· 实验研究 ·

# 木犀草素对脑胶质瘤细胞氨肽酶 N 活性影响

高春艳[1], 聂珍贵[1], 王俊亚[1], 刘杨[2]

**摘　要: 目的**　探讨木犀草素对脑胶质瘤细胞氨肽酶 N 活性影响机制。**方法**　本研究采用酶抑制动力学方法, 研究了木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用、抑制类型和抑制动力学常数, 并进行了脑胶质瘤 U87 细胞的凋亡生长抑制试验。**结果**　木犀草素能够诱导了脑胶质瘤 U87 细胞的凋亡, 并呈现一定的剂量依赖性, 当浓度≥10 μmol 时, 与阳性对照 bestatin 相比差异有统计意义($P<0.05$), 求得半细胞凋亡率 $IC_{50}$ 为(61.23 ± 2.13) μmol; 此外木犀草素是一种可逆的竞争型氨肽酶 N 抑制剂, 半抑制率 $IC_{50}$ 为(70.85 ± 2.05) μmol, 抑制常数 *Ki* 为(24.83 ± 0.14) μmol; 失活动力学时间进程分析表明, 木犀草素能快速与氨肽酶 N 发生作用并迅速降低酶的活性。**结论**　木犀草素是一个竞争性的氨肽酶 N 抑制剂, 使氨肽酶 N 的活性降低, 对诱导了脑胶质瘤 U87 细胞的凋亡起到重要作用。

**关键词**: 木犀草素; 脑胶质瘤 U87 细胞; 氨肽酶 N; 抑制作用

**中图分类号**: R 181.2+4　**文献标志码**: A　**文章编号**: 1001-0580(2015)03-0334-04　DOI: 10.11847/zgggws2015-31-03-24

## Inhibitory effect of luteolin on aminopeptidase N in glioma cells and its mechanism

GAO Chun-yan*, NIE Zhen-gui, WANG Jun-ya, et al (* *Department of Pharmocology, Yanjing Medical College, Capital Medical University, Beijing* 101300, China)

**Abstract: Objective**　To study inhibitory effect of luteolin on aminopeptidase N (APN) in glioma cells and its mechanism. **Methods**　Enzyme inhibitory kinetics was adopted to analyze the inhibitory effect and the kinetic constant of luteolin on APN. Growth inhibition test was conducted to assess the apoptosis of U87 glioma cells. **Results**　As a competitive inhibitor of APN, luteolinn could induced apootosis in U87 glioma cells, with a half inhibition concentration ($IC_{50}$) of 70.85 μmol/L and an inhibition constant (Ki) of 24.83 μmol/L. Inactivation time process analysis showed that mignonette element could react with APN and reduce the activity of APN rapidly. **Conclusion**　Luteolin is a competitive APN inhibitor and could reduce the activity of APN, playing an important role in the apoptosis of U87 glioma cells.

**Key words**: luteolin; U87 glioma cell; aminopeptidase N; inhibitory effect

肿瘤的生长和转移是一个复杂的多步骤过程, 其可以穿过基底膜进入血管系统, 随循环系统扩散, 在继发组织器官定位生长, 转移和继续扩散等[1]; 而氨肽酶 N 在肿瘤细胞的演进过程中的各个环节都起到了一定的作用, 如参与细胞基质的降解和心血管的生成[2-5], 降解胸腺肽和白介素等, 为肿瘤细胞的生长提供了便利条件, 这意味着氨肽酶 N 抑制剂可以有效的抑制肿瘤细胞的生长和转移。木犀草素是黄酮类化合物[6], 具有抗诱变、抗肿瘤、抗感染、抗过敏等药理活性, 研究表明, 木犀草素还具有抑制恶性肿瘤细胞和抑制人肥大细胞活化的作用[7]。本课题将以木犀草素为目标药物研究对象, 通过木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用机理进行研究, 分析木犀草素对氨肽酶 N 抑制作用类型和抑制动力学常数, 探讨木犀草素与氨肽酶 N 的相互作用机制, 并进一步对氨肽酶 N 构象的影响进行研究, 以探讨其抗癌作用是否与其对氨肽酶 N 的抑制作用有关。现将结果报告如下。

## 1　材料与方法

1.1　*材料*　脑胶质瘤 U87 细胞系(首都医科大学药理实验室), 细胞置于 RPMI 1640 完全培养基中, 在 37 ℃、5% $CO_2$, 95% 湿度培养箱中培养, 细胞单层贴壁生长, 每 2 d 更换 1 次培养基, 细胞每周按 1:3传代; 木犀草素、溴化 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑[3-bromide(4,5-two-2)-2,5-two phenyl methyl thiazolyl tetrazolium, MTT]、二甲基亚砜、氨肽酶 N、L-亮氨酰-P-硝基苯胺、贝他定(美国 Sigma 公司); UV-2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)。

1.2　*方法*

1.2.1　木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用　氨肽酶 N 催化底物(L-亮氨酰-p-硝基苯胺)产生对-硝基苯胺, 在 405 nm 有紫外吸收, 对-硝基苯胺的浓度与酶活性的大小呈正相关; 通过检测 405 nm 处的吸收值得变化, 来确定氨肽酶 N 的活性, 以能够

**作者单位**: 1. 首都医科大学燕京医学院药理学教研室, 北京 101300; 2. 首都医科大学燕京医学院药医学形态学教研室
**作者简介**: 高春艳(1974-), 女, 北京人, 讲师, 硕士, 研究方向: 生物药剂学与药物代谢动力学研究。
**通讯作者**: 刘杨, E-mail: 2965363353@qq.com
**数字出版日期**: 2015-2-15 10:13
**数字出版网址**: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150215.1013.019.html

间接的反映出抑制剂对酶活性抑制程度的大小[8]。木犀草素和氨肽酶 N 在 37 ℃下，pH 6.8 的磷酸盐(50 mmol)缓冲体系中下孵化 3 h 后，加入 L－亮氨酰－P－硝基苯胺，利用 UV－2450 型紫外－可见分光光度计的动力学/时间软件测定 405 nm 处吸光值的变化，并通过通过关系式：相对活性(%) = ($R/R_0$) × 100%，计算木犀草素对氨肽酶 N 的抑制活性；式中 $R_0$ 为无抑制剂时的吸光度变化的斜率，$R$ 为在含有不同浓度木犀草素(0～250 μmol)的体系中的吸光度变化的斜率。以贝他定为阳性对照，平行 3 次实验($n$ = 3)用 UV－2450 型紫外－可见分光光度计的动力学/时间软件测定 405 nm 处吸光值的变化，并通过通过关系式：相对活性(%) = ($R/R_0$) × 100%，计算木犀草素对氨肽酶 N 的抑制活性；式中 $R_0$ 为无抑制剂时的吸光度变化的斜率，$R$ 为在含有不同浓度木犀草素(0～250 μmol)的体系中的吸光度变化的斜率。以贝他定为阳性对照，平行 3 次实验($n$ = 3)，$c$(氨肽酶 N) = 4 μg/mL，$c$(L－亮氨酰－P－硝基苯胺) = 1.0 mmol。

1.2.2　木犀草素对氨肽酶 N 的抑制动力学研究　在 37 ℃，相同的缓冲体系中，固定氨肽酶 N 的浓度 4 μg/mL)，测定在不同底物浓度下的酶促反应速度，采取 Lineweaver-Burk 作图，根据酶促反应的表观米氏常数($K_m$app)和最大反应速率($V_{max}$)的变化分析木犀草素对氨肽酶 N 的抑制动力学，并求得木犀草素(0、25、50、100 μmol)对氨肽酶 N 的抑制常数 $K_i$，平行 3 次实验($n$ = 3)。

1.2.3　木犀草素对脑胶质瘤 U87 细胞生长抑制试验　以 bestatin 为阳性对照，以不加木犀草素为空白对照，把不同浓度的木犀草素(0～200 μmol)和人脑胶质瘤 U87 细胞，在 37 ℃，5% $CO_2$ 中孵育48 h，之后加入 0.5% 的 MTT 染色液，继续孵育 4 h 后，2 500 r/min，离心 30 min，弃培养基，加入二甲基亚砜溶液，利用 UV－2450 型紫外－可见分光光度计测定 570 nm 处的吸光值($A$ 值)，细胞生长抑制率按下式计算：抑制率(%) = (空白 $A$ 值－抑制剂 $A$ 值/空白 $A$ 值) × 100%，平行 3 次实验($n$ = 3)。

1.3　统计分析　所有实验测定均重复 3 次($n$ = 3)，采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

## 2　结　果

2.1　木犀草素对氨肽酶 N 活性的抑制作用(表 1、图 1)　从表 1 可以看出，当木犀草素与贝他定为 5 μmol 时，二者对酶活性的抑制，差异无统计学意义，但随着抑制剂木犀草素浓度的增加，氨肽酶 N 的活性在不断的下降($P$ < 0.05)，直到木犀草素的浓度达到 150 μmol 后，氨肽酶 N 的相对活性的趋于平缓，解析其半数抑制浓度($IC_{50}$)为(70.85 ± 2.05) μmol，与阳性对照 bestatin 的 $IC_{50}$ 为(21.23 ± 0.45) μmol 相比，木犀草素对氨肽酶 N 显示出了一定的抑制作用。图 1 显示了氨肽酶 N 的活性与加入的酶量之间的关系，在不同浓度的木犀草素(曲线由上到下：0、25、75、150 μmol)的测活体系中，固定底物的浓度，不断地改变酶的浓度，酶催化活力对酶浓度作图得到一组通过原点的直线，且随着木犀草素浓度的增加，每条直线的斜率不断降低。

**表 1**　木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用

| 浓度(μmol) | 木犀草素(%) | 贝他定(%) | $t$ 值 | $P$ 值 |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 95.54 ± 6.57 | 95.53 ± 5.48 | 8.32 | 0.221 |
| 10 | 83.33 ± 6.13 | 64.98 ± 5.38 | 2.11 | 0.012 |
| 20 | 73.56 ± 5.41 | 50.58 ± 5.46 | 3.08 | 0.035 |
| 30 | 65.84 ± 4.38 | 40.26 ± 4.44 | 4.12 | 0.032 |
| 40 | 59.45 ± 4.97 | 32.43 ± 3.92 | 3.34 | 0.011 |
| 50 | 54.23 ± 4.54 | 26.82 ± 3.23 | 3.11 | 0.021 |
| 75 | 46.65 ± 2.28 | 21.63 ± 3.33 | 3.04 | 0.009 |
| 100 | 38.74 ± 3.25 | 16.32 ± 2.56 | 2.12 | 0.011 |
| 150 | 29.89 ± 3.31 | 7.93 ± 1.34 | 1.65 | 0.031 |
| 200 | 25.11 ± 3.31 | 3.11 ± 0.46 | 2.54 | 0.021 |
| 250 | 22.13 ± 3.03 | 1.54 ± 0.16 | 1.99 | 0.022 |

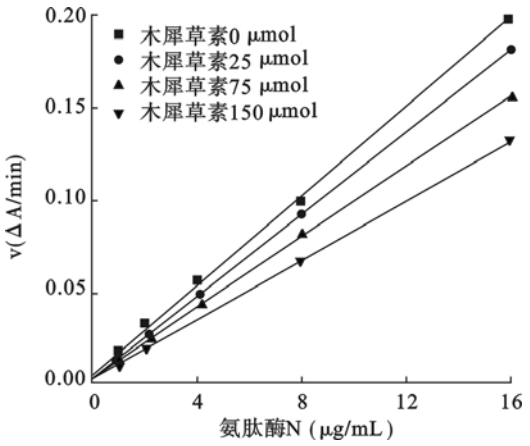


**图 1**　木犀草素对氨肽酶 N 的抑制类型

2.2　木犀草素对氨肽酶 N 抑制时间进程测定(表 2)　在相同的缓冲体系下，从起始孵化时间3 min 开始，每隔 180 s 从不同浓度的木犀草素－酶中取出相同体积的孵化液后，加入底物 L－亮氨酰－P－硝基苯胺，测定氨肽酶 N 的相对活性；从表 2 可以看出，在不同的木犀草素浓度下，随着孵化时间的增加，在不同浓度的木犀草素孵化下，氨肽酶 N 的相对活性木发生变化，差异无统计学意义($P$ > 0.05)。

中国公共卫生 CPH

**表 2**　木犀草素对氨肽酶 N 抑制时间进程

| 时间 (min) | 木犀草素 (25 μmol) | 木犀草素 (50 μmol) | 木犀草素 (75 μmol) | 木犀草素 (100 μmol) |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 82.35 ± 6.43 | 63.07 ± 5.55 | 42.19 ± 3.22 | 33.33 ± 2.11 |
| 6 | 81.03 ± 6.32 | 63.56 ± 3.99 | 41.69 ± 4.33 | 32.83 ± 4.43 |
| 9 | 80.75 ± 5.57 | 64.67 ± 4.43 | 41.72 ± 3.09 | 32.67 ± 5.57 |
| 12 | 80.47 ± 7.12 | 63.33 ± 5.76 | 41.16 ± 4.98 | 33.43 ± 1.57 |
| 15 | 80.47 ± 6.01 | 64.89 ± 2.22 | 41.19 ± 3.89 | 32.33 ± 6.98 |
| 18 | 80.79 ± 4.58 | 62.87 ± 4.56 | 40.69 ± 4.87 | 32.67 ± 3.58 |
| 21 | 79.83 ± 7.01 | 63.45 ± 4.89 | 41.70 ± 4.87 | 32.01 ± 3.56 |
| 24 | 79.83 ± 3.65 | 64.65 ± 6.77 | 41.69 ± 3.89 | 33.33 ± 4.57 |
| 27 | 79.43 ± 4.66 | 63.56 ± 4.76 | 41.70 ± 4.32 | 31.33 ± 1.57 |
| 30 | 80.97 ± 5.54 | 64.09 ± 5.67 | 40.67 ± 5.65 | 30.67 ± 3.43 |
| 40 | 80.15 ± 4.65 | 63.23 ± 5.11 | 41.19 ± 3.21 | 32.67 ± 2.76 |
| 50 | 80.19 ± 6.99 | 64.56 ± 4.12 | 42.72 ± 2.76 | 32.98 ± 3.21 |
| 60 | 79.63 ± 6.11 | 61.76 ± 6.22 | 42.21 ± 6.57 | 31.33 ± 4.76 |
| 90 | 80.43 ± 6.42 | 63.76 ± 6.57 | 40.67 ± 6.43 | 30.87 ± 2.76 |
| 120 | 80.15 ± 6.09 | 62.87 ± 5.43 | 40.67 ± 3.38 | 30.67 ± 3.87 |
| *t* 值 | 2.894 | 3.421 | 1.785 | 0.765 |
| *P* 值 | 0.987 | 0.664 | 0.753 | 0.598 |

2.3　木犀草素对氨肽酶 N 抑制动力学研究(图 2)　进一步验证木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用类型,在相同实验条件下,固定酶的浓度,在不同底物浓度下,木犀草素对多酚氧化酶抑制作用,分析木犀草素对氨肽酶 N 的抑制动力学,并利用 Lineweaver-Burk 双倒数方程作图(图 2),得出木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用类型为竞争型抑制作用,并求得抑制常数 $K_i$ = (24.83 ± 0.14) μmol。

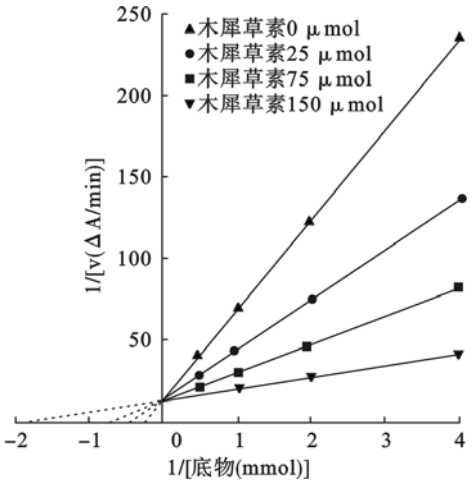


**图 2**　木犀草素抑制氨肽酶 N 的 Lineweaver-Burk 曲线

2.4　木犀草素对脑胶质瘤 U87 细胞生长的抑制作用(表 3)　从表 3 中可以看出,随着木犀草素和 bestatin 浓度的不断增加,对脑胶质瘤 U87 细胞生长的抑制作用在不断地增强,相同浓度下的木犀草素和 bestatin 的抑制效果差异无统计学意义($P$ > 0.05);分别计算阳性对照 bestatin 和木犀草素对脑胶质瘤 U87 细胞生长的半抑制浓度 $IC_{50}$ 为(49.34 ± 1.22)和(61.23 ± 2.13) μmol,显示木犀草素抑制脑胶质瘤 U87 细胞的生长的能力稍低于 bestatin,这与酶抑制作用实验结果一致,表明木犀草素可能是由于对氨肽酶 N 活性的抑制,诱导了脑胶质瘤 U87 细胞的凋亡。

**表 3**　木犀草素对脑胶质瘤 U87 细胞生长的抑制作用

| 浓度 (μmol) | 木犀草素 (%) | 贝他定 (%) | *t* 值 | *P* 值 |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 4.54 ± 0.53 | 6.53 ± 0.21 | 8.32 | 0.143 |
| 10 | 7.33 ± 1.22 | 10.98 ± 2.58 | 7.11 | 0.053 |
| 20 | 16.56 ± 1.41 | 20.58 ± 3.44 | 7.08 | 0.076 |
| 30 | 23.84 ± 2.34 | 28.26 ± 3.49 | 6.12 | 0.087 |
| 40 | 32.45 ± 3.67 | 40.43 ± 4.12 | 5.39 | 0.231 |
| 50 | 42.23 ± 3.33 | 48.82 ± 5.20 | 8.01 | 0.321 |
| 75 | 55.65 ± 4.28 | 57.63 ± 5.87 | 7.09 | 0.209 |
| 100 | 69.74 ± 5.55 | 64.32 ± 4.87 | 6.87 | 0.430 |
| 150 | 77.89 ± 6.09 | 73.93 ± 6.32 | 5.87 | 0.563 |
| 200 | 83.11 ± 7.87 | 78.11 ± 5.33 | 11.21 | 0.765 |

## 3　讨　论

可逆性实验表明,增加木犀草素的浓度使氨肽酶 N 活力受到抑制,而不是通过减少有效酶量引起酶活力下降。这意味着木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用类型属于可逆的过程[9]。木犀草素对氨肽酶 N 活性的影响表明,木犀草素对氨肽酶 N 的抑制作用是具有浓度依赖性,酶抑制时间动力学发现木犀草素能轻松的与氨肽酶 N 发生相互作用,并快速的改变酶的生理结构和性质,最终使酶在短时间内得到抑制,且相对活性不再随着孵化时间发生变化[10]。Lineweaver-Burk 双倒数图是相交于纵坐标的一组直线,是用以计算酶抑制类型的经典公式,结果主要体现在 $V_{max}$ 和 $K_m$app 变化,若体系中 $V_{max}$ 保持不变,而 $K_m$app 逐渐增大,则是典型的竞争性抑制作用类型[11];若体系中 $K_m$app 保持不变,而 $V_{max}$ 逐渐增大,是典型的非竞争性抑制作用类型;若体系中 $V_{max}$ 和 $K_m$app 随着抑制剂浓度的增加均发生改变,那么这是典型的混合型抑制作用类型;本研究中发现木犀草素是典型的竞争性抑制剂,表明木犀草素可能会结合到氨肽酶 N 的活性中心,与底物竞争活性位点,从而达到抑制的效果。

氨肽酶 N 是 bestatin 主要的作用靶点,bestatin 可诱导脑胶质瘤 U87 细胞的凋亡,本研究以人脑胶质瘤 U87 细胞为靶细胞,研究木犀草素素对脑胶质瘤 U87 细胞生长的抑制作用;方法原理:活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能够还原黄色的 MTT 为蓝紫色的不溶于水的甲瓒,并沉积在细胞中,甲瓒的生成量在通常情况下与活细胞数呈正比,也与细胞活力呈正比;甲瓒能被二甲基亚砜溶解,其含量可在

中国公共卫生 CPH

570 nm 处的测定吸收值来确定,因此可根据570 nm 处的测定吸收值的变化,间接推测出活细胞的数目,并了解抑制剂杀伤肿瘤细胞的能力[12-13]。结果表明,木犀草素对脑胶质瘤 U87 细胞生长的抑制活性与体外抑酶实验的趋势相一致,即随着木犀草素浓度的增大,对脑胶质瘤 U87 细胞生长的抑制作用明显增加。

综上所述,木犀草素是一种可逆的竞争型氨肽酶 N 抑制剂,能快速与氨肽酶 N 发生作用并迅速降低酶的活性,进而诱导了脑胶质瘤 U87 细胞的凋亡。

**参考文献**


[1] 梁婧. 血管内皮抑素协同肿瘤特异性 DC-T 细胞的抗肿瘤效应及其机制探讨[D]. 济南:山东大学博士学位论文,2014.

[2] Pasqualini R, Koivunen E, Kain R, et al. Aminopeptidase N is a receptor for tumor-homing peptides and a target foe inhibiting angiogenesis[J]. Cancer Res, 2000, 60: 722 - 727.

[3] 张晓攀. 小分子类肽氨肽酶 N(APN/CD13)抑制剂的设计、合成及初步活性研究[D]. 济南:山东大学博士学位论文,2012.

[4] 贾美荣. 氯霉胺衍生物类氨肽酶 N 抑制剂的合理设计、合成及初步活性研究[D]. 济南:山东大学硕士学位论文,2012.

[5] 王婷,阮林高,戈梅,等. 一种利用荧光标记检测氨肽酶 N 抑制剂与肿瘤细胞结合的方法[J]. 现代生物医学进展,2014,14(4):231 - 234.

[6] 应景艳,顾少君,姚彤炜. 木犀草素(苷)与药物代谢酶相互作用的研究进展[J]. 药学学报,2008,43(4):335 - 342.

[7] 鲁昌燕. Luteolin 通过抑制 Akt 的活化和促进 XIAP 的降解敏化 Fas-诱导的 HepG2 细胞凋亡[D]. 南京:南京师范大学硕士学位论文,2011.

[8] Ying ZL, Lu QS, Hao F, et al. Design, synthesis, and preliminary aetivity studies of novel N-cinnamoyl-L-aspartic acid derivatives as aminopeptidase N/CD13 inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(20): 7398 - 7404.

[9] Jeong SH, Ryu YB, Curtis-Long MJ, et a1. Tyrosinase inhibitory polyphenols from roots of *Morus lhou*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(4): 1195 - 1203.

[10] Lu ZR, Shi L, Wang J, et a1. The effect of trifluoroethanol on tyrosinase activity and conformation: inhibition kinetics and computational simulations[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, 160(7): 1896 - 1908.

[11] Qiu L, Chen QH, Zhang JX, et al. Inhibitory effects of α-cyano-4-hydroxycinnamic acid on the activity of mushroom tyrosinase[J]. Food Chem, 2009, 112, 609 - 613.

[12] 张晓峰. 不同药物对 HT29 细胞及其体外肿瘤移植模型作用[J]. 中国公共卫生,2014,30(10):1273 - 1275.

[13] 张巍,秦迎新,李妍,等. 胡桃醌诱导宫颈癌 Caski 细胞凋亡作用[J]. 中国公共卫生,2014,30(10):1279 - 1281.


**收稿日期:** 2014-10-15　　(韩仰欢编辑　郭薇校对)

· 调查报告与分析 ·

# 青岛市基层医务人员流感疫苗接种及 KAP 调查*

黄玲玉[1],郝晓宁[2],薄涛[3],李士雪[1],刘志[2],姜法春[4],逄淑涛[4],卜令寒[1]

**摘　要:目的**　调查基层医务人员流感和流感疫苗认知情况,并快速评估其接种状况,分析影响因素,为促进流感疫苗接种工作提供依据。**方法**　采用整群随机抽样方法,对山东省青岛市 7 家一级医疗机构 233 名医务人员进行问卷调查。**结果**　被调查者流感疫苗接种率为 12.88%,表示下个流感季有接种意愿的 13 人,占 5.58%;对流感及流感疫苗的认知情况不佳,流感病毒相关问题的知晓率为 19.31%,流感疫苗最佳接种时期知晓率为 75.97%,有接种史组相关知识知晓和行为情况好于无接种史组。**结论**　基层医务人员流感疫苗接种率较低,接种意愿不强,对流感及流感疫苗的认知情况不足,需要采取综合干预措施。

**关键词:** 流感;流感疫苗;知识、态度、行为;现况调查

**中图分类号:** R 186　**文献标志码:** A　**文章编号:** 1001-0580(2015)03-0337-04　DOI: 10.11847/zgggws2015-31-03-25

# Inoculation rate and knowledge, attitude and practice about influenza vaccine among grassroots medical staff in Qingdao, China

HUANG Ling-yu*, HAO Xiao-ning, BO Tao, et al (* *School of Public Health, Shandong University, Ji'nan, Shandong Province* 250012, China)

**Abstract: Objective**　To investigate the awareness of influenza, influenza vaccine, and inoculation rate of influenza vaccine and its related factors among community medical staff and to provide a basis for promoting influenza vaccination. **Methods**　We conducted a questionnaire survey in 233 health care workers (HCWs) from 7 first level hospitals in Qingdao city selected with cluster random sampling and obtained general information, knowledge about influenza and influenza

* **基金项目:** 中美新发和再发传染病合作项目(5U2GGH000018)

**作者单位:** 1. 山东大学公共卫生学院社会医学与妇幼卫生学系,山东 济南 250012; 2. 卫生部卫生发展研究中心; 3. 青岛市卫生和计划生育委员会; 4. 青岛市疾病预防控制中心

**作者简介:** 黄玲玉(1988 - ),女,山东临沂人,硕士在读,研究方向:社会医学与卫生事业管理。

**通讯作者:** 李士雪,E-mail: shixueli@sdu.edu.cn

**数字出版日期:** 2015 - 2 - 15 10:07

**数字出版网址:** http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150215.1007.011.html