

受理编号: c19140500001391

项目编号: 2019A1515011873

文件编号: 粤基金字(2019)20号

广东省基础与应用基础研究基金项目 合同书

项目名称: 食管癌中IGFBP2早期诊断价值的大样本多中心验证及其分子作用机制研究

项目类别: 广东省自然科学基金-面上项目

项目起止时间: 2019-10-01 至 2022-09-30

管理单位(甲方): 广东省基础与应用基础研究基金委员会

依托单位(乙方): 汕头大学

通讯地址: 广东省汕头市金平区大学路243号汕头大学

邮政编码: 515063

单位电话: 0754-86502813

项目负责人: 许镒洧

联系电话: 0754-88555844-1058



(广东科技微信公众号)

广东省基础与应用基础研究
基金委员会
二〇一九年制



(受理纸质材料二维码)

一、主要研究内容和要达到的目标

主要研究内容包括三部分：1) 大样本多中心回顾性研究和巢式病例对照研究相结合，研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值。首先，在多中心大样本回顾性研究中，我们以汕头大学医学院附属肿瘤医院收集的300例食管癌患者（早期100例以上）和300例正常对照者为训练列队，以汕头大学医学院附属肿瘤医院收集的200例食管癌患者（早期70例以上）和200例正常对照者为内部验证列队、以中山大学附属肿瘤医院收集的200例食管癌患者（早期70例以上）和200例正常对照者为外部验证列队，通过ELISA实验检测血清IGFBP2蛋白的表达水平，ROC曲线分析IGFBP2蛋白在食管癌中的诊断效能，明确血清IGFBP2在早期食管癌患者中的诊断价值；然后，在巢式病例对照研究中，依托国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项食管癌专病队列研究，分析血清IGFBP2在病例组和对照组中的水平差异，其中，病例组为基线水平内镜检测没有食管癌、但随访过程中发生食管癌的病例，入组50例以上患者，对照组为200例以上随机抽取的在年龄、性别以及基线水平采血时间与病例组均匹配的高危对象，通过ROC曲线分析，探讨血清IGFBP2在食管癌诊断前和诊断时的敏感度和特异度等诊断参数。2) 我们拟选取早期食管癌组织、不典型增生阶段食管上皮组织和中/晚期食管癌组织各100例，采用定量RT-PCR和免疫组化实验，系统鉴定IGFBP2在mRNA和蛋白两个层面上的表达模式特征和临床意义；同时，采用细胞免疫荧光、免疫印迹和ELISA等实验方法，对不同食管癌细胞和永生化食管上皮细胞中IGFBP2蛋白的表达水平和定位情况，以及培养上清液中IGFBP2蛋白的水平进行系统鉴定。3) 拟建立IGFBP2稳定高表达和敲降表达食管癌细胞模型，以及添加外源性活性IGFBP2蛋白的食管癌细胞，结合细胞分裂增殖、移动、侵袭和转移等细胞功能研究，以及相关细胞信号通路激活或受抑情况，深入到分子水平，揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能和分子作用机制。

研究目标：在研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值，以及对IGFBP2在食管癌发生发展不同阶段组织表达模式进行系统鉴定的基础上，进一步研究揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能及其分子作用机制，为合理解释IGFBP2高表达在食管癌中早期诊断的临床意义，提供基础理论依据。

二、研究成果及形式

论文及专著情况	国家统计局刊物以上刊物 发表论文（篇）		2		科技报告（篇）		0	
	专著（册）		0					
专利情况(项)	发明专利		实用新型专利		外观设计专利		国外专利	
	申请	授权	申请	授权	申请	授权	申请	授权
	0	0	0	0	0	0	0	0

2019A1515011873

三、项目进度和阶段目标

1. 项目起止时间： 2019-10-01 至 2022-09-30		
2. 项目实施进度及阶段主要目标：		
开始日期	结束日期	主要工作内容
2019-10-01	2020-09-30	以汕头大学医学院附属肿瘤医院和中山大学附属肿瘤医院为研究中心，进行大样本多中心回顾性研究，同时，依托国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项“食管癌专病队列研究”，开展巢式病例对照研究，在此基础上，研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值。
2020-10-01	2021-09-30	早期食管癌组织、不典型增生阶段食管上皮组织、中/晚期食管癌组织中，IGFBP2表达模式特征的系统鉴定，以及临床意义研究。
2021-10-01	2022-09-30	建立相关细胞模型，结合细胞增殖、移动、侵袭和转移等细胞功能研究，以及相关细胞信号通路激活或受抑情况，深入到分子水平，揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能和分子作用机制。

四、项目总经费及省基金委经费预算

1. 省基金委经费下达总额：（大写）壹拾万圆整；（小写）10万元；					
2. 省基金委经费年度下达计划：					
年度	2019 年	年	年	年	年
经费(万元)	10.00				
3. 总经费及省基金委经费开支预算计划：					
经费筹集情况：					(单位：万元)
省基金委经费	自筹资金				合计
	自有资金	贷款	地方政府投入	其它	
10.00	0	0	0	0	10.00
政府部门、境外资金及其他资金投入情况说明：					

- (1) 依托单位是项目资金管理的责任主体，项目负责人是项目资金使用的直接责任人；
- (2) 面上项目经费试点实施“包干制”，不需填报经费开支具体科目预算；
- (3) 经费支出应实际用于项目研究支出，直接经费支出不设科目比例限制，间接经费支出比例按照省级财政科研项目资金管理有关规定执行；
- (4) 项目结题验收须提交经费决算表，不得列支基建费；
- (5) 港澳依托单位承担的面上项目，经费开支标准按照依托单位科研经费管理有关规定执行。

五、人员信息

项目负责人								
姓名	证件号码	年龄	性别	职称	学历	在项目中承担的任务	所在单位	签名
许镒洧	445121198405124539	35	男	主管技师	博士研究生	项目负责人	汕头大学	

项目组主要成员								
姓名	证件号码	年龄	性别	职称	学历	在项目中承担的任务	所在单位	签名
彭裕辉	██████████	44	男	主任技师	本科	临床研究, 收集标本和ELISA实验检测	汕头大学	
方王楷	4██████████	41	男	副教授	博士研究生	细胞功能研究, 分子生物学实验	汕头大学	
洪超群	3██████████	39	男	副主任技师	本科	临床研究, ELISA实验检测	汕头大学	
黄利生	4██████████	37	男	主治(管)医师	本科	临床资料整理、统计学分析	汕头大学	
沈文君	4██████████	35	女	副教授	博士研究生	生物信息学研究	汕头大学	
彭柳	3██████████	25	女	未取得	本科	分子生物学实验	汕头大学	
柳灿炯	40██████████4	23	男	未取得	本科	免疫组化、PCR实验	汕头大学	
楚玲玉	31224108██████████	27	女	未取得	本科	细胞培养	汕头大学	
李恩民	22██████████	56	男	教授	博士研究生	协助项目指导	汕头大学	

六、依托单位与合作单位的合作协议

承担/参与单位名称 (盖章)	工作分工	总经费分摊 (万元)	省基金委经费分配 (万元)
汕头大学		10.00	10.00
	合计	10.00	10.00

2019A1515011873

七、合同条款

第一条 甲方与乙方根据《中华人民共和国合同法》及国家有关法规和规定，为顺利完成（2019）年食管癌中IGFBP2早期诊断价值的大样本多中心验证及其分子作用机制研究 专项项目（文件编号：粤基金字（2019）20号）经协商一致，特订立本合同，作为甲乙双方在项目实施管理过程中共同遵守的依据。

第二条 甲方的权利义务：

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

第三条 乙方的权利义务：

1. 确保落实自筹经费及有关保障条件。
2. 按合同书规定，对甲方核拨的经费实行专款专用，单独列账，并随时配合甲方进行监督检查。
3. 使用财政资金采购设备、原材料等，按照《广东省实施〈中华人民共和国招标投标法〉办法》有关规定，符合招标条件的须进行招标。
4. 项目合同任务完成后，或合同书规定的任务、指标及经费投入等提前完成的，乙方可按照《广东省省级科技计划项目结题管理实施细则（试行）》提出验收结题申请，并按甲方要求做好项目验收结题工作。
5. 若项目发生需要终止结题的情况，乙方须按照《广东省省级科技计划项目结题管理的实施细则（试行）》提出终止结题申请，并按甲方要求做好项目终止结题工作。
6. 在每年规定时间内向甲方如实提交上年度工作情况报告，报告内容包含上年度项目进展情况、经费决算和取得的成果等。
7. 按照国家和省有关规定，提交科技报告及其他材料。
8. 利用甲方的经费获得的研究成果，项目负责人和参与者应当注明获得“广东省基础与应用基础研究基金（英文：Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation）（项目编号）”资助或作有关说明。
9. 乙方要恪守科学道德准则，遵守科研活动规范，践行科研诚信要求，不得抄袭、剽窃他人科研成果或者伪造、篡改研究数据、研究结论；不得购买、代写、代投论文，虚构同行评议专家及评议意见；不得违反论文署名规范，擅自标注或虚假标注获得科技计划（专项、基金等）等资助；不得弄虚作假，骗取科技计划（专项、基金等）项目、科研经费以及奖励、荣誉等；不得有其他违背科研诚信要求的行为。
10. 确保本项目开展的研究工作符合我国科研伦理管理相关规定。

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

第五条 在履行本合同的过程中，当事人一方发现可能导致项目整体或部分失败的情形时，应及时通知另一方，并采取适当措施减少损失，没有及时通知并采取适当措施，致使损失扩大的，应当就扩大的损失承担责任。

第六条 本项目技术成果的归属、转让和实施技术成果所产生的经济利益的分享，除双方另有约定外，按国家和广东省有关法规执行。

第七条 根据项目具体情况，经双方另行协商订立的附加条款，作为本合同正式内容的一部分，与本合同具有同等效力。

第八条 本合同一式三份，各份具有同等效力。甲、乙方及项目负责人各执一份，三方签字、盖章后即生效，有效期至项目结题后一年内。各方均应负合同的法律责任，不应受机构、人事变动的影

第九条 乙方必须接受甲方聘请的本项目合同监理单位的监督和管理。监理单位按照甲方赋予的权利对本项目合同的履行进行审核、进度调查，对项目合同变更、经费使用情况进行监督管理及组织项目验收。

说明：1. 本合同书中，凡是当事人约定无需填写的内容，应在空白处划（/）。

2. 委托代理人签订本合同书的，应出具合法、有效的委托书。

八、本合同签约各方

管理单位（甲方）： 广东省基础与应用基础研究基金委员会 （盖章）

法定代表人（或法人代理）： _____ （签章）

年 月 日

依托单位（乙方）： 汕头大学 （盖章）

法定代表人（或法人代理）： 姜虹 _____ （签章）

联系人（项目主管）姓名： 胡云翔 _____ （签章）

Email: yxhu@stu.edu.cn

电话： 0754-86502813 / 13502738123

开户单位名称： 汕头大学

开户银行名称： 广东 汕头 中行汕大支行

开户银行帐号： 628857760147

年 月 日

联系人（项目负责人）姓名： 许镒洧 （签名）

Email: 14yyxu@stu.edu.cn

电话： 0754-88555844-1058

年 月 日

顺序号	1914050006854
项目类别	面上项目

广东省基础与应用基础研究基金

自然科学基金项目（面上项目）

申 请 书

业务类别:	广东省自然科学基金-面上项目
项目名称:	食管癌中IGFBP2早期诊断价值的大样本多中心验证及其分子作用机制研究
申请人姓名:	许镒洧
依托单位:	汕头大学
邮政编码:	515063
通讯地址:	广东省汕头市金平区大学路243号汕头大学
申请人电话:	0754-88555844-1058
单位联系人:	胡云翔
单位电话:	0754-86502813
申请日期:	2019年05月22日

广东省基础与应用基础研究基金委员会
二〇一九年制



（广东科技微信公众号）



（受理纸质材料二维码）

一、简表

研究项目情况	名称	食管癌中IGFBP2早期诊断价值的大样本多中心验证及其分子作用机制研究							
	类别	广东省自然科学基金-面上项目			研究类型	应用基础研究			
	申报学科	名称1	肿瘤诊断		代码1	H1608			
		名称2	消化系统肿瘤		代码2	H1617			
	申请金额	10.00万元			研究期限	2019年10月 -- 2022年09月			
所用实验室	实验室全称	潮汕沿海地区高发肿瘤分子生物学广东省高校重点实验室							
	实验室类别	省重点							
申请者情况	姓名	许镒洧	性别	男	身份号码	[REDACTED]		民族	汉族
	职称	主管技师	学位	博士	最终学位授予国	中国大陆			
	所在单位	全称	汕头大学						
学院(所)		汕头大学医学院附属肿瘤医院							
项目组成员情况	主要成员(不包括申请者)	姓名	证件号码		职称	所在单位全称			项目中的分工
		彭裕辉	[REDACTED]		主任技师	汕头大学			临床研究, 收集标本和ELISA实验检测
		方王楷	[REDACTED]		副教授	汕头大学			细胞功能研究, 分子生物学实验
		洪超群	3[REDACTED]1[REDACTED]0081[REDACTED]		副主任技师	汕头大学			临床研究, ELISA实验检测
		黄利生	[REDACTED]4058219820[REDACTED]3		主治(管)医师	汕头大学			临床资料整理、统计学分析
		沈文君	4405091984020[REDACTED]0		副教授	汕头大学			生物信息学研究
		彭柳	3703061[REDACTED]9		未取得	汕头大学			分子生物学实验
		柳灿炯	4[REDACTED]		未取得	汕头大学			免疫组化、PCR实验
		楚玲玉	3[REDACTED]		未取得	汕头大学			细胞培养
	李恩民	2[REDACTED]		教授	汕头大学			协助项目指导	
人员统计	总人数	高级	中级	初级	博士后	博士生	硕士生	参加单位数	
	10	5	2			1	2		

摘要	<p>食管癌缺乏早期诊断血清分子标志物。最近，我们应用高通量抗体芯片（可检测1000种蛋白）筛选发现IGFBP2在食管癌患者血清中水平升高，随后大样本ELISA实验证实，相对于正常对照者，IGFBP2在早期食管癌患者血清中显著高表达，显示出非常好的早期诊断潜能（曲线下面积0.91）。此外，划痕实验结果提示，外源性添加重组人IGFBP2活性蛋白可以增强食管癌细胞迁移能力。那么，食管癌中，IGFBP2是否具有确切的、稳定的早期诊断效能，其高表达的功能与分子作用机制如何等诸多新的重要科学问题，均需要进一步研究证实。基于此，本项目拟通过大样本多中心验证与巢式病例对照研究，确证IGFBP2作为食管癌早期诊断血清分子标志物的临床价值，同时建立相关细胞模型，结合细胞功能研究，深入到分子水平，揭示高表达IGFBP2在食管癌中的分子作用机制，为IGFBP2早期诊断分子标志物的开发提供基础理论依据。</p>
研究内容和意义	<p>主要研究内容包括三部分：1）大样本多中心回顾性研究和巢式病例对照研究相结合，研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值。首先，在多中心大样本回顾性研究中，我们以汕头大学医学院附属肿瘤医院收集的300例食管癌患者（早期100例以上）和300例正常对照者为训练列队，以汕头大学医学院附属肿瘤医院收集的200例食管癌患者（早期70例以上）和200例正常对照者为内部验证列队、以中山大学附属肿瘤医院收集的200例食管癌患者（早期70例以上）和200例正常对照者为外部验证列队，通过ELISA 实验检测血清IGFBP2蛋白的表达水平，ROC曲线分析IGFBP2蛋白在食管癌中的诊断效能，明确血清IGFBP2在早期食管癌患者中的诊断价值；然后，在巢式病例对照研究中，依托国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项食管癌专病队列研究，分析血清IGFBP2在病例组和对照组中的水平差异，其中，病例组为基线水平内镜检测没有食管癌、但随访过程中发生食管癌的病例，入组50例以上患者，对照组为200例以上随机抽取的在年龄、性别以及基线水平采血时间与病例组均匹配的高危对象，通过ROC曲线分析，探讨血清IGFBP2在食管癌诊断前和诊断时的敏感度和特异度等诊断参数。2）我们拟选取早期食管癌组织、不典型增生阶段食管上皮组织和中/晚期食管癌组织各100例，采用定量RT-PCR和免疫组化实验，系统鉴定IGFBP2在mRNA 和蛋白两个层面上的表达模式特征和临床意义；同时，采用细胞免疫荧光、免疫印迹和ELISA等实验方法，对不同食管癌细胞和永生化食管上皮细胞中IGFBP2蛋白的表达水平和定位情况，以及培养上清液中IGFBP2蛋白的水平进行系统鉴定。3）拟建立IGFBP2稳定高表达和敲降表达食管癌细胞模型，以及添加外源性活性IGFBP2 蛋白的食管癌细胞，结合细胞分裂增殖、移动、侵袭和转移等细胞功能研究，以及相关细胞信号通路激活或受抑情况，深入到分子水平，揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能和分子作用机制。</p> <p>研究目标：在研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值，以及对IGFBP2在食管癌发生发展不同阶段组织表达模式进行系统鉴定的基础上，进一步研究揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能及其分子作用机制，为合理解释IGFBP2高表达在食管癌中早期诊断的临床意义，提供基础理论依据。</p>
主题词	IGFBP2 ， 食管癌 ， 早期诊断

二、项目计划进度

序号	开始日期	结束日期	主要工作内容
1	2019-10-01	2020-09-30	以汕头大学医学院附属肿瘤医院和中山大学附属肿瘤医院为研究中心，进行大样本多中心回顾性研究，同时，依托国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项“食管癌专病队列研究”，开展巢式病例对照研究，在此基础上，研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值。
2	2020-10-01	2021-09-30	早期食管癌组织、不典型增生阶段食管上皮组织、中/晚期食管癌组织中，IGFBP2表达模式特征的系统鉴定，以及临床意义研究。
3	2021-10-01	2022-09-30	建立相关细胞模型，结合细胞增殖、移动、侵袭和转移等细胞功能研究，以及相关细胞信号通路激活或受抑情况，深入到分子水平，揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能和分子作用机制。

三、经费申请表

总经费及省科技厅（省基金委）经费开支预算计划：					
经费筹集情况					（单位：万元）
省科技厅 （省基金委） 经费	自筹资金				总投入经费
	自有资金	贷款	地方政府投入	其它	
10.00	0	0	0	0	10.00
政府部门、境外资金及其他资金投入情况说明：					

四、将提供的研究成果及形式

论文及专著情况	国家统计局源刊物以上刊物发表论文(篇)		2		科技报告(篇)		0	
	专著(册)		0					
专利情况(项)	发明专利		实用新型专利		外观设计专利		国外专利	
	申请	授权	申请	授权	申请	授权	申请	授权
	0	0	0	0	0	0	0	0
其他								

五、前期研究基础

1. 论文收录与被引用情况统计表

	论文收录情况(单位:篇)					全部论文在近5年内在SCI被引用情况	
	CSCD	CSTPCD	《SCI光盘版》	《SCI网络版》	《EI》	他人引用次数(次)	单篇被引用最高次数(次)
第一作者论文				9		82	45
非第一作者论文				2		7	4
通讯作者论文				2		9	5

广东省自然科学基金面上项目

食管癌中 IGFBP2 早期诊断价值的大样本多中心验证及其分子作用机制研究

报告正文

参照以下提纲撰写，要求内容翔实、清晰，层次分明，标题突出。

一、立论依据

1、研究意义（对基础研究，着重结合国际科学发展趋势，论述项目的科学意义；对应用基础研究，着重结合学科前沿、围绕国民经济和社会发展中的重要科技问题，论述其应用前景）。

肿瘤流行病学调查结果显示^[1-4]：1) 食管癌是世界常见的恶性肿瘤之一，2015年，全球食管癌新发病例 47 万，死亡病例 37 万，整体 5 年生存率不足 20%；2) 我国是世界上最主要的食管癌高发国（90%以上为食管鳞癌），其发病具有明显地区差异。2015 年我国食管癌新发病例 24.6 万，死亡 18.8 万，发病率和死亡率分别列全部恶性肿瘤的第六和第四位，可见食管癌一直是威胁我国人民健康的主要恶性肿瘤之一。对高危人群和高发地区人群的筛查，早期发现和早期治疗，阻断早期食管癌发展为中晚期食管癌，是提高食管癌生存率和保证患者生活质量的根本出路。因此，以食管癌为研究对象，确立早期诊断这一研究方向符合国家重大需求。目前，临床上内镜检查已被证实可以有效发现早期食管癌^[5]，但是侵入性操作实质性限制了其作为早期食管癌大范围筛查的工具。毫无疑问，寻找新的具有临床应用价值的血清类食管癌早期诊断分子标志物，以此解决食管癌早期诊断难题，是极其重要的，而且是迫切需要的。

本项目组负责人长期围绕着寻找鉴定食管癌等肿瘤血清早期诊断分子标志物这一重要临床科学问题开展研究工作^[6-17]。蛋白质组学技术是目前发现肿瘤分子标志物的研究热点。而有关应用高通量抗体芯片筛选食管癌早期诊断分子标志物的研究，

迄今，国内外鲜有报道。本项目是在前期运用高通量抗体芯片技术筛选（RayBiotech 公司 AAH-BLG-1000 抗体芯片）和大样本 ELISA 实验验证发现血清 IGFBP2 是食管癌潜在早期诊断分子标志物的基础上，围绕着解决临床实际问题，提出了突破食管癌早期诊断技术瓶颈的实验研究策略方法：即通过多中心验证与巢式病例对照研究策略，系统评价血清 IGFBP2 作为食管癌早期诊断分子标志物的价值，同时建立相关细胞模型，结合细胞功能和分子机制研究，为 IGFBP2 早期诊断分子标志物的开发提供扎实基础理论依据。这一系列研究具有鲜明的需求导向和目标导向特征，将为食管癌早期诊断分子标志物的开发提供人群数据和实验依据。

2、国内外研究现状；

(1) 血清蛋白类分子标志物有助于肿瘤的早期发现

鉴定新的血清标志物是癌症诊断、特别是早期癌症检测和筛查的一个重要目标。在过去几十年中，有许多血清分子标志物被发现，比如蛋白类分子标志物、突变 DNA、甲基化 DNA、microRNA 和长链非编码 RNA 等。这些肿瘤血清分子标志物的开发和鉴定对于早日实现肿瘤早期诊断至关重要，而在这么多的血清分子标志物中，蛋白类分子标志物始终占据着举足轻重的位置。在 2017 年，自然杂志社旗下著名期刊 **Nature Reviews Cancer** 发表的综述，更是强烈预言蛋白类分子标志物必将对肿瘤精确诊断发挥极其重要的作用^[18]。与此同时，血清中蛋白类标志物被认为最适用于临床常规评估和研究，其主要原因在于肿瘤血清蛋白标志物具有非侵袭性特点，所需的血清样本量少，检测方法成熟，易推广，重现性高和费用低等优点。

自 2011 年开始，借助于参加国家 863 重大专项，依托广东省高校重点实验室，本项目负责人带领了一个研究小组启动了肿瘤早期诊断血清蛋白类分子标志物研究。在此过程中，我们鉴定了多种血清蛋白类分子标志物，包括 DKK-1、L1CAM、

IGFBP7 和针对 p53、NY-ESO-1、ALDOA、ENO1 等多种自身抗体蛋白类标志物，证实了这些蛋白类分子标志物对于食管癌等肿瘤具有早期诊断价值。其中两项大样本多中心的实验研究结果表明，将 6 种自身抗体分子标志物组合在一起，对食管癌和食管胃结合部癌均具有较好早期诊断效能，在特异度保持 90% 以上的前提下，其敏感度达 45% 以上，远好于目前临床上正在应用的诸如 CEA、SCCA 和 CYFRA21-1 等肿瘤分子标志物，能较好区分早期食管癌、食管胃结合部癌患者与正常人，效果十分显著。而以此为基础撰写的研究论文，已全文发表在“Am J Gastroenterology”和“Gastric Cancer”上^[6,7]，这两本杂志的最新影响因子 10.23 和 5.04，表明本项目组所开展的“肿瘤蛋白类早期诊断分子标志物研究”具有重要学术价值。

(2) 高通量抗体芯片技术筛选食管癌血清蛋白类早期诊断分子标志物

随着高通量技术的不断成熟，基于抗体芯片的血清蛋白质组学分析技术（可同时检测细胞因子、趋化因子、生长因子、血管生成因子等多种蛋白或多肽），可以同时更全面地挖掘、鉴定多种肿瘤标志物。现已报道了高通量抗体芯片用于筛选肺癌、乳腺癌和膀胱癌等肿瘤的血清/血浆蛋白诊断标志物^[19-21]，突显高通量抗体芯片在恶性肿瘤早期诊断方面的广阔应用前景。关于应用高通量抗体芯片筛选食管癌早期诊断分子标志物的研究，查阅相关文献可知，迄今，国内外却鲜有报道。

为了进一步筛选食管癌早期诊断血清分子标志物，提高食管癌的早期诊断率，近期，本项目组综合运用了双向电泳、蛋白质谱、高通量抗体芯片等实验技术手段，目的是筛查出新的早期诊断效能更好的食管癌蛋白类血清分子标志物。其中，我们采用 RayBiotech 公司制备的 AAH-BLG-1000 抗体芯片技术（可以检测 1000 种蛋白分子，包括多种细胞因子、趋化因子、生长因子、血管生成因子等），以性别年龄匹配的 20 例食管癌和 20 例正常对照者血清样本为研究对象进行筛选，结果发现，芯片中有 86 种蛋白类分子标志物在食管癌患者血清中高表达（Fold change >1.5, T

检验 $P < 0.05$ ，详见[本项目直接相关的前期实验结果第一部分](#)）。这些候选标志物，有可能发展成为食管癌的血清早期诊断分子标志物，这需要进一步的大样本人群研究验证。其中，**让我们倍感兴趣的是 IGFBP2 蛋白分子**：首先，芯片结果显示，IGFBP2 在食管癌患者血清中显著上调表达（Fold change = 1.569，T 检验 $P = 0.002$ ）；再者，为在上述芯片鉴定结果中找到最具潜力的消化道肿瘤分子标志物，我们进一步采用 ELISA 实验小样本测试了多种候选蛋白分子标志物，结果发现 IGFBP2 在食管癌患者血清中的水平仍呈现异常显著升高；最后，查阅文献可知，有关“血清 IGFBP2 和食管癌”，至今鲜有研究报道，这凸显了血清 IGFBP2 作为食管癌诊断分子标志物研究创新性突出。

(3) IGFBP2 是极具希望的食管癌分子标志物

据我们所知，截至目前，已有文献报道，IGFBP2 作为一种分泌性蛋白，在肺癌、卵巢癌、结直肠癌和胃癌患者血清中的水平高于正常对照者中^[22-25]，这些研究提示 IGFBP2 有可能是作为一种血清蛋白类分子标志物，用于肿瘤早期诊断和预后。然而，这些文献报道所纳入的样本量小，没有独立验证，缺乏标志物早期诊断的系统研究，而且，这些研究更侧重于 IGFBP2 的预后评估作用。为了给“IGFBP2 作为食管癌早期诊断血清分子标志物研究”提供更扎实的人群实验数据支持，最近，我们进一步采用 ELISA 实验，测试了 164 例食管癌患者和 126 例正常对照者中血清 IGFBP2 蛋白分子标志物的水平，结果令我们十分惊喜。我们发现，IGFBP2 在食管癌患者血清中确实显著升高。更重要的是，在 52 例早期食管癌患者中，IGFBP2 水平同样异常升高，与正常对照者的差异非常明显，进一步的 ROC 曲线分析显示，**IGFBP2 在早期食管癌的诊断曲线下面积达到了 0.91，敏感度 71.2%，特异度 91.7%**（详见[本项目直接相关的前期实验结果第二部分](#)）。这是对血清 IGFBP2 在食管癌中诊断价值的首次评估，以往尚未见报道。另外，同样让我们十分欣喜的是，血清 IGFBP2

在食管癌患者术后的水平显著下降了（详见[本项目直接相关的前期实验结果第三部分](#)）。以上实验事实确切表明，IGFBP2 是一种新的血清蛋白类分子标志物，十分有可能用于食管癌的早期发现、早期诊断。

众所周知，IGFBP2 属于胰岛素样生长因子 IGF (Insulin-like growth factor) 家族。IGF 家族在进化上非常保守，包括 2 个 IGF 配体 (IGF-1 和 IGF-2)、2 个 IGF 受体 (IGF-1R 和 IGF-2R) 和 6 个 IGF 结合蛋白 (IGFBP1-6)。IGF 家族在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用^[26]。IGFBPs 是 IGF 家族中重要的组成部分，6 种 IGFBP 同源性较高，具有相似的结构特征。IGFBP2 最初是在血清中被发现的，它与 IGF1/2 结合，是 IGF1R 的配体，维持 IGF1R 信号通路的激活^[27-28]。虽然 IGFBP2 是一种分泌蛋白，但在肿瘤细胞中 IGFBP2 被证实具有核转位序列，这是其进入细胞核以调节细胞功能或信号通路所必需的^[29]。据报道，在一些肿瘤中，细胞内 IGFBP2 的过表达与细胞增殖、进展和耐药性有关^[29-31]。最近，一项关于 IGFBP2 与食管腺癌的研究提示^[32]，相对于癌前 Barrett 细胞和正常食管上皮细胞，IGFBP2 的 mRNA 和蛋白水平在食管腺癌细胞中均显著高表达，而且 IGFBP2 通过 EGFR-DNA-pkcs 信号轴的稳定和激活，能够保护食管腺癌细胞免受酸性胆汁盐诱导的 DNA 损伤和凋亡。那么，IGFBP2 在食管鳞癌细胞中的表达情况如何，发挥怎样的功能，具体的作用机制是什么，等等，上述科学问题尚未见任何研究报告，值得深入研究探讨。另外，研究解决 IGFBP2 在食管癌中的功能与分子作用机制，无疑可促进 IGFBP2 作为食管癌早期诊断分子标志物的开发，为其提供扎实基础理论依据。

综合以上所述，我们设想，一种分泌性蛋白，在食管癌患者血清中水平异常升高，这里面所蕴藏着的未知的肿瘤生物学意义究竟是什么，其分子作用机制如何，是否该分泌性蛋白的表达升高，进而影响与血液中 IGF 的结合；或者 IGFBP2 蛋白的高表达是为了执行其它功能，等等；所有这些，毫无疑问，均是非常重要的科学

问题，其创新性十分突出。基于此，我们提出本项目，对以上所述重要科学问题，拟通过大样本多中心回顾性验证研究和巢式病例对照研究相结合的策略，系统评价血清 IGFBP2 在食管癌中的早期诊断价值，与此同时，联合运用免疫组织化学、免疫印迹、基因高表达与敲降表达、qRT-PCR、细胞信号通路与报告基因等系列实验技术手段，结合细胞分裂增殖、细胞移动、细胞侵袭、细胞粘附等系列功能实验，开展深入系统研究，着力剖掘到分子层面，深刻揭示食管癌中异常高表达 IGFBP2 的功能与分子作用机制及其早期诊断价值。

为了给深入研究探讨上述科学问题找到准确的方向，精准把控本项目的实际可操作性，最近，本项目组又成功开展了划痕实验，以分析外源性 IGFBP2 对食管癌细胞迁移的影响。结果显示，食管癌细胞外源性添加重组人 IGFBP2 活性蛋白可以增强食管癌细胞侵袭转移能力（预实验结果详见[本项目直接相关的前期实验结果第四部分](#)）。这说明，IGFBP2 高表达可能影响食管癌细胞迁移能力。目前，有关 IGFBP2 在食管癌中通过何种机制发挥功能作用尚不明确，对此，在本项目的正式实验研究中，我们计划在“研究内容三”中，构建 IGFBP2 稳定敲降表达和稳定高表达食管癌细胞系，同时设计外源性添加 IGFBP2 活性蛋白培养的细胞模型和正常培养细胞模型，从细胞模型上，结合相关信号通路，予以系统研究。

最后，尚需要补充说明如下三点。第一点，本项目所述的食管癌全部指食管鳞癌这一我国常见的食管癌病理组织类型，这也是本项目十分鲜明的特色之一。第二点，本项目实施，会用到许多实验技术方法，这些技术在我们实验室以往的研究中经常采用^[33-35]，许多实验技术已成为常规方法手段，可行性有切实保证。第三点，在本项目的备选实验方案中，根据项目的实际进展情况，我们可能会适当增加一些研究内容，比如进一步扩大食管癌患者术前术后检测例数，分析术前术后血清 IGFBP2 水平的变化情况，评价血清 IGFBP2 是否具有食管癌疗效监测的作用。

总结以上所述可见，本项目是在我们以往系列扎实研究，以及前期实验发现重要研究线索，即 IGFBP2 在食管癌中异常高表达并影响相关功能的基础之上提出来的。系统研究食管癌中异常高表达的 IGFBP2 的早期诊断价值及其功能与分子作用机制，具有非常重要的科学意义和临床应用前景，学术思想的创新性也十分突出，有希望取得预期研究成果进展。

3、本项目的创新之处；

本项目属于肿瘤诊断学、肿瘤分子生物学以及肿瘤病理学等多个学科之间的交叉，其创新之处集中体现在如下两点：

1) 有关血清 IGFBP2 与食管鳞癌，以往尚未见任何研究报道。本项目前期实验结果表明，IGFBP2 很有可能进一步发展成为食管癌早期诊断血清分子标志物。通过大样本多中心验证和巢式病例对照研究相结合的策略，明确血清 IGFBP2 表达水平与食管癌之间的相关关系，首次系统阐明血清 IGFBP2 作为食管癌早期诊断分子标志物的临床意义，推进食管癌早诊早治。

2) 本项目前期预实验发现外源性添加 IGFBP2 活性蛋白影响食管癌细胞迁移能力。毋庸置疑，这是非常重要的新的实验研究线索。而循着这一新的实验研究线索，按照本项目实验研究方案，深入研究探索下去，不但会发现 IGFBP2 在食管癌中的许多未知的新功能，而且还会率先深刻揭示 IGFBP2 在食管癌中的分子作用机制，促进食管癌早期诊断临床转化研究，因此本项目研究的创新性十分突出。

4、**主要参考文献及出处**（加下划线标注者为本项目负责人以往发表，与本项目密切相关的论文，全部为 SCI 收录，共 12 篇；论文中用**粗体字**标注的作者为本项目申请人，标记#者为共同第一作者，标记*者为通讯作者或共同通讯作者）；

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(1):7-30.
2. Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(23):2241-2252.
3. 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀瑛, 魏文强, 赫捷. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析. *中华肿瘤杂志.* 2019;41(1):19-28.
4. Tan HZ, Lin WJ, Huang JQ, Dai M, Fu JH, Huang QH, Chen WM, Xu YL, Ye TT, Lin ZY, Lin XS, Cai JX, Dong YH, Luo HY, Chen SH, Huang YL, Yang J, Lin AX, Yuan XQ, Chen SY, Wang KS, Zhuang CY, Wang SC, Lin LL, Zou XF, Song ZH, Fang XH, Chen T, Zhang JH, Li KQ, Chen LH, Lin XP, Lin JM, Lin JN, Lin PL, Chen JT, Lin KM, Hong XC, Wang LD, Xu LY, Li EM, Zhang JJ. Updated incidence rates and risk factors of esophageal cancer in Nan'ao Island, a coastal high-risk area in southern China. *Dis Esophagus.* 2017;30(1):1-7.
5. Wei WQ, Chen ZF, He YT, Feng H, Hou J, Lin DM, Li XQ, Guo CL, Li SS, Wang GQ, Dong ZW, Abnet CC, Qiao YL. Long-Term Follow-Up of a Community Assignment, One-Time Endoscopic Screening Study of Esophageal Cancer in China. *J Clin Oncol.* 2015;33(17):1951-1957.
6. Xu YW, Peng YH, Chen B, Wu ZY, Wu JY, Shen JH, Zheng CP, Wang SH, Guo HP, Li EM, Xu LY. Autoantibodies as potential biomarkers for the early detection of esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2014;109(1):36-45.
7. Xu YW, Chen H, Guo HP, Yang SH, Luo YH, Liu CT, Huang XY, Tang XM, Hong CQ, Li EM, Xu LY, Peng YH. Combined detection of serum autoantibodies as diagnostic biomarkers in esophagogastric junction adenocarcinoma. *Gastric Cancer.* 2019;22(3):546-557.
8. Xu YW, Hong CQ, Wu ZY, Peng YH, Ran LQ, Yang SH, Huang BS, Liang XY, Chen HL, Wu JY, Xu XE, Deng JW, Zou HY, Fang WK, Li EM, Xu LY, Xie JJ. Diagnostic and prognostic value of serum L1-cell adhesion molecule in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2018;42(6):597-603.
9. Xu YW, Liu CT, Huang XY, Huang LS, Luo YH, Hong CQ, Guo HP, Xu LY, Peng YH, Li EM. Serum Autoantibodies against STIP1 as a Potential Biomarker in the Diagnosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers.* 2017;2017:5384091.
10. Xu YW, Peng YH, Ran LQ, Zhai TT, Guo HP, Qiu SQ, Chen HL, Wu ZY, Li EM, Xie JJ. Circulating levels of autoantibodies against L1-cell adhesion molecule as a potential diagnostic biomarker in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Transl Oncol.* 2017 Jul;19(7):898-906.
11. Xinyi Huang, Chaogun Hong, Yuhui Peng, Shihan Yang, Lisheng Huang, Cantong Liu, Liuyi Chen, Lingyu Chu, Liyan Xu*, Yiwei Xu*. The diagnostic value of serum IGFBP7 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer.* 2019. doi:10.7150/jca.32393.
12. Li L, Liu M, Lin JB, Hong XB, Chen WX, Guo H, Xu LY, Xu YW*, Li EM*, Peng YH*. Diagnostic Value of Autoantibodies against Ezrin in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers.* 2017;2017:2534648.
13. Chen WX, Hong XB, Hong CQ, Liu M, Li L, Huang LS, Xu LY, Xu YW*, Peng YH*, Li EM*. Tumor-associated autoantibodies against Fascin as a novel diagnostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2017;41(3):327-332.

14. Lin LH, Xu YW#, Huang LS, Hong CQ, Zhai TT, Liao LD, Lin WJ, Xu LY, Zhang K, Li EM, Peng YH. Serum proteomic-based analysis identifying autoantibodies against PRDX2 and PRDX3 as potential diagnostic biomarkers in nasopharyngeal carcinoma. Clin Proteomics. 2017 Feb 1;14:6.
15. Peng YH, Xu YW#, Huang LS, Zhai TT, Dai LH, Qiu SQ, Yang YS, Chen WZ, Zhang LQ, Li EM, Xu LY. Autoantibody Signatures Combined with Epstein-Barr Virus Capsid Antigen-IgA as a Biomarker Panel for the Detection of Nasopharyngeal Carcinoma. Cancer Prev Res (Phila). 2015;8(8):729-36.
16. Peng YH, Xu YW#, Guo H, Huang LS, Tan HZ, Hong CQ, Li SS, Xu LY, Li EM. Combined detection of serum Dickkopf-1 and its autoantibodies to diagnose esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Med. 2016;5(7):1388-96.
17. Peng YH, Xu YW#, Qiu SQ, Hong CQ, Zhai TT, Li EM, Xu LY. Combination of autoantibodies against NY-ESO-1 and viral capsid antigen immunoglobulin A for improved detection of nasopharyngeal carcinoma. Oncol Lett. 2014;8(3):1096-1102.
18. Borrebaeck CA. Precision diagnostics: moving towards protein biomarker signatures of clinical utility in cancer. Nature reviews Cancer. 2017;17(3):199-204.
19. Marrugal Á, Ojeda L, Paz-Ares L, Molina-Pinelo S, Ferrer I. Proteomic-Based Approaches for the Study of Cytokines in Lung Cancer. Dis Markers. 2016;2016:2138627.
20. Suárez-Arroyo IJ, Feliz-Mosquea YR, Pérez-Laspiur J, Arju R, Giashuddin S, Maldonado-Martínez G, Cubano LA, Schneider RJ, Martínez-Montemayor MM. The proteome signature of the inflammatory breast cancer plasma membrane identifies novel molecular markers of disease. Am J Cancer Res. 2016;6(8):1720-1740.
21. Srinivasan H, Allory Y, Sill M, et al. Prediction of recurrence of non muscle-invasive bladder cancer by means of a protein signature identified by antibody microarray analyses. Proteomics. 2014;14(11):1333-1342.
22. Renehan AG, Jones J, Potten CS, Shalet SM, O'Dwyer ST. Elevated serum insulin-like growth factor (IGF)-II, IGF binding protein-2 in patients with colorectal cancer. Br J Cancer. 2000; 83:1344–1350.
23. Hoon Hur, Eun Ji Yu, In-Hye Ham, Hye-Jin Jin, Dakeun Lee. Preoperative serum levels of insulin-like growth factor-binding protein 2 predict prognosis of gastric cancer patients. Oncotarget. 2017,8(7): 10994-11003.
24. Baron-Hay S, Boyle F, Ferrier A, Scott C. Elevated serum insulin-like growth factor binding protein-2 as a prognostic marker in patients with ovarian cancer. Clin Cancer Res. 2004; 10:1796–1806.
25. Guo C, Lu H, Gao W, Wang L, Lu K, Wu S, Pataer A, Huang M, El-Zein R, Lin T, Roth JA, Mehran R, Hofstetter W, et al. Insulin-like growth factor binding protein-2 level is increased in blood of lung cancer patients and associated with poor survival. PLoS One. 2013; 8:e74973.
26. Kashyap MK. Role of insulin-like growth factor-binding proteins in the pathophysiology and tumorigenesis of gastroesophageal cancers. Tumour Biol. 2015;36(11):8247-8257.
27. Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP)

superfamily. *Endocr Rev.* 1999;20(6):761–87.

28. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev.* 1995;16(1):3–34.
29. Azar WJ, Zivkovic S, Werther GA, Russo VC. IGFBP-2 nuclear translocation is mediated by a functional NLS sequence and is essential for its protumorigenic actions in cancer cells. *Oncogene.* 2014;33(5):578–88.
30. Migita T, Narita T, Asaka R, Miyagi E, Nagano H, Nomura K, Matsuura M, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Seimiya H, Ishikawa Y. Role of insulin-like growth factor binding protein 2 in lung adenocarcinoma: IGF-independent antiapoptotic effect via caspase-3. *Am J Pathol.* 2010;176(4):1756-66.
31. Li X, Liu X, Zhang L, Li C, Zhang E, Ma W, Fan Q, Yu JJ. Insulin growth factor binding protein 2 mediates the progression of lymphangiomyomatosis. *Oncotarget.* 2017;8(22):36628-36638.
32. Activation of EGFR-DNA-PKcs pathway by IGFBP2 protects esophageal adenocarcinoma cells from acidic bile salts induced DNA damage. Zhou Z, Lu H, Zhu S, Gomaa A, Chen Z, Yan J, Washington K, El-Rifai W, Dang C, Peng D. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):13.
33. Cui L, Xu LY, Shen ZY, Tao Q, Gao SY, Lv Z, Du ZP, Fang WK, Li EM. NGALR is overexpressed and regulated by hypomethylation in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2008;14(23):7674-7681.
34. Fang WK, Liao LD, Li LY, Xie YM, Xu XE, Zhao WJ, Wu JY, Zhu MX, Wu ZY, Du ZP, Wu BL, Xie D, Guo MZ, Xu LY, Li EM. Down-regulated desmocollin-2 promotes cell aggressiveness through redistributing adherens junctions and activating beta-catenin signalling in oesophageal squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 2013;231(2):257-270.
35. Zhang HF, Zhang K, Liao LD, Li LY, Du ZP, Wu BL, Wu JY, Xu XE, Zeng FM, Chen B, Cao HH, Zhu MX, Dai LH, Long L, Wu ZY, Lai R, Xu LY, Li EM. miR-200b suppresses invasiveness and modulates the cytoskeletal and adhesive machinery in esophageal squamous cell carcinoma cells via targeting Kindlin-2. *Carcinogenesis.* 2014;35(2):292-301.

二、研究方案

1、研究目标、研究内容和拟解决的关键问题。

1) 研究目标

通过回顾性多中心验证与巢式病例对照研究相结合的研究策略，确定血清 IGFBP2 高表达作为食管癌早期诊断分子标志物的有效性和临床应用前景，并进一步揭示 IGFBP2 高表达在食管癌中的功能和分子作用机制，为 IGFBP2 早期诊断分子标志物的开发提供扎实基础理论依据。

2) 研究内容，主要包括如下三项

研究内容一：研究确证检测血清 IGFBP2 在食管癌中的早期诊断价值。

在本项目前期，我们通过高通量抗体芯片筛选，同时 ELISA 实验检测发现，IGFBP2 在早期食管癌患者血清中显著异常高表达。在此基础之上，我们拟进一步采取多中心大样本回顾性研究和巢式病例对照研究相结合的实验研究策略，研究确证检测血清 IGFBP2 在食管癌中的早期诊断价值。具体如下：1) 在多中心大样本回顾性研究中，我们在以前期实验检测的汕头大学医学院附属肿瘤医院，即 100 例食管癌患者和 100 例正常对照者的基础上，扩大样本量到 300 例食管癌患者和 300 例正常对照者，以此为训练列队，ELISA 实验检测，ROC 曲线分析获取诊断临界值，然后，进一步在汕头大学医学院附属肿瘤医院，新入组 200 例食管癌患者（早期 70 例以上）和 200 例正常对照者为内部验证列队，在中山大学附属肿瘤医院入组 200 例食管癌患者（早期 70 例以上）和 200 例正常对照者为外部验证列队，同样通过 ELISA 实验方法检测内部验证列队和外部验证列队中受试者血清 IGFBP2 蛋白的表达情况，然后采用 ROC 曲线分析 IGFBP2 的诊断曲线下面积、敏感度和特异度等诊断参数，并与训练队列的相关分析结果联合在一起，明确将检测血清 IGFBP2 表达水平作为分子标志物，的确能够有效区分食管癌患者、尤其是早期食管癌患者和正常对照者，确证检测血清 IGFBP2 在早期食管癌患者中的临床诊断价值；2) 在巢式病例对照研究中，依托国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项--食管癌专病队列研究（中国医学科学院肿瘤医院魏文强教授为项目总负责人，全国共有 87 家医院或研究机构参加，汕头大学医学院立足广东潮汕我国唯一的沿海食管癌高发区，是主要参加单位之一，项目负责人为该重点专项参与者，佐证材料见附件 1-3），我们将对食管癌高危患者进行内镜筛查及动态逐年随访，并获得食管癌患者诊断前和诊断时的血样（实际上，基于参加上述国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项--食管癌专

病队列研究，我们可获得足量的食管癌患者诊断前和诊断时的血样，可确保此部分实验顺利开展)。在上述基础之上，我们将分析血清 IGFBP2 在病例组和对照组中水平的差异；其中，病例组为基线水平内镜检测没有食管癌、但随访过程中发生食管癌的病例，入组 50 例以上患者，对照组为基线水平内镜检测没有食管癌、随访至病例组发病时间仍未发生食管癌的高危人群，随机抽取 200 例以上高危人群（病例组和对照组比例为 1:4，参照 Lancet, 2005;365(9468):1429-1433.）；另外，对照组在年龄、性别以及在基线水平采血时间与病例组均匹配。通过 ROC 曲线分析，获得血清 IGFBP2 在食管癌诊断前和诊断时的曲线下面积、敏感度和特异度等诊断参数，探讨检测血清 IGFBP2 对高危人群食管癌发病风险的预警价值。

研究内容二：早期食管癌组织、不典型增生阶段食管上皮组织、中/晚期食管癌组织中，IGFBP2 表达模式特征的系统鉴定，以及临床意义研究。

选取手术切除的早期食管癌组织，以来自同一食管癌患者手术切除食管标本远端切缘正常食管上皮粘膜组织为对照组，相互配对，各 100 例；同时从疑似食管癌病例活检组织标本，或食管癌手术癌旁组织标本中，选取不典型增生阶段食管上皮组织，同样 100 例；另外，选取中晚期食管癌组织，至少 100 例，作为晚期食管癌组织实验组。以上各组的新鲜组织标本，-80C⁰ 冰箱统一保存。一同提取上述这些组织的 RNA, 反转录 cDNA, 设计特异性引物, 通过定量 RT-PCR 实验方法, 对 IGFBP2 的 mRNA 的表达水平予以定量检测。另外, 取上述各组蜡块组织标本, 每组至少 100 例, 通过联合运用组织芯片与免疫组化实验方法, 对 IGFBP2 蛋白的表达水平与组织细胞定位情况予以检测。然后系统对比分析上述各检测结果与各项临床病理指标, 以及食管癌患者总生存期和/或无瘤生存期之间的相关性。重点评估检测早期食管癌组织中, IGFBP2 在 mRNA 和/或蛋白层面的表达水平, 是否同样拥有食管癌早期诊断临床价值。同时评判检测不典型增生阶段食管上皮组织中, IGFBP2 在 mRNA 和/

或蛋白层面的表达水平，是否有警示受试个体未来可能发生食管癌的能力；评价检测中/晚期食管癌组织中，IGFBP2 在 mRNA 和/或蛋白层面的表达水平，可否能够预测食管癌患者手术后生存期长短。

与此同时，本项目前期实验已检测了两种食管癌细胞和两种永生化食管上皮细胞培养上清液 IGFBP2 的表达水平，在此部分研究内容中，拟进一步在 22 种不同肿瘤生物学性状的食管癌细胞系上，以永生化食管上皮细胞系为对照，采用细胞免疫荧光、免疫印迹、ELISA 等实验方法，对细胞中 IGFBP2 蛋白的表达水平和定位情况，以及细胞培养上清液中 IGFBP2 蛋白的表达水平等，进行系统鉴定，辨别相对高表达食管癌细胞系与不表达或相对低表达食管癌细胞系，为实施后续“研究内容三”，提供适宜的模型食管癌细胞与永生化食管上皮细胞。

研究内容三：IGFBP2 异常高表达在食管癌中功能和分子作用机制的研究。

在完成前述“研究内容一”和“研究内容二”的基础之上，在此“研究内容三”，拟首先从食管癌细胞中，成功克隆 IGFBP2 编码基因全长 cDNA，并按照常规实验方案，构建带 Flag、HA 或 GFP 融合标签的 IGFBP2 真核表达载体。然后，选取 IGFBP2 低表达的食管癌细胞系，通过 IGFBP2 真核表达载体转染，建立 IGFBP2 稳定高表达食管癌细胞模型，同时还建立 IGFBP2 稳定高表达永生化食管上皮细胞模型。接下来，再选取 IGFBP2 高表达的食管癌细胞系，通过慢病毒包装的 IGFBP2 特异 shRNA 转染，建立稳定敲降 IGFBP2 表达的食管癌细胞模型。基于此，通过 IGFBP2 高/低表达正反两个方面相结合的实验策略，在细胞水平，对比观察 IGFBP2 表达高低变化对食管癌细胞和永生化食管上皮细胞的分裂增殖能力、软琼脂集落克隆形成能力、移动能力、侵袭能力和粘附能力的影响，明确 IGFBP2 在食管癌细胞中的功能。再者，将不同浓度的重组 IGFBP2 活性蛋白加入到永生化食管上皮细胞和食管癌细胞的培养液中，作用不同时间，进一步观察永生化食管上皮细胞和食管癌细胞

的分裂增殖能力、软琼脂集落克隆形成能力、移动能力、侵袭能力和粘附能力的变化，是否表现 IGFBP2 蛋白浓度和作用时间依赖特征，在细胞水平上，明确 IGFBP2 高表达是否拥有诱导食管上皮细胞癌变和促进食管癌进展的功能。最后，选取在前述所建立的 IGFBP2 稳定高表达食管癌细胞模型，以及 IGFBP2 稳定高表达永生化食管上皮细胞模型，通过我们实验室以往建立的 16 个细胞信号通路报告基因系统平台（详见本申请书实验技术方法可行性分析及其相关情况说明部分），同时结合细胞信号通路特异性抑制剂实验或特异性激活剂实验，以及生物信息学系统分析，研究清楚 IGFBP2 异常高表达，究竟使食管癌细胞中的哪一条或哪几条细胞信号通路被激活，深刻揭示 IGFBP2 异常高表达在食管癌中的分子作用机制，为合理解释 IGFBP2 异常高表达在食管癌中所表现出来的临床意义，提供充分的基础理论依据。

3) 拟解决的关键问题

根据本目前期所获得的重要实验结果，即 IGFBP2 在早期食管癌患者血清中显著异常高水平表达，提示将 IGFBP2 作为血清分子标志物用于食管癌早期诊断，有很大的成功可能性。另外，尽管 IGFBP2 是一典型的分泌性蛋白，我们推断，在食管癌中，其除了分泌到细胞外，在体液或细胞外基质中发挥功能外，其还可能在细胞内发挥某种功能。然而，目前，这一科学推断尚有待研究证实。那么，本项目拟解决的关键科学问题就聚焦于此，即研究证明在食管癌中高表达的 IGFBP2，还可能在食管癌细胞内同时发挥其功能作用。为此，本项目拟专门建立去除其信号肽的 IGFBP2 高表达食管癌细胞模型，通过基因高表达与基因敲降表达正反两方面相结合的实验研究策略；同时用添加外源性重组 IGFBP2 蛋白的特殊培养基处理食管癌细胞，作为对照组；再结合系列细胞功能实验，对上述关键科学问题予以重点研究，可确保此关键科学问题能够圆满解决。

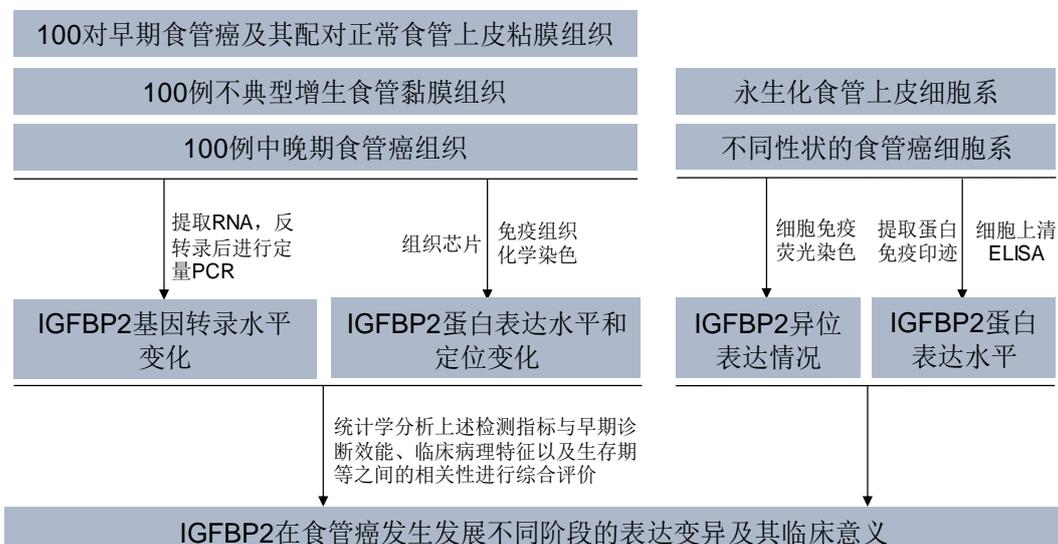
2、拟采取的研究方法、技术路线、实验方案及可行性分析。

对应于前述三个方面的研究内容，本项目的实验方案、技术路线及其所采取的实验方法与可行性分析见下。

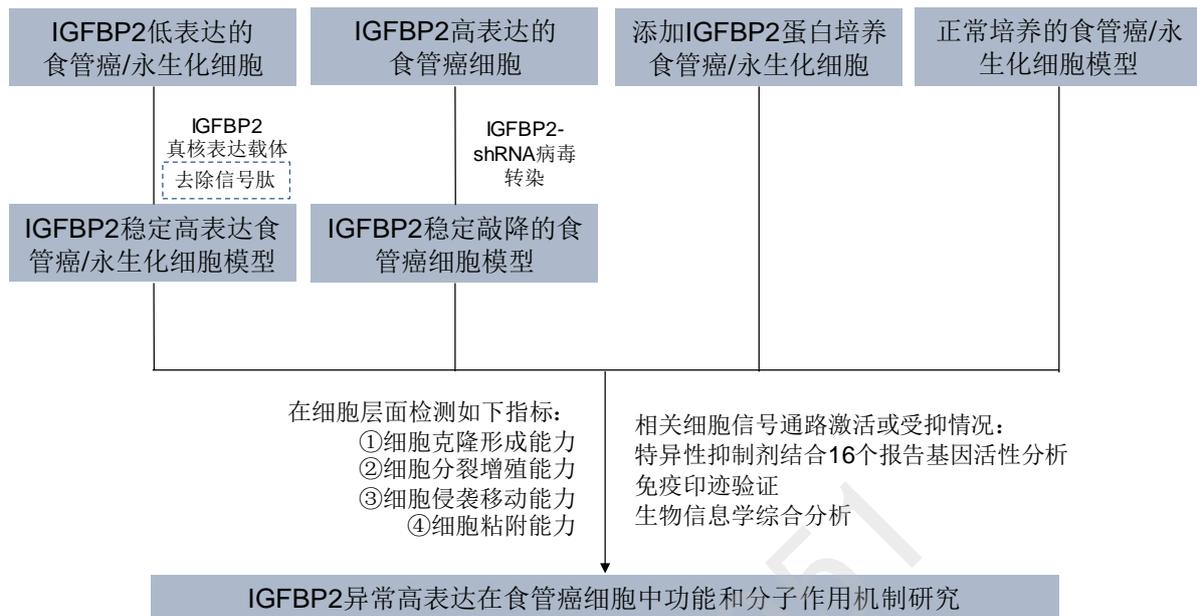
研究方案技术路线一



研究方案技术路线二



研究方案技术路线三



可行性分析及其相关情况说明：

1)实验方法：关于本项目所涉及到的实验方法，按照在前面三部分研究方案技术路线中出现的先后顺序排列，主要包括 ELISA、免疫组织化学、组织芯片、细胞免疫荧光染色、RNA 干扰、基因克隆、基因转染、质粒表达载体构建、病毒表达载体构建、基因表达、PCR、qRT-PCR、细胞分裂增殖实验、细胞克隆形成实验、细胞侵袭实验、细胞移动实验、细胞粘附实验、双荧光素酶报告基因检测、免疫印迹和生物信息学分析等，累计 20 项。上述这些实验方法，在我们实验室以往的研究中经常被运用到，已经被实验室的技术人员和博士/硕士研究生们熟练掌握；而且许多实验方法已成为我们实验室的常规实验技术，可行性没有问题，可确保在本项目中成功实施。关于本项目组人员以往对上述实验方法的详细应用情况，具体可参见括号内研究论文（共 6 篇，全部为 SCI 论文）（① Peng YH, Xu YW, Huang LS, Zhai TT, Dai LH, Qiu SQ, Yang YS, Chen WZ, Zhang LQ, Li EM*, Xu LY*. Autoantibody Signatures Combined with Epstein-Barr Virus Capsid Antigen-IgA as a Biomarker Panel for the Detection of Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2015;8(8):729-36. ② Xu YW, Peng YH, Chen B, Wu ZY, Wu JY, Shen JH, Zheng CP, Wang SH, Guo HP, Li EM *, Xu LY*. Autoantibodies as potential biomarkers for the early detection of esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(1):36-45. ③ Lu XF, Li EM*, Du ZP, Xie JJ, Guo ZY, Gao SY, Liao LD, Shen ZY, Xie D*, Xu LY*. Specificity protein 1 regulates fascin expression in esophageal squamous cell carcinoma as the result of the

epidermal growth factor/extracellular signal-regulated kinase signaling pathway activation. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(19):3313-3329. ④ Gao SY, Li EM*, Cui L, Lu XF, Meng LY, Yuan HM, Xie JJ, Du ZP, Pang JX, Xu LY*. Sp1 and AP-1 regulate expression of the human gene VIL2 in esophageal carcinoma cells. *J Biol Chem.* 2009;284(12):7995-8004; ⑤ Li LY, Zhang K, Jiang H, Xie YM, Liao LD, Chen B, Du ZP, Zhang PX, Chen H, Huang W, Jia W, Cao HH, Zheng W, Li EM*, Xu LY*. Quantitative proteomics reveals the downregulation of GRB2 as a prominent node of F806-targeted cell proliferation network. *J Proteomics.* 2015;117:145-155. ⑥ Fang WK, Liao LD, Li LY, Xie YM, Xu XE, Zhao WJ, Wu JY, Zhu MX, Wu ZY, Du ZP, Wu BL, Xie D, Guo MZ, Xu LY, Li EM. Down-regulated desmocollin-2 promotes cell aggressiveness through redistributing adherens junctions and activating beta-catenin signalling in oesophageal squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 2013;231(2):257-270. 说明：上述研究论文中，加星号为该论文的通讯或共同通讯作者。

- ▶ **A. 关于细胞信号通路的分析：**我们实验室拥有Promega公司生产的16个肿瘤相关细胞信号通路荧光素酶报告基因表达载体（详见下表）。该公司向客户提供标准化的操作手册，在我们实验室已成功使用多年，可确保本项目实验顺利开展。本项目组所在实验室以往发表的研究论文如下：
 ① Zhang XD, Xie JJ, Liao LD, Long L, Xie YM, Li EM*, Xu LY*. 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate Induces Up-Regulated Transcription of Variant 1 but Not Variant 2 of VIL2 in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Cells via ERK1/2/AP-1/Sp1 Signaling. *PLoS One.* 2015;10(4):e0124680. ② Lu XF, Li EM, Du ZP, Xie JJ, Guo ZY, Gao SY, Liao LD, Shen ZY, Xie D, Xu LY. Specificity protein 1 regulates fascin expression in esophageal squamous cell carcinoma as the result of the epidermal growth factor/extracellular signal-regulated kinase signaling pathway activation. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(19):3313-3329.

表. 16 个肿瘤相关细胞信号通路荧光素酶报告基因表达载体

载体名称	反应原件	转录因子	信号通路
pGL4.49[luc2P/TCF-LEF/Hygro]	TCF-LEF Response Element (TCF-LEF RE)	LEF-TCF	Wnt
pGL4.48[luc2P/SBE/Hygro]	Smad-binding element (SBE)	SMAD3:SMAD4	TGF-β
pGL4.47[luc2P/SIE/Hygro]	SIS-inducible element (SIE)	STAT3:STAT3	IL6
pGL4.45[luc2P/ISRE/Hygro]	interferon-stimulated response element (ISRE)	STAT1: STAT2	INF-α
pGL4.44[luc2P/AP1 RE/Hygro]	an AP1 response element (AP1 RE)	AP1	MAPK/JNK

pGL4.43[luc2P/XRE/Hygro]	xenobiotic response element (XRE), Aryl hydrocarbon receptor (AhR)	AhR	Xenobiotic stress
pGL4.42[luc2P/HRE/Hygro]	hypoxia response element (HRE)	Hif1 α	Hypoxia
pGL4.41[luc2P/HSE/Hygro]	heat shock response element (HSE)	HSF1	Heat shock
pGL4.40[luc2P/MRE/Hygro]	metal response element (MRE)	MTF1	Heavy metal stress
pGL4.38[luc2P/p53 RE/Hygro]	p53 response element (p53 RE)	p53	DNA damage
pGL4.37[luc2P/ARE/Hygro]	antioxidant response element (ARE)	Nrf2	Oxidative stress
pGL4.34[luc2P/SRF-RE/Hygro]	Serum Response Factor Response Element (SRF-RE)	SRF	RhoA
pGL4.33[luc2P/SRE/Hygro]	Serum Response Element (SRE)	Elk-1/SRF	MAP/ERK
pGL4.32[luc2P/NF- κ B-RE/Hygro]	NF- κ B response element (NF- κ B-RE)	NF- κ B	NF- κ B
pGL4.30[luc2P/NFAT-RE/Hygro]	NFAT response element (NFAT-RE)	NFAT	Calcium/Calcineurin
pGL4.29[luc2P/CRE/Hygro]	cAMP response element (CRE)	CREB	cAMP/PKA

- ▶ **B. 关于IGFBP2蛋白水平检测：**武汉华美公司生产的IGFBP2酶联免疫试剂盒（Catalog Number: CSB-E04588h）提供了一种简单的检测方法，可测定血清、血浆及细胞培养上清液中的IGFBP2蛋白浓度。试剂盒原理为：往包被抗IGFBP2抗体的微孔中依次加入标本或标准品、生物素化的抗IGFBP2抗体、HRP标记的亲合素，经过洗涤后用底物TMB显色并在酸的作用下转化为黄色，颜色深浅与样本中的IGFBP2含量呈正相关。在本项目的前期预实验中，我们采用该试剂盒，成功对食管癌患者和正常对照者等进行了检测。说明该实验的可行性没有问题，可确保实验顺利实施。

2) 实验材料：本项目所涉及到的实验材料主要包括食管癌患者血清、正常对照者血清、食管癌

组织样本和配对食管标本远端切缘正常食管上皮粘膜组织、不典型增生食管上皮组织、永生化的食管上皮细胞系、食管癌细胞系、相关抗体以及特殊表达载体等。

- ▶ **A. 关于食管癌血清、组织标本** 本项目组所在实验团队已建立了潮汕地区食管癌标本库（保存在-80℃超低温冰箱中，执行863项目2006AA02A403、2012AA02A503 和2012AA02A209，标本来自汕头大学医学院附属肿瘤医院和汕头市中心医院等4家潮汕地区医院）。目前，该标本库拥有各项临床资料齐整的治疗前食管癌患者血液1413例（其中早期患者513例）和健康体检者622例（先前利用部分标本，已发表了高水平文章，例如Am J Gastroenterol. 2014;109(1):36-45.）。另外，该标本库还拥有食管癌蜡块组织标本25200余块，食管癌活检组织蜡块标本29900余块，食管癌档案石蜡标本组织芯片122张（1998例病例，覆盖如下五个时间段，1987年至1997年，2000年至2006年，2007年至2009年，2010年至2012年，2013年至2017年，随访时间最长达30年，2007年以来，总生存期随访率达95%以上，无瘤生存期随访率达80%以上）。与此同时，还拥有早期食管癌组织标本332例，不典型增生食管上皮组织标本686例（部分来源于食管活检）。再者，本项目的合作单位中山大学附属肿瘤医院，是国内规模最大、学术力量最雄厚的集医疗、教学、科研、预防于一体的肿瘤学医教研基地之一，在食管癌的诊治方面处于国内领先水平，所需临床样本数量十分充足，可确保食管癌样本的来源，需要指出的是，我们项目组一直与中山大学附属肿瘤医院【合作者为陈浩主管技师（身份证号445102198402120939），等】保持着良好的合作关系，并在此基础上已合作发表了多篇SCI论文（例如，**① Gastric Cancer. 2019;22(3):546-557; ② Cancer Prev Res (Phila). 2017;10(9):542-550.**）。由此可见，我们与中山大学附属肿瘤医院课题组之间开展的合作研究是非常紧密而又十分有效的，中山大学附属肿瘤医院作为研究内容一中的外部验证队列，是保障本项目成功实施和顺利完成的有力条件。关于巢式病例对照研究所需的样本，我们将借助于2016年国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项--食管癌专病队列研究（全国共有87家单位参与了该研究，汕头大学医学院为参加单位之一，并且本项目组负责人直接参与了该食管癌专病队列研究，佐证材料见附件1-3。这为获得食管鳞癌患者诊断前的血样提供了强有力的保障）。具体而言，该食管癌专病队列研究重点专项的项目任务之一，就是建立食管癌和癌前病变生物样本库和临床诊疗信息库，并且，所有参与单位共享该样本库的使用。在这里，需要补充说明的是，在执行食管癌专病队列研究重点专项之前，该项目的负责人中国医学科学院肿瘤医院魏文强教授和乔友林教授等人，已在河北磁县成功开展了食管癌内镜筛查的临床研究（ClinicalTrials.gov注册号: NCT02094105），研究成果已公开发表在Journal of Clinical Oncology（J Clin Oncol. 2015;33(17):1951-7.），并且已累积收集了部分食管鳞癌发病前的血液标本和匹配的对照血液标本。这为顺利开展食管癌专病队列研究重点专项打下坚实基础。目前，本项目组所在研究团队已于2017年在汕头市南澳

岛启动了对食管癌高危患者的筛查活动，各项任务正在有序开展。综上所述，本项目所需的食管鳞癌诊断前临床样本数量来源有保障，可确保巢式病例对照研究的开展。

- ▶ **B. 关于食管癌细胞系** 本项目所在实验室目前保存有6种永生化食管上皮细胞系，22种具有不同肿瘤生物学特性的食管鳞癌细胞系，且于近年对上述保存的细胞系进行了一次系统的包含16个位点的STR遗传学图谱测定遗传学图谱测定，结果符合预期，未发现变异，完全可以满足本项目研究的需要。需要特别说明的是，永生化食管上皮细胞系SHEE，以及由SHEE转化而来的食管癌细胞系SHEEC，是我们实验室与原中国预防医学科学院病毒所合作，于1997年建立的（中华实验和临床病毒学杂志,1999,13(2):121-123；J Cancer Res Clin Oncol, 2000,126(10):589-594），永生化食管上皮细胞SHEE没有成瘤性，而食管癌细胞SHEEC成瘤性很强，是研究食管癌发生机制的一对良好的细胞模型，在我们实验室已应用多年，是完成本项目十分难得的独特实验材料条件。
- ▶ **C. 关于IGFBP2活性蛋白** 本项目需要用到重组人IGFBP2活性蛋白，可以从R&D Systems购买到（目录号674-B2-025），并且，我们前期预实验，即细胞划痕实验中已用到该产品，并已证实其具有生物活性。
- ▶ **D. 关于抗体** 本项目所用到的抗体，如IGFBP2等，均可以从R&D Systems、Santa Cruz Biotechnology、Abcam和Cell signaling等公司购买。如随着项目的研究进展需要用到特殊抗体，且目前尚没有商品化出售的，我们拟通过本实验室的传统方式，委托北京博奥森生物技术有限公司（www.bioss.com.cn）为本项目生产这种特异性抗体。北京博奥森生物技术有限公司是一家生物制剂生产销售公司。抗体生产是该公司的优势品牌，信誉良好。以往我们实验室曾三次委托该公司生产特殊抗体（分别针对NGALR、Fascin-p393和sVR2），均获得十分满意的结果，并发表了较高水平的研究论文（① Cui L, Xu LY, Shen ZY, Tao Q, Gao SY, Lv Z, Du ZP, Fang WK, Li EM*. NGALR is overexpressed and regulated by hypomethylation in esophageal squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res. 2008,14(23): 7674-7681；② Zhao Q, Shen JH, Shen ZY, Wu ZY, Xu XE, Xie JJ, Wu JY, Huang Q, Lu XF, Li EM*, Xu LY*. Phosphorylation of fascin decreases the risk of poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. J Histochem Cytochem. 2010,58(11):979-988；③ Wu ZY, Chen T, Zhao Q, Huang JH, Chen JX, Zheng CP, Xu XE, Wu JY, Xu LY*, Li EM*. Altered Expression of Endogenous Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Is Involved in the Progression of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. J Histochem Cytochem. 2013;61(5):340-347；提示说明：上述研究论文中，加星号为该论文的通讯作者或并列通讯作者）。

3、年度研究计划及预期研究成果。

▶ 年度研究计划

- (1) **2019年10月至2020年09月，主要完成本项目的“研究内容一”**：以汕头大学医学院附属肿瘤医院和中山大学附属肿瘤医院为研究中心，进行大样本多中心回顾性研究，同时，依托国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项“食管癌专病队列研究”，开展巢式病例对照研究，在此基础上，研究确证血清IGFBP2在食管癌中的早期诊断价值。
- (2) **2020年10月至2021年09月，主要完成本项目的“研究内容二”**：早期食管癌组织、不典型增生阶段食管上皮组织、中/晚期食管癌组织中，IGFBP2表达模式特征的系统鉴定，以及临床意义研究。
- (3) **2021年10月至2022年09月，主要完成本项目的“研究内容三”**：建立相关细胞模型，结合细胞增殖、移动、侵袭和转移等细胞功能研究，以及相关细胞信号通路激活或受抑情况，深入到分子水平，揭示IGFBP2高表达在食管癌中的功能和分子作用机制。

在三年期间，将根据课题研究进展情况，及时总结实验成果，发表研究论文；参加中国肿瘤学大会和中国生物化学与分子生物学会全国学术大会等大型学术会议，了解国内外相关研究新进展；并预计在完成全部研究内容的基础上，于2022年9月，完成本项目的结题报告。

▶ 预期研究成果

在完成以上所述三个年度研究计划的基础上，本项目将取得如下主要结果：证实IGFBP2作为食管癌早期诊断血清分子标志物的可行性和临床应用前景，研究确

定食管癌高表达 IGFBP2 对食管癌细胞的肿瘤生物学影响，深刻揭示分子作用机制。

在上述研究结果基础上，1) 发表高水平专业研究论文 2 篇，刊登在国内外相关领域核心专业杂志上，争取单篇论文 SCI 影响因子达到 5 以上；2) 培养硕士研究生 2 名，并提供毕业论文。

三、研究条件与基础

1、已取得的研究工作成绩及与本项目有关的研究工作积累（请着重填写申请人近期的主要工作业绩以及与本项目相关的研究工作积累）。

1) 已取得的研究工作业绩

首先，自 2011 年开始，借助于参加国家 863 重大专项，申请人带领的科研小组启动了食管癌蛋白类早期诊断分子标志物研究。近 5 年来，我们鉴定了多种血清蛋白类分子标志物，包括 DKK-1、L1CAM、IGFBP7 和针对 p53、NY-ESO-1、ALDOA、ENO1 等多种自身抗体蛋白类标志物，证实了这些蛋白类分子标志物对于食管癌等肿瘤均具有早期诊断价值。在此基础上，申请人作为第一作者、共同第一作者或通讯作者，在 Am J Gastroenterology、Gastric cancer、Cancer Prevention Res、Dis Markers、Clin Transl Oncol 和 Clin Res Hepatol Gastroenterol 等重要学术期刊上发表 SCI 研究论文 13 篇。值得一提的是，这些研究中的两项大样本多中心的实验研究结果表明，将 6 种蛋白自身抗体分子标志物组合在一起，对食管癌和食管胃结合部癌均具有早期诊断的效能，在特异度保持 90% 以上的前提下，其敏感度达 50% 以上，远好于目前临床上正在应用的诸如 CEA、SCCA 和 CYFRA21-1 等肿瘤分子标志物，能较好区分早期食管癌、食管胃结合部腺癌患者与正常人，效果十分显著。而以此为基础撰写的研究论文，已全文发表在“Am J Gastroenterology”和“Gastric Cancer”上，这两本杂志的最新影响因子 10.23 和 5.04，表明本项目组所开展的“食管癌早期诊断蛋白类分子标志物研究”具有重要学术价值。

再者，申请人为生物化学与分子生物学专业博士，汕头大学医学院硕士研究生导师，广东省首批杰出青年医学人才，广东省抗癌协会肿瘤转移专业委员会委员，广东省生物化学与分子生物学学会青年委员，广东省胸部疾病学会医学检验专业委员会委员，International Journal of Biological Sciences 和 Bioscience Reports 等杂志审稿专家。近年来，主持国家自然科学基金青年科学基金项目一项（31600632）、广东省普通高校特色创新类项目一项（2018KTSCX068）和广东省普通高校青年创新人才项目一项（2015KQNCX044）。

最后，广东省潮汕沿海地区是我国食管癌高发区之一。探讨该地区食管癌的发病机制和诊断治疗一直是汕头大学医学院多学科协作攻关的主要研究方向，长期得到国家与广东省政府的高度重视。自 1998 年以来，本项目组所在实验室团队以分离鉴定食管癌重要功能基因，研究揭示这些基因异常表达调控分子机制、相关细胞信号转导通路与临床意义，以及筛选鉴定食管癌早期诊断、疗效监测和预后预警分子标志物为主要研究方向。迄今，在“Clin Cancer Res”、“J Biol Chem”、“J Pathol”、“Am J Pathol”、“Cell Mol Life Sci”、“Cancer Prev Res”、“Int J Cancer”和“Biochemical J”等主流学术期刊上，累计发表 SCI 研究论文百余篇，获得中国发明专利证书 6 项。

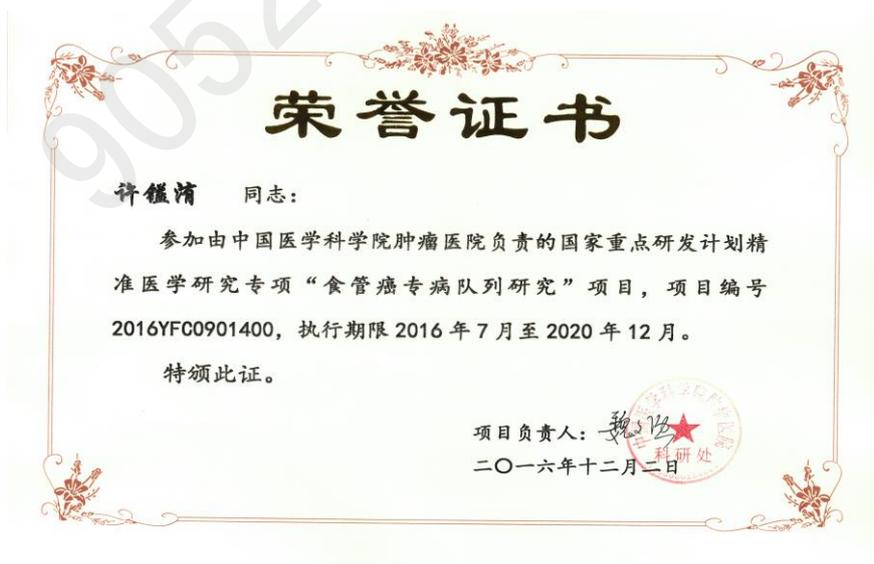
2) 与本项目相关的研究工作积累

与本项目相关的研究样本：

本项目组所在实验团队已建立了潮汕地区食管癌标本库。目前，该标本库拥有各项临床资料齐整的食管癌、食管胃结合部腺癌、胃癌和结直肠癌等多种肿瘤患者血液标本。另外，该标本库还拥有食管癌蜡块组织标本 25200 余块，食管癌活检组织蜡块标本 29900 余块，食管癌档案石蜡标本组织芯片 112 张。与此同时，还拥有早期食管癌组织标本 332 例，不典型增生食管上皮组织标本 686 例（部分来源于食管活检）。另外，我们项目组已经与中山大学附属肿瘤医院课题组建立起良好的合作

关系，已拥有满足该项目研究需要的多种肿瘤血液标本，在此之前，我们已合作发表 SCI 论文多篇(例如，① Gastric Cancer. 2019;22(3):546-557; ② Cancer Prev Res (Phila). 2017;10(9):542-550.)。

另外，本项目组所在研究团队参加了 2016 年国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项--食管癌专病队列研究（本项目负责人作为该重点专项参加者，见下图），这为获得早期食管鳞癌患者和诊断前的血样提供了强有力的保障。具体而言，该食管癌专病队列研究重点专项的项目任务之一，就是建立食管癌和癌前病变生物样本库和临床诊疗信息库，并且，所有参与单位共享该样本库。前期研究团队已在河北磁县等食管癌高发区成功开展了食管癌高危患者内镜筛查的临床研究，在此过程中，已收集了 16 例食管鳞癌发病前的血液标本和大量匹配的对照血液标本。这为顺利开展食管癌专病队列研究重点专项打下坚实基础。目前，本项目负责人所在研究团队已于 2016 年在汕头南澳岛启动了食管癌高危患者的筛查活动，各项任务正在有序开展，目前招募了 1403 例以上的食管癌高危患者。



与本项目直接相关的前期实验结果第一部分：高通量抗体芯片筛选鉴定血清 IGFBP2 在食管鳞癌中高表达。

我们前期采用高通量抗体芯片技术（RayBiotech 公司的 AAH-BLG-1000），检测了 20 例食管鳞癌患者和 20 例正常对照者（年龄、性别与食管癌组匹配）血清中 1000 种蛋白分子的表达情况，利用 SAM（Significance Analysis of Microarrays）法（以食管癌组/对照组的 Fold Change > 1.5 为节点），结合 T 检验（ $P < 0.05$ ）来共同选择表达上调的蛋白分子，经上述综合分析，发现共有 86 种潜在血清类分子标志物在食管癌中高表达。其中，IGFBP2 是被挑选中的候选标志物。芯片筛选分层聚类（红色箭头所指为 IGFBP2）、数据统计分析结果详见下图 1 和表 1。

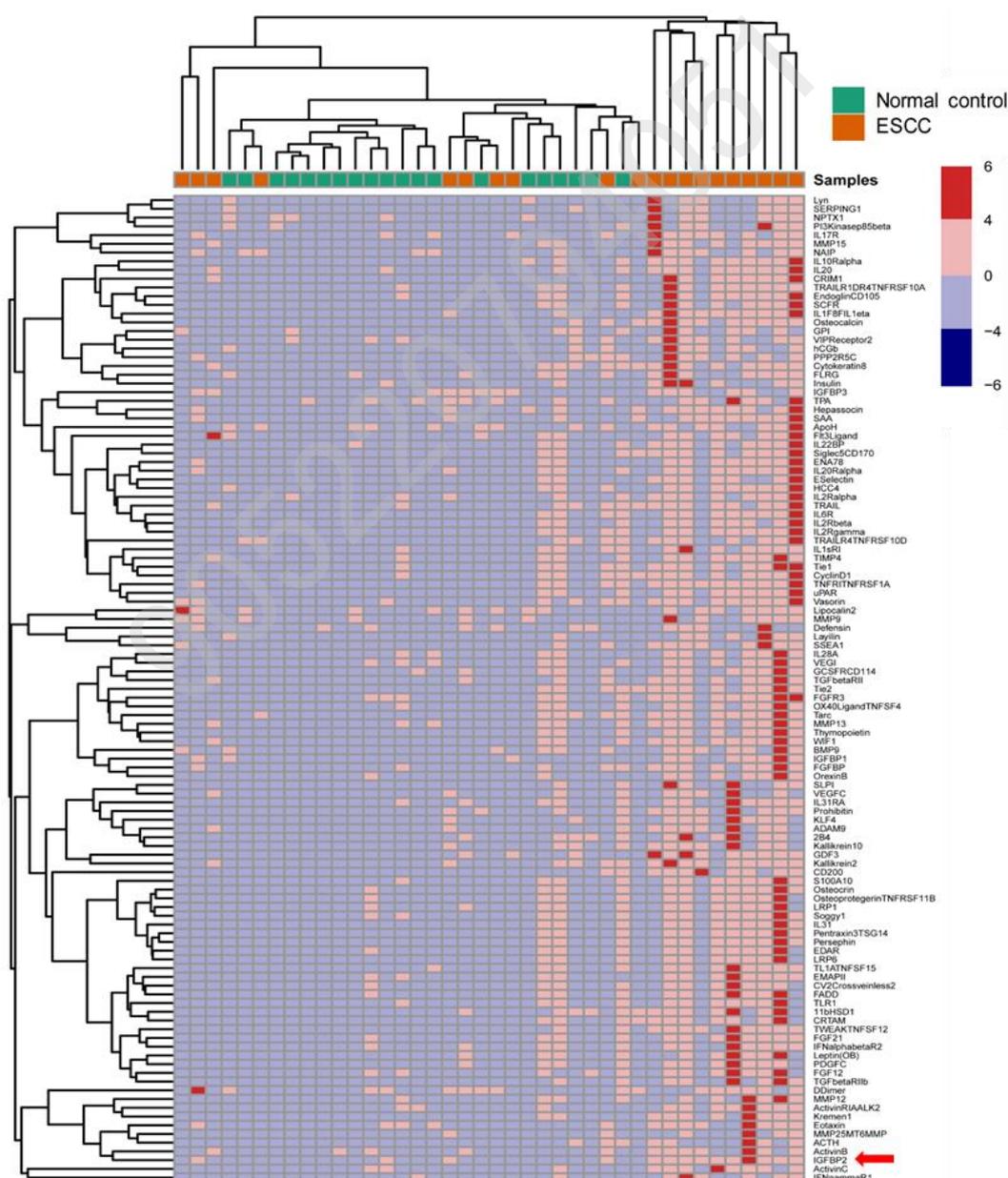


Figure 1. Hierarchical clustering results of human antibody arrays to measure proteins from sera of ESCC and normal controls.

Serum proteins displaying higher levels in patients with esophageal squamous cell carcinoma than normal controls (fold change > 1.5) were measured by the Human Antibody Array AAH-BLG-1000. Each row represents an individual protein, while each column indicates an individual serum sample. The color scale bar is on the right of the heat map, with the highest and lowest values in red and blue, respectively. ESCC, esophageal squamous cell carcinoma.

Table 1. 86 candidate Proteins/Cytokines displaying higher levels in patients with esophageal squamous cell carcinoma than normal controls (fold change > 1.5) with the use of Human Antibody Array AAH-BLG-1000

Protein/Cytokine name	Fold change	p value (Student t test)
GDF3	1.8035028	<0.001
Kallikrein 2	1.6731764	0.001
IGFBP-3	1.5227792	<0.001
IL-17R	1.5404811	0.0012
CRIM 1	2.4942821	0.0020
Hepassocin	1.6741045	0.0035
SAA	1.8737404	0.0035
IGFBP2	1.5690116	0.0020
TGF-beta RII	1.7093058	0.0027
Tie-2	1.6903881	0.0031
Vasorin	1.5378916	0.0036
MMP-9	1.8050232	0.0058
G-CSF R / CD 114	1.5088181	0.0036
TNF RI / TNFRSF1A	1.6451376	0.0048
IL-1 F8 / FIL1 eta	1.6211737	0.0069
uPAR	1.5849424	0.0072
IL-20 R alpha	1.5916308	0.0062
IGFBP-1	1.7715375	0.0087
D-Dimer	1.6075582	0.0109
Cytokeratin 8	1.5482369	0.0084
IL-1 sRI	1.5593007	0.0303
IL-2 R alpha	1.5464675	0.0132
FLRG	1.5356399	0.0114
TL1A / TNFSF15	1.6961292	0.0127
Tarc	1.530441	0.0135
MMP-13	1.5900909	0.0153

Cyclin D1	1.5619329	0.0145
TIMP-4	1.5036094	0.0155
VEGF-C	1.5676667	0.0110
Endoglin / CD105	1.5716644	0.0157
TWEAK / TNFSF12	1.6882888	0.0145
HCC-4/ CCL16	1.5318565	0.0151
TRAIL R4 / TNFRSF10D	1.6440075	0.0148
IL-2 R gamma	1.5366708	0.0162
Tie-1	1.5736473	0.0183
FGF R3	1.5044494	0.0174
TRAIL/ TNFSF10	1.5620742	0.0168
MMP-15	1.6827519	0.0184
IL-31	1.5694644	0.0199
SSEA-1	1.5138386	0.0183
11b-HSD1	1.6855077	0.0234
TPA	1.634865	0.0214
Activin B	1.5602187	0.0204
NAIP	2.0679363	0.0223
Pentraxin3 / TSG-14	1.6804978	0.0238
SCF R/CD117	1.7447789	0.0251
TRAIL R1 / DR4 / TNFRSF10A	1.629491	0.0265
E-Selectin	1.5091642	0.0269
CRTAM	1.7215272	0.0265
IL-6 R	1.5060397	0.0261
IL-31 RA	1.5151084	0.0221
TGF-beta RIIb	1.6557479	0.0263
IL-2 R beta/CD122	1.5955901	0.0285
FADD	1.6100827	0.0274
IL-10 R alpha	1.5291912	0.0293
Kremen-1	2.1217453	0.0312
IL-20	1.5969367	0.0310
BMP-9	1.606016	0.0295
PDGF-C	1.5640764	0.0245
Lipocalin-2	1.6206074	0.0356
Osteocalcin	1.664953	0.0307
Siglec-5/CD170	1.5354307	0.0291

S100A10	1.6715426	0.0301
FGF-BP	1.630238	0.0315
ADAM-9	1.6024065	0.0271
Activin RIA / ALK-2	1.6983134	0.0397
CV-2 / Crossveinless-2	1.5351625	0.0346
Osteoprotegerin / TNFRSF11B	1.672582	0.0370
LRP-6	1.5854083	0.0354
WIF-1	1.5593254	0.0415
Persephin	1.6455155	0.0391
CD200	1.7097643	0.0391
Kallikrein 10	1.6372859	0.0407
IL-28A	1.5445768	0.0402
OX40 Ligand / TNFSF4	1.5543465	0.0395
TLR1	1.5361133	0.0434
Leptin (OB)	1.5429587	0.0338
Prohibitin	1.5397471	0.0328
ENA-78	1.5301049	0.0450
2B4	1.6332297	0.0440
IFN-alpha / beta R2	1.5173295	0.0403
FGF-21	1.5427336	0.0439
SLPI	1.5227405	0.0359
VEGI/ TNFSF15	1.5167945	0.0483
Osteocrin	1.6212424	0.0466
LRP-1	1.5125739	0.0448

本项目直接相关的前期实验结果第二部分：ELISA 实验结果表明血清 IGFBP2 在食管鳞癌患者血清中高表达，是食管癌十分有潜力的早期诊断血清分子标志物。

为进一步确定血清 IGFBP2 在食管鳞癌患者血清中的表达水平，我们采用了 ELISA 实验（武汉华美 CSB-E04588h）检测了 164 例食管鳞癌患者（早期患者 52 例）和 126 例正常对照者血清中 IGFBP2 的水平，结果表明，IGFBP2 在食管鳞癌患者、早期食管鳞癌患者血清中的水平均比正常对照者显著升高（均为 $P < 0.0001$ ，图 2）。ROC 曲线分析显示，当取诊断临界值 329.4 ng/mL 时，IGFBP2 在早期食管

鳞癌患者中，具有非常好诊断效能，其曲线下面积为 **0.910**，敏感度为 **71.2%**，特异度为 **91.3%**（图 3）。上述结果一致说明，血清 IGFBP2 可能会发展成为检测早期食管鳞癌的分子标志物。

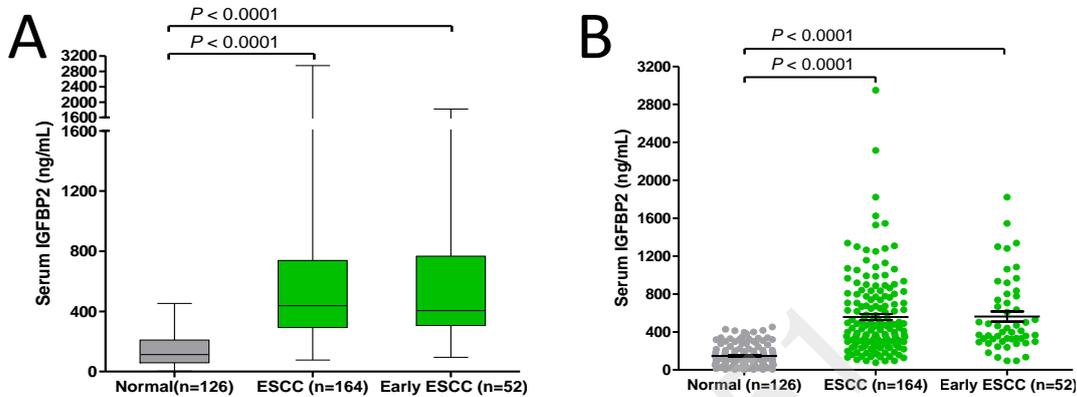


Figure 2. Levels of serum IGFBP2 in ESCC.

(A) Box plot illustrates median levels and interquartile ranges and the whiskers show minimum and maximum value of serum IGFBP2 in normal controls and patients with ESCC. (B) Scatter plots of serum IGFBP2 from patients with early-stage ESCC and normal controls. Black horizontal lines are means, and error bars are SEs. Mann–Whitney *U* test was conducted to assess differences of serum IGFBP2 between patients with different tumor types and normal controls. ESCC, esophageal squamous cell carcinoma.

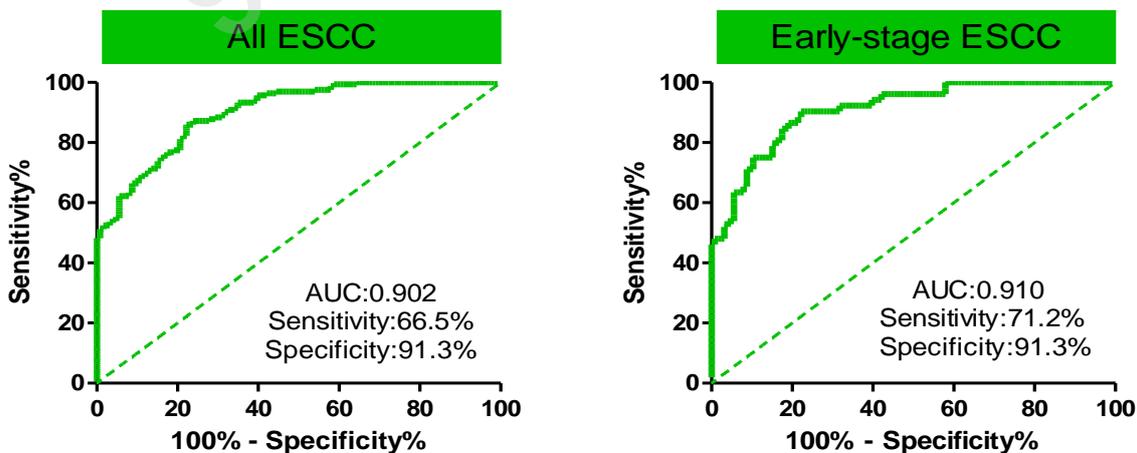


Figure 3. Performance of serum IGFBP2 in ESCC by ROC analysis.

(A) ROC curve for IGFBP2 in all ESCC patients vs. normal control. (B) ROC curve for IGFBP2 in early-stage ESCC patients vs. normal control. ESCC, esophageal squamous cell carcinoma.

与本项目直接相关的前期实验结果第三部分：ELISA 实验检测结果表明食管癌患者术后血清 IGFBP2 水平显著下降，提示血清 IGFBP2 的潜在临床实用价值。

为了进一步探讨血清 IGFBP2 对于食管癌的潜在临床应用价值，我们检测了 15 例术前 IGFBP2 阳性食管癌患者对应的术后血清 IGFBP2 的水平变化情况，结果发现，食管癌患者的 IGFBP2 水平在术后一周发生了显著下降 ($P < 0.0001$ ，图 4)。上述结果进一步提示，血清 IGFBP2 可能确实是食管癌组织细胞高分泌的，而且可能用于食管癌的术后监测，展示出该分子标志物对于食管癌的良好临床应用前景。

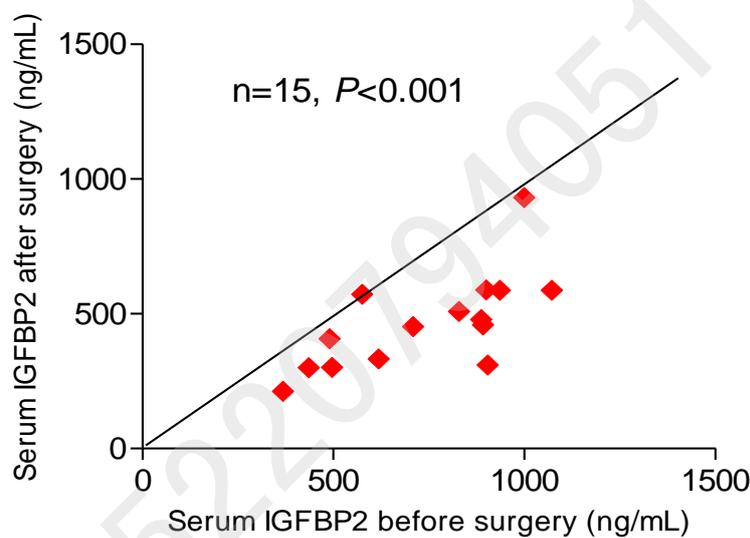


Figure 4. Serum levels of IGFBP2 before and one week after surgery in ESCC patients with preoperatively positive values of serum IGFBP2.

与本项目直接相关的前期实验结果第四部分：划痕实验提示外源性添加 IGFBP2 活性蛋白可以增强食管癌细胞迁移能力。

食管癌细胞先用无血清培养基饥饿培养 12 小时，再分别添加不同浓度的 IGFBP2 活性蛋白于 1640 完全培养基培养细胞 16 小时，结果发现 IGFBP2 可以促进食管癌细胞的侵袭迁移能力 (图 5)，提示 IGFBP2 可能在食管癌发生发展中发挥重要作用。

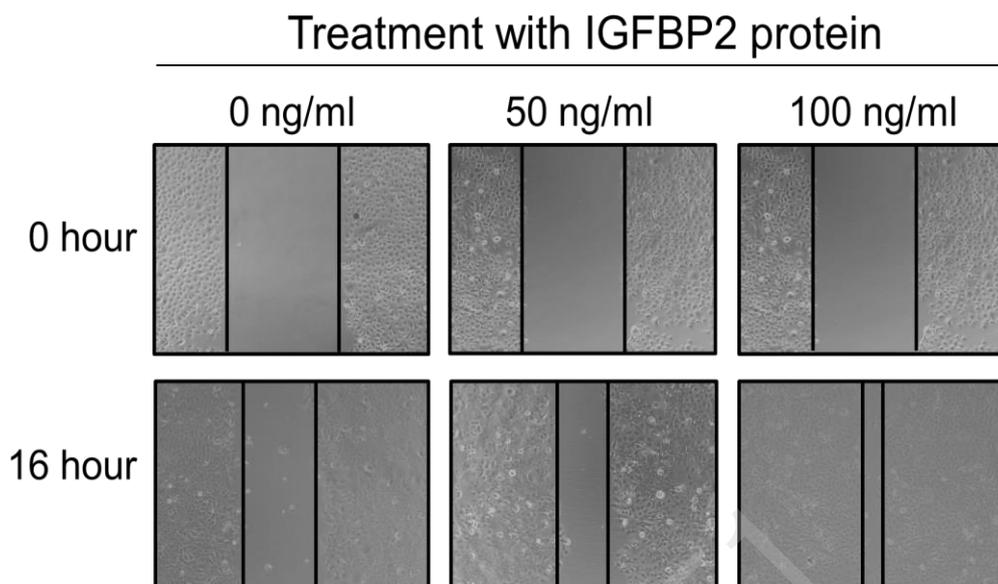


Figure 5. treatment of human IGFBP2 protein promoting cancer cell migration by the scratch wound healing assay

2、已具备的实验条件，尚缺少的实验条件和拟解决的途径（包括利用国家重点实验室和部门开放实验室的计划与落实情况）。

本项目组所依托的汕头大学是香港知名人士李嘉诚先生捐巨资兴建的一所综合性大学。与本项目直接相关的基础实验设施包括潮汕沿海高发肿瘤分子生物学广东省高校重点实验室、汕头大学医学院肿瘤病理研究室（国家重点学科）、汕头大学医学院生物化学与分子生物学实验室（博士点学科、广东省重点学科）、汕头大学医学院中心实验室、汕头大学医学院附属肿瘤医院中心实验室和汕头大学中心实验室等。依靠李嘉诚基金会在仪器设备方面的大力支持，目前，已拥有完成本项目所需的全部仪器设备方面的实验条件。主要包括：FilterMax F5 滤光片型酶标仪、Tecan 光栅型全波长酶标仪、Molecular Devices FilterMax F5 多功能酶标仪、LMD6000 全自动激光显微切割仪、ZEISS LSM 880 激光共聚焦显微镜活细胞工作站、IVIS 小动物活体成像系统（专门用于监测活体动物体内癌细胞的增殖与转移等行为变化）、

xCELLigence RTCA DP 实时细胞功能分析系统（专门用于实时动态监测细胞增殖、粘附、移动与侵袭等细胞行为的变化）、定量 PCR 仪、普通 PCR 仪、Illumina NextSeq500 高通量测序仪、Qiagen PyroMarkQ24 焦磷酸测序仪、LTQ Orbitrap Elite 质谱仪、AB Sciex6500 高效液相质谱仪、BD FACS Ariall 分选型流式细胞仪、BD Accuri™ C6 型流式细胞仪、ZEISS LSM 880 激光共聚焦显微镜、PerkinElmer 全自动切片分析系统、ZEISS Imager A2 正置显微镜、ZEISS Observer A1 倒置显微镜、ABI 7500 Real Time PCR 仪、ABI Veriti96 孔梯度 PCR 仪、ABI QS12K 高通量荧光定量 PCR 系统、Wes 全自动蛋白质印迹定量分析系统、Bio-Rad ChemiDoc XRS+ 化学发光成像系统、Odyssey SA 双色红外激光成像系统、天能 Tanon 2500R 凝胶成像系统、Optima TLX 超速冷冻离心机、高速低温离心机、GloMax® 96 微孔板发光检测仪（用于 Dual-Luciferase® 双荧光素酶报告基因检测系统后期活性检测）、化学发光/荧光/可见光凝胶图象处理系统（Alpha 8900）、Odyssey 双色红外激光成像分析系统、DMI6000 型多维活细胞成像系统、ND-2000 型超微量核酸蛋白检测仪、荧光倒置显微镜、研究级正置显微镜、激光扫描共聚焦显微镜、流式细胞仪、AKTA purifier 100、低温循环水浴、温控空气浴摇床、温控水浴摇床、病理诊断全套设备等及其它一些进行分子生物学、细胞生物学和病理学实验的常规仪器设备。所在实验室还拥有 10000 级水平的细胞培养室，该细胞培养室具有标准净化装置，相关配套设施齐全。

以上所述表明，在基础实验设施仪器方面，我们的工作条件完全能够满足本项目研究的需要。

六、附件信息

序号	附件名称	附件类型	附件说明
1	食管癌专病队列项目立项通知	其他	构建食管癌专病队列，其中高发现场人群前瞻性队列覆盖人群不少于10万人。
2	食管癌队列研究合作协议	协议	汕头大学为食管癌队列研究的主要参与单位，这为本省自然科学基金项目中巢式病例对照研究的开展提供了保障。
3	许镒洧参与食管癌队列研究证书	其他	本项目负责人许镒洧作为汕头大学代表参与食管癌队列，为获得食管癌前瞻性数据提供进一步重要保障。
4	国家自然科学基金青年科学基金资助项目计划书	申请人承担国家或省自然科学基金项目的合同书	许镒洧主持国家自然科学基金青年科学基金项目，项目执行时间为2017年至2019年，项目进展顺利。
5	许镒洧博士学位证书	博士学位证书	本项目负责人许镒洧于2018年6月获得生物化学与分子生物学博士学位
6	申报材料真实性承诺函	申报材料真实性承诺函	申报材料真实性承诺函
7	医学伦理审查批件	相应主管部门的会议批准文件	医学伦理审查批件

签字和盖章页(此页自动生成, 打印后签字盖章)

申请人: 许镒清 依托单位: 汕头大学
项目名称: 食管癌中IGFBP2早期诊断价值的大样本多中心验证及其分子作用机制研究
资助类别: 广东省自然科学基金-面上项目

申请人承诺:

我保证上述填报内容的真实性。如果获得资助, 我与本项目组成员将严格遵守广东省基础与应用基础研究基金委员会的有关规定, 切实保证研究工作时间, 按计划认真开展研究工作, 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。

签字:

项目组主要成员承诺:

我保证有关申报内容的真实性。如果获得资助, 我将严格遵守广东省基础与应用基础研究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, 认真开展研究, 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	项目分工	每年工作时间(月)	签字
1	彭裕辉	汕头大学	临床研究, 收集标本和ELISA实验检测	4	
2	方王楷	汕头大学	细胞功能研究, 分子生物学实验	3	
3	洪超群	汕头大学	临床研究, ELISA实验检测	4	
4	黄利生	汕头大学	临床资料整理、统计学分析	3	
5	沈文君	汕头大学	生物信息学研究	3	
6	彭柳	汕头大学	分子生物学实验	8	
7	柳灿炯	汕头大学	免疫组化、PCR实验	8	
8	楚玲玉	汕头大学	细胞培养	8	
9	李恩民	汕头大学	协助项目指导	3	

依托单位及合作研究单位承诺:

已按申报要求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, 严格遵守广东省基础与应用基础研究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广东省基础与应用基础研究基金委员会的规定及时报送有关材料。

以下为需要说明的其它问题:

依托单位公章

日期:

合作研究单位公章1

日期:

合作研究单位公章2

日期:

年 月 日

国家自然科学基金委员会

项目批准通知

国科金计项〔2019〕31号

关于2019年度国家自然科学基金项目资助 结果（第二批）的通知

汕头大学（单号：2019-31-1212）：

根据《国家自然科学基金条例》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）决定批准资助你单位国家自然科学基金项目 33 项，直接费用 1289 万元；决定不予资助你单位国家自然科学基金申请项目 220 项。资助项目清单详见附件1，不予资助项目清单详见附件2。

自然科学基金委已采用电子邮件形式向申请人发送申请项目批准资助通知、不予资助通知及专家评审意见，发送人的电子邮箱地址为 **report@pro.nsf.gov.cn**。请依托单位及时告知申请人务必确保提供的电子邮箱畅通有效，并提醒申请人注意及时查收电子邮件信息。

请你单位注意以下工作要求：

1. 自评审结果通告发布之日起25日内，批准资助项目的负责人应按要求填写并提交电子版《国家自然科学基金资助项目计划书》（以下简称计划书）。

2. **2019年9月11日16点前**，依托单位将审核后的电子版计划书通过科学基金网络信息系统 (<https://isisn.nsf.gov.cn>) 提交至自然科学基金委。

3. 自然科学基金委对电子版计划书进行审核。审核通过的，项目负责人可打印纸质版计划书（双面打印）；审核未通过的，退回至项目负责人修改，依托单位应在**2019年9月18日16点前**，将修改后的电子版计划书及时审核并再次提交至自然科学基金委。

4. **2019年9月26日16点前**，依托单位应将自然科学基金委审核通过后的计划书纸质版（一式两份，应保证与电子版一致）加盖单位公章；对于试点无纸化申请的青年科学基金项目、优秀青年科学基金项目和重点项目，还要将其申请书纸质签字盖章页（A4纸，其签字盖章的信息应与电子申请书保持一致）订在其中一份计划书之后。依托单位应一并将上述材料报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。

5. 自然科学基金委将对申请书纸质签字盖章页进行审核，对存在问题的，允许依托单位进行一次修改或补齐。依托单位应在**2019年10月18日前**报送修改后的申请书纸质签字盖章页。

6. 采用邮寄方式的，请在截止日前（以发信邮戳日期为准）以快递方式邮寄，并在信封左下角注明“计划书”或“计划书和申请书签字盖章页”。请勿使用包裹，以免延误报送。报送计划书材料时，还应附上本单位报送计划书的公函和计划书清单。材料不完整不予接收。

如在规定期限内未提交和报送电子与纸质计划书或青年科学基金项目、优秀青年科学基金项目和重点项目的申请书纸质签字盖章页的，视为自动放弃接受资助。未按要求修改或逾期提交申请书纸质签字盖章页的，将视情况给予暂缓拨付经费等处理。

邮寄地址：北京市海淀区双清路83号项目材料接收工作组

邮编：100085

联系电话：010-62328591

附件：1. 2019年度国家自然科学基金资助项目清单

2. 2019年度国家自然科学基金不予资助项目清单



国家自然科学基金委员会

2019年9月23日

附件1

2019年度国家自然科学基金资助项目清单（汕头大学）

单号：2019-31-1212

直接费用单位：万元

序号	项目批准号	负责人	申请代码	项目名称	直接费用	起止日期	资助类别/亚类说明/附注说明
1	11971287	杨忠强	A010403	无限维拓扑学及其在拓扑动力系统中的应用	52	2020.01.01- 2023.12.31	面上项目
2	11971288	温智涛	A010503	差分Painleve方程与指数多项式零点分布	53	2020.01.01- 2023.12.31	面上项目
3	21907063	东庚	B070601	肿瘤中赖氨酰氧化酶LOXL2反应机理及其分子靶点的理论研究	25	2020.01.01- 2022.12.31	青年科学基金项目
4	31900468	俞飞远	C060607	ERK8表观遗传调控EP3促进肺癌细胞迁移的作用及分子机制研究	25	2020.01.01- 2022.12.31	青年科学基金项目
5	31901692	Cheong Kit Leong	C200404	肠道菌群降解坛紫菜多糖形成的低聚糖调控紧密连接蛋白的机制	25	2020.01.01- 2022.12.31	青年科学基金项目
6	31970101	路争	C010501	严格厌氧菌 Bacteroides thetaiotaomicron 受氧化胁迫无氧酵解中断的分子机制研究	60	2020.01.01- 2023.12.31	面上项目
7	31972806	温小波	C190401	拟穴青蟹HUFA选择性沉积特性及其机制研究	58	2020.01.01- 2023.12.31	面上项目
8	41906144	邓方静	D0606	不同非线性和层结下拉格朗日余流动力机制分析	23	2020.01.01- 2022.12.31	青年科学基金项目
9	41907252	Ankit Garg	D0705	绿色基础设施中土体-植物-纤维-水-大气相互作用的基本机理	24	2020.01.01- 2022.12.31	青年科学基金项目
10	41976123	王帆	D0604	对虾类神经营养因子MANF在炎症调控中的功能与作用机制研究	60	2020.01.01- 2023.12.31	面上项目
11	41976125	杜虹	D0604	大型海藻龙须菜利用尿素的代谢途径及调节机制研究	62	2020.01.01- 2023.12.31	面上项目

2019年度国家自然科学基金资助项目清单（汕头大学）

单号：2019-31-1212

直接费用单位：万元

序号	项目批准号	负责人	申请代码	项目名称	直接费用	起止日期	资助类别/亚类说明/附注说明
12	51903148	李云龙	E031401	基于多尺度方法的碳纳米管、石墨烯增强高分子基体的机械与摩擦学性能的机理研究	24	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
13	51907112	张孝顺	E070402	智能发电控制的里程最优前景调度及其知识迁移理论	25	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
14	51907113	赵雷	E070602	动力电池充电系统中的高适应性直流变换器关键技术研究	26	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
15	51973107	佟庆笑	E030901	新型高效非掺杂深蓝热活化延迟荧光材料的设计、合成及其应用研究	57	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
16	51976113	陈严	E060703	海上风电机组超长柔性叶片的非线性气动弹性问题研究	58	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
17	61902231	郑麟	F020512	以主观因素为导向的过程可解释的用户偏好挖掘研究	25	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
18	61902232	周腾	F020517	面向城市道路环境时空上下文感知的交通流预测研究	24	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
19	71972119	梁强	G0213	家族企业的多元制度逻辑与长期导向战略研究	48	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
20	81900347	朱金秀	H0208	Nrf2对糖尿病心肌病自噬稳态的调节作用及其机制研究	20	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
21	81900638	王琳琳	H0505	免疫复合物通过Fc受体激活PI3K/Akt途径抑制肾小球血管内皮细胞连接功能机制研究	22	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
22	81901801	邱斯奇	H1808	基于靶向组织蛋白酶的新型荧光智能探针实时评估乳腺癌保乳切缘的研究	21	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目

2019年度国家自然科学基金资助项目清单（汕头大学）

单号：2019-31-1212

直接费用单位：万元

序号	项目批准号	负责人	申请代码	项目名称	直接费用	起止日期	资助类别/亚类说明/附注说明
23	81902072	张飞	H1904	基于自扩增RNA/脂质纳米颗粒技术的EB病毒膜抗原gp350-LMP2A双重抗原疫苗的设计及免疫机制研究	20	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
24	81902469	程银伟	H1617	食管癌细胞核中微丝结合捆绑蛋白Fascin的功能及其分子作用机制研究	20	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
25	81902634	洪良利	H1621	AMPK-FOXO1信号通路调节I型子宫内膜癌细胞增殖的分子机制	21	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
26	81903613	陆兵儿	H3102	碘化N-正丁基氟哌啶醇通过调控Nrf2信号通路减轻心肌缺血再灌注损伤机制的研究	20	2020.01.01-2022.12.31	青年科学基金项目
27	81970087	李韵	H0113	人巨细胞病毒感染参与调控阻塞性睡眠呼吸暂停相关的心血管代谢疾病机制	56	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
28	81970433	周应毕	H0220	FP受体介导的非NO依赖性血管舒张作用与PGF2a对脑动脉的调控及其在糖尿病状况下的作用和分子机制	55	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
29	81970777	朱伟杰	H1201	p53蛋白泛素化在翼状胬肉中的作用及发病机理研究	55	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
30	81971256	HAIYUN XU	H0919	从多巴胺到脑白质髓鞘化障碍：精神分裂症的线粒体损伤机制	55	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
31	81972801	彭裕辉	H1608	食管癌中异常高表达的IGFBP-1的功能与分子作用机制及其早期诊断价值研究	60	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
32	81972923	张国红	H1101	皮肤角质形成细胞通过重编程向腺细胞转分化的分子机制研究	55	2020.01.01-2023.12.31	面上项目
33	81972957	林常敏	H1108	毛乳头细胞分泌蛋白SDF-1诱导毛囊形成机制研究	55	2020.01.01-2023.12.31	面上项目

共33项，1289.0000万元



200605115266724

项目编号： 200605115266724 文件编号： _____

支持方式： 财政资金支持项目 自筹经费项目

汕头市科技计划医疗卫生类别 项目申报书（任务书）

项目名称： 大样本多中心验证研究评价血清BLC、MIP-1 和MMP-1联合

检测在食管鳞癌中的早期诊断价值

承担单位： 汕头大学医学院附属肿瘤医院

申报日期： 2020-06-08

汕头市科学技术局

二〇一八年

若项目评审合格、但限于当年度财政金额度用完，财政资金支持申报项目是否愿意转为自筹经费项目立项（是： 否：）

温馨提示

感谢您参加汕头市医疗卫生科技计划项目研究工作！

1、此申报书提交到市科技局后即无法修改，经评审合格立项后转为任务书，作为验收结题的依据，直接关系到个人科研诚信，请务必如实、客观、谨慎填写。

2、市科技局常年接受申报，申报材料除此申报书之外，尚需提交：可行性报告（模版见附件2）、项目查新报告（可选，提交可加分）、项目参与人员职称证明材料、诚信守纪承诺函（模版见附件3）、认证证书、检测报告等相关材料（可选）。所有书面材料一式6份（自筹经费项目一式4份）并用A4纸按顺序合并装订成册。依据以下情况，在10个工作日内完成审核同意后，加盖本单位公章，由本人或本单位科研部门统一汇总后报送到市科技局业务受理窗口：（1）三级医院和汕大医学院附属医院由其学术专家委员会审核。（2）没有设立学术专家委员会的市级申报单位由本单位组织3位高级职称医疗卫生专家审核。（3）区县以下的申报单位，由市科技局指定的学术专家委员会审核。

3、申报项目请选择财政资金支持项目或自筹经费项目。自筹经费类项目无限额。财政资金支持项目限于资金总额问题，汕头大学医学院年度内最多可申报6项（不包括附属医院），三甲医院年度内最多可申报4项，其他科研和医疗卫生机构年度内最多可申报2项。

4、申请财政资金支持项目，必须已启动了相关研发活动，且项目成果必须是申请相关专利1项及在核心期刊发表论文1篇或以上，或在核心期刊发表论文2篇或以上项目（为鼓励基层医护人员开展科研，非三级医院申报者在核心期刊发表论文1篇即可）。重点支持常见病与多发病（恶性肿瘤、心脑血管系统疾病、内分泌与代谢性疾病、精神疾病以及小儿、妇女常见疾病等）的早期诊治、基础性和临床应用性研究、社区干预等疾病防治技术、职业病防治技术研究等，支持人口健康与生育调节技术研究，计生及生殖健康技术推广应用，以及国家、省和市有关文件要求支持的领域。

5、财政资金支持额度。高等院校、科研机构每个项目资助最高不超过6万元，医疗机构每个项目资助最高不超过4万元。

6、有以下情形之一，原则上不得申报：

（1）项目承担单位前三年内累计出现5个（含）以上项目验收不合格，或出现项目验收不合格数占立项项目总数超过40%（含），或主动终止结题数占立项项目总数超过30%（含）的，将取消其往后三年申报市科技计划项目资助经费的资格（不可抗力因素除外）；

（2）承担2项（含2项）以上在研项目的负责人；

（3）项目负责人存在省、市科技计划项目逾期未结题等其他不宜承担项目问题；

（4）在专项资金审计过程中发现重大违规行为的；

（5）项目已获得各级科技计划立项并获得财政资金支持的（按上级规定需匹配地方资金的项目或结转项目除外）；

（6）被列入科技信用黑名单的单位和项目负责人。

7、项目验收结题以任务书为基础，在任务完成后6个月内须提出验收结题申请，提前完成的，可提前申请。不能按期完成的，须在任务书到期前3个月向市科技局提出延期申请，获批后才能延期结题。财政资金支持项目由市科技局组织按照《汕头市医疗卫生科技计划项目验收结题评分表》（模板见附件5）考核评价。自筹经费项目按以下三种情况组织验收结题，其结果在本单位公示5个工作日，无异议的报市科技局备案，市科技局不直接组织：

（1）三级医院和汕大医学院附属医院由其学术专家委员会在10个工作日内组织验收结题。

（2）没有设立学术专家委员会的市级申报单位由本单位组织3位高级职称医疗卫生专家10个工作日内组织验收结题。

（3）区县以下的申报单位，由市科技局指定的学术专家委员会在15个工作日内组织验收结题。

8、属获得临床批复、取得新药证书、取得发明专利授权、论文被SCI收录、以此项目培养研究生，答辩通过的研究生论文（博士或者硕士）、开展临床新技术填补粤东空白并应用临床5例以上或成果已被省、市科技部门相关文件肯定的项目，经所在单位同意，可以直接向市科技局申请结题，财政资金支持项目须同时提交决算表（模板）和资金使用明细台账，由市科技局业务科室于7个工作日内直接审核，必要时咨询相关专家后，上报市科技局领导审批。

9、市科技局建立科技经费使用巡查制度。每年组织对科研项目和资金管理与使用情况开展检查，对存在违规行为的责成限期整改直至倒查相关人员责任。祈大家能和市科技局一起，呵护珍惜我市的科技创新环境，提高科研项目公信力。

10、更详尽信息，请登录市科技局网站查阅《汕头市科技计划医疗卫生类别操作指引》；

11、市科技局业务咨询电话：88426652；有关慢作为、乱作为或违法违规情况投诉监督电话：88426648。

项目基本情况表（一）

项目名称	大样本多中心验证研究评价血清BLC、MIP-1 和MMP-1联合检测在食管鳞癌中的早期诊断价值				
承担单位	汕头大学医学院附属肿瘤医院		单位类型	医院	
项目起止时间	2020-10-01		至	2023-09-30	
地址	汕头市饶平路7号		传 真	0754-88560352	
邮编	515031	项目负责人	许镒洧	职务	医学院精准医学研究中
职称	副主任技师		电 话	0754-88555844	
项目联系人	许镒洧	职务职称	医学院精准医学研究中	电 话	0754-88555844-1058
主要参加单位：					
单位(1)名称	汕头大学医学院附属肿瘤医院				(单位 盖章)
地址	汕头市饶平路7号				
单位类型	医院				
联系人	陈蕾	电话	[REDACTED]		
单位(2)名称	汕头市龙湖人民医院				(单位 盖章)
地址	广东省汕头市龙湖区榕江路18号				
单位类型	医院				
联系人	陈先有	电话	13825834436		
单位()名称					(单位 盖章)
地址					
单位类型					
联系人		电话			
技术领域					

项目组主要成员 (项目负责人在分工栏注明)

序号	姓 名	年 龄	职务职称	分 工	所 在 单 位 (简 称)	签 名
1	许镒洧	35	汕头大学医学院 精准医学研究中心 副主任/副主任 技师	项目统筹安排	汕头大学医学院附属肿瘤医院	
2	翁雪芬	46	主管技师	ELISA实验检测	汕头大学医学院附属肿瘤医院	
3	肖凯成	32	主管技师	临床资料收集	汕头市龙湖人民医院	
4	柳灿炯	25	硕士研究生	实验检测	汕头大学医学院附属肿瘤医院	
5	韦来凤	25	硕士研究生	资料统计分析	汕头大学医学院附属肿瘤医院	
6	林逸伟	26	硕士研究生	实验检测	汕头大学医学院附属肿瘤医院	

项目基本情况表（二）

项目技术状况					
项目阶段	前期研究	技术水平			
技术来源	省内技术				
项目负责人已获得科技成果奖情况					
省一等奖	省二等奖	省三等奖	市一等奖	市二等奖	市三等奖
项目负责人已发表论文被收录情况					
SCI	EI	ISTP	核心期刊		
15					
本项目完成后获取知识产权预测					
专利申请总数	发明	实用新型	软件版权		
0	0	0	0		
本项目完成后论文发表情况预测					
SCI	EI	ISTP	核心期刊		
1			1		

关于科技成果其它需要说明的问题(500字以内)

无

200605115266724

注：本表所指核心期刊为最新版北京大学图书馆“中文核心期刊”或者中国科技核心期刊

财政资金支持项目经费预算安排表（三）（自筹经费类项目不需填写此表）

项目经费使用情况（万元）				
资金用途		单位自筹经费	市财政经费	总经费
基建费		0.0	0.0	0.0
其中				0.0
				0.0
设备购置费		0.0	0.0	0.0
其中				0.0
				0.0
原材料费（包括元件、材料、试剂、配套设备部件等。包括元件、材料、试剂、配套设备部件等）		0.0	3.3	3.3
其中	舌购买ELISA试剂盒，根据Raybiotech公司报价3300元/盒		3.3	3.3
			0.0	0.0
专用业务费（包括该项目设计、调研、资料、技术培训、技术会议、外事、检测、外协加工费等）		0.0	0.5	0.5
其中	: 1人次参加国内学术会议的差旅费，如中国肿瘤学大		0.5	0.5
				0.0
其他		0.0	0.2	0.2
其中	单位科研管理费，按项目经费5%计算。		0.2	0.2
				0.0
合计		0.0	4.0	4.0

注：财政科技经费要按相关科技专项资金管理办法规定安排使用

项目立项依据情况表（四）

1. 目的意义：

食管鳞癌的早发现早治疗是提高其生存率和保证患者生活质量的根本出路。然而，食管鳞癌缺乏早期诊断血清分子标志物。最近，我们应用高通量抗体芯片筛选发现BLC和MIP-1、MMP-1等蛋白标志物在食管鳞癌患者血清中高表达，随后小样本ELISA实验进一步证实，相对于正常对照者，BLC和MIP-1、MMP-1在早期食管鳞癌患者血清中的水平显著升高。基于此，本项目拟通过大样本多中心验证，分析BLC和MIP-1、MMP-1在食管鳞癌患者血清中的表达水平，系统评价血清BLC和MIP-1、MMP-1的联合检测在食管鳞癌中的早期诊断价值，探讨食管鳞癌早期诊断的新技术方法，为改善食管鳞癌诊治现状提供新途径。

200605115266724

2. 国内外概况：

我国是世界上最主要的食管癌高发国（90%以上为食管鳞癌）。在我国，进展期食管癌的五年生存率不足10%，然而，早期食管癌的五年生存率却高达85%以上。然而，大部分食管癌患者在就诊时已经是中晚期，这使得食管鳞癌的五年生存率长期徘徊在20%左右，这对我国人民健康的威胁无疑是严峻的。因此，在我国研究食管癌、尤其是攻克食管癌早期诊断科学难题的意义十分重大。本项目负责人所带领的研究团队长期围绕着寻找食管癌血清早期诊断分子标志物这一重要临床科学问题开展研究工作。在此过程中，我们评估了多种血清分子标志物的诊断价值，证实了这些分子标志物对于食管癌均具有早期诊断价值。为了进一步筛选食管癌早期诊断血清分子标志物，提高食管癌的早期诊断率，近期，本项目组采用高通量抗体芯片进行筛选和小样本ELISA实验，发现BLC、MIP-1 和MMP-1在早期食管鳞癌患者血清中的表达水平显著高于正常对照者。查阅文献可知，有关“血清BLC、MIP-1 和MMP-1与食管癌诊断”，至今鲜有研究报道，这凸显了这些标志物作为食管癌诊断分子标志物研究创新性突出。

200605115266724

3. 前景预测和发展趋势：

本项目在高通量抗体芯片筛选的基础上，将评价BLC、MIP-1 和MMP-1等3种血清蛋白标志物在食管鳞癌中的诊断价值，建立食管鳞癌诊断优化标志物组合，为建立食管鳞癌早期诊断新技术方法提供重要的人群实验数据。

200605115266724

4. 项目完成后将提供的研究开发成果形式

通过本项目的研究，我们将系统评价血清BLC、MIP-1 和MMP-1在食管鳞癌的诊断价值，建立基于血清BLC、MIP-1 和MMP-1标志物联合检测的食管鳞癌早期诊断新技术方法，该实验技术为临床实验室常用酶联免疫吸附试验（ELISA），有可能将研究成果转化为临床应用并推广；同时，我们将至少发表研究论文2篇，投稿SCI收录期刊或国内核心期刊。

200605115266724

项目内容、方法、技术路线情况表（五）

1. 具体研究开发内容和要重点解决的技术关键问题：

- 1) 研究内容第一部分：以汕头大学医学院附属肿瘤医院收集的400例食管鳞癌和400正常对照者为研究对象，评价血清BLC、MIP-1 和MMP-1在食管鳞癌中的表达水平和早期诊断价值。
- 2) 研究内容第二部分：以研究内容一的汕头大学医学院附属肿瘤医院收集的400例食管鳞癌和400正常对照者胃训练队列，建立血清BLC、MIP-1 和MMP-1标志物组合，评价其在食管鳞癌中的早期诊断价值。
- 3) 研究内容第三部分：以中山大学肿瘤防治中心收集的300例食管鳞癌和300正常对照者为验证队列，验证血清BLC、MIP-1 和MMP-1标志物组合在食管鳞癌早期诊断价值。
- 4) 要重点解决的技术关键问题：采取有力措施，确保能够收集数量充足的早期食管鳞癌患者（AJCC 0+I+IIA）。

2. 要达到的技术指标及社会（经济）效益：

本项目的建设指标是一种非侵入性的血液检测，实验技术为酶联免疫吸附试验，研究成果有希望进行转化并可能进一步在各级医院临床实验室开展，因此，具有广阔的临床应用前景。

200605115266724

3. 项目的特色和创新之处：

创新性：有关血清BLC、MIP-1 和MMP-1与食管癌诊断，以往尚未见任何研究报道。在前期重要发现基础之上，通过大样本多中心研究策略，明确血清BLC、MIP-1 和MMP-1表达水平与食管癌之间的相关关系，首次系统阐明血清BLC、MIP-1 和MMP-1及其联合检测作为食管鳞癌早期诊断分子标志物的潜在临床意义，推进食管癌早诊早治。

特色：自2011年开始，本项目组长期围绕寻找鉴定食管癌早期诊断血清分子标志物开展相关研究。基于此，在领域主流学术期刊杂志“Am J Gastroenterology”、“EBioMedicine”和“Gastric cancer”上发表了我们的研究结果，表明本项目组所开展食管癌早期诊断血清分子标志物研究已形成了独有的研究专长与特色，而且具有重要临床意义。

200605115266724

4、本项目现有的研究工作基础 (包括现有科研装备条件):

- 1) 自2011年开始,借助于参加国家863重大专项,申请人带领的科研小组启动了食管癌蛋白类早期诊断分子标志物研究。近5年来,我们鉴定了多种血清蛋白类分子标志物,包括DKK-1、L1CAM、IGFBP7和针对p53、NY-ESO-1、ALDOA、ENO1等多种自身抗体蛋白类标志物,证实了这些蛋白类分子标志物对于食管癌等肿瘤均具有早期诊断价值。在此基础上,申请人作为第一作者、共同第一作者或通讯作者,在Am J Gastroenterology、Gastric cancer、Cancer Prevention Res、Dis Markers、Clin Transl Oncol和Clin Res Hepatol Gastroenterol等重要学术期刊上发表SCI 研究论文13篇。
- 2) 与本项目直接相关的基础实验设施包括潮汕沿海高发肿瘤分子生物学广东省高校重点实验室、汕头大学医学院中心实验室、汕头大学医学院附属肿瘤医院中心实验室等。依靠李嘉诚基金会在仪器设备方面的大力支持,目前,已拥有完成本项目所需的全部仪器设备方面的实验条件。

200605115266724

项目工作进度安排表（六）

注：项目执行期不超过三年，若无法按时完成，请按规定提前三个月申请延期。

	工作进度	主要内容
1	2020-10-01 至 2021-09-30	完成研究内容第一部分：评价血清BLC、MIP-1 和 MMP-1在食管鳞癌中的表达水平和早期诊断价值。 本项目将购买Raybiotech公司生产的人BLC、MIP-1 和 MMP-1检测试剂盒，以ELISA实验方法，检测汕头大学医学院附属肿瘤医院入组的400例以上食管鳞癌患者（其中AJCC分期为0+I+IIA的早期患者不少于120例）和400例正常对照者，采用t检验或Mann – Whitney U test分析血清标志物在食管鳞癌患者和正常体检人群患者血清中的差别，与此同时，采用ROC曲线分析，评价血清BLC、MIP-1 和MMP-1在食管鳞癌患者中的诊断效能，具体为，以尤登指数(Youden ' s index)最大时取诊断临界值，获得诊
2	2021-10-01 至 2022-09-30	研究内容第二部分：建立血清BLC、MIP-1 和MMP-1标志物组合，评价其在食管鳞癌中的早期诊断价值。 在第一部分研究的基础上，我们将上述400例食管鳞癌和400例正常对照者为训练列队，具体为，采用Logistic回归分析建立回归方程，得到联合检测的预测概率（p），把预测概率p作为检验变量进行ROC曲线分析，选取最佳诊断临界值（Youden ' s index最大），获得AUC、敏感度和特异度等诊断指标，评价血清BLC、MIP-1 和MMP-1组合在食管鳞癌的早期诊断效能，探讨该蛋白标志物组合的联合检测，能否进一步提高食管鳞癌的早期诊断效能。
3	2022-10-01 至 2023-09-30	研究内容第三部分：验证血清BLC、MIP-1 和MMP-1标志物组合在食管鳞癌早期诊断价值。 在中山大学肿瘤防治中心收集至少300例正常体检人群和至少300例食管鳞癌患者（其中早期患者不少于150例）为验证列队，检测这些受试者血清BLC、MIP-1 和MMP-1的水平，以训练列队中获得的诊断临界值，验证血清BLC、MIP-1 和MMP-1标志物组合对于食管鳞癌的诊断价值，尤其是对早期食管鳞癌患者的诊断价值。
	至	

承担单位工作基础和条件

1. 承担单位概况（人员、资产、业务与管理状况）：

我院是粤东地区唯一一所集预防、医疗、教学和科研为一体的非营利性三级肿瘤专科医院，拥有肿瘤学硕士点、博士点。承担汕头大学医学院肿瘤学、护理学、全科医学等教学任务，也是国内唯一承担香港放射治疗师本科生培训教学单位。全院职工665人，高级职称111人，中级职称263人，博、硕士学历158人。医院开放病床704张，拥有配套设施齐全的门诊部、住院部及科研实验室。2005年医院成为国家药物临床试验机构。医院肿瘤学荣获广东省“十二五”医学重点学科和第九轮广东省优势重点学科，拥有省内唯一的“广东省乳腺癌诊治研究重点实验室”，内科为广东省首批“癌痛规范化治疗示范病房”，肿瘤科和胸外科获广东省临床重点学科。

2. 近三年内承担国家省市级有关项目（课题）完成情况（立项年度、项目名称、计划类型、完成时间、完成效果等）：

2017-2019年，我院共获得国家级课题3项，省部级课题12项，市厅级课题67项，其他课题12项。

审核意见

学术专家委员会意见	<p>(学术专家委员会审核盖章)</p> <p>年 月 日</p>
项目承担单位意见	<p>通过</p> <p>法人代表(签章):(单位盖章)</p> <p>年 月 日</p>
市科技局意见	<p>(单位盖章)</p> <p>年 月 日</p>

附件清单

序号	附件类型	数量
1	项目查新报告	1
2	项目参与人员职称证明材料	3
3	诚信守纪承诺函	1
4	认证证书、检测报告等相关资料	0
5	其他	15

附件 2 :

汕头市科技计划项目医疗卫生类别 可行性报告参考提纲

大样本多中心验证研究评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 联合 检测在食管鳞癌中的早期诊断价值

一、立项依据

(一) 目的意义 ;

食管鳞癌的早发现早治疗是提高其生存率和保证患者生活质量的根本出路。然而，食管鳞癌缺乏早期诊断血清分子标志物。最近，我们应用高通量抗体芯片筛选发现 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 等蛋白标志物在食管鳞癌患者血清中高表达，随后小样本 ELISA 实验进一步证实，相对于正常对照者，BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在早期食管鳞癌患者血清中的水平显著升高。基于此，本项目拟通过大样本多中心验证，分析 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在食管鳞癌患者血清中的表达水平，系统评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 的联合检测在食管鳞癌中的早期诊断价值，探讨食管鳞癌早期诊断的新技术方法，为改善食管鳞癌诊治现状提供新途径。

(二) 国内外概况 ;

据流行病学调查结果显示^[1-3]，我国是世界上最主要的食管癌高发国（90%以上为食管鳞癌），近年来我国食管癌的发病率有所下降，但死亡率一直位居所有癌种中的第四位，2015 年我国食管癌新发病例 24.6 万，死亡 18.8 万，可见食管癌一直是威胁我国居民健康的主要恶性肿瘤。目前临床上，食管鳞癌（Esophageal squamous cell carcinoma）的瓶颈性科学问题有四^[4]：一是没有早期诊断分子标志物；二是没有预后预警分子标志物；三是没有放化疗敏感性判别分子标志物；四是没有分子靶向药物。在

我国，进展期食管癌的五年生存率不足 10%，然而，早期食管癌的五年生存率却高达 85% 以上^[5]。然而，大部分食管癌患者在就诊时已经是中晚期，这使得食管鳞癌的五年生存率长期徘徊在 20% 左右，这对我国人民健康的威胁无疑是严峻的。因此，在我国研究食管癌、尤其是攻克食管癌早期诊断科学难题的意义十分重大。

面对此严峻形势，本项目负责人所带领的研究团队，立足广东潮汕沿海食管癌高发区，依托潮汕沿海地区高发肿瘤分子生物学广东省高校重点实验室，借助参加国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项（详见项目书[附件-国家重点研发项目参与证明](#)），同时在与中山大学肿瘤防治中心建立了良好合作关系的基础上（已经合作发表高质量论文两篇，详见项目书[附件-论文 2 和论文 3](#)），长期围绕着寻找食管癌血清早期诊断分子标志物这一重要临床科学问题（针对上述科学问题一）开展研究工作。在此过程中，我们评估了多种血清分子标志物的诊断价值，包括 IGFBP-1、DKK-1、L1CAM 和针对 p53、NY-ESO-1、MMP-7、PRDX6 等肿瘤相关抗原的自身抗体，证实了这些分子标志物对于食管癌均具有早期诊断价值^[6-17]。基于这些研究，在 *Am J Gastroenterology* (IF 10.241)、*EBioMedicine* (IF 6.680) 和 *Gastric Cancer* (IF 5.554) 等期刊上发表 SCI 论文 12 篇，表明本项目组所开展的“食管癌早期诊断血清分子标志物研究”具有重要学术价值。

肿瘤血清分子标志物的开发和鉴定对于早日实现肿瘤早期诊断至关重要，其中，蛋白类分子标志物始终占据着举足轻重的位置。2017 年，自然杂志社旗下著名期刊 *Nature Reviews Cancer* 发表的综述 (*Precision diagnostics: moving towards protein biomarker signatures of clinical utility in cancer*) 更是强烈预言蛋白类分子标志物必将对肿瘤精确诊断发挥极其重要的作用。与此同时，血清中蛋白类标志物被认为最适用于临床常规评估和研究，其主要原因在于肿瘤血清蛋白标志物具有非侵袭性、所需血清样本量少、检测方法成熟、易推广、重现性高和费用低等优点。随着高通量技术的不断成熟，基于抗体芯片的血清蛋白质组学分析技术（可同时检测细胞因子、趋化因子、生长因子、血管生成因子等多种蛋白或多肽），可以同时更全面地挖掘、鉴定多种肿瘤标志物。现已报道了高通量抗体芯片

用于筛选肺癌、乳腺癌和膀胱癌等肿瘤的血清/血浆蛋白诊断标志物^[18-20], 突显高通量抗体芯片在恶性肿瘤早期诊断方面的应用前景。关于高通量抗体芯片筛选食管癌早期诊断分子标志物的研究, 迄今, 国内外鲜有报道。

为了进一步筛选食管癌早期诊断血清分子标志物, 提高食管癌的早期诊断率, 近期, 本项目组采用 RayBiotech 公司制备的 AAH-CYT-G4000 高通量抗体芯片(分别可以检测 274 种细胞因子), 以性别年龄匹配的 20 例食管鳞癌和 20 例正常对照者血清样本为研究对象进行筛选, 结果发现, 芯片中有 22 种蛋白类分子标志物在食管癌患者血清中高表达 (**Fold change >1.5, T 检验 $P < 0.05$** , 见下**图 1**)。这些候选标志物, 有可能发展成为食管癌早期诊断血清分子标志物。其中, 我们已经证实 IGFBP-1 蛋白分子是食管癌潜在的早期诊断血清分子标志物, 相关研究以全文发表在 EBioMedicine^[7]。最近, 我们在上述多种潜在标志物中进行了小样本的 ELISA 实验的进一步探索, 结果发现 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在早期食管鳞癌患者血清中的表达水平显著高于正常对照者(见下**图 2**)。更重要的是, 当我们将三种标志物进行联合检测时, 其诊断效能进一步提高, 提示这三种标志物是食管鳞癌非常有希望的早期诊断分子标志物(见下**图 3**)。再者, 查阅文献可知, 有关“血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 与食管癌诊断”, 至今鲜有研究报道, 这凸显了这些标志物作为食管癌诊断分子标志物研究创新性突出。

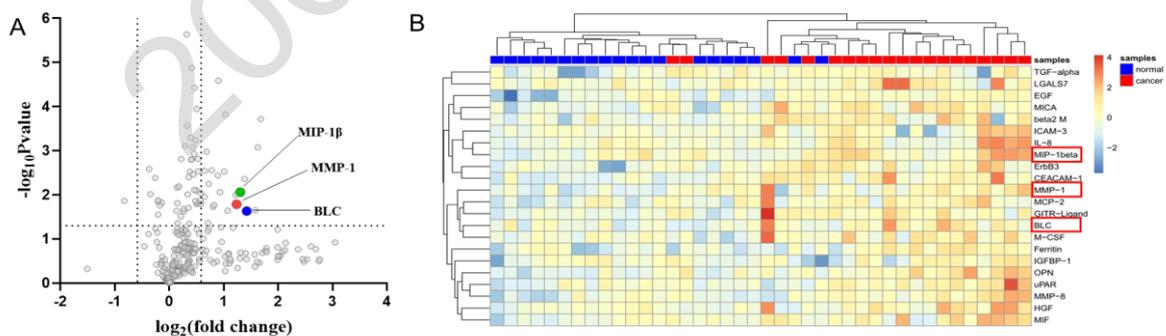


图 1. AAH-BLG-G4000 芯片检测 20 例食管鳞癌和 20 例正常对照血清结果分析图。

A. 芯片检测结果火山图, 垂直虚线代表 fold-change 为 1.5 倍, 水平虚线代表 p 值为 0.05; B. 蛋白分层聚类分析图, 图中所示为存在异常表达的蛋白 (Fold Change > 1.5), 其中每一行代表一种检测蛋白, 每一列代表一例血清样本 (蓝色为正常对照, 红色为食管癌)。

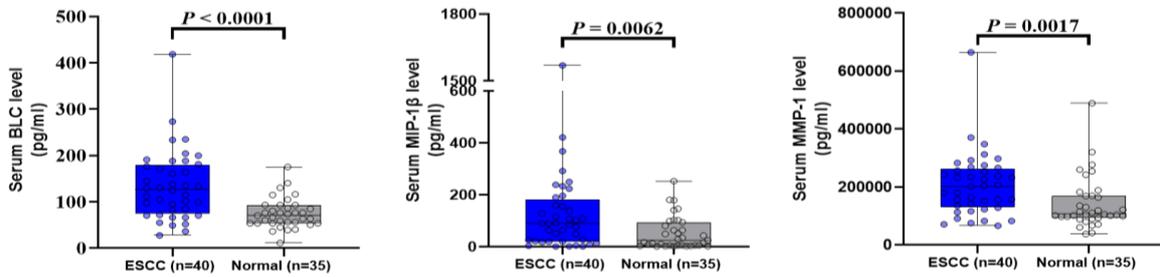


图 2. ELISA 实验检测 40 例早期食管鳞癌 (ESCC) 和 35 例正常对照血清结果图。统计分析采用 Mann-Whitney U test。ESCC, 食管鳞癌。相关 ELISA 试剂盒从 Raybiotech 公司购买。

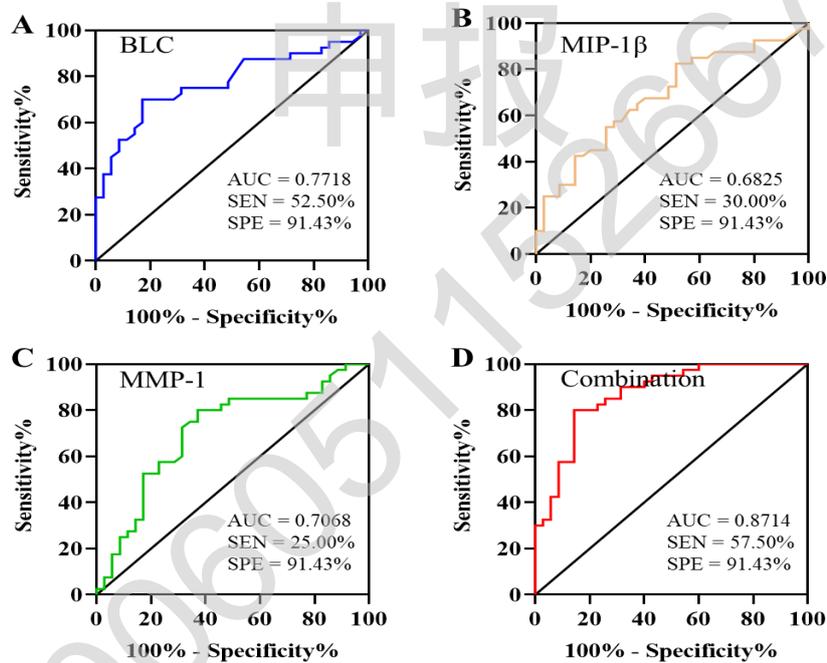


图 3. ROC 曲线分析血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 及三种标志物联合检测在 40 例早期食管鳞癌 (ESCC) 和 35 例正常对照的诊断效能。三种标志物联合检测采用逻辑回归分析构建诊断预测方程。AUC, ROC 曲线下面积; SEN, 敏感度; SPE, 特异度。

众所周知, BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 均与肿瘤的发生发展密切相关。BLC (B lymphocyte chemoattractant, B 淋巴细胞趋化因子, 也被称为 CXCL13) 是一种抗菌肽和 CXC 趋化因子, 在脾脏滤泡、淋巴结和 Peyer's 斑块中强烈表达。CXCL13/CXCR5 信号轴在调节癌细胞生长、增殖、侵袭和转移能力中发挥重要作用^[21]; 已有研究提示, 血清 BLC 在非霍奇金 B 细胞淋巴瘤、肝细胞癌、肺癌、前列腺癌、胃癌、乳腺癌等肿瘤中水平升高。MIP-1 β 是 CD8⁺T 细胞产生的主要 HIV 抑制因子之一, 该基因编

码的蛋白质具有分泌性，具有化学动力学和促进炎症功能。MMP-1 作为基质金属蛋白酶家族的主要成员，能分解I型、II型和III型间质胶原，它在 VEGF 信号通路中通过分解细胞外基质，促进内皮细胞的迁移，从而促进血管的生成，在肿瘤的浸润和发展中发挥作用。研究表明，血清 MMP-1 在多种肿瘤中高表达，包括肺癌、胃癌、乳腺癌、结直肠癌、胰腺癌、肝细胞癌、鼻咽癌等。MIP-1 β 通过招募调节性 T 细胞和促肿瘤发生的巨噬细胞，同时作用于肿瘤微环境中的其他驻留细胞（如成纤维细胞和内皮细胞），从而促进肿瘤的发生和进展。研究提示，血清 MIP-1 β 在口腔鳞癌、结直肠癌和肺癌等肿瘤中表达水平升高，然而，在卵巢癌和鼻咽癌中的表达水平却降低。上述有关血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在不同肿瘤中的表达情况均一致提示，血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 有可能作为血清蛋白类分子标志物，用于肿瘤早期诊断。最近，Li 等人发现血清 MIP-1 β 在食管癌中的表达与正常人相比无差别^[22]，这与我们本项目前期的研究工作得到的结果存在差异。但考虑 Li 等人的研究纳入的样本量少（36 例食管鳞癌），因此，有必要进一步证实血清 MIP-1 β 的表达与食管鳞癌的关系。同样，BLC 和 MMP-1 在食管鳞癌中的表达水平也是不清楚的，有待进一步研究证实。

总结以上所述可见，本项目是在我们以往系列扎实研究，以及前期实验发现重要研究线索，即高通量芯片筛选和 ELISA 实验证实血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在食管鳞癌中高表达的基础上提出来的。大样本多中心系统研究血清血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 及其联合检测对于食管鳞癌的早期诊断作用，具有非常重要的临床科学意义，有希望取得预期研究成果进展。

参考文献（加下划线标注者为本项目负责人以往发表，与本项目密切相关的论文，全部为 SCI 收录，共 15 篇；论文中用粗体字标注的作者为本项目申请人，标记#者为共同第一作者，标记*者为通讯作者或共同通讯作者）：

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA Cancer J Clin. 2016;66(1):7-30.

2. Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer. *N Engl J Med*. 2003;349(23):2241-2252.
3. 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀瑛, 魏文强, 赫捷. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析. *中华肿瘤杂志*. 2019;41(1):19-28.
4. Ohashi S, Miyamoto S, Kikuchi O, Goto T, Amanuma Y, Muto M. Recent Advances From Basic and Clinical Studies of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1700-1715.
5. Wang GQ1, Jiao GG, Chang FB, Fang WH, Song JX, Lu N, Lin DM, Xie YQ, Yang L. Long-term results of operation for 420 patients with early squamous cell esophageal carcinoma discovered by screening. *Ann Thorac Surg*. 2004;77(5):1740-1744.
6. Xu YW, Peng YH, Chen B, Wu ZY, Wu JY, Shen JH, Zheng CP, Wang SH, Guo HP, Li EM*, Xu LY*. Autoantibodies as potential biomarkers for the early detection of esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(1):36-45.
7. Xu YW, Chen H, Hong CQ, Chu LY, Yang SH, Huang LS, Guo H, Chen LY, Liu CT, Huang XY, Lin LH, Chen SL, Wu ZY*, Peng YH*, Xu LY*, Li EM*. Serum IGFBP-1 as a potential biomarker for diagnosis of early-stage upper gastrointestinal tumour. *EBioMedicine*. 2020;51:102566.
8. Xu YW, Chen H, Guo HP, Yang SH, Luo YH, Liu CT, Huang XY, Tang XM, Hong CQ, Li EM*, Xu LY*, Peng YH*. Combined detection of serum autoantibodies as diagnostic biomarkers in esophagogastric junction adenocarcinoma. *Gastric Cancer*. 2019;22(3):546-557.
9. Xu YW, Hong CQ, Wu ZY, Peng YH, Ran LQ, Yang SH, Huang BS, Liang XY, Chen HL, Wu JY, Xu XE, Deng JW, Zou HY, Fang WK, Li EM, Xu LY*, Xie JJ*. Diagnostic and prognostic value of serum L1-cell adhesion molecule in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(6):597-603.
10. Xu YW, Peng YH, Xu LY, Xie JJ, Li EM. Autoantibodies: Potential clinical applications in early detection of esophageal squamous cell carcinoma and esophagogastric junction adenocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2019;25(34):5049-5068.
11. Xu YW, Liu CT, Huang XY, Huang LS, Luo YH, Hong CQ, Guo HP, Xu LY, Peng YH*, Li EM*. Serum Autoantibodies against STIP1 as a Potential Biomarker in the Diagnosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers*. 2017;2017:5384091.
12. Xu YW, Peng YH, Ran LQ, Zhai TT, Guo HP, Qiu SQ, Chen HL, Wu ZY, Li EM*, Xie JJ*. Circulating levels of autoantibodies against L1-cell adhesion molecule as a potential diagnostic biomarker in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Transl Oncol*. 2017 Jul;19(7):898-906.
13. Xinyi Huang, Chaoqun Hong, Yuhui Peng, Shihan Yang, Lisheng Huang, Cantong Liu, Liuyu Chen, Lingyu Chu, Liyan Xu*, Yiwei Xu*. The diagnostic value of serum IGFBP7 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer*. 2019. doi:10.7150/jca.32393.
14. Li L, Liu M, Lin JB, Hong XB, Chen WX, Guo H, Xu LY, Xu YW*, Li EM*, Peng YH*.

- Diagnostic Value of Autoantibodies against Ezrin in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Dis Markers. 2017;2017:2534648.
15. Chen WX, Hong XB, Hong CQ, Liu M, Li L, Huang LS, Xu LY, Xu YW*, Peng YH*, Li EM*. Tumor-associated autoantibodies against Fascin as a novel diagnostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma. Clin Res Hepatol Gastroenterol. 2017;41(3):327-332.
 16. Liu CT, Xu YW#, Guo H, Hong CQ, Huang XY, Luo YH, Yang SH, Chu LY, Li EM*, Peng YH*. Serum Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7 as a Potential Biomarker in the Diagnosis and Prognosis of Esophagogastric Junction Adenocarcinoma. Gut Liver. 2019 Dec 13.
 17. Peng YH, Xu YW#, Guo H, Huang LS, Tan HZ, Hong CQ, Li SS, Xu LY*, Li EM*. Combined detection of serum Dickkopf-1 and its autoantibodies to diagnose esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Med. 2016;5(7):1388-96.
 18. Marrugal Á, Ojeda L, Paz-Ares L, Molina-Pinelo S, Ferrer I. Proteomic-Based Approaches for the Study of Cytokines in Lung Cancer. Dis Markers. 2016;2016:2138627.
 19. Suárez-Arroyo IJ, Feliz-Mosquea YR, Pérez-Laspiur J, Arju R, Giashuddin S, Maldonado-Martínez G, Cubano LA, Schneider RJ, Martínez-Montemayor MM. The proteome signature of the inflammatory breast cancer plasma membrane identifies novel molecular markers of disease. Am J Cancer Res. 2016;6(8):1720-1740.
 20. Srinivasan H, Allory Y, Sill M, et al. Prediction of recurrence of non muscle-invasive bladder cancer by means of a protein signature identified by antibody microarray analyses. Proteomics. 2014;14(11):1333-1342.
 21. Hussain M, Adah D, Tariq M, Lu Y, Zhang J, Liu J. CXCL13/CXCR5 signaling axis in cancer. Life Sci. 2019;227:175-186.
 22. Li Z, Qian J, Li J, Zhu C. Clinical Significance of Serum Chemokines in Esophageal Cancer. Med Sci Monit. 2019;25:5850-5855.

(三) 市场预测和发展趋势。

本项目在高通量抗体芯片筛选的基础上，将评价 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 等 3 种血清蛋白标志物在食管鳞癌中的诊断价值，建立食管鳞癌诊断优化标志物组合，为建立食管鳞癌早期诊断新技术方法提供重要的人群实验数据。本项目的建设指标是一种非侵入性的血液检测，实验技术为酶联免疫吸附试验，研究成果有希望进行转化并可能进一步在各级医院临床实验室开展，因此，具有广阔的临床应用前景。

二、研究开发内容、方法、技术路线

(一) 具体研究开发内容和重点要解决的技术关键问题；

研究内容第一部分：评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在食管鳞癌中的表达水平和早期诊断价值。

本项目将购买 Raybiotech 公司生产的人 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 检测试剂盒，以 ELISA 实验方法，检测汕头大学医学院附属肿瘤医院入组的 400 例以上食管鳞癌患者（其中 AJCC 分期为 0+I+IIA 的早期患者不少于 120 例）和 400 例正常对照者，采用 t 检验或 Mann-Whitney U test 分析血清标志物在食管鳞癌患者和正常体检人群患者血清中的差别，与此同时，采用 ROC 曲线分析，评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在食管鳞癌患者中的诊断效能，具体为，以尤登指数(Youden's index)最大时取诊断临界值，获得诊断曲线下面积、灵敏度和特异度等诊断参数。在此基础上，重点评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在早期食管癌患者中的曲线下面积 AUC、灵敏度和特异度等。再者，通过卡方检验，分析血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 阳性率与食管鳞癌患者临床病理参数之间的相关性。

研究内容第二部分：建立血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 标志物组合，评价其在食管鳞癌中的早期诊断价值。

在第一部分研究的基础上，我们将上述 400 例食管鳞癌和 400 例正常对照者为训练列队，具体为，采用 Logistic 回归分析建立回归方程，得到联合检测的预测概率 (p)，把预测概率 p 作为检验变量进行 ROC 曲线分析，选取最佳诊断临界值 (Youden's index 最大)，获得 AUC、敏感度和特异度等诊断指标，评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 组合在食管鳞癌的早期诊断效能，探讨该蛋白标志物组合的联合检测，能否进一步提高食管鳞癌的早期诊断效能。

研究内容第三部分：验证血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 标志物组合在食管鳞癌早期诊断价值。在中山大学肿瘤防治中心收集至少 300 例正常体检人群和至少 300 例食管鳞癌患者（其中早期患者不少于 150 例）为验证列队，检测这些受试者血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 的水平，以训练

列队中获得的诊断临界值，验证血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 标志物组合对于食管鳞癌的诊断价值，尤其是对早期食管鳞癌患者的诊断价值。

要重点解决的技术关键问题：根据本项目前期所获得的重要实验结果，即血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在早期食管鳞癌患者血清中高水平表达，提示将 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 作为血清分子标志物用于食管鳞癌早期诊断，有很大的成功可能性。然而，本研究仍需要大样本和其它中心进行验证，才更能真实反映血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 及其组合对食管鳞癌早期诊断的潜在临床实用性。众所周知，食管癌就诊时往往都是中晚期患者，分子标志物的临床早期患者和前瞻性研究极难开展，这也是多年来极少数新的肿瘤标志物能够应用于临床的最重要原因。本项目中，由于早期患者入组数量的不可控性，有可能成为限制本项目顺利实施的关键难题。那么，本项目拟解决的技术关键问题就是，采取有力措施，确保数量充足的早期食管鳞癌患者的入组。为此，本项目已于 2014 年在汕头大学医学院附属肿瘤医院和中山大学肿瘤防治中心开始入组消化道肿瘤患者，建立了两个中心的血清样本库，可确保研究的顺利实施。

(二) 项目的特色和创新之处；

创新性：有关血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 与食管癌诊断，以往尚未见任何研究报道。在前期重要发现基础之上，通过大样本多中心研究策略，明确血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 表达水平与食管癌之间的相关关系，首次系统阐明血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 及其联合检测作为食管鳞癌早期诊断分子标志物的潜在临床意义，推进食管癌早诊早治。

特色：自 2011 年开始，借助于参加国家 863 重大专项和国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项-食管癌专病队列研究，依托广东省高校重点实验室，本项目组长期围绕寻找鉴定食管癌早期诊断血清分子标志物开展相关研究。基于此，在领域主流学术期刊杂志“Am J Gastroenterology”、“EBioMedicine”和“Gastric cancer”上发表了我们的研究结果，表明本项目组所开展食管癌早期诊断血清分子标志物研究

已形成了独有的研究专长与特色，而且具有重要临床意义。在以往厚实研究积累基础之上，我们进一步提出本项目，拟就血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在食管鳞癌中的早期诊断价值，开展系统研究，很明显，是本项目组以往研究专长与特色的继续延伸与拓展。

(三) 要达到的技术及社会(经济)效益；

通过本项目的研究，我们将系统评价血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 在食管鳞癌的诊断价值，建立基于血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 标志物联合检测的食管鳞癌早期诊断新技术方法，该实验技术为临床实验室常用酶联免疫吸附试验(ELISA)，有可能将研究成果转化为临床应用并推广；同时，我们将至少发表研究论文 2 篇，投稿 SCI 收录期刊或国内核心期刊。

(四) 采用的方法、技术路线以及工艺流程。

1. 食管鳞癌患者和正常对照者血清标本的收集

采集受试者空腹静脉血液标本，于室温放置 30 分钟，1250g 离心 5 分钟后收集血清，存放于-80 $^{\circ}$ C 冰箱。本项目前期已经在汕头大学医学院附属肿瘤医院(2014 年 1 月开始)和中山大学肿瘤防治中心(2017 年 1 月)收集食管癌患者血液样本，截止目前已分别收集 844 例和 322 例食管癌患者治疗前血液样本。

2. 患者临床资料收集

收集食管癌患者相关的临床病理资料，主要包括患者性别、年龄、吸烟、喝酒、肿瘤大小、肿瘤位置、肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移情况、远处转移情况和随访时间等。

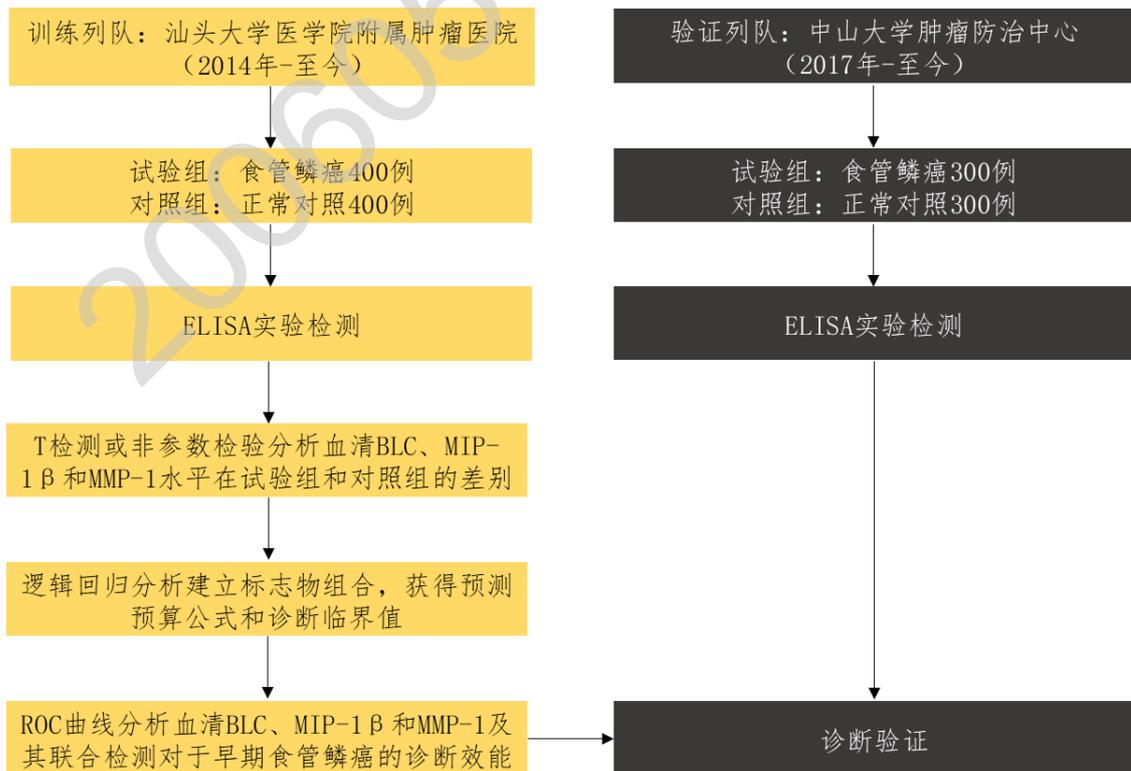
3. ELISA 实验检测血清 BLC、MIP-1 β 和 MMP-1 (Raybiotech 公司检测试剂盒)

1) 将实验所需试剂与待测血清样本放置于室温放置 30 分钟。

2) 按前期实验的血清样品稀释，即 BLC 和 MIP-1 β :2 倍稀释、MMP-1:50 倍稀释。

- 3) 加样：每孔加入 100 μl 标准液或稀释样本，每孔重复加样一次，共 52 孔。盖上盖子，在室温孵育 2.5 小时。
- 4) 洗板：每孔用洗板机注入 300 μl Wash Buffer 进行 5 次清洗。
- 5) 加入抗体：每孔加入 100 μl 1 \times 生物素抗体溶液，室温孵育 1 小时。
- 6) 洗板：重复步骤 4。
- 7) 加入酶制剂：每孔加入 100 μl HRP-Streptavidin 稀释溶液，室温孵育 45 分钟。
- 8) 洗板：重复步骤 4。
- 9) 加底物液：每孔加入 100 μl 四甲基联苯胺，室温避光孵育 30 分钟。
- 10) 加入终止液：每孔加入 50 μl 终止液。
- 11) 结果判定：用酶标仪双波长 450 nm/590 nm 测定各孔 OD 值，记录实验结果。
- 12) 绘制标准曲线：用 SigmaPlot 10.0 软件绘制标准曲线，将 OD 值转换为血清浓度值（单位：pg/ml）。

4. 技术路线



三、本项目各参加单位工作分工及经费投入、支出情况

项目的实施执行由项目负责人统一协调、分配，其中，承担单位负责项目研究方案设计、临床资料分析、论文撰写等，参与单位负责临床资料的输入和数据统计等。

本项目预算经费共 4.0 万元，其中，1) 用于试剂耗材等 3.5 万元：包括购买 ELISA 试剂盒，根据 Raybiotech 公司报价 3500 元/盒，共购买 10 盒，约 3.5 万元； 2) 1 人次参加国内学术会议的差旅费，如中国肿瘤学大会等，5000 元/人，共约 0.5 万元。

四、以往承担项目完成情况及主要成果 (近三年内)

(一) 承担各级科技计划项目有关课题完成情况(立项年度、项目编号、项目名称、计划类型、完成时间、投资规模、完成效果)；

无

(二) 以往科技成果转化情况 (技术成果名称、实施单位、实施地点、实施时间、实施效果等)；

无

(三) 项目获奖及已发表的与本课题研究有关的主要论文、专著情况 (年度刊物等说明)。

本项目负责人和主要参与人员在前期工作中，已发现多种食管鳞癌早期诊断血清分子标志物，在此基础上发表 12 篇 SCI 论文 (如下，名字加粗为本项目负责人，#为共同第一作者，*为通讯作者)。

1. **Xu YW**, Peng YH, Chen B, Wu ZY, Wu JY, Shen JH, Zheng CP, Wang SH, Guo HP, Li

- EM*, Xu LY*. Autoantibodies as potential biomarkers for the early detection of esophageal squamous cell carcinoma. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(1):36-45.
2. **Xu YW**[#], Chen H[#], Hong CQ, Chu LY, Yang SH, Huang LS, Guo H, Chen LY, Liu CT, Huang XY, Lin LH, Chen SL, Wu ZY*, Peng YH*, Xu LY*, Li EM*. Serum IGFBP-1 as a potential biomarker for diagnosis of early-stage upper gastrointestinal tumour. *EBioMedicine*. 2020;51:102566.
 3. **Xu YW**[#], Chen H[#], Guo HP, Yang SH, Luo YH, Liu CT, Huang XY, Tang XM, Hong CQ, Li EM*, Xu LY*, Peng YH*. Combined detection of serum autoantibodies as diagnostic biomarkers in esophagogastric junction adenocarcinoma. *Gastric Cancer*. 2019;22(3):546-557.
 4. **Xu YW**[#], Hong CQ[#], Wu ZY[#], Peng YH, Ran LQ, Yang SH, Huang BS, Liang XY, Chen HL, Wu JY, Xu XE, Deng JW, Zou HY, Fang WK, Li EM, Xu LY*, Xie JJ*. Diagnostic and prognostic value of serum L1-cell adhesion molecule in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(6):597-603.
 5. **Xu YW**, Peng YH, Xu LY, Xie JJ, Li EM. Autoantibodies: Potential clinical applications in early detection of esophageal squamous cell carcinoma and esophagogastric junction adenocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2019;25(34):5049-5068.
 6. **Xu YW**[#], Liu CT[#], Huang XY, Huang LS, Luo YH, Hong CQ, Guo HP, Xu LY, Peng YH*, Li EM*. Serum Autoantibodies against STIP1 as a Potential Biomarker in the Diagnosis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers*. 2017;2017:5384091.
 7. **Xu YW**[#], Peng YH[#], Ran LQ[#], Zhai TT, Guo HP, Qiu SQ, Chen HL, Wu ZY, Li EM*, Xie JJ*. Circulating levels of autoantibodies against L1-cell adhesion molecule as a potential diagnostic biomarker in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Transl Oncol*. 2017 Jul;19(7):898-906.
 8. Xinyi Huang[#], Chaoqun Hong[#], Yuhui Peng[#], Shihan Yang, Lisheng Huang, Cantong Liu, Liuyi Chen, Lingyu Chu, Liyan Xu*, **Yiwei Xu***. The diagnostic value of serum IGFBP7 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer*. 2019. doi:10.7150/jca.32393.
 9. Li L[#], Liu M[#], Lin JB, Hong XB, Chen WX, Guo H, Xu LY, **Xu YW***, Li EM*, Peng YH*. Diagnostic Value of Autoantibodies against Ezrin in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers*. 2017;2017:2534648.

10. Chen WX[#], Hong XB[#], Hong CQ, Liu M, Li L, Huang LS, Xu LY, **Xu YW***, Peng YH*, Li EM*. Tumor-associated autoantibodies against Fascin as a novel diagnostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2017;41(3):327-332.
11. Liu CT[#], **Xu YW***, Guo H, Hong CQ, Huang XY, Luo YH, Yang SH, Chu LY, Li EM*, Peng YH*. Serum Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7 as a Potential Biomarker in the Diagnosis and Prognosis of Esophagogastric Junction Adenocarcinoma. *Gut Liver*. 2019 Dec 13.
12. Peng YH[#], **Xu YW***, Guo H, Huang LS, Tan HZ, Hong CQ, Li SS, Xu LY*, Li EM*. Combined detection of serum Dickkopf-1 and its autoantibodies to diagnose esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Med*. 2016;5(7):1388-96.

关于公布 2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目 名单及资金安排的通知

各有关单位：

经 2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目工作小组遴选推荐，确定资助“可穿戴全息异常脑电场的磁干预装置及其对阿尔茨海默与癫痫的应用”等 59 个项目，现予以公布（详见附件一）。

各项目负责人应按照《2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目试运行管理办法》（详见附件二、附件三）及管理单位项目经费有关规定使用经费，做到专款专用，确保项目顺利完成。立项项目不作为项目负责人年度考核、聘期考核、职称晋升等评定依据。

附件一：2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目资金安排表

附件二：2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目试运行管理办法

附件三：Interim Measures for Management of 2020 LKSF Cross-
Disciplinary Research Projects

李嘉诚基金会交叉研究项目工作小组

（汕头大学科研处代章）

2020 年 5 月 7 日

附件一：

2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目资金安排表

单位：万元

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	资助金额	2020 年 拨付金额
总计 59 项					6463	3231.5
一、汕大/医学院/附属医院/广以合作项目						
	2020LKSFG01A	可穿戴全息异常脑电场的磁 干预装置及其对阿尔茨海默 与癫痫的应用	广东以色列理工学院 汕头大学医学院 汕头大学	谭启 沈建新 鲁福身	240	120
	2020LKSFG02A	再生技术的开发：用于基础 和应用研究的工程合成形态 环路	广东以色列理工学院 汕头大学医学院 汕头大学	Udi SARIG Bo Kong 陈海滨 George Stankevich	170	85
	2020LKSFG03A	基于高分辨率证据建立针对 若干棘手骨骼疾病的新型诊 疗策略	汕头大学医学院 广东以色列理工学院	胡军 许建坤 Udi SARIG 贺丽芳	90	45
	2020LKSFG04A	环境重金属污染物致乳腺癌 相关机制研究	汕头大学医学院 广东以色列理工学院	林玲 陈嘉平 彭琳 吴库生	30	15
	2020LKSFG05A	借助 γ -C-H 官能团化催化合 成非天然氨基酸类新型药物	汕头大学 广东以色列理工学院	党丽 李明德 钟建基 Park SeHoon	50	25
	2020LKSFG06A	饮用水管网中生物膜的形成 机制及其对抗性基因传播的 作用	汕头大学 广东以色列理工学院 汕头大学医学院	肖晔远 Varenyam Achal 黄源春	100	50
	2020LKSFG07A	水源性细菌之间抗生素抗性 基因、毒力基因的转移及其 对全球健康的潜在风险	广东以色列理工学院 汕头大学	梁嘉言 Yigal Achmon 王慧 陈亮	200	100
	2020LKSFG08A	贴壁细胞与胞外基质的力学 相互作用：在组织工程血管 中从细胞生物学到医学应 用的研究	广东以色列理工学院 汕头大学	徐新鹏 Eric S. Hald	40	20
	2020LKSFG09A	二氧化碳的捕获与催化转化	汕头大学 广东以色列理工学院	罗彬彬 黄晓春 钟子宜 黄恺	260	130

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	资助金额	2020年 拨付金额
	2020LKSFG10A	功能化 MOF 基纤维薄膜在环境科学中的应用研究	广东以色列理工学院 汕头大学	陈嘉平 黄晓春	200	100
	2020LKSFG11A	忆阻型人工神经网络与生物医学产品的集成	广东以色列理工学院 汕头大学	Mario Lanza 方强	140	70
二、临床及基础医学						
	2020LKSFG01B	新型免疫光纤传感器结合食管癌蛋白类分子标志物研究	汕头大学医学院	许镒洧	40	20
	2020LKSFG02B	慢性疲劳综合征诊断及评估的数学模型	汕头大学医学院	张瀚迪	50	25
	2020LKSFG03B	母亲抑郁焦虑情绪影响母婴健康的机制及数学评估模型	汕头大学医学院	黄月君	50	25
	2020LKSFG04B	胸痛疾病管理的人工智能专家辅助系统的设计与应用	汕头大学医学院	王斌	38	19
	2020LKSFG05B	老年阻塞性睡眠呼吸暂停调控机制和诊治新措施研究	汕头大学医学院	李韵	100	50
	2020LKSFG06B	深度卷积生成对抗网络应用于屈光介质混浊引起的光学相干断层扫描模糊图像的修复	汕头大学医学院	王耿	50	25
	2020LKSFG07B	基于多维组学的食管癌恶性演进分子机制与靶向药物研究	汕头大学医学院	李恩民	195	97.5
	2020LKSFG08B	自体细胞分化的肝细胞体外模拟靶向抗原 Mesothelin 的识别	汕头大学医学院	孙平楠	50	25
	2020LKSFG09B	头颈鳞癌中超级增强子的研究	汕头大学医学院	谢剑君	50	25
	2020LKSFG10B	“互联网+医联体”背景下潮汕地区晚期癌症患者安宁疗护中生死教育模式构建与研究	汕头大学医学院	应文娟	30	15
	2020LKSFG11B	3D 打印干细胞来源的外泌体结合水凝胶在创伤性颅脑损伤中的神经修复疗效研究	汕头大学医学院	许益民	30	15
	2020LKSFG12B	建立人工智能病理图像和分子生物标记物多模态肺癌辅助诊断平台	汕头大学医学院	洪良利	60	30
	2020LKSFG13B	基于三代测序和人工智能对宫颈癌基因组结构变异和 HPV 整合位点的研究	汕头大学医学院	周莉	40	20
	2020LKSFG14B	基于光衍射技术的隐形眼镜监控泪液中糖浓度	汕头大学医学院	陈浩宇	80	40

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	资助金额	2020年 拨付金额
	2020LKSFG15B	一体化毛发移植机器人	汕头大学医学院	黄铿	60	30
	2020LKSFG16B	深度学习多模型复合算法在眼底疾病诊断中的应用研究	汕头大学医学院	张铭志	80	40
	2020LKSFG17B	循环肿瘤细胞检测新手段的研发	汕头大学医学院	崔玉坤	30	15
	2020LKSFG18B	皮肤微生态动态平衡的机制与应用研究	汕头大学医学院	唐世杰	100	50
	2020LKSFG19B	人工智能算法建立多组学长寿老人预测模型	汕头大学医学院	谭学瑞	300	150
	2020LKSFG20B	利用自体造血干细胞体外修复、移植技术及对已有药物适应症的新发现建立重大遗传性疾病β-地中海贫血治愈方案的研究	汕头大学医学院	张昕	50	25
三、生物医学工程						
	2020LKSFG01C	植入式无线脑电信号采集芯片及遥测平台的研发	汕头大学	方强	300	150
	2020LKSFG02C	干细胞或外泌体联合人造微芯片治疗中枢神经系统损伤	汕头大学	方强 陈致铠	300	150
	2020LKSFG03C	基于错误相关电位的按需辅助型机器人康复疗法的关键技术的研究	汕头大学	方强 Akshay Kuma	60	30
	2020LKSFG04C	关于普通话和潮汕话失语症患者的智能评估和康复方法的研究	汕头大学	Seedahmed Mahmoud	50	25
	2020LKSFG05C	CD146 靶向的光热免疫杂化纳米药物在三阴性乳腺癌精准治疗中的应用研究	汕头大学	周本青	100	50
	2020LKSFG06C	化学交换饱和和转移分子影像的关键技术研究及其对肿瘤的精准诊断	汕头大学	陈耀文	150	75
	2020LKSFG07C	基于集成微流控的外泌体检测技术在脑卒中诊断中的应用研究	汕头大学	林梅爱	50	25
	2020LKSFG08C	结合 VR 技术的踏车训练对帕金森患者功能康复的作用研究	汕头大学医学院	朱金秀	30	15
	2020LKSFG09C	基于 miRNA 芯片研究, 结合互联网 APP 平台与人工智能技术, 医、护、药“三师联动”模式对脑卒中患者的延续医学服务管理	汕头大学医学院	何文贞	50	25

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	资助金额	2020年 拨付金额
	2020LKSFG10C	最小功能细胞：壹种新型人工细胞概念与实现途径	汕头大学	魏炽炬	50	25
	2020LKSFG11C	脑损伤吞咽功能和上下肢运动障碍后神经纤维束重塑、康复机制的研究	汕头大学医学院	陈剑	100	50
	2020LKSFG12C	利用射频三边测量技术实时准确、安全地跟踪深部脑刺激电极位置的研究	汕头大学	David C. Ng	80	40
	2020LKSFG13C	基于人工智能的移动听力快速综合测试方法	汕头大学	Seedahmed Mahmoud	100	50
四、工学与医学交叉						
	2020LKSFG01D	仿生人工颈椎间关节	汕头大学	王奉涛	300	150
	2020LKSFG02D	全髋关节置换手术机器人技术及系统	汕头大学	范衡	200	100
	2020LKSFG03D	机器学习智能算法结合光路设计修复眼底 OCT 图像	汕头大学	杨玮枫	65	32.5
	2020LKSFG04D	基于多组学数据的癌症驱动基因智能预测研究	汕头大学	姜大志	50	25
	2020LKSFG05D	面向有限训练样本磁共振早期诊断阿尔茨海默病的噪声免疫学习框架	汕头大学	周腾	100	50
	2020LKSFG06D	大学生人格自我认知智能测评系统	汕头大学	包能胜	40	20
	2020LKSFG07D	基于 miRNA arm switching 的阿尔兹海默症的生物标志物挖掘	汕头大学	陈亮	45	22.5
	2020LKSFG08D	练江流域水质污染大数据分析及可视化技术研究	汕头大学	许建龙	30	15
	2020LKSFG09D	区块链在电子病历系统中的存储及隐私保护研究	汕头大学	赵志丹	20	10
五、海洋科学、生物与医学交叉						
	2020LKSFG01E	以甲壳动物为模型的血液菌群稳态调控机制研究	汕头大学	章跃陵	300	150
	2020LKSFG02E	复合海藻多糖基生物医用材料的制备及其性能研究	汕头大学	刘杨	280	140
	2020LKSFG03E	粤东地区抗生素类药物污染特征及其环境和人类健康风险评估	汕头大学	王振	150	75
	2020LKSFG04E	不同来源与摄入途径下的微塑料污染对人类健康的影响	汕头大学	毕然	235	117.5

序号	项目编号	项目名称	申报单位	负责人	资助金额	2020年 拨付金额
六、材料、环境与医学交叉						
	2020LKSFG01F	基于综合性质谱技术结合模式识别筛寻肺癌早期诊断标志物的研究	汕头大学	吴坤明	125	62.5
	2020LKSFG02F	设计合成有机纳米荧光探针用于肿瘤成像及光治疗	汕头大学	张和凤	100	50

附件二：

2020 年李嘉诚基金会交叉研究项目

试运行管理办法

1. 项目立项后经费的一半下达到各项目负责人，按照汕头大学科研经费管理相关办法进行管理，经费按照项目预算进行开支，其中仪器设备购置费不超过总经费的 7.5%，差旅/会议费和人员/劳务费分别不超过总经费的 15%（除已经获得工作委员会批准的特别项目外）。
2. 各项目团队成员在项目开始前须按照申报书的内容进一步讨论、细化和确定年度任务，并上报给项目工作委员会备案，以供年度考核使用。
3. 所有研究项目分为 7 个领域：i) GTIIT 合作研究项目；ii) 临床和基础医学；iii) 生物医学工程；iv) 工程学与医学交叉；v) 海洋科学/生物与医学交叉；vi) 材料/环境与医学交叉；vii) 人文。每个研究领域分别安排总负责人，每两月组织一次课题进展汇报，向工作委员会报送项目进展情况和研究成果。
4. 项目进展一年后，各项目负责人需向工作委员会提交年度报告，开展年度评审工作。
5. 年度评审后，没有进展或者预期无法完成的项目将终止，剩余经费将提供给进展顺利并有望取得较大突破的项目。
6. 各领域在项目运行期间组织两次研讨会（不另提供经费）。
7. 学校各部门对各项目因开展研究工作以及项目服务和协调工作所需的临时人员招聘提供审批快捷通道。

附件三：

Interim Measures for Management of 2020 LKSF Cross-Disciplinary Research Projects

1. After the project is approved, half of the funds will be disbursed to the principal investigators. The use of funds shall be managed in line with the measures for the management of scientific research funds of Shantou University. The fund should be used in accordance with the proposed budget, of which the purchase of instruments and equipment should be $\leq 7.5\%$, traveling/meetings $\leq 15\%$ and personnel $\leq 15\%$ of the total budget, except for special projects already approved by the Working Committee.
2. Before the start of the project, the team involved should further discuss, refine and determine the annual tasks in accordance with the contents of the project, and report to the Working Committee to be used as reference for the annual assessment.
3. All research projects will be divided into 7 fields (i. GTIIT Collaborative Projects, ii. Clinical and Basic Medicine, iii. Biomedical Engineering, iv. Engineering-Medicine, v. Marine Science/Biology and Medicine, vi. Materials/Environment and Medicine, vii. Humanities). Each

field should assign one responsible person who will report research progress and results to the Working Committee every 2 months.

4. One year after disbursement of funds, each PI should submit an annual report for review by the Working Committee.
5. At the annual review, project with no progress or where timely completion deemed unlikely will not be further supported. The remaining funds may be provided for projects with good progress and likely breakthrough.
6. During the operation of the project, two seminars should be organized for each research field (no additional support for the seminars).
7. All departments of the University will expedite the approval process for recruitment of temporary personnel needed for research work, project service and coordination.