



项目批准号	82070669
申请代码	H0320
归口管理部门	
依托单位代码	21000208C1457-2649



820706691003162

# 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：急性胰腺炎腺泡细胞坏死干预新策略：鹅脱氧胆酸“肝肠轴”代谢调节

直接费用：55万元                      执行年限：2021.01-2024.12

负责人：李维勤

通讯地址：江苏省南京市玄武区中山东路305号

邮政编码：210002                      电      话：025-80861658

电子邮件：

依托单位：中国人民解放军东部战区总医院

联系人：苏星                              电      话：025-80861325

填表日期：2020年10月21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》（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和《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》（简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要科学严谨、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、检查和验收的依据。
- 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：各类获资助项目都应当填写中、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。国家杰出青年科学基金项目资助经费试行包干制管理，无需填报资金预算表和预算说明书。
  - （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、原创探索计划项目：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（如有）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创新研究群体项目：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

项目负责人信息	姓名	李维勤	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	025-80861658		个人网页	liweiqin.haodf.com				
	工作单位	中国人民解放军东部战区总医院							
	所在院系所	全军普通外科研究所重症胰腺炎中心							
依托单位信息	名称	中国人民解放军东部战区总医院					代码	21000208C1457	
	联系人	苏星		电子邮件	██				
	电话	025-80861325		网站地址	www.njzy666.com				
合作单位信息	单位名称								
项目基本信息	项目名称	急性胰腺炎腺泡细胞坏死干预新策略：鹅脱氧胆酸“肝肠轴”代谢调节							
	资助类别	面上项目			亚类说明				
	附注说明								
	申请代码	H0320:消化系统							
	基地类别								
	执行年限	2021.01-2024.12							
	直接费用	55万元							



## 项目摘要

### 中文摘要:

腺泡细胞坏死是急性胰腺炎（AP）不良预后的关键环节。我们前期发现：①患者循环胆汁酸与AP预后密切相关；②胆汁酸成分筛选发现AP小鼠和患者血清CDCA均显著下降；③CDCA有效保护腺泡细胞坏死；④NLRP3/GSDMD介导的焦亡是腺泡细胞主要死亡方式之一。因此假设：CDCA通过NLRP3/GSDMD介导的焦亡通路调控腺泡细胞坏死，调控CDCA“肝肠轴”代谢可成为治疗AP的新策略。本课题将：①在细胞、动物及临床研究三个层面，应用多种体内体外模型，证实CDCA及其受体FXR对腺泡细胞坏死的调控作用；②应用GSDMD胰腺特异性敲除等小鼠明确CDCA保护腺泡细胞坏死的分子机制；③应用肝脏特异性CYP7A1或CYP8B1基因修饰小鼠，或应用无菌小鼠肠道补充梭状芽孢和真杆菌属，观察调控CDCA“肝肠轴”代谢对腺泡细胞坏死的作用。研究将从“肝肠轴”代谢角度阐明CDCA对AP的保护作用，为治疗提供新靶点。

### Abstract:

Acinar cell necrosis is the crucial factor result in the poor prognosis of acute pancreatitis (AP). We previously found that: ①The level of circulating total bile acid in patients was positively correlated with the poor prognosis of AP;②Screening of bile acid components showed that the level of serum CDCA in AP mice and patients decreased significantly;③CDCA effectively protected acinar cell necrosis;④NLRP3/GSDMD-mediated cell pyroptosis is one of the primary ways of acinar cell death. Therefore, we speculated that the metabolism of CDCA "hepatointestinal axis" regulates acinar cell necrosis through NLRP3/GSDMD-mediated cell pyroptosis pathway. This project will: ①Confirm the regulatory effect of CDCA and its receptor FXR on acinar cell necrosis by using a variety of in vivo and in vitro models at the three levels of cell, animal and clinical research;②Clarify the molecular mechanism of CDCA protecting acinar cell necrosis by using NLRP3 or GSDMD pancreas specific knockout mice;③Observe the effect of regulating the metabolism of CDCA "hepatointestinal axis" on acinar cell necrosis by using liver-specific CYP7A1 or CYP8B1 deficiency / overexpression mice or aseptic mice intestinal supplement of Clostridium and Eubacterium. The study will clarify the protective effect of CDCA on AP from the point of view of "hepatointestinal axis" metabolism, and provide a new target and theoretical basis for treatment.

**关键词(用分号分开):** 急性胰腺炎; 鹅脱氧胆酸; 肝肠轴代谢; 腺泡细胞坏死; 焦亡

**Keywords(用分号分开):** acute pancreatitis; chenodeoxycholic acid; hepatic-intestinal axis metabolism; acinar cell necrosis; pyroptosis



项目组主要成员

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	证件号码	项目分工	每年工作时间(月)			
1	李维勤		男	主任医师	博士	中国人民解放军东部战区总医院	025		项目负责人	6			
2	杨琦		女	助理研究员	博士	中国人民解放军东部战区总医院	136		参与者	4			
3	马孝杰		女	博士后	博士	中国人民解放军东部战区总医院	188		参与者	4			
4	于先强		男	博士生	硕士	中国人民解放军东部战区总医院	185		参与者	8			
5	瞿诚		男	博士生	学士	中国人民解放军东部战区总医院	188		参与者	8			
6	吕铖		男	博士生	学士	中国人民解放军东部战区总医院	139		参与者	8			
7	袁晨晨		男	硕士生	学士	中国人民解放军东部战区总医院	159		参与者	10			
8	刘洋		男	硕士生	学士	中国人民解放军东部战区总医院	183		参与者	10			
总人数		高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
8		1		1		0		1		3		2	



## 国家自然科学基金项目直接费用预算表（定额补助）

项目批准号：82070669

项目负责人：李维勤

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	55.0000
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	42.0000
7	3、测试化验加工费	3.0000
8	4、燃料动力费	0.3000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	1.6000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.5000
11	7、劳务费	6.4000
12	8、专家咨询费	1.2000
13	9、其他支出	0.0000



### 预算说明书（定额补助）

（请按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》等的有关要求，对各项支出的主要用途和测算理由，以及合作研究外拨资金、单价≥10万元的设备费等内容进行必要说明。）

我们已认真学习了《国家自然科学基金经费管理办法》，如获资助，将严格按照相关要求使用项目经费，并积极配合各级部门对经费管理及使用情况进行审计、监督。

本项目申请直接经费**55.00万元**，具体预算如下：

**1. 设备费：0.00万元**

**2. 材料费：42.00万元**

2.1 实验试剂、耗材等：29.12万元

a. 细胞培养试剂：11.40万元

序号	试剂	单价/万元	数量	总价/万元
①	细胞培养基	0.03	100	3.00
②	胎牛血清	0.50	10	5.00
③	胰酶	0.02	20	0.40
④	1X PBS	0.03	100	3.00

b. 基因鉴定使用试剂：2.30万元

序号	试剂	单价/万元	数量	总价/万元
①	DNA提取试剂盒	0.10	6	0.60
②	RNA提取试剂盒	0.20	4	0.80
③	PCR mix	0.05	8	0.40
④	SYBY Green qPCR master mix	0.25	2	0.50

c. 各种试剂盒：6.69万元

序号	试剂	单价/万元	数量	总价/万元
①	淀粉酶试剂盒	0.10	8	0.80
②	脂肪酶试剂盒	0.08	8	0.64
③	CCK-8细胞活力检测试剂盒	0.15	5	0.75
④	LDH释放检测试剂盒	0.10	5	0.50
⑤	炎症因子和CDCA ELISA检测试剂盒	0.20	20	4.00



## 预算说明书（定额补助）

## d. WB和流式抗体：2.70万元

序号	试剂	单价/万元	数量	总价/万元
①	CD45抗体	0.10	1	0.10
②	CD11b抗体	0.10	1	0.10
③	GAPDH抗体	0.20	1	0.20
④	$\beta$ -actin抗体	0.20	1	0.20
⑤	FXR抗体	0.20	1	0.20
⑥	F4/80抗体	0.20	1	0.20
⑦	GSDMD抗体	0.30	1	0.30
⑧	NLRP3抗体	0.20	1	0.20
⑨	CYP7A1抗体	0.20	2	0.40
⑩	CYP8B1抗体	0.20	2	0.40
⑪	LY6G抗体	0.10	2	0.20
⑫	淀粉酶抗体	0.20	1	0.20

## e. 各种药物：2.95万元

序号	试剂	单价/万元	数量	总价/万元
①	奥贝胆酸OCA	0.20	2	0.40
②	梭状芽孢杆菌和真杆菌属菌液	0.40	2	0.80
③	雨蛙素	0.10	10	1.00
④	牛黄胆酸钠	0.02	5	0.10
⑤	精氨酸	0.03	5	0.15
⑥	胆囊收缩素cck	0.10	5	0.50

## f. 耗材：0.58万元

细胞培养大皿、中皿、小皿、培养瓶、6孔板、12孔板、96孔板、15ml和50ml离心管、各类EP管及枪头，WB所需各类试剂、qPCR所需各类试剂，共计0.58万元。

## g. 其他：2.50万元

相关敲低和过表达病毒质粒及siRNA合成构建，平均0.30万元/个\*5个=1.50万元；

胰腺特异性AAV病毒载体构建，1.00万元/个/ml\*1ml=1.00万元，共计2.50万元。



## 预算说明书（定额补助）

2.2 动物费：12.88 万元

a. 动物购置费：8.00 万元

C57BL/6 小鼠，35 元/只\*100 只；根据实际情况，我们将从姜长涛教授层面获赠 FXR Ioxp 小鼠，同时应用 AAV 构建肝脏特异性 CYP7A1 和 CYP8B1 敲低的小鼠和构建胰腺特异性 FXR 敲低小鼠，以及购买 Germ-Free 小鼠，总计费用约 8.00 万元。

b. 动物饲养费：4.38 万元

C57BL/6 及基因敲除小鼠，200 只\*0.2 元/天\*365 天\*3 年=4.38 万元，共计 4.38 万元。

c. 手术器械、相关用品，约 0.50 万元

**3. 测试化验加工费：3.00 万元**

测试加工费共包含常规病理检测（胰腺等组织病理）、激光共聚焦显微镜及电镜应用等，共约 3.00 万。

**4. 燃料动力费：0.30 万元**

研究所涉及的相关大型机器及科学装置耗费水费、电费、燃气费约 0.30 万元

**5. 差旅/会议/国际合作与交流费：1.60 万元**

国内会议预计每年 2 人次，每次 0.20 万元，共计 1.60 万元。共计 1.60 万元。

**6. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费：0.50 万元**

用于支付论文刊审、论文发表版面费、文献查询以及专利申请费用。本项目执行 4 年，其研究成果约发表 4 篇 SCI 论文，核心期刊 4 篇。其相关的出版、文献加上信息传播、知识产权事务费预计费用约 0.50 万元。

**7. 劳务费：6.40 万元**

博士生每年工作 8 个月，劳务费为 0.05 万元\*8 月\*4 年\*3 人=4.80 万元。硕士生每年工作 10 个月，劳务费为 0.02 万元\*10 月\*4 年\*2 人=1.60 万元。共计 6.40 万元。



### 预算说明书（定额补助）

#### **8. 专家咨询费：1.20 万元**

用于国内外专家指导咨询，国外专家每年 1 人次，每次 0.20 万元，共计 0.80 万元；国内专家每年 1 人次，每次 0.10 万元，共计 0.40 万元。共计 1.20 万元。

#### **9. 其他支出：0.00 万元**



## 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

本 栏 目 由 基 金 委 填 写	<p>我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：82070669），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、项目资金管理等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。</p> <p style="text-align: right;">项目负责人（签章）： 年 月 日</p>	<p>依托单位科研管理部门：</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p> <hr/> <p>依托单位财务管理部门：</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p>														
	<p>我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、项目资金管理等各项规定，并督促实施。</p> <p style="text-align: right;">依托单位（公章） 年 月 日</p>															
本 栏 目 主 要 用 于 重 大 项 目 等	<p>科学处审查意见：</p> <p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">年度</th> <th style="width: 10%;">总额</th> <th style="width: 10%;">第一年</th> <th style="width: 10%;">第二年</th> <th style="width: 10%;">第三年</th> <th style="width: 10%;">第四年</th> <th style="width: 10%;">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> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p>		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																
<p>科学部审查意见：</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p>																
<p>相关局室审核意见：</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p>																
<p>委领导审批意见：</p> <p style="text-align: right;">委领导（签章）： 年 月 日</p>																