

新疆维吾尔自治区自然科学基金 资助项目合同书

项目类别：面上项目 项目编号：2019D01C209

项目名称：BDE-47 对 C57BL/6 小鼠脂肪组织及胰岛素敏感性的剂
量效应关系—限制性立方样条分析

资助经费：7.0 万元

起止时间：2019 年 05 月 01 日 至 2022 年 04 月 30 日

负 责 人：刘早玲 手 机：18999108123

承担单位：新疆医科大学（公章）

通讯地址：乌鲁木齐市新医路 393 号

邮政编码：830011 电子邮件：zaolingliu@gmail.com

填表日期：2019 年 05 月 10 日

新疆维吾尔自治区科学技术厅

新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目填报说明

一、“新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目”（简称基金项目）按照《新疆维吾尔自治区科技计划管理办法》和参照国家自然科学基金有关项目财务管理办法、《新疆维吾尔自治区科技专项经费管理办法（试行）》实施管理（查阅 [Http://www.xjkjt.gov.cn](http://www.xjkjt.gov.cn), [Http://www.nsfc.gov.cn](http://www.nsfc.gov.cn)）。项目负责人收到基金项目通知后，请认真阅读上述管理办法，填写《新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目合同书》（简称《合同书》）。填写《合同书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确，并认真阅读本填报说明。

二、《合同书》经自治区科技厅审核批准后，将作为项目研究执行和检查、验收的依据。

三、资助项目的有关研究成果，包括专著、论文、研究报告、总结、鉴定书及成果报道等，均须标注“新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目”和“项目编号”。属联合资助的项目同时标注联合资助方。

四、按照申请书内容填写《合同书》，如果填写内容确实需要修改，必须在《合同书》正文中对修改的内容作详细说明；不能自行降低、更改研究目标，或缩减关键的研究内容。

简明信息表

项目基本信息	项目名称	BDE-47 对 C57BL/6 小鼠脂肪组织及胰岛素敏感性的剂量效应关系—限制性立方样条分析						项目编号	2019D01C209	
	项目类别	面上项目						学科	预防医学与卫生学	
	起止时间	2019 年 05 月 01 日 至 2022 年 04 月 30 日						资助经费	7.0 万元	
项目负责人信息	姓 名	刘早玲			性别	女	民族	汉族	年龄	46
	学 位	博士	学位授予国别 (或地区)		中国			职 称	高级职称	
	手 机	18999108123			E-mail			zaolingliu@gmail.com		
	工作单位	新疆医科大学								
	所在院系所	新疆医科大学公共卫生学院								
合作单位		无								
项目主要参与者	姓名	年龄	性别	职称	学位	单位名称		项目分工		
	樊勇	48	女	正高级	博士	新疆医科大学第一附属医院		副组长		
	康玲	45	女	副高级	博士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		
	田薇	36	女	中级	博士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		
	王艳杰	29	女	初级	硕士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		
	王永治	24	男	其他	学士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		
	海且木汗	24	女	其他	学士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		
	阿依古丽	25	女	其他	学士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		
	李美艳	23	女	其他	学士	新疆医科大学公共卫生学院		成员		

项目摘要

中文摘要（500 字以内）：

肥胖已成为全球公共卫生问题。细胞水平上肥胖是脂肪细胞数目增多和体积增大，即脂肪细胞异常分化的结果。过氧化物酶体增殖子激活受体 γ (PPAR γ) 是调节脂肪细胞分化的关键因子，可促进脂肪细胞的增值和分化，其活性与脂肪细胞分化及胰岛素抵抗呈双向调节的 U 型关系，并可被多种环境内分泌干扰物诱导。BDE-47 是新型环境内分泌干扰物多溴联苯醚同系物中分布最广的污染物，近年多项研究发现生物体发育早期暴露 BDE-47 与出生体重、胰岛素抵抗相关，但两者相关方向却没有定论。为阐明 BDE-47 通过 PPAR γ 介导的脂肪细胞分化及胰岛素敏感性作用的剂量反应关系，本研究选用多个浓度梯度 BDE-47 对小鼠进行干预，并采用限制性立方样条模型探讨 BDE-47 对脂肪细胞分化及胰岛素敏感性的作用规律和机制，为肥胖和胰岛素抵抗及其相关疾病的发病和预防干预提供理论依据。

关键词(不超过 5 个，用分号分开)：

BDE-47; 脂肪细胞分化; 胰岛素敏感性; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)

Abstract(limited to 500 words):

Obesity has become a global public health problem. Obesity at the cellular level is the result of the increase in the number and volume of adipocytes, i.e. the abnormal differentiation of adipocytes. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) is a key factor in regulating adipocyte differentiation. It can promote adipocyte proliferation and differentiation and its activity is bi-directionally regulated by adipocyte differentiation and insulin resistance, which can be induced by various environmental endocrine disruptors. BDE-47 is the most widely distributed pollutant in the homologues of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). In recent years, many studies have found that exposure to BDE-47 during the early development of organisms is related to birth weight and insulin resistance, but there is no definite direction between them. In order to elucidate the dose-response relationship of BDE-47 on adipocyte differentiation and insulin sensitivity mediated by PPAR gamma, this study will use multiple concentration gradients of BDE-47 to

intervene in mice, then restrictive cubic spline model to explore the mechanism of BDE-47 on adipocyte differentiation and insulin sensitivity, which will provide basis for the pathogenesis and preventive intervention of obesity, insulin resistance and related diseases.

Keywords(limited to 5 keywords, seperated by):

BDE-47;Adipocyte differentiation; insulin sensitivity; peroxisome proliferator-activated receptor gamma

自治区科技计划项目经费预算表

单位：万元（保留两位小数）

预算科目	总预算数	其中：申请资助数	备注
(1)	(2)	(3)	(4)
一、来源预算合计	7.0	7.0	/
（一）申请科技项目经费的资助	7.0	7.0	/
（二）自筹经费来源	0.0		/
1.其他财政拨款	0.0		/
（1）国家部委拨款	0.0		/
（2）地州市财政拨款	0.0		/
（3）主管部门配套	0.0		/
2.承担单位自有货币资金	0.0		/
3.从银行获得的贷款	0.0		/
4.其他资金	0.0		/
二、支出预算合计	7.0	7.0	/
（一）直接费用	5.83	5.83	/
1.设备费	0.0	0.0	/
（1）购置设备费	0.0	0.0	/
①价5万元（含）以上的设备	0.0	0.0	/
②价5万元以下的设备	0.0	0.0	/
（2）试制设备费	0.0	0.0	/
（3）设备改造与租赁费	0.0	0.0	/
2.材料费	2.63	2.63	/
（1）原材料	2.63	2.63	BDE-47 标准品的购置、实验小鼠购买等
（2）辅助材料	0.0	0.0	/
（3）低值易耗品	0.0	0.0	/
（4）其他材料费	0.0	0.0	/
3.测试化验加工费	0.7	0.7	PPAR γ 启动子甲基化、血糖葡萄糖检测等
4.燃料动力费	0.0	0.0	/
5.技术引进费	0.0	0.0	/
6.差旅费	1.0	1.0	学术交流会议差旅费、会议费
7.会议费	0.0	0.0	/
8.国际合作与交流费	0.0	0.0	/
9.出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.6	0.6	发表论文版面费

10. 劳务费	0.9	0.9	研究生劳务费
11. 专家咨询费	0.0	0.0	/
12. 其他支出	0.0	0.0	/
(二) 间接费用	1.17	1.17	其中管理费 0.47, 绩效支出 0.7
其中: 绩效支出	0.7	0.7	项目组绩效支 出

一、研究内容、研究目标与解决的关键科学问题

研究内容

应用 C57BL/6 野生型小鼠研究模型，采用灌胃给药的体内实验方式，通过不同浓度 BDE-47 对 3T3-L1 前脂肪细胞分化作用规律及 PPAR γ 受体诱导作用的研究，探讨 BDE-47 对脂肪细胞分化和胰岛素敏感性的作用机制。

(1) BDE-47 对 C57BL/6 野生型小鼠脂肪细胞分化作用及脂肪因子的影响：

研究不同剂量 BDE-47 对 C57BL/6 野生型小鼠体重、股四头肌白色脂肪组织重量及血清中脂肪因子瘦素、脂联素水平。

(2) BDE-47 对 PPAR γ 受体诱导作用的研究：

C57BL/6 野生型小鼠染毒 4 周后股四头肌脂肪组织 PPAR γ 受体活性测定。

(3) BDE-47 对胰岛素敏感性影响研究：

通过腹腔注射葡萄糖耐量和腹腔注射胰岛素耐量实验检测 C57BL/6 野生型小鼠血清中胰岛素、血糖和血脂的水平，探讨不同剂量 BDE-47 体内胰岛素敏感性的影响。

(4) PBDEs 暴露浓度与脂联素、瘦素、胰岛素等的剂量反应关系：

采用限制性立方样条探讨 BDE-47 暴露浓度与脂联素、瘦素、胰岛素等的剂量-反应关系。

研究目标

(1) 探讨 BDE-47 调节脂肪细胞分化的特点和规律。

(2) 探讨 BDE-47 调节胰岛素敏感性的特点、规律及作用机制。

(3) 阐明 BDE-47 暴露与脂肪因子和胰岛素抵抗的关系。

(4) 采用限制性立方样条探讨 PBDEs 暴露浓度脂联素、瘦素、胰岛素等的剂量-反应关系。

拟解决的关键科学问题

体内实验中不同浓度 BDE-47 对脂肪细胞分化的调节和胰岛素敏感性研究时，剂量-效应关系的确定是该研究的关键。

二、研究方法与技术路线

研究方法

应用无背景干扰的近交系 C57BL/6 小鼠，设阴性对照组（橄榄油）、阳性对照组（TZD）、高、较高、中、较低、低剂量的 BDE-47 组。各组剂量分别为：高剂量组 50mg/kg、较高剂量组 10mg/kg、中剂量组 2mg/kg、较低剂量组 0.4mg/kg、低剂量组 0.08mg/kg。每组各 10 只，雌雄各半，连续 4 周灌胃结束时，小鼠过夜空腹，摘眼球取血，制备血清；取两侧股四头肌、肝、白色脂肪组织与血清一起于-80℃冷冻保存。

（1）腹腔内注射葡萄糖耐量实验(Intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT)：第 3 周时野生小鼠每组 5 只做此实验。小鼠空腹 8 小时（保持充足饮水）腹腔注射葡萄糖，葡萄糖按小鼠体重 2mg/g 给予。分别在给予葡萄糖 0,30,60 和 120 分钟取鼠尾血用微量血糖仪测各时间点血糖值。以时间为横坐标，血糖值为纵坐标，作注射葡萄糖后血糖随时间变化曲线图来呈现结果，同时计算曲线下面积。

（2）腹腔内注射胰岛素耐量实验(Intraperitoneal insulin tolerance test, IPITT)：喂养第 3 周时野生小鼠每组剩余 5 只做此实验。小鼠空腹 6 小时，基因重组人胰岛素生理盐水稀释，按小鼠体重 0.75 mU/g 注射入腹腔内。注射后分别于 0,40,90,120 分钟取鼠尾血用微量血糖仪测各时间点血糖值。通过绘制血糖时间曲线来呈现结果，同时计算反向曲线下面积。

（3）血清指标测定：胰岛素测定采用放射免疫分析法，甘油三酯和总胆固醇测定用半自动生化分析仪，具体操作按照试剂盒说明进行。

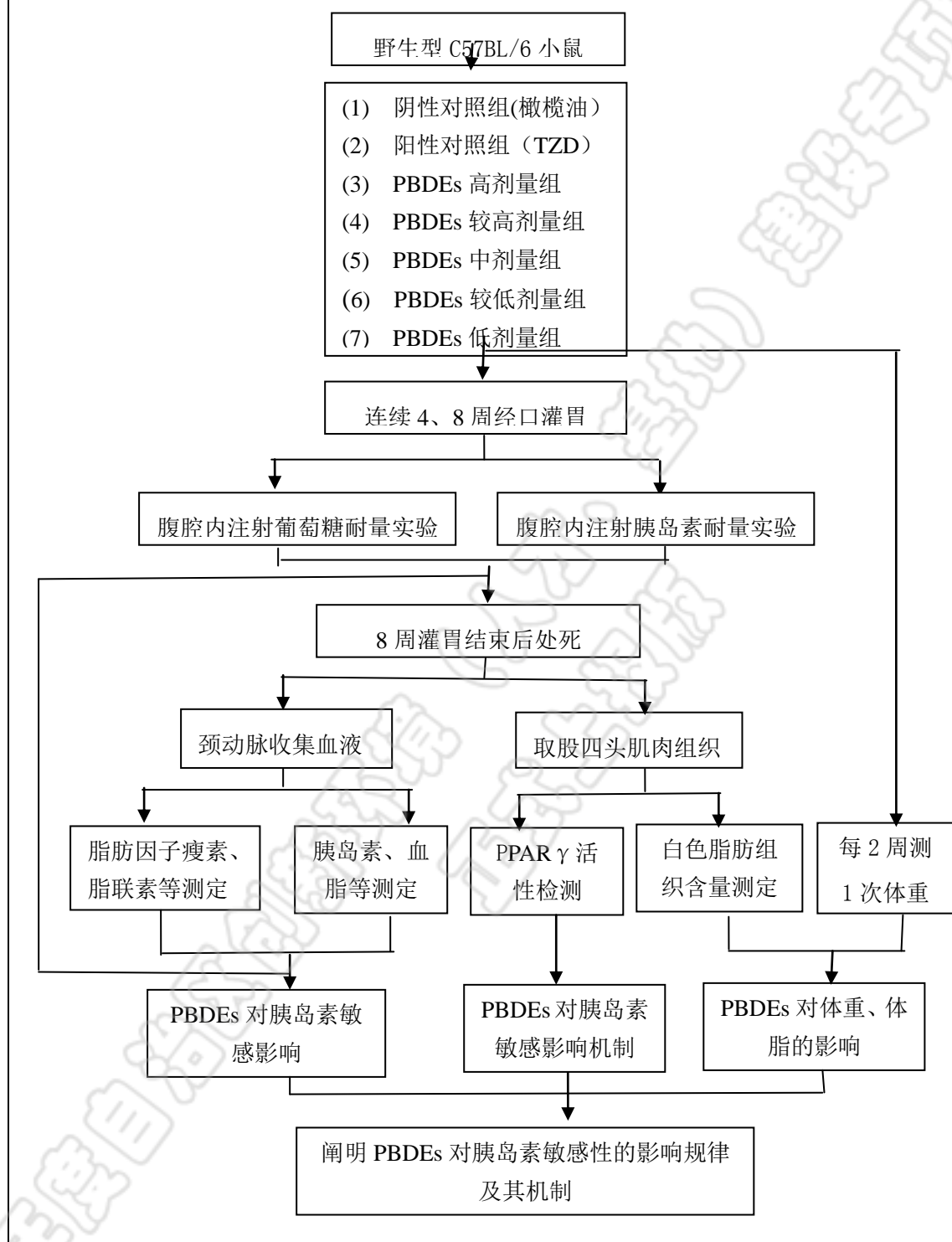
（血清提取：摘眼球取得全血，室温静置 30min，待血液自然凝固后，将其平衡后离心，以 3000r/min 离心 15min（4℃），得到的上清液即为血清，制备血清量约为 0.3ml 左右）

（4）RT-PCR 及 Western-blot 检测 PPAR γ 和脂肪因子脂联素、瘦素等表达。

（5）白色脂肪组织的测定；参见相关文献^[16]。

（6）限制性立方样条模型和曲线表征采用 R 软件实现，以脂联素、瘦素、胰岛素等水平作为结局变量，分析与 BDE-47 暴露浓度之间的剂量-反应关系。

技术路线



三、特色与创新之处

(1)提出 BDE-47 具有非线性的双向调节脂肪细胞分化及胰岛素敏感性思路， 尚未见文献报道。

(2)从 PPAR γ 活性、PPAR γ 基因和蛋白表达等方面阐明 PPAR γ 介导 BDE-47 脂肪细胞分化及胰岛素敏感性作用的可能机制,国内未见报道。

四、年度研究计划

1.2019.05.01~2020.04.30: 预实验, BDE-47 剂量的确定。

2.2020.05.01~2021.04.30: 正式动物实验; 部分指标的测定; 参加 2020 年环境毒理学大会。

3.2021.05.01~2022.04.30: 相关指标测定完成; 撰写文章, 项目结题。

五、预期研究成果

- 1.BDE-47 对脂肪细胞和胰岛素敏感的双向调节规律。
- 2.BDE-47 通过 PPAR γ 介导的机制研究。
- 3.发表核心期刊文章 2 篇:与项目研究内容相关,核心期刊见刊,第一标注。
- 4.培养研究生 1 名

新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目签批审核表

项目负责人签字：

我接受自治区自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准文件和合同书负责实施本项目，严格遵守自治区科技厅关于资助项目管理、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。

项目负责人（签字）：刘早玲

年 月 日

项目承担单位意见：

我单位同意承担自治区自然科学基金项目，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，严格遵守自治区科技厅有关项目管理、财务等各项规定，并督促实施。

新疆医科大学（公章）

年 月 日

自治区科技厅审批意见：

法人代表（或受托人）：

主管业务处负责人（签字）：

主管业务处项目管理人员（签字）：

新疆维吾尔自治区科学技术厅（合同专用章）

年 月 日

项目资助经费拨款信息：

接受拨款单位全称：新疆医科大学

接受拨款单位财务负责人（盖章）：张慧

接受拨款单位开户行：中国工商银行股份有限公司乌鲁木齐新疆医科大学支行

接受拨款单位银行帐号：3002029429100000890

2019年度自治区创新环境（人才、基地）建设专项项目
正式上报版

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

刘早玲 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：

81760596，项目名称：多溴联苯醚双向调节脂肪细胞分化及胰岛素敏感性的机制研究，直接费用：35.00万元，项目起止年月：2018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**2017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**2017年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2017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表

国家自然科学基金委员会
医学科学部
2017年8月17日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81760596	项目负责人	刘早玲	申请代码1	H2606
项目名称	多溴联苯醚双向调节脂肪细胞分化及胰岛素敏感性的机制研究				
资助类别	地区科学基金项目	亚类说明			
附注说明					
依托单位	新疆医科大学				
直接费用	35.00 万元	起止年月	2018年01月 至 2021年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p><1></p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说 本研究拟通过动物鼠模型制备，来探索多溴联苯醚（PBDEs）对脂肪细胞分化和胰岛素敏感作用的影响及其关联生物学机制，为肥胖机制的发生提供部分依据。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 PBDEs是新型内分泌干扰物，且关系到个体发育早期的出生体重。但核心机制迄今不清楚。因此通过动物模型的制备和分子生物学实验来探明内在关联及其机制问题，具有相当的科学价值，亦对探索理解肥胖发生机制有一定参考意义。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 基于原有科学基础提出了较为可行的实验方法和措施，且技术路线较为清晰，把握的关键问题较为精确，具有一定创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 基于原有工作基础设计的科研思路、技术路线以及方法均可接受，亦可行。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件 原来承担过的课题以及发表的论文与本课题关联度较为密切，且功底较为扎实。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p> <p><2></p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说 研究小鼠 3T3-L1 细胞株 PPAR γ 驱动的萤光酶启动子报告基因检测系统的构建， PPAR γ -/-基因敲除小鼠的构建。在体外和体内实验中 PBDEs 对脂肪细胞分化的调节和体内实验中对胰岛素敏感性研究时，剂量-时间-效应关系的确定，是该研究的关键。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 本研究探讨PBDEs 对脂肪细胞分化的双向调节规律、通过 PPAR γ 介导脂肪细胞的分化、对胰岛素敏感影响以及对胰岛素敏感影响机制。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 科学问题假说较明确，具有一定的创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 研究内容详实，研究方案合理，思路较清晰。但是，整个实验设计仅限于细胞体内外和动物实验，缺乏人体中的验证，应做必要的补充，</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件 申请人有较丰富的研究基础积累，基本能够完成预定目标。</p>					

(五) 其它意见或修改建议

<3>

一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说

该申请的主要研究内容为运用不同浓度梯度的BDE-47、BDE-153、BDE-183，对PPAR γ 基因敲除小鼠、同窝野生型小鼠及小鼠3T3-L1前脂肪细胞进行染毒实验，探讨不同浓度梯度的BDE-47、BDE-153、BDE-183对3T3-L1前脂肪细胞分化作用规律及对PPAR γ 受体诱导所用。

提出的科学问题：PBDEs是否通过PPAR γ 介导，具有双向调节脂肪细胞分化及胰岛素敏感性的作用，其作用机制是什么。

二、具体意见

(一) 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

预期的结果包括阐明PBDEs对脂肪细胞分化双向调节的规律，证实PBDEs可通过PPAR γ 介导脂肪细胞的分化，阐明PBDEs对胰岛素敏感性影响及机制。

预期结果对解释PBDEs对代谢性疾病作用机制有一定的科学意义。

(二) 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

所提出的科学问题基本明确，创新性尚可。

(三) 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

1. 儿童青少年发生肥胖有四个易感期，本次研究是针对哪个时期的？这关系到在选择小鼠时的月龄问题，申请者并未提及。如何将研究结果与儿童的肥胖发生影响因素结合起来？

2. 在PBDEs中选择了三种生物体内检测量最多的同系物BDE-47、BDE-153、BDE-183，它们是不是儿童体内含量最高的，在立题依据中没有说明，研究内容中也没有设计人群的调查；另外，申请者的前期研究发现不论是维族还是汉族新生儿脐带血中含量居前三位的均是BDE-183、BDE-153、BDE-28。

综合1、2，应该先确定结果要解释PBDEs对哪个人群肥胖发生的影响及机制，调查该人群PBDEs同系物含量，确定所要研究的同系物，再进行动物建模；或：胎儿在孕后期是第一个肥胖敏感期，在前期研究的基础上，选择BDE-183、BDE-153、BDE-28进行研究。

3. 立题依据及前期研究提示，不同的PBDEs对体重影响的方向不同，本次设计中1只小鼠同时给予BDE-47、BDE-153、BDE-183，如何控制3种同系物之间的交互影响。

4. 关键技术中基因敲除小鼠模型的建立P14用到的是TALE技术，而在可行性分析中写的是CRISPR/Cas9技术。

(四) 申请人的研究能力和研究条件

申请者具备一定的科研能力及完成该项目的研究条件。

(五) 其它意见或修改建议

参考文献部分存在多处格式、文字错误。

修改意见：

医学科学部

2017年8月17日