

受理编号: c16140500000042

项目编号: 2016A030311021

文件编号: 粤科规财字(2016)49号



广东省自然科学基金项目 合同书

项目名称: uPA调控血管抑素介导血管新生抑制在慢性放射性肠炎纤维化中的作用及其分子机制

项目类别: 广东省自然科学基金-重点

项目起止时间: 2016-06-01 至 2019-06-01

管理单位(甲方): 广东省自然科学基金管理委员会

依托单位(乙方): 中山大学

通讯地址: 广东省广州市海珠区广州新港西路135号

邮政编码: 510275

单位电话: 020-84113181

项目负责人: 王磊

联系电话: 020-38254159

项目联系人: 王磊

联系电话: 020-38254159

广东省科学技术厅
二〇一四年制

一、主要研究内容和要达到的目标

本课题拟阐明在慢性放射性肠炎（CRE）中，放射损伤后刺激血小板活化并释放uPA，上调血管抑素表达，通过结合ATP酶/MDH2等信号转导通路，损伤内皮细胞及抑制血管新生，造成微血管损害，进一步刺激纤维化形成的分子机制，为深入认识放射性肠炎纤维化的发生发展机制，及其防治新策略提供科学依据。

主要研究内容及要达到的目标如下：

（1）

在前期结果基础上，收集更多CRE患者的血液和组织标本，首先采用TaqMan探针qRT-PCR方法，分析gDNA不同SNPs位点的基因分布类型；再检测uPA、血管抑素等的表达，及纤维化相关因子的表达水平；最后结合临床病例，阐明uPA、血管抑素表达与CRE纤维化及临床预后的相关性。

（2）

分离CRE患者和健康志愿者血液中的血小板，加入胶原活化血小板，采用confocal技术和免疫荧光技术，检测血小板表面uPA、纤溶酶原、血管抑素的水平。加入uPA抑制剂进一步明确其相关性及其分子机制。

（3）

利用基因敲除技术，建立血管抑素的CRE小鼠模型，再注射uPA抑制剂观察对血管抑素影响。同时，可通过活体动物血管荧光成像系统等技术，检测肠壁粘膜下新生血管的数量及血管壁厚度变化等。行HE染色观察切取标本的黏膜形态，做Masson染色观察纤维化指标胶原蛋白的沉积变化等。上述活体动物实验，确证在CRE中，uPA调控血管抑素，抑制血管新生，导致纤维化的机制。

（4）

通过放射诱导高表达，或siRNA低表达血管抑素的两种策略，验证血管抑素对人结肠内皮细胞（HCMECs）的增殖、迁移及微血管形成的影响；同时，放射诱导下，利用基因微阵列芯片技术，检测细胞内关键信号转导通路的基因表达谱，如Wnt/ERK/JNK/p38MAPK/EMT等经典通路的变化，及MDH2-BCL-1-TSP-1-c-myc信号转导通路的基因变化，再确证差异表达的基因，锁定血管抑素的下游关键基因及其通路。抑制HCMECs细胞膜表面的ATP合酶受体，探讨放射诱导下血管抑素与HCMECs结合的方式。最后在动物体内验证以上机制。

（5）

再在临床CRE大样本中验证uPA调控血管抑素及其下游信号转导通路与CRE的相关性。总结uPA、血管抑素等在CRE的临床诊治判断和预后预测方面的价值。

二、研究成果及形式

论文及专著情况	国家统计源刊物以上刊物 发表论文（篇）		4		专著（册）		0	
专利情况(项)	发明专利		实用新型专利		外观设计专利		国外专利	
	申请	授权	申请	授权	申请	授权	申请	授权
	0	0	0	0	0	0	0	0
其他	无							

三、项目进度和阶段目标

1. 项目起止时间： 2016-06-01 至 2019-06-01		
2. 项目实施进度及阶段主要目标：		
开始日期	结束日期	主要工作内容
2016-06-01	2017-05-31	<p>第一年度：明确uPA、血管抑素的基因多态性、表达水平与CRE的关系</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 收集更多CRE患者的血液和组织标本，检测uPA、血管抑素的基因多态性分布类型，检测促血管新生因子及纤维化相关因子的表达水平。 2. 分析基因多态性、表达水平间与CRE之间的临床相关性。
2017-06-01	2018-05-31	<p>第二年度：探讨在CRE中， uPA调控血管抑素表达的机制</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 建立HCMECs模型中，确证uPA对血管抑素水平的影响，及对HCMECs的生物学功能及微管形成的影响。 2. 建立敲除血管抑素及CRE的小鼠模型，观察uPA、血管抑素对血管生长及纤维化的影响。
2018-06-01	2019-06-01	<p>第三年度：探索血管抑素在CRE中调控血管内皮细胞的分子机制</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 构建血管抑素的HCMECs细胞模型。 2. 利用基因微距阵技术，探索出血管抑素的下游主要靶信号转导通路。 3. 探讨uPA、血管抑素等与CRE纤维化及临床预后的相关性；总结上述研究在CRE的临床诊治判断和预后预测方面的价值，并撰写论文。

四、项目总经费及省科技厅经费预算

1. 省科技厅经费下达总额：（大写）叁拾万圆整；（小写）30.00万元；					
2. 省科技厅经费年度下达计划：					
年度	2016 年	年	年	年	年
经费(万元)	30.00				
3. 总经费开支预算计划：					
经费筹集情况：					(单位：万元)
省科技厅经费	自筹资金				合计
	自有资金	贷款	地方政府投入	其它	
30.00	0	0	0	0	30.00
政府部门、境外资金及其他资金投入情况说明：	无				

经费预算			(单位：万元)	
	总投入经费		省科技厅经费	
支出经费	经费额	用途说明	经费额	用途说明
科研业务费：	7.60	指标检测、结果分析；国内学术交流会务费及差旅费；资料检索及论文发表费	7.60	指标检测、结果分析；国内学术交流会务费及差旅费；资料检索及论文发表费
实验材料费：	13.00	RTCA小室、质粒、引物、试剂盒、抗体、转基因鼠购买及饲养、血清、细胞培养消耗性实验器材等	13.00	RTCA小室、质粒、引物、试剂盒、抗体、转基因鼠购买及饲养、血清、细胞培养消耗性实验器材等
仪器设备费：	0	/	0	/
实验室改装费：	0	/	0	/
协作费：	0	/	0	/
人员费：	4.50	在项目研究开发过程中，支付给项目组无工资性收入成员及项目组临时聘用人员的人力资源成本费	4.50	在项目研究开发过程中，支付给项目组无工资性收入成员及项目组临时聘用人员的人力资源成本费
专家咨询费：	0.40	项目研究开发过程中支付给临时聘请的咨询专家的费用	0.40	项目研究开发过程中支付给临时聘请的咨询专家的费用
国际合作与交流费：	3.00	资助项目组人员出访及外国专家来访的费用	3.00	资助项目组人员出访及外国专家来访的费用
管理费：	1.50	用于单位组织和申报本项目研究所收取的科研管理费，以5%计算	1.50	用于单位组织和申报本项目研究所收取的科研管理费，以5%计算
合计：	30.00	/	30.00	/

五、人员信息

项目负责人

姓名	证件号码	年龄	性别	职称	学历	在项目中承担的任务	所在单位	签名
王磊	413025196904230030	47	男	教授	博士研究生	负责整个项目的设计、实施、协调等工作	中山大学	

项目组主要成员

姓名	证件号码	年龄	性别	职称	学历	在项目中承担的任务	所在单位	签名
陈典克	441522198305021414	33	男	讲师	博士	组织切片与组织芯片	中山大学	
曾杨	441481198210104174	34	男	讲师	博士	细胞功能实验、过表达实验	中山大学	
马腾辉	44058219831018589X	33	男	医师	硕士	免疫荧光、免疫印迹实验	中山大学	
袁紫旭	432524198908255430	27	男	未取得	博士研究生	siRNA沉默, RT-PCR, Elisa实验	中山大学	
王怀明	130302198612141811	30	男	医师	博士研究生	RT-PCR实验	中山大学	
钟清华	440223198610010577	30	男	医师	博士研究生	标本采集、检测及临床预后分析	中山大学	
俞希虎	440921198906010010	27	男	未取得	博士研究生	免疫印迹实验	中山大学	
黄斌杰	450311199004093014	26	男	未取得	硕士	动物实验	中山大学	
秦启元	340403198704132614	29	男	未取得	博士研究生	confocal激光共聚焦实验	中山大学	

六、依托单位与合作单位的合作协议

承担/参与单位名称 (盖章)	工作分工	总经费分摊 (万元)	省科技厅经费分配 (万元)
中山大学	对本项目的组织和实施进行科研管理	30.00	30.00
	合计	30.00	30.00

七、合同条款

第一条 甲方与乙方根据《中华人民共和国合同法》及国家有关法规和规定，为顺利完成（2016）年uPA调控血管抑素介导血管新生抑制在慢性放射性肠炎纤维化中的作用及其分子机制 专项项目（文件编号： 粤科规财字（2016）49号）经协商一致，特订立本合同，作为甲乙双方在项目实施管理过程中共同遵守的依据。

第二条 甲方的权利义务：

1. 按合同书规定进行经费核拨的有关工作协调。
2. 根据甲方需要，在不影响乙方工作的前提下，定期或不定期对乙方项目的实施情况和经费使用情况进行检查或抽查。
3. 根据《广东省科技计划项目信用管理办法(试行)》对乙方进行科技计划信用管理。

第三条 乙方的权利义务：

1. 确保落实自筹经费及有关保障条件。
2. 按合同书规定，对甲方核拨的经费实行专款专用，单独列账，并随时配合甲方进行监督检查。
3. 使用财政资金采购设备、原材料等，按照《广东省实施〈中华人民共和国招标投标法〉办法》有关规定，符合招标条件的须进行招标。
4. 项目实施完成或实施到一定程度，须按照《广东省省级科技计划项目结题管理的实施细则（试行）》提出验收或终止结题的申请，并按甲方要求做好项目结题工作。
5. 在每年规定时间内向甲方如实提交上年度工作情况报告，报告内容包含上年度项目进展情况、经费决算和取得的成果等。
6. 按照国家和省有关规定，提交科技报告及其他材料。

第四条 在履行本合同的过程中，如出现广东省相关政策法规重大改变等不可抗力情况，甲方有权对所核拨经费的数量和时间进行相应调整。

第五条 对分年度拨款（滚动资助）项目，甲方有权利根据项目研究进展或中期考核情况变更或中止项目后续资助经费数额。

第六条 在履行本合同的过程中，当事人一方发现可能导致项目整体或部分失败的情形时，应及时通知另一方，并采取适当措施减少损失，没有及时通知并采取适当措施，致使损失扩大的，应当就扩大的损失承担责任。

第七条 本项目技术成果的归属、转让和实施技术成果所产生的经济利益的分享，除双方另有约定外，按国家和广东省有关法规执行。

第八条 根据项目具体情况，经双方另行协商订立的附加条款，作为本合同正式内容的一部分，与本合同具有同等效力。

第九条 本合同一式三份，各份具有同等效力。甲、乙方及课题负责人各执一份，三方签字、盖章后即生效，有效期至项目结题后一年内。各方均应负合同的法律责任，不应受机构、人事变动的影响。

第十条 乙方必须接受甲方聘请的本项目合同监理单位的监督和管理。监理单位按照甲方赋予的权利对本项目合同的履行进行审核、进度调查，对项目合同变更、经费使用情况进行监督管理及组织项目验收。

说明：1. 本合同书中，凡是当事人约定无需填写的内容，应在空白处划（/）。

2. 委托代理人签订本合同书的，应出具合法、有效的委托书。

2016A030311021

八、本合同签约各方

管理单位（甲方）：广东省自然科学基金管理委员会（盖章）

法定代表人（或法人代理）：黄宇生（签章）

年 月 日

依托单位（乙方）：中山大学（盖章）

法定代表人（或法人代理）：罗俊（签章）

联系人（项目主管）姓名：蔡南乔（签章）

Email: cainq3@mail.sysu.edu.cn

电话：020-87333941

开户单位名称：中山大学

开户银行名称：工行广州中山大学支行

开户银行帐号：3602864809100002723

年 月 日

联系人（课题负责人）姓名：王磊（签名）

Email: leiwangyinhu@126.com

电话：020-38254159

年 月 日

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

王磊 先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见，国家自然科学基金委员会（以下简称自然科学基金委）决定批准资助您的申请项目。项目批准号：

81573078，项目名称：TGF- β 调控VEGF介导血管新生平衡紊乱在慢性放射性肠炎纤维化中的作用及其分子机制，直接费用：65.00万元，项目起止年月：2016年01月至 2019年 12月，有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsfc.gov.cn>），获取《国家自然科学基金资助项目计划书》（以下简称计划书）并按要求填写。对于有修改意见的项目，请按修改意见及时调整计划书相关内容；如对修改意见有异议，须在计划书电子版报送截止日期前提出。**注意：请严格按照《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》填写计划书的资金预算表，其中，劳务费、专家咨询费科目所列金额与申请书相比不得调增。**

计划书电子版通过科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsfc.gov.cn>）上传，由依托单位审核后提交至自然科学基金委进行审核。审核未通过者，返回修改后再行提交；审核通过者，打印为计划书纸质版（一式两份，双面打印），由依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。计划书电子版和纸质版内容应当保证一致。

向自然科学基金委提交和报送计划书截止时间节点如下：

- 1、提交计划书电子版截止时间为**2015年9月11日16点**（视为计划书正式提交时间）；
- 2、提交计划书电子修改版截止时间为**2015年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2015年9月25日16点**。

请按照以上规定及时提交计划书电子版，并报送计划书纸质版，未说明理由且逾期不报计划书者，视为自动放弃接受资助。

附件：项目评审意见及修改意见

国家自然科学基金委员会
医学科学部
2015年8月17日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81573078	项目负责人	王磊	申请代码1	H2201
项目名称	TGF- β 调控VEGF介导血管新生平衡紊乱在慢性放射性肠炎纤维化中的作用及其分子机制				
资助类别	面上项目	亚类说明			
附注说明	常规面上项目				
依托单位	中山大学				
直接费用	65.00 万元	起止年月	2016年01月 至 2019年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p><1></p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说</p> <p>研究TGF-β、VEGF基因多态性与CRE的临床相关性，阐明TGF-β-Smad2/3-VEGF信号通路参与纤维化的调控机制，应用基因敲除小鼠验证结果。</p> <p>申请者提出TGF调控VEGF表达，使血管新生失衡导致血管损伤，从而刺激纤维化形成的假说。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义</p> <p>目前关于CRE的研究不多，许多研究者主要开展急性放射性肠损伤的研究。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>申请者提出TGF调控VEGF表达，使血管新生失衡导致血管损伤，从而刺激纤维化形成的假说具有一定的创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>研究内容、研究方案及所采用的技术路线能够验证所提出的科学问题。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>申请者已经开展了与本项目直接相关的前期研究工作，并且获得了支持本项目的实验结果。文献调研充分，实验设计科学，具有与本研究相关的研究平台，掌握细胞、分子和动物实验技术。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p> <p><2></p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说</p> <p>该项目主要研究内容是在慢性放射性肠炎（CRE）中研究TGF-β、VEGF基因多态性、表达水平与CRE的临床相关性，阐明TGF-β-Smad2/3-VEGF信号通路参与纤维化进程的分子调控机制。申请者提出TGF-β 调控VEGF表达，使血管新生平衡发生紊乱导致微血管损害，从而刺激纤维化形成。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义</p> <p>本项目预期阐明TGF-β 调控VEGF表达造成微血管损害进而促进纤维化的分子机制。本研究可能为CRE发病机制做出一定的理论共享，为临床研发逆转CRE纤维化药物提供可能的靶点，具有较好的科学意义和临床应用价值。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>本研究科学假说为TGF-β 调控VEGF表达，使血管新生平衡发生紊乱导致微血管损害，从而刺激纤维化形成，假说逻辑清晰，研究思路明确。首次在CRE纤维化发病机制中引入血管新生平衡紊乱，具有很好的创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>本研究形成科学假设之后，首先在临床水平分析TGF-β、VEGF的基因多态性、表达水平与CRE纤维化和临床预后的关系，之后在细胞分子生物学水平上研究具体机制，构建动物模型进行体内验证，最后在临床病人标本中再次验证。研究内容、研究方案和技术路线有较强逻辑性，科学合理，可为科学假说的验证提供很好的保证。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>课题申请人承担多项科研项目，包括科技部支撑计划、国家自然科学基金项目及广州市科信项目，具有较好研究经历和水平。中山大学附属第六医院是国内最大的胃肠肛门专科医院，具备相关设备，临床资源丰富，为本项目开展提供了良好的条件。</p>					

(五) 其它意见或修改建议

<3>

一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说

课题主要研究TGF- β 调控VEGF介导血管新生平衡紊乱在慢性放射性肠炎纤维化中的作用及其分子机制，提出假说TGF- β 调控VEGF的表达，介导血管新生平衡紊乱所致的微血管损伤，刺激纤维增生，是慢性放射性肠炎纤维化中的机制。

二、具体意见

(一) 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

项目预期成果：阐明TGF- β 调控VEGF的表达，介导血管新生平衡紊乱所致的微血管损伤的机制，具有较强的科学意义。

(二) 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

科学问题凝练较好，假说提出明确，具有创新性。

(三) 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

研究内容、研究方案及所采用的技术路线能验证所提出的科学问题或假说，研究方法具有逻辑性、可行性。

(四) 申请人的研究能力和研究条件

申请人的研究能力较强，具备完成该项目的研究条件。

(五) 其它意见或修改建议

对研究方案的修改意见：

医学科学部

2015年8月17日