛等,指导教师要全程参与比赛过程,通过比赛,深入社会实践与调查,学生可以清楚的找到所学专业知识与经济社会的需要的契合点;参赛团队成员之间相互配合,克服长久来的自我中心意识,项目实施过程中,探究他人诉求,适应社会需求,进而形成优秀的职业能力。

(5)优化指导教师结构,强化对毕业论文重要性的认识。优化师资结构,充分挖掘行业、企业优秀师资,作为毕业实践指导教师,参与有就业意向和创业意向的论文设计,校内教师重点指导有考研意向学生的毕业论文。加强对学生教师和管理人员对毕业论文的重视程度的教育,尤其是提高对毕业设计重要性的认识,让所有参与者充分认识到毕业设计是实现人才培养的重要环节,它的综合性和实践性是其其他教学环节所不能替代的。积极动员学生,使其领悟毕业论文的目的、步骤、内容和意义。

(6)调整毕业论文设计时间。本科毕业论文通常安排在大四最后一个学期,毕业生往往由于参加研究生复试、择业、实践等情况和毕业论文设计相冲突。且往往最后阶段,学生集中开展毕业论文的指导时,指导教师也因毕业季工作繁多,导致指导时间有限,学生精力投入有限,因此,将毕业论文设计实践前移至第3学年,指导教师可根据学生的知识能力,指导学生开展课题的选择、课题的分享和讨论、实习前确定研究的课题,学生可根据自己的兴趣带课题参加实习,实习中开展实践活动中进行调查研究,增强毕业论文的实践性。学校购置了毕业论文管理系统,可对学生的论文制订过程进行全程监控、

监管,尤其是过程材料实施动态提交和收集,有效的增加了过程监管力度。

(7)分类制定毕业论文设计标准。学生的毕业论文是衡量培养学生质量的重要指标,论文要严格要求。学校采用毕业论文分类管理模式,因此根据分类结果进行标准的制订。学生按照学生考研、就业和创业意向分3类培养,学生的毕业论文标准也按照要求分3类,第一类,考研意向的学生多注重学术体系研究,研究方向多根据指导教师的方向结合自己的兴趣爱好开展,研究的内容有前瞻性、系统性和创新性,篇幅要求约1-1.2万字之间。第二类,就业意向的学生多注重对知识的应用,研究的方向根据企业实践带教教师的工作内容、结合自己的兴趣爱好,查阅相关资料内容确定,重点培养学生解决工作中遇到的困难开展调查研究,通过案例分析、实践报告等研究成果呈现,字数5000-8000字之间。第三类,创业意向的学生多注重创业的技能培训,论文的要求学生参加各级的创新创业大赛,学生依据自己的专业实践知识和兴趣爱好,结合自己的发现的问题开展,可以通过各种专利的申报书、创新创业设计策划书等呈现自己的成果,字数也要求5000-8000字之间。

(8)完善毕业论文监控体系。首先要进一步完善毕业论文监控体系,强化对毕业论文的质量监控,重点做好指导、协调、检查和监督等方面的工作;其次要加大过程监控力度,尤其是毕业答辩环节,杜绝学生存在毕业答辩就是走过场心理,真正发挥毕业论文答辩环节的威慑作用。再次要建立学院、学校及校外三级联动监督与评价系统,开展毕业论文各阶段的检查,实行毕业论文全方位、多层次的信息反馈。建立同行院校互评机制,这将更有利于客观、真实地了解毕业论文的教学质量,检验评分的把握尺度,进一步提升毕业论文质量。学校每年开展优秀论文评选活动,对于优秀论文进行奖励,从而形成良好的氛围。

3 应用本科毕业论文教学模式探索成效

3.1 学生毕业意向调查

在采取了分类培养、专创融合课程培养、以赛代教等培养方式的教学模式改革,根据学生发展就业取向,学生可以选择不同的毕业论文形式,通过对新乡医学院三全学院2018届、2019届、2020届近3年学生毕业意向的调查显示,随着毕业论文的分类培养和应用型学校的转型目标改变,学生考研意向的比例逐渐减小,就业和创业意向的比例增加。见图1。

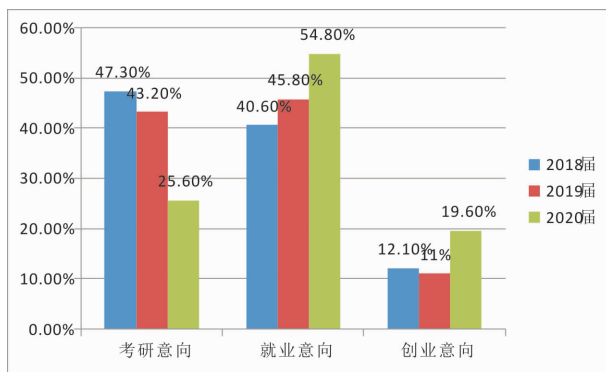


图1 学生毕业意向调查结果

3.2 毕业论文题目确定方式

毕业论文选题有所不同,实施新的改革之后,从新乡医学院三全学院近3年的论文选题调查结果显示,2018届毕业生论文题目教师给定题目占比为89%,师生共同拟定题目占比为11%;2019届毕业生论文题目学生教师给定题目占比为83%,师生共同拟定题目占比为17%;2020届毕业生论文题目教师给定题目占比为70.8%,师生共同拟定题目占比为29.2%,学生和教师共同商定毕业论文题目的比例逐渐上升,学生教师给定命题和学生自主命题的比例均下降,说明学生在选题的自主性增加,盲目性减少。

3.3 行业、企业导师指导论文比例

实施论文分类培养,行业、企业导师所占比例为重要指标,从2018届毕业生的3%到2020届毕业生的21%,行业、企业导师所占比例逐年上升,说明有就业意向和创业的意向的学生逐渐选择有丰富经验的教师担任指导教师。

3.4 毕业生就业率

实施论文分类培养,学生就业率逐年上升,从2018届毕业生的90.79%到2020届毕业生的95.25%,说明按照学生就业意向选择培养,可提高学生就业率,其中不乏自主创业的学业。

3.5 用人单位的满意度调查

实施论文分类培养,用人单位对毕业生的满意度逐年上升,从2018届毕业生的93.55%到2020届毕业生的97.26%,说明培养的学生能更快适应工作需求,得到用人单位的认可。

4 结语

对于“双创”背景下的本科毕业论文的教学模式改革,要充分考虑学生的培养目标和学校的定位,参照学生的兴趣和职业意向等,满足不同的学生需求,尽管已经取得了一些成绩,但还存在一些问题,如学生的需求多样性、教师的应用实践能力等,这些

需要在实践中逐步去完善。

参考文献:

- [1] 王又容,方华. 本科毕业论文现状与思考[J]. 教育教学坛, 2017,9(39):243-244.
- [2] 赵宏伟,秦昌明. 本科毕业论文形式多样化管理的探索与实践[J]. 实验技术与管理,2018,4(35):171-172+207.
- [3] 王来. 基于创新创业人才培养的经管类本科毕业论文多元化

探索[J]. 中国市场,2018,11(33):189-190.

- [4] 龚中良. 机械类专业本科毕业设计分类指导策略[J]. 中南林业科技大学学报(社会科学版),2011,5(5):189-190.
- [5] 陈杰,周红志,康卫,等. 独立学院毕业论文分类管理探索与实践[J]. 大学教育,2019,8(11):213-215.
- [6] 陈广丽,陈丽. “双创”下地方普通本科院校财务管理专业毕业考核方式改革研究[J]. 知识经济,2020,4(22):103-104.

(责任编辑:陈圆圆)

叙事医学与电影叙事的碰撞 ——影视教育中的医学人文

张松竹, 李雪峰

(新乡医学院三全学院外语系,河南 新乡 453003)

摘要: 提升医学生人文素养的需求迫在眉睫。在人文课程教育中引入叙事医学理念,通过影视医学教育培养学生的叙事能力,将该理念延续并贯穿医学生在校教育阶段及其职业生涯,可以帮助提升医学生的人文素养。通过探索在叙事医学背景下融入影视人文教育的具体途径及实现方法,推动医学人文精神回归,为构建和谐医患关系与和谐社会打下基础。

关键词: 叙事医学;影视教育;医学人文

中图分类号: G642.0

The collision of medicine and film narrative—medical humanistic education in films and television programs

ZHANG Song-zhu, LI Xue-feng

(School of Foreign Language, Sanqan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: It is urgent to improve the humanistic quality of medical students. Introducing the concept of narrative medicine into humanistic curriculum education, cultivating students' narrative ability through film and television medical education, and extending the concept through the school education and career of medical students can help improve the humanistic quality of medical students. Through exploring the specific ways and implementation methods of integrating humanistic education through film and television programs under the background of narrative medicine, this article tries to lay the foundation for promoting the return of medical humanistic spirit and constructing harmonious doctor-patient relationship and harmonious society.

Key words: narrative medicine; film and television education; medical humanities

医学中蕴含着源远流长的人文理念和本思想。但是,随着医学进步,特别是医学技术的不断发展,人类对医学的研究逐渐迷失在科技进步的梦幻中。医学研究把重心更多地放在与疾病的对抗方面,只考虑如何维持人的生命,不考虑如何提升病人生活质量和生命健康。医生越来越像流水线上的技术工人,只考虑完成自己的工作,不考虑与病人之间的沟通和交流。在高等医学教育领域,为了迎合社会“高度专业化”“技术化”医学人才的需求,往往容易忽略对医学生人文精神的培养,只关注学生知识性和技术性能力的培养。因此,在医学教育中贯穿

医学思维中的价值取向、人格模式和审美趣味,克服医学教育中的人文缺失,构建以人为本、以人为中心的人文教育体系,让医学专业学生明确现代医学的目的不仅是为了治愈疾病,解决人的生理痛苦,更应该为病人的身心健康提供精神帮助,提高病人的生活质量和生命价值,是目前在医学生大学教育中亟待解决的一个问题。医学院校作为将医学知识与人文最直接联系在一起纽带,在相关人文课程教育中引入叙事医学理念,将该理念运用于课程教学实际,根据不同的授课内容采用不同的教学方法,探索在教学实际中培养学生叙事能力和人文精神的具体

收稿日期:2021-04-26

基金项目:河南省教育厅人文社会科学研究项目-安吉拉卡特童话的叙事研究(2020-ZZJH-387)。

作者简介:张松竹,女,硕士,讲师,研究方向:大学英语教学与研究,叙事医学,E-mail:zhangsongzhu111@163.com。

策略,并将该理念延续并贯穿医学生在校教育阶段及其职业生涯,无疑为解决该难题提供了一条可行之路。

1 叙事医学及研究现状

20世纪60年代起,美国部分院校就已经开始了将文学与伦理纳入医学教育体系和过程中的探索。2001年,丽塔·卡伦教授在《叙事医学:形式、功能和伦理》一文中首次将叙事医学(Narrative Medicine)的概念理论化。该理论主张医生在临床诊疗中通过对患者的故事进行认知、吸收、阐释并为之感动,来实现文学叙事对医学实践的积极意义,其主要目的在于培养医疗工作者的倾听技巧以及从比喻和潜台词中发现隐藏信息的能力,从而为患者设身处地的考虑,以此提升共情能力,调整医患关系。卡伦在叙事医学框架内搜集、总结、发展了一批实践操作原则与方法,如采用细读法(close reading)、反思性写作(reflective writing)以及书写平行病例(parallel chart)的方式在叙事医学教学中培养医生的情景理解能力和叙事能力,帮助医务工作者深刻了解患者对病痛的切身体验和感受,与患者共情,以提供更有效的诊疗方案和更优质的医疗服务。叙事医学理论的提出开启了21世纪文学与医学发展的叙事转向,为实现“生物—心理—社会”医学模式提供了全新工具,也为在医学教育中贯穿人文精神的实现提供了新的途径。与此同时,叙事医学作为西方医学教育的新兴理念,现已得到诸如Lancet、The British Medical Journal等国际著名医学刊物的极大重视。

国内学界对叙事医学的研究从21世纪初逐步展开。2003年,南京医科大学首次将医患沟通作为一门科学纳入该校医学生的必修课程。目前,虽然国内很多医学院校也已意识到叙事医学的重要性,但多缺乏“叙事理论”积淀,难以在短期内开展具有一定深度和广度的教育活动。该领域的研究者虽已就叙事医学、医学叙事能力培养等主题提出不同见解,但对将叙事医学理论与方法应用于医学生叙事能力培养的系统性的研究仍较缺乏。与此同时,医学院校作为开展医学教育的主体单位,并未给予叙事医学教育与医学生的叙事能力培养以足够的重视,多数院校仍仅仅依托医患沟通学、医学伦理学等课程来加强学生的医学人文教育,限制了叙事医学教育作用的发挥。少数临床医务人员将叙事医学应用在临床带教的实践过程和临床教学的具体情境中,但相关研究多仍停留在理论阶段或初步实践探索阶段,尚未形成系统的教学与临床应用模式^[2]。相对

而言,北京大学医学人文研究院郭莉萍教授为首的研究团队和南方医科大学杨晓霖教授为首的研究团队在叙事医学的理论研究和教学实践方面都走在全国的前列,为其他院校继续开展叙事医学理论研究提供了丰富的理论借鉴和实践参考。

正如国际医学教育组织(Institute for International Medical Education)所制定的《全球医学教育最低基本要求》中所指出的,医学职业价值、态度、行为和伦理以及交流与沟通技能,与医学科学基础毕业生必须具备坚实的医学科学基础知识与临床技能一样,都是医学生所必须具备的基本素养。作为担负着构建和培养当代医学生人文精神和沟通能力重要职责的医学院校,在培养医学生的叙事表达能力、交流沟通协调能力和反思与共情能力等方面应当发挥自身的积极作用。

2 医学院校通过影视作品开展叙事医学教育的意义

现代临床医学教育之父、医学教育住培模式的开创者威廉·奥斯勒于19世纪末提出了“医学是不确定的科学与可能性的艺术(Medicine is a science of uncertainty and an art of probability)”的观点,指出医学并非“无所不能”。既然医学充满了不确定性,那么想要解决病人的身心问题就不能仅仅依赖于医学中的科学因素,而应转向医学中的人文因素,也就是医务人员和患者家属的叙事素养。然而到了20世纪末,人们却被技术至上和科学至上的盲目自信蒙蔽了双眼,一味地崇尚科学和技术的无所不能,忽视了医学自身的“不确定性”。但现实告诉人们,医学是一门复杂的、充满了不确定性的社会科学,只能给疾病和病人提供技术方面的辅助,其中所蕴含的人文因素才能给病人提供更多的情感和心理支撑。

叙事医学人文教育是医学人文在医学院校的特殊实现模式,是从叙事人文高效过渡到医学专业或近医专业教育的必经桥梁^[6]。在医学院校高等教育教学改革不断深化的今天,探索不同于传统教学模式和教学内容的新型教学方式和教育手段迫在眉睫。影视作品作为信息时代信息传递的重要媒介,既是媒体教育的重要辅助教学手段,与传统文字作品相比又具备生动形象的特点,因此在教学活动中往往受到更多学生的欢迎,教学效果也优于传统的教学模式。医疗影视作品中的情感元素、励志元素以及悬疑元素等都能对人性、道德乃至法制进行反复探讨,医疗影视剧本身自带的话题性会加大社会人对于医疗影视剧的关注程度,同时也能被当代医

学生所喜爱^[3]。

2.1 叙事手段的趣味性

通过影视手段潜移默化地培养学生的医学叙事能力是提升医学生医学人文素养的有效途径之一。相较于枯燥且冗长的文学作品,影视作品通过结合音乐、字幕、声音和图像,将不同的要素进行交叉组合并通过不同的视角完成信息的传递和情感的表达。影视作品中丰富而自然的镜头为观众构建出一个立体而全面的视听空间,更能够吸引观众的注意力,对观众感官的刺激和心灵的震撼效果远胜过文学作品。与此同时,相对于文学作品只能用简单的文字符号来传情达意,影视作品可使用的多元符号更能够帮助塑造出立体的形象并传达深刻的情感。

2.2 叙事内容的高效性

调查显示,若一个人每天花费半个小时阅读,读完一部20万字的长篇小说需要花费若干天甚至月余的时间。但是,如果观看由文学作品改编的影视作品则仅需要2-3小时的时间。对于医学专业的学生而言,日常繁重的课业负担已经使其疲惫不堪,很少有医学生能够花费大量的时间来进行人文知识的学习和文学作品的阅读。在这种情况下,文学作品改编的影视作品不仅可以帮助医学生快速地了解文学作品,抓住作品精髓,体验五味情感,增强反思共情能力,还可以帮助医学生在有限的时间里尽可能多的接触更多的文学作品,从而极大地减低提升自身人文素养的时间成本。

2.3 叙事形式的广泛性

文学作品鉴赏作为一种高层次的文学审美活动,对读者的阅读能力、想象能力和理解能力都有较高的要求。只有读者具备一定的鉴赏能力,才能充分理解文学作品的语言之美,体会到作品中的文学意象并激发自身的想象空间,最终实现充分体会作者情感表达、与作者产生共鸣的目的。影视作品在通过多种元素的交织运用,往往可以将导演或作者想要表达出来的情感以一种相对直白并易于理解的方式传达给观众,因此影视作品的受众相对广泛。

影视作品作为医学生医学人文素养提升的重要载体,可以帮助观者体验不同人生百态,增强移情能力。与此同时,影视作品作为一种学生们喜闻乐见的文学叙事形式,是一类多形式融合的艺术,有更丰富的信息和独特的审美价值,可为医学人文教育所用,并对培养医学专业学生人文素养和叙事素养大有裨益。医学生可以在欣赏和理解影视作品的基础上从人文维度展开讨论、反思活动,对照自身,帮助提升自身的沟通交流能力,也可以思考在自己的学习过程和职业生涯中的所必须面临的生命伦理问题

和道德困境。

3 叙事医学教育融入影视人文教育的途径及实现方法

3.1 输入与细读

通过影视教育的手段对学生进行叙事医学教育,首先需要教师精选医学题材的影视作品,做好高质量的输入。一直以来,医学题材的影视作品都是全球性的创作热门,一大批制作精良且质量上乘的医学题材影视作品涌现并受到人们的广泛赞誉。如由汤姆·沙迪亚克执导的于1998年上映的《心灵点滴》是一部根据真人真事改编的电影,讲的是主人公Patch Adams怀着帮助病人的满腔热忱,从医学院学习期间就开始实践他的情绪治疗法,并开设免费诊所为穷困的人们服务的故事^[5]。2013年首播的剧情电视剧《周一清晨》,讲述了俄勒冈州波特兰市一家医院内5位外科医生在抢救病人的过程中面临的无数次艰难选择。该剧主要关注在医患关系和医疗道德,是一部深度发掘医患关系和医学伦理的优秀作品。除此之外,福克斯出品的《豪斯医生》和美国广播公司播出的《实习医生格蕾》均受到观众的高度评价。近年来中国的医疗题材影视作品也频出精品。2005年播出的《无限生机》、2010年《医者仁心》、2015年《急诊室故事》等作品获得了包括医护工作者群体在内众多观众的喜爱,不仅让观众更近距离理解医护人员的专业生涯和日常生活,也刻画出特定时期丰富多元的社会面貌。医疗题材的电影佳作亦层出不穷,如2018年上映的《我不是药神》,不仅引发了舆论热议,也引起了国家相关部门对落实抗癌药降价保供相关措施的高度重视。

学生通过观看此类影视作品,并在教师的指导下从叙事的角度探索故事背后蕴含的人文意义,可以帮助“培养学生的审美能力,弥补其人生经验的不足,提升其对生老病死以及疾病和患者的理解”^[4]。同时,影视作品不仅可以帮助学生创设出一个贴近实际、尽可能真实的医疗环境并让其去进行体验与感悟,还可将患者和家属的心理变化及医患沟通交流以一种更真实和细致入微的方式表现出来,从而帮助学生在进入临床实习之前对医学实践有一个正确的认识 and 了解。学生们通过细读影视语言中所表现出来的更深层次的含义和内容,也可以帮助提升自身的理解能力、表达能力和沟通交流的能力。

3.2 讨论与反思

影视作品通过影像叙事的方式讲述小人物的疾病故事,让人们有机会倾听曾经被科学的理性话语

所排斥的感性声音,帮助人们重新认识医学存在的意义不仅是关注各种疾病,而应重视在疾病的痛苦中苦苦挣扎的“人”的因素。以叙事医学为代表的医学人文精神的回归提醒我们在医学教育的过程中需要培养医学生重视“人”的个体属性和内心世界,强调重构生命的意义。因此,对医学上的医学人文精神的塑造不能仅仅依靠“满堂灌”的教育方式。观看医学影视作品后,让学生就影片中所揭示的问题进行人文维度的讨论或故事的分享,一方面可以让学生积极参与课堂,通过小组的形式互相启发,共同探讨,从而帮助挖掘其自主学习的潜能,还可以在最大程度上激发其学习的热情和主动参与的意识。

以美国导演兰达·海恩斯执导的电影《再生之旅》为例。影片讲述了一位平常十分自傲而冷酷无情的医生,发现自己喉咙中长了一个恶性肿瘤后不得不从医生的身份变成病人并在他自己服务的医院治疗的故事。“患者可能永远都不能变成一位医生,但是医生却可能变成患者”。美国医生 Lewis Thomas 曾经说过:“医学中最难学的部分之一,就是患者的感受。”只有自己成为患者,才能真正体会到病人在面临疾病和生命危难时的悲伤、痛苦和无助。通过观看这部电影,学生们可以探讨目前社会上医患关系紧张的主要原因以及一些应对的方法。这不仅有助于培养学生的辩证思维能力,也可以帮助学生树立正确的职业观和价值观,从而帮助其在以后的职业道路上走的更远。同时,医学生也可以在这部影片的基础上尝试以这位医生和患者的双重身份来记录自己的疾病故事,通过书写“平行病例”并与自己的“同事”进行讨论和交流的方式来进一步构建自我关系和人际关系,从而帮助促进自身将来医学职业的可持续性和健康发展。

3.3 情景再现与输出

“情景再现”是连接医学人文教育理论和临床医学实践的一个重要纽带。逼真的医学案例情景再现能够使医学生提前融入真实的交际环境和任务环境,岗位指向性较强的模拟场景可以帮助强化医学生任职医务工作后的专业知识应用能力。而医学影视作品中往往包含丰富的医学案例,其中还有很多涉及到医学的伦理问题甚至法律问题。一方面,教师和学生相互合作的基础上将医疗影视作品中的

剧情或是自己的一些真实经历改编成剧本,再以戏剧的形式在课堂上进行“情景再现”,医学生通过自己的亲身感受和近距离的观察研究与反复思考,自身学习的自觉性和主动性可以进一步得到促进,也更容易培养出强烈的学习兴趣,另一方面通常以团队为基础进行的表演和团队成员之间必然频繁发生的合作与交流也可以大大促进医学生的团队合作意识和团队协作能力。在情景再现的过程中,学生需要参与并积极发现解决问题的方法和对策,还要在不同的身份和角色中进行转换,这有利于培养学生换位思考和批判性思考的思维方式。

医学生在完成相关医学病例或医学伦理问题的情景再现后,还可以通过小组讨论、辩论、演讲等形式在教师的指导下进一步吸收和借鉴对正确的人文理念和做法,同时对仍存在缺陷或不足的地方提出意见或建议,从而在医学人文方面得到新的启发与提高。

4 结语

作者通过整合叙事医学研究现状并阐述医学院校通过影视作品开展叙事医学教育的意义,探索叙事医学教育融入影视人文教育的具体途径及实现方法,来帮助提升医学生的生命伦理素养和医学叙事能力,从而为医学人文教育提供新模式和新思路,为推动医学人文精神回归、构建和谐医患关系与和谐社会打下基础。

参考文献:

- [1] Charon R. Narrative medicine: a model for empathy, reflection, profession, and trust[J]. JAMA, 2001, 286(15): 1897 - 1902.
- [2] 刘扬, 郑金等. 叙事医学教育促进人才培养的现状与对策[J]. 新西部, 2019(27): 138 - 139.
- [3] 李莎莉. 医学生素质培养方法及医疗影视作品的参考[J]. 佳木斯职业学院学报, 2020(8): 53 - 54.
- [4] 贺劭丹. 从“最好的告别”到叙事医学人文教育[J]. 叙事医学, 2020, 3(02): 119 - 122.
- [5] 崔酣, 郑晓芳. 《妙手情真》的人本心理治疗思想探析[J]. 电影文学, 2010(17): 92 - 93.
- [6] 杨晓霖. 叙事医学人文读本[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 10 - 11.

(责任编辑:刘鹤香)

翻转课堂在药学教学中的应用研究

周小丽, 赵媛, 钱慧琴, 李彦灵, 苏慧慧
(新乡医学院三全学院药学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 随着社会的进步和对人才需求的提高, 高校教育发生着翻天覆地的变化。翻转课堂是近几年教育教学方法创新的一种全新模式, 对现代教育的发展具有非常重要的作用。翻转课堂的实施不仅能提高教学效率, 而且激发学生的学习兴趣。药学专业教学涉及理论知识较为复杂繁多, 同时需要结合实践。本文以药学教学为例, 介绍翻转课堂在教学中的必要性以及应用。

关键词: 翻转课堂; 药学课程; 教学模式; 教学改革
中图分类号: R91

Application research of flipped classroom in pharmacy teaching

ZHOU Xiao-li, ZHAO Yuan, QIAN Hui-qin, LI Yan-ling, SU Hui-hui

(School of Pharmacology, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: With the progress of society and increased demand for talents, university education has undergone dramatic changes. Flipped classroom is a brand-new model of education and teaching method innovation in recent years, and it plays a very important role in the development of modern education. The implementation of flipped classroom not only improves teaching efficiency, but also stimulates students' interest in learning. The pharmacy professional teaching involves more complex theoretical knowledge and requires a combination with practice. This article takes pharmacy teaching as an example to introduce the necessity and application of flipped classroom in teaching.

Key words: flipped classroom; pharmacy course; teaching mode; teaching reform

近年来, 随着社会的进步和高校教育教学的改革, 多种教学方式在高校教育中得到普及, 这些教学方式对传统的方式和方法进行了创新, 更适应于现代人才的培养。翻转课堂就是众多教学方法中的一种, 它的采用不仅为高校教师的教学打开了新的思路, 而且极大地提高了学生的学习兴趣。翻转课堂通过对学生课堂内外学习时间的调整, 让学生充分地掌握学习的主动权, 将现代信息科学技术应用到学习中, 从而提高学习效率。药学专业教学涉及理论知识较为复杂繁多, 同时需要结合药物研发与生产实践。因此, 将现代信息科学技术应用到药学教学中, 能极大地提高教学质量。翻转课堂作为现代药学专业具有代表性的全新教学模式得到教师和学生的认可。

1 翻转课堂教学模式的特点

翻转课堂作为一种全新的教学模式起源于美国, 它在教学中有明显的应用特点。翻转课堂需要教师在课前为学生提供课堂所用的资料, 这些资料包括音视频资料或者是电子教材, 学生根据教师提供的资料在课前主动完成学习任务。然后在课堂

上, 学生在教师的引导下, 对学习内容进行互相交流和讨论, 对所学内容进一步探究。教师根据学生课堂上提出的问题和讨论结果进行解答并完成巩固练习, 由此可见翻转课堂教学模式的实施需要信息科学技术辅助, 并要求学生能够主动完成学习任务。从翻转课堂的教学流程上来看, 它颠覆了传统课堂上教学时间的安排, 激发不同层次学生学习的积极性, 能很好体现现代教育以学生为本的发展理念。正因翻转课堂这些独特的优势和特点, 使得其越来越受到一线教师以及教育研究者的关注。在高校教育不断创新改革的今天, 翻转课堂依托信息科学技术的优势, 成为现代高校教育改革与实践的重要内容之一^[1]。

2 翻转课堂在药学教学中应用的必要性

药学专业与其他专业在教学上存在着明显的区别, 这主要是因为药学专业的教学不仅需要为学生传授课本上的理论知识, 还需要药物研发及生产实践等方面的补充, 以强化学生对理论知识的理解和记忆, 以及通过实践教学培养他们解决实际问题的能力。从以往药学教学的情况来看, 教师在为学生

收稿日期: 2021-01-14

基金项目: 河南省民办教育协会 2020 年立项项目 - 疫情时期高校在线教育模式的构建与实施 (HMXL2020455)。

作者简介: 周小丽, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 新药研发, E-mail: 22436502@qq.com。

讲解理论知识的时候,往往是以教师的讲解为主,学生被动接受教师讲授的理论知识,这样的教学方式大大地降低了学生学习的积极性,不能在课堂中发表自己的看法和理解,自主学习能力得不到开发,创新思维也得不到培养。再加上很多学生在课前并没有对所学内容进行预习、课前准备不充足,导致在课堂上不太理解教师教授的理论知识和学习兴趣不高。所以,提高学生的实践能力、创新能力和学习积极性是新时代高校药学教育的重要任务。对药学教学模式做出改革,对传统的课堂做出翻转,是现代药学教育必不可少的。采用翻转课堂的教学方式,学生在课前通过平台对相关的药学专业知识进行熟悉和学习,再根据视频学习中的内容查阅相关的文献,进行自主学习,在自主学习的过程中对存在疑问的地方做标记。这样课堂上学生已经了解了需要学习的基本内容,教师就会拥有大量的时间与学生进行沟通和交流,学生也获得足够的时间与其他同学进行讨论,加深对知识的理解和记忆。最后教师根据学生的疑问以及讨论的结果,为学生解疑答惑,指导学生完成作业。翻转课堂的教学模式,彻底改变了传统药学教学中以教师为主体的方式,坚定了学生的主体地位,增强学生学习的主动性,同时还培养了学生的创新思维能力^[2-3]。

3 翻转课堂教学模式在药学教学应用中存在的问题

在药学教学采用翻转课堂的教学方式,从整体上来讲具有很多积极的作用,培养学生的自主学习能力和创新思维能力,但是在实际的应用过程中还是存在一些问题,影响和翻转课堂教学模式的应用。

3.1 课程的适用性问题

药学教学中,难度比较大的就是基本理论方面的知识讲解,在这些章节的教学过程中,学生无论是在理解方面还是记忆方面都有很大的难度,如果在这些章节采用翻转课堂的教学模式,势必会打消学生学习的积极性。所以翻转课堂教学模式的应用也不是一概而论的,需要结合具体的教学内容来确定^[4]。

3.2 课堂教学的重构问题

翻转课堂最大的特点就是课前学生根据教师提供的音视频或者电子教材进行自主的学习,课堂中教师再针对性的进行讲解。所以在采用翻转课堂教学模式时,它的教学效果很大程度上依赖教师对课堂教学的设计。教师要明确哪些教学内容需要学生在课前进行自主学习,哪些内容需要教师在课堂上进行引导和讨论,这些问题都需要教师根据教材内

容进行选择。除此之外还需要根据学生的基础情况调整学习内容。不同层次的学生掌握的基础知识存在着差别,所以尽管是同一个科目不同的层次,可能也需要对课前和课中的学习内容进行调整。以便能调动各个层次学生学习的积极性,培养他们自主学习的能力。

3.3 知识传授或学习的效率问题

与传统的教学模式相比,翻转课堂的应用,需要利用到学生课上和课下两个方面的时间。这与传统的课堂教学方法相比,需要花费学生课下的时间多了很多。对于医药院校的学生来讲,采用翻转课堂后,理论知识加上实践教学,学生面临更繁重的学习任务^[5]。

3.4 知识传授过程中的知识碎片化问题

传统的教学模式,是在课堂中教师系统的将知识进行讲解和梳理。翻转课堂模式的教学方法,教师需要将系统的知识进行切割,一部分内容需要学生在课前进行自主学习,一部分内容需要在课堂上进行集中讲解和讨论,这样难免会造成系统的知识碎片化。学生无法在统一的时间对知识进行系统的学习。

4 翻转课堂在药学教学中的应用策略

从翻转课堂的应用模式可以看到,翻转课堂的进行需要两个条件,一是教师需要根据教学内容和班级学生的情况,搜集适合的学习视频和电子资料,为学生的课前学习打基础;二是在课堂上能够将课前的学习进一步深化,通过互动、讨论、总结,完成学习任务。因此,在药学教学中采用翻转课堂的教学模式,要想有理想的教学效果,需要从以下3个方面进行。

4.1 教师的组织与指导

药学教学中应用翻转课堂教学模式,教师的备课任务与传统教学方式存在很大的不同,一个是课前学习材料的呈现,另一个是课上知识内化的指导。只有这两个方面做好充足的准备,才能为翻转课堂的顺利实施打下基础。

(1)教师要深度解析教学大纲、明确教学目的。采用翻转课堂教学模式,教师需要将教学任务分解成目标明确的各个单元,在此基础上设计导学案,还要根据细分的教学内容完成PPT制作、微课视频录制等课前教学资源的准备。这些课前教学资源的准备是提供给学生自主学习的资料,所以在资料中一定要重点突出、层次分明,并且根据班级学生的学习情况,选择资料时要保持难易适中,层次递进分明。采用翻转课堂教学模式,教师既要考虑到教学内容

和教学目标,还要了解学生的学习能力^[6]。

(2)精心设计问题、引导学生讨论。课前学习资料的准备,是为学生在课堂上拥有更高的学习效率打下基础。教师需要在课前资料准备的基础上,对课上要讨论的问题进行精心设计,以检验学生自主学习的成果,并且通过问题的设计引导和指导学生交流、探究,完成知识的内化和不同层次学生进一步的深度学习。教师对课堂上问题的设计要具有目的性和多样化,不仅要检验学生自主学习的成果,同时还要通过问题的呈现暴露学生知识漏洞、引发学生思考。在问题结束之后要有针对性的点评反馈。这对教师的教学技能提出了更高的要求。只有教师具备娴熟的专业知识和多元的教学方式,再加上信息化教学技术,才能顺利地完成翻转课堂的教学任务。

4.2 学生的自主学习与互动

翻转课堂与传统教学模式最大的区别就是以学生为教学主体,采用翻转课堂教学模式能否取得预期的教学效果,很大程度上是取决于学生参与的积极性和主动性,只有这样才能配合教师完成教学任务。首先,教师要尽可能选择同学们感兴趣的教学视频,从而引发学生的学习兴趣,自觉完成课前的学习任务;其次,在课上学生要能积极的参与到教学中去,主动发表自己的观点,与教师和其他同学展开讨论,锻炼自己的思维能力和解决问题的能力。这样不仅能够完成既定的教学目标,还能培养学生的学习能力,为现代社会需要的药学人才打下基础。

4.3 信息技术的保障

翻转课堂的进行需要借助信息科学技术的支撑。只有这样,在课前教师才能通过平台为学生提供需要的视频资料或者电子教材,学生根据这些资料自主学习完成教学内容。教师在课堂上对学生的引导和答疑解惑也需要借助智能设备完成。因此,采用翻转课堂的教学模式,需要高校根据自身的情况建立本校的网络教学平台,教师通过网络教学平台与学生进行信息传递和讨论交流,这样才有助于翻转课堂教学模式的实现。另外,学生在课前自主学习的过程中,也需要通过网络查询相关资料,完成学习任务。所以,学校要尽可能地铺设校园网络,满足学生的学习需求。

参考文献:

- [1] 王晓晨,张佳琪,杨浩,等.深度学习视角下高校翻转课堂教学模式研究[J].电化教育研究,2020,41(12):85-91.
- [2] 苏海红,林僖.高校“翻转课堂”教学模式改革的探索和应用研究[J].上海管理科学,2020,42(05):122-125.
- [3] 董秀,王淳,王彩霞,等.细胞生物学开展翻转课堂教学模式的改革与实践[J].基础医学教育,2017,19(4):246-248.
- [4] 洪俊丽,徐志成,许贯虹,等.翻转课堂在药物分析教学中的实践效果分析[J].基础医学教育,2017,19(10):729-732.
- [5] 任远坤.探讨翻转课堂在高校教育学中的应用[J].科学咨询(教育科研),2020,21(10):46-47.
- [6] 解增言,浦丹,袁帅.高校课程翻转课堂学习平台建设及应用实践[J].教育教学论坛,2020,12(38):199-200.

(责任编辑:陈圆圆)

泛在学习视域下医学院校大学英语课程思政的融合路径研究

马斐, 崔倩

(新乡医学院三全学院外语系,河南 新乡 453003)

摘要: 本文基于后疫情时代的新形势,对当下盛行的“泛在学习”这一新型理念进行概述,以习近平总书记在全国高校思想政治工作会议讲话精神和教育部印发的相关文件为指引,从教学目标、授课时长、思政人文价值根基、隐形教育功能等 4 个方面分析医学院校大学英语教学中实施“课程思政”得天独厚的优势,从 5 个方面全面研究医学院校大学英语教学中融合课程思政的路径:提升英语教师的思政德育意识和能力;从英语教学大纲、教学内容和教学方法等方面全面实施教学改革;不同模块分类融合课程思政;加强新媒体的应用,实施混合式教学;开设英语思政选修课,开展丰富的第二课堂,旨在提升医学生的思政和人文素养,帮助医学生树立正确的三观,培养既有国际视野又有家国情怀、德才兼备的医学人才。

关键词: 泛在学习;医学院校;大学英语;课程思政;融合路径

中图分类号:G642.0

Integration path of ideological & political education in college English courses of medical colleges based on ubiquitous learning

MA Fei, CUI Qian

(School of Foreign Language, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

收稿日期:2021-04-09

基金项目:新乡市社科联重点调研课题-后疫情时代下基于泛在学习理念的医学院校英语课程中思政元素的渗透路径研究(2020-355)。

作者简介:马斐,女,讲师,硕士,研究方向:医学人文教育、翻译理论与实践,E-mail:798601770@qq.com。

Abstract: In the post-epidemic era, this paper summarizes the prevailing new theory "Ubiquitous Learning", analyzes the unique advantages of implementing "course ideological & political education" in college English teaching in medical colleges from four aspects: teaching objectives, teaching duration, ideological & political humanistic value foundation and invisible educational function based on the spirit of General Secretary Xi Jinping's speech at the National College Ideological & Political Work Conference and related documents issued by the Ministry of Education, and comprehensively studies its integration approaches from five aspects-- enhancing English teachers' awareness and ability of ideological & political moral education, comprehensively implement teaching reform from the aspects of English teaching syllabus, teaching content to teaching methods, respectively integrating curriculum ideological & political education according to different English modules, strengthening the application of new media and implementing mixed teaching, offering English ideological & political and humanistic courses and enriching second classes, which aim at improving medical students' ideological & political and humanistic qualities, helps them to establish correct outlooks on world, life and value, and cultivates brilliant medical talents with patriotism and international vision.

Key words: Ubiquitous Learning; medical colleges; college English courses; course ideological & political education; integration approaches

本次新冠肺炎疫情肆虐全球,我国能在短期内有效控制疫情,并且整体形势持续向好,在很大程度上得益于我们的医务人员。正是由于他们精湛的医术、高尚的医德、深厚的爱国情怀、强烈的社会责任感以及勇于奉献的精神,才拯救了我国数万人的生命。在后疫情时代下的医学教育中,除了要培养医学生精湛的医术之外,更要注重对医学生的思政和人文教育,而这单单靠思政课的教育很难实现,需要其他课程的共同努力。大学英语课程兼具工具性和人文性的双重性质,决定了其具有传授语言文化、提高思政和人文素养的双重使命。因此,将思政教育融入专业课程中,大学英语责无旁贷。本文旨在研究医学院校英语教学中如何实施“课程思政”,提升医学生的人文素养,引导医学生树立正确的三观。

1 泛在学习理念

“泛在学习”,即利用最先进的信息技术手段,任何人可以在任何地方,以任何方式,通过任何设备,获取自己所需的任何信息和任何学习支持^[1]。泛在学习的环境里,学习者可借助便捷的移动终端,获取海量的学习资源,进行无处不在的学习和无时不刻的沟通,以促进个性化的自主学习^[2]。泛在学习理念将移动学习、网络学习、碎片化学习、智慧学习和自主学习等多种学习理念融为一体,它更强调学习个性化、环境智能化和资源开放性^[3]。这一教学理念在很大程度上释放了传统教育的固化理念,使个人学习和日常生活实现无缝对接^[1]。

2018年4月,教育部发布的《网络学习空间建设与应用指南》提出,要建立人人皆学、时时能学、处处可学的泛在学习环境,以适应信息化条件下教与学的需求,推进正式学习与非正式学习相融合,建立智能化学习支持环境,有效支持适应性学习^[1]。受本次的新冠肺炎疫情的影响,几乎全国所有的高

校都在全面推进各类网络资源和现代信息技术的深度融合,积极应对“教学防疫战”,进行教育教学改革,“泛在学习”由此被推向了全国的师生。

2 医学院校大学英语教学中实施课程思政的优势

2016年12月,在全国高校思想政治工作会议上,习近平总书记明确指示,高校必须弘扬社会主义核心价值观,以“立德树人”为根本任务,将思政工作贯穿到教育教学的全过程;除思政理论课外,其他各类课程都要守好一段渠、种好责任田,并与思政理论课同向同行,形成协同效应。2019年8月,国务院办公厅印发的《关于深化新时代学校思想政治理论课改革创新的若干意见》中强调,高校要发挥好每门课程的育人功能,全面推动“课程思政”实施^[4]。2020年5月,教育部印发的《高等学校课程思政建设指导纲要》提出,专业课程是课程思政建设的基本载体,要实现门门课程有思政^[4]。《大学英语教学指南》(2020版)针对大学英语的“课程定位和性质”也明确指出:大学英语教学应主动融入学校课程思政的教学体系,助力高校落实立德树人的根本任务。由此可见,在高校的英语课程中实施“课程思政”,全方位对学生进行思政教育,对于高校落实立德树人的根本任务至关重要。

(1)大学英语和思政教育在教学目标上具有一致性。《大学英语教学指南》(2020版)针对英语课程的教学目标明确强调:英语课程旨在增加学生和社会、科学、文化等领域的知识储备,拓宽国际视野,提升综合文化素养,树立正确的三观^[5]。这和思政教育的目标不谋而合。

(2)在医学院校所有人文课中,大学英语的授课时间最长,持续学时高达4个学期。并且,作为医学生本科教育阶段的公共基础课和核心通识课,大

学英语的授课对象是全体医学生,受众学生最广,覆盖面最大,学时最多,所占学分最高,学习时间跨度最长,为课程思政教育的稳定性和持续性提供了良好的条件,是医学院校实现医学思政和人文教育的天然载体和主要阵地。

(3)课程思政的难点在于要在各个教学环节中润物无声地育人,而不能生硬牵强地灌输思政内容。而大学英语以语言为载体,课程内容涵盖自然、科学、社会、文化等各个领域,蕴含了丰富的思政元素,自带思政育人和人文价值导向的功能。因此,英语和思政两门课程有共通之处,为医学生提供了良好的人文价值根基,更有助于教师有效地实施课程思政^[6]。

(4)在医学院校,相比其他课程,大学英语本身具有较强的隐性教育功能。大学英语作为一门语言文化课程,课程内容多样,教学形式新颖,教师在教授英语知识和文化的同时,将德育巧妙地隐潜于课堂内容和活动当中,在不知不觉中对学生的思想和行为产生影响,以“春风化雨,润物无声”的方式实现隐形育人的目标,有效地增强了思政德育的效果。

3 医学院校大学英语课程思政的融合路径

3.1 提升英语教师的思政德育意识和能力

(1)学校应提供相关的政策支持和平台支撑,将教师的德育能力纳入考核评价体系,形成教师的评价激励机制;针对英语教师缺乏思政背景,学校应提供系统化和常态化的思政培训,提升他们的思政德育水平和政治敏感度,逐渐引导英语教师增强育人意识和思政实践能力。

(2)院系应围绕“课程思政”展开英语教学研究和实践,并为德育制定教学标准,并鼓励英语教师与思政课教师进行全方位长效合作,打破学科壁垒,推动师资联动与课程融合。打造英语“课程思政”的示范样板,选拔英语“课程思政”的优秀教师,遴选英语“课程思政”的优秀教材和案例,组织英语“课程思政”公开课和教学竞赛,全方位调动英语教师践行“课程思政”的积极性^[7]。

(3)教师是实施课程思政的关键,育人先育己,英语教师应当强化自身的师德师风建设,自觉地树立育人意识,提升自身的思政德育能力,改变以往“重知识、轻德育”的教学理念,以大学英语为载体,充分融入思政元素,实现教书与育人的统一。

3.2 全面实施教学改革

3.2.1 修订英语教学大纲 原有的英语教学大纲过于强调语言知识技能的学习,德育内容涉及很少,

忽视了对学生医德价值的引领和思政教育的塑造。因此,要在大学英语课程中有效地融合课程思政,首先应着力于修订教学大纲。在教学大纲中增设思政德育目标,增添中国传统文化教育、医德医风教育、爱国主义教育、理想信念教育、医学人文素养、时政要闻等内容,确保思政教育能够融入到大学英语教学的各个单元、各个主题、各个教学模块、各项课堂活动中,在教学过程中隐潜自然地渗透思政元素,培养既拥有国际视野和家国情怀,又有高尚的道德情操和良好的人文素养的卓越医生。

3.2.2 改良英语教学内容 首先,我国传统中医药文化是医学院校实践思政人文教育的源头活水,教师可将大医精诚的医德医风、医者仁心的价值观念、悬壶济世的使命担当等这些中医药文化的精髓融入到英语教学内容之中,厚植医学生的职业精神、理想和情怀,以更好地融入未来的职业发展^[8]。其次,作为医学院校,大学英语教学中要充分利用我国抗疫这本活教材,开展抗疫小课堂、宣扬抗疫英雄的事迹、引领学生重温医学生誓言,强化医学生的责任担当,引导学生厚植爱国主义情怀,开展英语课程思政教育。另外,教师可充分利用英语课程本身自带的语言文化优势,将中华文化素材选进课堂教学,如中国的传统节日、古典诗词等,增强学生对我国传统文化的了解和自信,提升医生用英语讲好中国故事和传播中华文化的能力。

3.2.3 创新英语教学方法 避免生硬说教,充分利用多元课程资源,将各个模块灵活重组,深挖思政元素,全过程地植入教学之中。教师课堂上可组织丰富多彩的英语课堂活动,激发学生对思政德育话题的参与积极性,在强化语言知识应用的同时,隐潜地渗透思政德育元素,潜移默化中引导学生树立正确的三观。

3.3 不同模块分类融合课程思政

大学英语课程包含了听、说、读、写、译等五种不同类型的教学模块,每个教学模块都具有不同的知识特点和教学方式,因此在医学院校的大学英语教学中,可根据不同模块分类施策,开展多样化的思政教育方式,充分挖掘每个模块的思政元素。

(1)听力模块。教师可选取与思政教育相关的听力材料,对学生进行简单初级的思政熏陶。如教师可选取学习强国上“头条英文播报”的一段关于中国政府与世界卫生组织合作抗击新冠肺炎疫情的英语新闻,将其放在U校园的网络教学平台上,巧妙利用作业发布区,让学生选择材料问答或个人陈述之后上传音频。

(2)口语模块。教师可根据单元主题选取契合

的思政话题,学生之间开展思政对话,在用英语交流互动的同时,形成健康正确的思政观。如,《新视野大学英语2》听说教程第三单元《A Fork in the Road》,是关于青少年成长之路上的抉择,教师可以课前在雨课堂上发布我国处于新冠肺炎病毒疫情的危急时刻之时,青年人如何奉献在抗击疫情一线的英勇事迹材料,特别是新冠肺炎疫情肆虐期间主动退掉春节的车票、选择奋战在武汉抗疫一线的郝莺歌同学的事迹材料,课前启发学生思考,课堂上引导学生对新时代青年的责任和担当进行口语探讨。

(3)阅读模块。教师可根据单元主题和内容,引入具有深度的思政教育材料,促使学生在阅读、分析和推理过程中学习正确的思政理念^[9]。以《新视野大学英语1》读写教程为例,第一单元课文是关于大学生生活规划和人生选择,第四单元则是有关英雄的探讨,这些都与思政教育中的职业规划、价值观教育、理想信念教育等内容不谋而合。特别是第四单元关于“英雄”这个主题,英语教师可将我国在本次新冠肺炎疫情中做出重大贡献的钟南山、张伯礼、陈薇等抗疫英雄融入授课内容中,在介绍这些时代英雄用精湛的医术和无私奉献的精神保卫国家和人民生命安全的事迹时,引导学生学习这些抗疫英雄的家国情怀和勇于担当的精神,启发学生思考自己的理想信念和职业追求,帮助学生树立正确的人生观和价值观。

(4)写作模块。教师可以根据单元主题设置思政话题,开展英语写作活动,拓展并深化学生对思政主题的认识。如,《新视野大学英语3》读写教程的第二单元《Swimming through Fear》的写作模块,教师可以提前在微信公众号上发布CGTN的一段视频短片《战武汉》作为引导,鼓励同学们查找相关资料,体会抗疫精神,结合该单元记叙文的写作技巧,让学生对自己在疫情期间的心路历程进行写作练习。

(5)翻译模块。教师在每个单元的课后练习时选取思政翻译材料,既是对英语四、六级考试翻译模块训练的强化,又提升了医学生的思政和人文素养。如,《新视野大学英语2》读写教程第三单元的课后习题可选取“中国孝道”的汉译英材料。百善孝为先,孝道是中华民族优秀传统文化的优秀传统文化。通过翻译这段文字,不仅能积累医学生的文化输出,更能增强医学生对中国传统文化的自信心。

3.4 加强新媒体的应用,实施混合式教学

在医学院校大学英语“课程思政”的教学实践中,发挥新媒体的优势,打造大学英语思政教育的“移动课堂”。通过“线上+线下”与“课内+课外”

相结合的泛在化学习环境,开展微课、慕课、快课、云课堂、翻转课堂等教学模式,充分利用超星学习通、中国大学MOOC、网易云课堂、U校园、雨课堂、智慧树、学习强国等平台^[10],加强微博、抖音、快手、QQ、微信等新媒体工具的应用,结合人工智能、VR/AR、大数据、云计算等前沿信息技术,开展混合式教学,打造声情并茂、丰富多彩、感染力强的英语思政课堂^[11],普适无缝地将思政和人文教育贯穿于医学生的日常生活和英语学习之中。

3.5 开设英语思政选修课,开展丰富的第二课堂

(1)医学院校可以拓展英语课程设置,除英语必修课外,开设以“思政”为主题的英语选修课或双语课,课程内容可与中华文化、传统中医药文化、医学人文、习近平系列讲话、时政热点新闻等相关,增强学生对民族文化的自信和认同,同时提升学生用英语讲故事的能力。

(2)开展丰富多样的“第二课堂”,如:举办医学人文和思政讲座,开展英语思政社团,举办英语辩论赛、演讲比赛、写作大赛、阅读比赛、英文歌曲大赛、读书分享会等活动,组织学生担任国际论坛、国际盛会、体育赛事等的志愿者,将英语的课程思政建设由课堂学习延伸到课外实践之中^[11]。

4 结语

实施大学英语“课程思政”的教学改革与实践,是医学院校坚持社会主义办学方向、落实立德树人根本任务的必然使命和重要途径。英语教师应当牢牢把握“立德树人的”根本任务,切实树立德育工作意识,提升课程思政工作能力,最大程度上发挥大学英语课程的德育功能,在医学院校构建立体化育人体系、实现多学科协同育人过程中贡献自己的力量,既重视学生英语语言和技能的提升,更注重对学生道德和价值观的引领。

参考文献:

- [1] 冯铃,李泽颐.泛在学习环境下的大学英语课程教学改革[J].教育教学论坛,2020(50):174-176.
- [2] 张洋.泛在学习环境下大学英语的思政融入路径探究[J].现代交际,2019(21):15-16.
- [3] 祝智庭.教育技术前瞻研究报道[J].电化教育研究,2012(4):5-14,20.
- [4] 徐慧玲.课程思政有效融入综合英语教学的策略探析[J].牡丹江教育学院学报,2020,38(09):87-89.
- [5] 向明友.顺应新形势,推动大学英语课程体系建设——《大学英语教学指南》课程设置评注[J].外语界,2020,41(04):28-34.
- [6] 梁文霞,李锦霞.外语教学中的课程思政实施途径研究[J].河北青年管理干部学院学报,2020,32(6):58-61.
- [7] 庞建茹,陈洁.课程思政背景下医学专业教师德育能力提升路

- 径研究[J]. 南京医科大学学报(社会科学版), 2020, 6(101): 603-607.
- [8] 穆瑞峰. 中华传统文化提升高校医学生人文路径研究[J]. 湖北开放职业学院学报, 2020, 33(22): 35-36.
- [9] 闫子真. 课程思政在大学英语教学中的实践路径研究[J]. 陕西教育(高教), 2020, 14(10): 17-18.
- [10] 赵春贺. 泛在学习理念下促进大学生英语自主学习的策略[J]. 才智, 2020, 20(01): 66.
- [11] 崔国鑫. 高校外语专业课程思政建设思考与探索[J]. 国家教育行政学院学报, 2020, 22(10): 37-41.
- (责任编辑: 刘培培)

创新驱动背景下大学生创新创业教育体系构建

衣志爽, 王静, 王诗雅, 高焕君, 姜晓花

(新乡医学院三全学院临床学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 创新创业教育重点在于培养学生的创新创业精神、意识、思维和能力, 是现阶段高等教育教学改革的重点方向之一。本文在研究国内外文献、对先进进行调查的基础上, 分析和探讨了目前我国大学生创新创业教育存在的不足之处; 在总结先进经验, 并立足我国国情的基础上, 研究构建符合我国特色的大学生创新创业教育体系, 以驱动创新创业发展, 建设创新型国家。

关键词: 大学生; 创新创业; 教育体系

中图分类号: G642

Construction of college students' innovation and entrepreneurship education system under innovation-driven background

Yi Zhi-shuang, Wang Jing, Wang Shi-ya, Gao Huan-jun, Jiang Xiao-hua

(School of Clinical Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: Innovation and entrepreneurship education focuses on cultivating students' spirit, consciousness, thinking and ability of innovation and entrepreneurship, which is one of the key directions of deepening the reform of higher education teaching at present. Based on the research of domestic and foreign literature and the investigation of advanced technology, this paper analyzes and discusses the shortcomings of innovation and entrepreneurship education for college students in China. On the basis of summarizing advanced experience and China's national conditions, this paper studies and constructs an innovation and entrepreneurship education system for college students in line with China's characteristics, so as to drive the development of innovation and entrepreneurship and build an innovative country.

Key words: college students; innovation and entrepreneurship; education system

创新创业教育是在变革传统教育教学方式下, 旨在培养学生创新创业意识、思维、精神和能力的教育理念和模式。其基本特征为创新性、创造性和实践性, 内容体系包含创新创业意识培养、能力提升、环境认知和实践模拟。一个完整的创新创业教育培育体系包括高校、政府、企业、家庭、学生等多个子系统, 各子系统之间相互联系、相互作用、相互支撑^[1]。作为创新创业教育体系的主干, 高校在创新创业教育培育体系中发挥着关键作用, 在高校广泛开展创新创业教育也是现阶段高等教育深化改革的重点方向。在国外, 大学生创新创业教育因为起步较早, 模式已经较为成熟; 比较而言, 我国的大学生创新创业教育因为起步比较晚, 体系还在探索。基

于此背景和现状, 在研究文献、调查先进、总结经验以及立足国情的基础上, 研究构建符合我国特色和创新驱动发展战略的大学生创新创业教育体系。

1 国外大学生创新创业教育的特点

1.1 先进的教育理念

在美国、英国、德国、法国和日本等国家, 因为大学生创新创业教育起步较早, 经过了多年不断的探索与实践, 已经逐步形成了较为先进的具有战略性的教学理念和教育理念。美国是承诺让“学生自由发展”, 英国是着重培养学生的创新创业精神和技能, 德国提出高校要成为“创业者的熔炉”, 新加坡提出“教育必须要配合经济发展”的教育方针, 法国

收稿日期: 2021-07-07

基金项目: 新乡市社科联重点调研课题-“创新驱动发展战略背景下大学生创新创业教育体系构建研究”(2020-334); 新乡医学院三全学院2019年“专创融合”课程建设项目“医学生创新创业教程”。

作者简介: 衣志爽, 女, 硕士, 讲师, 主治医师, 研究方向: 医学教育、精神心理卫生学研究, E-mail: 595483567@qq.com。

则是把创新创业教育作为增强国家整体竞争力的一项重要推动力^[2-3]。在科学的教育理念引领下,美国、英国、德国、法国和日本等国家的创新创业教育从最开始的专注培养“企业家”逐渐转变成培养“企业家精神”,摒弃了功利化倾向,培养出了真正的创新型人才。

1.2 完善的课程体系

美国由于开展创新创业教育较早,并经过多年不断的探索与发展,在课程设置方面已经有着成熟的体系。比如美国各大高校相继开设的创新创业类课程达两千余种,不仅数量庞大,而且种类繁多,可以满足不同学科、不同专业高校大学生的差异化需求。英国大学的创业教育实施形式多样,不仅有专门的创业教育课程,还有渗透在其他专业课程中的创业教育,以及课程以外的创业教育活动。除此之外,英国政府部门以及各地方协会组织还会通过提供资金、教学资源 and 召开学术会议等形式支持创业教育实践,这些都对我国高校的创新创业教育提供了一定的借鉴意义^[4]。

1.3 优秀的师资队伍

创新创业教育要想健全和发展,必须要有一支优秀的师资队伍作为保障和基础。美国、英国、德国和日本等国家的创新创业师资队伍由专职教师和兼职教师共同组成,教师来源多元化。通过对比我国现状,不难发现,美国高校在创新创业教育师资队伍建设方面有许多好的经验值得我国学习和借鉴,尤其在教师聘用方面,采用了短期合同制和终身合同制的聘用方式,使教师工作的积极性得到了大大的提高^[5]。英国高校师资力量在不断扩大规模的同时,还有着更重视实践的特点。英国超过一半的创新创业教师有着企业管理经验,部分教师还有着创业的相关经验^[6]。

2 我国大学生创新创业教育存在的不足

2.1 高校对创新创业教育体系的内涵认识不深刻

创新创业教育体系是在变革传统教育教学方式下,具有时代意义的一种创新教育理念和创业实践活动。其核心目标是培养具有开创性精神和能力素质的高校大学生,使其最终成为创新型人才。然而,当今社会我国部分高校对待创新创业教育的思想观念仍然较为陈旧落后,对其内涵缺乏深刻的认识,仅仅是把创新创业教育拿来当做缓解当下大学生就业的一种补充形式,并没有把它当作是一种长期的培养优秀人才的行为,从而导致创新创业教育内涵和价值的缺失。

2.2 高校创新创业教育课程体系不成熟

创新创业需要具有创新价值,定位模糊、缺乏针对性的教育课程制约着创新创业教育的健康发展,使大学生对创新创业的理解较为肤浅,从而失去了创新创业精神真正的意义所在。缺乏科学性的教育理念,无法使学生深刻地理解和认识创新创业的实质内涵。在课程设置上比较随意化,也导致学生无法系统全面地接受和掌握创新创业的知识和技能^[7]。我国大多数高校的办学条件和师资力量是比较薄弱的,创新创业课程的针对性不够强、覆盖面也不够广,不同专业、不同学科的学生都没有得到适合自己的教育方案;除此之外,教材编写缺乏专业性也是造成我国创新创业的教育质量不高的原因之一。

2.3 高校创新创业教育团队不专业

教师不仅是教育体系的构建者和实践者,同时也是教学活动的组织者和管理者,以及教育理论研究的主体力量。我国高校大多数从事创新创业教育的教师都没有创业的经历,只具备理论而缺乏实践经验,还有相当一部分创新创业课程是由兼职教师任教,没有形成专业化的教师团队^[8]。创新创业型人才的短缺更是加剧了教师团队经验不足、整体素质不高的问题。总之,我国创新创业教师团队在数量、结构和质量方面都存在种种问题,成为制约我国创新创业教育健康发展的重要因素^[9]。

3 完善大学生创新创业教育体系的对策与建议

3.1 完善组织结构,优化创新创业管理机制

高校创新创业工作的展开要结合学校领导、就业指导中心、校团委、校宣传中心、学生会等相关部门共同合作,建立一套完整的创新创业生态链可以使校内的创新创业体系得到进一步的发展。首先建立针对性强的就业指导中心,由校内领导和相关专业老师共同组成创新创业团队,组织协调高校内部创新创业的相关工作;然后成立书院创新创业分部,下至学生会、社团以及学生个人,加大宣传力度,定期开会交流意见分享心得;学校和学生能够一起努力将创新创业工作落到实处,发挥学校就业指导中心的职能,将创新创业的观念深入学生心中,为学生创新创业提供便利条件,不去追求形式化,这样才能积极地促进创新创业教育体系的不断完善。

3.2 建立以学生为主体的多样化教学方法

除了理论知识讲解以外,教师还可以采取案例教学、互动式教学、情境模拟教学等多种教学方法,

引导学生自主地发现问题、探究问题、解决问题,构建以学生为主体的多样化教学方法。新乡医学院三全学院临床学院自2019年以来创新开展“课题教学法”,让同学们以班级为单位进行分组,3~7人为一小组,每个小组设一名组长。然后找一个感兴趣的方向自拟题目,自主采集信息,进行市场调研,并对调查回来的数据进行分析,最后以书面报告+PPT阐述的方式把自己的成果呈现出来。课题教学法大大提高了大学生创新创业的积极性和主动性,创业意愿较前相比提高了17.5%,并且对创新创业课程满意度调查结果显示非常满意和比较满意率达91.9%。

3.3 构建多学科的综合立体化课程体系

各大高校的创新创业教育体系不应该格式化,应当建立一种开放的育人模式。要充分考虑到不同专业不同学科学生对创新创业教育的不同需求,建立与其相适应的课程体系。根据学生的学科、专业以及兴趣爱好等为其提供差异化的创新创业课程和相应的组织保障,结合地区经济发展特点和各高校自身的教学特色构建综合性立体化的创新创业课程体系^[10]。除此之外,各高校还要努力提升自身的创新创业师资队伍水平和课程质量,设立针对性强、覆盖面广的创新创业课程体系,通过将教学课程与互联网相结合、构建多元化的创新创业实践训练平台、设立校园孵化园众创空间等增加教育形式,使学生们接受多方位、多元化的创新创业教育课程。

3.4 打造专业化的高校创新创业教育团队

创新创业教育的本质特征为创新性、创造性和实践性,这就要求从事创新创业教育的教师不仅要具备扎实的创新创业理论知识、素养以及丰富的实践经验,而且还能够将创新创业的理论知识与实践有机融合,激发出大学生主动参与创新创业的热情,增强学生自主创业的信心。我们应当广集社会力量,寻找创新创业教育的资深专家,成立培训小组,培训高校授课的老师,丰富老师们的理论知识,提高老师们的整体素质;另一方面,我们应当号召当地知名企业家和社会成功人士到校授课,传授一些创新创业的实践经验,在学生创新创业的路途中给予指导。

3.5 完善科学的创新创业教育评价体系

与传统的教育评价体系相比,创新创业教育评价体系更加复杂、更加全面。这就要求我们必须利用多种评价手段和评价工具,构建一套科学的、完善的创新创业教育评价体系。新乡医学院三全学院采

用基于雨课堂的形成性评价方式,将课前预习、课中表现、课后作业及课外拓展等作为评价的重要指标,不仅使得评价指标更加多样,而且雨课堂自动收集后台数据的功能也大大减轻了老师的工作量^[11]。除此之外,我们还探索地把创新创业竞赛、科研论文、科研项目、科研成果和发明专利等纳入到学生成绩考核,旨在让学生在学中领悟知识,在训练中体验知识,在实践中运用知识,以达到全方位、立体化地培养大学生的创新精神和能力的目标。

4 结语

在创新驱动发展的战略背景下,具有创新精神和创新能力的创新型人才成为了推动我国经济发展和进步的重要推力,作为培养人才的摇篮,各大高校肩负着重要的使命和任务。各大高校应该结合地区经济和自身条件,以增强学生创新精神、提高学生创业实践能力为出发点,着力构建符合我国特色的大学生创新创业教育体系,争做创新创业教育改革的示范者和引领者。

参考文献:

- [1] 王长恒. 继续教育研究——高校创新创业教育生态培育体系构建研究[J]. 继续教育研究, 2012, 29(2): 124-126.
- [2] 李莎, 王林雪, 康晓玲. 美、印、日高校创业教育比较及对我国的启示[J]. 西安电子科技大学学报, 2009, 19(5): 126-131.
- [3] 黄兆信, 曾尔雷, 施永川. 美国创业教育中的合作: 理念、模式及其启示[J]. 高等教育研究, 2010, 31(4): 105-109.
- [4] 孙珂. 21世纪英国大学的创业教育[J]. 比较教育研究, 2010, 32(10): 67-71.
- [5] 李建中. 美国大学的创新教育及启示[J]. 创新与创业教育, 2012, 3(4): 103-106.
- [6] 张莉, 李晓波. 国外高校创业教育师资队伍建设及其启示[J]. 煤炭高等教育, 2011, 29(1): 101-103.
- [7] 张琼. 知识运用与创新能力培养——基于创新教育理念的大学专业课程变革[J]. 高等教育研究, 2016, 37(3): 62-67.
- [8] 何理均. 新时代高职院校创新创业专业师资队伍的培训培养机制构建研究[J]. 发明与创新(职业教育), 2021, 38(02): 22-23.
- [9] 庄丽, 朱林, 季小燕. 互联网+背景下高校创新创业实践教育体系构建研究[J]. 高教学刊, 2021, 7(09): 32-35+39.
- [10] 周伟, 黄祥芳. 高校创新创业教育课程体系研究[J]. 合作经济与科技, 2012, 28(16): 92-93.
- [11] 衣志爽, 李德力, 姜晓花, 等. 基于雨课堂的形成性评价在临床技能学教学中的应用[J]. 中华医学教育探索杂志, 2020, 12(02): 153-156.

(责任编辑:陈圆圆)

基于翻转课堂的人体解剖绘图比赛在人体解剖学教学中的应用体会

毛文锋, 黄敏杰, 苗莹莹

(新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 人体解剖学是医学教育中重要的一门基础形态学科,解剖绘图在解剖学的教育中有很重要的作用。通过翻转课堂,承办人体解剖绘图比赛,与解剖学教学相融合,有利于医学院校内多学科资源相融合,促进解剖学理论在实践中的创新应用。开展解剖绘图比赛,能够提升医学生医德素养,夯实医学基础,培养和强化学生强烈的爱国主义和高尚的职业道德。作者就新乡医学院三全学院举办的人体解剖绘图比赛在解剖学教学中的实践,应用体会、启发及展望进行探讨。

关键词: 翻转课堂;人体解剖绘图大赛;人体解剖学;教学改革实践

中图分类号: G642.0

Application of anatomical drawing competition based on flipped classroom in Human Anatomy teaching of medical undergraduates

MAO Wen-feng, HUANG Min-jie, MIAO Ying-ying

(School of Basic Medicine, Sanquan College Of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: Human Anatomy is the most important basic discipline of morphology in medical education, and anatomical drawings are very important in anatomical education. By flipped classroom, hosting the human anatomical drawing competition and integrating with anatomical teaching can facilitate the integration of multidisciplinary resources in medical institutions and promote anatomical theory in practice. The implementation of anatomical drawing competition can enhance medical students' medical ethic, consolidate medical foundation, cultivate and strengthen students' patriotism and noble professional ethics. This paper discusses the exploration, application, inspiration and prospects of the human anatomical drawing competition held in our school.

Key words: flipped classroom; anatomical drawing competition; Human Anatomy; teaching reform practice

解剖学是医学科学的基础,主要侧重于人体组织和器官的形态学结构,发生和发展,是医学教育的重要基础主题。医学生可以获得有关人体形态和结构的医学知识,并通过解剖学学习医学、诊断成像和医学专业的语言并最终应用于临床实践^[1]。解剖学学习是医学教育中的具有繁重和挑战性的工作,原因在于对于初接触解剖学的学生而言,人体结构复杂,解剖专业术语晦涩难懂,记忆的学习内容太多,同时在传统以教材为中心,教师为主导的填鸭式教学模式下,学生在学习过程中极易产生厌学情绪,降低学习兴趣,理论知识与实践能力不匹配,无法满足临床实践的需求。因此,解剖学教育的传统教学方法应该像医学教育中的其他领域,应用新方法、新技术、新应用优化教学策略,让医学初学者更容易、更方便、更高效的学习解剖学科学^[2]。翻转课堂是一种强调效率,丰富教学空间与时间的教学策略,在信息化的环境中,特别是解剖学课程中,通过运用情景案例、提供3D解剖视频,通过学生绘图的方法记忆人体各个结构的形态以及各结构之间的关系、位

置,学生在构建人体结构的过程也使他们的空间想象能力得到明显地改善,更好过渡到临床的实践中去^[3]。在新的解剖学教学模式下,为使医学生更好的掌握解剖学专业知识和,新乡医学院三全学院通过前期积极探索,包括开展全科医生技能大赛、情景模拟微课制作大赛、解剖绘图大赛等符合新型医学教学特色的教学形式,使学生在竞赛的过程中更好的掌握解剖学的专业知识,开发其学习兴趣,同时在竞赛的过程中享受比赛的乐趣和成功的快感,给医学生施展艺术天分的舞台,并最终提高学生的综合素质能力。现就人体解剖绘图比赛的实施情况,总结比赛经验和思考,与广大解剖学教育工作者分享人体解剖绘图比赛在医学本科生解剖学教学中的应用体会。

1 人体解剖绘图比赛的实践

新乡医学院三全学院自2016年至今已成功举办6届人体解剖绘图比赛,由首届400名医学生到如今全校6个书院2200多名医学生参与,比赛中涌

收稿日期:2021-06-18

基金项目:新乡市社科联重点调研课题-高校思政课引领大学生思想的重点、难点与应对策略研究(2021-334)。

作者简介:毛文锋,男,硕士,助教,研究方向:心电生理基础与临床,E-mail:497110577@qq.com。

通讯作者:苗莹莹,女,副教授,研究方向:影像解剖学,E-mail:myylove@163.com。

现出众多优秀作品,展示了当代医学生专业知识以外的艺术天赋,比赛更是引起国内新闻媒体广泛报道、转载。共有中国新闻网、新华网、光明网、河南省教育厅、河南日报等30余家国家及省市级新闻媒体进行了宣传报道。以我校成功举办的第6届人体解剖绘图比赛为例,将比赛的实施,参赛情况和总结反思做一分享。

1.1 比赛主题

今年是中国共产党成立100周年,也是“十四五”开局之年,为弘扬“敬佑生命、救死扶伤、甘于奉献、大爱无疆”的生命文化精神,深入践行医学生神圣誓言,在学生中倡导高尚医德医风,喜迎建党百年华诞,向全校医学生发出用画笔展现生命之美,以解剖诠释人体艺术的号召。用手中的画笔在线条的交错勾勒中展示“你眼中的人体之美”。

1.2 比赛流程

整个比赛分初赛和决赛两阶段。初赛阶段,学生需在规定时间内以书院为单位上交作品,作品用统一发放的绘画纸进行创作,创作作品须遵循一定的科学性,在此基础上鼓励富有一定创意及独特的风格,新颖、大方,绘画技法自选,突出严谨客观真实的态度,不可为美观随意臆造和夸大表现某些结构,并与艺术类的人体绘画严格区分。作品的创作可结合课堂上及书本上的解剖专业知识,并积极与老师讨论。初赛作品通过大赛组委会初步评审,筛选出结构比例协调,色彩搭配合适,选题绘图写实,结合社会热点的入围作品,在校园运动会上进行公开展览,同时建立网上票选通道进行以准确性、美观性为主的综合投票,最终结合专家评委的评价及网络投票结果选出20幅作品进入比赛决赛。决赛开幕阶段,以“献礼建党百年”——百名学生手绘百米画卷的形式展示比赛初赛阶段的优秀作品,在百米长卷中,中国地图为底版的医学元素、红色党旗下的细胞流动,用医学和艺术结合的方式,表达了医学生对党的敬意,对祖国的热爱,献礼建党百年。人体解剖绘图大赛的决赛分为现场自由作画、创意解说和团体赛3部分。活动第一环节由选手们自由绘画,刻画他们心中最美丽的人体解剖图,在此同时,关于复赛优秀作品灵感创意的解说视频在大屏幕上放映,团体赛中,选手们5人1组,将手中的作品,串联成一个连续完整的故事,声情并茂地展示了作品中的灵魂。最后根据作品评分排名,根据比例设置一、二、三等奖。比赛结束后,学校领导向获奖学生颁发获奖证书及纪念奖品。

1.3 参赛情况

本届比赛共收集作品2221份,符合大赛标准的

作品有2031份,其中筛选200份作品进入初赛展览,20份作品最后进入决赛。全校6个书院涵盖临床医学、护理学、眼视光学、康复治疗学、医学检验技术、生物医学工程、医学影像技术七个专业医学生积极参与。作品类型包括水彩画、素描、彩铅图、拼接图等,以素描作品居多。作品内容涵盖脉管系统、运动系统、感觉器、内脏学-消化系统、神经-中枢系统等,以运动系统创作居多,如中轴骨、四肢骨以及胸、背肌肉群。优秀作品展示见图1。

2 效果评价

新乡医学院三全学院本届人体解剖绘图比赛效果甚优,比赛实施的过程充分调动了广大师生的热情,在展示医学专业知识的同时,体现了本科教育理念中对学生综合素质的培养,以学生为中心,让学生由被动变为主动进行知识的学习,加强专业知识掌握的基础上,也注重广大医学生通识教育的培养。比赛依托解剖绘图为主线,使医学生常怀敬畏之心,让医学梦与人文情怀同呼吸、共命运;在学习之路上,要有“独上高楼,望尽天涯路”的高远格局,要有“衣带渐宽终不悔”的执着追求,要有“不破楼兰终不还”的毅力定力,甘于寂寞、潜心研究,不断提升自己的素质和能力;思政元素与比赛的结合使得同学们意识到,成为医务工作者,要常有担当之举,要多读书,勤实践,练就过硬本领,不怕苦、不畏难,真正扛起中国医药卫生事业发展前行的担当和责任。新乡医学院三全学院人体解剖绘图大赛主题鲜明,从“绘出生命的色彩”到“探究人体奥秘”,将专业知识从固定的书本开拓到了课堂之外,由课上转变到了课下。参赛人数逐年增多,由最初的临床专业扩大到了临床医学、护理学、医学影像技术等7个专业,展现了当今广大医学生专业技能以外的艺术才能,将所学通过绘画的这种创新方式表现出来,大大的提升了他们的人文素质与创新思维。

3 人体解剖学绘图比赛体会

3.1 绘图在人体解剖学教育中的应用

解剖学被认为是医学教育的基石,无论他们的专业如何,解剖学知识对于医学生来说至关重要,通过绘制人体形态用于探索,理解和揭示人体科学和美学具有重要意义^[4]。国内外已有许多关于绘图与解剖学教育结合的研究,在卢伟忠^[5]将绘图比赛融入以多媒体为核心的解剖学教学过程中发现,举办绘画比赛能调动学生的学习热情,同时提高学生的学习能力,更好掌握知识,并且参与解剖绘图比赛的班级期中成绩明显好于未参与解剖绘图比赛

的班级,说明了在解剖学教学中引入绘图比赛的方式,对解剖学教学有积极的促进作用。Barmaki 等^[6]在关于人体解剖彩色绘图应用于解剖学教学中的研究发现,通过在解剖教学进程中加入让医学生参与解剖彩绘的教学活动,能够让他们更好的熟记专业知识,同时提出建议人体解剖彩绘作为医学

生辅助学习解剖学的学习方式。新乡医学院三全学院在人体解剖绘图比赛与教学结合的实践上已初步探索,通过比赛方式,提高医学生学习人体解剖结构的兴趣,有机结合专业理论,应用于创新实践上。以比赛为载体,引导学生更好的观察人体解剖结构,思考人体结构间的联系,展示自我艺术风采。



图 1 绘图大赛优秀作品展示

3.2 人体解剖绘图比赛对师生的启发

在新兴科学技术背景下,课堂上不再是教师“满堂灌”,学生被动“填鸭式”获取知识。而是通过

新型技术手段,以学生为中心,教师为引导,翻转课堂的形式,多样的教学方式和教学活动,极大的提高医学生的学习兴趣^[7]。人体解剖学这门课程,包括

应用人体解剖软件、微课、学生病例模拟、技能比赛以及人体解剖绘图比赛等方式,减少学生机械性学习的同时,也创造性的开发医学生的思维,让枯燥的课堂更为有趣,转换老师与学生的角色,提高学生的学习效率与学习兴趣。对于解剖学授课老师而言,在课堂上以绘图的方式带领学生识辨具体人体结构,在绘画的过程中,集中学生的注意力,更方便的记忆某个结构^[8]。而后通过设计解剖绘图比赛环节,也提高了教师的综合能力,检验教师自身的知识体系,充分运用教学资源,更好的运用新型课堂,更好的教育学生。对于学习解剖学的学生而言,通过精彩的绘图比赛,运用课本的知识于实践中,在绘图创作的过程中,思考人体结构比例,协调艺术效果,搭配颜色配比,并留心生活中的发现,人体与艺术大胆性的创作,极大的开发了医学生创新思维,同时在创作过程中,或个人或小组的形式,与指导老师积极讨论,也极大的增进师生间的交流,使得解剖学课堂不仅仅局限于教室中,结合其他相关医学专业知识,丰富了学习方式,拓展了大学校园生活,提高了学生的综合素质。

3.3 人体解剖绘图比赛中的思政教育

课程思政不仅仅是一种课程理念,更是一种课程实践,强调强化专业课育人功能,突出教育立德树人的根本任务,形成全课程育人格局。医学作为研究生命与健康的科学,医学生不单单只有专业的技能,更要有高尚的情操,解剖学课程思政对于作为医学初学者而言,有着重要的医学素养、人文素养、科学素养形成意义^[9]。新乡医学院三全学院此次解剖绘图比赛中,设置开幕式“向生命致敬环节”,通过凝望医学生誓言、观看人体解剖绘画,一幕幕画面描绘了医学之路任重而道远。重温致敬大体老师仪式的片段中,百余名学生为大体老师献上鲜花,大家面色凝重,怀着崇敬的心情感受着大体老师无言又伟大的付出,领会大体老师的无私奉献与崇高品格,而后全场师生起立为大体老师默哀一分钟。由学生代表带领宣读《医学生誓言》,牢记医学生的使命与担当。在创作作品过程中,鼓励学生结合时政,展现历史上重大疫情。包括建党百年以来,我国经历的重大卫生事件,包括青霉素的研制,青蒿素的发明等,感悟在中国共产党领导下我国卫生事业的蓬勃发展,其中较多作品展示出在中国共产党领导下积极抗击2020年新冠肺炎事件,歌颂面对突发卫生事件时最美逆行医务工作者,表达了当下医学生的爱国之心,深刻体会中国人民和中华民族以敢于斗争、敢于胜利的大无畏气概,铸就了生命至上、举国同心、舍生忘死、尊重科学、命运与共的伟大抗疫精神。

通过创作结合时政类解剖绘图作品,培养了一批勇于奉献、不畏牺牲、敢作敢当的新青年医学生。

4 人体解剖绘图大赛的展望

综合来看,各地医学院逐步开展与教学相结合的解剖绘图比赛,并获得一致好评,通过大赛平台的搭建,极大丰富医学生的自我发展以及综合素质的持续发展,并取得了积极效果^[10]。解剖绘图比赛的实践,能够提高学生的学习能力,培养其创造力,完善其人格,通过团队配合提升交际能力,同时交叉领域的拓展也极大的激发其潜能,为医学生今后科研工作,做了很好的铺垫,通过创造性的绘图,也能挖掘出一批专业的医学绘图专业人才,如医学插画师^[11]。通过结合时政热点的方式,培养医学生的爱国主义精神,不仅要成为专业人才,还要成为具有思辨能力的通识型人才。随着科学技术的不断进步以及多文化融合发展,人体解剖绘图比赛与解剖学教学结合的实践更应该与时俱进,比如通过结合虚拟现实结合技术,将人体解剖结构通过三维可视化具体构建并绘出展示。其次通过对以往作品及优秀作品进行电子扫描搭建绘图图库,为学生参加教学科研科普和社会活动提供资源,为大学生创新创业大赛提供实践教学参赛获奖机会,推动学生的全面发展。

总之,人体解剖绘图大赛与解剖学教学相结合,加强了理论与实践的深度融合,从专业教育和通识教育结合的角度出发,提高学生医德素养的同时,也夯实了学生的医学基础知识,弘扬了学生的医学人文精神,为学生成长成才搭建平台。人体解剖绘图比赛如何更有效的融入教学环节,寻找与其他相关学科之间的融合点,以及更系统化的课程设计都值得更多的探讨。

参考文献:

- [1] Danielle BD, Alex B, Abigail S, et al. Virtual Reality Bell - Ringer: The Development and Testing of a Stereoscopic Application for Human Gross Anatomy. [J]. Anat Sci Educ, 2021, 14: 330 - 341.
- [2] Bruno G, Luís D, Stanislav T, et al. Rethinking Anatomy: How to Overcome Challenges of Medical Education's Evolution. [J]. Acta Med Port, 2017, 30: 134 - 140.
- [3] Sarah JG. The use and effectiveness of interactive progressive drawing in anatomy education. [J]. Anat Sci Educ, 2018, 11: 445 - 460.
- [4] Wells FC, Crowe T. Leonardo da Vinci as a paradigm formodern clinical research[J]. J Thorac Cardiovasc Surg 2004; 127: 929 - 44.
- [5] 卢伟忠. 绘图比赛对多媒体教学背景下的解剖学教学的促进作用[J]. 广东职业技术教育与研究, 2019, 57(03): 105 - 107.

- [6] Roghayeh B, Yu K, Rebecca P, et al. Enhancement of Anatomical Education Using Augmented Reality: An Empirical Study of Body Painting. [J]. Anat Sci Educ, 2019, 12: 599 - 609.
- [7] 陶宏婷, 韩利军, 廖小立. “互联网+”模式下“人体解剖学”教学改革与反思[J]. 科教文汇(上旬刊), 2020, 505(09): 105 - 106.
- [8] Alsaid B, Bertrand M. Students' memorization of anatomy, influence of drawing. [J]. Morphologie, 2016, 100: 2 - 6.
- [9] 冯改丰, 周劲松, 靳辉, 等. 课程思政在局部解剖学教学中的应用与思考[J/OL]. 医学教育研究与实践, 2021, 29(03): 436 - 439.
- [10] 于胜波, 郑楠, 赵欣, 等. 解剖绘图大赛对医学生综合素质培养的作用[J]. 解剖学报, 2019, 50(06): 847 - 849.
- [11] 穆得超, 吴清, 魏屹哈, 等. 以临床执业医师资格考试为导向的临床教学模式改革探索[J]. 中国高等医学教育, 2019, 5(05): 81 - 82.

(责任编辑:刘鹤香)

疫情下校企合作开展《临床血液学检验技术》混合课的探索与实践

贺志安¹, 付毓平¹, 王侠¹, 马晓娟¹, 李家磊¹, 杨亚文¹, 刘从祺²

(新乡医学院三全学院医学检验学院, 河南 新乡 453003; 2. 重庆华教科技有限公司, 重庆 400050)

摘要: 疫情下深化校企合作, 以企业虚拟仿真平台为依托, 辅以优慕课、智慧职教、中国大学慕课等校内外优质教学资源, 开展线上线下混合课教学, 在《临床血液学检验技术》教学应用中取得良好效果。

关键词: 校企合作; 混合课; 血液学检验

中图分类号: G642.0

Cooperation of universities and enterprises in implementation of Medical Hematology Laboratory blending course under the pandemic

HE Zhi-an¹, FU Yu-ping¹, WANG Xia¹, MA Xiao-juan¹, LI Jia-lei¹, YANG Ya-wen¹, LIU Cong-qi²

(1. School of Medical Examination, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003; 2. Chongqing Huajiao Technology Co., Ltd, Chongqing 400050)

Abstract: Based on virtual simulation platform, supplemented by Excellent MOOC, Intellectual Course Vocational Education, MOOCs in Chinese Universities and other high quality teaching resources inside and outside the campus, our school continue to deepen cooperation with enterprises against the backdrop of the pandemic and implement online and offline blending teaching, which has received desirable results in the teaching application of Medical Hematology Laboratory.

Key words: university-enterprise cooperation; blending course; Medical Hematology Laboratory

《临床血液学检验技术》是四年制医学检验技术专业主干必修课程, 也是临床检验人员所必备的一项基本技能。2020年的新冠疫情给高校的正常专业教学带来了挑战, 在此情况下如何去实施停课不停学、停课不停教, 教学标准不降、教学质量不减的教学要求, 本门课程以企业重庆华教虚拟仿真平台为依托, 辅以优慕课、智慧职教、中国大学慕课等校内外优质教学资源, 开展线上线下混合课教学。通过精心教学设计与周密组织实施, 使得《临床血液学检验技术》教学效果明显提高。

1 教学改革思路和方法

积极响应《教育部关于一流本科课程建设的实施意见》, 深化教育教学改革, 加强校企合作, 克服疫情给专业教学带来的困难, 对《临床血液学检验

技术》课程的整个教学环节进行重新设计, 构建了以血液学理论为基础, 以血液形态学辨认检验技能培养为目标, 以常见临床血液病实验诊断为抓手的“理论-检验-疾病”相结合、紧密联系的混合课教学体系。教师通过管理平台资源, 引导学生自主学习, 课前、课中、课后采用不同的教学方法, 使学生完成学习任务, 提高教学质量。

1.1 课前五传、三推、三促

五传: 将教学大纲、教学日历、电子教材、课件、血液形态学图谱5种全过程必备教学资料在开课上传至优慕课, 让学生提前了解课程教学大纲、授课计划、所用图书及参考资料等。

三推: 将重庆华教虚拟仿真平台、智慧职教、中国大学慕课等优质教学资源推荐给学生以便自主学习。

三促: 教师及时关注学生的动态, 督促学习时

长、学习进度、学习效果,使学生做好课前预习。

1.2 课中一案、一讲、一结+X作业

一案:授课前结合教学大纲优选临床典型案例,采用启发式、讨论式、引导式教学法随机挑选学生就课前所给案例进行分析,考察学生预习效果的同时导入新课。

一讲:授课中采用雨课堂详细讲授新内容。

一结:课程最后简单总结本节内容。

X作业:课下布置作业灵活多样,包括进入虚拟网络平台自主观察学习骨髓血细胞形态、手绘细胞以锻炼基本功、髓象分析以提升能力、骨髓报告模拟临床等。

1.3 课后两测、一引、一论、一答

两测:登录优慕课进行随堂测试、期中测试,以监控学习效果。

一引:引导学生课下线上自主学习,拓展学习以

巩固形态学知识,开阔专业视野。

一论:师生在优慕课讨论区对课程相关内容的命题进行讨论。

一答:共性或疑难问题由教师点评或详细解答。

2 课程设计

课程是人才培养的核心要素,课程质量直接决定人才培养质量。《临床血液学检验技术》课程坚持知识、能力、素质有机融合,要求学生具备扎实的基本理论知识、基本技能,培养学生发现问题、解决问题、分析问题的综合能力和思维,树立生命第一、健康至上的服务理念,培养学生良好的职业素养。课程内容广度和深度相宜,突破习惯性认知模式,疫情下《临床血液学检验技术》混合课改革计划,见表1。

表1 《临床血液学检验技术》混合课改革计划

授课主要内容	教学学时数	作业/任务	教学形式(线上/线下)
绪论、造血理论及细胞形态学	4		线下
正常骨髓象观察(一)	6	学生采集图片上传及线上讨论	线上/线下
血细胞化学染色	4		线下
正常骨髓象观察(二)	6	学生采集图片上传/教师上传图片考核	线上/线下
骨髓检查及报告	4		线下
血细胞形态学及骨髓报告单填写	7	学生采集图片上传/线上讨论	线上/线下
贫血(一)	4		线下
贫血骨髓象观察(一)及Fe染色	6	上传骨髓象图片、铁染色图片及线上讨论	线上/线下
贫血(二)	4		线下
贫血骨髓象观察(二)	6	上传骨髓象图片、铁染色图片及线上讨论	线上/线下
贫血(三)	4		线下
贫血病例分析	5	线上讨论及上报讨论结果	线上
白血病骨髓象观察(一)、MPO染色	6	上传骨髓象图片及线上讨论	线上/线下
白血病检验基础	4		线下
白血病骨髓象观察(二)	6	上传骨髓象图片及线上讨论	线上/线下
急性白血病	4		线下
白血病骨髓象观察(三)	6	上传骨髓象图片及线上讨论	线上/线下
骨髓增殖性肿瘤、MDS	4		线下
慢性白血病骨髓象观察	6	上传骨髓象图片及线上讨论	线上/线下
白血病病例综合分析	2	线上讨论及上报讨论结果	线上
浆细胞疾病及其他白细胞疾病	4		线下
浆细胞疾病骨髓象观察	6	上传骨髓象图片及线上讨论	线上/线下
止血血栓检验基础及实验室检查	4		线下
APTT、PT、TT、FDP、D-二聚体检验	6	线上讨论	线上/线下
止血血栓检验临床应用	4		线下
止血血栓综合性实验	6	线上讨论及上报讨论结果	线上/线下

3 教学应用

案例的准确性、典型性、启发性、合理性直接影响教学效果^[1-3]。为此我们依据教学大纲,紧密结合教学重难点,精选整理临床真实病例,结合实际设计教学案例,打破传统的理论与实践分离现状,引导学生将理论知识应用到临床实践中去,提高学生发现、分析、解决实际问题的能力^[4]。慢性髓细胞白血病是临床常见的白血病类型,也是重点授课内容,其实验尤为重要,我们对此进行了如下设计。

3.1 慢性髓细胞白血病实验课病例

患者女,45岁,以“发现白细胞升高1天”为主诉入院。现病史:1天前患者因腹胀、乏力不适于外院就诊,行肝胆胰脾彩超示:胆囊毛糙,脾大(脾厚63 mm,脾长径171 mm),血常规:WBC $427.8 \times 10^9/L$,分类:白细胞 $385.6 \times 10^9/L$,淋巴细胞 $7.5 \times 10^9/L$,单核细胞 $9.82 \times 10^9/L$,嗜酸性粒细胞 $7.96 \times 10^9 \cdot L^{-1}$,嗜碱性粒细胞 $16.93 \times 10^9 \cdot L^{-1}$,红细胞 $2.88 \times 10^{12} \cdot L^{-1}$,血红蛋白 $92 \text{ g} \cdot L^{-1}$,血细胞比容 27.30%,血小板 $387 \times 10^9 \cdot L^{-1}$,门诊以白细胞升高待查收治。结合血象及骨髓象检查,作为诊断依据。患者血象及骨髓象,见图1。

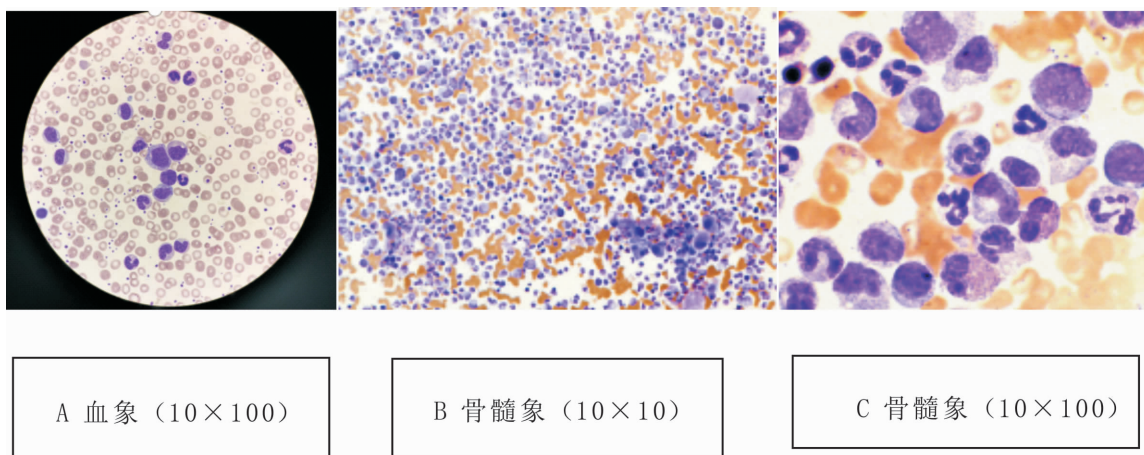


图1 患者的血象及骨髓象

3.2 混合课实施过程

校企合作开展《临床血液学检验技术》混合课,落实课前五传、三推、三促,课中一案、一讲、一结 +

X作业,课后两测、一引、一论、一答,全面实施混合课教学。混合课实施过程,见图2。

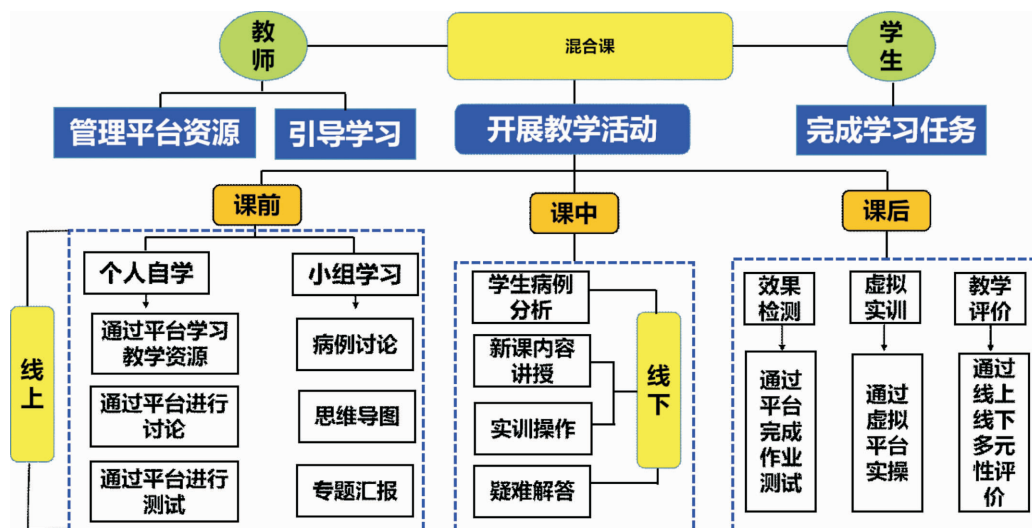


图2 混合课实施过程

4 改革成效及分析

4.1 促进教师知识体系的完善,全面提高全体教师教学水平

教师要具备丰富的理论知识和较高的专业水准

才能组织讲好一堂生动的混合课,才能在教学中充分发挥教师的主导作用,引导学生多方位了解专业知识。为此,学校要求青年教师要做到四通,即通读专业教材、通听专业课程、通做课程实验、通晓教学过程的基础上,定期到临床挂职锻炼,鼓励全体青年

教师积极参与校级和国家级教师教学及检验技能大赛,形成“以赛促学、以赛促教、以赛促改”的氛围,使教师教学和实践技能水平明显提高,学生的课程满意度也明显提高。2017级《临床血液学检验技术》课程年满意度为100%,详见表2。

表2 《临床血液学检验技术》课程满意度调查(n=175)

满意度	人数	比例(%)
非常满意	123	70.29
满意	43	24.57
基本满意	9	5.14
不满意	0	0.00

4.2 培养学生学习主动性、参与性,全面提高学生综合素质

疫情下与企业合作,利用优质教学资源,开展线上线下混合课能充分利用学生零碎的课余时间、丰富学生学习方法和途径,使学生由被动学习转变为主动学习,以培养其自主学习的良好习惯,并能够举一反三、融会贯通,使其发现、分析、解决问题的能力明显提高。疫情下一学期的混合课教学,学生成绩不仅未受到影响,而且较往年有所提高,在本科录取学生,入学整体一致的情况下,2017级80分以上占71.9%,2016级为32.4%,成绩显著提高。2016级与2017级《临床血液学检验技术》成绩分布对比,见表3。

表3 2016、2017级《临床血液学检验技术》成绩对比

成绩(分)	2016级(n=238)	2017级(n=217)
	人数(%)	人数(%)
≥90	3(1.3)	26(12.0)
≥80	74(31.1)	130(59.9)
≥70	124(52.1)	48(22.1)
≥60	37(15.5)	13(6.0)

线上线下混合课教学实现了以生为本,泛在学习、自主学习,促教促学的教学氛围,教育模式从传

统标准化走向以学生为中心的灵活、多样、个性化教学,可视为理想的教学模式^[5]。《临床血液学检验技术》融入线上线下混合课后学习难度大,“听不懂、不理解,不会诊断”的状况明显改善,教学效果明显提升^[6]。线上线下混合课教学还处在不断建设和完善的过程,不但要不断的完善和提升线上资源,还要保证线下教学设计的合理性^[7]。充分利用国家精品课程,让老师全部加入专业混合课程建设,使学生完全适应混合课教学,全面实现课程优起来、教师强起来、学生忙起来、效果实起来,是我们持续深化教学改革的重任^[8]。

参考文献:

- [1] 肖悦,李唐菲.互动式案例教学在血液内科教学中的应用[J].中国多媒体与网络教学学报(上旬刊),2021,20(02):220-223.
- [2] 崔学青,付玉荣,伊正君.案例教学在临床免疫学检验课堂中的应用[J].中华医学教育探索杂志,2020,19(02):160-164.
- [3] 李猛,武永莉,刘要伟,等.案例微课-翻转课堂教学法在骨髓细胞形态临床教学中的应用[J].中国毕业后医学教育,2020,4(04):366-368+372.
- [4] 周丽华,方家敏,程霞,等.案例教学法在检验科实习生带教中的应用[J].中国继续医学教育,2019,11(16):21-24.
- [5] 张秀梅,田甜,田萌萌,等.近十年我国智慧教学研究的演变与趋势[J].中国远程教育,2020,40(09):62-69.
- [6] 唐玉莲,曾冬云.临床血液学检验实验教学中存在的问题与改革建议[J].继续医学教育,2020,34(04):6-7.
- [7] 任翔,隋琳琳,刘渤,等.基于“金课”理念的基础医学课程线上线下混合式教学初探[J/OL].中国组织化学与细胞化学杂志:1-4[2021-04-28].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1300.Q.20210420.1836.002.html>.
- [8] 教育部关于一流本科课程建设的实施意见[J].中华人民共和国国务院公报,2020,68(05):57-62.

(责任编辑:刘鹤香)

【综述】

外泌体与肿瘤发生及诊治相关性的研究进展

张思雨, 王佩瑾, 武辉, 周艳琳

(新乡医学院三全学院基础医学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 外泌体(Exosomes)是一类细胞外膜纳米级小囊泡,大小一般是40-100 nm,来自于细胞内吞噬系统,由自体细胞分泌,能通过胞吐到细胞的外环境中,参与细胞的运输。外泌体不仅能从细胞培养的上清液中提取,也可以从患者的各种体液(血液、尿液、唾液等)中提取。外泌体内含有RNA、蛋白质和少量脂类分子,癌细胞的外泌体含有浓度较高的miRNA,能参加肿瘤的自身调控,也是调控肿瘤发生发展的重要机制。随着对外泌体不断地深入认识,外泌体在肿瘤发生发展过程中,以及诊治等方面扮演着重要的角色。本文就外泌体的发现与结构,外泌体与肿瘤发生及诊治相关性做简单的介绍,以及对外泌体作为肿瘤的早期诊断和液态活检的应用进行了展望。

关键词: 外泌体;肿瘤;早期诊断

中图分类号: R16

Study advances in correlation between exosome and genesis, diagnosis and treatment of tumor

ZHANG Si-yu, WANG Pei-jin, WU Hui, Zhou Yan-lin

(School of Basic Medicine, Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: Exosomes are a class of nanoscale vesicles in the outer membrane of cells, the size of which is generally 40-100 nm, from the intracellular phagocytic system, secreted by autologous cells, can be exocytosed into the external environment of cells to participate in cell transport. Exosomes can be extracted not only from the supernatant of cell culture, but also from various body fluids (blood, urine, saliva, etc.) of the patient. Exosomes contain RNA, proteins and a small amount of lipid molecules. Exosomes of cancer cells contain a high concentration of miRNA, which can participate in the self-regulation of tumors and is also an important mechanism to regulate the occurrence and development of tumors. With the continuous in-depth understanding of exosomes, exosomes play an important role in the process of tumor occurrence and development, as well as diagnosis and treatment. In this review, the discovery and structure of exosomes, the correlation between exosomes and tumorigenesis, diagnosis and treatment are briefly introduced, and the application of exosomes as early diagnosis and liquid biopsy of tumors is prospected.

Key words: exosome; tumour; early diagnosis

外泌体是一类来自细胞内吞噬系统、由自体细胞分泌的纳米级小囊泡,直径一般为40~100 nm,可通过胞吐方式进入细胞外环境,参与细胞运输。外泌体不仅可从细胞培养上清液中提取,也可从患者各种体液(血液、尿液、唾液等)中提取。外泌体内含有RNA、蛋白质及少量脂类分子。肿瘤源性外泌体(tumor-derived exosome, TEX)含有较高浓度的miRNA,可参与肿瘤的自身调控,研究表明外泌体在肿瘤的早期诊断及治疗等方面起到重要作用。本文将就外泌体的发现与结构、外泌体与肿瘤发生及诊治的关系做一综述,并对外泌体在肿瘤早期诊断和液态活检的应用进行展望,以期为临床研究提供参考依据。

1 外泌体的发现与结构

1.1 外泌体的发现

细胞释放的具有5'-核苷酸酶活性、直径在40~100 nm且具有生理功能的囊泡最早被命名为外泌体^[1],20世纪80年代外泌体被描述为未成熟的红细胞分化期间,多囊泡体(multi-vesicular bodies, MVBs)与细胞膜融合释放出的囊泡^[2]。这些囊泡是从EB病毒转化的B淋巴细胞中分离出来的,来自于人B淋巴细胞的外泌体可以诱导抗原特异性的人类主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性T细胞反应。外泌体是细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)主要亚型中的一种,是MVB包含的腔内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs),在MVB与质膜结合后释放到细胞

收稿日期:2020-11-09

基金项目:河南省科技攻关项目(192102310333)。

作者简介:张思雨,女,硕士,助教,研究方向:肿瘤分子学,E-mail:shiyu15937135743@163.com。

外环境^[3]。外泌体可以由多种类型的细胞分泌,比如爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus,EBV)转化的B细胞、肥大细胞^[4]、细胞毒性T细胞^[5]和树突细胞^[6],现已证实不同类型的造血细胞和非造血来源的细胞^[7]也能释放外泌体囊泡。

1.2 外泌体分离方法

目前外泌体的提取方法主要有超速离心法、过滤离心法、密度梯度离心法(分离得到的外泌体纯度高,但操作繁琐)、免疫磁珠法、PS亲和法、色谱法和商用试剂盒,其中超速离心法和商用试剂盒法是目前比较常用的两种方法。超速离心法首先是分步差速离心,逐步清除样本中的碎细胞和杂质,最后2次长时间超速离心分离得到外泌体,需要注意的是不同细胞分泌的外泌体不同,沉降系数也有区别,需要根据具体情况选择超速离心的转速和时间^[8];商用试剂盒的提取思路与超速离心法有相似之处,首先是去除样本中的碎细胞和杂质,不同之处是中间多了一步试剂孵育,最后短时间的低速离心即可分离得到外泌体^[9]。分离得到的外泌体需进行鉴定:根据外泌体的大小进行鉴别,外泌体直径在40~100 nm^[10],B细胞来源的外泌体尺寸最均匀(60~80 nm)^[11];根据电镜下外泌体“茶托样”形状的囊泡进行鉴别;还可根据外泌体的形成过程进行鉴别,来源于细胞内吞作用形成的内体在成熟过程中内部会形成圆球状小体,后与细胞膜结合释放出的小体,即为外泌体。

1.3 外泌体的结构

外泌体存在于各种体液中,如血浆^[12]、恶性腹水^[13]、尿液^[14]、羊水^[15]和唾液,外泌体中含有蛋白质、miRNAs和mRNAs^[16]。研究者通过蛋白印迹对来自不同细胞的外泌体蛋白质进行分析,发现来自不同细胞的外泌体径粒、蛋白浓度有所差别;对来自树突状细胞^[17]、肥大细胞^[18]及和肠上皮细胞^[19]的外泌体蛋白质进行蛋白组学分析,发现含量丰富的四跨膜蛋白(如CD63、CD9、CD81)和TSG101、HSP70、ALIX等蛋白,CD63、CD9、CD81都是四次跨膜蛋白家族成员,直接参与细胞外囊泡内容物的分选,TSG101是ESCRT复合体相关蛋白,ALIX直接参与膜泡在形成过程中切割脱离质膜形成独立膜结构的过程,可视作外泌体标志物。有学者对肠细胞和人树突细胞的外泌体进行分析,发现了各种酶,例如过氧化物酶、丙酮酸、脂质激酶以及烯丙醇-1,认为外泌体可能会催化多种体内反应。研究证实外泌体包含细胞质蛋白和参与信号传导的分子,可以介导细胞间通讯^[20],影响细胞的生理活动;研究人员从培养的肿瘤细胞上清液和癌症患者血浆中分离

到外泌体,通过Westernblots证实外泌体中存在多种分子种类,原因是癌细胞表达并且利用各种免疫抑制分子去促进了肿瘤反应。

2 外泌体与肿瘤发生、诊治的相关性

肿瘤的发展是一个复杂的过程,TEX对肿瘤微环境的形成和肿瘤生长十分重要,TEX作为肿瘤进展中细胞通讯的中介物,将正常的生理过程转化为有利于肿瘤的生理过程。肿瘤细胞产生的外泌体可通过多种机制与靶细胞相互作用,其中一种机制是外泌体向局部或远处部位横向传递遗传信息促进肿瘤的生长和转移^[21]。肝癌是最常见的肿瘤之一,缺少有效的治疗方法,有学者指出肝癌外泌体可由肝脏中不同细胞释放,并通过多种分子机制调控肝癌进展,对肝癌的发生、肿瘤细胞与癌旁细胞的分子交换、转移、耐化学、免疫抑制、早期诊断和治疗等有重要意义^[22]。外泌体在单细胞和多细胞生物体中的普遍存在表明其对生存必不可少。外泌体携带癌基因的载体^[23],并调节受体细胞的基因表达^[24],因此被称为“肿瘤小体”。外泌体包裹和包裹在外泌体膜内的物质不受胞外酶的影响,能够被完整地运送到靶细胞。研究人员在外泌体中检测到一系列基因,如BRAF、MET、EGFR、ALK,可作为肺癌的生物标志物,为肺癌早期诊断提供新思路^[25]。现对外泌体与几种肿瘤发生、诊治的相关性进行概述。

2.1 外泌体与乳腺癌发生及进展的关系

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,虽然目前临床医生已掌握先进的乳腺癌诊断方法,并在新型靶向治疗方面取得进展,但乳腺癌的治疗效果仍然受药物毒性和耐药性的影响,缺乏可靠的预测指标和预后生物标志物。研究发现外泌体可以改变靶细胞的转录组,促进肿瘤发展。乳腺癌细胞(MDA-MB-231细胞)分泌的外泌体能够将正常人的类乳腺上皮细胞(MCF10A细胞)转化为癌细胞^[26]。乳腺癌的转移是一个复杂的过程,首先癌细胞在原发部位侵入间质、进入血管,在血液循环中存活,随后向继发部位外渗,并在继发部位存活和增殖,在肿瘤转移过程中肿瘤微环境也发生了变化,二者相互作用^[27-29],促进肿瘤的转移。肿瘤转移包括黏附丧失、迁移和侵袭增加等过程,乳腺癌细胞的脱落能诱导外泌体快速分泌,并集中在乳腺癌细胞表面,介导细胞的黏附和扩散,进而影响肿瘤的转移^[30-31]。Harris等发现从乳腺癌细胞中分离出的外泌体可以刺激细胞迁移,并且具有较高转移潜能的乳腺癌细胞分泌的外泌体更多,因此认为外泌体在乳腺癌细胞的转移过程中可能发挥着积极作用^[32]。外泌体

分泌的 miRNA 可以改善几个乳腺癌细胞系的侵袭和迁移能力。Kruger 等对 MDA - MB - 231 胞株(人乳腺癌细胞株)和 MCF - 7 细胞株(人乳腺癌细胞株)衍生的外泌体进行蛋白组学和基因分析,蛋白组学分析结果表明 MDA - MB - 231 胞株衍生的外泌体含有较高水平的基质金属蛋白酶,而 MCF - 7 细胞株衍生的外泌体含有较多的核酸、转移蛋白和结合蛋白;基因分析结果表明多个 miRNA 表达谱与肿瘤进展转移有关,一些 miRNA(包括 miR - 301a、miR - 130a、miR - 34a、miR - 106b、miR - 328 等)在 MDA - MB - 231 和 MCF 细胞外泌体中表达水平不同,提示不同细胞衍生的外泌体基因表达水平会有差异^[33];Singh 等研究发现由外泌体介导的 miR - 10b 的转移,能够抑制它的靶基因 HOXD 10 和 KLF4 蛋白水平,进而认为外泌体治疗可能会影响乳腺癌细胞的侵袭能力^[34]。肿瘤细胞较正常细胞能产生和分泌更多的外泌体^[35-36],蔡婉发现乳腺癌患者血液中外泌体浓度高于正常人^[37]。肿瘤衍生的外泌体一旦与靶细胞接触,可改变受体的表型和功能属性,促进血管生成、血栓形成、转移以及免疫抑制,肿瘤衍生的外泌体携带的蛋白质、核酸与母细胞携带的蛋白质、核酸有部分相同的,这些相同的物质或可作为非侵袭性的癌症生物标志物,在抑制宿主抗肿瘤反应和介导耐药方面发挥作用。Boelens MC 等^[38]发现基质细胞分泌的外泌体中的 RNA 可与乳腺癌细胞表面的蛋白结合,激活某些蛋白和通路,使乳腺癌细胞获得治疗耐受性。

2.2 外泌体与肺癌进展及耐药性关系

肺癌转移迅速,复发频繁,确诊时通常已处于晚期。Mohammad A 等^[39]探究肺癌患者血清、高转移和非转移肺癌细胞外泌体对支气管上皮细胞(human bronchial epithelial cells, HBECs)的影响,发现从高转移性肺癌细胞和晚期肺癌患者血清中提取的外泌体可诱导 HBECs 中波形蛋白^[40]的表达以及上皮细胞向间充质的转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT);还发现高转移性癌细胞衍生的外泌体和晚期肺癌患者血清外泌体都能够诱导非癌性受体细胞的迁移、侵袭和增殖。癌源性外泌体可能是受体细胞 EMT 的一种潜在介质,而波形蛋白可能是外泌体诱导肺癌转移的一种激活剂。手术治疗、化疗、放疗、靶向治疗是治疗肺癌的有效方法,缺点是肺癌患者预后仍很不理想,失败最重要的原因是肺癌细胞的耐药性。2014 年 Boussion 报道肺癌细胞 A549 经顺铂(DDP, Cisplatin)治疗后可向周围微环境分泌更多的外泌体,这些外泌体可降低受体细胞对 DDP 的敏感性^[41];Qin 等对肺癌中 DDP 耐药

的分子机制提出新见解,认为 DDP 耐药肺癌细胞衍生的外泌体提高了 DDP 耐药性^[42];含有 HSP72(热休克蛋白 72)的肺癌细胞源性外泌体可激活 STAT3 信号通路,介导髓系源性抑制细胞(MDSCs)的免疫抑制作用,从而抑制 T 细胞活化^[43-44];肺癌细胞来源的外泌体含有表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR),可诱导树突状细胞和肿瘤抗原特异性 Treg 细胞,抑制具有抗肿瘤功能活性的 CD8(+)T 细胞,促进肺癌生长^[45-46];因间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)可被肿瘤部位吸引成为肿瘤微环境的重要组成部分,Li 等为揭示肿瘤外泌体对 MSCs 的作用机制,从肺癌细胞株 A549 中提取外泌体,加入 MSCs,采用实时荧光 PCR 和 ELISA 方法检测体外培养的 MSCs 中炎症相关细胞因子的分泌情况,研究发现肿瘤细胞 A549 来源的外泌体可诱导 P - MSCs(pro - inflammatory phenotype in MSCs)产生促炎性细胞因子,其中 IL - 6、IL - 8 和 MCP - 1 的分泌明显增加,促进肿瘤生长^[47]。外泌体或可为给肺癌的早期诊治提供新思路。

2.3 外泌体与胃癌治疗及耐药性关系

胃癌是全球第四大常见恶性肿瘤,也是仅次于肺癌的第二大癌症死亡原因。有学者培养人胃细胞系 SGC 7901 和人胚胎肾上皮细胞系 HEK293T,进行细胞转染,从细胞培养液中提取外泌体,建立体外肿瘤微环境模型,发现外泌体可以作为有效的载体传递药物和微小 RNA,在癌症靶向治疗中具有潜在的应用价值;此外,外泌体还可以作为载体传递肝细胞因子,Haiyang Zhang 等人研究发现了外泌体通过传递 HGF siRNA,抑制了 HGF 和 VEGF(血管内皮生长因子)的表达,进而降低延缓胃癌肿瘤和血管的生长速度^[48];Ning 等利用透射电镜观察外泌体形貌,利用纳米粒子跟踪技术分析外泌体大小,通过 Western blot、免疫荧光染色、qPCR 检测肿瘤相关成纤维细胞(Cancer - associated fibroblasts, CAFs)转染过程中 CAFs 分泌的细胞因子及 CAFs 转换的信号通路,发现胃癌细胞来源的外泌体增强了周细胞(又称 Rouget 细胞和壁细胞)的增殖和迁移,并证实 PI3K/AKT 和 MEK/ERK 通路被肿瘤来源的外泌体激活,进而抑制了胃癌的细胞的增殖^[49]。近几年临床医师普遍采用 5 - 氟尿嘧啶(5 - FU)和顺铂(DDP)进行术前和术后化疗,提高了胃癌患者的生存率,但耐药性是影响胃癌治疗效果的主要问题之一。间充质干细胞在耐药过程中起到重要作用,有学者研究间充质干细胞外泌体是否参与介导胃癌化疗耐药,并探讨其潜在的分子机制,发现来自间充质

干细胞的外泌体可增强胃癌细胞在体内外对化疗的耐受作用,可能是通过激活胃癌细胞中的 CaM - Ks 通路和下游 Raf/MEK/ERK 通路所致^[50]。

3 展望

细胞间通讯是多细胞生物体的重要标志,可通过细胞与细胞的直接接触或释放介质来实现。第三种细胞间通讯涉及细胞外囊泡的转移,外泌体是细胞外囊泡的一种,并且在肿瘤中外泌体的分泌更多,所以外泌体作为细胞间信号传递的媒介能影响肿瘤的发生发展。外泌体携带的部分蛋白质与母细胞一致,对从肿瘤细胞提取的外泌体蛋白质进行鉴定筛选,观测是否含有该肿瘤的特异性蛋白,可为肿瘤的早期诊断提供新思路;如果这一想法成立,我们可以从肿瘤患者体液(唾液、尿液、血液等)中提取外泌体进行诊断,实现液态活检,减少侵入性诊断,减轻患者痛苦,但上述理念是否可以实现仍需要大量的研究去探索和证实。

参考文献:

- [1] Kalluri R, LeBleu V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 7(367):6478.
- [2] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262:9412 - 9420.
- [3] Andreu Z, Yáñez - Mó m, Siljander PR, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions[J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4:27066.
- [4] Raposo G, Tenza D, MECHERIE T A L S, et al. Accumulation of major histocompatibility complex class II molecules in mast - cell secretory granules and their release upon degranulation[J]. *Mol Biol Cell*, 1997, 8(12):2631 - 2645.
- [5] Peters P J, Geuze H J, Slot J W, et al. Molecules relevant for T cell target cell interaction are present in cytolytic granules of human T lymphocytes [J]. *Eur J Immunol*, 1989, 19 (8) :1469 - 1475.
- [6] Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, et al. Eradication of established murine tumors using a novel cell - free vaccine: dendritic - cell - derived exosomes[J]. *Nat Med*, 1998, 4(5):594 - 600.
- [7] Koritzinsky E H, Street J M, Star R A, et al. Quantification of Exosomes[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(7):1587 - 1590.
- [8] Thery C, Amigorena S, Raposo G, et al. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids [J]. *Cell Biology*, 2006, 3(22):1 - 29.
- [9] 黄雪琴, 崔仲宜. 鼻咽癌细胞来源外泌体的提取和鉴定[J]. *广东医学杂志*, 2016, 37(2):191 - 193.
- [10] Vanniel G, Portocarreiro I, Simoes S, et al. Exosomes: a common pathway for a specialized function [J]. *J Biochem (Tokyo)*, 2006, 140(1):13 - 2.
- [11] Ludwig N, Hong C S, Ludwig S, et al. Isolation and Analysis of Tumor - Derived Exosomes [J]. *Curr Protoc Immunol*, 2019, 127 (1) :e91.
- [12] Caby M P, Lankar D, Raposo G, et al. Exosomal - like vesicles are present in human blood plasma [J]. *Int Immunol*, 2005, 17 (7) :879 - 887.
- [13] Raposo G, Mooer M, Innes D, et al. Human macrophages accumulate HIV - 1 particles in MHC II compartments [J]. *Traffic*, 2002, 3(10):718 - 729.
- [14] Pegtel D M, Gould S J. Exosomes [J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 20(88):487 - 514.
- [15] Chen BY, Sung CWH, Chen C, et al. Advances in exosomes technology [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 493:14 - 19.
- [16] Keller S, Ridinger J, Rupp A K, et al. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics [J]. *J Transl Med*, 2011, 9:86.
- [17] Thery C, Regnault A, Garin J, et al. Molecular characterization of endritic - cell - derived exosomes. Selective accumulation of the heat - shock protein hsc73 [J]. *Cell Biol*, 1999, 147 (3) :599 - 610.
- [18] Skokos D, Le Panse S, Villa I, et al. Mast - cell - dependent B and T lymphocyte activation is mediated by the secretion of immunologically active exosomes [J]. *Immunol*, 2001, 166 (2) :868 - 876.
- [19] Vanniel G, Raposo G, Candalh C, et al. Intestinal epithelial cells secrete exosome - like vesicles [J]. *Gastroenterology*. 2001, 121 (2) :337 - 349.
- [20] Colombo M, Raposo G, Thery C, et al. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30:255 - 289.
- [21] Raghu Kalluri. The biology and function of exosomes in cancer [J]. *J Clin Invest*. 2016, 126(4):1208 - 1215.
- [22] Liu H, Li B. The functional role of exosome in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144 (11) :2085 - 2095.
- [23] Li K, Chen Y, Li A, et al. Exosomes play roles in sequential processes of tumor metastasis [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144 (7) :1486 - 1495.
- [24] Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871 (2) :455 - 468.
- [25] 陈加贵. 肝癌细胞外泌体的鉴定及蛋白组学研究 [D]. 南宁:广西医科大学, 2016.
- [26] Melo S A, Sugimoto H, O'connell JT, et al. Cancer exosomes perform cell - independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis [J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5):707 - 721.
- [27] Frost A R, Hurst D R, Sheved L A, et al. The influence of the cancer microenvironment on the process of metastasis [J]. *Int J Breast Cancer*, 2012, 2012:756257.
- [28] Sethi N, Kang Y. Unravelling the complexity of metastasis - molecular understanding and targeted therapies [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(10):735 - 748.
- [29] Brabek J, Mierki C T, Rosel D, et al. The role of the tissue microenvironment in the regulation of cancer cell motility and invasion [J]. *Cell Commun Signal*, 2010, 8:22.
- [30] Elsherbini A, Bieberich E. Ceramide and Exosomes: A Novel Tar-

- get in Cancer Biology and Therapy [J]. *Adv Cancer Res*, 2018, 140:121 – 154.
- [31] Bu H, He D, He X, et al. Exosomes: Isolation, Analysis, and Applications in Cancer Detection and Therapy [J]. *ChemBiochem*, 2019, 20(4):451 – 461.
- [32] Harris D A, Patel S H, Gucek M, et al. Exosomes released from breast cancer carcinomas stimulate cell movement [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0117495.
- [33] Jia Y, Chen Y, Wang Q, et al. Exosome: emerging biomarker in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25):41717 – 41733.
- [34] Lakshmi S, Hughes T A, Priya S. Exosomes and exosomal RNAs in breast cancer: A status update [J]. *Eur J Cancer*, 2020, 144: 252 – 268.
- [35] Kluszczyńska K, Czernek L, Cypriak W, et al. Methods for the Determination of the Purity of Exosomes [J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25(42):4464 – 4485.
- [36] Hong S, Yang H, Manaenko A, et al. Potential of Exosomes for the Treatment of Stroke [J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(6):662 – 670.
- [37] 蔡婉. 外泌体在乳腺癌中的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(9):1997 – 2002.
- [38] Boelens M C, WU T J, Nabet B Y, et al. Exosome transfer from stromal to breast cancer cells regulates therapy resistance pathways [J]. *Cell*, 2014, 159(3):499 – 513.
- [39] Mohammad A, Ranman J, Barger J, et al. Lung cancer exosomes as drivers of epithelial mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(34):54852 – 54866.
- [40] Otsuki S, Inokuchi M, Enjoji M, et al. Vimentin expression is associated with decreased survival in gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(5):1235 – 1242.
- [41] Xiao X, Yu S, LI S, et al. Exosomes: decreased sensitivity of lung cancer A549 cells to cisplatin [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e89534.
- [42] Qin X, YU S, Zhou L, et al. Cisplatin – resistant lung cancer cell – derived exosomes increase cisplatin resistance of recipient cells in exosomal miR – 100 – 5p – dependent manner [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12:3721 – 3733.
- [43] Liu Y, Gu Y, Cao X, et al. The exosomes in tumor immunity [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(9):e1027472.
- [44] Chalmin F, Ladoire S, Mignot G, et al. Membrane – associated Hsp72 from tumor – derived exosomes mediates STAT3 – dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid – derived suppressor cells [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(2):457 – 471.
- [45] Szajnik M, Czystowska M, Szczepanski M J, et al. Tumor – derived microvesicles induce, expand and up – regulate biological activities of human regulatory T cells (Treg) [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7):e11469.
- [46] Huang SH, LI Y, Zhang J, et al. Epidermal growth factor receptor – containing exosomes induce tumor – specific regulatory T cells [J]. *Cancer Investig*, 2013, 31(5):330 – 335.
- [47] LI X, Wang S, Zhu R, et al. Lung tumor exosomes induce a proinflammatory phenotype in mesenchymal stem cells via NFκB – TLR signaling pathway [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9:42.
- [48] Zhang H, Wang Y, Bai M, et al. Exosomes serve as nanoparticles to suppress tumor growth and angiogenesis in gastric cancer by delivering hepatocyte growth factor siRNA [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3):629 – 641.
- [49] Ning X, Zhang H, Wang C, et al. Exosomes released by gastric cancer cells induce transition of pericytes into cancer – associated fibroblasts [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:2350 – 2359.
- [50] Mashouri L, Yousefi H, Aref A R, et al. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):75.

(责任编辑:刘培培)

执行编辑 刘培培
英文编辑 马忠诚
责任校对 陈圆圆

大健康教育与研究

第3期 2021年9月

COMPREHENSIVE HEALTH EDUCATION AND RESEARCH

No.3 Sep. 2021

主办单位 新乡医学院三全学院

主 编 刘鹤香

编辑出版 《大健康教育与研究》
编辑部

地 址 453003 河南省新乡市

电 话 0373-7375918 / 7375053

电子信箱 sqxyxb@sqmc.edu.cn

排 版 郑州豫兴印刷有限公司

Sponsor Sanquan College of Xinxiang Medical University

Editor-in-Chief Liu Hexiang

Edited&Published by Editorial Board of Comprehensive Health
Education and Research

Address Xinxiang 4530003, Henan Province, China

Tel. +86-373-7375918 / 7375053

E-mail sqxyxb@sqmc.edu.cn

Layout by Zhengzhou Yuxing Printing Limited Company

内部资料 免费交流