

上海市第一人民医院医学伦理委员会科研项目伦理批件

批件编号 2020KY212	审查日期 2020.10.13	项目编号 2020 科 212
项目名称	脂毒性肝细胞外泌体 miR-1297 促进肝纤维化的分子机制研究	
项目来源	国家自然科学基金	
主要研究者	徐铭益	
研究单位	上海市第一人民医院	科室 消化科

审查文件（含版本号）如下：

- (1) 研究方案
- (2) 知情同意申请书
- (3) 主要研究者履历

1、审查方式

☐会议审查

☒快速审查

☐紧急会议审查

2、审查结果

同意

3、该研究进行过程中将接受伦理委员会的持续审查？☒是 ☐否

审查频率为该研究批准之日起每 12 月一次。

伦理委员会会根据实际进展情况改变持续审查频率的权利。

4、批件有效期为 12 个月，至 2021 年 10 月 13 日 止。

医院伦理委员会（盖章）：

日期：2020 年 10 月 13 日

地址：上海市海宁路 100 号（200080）

电话：（021）63240090

试验方案

一、 方案名称

脂毒性肝细胞外泌体 miR-1297 促进肝纤维化的分子机制研究。

二、 试验目的

研究 miR-1297 在非酒精性脂肪性肝病中的作用及机制，同时为非酒精性脂肪性肝病的治疗提供新的思路。

三、 试验方法

1、临床研究

收集 10 例轻度非酒精性脂肪肝患者和 10 例重度非酒精性脂肪性肝病患者的血清样本（以 FibroScan 结果为准），通过 qRT-PCR 检测两组患者中外泌体 miR-1297 水平的变化。。

2、体外细胞实验 *In vitro study using primary hepatocytes isolating from mice*

1)分离小鼠原代肝细胞（Primary Hepatocyte, PHC），行体外培养。以棕榈酸(Palmitic Acid)模拟高脂环境刺激细胞后，收集细胞外泌体行高通量测序及 qPCR 检测筛选出差异 microRNA-1297。

2)在肝星状细胞系 LX2 中，过表达 miR-1297,RT-qPCR 及 WesternBlot 检测星状细胞活化及增殖相关基因表达情况。免疫荧光检测细胞活化，EdU 检测细胞增殖。运用 targetsan 预测 miR-1297 靶基因 X，RT-qPCR 及 WesternBlot 检测过表达后 miR-1297 后靶基因 X 表达情况。敲减 X 后观察 LX2 细胞活化与增殖情况。

3)收集 PA 刺激肝细胞系 LO2 的外泌体，用以孵育 LX 细胞,RT-qPCR 及 WesternBlot 检测星状细胞活化、增殖相关基因及靶基因 X 表达情况。免疫荧光检测细胞活化，EdU 检测细胞增殖。

四、 试验结果分析

运用 SPSS 软件处理结果。通过 T 检验对两组数据进行分析。