

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
		合计				8640
		一、高新技术				1200
1	ZDYF2018001	基于中高分辨率遥感卫星大数据的城镇群高精度提取和验证	三亚中科遥感研究所	闫冬梅	2018.1—2019.12	90
2	ZDYF2018002	海南省科技报告服务系统研究	海南省科学技术信息研究所	李信祥	2018.1—2019.12	80
3	ZDYF2018003	海南省“互联网+”绿色能源信息服务系统研究	海南天能电力有限公司	刘宝	2018.1—2019.12	90
4	ZDYF2018004	钙钛矿太阳能电池高效空穴输运通道设计与光伏性能研究	海南大学	王宁	2018.1—2019.12	90
5	ZDYF2018005	MnO ₂ @细菌纤维素碳纳米纤维复合材料的研发及在超级电容器中的应用	海南师范大学	王崇太	2018.1—2019.12	55
6	ZDYF2018006	基于水下滑翔机的移动传感网络关键技术南海监测应用研究	海南大学	羊秋玲	2018.1—2019.12	60
7	ZDYF2018007	光伏电池及组件智能管理系统	海南大学	谢军	2018.1—2019.12	50
8	ZDYF2018008	源圆智慧溯源云平台研发	海南源圆科技有限公司	孟海英	2018.1—2019.12	50
9	ZDYF2018009	基于银联验证-银联卡受理自助终端设备的研发	佳友通电子支付有限公司	甘京	2018.1—2019.12	50
10	ZDYF2018010	汉麻纤维在水刺非织造材料中的开发与应用	欣龙控股（集团）股份有限公司	陈喆	2018.1—2019.12	50
11	ZDYF2018011	大数据文件系统BDFS及其紧凑云存储架构CCSA	三亚中科遥感研究所	张云舟	2018.1—2019.12	40
12	ZDYF2018012	大规模MIMO全双工系统的上下行链路多目标能耗优化设计与应用研究	海南大学	周又玲	2018.1—2019.12	40
13	ZDYF2018013	离子液体修饰多孔聚合物微球及其活化分子氧催化脱硫研究	海南师范大学	朱林华	2018.1—2019.12	40
14	ZDYF2018014	基于人工智能的智慧家居（3.0）物联网系统研发	海南海旭科技发展有限公司	谢召平	2018.1—2019.12	40

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
15	ZDYF2018015	基于物联网的海南石斑鱼智慧养殖预测预警平台研究	海南大学	胡祝华	2018.1—2019.12	30
16	ZDYF2018016	壳聚糖基高效吸附材料的研发及在海洋重金属吸附领域的应用	海南大学	卢凌彬	2018.1—2019.12	30
17	ZDYF2018017	基于深度学习的智能客服系统研发	海南大学	黎才茂	2018.1—2019.12	30
18	ZDYF2018018	超级船东：基于互联网技术的航运供应链平台研究与示范应用	海南海旗网络科技有限公司	丁文强	2018.1—2019.12	40
19	ZDYF2018019	海口湾智能化海上交通服务应用软件的研究与开发	海南科技职业学院	黎冬楼	2018.1—2019.12	25
20	ZDYF2018020	应用物联网技术的飞机维修智能化综合管理平台的研发	海航航空技术股份有限公司	符彬	2018.1—2019.12	30
21	ZDYF2018021	“小菜一篮”新鲜蔬菜同城配送体系平台	海南一站到家实业有限公司	李慧岷	2018.1—2019.12	20
22	ZDYF2018022	基于人工智能的皮肤肿瘤计算机辅助诊断系统	海南省妇幼保健院	柴岗	2018.1—2019.12	50
23	ZDYF2018023	大数据在互联网+管家式服务公寓的应用研究与示范	海南尊旅在线信息技术有限公司	林雨婕	2018.1—2019.12	20
24	ZDYF2018024	基于表面组成调控的光电催化活性金属纳米颗粒/ACF合成、性质研究与应用	海南医学院	陈榕	2018.1—2019.12	20
25	ZDYF2018025	电动汽车高安全、高可靠性动力电池绝缘监测系统的关键技术研究	海南大学	陈振斌	2018.1—2019.12	50
26	ZDYF2018026	基于深度学习的橡胶树养分光谱诊断关键技术与平台研发	海南大学	唐荣年	2018.1—2019.12	30
		二、现代农业				3150
27	ZDYF2018027	淡水小龙虾 <i>Procambarus clarkii</i> 引种关键技术与示范	中国热带农业科学院热带生物技术研究所	王冬梅	2018.1.1—2019.12.31	100
28	ZDYF2018028	凡纳滨对虾高位池循环水养殖关键技术集成与构建	好当家昌江水产开发有限公司	张术森	2018.1.1—2019.12.31	100
29	ZDYF2018029	海南油茶低产林良种化改造技术研究示范	澄迈乐香种苗管理有限公司	杜京霖	2018.1.1—2019.12.31	80

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
30	ZDYF2018030	热带果蔬及其重组食品冻干关键技术研究及产业化示范	海南惠民农产品出口配送有限公司	郑志猛	2018.1.1—2019.12.31	80
31	ZDYF2018031	两种典型海水养殖鱼类品质提升共性关键技术研究	三亚鑫明珠绿色水产有限公司	蒋玉峰	2018.1.1—2019.12.31	80
32	ZDYF2018032	海南鹅绿色养殖关键技术与集成	海南省农业科学院畜牧兽医研究所	顾丽红	2018.1.1—2019.12.31	80
33	ZDYF2018033	热带设施鱼菜共生循环种养生产技术研发	海南牧香园生态农业有限公司	朱毅	2018.1.1—2019.12.32	50
34	ZDYF2018034	海南省橡胶树主栽品种高效超低频采胶技术研究与应用	中国热带农业科学院橡胶研究所	仇键	2018.1.1—2019.12.31	50
35	ZDYF2018035	多抗、优质番茄品种筛选培育与示范	中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	刘子记	2018.1.1—2019.12.31	50
36	ZDYF2018036	抗逆促生长新型微生物有机肥的研发及推广应用	中国热带农业科学院热带生物技术研究所	易小平	2018.1.1—2019.12.31	50
37	ZDYF2018037	新型节本增效轻简化橡胶钻蛀性鞘翅目害虫诱捕器研发与应用	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	陈青	2018.1.1—2019.12.31	50
38	ZDYF2018038	五指山市蓝莓标准化栽培技术与示范	五指山南天蓝莓嘉宝果种植专业合作社	宋金梅	2018.1.1—2019.12.31	50
39	ZDYF2018039	香樟新品种高效种植技术研发与示范	海南富欣德生态农业科技有限公司	谢雯米	2018.1.1—2019.12.31	50
40	ZDYF2018040	三沙-海南岛重要农业迁飞性害虫监测及源头控制关键技术研究	海南省农业科学院植物保护研究所	陈绵才	2018.1.1—2019.12.31	50
41	ZDYF2018041	新型工厂化亲虾健康管理及幼体孵化技术研究	海南中正水产科技有限公司	王平	2018.1.1—2019.12.31	50
42	ZDYF2018042	澄山山猪选育及开发利用	澄迈文儒南石山畜牧专业合作社	王选鑫	2018.1.1—2019.12.31	50
43	ZDYF2018043	海南黑山羊优质饲料筛选与应用技术研究	海南绿精灵生态农业有限公司	杨旸	2018.1.1—2019.12.31	50
44	ZDYF2018044	相同培养条件下2个荔枝品种体胚诱导效率差异的机制研究	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	李焕苓	2018.1.1—2019.12.31	50
45	ZDYF2018045	琼岛杨种质资源收集保存及栽培生物学特性研究	海南省林业科学研究所	陈彥	2018.1.1—2019.12.31	50

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
46	ZDYF2018046	红螯螯虾引种与繁育技术研发	海南大学	顾志峰	2018.1.1—2019.12.31	50
47	ZDYF2018047	植物生长调节剂噻苯隆（TDZ）对芒果果实品质影响研究	海南省农业科学院热带果树研究所	华敏	2018.1.1—2019.12.31	50
48	ZDYF2018048	海南特色果园间作豆科绿肥的研究与示范	中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	陈志坚	2018.1.1—2019.12.31	50
49	ZDYF2018049	防治豇豆蓟马专用药剂的研发及其减施增效关键技术研究	海南博士威农用化学有限公司	张静	2018.1.1—2019.12.31	50
50	ZDYF2018050	GAT育种制种技术体系建立测试及应用	海南波莲水稻基因科技有限公司	安保光	2018.1.1—2019.12.31	50
51	ZDYF2018051	白棘三列海胆苗种繁育技术研究	海南蓝泰邦生物技术有限公司	翁文明	2018.1.1—2019.12.31	50
52	ZDYF2018052	红毛丹贮运微环境绿色保鲜技术研究与应用	海南省农业科学院农产品加工设计研究所	张容鹄	2018.1.1—2019.12.31	50
53	ZDYF2018053	罗非鱼微冻气调技术的集成研发与示范	海南勤富食品有限公司	符娜	2018.1.1—2019.12.31	50
54	ZDYF2018054	黄秋葵化肥农药减施关键技术研究	海南春蕾南繁实业发展有限公司	谢小彬	2018.1.1—2019.12.31	50
55	ZDYF2018055	驼背鲈必需氨基酸营养及其低鱼粉配合饲料开发	海南大学	吴小易	2017.1.1—2018.12.31	50
56	ZDYF2018056	蚯蚓粪对橘园土壤中残留除草剂草甘膦的运移机制及树体生长和果实品质的影响研究	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	姜蕾	2018.1.1—2019.12.31	50
57	ZDYF2018057	火龙果冬果调控技术研发与示范推广	中国热带农业科学院海口实验站	周兆禧	2018.1.1—2019.12.31	50
58	ZDYF2018058	油梨优质种质筛选及高效栽培技术研发示范	中国热带农业科学院海口实验站	王甲水	2018.1.1—2019.12.31	50
59	ZDYF2018059	五指山特色热带雨林优质茶叶种质资源综合收集改良繁育示范基地	五指山椰仙生物科技有限公司	郑国忠	2018.1.1—2019.12.31	50
60	ZDYF2018060	基于组织培养微嫁接技术的油梨优良品种快繁及示范推广	海南大学	凌鹏	2018.1.1—2019.12.31	50
61	ZDYF2018061	两亲性海藻酸衍生物对农药高效靶标作用关键技术及其减施增效应用研究	海南大学	李嘉诚	2018.1.1—2019.12.31	50

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
62	ZDYF2018062	海南豇豆农药减施增效综合技术研发	海南大学	章程辉	2018.1.1—2019.12.31	50
63	ZDYF2018063	台湾青枣新品种引进与配套高效栽培技术示范推广	临高壹合农业开发有限公司	符壮志	2018.1.1—2019.12.31	50
64	ZDYF2018064	晚熟杂交柑橘新品种—沃柑引种试种	海南生生元农业发展有限公司	陈鹏弯	2018.1.1—2019.12.31	50
65	ZDYF2018065	海南槟榔高效施肥技术集成与示范	海南多元槟榔产业发展有限公司	陈书贵	2018.1.1—2019.12.31	50
66	ZDYF2018066	工厂化循环水高值海水鱼与耐盐蔬菜共养关键技术研发	海南省海洋与渔业科学院	王永波	2018.1.1—2019.12.31	50
67	ZDYF2018067	和乐蟹工厂化繁育技术的研究	海南万宁克莱布水产科技有限公司	卓齐辉	2018.1.1—2019.12.31	50
68	ZDYF2018068	海南省小龙虾养殖水草种植技术与示范	海口海岛小龙虾养殖专业合作社	邹开封	2018.1.1—2019.12.31	50
69	ZDYF2018069	海南柠檬综合利用关键技术研发及系列产品研发与示范	海南兴科热带作物工程技术有限公司	初众	2018.1.1—2019.12.31	50
70	ZDYF2018070	黄皮降血糖健康产品的研发	海南黎药堂生物科技开发有限公司	李飞翔	2018.1.1—2019.12.31	50
71	ZDYF2018071	海南铁皮石斛鲜条深加工技术研究与产品开发	海南宝元堂保健品有限公司	王锡彬	2018.1.1—2019.12.31	50
72	ZDYF2018072	香蕉二级苗货架期延长技术研发	中国热带农业科学院海口实验站	常胜合	2018.1.1—2019.12.31	25
73	ZDYF2018073	天空地协同的典型热带作物重大病虫害遥感监测与防治综合技术研究	三亚中科遥感研究所	叶回春	2018.1.1—2019.12.31	25
74	ZDYF2018074	甘薯小象甲生物防治关键技术研发与示范	海南省农业科学院植物保护研究所	陈海燕	2018.1.1—2019.12.31	25
75	ZDYF2018075	樱桃番茄植株调控关键技术集成与示范	海南省农业科学院蔬菜研究所	高芳华	2018.1.1—2019.12.31	25
76	ZDYF2018076	海南特有淀粉植物文昌锥资源评价与开发利用研究	海南省农业科学院热带园艺研究所	郑道君	2018.1.1—2019.12.31	25
77	ZDYF2018077	三种海南特有兰花菌根鉴定及复合菌剂研制	海南省农业科学院热带园艺研究所	任军方	2018.1.1—2019.12.31	25

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
78	ZDYF2018078	木本切花植物风蜡花引进及种苗繁育研究	海南省农业科学院热带园艺研究所	符瑞侃	2018.1.1—2019.12.31	25
79	ZDYF2018079	热带籼型水稻食味品质的改良	海南省农业科学院粮食作物研究所	岑新杰	2018.1.1—2019.12.31	25
80	ZDYF2018080	海南火龙果全生育期生态高效栽培的技术集成与示范	海南大学	汤华	2018.1.1—2019.12.31	25
81	ZDYF2018081	甘薯健康种苗产业化生产关键技术研究与集成应用—可行性研究报告	海南祥裕农业发展有限公司	刘迪	2018.1.1—2019.12.31	25
82	ZDYF2018082	黄纹无刺蜂蜂产品化学组成及生物学活性研究	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	王释婕	2018.1.1—2019.12.31	25
83	ZDYF2018083	罗非鱼加工下脚料制备降血糖肽的研究	海南省粮油科学研究所	赵阔	2018.1.1—2019.12.31	25
84	ZDYF2018084	特色果树黄晶果种质资源收集评价与开发利用	海南省农业科学院热带果树研究所	王祥和	2018.1.1—2019.12.31	25
85	ZDYF2018085	鸭疫里默氏杆菌通用型抗体制备、性能检测及应用研究	海南大学	管庆丰	2018.1.1—2019.12.31	25
86	ZDYF2018086	两种泽兰属入侵植物中植物源农药先导分子的精准筛选关键技术研究	海南师范大学	陈文豪	2018.1.1—2019.12.31	25
87	ZDYF2018087	海南香蕉园有机替代技术研究与应用	海南省农业科学院农业环境与土壤研究所	吴宇佳	2018.1.1—2019.12.31	25
88	ZDYF2018088	橡胶树缓释配方肥研制与应用研究	中国热带农业科学院橡胶研究所	刘海林	2018.1.1—2019.12.31	25
89	ZDYF2018089	蕉园优质肥料筛选与化肥减施技术研究	中国热带农业科学院海口实验站	丁哲利	2018.1.1—2019.12.31	25
90	ZDYF2018090	定安富硒大米产业升级技术研发与应用	定安岭口程意富硒米专业合作社	陈运飞	2018.1.1—2019.12.31	25
91	ZDYF2018091	海南省文昌市病虫害监测预警管理系统的开发	中国热带农业科学院椰子研究所	刘丽	2018.1.1—2019.12.31	25
92	ZDYF2018092	百香果离体快繁技术研究及示范推广	中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	赵家桔	2018.1.1—2019.12.31	20
93	ZDYF2018093	基于土壤健康管理的海南油茶根腐病防控技术研究	海南省农业科学院农业环境与土壤研究所	肖彤斌	2018.1.1—2019.12.31	20

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
94	ZDYF2018094	海南芥蓝品种引进筛选、主侧蔓产量优化和品质调控关键技术研究	海南大学	成善汉	2018.1.1—2019.12.31	20
95	ZDYF2018095	捕食性天敌-六斑月瓢虫的规模化繁育技术研究	海南大学	曹凤勤	2018.1.1—2019.12.31	20
96	ZDYF2018096	尖吻鲈室内工厂化循环水养殖关键技术研究	中国水产科学院南海所热带水产研究开发中心	杨其彬	2018.1.1—2019.12.31	20
97	ZDYF2018097	香蕉新品种选育的分子标记技术研发与应用	中国热带农业科学院热带生物技术研究所	王静毅	2018.1.1—2019.12.31	20
98	ZDYF2018098	海南重要外来有害粉蚧调查及DNA条形码检测技术研究	海南出入境检验检疫局热带植物隔离检疫中心	蔡波	2018.1.1—2019.12.31	20
99	ZDYF2018099	椰子、槟榔智能采摘技术研究	海南科技职业学院	苏明	2018.1.1—2019.12.31	20
100	ZDYF2018100	花生新品种轻简化栽培技术与示范	中国热带农业科学院椰子研究所	杨伟波	2018.1.1—2019.12.31	20
		三、社会发展				2740
101	ZDYF2018101	1470nm新型大功率多用途激光手术设备的研发	中国人民解放军总医院海南分院	王春喜	2018.1.1—2019.12.31	100
102	ZDYF2018102	血管周围脂肪细胞在腹主动脉瘤发生发展过程中的作用机制研究	海南医学院第一附属医院	郭峻莉	2018.1.1—2019.12.31	80
103	ZDYF2018103	基于系统性红斑狼疮患者功能基因组学研究建立其基因网络拓扑结构	海南省妇幼保健院	向伟	2018.1.1—2019.12.31	80
104	ZDYF2018104	纳米磁铁生物分离技术在重金属铅中毒血液净化疗法中的应用研究及配套装置3D打印设计研发	海口市人民医院	孙岩	2018.1.1—2019.12.31	80
105	ZDYF2018105	建筑废弃物绿色高效资源化利用的关键技术研究	海南瑞泽新型建材股份有限公司	陈宏哲	2018.1.1—2019.12.31	80
106	ZDYF2018106	基于电化学DNA传感技术快速诊断恙虫病方法的基础研究及临床应用	海南大学	涂进春	2018.1.1—2019.12.31	50
107	ZDYF2018107	厌氧反应间歇式污泥处理消化系统技术及处理金海浆纸剩余污泥工程示范	海南大学	冯玉红	2018.1.1—2019.12.31	50
108	ZDYF2018108	丛生盔形珊瑚两种形态分化型环境适应性差异的分子机理	海南大学	王嫣	2018.1.1—2019.12.31	50

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
109	ZDYF2018109	热带海洋芽孢杆菌资源库的建设	海南大学	谢珍玉	2018.1.1—2019.12.31	50
110	ZDYF2018110	番石榴叶治疗2型糖尿病的代谢组学研究	海南大学	宋彦廷	2018.1.1—2019.12.31	50
111	ZDYF2018111	Graves病患者肠道菌群与免疫功能紊乱及高复发率的相关性研究	海南省人民医院	陈开宁	2018.1.1—2019.12.31	50
112	ZDYF2018112	海南省专科护理联合体构建及应用研究	海南省人民医院	李 斌	2018.1.1—2019.12.31	50
113	ZDYF2018113	海南省人感染类鼻疽病的临床分析及分子流行病学特征研究	海南省人民医院	吴 华	2018.1.1—2019.12.31	50
114	ZDYF2018114	海南国际旅游岛内汉族与黎族人群颅内未破裂动脉瘤破裂出血的多维度预测模型研究	海南省人民医院	彭 浩	2018.1.1—2019.12.31	50
115	ZDYF2018115	基于组学策略的中枢调节心肌缺血再灌注损伤机制的研究	海南省人民医院	吴多志	2018.1.1—2019.12.31	50
116	ZDYF2018116	miR-22/tet2/MEG3/P53负反馈环路参与急性髓细胞白血病发生发展的分子机制研究	海南省人民医院	姚红霞	2018.1.1—2019.12.31	50
117	ZDYF2018117	信息化院内血糖管理体系的构建以及出院时血糖管理过渡方案的探讨	中国人民解放军总医院海南分院	郭清华	2018.1.1—2019.12.31	50
118	ZDYF2018118	域内心脏事件预警救治人工智能平台的研发和应用	中国人民解放军总医院海南分院	刘 亮	2018.1.1—2019.12.31	50
119	ZDYF2018119	肠炎宁颗粒再评价临床试验及其生产工艺与质量标准优化研究	海南葫芦娃药业集团股份有限公司	刘全国	2018.1.1—2019.12.31	50
120	ZDYF2018120	多组学串联技术筛选两种海蛇毒腺新药用转录本及辅助制备抗蛇毒血清	海南热带海洋学院	林炽贤	2018.1.1—2019.12.31	50
121	ZDYF2018121	适宜热区应用的生物降解地膜研发与示范推广	海南中新塑料有限公司	王献培	2018.1.1—2019.12.31	50
122	ZDYF2018122	有机污染物对海南红树林生物多样性的影响及其机制研究	海南师范大学	刁晓平	2018.1.1—2019.12.31	50
123	ZDYF2018123	基于谱效关联的降香质量控制方法研究	中国医学科学院药用植物研究所海南分所	赵祥升	2018.1.1—2019.12.31	50
124	ZDYF2018124	利用RNAi工程微藻控制寨卡病毒、登革病毒传毒媒介埃及伊蚊	海南医学院	费小雯	2018.1.1—2019.12.31	50

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
125	ZDYF2018125	中医药治疗慢性非细菌性前列腺炎的临床与实验研究	海南医学院	王家辉	2018.1.1—2019.12.31	50
126	ZDYF2018126	CXCR4/NOX2信号通路在诱导1型糖尿病神经病理性疼痛中的作用机制研究	三亚市人民医院	田国刚	2018.1.1—2019.12.31	50
127	ZDYF2018127	海南地区基于ctDNA检测的乳腺癌新辅助化疗预测模型的研究	海南博鳌银丰康养国际医院有限公司	林海锋	2018.1.1—2019.12.31	50
128	ZDYF2018128	基于卫星通信的海洋资料浮标实时通信系统的研究	中国科学院声学研究所南海研究站	梁 恒	2018.1.1—2019.12.31	50
129	ZDYF2018129	加密医学体数据稳健数字水印算法研究与应用	海南大学	李京兵	2018.1.1—2019.12.31	40
130	ZDYF2018130	非糖尿病人群胰岛素原/真胰岛素、25羟维生素D3、腰围与血糖代谢的相关性研究	海南省人民医院	全会标	2018.1.1—2019.12.31	40
131	ZDYF2018131	IgA肾病分子遗传学与临床特征间相关关系的系列研究	海南省人民医院	魏佳莉	2018.1.1—2019.12.31	40
132	ZDYF2018132	SEPS1基因多态性影响NF- κ B导致2型糖尿病发生的初步研究	海口市人民医院	魏小斌	2018.1.1—2019.12.31	40
133	ZDYF2018133	肝癌患者BDNF基因rs6265多态性与PTSD认知功能的相关性研究	海口市人民医院	杨毅军	2018.1.1—2019.12.31	30
134	ZDYF2018134	非粮生物油脂催化制备生物燃料研究	海南大学	曹 阳	2018.1.1—2019.12.31	30
135	ZDYF2018135	广藿香醇的生物合成调控及其新产品研发	海南大学	吴友根	2018.1.1—2019.12.31	30
136	ZDYF2018136	海南森林生态系统昆虫多样性本底调查	中国热带农业科学院椰子研究所	阎 伟	2018.1.1—2019.12.31	30
137	ZDYF2018137	利用南药植物胡椒枝叶资源开发猪用草药的初步研究	海南省农业科学院畜牧兽医研究所	曹 兵	2018.1.1—2019.12.31	30
138	ZDYF2018138	南海海葵毒素的抗虫活性筛选及其生物杀虫剂的应用研究	海南医学院	高炳淼	2018.1.1—2019.12.31	30
139	ZDYF2018139	图像特征配准眼球追踪技术在眼底检查中的应用方法研究	中国人民解放军总医院海南分院	黄厚斌	2018.1.1—2019.12.31	30
140	ZDYF2018140	创伤后应激障碍与肠道微生物群结构变化的关联性研究	海南省人民医院	黄 涛	2018.1.1—2019.12.31	25

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
141	ZDYF2018141	以ACC为关键靶区的槟榔成瘾脑网络功能失调及动态变化机制：基于多模态磁共振的研究	海南省人民医院	刘 涛	2018.1.1—2019.12.31	25
142	ZDYF2018142	三亚西南沿海金丝燕种群恢复与燕窝研发	三亚鹿回头旅游发展有限公司	林 斌	2018.1.1—2019.12.31	25
143	ZDYF2018143	海南岛鸟类特有种及特有亚种野外种群调查及分子标签数据库的建立	海南省林业科学研究所	梁 斌	2018.1.1—2019.12.31	25
144	ZDYF2018144	海南省城镇内河（湖）水质实时监测预警系统研究	海南中南标质量科学研究院	张满效	2018.1.1—2019.12.31	25
145	ZDYF2018145	基于信息化平台护理绩效工资分配的体系研究	海南医学院第二附属医院	李 珑	2018.1.1—2019.12.31	25
146	ZDYF2018146	胶质母细胞瘤替莫唑胺化精准治疗的临床研究及安全评估	海南省人民医院	王加充	2018.1.1—2019.12.31	25
147	ZDYF2018147	安全高效固载气状杀菌剂研发及对传统毒性杀菌剂的部分替代	中国热带农业科学院海口实验站	李奕星	2018.1.1—2019.12.31	25
148	ZDYF2018148	重大出生缺陷遗传性疾病防控综合检测技术的集成研发和规模应用	海南金域医学检验中心有限公司	王家健	2018.1.1—2019.12.31	20
149	ZDYF2018149	微流控芯片结合免疫磁分离检测海南农产品中黄曲霉毒素B1关键技术及设备研发	海南大学	陈 健	2018.1.1—2019.12.31	20
150	ZDYF2018150	CB2受体通过调节Treg/Th17细胞平衡抑制中性粒细胞型哮喘发生发展	海南省人民医院	蔡兴俊	2018.1.1—2019.12.31	20
151	ZDYF2018151	整合素 β 1在电针抗脑缺血后神经血管单元修复与重建中的作用机制的研究	海南省人民医院	文国强	2018.1.1—2019.12.31	20
152	ZDYF2018152	胃肠道小间质瘤的直径大小与危险分级和预后的相关性研究	海南省人民医院	黄 平	2018.1.1—2019.12.31	20
153	ZDYF2018153	慢性痛所致恐惧及其负性情绪的神经环路构建和机能学研究	海南医学院	李云庆	2018.1.1—2019.12.31	20
154	ZDYF2018154	基于血管内皮细胞GPR124为靶点的新型抗AS药物筛选平台的建立及新药发现	海南医学院	刘启兵	2018.1.1—2019.12.31	20
155	ZDYF2018155	红树林淡紫拟青霉EPS及其凝胶剂体内抗HSV-1作用效果实验研究	海南医学院	林英姿	2018.1.1—2019.12.31	20
156	ZDYF2018156	基于靶基因捕获测序法对海南汉族和黎族寻常型银屑病与VDR基因关系的研究	海南医学院第二附属医院	刘军麟	2018.1.1—2019.12.31	20

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
157	ZDYF2018157	MiR-181a-5p通过靶向作用于FBXO11调控胶质瘤化疗耐药性的研究	海南医学院第一附属医院	马琳	2018.1.1—2019.12.31	20
158	ZDYF2018158	TAMs外泌体介导microRNAs调控三阴性乳腺癌细胞EMT促进侵袭转移	海南医学院第一附属医院	刘玉	2018.1.1—2019.12.31	20
159	ZDYF2018159	中药姜黄规范化栽培关键技术研究	海南师范大学	关亚丽	2018.1.1—2019.12.31	20
160	ZDYF2018160	以Runx2和PPAR γ 为双重靶标筛选大果榕抗骨质疏松的活性成分及其作用机制研究	海南师范大学	戴春燕	2018.1.1—2019.12.31	20
161	ZDYF2018161	中医穴位注射重组人促红素改善肾性贫血效果评估	海南省中医院	曾翠青	2018.1.1—2019.12.31	20
162	ZDYF2018162	大肠疾病筛查的人工智能预警系统—海南省多中心、前瞻性研究	中国人民解放军总医院海南分院	王淑芳	2018.1.1—2019.12.31	20
163	ZDYF2018163	斑节对虾卵巢发育相关功能基因的挖掘与解析	中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心	邱丽华	2018.1.1—2019.12.31	20
164	ZDYF2018164	喙果皂帽花内生真菌抗肿瘤活性次级代谢产物研究	海南科技职业学院	韩长日	2018.1.1—2019.12.31	20
165	ZDYF2018165	国境口岸包虫病环介导等温扩增技术（LAMP）检测方法研究	海南国际旅行卫生保健中心	滕娟	2018.1.1—2019.12.31	20
166	ZDYF2018166	多模态磁共振成像心肌灌注及其血管再生的临床研究	海南第三人民医院	秦将均	2018.1.1—2019.12.31	20
167	ZDYF2018167	海南槟榔初加工废气处理关键技术研究及示范	海南省环境科学研究院	谢东海	2018.1.1—2019.12.31	20
168	ZDYF2018168	良性甲状腺结节微波消融术“安全边际”及“液体隔离”技术评价标准的研究	中国人民解放军第一八七中心医院	涂瑞沙	2018.1.1—2019.12.31	20
169	ZDYF2018169	p75神经营养因子受体对口腔鳞状细胞癌细胞迁移、侵袭能力影响的研究	海南医学院第一附属医院	张旭凤	2018.1.1—2019.12.31	20
170	ZDYF2018170	城市内河(湖)疏浚底泥资源化利用研究及其风险评价	海南师范大学	刘艳玲	2018.1.1—2019.12.31	20
171	ZDYF2018171	基于遥感和现场调查相结合的岛屿生物多样性快速调查技术研究—以三沙市西沙群岛为例	海南省环境科学研究院	史建康	2018.1.1—2019.12.31	20
172	ZDYF2018172	实时监测循环肿瘤细胞和血液胞外染色体里ALK抗药性突变来预测非小细胞肺癌的疗效和预后	海南省人民医院	李冀	2018.1.1—2019.12.31	20

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
173	ZDYF2018173	维甲酸相关孤儿受体 α (ROR- α) 在头颈部鳞癌侵袭转移过程中的作用及其机制	海南省肿瘤医院	钱 永	2018.1.1—2019.12.31	20
174	ZDYF2018174	XIST/miR-34a-5p, miR-449a/MPHOSPH6信号轴与肝癌患病相关性及其机制研究	海口市人民医院	张应爱	2018.1.1—2019.12.31	20
175	ZDYF2018175	三维影像导航精准肺小结节定位装置关键技术研发、产品化及多中心推广应用	海口市人民医院	陈建强	2018.1.1—2019.12.31	20
176	ZDYF2018176	母胎解剖缺陷的多模态影像精准诊断的应用研究	海口市人民医院	陈 晶	2018.1.1—2019.12.31	20
177	ZDYF2018177	海南民俗特色旅游商品开发关键技术研究	海口经济学院	于 鲸	2018.1.1—2019.12.31	20
		四、软科学				300
178	ZDYF2018178	海南省深海领域科技创新与产业发展战略与对策研究	中国科学院科技战略咨询研究院	潘教峰	2018.3.1—2019.3.31	50（后补助）
179	ZDYF2018179	海南省商业航天发展战略研究	三亚中科遥感研究所	刘勇卫	2018.3.1—2019.3.31	19
180	ZDYF2018180	海南省沉香产业发展政策	中国热带农业科学院热带生物技术研究所	徐兵强	2018.3.1—2019.3.31	12
181	ZDYF2018181	海南省发展城市生态景观的科技政策研究	海南大学	何荣晓	2018.3.1—2019.3.31	8
182	ZDYF2018182	海南省高校科技人员职称评审科研政策改革研究 ——基于海南师范大学样本分析	海南师范大学	戴逢国	2018.3.1—2019.3.31	8
183	ZDYF2018183	海南省深海科技创新人才、团队及发展契机研究	中国科学院深海科学与工程研究所	徐明秀	2018.3.1—2019.3.31	8
184	ZDYF2018184	“互联网+”视角的海南科普旅游资源开发与对策研究	海南师范大学	李翠白	2018.3.1—2019.3.31	8
185	ZDYF2018185	科技支撑南繁产业发展战略研究	中国热带农业科学院热带生物技术研究所	黄启星	2018.3.1—2019.3.31	8
186	ZDYF2018186	海南省高新技术产业园区规划和管理战略研究	海南省建设项目规划设计研究院	王应龙	2018.3.1—2019.3.31	8
187	ZDYF2018187	省级财政科研项目经费管理改革背景下法人单位管理的体制机制设计研究	海南大学	郭强	2018.3.1—2019.3.31	8

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
188	ZDYF2018188	海南农业科技110服务体系转型升级及其精准扶贫模式研究	中国热带农业科学院科技信息研究所	金丹	2018.3.1-2019.3.31	8
189	ZDYF2018189	世界海洋强国海洋科技政策的比较研究及对中国的启示	中国科学院深海科学与工程研究所	孔秀	2018.3.1-2019.3.31	8
190	ZDYF2018190	现代农业转型升级背景下的海南农业物联网和人工智能技术融合发展战略研究	中国热带农业科学院科技信息研究所	谢铮辉	2018.3.1-2019.3.31	8
191	ZDYF2018191	海南省高校科普工作实践与创新发展模式研究	海南热带海洋学院	符昌昭	2018.3.1-2019.3.31	8
192	ZDYF2018192	精准施策海洋科技推动海南省海洋产业发展研究	海南省海洋与渔业科学院	刘一霖	2018.3.1-2019.3.31	5
193	ZDYF2018193	海南省领导干部科技素养评价及提升政策研究	中共海南省委党校	李苗	2018.3.1-2019.3.31	8
194	ZDYF2018194	海南省海洋科技创新平台发展战略研究	海南省建设项目规划设计研究院	夏勇开	2018.3.1-2019.3.31	8
195	ZDYF2018195	海南省科技成果转化研究和对策	中国科学院广州分院海南办事处	李春翔	2018.3.1-2019.3.31	8
196	ZDYF2018196	新时期澳大利亚主要海洋科技政策及对海南的启示	海南大学	袁蓓	2018.3.1-2019.3.31	8
197	ZDYF2018197	海南“互联网+党建”规范化常态化制度化创新研究	海南省发展战略学研究会	江东洲	2018.3.1-2019.3.31	8
198	ZDYF2018198	共享经济背景下海南省县域创新驱动发展战略研究	海南大学	林肇宏	2018.3.1-2019.3.31	8
199	ZDYF2018199	海南省农业科技发展规划	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	刘奎	2018.3.1-2019.3.31	8
200	ZDYF2018200	医学人文技术整合建设的临床决策优化研究	海口市人民医院	王鑫	2018.3.1-2019.3.31	5
201	ZDYF2018201	基于生态环境信息图谱的海南省资源环境承载能力监测预警与区域协调发展研究	海南省环境科学研究院	王晨野	2018.3.1-2019.3.31	5
202	ZDYF2018202	海南省科技扶贫现状、问题及对策研究	中共海南省委党校	毕普云	2018.3.1-2019.3.31	5
203	ZDYF2018203	仿制药质量和疗效一致性评价体系及对策研究	海南省药品审核认证管理中心	张辉	2018.3.1-2019.3.31	5

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
204	ZDYF2018204	“海绵城市”理念下的海南省城市生态景观建设模式及路径研究	海南大学	杨定海	2018.3.1-2019.3.31	5
205	ZDYF2018205	“一带一路”战略背景下海南胡椒加工产业发展瓶颈与提升对策	海南省农业科学院农产品加工设计研究所	邓浩	2018.3.1-2019.3.31	5
206	ZDYF2018206	三沙市病媒生物风险评估与对策研究	海南国际旅行卫生保健中心	王崇财	2018.3.1-2019.3.31	5
207	ZDYF2018207	转型升级背景下天然橡胶农业信息化管理技术的科技问题调研与科技提升对策研究	中国热带农业科学院橡胶研究所	吴炳孙	2018.3.1-2019.3.31	5
208	ZDYF2018208	“一证式”排污许可制度与其他环境管理制度的融合衔接研究	海南省环境科学研究院	王晶博	2018.3.1-2019.3.31	5
209	ZDYF2018209	海南省农村信用社普惠金融发展探究	海口市农村信用合作联社	樊鑫淼	2018.3.1-2019.3.31	5
210	ZDYF2018210	海南省高校科技创新与实践基地发展战略研究	海南师范大学	张旭	2018.3.1-2019.3.31	5
211	ZDYF2018211	海南省橡胶木材加工行业现状与发展战略研究	中国热带农业科学院橡胶研究所	蒋汇川	2018.3.1-2019.3.31	5
212	ZDYF2018212	生态文明视野下基于环境优势的海南省生态产业发展模式研究	海南省环境科学研究院	吴晓晨	2018.3.1-2019.3.31	5
213	ZDYF2018213	海南省全域旅游发展创新体系构建研究	海南大学	范士陈	2018.3.1-2019.3.31	5
		五、科技合作				1250
		2018年立项项目				1065
214	ZDYF2018214	外周血内皮祖细胞中ER β 的表达抑制作为自闭症生物标记物的研究	海南省妇幼保健院	李玲	2018-01-01至2020-12-31	80
215	ZDYF2018215	东革阿里林下栽培关键技术研究	海南省林业科学研究所	杨胜莲	2018-01-01至2020-12-31	80
216	ZDYF2018216	金丝燕燕窝产业化开发中的人工规模化孵卵及幼鸟饲喂	海南大洲金丝燕生态农业开发有限公司	田秀华	2018-01-01至2020-12-31	80
217	ZDYF2018217	海南琼中绿橙脱毒种苗繁育技术研究示范	海南格瑞尔科技有限公司	郭仁福	2018-01-01至2020-12-31	70

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
218	ZDYF2018218	椰子组织培养技术研究	中国热带农业科学院椰子研究所	范海阔	2018-01-01至2020-12-31	70
219	ZDYF2018219	巨蜥人工驯养繁殖的关键技术研究	海南热带海洋学院	杜宇	2018-01-01至2020-12-31	70
220	ZDYF2018220	基于纳米尺度的优质耐采后腐烂木薯体外调控技术研究	中国热带农业科学院热带生物技术研究	胡伟	2018-01-01至2020-12-31	55
221	ZDYF2018221	胡椒标准化栽培技术在柬埔寨桔井省集成与推广	中国热带农业科学院香料饮料研究所	杨建峰	2018-01-01至2020-12-31	55
222	ZDYF2018222	荔枝特早熟系列新品种的良种选育及其区域化试验研究	海南省农业科学院热带果树研究所	胡福初	2018-01-01至2020-12-31	55
223	ZDYF2018223	中国-巴基斯坦油棕良种繁育及抗逆栽培技术研究与示范	中国热带农业科学院橡胶研究所	曾宪海	2018-01-01至2020-12-31	50
224	ZDYF2018224	嘉积鸭肉鸭新型饲养模式研究与示范	中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	徐铁山	2018-01-01至2020-12-31	50
225	ZDYF2018225	南海密斑刺鲀的生殖调控机理研究及应用	海南热带海洋学院	黄海	2018-01-01至2020-12-31	50
226	ZDYF2018226	血竭诱导生成技术在柬埔寨的推广应用	中国热带农业科学院热带生物技术研究	丁旭坡	2018-01-01至2020-12-31	50
227	ZDYF2018227	海南省黎、汉两民族创伤后应激障碍患者脑源性神经营养因子基因甲基化关系的研究	海南省人民医院	郭敏	2018-01-01至2020-12-31	30
228	ZDYF2018228	基于UPLC/Q-TOF-MS技术的裸花紫珠指纹图谱构建与药代动力学研究	中国人民解放军第一八七中心医院	易博	2018-01-01至2020-12-31	30
229	ZDYF2018229	五子衍宗丸加味乌沉细治疗少弱精子症的医院制剂研制	海南省中医院	卓进盛	2018-01-01至2020-12-31	30
230	ZDYF2018230	金黄垂直链霉菌HN6代谢产物、作用机理及基因组学研究	海南大学	王兰英	2018-01-01至2020-12-31	30
231	ZDYF2018231	基于高分辨率数据的农业陆表环境关键参量遥感提取技术	三亚中科遥感研究所	孟庆岩	2018-01-01至2020-12-31	30
232	ZDYF2018232	生物基温度响应型分子印迹吸附材料的制备及在海水提铀中的应用研究	海南大学	尹学琼	2018-01-01至2020-12-31	30
233	ZDYF2018233	SIRT1及SIRT2对于秀丽隐杆线虫的生长发育及其在多巴胺能神经元分化凋亡影响的研究及相关技术引进	海南医学院	赵振强	2018-01-01至2020-12-31	25

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
234	ZDYF2018234	基于自适应差分演化核极限学习机的高光谱遥感图像处理及在海南洋浦港近海环境检测中的应用	海南科技职业学院	库俊华	2018-01-01至2020-12-31	25
235	ZDYF2018235	椰子水对糖尿病大鼠视网膜病变的影响	海口市人民医院	谢青	2018-01-01至2020-12-31	20
		2017年延续支持项目				185
1		海南省特色雪茄发酵微生物的分离与表征	中国烟草总公司海南省公司	刘好宝	2017-01-01至2018-12-31	20
2		海南牛主要疫病诊断检测技术引进与应用	三亚雪古丽现代生态农业综合开发有限公司	王治才	2017-01-01至2018-12-31	15
3		木薯粉小型清洁生产关键技术集成与应用示范	中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	张振文	2017-01-01至2018-12-31	15
4		红棕象甲防控关键技术在西亚地区的示范与推广	中国热带农业科学院椰子研究所	黄山春	2017-01-01至2018-12-31	10
5		桑树扦插-立体育苗技术的研究与种质资源普查	中国热带农业科学院环境与植物保护研究所	王树昌	2017-01-01至2018-12-31	10
6		耐盐植物海蓬子的引进与适应性研究	中国热带农业科学院海口实验站	金志强	2017-01-01至2018-12-31	10
7		海南油茶优良品种筛选与培育研究	海口东山金茂苗木有限公司	陈有师	2017-01-01至2018-12-31	10
8		肝移植单病种管理关键技术数字路径和指标的研究和应用	海南省农垦总医院	徐剑	2017-01-01至2018-12-31	10
9		海南省莱姆病流行病学调查及病原学研究	三亚市人民医院	朱雄	2017-01-01至2018-12-31	10
10		SC-1调控自噬在癫痫发生过程中的作用机制研究	海南医学院附属医院	李其富	2017-01-01至2018-12-31	10
11		endoglin-MIP3a Fc融合蛋白靶向抗肿瘤作用研究	海南医学院附属医院	何志惠	2017-01-01至2018-12-31	10
12		高效太阳能制氢光阳极的材料设计与开发	海南大学	林仕伟	2017-01-01至2018-12-31	10
13		台风强度卫星遥感动态监测与预警系统研制	三亚中科遥感研究所	杨晓峰	2017-01-01至2018-12-31	10

2018年省重点研发计划项目和经费安排表

金额：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	起止时间	拟安排经费
14		建立术前冰冻切片及术后程序性活检基础上的供肾评估体系	海南省农垦总医院	肖劲逐	2017-01-01至2018-12-31	5
15		深渊端足类底栖生物肠道共生微生物的比较研究	三亚深海科学与工程研究所	贺丽生	2017-01-01至2018-12-31	5
16		BDNF基因的表观遗传调控在帕金森病发病过程中的分子机制合作研究及相关技术引进	海南医学院附属医院	王焱	2017-01-01至2018-12-31	5
17		基于有限域和时间序列的RFID完整性检测及供应链异常检测	海南大学	周晓谊	2017-01-01至2018-12-31	5
18		中国-柬埔寨木薯生产机械化关键技术示范	中国热带农业科学院农业机械研究所	邓干然	2017-01-01至2018-12-31	5
19		抗病丰产辣椒安全高效栽培技术研究示范	中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	曹振木	2017-01-01至2018-12-31	10

受理编号: SQ2018SHFZ0249



海南省重点研发计划申报书

专项（方向）
类别: 社会发展

项目名称: 慢性痛所致恐惧及其负性情绪的神经环路构建和机能学研究

承担单位: 海南医学院

项目负责人: 李云庆 联系电话: 66893600 手机: 13709263970

项目联系人: 李云庆 联系电话: 66893600 手机: 13709263970

单位注册地区: 海口市-龙华区

项目实施地点: 海口市-龙华区

起止时间: 2018年01月01日 -2019年12月31日

申报日期: 2017年09月21日

海南省科学技术厅

一、单位基本情况表

单位基本信息	单位名称	海南医学院			组织机构代码	428200855		
	单位地址	海口市龙华区城西学院路3号海南医学院			邮政编码	571199		
	开户银行	中行海口凤翔西路支行			信用等级	5		
	联系电话	0898-66893600		电子邮箱	kyb36002012@163.com			
	传真	0898-31350982		网站地址	http://www.hainmc.edu.cn/			
	单位性质	高等院校		单位特性	已建有省级研究机构, 其他			
单位人员情况	职工总数	1100 人		技术人员	350 人			
	高级职称	310 人		中级职称	368 人			
		姓 名	职务	电话	手机	电子邮箱		
	单位负责人	杨俊	校长	66989118	18608968700	luchuanzhu@emss.cn		
	科研管理人	易西南	处长	66893754	13398976729	KYB3600@163.COM		
单位经济效益	年产值	万元		年销售额	万元			
	出口创汇	万美元						
	年利税	万元		年研究开发经费	万元			
其它参加单位信息	单位名称1							
	单位地址							
	单位性质			组织机构代码				
	联系人		电话		手机			
	单位名称2							
	单位地址							
	单位性质			组织机构代码				
	联系人		电话		手机			
	其他单位							

二、项目基本情况表

项目名称	慢性痛所致恐惧及其负性情绪的神经环路构建和机能学研究				
项目总预算 (万元)	48.00	申请财政专项经费 (万元)	40.00	自筹及其他经费 (万元)	8.00
项目简介: (提示: 简要介绍项目实施的主要内容和拟解决的主要技术问题等)					
慢性痛不仅影响人类健康和生活质量, 而且常常导致恐惧等负性情绪反应, 甚至自杀。以往的研究证明前扣带回皮质、杏仁核和岛叶参与慢性痛所致恐惧等负性情绪反应, 但这三个部位形成的神经环路及其发挥作用具体机制尚不完全清楚。本项目拟以慢性痛所致恐惧相关脑区构成的神经环路为研究对象, 研究慢性痛状态下该神经环路的结构和功能的可塑性变化, 并阐明其细胞与分子机制, 可以为慢性痛及其所致恐惧和负性情绪的治疗提供新的思路。					
项目技术情况	项目活动类型	<input type="checkbox"/> 应用研究与产业化开发 <input checked="" type="checkbox"/> 成果示范推广 <input type="checkbox"/> 成果引进集成 <input type="checkbox"/> 软科学			
	项目创新类型	<input checked="" type="checkbox"/> 原始创新 <input type="checkbox"/> 集成创新 <input type="checkbox"/> 引进消化吸收再创新 <input type="checkbox"/> 协同创新			
	项目主要优势	<input checked="" type="checkbox"/> 应用前景很好 <input type="checkbox"/> 经济效益显著 <input checked="" type="checkbox"/> 社会效益显著 <input type="checkbox"/> 生态效益显著 <input type="checkbox"/> 科技成果创新性突出 <input type="checkbox"/> 其它			
预期成效	预期成果	<input type="checkbox"/> 新产品(含农业新品种) <input type="checkbox"/> 新装置(装备) <input type="checkbox"/> 新材料 <input type="checkbox"/> 新工艺(或新方法、新模式) <input type="checkbox"/> 计算机软件 <input type="checkbox"/> 技术标准 <input checked="" type="checkbox"/> 研究(咨询)报告 <input checked="" type="checkbox"/> 论文 <input type="checkbox"/> 著作 <input type="checkbox"/> 基地建设 <input type="checkbox"/> 专利 <input type="checkbox"/> 其他			
		推广规模(亩)	推广新技术(项)	推广新产品(项)	培训人数(人)
		0.00	0	0	2
	预期经济效益	年新增产值 (万元)	年新增利税(万元)		年出口创汇 (万美元)
		0.00	0.00		0.00
参加单位1	名称				
	参与方式	<input type="checkbox"/> 成果提供 <input type="checkbox"/> 技术支持 <input type="checkbox"/> 联合开发 <input type="checkbox"/> 其它			
参加单位2	名称				
	参与方式	<input type="checkbox"/> 成果提供 <input type="checkbox"/> 技术支持 <input type="checkbox"/> 联合开发 <input type="checkbox"/> 其它			

三、项目人员情况表

项目人员总数 (人)	7	其中	高级	中级	初级	其他		
			3	0	2	2		
项目组主要成员（包括负责人）：								
编号	姓名	年龄	学历	职务	职称	分工	所在单位	签字
1	李云庆	57	博士研究生	无	教授	项目负责人	海南医学院	
2	杨娟	37	博士研究生	无	副教授	行为学	海南医学院	
3	任瑞	27	硕士研究生	无	实验员	膜片钳、 光遗传学	海南医学院	
4	彭雅南	28	硕士研究生	无	实验员	束路追踪、 电镜	海南医学院	
5	张全鹏	41	硕士研究生	无	副教授	分子生物学	海南医学院	
6	唐茜	26	本科生	学生	未取得	定位注射、 细胞培养	海南医学院	
7	崔天威	27	大专	学生	未取得	行为学、 分子生物学	海南医学院	

四、项目经费情况表

序号	预算科目名称	合计 (万元)	申请专项经费(万元)			自筹经费(万元)		
			合计	第一年 (2018)	第二年 (2019)	合计	第一年 (2018)	第二年 (2019)
1	一、经费来源	48.00	40.00	23.00	17.00	8.00	4.00	4.00
2	1. 申请专项经费	40.00	40.00	23.00	17.00	/	/	/
3	2. 自筹经费来源	8.00	/	/	/	8.00	4.00	4.00
4	(1) 其他财政拨款	0.00	/	/	/	0.00	0.00	0.00
5	(2) 单位自有货币资金	8.00	/	/	/	8.00	4.00	4.00
6	(3) 其他资金	0.00	/	/	/	0.00	0.00	0.00
7	二、经费支出	48.00	40.00	23.00	17.00	8.00	4.00	4.00
8	(一) 直接费用	46.00	38.00	21.00	17.00	8.00	4.00	4.00
9	1、设备费	3.00	3.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	(1) 购置设备费	3.00	3.00	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00
11	(2) 试制设备费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	(3) 设备改造与租赁费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
13	2、材料费	12.00	10.00	5.00	5.00	2.00	1.00	1.00
14	3、测试化验加工费	14.00	12.00	6.00	6.00	2.00	1.00	1.00
15	4、燃料动力费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	5、会议费/差旅费/国际合作与交流费	6.00	4.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00
17	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	5.00	3.00	2.00	1.00	2.00	1.00	1.00
18	7、劳务费	4.00	4.00	2.00	2.00	0.00	0.00	0.00
19	8、专家咨询费	2.00	2.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
20	9、其他支出	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	(二) 间接费用	2.00	2.00	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22	其中：绩效支出	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

五、主要研究开发内容、要达到的主要技术、经济指标以及将提供的研究开发成果及形式(提示:此项内容将作为项目立项后任务书的考核指标)

1、主要研究开发内容:

- (1) 使用行为学方法,观察慢性痛模型动物AMY、ACC、IC参与慢性痛及其所致负性情绪的产生和调控;
- (2) 采用束路追踪结合光遗传学技术,在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛及对照组动物AMY、ACC、IC内环路的构建及慢性痛之后的改变;
- (3) 运用束路追踪、光遗传学、脑片膜片钳记录、免疫电镜、冰冻蚀刻电镜、Western blot等技术,在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛后AMY、ACC、IC内环路突触传递可塑性的机能和形态学改变;
- (4) 运用定位注射、光遗传学、行为学等技术,在C57、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察AMY、ACC、IC内参与慢性痛及其负性情绪产生与调控的细胞内信号分子机制。

2、要达到的主要技术、经济指标(将提供的研究开发成果及形式):

- (1) 揭示ACC、AMY、IC间形成的单向神经纤维联系和往返纤维形成的交互神经环路。
- (2) 阐明慢性痛状态下ACC、AMY、IC所形成的恐惧及其负性情绪相关神经环路的形态和机能上的可塑性变化。
- (3) 揭示上述神经环路可塑性变化的递质、受体和细胞内信号转导机制,筛选1~2种疼痛及负性情绪治疗的药物靶分子。
- (4) 在国际知名度较高的专业学术期刊发表论文1~5篇,培养硕士生2名。

六、项目计划进度

起止时间	主要工作内容
2018-01-01~2018-12-31	使用行为学方法，观察慢性痛模型动物AMY、ACC、IC参与慢性痛及其所致负性情绪的产生和调控；采用束路追踪结合光遗传学技术，在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛及对照组动物AMY、ACC、IC内环路的构建及慢性痛之后的改变；收集部分数据以及阶段性报告。
2019-01-01~2019-12-31	运用束路追踪、光遗传学、脑片膜片钳记录、免疫电镜、冰冻蚀刻电镜、Western blot等技术，在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛后AMY、ACC、IC内环路突触传递可塑性的机能和形态学改变；运用定位注射、光遗传学、行为学等技术，在C57、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察AMY、ACC、IC内参与慢性痛及其负性情绪产生与调控的细胞内信号分子机制；收集整理数据及资料，进行统计分析，完成论文及并做结题报告。

七、项目附件清单

序号	附件名称	是否必填
■ 1	事业单位法人证书	是
■ 2	组织机构代码证	是
□ 3	财务审计报告	否
□ 4	会计报表（包括资产负债表、损益表、现金流量表）	否
□ 5	高新技术企业证书	否
□ 6	科学技术成果鉴定证书	否
□ 7	省级以上科技项目验收证书	否
□ 8	成果登记证书	否
□ 9	软件著作权登记证书	否
□ 10	专利证书	否
□ 11	检测报告	否
□ 12	查新证明	否
□ 13	新药证书	否
□ 14	通讯电力入网证	否
□ 15	生物新品种、农产品、农药登记证	否
□ 16	特殊产品生产许可证	否
□ 17	企业各出资方意见	否
□ 18	各类获奖证书	否
□ 19	列入国家计划文件或证书	否
□ 20	环保证明	否
□ 21	用户意见	否
□ 22	有关文章	否
□ 23	其他	否

审核意见

<p>承担单位意见</p>	<div>盖章 年 月 日</div>	
<p>其他参加单位意见</p>	<div>盖章 年 月 日</div>	<div>盖章 年 月 日</div>

项目可行性报告参考提纲:

一、立项依据

(一) 目的意义

慢性痛是一类严重威胁人类健康的慢性疾病,神经损伤、炎症、组织老化、癌症、多种慢性疾病等因素均可导致慢性痛,其中尤以神经损伤引起的神经病理性痛最为常见。目前,约 20%的世界人口正在罹难慢性痛的折磨,严重危害了人类的身心健康和生活质量,给家庭和社会带来了沉重的负担[1,2]。然而,慢性痛的治疗一直是临床的一大难题,其主要原因是慢性痛治疗的基础研究针对的疾病症状不全,作用靶区局限,效应细胞单一,未能开发出有效的镇痛药物和策略。

慢性痛除了引发躯体反应外,还可引起负性情绪反应和认知损害。大约 40%~60%的慢性痛患者都伴随有恐惧及其相关的焦虑、抑郁等负性情绪,严重时可使患者丧失工作能力,失去生活的乐趣和意义,导致家庭破裂、自杀甚至危及社会,因此,慢性痛严重危害人类身心健康[3]。一方面,慢性痛能引起的负性情绪反应可以成为疼痛程度判断的一个指标,另一方面,这些负性的情绪反应往往能进一步加重病人的疼痛,即发生疼痛-负性情绪-疼痛的恶性循环[1, 3]。比如,临床上会有这样的现象发生:即使解除疼痛的诱因(如外周神经损伤治愈后),患者仍然会主诉疼痛,并伴有强烈的情绪反应,但此时如果进行外周检查,并不会发现异常。可往往 fMRI 检查会显示中枢神经系统内参与认知、情感反应的一些区域的活动仍然活动异常。镇痛药物或策略必须同时针对慢性痛的躯体反应、负性情绪反应和认知损害等症状,才能获得良好疗效[4]。令人遗憾的是,目前的治疗方法大多只关注慢性痛的躯体反应,忽视负性情绪反应,导致这一现状的主要原因是科学家们并不十分明确参与慢性痛导致的负性情绪反应的中枢神经系统结构。与此同时,尽管关于恐惧及其负性情绪的机理和治疗的研究已在一定范围内展开,但真正针对慢性痛引发的恐惧及其负性情绪的机制尚未阐明,治疗仍无良策。因此,本文将借助神经病理性痛和炎性痛模型,开展慢性痛诱发的恐惧及其负性情绪机制方面研究,为临床治疗提供新的思路,并为阐明其它因素导致的恐惧及其负性情绪的机制和治疗提供借鉴。

阐明慢性痛诱发的负性情绪产生及调控机制的关键在于揭示参与恐惧及其相关负性情绪形成及调控的神经环路,主要包括:①阐明恐惧及其相关负性情绪相关脑区或核团在慢性痛状态下的活动状况及其参与慢性痛的感受和调控以及影响恐惧和负性情绪的机制;②揭示各相关脑区或核团间的相互联系,即它们之间形成的神经环路,为揭示它们之间的相互

影响奠定基础；③阐明在神经环路中发挥作用的递质、受体和胞内信号转导的分子机制；④探究介导恐惧和负性情绪的神经环路在慢性痛状态下发生的形态和机能的可塑性变化。通过上述研究，旨在阐明慢性痛所致的恐惧及其相关负性情绪形成及调控的神经环路，了解其在慢性痛状态下的可塑性变化，筛选出对疼痛和恐惧及负性情绪有针对性治疗作用的药物靶分子，这些结果对于指导临床治疗，提高慢性痛患者的生活质量具有重要的意义。

自上个世纪 90 年代开始，国内外的研究人员纷纷地将研究区域集中到了前扣带回皮质（anterior cingulate cortex, ACC）、海马（hippocampus）、下丘脑（hypothalamus）、前额叶皮质（prefrontal cortex, PFC）、杏仁核簇（amygdala, AMY）、岛叶（insular cortex, IC）等脑区[5-9]，发现这些脑区的神经元在慢性病理性痛条件下放电增强，并且参与了与痛刺激有关的行为学改变。我们研究组近年来在 ACC, AMY、IC 等部位，也开展了慢性痛所致负性情绪的产生与调控机制研究，并取得了可喜的成绩。因此，本项目将以 AMY 为中心，开展 AMY、ACC、IC 间形成的单向神经纤维联系和往返纤维形成的交互神经环路方面的研究。

（二）国内外同类产品和技术情况

1. 杏仁核簇、前扣带回皮质和岛叶参与慢性痛的形成和调控

1) 杏仁核簇（amygdala, AMY）

AMY 是大多数哺乳动物共有的结构，也是边缘系统的一个重要核团，包含大小不同的十多个核团，功能复杂，与内分泌和自主神经活动的调节有密切关系，参与恐惧相关记忆的形成，情绪的调控和行为的引发等。影像学、分子生物学、药理学等多方面的研究均已证实 AMY 参与疼痛感知及镇痛过程。损毁 AMY 虽然不影响基础痛阈，但可以减弱对于疼痛刺激的情绪反应[10]，如减弱足底注射福尔马林及腹腔注射乙酸所诱导的条件性位置回避，而不改变两者所引起的抬脚、舔足或扭体等行为。某些难以忍受的癌性痛也可以通过损毁 AMY 而得到比较满意的治疗效果[11]。

Seal 等观察到 AMY 在应激镇痛时主要通过激活脑干的下行抗伤害系统发挥作用，损毁 AMY 可减弱应激的镇痛作用[12]。利用功能磁共振成像（fMRI）的方法观察到当给予被试者足够引起强烈情绪反应的痛刺激时，AMY 内的图像信号增强[13]。由于在 fMRI 实验中，AMY 在疼痛时的激活为双侧性，因此 Tamura 等认为 AMY 负责处理与疼痛的情感成分有关的信息[14]。向 AMY 中注射吗啡、 β -内啡肽，神经加压素、胆碱受体激动剂、5-HT 或大麻素受体激动剂等均可使动物对疼痛刺激的感受能力下降[15,16]。AMY 中含有大量 μ 阿片受体，尤其在基底外侧杏仁核、外侧杏仁核、内侧杏仁核和皮质杏仁核中密度最大，这些核团还有中度到强度的 δ 和 κ 受体结合力。中央杏仁核内只有很微弱的 μ 或 δ 受体结合力，但有

中等强度的 κ 受体结合力, 因此 AMY 与吗啡等阿片受体激动剂的镇痛作用密切相关。损毁双侧 AMY 可以减弱吗啡的镇痛作用[17,18]。向 AMY 中注射脑啡肽酶抑制剂能够延长热板实验的抬脚潜伏期, 而注射纳洛酮可减弱针刺或全身应用吗啡后的镇痛作用[19]。

2) 前扣带回皮质 (anterior cingulate cortex, ACC)

ACC 是扣带回位于胼胝体吻侧的部分, 属于边缘系统的一部分。ACC 内的神经元可以对外周的痛刺激做出反应。长期的痛刺激可以导致双侧的 ACC 神经元均表达与神经元活化状态有关的即刻早期原癌基因 *c-fos* 所表达的 Fos 蛋白 [20]。神经影像学 and 电生理学研究表明躯体刺激, 尤其是痛刺激可以激活人脑的 ACC 区域[21]。损毁 ACC 可以显著降低动物对痛刺激反应的敏感度, 而电或化学性刺激 ACC 则增强了动物对该痛刺激的反应, 并能产生厌恶以及恐惧记忆的行为学表现[22]。更为重要和直接的是, 在人类, 直接实行 ACC 切除术可以显著降低对疼痛产生的不愉快感觉[23]。以上实验结果表明, ACC 主要参与痛刺激导致的感觉异常以及情绪变化, 而较少参与编码痛刺激信息的定位功能。Kang 和同事使用光遗传学技术选择性调节 ACC 中的兴奋性神经元和抑制性中间神经元, 从而评估它们在条件性位置偏爱测试中的激励效果。研究发现, 锥体神经元诱导偏好 CPP 测试过程中的选择性抑制作用, 而活化的小清蛋白 (PV)-特定的神经元没有[24]。

3) 岛叶 (insular cortex, IC)

人的岛叶 (IC) 位于大脑外侧裂的深部, 该区域主要与外周和中枢的各种刺激产生的情绪反应相关, 尤其是负性情绪反应, 如抑郁、焦虑等。与 ACC 和 AMY 参与痛及其所引起的情绪反应所受到的广泛关注相比较, 关于岛叶 (IC) 与疼痛之间关系的研究仅在最近才在个别实验室刚刚开始。Coffeen 等观察到炎性痛刺激使多巴胺 (DA) 在 IC 内的释放减少, 并使兴奋性 D1 受体的 mRNA 表达减少, 而使抑制性 D2 受体的 mRNA 表达增加, 这些变化与动物的痛行为学表现一致。他们还分别在急性痛、炎性痛和神经病理性痛动物模型上观察到, 损毁单侧、对侧或双侧吻端无颗粒岛叶皮层 (rostral agranular insular cortex, RAIC), 对急性痛没有影响, 但却使炎性痛动物缩爪潜伏期的阈值升高, 神经病理性痛动物的机械性刺激阈值降低、自嗜伤侧肢体末端的行为较少, 上述反应与损伤侧别无关[25]。

Peltz 等用 fMRI 技术在志愿者观察到, 吻端岛叶皮层 (rostral IC) 主要与已知的与情感和认知有关的脑区形成功能联系, 而尾端岛叶皮层 (caudal IC) 则与已知的痛信息的感觉描述和躯体感觉刺激的感受区有密切关系[26]。Treede 等用影像和电生理结合的方法证明 IC 等区域形成感觉-边缘系投射通路, 该通路负责潜在组织损伤部位的识别和痛记忆[27]。

近两年, 加拿大卓敏实验室利用慢性痛模型小鼠研究了 IC 神经元兴奋性突触传递的可塑性变化。他们在外周神经损伤后的动物上观察到, IC 内由 AMPA 受体介导的兴奋性突触传递增强, 即呈现长时程增强 (LTP) [28]。在尾部切除大鼠, IC 内低频刺激诱发的长时程抑制 (LTD) 缺失[29]。

2. AMY、ACC 和 IC 在对恐惧和负性情绪的调控中发挥重要作用

1) AMY

以往的研究证明, AMY 是条件性恐惧记忆形成的关键核团, 将此核团功能失活后能够影恐惧性学习记忆的形成; 此外在深度抑郁、创伤后应激综合征等模型上也观察到 AMY 在其中发挥了重要作用[30]。在 AMY 众多的亚核中, 基底外侧杏仁核 (basolateral amygdala, BLA) 和中央杏仁核 (central nucleus of amygdala, CeA) 主要参与了慢性痛引起的负性情绪反应。其中 BLA 是 AMY 重要的传入核团 (input), 它能够接受来自于皮层及丘脑的信息传递, 将来自这些核团的各种信息整合后传至 CeA。而 CeA 则是 AMY 重要的传出核团 (output), 它们接受来自于皮层, 海马, AMY 其它亚核的传入纤维后, 其主要的皮质投射区包括内侧、外侧眶回、额叶的内侧和岛叶的无颗粒区、ACC 等。CeA 向下的传出纤维联系包括下丘脑、中脑、脑桥、延髓等部位内的一些核团 (如 PAG、网状结构等参与自主神经调控和下行性痛抑制系统的核团) 等发出投射。有趣的是, 近年来的研究发现, CeA 中的囊状部 (CeC) 还可以接受来自于外侧臂旁核或者脊髓背角 I 层的神经元的投射, 形成脊髓 (或三叉神经脊束核) -臂旁核-CeC 痛觉传导通路 (spino-parabrachil-amygdaloid pain pathway), 而我们所熟知的脊髓-丘脑-皮质通路上的痛觉传导信号也会通过 BLA 传导至 CeC, 这些通过多种途径传导的多种感觉信号汇聚在 CeC, 可能是痛刺激条件下恐惧和负性情绪反应产生以及多种感觉紊乱的神经解剖学基础[31, 32]。

CeC 内的神经元分为三类: 即伤害性刺激特异性神经元 (nociceptive specific neuron, NS), 该神经元正常条件下只对伤害性刺激起反应; 低阈值神经元 (low threshold neuron, LT), 该类神经元正常条件下既对伤害性刺激, 又对非伤害性刺激发生反应; 第三类为无反应神经元 (non-responsive neurons, noSOM)。关节痛模型上刺激来自于外侧臂旁核的纤维 (即 spino-parabrachial-amygdaloid pathway), 可记录到 CeC 内神经元发生可塑性变化, 与正常脑片相比, 放电明显增强; 同时刺激来自于 BLA 的纤维 (spino-thalamus-cortex pathway), 该核团内的神经元也出现可塑性变化。且无论刺激哪种来源的纤维, 三类神经元中只有 LT 神经元和 noSOM 神经元出现痛相关的突触可塑性变化, 而 NR 神经元并未发生改变[33-35]。mGluR1 和 mGluR5 受体的激动剂 DH2PG 及 mGluR5 受体激动剂 CHPG 可以加强正常动物

CeA 内神经元对伤害性刺激的反应, 在患有关节炎的情况下, DHPG 对疼痛反应的易化作用增强, 而 CHPG 对疼痛反应的易化作用不变。mGluR1 受体拮抗剂对正常动物 CeA 神经元对疼痛刺激的反应没有作用, 却可以抑制关节炎动物敏化的神经元的反应。因此, mGluR1 受体功能的改变参与了 CeA 神经元的中枢敏化过程。在关节炎动物模型中, 利用超声发生记录仪记录到慢性痛动物发出超声的频率和时程增强, 而啮齿类动物在情绪异常时易发出超声, 因而证明此时动物出现了负性情绪反应。但将 CeC 毁损后, 动物的超声发生基本消失, 由此证实 AMY 参与了慢性痛引发的恐惧和负性情绪的产生。

2) ACC

ACC 与 AMY 一样, 同属于边缘系统的一部分, 故而同时也参与了很多情绪反应的产生过程。根据 1967 年 Melzack 和 Casey 的理论, 疼痛信息的感知包括与疼痛信号辨识有关的脑区的功能, 也包括与疼痛辨识感受无关而与疼痛刺激所带来的厌恶、恐惧、焦虑、抑郁等负性情绪感知有关的功能[36]。

ACC 是对情绪刺激最主要的反应区域之一, ACC 的损伤或刺激均可产生复杂的情绪性行为[37-39]。早前的观点认为背侧 ACC (dACC) 和认知的过程及情绪控制有关, 而腹侧 ACC 区 (rACC) 主要处理情绪的信息以及产生情绪反应[38]。Etkin 等人认为 ACC 与焦虑、恐惧等负性情绪密切相关, 并且提出 dACC 负责评估情绪信息并且产生适当的反应, 而 rACC 主要与情绪反应的调节有关。一系列的研究表明 dACC 靠近胼胝体膝部水平的位置与负性情绪处理密切相关[40]。

有研究证明条件性恐惧可以增强 dACC 与 rACC 区域的神经活动, 对恐惧情景的观察也可以激活 dACC 与 rACC [41]。受试者观看恐惧图片能够导致 dACC 活动增强[42], 另一方面, 负性情绪引起的面部表情变化与 dACC 与 rACC 等脑区的活动相关联[43]。研究表明创伤后应激障碍 (PTSD) 可以导致 dACC 反应性增强, 推测其原因可能是由于 PTSD 增强了患者对恐惧学习有关情绪的反应[44]。急性焦虑症 (Panic disorder) 也可以使 rACC 和 dACC 活动增强, 脑容积测量结果显示, 患有急性焦虑症的病人其 dACC 和 rACC 体积减小, 而白质的完整性不变[45]。对急性焦虑症患者更深入的分子机制研究观察到, ACC 脑区的 GABA_A 受体减少, 并且发现急性焦虑症的严重程度与 GABA_A 受体水平成负相关[46]。此外, 在急性焦虑症患者, rACC 的乳酸和胆碱含量增加, 而 5-HT_{1A} 受体密度降低[47]。

临床上很多截肢患者会感觉到被截除的一侧肢体仍有疼痛, 即幻肢痛。该疼痛与患者本身的情绪反应紧密相连。大量研究基础表明, ACC 在幻肢痛的发生与发展过程中发挥了重要作用。幻肢痛时, 该核团内的结构及功能可塑性都发生了改变[48]。给予动物后肢高强度

电流刺激以激活 A δ 和 C 纤维，在 ACC 内置入记录电极可以记录到场兴奋性突触后电位（fEPSP）的反应。在外周组织炎性损伤或神经损伤的动物模型中，电刺激引发场电位反应的强度明显增大。有趣的是，动物的一侧后足中趾切除后，对侧后足电刺激在 ACC 内记录到的场电位反应也出现明显的增强现象，说明外伤导致 ACC 内神经环路呈现可塑性变化[49]。

神经解剖学研究的结果表明 ACC 可以接受来自内侧丘脑和 AMY 的纤维投射[50, 51]，而它本身也发出纤维投射到其他脑区，如扣带回的其他部位、IC、PFC、AMY、丘脑、海马等[52, 53]。这些结果可能都是 ACC 在慢性痛状态下引起恐惧和负性情绪反应的结构基础。

3) IC

超过 75% 的抑郁症患者有异常痛感受，反之，30~60% 的慢性痛患者出现了明显的抑郁症状[54]。近年来，根据神经影像学等数据所做的荟萃分析（meta-analyses）结果提示 IC 与抑郁症密切相关[55, 56]。尾侧背部 IC（caudal dorsal insular cortex）可能在慢性痛-抑郁症-慢性痛环路内发挥更重要的作用。然而，Stratmann 等报道重度抑郁症患者的吻侧 IC（rostral insular cortex），而非尾侧 IC（caudal insular cortex）出现明显的灰质萎缩现象[57]。

有报道指出吻侧和中尾侧 IC 在痛的预期焦虑（anticipatory anxiety）中可能发挥不同的作用，即吻侧 IC（rostral insular cortex）仅与刺激前焦虑的程度相关，而中尾侧 IC（mid-posterior insular cortex）还与疼痛强度相关[58]。

运用荧光素逆行追踪技术进行的研究显示 IC 神经元恒定地接受运动、躯体感觉和视觉皮质的投射；前额叶、听觉皮层向 IC 的投射为中等量；杏仁核簇向 IC 则有比较密集的同侧投射；但是这些投射缺乏明确的定位关系[59]。有人还用顺行标记的方法观察到岛叶向大脑皮层的广泛区域发出投射，皮层下结构接受 IC 传出投射的主要区域是基底神经节、屏状核、杏仁核簇等[60-62]。以上结果说明 IC 具有比较复杂的纤维联系，IC 不仅接受杏仁核簇的上传投射，而且向杏仁核簇发出投射，即在杏仁核簇与 IC 之间存在往返纤维联系[63]。

由于 IC 与 AMY 间存在密集的往返纤维联系[64]，疼痛刺激导致的恐惧记忆与 IC 也有部分报道，损毁尾侧 IC 可以影响小鼠的恐惧增强惊吓效应（fear-potentiated startle），提示 IC-AMY 通路可能参与条件性恐惧记忆 [65]，该效应可能与 IC 与 AMY 间的联系多位于 AMY 内主要参与恐惧记忆的 BLA 有密切关系[64]。

主要参考文献

- [1] Breivik H, Collett B, Ventafridda V, *et al.* Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain*, 2006, 10(4):287-333.
- [2] Cranford JA, Arnedt JT, Conroy DA, *et al.* Prevalence and correlates of sleep-related problems in adults receiving medical cannabis for chronic pain, 2017, 180:227-233.
- [3] McWilliams LA, Cox BJ, Enns MW. Mood and anxiety disorders associated with chronic pain: an examination in a nationally representative sample. *Pain*, 2003, 106(1-2):127-133.
- [4] Matsuzawa-Yanagida K NM, Nakajima M, Kuzumaki N, *et al.* Usefulness of antidepressants for improving the neuropathic pain-like state and pain-induced anxiety through actions at different brain sites. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33: 1952-1965.
- [5] Devinsky O, Morrell MJ and Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behavior. *Brain*, 1995, 118(Pt1): 279-306.
- [6] Price DD. Psychological mechanisms of pain and analgesia. IASP press, 1999.
- [7] Lin CS, Hsieh JC, Yeh TC, *et al.* Functional dissociation within insular cortex: the effect of pre-stimulus anxiety on pain. *Brain Res*, 2013, 1493: 40-47.
- [8] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, *et al.* Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 2009, 139(2): 267-284.
- [9] Lin Y, Bai Y, Liu P, *et al.* Alterations in regional homogeneity of resting-state cerebral activity in patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0184896.
- [10] Crown ED, King TE, Meagher MW, *et al.* Shock-induced hyperalgesia: III. Role of the bed nucleus of the stria terminalis and amygdaloid nuclei. *Behav Neurosci*, 2000, 114(3): 561-573.
- [11] Kupers, RC, Gybels JM and Gjedde A. Positron emission tomography study of a chronic pain patient successfully treated with somatosensory thalamic stimulation. *Pain*, 2000, 87(3): 295-302.
- [12] Seal, KH and Stein MB. Preventing the pain of PTSD. *Sci Transl Med*, 2013, 5(188): 188fs22.
- [13] Simons LE, Pielech M, Erpelding N, *et al.* The responsive amygdala: Treatment-induced alterations in functional connectivity in pediatric complex regional pain syndrome. *Pain*, 2014, 155(9): 1727-1742.
- [14] Tamura M, Moriguchi Y, Higuchi S, *et al.* Activity in the action observation network enhances emotion regulation during observation of risk-taking: an fMRI study. *Neurol Res*, 2013, 35(1): 22-28.
- [15] Chieng, B and Christie MJ. Chronic morphine treatment induces functional delta-opioid receptors in amygdala neurons that project to periaqueductal grey. *Neuropharmacology*, 2009, 57(4): 430-437.
- [16] Butler RK, Rea K, Lang Y, *et al.* Endocannabinoid-mediated enhancement of fear-conditioned analgesia in rats: opioid receptor dependency and molecular correlates. *Pain*, 2008, 140(3): 491-500.
- [17] Chu, SCP and Kieffer, BL. Delta opioid receptors in brain function and diseases. *Pharmacol Ther*, 2013, 140(1):112-120.
- [18] Klega A1, Eberle T, Buchholz HG, *et al.* Central opioidergic neurotransmission in complex regional pain syndrome. *Neurology*, 2010, 75(2):129-136.
- [19] Martin TJ, Buechler NL, Kim SA, *et al.* Involvement of the lateral amygdala in the antiallodynic and reinforcing effects of heroin in rats after peripheral nerve injury. *Anesthesiology*,

2011, 114(3): 633-642.

[20] Takeda R, Watanabe Y, Ikeda T, *et al.* Analgesic effect of milnacipran is associated with c-Fos expression in the anterior cingulate cortex in the rat neuropathic pain model. *Neurosci Res*, 2009, 64(4): 380-384.

[21] Seifert F, Schubert N, De Col R, *et al.* Brain activity during sympathetic response in anticipation and experience of pain. *Hum Brain Mapp*, 2013, 34(8): 1768-1782.

[22] Zhao MG, Toyoda H, Ko SW, *et al.* Deficits in trace fear memory and long-term potentiation in a mouse model for fragile X syndrome. *J Neurosci*, 2005, 25(32): 7385-7392.

[23] Tang J, Ko S, Ding HK, *et al.* Pavlovian fear memory induced by activation in the anterior cingulate cortex. *Mol Pain*, 2005, 1: 6.

[24] Kang SJ, Kim S, Lee J, *et al.* Inhibition of anterior cingulate cortex excitatory neuronal activity induces conditioned place preference in a mouse model of chronic inflammatory pain. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2017, 21(5):487-493.

[25] Coffeen U, Ortega-Legaspi JM, de Gortari P, *et al.* Inflammatory nociception diminishes dopamine release and increases dopamine D2 receptor mRNA in the rat's insular cortex. *Mol Pain*, 2010, 6: 75.

[26] Peltz E, Seifert F, DeCol R, *et al.* Functional connectivity of the human insular cortex during noxious and innocuous thermal stimulation. *Neuroimage*, 2011, 54(2): 1324-1335.

[27] Treede RD, Apkarian AV, Bromm B, *et al.* Cortical representation of pain: functional characterization of nociceptive areas near the lateral sulcus. *Pain*, 2000, 87(2): 113-119.

[28] Qiu S, Zhang M, Liu Y, *et al.* GluA1 phosphorylation contributes to postsynaptic amplification of neuropathic pain in the insular cortex. *J Neurosci*, 2014, 34(40):13505-13515.

[29] Liu MG and Zhuo M. Loss of long-term depression in the insular cortex after tail amputation in adult mice. *Mol Pain*, 2014, 10(1):1.

[30] Haythornthwaite JA, Sieber WJ, and Kerns RD. Depression and the chronic pain experience. *Pain*, 1996, 46:177-184.

[31] Wilson KG, Mikail SF, D'Eon JL, *et al.* Alternative diagnostic criteria for major depressive disorder in patients with chronic pain. *Pain*, 2001, 91: 227-234.

[32] Devinsky O, Morrell MJ and Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behavior. *Brain*, 1995, 118(Pt1): 279-306.

[33] Li W and Neugebauer V. Differential roles of mGluR1 and mGluR5 in brief and prolonged nociceptive processing in central amygdale neurons. *J Neurophysiol*, 2004, 91: 13-24.

[34] Bird GC, Lash LL, Han JS, *et al.* Protein kinase A-dependent enhanced NMDA receptor function in pain-related synaptic plasticity in rat amygdale neurons. *J Physiol*, 2005, 564: 907-921.

[35] Li W and Neugebauer V. Block of NMDA and non-NMDA receptor activation results in reduced background and evoked activity of central amygdale neurons in model of arthritic pain. *Pain*, 2004, 110: 112-122.

[36] Melzack R and Casey KL. Localized temperature changes evoked in the brain by somatic stimulation. *Exp Neurol*, 1967, 17(3):276-292.

[37] Etkin A, Egner T, Kalisch R. Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends Cogn Sci*, 2011, 15: 85-93.

[38] Bush G, Luu P, Posner MI. Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex. *Trends Cogn Sci*, 2000, 4: 215-222.

[39] Vogt BA, Finch DM, Olson CR. Functional heterogeneity in cingulate cortex: the anterior

- executive and posterior evaluative regions. *Cereb Cortex*, 1992, 2: 435-443.
- [40] Shackman AJ, Salomons TV, Slagter HA, *et al.* The integration of negative affect, pain and cognitive control in the cingulate cortex. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12: 154-167.
- [41] Olsson A, Nearing KI, Phelps EA. Learning fears by observing others: the neural systems of social fear transmission. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2007, 2: 3-11.
- [42] Phan KL, Liberzon I, Welsh RC, *et al.* Habituation of rostral anterior cingulate cortex to repeated emotionally salient pictures. *Neuropsychopharmacol*, 2003, 28: 1344-1350.
- [43] Sabatini E, Della PS, Franciotti R, *et al.* Brain structures activated by overt and covert emotional visual stimuli. *Brain Res Bull*, 2009, 79: 258-264.
- [44] Felmingham KL, Williams LM, Kemp AH, *et al.* Anterior cingulate activity to salient stimuli is modulated by autonomic arousal in posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Res*, 2009, 173: 59-62.
- [45] Asami T, Hayano F, Nakamura M, *et al.* Anterior cingulate cortex volume reduction in patients with panic disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2008, 62: 322-330.
- [46] Hasler G, Nugent AC, Carlson PJ, *et al.* Altered cerebral gamma-aminobutyric acid type A-benzodiazepine receptor binding in panic disorder determined by [¹¹C]flumazenil positron emission tomography. *Arch Gen Psychiatry*, 2008, 65(10):1166-1175.
- [47] Nash JR, Sargent PA, Rabiner EA, *et al.* Serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in people with panic disorder: positron emission tomography study. *Br J Psychiatry*, 2008, 193: 229-234.
- [48] Zhuo M. Cortical depression and potentiation: basic mechanisms for phantom pain. *Exp Neurobiol*, 2012, 21:129-135.
- [49] Li J, Wu M, Zhuo M, *et al.* Alteration of neuronal activity after digit amputation in rat anterior cingulate cortex. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2013, 5(1):43-51.
- [50] 高永静, 赵志奇, 张玉秋. 大鼠吻侧前扣带皮层的传入投射纤维联系—荧光金逆行追踪法研究. *神经解剖学杂志*, 2005, 21(4):355-359.
- [51] Berendse HW and Groenewegen HJ. Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience*, 1991, 42(1):73-102.
- [52] Gasquoine PG. Contributions of the insula to cognition and emotion. *Neuropsychol Rev*, 2014, 24(2):77-87.
- [53] Beam E, Appelbaum LG, Jack J, *et al.* Mapping the semantic structure of cognitive neuroscience. *J Cogn Neurosci*, 2014, 26(9):1949-1965.
- [54] Bair MJ, Robinson RL, Katon W, *et al.* Depression and pain comorbidity: a literature review. *Arch Intern Med*, 2003, 163(20): 2433-2445.
- [55] Mutschler I, Ball T, Wankerl J, *et al.* Pain and emotion in the insular cortex: evidence for functional reorganization in major depression. *Neurosci Lett*, 2012, 520(2): 204-209.
- [56] Delaveau P, Jabourian M, Lemogne C, *et al.* Brain effects of antidepressants in major depression: a meta-analysis of emotional processing studies. *J Affect Disord*, 2011, 130(1-2): 66-74.
- [57] Stratmann M, Konrad C, Kugel H, *et al.* Insular and hippocampal gray matter volume reductions in patients with major depressive disorder. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102692.
- [58] Lin CS, Hsieh JC, Yeh TC, *et al.* Functional dissociation within insular cortex: the effect of pre-stimulus anxiety on pain. *Brain Res*, 2013, 1493: 40-47.
- [59] Sloniewski P, Usunoff KG, Pilgrim C. Retrograde transport of fluorescent tracers reveals extensive ipsi- and contralateral claustricocortical connections in the rat. *J Comp Neurol*, 1986,

246: 467-477.

[60] Nakano K. Neural circuits and topographic organization of the basal ganglia and related regions. *Brain Dev*, 2000, 22: S5-16.

[61] Shibata H, Kondo S, Naito J. Organization of retrosplenial cortical projections to the anterior cingulate, motor, and prefrontal cortices in the rat. *Neurosci Res*, 2004, 49: 1-11.

[62] Vogt BA and Miller MW. Cortical connections between rat cingulate cortex and visual, motor, and postsubicular cortices. *J Comp Neurol*, 1983, 216:192-210.

[63] De Olmos JS, Beltramino CA, Alheid G. Amygdala and extended amygdala of the rat: A Cytoarchitectonical, fibroarchitectonical, and chemoarchitectonical survey. In: Paxinos G ed. 2004. *The Rat Nervous System*, 3rd edition; Amsterdam; 510-600.

[64] Jasmin L, Burkey AR, Granato A, *et al*. Rostral agranular insular cortex and pain areas of the central nervous system: a tract-tracing study in the rat. *J Comp Neurol*, 2004, 468(3): 425-440.

二、研究开发内容、方法、技术路线

(一) 具体研究开发内容和要重点解决的技术关键问题

具体研究开发内容

(1) 使用行为学方法, 观察慢性痛模型动物 AMY、ACC、IC 参与慢性痛及其所致负性情绪的产生和调控;

(2) 采用束路追踪结合光遗传学技术, 在 C57、Fos-GFP、CaMKII-cre 或 GAD67-cre 小鼠上观察慢性痛及对照组动物 AMY、ACC、IC 内环路的构建及慢性痛之后的改变;

(3) 运用束路追踪、光遗传学、脑片膜片钳记录、免疫电镜、冰冻蚀刻电镜、Western blot 等技术, 在 C57、Fos-GFP、CaMKII-cre 或 GAD67-cre 小鼠上观察慢性痛后 AMY、ACC、IC 内环路突触传递可塑性的机能和形态学改变;

(4) 运用定位注射、光遗传学、行为学等技术, 在 C57、CaMKII-cre 或 GAD67-cre 小鼠上观察 AMY、ACC、IC 内参与慢性痛及其负性情绪产生与调控的细胞内信号分子机制。

拟解决的关键科学问题

1. 如何确定神经环路内痛感受神经元?

我们以能特异性显示 Fos 能神经元的 Fos-GFP 小鼠作为工具, 将 Fos 蛋白表达作为神经元活动的指示分子, 很好地解决了选择性刺激或记录感受慢性痛信息的神经元 (Fos 阳性神经元) 这一难题。

2. 慢性痛状态下负性情绪神经环路发生怎样的可塑性改变?

运用束路追踪、膜片钳以及光遗传学技术, 观察慢性痛状态下 Fos-GFP 转基因小鼠 ACC, AMY 和 IC 内 Fos 阳性神经元、向其它脑区投射神经元的电生理特征及其突触传递可塑性的变化 (即长时程增强-LTP 或长时程抑制-LTD)。

综合运用神经形态学技术(如免疫电镜技术、电镜多重标记技术、冰冻蚀刻电镜技术等),观察各脑区内兴奋性神经元的突触数量,谷氨酸受体(NR2B 和 GluR1)密度、共存、移位等,为兴奋性突触传递可塑性改变提供形态学依据。

(二) 项目的特色和创新之处

1) **研究思路上的特色与创新:** 以慢性痛诱发的恐惧及其负性情绪为模型,围绕“阐明慢性痛所致恐惧和负性情绪的神经环路的结构与功能特点”这一目标,特别是将参与慢性痛所致负性情绪神经环路的重要脑区杏仁核、前扣带回皮质和岛叶作为一个相互关联的整体来研究,探讨三者之间的神经环路的结构和功能及其可塑性改变在慢性痛及其所致恐惧和负性情绪的产生与调控中作用,有望获得创新性的研究成果。

2) **研究方法上的特色与创新:** 在综合使用经典的神经形态学、行为学、电生理学、分子生物学等技术的基础上,利用多种转基因动物来特异性地标记和显示不同类型的神经细胞,利用先进的冰冻蚀刻标记和结构三维重塑技术来研究神经环路的结构可塑性,将光遗传学与电生理学和行为学相结合来研究慢性痛的躯体反应和情感反应及其变化规律,多种新技术的综合应用可极大地提高研究的效率和可靠性。

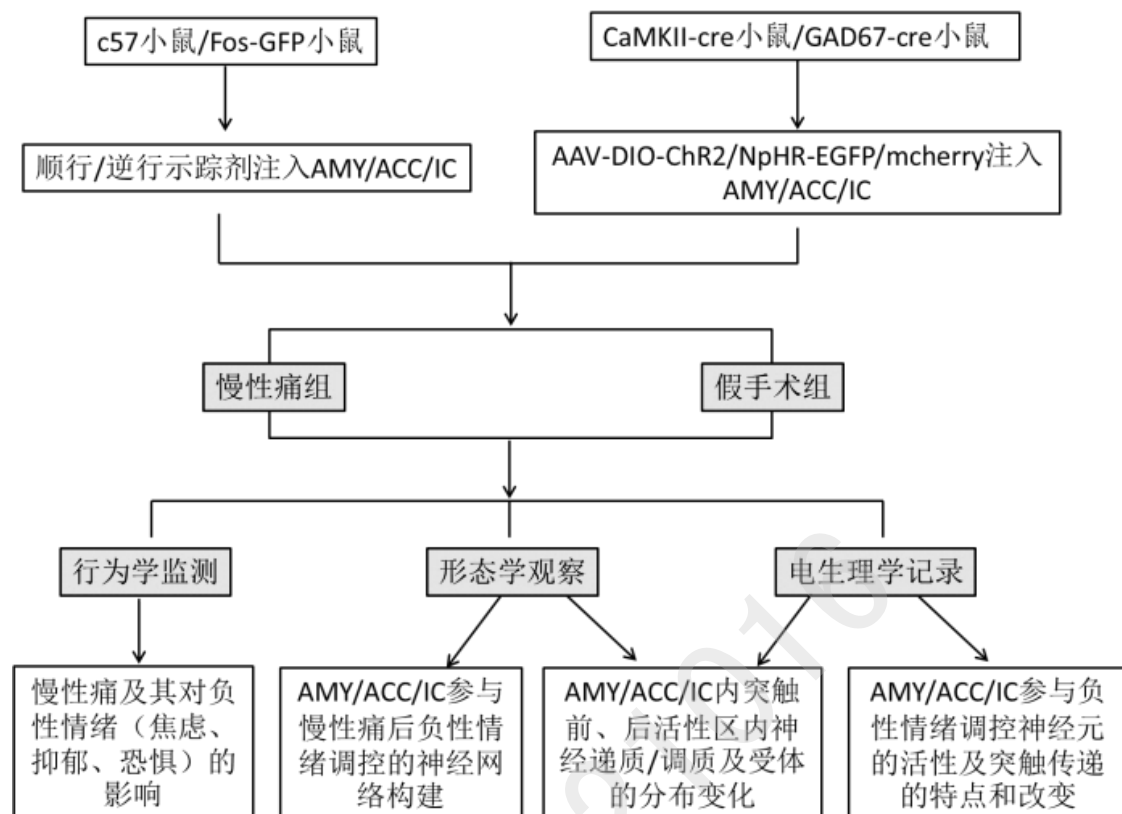
3) **研究内容上的特色与创新:** 在我们前期的研究工作中发现:(1) ACC 直接向脊髓背角投射,并对脊髓背角痛感受神经元的活动发挥增强效应;(2) AMY 内具有明确功能的不同亚核向 IC 和 ACC 的不同部位发出直接的传出投射,ACC 也向 IC 和 AMY 发出下行投射;

(3) ACC 内的 PKMzeta 参与慢性痛的记忆。本项目拟在上述新发现的基础上开展深入探索,研究内容的特色与创新明显,达到目的的可能性大。

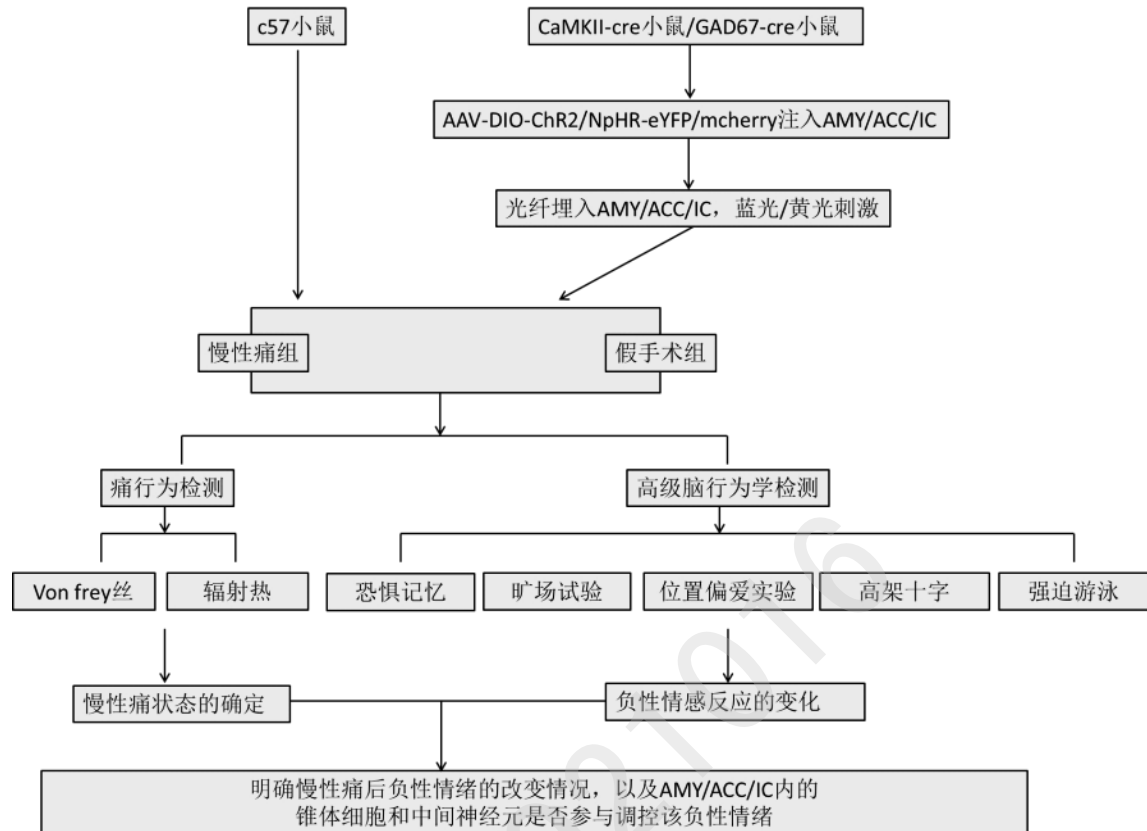
(三) 采用的方法、技术路线以及工艺流程、组织实施方案等

技术路线

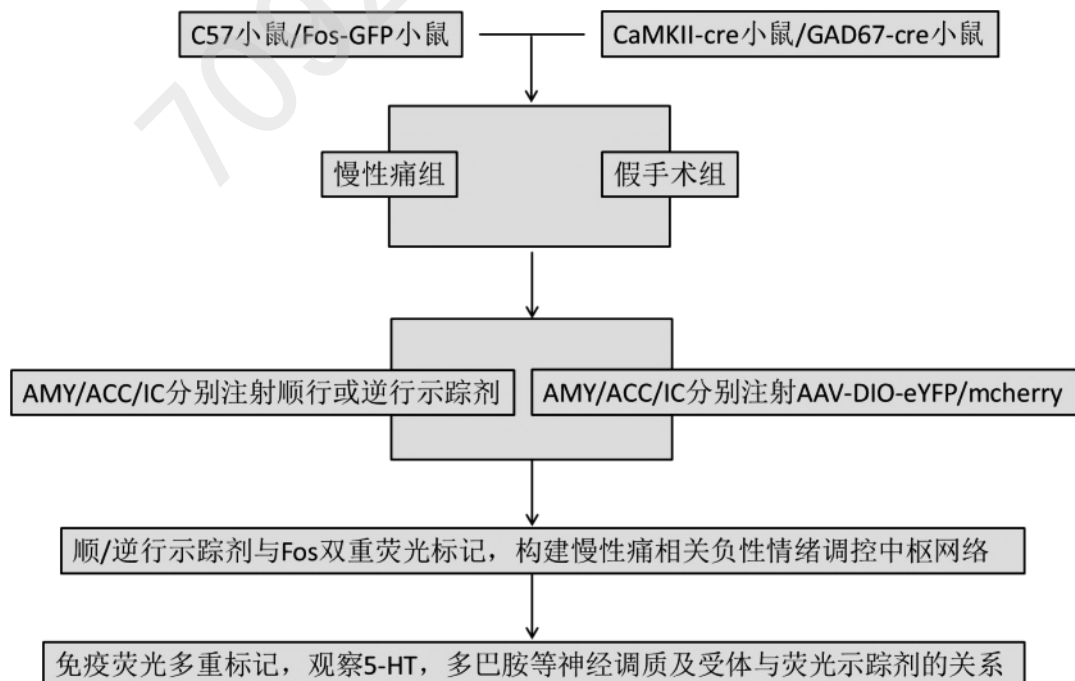
总体技术路线: 慢性痛所致负性情绪的神经环路构建和机能学研究



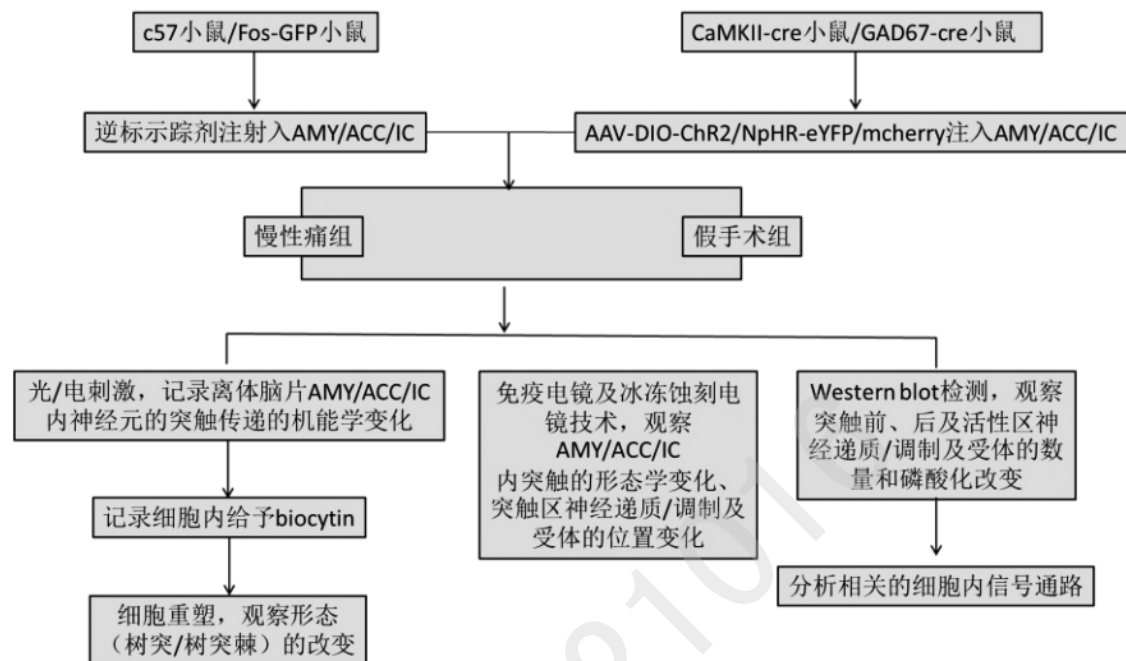
技术路线一：AMY/ACC/IC 参与慢性痛与负性情绪调控的行为学检测



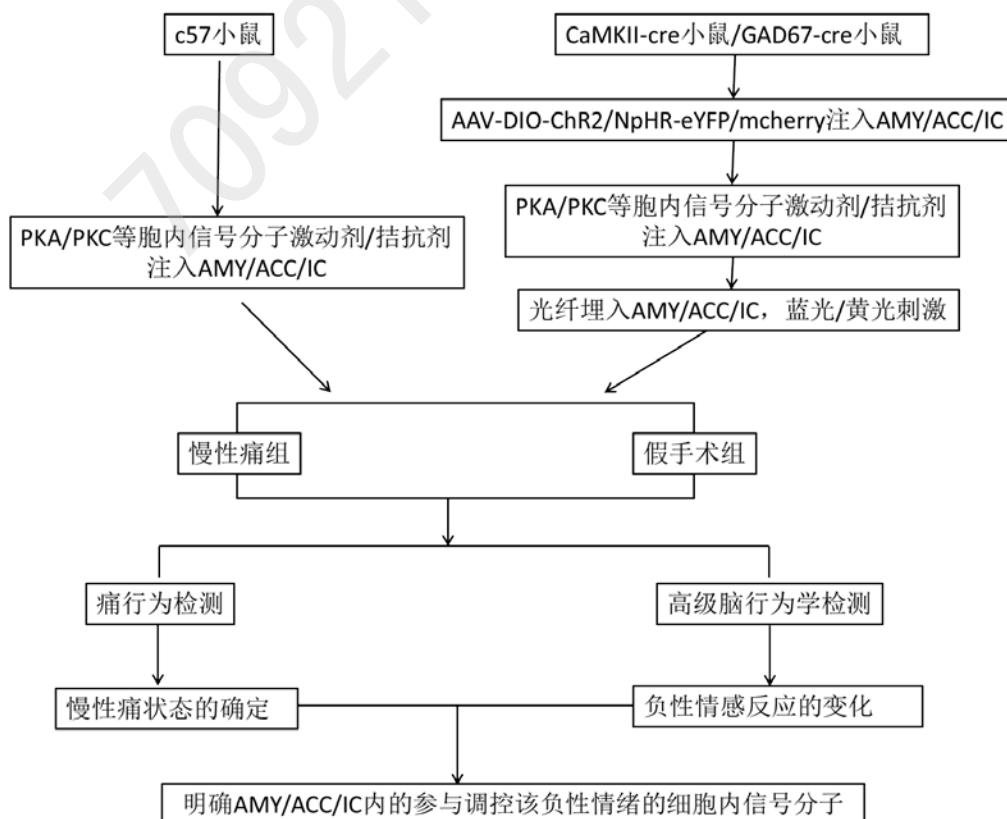
技术路线二：AMY/ACC/IC 内环路的构建和慢性痛之后的改变



技术路线三：慢性痛后 AMY/ACC/IC 内环路突触传递可塑性的机能和形态学改变



技术路线四：AMY/ACC/IC 内不同细胞内信号分子参与慢性痛与负性情绪调控的检测



实验方案

1. 光感蛋白载体病毒的制备和应用

(1) 腺相关病毒的制备

腺相关病毒质粒 pAAV-Ef1a-DIO-hChR2(E123T/T159C)-EYFP/mcherry, pAAV-Ef1a-DIO-eNpHR 3.0-EYFP/mcherry 由约翰·霍普金斯大学医学院麻醉与重症医学系陶峰博士提供。75 cm² 培养瓶中接种 HEK-293 细胞, 培养至细胞密度达 85%-90%, 采用磷酸钙共转染三种质粒, 即分别将上述质粒与包含 rep 和 cap 基因的 pXR5 质粒、pHelper 质粒转染 HEK-293 细胞, 转染 2-3 d 后, 收集细胞, 用 PBS 重悬, 反复冻融方法裂解细胞, CsCl 连续密度梯度离心 20 h, 小心分离出含病毒液体层, 加透析液透析去盐。测定病毒滴度达 10¹⁰⁻¹² pfU, 分装后储存于 -80℃ 备用。

(2) 细胞特异性标记和病毒注射

利用 CaMKII-cre 或者 GAD67-cre 小鼠, 注射入 AAV-Ef1a-DIO-hChR2/eNpHR 3.0-EYFP/mcherry 病毒后, 可以特异性的标记表达 CaMKII 的锥体细胞或者表达 GAD 的 GABA 能中间神经元在脑内的位置和投射区。具体步骤为: 小鼠用 3% 异氟烷麻醉后, 颅顶去毛, 固定于立体定位注射仪上, 剪开颅顶部皮肤, 暴露十字缝, 调整 AMY/ACC/IC 注射位点的三维参数, 用小动物颅骨钻钻孔, 微量注射器吸取病毒, 并将注射器针头调整至注射部位, 按照 0.1 μ l/min 速度注射病毒, 每个位点注射病毒 0.5 μ l, 注射完毕后留置 5 min, 移去微量注射器。对于需要行为学光刺激的动物, 在注射位点或逆行/顺行投射区埋置光纤探头, 用牙托粉固定探头并封闭切口, 动物苏醒后放回笼中正常饲养。

(3) 光刺激

在体动物, 病毒注射 2-3 w 后, 将激光发生器的光缆与小鼠颅顶光纤探头连接, 小鼠适应 30 min 后, 打开激光发生器, 给予蓝光 (472 nm) 表达敏感性阳离子通道 ChR2 的细胞, 或者黄光 (593 nm) 刺激表达敏感性氯离子通道 NpHR 的细胞。调整刺激频率 5-20 Hz, 刺激时间 30-60 min, 检测小鼠痛行为和情绪变化。

离体脑片, 病毒注射 2 w 后, 处死动物, 制备脑片, 在病毒的注射区或者投射区给予 5-20 Hz, 2-10 ms 的光脉冲刺激, 同时进行膜片钳记录。

2. 神经损伤后动物慢性痛和负性情感反应的行为学检测

小鼠分为神经损伤，完全弗氏佐剂（CFA）注射组与假手术组。术组小鼠行一侧腓总神经结扎或者 CFA 足底注射，建立神经病理性痛和炎性痛模型。手术前 3 d 每天让小鼠适应实验环境 30 min，实验前将小鼠置于金属笼中，在安静环境饲养。

（1）痛反应的行为学监测：

① 机械性痛敏（或触诱发痛）——*机械性缩足阈值（MWT）测定（von Frey filament 测痛法）*：待上述动物适应环境停止探究行为，处于安静状态后，用不同克重的 von Frey 丝（0.008 g, 0.02 g, 0.04 g, 0.07 g, 0.16 g, 0.4 g, 0.6 g, 1.0 g, 1.4 g 和 2.0 g,）刺激其足底正中足心部位，持续刺激 5 秒，小鼠出现抬足或舔足行为视为阳性反应，反之为阴性。若无缩足反应，则增大刺激，但每次刺激之间间隔时间最少 15 秒。找到 5 次刺激中引起最少 3 次抬足反应的尼龙丝，此尼龙丝的克重即为触痛阈值（克）。若超过 2.0 g 仍不能引起小鼠缩足反应，则不再增加刺激强度，测量并记录各组小鼠术前基础痛阈值，此时记为 0 d；术后在不同时间点（1 d, 3 d, 7 d, 14 d）重复测定小鼠痛阈值。组内动物每个时间点取平均值并作统计学分析，观察不同组小鼠，以及同组小鼠手术后不同时间点触痛阈值的变化。

② 热痛敏——*热刺激反射缩足潜伏期（TWL）测定（Hargreaves 热辐射测痛法）*：将假手术组与手术组小鼠置于玻璃板上，使用热辐射仪照射其后肢足底中部，记录从照射到出现缩足逃避反射的时间，即为热刺激反应潜伏期。在术前均先重复测量每组小鼠足底基础痛阈值，同一部位间隔 10 min，不同部位间隔 5 min，以使其痛觉恢复正常，组内动物每个时间点取平均值，作为热刺激反应潜伏期并作为定量指标。观察不同组小鼠，以及同组小鼠手术后不同时间点热痛阈值的变化。

（2）高级脑功能的行为学检测

① 恐惧记忆——*条件性恐惧记忆实验*：具体步骤为：恐惧记忆形成期——将假手术与手术组小鼠放入训练箱中，适应环境 5 min，之后配对给予条件性刺激（CS）和非条件性刺激（US），CS 为 80 db 的白噪声，持续 15 s。间隔 15 s 后给予小鼠足底 0.75 mA 的，0.5 s 的电刺激。一共给予 10 对 CS-US 配对刺激，彼此间隔 210 s。记录小鼠僵直不动的时间。恐惧记忆测试期——第二天将小鼠置于同样的训练箱中，但是箱壁的内饰发生改变。适应环境 5 min 后，给予 15 s, 80 db 的白噪声 CS 刺激，一共给予 10 个 CS 刺激，彼此间隔 210 s。记录小鼠僵直不动的时间。根据实验目的可进一步测试恐惧记忆的遗忘、再形成和巩固过程。恐惧记忆的遗忘期——测试期后 1、3 和/或 7 d 给予单纯 CS 刺激，记录小鼠僵直不动的时间。恐惧记忆的再形成和巩固期——遗忘期或测试期后 1、3 和/或 7 d 给予 CS-US 配对刺激，记录小鼠僵直不动的时间。

② 自发活动——旷场实验：将假手术与手术组小鼠置于旷场中央，旷场地面被分成若干网格，记录 5-15 min 内小鼠以下活动参数：水平运动距离、垂直移动距离、直立次数、梳理次数以及小鼠的典型行为（如舔、咬等）的次数。离线分析时，分别以旷场中央和周围来计算以上指标，动物在中央的活动次数反映了焦虑程度，即中央活动次数越多焦虑越少。

③ 焦虑抑郁行为——高架十字迷宫实验：将假手术与手术组小鼠置于高架十字迷宫中央平台，面向其中一个开放的臂。让小鼠自由探索四个臂共 5 min，记录小鼠第一次进入任何臂的潜伏期，以小鼠四肢都进入一个臂算做进入一次。每只小鼠只检测一次，如果在试验过程中小鼠跌落，则淘汰该数据。计算小鼠进入开臂次数和在开臂滞留时间分别占总次数（进入开臂和闭臂次数之和）和总时间（在开臂与闭臂滞留时间之和）的百分比，以此作为评价焦虑的指标。

④ 位置偏爱——条件性位置偏爱实验：具体步骤为：适应期——将假手术与手术组小鼠由起始过道放入实验装置中，让小鼠自由探索 CPP 箱 15-30 min，训练 1-2 d。基础检测期——正式开始实验之前，将小鼠放入 CPP 内，自由探索 15 min，测得小鼠的基础数据。将在适应期与基础检测期表现不符的小鼠淘汰。测试期——打开两箱之间的通道，将小鼠放入起始过道，让其自由探索 15 min，记录小鼠在两箱内停留的时间，并与基础值进行比较，手术组小鼠在两箱内停留时间的改变是由慢性痛导致的情绪反应所引起的。

⑤ 抑郁行为——强迫游泳实验：将小鼠放入高 20 cm，直径 14 cm 的圆柱形玻璃缸中，每缸 1 只，缸中水深按照实验要求分别采用 6、10、15 cm，水温 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。实验时，小鼠在缸中游泳 6 min，记录后 4 min 内小鼠的累计不动时间，即小鼠在水中停止挣扎、呈悬浮状态，或仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面的时间。

(3) 光敏蛋白刺激的行为学监测：

对于 CaMKII-cre 或者 GAD67-cre 小鼠，脑内注射光敏蛋白载体病毒 2-3 周，痛模型建立 1 w 后，在痛行为和脑高级功能检测前，通过脑内植入的光纤，给予蓝光或黄光刺激脑内病毒的注射区或者投射区。刺激完毕半小时后检测痛阈值和高级脑功能，观察 AMY/ACC/IC 刺激对于痛阈值和高级脑功能的影响。

3. AMY/ACC/IC 内环路的构建和慢性痛之后的改变

(1) AMY/ACC/IC 之间的网络联系特性

将手术组和假手术组的 C57/Fos-GFP 小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻钻孔，调整 AMY/ACC/IC 注射位点的三维参数，通过微量注射器将 0.1 μl 荧光标记的逆行或者顺行示踪剂 DiI、葡聚糖胺、TMR 等物质注入 AMY、ACC 或者 IC 内。注射完毕后留

置 10 min, 移去微量注射器。2-7 d 后动物用含 4%多聚甲醛的 0.1 M PB 灌注固定, 取脑, 将脑组织放入含 30%蔗糖的 0.1 M 的 PB 中(4℃)至沉底, 冷箱切片机切片 (20 μm)。之后进行脑片的 Fos 双重荧光染色, 观察注射区的情况, 示踪剂在脑内顺行和逆行标记情况以及与 Fos 阳性神经元的位置关系。明确 AMY/ACC/IC 相互之间的投射关系以及慢性痛之后不同神经通路的激活情况和相关的网络联系特性。

(2) 锥体细胞和中间神经元参与 AMY/ACC/IC 之间的网络联系特性的分析

将手术组和假手术组的 CaMKII-cre 和 GAD67-cre 小鼠固定于立体定位注射仪上, 用小动物颅骨钻钻孔, 通过微量注射器将 0.1 μl 的 AAV-Efla-DIO-EYFP/mcherry 注入 AMY、ACC 或者 IC 内。注射完毕后留置 10 min, 移去微量注射器。2-7 d 后动物用含 4%多聚甲醛的 0.1 M PB 灌注固定, 取脑, 切片 (20 μm)。之后进行脑片的 Fos 双重荧光染色, 观察注射区的情况, 示踪剂在脑内顺行和逆行标记情况以及与 Fos 阳性神经元的位置关系。明确 AMY/ACC/IC 内谷氨酸能的锥体细胞或者 GABA 能中间神经元是否彼此之间存在相互投射, 慢性痛之后锥体细胞或中间神经元是否参与不同神经通路的激活。

(3) 不同类型的神经调质参与 AMY/ACC/IC 之间的网络联系特性的分析

在上述研究的基础上, 行多重荧光标记染色, 进一步观察不同类型的神经调质 (5-HT, 多巴胺、阿片类物质) 或者受体与示踪剂或者病毒逆行或顺行标记的胞体和纤维之间的位置关系, 分析不同类型的调质参与调控 AMY/ACC/IC 之间的网络联系特性的可能性。

4. 慢性痛时 AMY/ACC/IC 内 Fos 阳性神经元、投射神经元的兴奋性突触传递可塑性、突触电流特性等电生理学特性

(1) 脑片标本制作:

在上述研究的基础上, 进一步观察 AMY/ACC/IC 内不同投射神经元参与网络联系调控的电生理学特性。

将逆行标记物 DiI 根据脑图谱定位注入将假手术与手术组小鼠小鼠的 AMY/ACC/IC 内。在全部 Fos-GFP 转基因小鼠使用 von Frey 丝刺激测定机械痛阈 45 min 后, 将正常组小鼠和测痛和情绪反应后的 Fos-GFP 转基因小鼠经异氟醚快速麻醉, 断头取脑。在振动切片机下将含目标核团的大脑皮质切成 300 μm 的切片, 制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液 (ACSF) 内孵育 1-1.5 h。在荧光显微镜和激光共聚焦显微镜下选定 Fos-GFP 阳性神经元和 DiI 标记神经元, 并行全细胞膜片钳记录神经元的电生理学特性、突触电流特性和兴奋性突触传递可塑性观察。

(2) 电压钳记录模式

① 突触前成分的分离和测定

A. 双脉冲释放率 (paired-pulse ratio, PPR)

ACSF灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μM), 细胞钳制在-70 mV, 记录AMPA受体介导的兴奋性突触后电流 (EPSC)。ACSF灌流液内给予AMPA/KA受体拮抗剂CNQX (25 μM) 和NMDA受体拮抗剂AP-5 (50 μM), 细胞钳制在0 mV, 记录GABA_A受体介导的抑制性突触后电流 (IPSC)。

给予重复电刺激突触前纤维两次, 记录刺激诱发的突触反应。双脉冲的间隔分别为35、50、75、100及150 ms, 依据公式: $PPR = \frac{\text{第2次刺激的幅值}}{\text{第1次刺激的幅值}}$, 计算不同间隔时间下PPR的值。再根据比值和时间绘制纵坐标为PPR比值, 横坐标为时间间隔的线图, 分析和比较各组间突触前递质释放率的变化。

B. 微小突触后电流 (miniature post-synaptic current, mPSC)

ACSF灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μM) 及tetrodotoxin (TTX), 电压钳制在-70 mV, 记录微小兴奋性突触后电流mEPSC。ACSF灌流液内给予AMPA/KA受体拮抗剂CNQX (25 μM), NMDA受体拮抗剂AP-5 (50 μM) 及tetrodotoxin (TTX), 细胞钳制在0 mV, 记录微小抑制性突触后电流mIPSC。

C. NMDA受体释放率的抑制效应

ACSF灌流液内给予AMPA/KA受体阻断剂CNQX (25 μM) 及GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μM), 电压钳制在-10 mV, 以低频0.1 Hz时给予细胞外刺激 (5-10 V; 200 μs) 并记录刺激电极诱发的刺激兴奋性突触后电流 (evoked excitatory post-synaptic current, eEPSCs)。再给予NMDA受体阻断剂MK-801 (35 μM), 记录频率、半波宽、上升时间、衰减时间和幅值, 分析其对于NMDA受体介导的EPSC的阻断效应。

② 突触后成分的分离和测定

A. 突触后AMPA电流

(a) ACSF灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μM) 及NMDA受体阻断剂AP-5 (50 μM), 电压钳制在-70 mV。经刺激电极分别给予不同强度的电刺激 (5-12 V, 步进1 V; 200 μs), 测定不同刺激强度下AMPA受体介导的电流的INPUT-OUTPUT曲线。

(b) ACSF灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μM) 以及NMDA受体阻断剂AP-5 (50 μM)。经刺激电极给予适当强度的电刺激 (电压钳制在-70 mV, EPSC达到100 pA左右), 神经元分别钳制在-70、-30、-10、0、+10、+30 mV。根据电流和电压值绘制不同钳制电压下AMPA受体介导的EPSC的电流-电压 (I-V) 曲线。

(c) AMPA 整流比率: ACSF 灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂 (100 μ M)和NMDA 受体阻断剂AP-5 (50 μ M), 使用含Cs的电极内液, 在-70 mV及+40 mV电压下钳制细胞, 然后分别记录不同钳制电压下的AMPA电流强度。最后用-70 mV的电流强度除以+40 mV时的电流强度。

(d) AMPA/NMDA比率: ACSF 灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂 (100 μ M), 使用含Cs的电极内液, 在-70 mV电压下记录AMPA电流, 再将钳制电压转到+50 mV, 给予AMPA受体阻断剂CNQX (25 μ M)并记录NMDA电流。 -70 mV电压下记录AMPA电流除以+50 mV 电压记录下的NMDA电流。

B. 突触后NMDA电流

(a) ACSF灌流液内给予AMPA/KA受体阻断剂CNQX (25 μ M) 及GABA_A受体拮抗剂 picrotoxin (100 μ M), 电压钳制在-10 mV。经刺激电极分别给予不同强度的电刺激 (5-12 V, 步进1 V; 200 μ s), 测定不同刺激强度下NMDA 受体介导的eEPSC的频率、半波宽、上升时间、衰减时间和幅值。

(b) ACSF灌流液内给予AMPA/KA受体阻断剂CNQX (25 μ M) 及GABA_A受体拮抗剂 picrotoxin (100 μ M)。经刺激电极给予适当强度的电刺激 (电压钳制在-10 mV, EPSC 达到 50 pA 左右)。电压分别钳制在-70、-30、-10、0、+10、+30、+50 mV。根据电流和电压值绘制不同钳制电压下NMDA受体介导的EPSC的电流-电压 (I-V) 曲线。

(c) NR2A、NR2B成分, 记录到NMDA电流之后, 给予NR2B拮抗剂Ro25-6981 (3 μ M), 剩下的就是NR2A的电流。最后计算NR2A/NMDA以及NR2B/NMDA的比率, 比较正常动物和慢性痛动物的比率的差别。

C. 突触后GABA_A电流

(a) ACSF灌流液内给予AMPA/KA受体阻断剂CNQX (25 μ M) 及和NMDA受体拮抗剂 AP-5 (50 μ M), 电压钳制在0 mV。经刺激电极分别给予不同强度的电刺激 (5-12 V, 步进1 V; 200 μ s), 测定不同刺激强度下GABA_A 受体介导的eIPSC的INPUT-OUTPUT曲线, 频率、半波宽、上升时间、衰减时间和幅值等。

③ 兴奋性突触传递可塑性的检测

A. 突触的长时程增强 (long-term potentiation, LTP)

ACSF 灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μ M)。电压钳制在-70 mV。经刺激电极给予适当强度的电刺激 (电压钳制在-70 mV, EPSC 达到100 pA 左右), 记录基础受体介导的EPSC放电10 min后给予LTP的诱导刺激。诱导后再次记录AMPA 受体介导的EPSC

及EPSC 30 min。

LTP 诱导刺激模式: TBS (Theta-burst刺激, 经刺激电极给予5组100 Hz刺激, 共计4 组); pairing-training (经刺激电极给予80个2 Hz刺激, 同时将电压钳制在+30 mV); EPSP-AP (配对给予电刺激和突触后放电)。

B. 突触的长时程抑制 (long-term depression, LTD)

ACSF 灌流液内给予GABA_A受体拮抗剂picrotoxin (100 μM), 电压钳制在-70 mV。经刺激电极给予适当强度的电刺激 (电压钳制在-70 mV, EPSC 达到100 pA 左右), 记录基础AMPA 受体介导的EPSC, 放电10 min后给予LTD的诱导刺激 (300 个1 Hz 刺激, 同时将电压钳制在-45 mV), 诱导后再次记录AMPA 受体介导的EPSC 30 min。

(3) 细胞内信号分子参与功能调控的测定:

在上述功能记录的基础上, 分别在ACSF内或者记录电极内给予磷酸激酶A, C (PKA、PKC)、酪氨酸受体激酶 (TrK) 相关的细胞内信号分子的拮抗剂和激动剂, 观察对于EPSC和IPSC的影响, 从而明确不同的细胞内信号通路介导慢性痛和负性情绪调控的机制。

(4) 结合光感蛋白刺激的电生理学特性测定:

手术组或假手术组CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠, 注射入AAV-Ef1a-DIO-hChR2/eNpHR 3.0-EYFP/mcherry病毒2-3周后, 按照前述方法制作离体脑片, 钳制病毒注射区或者标记区YFP/mcherry荧光标记的锥体细胞或者中间神经元。通过激光发射器给予蓝光 (472 nm) 表达敏感性阳离子通道ChR2的细胞, 或者黄光 (593 nm) 刺激表达敏感性氯离子通道NpHR的细胞, 记录光刺激直接引起的谷氨酸能兴奋性电流或GABA能抑制性电流的情况, 以及中间神经元活性对于兴奋性电流的介导和影响。对于LTP的检测, 主要使用pairing-training的模式, 以保证光刺激的可靠性; 对于LTD的检测, 与上述相同。

(5) 结果分析:

① 根据公式变异系数 (coefficient of variation, CV) 的平方 = σ^2 / M^2 , σ^2 : EPSCs幅值均数的方差, M: 幅值的均数, 再依据 $\frac{CV_{30}^{-2}}{CV_1^{-2}}$ 为纵坐标, EPSC₁/EPSC₃₀的值为横坐标绘图,

确定EPSC, IPSC幅值的变化究竟是突触前还是突触后效应。

② 根据双脉冲释放率与mEPSC及mIPSC的幅值、频率的改变, 判断及分析突触前机制。

③ 依据mEPSC和mIPSC的上升时间、衰减时间、幅值, 分析三者是否相关, 确定突触电位的变化是否与突触囊泡释放的动力学或树突滤除有关。

④ 根据幅值、电压值、电流值, 绘制电流-电压关系曲线 (I-V曲线) 图和以电流方差为

纵坐标, 电流幅值为横坐标的抛物线图, 通过直线回归计算出钠电流的翻转电位(V_{rev}) 及使用峰值非稳态波动分析方法, 根据公式 $\sigma^2 = iI - I^2 / N_p + \sigma_b^2$ 及 $\gamma = i / (V_h - V_{rev})$ 计算单位电导 (γ) 和活化通道的数量 (N_p), σ^2 为方差, I 为平均电流, σ_b^2 为背景噪声的方差, V_h 为钳制电压, 再依据 γ 和 N_p 值分别与时间作图, 分析突触后AMPA、NMDA、GABA_A受体是否发生变化, 并且这种变化归因于功能性数量的变化还是单位电导的增强。

⑤ 根据LTP/LTD诱导后的AMPA电流强度与诱导前的基础AMPA强度的比值, 绘制相对强度-时间曲线图。同时计算 (诱导后20-30 min内的AMPA电流强度) / (诱导前10 min的基础AMPA电流强度) 的比值, 分析LTP与LTD的变化。

⑥ 通过统计学分析, 比较各组之间Fos-GFP 阳性神经元、DiI、YFP/mcherry标记神经元的神经元内在特性, 突触前、后电流特性以及突触可塑性的变化。

5. 慢性痛对 AMY/ACC/IC 内神经元受体分布、共存、移位的形态学特性

(1) 神经元的二维或三维重塑

上述膜片钳记录过程中, 记录电极内液内加入 0.5% Biocytin, 记录观察结束后, 在电流钳模式下, 再给予 15 min 的 1 Hz 阈下正向电流进一步将 Biocytin 泳入细胞内, 记录完毕, 缓慢撤离记录电极, 然后将脑片置入含 4%多聚甲醛、1.25%戊二醛和 15%苦味酸的 PBS 内固定过夜, 之后分别使用 ABC 法的二甲基联苯胺 (DAB) 或者荧光素染色 biocytin 标记的神经元及突起。之后在明场或者共聚焦显微镜下观察标记神经元的形态学特征, 尤其是树突分支, 树突棘的形态, 大小和密度在慢性痛之后的变化。

(2) 慢性痛时 AMY/ACC/IC 内 Fos 阳性及投射神经元的超微结构及受体的变化

上述 biocytin 标记的神经元, 固定后, 兔抗 AMPAR、NMDAR、GABAR 孵育。最后用 ABC 法的 DAB 反应产物标记 Biocytin, 纳米金颗粒标记的羊抗兔 IgG 抗体标记 AMPAR、NMDAR、GABAR。经过树脂平板包埋、超薄切片、含铅铀的染液行双重电子染色, 再在电镜下观察 biocytin 标记的神经元的突触前、后致密电子物质的长度、厚度的变化以及 AMPAR、NMDAR、GABAR 不同亚型在突触前、后的分布情况及其与 PSD 的空间位置关系等。

经统计分析, 比较各组动物之间 biocytin 标记的神经元在 PSD 以及突触后 AMPAR、NMDAR、GABAR 分布位置等方面的异同, 重点观察受体分布位置的变化, 即受体的移位 (trafficking), 并观察受体的突触后成分的数目变化, 并观察是否存在磷酸化的改变。

(3) 慢性痛时 AMY/ACC/IC 内 Fos 阳性及投射神经元受体表达量、移位及磷酸化改变

① 痛模型条件下 AMY/ACC/IC 内 AMPAR、NMDAR、GABAR 的表达总量

手术组和假手术组动物，测定痛反应及情绪反应后 2 h，断头处死，低温下取出小鼠的 AMY/ACC/IC，用 4℃ 的 0.01M PBS 清洗两次后，加入裂解液和蛋白酶抑制剂（99:1）冰上匀浆裂解 30 min 后，12000r/s，4℃ 离心 10 min，吸取上清液，与上样缓冲液混合煮沸 10 min，进行 7.5%SDS-PAGE 电泳，转至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜用 5%脱脂牛奶封闭 2 h，加入小鼠抗 AMPAR、NMDAR、GABAR 一抗，室温孵育 1 h 或 4℃ 过夜，再加入抗小鼠 HRP 的二抗，室温孵育 1 h，ECL 发光试剂检测，从蛋白质水平分析 AMPAR、NMDAR、GABAR 的表达情况。

② 痛模型条件下 AMY/ACC/IC 内膜表面结合的 AMPAR、NMDAR、GABAR 的含量

手术组和假手术组动物，测定痛反应及情绪反应后 2 h，后断头处死，低温下取出小鼠的 AMY/ACC/IC，用 4℃ 的 0.01M PBS 清洗两次后，加入 10 mmol/L NaHCO₃ 缓冲液，匀浆 10-15 min，7000×g 离心 20 min，弃去上清。沉淀加入 10 mmol/L Tris-HCL，200×g 离心 20 min。取上清加入缓冲液，55000×g 离心 1 h。取密度为 1.030 的沉淀加入缓冲液，170000×g 离心 1 h，然后用 BCA 法（Pierce 公司）进行蛋白定量，取 50 μg 处理好的蛋白样品行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析，转至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜用 5%脱脂牛奶封闭 2 h，加入小鼠抗 AMPAR、NMDAR、GABAR 抗，室温孵育 1 h 或 4℃ 过夜，再加入抗小鼠 HRP 二抗，室温孵育 1 h，ECL 发光试剂检测，分析突触后 AMPAR、NMDAR、GABAR 的改变。

三、项目考核指标

（一）预期成果（要达到的主要技术、经济及社会效益指标）

- （1）揭示 ACC、AMY、IC 间形成的单向神经纤维联系和往返纤维形成的交互神经环路。
- （2）阐明慢性痛状态下 ACC、AMY、IC 所形成的恐惧及其负性情绪相关神经环路的形态和机能上的可塑性变化。
- （3）揭示上述神经环路可塑性变化的递质、受体和细胞内信号转导机制，筛选 1~2 种疼痛及负性情绪治疗的药物靶分子。

- （4）在国际知名度较高的专业学术期刊发表论文 1~5 篇，培养硕士生 2 名。

（二）具体考核指标

在国际知名度较高的专业学术期刊发表论文 1~5 篇，培养硕士生 2 名。

（三）分年度实施考核指标

2018：做实验

2019：写文章和投稿

2020: 文章见刊

四、工作基础和条件和实施地点

(一) 承担单位概况 (人员、资产、业务与管理状况等)

海南医学院办学近 70 年来,已形成硕士研究生学历教育、普通本科教育、留学生教育、成人教育、高等职业教育、联合培养博士生学历教育并举的办学格局。共向社会输送人才 4 万余人,其中有院士 1 名、省部级干部 2 名,毕业生遍布世界 10 余个国家和港澳台地区。海南省 22 家市县综合医院,70%以上医院的院长由海医毕业生担任,医疗科室的专业技术人员、全省基层卫生单位的学科带头人中毕业于海医的占 60%。海医毕业生已成为海南省医疗卫生队伍的主要力量。

校本部(城西校区)位于海口市学院路,占地面积 628 亩;图书馆馆舍面积 3.4 万 m²,文献资源总量 109 万册,建成主干双核心万兆环网,双通道连接中国教育与科研计算机网和中国网,实现全校区高带宽无线网覆盖的高效能校园网络。设有一级学科硕士学位授权点 3 个,涵盖二级学科 46 个;硕士专业学位授权专业 3 个,涵盖二级学科 46 个、博士后工作站 1 个、本科层次开设有医学、理学、管理学和工学 4 个学科门类 20 个专业。学校内设 15 个二级教学院系部,设有 4 所直属附属医院,教学(实习)基地 90 个。现有各类学生 20100 多人,其中全日制在校生 10984 人、留学生 344 人、硕士研究生 163 人、成人教育在籍学生 8300 余人。

校本部现有教职工 1006 人,其中具有高级职称者 395 人,专任教师 603 人,硕博士 491 人。国家“千人计划”专家 1 人,入选国家“百千万人才工程”国家级人选 3 人,国务院特聘专家 9 人,入选教育部“新世纪优秀人才支持计划”4 人,海南省高层次创新创业人才 2 人。聘请国内外院士和知名学者 80 余人任学校客座教授。

学校拥有国家临床重点建设专科 4 个、国家中医药管理局中医药重点学科 1 个、国家级教育培训基地 1 个、国家级考试考官培训基地 2 个、全国科普教育基地 1 个、国家级药物临床试验专科基地 7 个、国家药物临床前安全评价机构实验室 1 个、中国医学科学院联合实验室 1 个。拥有省级重点学科 8 个、省级重点实验室 6 个。近五年,教师在研项目 219 项,其中,国家自然科学基金 128 项“973”前期 1 项,科技部国际合作重点项目 1 项,科研经费 4100 万元。近五年获省级科研成果奖 32 个,发表论文 2800 余篇,其中,SCI 等三大检索源收录 312 篇。学校主办《海南医学院学报》、《亚太热带医药杂志》(英文版)和《亚太生殖杂志》(英文版)三本学术期刊。

学校拥有国家级特色专业 2 个、国家临床技能实验教学示范中心 1 个、国家教育信息

化试点本科院校项目 1 个、教育部专业综合改革试点项目 2 项、教育部与卫生部卓越医生教育培养计划 3 项、教育部与国家中医药管理局卓越医生（中医）教育培养计划 2 项、国家级大学生校外实践教育基地建设项目 1 个，国家精品视频公开课 1 门。连续 3 届获得省级教学成果一等奖。

（二）本项目现有的研究工作基础（包括项目组主要人员介绍及现有科研装备条件等）

（1）申请人所在教研室长期以来一直从事痛与镇痛信息在中枢内传递和调控机制的形态学和生理学研究，获得国家自然科学基金（Nos. 30370458, 30771133, 30971123, 31010103909），973 计划（G2006CB500808）和教育部长江学者创新团队计划（IRT0560）的资助。申请人的科研项目“延髓和脊髓背角内痛信息传递和调控机制的形态学和生理学研究”荣获中华医学科技一等奖，申请人又于 2009 年以第一获奖者的身份获得国家科技进步一等奖，获奖题目为“神经病理性痛模型的创建及其在镇痛机制和治疗研究中的应用”。本课题组近年来一直致力于利用形态学、行为学、电生理学等多种实验方法，在脊髓和大脑水平研究神经病理性痛的病理生理机制。近年的主要成绩如下：

① 成功地制备了 PPE-GFP 基因敲入小鼠，阐明了脑啡肽能神经元在脊髓背角浅层形成的局部环路在外周伤害性信息传递和调控中发挥着重要的作用（*J Neurochem*, 2010, 113: 1555-1564; *Neurochem Int*, 2011, 58: 44-51; *J Chem Neuroanat*, 2011, 41: 20-24）

② 已经系统阐明了内吗啡肽（EM）能神经纤维在痛信息传递和镇痛有关脑结构的纤维联系环路（*Neurosci Lett*, 2004, 357:139-42; *Int J Neurosci*, 2005,115: 1515-26; *Neuroscience*, 2006,138: 171-181; *J Comp Neurol*, 2008,509: 72-87）。

③ 研究了伤害性信息传递和调控过程的信号分子途径，发现了 5-HT 和 GABA 系统之间的相互作用，证实了介导 5-HT 增强 GABA 效应的受体类型和相关的信号分子的调控效应。（*Pain*, 2003, 106: 135-142; *J Chem Neuroanat*, 2008, 36: 150-159; *J Chem Neuroanat*, 2009, 38: 75-81）。

基于我们在脊髓背角痛觉调控局部环路的研究基础，*Prog Neurobiol* 杂志邀请我们撰写了题为“Nociceptive and antinociceptive intrinsic circuits in the superficial layers of the spinal dorsal horn”的综述文章，结合我们自己系统的研究结果对脊髓背角痛与镇痛环路的构成、神经化学和电生理学特点等进行了较全面的综述（图 9），为深刻理解脊髓背角局部环路在痛觉调控中的作用提供了详尽的资料，并充分展示了我们自身的研究成绩。

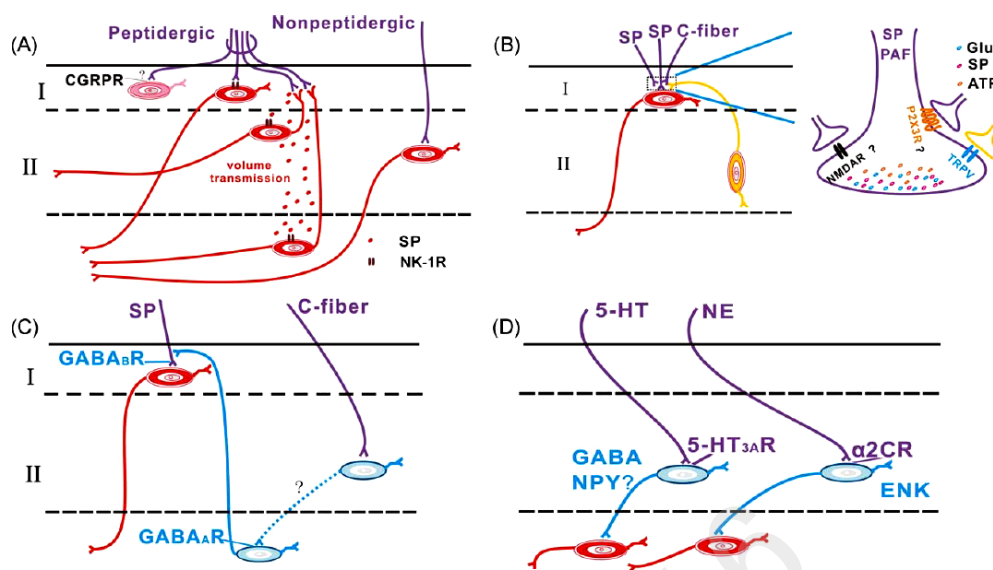


图9 脊髓背角存在的部分类型痛觉信息调控环路示意图 (Prog Neurobiol, 2010)

(2) 研究设备包括电子显微镜、激光共聚焦显微镜、光遗传实验系统、红外可视膜片钳系统、痛行为及高级脑功能检测系统、活细胞动态观察系统、单细胞PCR系统、荧光定量PCR仪等，设施齐备，技术成熟，可以满足本研究的需要。项目组成员多年来集中从事镇痛机制的神经学基础的探索，熟悉此领域的发展和动态，熟练地掌握了大部分现代神经科学研究的先进技术，目前还在不断地引进新技术。本校和本教研室拥有完成本项目所需的全部仪器和设备，可以满足本研究的需要。

(3) 项目负责人介绍

李云庆,海南医学院柔性引进人才,海南医学院第四军医大学神经科学联合实验室主任、教授、博士生导师。目前的研究方向主要为慢性痛的神经机制及干预策略研究。主要针对慢性痛这个在世界范围内备受关注的科学难题和社会问题,从其发生发展机制入手,发现关键的调控靶点和分子,探索有效的干预策略和治疗手段,取得了突出的成绩。从1989年至今,已发表SCI论文148篇。获国家科技进步一等奖和中华医学科技进步一等奖各1项、陕西省科技进步一等奖2项、军队科技进步二等奖4项。现任中国解剖学会副理事长兼神经解剖专业委员会主任委员、中国神经科学学会常务理事兼神经干细胞和组织工程分会主任委员、国际解剖学工作者协会联盟(IFAA)副主席、国务院学位委员会学科评议组委员、《神经解剖学杂志》主编等职务。1996年获得“国家杰出青年科学基金”资助,1997年享受政府特殊津贴,1998年被批准为国家“百千万人才工程”第一、二层次人选,1999年获中国科协“求是奖”,2000年被聘为“长江学者奖励计划”特聘教授,2010年被评为“全国优秀科技工作者”。在本项目中

负责项目的组织实施。

受教育经历:

1990 年—1993 年, 日本京都大学, 神经解剖学, 医学博士

1984 年—1990 年, 第四军医大学, 基础部人体解剖学, 神经解剖学, 硕博连读/博士

1979 年—1984 年, 第四军医大学, 临床医学, 本科 /学士

研究工作经历:

1996 年—至今, 日本京都大学, 高级脑形态学讲座, 访问学者、客座教授

1996 年—至今, 第四军医大学, 基础部人体解剖与组织胚胎学教研室, 主任、教授

1990 年—1994, 第四军医大学, 基础部人体解剖学教研室, 讲师、副教授、教授

主要期刊论文 (*示通讯作者):

1. Huo FQ, Chen T, Lu BC, Wang J, Zhang T, Qu CL, **Li YQ***, Tang JS*. Synaptic connections between GABAergic elements and serotonergic terminals or projecting neurons in the ventrolateral orbital cortex. **Cerebral Cortex**, 19: 1263-1272, 2009.
2. Wu SX, Wang W, Li H, Wang YY, Feng YP, **Li YQ***. The synaptic connectivity that underlies the noxious transmission and modulation within the superficial dorsal horn of the spinal cord. **Prog Neurobiol**, 91:38-54, 2010.
3. Chen T, Hui R, Wang XL, Zhang T, Dong YX, **Li YQ***. Origins of endomorphin-immuno- reactive fibers and terminals in different columns of the periaqueductal gray in the rat. **J Comp Neurol**, 509:72-87, 2008.
4. Hui R, Wang W, Chen T, Lü BC, Li H, Zhang T, Wu SX, **Li YQ***. Origins of endomorphin-2 immunopositive fibers and terminals in the spinal dorsal horn of the rat. **Neuroscience**, 162:422-430, 2010.
5. Huo FQ, Huang FS, Lv BC, Chen T, Feng J, Qu CL, Tang JS, **Li YQ***. Activation of serotonin 1A receptors in ventrolateral orbital cortex depresses persistent nociception: A presynaptic inhibition mechanism. **Neurochem Int**, 57: 749-755, 2010.
6. Mei XP, Wang W, Wang W, Zhu C, Chen L, Zhang L, Xu LX, Wu SX, **Li YQ***. Combining ketamine with astrocytic inhibitor as a potential analgesic strategy for neuropathic pain. Ketamine, astrocytic inhibitor and pain. **Mol Pain**, 6: 50-60, 2010.
7. Mei XP, Zhang H, Wang W, Wei YY, Zhai MZ, Wang W, Xu LX, **Li YQ***. Inhibition of spinal astrocytic c-Jun N-terminal kinase (JNK) activation correlates with the

- analgesic effects of ketamine in neuropathic pain. **J Neuroinflamm**, 8: 6-14, 2011.
8. Wang W, Mei XP, Wei YY, Zhang MM, Zhang T, Wang W, Xu LX, Wu SX, **Li YQ***. Neuronal NR2B-containing NMDA receptor mediates spinal astrocytic c-Jun N-terminal kinase activation in a rat model of neuropathic pain. **Brain Behav Immun**, 25: 1355-1366, 2011.
 9. Chen T, Wang XL, Qu J, Wang W, Zhang T, Yanagawa Y, Wu SX, **Li YQ***. Neurokinin-1 receptor-expressing neurons that contain serotonin and gamma-aminobutyric acid in the rat rostroventromedial medulla are involved in pain processing. **J Pain**, 14: 778-792, 2013.
 10. Kou ZZ, Qu J, Zhang DL, Li H, **Li YQ***. Noise-induced hearing loss is correlated with alterations in the expression of GABA_B receptor and PKC gamma in the murine cochlear nuclear complex. **Front Neuroanat**, 7: 25, 2013.
 11. Chen L, Zhu L, Wang K, Wang W, Mei XP, Liu T, Zhang FX, Wang W, Chen T, **Li YQ***. Antinociceptive effect of prostatic acid phosphatase in a rat model of cancer-induced bone pain. **Pain Physician**, 16: 533-546, 2013.
 12. Huang J, Chen J, Wang W, Wei YY, Cai GH, Tamamaki N, **Li YQ***, Wu SX*. Birthdate study of GABAergic neurons in the lumbar spinal cord of the glutamic acid decarboxylase 67-green fluorescent protein knock-in mouse. **Front Neuroanat**, 7: 42, 2013.
 13. Chen J, Huang J, Wei YY, Sun XX, Wang W, Bai L, Wang YY, Kaneko T, **Li YQ***, **Wu SX***. Birth-date dependent arrangement of spinal enkephalinergic neurons: Evidence from the preproenkephalin-green fluorescent protein transgenic mice. **Neuroscience**, 260: 47-58, 2014.
 14. Wang W, Nakadate K, Masugi-Tokita M, Shutoh F, Aziz W, Tarusawa E, Lorincz A, Molnár E, **Li YQ**, Fukazawa Y, Nagao S, Shigemoto R. Distinct cerebellar engrams in short-term and long-term motor learning. **PNAS**, 111: E188-93, 2014.
 15. Chen T, Lu JS, Song Q, Liu MG, Koga K, Descalzi D, **Li YQ***, Zhuo M*. Pharmacological rescue of cortical synaptic and network potentiation in a mouse model for fragile X syndrome. **Neuropsychopharmacology**, 39:1955-1967, 2014.
 16. Qi J, Lu YC, Zhang T, Wang W, Dong YL, **Li YQ***. Activation of extracellular

- signal-regulated kinase1/2 in the medial prefrontal cortex contributes to stress-induced hyperalgesia. **Mol Neurobiol**, 2014, May 6. [Epub ahead of print] PMID: 24799176
17. Chen T, Koga K, Descalzi G, Qiu S, Wang J, Zhang LS, Zhang ZJ, He XB, Qin X, Xu FQ, Hu J, Wei F, Huganir RL, **Li YQ***, Zhuo M*. Postsynaptic potentiation of corticospinal projecting neurons in the anterior cingulate cortex after nerve injury. **Mol Pain**, 10: 33,2014.
 18. Zhang MM, Liu SB, Chen T, Koga K, Zhang T, **Li YQ***, Zhuo M*. Effects of NB001 and gabapentin on irritable bowel syndrome-induced behavioral anxiety and spontaneous pain. **Mol Brain**, 7: 47, 2014.
 19. Zhao ZQ, Wan L, Liu XY, Huo FQ, Li H, Barry DM, Krieger S, Kim S, Liu ZC, Xu JB, Rogers BE, **Li YQ**, Chen ZF. Cross-inhibition of NMBR and GRPR signaling maintains normal histaminergic itch transmission. **J Neurosci**, 34:12402-12414, 2014.
 20. Zhao ZQ, Liu XY, Jeffry J, Karunarathne WKA, Li JL, Munanairi A, Zhang XY, Li H, Sun YG, Wan L, Wu ZY, Kim S, Huo FQ, Mo P, Barry DM, Zhang CK, Kim JY, Gautam N, Renner KJ, **Li YQ**, Chen ZF. Descending control of itch transmission by the serotonergic system via 5-HT1A-facilitated GRP-GRPR signaling. **Neuron**, 2014; 84(4):821-834.
 21. Wang J, Zhang H, Feng YP, Meng H, Wu LP, Wang W, Li H, Zhang T, Zhang JS, **Li YQ**. Morphological evidence for a neurotensinergic periaqueductal gray-rostral ventromedial medulla-spinal dorsal horn descending pathway in rat. **Frontiers in Neuroanatomy**, 2014; 8:112.
 22. Yin JB, Wu HH, Dong YL, Zhang T, Wang J, Zhang Y, Wei YY, Lu YC, Wu SX, Wang W, **Li YQ**. Neurochemical properties of BDNF-containing neurons projecting to rostral ventromedial medulla in the ventrolateral periaqueductal gray. **Frontiers in Neural Circuits**, 2014; 8: 137
 23. Chen L, Wang K, Yang T, Wang W, Mei XP, Zhu C, Wang W, Zhang FX, **Li YQ**. Downregulation of spinal endomorphin-2 correlates with mechanical allodynia in a rat model of tibia cancer. **Neuroscience**, 2015; 286(1): 151-161.
 24. Li JP, Wang XY, Gao CJ, Liao YH, Qu J, Ma JB, Zhang T, Wang GD, **Li YQ**. myenteric plexus of the rat colon. **Frontiers in Neuroanatomy**, 2014; 8: 142.

25. Feng YP, Wang J, Dong YL, Wang YY, **Li YQ**. The roles of neurotensin and its analogues in pain. **Current Pharmaceutical Design**, 2015, 21(7): 840-848.
26. Zuo ZF, Liao YH, Ding T, Dong YL, Qu J, Wang J, Wei YY, Lu YC, Liu XZ, **Li YQ**. Astrocytic NDRG2 is involved in glucocorticoids- mediated diabetic mechanical allodynia. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 2015; 108(1)128-136.
27. Zhao XH, Zhang T, **Li YQ**. The up-regulation of spinal Toll-like receptor 4 in rats with inflammatory pain induced by complete Freund's adjuvant. **Brain Research Bulletin**, 2015; 111(1): 97-103.
28. Zhao XH, Zhao YQ, Zhu C, Chen L, Hu W, Zhang T, Dong YL, Wu SX, Kaye AD, Wang W, **Li YQ**. Different analgesic effects of intrathecal endomorphin-2 on thermal hyperalgesia and inflammatory pain in ovariectomized rats. **Pain Physician**, 2015; 18(2): 195-205.
29. Chen T, Li J, Feng B, Hui R, Dong YL, Huo FQ, Zhang T, Yin JB, Du YQ, **Li YQ**. Mechanism underlying the analgesic effect exerted by endomorphin-1 in the rat ventrolateral periaqueductal gray. **Molecular Neurobiology**, 2016; 53(3): 2036–2053.
30. Chen YB, Huang FS, Fen B, Yin JB, Wang W, **Li YQ**. Inhibitory effects of endomorphin-2 on excitatory synaptic transmission and the neuronal excitability of sacral parasympathetic preganglionic neurons in young rats. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 2015; 9: 206.
31. Wang J, Feng DY, Li ZH, Feng B, Zhang H, Zhang T, Chen T, **Li YQ**. Activation of the mammalian target of rapamycin in the rostral ventromedial medulla contributes to the maintenance of nerve injury-induced neuropathic pain in rat. **Neural Plasticity**, 2015, Article ID 394820, 16 pages,
32. Wang J, Li ZH, Feng B, Zhang T, Zhang H, Li H, Chen T, Cui J*, Zang WD*, **Li YQ**. regulate orofacial pain after nerve injury via extracellular signal-regulated kinase activation in insular cortex neurons. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 2015, 9: 493.
33. Qi J, Li H, Zhao TB, Lu YC, Zhang T, Li JL, Dong YL, **Li YQ**. Inhibitory effect of endomorphin-2 binding to the μ -opioid receptor in the rat pre-Bötzinger complex on the breathing activity. **Molecular Neurobiology**, 2016, DOI 10.1007/s12035-015-9624-1

34. Liang SH, Yin JB, Sun Y, Bai Y, Zhou KX, Zhao WJ, Wang W, Dong YL, **Li YQ**. Collateral projections from the lateral parabrachial nucleus to the paraventricular thalamic nucleus and the central amygdaloid nucleus in the rat. **Neuroscience Letters**, 2016; 629: 245-250.
35. Kou ZZ, Wan FP, Bai Y, Li CY, Hu JC, Zhang GT, Zhang T, Chen T, Wang YY, Li H, **Li YQ**. Decreased endomorphin-2 and m-opioid receptor in the spinal cord are associated with painful diabetic neuropathy. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, 2016; 9: Article 80.
36. Wan FP, Bai Y, Kou ZZ, Zhang T, Li H, Wang YY, **Li YQ**. Endomorphin-2 inhibition of substance P signaling within lamina I of the spinal cord is impaired in diabetic neuropathic pain rats. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, 2017, 9: Article 167.

（三）本项目前期工作及进展情况

我们前期的研究工作中发现：① 前扣带回（ACC）直接向脊髓背角投射，并对脊髓背角痛感受神经元的活动发挥增强效应，从而为大脑皮层直接增强痛信息传递提供了可靠的实验依据；② 杏仁核簇（AMY）内具有明确功能的不同亚核向岛叶（IC）和 ACC 的不同部位发出直接的传出投射，ACC 也向 IC 和 AMY 发出下行投射（待发表资料）；③ ACC 内的 PKMzeta 参与慢性痛的记忆，在神经病理性痛的发生过程中发挥重要作用。这些结果为本课题的全面开展奠定了坚实的基础。

（四）本项目实施的具体地点和项目带动区域

具体地点：海南医学院

带动区域：以海南医学院第一附属医院、第二附属医院为中心，带动海口市，逐渐辐射海南省。

五、本项目各参加单位工作分工及经费投入、支出情况

分单位对支出预算按照资金开支范围确定的支出科目和不同资金来源分别编列，并对各项支出的主要用途和测算理由等进行详细说明。要求如下：

（一）直接费用

1. 设备费：列明品牌型号。请说明购置或试制单台价值 10 万元以上设备与研究任务的关系和必要性、现有同样设备的利用情况、设备用途、设备与现有设备的配套情况、设备使用率、设备拟安置单位、购置设备的开放共享方案、试制设备的方案和成本构成等等。另外，购置单价 10 万元以上的进口设备需提供三家以上产品报价单及其联系电话的详细资料；当单价 10 万元以下设备的购置或试制总量较大时，需提供说明。

为保障本课题研究工作的顺利实施，课题组需要添置多台小型仪器（单价均不超过 5

万元)。该科目支出用于支付在本课题研究过程中购置的专用仪器设备。计划购买以下仪器及配套设备:

名称	型号	产地	单价(元)	数量	金额(万元)	用途(与课题研究任务的关系)
pH 计	THERMO 0320A2	美国	18000	1	1.80	各项实验必备
多功能台式离心机	Eppendorf 5430	德国	12000	1	1.20	各项实验必需

2.材料费: 请说明购置的各种材料与研究任务的关系和必要性、所需数量的测算依据, 并详细列示各种材料的名称、购买单价、购买数量以及总金额。

- 光遗传实验相关耗材: 0.22 数值孔径石英纤芯, 玻璃覆层多模光纤, 500 米×40 元/米, 共计 2 万元; PFP 900um 光纤套管及光纤剥除工具, 共计 1.2 万元; FC/PC 和 SC/PC 接头抛光盘、氧化铝研磨(抛光)板, 共计 1 万元; PFP LC 1.25mm OD 多模式陶瓷光纤套头, 1000×7 元/个, 共计 0.7 万元; 其它配件, 共计 1.1 万元。以上合计: 6 万元。

- 分子生物学的相关试剂、试剂盒。RNA 提取试剂盒: 20 盒×0.2 万元/盒, 共计 4 万元;

3.测试化验加工费: 请说明预算的各种测试化验与加工项目与研究任务的相关性和必要性、测试化验加工次数的测算依据以及委托该单位的理由, 并提供三家以上报价单及其联系电话。

- ① 行为学测定费: 共需测定 800 小时, 100 元/小时, 共计 8.0 万元。
- ② 电子显微镜使用费: 共需使用 200 小时, 100 元/小时, 共计 2.0 万元。
- ③ 统计公司进行所有资料的统计分析 & 数据处理: 1.0 万元。
- ④ 三维图像重塑及分析费: 1.0 万元

4.燃料动力费: 请说明预算的各种燃料与研究任务的相关性和必要性、所需数量、单价的测算依据等。

无

5.差旅费/会议费/国际合作与交流费: 请说明预算的各项出差任务与研究任务的关系和必要性, 该三项经费预算之合不超过直接费用 10%的, 不需要提供预算依据; 超过直接费用 10%的, 请说明出差次数、出差标准、会议次数、会议标准, 并请说明预算的各项国际合作与交流与研究任务的关系和必要性, 并详细列示出访或邀请来华专家的国家或地区名称、机构名称、人数、天数、标准的预算依据。超过直接费用 10%, 不提供具体数量、标准、详细列示出访或邀请来华专家的国家或地区名称、机构名称、人数、天数、标准的, 该三项经费

预算之合按不超过直接费用 10%核定。

课题组成员参加国内学术会议（中国解剖学会年会、神经科学年会、生理学会年会等），费用包括往返交通费（平均约 1500 元/次）、会议注册费（平均约 1500 元，含会议材料费）、住宿费（平均约 1000 元），平均每人次参加国内学术会议费用 4000 元。课题组成员平均每年参加国内会议 5 人次，2 年共 10 人次，合计 $4000 \times 10 = 4$ 万元。

6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费：请说明预算科目各项开支与项目研究任务和产出成果的相关性、完成考核指标的必要性。

按照每篇文章版面费平均 1 万元计，发表 SCI 文章 3 篇，总计 3 万元。

7.劳务费：请说明各种聘用人员在任务研究中承担的任务，以及聘用人数、支付标准的预算依据。

直接参与项目研究的研究生劳务费用，共有 2 名研究生参加本课题，按照 2 年支付费用，每人每月平均支付 1000 元，共计支付： $1000 \text{ 元/月} \times 10 \text{ 个月} \times 2 \text{ 年} \times 2 \text{ 人} = 4$ 万元。

8.专家咨询费：请说明预算的咨询专家与研究任务的关系和必要性，以及咨询专家人数、支付标准的预算依据。

用于召开专家咨询会，邀请省外专家两名，预计机票 3000 元/人/往返，专家劳务费 1000 元/人，食宿及交通费 1000 元/人，合计 1 万元。

拟邀请省外专家通讯咨询指导项目实施和论文写作，第一天和第二天为 800 元/天，第三天开始为 400 元一天，合计 1 万元。

9.其他支出：请说明预算的其他支出的各项支出与研究任务的关系和必要性，并详细列示各项支出的具体用途及预算依据。

（二）间接费用：请说明预算的间接费用支出的各项支出与研究任务的关系和必要性，并详细列示各项支出的具体用途及预算依据。间接费用核定比例为不超过直接费用扣除设备购置费后的 20%。

单位管理费 2 万元。

六、效益及前景分析(包括经济效益、社会效益和市场前景等分析)

经济效益：慢性痛被喻为“不死的癌症”，这种疾病至少会持续疼痛一个月以上，如三叉神经痛、晚期癌痛、幻肢痛等，常给病人带来难以忍受的痛苦。该研究具有潜在的临床应用前景，如获得突破性进展将加速患者康复、缩短住院时间，既减轻了患者的经济压力，又加快了床位的周转，经济效益明显；

社会效益：通过上述研究，旨在阐明慢性痛所致的恐惧及其相关负性情绪形成及调控的

神经环路，了解其在慢性痛状态下的可塑性变化，筛选出对疼痛和恐惧及负性情绪有针对性治疗作用的药物靶分子，这些结果对于指导临床治疗，提高慢性痛患者的生活质量具有重要的意义，能够大大降低国家、社会和各个家庭的压力，社会效益显著；

市场前景：慢性痛治疗所推动的产业链具有相当可观的市场前景。

七、其他需要说明的事项

附件

申报编号： SQ2018SHFZ0249

海南省重点研发计划任务书

项目名称：	慢性痛所致恐惧及其负性情绪的神经环路构建和机能学研究				
研究方向：	社会发展				
项目编号：	ZDYF2018153				
承担单位：	海南医学院				
项目负责人：	李云庆	联系电话：	66893600	手机：	13709263970
项目联系人：	李云庆	联系电话：	66893600	手机：	13709263970
起止时间：	2018年01月—2019年12月				

海南省科学技术厅
二〇一八年

海南省科技计划项目任务书填报说明

一、项目承担单位和负责人收到海南省科技厅下达的海南省科技计划项目立项通知（以下简称《立项通知》）后，请认真阅读本填报说明和《海南省财政科技计划项目管理办法》、《海南省财政科技计划项目经费管理办法》和《海南省重点研发计划项目和经费管理办法》，按《立项通知》的要求认真填写《海南省科技项目任务书》（以下简称《任务书》）。

二、填写《任务书》时要科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。

（一）项目编号由系统自动生成。

（二）《任务书》中的项目组成员、研究内容、考核指标等内容按申请书填写。

（三）如果评审专家对项目研究方案提出修改意见，由科技厅相关处室负责与项目负责人沟通。如果需要调整的，项目负责人须在《任务书》中进行修改，提交省科技厅审核。

三、科技厅审核通过的《任务书》，通过系统生成PDF格式文件，由项目负责人和申报单位打印、签章后一式4份(科技厅存2份；依托单位存2份)于10个工作日内报送科技厅，科技厅签章后正式生效。

四、《任务书》经海南省科技厅审核批准后，将存档作为项目研究计划执行和检查、结题验收的依据。

一、项目基本情况表

项目名称	慢性痛所致恐惧及其负性情绪的神经环路构建和机能学研究
项目简介（简要介绍项目实施的主要内容和拟解决的主要技术问题等）：	
<p>慢性痛不仅影响人类健康和生活质量，而且常常导致恐惧等负性情绪反应，甚至自杀。以往的研究证明前扣带回皮质、杏仁核和岛叶参与慢性痛所致恐惧等负性情绪反应，但这三个部位形成的神经环路及其发挥作用具体机制尚不完全清楚。本项目拟以慢性痛所致恐惧相关脑区构成的神经环路为研究对象，研究慢性痛状态下该神经环路的结构和功能的可塑性变化，并阐明其细胞与分子机制，可以为慢性痛及其所致恐惧和负性情绪的治疗提供新的思路。</p>	

二、项目人员情况表

项目人员总数 (人)	7	其中	高级	中级	初级	其他		
			3	0	2	2		
项目组主要成员（包括项目负责人）：								
编号	姓名	年龄	学历	职务	职称	研究领域	所在单位	签字
1	李云庆	57	博士研究生	无	教授	情绪的神经机制	海南医学院	
2	杨娟	37	博士研究生	无	副教授	情绪心理学	海南医学院	
3	任瑞	27	硕士研究生	无	实验员	遗传学	海南医学院	
4	彭雅南	28	硕士研究生	无	实验员	神经解剖	海南医学院	
5	张全鹏	41	硕士研究生	无	副教授	分子生物学	海南医学院	
6	唐茜	26	本科生	学生	未取得	神经解剖	海南医学院	
7	崔天威	27	大专	学生	未取得	神经解剖	海南医学院	

三、项目承担单位简介

海南医学院文献资源总量 109 万册，实现全校区高带宽无线网覆盖的高效能校园网络。设有一级学科硕士学位授权点 3 个，涵盖二级学科 46 个；硕士专业学位授权专业 3 个，涵盖二级学科 46 个、博士后工作站 1 个。学校拥有国家级药物临床试验专科基地 7 个、国家药物临床前安全评价机构实验室 1 个、省级重点学科 8 个、省级重点实验室 6 个，具备开展课题的实验条件。

草稿

四、项目经费情况表

序号	预算科目名称	合计 (万元)	专项经费(万元)			自筹经费(万元)		
			合计	第一年 (2018)	第二年 (2019)	合计	第一年 (2018)	第二年 (2019)
1	一、经费来源	24.00	20.00	10.00	10.00	4.00	2.00	2.00
2	1. 申请专项经费	20.00	20.00	10.00	10.00	/	/	/
3	2. 自筹经费来源	4.00	/	/	/	4.00	2.00	2.00
4	二、经费支出	24.00	20.00	10.00	10.00	4.00	2.00	2.00
5	(一) 直接费用	23.60	19.60	9.60	10.00	4.00	2.00	2.00
6	1、设备费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7	(1) 购置设备费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	(2) 试制设备费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9	(3) 设备改造与租赁费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	2、材料费	10.00	8.00	4.00	4.00	2.00	1.00	1.00
11	3、测试化验加工费	2.00	2.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
12	4、燃料动力费	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
13	5、会议费/差旅费/国际合作与交流费	6.00	4.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.00
14	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.00	2.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
15	7、劳务费	2.00	2.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00
16	8、专家咨询费	1.60	1.60	0.60	1.00	0.00	0.00	0.00
17	9、其他支出	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18	(二) 间接费用	0.40	0.40	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00
19	其中：绩效支出	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

五、主要研究开发内容。包括：转化成果内容、项目技术水平、项目核心技术表现形式（技术或产品）、技术创新性及知识产权归属、应用领域、市场容量、经济效益等情况。

1、主要研究开发内容：

- （1）使用行为学方法，观察慢性痛模型动物AMY、ACC、IC参与慢性痛及其所致负性情绪的产生和调控；
- （2）采用束路追踪结合光遗传学技术，在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛及对照组动物AMY、ACC、IC内环路的构建及慢性痛之后的改变；
- （3）运用束路追踪、光遗传学、脑片膜片钳记录、免疫电镜、冰冻蚀刻电镜、Western blot等技术，在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛后AMY、ACC、IC内环路突触传递可塑性的机能和形态学改变；
- （4）运用定位注射、光遗传学、行为学等技术，在C57、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察AMY、ACC、IC内参与慢性痛及其负性情绪产生与调控的细胞内信号分子机制。

2、要达到的主要技术指标（将提供的研究开发成果及形式，获得知识产权情况等）：

- （1）揭示ACC、AMY、IC间形成的单向神经纤维联系和往返纤维形成的交互神经环路。
- （2）阐明慢性痛状态下ACC、AMY、IC所形成的恐惧及其负性情绪相关神经环路的形态和机能上的可塑性变化。
- （3）揭示上述神经环路可塑性变化的递质、受体和细胞内信号转导机制，筛选1~2种潜在的疼痛及负性情绪治疗药物靶分子。
- （4）在国际知名度较高的专业学术期刊发表论文1~5篇，培养硕士生1~2名。

3、经济效益指标（项目新增产值、利润、税收情况；项目应用所形成的市场规模、产业化规模情况等）：

本课题拟揭示慢性痛状态下ACC、AMY、IC所形成的恐惧及其负性情绪相关神经环路可塑性变化的递质、受体和细胞内信号转导机制，筛选1~2种疼痛及负性情绪治疗的药物靶分子，将治疗慢性痛提供新的候选药物，有望产生显著经济效益。

4、社会、生态、环境保护效益考核指标（项目示范推广情况，培养人员情况，对提高社会发展水平、合理利用自然资源、保护环境和生态以及节能等可能产生的影响等）：

目前，约20%的世界人口正在罹难慢性痛的折磨，严重危害了人类的身心健康和生活质量，给家庭和社会带来了沉重的负担。本课题可以为慢性痛及其所致恐惧和负性情绪的治疗提供新的思路，改善人类健康和生活质量，具有潜在的社会效益。

六、项目计划进度

起止时间	主要工作内容	阶段目标
2018-01-01 至 2018-12-31	使用行为学方法，观察慢性痛模型动物AMY、ACC、IC参与慢性痛及其所致负性情绪的产生和调控；采用束路追踪结合光遗传学技术，在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛及对照组动物AMY、ACC、IC内环路的构建及慢性痛之后的改变；收集部分数据以及阶段性报告。	揭示ACC、AMY、IC间形成的单向神经纤维联系和往返纤维形成的交互神经环路，发表相关论文1篇。
2019-01-01 至 2019-12-31	运用束路追踪、光遗传学、脑片膜片钳记录、免疫电镜、冰冻蚀刻电镜、Western blot等技术，在C57、Fos-GFP、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察慢性痛后AMY、ACC、IC内环路突触传递可塑性的机能和形态学改变；运用定位注射、光遗传学、行为学等技术，在C57、CaMKII-cre或GAD67-cre小鼠上观察AMY、ACC、IC内参与慢性痛及其负性情绪产生与调控的细胞内信号分子机制；收集整理数据及资料，进行统计分析，完成论文及并做结题报告。	阐明慢性痛状态下ACC、AMY、IC所形成的恐惧及其负性情绪相关神经环路的形态和机能上的可塑性变化，揭示上述神经环路可塑性变化的递质、受体和细胞内信号转导机制，筛选1~2种疼痛及负性情绪治疗的药物靶分子，发表相关论文1-4篇。

注：阶段目标中应列明提交的科技报告的类型、数量和时间。一、根据《海南省重点研发计划项目和经费管理办法》第十九条，实行项目年度报告制度。项目承担单位应按照科技报告制度要求，于每年11月底前，报送项目年度执行情况报告。二、在阶段性目标的最后一个阶段，应把撰写项目总结报告作为重要内容，并在项目实施期满后3个月内申请省科技厅验收。

七、其他需说明的事项

无

草稿

海南省科技计划项目任务书签批审核表

项 目 负 责 人 填 写	<p>我同意承担海南省科技计划项目，将按照申请书、项目立项通知和任务书负责实施本项目（项目编号：ZDYF2018153），严格遵守海南省科技厅关于项目管理、财务管理等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果标注“海南省科技项目资助”字样及项目编号。</p> <p style="text-align: right;">项目负责人（签章）： 年 月 日</p>					
承 担 单 位 填 写	<p>我单位同意承担上述海南省科技计划项目，将履行有关承诺，保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守海南省科技厅有关科技项目管理、财务管理等各项规定，并督促实施。</p> <p style="text-align: right;">承担单位（公章） 年 月 日</p>					
参 加 单 位 填 写	<p>我单位同意参加上述海南省科技计划项目，将履行有关承诺，提供相关配合，协助项目承担单位和负责人完成项目实施。</p> <p style="text-align: right;">参加单位（公章） 年 月 日</p>			<p>我单位同意参加上述海南省科技计划项目，将履行有关承诺，提供相关配合，协助项目承担单位和负责人完成项目实施。</p> <p style="text-align: right;">参加单位（公章） 年 月 日</p>		
省 科 技 厅 填 写	<p>同意按计划执行</p> <p style="text-align: right;">（盖章）： 年 月 日</p>					
	分管处室：	社会发展科技处	联系人：	翟红莉	联系电话：	65326282

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

李云庆 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：

81620108008，项目名称：痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究，直接费用：240.00万元，项目起止年月：2017年01月至2021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**2016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**2016年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2016年9月26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
2016年8月17日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81620108008	项目负责人	李云庆	申请代码1	H0903
项目名称	痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究				
资助类别	国际(地区)合作与交流项目	亚类说明	重点国际(地区)合作研究项目		
附注说明					
依托单位	中国人民解放军第四军医大学				
直接费用	240.00 万元	起止年月	2017年01月 至 2021年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p><1> 顽固性瘙痒是长期困扰人类、治疗困难的顽疾，痒觉信息的产生原因、传导通路和调控机制尚不清楚。本合作项目是亟待发展的研究领域。合作方美国圣路易斯华盛顿大学陈宙峰教授实验室在痒觉领域的研究取得了突破性成果，本实验室对痒觉也做了前期的研究。通过合作研究有望阐明顽固性瘙痒的发生机制，为临床治疗提供依据。</p> <p>申请者曾经承担国家自然科学基金重大国际(地区)合作研究项目，已顺利完成按时结题。</p> <p>合作双方科研水平高、有良好的工作积累，是活跃在学科前沿的学术带头人。合作双方有很好的合作基础，近年来开展了多项实质性的合作研究，在权威期刊共同发表论文4篇，属于强强合作，优势互补。合作研究协议书完善，合作研究内容和研究目标明确。。</p> <p><2>申请者拟研究痒觉在脊髓以上水平的传递与调控机制，双方有很好的合作基础，共同发表了4篇高水平研究论文。拟研究的科学问题处于国际前沿，双方在研究领域和研究方法方面的互补性强，可谓强强联合。项目前期研究基础扎实，预实验结果充分。</p> <p><3>慢性瘙痒与慢性痛类似，都是困扰人类的顽疾，两者间的联系密不可分。与慢性痛相比，人们对瘙痒的研究和认识相当滞后。近年来，国际瘙痒研究取得了重要进展，特别是本课题的美方合作者陈宙峰教授在该研究领域取得开创性成果。中方合作者在慢性痛中枢环路的研究中有扎实的基础，近年来对疼痛和痒的相关性开展探索性研究，并与陈宙峰教授开展该领域的合作，已有良好的开端和成果。有必要将这一合作继续和深入。该项目拟利用转基因工具小鼠和急慢性痒动物模型，揭示痒觉信息传递的脊髓上调控环路，阐述顽固性瘙痒的发生机制，具有重要的科学意义和潜在的临床价值。研究方案具体、科学问题把握准确，创新性强。合作分工合理，体现了优势互补的特点与合作必要性。</p> <p><4>本项目主要通过合作，在动物模型上深入研究痒在脊髓以上水平的通路和机制以及下行调节通路和机制，查明痛觉和痒的不同神经通路，为瘙痒症的治疗提供理论和实验依据。合作双方已有很好前期合作基础和预研成果，申请者在痛觉通路和机制有扎实的工作基础和研究条件，尤其在神经通路研究领域有丰富经验，而美方是痒研究的主要研究基地，合作者是痒研究开创者，合作者之间互补性强，通过合作有助于查明痒和痛觉潜在的上行和下行调控神经通路和分子机制。该项目目标清晰，研究方案可行，研究方法先进，互补性好。</p> <p><5>申请者提出的课题拟揭示脊髓以上水平中枢内介导痒觉信息传递的神经通路和调控痒觉信息的细胞和分子机制，甄别痒觉与痛觉神经通路的异同，从而阐明瘙痒发生机制。立题具有一定的新意且有初步研究结果支持，但课题的研究范围偏大（包括脊髓、脑干、间脑和皮层等），对拟研究的痒觉信号分子调控机制探讨得不够深入，更多的是描绘痒觉传递通路图；虽然研究目标里有“甄别痒觉与痛觉神经通路的异同”，但研究方法和思路与研究疼痛的没有特别的不同，也没有设计具体实验在某一脑区或分子 / 通路来研究痛觉和痒觉信息传递的异同。</p> <p>合作双方各自的优势明显但对拟研究的课题互补性不明显。申请者长期从事疼痛的发病机制研究并且取得了一定的成就，具有强大的研究实力包括人才优势和先进的技术设备优势，这是申请者的强项，但在瘙痒发病机制研究方面较少；然而，合作方在瘙痒发病机制研究方面已发表多篇有影响力的论文，导致这个课题好像是合作方申请的课题，不利于发挥我国科学家在合作中的优势。若申请者能重点研究痛觉与瘙痒的异同性能更显示双方优势性的互补。鉴于申请者已有与加拿大卓敏教授进行国际合作研究慢性痛扣带回兴奋性突触传递可塑性变化的机制研究的经历，建议申请者更应该将原来的课题继续进行下去，而不应该更换研究方向。</p> <p>对研究方案的修改意见：</p>					

医学科学部

2016年8月17日



项目批准号	81620108008
申请代码	H0903
归口管理部门	
依托单位代码	71003208A1426-2594



国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：国际(地区)合作与交流项目

亚类说明：重点国际(地区)合作研究项目

附注说明：

项目名称：痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究

直接费用：240万元 执行年限：2017.01-2021.12

负责人：李云庆

通讯地址：西安市长乐西路169号，第四军医大学解剖学教研室

邮政编码：710032 电 话：029-84772706

电子邮件：deptanat@fmmu.edu.cn

依托单位：中国人民解放军第四军医大学

联系人：党小荣 电 话：02984774194

填表日期：2016年08月25日

国家自然科学基金委员会制



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、项目负责人收到《关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明，参照国家自然科学基金相关项目管理办法及《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》（请查阅国家自然科学基金委员会官方网站首页“政策法规”-“管理办法”栏目），按《批准通知》的要求认真填写和提交《国家自然科学基金委员会资助项目计划书》（以下简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《计划书》经国家自然科学基金委员会相关项目管理部门审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》各部分填写要求如下：
 - （一）简表：由系统自动生成。
 - （二）摘要及关键词：各类获资助项目都必须填写中、英文摘要及关键词。
 - （三）项目组主要成员：计划书中列出姓名的项目组主要成员由系统自动生成，与申请书原成员保持一致，不可随意调整。如果批准通知中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目有调整项目组成员相关要求的，待项目开始执行后，按照项目成员变更程序另行办理。
 - （四）资金预算表：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额。国家重大科研仪器研制项目、重大项目还应按照预算评审后批复的直接费用各科目金额填报资金预算表、预算说明书及相应的预算明细表。
 - （五）正文：
 1. 面上项目、青年科学基金项目、地区科学基金项目：如果《批准通知》中没有修改要求的，只需选择“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可；如果《批准通知》中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目明确要求调整研究期限和研究内容等的，须选择“根据研究方案修改意见更改”并填报相关修改内容。
 2. 重点项目、重点国际（地区）合作研究项目、重大项目、国家重大科研仪器研制项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，根据《批准通知》的要求填写研究（研制）内容，不得自行降低、更改研究目标（或仪器研制的技术性能与主要技术指标以及验收技术指标）或缩减研究（研制）内容。此外，还要突出以下几点：
 - （1）研究的难点和在实施过程中可能遇到的问题（或仪器研制风险），拟采用的研究（研制）方案和技术路线；
 - （2）项目主要参与者分工，合作研究单位之间的关系与分工，重大项目还需说明课题之间的关联；
 - （3）详细的年度研究（研制）计划。



3. 国家杰出青年科学基金、优秀青年科学基金和海外及港澳学者合作研究基金项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，按下列提纲撰写：
 - (1) 研究方向；
 - (2) 结合国内外研究现状，说明研究工作的学术思想和科学意义（限两个页面）；
 - (3) 研究内容、研究方案及预期目标（限两个页面）；
 - (4) 年度研究计划；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
4. 对于其他类型项目，参照面上项目的方式进行选择和填写。



简表

申请者信息	姓 名	李云庆	性 别	男	出生年月	1961年08月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	教授		
	电 话	029-84772706		电子邮件	deptanat@fmmu.edu.cn			
	传 真	029-83283229		个人网页				
	工 作 单 位	中国人民解放军第四军医大学						
	所 在 院 系 所	基础部						
依托单位信息	名 称	中国人民解放军第四军医大学					代码	71003208A1426
	联 系 人	党小荣		电子邮件	dangxr@fmmu.edu.cn			
	电 话	02984774194		网站地址	http://www.fmmu.edu.cn			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
								71003208A1426
项目基本信息	项 目 名 称	痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究						
	资 助 类 别	国际(地区)合作与交流项目			亚 类 说 明	重点国际(地区)合作研究项目		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H0903:躯体感觉、疼痛与镇痛						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2017.01-2021.12						
	直 接 费 用	240万元						



项目摘要

中文摘要(500字以内):

瘙痒,尤其是顽固性瘙痒是长期困扰人类的顽疾,治疗困难。究其主要原因是我们对痒觉信息的产生原理、传递通路和调控机制尚不清楚,以致至今仍缺乏有效的瘙痒防治措施。近几年我们本次拟申请项目的合作方——美国圣路易斯华盛顿大学陈宙峰教授实验室在痒觉研究领域取得了大量具有里程碑意义的突破性成果,但对痒的研究方面仍有许多亟待解决的重要问题。本项目拟利用系列转基因鼠和急、慢性痒动物模型,综合应用现代神经科学研究的先进方法,在我们合作双方前期合作研究和我们独立开展预实验研究的基础上,对痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制进行研究,力争揭示中枢内参与痒觉信息传递的神经通路和感受中枢及其相关的细胞和分子机制,甄别痒觉与痛觉神经通路的异同及其关系,为阐明顽固性瘙痒的发生机制和指导临床治疗提供理论依据和药物研发靶点。

关键词: 痒; 脊髓上中枢; 痛; 神经环路; 可塑性

Abstract(limited to 4000 words):

Itch, especially chronic itch, is a long-period troublesome disease of human being. Till now, there are almost no effective ways to treat it. The main reason is that the generation principle, transmission pathway and regulation mechanism of itch are not yet clearly to be understood, and

thus resulting in that there is a lack of effective itch therapies. Although recently our cooperator-Prof. Zhou-Feng Chen's Lab of Washington University in St. Louis of the USA has achieved a lot landmark breakthroughs in itch research field, but there are still many important problems need to be solved. On the basis of our joint research and our independent preliminary study, the present project will use a series of genetically modified mice and kinds of acute and chronic itch models, and integrated applications of the advanced modern neuroscience research methods to investigate the neural transmission pathway, perceive center and modulation mechanism of itch information within the central nervous system superior to the spinal cord level. Our research will be focused on revealing the neural transmission pathway, perceive center and the related cellular and molecular mechanisms of itch information transmission and regulation within the central nervous system, and preliminarily to clarify the modulation mechanism of itch information. Another purpose of the present project is to identify the similarities and differences between the neuronal circuits for itch and pain information transmission and modulation. Thus, the results of the present project will be useful and significant for providing theoretical basis to treat chronic pruritic diseases, identify drug targets for antipruritics and elucidate the mechanisms on the clinical treatment for the refractory pruritic diseases.

Keywords: itch; superior to spinal cord center; pain; neuronal circuit; plasticity



项目组主要成员

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	证件号码	项目分工	每年工作时间 (月)				
1	李云庆	1961.08	男	教授	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84772706	610102196108189511	项目负责人	9				
2	李辉	1972.02	男	副教授	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774501	后文字第2040103	束路追踪、电生理	7				
3	张勇	1978.07	男	讲师	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	410526197807176410	分子生物学、光遗传学	7				
4	黄静	1980.12	女	讲师	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	后文字第2040395	分子生物学、行为学	7				
5	鲁亚成	1980.03	女	讲师	硕士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	610481198003045424	免疫电镜、行为学	7				
6	张明明	1985.05	女	讲师	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	610102198505102722	膜片钳、药理学	8				
7	寇珍珍	1984.11	女	讲师	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	610104198411060026	光遗传学、束路追踪	7				
8	革军	1984.09	男	博士后	博士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	61010319840923123X	免疫组化、免疫电镜	8				
9	王舰	1987.09	男	博士生	学士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	610102198709062718	束路追踪、药理学	9				
10	尹俊滨	1988.04	男	博士生	硕士	中国人民解放军第四军医大学	029-84774504	370321198804161212	光遗传学、行为学	9				
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
10			2		5				1		2			



国家自然科学基金项目直接费用预算表（定额补助）

项目批准号：81620108008

项目负责人：李云庆

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目直接费用	240.0000
2	1、设备费	9.4000
3	(1)设备购置费	9.40
4	(2)设备试制费	0.0000
5	(3)设备改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	145.2000
7	3、测试化验加工费	0.0000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	28.80
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	13.40
11	7、劳务费	40.00
12	8、专家咨询费	3.20
13	9、其他支出	0.0000
14	二、自筹资金	0.0000



预算说明书（定额补助）

（请按《国家自然科学基金项目资金预算表编制说明》中的要求，对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金,单价≥10万元的设备等内容进行详细说明，可根据需要另加附页。）

一、项目直接费用（240 万元）

1. 设备费（9.4 万元）：

为保障本课题研究工作的顺利实施，课题组需要添置多台小型仪器（单价均不超过 5 万元）。该科目支出用于支付在本课题研究过程中购置的专用仪器设备。计划购买以下仪器及配套设备：

- （1）pH 计 1 台（THERMO-0320A2，美国），2.2 万元，为各项实验液体配制必备仪器；
- （2）加样器 5 支套装（Gilson，法国），3.5 万元，为各项实验必备仪器；
- （3）台式离心机 1 台（Eppendorf-5430，德国），1.75 万元，为各项实验常用仪器；
- （4）电子天平 1 台（AND GH-300，日本），1.95 万元，为各项实验常用仪器。

2. 材料费（合计：145.2 万元）

（1）实验动物费：（共计 29 万元）

C57BL/6J 小鼠购买及饲养费：购买及运输平均单价，20 元/只；饲养平均单价：8 元/只/周，平均饲养周期 6 周。本课题动物使用量总数约 1000 只，共 1000 只×（20 元/只+8 元/只/周×6 周）。合计 6.8 万元。

转基因小鼠引进及饲养费：国内外引进相关费用 3 万元。饲养平均成本 2 元/只/天，平均饲养周期 120 天。共 800 只×（2 元/只/天×120 天），小计 19.2 万元。合计 22.2 万元

（2）实验用试剂及药品：（共计 116.2 万元）

各类抗体Fos、5-HT、NE、PKC、PKA、GABA、GABA_AR、GABA_BR、VGLUR2、MOR、AMPA、NMDAR、mGluR、ERK、JNK、CaMKII、CREB等抗体（Chemicon、Abcam、Santa Cruz等公司）30个；顺逆行标记用示踪剂，如BDA，TMR、荧光金、各种腺相关病毒（如AAV-CaMKII-ChR2-mCherry、AAV-CaMKII-ChR2-mCherry、AAV-hSyn -HM3Dq-mCherry、AAV-hSyn-HM4Di-mCherry等）（Chemicon、Sigma、Santa Cruz等公司）共需12个；行为药理学用多种物质（组胺、GRP、Cowhage、5-HT、ET-1等），各种受体、细胞因子（组胺受体、5-HT、G蛋白、钙离子、GABA受体、NMDA受体等）的激动剂和拮抗剂（Chemicon、Sigma等公司）25个；二抗如羊抗兔IgG抗体、豚鼠抗兔IgG抗体等（Chemicon、Abcam、Santa Cruz等公司）25个；免疫电镜用多品系纳米金标记抗体、银加强试剂盒、钨酸等（Sigma、Chemicon、Abcam、Santa Cruz等公司）20个；平均4000元/个，需112个。总计44.8万元。



电生理实验用各种进口试剂，如蔗糖、氯化钾、缓冲盐、HEPES、ATP、河豚毒素、AP-5、荷包牡丹碱等（Sigma、Chemicon 等公司）15 种，共需 35 个；各种蛋白、神经活性物质及其受体激动剂、拮抗剂，如 PKA、PKC、5-HT、组胺、SP、ENK、EM、VGLUT1/2 甘氨酸、GABA，以及 SPR、5-HTRs、mGluRs 等激动剂或拮抗剂（Chemicon、Sigma 等公司）45 个，平均 4000 元/个，共需 80 个。共需 **32 万元**。

购买化学损毁试剂、PE-10 插管需 **10 万元**。电生理用玻璃电极（Sutter 公司）1000 元/盒，需 50 盒，**5 万元**。共需 **15 万元**。

光遗传实验相关耗材：0.22 数值孔径石英纤芯，玻璃覆层多模光纤，500 米×40 元/米，共计 **2.5 万元**；PFP 900um 光纤套管及光纤剥除工具，共计 **1.5 万元**；FC/PC 和 SC/PC 接头抛光盘、氧化铝研磨（抛光）板，共计 **1.5 万元**；PFP LC 1.25mm OD 多模式陶瓷光纤套头，共计 **1.5 万元**；其它配件，共计 **2 万元**。共需 **9 万元**。

其他实验室耗材：载玻片，培养皿。培养板、玻璃容器，移液管，枪头，注射器，一次性口罩、手套、帽子，医用酒精，微量注射器，常用配液试剂（如苦味酸、多聚甲醛、氯化钠、磷酸氢二钠等），刀片，速干胶水，新洁尔灭等消耗性器材与试剂等。共需 **15.4 万元**。

3. 测试化验加工费

无

4. 燃料动力费

无

5. 差旅/会议/国际合作与交流费（28.8 万元）

（1）差旅费（7.5 万元）

用于本课题研究团队的课题骨干参加学术会议产生的食宿、交通费用等，平均每年参加两次国内学术会议（中国解剖学会年会、神经科学年会、生理学会年会等），5 年共 25 人次。其中交通费：1800 元/（次*人）×25 人次=4.5 万元；会议注册费：900 元/（次*人）×25 人次=2.25 万元；食宿费：300 元/（次*人）×25 人次=0.75 万元。共计 **7.5 万元**。

（2）会议费（3.8 万元）

计划举办课题成员年会 2 次，每次会议日程平均为 2 天，参加人员约为 20 人次，课题负责食宿，住宿：250 人/天×2 天×20 人次=1 万元，餐饮：50 人/天×2 天×20 人×2 次=0.4 万元。共计 **1.4 万元**。

课题还拟组织专家讨论会 2 次，每次 5 名，会期 2 天：住宿：300 人/天×2 天×5 人×2 次=0.6 万元；餐饮：50 人/天×2 天×5 人×2 次=0.1 万元；交通：平均 1700 人/次×5 人×2 次=1.7 万元，共计 **2.4 万元**。

（3）国际合作与交流费（17.5 万元）

①申请方出国开展合作研究（13 万元）



课题 2 名骨干分别赴美国合作方从事合作研究半年，每人每次支付生活费 5 万元，往返机票 1.5 万元。合计 13 万元。

② 国外合作方来华开展合作研究（4.5 万元）

拟邀请美国合作方专家 3 人次来华进行短期的合作和交流。主要指导和交流有关研究工作。根据外国专家局有关的规定和科技部课题管理的有关规定，本课题组承担其来华交通费和在华期间的食宿费，交通费（机票） $1.2 \text{ 万/人} \times 3 \text{ 人次} = 3.6 \text{ 万元}$ ，食宿费 $600 \text{ 元/天} \times 5 \text{ 天} \times 3 \text{ 人次} = 0.9 \text{ 万}$ 。合计 4.5 万元。

6. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费（13.4 万元）

按照每篇文章版面费、审稿费平均 0.5 万元计，5 年共计发表 SCI 文章 15 篇，总计 7.5 万元；在国内核心期刊发表文章按每篇文章版面费、审稿费平均 0.3 万元，5 年共计发表 8 篇，总计 2.4 万元；申请专利 3 项，费用 1.5 万元；文献全文检索、专利查新、网络使用、专业书籍购买等费用 2 万元。以上各项合计 13.4 万元。

7. 劳务费（40 万元）

主要为没有固定工资收入的研究生和聘用临时工作人员劳务费用。研究生补贴平均 1000 元/人/月计算，每人工作 8 个月/年，本课题参与的研究生 6 人，5 年工作共 240 个月， $1000 \text{ 元/月} \times 240 \text{ 个月} = 24 \text{ 万元}$ ；聘用临时人员 4 人，800 元/人/月计算，每人工作 10 个月/年，4 人 5 年工作 200 个月，总计 $800 \text{ 元/月} \times 200 \text{ 个月} = 16 \text{ 万元}$ 。以上两项合计 40 万元。

8. 专家咨询费（3.2 万元）

拟聘请 10 位疼痛或痒觉领域的专家对本课题进行指导和评估，它们的建议和指导对本项目的正常进行和全面系统性均是必不可少的。 $10 \text{ 人} \times 800 \text{ 元/天} \times 4 \text{ 天} = 3.2 \text{ 万元}$

9. 其他支出（0 万元）

无

二、自筹资金（0 万元）

无

项目负责人签字：

科研部门公章：

财务部门公章：



报告正文

一、研究内容

(1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究

- ① 利用形态学方法明确向 PCC 传递痒觉信息的皮层下（间脑）结构。
- ② 上述①中皮层下结构内 Fos 阳性神经元不同受体和递质的表达及其在慢性痒状态下的变化。
- ③ 利用电/化学损毁和行为药理学技术调控上述①中皮层下结构，观察其在痒觉信息传递中的作用。
- ④ 急慢性痒状态下，上述向 PCC 投射皮层下结构神经元的突触可塑性变化。

(2) 大脑皮层相关区域（PCC，ACC、IC、CI 等）间神经环路参与痒信息调控的研究

- ① 利用电/化学损毁和行为药理学技术明确 PCC 在痒觉信息传递和调控中的核心作用。
- ② PCC-ACC、PCC-IC 和 PCC-CI 间的往返神经纤维联系及其在急慢性痒状态下的改变
- ③ 慢性痒状态下 PCC-ACC、PCC-IC 和 PCC-CI 神经环路内的神经元突触可塑性改变。
- ④ 明确 PCC-ACC、PCC-IC 和 PCC-CI 神经环路在痒觉调控过程中的作用。

(3) 大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制

- ① 筛选参与慢性痒传递和调控的膜受体。
- ② 筛选介导膜受体参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导分子。

(4) 脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理

- ① RVM 内 5-HT 能神经元对痒信息传递的下行调控。
- ② 以 RVM 为中继的脑干内源性痒觉调控系统的构成。
- ③ PAG-RVM 通路中 Glutamate 和 GABA 参与痛觉或痒觉的下行调控。

二、研究目标

本项目拟利用正常和转基因小鼠及其制作的急性或慢性痒动物模型，综合应用现代神经科学研究的先进方法，揭示脊髓以上水平中枢内介导痒觉信息传递的神经通路和调控痒觉信息的细胞和分子机制，甄别痒觉与痛觉神经通路的异同，为阐明瘙痒症发生机制、研发止痒药物和指导瘙痒症临床治疗提供理论依据。

三、研究难点和可能遇到的问题

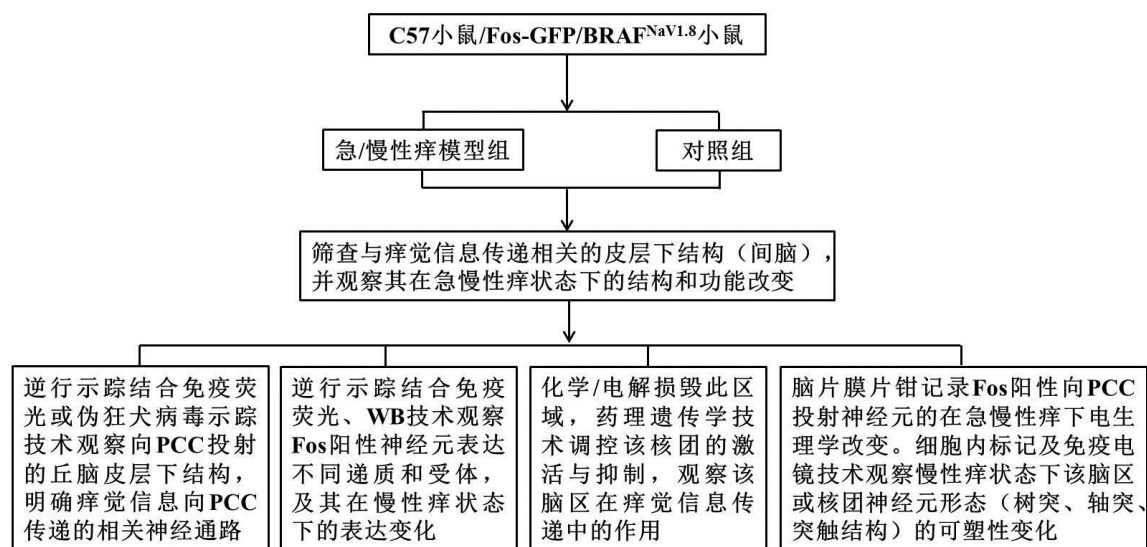


由于痒觉信息的脊髓上传递与调控通路尚未有系统研究,所以确认痒觉特异性传递与调控环路,找到特异性脑区或核团是本研究的关键和难点。同时需搞清痒觉相关通路与痛觉通路的异同,研究中可能遇到痛与痒的机制混杂交错的问题。

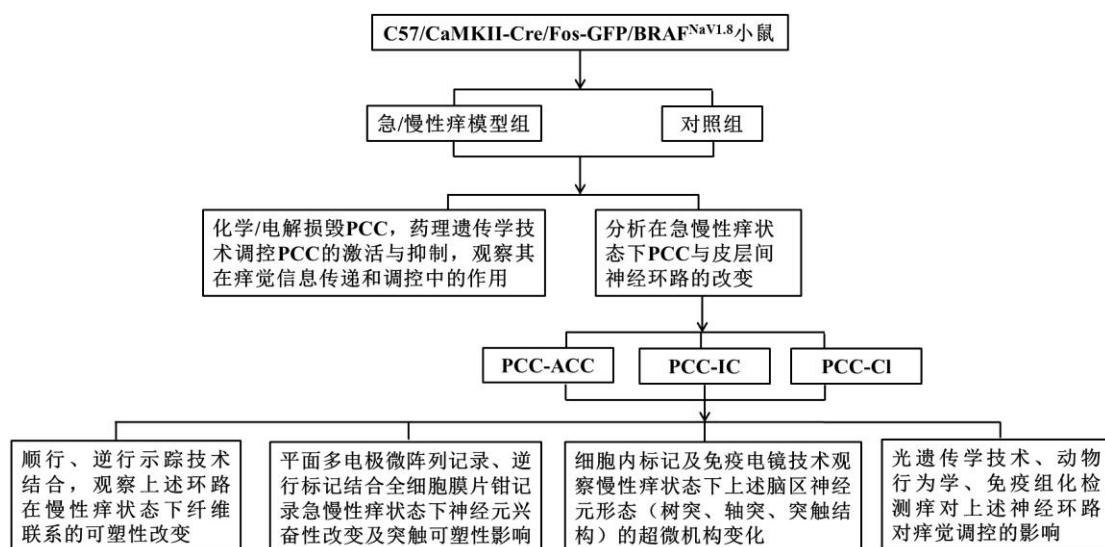
四、拟采取的研究方案和技术路线

技术路线:

(1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究

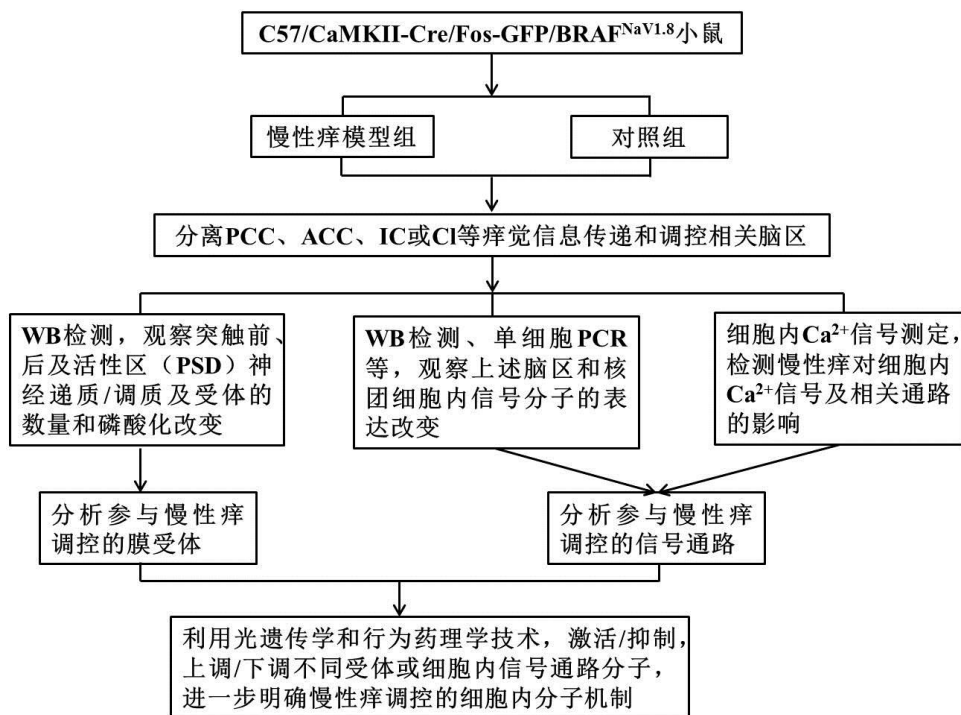


(2) 大脑皮层相关区域（PCC，ACC、IC、CI等）间神经环路参与痒信息调控的研究

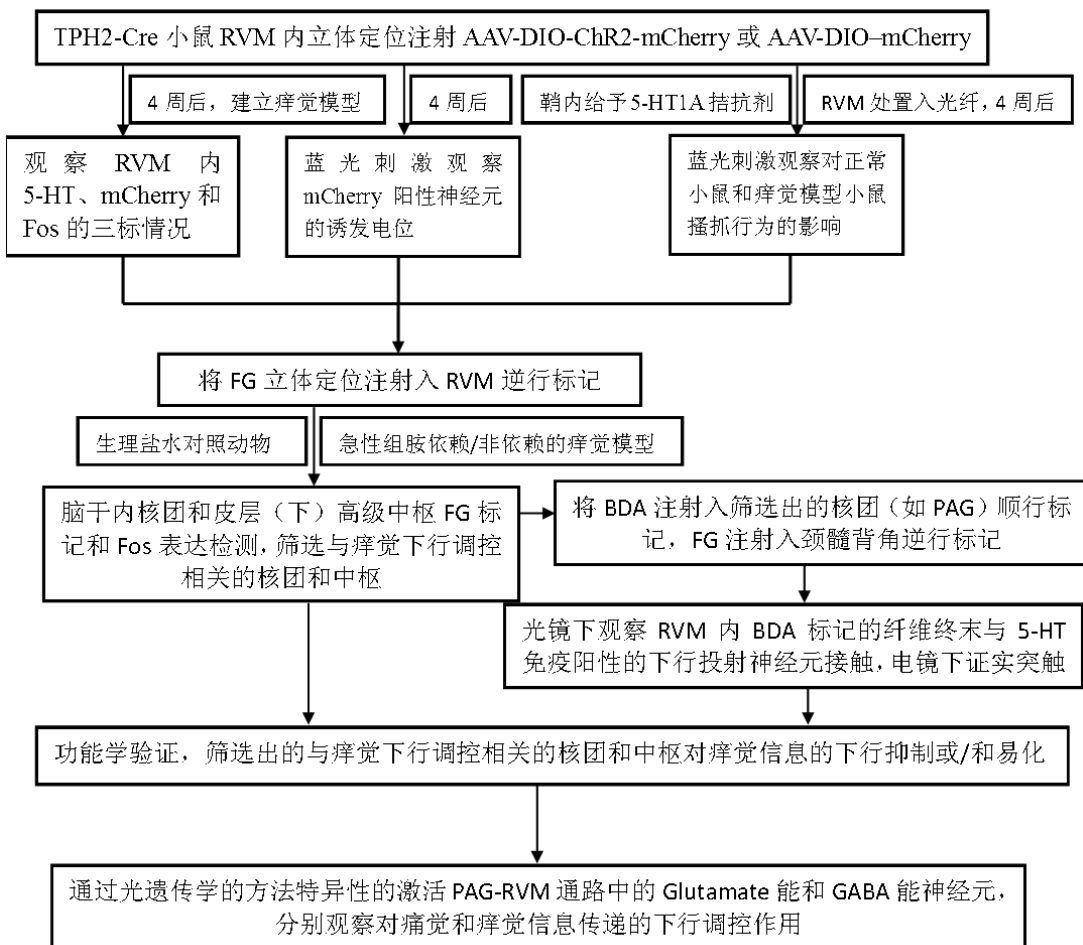




(3) 大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制



(4) 脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理





实验方案：

(1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究

① **利用形态学方法明确向PCC传递痒觉信息的皮层下（间脑）结构：**将成年C57BL/6小鼠皮下注射组胺造成组胺依赖的急性痒模型，皮下注射5-HT或鞘内注射氯喹（CQ）诱导急性组胺非依赖痒觉模型；颈背部皮肤依次涂抹乙醚与丙酮（1:1）混合物和去离子水，造成干皮症（AEW）慢性痒模型；腹部皮肤经DNFB丙酮液涂抹致敏，颈背部皮肤涂抹强化，造成过敏性皮炎（DNFB）慢性痒模型，相应生理盐水处理组作为对照，同时为了防止搔抓的影响，可给小鼠佩戴塑料颈圈来预防。将上述痒模型小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻钻孔，调整相关脑区或核团注射位点的三维参数，通过微量注射器将0.1 μ l荧光标记的逆行示踪剂DiI、FG、TMR压力注射入PCC（坐标：Bregma:-0.7mm；旁开: 0.2 mm；深度: 1.4 mm）。注射完毕后留置20 min，移去微量注射器。5-7 d后动物常规灌注固定、取脑、切片（30 μ m）。观察注射区的情况以及示踪剂在脑内逆行标记情况，同时行Fos免疫组化染色，观察逆标神经元与Fos双标情况，明确向PCC传递痒觉信息的皮层下结构。

同时，可根据神经示踪病毒PRV-614具有跨神经元示踪的特点，利用立体定位注射技术将PRV-614注入C57BL/6J小鼠的相关神经核团，按照动物的不同生存期限灌注固定动物，取脑制备切片，观察注射区病毒表达的情况以及病毒在脑内逆行标记情况，进一步确定向PCC传递痒觉信息的上一级核团或脑区所在，并绘制痒觉信息传递神经通路图。

② **上述①中皮层下结构内Fos阳性神经元不同受体和递质的表达及其在慢性痒状态下的变化：**急慢性痒模型组小鼠，向PCC定位注射EMR或FG后，在①观察到的皮层下结构内进行Fos与不同递质（VGLUT2, GABA）和受体（NMDAR、AMPA、GABA_A、mGluR）的免疫荧光双重标记，同时取组织行Western Blot检测，观察这些脑区Fos阳性神经元表达不同递质和受体情况，及其在急慢性痒状态下的表达变化。

③ **利用电/化学损毁和行为药理学技术调控上述①中皮层下结构，观察其在痒觉信息传递中的作用：**C57BL/6J小鼠常规麻醉，采用鹅膏蕈氨酸化学或电解法分别损毁①中观察到的核团或脑区，结束时向损毁脑区内注入2%的胍嗪天蓝，进行损毁部位的组织学鉴定，同时皮下注射氯喹或组胺测定小鼠痒觉的行为的改变，分析假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异；反之先建立慢性痒模型，后行核团损毁再观察假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异。

同时，利用立体定位注射技术分别将腺相关病毒AAV-hSyn-HM3Dq-mCherry（激活性）或者AAV-hSyn-HM4Di-mCherry（抑制性）注射入上述核团，注射完毕后留置20 min以减少渗漏。2周后制作急性痒模型，腹腔给予氧化氯氮平（CNO）1h后检测动物瘙痒行为，对比激活或抑制上述核团对动物瘙痒行为的影响。确认上述核团在痒觉信息传递中的作用。

④ **急慢性痒状态下，上述向PCC投射皮层下结构神经元的突触可塑性变化：**Fos-GFP小鼠造模和对照处理同前，并向PCC定位注射逆行示踪剂TMR以标记投射神经元，模型成功并到达特定时间点后，小鼠经异氟醚快速麻醉，断头取脑。在振动切片机下将含①核团的大



脑皮质切成300 μm 的切片，制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液（ACSF）内孵育1-1.5 h。在荧光显微镜和激光共聚焦显微镜下选定Fos-GFP 阳性即TMR双标阳性神经元行全细胞膜片钳记录，观察急慢性痒状态下这些神经元的sEPSC, sIPSC, LTP, LTD, PPR, AMPAR INPUT-OUTPUT等指标，并与对照组神经元进行比较，观察是否发生改变。

记录电极内液内加入0.2% Biocytin，记录观察结束后，在电流钳模式下，再给予15 min的1 Hz阈下正向电流进一步将Biocytin泳入细胞内，记录完毕，缓慢撤离记录电极，然后将脑片置入含4%多聚甲醛、1.25%戊二醛和15%苦味酸的PB内固定过夜。①使用ABC法的二甲基联苯胺（DAB）或者荧光素染色Biocytin标记的神经元及突起。之后在明场或者共聚焦显微镜下观察标记神经元的形态学特征，尤其是树突分支，树突棘的形态、大小、密度，轴突终扣的密度在慢性痒之后的变化。②ABC法的DAB反应产物标记Biocytin，脂平板包埋、超薄切片（70 nm），电子显微镜下观察相关脑区或核团内Fos阳性神经元超微结构的突触前、后致密电子物质的长度、厚度的变化。

（2）大脑皮层相关区域（PCC, ACC、IC、CI等）间神经环路参与痒信息调控的研究

① 利用电/化学损毁和行为药理学技术明确PCC在痒觉信息传递和调控中的核心作用：

C57BL/6J小鼠常规麻醉，采用鹅膏蕈氨酸化学或电解法分别损毁PCC，结束时向损毁脑区内注入2%的胍胺天蓝，进行损毁部位的组织学鉴定，同时皮下注射氯喹或组胺测定小鼠痒觉的行为的改变，分析假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异；反之先建立慢性痒模型，后行核团损毁再观察假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异。

同时，利用立体定位注射技术分别将腺相关病毒AAV-hSyn-HM3Dq-mCherry（激活性）或者AAV-hSyn-HM4Di-mCherry（抑制性）注射入上述核团，注射完毕后留置20 min以减少渗漏。2周后制作急性痒模型，腹腔给予氧化氯氮平（CNO）1h后检测动物瘙痒行为，对比激活或抑制上述核团对动物瘙痒行为的影响。明确PCC在痒觉信息传递和调控中的作用。

② PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI间的往返神经纤维联系及其在急慢性痒状态下的改变：

将上述痒模型小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻钻孔，调整相关脑区或核团注射位点的三维参数，将 0.1 μl 混合的顺行示踪剂BDA和逆行示踪剂FG通过微量注射器分别压力注射入PCC（坐标：Bregma:-0.7mm；旁开：0.2 mm；深度：1.4 mm），ACC（坐标：Bregma:0.5mm；旁开：0.2 mm；深度：1.4 mm），IC（坐标：Bregma: - 0.5mm；旁开：3.8 mm；深度：3.6 mm）或CI（坐标：Bregma: 0.5 mm；旁开：3.6 mm；深度：3.5 mm），注射完毕后留置20 min，移去微量注射器。5-7 d后动物常规灌注固定、取脑、切片（30 μm ）。观察注射区的情况以及顺逆行示踪剂在脑内的标记情况，着重观察PCC与ACC，PCC与IC和PCC与CI间的往返神经纤维联系。另外，应用Image J软件分析在慢性痒状态下，各皮层结构内BDA标记的神经纤维密度或FG标记的神经元数目与对照组相比是否发生改变。

③ 慢性痒状态下PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI神经环路内的神经元突触可塑性改变：



a. C57BL/6J小鼠制备慢性痒模型，造模成功后，迅速处死动物，制作离体脑片，置于ACSF中孵育1 h后，持续用ACSF灌流2 h，TBS 或者 LFS诱导后用平面微电极阵列记录技术分别记录PCC，ACC，IC和CI内LTP和LTD；

b. Fos-GFP小鼠造模和对照处理同前，并向PCC定位注射逆行示踪剂TMR以标记投射神经元，模型成功并到达特定时间点后，小鼠经异氟醚快速麻醉，断头取脑。在振动切片机下将含ACC，IC和CI平面的大脑皮质切成300 μm 的切片，制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液（ACSF）内孵育1-1.5 h。在荧光显微镜和激光共聚焦显微镜下选定Fos-GFP 阳性即TMR双标阳性神经元行全细胞膜片钳记录，观察急慢性痒状态下这些神经元的sEPSC，sIPSC，LTP，LTD，PPR，AMPA和NMDAR INPUT-OUTPUT等指标，并与对照组神经元进行比较，观察是否发生改变。记录电极内液内加入0.2% Biocytin，在电流钳模式下，再给予15 min的1 Hz阈下正向电流进一步将Biocytin泳入细胞内，记录完毕，缓慢撤离记录电极，然后将脑片置入含4%多聚甲醛、1.25%戊二醛和15%苦味酸的PB内固定过夜。①使用ABC法的二甲基联苯胺（DAB）或者荧光素染色Biocytin标记的神经元及突起。之后在明场或者共聚焦显微镜下观察标记神经元的形态学特征，尤其是树突分支，树突棘的形态、大小、密度，轴突终扣的密度在慢性痒之后的变化。②ABC法的DAB反应产物标记Biocytin，脂平板包埋、超薄切片（70 nm），电子显微镜下观察上述神经元内的突触前、后致密电子物质的长度、厚度等超微结构的变化。

c. Fos-GFP小鼠造模和对照处理同前，并分不同组依次向ACC，IC或CI定位注射逆行示踪剂TMR以标记投射神经元，模型成功并到达特定时间点后，各组小鼠经异氟醚快速麻醉，断头取脑，依次观察PCC内向ACC，IC和CI投射神经元的b中电生理指标，记录完成后涌入Biocytin，三维重塑神经元，观察树突等结构的形态可塑性改变，最后利用电镜观察超微结构下上述神经元内的突触前、后致密电子物质的长度、厚度等超微结构的变化。

④ 明确PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI神经环路在痒觉调控过程中的作用：

a. 利用立体定位注射技术分别将腺相关病毒AAV-CaMKII-ChR2-mCherry或者AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry注射到急慢性痒小鼠和正常对照组小鼠双侧PCC，注射完毕后留置20 min避免渗漏，再分别于双侧ACC/IC/CI埋置光纤。6周后分别用473 nm蓝光光源（AAV-CaMKII-ChR2-mCherry）或者532 nm绿光光源（AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry）分别对ACC，IC或CI进行光刺激，调整不同的刺激参数，对比观察光刺激激活或抑制相应神经通路对动物搔痒行为的影响，分析PCC-ACC，PCC-IC，PCC-CI神经通路对急慢性痒的调控作用。光遗传实验后立即灌注处死动物，行免疫组织学化学染色检测ACC，IC或CI神经元中Fos的表达情况，并观察mCherry和Fos接触神经元的神经化学解剖学特点。

b. 反 过 来 ， 将 腺 相 关 病 毒 AAV-CaMKII-ChR2-mCherry 或者 AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry注射到急慢性痒小鼠和正常对照组小鼠双侧ACC/IC/CI，注射完毕后留置20 min避免渗漏，再分别于PCC埋置光纤。6周后分别用473 nm蓝光光源



(AAV-CaMKII-ChR2-mCherry) 或者532 nm绿光光源 (AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry) 对PCC进行光刺激, 调整不同的刺激参数, 对比观察光刺激激活或抑制ACC-PCC, IC-PCC, CI-PCC神经通路对动物瘙痒行为的影响, 分析上述神经通路对急慢性痒的调控作用。光遗传实验后立即灌注处死动物, 行免疫组织学化学染色检测ACC, IC或CI神经元中Fos的表达情况, 并观察mCherry和Fos接触神经元的神经化学解剖学特点, 为后续细胞内分子机制研究提供形态学基础。

(3) 大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制

① 筛选参与慢性痒传递和调控的膜受体

a. 正常小鼠及各类型基因敲除小鼠建立慢性痒模型之后, 急性分离(1)中筛选核团, PCC, ACC, IC和CI脑结构, 行总蛋白和突触后活性区蛋白提取, 利用Western Blot法, 检测上述结构内抑制性神经递质GABA受体(包括GABA_AR 和GABA_BR)、兴奋性神经递质谷氨酸受体(包括代谢型受体mGluR1-8和离子型受体NMDA和AMPA, KA等)、1/2型谷氨酸转运体2 (VGluT1/2)的表达水平变化。将此结果与免疫组化染色结果对照分析, 以蛋白量发生明显变化(即具有统计学差异)及受体膜分布特性发生明显变化(即受体内化/上膜或者受体簇cluster分布模式变化)的受体亚型作为后续研究重点。

b. 正常小鼠及各类型及基因敲除小鼠慢性痒模型建立后, 急性分离(1)中筛选核团, PCC, ACC, IC和CI脑结构, 行膜总mRNA提取, 利用RT-PCR 法, 检测上述结构内与苯二氮卓结合部位(BZ)密切相关的GABAAR 亚型(α 1-3和 α 5 及 γ 2)、NMDA受体亚型(NR1, NR2A, NR2B)、VGLUT1/2表达量, 与Western Blot结果对照分析, 进一步明确可能发挥重要作用的膜受体及其亚型分子。

c. 在以上研究基础上初步筛选可能参与的受体亚型, 结合光遗传学或行为药理学技术, 光刺激上述脑区或脑内定位注射其激动剂、拮抗剂、中和抗体(单个给予或者联合给药), 然后观察慢性痒小鼠搔抓等行为学改变。

以上三方面结果结合, 分析整理慢性痒状态下变化最明显的受体分子。

② 筛选介导膜受体参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导分子

a. 正常小鼠及各类型及基因敲除小鼠慢性痒模型建立后, 提取胞浆蛋白, 利用Western Blot法, (1)中筛选核团, PCC, ACC, IC和CI脑结构内信号转导分子PKA、PKC、MAPK家族(包括ERK、JNK、p38)、CaMKII、CREB、Fos及其磷酸化蛋白的表达变化, 以蛋白水平及磷酸化水平发生明显变化的信号转导分子作为后续研究重点。

b. 正常小鼠及各类型基因敲除小鼠慢性痒模型建立后, 选择电生理学研究中具有明确膜特性变化的神经元, 提取单个神经元总RNA, 行单细胞RT-PCR法, 检测信号转导分子PKA、PKC、MAPK家族(包括ERK、JNK、p38)、CaMKII、CREB、Fos的表达变化, 结合以上Western Blot结果以及膜片钳结果, 进一步筛选可能介导膜受体参与慢性痒晚期PCC



等脑区神经元可塑性变化的信号转导分子。

c. 正常小鼠及各类型基因敲除小鼠慢性痒模型建立后，急性分离相关脑区神经元：在助扩散剂pluronic F-127作用下加入钙离子指示剂fura-2 AM或者OGB AM，进行胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 的测定；急性分离PCC等脑区神经元，采用3H-TdR标记神经元肌醇，分离磷脂酰肌醇混合物，通过阴离子交换层析柱分离洗脱，收集IP₃，洗脱峰后进行IP₃测定；提取含二酰基甘油（DAG），采用DAG分析系统进行测定DAG测；利用ELISA法进行cAMP测定。

d. 在以上研究基础上初步筛选可能参与的信号转导分子，合成其正义（SO）和反义探针（ASO）以及干扰RNA（RNAi），PCC等脑区定位注射发检测给予单个药品或者不同药品组合后，观察慢性痒小鼠痒行为学改变。

以上四方面结果结合，分析整理可能的信号转导分子，并绘制可能的信号转导通路。

（4）脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理

① **RVM内5-HT能神经元对痒信息传递的下行调控：**将TPH2-Cre小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻孔，通过微量注射器将0.15 μ l AAV-DIO-ChR2-mCherry注入RVM（前囟中线尾端 6.0 mm，脑表面向下 5.5 mm）内，注射4周后，皮下注射组胺或是皮内注射氯喹，相应生理盐水处理组作为对照，同时为了防止搔抓的影响，可给小鼠佩带塑料颈圈来预防。模型成功2小时后，常规麻醉、灌注、固定、取材、冰冻连续切片（30 μ m），5-HT、Fos免疫组化染色，观察RVM内5-HT、mCherry和Fos的三标情况；同样注射病毒4周后，将小鼠经异氟醚快速麻醉，断头取脑。在振动切片机下将含RVM的延髓切成300 μ m的切片，制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液（ACSF）内孵育1-1.5 h，在荧光显微镜选定RVM内mCherry 阳性神经元行全细胞膜片钳记录，给予蓝光刺激观察诱发电位；在注射病毒的同时将光纤置于RVM上方约0.5 mm处，注射4周后进行行为学检测，观察给予蓝光（473 nm, 20 Hz, 15 ms, 5 mW, 17.68 mW/mm², 5 min）单次或多次连续3天刺激后，对正常小鼠和皮下注射组胺或是皮内注射氯喹小鼠搔抓行为的影响，定位注射AAV-DIO-mCherry作为对照，计数小鼠在30 min内的搔抓行为；RVM内蓝光刺激的同时，小鼠鞘内给予5-HT_{1A}的拮抗剂WAY100635，同样观察对小鼠搔抓行为的影响；通过以上结果来证实RVM内的5-HT能神经元可以下行调控痒觉信息的传递。

② **以RVM为中继的脑干内源性痒觉调控系统的构成：**将C57小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻孔，通过微量注射器将0.1 μ l逆行示踪剂荧光金注入RVM内，注射7天后皮下注射组胺或是皮内注射氯喹，相应生理盐水处理组作为对照，同时为了防止搔抓的影响，可给小鼠佩带塑料颈圈来预防。模型成功2小时后，常规麻醉、灌注、固定、取材、冰冻连续切片（20 μ m），Fos免疫组化染色，通过观察FG和Fos的表达情况，筛选出与痒觉下行调控相关的脑干内核团和皮层（下）高级中枢；同前述方法，将逆行示踪剂葡聚糖胺注入筛选出的核团（如PAG等），FG注入颈髓背角逆行示踪，7天后通过免疫荧光染色观察RVM



内BDA标记的纤维终末与5-HT免疫阳性的下行投射神经元接触，并运用免疫电镜的方法证实突触的存在；将刺激电极分别置入顺行和逆行示踪验证过的核团，无关电极置到颈部的皮下，刺激参数设置为60串方波刺激（波宽为0.5 ms，频率为67 HZ，刺激强度为0.25 mA），持续10 min（1 s开，9 s关），观察电刺激兴奋核团内神经元对皮下注射组胺或是皮内注射氯喹30 min内搔抓行为的影响；通过以上形态学和功能性的研究，找到脑干内源性调控系统参与痒信息调控的核团和皮层（下）高级中枢。

③ **PAG-RVM通路中Glutamate和GABA参与痛觉或痒觉的下行调控：**按照上述立体定位注射的方法，使用VGLUT2-Cre小鼠，将0.15 μ l AAV-DIO-ChR2-mCherry注射入腹外侧PAG中，4周后将小鼠灌注、固定后进行荧光原位杂交组织化学染色，观察PAG内VGLUT2 FISH和mCherry的双标情况，RVM内VGLUT2 终末和mCherry与FG逆标投射神经元的接触；4周后将小鼠经异氟醚快速麻醉，断头取脑。在振动切片机下将含PAG的中脑切成300 μ m的切片，制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液（ACSF）内孵育1-1.5 h，在荧光显微镜选定PAG内mCherry 阳性神经元行全细胞膜片钳记录，给予蓝光刺激观察诱发电位，在荧光显微镜选定RVM内DiI逆标细胞行全细胞膜片钳记录，给予蓝光刺激观察诱发电位；在注射病毒的同时将光纤置于PAG内，4周后在体分别观察给予蓝光刺激后对福尔马林自发痛，氯喹或组胺所致痒觉搔抓行为的影响，在注射病毒的同时将光纤置于RVM内，在体分别观察给予蓝光刺激后对福尔马林自发痛，氯喹或组胺所致痒觉搔抓行为的影响；同样按照上述流程使用VGAT2-Cre小鼠，进行形态学、电生理学和行为学的观察；通过以上结果探讨PAG-RVM通路分别对痛觉和痒觉信息传递产生怎样的下行调控作用。

五、项目主要参与者分工及合作研究单位之间的关系与分工

项目主要参与者分工：

李辉：协助指导课题实施，主要负责束路追踪和电生理学工作；

张勇：负责部分分子生物学及光遗传学研究内容；

黄静：负责痒模型制备及模式动物准备，行为药理学检测；

张明明：负责膜片钳及 Med64 记录，行为药理学检测；

寇珍珍：负责束路追踪、损毁及光遗传学工作；

革军：负责免疫组化及免疫电镜工作；

尹俊滨：负责行为药理学检测及光遗传学工作。

合作研究单位之间的关系与分工：

我方主要负责分课题 1，2 和 4。运用束路追踪技术、免疫荧光多重标记、免疫电镜、在体电生理、光遗传学、膜片钳记录等技术：①明确从间脑向大脑皮层传递有关脑区（或核



团)及其纤维联系通路;②明确大脑皮层相关区域(PCC, ACC、IC、CI等)内神经元及其纤维联系参与痒信息感受和调控神经环路;③痒觉下行调控通路的构成及机制研究。

合作方主要负责分课题2和3。①应用动物高级脑功能的检测技术、光遗传技术及行为药理学技术,研究PCC与ACC、CI间的交互联系及其对痒觉信息传递的调控机制;②运用分子生物学、行为药理学、钙离子测定、光遗传学等技术,筛选出参与慢性痒传递和调控的膜受体,并搞清其参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导机制;

项目实施过程中,双方经常开展交流与研讨,互相取长补短,发挥各自优势,配合完成项目的内容。

六、年度研究计划

2017.1-2017.12: 我方:利用形态学方法明确向PCC传递痒觉信息的皮层下(间脑)结构;观察上述明确的皮层下结构内Fos阳性神经元不同受体和递质的表达及其在慢性痒状态下的变化;利用电/化学损毁和行为药理学技术调控上述皮层下结构,观察其在痒觉信息传递中的作用。合作方:观察急慢性痒状态下,上述向PCC投射皮层下结构神经元的突触可塑性变化。

2018.1-2018.12: 我方:利用电/化学损毁和行为药理学技术明确PCC在痒觉信息传递和调控中的核心作用;合作方:慢性痒状态下PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI神经环路内的神经元突触可塑性改变。邀请美方合作者来华进行探讨与交流。

2019.1-2019.12: 我方:观察PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI间的往返神经纤维联系及其在急慢性痒状态下的改变;合作方:明确PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI神经环路在痒觉调控过程中的作用。派遣一名讲师到美方实验室进行合作研究与交流。

2020.1-2020.12: 我方:筛选参与慢性痒传递和调控的膜受体;合作方:筛选介导膜受体参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导分子。

2021.1-2021.12: 我方:观察RVM内5-HT能神经元对痒信息传递的下行调控,以及以RVM为中继的脑干内源性痒觉调控系统的构成;合作方:证实PAG-RVM通路中Glutamate和GABA参与痛觉或痒觉的下行调控。完成基金结题报告。



国家自然科学基金资助项目签批审核表

	<p>我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：81620108008），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、财务等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。</p> <p>项目负责人（签章）： 年 月 日</p>	<p>我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、财务等各项规定，并督促实施。</p> <p>依托单位（公章） 年 月 日</p>					
本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p>						
	<p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p>						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年
	金额						
	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
本栏目主要用于重大项目等	<p>相关局室审核意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
	<p>委领导审批意见：</p> <p>委领导（签章）： 年 月 日</p>						



申请代码1	H0903
科学部编号	8161001017
项目批准号	



国家自然科学基金 国际(地区)合作与交流项目申请书

(重点国际(地区)合作研究项目)

项目名称:	痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究		
合作国别(地区, 国际组织):	美国	合作起止日期:	2017-01-01-- 2021-12-31
项目申请人:	李云庆	申请日期:	2016-02-29
依托单位:	中国人民解放军第四军医大学	实验室名称:	
通讯地址:	西安市长乐西路169号, 第四军医大学 解剖学教研室	邮政编码:	710032
联系电话:	029-84772706	传真:	029-83283229
Email:	deptanat@fmmu.edu.cn		
依托基金项目编号:	81371239	起止日期:	2014-01-01--2017-12-31
依托基金项目名称:	慢性痛状态下岛叶神经元兴奋性突触传递可塑性变化的机制		
依托基金项目主持人:	李云庆		
科研处电话:	02984774194	Email:	dangxr@fmmu.edu.cn

国家自然科学基金委员会国际合作局制



一、简表

研 究 项 目	名称	中文	痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究							
		英文	Study on the transmission and modulation circuits and the related mechanisms of itch sensation superior to the spinal cord level							
	申报学科1		H0903. 躯体感觉、疼痛与镇痛		申报学科2					
	申请经费	292.1200 万元		起始日期	2017-01-01	结题日期	2021-12-31			
	所用实验室									
研 究 内 容 和 意 见	中文摘要（限400字）： 瘙痒，尤其是顽固性瘙痒是长期困扰人类的顽疾，治疗困难。究其主要原因是我们对痒觉信息的产生原理、传递通路和调控机制尚不清楚，以致至今仍缺乏有效的瘙痒防治措施。近几年我们本次拟申请项目的合作方——美国圣路易斯华盛顿大学陈宙峰教授实验室在痒觉研究领域取得了大量具有里程碑意义的突破性成果，但对痒的研究方面仍有许多亟待解决的重要问题。本项目拟利用系列转基因鼠和急、慢性痒动物模型，综合应用现代神经科学研究的先进方法，在我们合作双方前期合作研究和我们独立开展预实验研究的基础上，对痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制进行研究，力争揭示中枢内参与痒觉信息传递的神经通路和感受中枢及其相关的细胞和分子机制，甄别痒觉与痛觉神经通路的异同及其关系，为阐明顽固性瘙痒的发生机制和指导临床治疗提供理论依据和药物研发靶点。									
	英文摘要（限3000字符）： Itch, especially chronic itch, is a long-period troublesome disease of human being. Till now, there are almost no effective ways to treat it. The main reason is that the generation principle, transmission pathway and regulation mechanism of itch are not yet clearly to be understood, and thus resulting in that there is a lack of effective itch therapies. Although recently our cooperator-Prof. Zhou-Feng Chen's Lab of Washington University in St. Louis of the USA has achieved a lot landmark breakthroughs in itch research field, but there are still many important problems need to be solved. On the basis of our joint research and our independent preliminary study, the present project will use a series of genetically modified mice and kinds of acute and chronic itch models, and integrated applications of the advanced modern neuroscience research methods to investigate the neural transmission pathway, perceive center and modulation mechanism of itch information within the central nervous system superior to the spinal cord level. Our research will be focused on revealing the neural transmission pathway, perceive center and the related cellular and molecular mechanisms of itch information transmission and regulation within the central nervous system, and preliminarily to clarify the modulation mechanism of itch information. Another purpose of the present project is to identify the similarities and differences between the neuronal circuits for itch and pain information transmission and modulation. Thus, the results of the present project will be useful and significant for providing theoretical basis to treat chronic pruritic diseases, identify drug targets for antipruritics and elucidate the mechanisms on the clinical treatment for the refractory pruritic diseases.									
	中文主题词		痒；脊髓上中枢；痛；神经环路；可塑性							
	英文主题词		itch；superior to spinal cord center；pain；neuronal circuit；plasticity							
申 请 者	姓名	李云庆		性别	男	出生日期	1961年08月		民族	汉族
	拼音	Li Yun-Qing		证件类型	二代身份证	证件号码	610102196108189511			
	最高学位	博士	授予国别(地区)	中国		授予年份	1990	院士		
	职称	教授			行政职务					



项目组成员其他成员	主要成员（不包含申请者）	姓名	证件号码	专业技术职务	所在单位名称	分工		
		李辉	后文字第2040103	副教授	中国人民解放军第四军医大学	束路追踪、电生理		
		张勇	410526197807176410	讲师	中国人民解放军第四军医大学	分子生物学、光遗传学		
		黄静	后文字第2040395	讲师	中国人民解放军第四军医大学	分子生物学、行为学		
		鲁亚成	610481198003045424	讲师	中国人民解放军第四军医大学	免疫电镜、行为学		
		张明明	610102198505102722	讲师	中国人民解放军第四军医大学	膜片钳、药理学		
		寇珍珍	610104198411060026	讲师	中国人民解放军第四军医大学	光遗传学、束路追踪		
		革军	61010319840923123X	博士后	中国人民解放军第四军医大学	免疫组化、免疫电镜		
		王舰	610102198709062718	博士生	中国人民解放军第四军医大学	束路追踪、药理学		
		尹俊滨	370321198804161212	博士生	中国人民解放军第四军医大学	光遗传学、行为学		
总人数		高级	中级	初级	博士后	博士生	硕士生	参加单位数
10		2	5		1	2		1
国内合作研究单位	单 位 名 称							
申请人和主要参与者开展国际合作工作的情况：正在承担的其他国家级项目，在国际及我国重要机构中承担的职务（写明国家计划名称、项目名称、起止年月、负责或参加等情况）： 李云庆，男，54岁，第四军医大学梁铨璐脑研究中心主任、教授、博士生导师。长期致力于疼痛研究，在痛与镇痛的神经机制等方面的研究取得了突出成绩。近年来，也开展了痒觉研究。以第一完成人获国家科学技术进步一等奖（2009）、中华医学科技一等奖（2004）、陕西省科学技术一等奖（2003）各1项。曾获国家杰出青年科学基金资助，被评为国家百千万人才工程国家级人选、中国科协“求是奖”、长江学者特聘教授、全国优秀科技工作者、首批军队科技领军人才、全国中青年医学科技之星、军队杰出专业技术人才奖等。获得国家发明专利6项、实用新型专利12项。主编专著10部。共发表SCI论文136篇，他引2000余次。 曾经承担国家自然科学基金的重大国际（地区）合作研究项目，合作方是加拿大多伦多大学生理系的卓敏教授。该项目的中期检查结果是优秀。该项目已经顺利完成，按时结题。该项目的细节如下：国家自然科学基金重大国际（地区）合作研究项目，31010103909，慢性痛晚期前扣带回兴奋性突触传递可塑性变化的机制研究，2011/1-2013/12，200万元，主持。 近年来，我们与美国圣路易斯华盛顿大学痒觉研究中心陈宙锋实验室开展了一系列交流及合作研究。美国圣路易斯华盛顿大学是世界著名的大学，该校于2010年建立了世界上首个跨学科研究痒觉研究中心，担任该中心主任的陈宙峰教授在痒觉研究领域拥有处于世界领先水平的骄人业绩。陈教授曾于2008，2012，2014，2015年4次来李云庆教授的实验室进行学术交流活动。自2008年起，两个实验室之间就建立并开展了交流与合作研究。2011年李云庆教授推荐曾在其实验室从事合作研究的霍福权博士（现在西安交大医学院工作）赴陈教授的实验室从事博士后研究工作；2013年选派本项目骨干成员李辉副教授前往陈教授美国实验室从事合作研究一年半。2015年底选派博士生尹俊滨在陈教授实验室进行一年半的联合培养。霍福权和李辉副教授均已回国，并将有关的转基因动物和痒觉研究前沿技术引进国内。近年来，我们利用先进的形态学技术与陈教授实验室开展了多项实质性的合作，实现了资源共享和技术方法的互补，已在Neuron，J Clin Invest，J Neurosci，Mol Pain等国际权威杂志发表4篇论文。目前仍有多项合作研究正在进行中。合作发表的与本项目密切相关的主要论文有（#第一或共同第一作者；*通讯作者）： 1. Zhao ZQ#, Liu XY#, Jeffry J, Karunaratne WKA, Li JL, Munanairi A, Zhang XY, Li H, Sun YG, Wan L, Wu ZY, Kim S, Huo FQ, Mo P, Barry DM, Zhang CK, Kim JY, Gautam N, Renner KJ, Li YQ, Chen ZF*. Descending control of itch transmission by the serotonergic system via 5-HT1A-facilitated GRP-GRPR signaling. Neuron, 2014; 84(4):821-834. 2. Zhao ZQ#, Wan L#, Liu XY#, Huo FQ#, Li H#, Barry DM, Krieger S, Kim S, Liu ZC, Xu JB, Rogers BE, Li YQ, Chen ZF*. Cross-inhibition of NMBR and GRPR signaling maintains normal histaminergic itch transmission. J Neurosci, 2014; 34(37):12402-12414. 3. Zhao ZQ#, Huo FQ#, Jeffry J, Hampton L, Demehri S, Kim S, Liu XY, Barry DM, Wan L, Liu ZC, Li H, Turkoz A, Ma K, Cornelius LA, Kopan R, Battay JF Jr, Zhong J*, Chen ZF*. Chronic itch development in sensory neurons requires BRAF signaling pathways. J Clin Invest, 2013;123:4769-4780. 4. Barry DM#, Li H#, Liu XY, Shen KF, Liu XT, Wu ZY, Munanairi A, Chen XJ, Yin J, Sun YG, Li YQ*, Chen ZF*. Critical Evaluation of the Expression of Gastrin Releasing Peptide in Dorsal Root Ganglia and Spinal Cord. Mol Pain, 2016 (in press). 5. Qi J#, Li H#, Zhao TB#, Lu YC, Zhang T, Li JL*, Dong YL*, Li YQ*. Inhibitory Effect of Endomorphin-2 Binding to the μ -Opioid Receptor in the Rat Pre-Bötzing Complex on the Breathing Activity. Mol Neurobiol, 2016; DOI 10.1007/s12035-015-9624-1.								



正在承担的国家级项目：

1. 显微光学切片断层成像仪器研发与应用示范：基于MOST绘制人胚胎神经发育的高分辨图谱，国家重大科学仪器设备开发专项（2012YQ03026009），121万元，2013.01-2017.12，分课题负责人、用户组组长。
2. 慢性痛状态下岛叶神经元兴奋性突触传递可塑性变化的机制，国家自然科学基金面上项目（81371239），70万元，2014.01-2017.12，课题负责人。

在国际及我国重要机构中承担的职务

李云庆教授曾经担任两届（8年）中国解剖学会理事长，现任该会副理事长，还是中国神经科学学会常务理事、国务院学位委员会学科评议组成员、国际解剖学工作者联盟（IFAA）副主席、国际形态学大会（ISMS）执委（候任主席）、亚太地区解剖学会（APICA）执委、全军解剖组胚专业委员会主任、陕西省解剖学会理事长、陕西省医学会疼痛分会副主任委员、《神经解剖学杂志》主编、国际期刊Frontiers in Neuroanatomy副主编、Molecular Pain 和Histochemistry and Cell Biology编委等职务。1996年获得国家杰出青年科学基金资助，1998年入选国家百千万人才工程，1999年获中国科协求是奖，2000年被聘为长江学者，2010年被评为全国优秀科技工作者。

NSFC 2016



境外合作人员

合 作 者 信 息	英文姓名	ZhouFeng Chen		性别	男	出生年月	1962-06-03		国家或地区	美国		
	中文姓名	陈宙锋		最高学位	博士	授予国别(地区)	美国		授予年份	1994		
	专业技术职称	教授		行政职务				主任				
	专业领域											
	合作单位	中文	美国圣路易斯华盛顿大学医学院									
		英文	Washington University in St. Louis, School of Medicine									
	通讯地址	Center for the Study of Itch, Washington University School of Medicine, 660 S. Euclid Ave, St. Louis, MO 63110, USA					电话	001-314-747-5093				
传真												
电子信箱							chenz@wustl.edu					

合作者学术背景介绍及合作方机构介绍:

陈宙峰, 男, 53岁, 美国华盛顿大学医学院痒觉研究中心主任、教授。1983年武汉大学病毒系本科毕业, 毕业后在卫生部北京生物制品研究所从事乙肝研究。1986-1987在英国伦敦大学任访问学者, 1994年获德克萨斯大学休士顿医学健康科学中心分子遗传学博士, 随后在加州理工学院进行神经发育学方面的博士后研究。2000年起任华盛顿大学医学院麻醉系, 精神病系, 分子生物学和药理学系助理教授, 副教授, 教授。2010华盛顿大学宣布成立世界上首个跨学科痒觉研究中心, 陈宙峰教授任中心主任。其实验室在2007年发表Nature文章, 报道发现首个中枢神经系统痒基因GRPR, 该发现引起了国际神经领域和皮肤研究者的极大重视, 也是Nature 历史上首次发表有关痒觉的论文。2009年发表Science文章, 报道首次发现传递痒觉的特异神经元, 因此将痒和疼痛区分开来, 解决了该领域持续一百年来来的争论, 为痒觉不同于痛觉而独立存在奠定了理论基础。2011年这篇论文被ISI评为“热门”(HOT)文章。2011年, 在Cell杂志报道了吗啡致痒的分子和细胞机制, 同期Cell杂志专门为此发表了评论文章。该发现在F1000(国际同行评价杂志)迅速得到了阿片领域著名学者的高度评价。2014年, 我们合作在Neuron杂志报道了5-HT对致痒信号传递调控的分子机制。上述一系列重大研究成果开辟了现代痒觉研究的崭新领域, 为世界各国权威媒体、科学类及科普杂志广泛报道, 同时也引起了世界上多个学科学者的极大兴趣。美国国立卫生研究所NIH于2010年专门为如何促进痒觉转化研究召开了圆桌会议。痒基因和痒神经元的发现具有重要的临床意义, 为治疗慢性瘙痒等方面的疾病奠定了理论基础。

主要研究兴趣: 传递痒觉和疼痛信息的分子和细胞机制, 在国际著名专业学术期刊发表文章共五十多篇。5篇代表性研究论文是:

- 1.Sun YG#, Chen ZF*. A gastrin-releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord. Nature, 2007; 448:700-703
- 2.Sun YG#, Zhao ZQ, Meng XL, Yin J, Liu XY, Chen ZF*. Cellular basis of itch sensation. Science, 2009; 325:1531-1534
- 3.Liu XY#, Liu ZC, Sun YG, Ross M, Kim S, Tsai FF, Li QF, Jeffrey J, Kim JY, Loh HH, Chen ZF*. Unidirectional Cross-Activation of GRPR by MOR1D Uncouples Itch and Analgesia Induced by Opioids. Cell, 2011;147, 447-458
- 4.Zhong-Qiu Zhao#, Xian-Yu Liu#, Joseph Jeffry, W.K. Ajith Karunarathne, Jin-Lian Li, Admire Munanairi, Xuan-Yi Zhou, Hui Li, Yan-Gang Sun, Li Wan, Zhen-Yu Wu, Seungil Kim, Fu-Quan Huo, Ping Mo, Devin M. Barry, Kenneth J. Renner, Yun-Qing Li, Zhou-Feng Chen*. Descending control of itch transmission by the serotonergic system via 5-HT1A-facilitated GRP-GRPR signaling. Neuron, 2014; 84: 821-834
- 5.Zhao ZQ#, Huo FQ#, Jeffry J, Hampton L, Demehri S, Kim S, Liu XY, Barry DM, Wan L, Liu ZC, Li H, Turkoz A, Ma K, Cornelius LA, Kopan R, Battey JF Jr, Zhong J*, Chen ZF*. Chronic itch development in sensory neurons requires BRAF signaling pathways. J Clin Invest, 2013;123:4769-4780

合作单位圣路易华盛顿大学是美国著名的私立大学之一, 与该校有关的诺贝尔奖得主有23人。该校的医学院在全美排名前五, 该院获得的NIH资助, 近年来一直排在全美同类院校的前五名。医学院基础和临床研究实力雄厚, 神经、免疫、影像、遗传学等很多学科有着悠久的传统和突出的成果。陈宙峰教授所在的麻醉系是美国麻醉学会主席单位, 是美国麻醉学



科的龙头单位，2014年该系所获NIH基金数量和金额高居全美麻醉学科之首。为促进高度创新的多学科交叉研究，华盛顿大学于2004年发起了 BioMed21重大项目，该项目计划成立10个左右的校级跨学科交叉研究中心（IRC）。已成立的六个交叉研究中心是遗传组学系统生物学中心、BRIGHT影像研究所、生物膜激活紊乱研究中心、女性传染疾病研究中心、心血管疾病研究中心和神经退行疾病研究中心。痒觉研究中心是最新成立的研究中心。这些中心皆由蜚声国际的专家领衔，代表了华盛顿大学生物医学研究的最先进领域和未来医学研究的重要方向。上述各中心主任由医学院院长直接领导，按期讨论中心进展。痒觉研究中心（CSI）隶属于麻醉系，由陈宙峰教授任首任主任，也是国际上首个专门从事痒觉研究的专科中心。中心招收了国内外5名年轻PI及众多研究人员，进行与临床密切结合的跨学科研究。

合作者近5年发表的5篇与本研究项目相关且有代表性的论文题录：

1、Sun YG,Chen ZF， 胃泌素释放肽受体（GRPR）介导脊髓内痒觉感受， 这是Nature 历史上首次发表有关痒觉的论文， 已标注 期刊文章

2、Sun YG,Chen ZF， 痒觉的细胞基础， 该研究为痒觉做为一个不同于痛觉的独立的感觉奠定了理论基础。2011 年这篇论文被ISI 评为“热门”（HOT）文章， 已标注 期刊文章

3、Liu XY,Liu ZC,Sun YG,Chen ZF， MOR1D 通过单相交叉激活GRPR将阿片诱发的痒与镇痛区分开， 这项发现迅速在F1000（国际同行评价杂志）得到了阿片研究领域著名学者的高度评价， 已标注 期刊文章

4、Zhao ZQ,Liu XY,Li JL,Li H,Li YQ,Chen ZF， 5-HT系统通过5-HT1A受体增强GRP-GRPR信号通路从而下行调控痒觉传递， 首先，因感觉到痒而抓痒，继而因抓挠产生痛感；而后，机体因出现疼痛信号释放血清素来控制疼痛，但这些血清素在抑制疼痛的同时，还通过5HT1A受体激活了GRPR神经元，让瘙痒感更加强烈。强烈的瘙痒感又会引发新一轮的抓挠和疼痛，然后周而复始进入循环状态。该研究为打破瘙痒与抓挠这个恶性循环，特别是对牛皮癣以及多种瘙痒症的治疗提供了一种新思路， 已标注 期刊文章

5、Zhao ZQ,Huo FQ,Jeffrey J,Liu XY,Li H,Chen ZF， 感觉神经元在慢性痒刺激下的改变过程需要BRAF信号通路， 为临床上通过抑制BRAF及其下游信号通路来治疗慢性痒提供了实验依据和新的药物靶点， 已标注 期刊文章



国家自然科学基金项目资金预算表

项目申请号/项目批准号: 8161001017

项目负责人: 李云庆

金额单位: 万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目资金	292.1200
2	(一) 直接费用	245.0000
3	1、设备费	9.4000
4	(1) 设备购置费	9.40
5	(2) 设备试制费	0.0000
6	(3) 设备改造与租赁费	0.0000
7	2、材料费	150.20
8	3、测试化验加工费	0.0000
9	4、燃料动力费	0.0000
10	5、差旅费	7.50
11	6、会议费	3.80
12	7、国际合作与交流费	17.50
13	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	13.40
14	9、劳务费	40.00
15	10、专家咨询费	3.20
16	11、其他支出	0.0000
17	(二) 间接费用	47.1200
18	其中: 绩效支出	11.7800
19	二、自筹资金	0.0000



预算说明书（定额补助）

（请按《国家自然科学基金项目资金预算表编制说明》中的要求，对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金、单价 ≥ 10 万元的设备费等内容进行详细说明，可根据需要另加附页。）

本项目累计申请经费：**292.12 万元**

一、项目资金支出（**292.12 万元**）

（一）直接费用（**245 万元**）

1. 设备费（**9.4 万元**）：

为保障本课题研究工作的顺利实施，课题组需要添置多台小型仪器（单价均不超过 5 万元）。该科目支出用于支付在本课题研究过程中购置的专用仪器设备。计划购买以下仪器及配套设备：

- （1）pH 计 1 台（THERMO-0320A2，美国），2.2 万元，为各项实验液体配制必备仪器；
- （2）加样器 5 支套装（Gilson，法国），3.5 万元，为各项实验必备仪器；
- （3）台式离心机 1 台（Eppendorf-5430，德国），1.75 万元，为各项实验常用仪器；
- （4）电子天平 1 台（AND GH-300，日本），1.95 万元，为各项实验常用仪器。

2. 材料费（合计：**150.2 万元**）

（1）实验动物费：（共计 **33.8 万元**）

—C57BL/6J 小鼠购买及饲养费：购买及运输平均单价，20 元/只；饲养平均单价：8 元/只/周，平均饲养周期 6 周。本课题动物使用量总数约 1000 只，共 $1000 \text{ 只} \times (20 \text{ 元/只} + 8 \text{ 元/只/周} \times 6 \text{ 周})$ ，共计 6.8 万元。

—转基因小鼠：国内外引进相关费用 3 万元。饲养平均成本 2 元/只/天，平均饲养周期 120 天。共 $1000 \text{ 只} \times (2 \text{ 元/只/天} \times 120 \text{ 天})$ ，共计 27 万元。

（2）实验用试剂及药品：（共计 **123.9 万元**）

各类抗体 Fos、5-HT、NE、PKC、PKA、GABA、GABA_AR、GABA_BR、VGLUR2、MOR、AMPA、NMDAR、mGluR、ERK、JNK、CaMKII、CREB 等抗体（Chemicon、Abcam、Santa Cruz 等公司）35 个；顺逆行标记用示踪剂，如 BDA、TMR、荧光金、各种腺相关病毒（如 AAV-CaMKII-ChR2-mCherry、AAV-CaMKII-ChR2-mCherry、AAV-hSyn-HM3Dq-mCherry、AAV-hSyn-HM4Di-mCherry 等）等需（Chemicon、Sigma、Santa Cruz 等公司）12 个；行为药理学用多种物质（组胺、GRP、Cowhage、5-HT、ET-1 等），各种受体、细胞因子（组胺受体、5-HT、G 蛋白、钙离子、GABA 受体、NMDA 受体等）的激动剂和拮抗剂（Chemicon、Sigma 等公司）30 个；二抗如羊抗兔 IgG 抗体、豚鼠抗兔 IgG



抗体等（Chemicon、Abcam、Santa Cruz 等公司）30 个；免疫电镜用多品系纳米金标记抗体、银加强试剂盒、钨酸等（Sigma、Chemicon、Abcam、Santa Cruz 等公司）20 个；平均 4000 元/个，需 127 个，总计 **50.8** 万元。电生理实验用各种进口试剂，如蔗糖、氯化钾、缓冲盐、HEPES、ATP、河豚毒素、AP-5、荷包牡丹碱等（Sigma、Chemicon 等公司）15 种，共需 40 个；各种蛋白、神经活性物质及其受体激动剂、拮抗剂，如 PKA、PKC、5-HT、组胺、SP、ENK、EM、VGLUT1/2 甘氨酸、GABA，以及 SPR、5-HTRs、mGluRs 等激动剂或拮抗剂（Chemicon、Sigma 等公司）50 个，平均 4000 元/个，共需 90 个，共需 **36** 万元。购买化学损毁试剂、PE-10 插管需 **10** 万元。电生理用玻璃电极（Sutter 公司）1000 元/盒，需 50 盒，**5** 万元。光遗传实验相关耗材：0.22 数值孔径石英纤芯，玻璃覆层多模光纤，500 米×40 元/米，共计 2.5 万元；PFP 900um 光纤套管及光纤剥除工具，共计 1.5 万元；FC/PC 和 SC/PC 接头抛光盘、氧化铝研磨（抛光）板，共计 1.5 万元；PFP LC 1.25mm OD 多模式陶瓷光纤套头，共计 1.5 万元；其它配件，共计 2 万元。以上合计：**9** 万元。

一其他实验室耗材：载玻片，培养皿。培养板、玻璃容器，移液管，枪头，注射器，一次性口罩、手套、帽子，医用酒精，微量注射器，常用配液试剂（如苦味酸、多聚甲醛、氯化钠、磷酸氢二钠等），刀片，速干胶水，新洁尔灭等消耗性器材与试剂等，共计 **23.1** 万元。

3. 测试化验加工费

无

4. 燃料动力费

无

5. 差旅费（7.5 万元）

用于本课题研究团队的课题骨干参加学术会议产生的食宿、交通费用等，平均每年参加两次国内学术会议（中国解剖学会年会、神经科学年会、生理学会年会等），5 年共 25 人次。其中交通费：1800 元/（次*人）×25 人次=4.5 万元；会议注册费：900 元/（次*人）×25 人次=2.25 万元；食宿费：300 元/（次*人）×25 人次=0.75 万元，共计 7.5 万元。

6. 会议费（3.8 万元）

计划举办课题成员年会 2 次，每次会议日程平均为 2 天，参加人员约为 20 人次，课题负责食宿，住宿：250 人/天×2 天×20 人次=1 万元，餐饮：50 人/天×2 天×20 人×2 次=0.4 万元，共计 1.4 万元；

课题还拟组织专家讨论会 2 次，每次 5 名，会期 2 天：住宿：300 人/天×2 天×5 人×2 次=0.6 万元；餐饮：50 人/天×2 天×5 人×2 次=0.1 万元；交通：平均 1700 人/次×5 人×2 次=1.7 万元，共计 2.4 万元；两项合计会议费 3.8 万元。

**7. 国际合作与交流费 (17.5 万元)****(1) 申请方出国开展合作研究 (13 万元):**

课题 2 名骨干分别赴美国合作方从事合作研究半年, 每人每年支付生活费 5 万元, 往返机票 1.5 万元, 合计 13 万元。

(2) 国外合作方来华开展合作研究 (4.5 万元):

拟邀请美国合作方专家 3 人次来华进行短期的合作和交流。主要指导和交流有关研究工作。根据外国专家局有关的规定和科技部课题管理的有关规定, 本课题组承担其来华交通费和在华期间的食宿费, 交通费 (机票) $1.2 \text{ 万/人} \times 3 \text{ 人次} = 3.6 \text{ 万元}$, 食宿费 $600 \text{ 元/天} \times 5 \text{ 天} \times 3 \text{ 人次} = 0.9 \text{ 万}$, 合计 4.5 万元。

8. 出版物/文献/信息传播费 (13.4 万元)

按照每篇文章版面费、审稿费平均 0.5 万元计, 5 年共计发表 SCI 文章 15 篇, 总计 7.5 万元; 在国内核心期刊发表文章按每篇文章版面费、审稿费平均 0.3 万元, 5 年共计发表 8 篇, 总计 2.4 万元; 申请专利 3 项, 费用 1.5 万元; 文献全文检索、专利查新、网络使用、专业书籍购买等费用 2 万元。以上各项合计 13.4 万元。

9. 劳务费 (40 万元)

主要为没有固定工资收入的研究生和聘用临时工作人员劳务费用。研究生补贴平均 1000 元/人/月计算, 每人工作 8 个月/年, 本课题参与的研究生 6 人, 5 年工作共 240 人月, $1000 \text{ 元/人/月} \times 240 \text{ 人月} = 24 \text{ 万元}$; 聘用临时人员 4 人, 800 元/人/月计算, 每人工作 10 个月/年, 4 人 5 年工作 200 个月, 总计 $800 \text{ 元/人/月} \times 200 \text{ 个人月} = 16 \text{ 万元}$ 。以上两项合计 40 万元。

10. 专家咨询费 (3.2 万元)

拟聘请 10 位疼痛或痒觉领域的专家对本课题进行指导和评估, 它们的建议和指导对本项目的正常进行和全面系统性均是必不可少的。 $10 \text{ 人} \times 800 \text{ 元/天} \times 4 \text{ 天} = 3.2 \text{ 万元}$

11. 其他支出 (0 万元)

无

(二) 间接费用 (47.12 万元)

主要用于本单位相关科研管理机构管理费用及绩效支出。按国家规定扣除, 预算经费 47.12 万元, 其中绩效支出 11.78 万元。

二、 自筹经费 (0 万元)



报告正文

（一）立项依据

1. 研究意义及科学依据

痒（itch, 又称为pruritus）是由许多皮肤病和全身性疾病引起的一种使人不愉悦的主观症状，常伴有搔抓行为。痒常常是一种急性、短暂的感受，如被蚊子叮咬后的痒；但也可以是一种慢性、长期的症状，如患有特异性皮炎（atopic dermatitis, AD）后的全身瘙痒。前者的生理意义在于对机体的自我保护，从而使人体免受外界有害因素的伤害；后者则丧失了保护作用，更多的是对人体造成危害。产生痒的刺激分别来自局部、外周或全身性，特别是慢性瘙痒，常继发于部分器官衰竭或者是肿瘤，如肾衰竭、肝脏衰竭及胆汁阻塞等^[1-3]，它们所导致的慢性瘙痒常常极其顽固，严重危害患者的身心健康和生活质量，使其处于极度痛苦的状态，成为临床实际工作中亟待解决的问题^[1-3]。

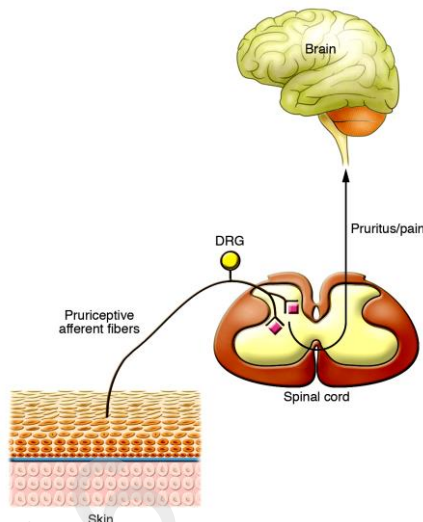


图1 非特异性痒觉传递通路

长期以来，由于人们对痒觉信息产生、传递和调控的机制缺乏了解，致使很多人都认为痒觉和痛觉的外周感受器相同，痒觉不过是痛觉的微弱反映而已（图1），这些错误认识致使我们常常忽略对痒觉信息产生、传递和调控机制的研究。虽然很多人都认为组胺（histamine）是最常见的痒刺激因素，然而抗组胺的治疗对绝大部分的慢性痒却无效，导致目前临床上仍然缺乏对瘙痒，尤其是慢性瘙痒的治疗手段。鉴于以上原因，人们一直在努力寻找中枢神经系统内与痒觉相关的特异性介质和传导通路^[1-3]。值得庆幸的是，我们的合作伙伴——美国圣路易斯华盛顿大学的陈宙峰教授于2007年在Nature发表文章，报导了脊髓背角内发现了第一个特异性参与痒觉信息传递的受体——胃泌素释放肽受体（gastrin-releasing peptide receptor, GRPR）^[4]。通过选择性地损毁小鼠脊髓背角的GRPR神经元，进一步证实GRPR对组胺能和非组胺能痒觉信息传递是必须的，而对痛觉信息传递却没有影响^[4]。以此为基础，他们提出了脊髓背角中存在向大脑传递痒觉信息的“专门通路”（labeled line）的假说。上述结果和该假说发表在2009年的Science上，也受到了广泛的认可^[5]。另一方面，脊髓背角I层内的GRPR阳性神经元属于痒信息传导路上的第二级神经元。已有的证据表明GRPR阳性痒觉感受神经元与热性痛刺激和机械性痛觉刺激感受神经元不同^[6]。因此，GRPR受体为痒觉信息的特异性传递和瘙痒症的治疗提供了重要的靶点，该发现已成为痒觉研究的里程碑和继续探索的重点。

脊髓背根节（DRG）内含P物质（SP）的神经元在痛信息的传递过程中发挥重要的作用，脊髓背角I层内的投射神经元几乎均为P物质受体（NK1R）阳性神经元^[7-9]。我们最近的研究



结果表明NK1R阳性脊丘束神经元构成的痛觉传递通路也与痒觉信息传递有关^[10, 11], NK1R和GRPR几乎不在同一个神经元内表达^[12], 提示它们可能属于不同类别的神经元(图2)^[13], 即NK1R阳性神经元属于投射神经元, GRPR阳性神经元属于中间神经元; GRPR阳性神经元接受外周的痒觉信息, 再将其传递给NK1R阳性神经元, 最终经由后者传递到脊髓以上的脑结构^[13]。我们以往的研究提示脊髓背角内的NK1R阳性神经元投射到丘脑腹后外侧核、下丘脑外侧区、丘脑板内核等核团^[7-9]。但从间脑往皮层的痒信息传递通路则几乎为空白。

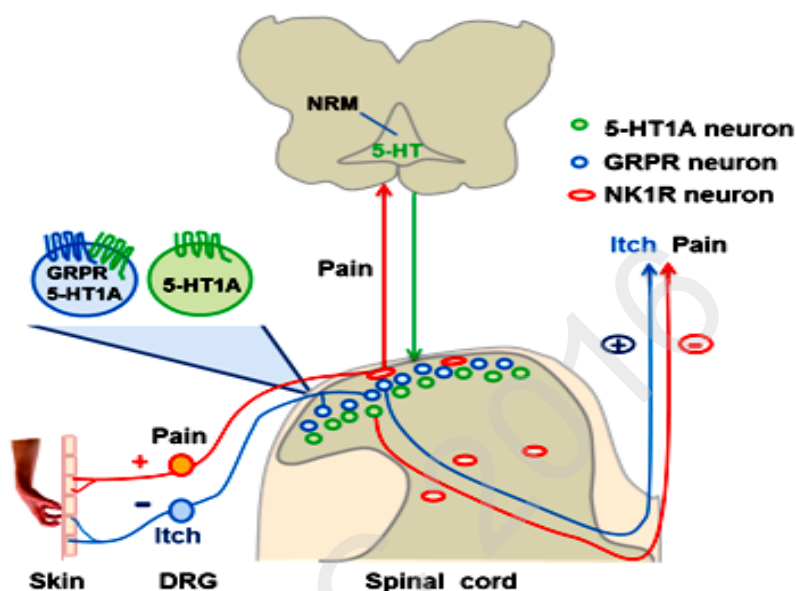


图2 外周和脊髓内与痛和痒信息传递和调控有关的神经通路、神经元种类、神经活性物质及其受体(引自我们合作发表的论文 *Neuron*, 2014; 84(4):821-834^[13])

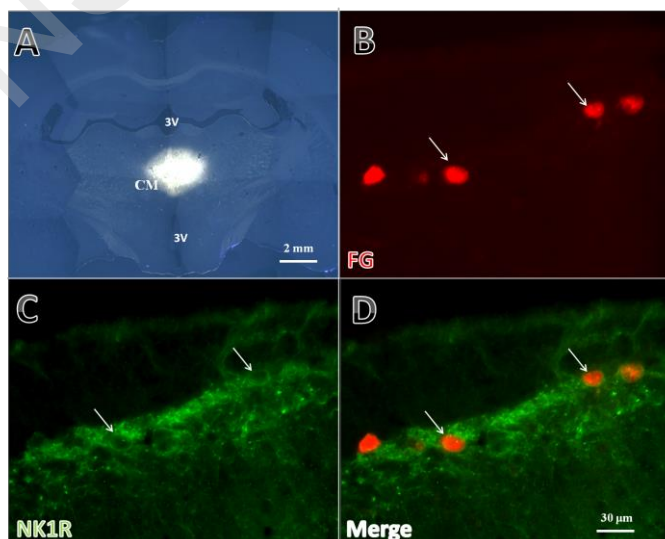


图3 将荧光金(FG)注射到小鼠丘脑中央内侧核(CM)后在脊髓背角浅层内观察到的红色FG逆标神经元, 其中的部分FG标记神经元呈NK1R阳性(箭头)。(待发表)



影像学研究成果提示, 大脑皮层参与慢性痒觉刺激激活的区域与慢性痛刺激时非常类似, 而反应不同的区域主要局限在扣带后回 (posterior cingulate cortex, PCC)、屏状核 (claustrum, Cl) 等部位^[14,15], 其中以PCC最为显著; 提示这些区域与痒觉特异性的感受或搔抓反射等有更密切的关系, **扣带后回和屏状核可能是痒觉感受或搔抓反射的特异性区域或中枢**。当然, 为了阐明痒觉信息传递通路及其调控机制, 首先应该研究从间脑往皮层的痒觉信息传递通路; 其次研究PCC和Cl与其他有反应脑区的联系和相互影响; 最后, 影像学资料和我们前期Fos痒觉特异性反应脑区普查结果可能参与了痒觉的感知、传递和调控是与痛觉感知和痛情绪密切相关的核团, PCC和Cl与IC、扣带前回 (ACC) 等脑区之间以及IC与其他皮层区域之间的联系和在痒觉信息传递或调控中的作用也值得深入探索。

有人用影像学方法观察到伤害性冷刺激对痒觉具有调控效应并伴有中脑导水管周围灰质 (PAG) 区域的激活和扣带前回等皮质区域兴奋性活动的减少, 仅仅给予痒刺激则不影响PAG活动^[16]。PAG区域是中枢内源性痛觉调控系统的起源部位, 该结果提示**PAG可能对痛信息和痒信息的传递均具有调控效应**。然而, 中枢内是否存在内源性痒觉调控系统, 该痒觉调控系统是如何构成的, 仍是尚未阐明的问题。

蛋白激酶A (PKA)、PKC等细胞内信号通路的激活对于痛觉的感受和调控关系密切。而痒觉相关的信号通路的研究才刚刚开始, 如有人^[17]在急性痒模型动物观察到ERK信号通路的活化在脊髓背角神经元对痒刺激的感受和传递过程中发挥着关键作用。但痒信息在中枢传递和调控过程中是否涉及到其他信号分子, 这些分子的变化对痒信息的传递和调控是否发挥影响? 则仍是尚未解决的重要问题。

综上所述, 尽管痒觉研究的热潮刚刚兴起, 但与国际上近年来痒觉研究迅速发展且成为感觉神经领域的一大热点相比, 国内则鲜有痒觉方面的研究^[18]。**鉴于以上原因, 我们拟与美国华盛顿大学陈宙峰教授实验室合作, 综合采用现代神经科学研究方法, 以揭示PCC为痒信息的感受中枢以及以其为核心的神经环路参与痒觉信息传递与调控的细胞和分子机制为关键科学问题, 进行集中研究。**

我们国内参加研究的团队多年来致力于痛觉的中枢调控机制的研究, 具备良好的研究水准和丰富的研究经验, 相关的研究已经获得了2009年国家科技进步一等奖。在此基础上, 我们希望能进一步通过与华盛顿大学痒觉研究中心的密切合作, 更多地发挥我们在形态学等研究领域的优势, 借助先进的现代神经生物学研究技术、特异性突出的动物模型和转基因动物, 力争阐明痒觉信息传递的神经通路和调控机制。主要的目的是搞清痒觉传递的神经通路、痒觉信息导致的突触可塑性变化以及痒觉调控细胞和分子机制, 甄别痒觉与痛觉信息传递通路和调控机制的异同, 最终为慢性、顽固性瘙痒症的临床治疗和药物研发提供理论依据。

2. 国内外研究现状分析

1) 痒觉传递的外周机制



外周性瘙痒主要由种类繁多的致痒因子引起，它们包括组胺（histamine）、组胺释放因子、5-羟色胺（5-HT）、前列腺素、血小板激活因子、血管舒缓素、白介素2（IL-2）、蛋白水解酶、P物质（SP）等。

组胺是人类发现的第一个与瘙痒有关的重要物质，它主要存在于肥大细胞内的异染性颗粒，释放后作用于H1受体，引起通常伴有皮肤潮红和风团的瘙痒，是大多数荨麻疹的主要致痒介质。传导组胺致痒的神经纤维属于无髓C纤维，它的游离神经末梢是痒觉感受器。与通常的C纤维不同的是，它对胺类致痒因子敏感，但对机械性刺激无应答或低反应。目前已知参与痒觉感知的组胺受体有H1R、H2R、H3R和H4R，其中H1R发挥主要作用^[1]。H1R活化后可以激活细胞内的磷脂酶C（PLC），进而引起内质网内Ca²⁺的释放，也可激活磷脂酶A2（PLA2）和脂氧酶（LOX）^[12]。H1R可通过离子通道TRPV1的活化发挥效应，给予TRPV1的拮抗剂可使组胺引起的Ca²⁺释放减弱。TRPV1基因敲除小鼠对注射组胺引起的瘙痒反应明显减弱。只有当TRPV1和H1R在HEK293细胞中共表达时，组胺才能引起细胞内的电流^[19]。

以往对于痒的研究主要集中于组胺致痒的机制，而慢性瘙痒主要是非组胺能的。目前，对于非组胺能瘙痒的机制研究相对较少。Cowhage（刺毛黧豆）属于非组胺介导的致痒原，刺入到皮下后可以产生强烈的瘙痒。Cowhage的致痒成分是一种半胱氨酸型的蛋白水解酶，称作Mucunain（黧豆蛋白酶）^[20]；与组胺激活对机械性刺激不敏感的C纤维不同，Mucunain主要激活对机械刺激性敏感的C纤维^[21]；组胺和Cowhage均能激活脊髓背角I层神经元。另外，Cowhage引起的瘙痒不伴有风团和潮红。Cowhage主要通过激活蛋白酶激活受体2（protease activated receptor, PAR2）和PAR4致痒^[22]。但PAR2和PAR4下游相关的致痒机制仍不清楚。

5-HT是尿毒症瘙痒的主要炎症介质，它通过作用于离子型5-HT₃受体，使Ca²⁺向细胞的内流增加，导致皮肤感觉神经纤维兴奋，引起瘙痒。P物质（SP）是一种致炎性的神经肽，高浓度的SP能使肥大细胞脱颗粒释放组胺，引起瘙痒和皮损；低浓度的SP则激活肥大细胞上特异性的NK1受体，使肥大细胞致敏释放肿瘤坏死因子（TNF）家族的成员，其中TNF- α 可作用于神经末梢的伤害性感受器并引发瘙痒^[23]。

胃泌素释放肽（gastrin-releasing peptide, GRP）是一种含有27个氨基酸的肽，属蛙皮素家族。GRP广泛分布于中枢与周围神经系统。发自背根节（DRG）内GRP阳性神经元的初级传入终末不仅分别分布于脊髓背角浅层（I、II层）和外周组织，而且参与痒信号在脊髓水平的传递。小鼠皮下注射GRP₁₈₋₂₇可引起剂量依赖的搔抓；在慢性皮炎所致瘙痒的模型鼠，其表皮和真皮内的GRP阳性纤维增多；肥大细胞释放的组胺和丝氨酸蛋白酶在皮肤给予GRP引起的瘙痒反应中发挥重要作用^[24]。此外，大约80%的GRP纤维同时表达TRPV1，并投射至脊髓背角I层^[1]。也有人观察到GRP与TLR7（Toll-like receptor 7）共表达，而TLR7对于氯喹、PAR2激动剂、ET-1、5-HT和咪喹莫特引起的搔抓是必需的^[25]。这些结果都说明外周的痒觉信息产生和传递均有复杂的机制。因此，阐明痒觉信息产生和传递的机制，对于揭示慢性、顽固性瘙痒症的发生机制和临床治疗来说，具有十分重要的意义。



2) 痒觉传递的中枢机制

关于痒觉传递的中枢机制的研究目前仍处于初始阶段,且存在较大的争议。一般认为当皮肤被致痒因子(组胺)刺激后,一种特异的C纤维将冲动传至脊髓背角浅层痒觉特异性投射神经元,然后通过脊髓丘脑束传至丘脑的板内核,最后到达大脑皮层的痒觉感受区^[26]。但后来的研究证实这类“特异性C纤维”及“特异性痒觉传递神经元”也可传递痛觉,而非真的特异性^[27]。因此,定位痒觉特异性感受和传递神经元及其在脊髓以上的中枢投射部位,并找到其内的特异性的痒觉传递介质一直是人们亟待解决的首要问题。

陈宙峰教授课题组的研究发现胃泌素释放肽受体(GRPR)在介导脊髓背角痒觉信息传递及感受中发挥重要作用。胃泌素释放肽(GRP)特异表达于DRG的小肽能神经元,而它的受体GRPR则局限表达于脊髓背角浅层,尤其是I层^[1];在GRPR基因敲除小鼠,皮内注射致痒剂48/80复合物、PAR2激动剂和氯喹后,小鼠的搔抓行为明显减弱;注射5-HT、组胺和ET-1后则没有明显变化;但GRPR基因敲除的小鼠对热、机械性和化学性的痛刺激与野生型小鼠的行为学表现无明显区别。随后,他们采用神经元毒剂皂草素(saporin)与蛙皮素结合特异性损毁脊髓背角浅层GRPR阳性神经元后,观察到小鼠对所有组胺能或非组胺能致痒原引起的搔抓行为均消失,但却不影响小鼠的痛觉感受^[27]。这些结果都说明**GRPR阳性神经元对非组胺能痒觉信息传递来说非常重要,但对组胺能痒觉信息的传递却不是必须的,与痛觉信息的传递也无关**。上述结果为脊髓背角中确实存在专门向大脑传递痒觉信息的“专门通路”(labeled line)提供了证据^[28]。尽管近期有研究者就GRP与SP在脊髓的交叉反应展开讨论,对GRP在脊髓是否是痒觉传递特异性的神经递质进行质疑,但是我们与美国陈宙峰实验室近期展开的合作研究,从多方面证明并确立了GRP的特异性及GRP-GRPR通路在脊髓水平痒觉信息传递、整合和调控中的重要作用。相关论文已被《Molecular Pain》杂志接收,即将发表^[29]。

GRPR阳性神经元主要位于脊髓背角II层,少数位于I层,约占I层神经元的25%,而I层内投射神经元仅占5-10%^[7-9];我们利用GRPR-eGFP和GRPR-Cre小鼠,通过逆行示踪技术也证实GRPR神经元大多为中间神经元。脊髓背角I层中有大约80%-85%的脊丘束神经元表达P物质(SP)受体,即neurokinin 1 receptor(NK1R),损毁脊髓背角的NK1R神经元后,5-HT引起的搔抓动作和慢性痛行为均减弱^[13]。这些结果说明GRP能初级传入纤维传递的痒觉信息中的一部分经过GRPR阳性中间神经元中继,再兴奋NK1R阳性投射神经元,向高级中枢(如丘脑腹后外侧核、板内核等)传递痒觉信息^[7-9]。

去年,我们与美方实验室合作在《Neuron》发表的论文发现来自脑干5-HT能下行投射纤维释放的5-HT与5-HT_{1A}R结合,通过增强GRP-GRPR信号系统的活动,对痒觉信息的传递发挥易化作用^[13];特异性损毁延髓吻端腹内侧区(RVM)内的5-HT能神经元或脊髓内的GRPR阳性神经元后,对脑干实施刺激后对痒觉信息的易化作用便消失或对5-HT诱发的非组胺能搔抓行为和镇痛效应均无影响,提示NK1R阳性神经元和GRPR阳性神经元可能为不同类别的两类神经元^[13]。该文章中所有形态学研究的结果(荧光双标染色结果、神经示踪、透



射和免疫电镜的结果)均为我们课题组在国内完成。

目前,对于痒信息的传导通路来说,尚缺乏脊髓以上水平的通路及其细胞和分子机制研究。人们大多利用影像学技术对痒觉感受高级中枢进行观察,结果显示丘脑、第一和第二躯体感觉皮层(S1和S2)、顶叶皮质后部、颞上回和颞中回、扣带前回(ACC)、扣带后回(PCC)、楔前叶和楔叶、前额叶皮质、屏状核、基底节、壳核、岛叶等脑区与痒觉的感受相关^[14,15,30,31]。此外,运动前区、辅助运动区、小脑等运动调控区在痒觉的搔抓活动调节方面也发挥作用^[14,15,30,31]。但这些影像研究存在两个缺陷:一是缺少必要的精确度,比如用现有的影像技术不可能对微小的GRPR阳性痒觉特异性神经元就进行直接观察;二是这些研究基本上都是应用组胺作为致痒原进行测试,而大多数顽固性痒是由非组胺致痒原引起的。因此,这些研究关于**大脑没有明确和固定的痒觉感受及调控中枢的结论是不可信的**^[32]。随着GRPR神经元的发现以及光遗传学技术的成熟,已能够在小鼠中对这些神经元及其传递通路进行病毒标记,相信痒特异脑区的发现应该不会遥远。

3) 痒觉信息传递的调控机制

关于痒觉调控,尤其是在高级中枢水平的调控研究才刚刚起步。如前所述,影像学研究已证实许多脑区均参与痒觉感受或搔抓反射,但目前仍不能确定究竟是些脑区参与了痒觉的调控。比较与痛感受和与疼痛有关的脑区以及痒感受或搔抓反射有关的脑区,两者的区别主要是扣带后回(PCC)、屏状核(CI)等部位在痒觉感受或搔抓反射时能观察到更明显和更集中的反应活动^[14,15,29,30],说明它们可能是痒觉感受或搔抓反射的中枢。我们前期的束路追踪结果证实,与痒觉感受有关的PCC、ACC、IC、CI等与中脑导水管周围灰质(PAG)、蓝斑(LC)等参与下行调控的脑区有纤维联系,但需要进一步寻找功能性证明。

有人在用fPET检测伤害性冷刺激对痒觉的调控效应时观察到此时PAG被激活,该激活效应伴随着扣带前回、前额叶皮质背外侧区及顶叶皮质区域活动的减少;而单独施加痒刺激时则未见PAG的活动变化^[16]。该结果提示**在内源性痛调控系统发挥重要作用的PAG区域可能对痛信息和痒信息的传递均具有重要的中枢调控效应**。我们长期从事起源于PAG的中枢痛觉下行调控系统的探索,揭示了下行抑制系统的起源、构成及其信号传递物质,特别是发现该系统在脊髓构成的3种环路,阐明了其镇痛的机理^[33]。然而,中枢内是否存在内源性痒觉调控系统的问题尚未解决。如果能找到这个系统,并揭示其通路构成和调控机制,将会为激活该系统治疗瘙痒和制定瘙痒的临床治疗策略提供理论依据,为止痒药物研发奠定基础。

4) 痒觉与痛觉的关系研究

长期以来,神经科学界一直认为痒只是痛的一种表现形式,是一种轻微的痛感受,即“痒痒不分家”。然而随着研究的不断深入,人们逐渐认识到痛与痒之间存在着很多的不同,渐渐地痒与痛区分开来。比如人们观察到皮肤温度升至41摄氏度时可以止痒,但不止痛;除去表皮和真皮的表层,可消除瘙痒,但不能去除疼痛。这些都说明痛与痒的外周机制确有不



同^[25]。尽管目前人们常常将痛觉与痒觉明显区分开来，但它们之间却存在较多的交互作用和联系，如搔抓皮肤可以止痒。许多经典的炎性介质不但可使痒觉感受器活化，产生痒觉，也可使痛觉感受器急性敏化，从而增强痛觉感受。这些事实都提示我们**不能只专注于痛与痒的孤立研究，还要关注它们之间的交叉作用与相互影响。**

为什么搔挠可以止痒？目前人们普遍认为搔抓会刺激同一皮肤部位的各种疼痛和触觉感受器，从而干扰瘙痒感受的传达。与人体许多感觉系统一样，痛觉和触觉感受器被激活，就会产生“周围抑制”效应，阻止痒感受器发出的痒信号，于是痒感就被短暂地“关闭”掉了。但搔抓又可以增加炎性介质释放和刺激C纤维，从而导致更强的瘙痒和更多的搔抓^[25]。

关于吗啡镇痛引发瘙痒的机制也已于最近取得重要突破。2011年陈宙峰教授实验室发现 μ -阿片受体（MOR）的MOR1D亚型对于吗啡诱导的搔抓（morphine-induced scratching, MIS）是必需的，而MOR1亚型则是吗啡诱导的镇痛（morphine-induced analgesia, MIA）所必需的^[17]。在脊髓，MOR1D和GRPR构成异二聚体，传递瘙痒信息。吗啡可以同时触发GRPR和MOR1D的内化，而GRP只特异性触发GRPR的内化，引起吗啡非依赖的搔抓。抑制GRPR下游效应因子PLC β 3和IP3R3，可特异性地阻断MIS，而不能阻断MIA。此外，阻断MOR1D-GRPR的结合可减弱MIS，而对MIA无影响^[17]。这些研究结果表明阿片引起的瘙痒是与阿片镇痛相伴但却相对独立的激活过程，并通过单向交叉激活MOR1D-GRPR异二聚体的GRPR信号实现。这些结果为在不影响阿片镇痛效果前提下调控其引发的瘙痒提供了依据，将有助于研发新型药物和治疗策略，减少使用吗啡进行癌症治疗和外科手术引发的瘙痒。

关于痛觉的外周和中枢机制已有很多研究，远比痒觉研究要深入得多，而痒觉的中枢机制则处于刚刚起步阶段。我们以往综合运用多种神经形态学研究方法对脊髓背角浅层内特异性传递痛觉信息的NK1R神经元在延髓和脊髓背角内的分布、向上位脑结构的投射及其参与构成的局部环路进行了大量研究^[7-9]，观察到位于脊髓背角的NK1R阳性神经元主要投射至对侧丘脑的腹后外侧核、后核群、板内核，丘脑下部外侧区及双侧臂旁外侧核；脊髓背角向丘脑投射的NK1R阳性神经元接受来自外周的SP能终末中枢下行的5-HT能终末的共同调控。我们还对下行痛调控系统的构成、通路、神经递质及受体、相关分子及信号转导机制进行了系统研究，取得了突出的成绩。这些研究与本项目将要开展的痒觉信息传递与调控通路方面的研究有很多相似之处。因此，我们与美方在合作研究方面存在很多共同感兴趣的问题，并能够做到强-强联合和优势互补。

5) 预实验结果

2010年以来，我们在对痛与镇痛机制研究的基础上，逐步开展了对痒信息传递与调控方面的研究，特别是我们与美国华盛顿大学痒觉研究中心的陈宙峰教授实验室合作，**以脊髓以上水平的痒信息传递和调控环路及其作用机制为关键科学问题**，综合采用现代神经科学研究方法，对中枢内痒觉信息传递通路及其调控机制等内容进行了研究。主要结果如下：

（1）中枢内参与痒觉信息传递和调控神经通路和高级中枢的研究



激活即刻早期基因*c-fos*能够表达FOS蛋白，FOS的表达是用形态学变化显示神经元功能活动变化的最常用且可靠的指标，FOS表达量的增减常作为神经元活动状态的标志物。我们用FOS为指标，观察了不同的急性或慢性痒觉刺激动物模型中痒觉刺激条件下FOS的表达和变化，并与我们以往在不同痛觉动物模型上见到的FOS表达情况进行对比，期望以此为线索，探寻中枢内参与痒觉信息传递和调控的神经通路和中枢，并试图借此甄别中枢内痒觉信息传递和调控通路和中枢与痛觉信息传递和调控通路和中枢的异同。然后，利用神经束路示踪技术，重点观察了中枢内与痒觉信息传递和调控有密切关系结构和核团的纤维联系，为阐明中枢内参与痒觉信息传递和调控神经通路和中枢奠定形态学基础。

在不同的痒觉刺激模型动物的许多中枢结构内，我们都观察到了FOS的表达，这些部位和结构内的FOS的表达量随着时间发生变化，但表达和变化的趋势与痛觉刺激时很相似，我们只是在慢性痒模型动物的扣带后回（PCC）、屏状核（Cl）、岛叶（IC）等结构内观察到FOS神经元的数目明显增加（图4）。

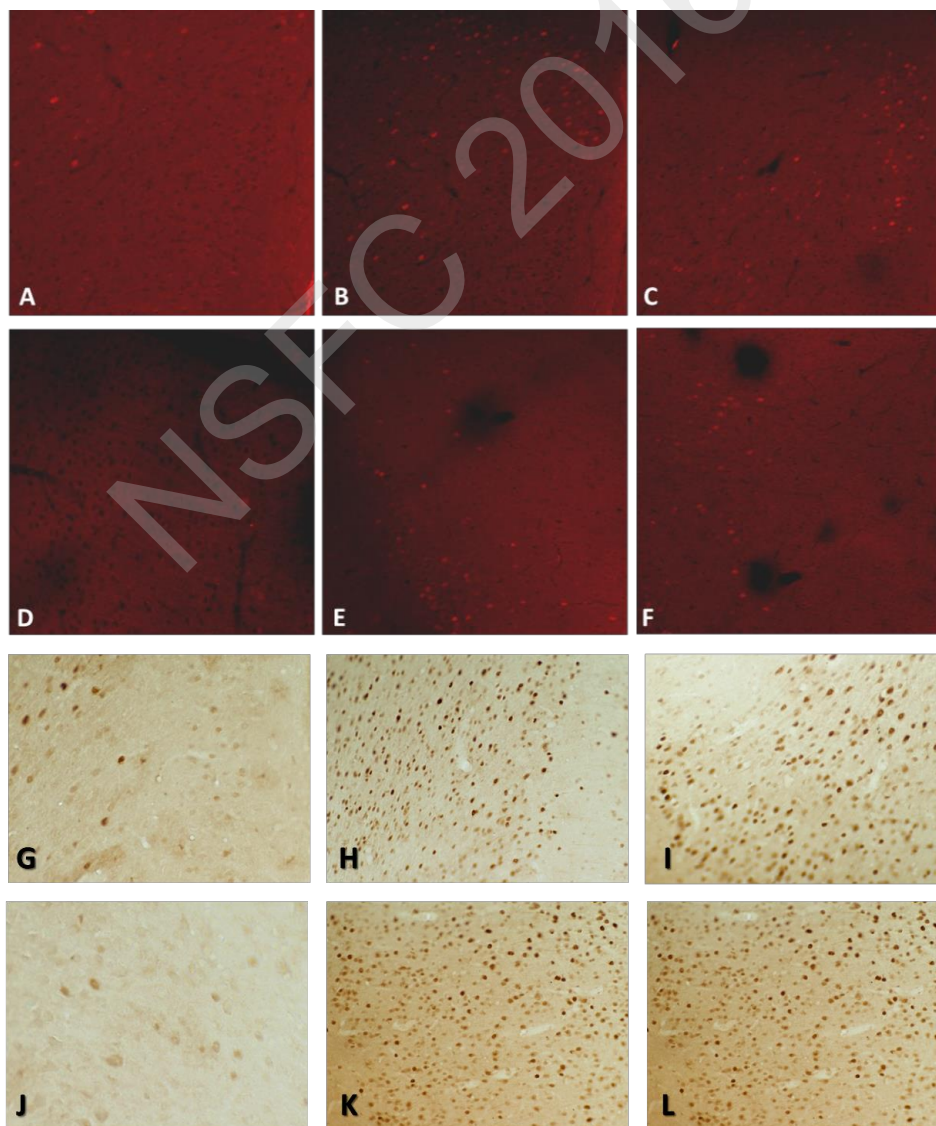




图4 FOS在急性和慢性痒刺激模型动物PCC和CI内神经元的表达和分布。A、D、G、J为空白对照的结果；B、E、H、K为颈背部皮下注射组胺（4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ）急性痒模型的结果；C、F、I、L为DNFB过敏性接触性皮炎慢性痒模型的结果。A、B、C为PCC内神经元的FOS表达情况；D、E、F为屏状核内神经元的FOS表达情况；G、H、I、J、K、L是与免疫荧光组织化学染色结果相邻切片的免疫组织化学DAB呈色显示的结果。

在利用FOS表达作为有力工具观察了中枢内与痒觉信息传递和调控有密切关系结构和核团的基础上，我们分别利用神经束路逆行和顺行示踪技术，重点对扣带后回（PCC）（图4，5）的传出和传入纤维联系进行了观察。当将逆行示踪剂荧光金（fluorogold, FG）经过压力注射入PCC（图5A）后，FG逆行标记神经元的分布区见于大脑皮层、皮层下结构、间脑和脑干。这些结构包括VO（腹侧眶皮质），PrL（边缘前回），ACC（扣带前回），CI（屏状核），PV（室旁核），Re（连结核），Rh（菱形核），VA（丘脑腹前核），VL（丘脑腹外侧核），LH（下丘脑外侧区），BLA（基底外侧杏仁核），VTA/SN（腹侧被盖区/黑质），DR（中缝背核）以及LC（蓝斑）等区域（图5）。

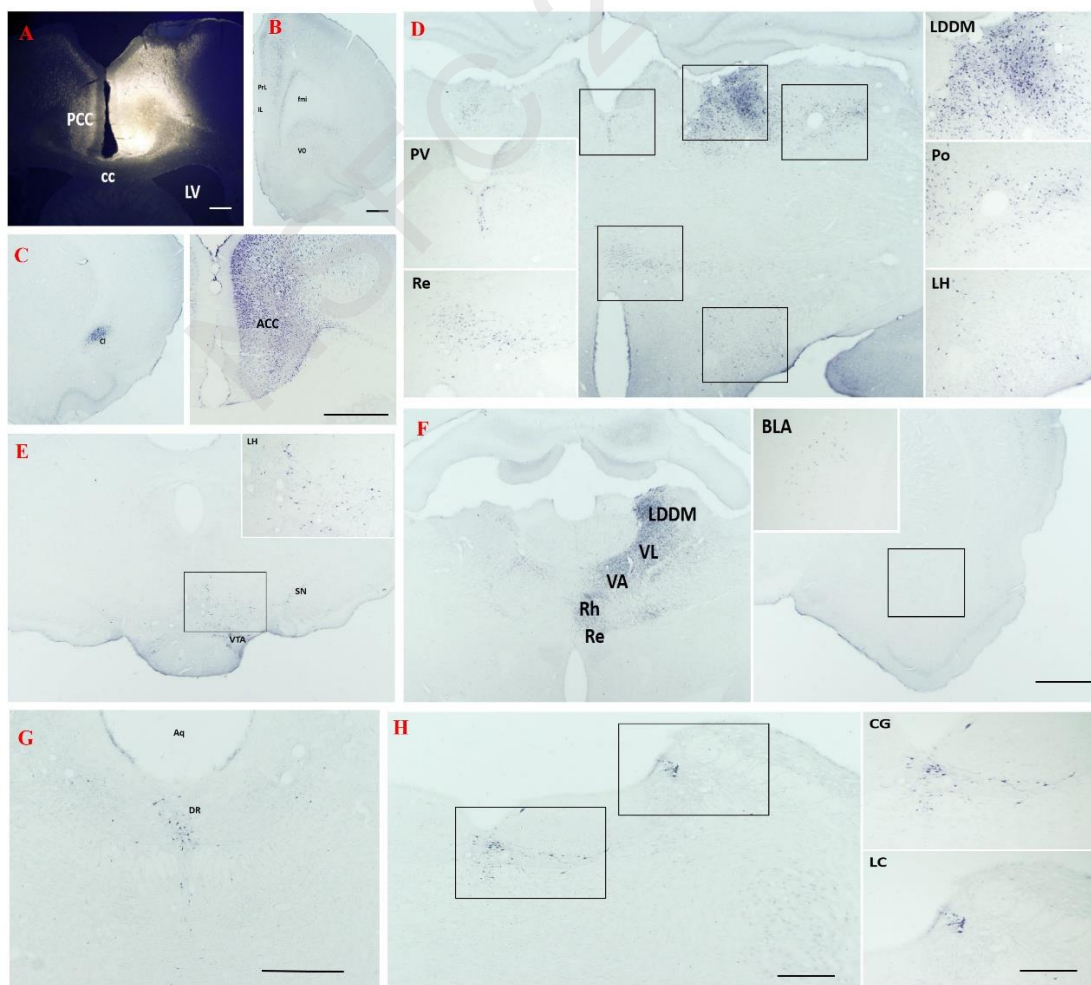




图5 将逆行示踪剂FG注射入大鼠PCC后，脑内FG逆行标记神经元分布的主要核团和区域。**A:** 注射区，显示FG的注射区准确地定位在PCC；**B, C, D, F**示前脑、皮层下结构和间脑等部位FG逆行标记神经元的主要分布区；**E, G, H**示FG逆行标记神经元在脑干的主要分布区。

当将顺行示踪剂刀豆凝集素（PHA-L）用电泳的方法注射入PCC（图6A）后，PHA-L顺行标记的神经纤维和终末的主要分布区也见于大脑皮层、皮层下结构、间脑和脑干。这些结构包括ACC（前扣带回），Acb（伏核），PrL（边缘前回），IL（缘下回），BLA（基底外侧杏仁核），vlPAG（腹外侧中脑导水管周围灰质）以及RVM（延髓头端腹内侧区）等区域（图6）。

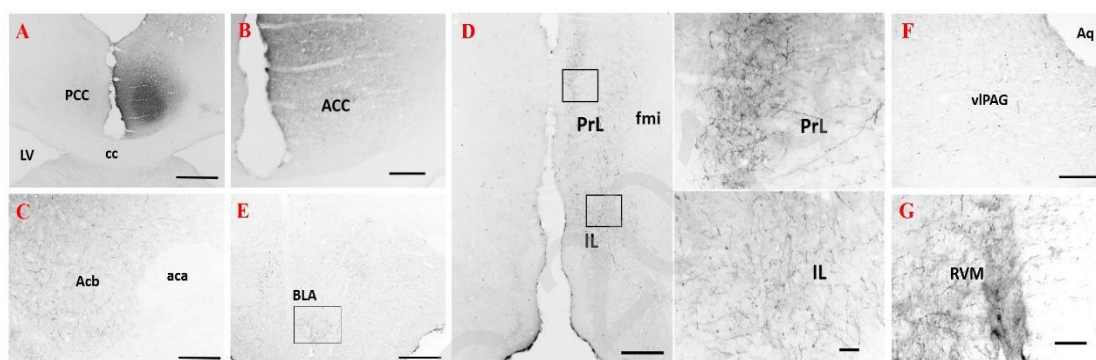


图6 将顺行示踪剂PHA-L经电泳注射入大鼠扣带回（PCC）后，PHA-L顺行标记的纤维和终末在主要见于核团和区域。**A:** 注射区显示PCC内的PHA-L电泳注射区；**B, C, D, E, F, G**显示PHA-L顺行标记的纤维和终末的主要分布区。

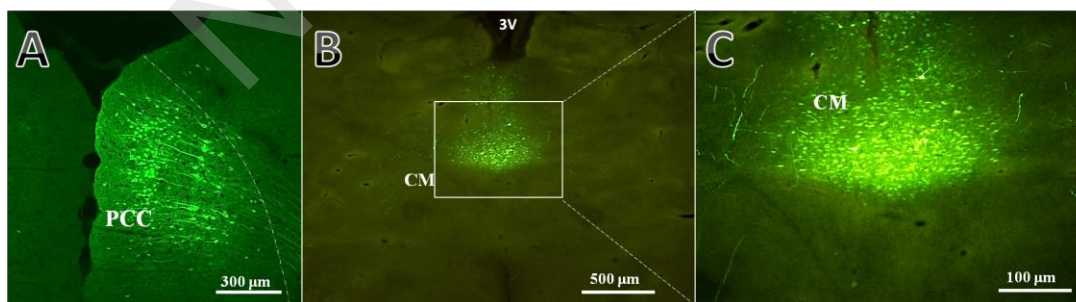


图7 逆标病毒注射入PCC，在丘脑板内核团的中央内侧核（CM）内观察到的逆标神经元

以上结果说明在脊髓以上的高级中枢，痒觉和痛觉刺激信息的神经传导通路和中枢既有密切联系，又有其自身的特点，其中，PCC、CI等核团可能是痒觉刺激信息传递通路的关键结构，甚至可能发挥着痒觉信息感受中枢的作用。



(2) 慢性痒刺激导致中枢结构和功能的可塑性变化

我们用免疫电镜包埋前染色(图8)和冰冻蚀刻技术(图9)分别观察了对照组和慢性痒刺激组小鼠PCC内突触后膜上NR2B受体的变化。结果表明,慢性痒刺激模型小鼠PCC内突触后膜上的NR2B受体较对照小鼠明显增加(图8,9)。该结果强烈提示慢性痒刺激能够引起PCC内神经元的活性发生变化,NR2B可能在较长一段时间里依然处于一种相对的高活性状态。而进一步的非伤害性刺激则能够激活这些活性增高的神经元。兴奋性谷氨酸受体的过表达明显增强了PCC内神经元的活动,从而增强了动物对于痒刺激的行为反应。

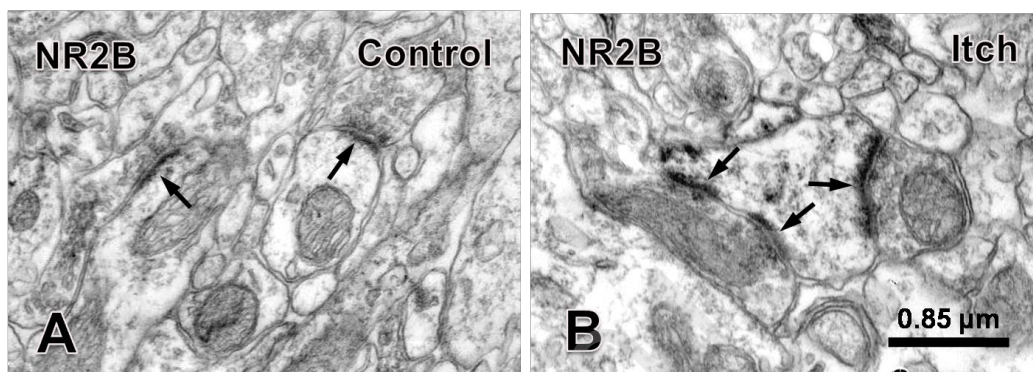


图8 免疫电镜显示对照(A)和皮下注射5-HT致痒小鼠PCC内突触后膜上NR2B受体的变化。

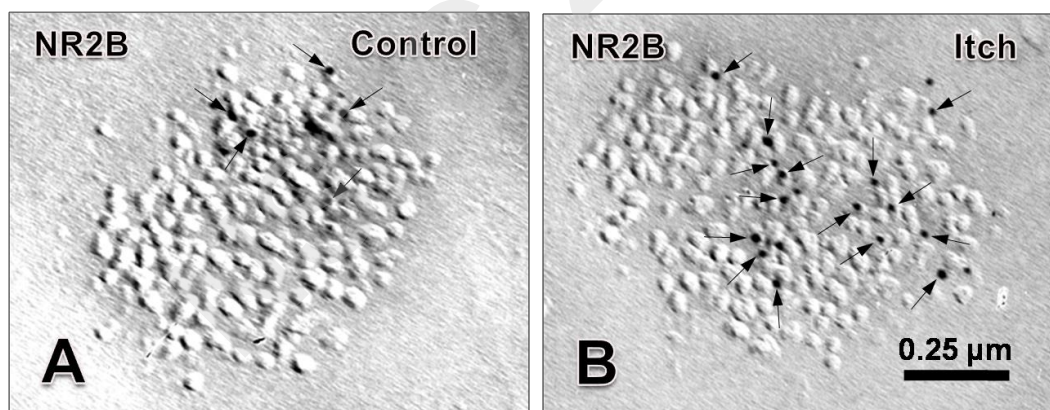


图9 冰冻蚀刻电镜显示对照(A)和皮下注射5-HT致痒小鼠的扣带后回(PCC)内突触后膜上NR2B受体的变化(黑色颗粒标记显示NR2B的数量)。

我们用多电极阵列分析系统初步观察了慢性痒刺激对小鼠扣带后回内神经元的长时程放电增强(LTP)效应的影响。结果表明,在假手术和急性痒刺激组动物,θ波高频电刺激(TBS)可以增强快速兴奋性突触后电位(fEPSP),产生LTP现象;而在慢性痒刺激模型小鼠,慢性痒刺激却能够排除(occlude)TBS诱发的LTP现象(图10)。

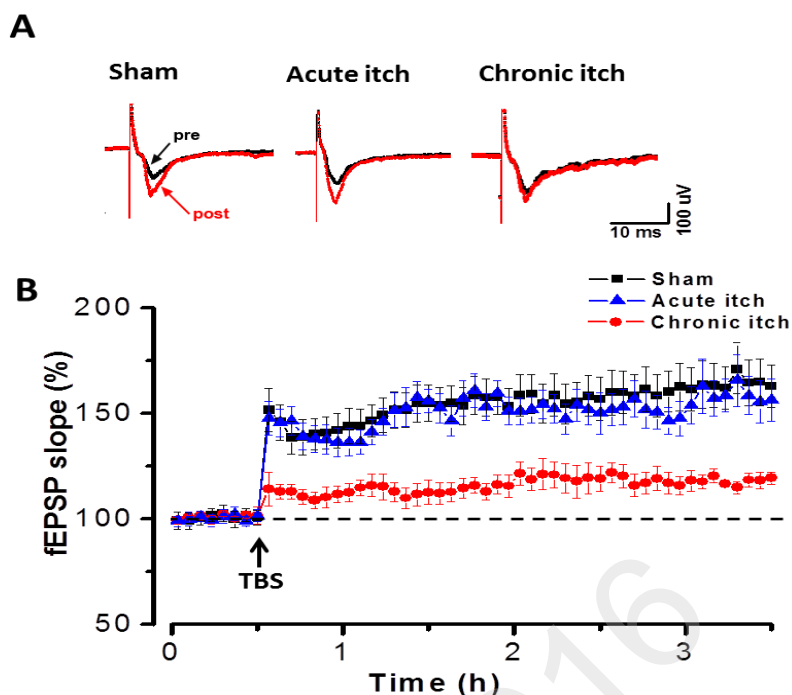


图10 慢性痒刺激排除了PCC内神经元的LTP。A：示假手术组（Sham）、急性痒（Acute itch）及慢性痒刺激组（Chronic itch）小鼠在0波高频电刺激（TBS）前后的fEPSP变化。在假手术和急性痒刺激组，初始fEPSP较小，TBS可以增强fEPSP。在慢性痒刺激组，初始fEPSP即较大，TBS难以进一步增强fEPSP，说明慢性痒刺激排除（occlude）了TBS诱发的LTP现象。（B）统计图显示假手术组，急性痒及慢性痒刺激组小鼠，TBS引发LTP的时程变化。

（3）脑干下行调控系统释放的 5-HT 对非组胺能痒信息传递的易化调节

我们应用 *Lmx1b^{fl/p}* 小鼠（因缺少 *Lmx1b*，所有中枢神经系统内的 5-HT 能神经元均不能发育成熟）和 *Tph2^{-/-}* 小鼠（因特异性的敲除了 *Tph2* 后 5-HT 能神经元将不能合成 5-HT）及野生型对照小鼠，采用行为药理学方法研究了脑干下行调控系统释放 5-HT 对痒觉的调控作用^[18]。我们观察到脑干含 5-HT 的神经元向脊髓背角投射并与其内的 GRPR 阳性神经元形成突触联系（图 11）；5-HT 能够在脊髓水平易化非组胺能痒觉信息传递（图 12）；脊髓背角内的 5-HT_{1A} 受体介导了 5-HT 对痒觉信息传递的易化效应（图 13）^[18]。上述研究结果提示小鼠脑内可能也存在中枢内源性痒觉调控系统。但该内源性调控系统的组成、调控机制和是否具有抑制痒觉信息传递的功能等问题，则未见报道。

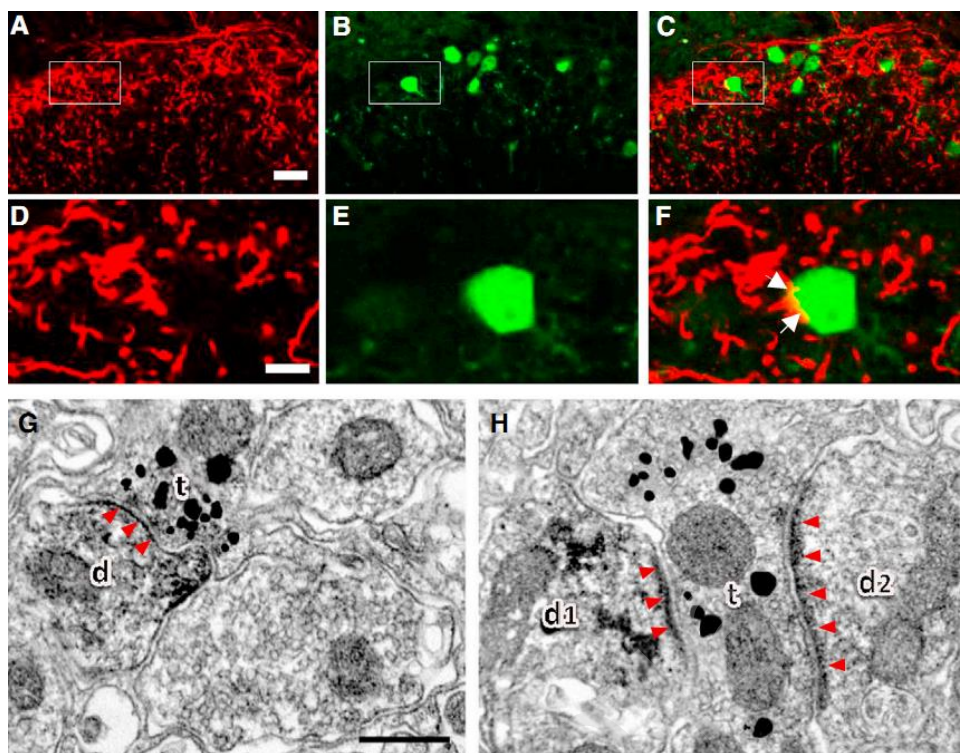


图 11 脊髓背角内 5-HT 阳性终末与 GRPR 阳性神经元形成突触联系。在光镜水平可见 5-HT 阳性终末 (A、D) 与 GRPR 阳性神经元 (B、E) 形成密切接触 (C、F)；在电镜水平可见 5-HT 阳性终末与 GRPR 阳性神经元形成突触联系 (G、H)。

(引自我们的研究结果合作发表的论文 *Neuron*, 2014; 84(4):821-834^[13])

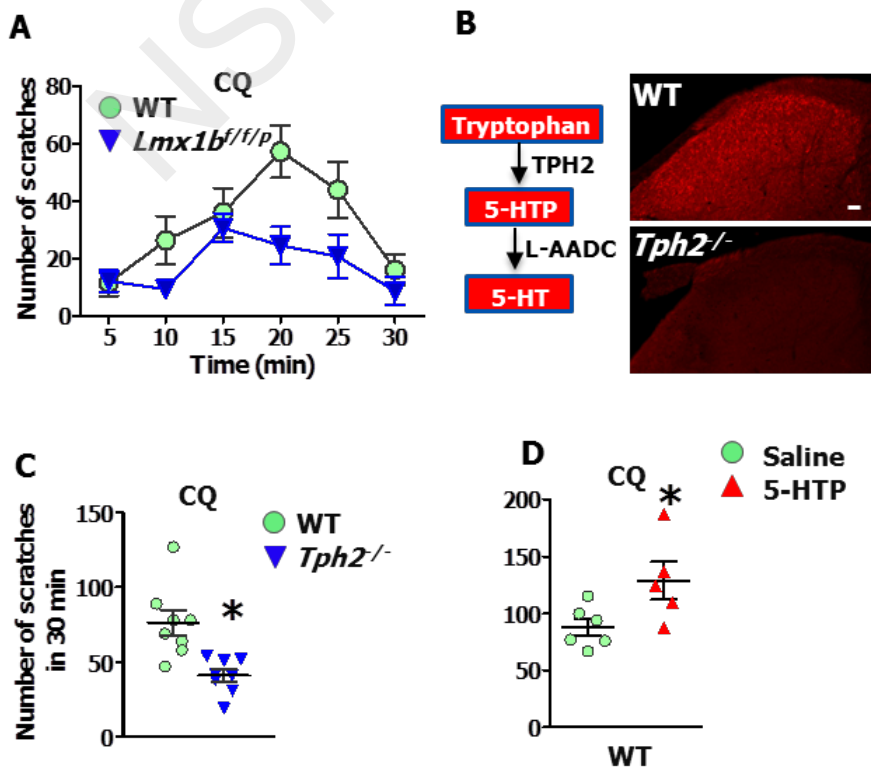




图 12 5-HT 可以易化痒觉信息传递。A: 相对于野生型的小鼠, 氯喹注射后 *Lmx1bf/f/p* 小鼠的搔抓行为显著下降。B: *Tph2*^{-/-} 小鼠因特异性地敲除了 *Tph2* 后 5-HT 能神经元将不能合成 5-HT。C: 相对于野生型的小鼠, 氯喹注射后 *Tph2*^{-/-} 小鼠的搔抓行为显著下降。D: 野生型小鼠鞘内注射 5-HT 的前体 5-HT 后, 对氯喹产生的搔抓行为会显著增加。(引自我们的研究结果合作发表的论文 *Neuron*, 2014; 84(4):821-834^[13])

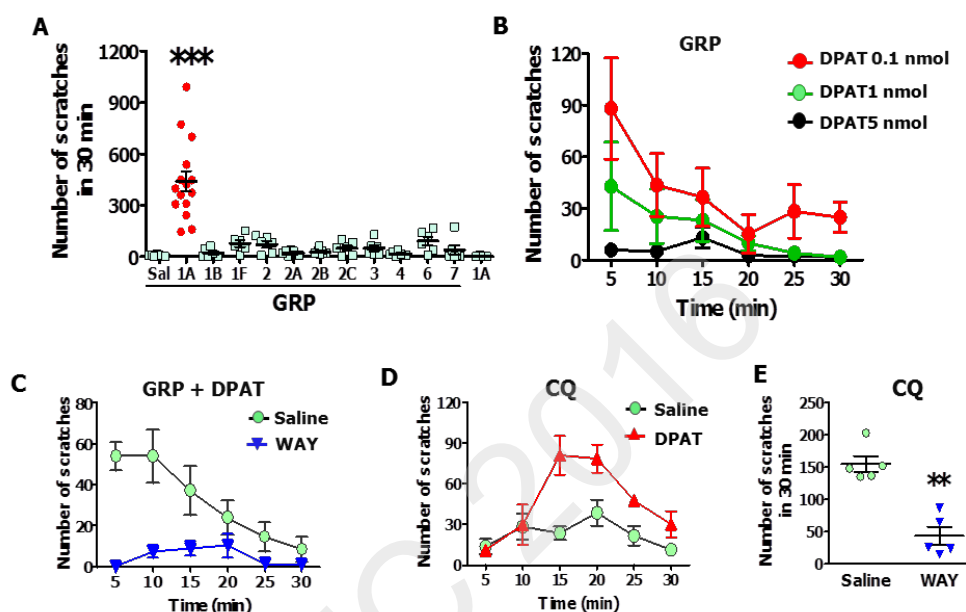


图 13 5-HT_{1A} 受体介导了 5-HT 对痒信息传递的下行易化调控。A: 应用了 5-HT 多个受体亚型的激动剂, 只有 5-HT_{1A} 受体激动剂可以易化 GRP 引起的痒觉搔抓行为。B: 5-HT 的作用呈现出剂量依赖性地。C、E: 预先给予 5-HT_{1A} 受体的拮抗剂 WAY100635 后几乎可以消除 DPAT/GRP 引起的痒觉搔抓行为。D: 预先给予 5-HT_{1A} 受体激动剂 DPAT 可以模拟 5-HT 的易化效应。

(引自我们的研究结果合作发表的论文 *Neuron*, 2014; 84(4):821-834^[13])

(4) 建立了光遗传学实验研究条件, 能够利用该技术开展形态和功能研究工作

光遗传学方法是新近出现的先进技术方法。使用该方法, 不仅能够研究神经通路的联系, 而且能够观察神经网络的功能, 在研究脑内神经网络和环路方面, 展现出独特的魅力和特长。我们本来就有很好的神经束路追踪技术和电生理学记录技术基础, 在光遗传学方法出现之后, 我们就积极引进该方法, 并开展了前期研究 (图 14), 为本项目的顺利实施打好了基础, 提供了保障。

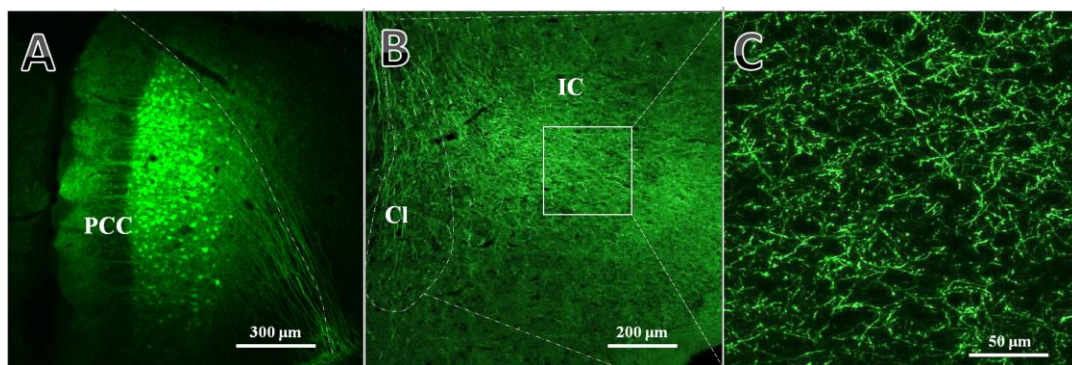


图 14 C57 小鼠冠状脑切片上扣带后回（PCC）内的顺行标记病毒 AAV-ChR2-eYFP [AAV-EF1a-DIO-hChR2(H134R)-eYFP-WPRE]注射区以及岛叶（IC）内的标记区。

基于上述预实验的研究结果和目前在该研究领域存在的问题，本研究拟以脊髓以上中枢内参与痒觉信息传递和调控的环路及其调控的细胞和分子机制为关键科学问题，重点从以下 4 个方面就痒觉信息传递与调控的神经环路及相关的细胞和分子机制进行研究（图 15）：

- （1）从将痒信息从间脑向大脑皮层传递通路的研究出发，找寻大脑皮层内感受痒觉刺激信息的特异性中枢；
- （2）大脑皮层内与痒觉信息传递和调控有关区域间神经环路的结构和机能；
- （3）大脑皮层内相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制；
- （4）脑干内源性调控系统的构成及其对痒信息传递的调控机理。

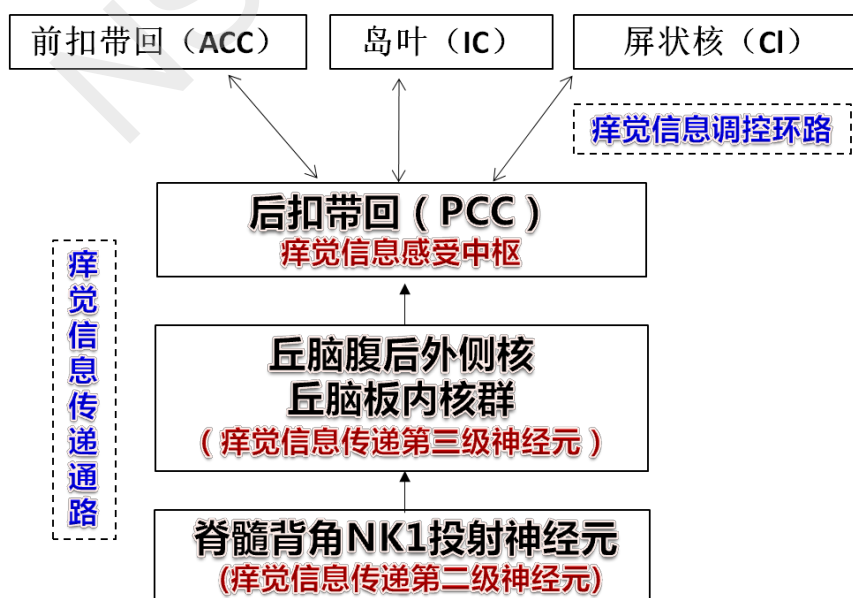


图15 痒信息在中枢内的传递通路和调控环路示意图



阐明这些问题对揭示痒觉信息传递和调控的机制、指导对慢性痒的临床治疗和新型止痒药物的研发都具有重要的意义。

3. 合作双方的互补性

我方与美国圣路易斯华盛顿大学的陈宙锋教授实验室均长期从事痛觉和痒觉传递及调控机制方面的研究，在研究背景和研究思路上具有天然的融合之处。在技术手段上（分别擅长分子生物学及形态学方法）具有明显的互补性。随着研究的深入，在转基因、基因敲入小鼠的制作以及相关受体的分子机制分析等方面是合作方的强项；而我们在形态学研究，尤其是束路追踪和电子显微镜研究等方面有雄厚和扎实的研究基础，如能搞清痒信息在脊髓以上中枢的传递通路和调控机制将为阐明痒觉信息的传递与调控机制提供有力的支撑。因此，双方在本课题的合作上可谓是强强联合，珠联璧合。二者的结合可以极大地增强研究的全面性和系统性，对于整合现有资源，拓宽研究思路，促进国际交流具有莫大的好处。

主要参考文献

1. Jeffry J, Kim S, Chen ZF. Itch signaling in the nervous system. *Physiology*, 2011, 26:286-292.
2. Diana M Bautista DM, Wilson SR, Hoon MA. Why we scratch an itch: the molecules, cells and circuits of itch. *Nat Neurosci*, 2014; 17(2): 175-182.
3. Mochizuki H, Kakigi R. Central mechanisms of itch. *Clinical Neurophysiol*, 2014; pii: S1388-2457(14)00811-6.
4. Sun YG, Chen ZF. A gastrin-releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord. *Nature*, 2007, 448:700-703.
5. Sun YG, Zhao ZQ, Meng XL, Yin J, Liu XY, Chen ZF. Cellular basis of itch sensation. *Science*, 2009, 325:1531-1534.
6. Lagerstrom MC, Rogoz K, Abrahamsen B, Persson E, Reinius B, Nordenankar K, Olund C, Smith C, Mendez JA, Chen ZF, Wood JN, Wallen- Mackenzie A, Kullander K. VGLUT2-dependent sensory neurons in the TRPV1 population regulate pain and itch. *Neuron*, 2010, 68:529-542.
7. Li JL, Wang D, Kaneko T, Shigemoto R, Nomura S, Mizuno N. The relationship between neurokinin-1 receptor and substance P in the medullary dorsal horn: a light and electron microscopic immunohistochemical study in the rat. *Neurosci Res*, 2000, 36:327-334.
8. Li JL, Kaneko T, Shigemoto R, Mizuno N. Distribution of trigeminohypothalamic and spinothalamic tract neurons displaying substance P receptor-like immunoreactivity in the rat. *J Comp Neurol*, 1997, 378:508-521.
9. Li JL, Ding YQ, Shigemoto R, Mizuno N. Distribution of trigeminohypothalamic and spinothalamic-tract neurons showing substance P receptor-like immunoreactivity in the rat. *Brain Res*, 1996, 719:207-212.
10. Qu LT, Fan N, Ma C, Wang T, Han L, Fu K, Wang YD, Shimada SG, Dong XZ, LaMotte RH. Enhanced excitability of MRGPRA3- and MRGPRD-positive nociceptors in a model of inflammatory itch and pain. *Brain*, 2014; 137(Pt 4): 1039-1050.
11. Han L, Ma C, Liu Q, Weng HJ, Cui YY, Tang ZX, Kim YS, Nie H, Qu LT, Patel KN, Li Z, McNeil B, He SQ, Guan Y, Xiao B, LaMotte RH, Dong XZ. A subpopulation of nociceptors specifically linked to itch. *Nat Neurosci*, 2013; 16(2): 174-182.
12. Kim BM, Lee SH, Shim WS, Oh U. Histamine induced Ca^{2+} influx via the PLA(2)/lipoxygenase/TRPV1 pathway in rat sensory neurons. *Neurosci Lett*, 2004, 361:159-162.
13. Zhao ZQ, Liu XY, Jeffry J, Karunaratne WKA, Li JL, Munanairi A, Zhang XY, Li H, Sun



- YG, Wan L, Wu ZY, Kim S, Huo FQ, Mo P, Barry DM, Zhang CK, Kim JY, Gautam N, Renner KJ, Li YQ, Chen ZF. Descending control of itch transmission by the serotonergic system via 5-HT_{1A}-facilitated GRP-GRPR signaling. *Neuron*, 2014; 84(4):821-834.
14. Jeong KY, Kang JH. Investigation of the pruritus-induced functional activity in the rat brain using manganese-enhanced MRI. *J Magn Reson Imag*, 2014, DOI: 10.1002/jmri.24832
15. Desbordes G, Li A, Loggia ML, Kim J, Schalock PC, Lerner E, Tranc TN, Ringe J, Rosen BR, Kaptchuk TJ, Pfab F, Napadowa V. Evoked itch perception is associated with changes in functional brain connectivity. *NeuroImage: Clinical*, 2015; 7 (1): 213-221.
16. Davidson S, Zhang XJ, Khasabov SG, Moser HR, Honda CN, Simone DA, Giesler GJ, Jr. Pruriceptive spinothalamic tract neurons: physiological properties and projection targets in the primate. *J Neurophysiol*, 2012; 108:1711-1723.
17. Liu XY, Liu ZC, Sun YG, Ross M, Kim S, Tsai FF, Li QF, Jeffrey J, Kim JY, Loh HH, and Chen ZF. Unidirectional Cross-Activation of GRPR by MOR1D Uncouples Itch and Analgesia Induced by Opioids. *Cell*, 2011, 147, 447-458.
18. Zhang L, Jiang GY, Song NJ, Huang Y, Chen JY, Wang QX, Ding YQ. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation is required for itch sensation in the spinal cord. *Mol Brain*, 2014; 7:25.
19. Shim WS, Tak MH, Lee MH, Kim M, Kim M, Koo JY, Lee CH, Kim M, Oh U. TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase. *J Neurosci*, 2007, 27: 2331-2337.
20. Shelley WB, Arthur RP. Mucunain, the active pruritogenic proteinase of cowhage. *Science*, 1955, 122: 469-470.
21. Johanek LM, Meyer RA, Friedman RM, Greenquist KW, Shim B, Borzan J, Hartke T, LaMotte RH, Ringkamp M. A role for polymodal C-fiber afferents in nonhistaminergic itch. *J Neurosci*, 2008, 28: 7659-7669.
22. Davidson S, Zhang XJ, Yoon CH, Khasabov SG, Simone DA, Giesler GJ, Jr. The itch-producing agents histamine and cowhage activate separate populations of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurosci*, 2007; 27(37): 10007-10014.
23. Reddy VB, Iuga AO, Shimada SG, LaMotte RH, Lerner EA. Cowhage-evoked itch is mediated by a novel cysteine protease: a ligand of protease-activated receptors. *J Neurosci*, 2008, 28: 4331-4335.
24. 李辉, 王亚云, 李云庆. 痛与痒的区别. *医学争鸣*, 2011, 2:13-16.
25. Andoh T, Kuwazono T, Lee JB, Kuraishi Y. Gastrin-releasing peptide induces itch-related responses through mast cell degranulation in mice. *Peptides*, 2011, 32:2098-2103.
26. Liu T, Xu ZZ, Park CK, Berta T, Ji RR. Toll-like receptor 7 mediates pruritus. *Nat Neurosci*, 2010, 13: 1460-1462.
27. Andrew D, Craig AD. Spinothalamic lamina I neurons selectively sensitive to histamine: a central neural pathway for itch. *Nat Neurosci*, 2001, 4:72-77.
28. Patel KN, Dong XZ. Itch: Cells, Molecules, and Circuits. *ACS Chem Neurosci*, 2011, 2:17-25
29. Barry DM, Li H, Liu XY, Shen KF, Liu XT, Wu ZY, Munanairi A, Chen XJ, Yin J, Sun YG, Li YQ, Chen ZF. Critical evaluation of the expression of gastrin releasing peptide in dorsal root ganglia and spinal cord. *Mol Pain*, 2016 (in press).
30. Papoiu AD, Coghill RC, Kraft RA, Wang H, Yosipovitch G. A tale of two itches. Common features and notable differences in brain activation evoked by cowhage and histamine induced itch. *NeuroImage*, 2012, 59:3611-3623.
31. Mochizuki H, Tashiro M, Kano M, Sakurada Y, Itoh M, Yanai K. Imaging of central itch modulation in the human brain using positron emission tomography. *Pain*, 2003, 105:339-346.
33. Wu SX, Wang W, Li H, Wang YY, Feng YP, Li YQ. The synaptic connectivity that underlies the noxious transmission and modulation within the superficial dorsal horn of the spinal cord. *Prog Neurobiol*, 2010; 91(1):38-54.



(二) 合作研究内容及合作研究方案

1. 研究目标、内容及拟解决的关键问题

研究目标：

本项目拟利用正常和转基因小鼠及其制作的急性或慢性痒动物模型，综合应用现代神经科学研究的先进方法，揭示**脊髓以上水平中枢内介导痒觉信息传递的神经通路和调控痒觉信息的细胞和分子机制**，**甄别痒觉与痛觉神经通路的异同**，为阐明瘙痒症发生机制、研发止痒药物和指导瘙痒症临床治疗提供理论依据。

研究内容：

(1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究

- ① 利用形态学方法明确向 PCC 传递痒觉信息的皮层下（间脑）结构。
- ② 上述①中皮层下结构内 Fos 阳性神经元不同受体和递质的表达及其在慢性痒状态下的变化。
- ③ 利用电/化学损毁和行为药理学技术调控上述①中皮层下结构，观察其在痒觉信息传递中的作用。
- ④ 急慢性痒状态下，上述向 PCC 投射皮层下结构神经元的突触可塑性变化。

(2) 大脑皮层相关区域（PCC，ACC、IC、CI 等）间神经环路参与痒信息调控的研究

- ① 利用电/化学损毁和行为药理学技术明确 PCC 在痒觉信息传递和调控中的核心作用。
- ② PCC-ACC、PCC-IC 和 PCC-CI 间的往返神经纤维联系及其在急慢性痒状态下的改变
- ③ 慢性痒状态下 PCC-ACC、PCC-IC 和 PCC-CI 神经环路内的神经元突触可塑性改变。
- ④ 明确 PCC-ACC、PCC-IC 和 PCC-CI 神经环路在痒觉调控过程中的作用。

(3) 大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制

- ① 筛选参与慢性痒传递和调控的膜受体。
- ② 筛选介导膜受体参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导分子。

(4) 脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理

- ① RVM 内 5-HT 能神经元对痒信息传递的下行调控。
- ② 以 RVM 为中继的脑干内源性痒觉调控系统的构成。
- ③ PAG-RVM 通路中 Glutamate 和 GABA 参与痛觉或痒觉的下行调控。

**拟解决的关键问题：**

(1) **脊髓以上中枢内痒觉信息传递和调控神经环路怎样构成？** 基于以往通过电生理学、神经影像学、痒觉刺激导致 Fos 蛋白表达的普查等方法观察到的结果，本项目拟采用光遗传学、神经束路追踪及其与功能研究相结合的技术，对脊髓以上中枢内痒觉信息传递和调控神经环路的构成开展深入研究，有望阐明脊髓以上中枢内痒觉信息传递和调控通路及相关的受体及胞内信号转导机制，为揭示中枢内痒觉信息传递和调控的神经机制奠定基础。

(2) **痒觉信息下行调控的细胞和分子机制如何？** 目前，尚无中枢内是否存在痒觉的内源性调控的报道。本项目拟利用神经束路追踪并结合电生理记录、神经影像技术，有望搞清痒觉的传递和调控通路，通过免疫组化、行为药理学、膜片钳记录等技术可阐明痒觉传递和调控的分子机制，为研发止痒药物和指导瘙痒症临床治疗提供理论依据。

2. 拟采取的研究方案、技术路线及可行性分析**研究方法：**

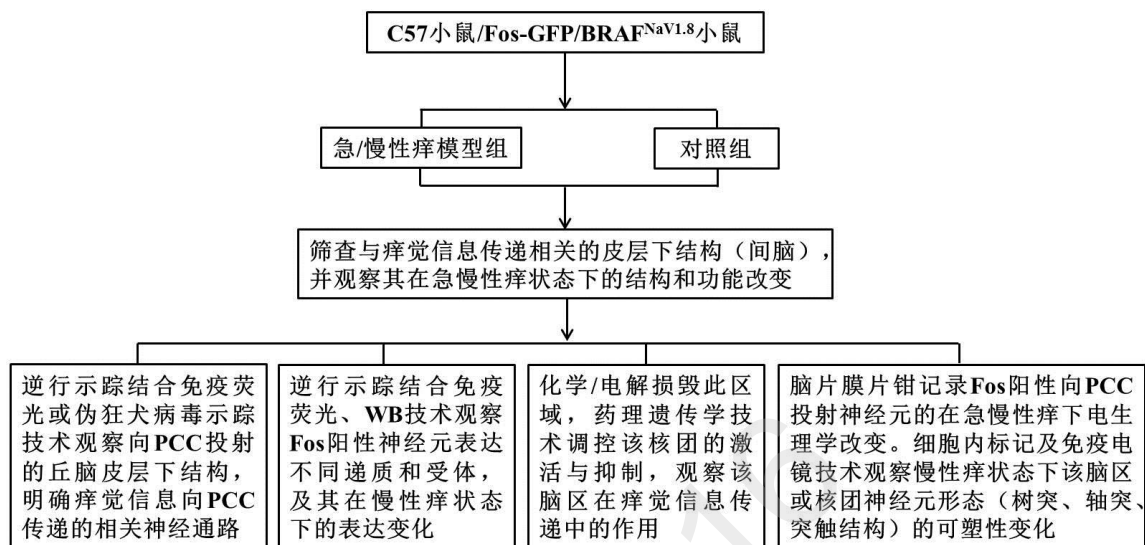
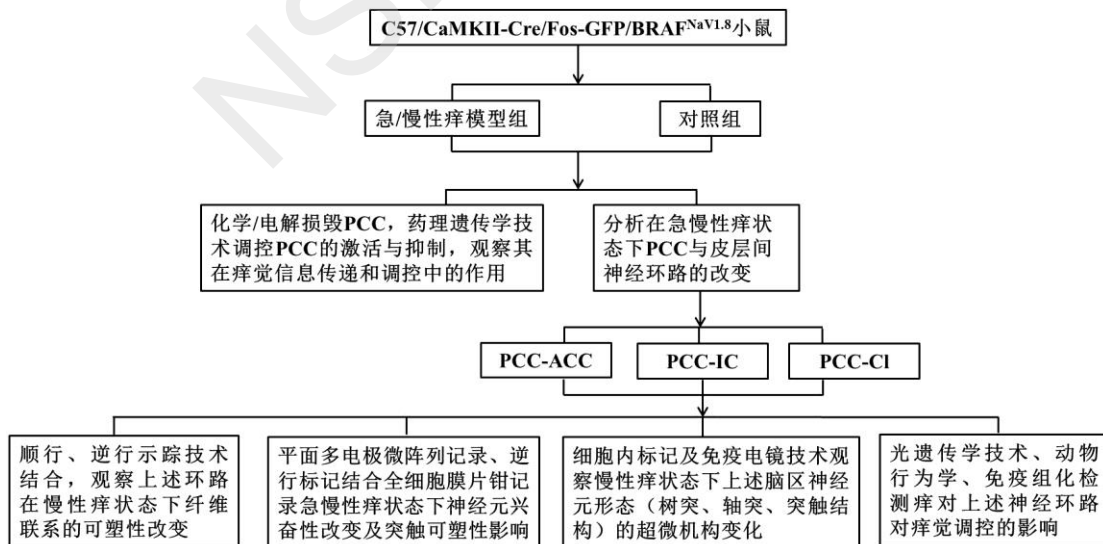
(1) **实验材料：**成年 C57BL/6 小鼠，Fos-GFP、TPH2-Cre、 $BRAF^{NaV1.8}$ 等系列基因修饰小鼠；

(2) **神经形态学方法：**束路追踪技术、免疫组化染色技术、免疫荧光多重染色技术、免疫电镜技术；

(3) **痒觉动物模型的建立和行为药理学测定：**采用皮下注射组胺诱导组胺依赖的急性痒模型，皮下注射氯喹 (CQ) 或 48/80 复合物诱导组胺非依赖的急性痒模型；颈背部皮肤依次涂抹乙醚与丙酮 (1:1) 混合物和去离子水，造成干皮症慢性痒模型 (AEW 模型)；腹部皮肤经 DNFB 丙酮液涂抹致敏，颈背部皮肤涂抹强化，造成过敏性皮炎慢性痒模型 (DNFB 模型)。小鼠相关脑区内置管、微量注射相应的激动剂或拮抗剂后观察其相应的行为药理学效应。

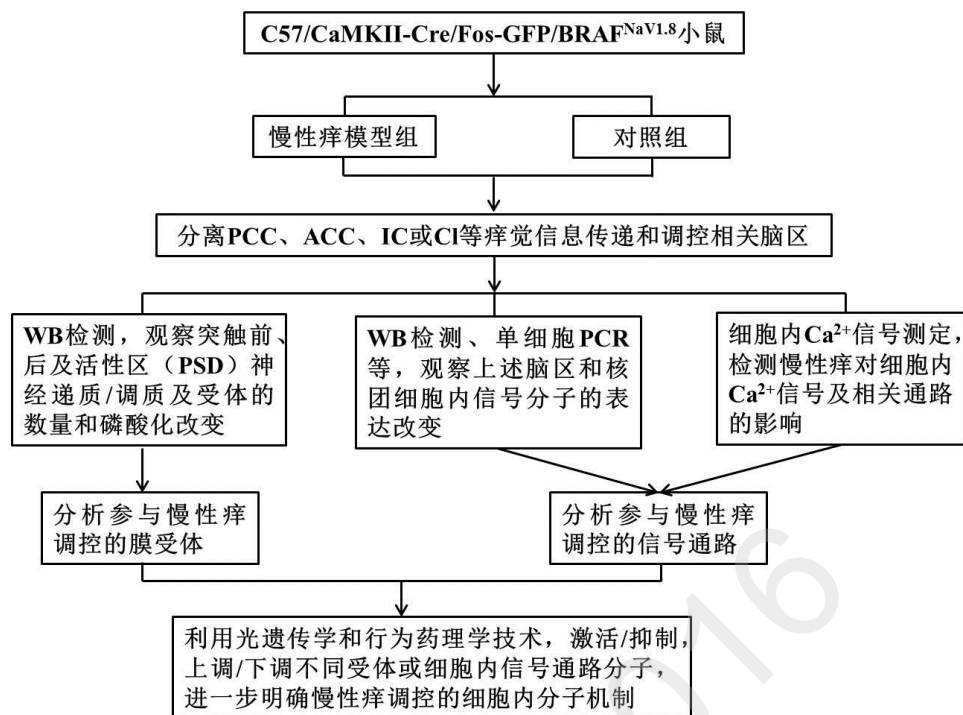
(4) **机能学方法：**在体电生理，平面多电极微阵列记录，膜片钳全细胞记录，光遗传学等技术，药理遗传学技术。

(5) **行为学检测：**痒觉和痛觉行为学检测。

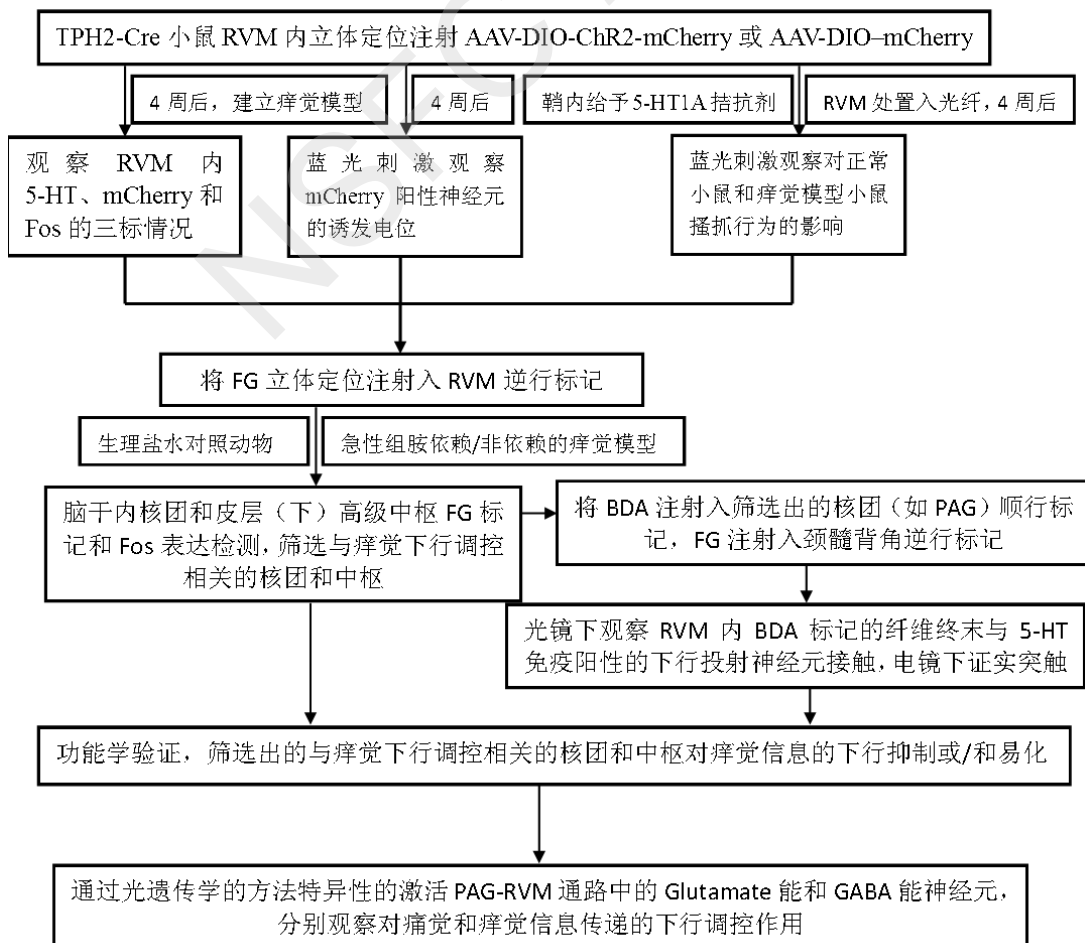
**技术路线：****(1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究****(2) 大脑皮层相关区域（PCC，ACC、IC、CI等）间神经环路参与痒信息调控的研究**



(3) 大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制



(4) 脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理





实验方案:

(1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究

① **利用形态学方法明确向PCC传递痒觉信息的皮层下（间脑）结构：**将成年C57BL/6小鼠皮下注射组胺造成组胺依赖的急性痒模型，皮下注射5-HT或鞘内注射氯喹（CQ）诱导急性组胺非依赖痒觉模型；颈背部皮肤依次涂抹乙醚与丙酮（1:1）混合物和去离子水，造成干皮症（AEW）慢性痒模型；腹部皮肤经DNFB丙酮液涂抹致敏，颈背部皮肤涂抹强化，造成过敏性皮炎（DNFB）慢性痒模型，相应生理盐水处理组作为对照，同时为了防止搔抓的影响，可给小鼠佩带塑料颈圈来预防。将上述痒模型小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻钻孔，调整相关脑区或核团注射位点的三维参数，通过微量注射器将0.1 μ l荧光标记的逆行示踪剂DiI、FG、TMR压力注射入PCC（坐标： Bregma:-0.7mm；旁开: 0.2 mm；深度: 1.4 mm）。注射完毕后留置20 min，移去微量注射器。5-7 d后动物常规灌注固定、取脑、切片（30 μ m）。观察注射区的情况以及示踪剂在脑内逆行标记情况，同时行Fos免疫组化染色，观察逆标神经元与Fos双标情况，明确向PCC传递痒觉信息的皮层下结构。

同时，可根据神经示踪病毒PRV-614具有跨神经元示踪的特点，利用立体定位注射技术将PRV-614注入C57BL/6J小鼠的相关神经核团，按照动物的不同生存期限灌注固定动物，取脑制备切片，观察注射区病毒表达的情况以及病毒在脑内逆行标记情况，进一步确定向PCC传递痒觉信息的上一级核团或脑区所在，并绘制痒觉信息传递神经通路图。

② **上述①中皮层下结构内Fos阳性神经元不同受体和递质的表达及其在慢性痒状态下的变化：**急慢性痒模型组小鼠，向PCC定位注射EMR或FG后，在①观察到的皮层下结构内行Fos与不同递质（VGLUT2, GABA）和受体（NMDAR、AMPA、GABA_A、mGluR）的免疫荧光双重标记，同时取组织行Western Blot检测，观察这些脑区Fos阳性神经元表达不同递质和受体情况，及其在急慢性痒状态下的表达变化。

③ **利用电/化学损毁和行为药理学技术调控上述①中皮层下结构，观察其在痒觉信息传递中的作用：**C57BL/6J小鼠常规麻醉，采用鹅膏蕈氨酸化学或电解法分别损毁①中观察到的核团或脑区，结束时向损毁脑区内注入2%的膀胱天蓝，进行损毁部位的组织学鉴定，同时皮下注射氯喹或组胺测定小鼠痒觉的行为的改变，分析假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异；反之先建立慢性痒模型，后行核团损毁再观察假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异。

同时，利用立体定位注射技术分别将腺相关病毒AAV-hSyn-HM3Dq-mCherry（激活性）或者AAV-hSyn-HM4Di-mCherry（抑制性）注射入上述核团，注射完毕后留置20 min以减少渗漏。2周后制作急性痒模型，腹腔给予氧化氯氮平（CNO）1h后检测动物瘙痒行为，对比激活或抑制上述核团对动物瘙痒行为的影响。确认上述核团在痒觉信息传递中的作用。

④ **急慢性痒状态下，上述向PCC投射皮层下结构神经元的突触可塑性变化：**Fos-GFP小鼠造模和对照处理同前，并向PCC定位注射逆行示踪剂TMR以标记投射神经元，模型成功



并到达特定时间点后,小鼠经异氟醚快速麻醉,断头取脑。在振动切片机下将含①核团的大脑皮质切成300 μm 的切片,制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液(ACSF)内孵育1-1.5 h。在荧光显微镜和激光共聚焦显微镜下选定Fos-GFP 阳性即TMR双标阳性神经元行全细胞膜片钳记录,观察急慢性痒状态下这些神经元的sEPSC, sIPSC, LTP, LTD, PPR, AMPAR INPUT-OUTPUT等指标,并与对照组神经元进行比较,观察是否发生改变。

记录电极内液内加入0.2% Biocytin,记录观察结束后,在电流钳模式下,再给予15 min的1 Hz阈下正向电流进一步将Biocytin泳入细胞内,记录完毕,缓慢撤离记录电极,然后将脑片置入含4%多聚甲醛、1.25%戊二醛和15%苦味酸的PB内固定过夜。①使用ABC法的二甲基联苯胺(DAB)或者荧光素染色Biocytin标记的神经元及突起。之后在明场或者共聚焦显微镜下观察标记神经元的形态学特征,尤其是树突分支,树突棘的形态、大小、密度,轴突终扣的密度在慢性痒之后的变化。②ABC法的DAB反应产物标记Biocytin,脂平板包埋、超薄切片(70 nm),电子显微镜下观察相关脑区或核团内Fos阳性神经元超微结构的突触前、后致密电子物质的长度、厚度的变化。

(2) 大脑皮层相关区域(PCC, ACC、IC、CI等)间神经环路参与痒信息调控的研究

① 利用电/化学损毁和行为药理学技术明确PCC在痒觉信息传递和调控中的核心作用: C57BL/6J小鼠常规麻醉,采用鹅膏蕈氨酸化学或电解法分别损毁PCC,结束时向损毁脑区内注入2%的胍胺天蓝,进行损毁部位的组织学鉴定,同时皮下注射氯喹或组胺测定小鼠痒觉的行为的改变,分析假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异;反之先建立慢性痒模型,后行核团损毁再观察假手术组与损毁组小鼠痒觉行为的差异。

同时,利用立体定位注射技术分别将腺相关病毒AAV-hSyn-HM3Dq-mCherry(激活性)或者AAV-hSyn-HM4Di-mCherry(抑制性)注射入上述核团,注射完毕后留置20 min以减少渗漏。2周后制作急性痒模型,腹腔给予氧化氯氮平(CNO)1h后检测动物瘙痒行为,对比激活或抑制上述核团对动物瘙痒行为的影响。明确PCC在痒觉信息传递和调控中的作用。

② PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI间的往返神经纤维联系及其在急慢性痒状态下的改变: 将上述痒模型小鼠固定于立体定位注射仪上,用小动物颅骨钻钻孔,调整相关脑区或核团注射位点的三维参数,将0.1 μl 混合的顺行示踪剂BDA和逆行示踪剂FG通过微量注射器分别压力注射入PCC(坐标: Bregma:-0.7mm; 旁开: 0.2 mm; 深度: 1.4 mm), ACC(坐标: Bregma:0.5mm; 旁开: 0.2 mm; 深度: 1.4 mm), IC(坐标: Bregma: - 0.5mm; 旁开: 3.8 mm; 深度: 3.6 mm)或CI(坐标: Bregma: 0.5 mm; 旁开: 3.6 mm; 深度: 3.5 mm),注射完毕后留置20 min,移去微量注射器。5-7 d后动物常规灌注固定、取脑、切片(30 μm)。观察注射区的情况以及顺逆行示踪剂在脑内的标记情况,着重观察PCC与ACC, PCC与IC和PCC与CI间的往返神经纤维联系。另外,应用Image J软件分析在慢性痒状态下,各皮层结构内BDA标记的神经纤维密度或FG标记的神经元数目与对照组相比是否发生改变。



③ 慢性痒状态下PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI神经环路内的神经元突触可塑性改变:

a. C57BL/6J小鼠制备慢性痒模型,造模成功后,迅速处死动物,制作离体脑片,置于ACSF中孵育1 h后,持续用ACSF灌流2 h, TBS 或者 LFS诱导后用平面微电极阵列记录技术分别记录PCC, ACC, IC和CI内LTP和LTD;

b. Fos-GFP小鼠造模和对照处理同前,并向PCC定位注射逆行示踪剂TMR以标记投射神经元,模型成功并到达特定时间点后,小鼠经异氟醚快速麻醉,断头取脑。在振动切片机下将含ACC, IC和CI平面的大脑皮质切成300 μm 的切片,制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液(ACSF)内孵育1-1.5 h。在荧光显微镜和激光共聚焦显微镜下选定Fos-GFP 阳性即TMR双标阳性神经元行全细胞膜片钳记录,观察急慢性痒状态下这些神经元的sEPSC, sIPSC, LTP, LTD, PPR, AMPAR和NMDAR INPUT-OUTPUT等指标,并与对照组神经元进行比较,观察是否发生改变。记录电极内液内加入0.2% Biocytin,在电流钳模式下,再给予15 min的1 Hz阈下正向电流进一步将Biocytin泳入细胞内,记录完毕,缓慢撤离记录电极,然后将脑片置入含4%多聚甲醛、1.25%戊二醛和15%苦味酸的PB内固定过夜。①使用ABC法的二甲基联苯胺(DAB)或者荧光素染色Biocytin标记的神经元及突起。之后在明场或者共聚焦显微镜下观察标记神经元的形态学特征,尤其是树突分支,树突棘的形态、大小、密度,轴突终扣的密度在慢性痒之后的变化。②ABC法的DAB反应产物标记Biocytin,脂平板包埋、超薄切片(70 nm),电子显微镜下观察上述神经元内的突触前、后致密电子物质的长度、厚度等超微结构的变化。

c. Fos-GFP小鼠造模和对照处理同前,并分不同组依次向ACC, IC或CI定位注射逆行示踪剂TMR以标记投射神经元,模型成功并到达特定时间点后,各组小鼠经异氟醚快速麻醉,断头取脑,依次观察PCC内向ACC, IC和CI投射神经元的b中电生理指标,记录完成后涌入Biocytin,三维重塑神经元,观察树突等结构的形态可塑性改变,最后利用电镜观察超微结构下上述神经元内的突触前、后致密电子物质的长度、厚度等超微结构的变化。

④ 明确PCC-ACC、PCC-IC和PCC-CI神经环路在痒觉调控过程中的作用:

a. 利用立体定位注射技术分别将腺相关病毒AAV-CaMKII-ChR2-mCherry或者AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry注射到急慢性痒小鼠和正常对照组小鼠双侧PCC,注射完毕后留置20 min避免渗漏,再分别于双侧ACC/IC/CI埋置光纤。6周后分别用473 nm蓝光光源(AAV-CaMKII-ChR2-mCherry)或者532 nm绿光光源(AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry)分别对ACC, IC或CI进行光刺激,调整不同的刺激参数,对比观察光刺激激活或抑制相应神经通路对动物搔痒行为的影响,分析PCC-ACC, PCC-IC, PCC-CI神经通路对急慢性痒的调控作用。光遗传实验后立即灌注处死动物,行免疫组织化学染色检测ACC, IC或CI神经元中Fos的表达情况,并观察mCherry和Fos接触神经元的神经化学解剖学特点。

b. 反过来,将腺相关病毒AAV-CaMKII-ChR2-mCherry或者AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry注射到急慢性痒小鼠和正常对照组小鼠双侧ACC/IC/CI,注



射完毕后留置20 min避免渗漏，再分别于PCC埋置光纤。6周后分别用473 nm蓝光光源（AAV-CaMKII-ChR2-mCherry）或者532 nm绿光光源（AAV-CaMKII-eNpHR3.0-mCherry）对PCC进行光刺激，调整不同的刺激参数，对比观察光刺激激活或抑制ACC-PCC，IC-PCC，CI-PCC神经通路对动物瘙痒行为的影响，分析上述神经通路对急慢性痒的调控作用。光遗传实验后立即灌注处死动物，行免疫组织学化学染色检测ACC，IC或CI神经元中Fos的表达情况，并观察mCherry和Fos接触神经元的神经化学解剖学特点，为后续细胞内分子机制研究提供形态学基础。

（3）大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制

① 筛选参与慢性痒传递和调控的膜受体

a. 正常小鼠及各类型基因敲除小鼠建立慢性痒模型之后，急性分离（1）中筛选核团，PCC，ACC，IC和CI脑结构，行总蛋白和突触后活性区蛋白提取，利用Western Blot法，检测上述结构内抑制性神经递质GABA受体（包括GABA_AR 和GABA_BR）、兴奋性神经递质谷氨酸受体（包括代谢型受体mGluR1-8和离子型受体NMDA和AMPA, KA等）、1/2型谷氨酸转运体2（VGluT1/2）的表达水平变化。将此结果与免疫组化染色结果对照分析，以蛋白量发生明显变化（即具有统计学差异）及受体膜分布特性发生明显变化（即受体内化/上膜或者受体簇cluster分布模式变化）的受体亚型作为后续研究重点。

b. 正常小鼠及各类型及基因敲除小鼠慢性痒模型建立后，急性分离（1）中筛选核团，PCC，ACC，IC和CI脑结构，行膜总mRNA提取，利用RT-PCR 法，检测上述结构内与苯二氮卓结合部位（BZ）密切相关的GABAAR 亚型（ α 1-3和 α 5 及 γ 2）、NMDA受体亚型（NR1，NR2A，NR2B）、VGLUT1/2表达量，与Western Blot结果对照分析，进一步明确可能发挥重要作用的膜受体及其亚型分子。

c. 在以上研究基础上初步筛选可能参与的受体亚型，结合光遗传学或行为药理学技术，光刺激上述脑区或脑内定位注射其激动剂、拮抗剂、中和抗体（单个给予或者联合给药），然后观察慢性痒小鼠搔抓等行为学改变。

以上三方面结果结合，分析整理慢性痒状态下变化最明显的受体分子。

② 筛选介导膜受体参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导分子

a. 正常小鼠及各类型及基因敲除小鼠慢性痒模型建立后，提取胞浆蛋白，利用Western Blot法，（1）中筛选核团，PCC，ACC，IC和CI脑结构内信号转导分子PKA、PKC、MAPK家族（包括ERK、JNK、p38）、CaMKII、CREB、Fos及其磷酸化蛋白的表达变化，以蛋白水平及磷酸化水平发生明显变化的信号转导分子作为后续研究重点。

b. 正常小鼠及各类型基因敲除小鼠慢性痒模型建立后，选择电生理学研究中具有明确膜特性变化的神经元，提取单个神经元总RNA，行单细胞RT-PCR法，检测信号转导分子PKA、PKC、MAPK家族（包括ERK、JNK、p38）、CaMKII、CREB、Fos的表达变化，结



合以上Western Blot结果以及膜片钳结果，进一步筛选可能介导膜受体参与慢性痒晚期PCC等脑区神经元可塑性变化的信号转导分子。

c. 正常小鼠及各类型基因敲除小鼠慢性痒模型建立后，急性分离相关脑区神经元：在助扩散剂pluronic F-127作用下加入钙离子指示剂fura-2 AM或者OGB AM，进行胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 的测定；急性分离PCC等脑区神经元，采用3H-TdR标记神经元肌醇，分离磷脂酰肌醇混合物，通过阴离子交换层析柱分离洗脱，收集IP3，洗脱峰后进行IP3测定；提取含二酰基甘油（DAG），采用DAG分析系统进行测定DAG测；利用ELISA法进行cAMP测定。

d. 在以上研究基础上初步筛选可能参与的信号转导分子，合成其正义（SO）和反义探针（ASO）以及干扰RNA（RNAi），PCC等脑区定位注射发检测给予单个药品或者不同药品组合后，观察慢性痒小鼠痒行为学改变。

以上四方面结果结合，分析整理可能的信号转导分子，并绘制可能的信号转导通路。

（4）脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理

① **RVM内5-HT能神经元对痒信息传递的下行调控**：将TPH2-Cre小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻钻孔，通过微量注射器将0.15 μ l AAV-DIO-ChR2-mCherry注入RVM（前囟中线尾端 6.0 mm，脑表面向下 5.5 mm）内，注射4周后，皮下注射组胺或是皮内注射氯喹，相应生理盐水处理组作为对照，同时为了防止搔抓的影响，可给小鼠佩带塑料颈圈来预防。模型成功2小时后，常规麻醉、灌注、固定、取材、冰冻连续切片（30 μ m），5-HT、Fos免疫组化染色，观察RVM内5-HT、mCherry和Fos的三标情况；同样注射病毒4周后，将小鼠经异氟醚快速麻醉，断头取脑。在振动切片机下将含RVM的延髓切成300 μ m的切片，制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液（ACSF）内孵育1-1.5 h，在荧光显微镜选定RVM内mCherry 阳性神经元行全细胞膜片钳记录，给予蓝光刺激观察诱发电位；在注射病毒的同时将光纤置于RVM上方约0.5 mm处，注射4周后进行行为学检测，观察给予蓝光（473 nm, 20 Hz, 15 ms, 5 mW, 17.68 mW/mm², 5 min）单次或多次连续3天刺激后，对正常小鼠和皮下注射组胺或是皮内注射氯喹小鼠搔抓行为的影响，定位注射AAV-DIO-mCherry作为对照，计数小鼠在30 min内的搔抓行为；RVM内蓝光刺激的同时，小鼠鞘内给予5-HT1A的拮抗剂WAY100635，同样观察对小鼠搔抓行为的影响；通过以上结果来证实RVM内的5-HT能神经元可以下行调控痒觉信息的传递。

② **以RVM为中继的脑干内源性痒觉调控系统的构成**：将C57小鼠固定于立体定位注射仪上，用小动物颅骨钻钻孔，通过微量注射器将0.1 μ l逆行示踪剂荧光金注入RVM内，注射7天后皮下注射组胺或是皮内注射氯喹，相应生理盐水处理组作为对照，同时为了防止搔抓的影响，可给小鼠佩带塑料颈圈来预防。模型成功2小时后，常规麻醉、灌注、固定、取材、冰冻连续切片（20 μ m），Fos免疫组化染色，通过观察FG和Fos的表达情况，筛选出与痒觉下行调控相关的脑干内核团和皮层（下）高级中枢；同前述方法，将逆行示踪剂葡聚糖胺注



入筛选出的核团(如PAG等),FG注入颈髓背角逆行示踪,7天后通过免疫荧光染色观察RVM内BDA标记的纤维终末与5-HT免疫阳性的下行投射神经元接触,并运用免疫电镜的方法证实突触的存在;将刺激电极分别置入顺行和逆行示踪验证过的核团,无关电极置到颈部的皮下,刺激参数设置为60串方波刺激(波宽为0.5 ms,频率为67 Hz,刺激强度为0.25 mA),持续10 min (1 s开,9 s关),观察电刺激兴奋核团内神经元对皮下注射组胺或是皮内注射氯喹30 min内搔抓行为的影响;通过以上形态学和功能性的研究,找到脑干内源性调控系统参与痒信息调控的核团和皮层(下)高级中枢。

③ PAG-RVM通路中Glutamate和GABA参与痛觉或痒觉的下行调控:按照上述立体定位注射的方法,使用VGLUT2-Cre小鼠,将0.15 μ l AAV-DIO-ChR2-mCherry注射入腹外侧PAG中,4周后将小鼠灌注、固定后进行荧光原位杂交组织化学染色,观察PAG内VGLUT2 FISH和mCherry的双标情况,RVM内VGLUT2 终末和mCherry与FG逆标投射神经元的接触;4周后将小鼠经异氟醚快速麻醉,断头取脑。在振动切片机下将含PAG的中脑切成300 μ m的切片,制作离体脑片后置于室温氧饱和的人工脑脊液(ACSF)内孵育1-1.5 h,在荧光显微镜选定PAG内mCherry 阳性神经元行全细胞膜片钳记录,给予蓝光刺激观察诱发电位,在荧光显微镜选定RVM内DiI逆标细胞行全细胞膜片钳记录,给予蓝光刺激观察诱发电位;在注射病毒的同时将光纤置于PAG内,4周后在体分别观察给予蓝光刺激后对福尔马林自发痛,氯喹或组胺所致痒觉搔抓行为的影响,在注射病毒的同时将光纤置于RVM内,在体分别观察给予蓝光刺激后对福尔马林自发痛,氯喹或组胺所致痒觉搔抓行为的影响;同样按照上述流程使用VGaT2-Cre小鼠,进行形态学、电生理学和行为学的观察;通过以上结果探讨PAG-RVM通路分别对痛觉和痒觉信息传递产生怎样的下行调控作用。

可行性分析:

(1) 良好的研究工作积累:合作方以往对脊髓背角内痒觉特异性介质(GRP、NMB)及其受体(GRPR、NMBR)及相关的痒觉传递与调控局部环路进行了深入研究,取得了令人瞩目的成绩,发表了一系列高水平的论文(Nature, Science, Cell, JCI, Neuron, J Neurosci),在该领域的研究水准居于国际领先地位。我们课题组以往在痛觉的传递和调控机制,尤其近年来在痛觉的皮层和皮层下中枢内传递与调控机制方面开展了非常系统的研究,发表了大量的SCI论文,相关的研究还在2009年获得国家科技进步一等奖(神经病理性痛模型的创建及其在镇痛机制和治疗研究中的应用)。

(2) 完备的研究平台:申请人所在的科室为国家重点学科、全军脊髓损伤修复重点实验室,合作方所在实验室为美国最为著名的痒觉研究中心之一。双方均具有多种疼痛和痒模式动物建立和行为学监测平台,在痛和痒的研究方面已经建立了形态、机能、分子、行为等多层次的研究体系,技术成熟,并与相关的临床科室有着密切的合作关系,可为本课题提供有力的技术和条件支撑,并可极大地推动疼痛机制的研究和疼痛的转化医学研究。



(3) 先进的设备条件：本教研室已拥有电子显微镜(2 台)、激光扫描共聚焦显微镜 (1 台)、超薄切片机(LKB NOVA)、振动切片机(4 台)、冰冻切片机(Leica)、各种配套光学显微镜、Leica Q 500 MC 图像分析仪(2 台)、全套的痛、痒、高级脑功能等行为学检测设备、光遗传学设备 2 套、MED64 平面微电极矩阵记录系统 1 套、脑片膜片钳全套设备(2 套)、单细胞膜片钳全套设备(1 套)。合作方拥有完备的痒与痛觉行为检测系统、钙成像、膜片钳、FRET 成像系统、完备的形态学和分子生物学实验室和先进的配套设备。

(4) 合理的研究团队：申请者目前为博士生导师，长江学者，国家杰出青年基金获得者，一直立足国内，在疼痛研究领域辛勤耕耘，培养青年人才，已经形成了一支由4名教授、5名副教授（分别留学美国、加拿大、日本和法国），4名讲师，3名实验师，3名博士后，7名博士生，5名硕士研究生为主体的、稳定的研究队伍，他们热爱基础研究，朝气蓬勃，团结协作，技术全面，为本项目顺利完成提供了可靠的人员保障。合作者为美国著名的痒觉基础研究专家，所在实验室拥有教授1名，助理教授1名，博士生2名，博士后5名，访问学者6名，实验员3名，拥有充足的研究经费和先进的研究理念。

3. 合作方式：课题设置、研究重点及双方分工

本项目下设四个分课题：

- (1) 痒信息从间脑向大脑皮层有关脑区传递通路的形态学和机能学研究；
- (2) 大脑皮层相关区域（PCC，ACC、IC、CI 等）间神经环路参与痒信息调控的研究；
- (3) 大脑皮层相关区域参与慢性痒信息传递和调控的分子机制；
- (4) 脑干内源性调控系统对痒信息传递的调控机理。

研究重点和分工：

我方主要负责分课题 1，2 和 4。运用束路追踪技术、免疫荧光多重标记、免疫电镜、在体电生理、光遗传学、膜片钳记录等技术：①明确从间脑向大脑皮层传递有关脑区（或核团）及其纤维联系通路；②明确大脑皮层相关区域（PCC，ACC、IC、CI 等）内神经元及其纤维联系参与痒信息感受和调控神经环路；③ 痒觉下行调控通路的构成及机制研究。

合作方主要负责分课题 2 和 3。① 应用动物高级脑功能的检测技术、光遗传技术及行为药理学技术，研究 PCC 与 ACC、CI 间的交互联系及其对痒觉信息传递的调控机制；② 运用分子生物学、行为药理学、钙离子测定、光遗传学等技术，筛选出参与慢性痒传递和调控的膜受体，并搞清其参与慢性痒晚期相关脑区神经元可塑性变化的信号转导机制；



（三）合作基础

1. 双方优势、特色所在，与本项目有关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩；

我们的优势：长期从事痛与镇痛的细胞和分子机制研究。尤其在痛觉传递与调控局部环路的研究，痛觉下行调控系统的构成、调节通路、调控的分子机制研究，疼痛与情绪、学习记忆交互调控研究等方面均取得了突出的成绩。相关的研究论文多次发表在 *Prog Neurobiol*, *Pain Physician*, *Cerebral Cortex*, *Pain*, *J Comp Neurol* 等高端杂志。系统的研究工作获得国家科技进步一等奖（2009），在痛觉研究领域做出了突出的贡献。特别是在形态学（束路追踪，光镜，电镜）研究领域居于国际一流，国内领先水准。具有成熟的研究思路和方法。

合作方的优势：陈宙峰教授长期从事发育神经生物学、痛觉与痒觉的传递与调控机制研究。尤其是对于痒觉的特异性介质及其传导机制方面的研究居于国际领先水准。相关研究论文多次发表在 *Nature*, *Science*, *Cell*, *JCI*, *Neuron*, *J Neurosci* 等高端杂志，内容涉及行为药理学，分子生物学及发育生物学等方面。具备先进的研究思路和成熟的机能学和分子生物学研究方法。实验室内的系列转基因小鼠也为顺利开展实验以及研究的深入进行创造了条件。

互补性及特色：二者均长期从事痛觉和痒觉传递及调控机制方面的研究，在研究背景和研究思路具有天然的融合之处。在技术手段上（分别擅长分子生物学及形态学方法）具有明显的互补性。随着研究的深入，在转基因、基因敲入小鼠的制作以及相关受体的分子机制分析等方面是合作方的强项；而我们在形态学研究，尤其是束路追踪和电子显微镜研究等方面有雄厚和扎实的研究基础，如能搞清痒信息在脊髓以上中枢的传递通路和调控机制将为阐明痒觉信息的传递与调控机制提供有力的支撑。因此，双方在本课题的合作上可谓是强强联合，珠联璧合。二者的结合可以极大地增强研究的全面性和系统性，对于整合现有资源，拓宽研究思路，促进国际交流具有莫大的好处。

工作积累和已取得的研究工作成绩：我方以往在痛觉传递与调控通路研究方面开展了全面而系统的研究，并在痛觉传递与调控局部环路研究方面处于国际领先，相关结果总结成综述发表于 *Prog Neurobiol* 上，受到广泛关注。近年来，我们在慢性疾病对高级脑功能的影响方面开展了卓有成效的研究，建立了先进、配套的高级脑功能检测实验室。项目申请人曾在痛觉传递与调控方面作了大量深入而细致的研究，发表了大量高水平文章，并以第一完成人获得国家科技进步一等奖，该研究与本项目中将要开展的“痒信息在脊髓以上中枢的传递通路和调控机制研究”在研究方法上具有很多相似之处。因此，我们具备了完成本项目相关研究的基础和条件。美方在国际上首次发现了痒觉特异性介质 *GRPR*，并开展了相关的前瞻性研究，特别是近两年来，他们在脊髓水平开展了大量的机制研究，并取得了突出成绩，



他们也在逐步开展高位中枢的研究。由于我们在痛觉研究中有很好的基础和与本项目类似的研究经历，因此，双方在合作开展痒信息在脊髓以上中枢的传递通路和调控机制方面一拍即合，可谓是“最佳搭档”。另外，我方与美方已经建立了成熟而富有成效的合作关系，课题组主要成员李辉副教授于2013年1月-2014年7月在美国合作方陈宙锋教授实验室开展了脊髓背角内参与痒觉信息传递的局部环路的合作研究，博士生尹俊斌目前正在合作方实验室开展痒觉信息在高位中枢传递方面的研究。美方实验室的陈宙锋教授每年来我方实验室进行交流、指导，并商讨双方的合作事宜，带动了国内实验室与美方开展了实质性的合作研究，已共同发表了5篇高水平论文。同时将一些痒觉研究相关的转基因小鼠引进国内实验室，为开展本项目的合作研究奠定了很好的基础。

2. 已具备的实验条件，尚缺少的实验条件和拟解决的途径（包括利用其他机构实验条件的计划与落实情况）。

目前已经具备了研究所需的全套仪器设备、相关的人力资源和转基因动物。

（四）合作方投入情况：匹配经费、仪器设备、关键技术等等。

匹配经费：5 万美元/年，合计 25 万美元

仪器设备：激光扫描共聚焦显微镜（Olympus FV1000）、荧光显微镜（Olympus BX51，2 台）、恒冷箱切片机（1 台）、振动切片机（2 台）、脑片膜片钳全套设备（2 套）、荧光定量 PCR 仪（1 台）、系列动物行为检测仪、FRET 成像系统 1 套、钙成像系统 2 套、光遗传学设备 2 套。其它相关场地及设备。

关键技术：基因缺陷型痒觉模式动物和分子生物学技术。



李云庆 简历

中国人民解放军第四军医大学，基础部，教授

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

1. 1990/2 - 1993/12, 日本京都大学, 神经解剖学, 博士, 导师: 水野昇
2. 1987/3 - 1990/7, 第四军医大学, 人体解剖与组织胚胎学, 博士, 导师: 施际武
3. 1984/9 - 1987/2, 第四军医大学, 人体解剖学, 硕士, 导师: 施际武
4. 1979/9 - 1984/7, 第四军医大学, 临床医学, 学士, 导师:

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

1. 1994/12-至今, 第四军医大学, 基础部, 教授
2. 1992/12-1994/11, 第四军医大学, 基础部, 副教授
3. 1990/7-1992/11, 第四军医大学, 基础部, 讲师

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）：

1. 军人证件，后文字第2040076

主持或参加科研项目（课题）及人才计划项目情况（按时间倒序排序）：

1. 国家自然科学基金面上课题，81371239，慢性痛状态下岛叶神经元兴奋性突触传递可塑性变化的机制，2014/1-2017/12，70万元，在研，主持
2. 国家科技部重大仪器设备专项（子课题），2012YQ0302609基于MOST绘制人胚胎神经发育的高分辨图谱，2013/1-2017/12，120万元，在研，子课题主持
3. 国家“863”重大项目（合作，军口项目），XXXXAA8093023A，生物信息效应和生理机制研究，2010/1-2012/12，30万元，已结题，参加
4. 国家自然科学基金面上项目，30971123，内啡肽2与 μ 型阿片受体在脊髓背角参与糖尿病性痛调控的机制，2010/1-2012/12，31万元，已结题，主持
5. 国家科技部重大专项，2009ZX09301-009-RC 05，生物技术药为主的综合性新药研发技术大平台建设（分课题）：针对m型阿片受体的糖尿病性镇痛候选新药内啡肽2的研究，2009/01-2011/06，50万元，已结题，参加
6. 国家自然科学基金面上课题，30771133，脊髓背角II层脑啡肽能神经元及其参与局部环路电生理学和形态学研究，2008/1-2010/12，30万元，已结题，主持
7. 国家教育部“长江学者创新团队计划”，IRT0560，脑功能稳态失调与病理性痛的发病机理和诊疗策略（编号），2006/1-2010/12，100万元，已结题，参加
8. 国家重点基础研究发展规划（973）项目“脑功能的动态平衡调控”的子课题，G2006CB500808，应激行为与神经可塑性稳态的部分研究工作，2006/1-2010/12，50万元，已结题，参加
9. 国家“863”重大项目（合作），2003AA205030，应用生物材料系统修复脊髓损伤的机理及应用研究（编号），2004/1-2007/12，40万元，已结题，参加
10. 国家自然科学基金重点项目，30370458，应用生物材料修复脊髓损伤的机理及应用研究（合作项目），2004/1-2006/12，35万元，已结题，参加



11. 国家自然科学基金面上项目, 30370458, 内啡肽与中枢内源性镇痛系统在调控痛信息传递中的相互作用, 2004/1-2006/12, 21万元, 已结题, 主持
12. 国家自然科学基金面上项目, 39970239, 在体膜片钳方法的建立及其在神经痛研究中的应用, 2000/1-2002/12, 15万元, 已结题, 主持
13. 国家重点基础研究发展规划(973)项目, G1999054004, “脑功能和脑重大疾病的基础研究”的子课题: 神经元信息编码、加工及调控的部分研究工作, 2000/1-2004/12, 50万元, 已结题, 分题主持
14. 长江学者(特聘教授), 2000年, 人体解剖与组织胚胎学
15. 国家杰出青年科学基金, 39625011, 下行抑制系统在镇痛机制中的地位, 1997/1-2000/12, 80万元, 已结题, 主持
16. 国家自然科学基金青年基金, 39400039, 三叉神经尾侧亚核面口部镇痛机制的形态学和生理学研究, 1995/1-1997/12, 8.5万元, 已结题, 主持

代表性研究成果和学术奖励情况(每项均按时间倒序排序)

(请注意: ①投稿阶段的论文不要列出; ②对期刊论文: 应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷(期)及起止页码(摘要论文请加说明); ③对会议论文: 应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称(或会议论文集名称及起止页码)、会议地址、会议时间; ④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况: 所有共同第一作者均加注上标“#”字样, 通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样, 唯一第一作者且非通讯作者无需加注; ⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。)

一、期刊论文

1. 通讯作者论文(勿与第一作者论文重复)

- (1) Chen T^(#), Li J^(#), Feng B^(#), Hui R, Dong YL, Huo FQ, Zhang T, Yin JB, Du YQ^(*), **Li YQ^(*)**, Mechanism underlying the analgesic effect exerted by endomorphin-1 in the rat ventrolateral periaqueductal gray, Molecular Neurobiology, 2015, 4 (16): 1-18.
- (2) Wang J^(#), Feng DY, Li ZH, Feng B, Zhang H, Zhang T, Chen T, **Li YQ^(*)**, Activation of the mammalian target of rapamycin in the rostral ventromedial medulla contributes to the maintenance of nerve injury-induced neuropathic pain in rat, Neural Plasticity, 2015, 2015 (394820)。
- (3) Zhao XH^(#), Zhao YQ, Zhu C, Chen L, Hu W, Zhang T, Dong YL, Wu SX, Kaye AD, Wang W, **Li YQ^(*)**, Different analgesic effects of intrathecal endomorphin-2 on thermal hyperalgesia and inflammatory pain in ovariectomized rats, Pain Physician, 2015, 18 (2): 195-205.
- (4) Chen, Tao^(#), Lu, Jing-Shan, Song, Qian, Liu, Ming-Gang, Koga, Kohei, Descalzi, Giannina, **Li, Yun-Qing^(*)**, Zhuo, Min^(*), Pharmacological Rescue of Cortical Synaptic and Network Potentiation in a Mouse Model for Fragile X Syndrome, Neuropsychopharmacology, 2014, 39 (8): 1955-1967.
- (5) Qi, Jian^(#), Chen, Chen^(#), Lu, Ya-Cheng, Zhang, Ting, Xu, Hao, Cui, Yuan-Yuan, Chen, Yan-Zhou, Wang, Wen^(*), Dong, Yu-Lin^(*), **Li, Yun-Qing^(*)**, Activ



ation of Extracellular Signal-Regulated Kinase1/2 in the Medial Prefrontal Cortex Contributes to Stress-Induced Hyperalgesia, Molecular Neurobiology, 2014, 50 (3) : 1013-1023.

(6) Chen L^(#), Li YQ^(*), Antinociceptive effect of prostatic acid phosphatase in a rat model of cancer-induced bone pain, Pain Physician, 2013, 16 (6) : 533-546.

(7) Tao Chen^(#), Xiao-Lin Wang^(#), Juan Qu, Wei Wang, Ting Zhang, Yuchio Yanagawa, Sheng-Xi Wu^(*), Yun-Qing Li^(*), Neurokinin-1 Receptor-Expressing Neurons That Contain Serotonin and Gamma-Aminobutyric Acid in the Rat Rostroventromedial Medulla Are Involved in Pain Processing, The Journal of Pain, 2013, 14 (8) : 778-792.

(8) Wang, Wei^(#), Mei, Xiao-Peng^(#), Wei, Yan-Yan, Zhang, Ming-Ming, Zhang, Ting, Wang, Wen, Xu, Li-Xian^(*), Wu, Sheng-Xi^(*), Li, Yun-Qing^(*), Neuronal NR2B-containing NMDA receptor mediates spinal astrocytic c-Jun N-terminal kinase activation in a rat model of neuropathic pain, Brain, Behavior, and Immunity, 2011, 25 (7) : 1355-1366.

(9) Wu, Sheng-Xi^(#), Wang, Wen^(#), Li, Hui^(#), Wang, Ya-Yun, Feng, Yu-Peng, Li, Yun-Qing^(*), The synaptic connectivity that underlies the noxious transmission and modulation within the superficial dorsal horn of the spinal cord, Progress in Neurobiology, 2010, 91 (1) : 38-54.

(10) Huo, Fu-Quan^(#), Chen, Tao^(#), Lv, Bo-Chang, Wang, Jing, Zhang, Ting, Qu, Chao-Ling, Li, Yun-Qing^(*), Tang, Jing-Shi^(*), Synaptic Connections between GABAergic Elements and Serotonergic Terminals or Projecting Neurons in the Ventrolateral Orbital Cortex, Cerebral Cortex, 2009, 19 (6) : 1263-1272.

(11) Chen, Tao, Hui, Rui, Wang, Xiao-Ling, Zhang, Ting, Dong, Yuan-Xiang, Li, Yun-Qing^(*), Origins of endomorphin-immunoreactive fibers and terminals in different columns of the periaqueductal gray in the rat, Journal of Comparative Neurology, 2008, 509 (1) : 72-87.

(12) Zha, Ding-Jun^(#), Wang, Zhi-Ming^(#), Lin, Ying, Liu, Tao, Qiao, Li, Lu, Lian-Jun, Li, Yun-Qing^(*), Qiu, Jian-Hua^(*), Effects of noradrenaline on the GABA response in rat isolated spiral ganglion neurons in culture, Journal of Neurochemistry, 2007, 103 (1) : 57-66.

2. 既非第一作者又非通讯作者论文

(1) Zhong-Qiu Zhao^(#), Xian-Yu Liu^(#), Joseph Jeffry, W.K. Ajith Karunaratne, Jin-Lian Li, Admire Munanairi, Xuan-Yi Zhou, Hui Li, Yan-Gang Sun, Li Wan, Zhen-Yu Wu, Seungil Kim, Fu-Quan Huo, Ping Mo, Devin M.



Barry, Chun-Kui Zhang, Ji-Young Kim, N. Gautam, Kenneth J. Renner, **Yun-Qing Li**, Zhou-Feng Chen^(*), Descending Control of Itch Transmission by the Serotonergic System via 5-HT1A-Facilitated GRP-GRPR Signaling, Neuron, 2014, 84 (4) : 821-834.

(2) Zhao, Zhong-Qiu^(#), Wan, Li^(#), Liu, Xian-Yu^(#), Huo, Fu-Quan^(#), Li, Hui^(#), Barry, Devin M., Krieger, Stephanie, Kim, Seungil, Liu, Zhong-Chun, Xu, Jinbin, Rogers, Buck E., **Li, Yun-Qing**, Chen, Zhou-Feng^(*), Cross-Inhibition of NMBR and GRPR Signaling Maintains Normal Histaminergic Itch Transmission, Journal of Neuroscience, 2014, 34 (37) : 12402-12414.

(3) Wang, Wen, Nakadate, Kazuhiko, Masugi-Tokita, Miwako, Shutoh, Fumihiro, Aziz, Wajeeha, Tarusawa, Etsuko, Lorincz, Andrea, Molnar, Elek, Kesaf, Sebnem, **Li, Yun-Qing**, Fukazawa, Yugo, Nagao, Soichi, Shigemoto, Ryuichi^(*), Distinct cerebellar engrams in short-term and long-term motor learning, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111 (1) : E188-E193.

(4) Huo, Fu-Quan, Qu, Chao-Ling, **Li, Yun-Qing**, Tang, Jing-Shi, Jia, Hong, GABAergic modulation is involved in the ventrolateral orbital cortex 5-HT1A receptor activation-induced antinociception in the rat, Pain, 2008, 139 (2) : 398-405.

二、获得学术奖励

(1) **李云庆**(1/1), 神经病理性痛模型的创建及其在镇痛机制和治疗研究中的应用, 2009中华人民共和国国务院, 科技进步, 国家一等奖, 2009。(李云庆)



除非特殊说明，请勿删除或改动简历模板中蓝色字体的标题及相应说明文字

参与者 简历

李辉，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，副教授

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2000/09–2003/07，第四军医大学，人体解剖与组织胚胎学专业，博士，导师：李云庆

1997/09–2000/07，第四军医大学，人体解剖与组织胚胎学专业，硕士，导师：李云庆

1991/09–1995/07，东北师范大学，生物学专业，学士

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2008/09–至今 第四军医大学，人体解剖与组织胚胎学教研室，副教授

2012/12–2014/07，美国圣路易斯华盛顿大学，痒觉研究中心，访问学者

2006/04–2007/05，日本京都大学，高级脑形态学讲座，访问学者

2003/07–2008/09，第四军医大学，人体解剖与组织胚胎学教研室，讲师

1995/07–2003/07，第四军医大学，人体解剖与组织胚胎学教研室，助教

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

军官证：后文字第 2040103

主持或参加科研项目(课题)及人才计划项目情况(按时间倒序排序)：

1、国家自然科学基金面上项目，31371211、脊髓背角内 GRPR 阳性神经元参与痒觉信息传递的机制研究、2014/01-2017/12、81 万元、在研、主持。

2、国家自然科学基金面上项目，81070664、胶质细胞参与糖尿病所致高级脑功能损害的机理研究、2011/01-2013/12、31 万元、结题、主持。

3、国家自然科学基金面上项目，30300190、接受 5-羟色胺调控的脊髓背角 II 层神经元的形态学和化学神经解剖学特性、2004/01-2006/12、20 万元、结题、主持。



代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）

（请注意：①投稿阶段的论文不要列出；②对期刊论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷（期）及起止页码（摘要论文请加以说明）；③对会议论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称（或会议论文集名称及起止页码）、会议地址、会议时间；④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况：所有共同第一作者均加注上标“#”字样，通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样，唯一第一作者且非通讯作者无需加注；⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。）

一、期刊论文（仅不列此项时可删除该标题）

1. 第一作者论文（仅不列此项时可删除该标题）

- (1) Zhao ZQ[#], Wan L[#], Liu XY[#], Huo FQ[#], **Li H[#]** (共同第一作者), Barry DM, Krieger S, Kim S, Liu ZC, Xu J, Rogers BE, Li YQ, Chen ZF*. Cross-inhibition of NMBR and GRPR signaling maintains normal histaminergic itch transmission. *J Neurosci*, 2014; 34:12402-12414.
- (2) Wu SX[#], Wang W[#], **Li H[#]** (共同第一作者), Wang YY, Feng YP, Li YQ*. The synaptic connectivity that underlies the noxious transmission and modulation within the superficial dorsal horn of the spinal cord. Nociceptive and antinociceptive intrinsic circuits in the superficial layers of the spinal dorsal horn. *Prog Neurobiol*, 2010; 91:38-54.

2. 通讯作者论文（勿与第一作者论文重复）（仅不列此项时可删除该标题，序号按实际情况编排）

- (1) Kou ZZ[#], Li CY, Hu JC, Yin JB, Zhang DL, Liao YH, Wu ZY, Ding T, Qu J, **Li H*** (共同通讯作者), Li YQ*. Alterations in the neural circuits from peripheral afferents to the spinal cord: possible implications for diabetic polyneuropathy in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Front Neural Circuits*, 2014; 8:1-10.
- (2) Kou ZZ[#], Li CY[#], Tang J[#], Hu JC, Qu J, Liao YH, Wu SX, **Li H*** (共同通讯作者), Li YQ*. Down-regulation of insulin signaling is involved in painful diabetic neuropathy in type 2 diabetes. *Pain Physician*, 2013; 16:E71-83.
- (3) Kou ZZ[#], Qu J[#], Zhang DL, **Li H*** (共同通讯作者), Li YQ*. Noise-induced hearing loss is correlated with alterations in the expression of GABAB receptors and PKC gamma in the murine cochlear nucleus complex. *Front Neuroanat*, 2013; 7:1-11.

3. 既非第一作者又非通讯作者论文（仅不列此项时可删除该标题，序号按实际情况编排）

- (1) Zhao ZQ[#], Liu XY[#], Jeffry J, Karunarathne WK, Li JL, Munanairi A, Zhou XY, **Li H**, Sun YG,



Wan L, Wu ZY, Kim S, Huo FQ, Mo P, Barry DM, Zhang CK, Kim JY, Gautam N, Renner KJ, Li YQ, Chen ZF*. Descending Control of Itch Transmission by the Serotonergic System via 5-HT1A-Facilitated GRP-GRPR Signaling. *Neuron*, 2014; 84: 821-834.

(2) Liu XY[#], Wan L, Huo FQ, Barry DM, **Li H**, Zhao ZQ, Chen ZF*. B-type natriuretic peptide is neither itch-specific nor functions upstream of the GRP-GRPR signaling pathway. *Mol Pain*, 10:4, 2014

(3) Zhao ZQ[#], Huo FQ[#], Jeffry J, Hampton L, Demehri S, Kim S, Liu XY, Barry DM, Wan L, Liu ZC, **Li H**, Turkoz A, Ma K, Cornelius LA, Kopan R, Battey JF Jr, Zhong J*, Chen ZF*. Chronic itch development in sensory neurons requires BRAF signaling pathways. *J Clin Invest*, 2013;123:4769-4780.

二、授权发明专利（仅不列此项时可删除该标题，标题序号按实际情况编排）

格式：发明人，专利名称，授权时间，国别，专利号

冯宇鹏，**李辉**，王亚云，张婷，张富兴，一种扩张动物肠道的装置，2015.08.19，中国，ZL201520251133.6

三、获得学术奖励（仅不列此项时可删除该标题，标题序号按实际情况编排）

格式：获奖人（获奖人排名/获奖人数），获奖项目名称，奖励机构，奖励类别，奖励等级，颁奖年份（所有获奖人名单附后）

李辉（5/15）神经病理性痛模型的创建及其在镇痛机制和治疗研究中的应用，国家科技部，国家科技进步奖，一等奖，2009

（李云庆，陈军，胡三觉，丁玉强，**李辉**，陈良为，邢俊玲，武胜昔，贾宏阁，王亚云，冯宇鹏，王文，徐晖，汪伟，杨瑞华。）



除非特殊说明，请勿删除或改动简历模板中蓝色字体的标题及相应说明文字

参与者 简历

张勇，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，讲师

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2005/08 – 2008/06，第四军医大学，免疫学，博士，导师：杨安钢

2002/08 – 2005/06，第四军医大学，生物化学与分子生物学，硕士，导师：杨安钢

1997/09 – 2002/07，新乡医学院，临床医学系，学士

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2014/02 – 今，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，讲师

2012/02 – 2014/02，美国约翰·霍普金斯大学医学院，麻醉与重病监护系，博士后

2008/07 – 2012/01，第四军医大学，基础部人体解剖与组织胚胎学教研室，讲师

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

身份证，410526197807176410

主持或参加科研项目(课题)及人才计划项目情况(按时间倒序排序)：

1. 国家自然科学基金青年项目，81300956， GRK2 在吗啡致痛敏过程中作用机制研究、2014/01-2016/12、23 万元、在研。

2. 国家自然科学基金青年项目，81100816，中枢内 BDNF 参与下行痛觉调制的分子机制、2012/01-2014/12、22 万元、已结题、主持。

代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）

（请注意：①投稿阶段的论文不要列出；②对期刊论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷（期）及起止页码（摘要论文请加以



说明); ③对会议论文: 应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称(或会议论文集名称及起止页码)、会议地址、会议时间; ④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况: 所有共同第一作者均加注上标“#”字样, 通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样, 唯一第一作者且非通讯作者无需加注; ⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。)

一、期刊论文(仅不列此项时可删除该标题)

1. 第一作者论文(仅不列此项时可删除该标题)

- (1) Wang GX[#], **Zhang Y[#]**, Lv ZW, Sun M, Wu D, Chen XY, Wu YM*. Female specific association between NNMT gene and schizophrenia in a Han Chinese population. Int J Med Sci, 2014, 11(12):1234-1239.
- (2) Liu Lin[#], **Zhang Yong[#]**, Zhang Haoqiang, Liu Jide, Feng Yupeng, Li Yunqing, Li Jinlian, Zhang Fuxing*. Topography of the afferents to middle portion of the cingulate cortex from brainstem. 神经解剖学杂志, 2014, 30(6):649-654.
- (3) Wang GX[#], **Zhang Y[#]**, Zhang YT, Dong YS, Lv ZW, Sun M, Wu D, Wu YM*. Mitochondrial haplogroups and hypervariable region polymorphisms in schizophrenia: A case-control study, Psychiatry Res, 2013, 209(3):279-283.
- (4) Li Y[#], **Zhang Y[#]**, Liu DB, Liu HY, Hou WG*, Dong YS*, Curcumin Attenuates Diabetic Neuropathic Pain by Downregulating TNF- α in a Rat Model. Int J Med Sci, 2013, 10(4), 377-381.

2. 通讯作者论文(勿与第一作者论文重复)(仅不列此项时可删除该标题, 序号按实际情况编排)

- (1) Sun JS[#], Zhang XL[#], Yang YJ, Nie ZG, **Zhang Y***. Hypoxia promotes C-X-C chemokine receptor type 4 expression through microRNA-150 in pancreatic cancer cells. Oncol Lett, 2015, 10(2):835-840.
- (2) Sun JS[#], Yang YJ[#], Zhang YZ, Huang W, Li ZS, **Zhang Y***. Minocycline attenuates pain by inhibiting spinal microglia activation in diabetic rats. Mol Med Rep, 2015, 12(2):2677-2682.
- (3) Yan ZQ[#], Chen J[#], Xing GX, Huang JG, Hou XH, **Zhang Y***. Salidroside prevents cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats. J Int Med Res, 2015, 43(3):402-411.



3. 既非第一作者又非通讯作者论文（仅不列此项时可删除该标题，序号按实际情况编排）

- (1) Li C[#], Yang Y[#], Liu S, Fang H, **Zhang Y**, Furmanski O, Skinner J, Xing Y, Johns RA, Huganir RL, Tao F*. Stress induces pain transition by potentiation of AMPA receptor phosphorylation. J Neurosci, 2014, 34 (41):13737-13746.
- (2) Yin JB[#], Wu HH[#], Dong YL, Zhang T, Wang J, **Zhang Y**, Wei YY, Lu YC, Wu SX, Wang W, Li YQ*. Neurochemical properties of BDNF-containing neurons projecting to rostral ventromedial medulla in the ventrolateral periaqueductal gray. Frontiers in neural circuits, 2014, 8:137.
- (3) Kou ZZ[#], **Zhang Y**, Zhang T, Li H, Li YQ*. Age-related increase in PKC gamma expression in the cochlear nucleus of hearing impaired C57BL/6J and BALB/c mice. J Chem Neuroanat, 2011, 41(1):20-24.



除非特殊说明，请勿删除或改动简历模板中蓝色字体的标题及相应说明文字

参与者 简历

黄静，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，讲师

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2003/09–2009/06，第四军医大学，基础部人体解剖与组织胚胎学教研室，医学博士，导师：武胜昔教授

1998/09–2003/06，泰山医学院，临床医学系，医学学士

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2014/03–至今，美国 NIH 进行博士后研究

2009/06–至今，第四军医大学，基础部人体解剖与组织胚胎学教研室，讲师

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

身份证，370902198012200969

主持或参加科研项目(课题)及人才计划项目情况(按时间倒序排序)：

- 1、国家自然科学基金面上项目、81371240、PFC-AMY 环路可塑性在慢性痛与情绪-认知交互影像中的作用及机制、2014/01-2017/12、70 万元、在研、参加。
- 2、国家自然科学基金青年科学基金项目、31100861、GABA 能神经元中间祖细胞的发育调控及在脊髓痛觉环路形成中的作用、2012/01-2014/12、25 万元、已结题、主持。
- 3、国家自然科学基金面上项目、81171052、acrolein 在脊髓损伤后慢性疼痛发生发展中的作用及机制研究、2012/01-2015/12、60 万元、结题、参加。

代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）

（请注意：①投稿阶段的论文不要列出；②对期刊论文：应按照论文发表时作者顺序列出



全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷（期）及起止页码（摘要论文请加以说明）；③对会议论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称（或会议论文集名称及起止页码）、会议地址、会议时间；④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况：所有共同第一作者均加注上标“#”字样，通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样，唯一第一作者且非通讯作者无需加注；⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。）

一、期刊论文（仅不列此项时可删除该标题）

1. 第一作者论文（仅不列此项时可删除该标题）

1. Chen J[#], **Huang J[#]**, Wei YY, Sun XX, Wang W, Bai L, Wang YY, Kaneko T, Li YQ*, Wu SX*. Birth-date dependent arrangement of spinal enkephalinergic neurons: evidence from the preproenkephalin-green fluorescent protein transgenic mice. *Neuroscience*, 2014; 260:47-58.
2. Luo DS[#], **Huang J[#]**, Dong YL, Wu ZY, Wei YY, Lu YC, Wang YY, Yanagawa Y, Wu SX, Wang W, Li YQ*. Connections between EM2- and SP-containing terminals and GABAergic neurons in the mouse spinal dorsal horn. *Neurol Sci*, 2014; 35(9):1421-1427.
3. **Huang J[#]**, Chen J, Wang W, Wei YY, Cai GH, Tamamaki N, Li YQ*, Wu SX*, Birthdate study of GABAergic neurons in the lumbar spinal cord of the glutamic acid decarboxylase 67-green fluorescent protein knock-in mouse, *Front Neuroanat*, 2013; 7: 42.
4. Cai GH[#], **Huang J[#]**, Zhao Y, Chen J, Wu HH, Dong YL, Smith HS, Li YQ, Wang W*, Wu SX*, Antioxidant Therapy for Pain Relief in Patients with Chronic Pancreatitis: Systematic Review and Meta-analysis. *Pain Physician*, 2013 16(6):521-532.
5. **Huang J[#]**, Lin Y[#], Han R, Chen J, Wang YY, Wang W, Wei YY, Kaneko T, Li YQ*, Wu SX*, Spatial and temporal distribution patterns of enkephalinergic neurons in adult and developing retinas of the preproenkephalin-green fluorescent protein transgenic mouse. *Cells Tissues Organs*, 2012; 195(6):563-574.

2. 既非第一作者又非通讯作者论文（仅不列此项时可删除该标题，序号按实际情况编排）

1. Chen J[#], Lin Y[#], **Huang J**, Wang W, Wei YY, Li YQ, Kaneko T, Wu SX*. Mammal retinal distribution of ENKergic amacrine cells and their neurochemical features: evidence from the PPE-GFP transgenic mice. *Neurosci Lett.*, 2013; 548: 233-238.



除非特殊说明，请勿删除或改动简历模板中蓝色字体的标题及相应说明文字

参与者 简历

鲁亚成，第四军医大学，基础部解剖教研室，讲师

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2004/09-2007/07，辽宁医学院，人体解剖与组织胚胎学，硕士，导师：任甫

1999/09-2004/07，西安交通大学，临床医学，学士

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2007/09—至今，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，讲师

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

身份证，610481198003045424

主持或参加科研项目（课题）及人才计划项目情况（按时间倒序排序）：

1. 国家自然科学基金面上项目，31371126，脆性X基因综合征小鼠前额叶皮质长时程增强的网络特性研究，2014/01-2017/12, 80万，正在进行，参与。

2. 国家自然科学基金面上项目，81371238，脊髓背角DNA甲基化介导的NR2B基因上调参与疼痛慢性化的机制研究，2014/01-2014/12, 16万，已结题，参与。

代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）

（请注意：①投稿阶段的论文不要列出；②对期刊论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷（期）及起止页码（摘要论文请加以说明）；③对会议论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称（或会议论文集名称及起止页码）、会议地址、会议时间；④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况：所有共同第一作者均加注上标“#”字样，通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样，唯一第一作者且非通讯作者无需加注；⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。）

一、期刊论文（仅不列此项时可删除该标题）

请按如下顺序列出：

1. 第一作者论文（仅不列此项时可删除该标题）



- (1) **Lu YC[#]**, Chen YZ[#], Wei YY, He XT, Li X, Hu W, Yanagawa YC, Wang W*, Wu SX*, Dong YL*. Neurochemical properties of the synapses between the parabrachial nucleus-derived CGRP-positive axonal terminals and the GABAergic neurons in the lateral capsular division of central nucleus of amygdala. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(1):105-18.
- (2) 鲁亚成[#], 祈健, 李霞, 李云庆, 董玉琳*, 神经病理性痛大鼠中央杏仁核内磷酸化 ERK 的过表达参与负性情绪的产生, *神经解剖学杂志*, 2013, 29(4): 369-373.
- (3) 鲁亚成[#], 田菲, 李云庆, 董玉琳*, 中央杏仁核内 CGRP 能阳性突触的超微结构研究, *神经解剖学杂志*, 2012, 28(4): 341-346.

2. 既非第一作者又非通讯作者论文 (仅不列此项时可删除该标题, 序号按实际情况编排)

- (1) Qi J[#], Li H[#], Zhao TB, **Lu YC**, Zhang T, Li JL, Dong YL*, Li YQ*, Inhibitory Effect of Endomorphin-2 Binding to the μ -Opioid Receptor in the Rat Pre-Bötzing Complex on the Breathing Activity, *Mol Neurobiol*, 2016 [Epub ahead of print].
- (2) Ding T[#], Yin JB[#], Hao HP[#], Zhu Ch, Zhang T, **Lu YC**, Wang LY, Wang Z, Li, YQ*, Tissue engineering of nanosilver-embedded peripheral nerve scaffold to repair nerve defects under contamination conditions, *Int J Artif Organs*, 2015, 38(9): 508 – 516.
- (3) Li MY[#], Wu ZY[#], **Lu YC**, Yin JB, Wang J, Zhang T, Dong YL*, Wang F*, Connections between EM2-containing terminals and GABA/ μ -opioid receptor co-expressing neurons in the rat spinal trigeminal caudal nucleus *Front Neural Circuits*, 2014, 8: 125-138.
- (4) Qi J[#], Chen C[#], **Lu YC**, Zhang T, Xu H, Cui YY, Chen YZ, Wang W, Dong YL, Li YQ, Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase1/2 in the Medial Prefrontal Cortex Contributes to Stress-Induced Hyperalgesia, *Mol Neurobiol*, 2014, 50(3):1013-23.
- (5) Ge SN[#], Li ZH[#], Tang J[#], Ma Y, Hioki H, Zhang T, **Lu YC**, Zhang FX, Mizuno N, Kaneko T, Liu YY, Lung MS, Gao GD, Li JL*. Differential expression of VGLUT1 or VGLUT2 in the trigeminothalamic or trigeminocerebellar projection neurons in the rat, *Brain Struct Funct*, 2014, 219(1): 211-29.
- (6) Yin JB[#], Wu HH[#], Dong YL[#], Zhang T, Wang J, Zhang Y, Wei YY, **Lu YC**, Wu SX, Li YQ*, Wang W*, Neurochemical properties of BDNF-containing neurons projecting to rostral ventromedial medulla in the ventrolateral periaqueductal gray. *Front Neural Circuits*, 2014, 20(8): 137 -145.



除非特殊说明，请勿删除或改动简历模板中蓝色字体的标题及相应说明文字

参与者 简历

张明明，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，讲师

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2012/12 - 2014/02，加拿大多伦多大学生理系，联合培养博士研究生，导师卓敏教授

2008/09 - 2014/06，第四军医大学基础部人体解剖与组织胚胎学教研室，直接攻读博士学位，导师李云庆教授

2003/09 - 2008/06，第四军医大学临床医学系，获医学学士学位

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2014/07 - 至今，第四军医大学基础部，人体解剖与组织胚胎学教研室，讲师

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

身份证：610102198505102722

主持或参加科研项目(课题)及人才计划项目情况(按时间倒序排序)：

1. 国家自然科学基金青年项目，81500945，HCN 通道参与肠易激综合征所致前扣带回皮质突触前可塑性改变的研究、2016/01-2018/12、17.5 万元、在研、主持
2. 国家自然科学基金面上项目，31470052，CPEB1 调控杏仁核突触内可塑性相关蛋白翻译紊乱参与焦虑发生的机制研究、2015/01-2016/12、30 万元、在研、参与
3. 国家自然科学基金面上项目，31371126，脆性 X 综合征小鼠前额叶皮质突触传递长时程增强的网络特性研究、2014/01-2017/12、80 万元、在研、参与。
4. 国家自然科学基金面上项目，31371211，脊髓背角内 GRPR 阳性神经元参与痒觉信息传递的机制研究、2014/01-2017/12、81 万元、在研、参与
5. 国家自然科学基金面上项目，81371239，慢性痛状态下岛叶神经元兴奋性突触传递可塑



性变化的机制、2014/01-2017/12、70 万元、在研、参与

代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）

（请注意：①投稿阶段的论文不要列出；②对期刊论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷（期）及起止页码（摘要论文请加以说明）；③对会议论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称（或会议论文集名称及起止页码）、会议地址、会议时间；④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况：所有共同第一作者均加注上标“#”字样，通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样，唯一第一作者且非通讯作者无需加注；⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。）

一、期刊论文（仅不列此项时可删除该标题）

1. 第一作者论文（仅不列此项时可删除该标题）

- (1) Liu SB[#], **Zhang MM[#]**, Cheng LF, Shi J, Lu JS, Zhuo M*. Long-term upregulation of cortical glutamatergic AMPA receptors in a mouse model of chronic visceral pain. **Mol Brain**. 2015;19;8:76.
- (2) Li J[#], **Zhang MM[#]**, Tu K, Wang J, Zhang T, Zhang ZN, Lei J, Feng B, Liu XH, Li YQ*, Du JQ*, Chen T. The excitatory synaptic transmission of the nucleus of solitary tract was potentiated by chronic myocardial infarction in rats. **Plos One**. 2015 Mar 10;10(3):e0118827.
- (3) **Zhang MM[#]**, Liu SB, Chen T, Zhang T, Koga K, Li YQ*, Zhuo M*. Effects of NB001 and Gabapentin on experimental Irritable bowel syndrome induced anxiety. **Mol Brain**, 2014, 16;7:47.
- (4) **Zhang MM[#]**, Ji W, Pei LY, Wang W, Chen T, Wang W, Li H, Zhang T, Wu SX*, Li YQ*. Acute colitis induces neurokinin 1 receptor internalization in the rat lumbosacral spinal cord. **Plos One**, 2013; 8(3): e59234.

2. 既非第一作者又非通讯作者论文（仅不列此项时可删除该标题，序号按实际情况编排）

- (1) Chen T[#], Wang W, Dong YL, **Zhang MM**, Wang J, Koga K, Liao YH, Li JL, Budisantoso T, Shigemoto R, Itakura M, Haganir RL, Li YQ*, Zhuo M*. Postsynaptic insertion of AMPA receptor onto cortical pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex after peripheral nerve



injury. **Mol Brain**, 2014, 7:76.

- (2) Chen T[#], O'Den G, Song Q, Koga K, **Zhang MM**, Zhuo M*. Adenylyl cyclase subtype 1 is essential for late-phase long term potentiation and spatial propagation of synaptic responses in the anterior cingulate cortex of adult mice. **Mol Pain**, 2014, 10:65.
- (3) Liu MG[#], Kang SJ, Shi TY, Koga K, **Zhang MM**, Collingridge GL, Kaang BK, Zhuo M*. Long-term potentiation of synaptic transmission in the adult mouse insular cortex: multi-electrode array recordings. **J Neurophysiol**, 2013, 110(2):505-521.

二、授权发明专利（仅不列此项时可删除该标题，标题序号按实际情况编排）

格式：发明人，专利名称，授权时间，国别，专利号

张明明，李军平，李云庆，实用新型专利：肠肌张力测量器，No.：ZL201020664791.5



除非特殊说明，请勿删除或改动简历模板中蓝色字体的标题及相应说明文字

参与者 简历

寇珍珍，第四军医大学，基础部人体解剖学教研室，讲师

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2008/09 - 2014/06，第四军医大学，基础部人体解剖与组织胚胎学，博士，导师：李云庆

2012/11 - 2013/12，日本冈崎国立生理学研究所，细胞信号部，联合培养博士生，导师：
富永真琴

2003/09 - 2008/06，四川大学，基础医学，学士

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2014/09 - 至今，第四军医大学，基础部人体解剖与组织胚胎学教研室，讲师

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

身份证，610104198411060026

主持或参加科研项目(课题)及人才计划项目情况(按时间倒序排序)：

- 1、国家自然科学基金面上项目、81501044、胰岛素受体在背根神经节参与炎性痛的机制研究、2016/01-2018/12、17.5 万元、在研、主持。
- 2、国家自然科学基金面上项目、81470843、线粒体解耦联蛋白 UCP2 介导黑质网状部 KCC2 功能异常参与肝性脑病诱致运动迟缓的机制研究、2015/01-2018/12、67 万元、在研、参与。
- 3、国家自然科学基金面上项目，81371239、慢性痛状态下岛叶神经元兴奋性突触传递可塑性变化的机制、2014/01-2017/12、70 万元、在研、参与。
- 4、国家自然科学基金面上项目，31371126、脆性 x 综合征小鼠前额叶皮层突触传递长时程



增强的网络特性研究、2014/01-2017/12、80 万元、在研、参与。

5、国家自然科学基金面上项目，81371240、PFC-AMY 环路可塑性在慢性痛与情绪-认知交互影响中的作用及机制、2014/01-2017/12、70 万元、在研、参与。

6、国家自然科学基金面上项目，31271211、脊髓背角内 GRPR 阳性神经元参与痒觉信息传递的机制研究、2014/01-2017/12、81 万元、在研、参与。

代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）

（请注意：①投稿阶段的论文不要列出；②对期刊论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷（期）及起止页码（摘要论文请加以说明）；③对会议论文：应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称（或会议论文集名称及起止页码）、会议地址、会议时间；④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况：所有共同第一作者均加注上标“#”字样，通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样，唯一第一作者且非通讯作者无需加注；⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。）

一、期刊论文（仅不列此项时可删除该标题）

1. 第一作者论文（仅不列此项时可删除该标题）

- (1) Qu J[#], Liao YH[#], **Kou ZZ[#]**, Wei YY, Huang J, Chen J, Yanagawa Y, Wu SX, Shi M* & Li YQ*. Puerarin alleviates noise-induced hearing loss via affecting PKCgamma and GABAB receptor expression. J Neurol Sci, 2015, 349, 110-116.
- (2) **Kou ZZ[#]**, Li CY, Hu JC, Yin JB, Zhang DL, Liao YH, Wu ZY, Ding T, Qu J, Li H* & Li YQ*. Alterations in the neural circuits from peripheral afferents to the spinal cord: possible implications for diabetic polyneuropathy in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. Front Neural circuits, 2014, 8, 6.
- (3) **Kou ZZ[#]**, Qu J[#], Zhang DL, Li H* & Li YQ*. Noise-induced hearing loss is correlated with alterations in the expression of GABAB receptors and PKC gamma in the murine cochlear nucleus complex. Front Neuroanat, 2013, 7, 25.
- (4) **Kou ZZ[#]**, Li CY[#], Tang J[#], Hu JC, Qu J, Liao YH, Wu SX, Li H* & Li YQ*. Down-regulation of insulin signaling is involved in painful diabetic neuropathy in type 2 diabetes, Pain Physician, 2013, 16, E71-83.



二、授权发明专利（仅不列此项时可删除该标题，标题序号按实际情况编排）

格式：发明人，专利名称，授权时间，国别，专利号

寇珍珍，李辉，李云庆，李春雨，张国涛，王博宇，蛋白质免疫印迹抗体板，2015.12.08，中国，201520756238.7

三、获得学术奖励（仅不列此项时可删除该标题，标题序号按实际情况编排）

格式：获奖人（获奖人排名/获奖人数），获奖项目名称，奖励机构，奖励类别，奖励等级，颁奖年份（所有获奖人名单附后）

寇珍珍（1/1），初级传入神经在背根神经节和脊髓背角参与糖尿病痛的机制研究，中国解剖学会，中国解剖学会学术年会最佳论文报告奖，2011

NSFC 2016



参与者 简历

革军

第四军医大学基础部人体解剖学教研室，博士后。

教育经历（从大学本科开始，按时间倒序排序；请列出攻读研究生学位阶段导师姓名）：

2011/09 – 2014/06，第四军医大学，外科学(骨科)，博士，导师:罗卓荆。

2008/09 – 2011/06，第四军医大学，外科学(骨科)，硕士，导师:王臻。

2002/09 – 2007/06，第四军医大学，口腔医学系，本科。

科研与学术工作经历（按时间倒序排序；如为在站博士后研究人员或曾进入博士后流动站（或工作站）从事研究，请列出合作导师姓名）：

2014/06–至今，第四军医大学，人体解剖与组织胚胎学教研室，在站博士后，导师：李云庆。

2008/06 – 2008/08，解放军第三二三医院，医师。

2007/06 – 2008/06，解放军第三医院，医师。

曾使用其他证件信息（申请人应使用唯一身份证件申请项目，曾经使用其他身份证件作为申请人或主要参与者获得过项目资助的，应当在此列明）

身份证：610425198109030916

主持或参加科研项目(课题)及人才计划项目情况(按时间倒序排序)：

- 1、国家自然科学基金面上项目，30770571，周围神经组织工程支架的构建及其修复节段性神经缺损的研究，2008/01-2010/12，30 万元，已结题，参加。
- 2、国家自然科学基金面上项目，30973052，“神经营养因子——细胞电控释放系统”在神经损伤中的应用及其分子机制研究，2010/01-2012/12，30 万元，已结题，参加。

代表性研究成果和学术奖励情况（每项均按时间倒序排序）



(请注意: ①投稿阶段的论文不要列出; ②对期刊论文: 应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、期刊名称、发表年代、卷(期)及起止页码(摘要论文请加以说明); ③对会议论文: 应按照论文发表时作者顺序列出全部作者姓名、论文题目、会议名称(或会议论文集名称及起止页码)、会议地址、会议时间; ④应在论文作者姓名后注明第一/通讯作者情况: 所有共同第一作者均加注上标“#”字样, 通讯作者及共同通讯作者均加注上标“*”字样, 唯一第一作者且非通讯作者无需加注; ⑤所有代表性研究成果和学术奖励中本人姓名加粗显示。)

一、期刊论文(仅不列此项时可删除该标题)

1. 第一作者论文(仅不列此项时可删除该标题)

1. Zhu S[#], **Ge J[#]**, Wang Y[#], Qi F, Ma T, Wang M, Yang Y, Liu Z, Huang J*, Luo Z*. A synthetic oxygen carrier-olfactory ensheathing cell composition system for the promotion of sciatic nerve regeneration. *Biomaterials*. 2014, 35(5):1450-1461.
2. Yang Y[#], Ma T[#], **Ge J[#]**, Quan X, Yang L, Zhu S, Huang L, Liu Z, Liu L, Geng D, Huang J*, Luo Z*. Facilitated neural differentiation of adipose tissue-derived stem cells by electrical stimulation and Nurr-1 gene transduction. *Cell Transplant*, 2015.

2. 既非第一作者又非通讯作者论文(仅不列此项时可删除该标题, 序号按实际情况编排)

1. Huang L[#], Quan X[#], Liu Z[#], Ma T, Wu Y, **Ge J**, Zhu S, Yang Y, Liu L, Sun Z, Huang J*, Luo Z*. c-Jun gene-modified Schwann cells: upregulating multiple neurotrophic factors and promoting neurite outgrowth. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(7-8):1409-1421.
2. Liu ZH[#], Sun Z[#], Wang HQ[#], **Ge J**, Jiang TS, Chen YF, Ma Y, Wang C, Hu S, Samartzis D, Luo ZJ*. FasL expression on human nucleus pulposus cells contributes to the immune privilege of intervertebral disc by interacting with immunocytes. *Int J Med Sci*, 2013, 10(8):1053-1060.



附件信息

序号	附件名称	备注	附件类型
1	国家科技进步一等奖		科技奖励
2	代表论著1		代表性论著
3	代表论著2		代表性论著
4	代表论著3		代表性论著
5	代表论著4		代表性论著
6	代表论著5		代表性论著
7	英文版申请书		英文版申请书
8	国际合作协议		其他
9	确认函		其他
10	合作方NIH在研项目		其他

NSFC 2016

**签字和盖章页(此页不用填写, 签字、盖章后寄给申请部门综合处)**

申 请 者: 李云庆 依托单位及所在院/系/所/实验室: 中国人民解放军第四军医大学

项目名称: 痒觉信息在脊髓以上中枢传递和调控的环路及其机制研究

申请执行时间: 2017-01-01--2021-12-31

申请者承诺:

我保证申请书内容的真实性。如果获得基金资助, 我将履行项目负责人职责, 严格遵守国家自然科学基金委员会的有关规定, 切实保证研究工作时间, 认真开展工作, 按时报送有关材料。若填报失实和违反规定, 本人将承担全部责任。

执行此项目期间, 因无法预料的原因所产生的后果由本人自负(如健康状况、经济纠纷、损失等)

签字:

项目组主要成员承诺:

我保证有关申报内容的真实性。如果获得基金资助, 我将严格遵守国家自然科学基金委员会的有关规定, 切实保证研究工作时间, 加强合作、信息资源共享, 认真开展工作, 及时向项目负责人报送有关材料。若个人信息失实、执行项目中违反规定, 本人将承担相关责任。

编号	姓名	工作单位名称	证件号码	每年工作时间(月)	签字
1	李辉	中国人民解放军第四军医大学	后文字第2040103	7	
2	张勇	中国人民解放军第四军医大学	410526197807176410	7	
3	黄静	中国人民解放军第四军医大学	后文字第2040395	7	
4	鲁亚成	中国人民解放军第四军医大学	610481198003045424	7	
5	张明明	中国人民解放军第四军医大学	610102198505102722	8	
6	寇珍珍	中国人民解放军第四军医大学	610104198411060026	7	
7	革军	中国人民解放军第四军医大学	61010319840923123X	8	
8	王舰	中国人民解放军第四军医大学	610102198709062718	9	
9	尹俊滨	中国人民解放军第四军医大学	370321198804161212	9	

依托单位及合作单位承诺:

已按填报说明对申请人的资格和申请书内容进行了审核。申请项目如获资助, 我单位保证对研究计划实施所需要的人力、物力和工作时间等条件给予保障, 严格遵守国家自然科学基金委员会有关规定, 督促项目负责人和项目组成员以及本单位项目管理部门按照国家自然科学基金委员会的规定及时报送有关材料。

依托单位公章

日期:

合作单位公章1

日期:

合作单位公章2

日期:



委内审批意见

科学处意见：	签字： 年 月 日
科学部意见：	签字： 年 月 日
地区处意见：	签字： 年 月 日
合作局意见：	签字： 年 月 日
会签部分意见：	签字： 年 月 日
委领导意见：	签字： 年 月 日
备注	