

Fat-1 基因真核表达载体的构建及其对人口腔鳞癌细胞 脂肪酸含量的影响 *

李 栋 聂代邦 王海军 段新平 逢大欣[△] 欧阳红生

(吉林大学畜牧兽医学院 动物胚胎工程吉林省重点实验室 吉林 长春 130062)

摘要 目的:构建真核表达载体 pcDNA3.1-Fat1 线性化稳定转染人口腔鳞癌细胞株 Tca8113 检测其细胞内脂肪酸含量变化。方法 通过重叠延伸 PCR 方法人工合成利于真核表达的 Fat-1 基因,用基因重组技术构建真核表达载体 pcDNA3.1-Fat-1,用脂质体转染真核细胞的方法转染人口腔鳞癌细胞株 Tca8113,用气相色谱仪检测脂肪酸的变化情况。结果:测序及酶切鉴定成功合成真核偏好表达的 Fat-1 基因。与对照组相比,转染 Fat-1 基因的口腔癌细胞的 n-3 脂肪酸明显增多, n-6/n-3 明显下降。结论:成功构建真核表达载体 pcDNA3.1-Fat1,并对口腔鳞癌细胞内脂肪酸含量产生明显影响,为进一步研究 Fat-1 基因在口腔鳞癌中的生物学功能奠定了基础。

关键词 真核表达载体;转染;口腔鳞癌细胞; n-3 脂肪酸

中图分类号: R739.8 Q75 Q78 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2011)11-2117-05

Construction of Fat-1 Eukaryotic Expression Vector and Its Effect on Fatty Acids Content of Human Oral Squamous Cell Carcinoma Cells*

LI Dong, NIE Dai-bang, WANG Hai-jun, DUAN Xin-ping, PANG Da-xin,[△] OUYANG Hong-sheng

(Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Embryo Engineering, Institute of Animal and Veterinary Medicine, Jilin University,
Changchun, 130062, China)

ABSTRACT Objective: To construct eukaryotic expression vector pcDNA3.1-Fat1 and transfect human oral squamous cell carcinoma cell line Tca8113, then tested the changes of fatty acids content in Tca8113. **Methods:** The Fat-1 gene was constructed by SOE-PCR. The pcDNA3.1-Fat1 was constructed by using recombinant DNA technology, human oral squamous carcinoma cells line Tca8113 cells was transfected using lipofection method. The fatty acids content of the transfected Tca8113 cells was detected by using gas chromatography technology. **Results:** Eukaryotic expression vector pcDNA3.1-Fat1 was successfully constructed and transfected into human oral squamous carcinoma cell line Tca8113. The cells that expressed the fat-1 gene had a lower n-6/n-3 PUFA ratio compared with the cells that expressed the control vector. **Conclusion:** The pcDNA3.1-Fat1 is successfully constructed, and it has significant effect on the PUFAs content of Tca8113 cells, which makes a foundation in the future study on the biological function of Fat-1 gene in human oral squamous carcinoma.

Key words: Eukaryotic expression vector; Transfect; Oral squamous cell carcinoma cell; n-3 fatty acids

Chinese Library Classification(CLC): R739.8 Q75 Q78 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)11-2117-05

前言

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma)^[1],传统的治疗方法包括手术、放化疗并不能明显提高患者的生存率,而且手术治疗往往严重破坏患者的美观而致残,放疗、化疗产生严重的毒副作用仍然是临床上棘手问题。因此,积极寻求治疗口腔鳞状细胞癌的新途径成为临床上面临的重要课题。

Fat-1 基因的翻译产物是由 402 个氨基酸组成的 n-3 PU-FAs 脱氢酶,是第一个从动物体内分离出来的催化 n-6 脂肪酸转变成 n-3 脂肪酸的酶。将 Fat-1 基因转入动物或者植物体内,将改变动物或者植物的脂肪酸构成,使其产生对人类有利的一

系列 n-3 脂肪酸,从而成为人类膳食中 n-3 脂肪酸的重要来源^[2,3]。研究证实通过腺病毒介导 Fat-1 基因,对乳腺癌^[4-6]和肺癌^[7]具有良好的抗癌效果,另有研究发现 Fat-1 基因的异源表达,可有效调整细胞 n-6/n-3 脂肪酸比例,抑制胃癌细胞 SGC7901 的增殖,诱导细胞凋亡^[8]。这些研究证明 Fat-1 基因转移能够在人体细胞中调整脂肪酸构成,进一步证实了 n-3 脂肪酸的抗癌作用^[9],预示可以通过在患有胃癌的病人中调整其组织细胞中 n-6/n-3 脂肪酸比例来达到治疗目的的新的癌症治疗策略。但是 Fat-1 基因在口腔鳞癌的研究还没有报导。因此本研究拟在研究自己合成的 Fat-1 基因能否改变口腔鳞癌细胞的 n-6/n-3 脂肪酸比例,为进一步研究 Fat-1 影响口腔鳞癌肿瘤的增殖与

* 基金项目 国家级转基因生物新品种培育重大专项(2008ZX08006-003)

作者简介 李栋(1985-)男,理学硕士研究生,主要从事分子生物学、细胞生物学的研究。

电话:13756002980 E-mail:wendongguanghui04@163.com

[△]通讯作者 逢大欣 E-mail:pdx@jlu.edu.cn 欧阳红生 E-mail:ouyh@jlu.edu.cn

(收稿日期:2011-02-05 接受日期:2011-02-28)

凋亡打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大肠杆菌 DH5 α 为实验室所保存。Ex Taq™ 高保真酶(含 dNTPs 及 Mg²⁺)、pMD18-T Simple Vector、限制性内切酶购于宝生物工程(大连)有限公司。口腔鳞癌细胞株 Tca8113 购于吉林大学口腔医院。Lipofectamine™ 2000 转染试剂购于 invitrogen 公司。G418 购于 Gibco 公司。FBS、DMEM、青链霉素等细胞培养试剂均购自于 PAA 公司。Nhe⁻、Kpn⁻ 限制性核酸内切酶购于 Fermentas 公司。质粒提取试剂盒、胶回收试剂盒、Pfu DNA Polymerase 等均购于北京 TIANGEN 公司。T4 DNA 连接酶购于 promega 公司。

1.2 引物的设计

引物由北京赛百盛基因技术有限公司合成。参照 NCBI 上秀丽线虫 *C.elegans* 的 n-3 脂肪酸去饱和酶基因 cDNA 序列(长度 1209 bp), 首先进行遗传密码优化设计^[10,11], 即根据密码子偏爱性把线虫的基因遗传编码方式改变为哺乳动物密码子的编码方式。再设计 16 对引物, 每条引物在 38 bp 左右的寡核苷酸片段进行合成, 每段寡核苷酸片段相互有 18~20 bp 的重叠碱基。并在序列末端分别加入 Nhe⁻ 和 Kpn⁻ 酶切位点。

1.3 利用重叠延伸 PCR^[12,13] 拼接合成 Fat-1 基因

Fat-1 基因的 PCR 拼接过程可用如下的示意图(图 1)说明。首先进行延伸反应, 分别取引物 2.5 μ l、10 $\times$ Pfu Reaction Buffer 5 μ l、dNTP 8 μ l、ddH₂O 30 μ l 配成 50 μ l 反应体系并混匀。反应条件均为: 94℃ 5 min, 55℃ 10 min; 然后各加入 Pfu DNA Polymerase 2 μ l, 55℃ 5 min, 72℃ 15 min。接着进行第一轮 PCR 反应, 分别以上述延伸产物为模板, 按照 Pfu DNA Polymerase 的反应体系配制 50 μ l 的 PCR 反应液。反应条件均为: 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s, 循环 30 次, 最后 72℃ 延伸 10 min, 12℃ 保存。接下来进行第二次 PCR 反应, 分别以上述 PCR 产物为模板进行 PCR 反应, 反应体系及条件同前。反应产物经胶回收试剂盒纯化, 再进行第三次 PCR 反应, 分别以回收纯化产物为模板进行 PCR 反应, 反应体系及条件同前。反应产物经胶回收试剂盒纯化, 再进行第四次 PCR 反应, 以纯化产物为模板, 反应条件为: 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 60 s, 循环 30 次, 最后 72℃ 延伸 10 min, 12℃ 保存。经胶回收试剂盒纯化后进行第五次 PCR 反应, 以纯化产物为模板, 反应条件为: 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 90 s, 循环 30 次, 最后 72℃ 延伸 10 min, 12℃ 保存。

1.4 全长基因的克隆及序列分析

将拼接完整的 Fat-1 基因克隆到载体 pMD18-T Simple Vector 上。连接产物经过转化大肠杆菌 DH5 α 、涂 LB 平板、挑选克隆、摇菌、提取质粒和酶切初步鉴定后再测序鉴定而获得正确的插入了目的基因的克隆。这些操作均按相关的试剂说明书进行。

1.5 Fat-1 真核表达载体的构建

将测序正确的目的基因和真核表达载体 pcDNA3.1 (+)用 NheI、KpnI 双酶切, 利用 T4 DNA 连接酶连接, 然后转化感受态细菌, 挑取克隆并酶切鉴定, 获得真核表达载体 pcDNA3.

1-Fat1 载体结构如图 2 所示。

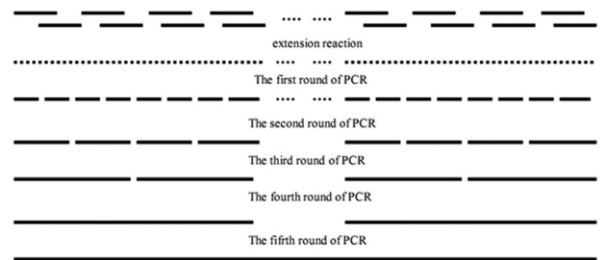


图 1 Fat-1 基因拼接示意图

Fig.1 Schematic Representation of Fat-1 gene splicing

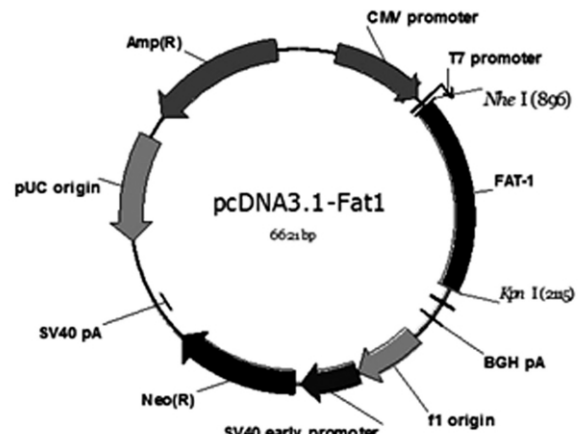


图 2 pcDNA3.1-Fat1 载体结构

Fig.2 The structure of pcDNA3.1-Fat1 vector

1.6 pcDNA3.1-Fat1 转染口腔鳞癌细胞及筛选

采用脂质体法, 按 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书进行操作。转染后, 加入细胞完全培养液(10%FBS+DMEM)继续培养。培养 48h 后, 加入含 G418(终浓度为 250 μ g/ml)的细胞筛选液。用选择性培养基大约筛选 10d 左右出现单克隆时, 倒掉原来的培养液, 用预热的 PBS 将细胞清洗 1 遍, 用自制的克隆环将单个细胞克隆套住, 加入适量的胰酶消化约 30sec~1min, 镜下见细胞变圆后加入带血清的 G418 选择培养基以终止消化反应。将细胞轻轻地吹散后先后用 24 孔板和 6 孔板继续扩大培养。待 6 孔板中的细胞长满以后, 将一部分细胞冻存, 一部分细胞用于检测。

1.7 克隆细胞的鉴定

获得克隆细胞后, 利用 PCR 进行鉴定。鉴定引物为: 上游引物 5' CCGCCACCGCTCCCGTCAC 3', 下游引物 5' TGCTTCCCAATCCTTATCCTG3', 产物长度为 527bp。PCR 体系: DNA 模板 1 μ l, Pfu DNA Polymerase 1 μ l, 10 $\times$ Pfu Reaction Buffer 2.5 μ l, dNTP 4 μ l, 上下游引物各 0.5 μ l, ddH₂O 15.5 μ l 配成 25 μ l 反应体系并混匀。反应条件均为: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 30s, 53℃ 30s, 72℃ 45s, 循环数 30 个, 最后 72℃ 延伸 5min。PCR 结束后, 取 5 μ l 跑琼脂糖凝胶电泳。

1.8 脂肪酸含量测定^[14]

用含 0.005% 丁羟甲苯(作为一种抗氧化剂)的, 按体积比 =2:1 的氯仿/甲醇抽提细胞脂类物质。脂肪酸甲酯(fatty acid methylestes)用含 14%三氟化硼/甲醇试剂来准备。然后用全自动 HP5890 气象色谱分析仪分析检测。具体方法按文献进行^[14]。

2 结果

2.1 Fat-1 基因的拼接合成

利用重叠延伸 PCR 法获得 Fat-1 基因的全序列长度为 1221bp ,经核酸电泳、酶切鉴定、测序证实正确。

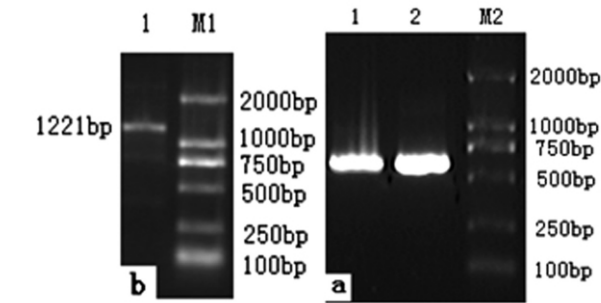


图 3 Fat-1 基因片断的拼接 a: 第四轮 PCR 结果 b: 第五轮 PCR 结果
Fig.3 Fat-1 gene splicing a: The fourth round of PCR; b:The fifth round of PCR

2.2 拼接 Fat-1 基因的克隆及验证

拼接的基因与载体 pMD18-T Simple Vector 连接并转化到 DH5 α 提取质粒进行酶切鉴定 结果如图 4 所示。最后测序获得质粒 pMD18-T-Fat-1 的正确克隆。

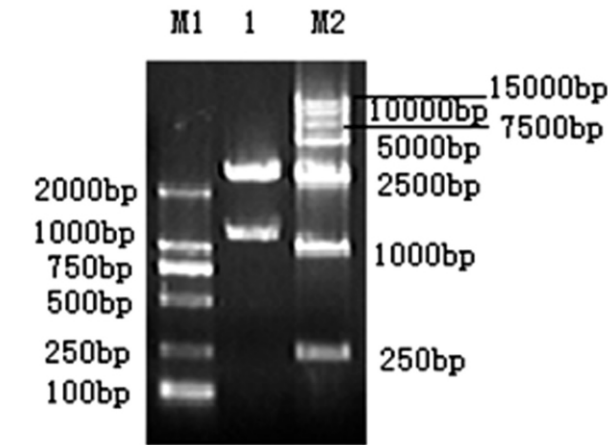


图 4 重组质粒 pMD18-T-Fat-1 的酶切鉴定 M1 :DL2000 ;1 :1.2 kb M2 : DL15000
Fig.4 Restriction analysis of the pMD18-T-Fat-1 M1: DNA Marker DL2000; 1:1.2 kb fragment; M2:DNA Marker DL15000

2.3 口腔鳞癌细胞的克隆鉴定

PCR 结果显示 ,鉴定基因的 PCR 产物为 527bp ,说明目的基因已完全整合到口腔鳞癌细胞基因组当中。PCR 产物片段经测序证实为 Fat-1 基因。

2.4 脂肪酸含量测定结果与 n-6/n-3 PUFAs 比例变化

用气相色谱仪测定 Fat-1 阳性克隆细胞与对照组细胞内 n-6 PUFAs 和 n-3 PUFAs 的含量 ,结果见表 1。结果显示 :与转染线性化 pcDNA3.1 空载体的 Tca8113 细胞相比 ,转染 pcDNA3.1-Fat-1 基因的 Tca8113 细胞 n-3 脂肪酸明显增多 ,n-6/n-3 PUFAs 比例明显降低 ,二者比较差异显著(图 6 , $P<0.05$)。

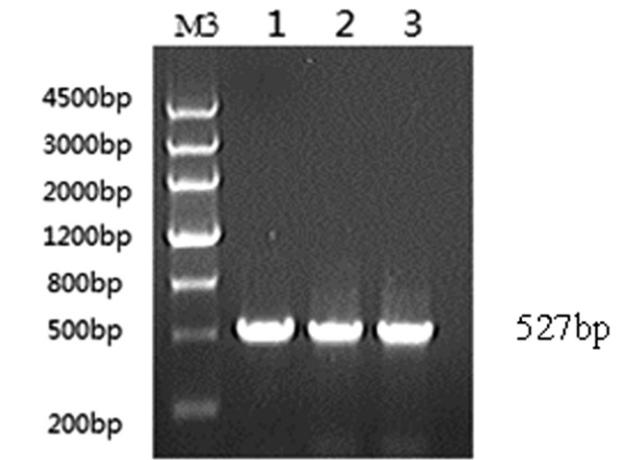


图 5 Fat-1 克隆细胞 PCR 鉴定 M3 :DNA Marker ;1,2,3 Fat-1
Fig.5 The identification of Fat-1 transgenic cell by PCR M3:DNA Marker ;1,2,3: Fat-1 transgenic cells

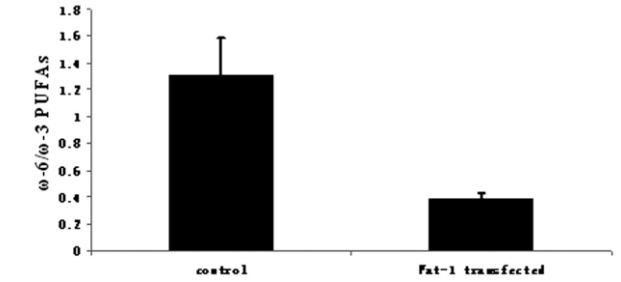


图 6 n-6 PUFAs 与 n-3 PUFAs 的比值
Fig.6 The ratio of n-6 PUFAs to n-3 PUFAs

表 1 气相色谱数据表
Table 1 The data of Gas Chromatography

Mol % of total fatty acid	Control	Fat-1 transfected
n-6 Polyunsaturate		
18:2n-6	4.31	7.68
20:4n-6	16.95	10.88
Total	20.96	18.56
n-3 Polyunsaturate		
18:3n-3	0.32	1.62
20:5n-3	2.29	22.58
22:5n-3	4.68	13.86
22:6n-3	9.15	10.61
Total	16.44	48.67
n-6/ n-3 ratio	1.275	0.381

注 表中对照组和实验组脂肪酸含量分别为三次测定值的和
Note: Sum of the thrice test value of control group and experimental group fatty acid content

3 讨论

近年来 ,n-3 多不饱和脂肪酸已成为研究的热门课题 ,人们认识到它与人类的生命和健康关系密切。药理实验证明 ,n-3 PUFAs 具有降血脂、降血压、促进脂肪代谢、抑制血小板凝集、

对不同的行为,可以处于不同的行为改变阶段,如患者可能处于饮食行为改变的意图前期和运动改变的准备期^[17]。评估患者的行为改变意愿,提供与患者的行为改变阶段相匹配的行为干预能够改变患者的行为和改善血糖控制^[3]。评估的时候,要使用开放性的问题,积极的倾听^[16],从患者最关心的问题开始,并注意将问题尽可能地具体化^[18]。一般采取面对面访谈的形式进行评估,也有研究者通过远程医疗系统或触摸屏进行评估^[19,20]。

3.2 设定目标

通过评估,医患双方达成共识,明确了存在的问题和患者愿意改变的行为,然后再双方一起设定目标。设定目标要以病人为中心,可以由病人自己选择或与医务人员一起协商制定。与患者一起设立目标是一个有效的策略,那些参与选择目标并清楚目标的含义的病人能够更容易实现自己的目标^[21]。设定目标的时候,需要注意目标必须与行为相关,目标清晰、具体、明确,可观察和测量。如:"晚饭后不吃零食"而不是笼统的"吃得更健康",如"每周步行3次,每次半小时",而不是"减轻体重"。同时,目标要合理但有挑战性,不要太难让患者感觉无法完成而受挫折,也不能太容易而让患者感觉不达成目标的乐趣^[18]。Darren等^[14]建议行为目标开始的时间最好在近期,如从下周开始。避免一次设定太多的目标,一般不超过2个。一次设定的目标太多,患者很难达到,并有很大的压力,容易产生受挫感,不利于行为改变^[22]。把目标记录在病历上有利于在以后的会谈中均进行针对性的教育^[16]。此外,糖尿病决定支持手册^[11]、糖尿病自我管理指南^[14]等都有助于医务人员和患者在实际工作中更好地设定目标。

3.3 识别障碍

目标设定后,需要评估患者达成目标的信心(LOS),让患者从0到10的范围内标出行为改变信心的大小(0为最小,10为最大),如患者的信心评分在7以下,则教育者和患者一起分析原因,修改目标,建议患者从小的改变开始^[16]。障碍是影响目标达成最主要的因素^[23],行为改变的障碍包括患者的信念、情感、社会支持、资源和客观环境等^[24]。不但要分析存在的障碍,还要分析障碍存在的原因及探讨克服障碍的策略,利用患者既往成功的经验可以增加患者的自我效能^[18]。

3.4 随访及评价

目标设定后,患者回家开始实施,要求患者记录自己的行为,记录成功和失败的经历,一般在2~4周内予以电话随访,或通过个别会谈和小组会谈等方式提供鼓励和支持,询问患者是否记得自己设定的行为目标,评估目标达成情况,分析目标没有达成的原因,修改目标或继续执行目标^[11,14,16,19,22]。目标达成后可以给患者适当奖励以鼓励患者继续坚持^[25],奖励可以是患者喜欢做的事情^[26],但注意奖励不应该是与目标相对立或违背,例如用大吃一顿来奖励坚持了合理饮食。研究显示,随着时间的延长,达成目标且能维持行为的患者逐步减少^[14],在患者目标达成后定期与患者联系,继续支持鼓励患者,可以防止患者不良行为的反复^[27]。

4 目标设定在糖尿病教育中的应用

尽管目标设定包括以上步骤,但在实际应用的时候,这几个步骤并不是截然分开的。许多研究者将目标设定融入到日常

工作当中,借助于一些目标设定的工具,取得了良好的效果。

Darren A等设计了糖尿病自我管理指南,帮助患者与医务人员沟通。在与患者会谈的时候,研究者利用指南,询问患者的行为改变意愿,以患者为中心,制定行为目标,分别于第2、4周进行电话随访和支持,结果发现,大多数患者都选择饮食和运动行为改变目标,93%的患者至少达成了一个目标,73%的患者达成了2个行为目标,且患者对干预都很满意^[14]。

圣彼得家庭医生教育项目(SPFM)采用慢性病电子管理系统注册软件记录、评估患者的一般情况,动态追踪、评价患者的目标达成情况,结合个别咨询、小组讨论的方式,让患者分享在行为改变过程中所经受的挫折,获得解决问题的技巧,设定个体化的目标,增强了患者的主人翁责任感,从而更积极地管理自己的疾病^[16]。

电脑及网络在目标设定的过程中也发挥着重要的作用。Susan等^[19]利用远程医疗系统进行远程访问,将目标设定的程序融入到每一次的远程访问中,如对话、探讨及动态反馈,结果发现,68%的目标得到改善或达成,胰岛素注射技术和足部护理也有很大的改观。Paul A^[20]等借助目标设定光盘,通过触摸屏进行人机互动,评估患者的饮食和运动行为,比较患者的行为与指南的差距,引导患者自行设定感兴趣的目标,并帮助患者分析目标达成的障碍,最后制定目标与行为计划,辅以8~10分钟的面对面咨询。结果发现,目标设定软件可以帮助患者自行选择合适的行为目标,识别行为改变的障碍,并导致行为改变。

国内研究者以阶段性改变模式为指导,与患者设定个体化的、合理的目标,患者的目标达成率和坚持率达100%,血糖也有所改善^[22],患者在饮食、运动、血糖监测、吸烟、饮酒几方面行为产生了明显的改变^[12]。

5 存在的问题及展望

尽管目标设定是一个有效的行为干预策略,但在临床工作中并没有得到广泛应用^[7,14]。可能是由于传统的教育材料都是以提供知识为主,并不注重激励患者自我寻找解决问题的技巧,不适用于目标设定,医务人员习惯于传授知识,帮患者做决定,缺乏帮助患者设定目标的知识 and 技能,而且工作繁忙,缺乏时间^[14,28]。

为了促进目标设定在临床工作中的广泛应用,医务人员需要接受相关理论和技能的培训,培训的内容包括医患沟通技巧、跨理论模式、行为改变阶段评估及设定目标的注意事项等,培训的方式包括理论授课、观看录像、小组讨论及角色扮演,培训所需的时间大概为6小时,且培训后仍需专家的指导^[29]。另外,发展、设计与目标设定相匹配的教育材料也是以后研究的重点。

参考文献(References)

- [1] Peebles M, Tomky D, Mulcahy K, Peyrot M, et al. Evolution of the American Association of Diabetes Educators' diabetes education outcomes project[J]. Diabetes Educ, 2007, 33(4): 794-817
- [2] Weingarten SR, Henning JM, Badamgarav E, et al. Interventions used in disease management programs for patients with chronic illness-which ones work? Meta-analysis of published reports[J]. BMJ,

- 2002;325(7370): 925-928
- [3] Helen Jones, Lynn Edwards, Michael Vallis, et al. Changes in Diabetes Self-Care Behaviors Make a Difference in Glycemic Control [J]. Diabetes Care, 2003, 26(3):732-737
- [4] McAndrew L, Schneider SH, Burns E, et al. Does patient blood glucose monitoring improve diabetes control? A systematic review of the literature[J]. The Diabetes Educator, 2007, 33(6):1005-1013
- [5] Boren SA, Gunlock TL, Schaefer J, Albright A. Reducing risks in diabetes self-management: a systematic review of the literature [J]. Diabetes Educ, 2007;33(6):1053-1077
- [6] Morrato EH, Hill JO, Wyatt HR, et al. Are health care professionals advising patients with diabetes or at risk for developing diabetes to exercise more[J]. Diabetes Care, 2006;29(3):543-548
- [7] Glasgow RE, Whitesides H, Nelson CC, King DK. Use of the Patient Assessment in Chronic Illness Care (PACIC) with diabetic patients: relationship to patient characteristics, receipt of care, and self-management Are health care professionals advising patients with diabetes or at risk for developing diabetes to exercise more [J]. Diabetes Care, 2005;28(11):2655-2661
- [8] Lorig KR, Holman H. Self-management education: history, definition, outcomes, and mechanisms[J]. Ann Behav Med, 2003, 26(1):1-7
- [9] Lorig K. Action planning: a call to action [J]. J Am Board Fam Med, 2006;19(3): 324-325
- [10] Martha M. Funnell, Robert M. Anderson, Anita Austin, et al. AADE Position Statement: Individualization of Diabetes Self-management Education[J]. The Diabetes Educator, 2007, 33(1): 45-49
- [11] William Corser, Margaret Holmes-Rovner, Catherine Lein, et al. A Shared Decision-Making Primary Care Intervention for Type 2 Diabetes[J]. The Diabetes Educator, 2007;33(4): 700-708
- [12] 张靖, 郝振先, 单忠艳. 将行为改变策略纳入糖尿病教育中的实践 [J], 中华护理杂志, 2007;42(2) :130-132
Zhang Jing, Du Zhen-xian, Shan Zhong-yan. The incorporation of behavior change strategies into diabetes education practices [J]. Chinese journal of nursing, 2007;42(2): 130-132
- [13] American Association of Diabetes Educators. AADE Guidelines for the Practice of Diabetes Self-Management Education and Training (DSME/T)[J]. The Diabetes Educator, 2009, 35(4s): 85S-107S
- [14] Darren A. DeWalt, Terry C. Davis, Andrea S. Wallace, et al. Goal setting in diabetes self-management: Taking the baby steps to success [J]. Patient Education and Counseling, 2009, 77(2): 218-223
- [15] Janice C. Zgibor, Mark Peyrot, et al. Using the American Association of Diabetes Educators Outcomes System to Identify Patient Behavior Change Goals and Diabetes Educator Responses [J]. The Diabetes Educator, 2007, 33(5): 839-842
- [16] Langford AT, Sawyer DR, Gioimo S, et al. Patient-centered goal setting as a tool to improve diabetes self-management [J]. The Diabetes Educator, 2007;33(Supplement 6):139S-144S
- [17] Gabrielle R. Highstein, Mary L. O'Toole, et al. Use of the Transtheoretical Model to Enhance Resources and Supports for Diabetes Self Management: Lessons From the Robert Wood Johnson Foundation Diabetes Initiative [J]. The Diabetes Educator, 2007, 33 (supplement 6): 193S-200S
- [18] Mark Peyrot, Richard R. Rubin. Behavioral and Psychosocial Interventions in Diabetes[J]. Diabetes Care, 2007, 30 (10):2433-2440.
- [19] Susan P. West, Carina Laguna, Paula M. et al. Goal Setting Using Telemedicine in Rural Underserved Older Adults with Diabetes: Experiences from the Informatics for Diabetes Education and Telemedicine Project [J]. Mary Ann Liebert, INC, 2010, 16 (4): 405-416
- [20] Estabrooks PA, Nelson CC, Xu S, et al. The frequency and behavioral outcomes of goal choices in the self-management of diabetes [J]. Diabetes Educ, 2005, 31(3):391-400
- [21] Heisler M, Bouknight RR, Hayward RA, et al. The relative importance of physician communication, participatory decision making, and patient understanding in diabetes self-management [J]. Gen Intern Med, 2003, 17(4): 243-252
- [22] 楼青青, 徐玉嫻, 杨丽黎. 阶段性改变模式在糖尿病患者行为改变中的应用[J]. 中华护理杂志, 2007, 42(5) :420-421
Lou Qing-qing, Xu Yu-lan, Yang Li-li. The impact of stage-matched intervention to promote behavior change in patients with diabetes [J]. Chinese journal of nursing, 2007;42(5): 420-421
- [23] Wang SL, Charron-Prochownik D, Sereika SM, et al. Comparing three theories in predicting reproductive health behavioral intention in adolescent women with diabetes [J]. Pediatr Diabetes, 2006, 7 (2): 108-115
- [24] Peyrot M. Behavior change in diabetes education [J]. Diabetes Educ, 1999;25(6 suppl):62-73
- [25] Hardeman W, Griffin S, Johnston M, et al. Interventions to prevent weight gain: a systematic review of psychological models and behavior change methods[J]. Int J Obes, 2000;24(2):131-143
- [26] Ciechanowski P, Wagner E, Schmalting K, et al. Community integrated home-based depression treatment in older adults: a randomized controlled trial[J]. JAMA, 2004, 291(13):1569-1577
- [27] 楼青青, 杨丽黎, 王青青. 1例2型糖尿病患者7年的随访管理[J]. 中华护理杂志, 2007;43(7):613-614
Lou Qing-qing, Yang Li-li, Wang Qing-qing. 7 years follow-up of a patient with type 2 diabetes [J]. Chinese journal of nursing, 2007;43 (7): 613-614
- [28] MacGregor K, Handley M, Wong S, et al. Behavior-change action plans in primary care: a feasibility study of clinicians[J]. J Am Board Fam Med, 2006;19(3):215-223
- [29] Joan Christison-Lagay. Facilitating Diabetes Self-Management Goal Setting in a Real-World Primary Care Center [J]. The Diabetes Educator, 2007;33(suppl 6): 145S-150S