

齐墩果酸对氧化损伤人脐静脉内皮细胞线粒体中一氧化氮合酶的调控作用^Δ

王玉^{1*}, 韩志武^{2#} (1. 青岛大学药学院, 山东 青岛 266071; 2. 青岛大学附属医院药理学部, 山东 青岛 266003)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)19-2617-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.19.08

摘要 目的: 研究齐墩果酸对氧化损伤人脐静脉内皮细胞(HUVECs)线粒体中一氧化氮合酶(mtNOS)的调控作用。方法: 将对数生长期HUVECs细胞分为正常组、模型组和齐墩果酸低、中、高浓度(5、20、35 μmol/L)组, 药物作用24 h后, 除正常组外均加入含100 μg/ml氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)的培养液复制氧化损伤, CCK-8法检测细胞存活率。提取细胞线粒体, 酶化学法检测mtNOS的活性和线粒体一氧化氮(mtNO)的含量, 荧光酶标仪法检测活性氧(ROS)荧光强度, Western blot法检测细胞色素C(Cyto-C)的表达。结果: 与正常组比较, 模型组细胞存活率降低, mtNOS活性、mtNO含量、ROS荧光强度和Cyto-C蛋白表达均增加, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 齐墩果酸低、中、高浓度组细胞存活率增加, mtNOS活性、mtNO含量、ROS荧光强度和Cyto-C蛋白表达均降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 且与浓度呈正相关。结论: 齐墩果酸能降低HUVECs细胞mtNOS活性, 减少mtNO和Cyto-C的产生, 其机制可能与下调ROS表达有关。

关键词 齐墩果酸; 内皮细胞; 线粒体; 一氧化氮合酶; 活性氧

Regulation Effects of Oleanolic Acid on the Mitochondrial Nitric Oxide Synthase in Human Umbilical Vein Endothelial Cells with Oxidative Damage

WANG Yu¹, HAN Zhi-wu² (1. School of Pharmacy, Qingdao University, Shandong Qingdao 266071, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Shandong Qingdao 266003, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the regulation effects of oleanolic acid on the mitochondrial nitric oxide synthase (mtNOS) in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) with oxidative damage. **METHODS:** HUVECs in exponential phase were divided into normal group, model group and oleanolic acid low, medium and high dose groups (5, 20 and 35 μmol/L). After drug acting for 24 h, all groups were given culture solution containing 100 μg/ml ox-LDL to reproduce oxidative damage except normal group. CCK-8 was used to detect cell viability. The mitochondria in cells were extracted, enzyme chemical method was used to detect mtNOS activity and mtNO content, fluorescence microplate method was used to detect fluorescence intensity of reactive oxygen species (ROS), and western blot was used to detect expression of cytochrome C (Cyto-C). **RESULTS:** Compared with normal group, the cell viability in model group was decreased; mtNOS activity, mtNO content, ROS fluorescence intensity and Cyto-C protein expression were increased, with significant differences ($P < 0.05$). Compared with model group, the cell viability in oleanolic acid low, medium and high dose groups was increased; mtNOS activity, mtNO content, ROS fluorescence intensity and Cyto-C protein expression were decreased, with significant differences ($P < 0.05$), and they had positive correlation with concentrations. **CONCLUSIONS:** Oleanolic acid can decrease the mtNOS activity of HUVECs, reduce the production of mtNO and Cyto-C, by a mechanism that may be related to the decrease of ROS expression.

KEYWORDS Oleanolic acid; Endothelial cells; Mitochondria; Nitric oxide synthase; Reactive oxygen species

[7] 牛庆慧, 张翠萍, 鞠辉, 等. 肠道黏膜肥大细胞和降钙素基因相关肽在肠易激综合征中的表达[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(2): 213.

[8] Christensen MD, Hulsebosch CE. Spinal cord injury and anti NGF treatment results in changes in CGRP density and distribution in the dorsal horn in the rat[J]. *Exp Neu-*

rol, 1997, 147(2): 463.

[9] 李瑜, 彭成, 朱力阳, 等. 芍药苷治疗内脏敏感性肠易激综合征的研究[J]. 中药与临床, 2011, 2(6): 38.

[10] 郑礼娟, 秦昆明, 姚仲青, 等. 白术芍药散治疗肠易激综合征的作用机制研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(4): 815.

[11] Chang L, Sundaresh S, Elliott J, et al. Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in irritable bowel syndrome[J]. *Neurogastroenterology Motility*, 2009, 21(2), 149.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81274126)

* 硕士研究生。研究方向: 心血管药理学。E-mail: wangyu2013020953@126.com

通信作者: 副主任药师。研究方向: 中药心血管药理学。电话: 0532-85953353。E-mail: zhiwu1218@126.com

(收稿日期: 2014-07-10 修回日期: 2015-01-14)

(编辑: 张 静)

低密度脂蛋白(LDL)是动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)发生和发展的一个主要的危险因素,氧化LDL(ox-LDL)是LDL在AS中的主要存在形式,其可以造成内皮细胞的损伤。ox-LDL不仅能够诱发内皮细胞的凋亡,增加内皮的通透性,还可以诱导单核细胞向内皮细胞的迁移,增加其附着力,由此来促进AS的发生和发展^[1]。因此,抑制血管内皮细胞的损伤对于临床上治疗AS具有重要的意义。

齐墩果酸(Oleanolic acid, OA)是天然的五环三萜化合物,广泛存在于多种植物中。有研究表明,OA的多种生物学性质都具有治疗潜力^[2],如其在内皮细胞中具有抗氧化活性和抗炎作用^[3],可能通过激活Nrf2/HO-1系统在内皮细胞中产生抗氧化作用^[4]。

一氧化氮(NO)是一种内皮源性的舒张因子,能够引起心血管生理和病理上的转变^[5-6]。在心血管系统中,NO不仅对血管平滑肌细胞的调节起着重要作用,而且在离子通道功能、细胞收缩、氧的消耗、细胞凋亡以及肥厚心肌重塑等方面也具有重要作用^[7-8]。在哺乳动物体内,线粒体是NO生成的重要场所^[9],线粒体内有一种新型的NO合酶亚型,被称为mtNOS,是线粒体内NO(mtNO)产生的来源;在缺氧时,mtNOS活性比正常状态下强,受到缺氧等外在刺激后会产生过量的mtNO,从而造成线粒体功能障碍^[10]。目前还没有关于OA对mtNOS调控的文献报道,笔者现就OA对人脐静脉内皮细胞(HUVECs)mtNOS表达的调控进行研究。

1 材料

1.1 仪器

SpectraMax GeminiEM型荧光酶标仪(美国MD公司);FUSION FX7型活体成像分析仪(北京五洲东方科技发展有限公司);SSW-420-2S型电热恒温水槽(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);DT5-2B型低速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司);Multiskan GO1510-02321型全波长酶标仪(赛默飞世尔科技中国有限公司);TS-2000A型脱色摇床(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);Heal Force Neofuge13R型台式高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司);MK200-4型干式恒温器(杭州奥盛仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

OA原料药(美国Sigma公司,批号:05504,纯度:99%);CCK-8(日本同仁化学研究所,批号:C0038);ox-LDL(广州奕源生物科技有限公司,批号:YB-002);DMEM培养基、胎牛血清(美国Gibco公司,批号:12800017、10099-141);磷酸盐缓冲液(PBS)、胰蛋白酶-EDTA消化液(北京索莱宝科技有限公司,批号:P1010、T1300-100);细胞线粒体分离试剂盒、活性氧(ROS)测试盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:C3601、S0033);NO测试盒、mtNOS测试盒、总蛋白定量测试盒(南京建成生物工程研究所,批号:20141127、20141211、20141209);Cyto-C抗体(英国Abcam公司,批号:ab13575);抗 β -actin兔多克隆抗体(北京康为世纪生物科技有限公司,批号:CW0097A);彩色预染Marker(美国Bio-Rad公司,批号:161-0374)。

1.3 细胞

HUVECs细胞(中国科学院上海细胞库)。

2 方法

2.1 细胞培养

向长满HUVECs细胞的培养瓶中加入1.5 ml的胰蛋白酶消化液,消化1 min后加入DMEM高糖培养液(10%灭活胎牛血清、100 u/ml青霉素和100 u/ml链霉素)终止消化。将细胞吹打下来后以1 600×g离心4 min,加入培养液使细胞悬浮,再加入到培养瓶中,放置于培养箱中37℃、5%CO₂培养,取对数生长期的细胞进行试验。

2.2 细胞存活率的测定

称取22.84 mg OA,用1.25 ml二甲亚砜(DMSO)制备成40 mmol/L的母液,用时稀释1 000倍以上时DMSO对细胞的毒性作用可忽略不计。将HUVECs细胞消化后接种到96孔板中,分别设置正常组、模型组和OA低、中、高浓度(5、20、35 μ mol/L)组^[11],药物作用24 h后,除正常组外其余各组均加入含100 μ g/ml ox-LDL的培养液作用24 h复制氧化损伤细胞,然后换含有10 μ l CCK-8的培养液110 μ l继续培养3 h;另设空白对照(不含细胞)组。用酶标仪测定在450 nm波长处各组细胞的光密度(OD),计算细胞存活率[(试验组OD-空白对照组OD)/(正常组OD-空白对照组OD)]。

2.3 分组、给药与收集细胞线粒体

将HUVECs细胞接种于小皿中,放于培养箱中培养,设置正常组、模型组和OA低、中、高浓度(5、20、35 μ mol/L)组,药物作用24 h后,除了正常组外其余各组均加入含100 μ g/ml ox-LDL的培养基作用24 h复制氧化损伤,然后用PBS洗1遍细胞,用胰蛋白酶消化液消化细胞,离心收集细胞。用冰浴预冷的PBS轻轻重悬细胞沉淀,取少量细胞用于计数,剩余细胞4℃以下以600×g离心5 min,弃上清。加入1 ml临用前添加了苯甲基磺酰氟(PMSF)的线粒体分离试剂至细胞中,轻轻悬浮细胞,冰浴放置10 min,匀浆30下,将细胞匀浆于4℃下以600×g离心10 min,取上清于4℃下以11 000×g离心10 min,弃上清,沉淀即分离得到线粒体。

2.4 细胞线粒体中mtNOS、mtNO水平的测定

采用酶化学法,按照试剂盒说明书的步骤测定各组细胞线粒体中mtNOS活性和mtNO含量。

2.5 细胞ROS荧光强度的检测

采用荧光酶标仪法,按照试剂盒说明书的步骤在488 nm激发波长、525 nm发射波长下检测各组细胞的ROS荧光强度。

2.6 细胞线粒体中Cyto-C蛋白表达检测

采用Western blot法,分组消化100 mm培养皿细胞,PBS洗2遍,加入200 μ l RIPA线粒体裂解液(含2 μ l苯甲基磺酰氟)冰浴裂解细胞,提取蛋白。二喹啉甲酸(BCA)法测定蛋白浓度,加入 β -actin作为内参,采用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离总蛋白,将蛋白电转移至PVDF膜上1 h。用含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液稀释一抗(1:1 000)并孵育过夜,加入二抗(1:10 000)室温孵育2 h,TBST缓冲液洗去二抗后加入A液和B液显色,曝光,检测各组细胞线粒体内Cyto-C的相对表达量。

2.7 统计学处理

采用SPSS 17.0软件处理分析试验数据。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较先用单因素分析其正态性,再以LSD法进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 细胞存活率测定结果

结果显示,正常组、模型组和OA低、中、高浓度组细胞存活率分别为(1.00±0.00)、(0.48±0.03)、(0.66±0.03)、(0.81±0.03)、(0.90±0.03)。与正常组比较,模型组细胞存活率降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,OA低、中、高浓度组细胞存活率升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);且随着OA浓度的增加,细胞存活率逐渐增加,与浓度呈正相关($P<0.05$)。

3.2 细胞mtNOS活性、mtNO含量和ROS荧光强度测定结果

与正常组比较,模型组细胞mtNOS活性、ROS荧光强度增强,mtNO含量增加,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,OA低、中、高浓度组细胞mtNOS活性、ROS荧光强度减弱,mtNOS含量减少,差异具有统计学意义($P<0.05$);且随着OA浓度的增加,mtNOS活性、mtNO含量和ROS荧光强度均降低,与浓度呈正相关($P<0.05$)。各组细胞mtNOS活性、mtNO含量、ROS荧光强度的测定结果见表1。

表1 各组细胞mtNOS活性、mtNO含量、ROS荧光强度测定结果($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab 1 Determination results of mtNOS activity, mtNO content and ROS fluorescence intensity in each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

| 组别 | mtNOS活性, $\times 10^{-3}$ U/mg | mtNO含量, $\mu\text{mol/mg}$ | ROS荧光强度 |
|--------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 正常组 | 0.69±0.08 | 4.15±0.58 | 81.46±1.86 |
| 模型组 | 2.09±0.45* | 14.11±0.57* | 175.86±1.48* |
| OA低浓度组 | 1.77±0.18 [#] | 11.82±0.56 [#] | 153.67±0.59 [#] |
| OA中浓度组 | 1.31±0.16 ^{#A} | 9.31±0.54 ^{#A} | 135.07±0.85 ^{#A} |
| OA高浓度组 | 1.03±0.17 ^{#A□} | 6.54±1.06 ^{#A□} | 101.78±1.28 ^{#A□} |

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与OA低浓度组比较,^A $P<0.05$;与OA中浓度组比较,[□] $P<0.05$

Note: vs. normal group, * $P<0.05$; vs. model group, [#] $P<0.05$; vs. OA low dose group, ^A $P<0.05$; vs. OA medium dose group, [□] $P<0.05$

3.3 细胞线粒体中Cyto-C蛋白表达测定结果

与正常组比较,模型组细胞线粒体中Cyto-C蛋白表达增强,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,OA低、中、高浓度组细胞线粒体中Cyto-C蛋白表达减弱,差异具有统计学意义($P<0.05$);且随着OA浓度的增加,线粒体中Cyto-C蛋白表达均降低,与浓度呈正相关($P<0.05$)。各组细胞线粒体中Cyto-C蛋白表达电泳图见图1,相对表达量见图2。

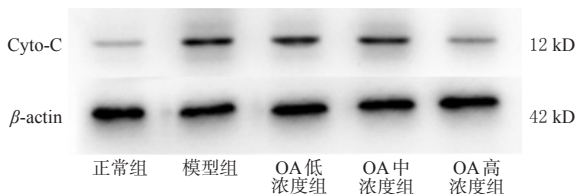


图1 各组细胞线粒体中Cyto-C蛋白表达电泳图

Fig 1 Electrophoretogram of Cyto-C expression in mitochondria of each group

4 讨论

从本试验的结果可以看出,OA各浓度组细胞mtNOS活性和mtNO含量均较模型组明显降低,由此可以推断,OA通过影

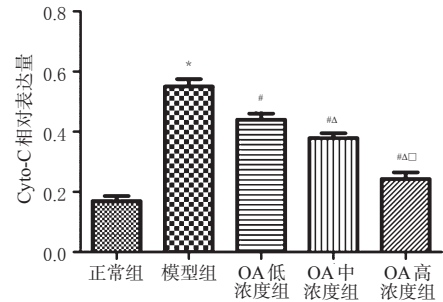


图2 各组细胞线粒体中Cyto-C的相对表达量测定结果

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与OA低浓度组比较,^A $P<0.05$;与OA中浓度组比较,[□] $P<0.05$

Fig 2 Determination results of relative expression of Cyto-C in mitochondria of each group

Note: vs. normal group, * $P<0.05$; vs. model group, [#] $P<0.05$; vs. OA low dose group, ^A $P<0.05$; vs. OA medium dose group, [□] $P<0.05$

响mtNOS表达来控制mtNO的产生,其机制可能涉及到对ROS的调控。

内皮细胞损伤是早期AS的主要表现,内皮细胞结构和功能的破坏,导致血管屏障受损,使得血液中的脂质和单核细胞更容易沉积在内皮下间隙,从而进一步形成泡沫细胞。由ox-LDL所引起的细胞凋亡能够导致血管内皮功能障碍,使得血管内皮细胞减少、血管壁渗透性增加。有研究表明,ox-LDL通过诱导内皮细胞ROS的产生来促使细胞发生凋亡^[11]。

线粒体在细胞的能量供应中发挥着核心作用。NO是一种调节心血管系统的自由基。mtNOS是mtNO产生的主要来源。有研究表明,mtNOS在缺氧的状态下活性会上调,在氧供给受限的条件下,呼吸链产生的超氧化物会增加^[9]。mtNOS被怀疑是缺氧时细胞损伤的主要原因。NO能够显著抑制线粒体呼吸,使得超氧化物产生,同时还能促进促凋亡因子Cyto-C的释放。Cyto-C通常位于线粒体膜,传递呼吸链复合III及IV之间的电子,在线粒体介导的细胞凋亡中发挥着重要作用,是凋亡过程中不可缺少的因子。在缺氧的环境中,这种双重机制在细胞损伤的过程中发挥着重要作用。

此外,线粒体膜具有电子单向转运体,可以输送Ca²⁺进入线粒体:钙转运增加线粒体Ca²⁺浓度,从而刺激钙依赖mtNOS生成NO,而线粒体内Ca²⁺的运出是由Na⁺/Ca²⁺交换泵完成的,线粒体内Ca²⁺的降低可以使得mtNOS活性降低^[12]。而ROS可以在缺血或缺氧时调节Na⁺/Ca²⁺交换泵的活性,有研究表明,ROS能够使Na⁺/Ca²⁺交换泵活性降低,导致线粒体内Ca²⁺积聚,从而造成mtNOS活性增强、线粒体功能损伤^[13]。

OA是一个三萜皂苷,广泛存在于大量的天然药用植物中,具有抗氧化作用,这可能与其结构具有一定的关系。目前已经证实OA对于治疗氧化应激相关的疾病具有明显的效果,包括糖尿病、癌症和炎症等^[14]。OA能够增强许多抗氧化酶的活性,从而保护由氧化应激所造成的细胞损伤^[15]。

在本试验中,ox-LDL能够增加ROS荧光强度,使细胞受到氧化应激损伤;同时由于ROS的影响,降低了Na⁺/Ca²⁺交换泵的活性,造成线粒体内mtNOS活性的增强,进而导致mtNO含量的增加,进一步引起Cyto-C的表达增强,最终导致HUVECs细胞的损伤。而OA则是通过其抗氧化作用降低了ROS的产生,从而降低了mtNOS的活性,对HUVECs细胞起到保护

作用,发挥了抗AS的作用。

参考文献

- [1] Zmijewski JW, Moellering DR, Le Goffe C, et al. Oxidized LDL induces mitochondrially associated reactive oxygen/nitrogen species formation in endothelial cells [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(2):852.
- [2] Dzubak P, Hajduch M, Vydra D, et al. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications[J]. *Nat Prod Rep*, 2006, 23(3):394.
- [3] Yang EJ, Lee W, Ku SK, et al. Anti-inflammatory activities of oleanolic acid on HMGB1 activated HUVECs[J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(5):1 288.
- [4] Kawahara K, Hashiguchi T, Masuda K, et al. Mechanism of HMGB1 release inhibition from RAW264.7 cells by oleanolic acid in *Prunus mume* Sieb. et Zucc[J]. *Int J Mol Med*, 2009, 23(5):615.
- [5] Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84(24):9 265.
- [6] Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor[J]. *Nature*, 1987, 327(6 122):524.
- [7] Davidson SM, Duchon MR. Effects of NO on mitochondrial function in cardiomyocytes: pathophysiological relevance [J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 71(1):10.
- [8] Massion PB, Feron O, Dessy C, et al. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing[J]. *Circ Res*, 2003, 93(50):388.
- [9] Al-Shobaili HA, Rasheed Z. Physicochemical and immunological studies on mitochondrial DNA modified by peroxynitrite: implications of neo-epitopes of mitochondrial DNA in the etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus [J]. *Lupus*, 2013, 22(10):1 024.
- [10] Lacza Z, Puskar M, Figueroa JP. Mitochondrial nitric oxide synthase is constitutively active and is functionally up-regulated in hypoxia[J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 31(12):1 609.
- [11] 王巧云,李丙华,朱莉,等.齐墩果酸对氧化损伤模型人脐静脉内皮细胞的保护作用[J]. *中国药房*, 2014, 25(43):4 033.
- [12] Dzurik R, Krivosikova Z, Stefikova K. Mitochondria and mitochondrial nitric oxide synthase alterations participate in energetical dysbalance, aging and age-related diseases [J]. *Bratisl Lek Listy*, 2006, 107(11/12):405.
- [13] Zhang CX, Cui W, Zhang M. Role of Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX) in modulating postovulatory aging of mouse and rat oocytes[J]. *PLoS One*, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0093446.
- [14] Liu J. Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives[J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 100(1/2):92.
- [15] Liu J, Wang X, Liu R, et al. Oleanolic acid co-administration alleviates ethanol-induced hepatic injury via Nrf-2 and ethanol-metabolizing modulating in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2014, doi:10.1016/j.cbi.2014.07.017.

(收稿日期:2015-02-26 修回日期:2015-05-08)

(编辑:邹丽娟)

国家卫生计生委召开“三严三实”专题教育工作交流会

本刊讯 2015年6月5日,国家卫生计生委召开“三严三实”专题教育工作交流会,交流工作进展,部署下一阶段工作。国家卫生计生委党组成员、副主任金小桃出席会议并讲话。

金小桃指出,“三严三实”专题教育是具有全局意义的重大部署,充分表明了党中央全面从严治党的鲜明态度、持之以恒加强作风建设的坚定决心。国家卫生计生委党组坚决贯彻落实中央的决策部署,及时传达部署,统一思想认识,制定了“三严三实”专题教育工作方案,全面启动了“三严三实”专题教育,委党组书记、主任李斌带头讲党课。委党组成员陆续在分管司局和直属联系单位范围内讲党课。直属机关各单位迅速行动,制定了“三严三实”专题教育实施方案,组织开展了专题辅导报告和讲党课活动。截至目前,全委专题教育开局良好,平稳推进。

金小桃要求,直属机关各单位要从讲政治、讲大局的高度,从“四个全面”战略布局的高度来充分认识开展“三严三实”专题教育的重要意义,把思想和行动统一到中央部署上来,切实增强责任感使命感,以饱满的热情和有力的举措做好各项工作,把中央要求不折不扣地落实好。要按照委党组的

部署,着重把握突出教育主题、强化问题导向、贯彻从严要求、坚持以上率下、注重讲求实效“五点要求”。要抓好领导干部讲党课、开展专题研讨、开好专题民主生活会和组织生活会、强化整改落实和立规执纪“四个关键”,确保专题教育取得实效。各单位主要负责同志要切实担负起第一责任人的责任,认真谋划安排,精心组织实施,加强信息交流,加大督促考核力度,认真解决少数单位认识不足和发展不平衡问题,扎实有效推进“三严三实”专题教育。

金小桃强调,要坚持围绕中心、服务大局,把开展“三严三实”专题教育与推动卫生计生改革发展各项工作结合起来,围绕深化医药卫生体制改革、推进计划生育服务管理改革、扎实做好“十三五”规划编制工作、加强妇幼健康服务、加强重大疾病防控和卫生应急工作、积极发展中医药和民族医药事业、推进科技创新、加强卫生计生法治建设、食品安全、综合监督、国际交流、党风廉政建设等重点任务,以严的精神和实的作风推动卫生计生各项重点工作任务取得积极进展,以此来彰显“三严三实”专题教育与卫生计生重点工作任务所取得的成效,切实做到两手抓、两促进、双丰收。