



— 附 —

项目批准号	81870444
申请代码	H0321
归口管理部门	
依托单位代码	30007108A0696-1263



818704441006717

国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：面上项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：糖蛋白修饰间充质干细胞在脂肪供肝肝移植缺血再灌注损伤中的保护作用及机制研究

直接费用：57万元

执行年限：2019.01-2022.12

负责人：蒋文涛

通讯地址：天津市南开区复康路24号

邮政编码：300192

电话：02223626857

电子邮件：

依托单位：南开大学

联系人：陈贻斌

电话：022-85358853

填表日期：2018年08月18日

国家自然科学基金委员会制



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

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



3. 国家杰出青年科学基金、优秀青年科学基金和海外及港澳学者合作研究基金项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，按下列提纲撰写：
 - (1) 研究方向；
 - (2) 结合国内外研究现状，说明研究工作的学术思想和科学意义（限两个页面）；
 - (3) 研究内容、研究方案及预期目标（限两个页面）；
 - (4) 年度研究计划；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
4. 国家自然科学基金基础科学中心项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，应当根据评审委员会和现场考察专家组的意见和建议，进一步完善并细化研究计划，作为评估和验收的依据。按下列提纲撰写：
 - (1) 五年拟开展的研究工作（包括主要研究方向、关键科学问题与研究内容）；
 - (2) 研究方案（包括骨干成员之间的分工及合作方式、学科交叉融合研究计划等）；
 - (3) 年度研究计划；
 - (4) 五年预期目标和可能取得的重大突破等；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
5. 对于其他类型项目，参照面上项目的方式进行选择和填写。



简表

申请者信息	姓 名	蒋文涛	性 别	男	出生年月		民 族	汉族
	学 位	博士			职称	主任医师		
	是否在站博士后	否			电子邮件			
	电 话				个人网页			
	工 作 单 位	南开大学						
	所 在 院 系 所	南开大学附属第一中心医院						
依托单位信息	名 称	南开大学					代码	30007108A0696
	联 系 人	陈贻斌			电子邮件			
	电 话				网站地址	http://www.nankai.edu.cn		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	糖蛋白修饰间充质干细胞在脂肪供肝肝移植缺血再灌注损伤中的保护作用及机制研究						
	资 助 类 别	面上项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H0321:消化系统器官移植				H1006:器官移植与移植免疫		
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2019.01-2022.12						
	直 接 费 用	57万元						



项目摘要

中文摘要:

安全使用脂肪供肝是缓解供肝短缺的有效手段,但脂肪肝对缺血再灌注损伤异常敏感,导致术后原发性无功能、早期移植物功能不良等。研究表明间充质干细胞具有再生及分化潜能,可以促进移植肝细胞再生,但由于其不能在肝组织中有效定向分布,治疗效果有限。选择素是脂肪肝缺血再灌注损伤的标志物之一,聚集在缺血再灌注损伤的组织或细胞中,而糖蛋白修饰的间充质干细胞可以与选择素特异性结合。故此我们提出了提高间充质干细胞在肝缺血再灌注损伤部位精确停留、促进肝细胞再生和组织修复的策略(1)制备稳定的糖蛋白修饰的间充质干细胞19Fc-PPG-MSCs(2)在体外实验中探究其在修复脂肪供肝肝移植缺血再灌注损伤中对选择素的黏附功能改变情况,并证实其生物稳定性(3)体内实验验证19Fc-PPG-MSCs对脂肪肝移植缺血再灌注损伤的修复作用并探索具体机制。为提高干细胞精确有效治疗脂肪供肝肝移植后缺血再灌注损伤提供理论依据和新思路。

Abstract:

Safe use of fat donor liver is an effective means to alleviate the shortage of donor liver. However, fat donor liver is sensitive to ischemia-reperfusion injury and may lead to postoperative primary non-function, early graft dysfunction, delayed graft recovery and ischemia Sexual biliary lesions and so on. Studies have shown that mesenchymal stem cells have the potential of regeneration and differentiation, can promote liver cell regeneration, but because of its inability to effectively target the ischemic liver tissue distribution, the treatment effect is limited. While selectin is one of the markers of ischemia-reperfusion injury in fatty liver, it accumulates in the tissue or cells of ischemia-reperfusion injury, and glycoprotein-modified mesenchymal stem cells can specifically bind with selectin. Therefore, we put forward strategies to improve MSCs accurate retention in liver ischemia-reperfusion injury and promote hepatocyte regeneration and tissue repair: (1) Preparation of stable glycoprotein modified mesenchymal stem cells 19Fc-PPG-MSCs; (2) In vitro experiments to explore its adhesion function in the repair of ischemia-reperfusion injury of fat donor liver transplantation for selectin and confirm its biological stability; (3) in vivo experiments to verify the 19Fc-PPG-MSCs Repair of ischemia-reperfusion injury in fatty liver during liver transplantation and explore specific mechanisms. To provide a theoretical basis and new ideas for improving the precise and effective treatment of ischemia-reperfusion injury of fat donor liver graft by stem cells.

关键词(用分号分开): 糖蛋白修饰; 选择素; 缺血再灌注损伤; 脂肪肝; 肝移植

Keywords(用分号分开): glycoprotein modification; selectin; ischemia-reperfusion injury; fatty liver; liver transplantation



项目组主要成员

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	证件号码	项目分工	每年工作 时间 (月)
1	蒋	.01	男	主任医师	博士	南开大学			项目负责人	6
2	张	.08	男	主治医师	博士	南开大学			动物建模, 数据分析	8
3	谢	.07	男	医师	硕士	南开大学			动物建模, 论文撰写	8
4	郭	.05	男	主任医师	硕士	南开大学			科研思路设计与指导	6
5	田	.02	男	主治医师	硕士	南开大学			分子生物学实验, 论文撰写	6
6	王	.05	男	副主任医师	硕士	南开大学			资料整理与分析, 论文撰写	6
7	李	.04	男	副主任医师	博士	南开大学			细胞实验、资料整理	8
8	杨	.01	男	医师	博士	南开大学			标本收集, 数据分析	8
9	陈	.06	男	医师	硕士	南开大学			数据收集与整理、分析	8
10	高	.05	女	硕士生	学士	南开大学			标本收集, 实验记录与数据整理	10
总人数		高级			中级		博士后	博士生	硕士生	
10		4			2				1	



国家自然科学基金项目直接费用预算表（定额补助）

项目批准号：81870444

项目负责人：蒋文涛

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	57.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.00
4	(2)设备试制费	0.00
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.00
6	2、材料费	36.0000
7	3、测试化验加工费	6.0000
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	3.0000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	7.0000
11	7、劳务费	5.00
12	8、专家咨询费	0.00
13	9、其他支出	0.00



预算说明书（定额补助）

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

本项目总资金费用57万元，其中直接费用57万元。

具体预算编制如下：

1. 设备费

无。

2. 材料费

共 36.000 万元

①病例标本（包括组织和外周血）收集和冻存：耗材 1 万元

外周血标本及组织标本 EP 管 50 包，单价 40 元/包，合计 0.2 万元；

离心管(15ml)10 箱，单价 550 元/箱，共计 0.55 万元

离心管(50ml)5 箱，单价 500 元/箱，共计 0.25 万元

②免疫组化染色：试剂盒、抗体和耗材等 2 万元

③淋巴细胞提取、分离（免疫磁珠技术）：试剂盒、抗体和耗材等 2 万元

④糖蛋白修饰间充质干细胞所需抗体及耗材，预算 3.5 万元

棕榈酸 N-羧基琥珀酰亚胺酯（NHS-棕榈酸酯）5g/支，计 2 支，单价 2500 元，合计 0.5 万元；

磺基-NHS 和 1-乙基-3-（3-二甲氨基丙基）碳二亚胺（EDC），单价 1250 元，计 2 支，合计 0.25 万元；

PD-10 脱盐柱，单价 3500 元，计 2 支，合计 0.7 万元；

Coomassie Protein 试剂盒（Thermo），计 4 支，单价 1500，合计 0.6 万元；

HEPES 缓冲液 500ml/瓶，计 5 瓶，单价 900 元/瓶，合计 0.45 万元；

山羊抗人 IgG Ab（H + L）[F（ab'）₂]抗体，计 2 支，单价 5000 元，合计 1 万元。

⑤动物实验：购买实验动物、动物饲料垫料等 8 万元



本研究拟使用实验 Lewis 大鼠 370 只, 单价 150 元/只, 合计 5.55 万元;

所需常规动物饲料 150 袋, 单价 100 元, 合计 1.5 万元;

垫料 100 袋, 单价 30 元, 合计 0.3 万元;

高脂饲料 50 袋, 单价 130, 合计 0.65 万元。

⑥分子生物学实验: 购置相关抗体、试剂盒、耗材等, 共 19.5 万元。

IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ , TGF- β 等因子检查, 计 25 种, 单价 3000 元/只, 共计 7.5 万元;

CD3、CD4、CD8、CD25、CD29、CD90、CD43、CD34 等荧光抗体进行细胞表面染色, 计 15 种, 单价 4000 元/只, 共计 6 万元;

IL-10、IL-17、IFN- γ 、Foxp3 荧光抗体进行细胞内染色及流式细胞仪检测试剂盒、抗体和耗材, 计 10 种, 单价 3000 元/只, 共计 3 万元;

肝功能监测、real-time PCR 检测等试剂盒和耗材, 计 6 种, 单价 5000 元/只, 合计 3 万元。

3. 测试化验加工费

检测及化验加工费预算为 6 万元。主要用于检测实验动物肝脏酶学、胆红素、细胞因子等, 肝组织病理切片及免疫组化染色。具体包括血清肝脏酶学检测 1 万元; 胆红素测定 0.5 万元; 细胞因子测定 3 万元; 病理切片及免疫组化染色 1.5 万元。

4. 燃料动力费

无。

5. 差旅/会议/国际合作与交流费

差旅/会议/国际合作与交流费, 预算 3 万元。其中,

差旅费预算为 3 万元。

用于参加年度学术会议、课题协作以及学术交流发生的外埠差旅费、市内交通费用等。

省内差旅, 8 人次 $\times$ 2000 元/人次, 计 1.6 万元;

市内交通费, 80 人次 $\times$ 25 元/人次, 计 0.2 万元。

学术会议注册费用, 8 人次 $\times$ 1500 元/人次, 计 1.2 万元。

国际合作与交流费: 无。

6. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费

费用总计 7 万元。预算包括: 拟发表论文 5-8 篇, 其中 SCI3-5 篇。论文审稿费、版面费, 计 6 万元; 资料费及相关文献检索费 1 万元。

7. 劳务费

本项目劳务预算为 5 万元。用于参与本课题研究的在校研究生劳务费费用。3 年共投入 100 人月, 按 500 元/人月, 计 5 万元。

8. 专家咨询费

无。

9. 其他支出

无。

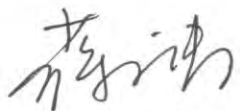
10. 项目资金来源

本项目资金来源为从国家自然科学基金获得的资助。

11. 合作研究资金

无。

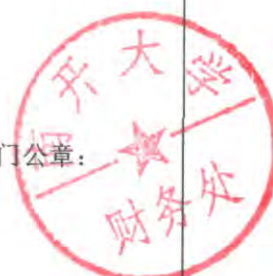
项目负责人签字:



科研部门公章:



财务部门公章:

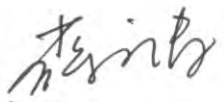
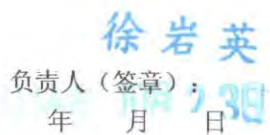




报告正文

研究内容和研究目标按照申请书执行。

国家自然科学基金资助项目签批审核表

我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：81870444），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、财务等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。 项目负责人（签章）： 2018年9月13日	我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、财务等各项规定，并督促实施。 依托单位（公章）： 2018年9月18日														
本栏目由基金委填写	科学处审查意见： 请按计划书内容执行 建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）： <table border="1" data-bbox="236 940 1053 1064"><thead><tr><th>年度</th><th>总额</th><th>第一年</th><th>第二年</th><th>第三年</th><th>第四年</th><th>第五年</th></tr></thead><tbody><tr><td>金额</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table> 负责人（签章）： 年 月 日	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年	金额						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年								
金额															
科学部审查意见： 一致通过 负责人（签章）： 年 月 日															
本栏目主要用于重大项目等	相关局室审核意见： 负责人（签章）： 年 月 日														
	委领导审批意见： 委领导（签章）： 年 月 日														

合同编号: 17JCQNJC12800

密级:

天津市自然科学基金

任 务 合 同 书

项目(课题)名称: 靶向沉默 GARP 表达的间充质干细胞对人鼠脂肪肝缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究

项目(课题)委托单位(甲方): 天津市科学技术委员会 (盖章)

甲方住所: 天津市和平区成都道 116 号

项目(课题)主承担单位(乙方): 天津市第一中心医院天津市器官移植重点实验室 (盖章)

乙方住所: 天津市南开区复康路 24 号

户名: 天津市第一中心医院器官移植重点实验室

开户行行号:

帐户:

乙方主管部门或担保单位(丙方): 天津市卫生和计划生育委员会 (盖章)

丙方住所: 和平区贵州路 94 号

签订地点: 天津市和平区

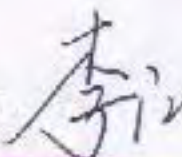
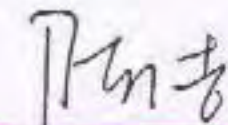
签订日期:

年 月 日

天津市科学技术委员会

二〇一六年印制

七、签约各方

甲	单位名称：天津市科学技术委员会 法人代表（或委托代理人）： 经办人： 2017年 6月 13日
方	授权主管处室：基础研究处 处长： 主管工程师： 2017年 5月 22日
乙	单位名称：天津市第一中心医院天津市器官移植重点实验室 法人代表（或委托代理人）： 项目负责人： 2017年 4月 12日
丙	单位名称： 法人代表（或委托代理人）： 经办人： 2017年 5月 12日

四、特殊（补充）条款

五、名词解释

六、合同附件目录