

318



项目批准号	81874279
申请代码	H2610
归口管理部门	
依托单位代码	13001208A0528-0970



818742791004532

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：常规面上项目

项目名称：循环肿瘤DNA突变和甲基化检测在胃癌筛查和预后评估中的作用

直接费用：57万元 执行年限：2019.01-2022.12

负责人：姜晶

通讯地址：吉林省长春市新民大街71号

邮政编码：130021 电 话：0431-81875408

电子邮件：jiangjing19702000@jlu.edu.cn

依托单位：吉林大学

联系人：朱明 电 话：0431-85167419

填表日期：2018年08月17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	姜晶	性别	女	出生年月	1970年10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	jiangjing19702000@jlu.edu.cn			
	电话	0431-81875408		个人网页				
	工作单位	吉林大学						
	所在院系所	吉林大学第一医院						
依托单位信息	名称							
	联系人							
	电话							
合作单位信息	单位名称							
项目基本信息	项目名称	循环肿瘤DNA突变和甲基化检测在胃癌筛查和预后评估中的作用						
	资助类别	面上项目			亚类说明			
	附注说明	常规面上项目						
	申请代码	H2610:非传染病流行病学						
	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:**

胃癌为我国第二高发的恶性肿瘤，临床病例多为进展期且预后不良，5年生存率低于30%，因此若能找到有效的血液肿瘤标记物，进行胃癌的早期筛查、监测和预后评估将具有重要意义。循环肿瘤DNA (ctDNA) 携带肿瘤特异性基因突变和表观基因改变，充分反应了肿瘤的遗传特征，有望成为新的无创肿瘤筛查和监测标记物。本研究拟依托已建立的胃癌队列，采用测序法和磁珠乳液扩增法检测ctDNA的胃癌驱动基因突变和靶基因甲基化情况，比较其在胃癌患者和对照间，不同程度胃粘膜病变患者间，同一胃癌患者术前和术后，复发前和复发后的差异，筛选出组间分布差异最大的若干ctDNA遗传特征组合。确定ctDNA遗传特征组合的预警价值，并联合其他流行病学危险因素和临床数据，构建发病风险的预测模型和预后评估模型，实现胃癌发病风险的个体化评估和高危复发患者的界定，为精准干预和精准治疗提供理论依据。

Abstract:

Gastric cancer (GC) remains the second most common cancer and leading cause of cancer-related death in China. Although recent achievements in cancer diagnosis and therapeutic strategies have improved the clinical outcomes, 5-year survival rate is still less than 30%. Many patients are diagnosed with GC in its advanced stage due to lack of early diagnostic techniques. Failure to identify patients with high-risk of metastasis and recurrence has also resulted in an unsatisfactory prognosis of GC patients. Circulating tumor DNA (ctDNA) carries cancer-specific genetic mutations and epigenetic aberrations, which may enable us to perform a noninvasive 'liquid biopsy' for screening and monitoring of cancer.

This proposed project will investigate the optimal gene panel for early diagnosis and prognosis evaluation of GC based on the ongoing prospective GC cohort study. The driver gene mutations and target gene methylations of ctDNA were monitored in different groups, including: GC patients and controls; matched cases of pre-surgery and post-surgery; before and after remission. Integrated analysis of ctDNA mutations and methylations will be carried out, and DNAPanel with the best diagnostic performances and prognosis performances will be identified. The risk prediction models will be established to integrate the optimal panel with epidemiological risk factors and clinical data, precisely evaluating individual risk of GC and recurrence. Thus, this study aims at identification of cases with higher risks of gastric cancer and GC recurrence, enabling a more individualized health interventions and treatments.

关键词(用分号分开): 胃癌; 循环肿瘤DNA; 突变; 甲基化; 肿瘤标记物

Keywords(用分号分开): gastric cancer; circulating tumor DNA; mutation; methylation; tumor biomarker

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	姜品	1970.10	女	主任医师	博士	吉林大学	0431-81875408	[REDACTED]	项目负责人	6			
2	曹雪源	1968.04	男	主任医师	博士	吉林大学	0431-88785602		研究设计、患者募集	5			
3	贾志芳	1981.12	女	主治医师	博士	吉林大学	0431-81875407		数据管理统计、论文撰写	5			
4	吴燕华	1986.05	女	讲师	博士	吉林大学	0431-81875407		分生实验、统计分析、论文撰写	5			
5	曹东慧	1986.10	女	讲师	博士	吉林大学	0431-81875407		分子生物学实验	5			
6	何亮	1981.08	男	主治医师	博士	吉林大学	0431-88785602		患者募集、管理、数据分析	5			
7	曲丽梅	1982.02	女	博士生	硕士	吉林大学	0431-81875602		病理诊断、分生实验	6			
8	赵丹	1994.12	女	硕士生	学士	吉林大学	0431-81875405		分子生物学实验、数据录入	8			
9	潘禹辰	1992.03	女	硕士生	学士	吉林大学	0431-81875405		患者募集、数据录入管理	8			
10	张扬雨	1991.11	女	硕士生	学士	吉林大学	0431-81875406		分子生物学实验、数据分析	8			
总人数		高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
10		2		4						1		3	

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: 81874279

项目负责人: 姜晶

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	2.0000
3	(1)设备购置费	2.0000
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	33.2000
7	3、测试化验加工费	7.0000
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	5.5000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.0000
11	7、劳务费	6.8000
12	8、专家咨询费	0.5000
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
 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。）

一、直接费用：57.0万元

1. 设备费：共计2.0万元

(1) 设备购置费：2.0万元

循环DNA提取用真空泵	1.5万元/台*1台	1.5万元
微量移液器2把	0.25万元/把*2把	0.5万元

(2) 设备试制费：无

(3) 设备改造和租赁费：无

2. 材料费：共计33.2万元

游离核酸采血管、冻存管等耗材	80元/人*700人次	5.6万元
组织和白细胞DNA提取试剂盒	20元/人*700人次	1.4万元
高保真限制性内切酶	0.3万元/支*2支	0.6万元
循环核酸DNA提取试剂盒	0.8万元/盒*5盒	4.0万元
DNA纯化试剂盒	0.3万元/盒*8盒	2.4万元
微滴分析仪油	0.8万元/瓶*2瓶	1.6万元
微滴发生器油	0.3万元/瓶*3瓶	0.9万元
微滴发生卡和衬垫	1.5万元/套*2套	3.0万元
ddPCR用96孔板	0.15万元/包*4包	0.6万元
ddPCR封板用铝箔	0.1万元/盒*2盒	0.2万元
ddPCR探针预混液	0.6万元/盒*5盒	3.0万元
ddPCR 缓冲液对照试剂盒	0.25万元/盒*2盒	0.5万元
ddPCR用探针和荧光探针	0.8万元/年*4年	3.2万元
常用分子生物学试剂, 耗材等	0.8万元/年*4年	3.2万元
正反引物等	0.75万元/年*4年	3.0万元

3. 测试化验加工费：共计7.0万元

10个基因进行测序的测试费	0.5万元/基因*10基因	5.0万元
流式细胞仪的测试费用	0.4万元/基因*5基因	2.0万元

4. 燃料动力费：无

5. 差旅/会议/国际合作与交流费：共计5.5万元

国际会议的会议费、机票、住宿费	1.0万元/人次*3人次	3.0万元
国内会议的会议费、机票、住宿费	0.5万元/人次*5人次	2.5万元

6. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费：共计2.0万元

中英文稿件版面费：	平均0.4万元*3篇	1.2万元
英文稿件修改费	0.2万元/篇*4篇	0.8万元

7. 劳务费：共计6.8万元

1名博士生和2名硕士生的劳务费	1.7万（3人）/年*4年	6.8万元
-----------------	---------------	-------

8. 专家咨询费：共计0.5万元

2名高级专业技术职称人员课题论证	0.25万元(税前)/天/人*2人*1天	0.5万元
	税后每人每天2160元（符合国家1500-2400元标准）	

9. 其他支出：无

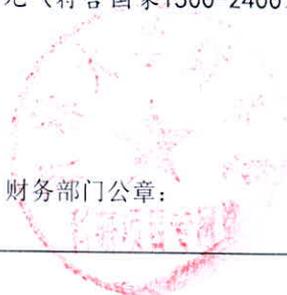
二、自筹资金：无

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。



打印

81018105

签名

81018105

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	程航	性别	女	出生年月	1982年02月	民族	汉族
	学位	硕士			职称	主治医师		
	是否在站博士后	否		电子邮件	chenghang_jlu@126.com			
	电话	0431-88782975		个人网页				
	工作单位	吉林大学						
	所在院系所	吉林大学第一医院						
依托单位信息	名称							
	联系人							
	电话							
合作单位信息	单位名称							
项目基本信息	项目名称	支气管哮喘中维生素D3通过T-bet通路调控ILC2s功能的机制研究						
	资助类别	青年科学基金项目			亚类说明			
	附注说明							
	申请代码	H0107:支气管哮喘						
	基地类别							
	执行年限	2019.01-2021.12						
	直接费用	21万元						

项目摘要**中文摘要:**

支气管哮喘是常见的呼吸系统免疫相关性疾病。2型固有淋巴细胞（ILC2s）在致敏原刺激下能够迅速活化产生大量2型细胞因子，参与哮喘发病。与Th2相比ILC2s在哮喘病理形成早期起着更为重要的作用。目前ILC2s的免疫调控机制尚不明确。维生素D3作为重要的免疫调节剂，与哮喘的发病及控制密切相关。我们前期实验表明哮喘患者血清中维生素D3水平与ILC2s数量呈负相关，同时维生素D3能够在体外上调ILC2s中T-bet表达，抑制ILC2s的功能。综上提出维生素D3在哮喘中通过T-bet通路调控ILC2s功能、抑制气道炎症形成的假说。本项目拟构建哮喘模型小鼠、基因缺陷小鼠及体外培养体系，应用免疫学及分子生物学技术，对维生素D3调控ILC2s功能、T-bet通路在维生素D3调控中的作用等方面进行系统研究，揭示在哮喘中维生素D3对于ILC2s的调控机制，为哮喘的预防提供新的理论依据及治疗靶点。

Abstract:

Asthma is a common immune related disease in respiratory tract. Innate lymphoid cells (ILCs) are an important member of innate immune cells, they contain three groups: ILC1s, ILC2s and ILC3s. ILC2s can produce mounts of type 2 cytokines promptly and take part in the genesis of asthma, especially in the early age, but the modulation of ILC2s in asthma remains largely unknown. Vitamin D3 is an immune regulator, and the level of vitamin D3 in asthmatic is closely related with the attack and control of asthma. Our previous work proved that the level of vitamin D3 negative correlate with the numbers of ILC2s in blood of asthmatic; In vitro, vitamin D3 up-regulated expression of T-bet in ILC2s, and then inhibits the function of ILC2s. Our hypothesis is that vitamin D3 modulates ILC2s' function by T-bet pathway in the development of asthma. We employ the asthma mouse model, gene-knockout mouse model and cell culture in vitro, use immune and molecular biological technique, to study the modulation of vitamin D3 on ILC2s, and the role of T-bet pathway in this modulation. Our study will provide new idea for the therapy of asthma.

关键词(用分号分开): 支气管哮喘; 2型固有淋巴细胞; 维生素D3; 转录因子T-bet; 免疫调控

Keywords(用分号分开): bronchial asthma; group 2 innate lymphoid cells; vitamin D3; T-bet; immune modulation

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	程航	1982.02	女	主治医师	硕士	吉林大学	0431-88782975	[REDACTED]	项目负责人	6			
2	朱珊	1984.07	女	讲师	博士	吉林大学	0431-85167419		细胞培养、流式检测	6			
3	慈鑫鑫	1983.03	女	讲师	博士	吉林大学	0431-85167419		动物模型制备	6			
4	张璐	1988.02	女	医师	硕士	吉林大学	0430-88782975		流式检测、mRNA提取	6			
5	吕信萍	1994.02	女	博士生	硕士	吉林大学	0431-85167419		动物模型制备、细胞体外培养	8			
6	王莹莹	1991.10	女	硕士生	学士	吉林大学	0430-88782975		CBA检测、流式检测	8			
7	孙嘉良	1994.05	男	硕士生	学士	吉林大学	0430-88782975		病理切片、肺功能检测	8			
总人数		高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
7				3		1				1		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：81800021

项目负责人：程航

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	21.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.0000
4	(2)设备试制费	0.0000
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	15.1900
7	3、测试化验加工费	1.8000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	1.1100
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.3000
11	7、劳务费	2.4000
12	8、专家咨询费	0.2000
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》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。）

本项目直接费用：21.00 万元

(1) 设备费：[无]

(2) 材料费：15.19 万元。

A. 购买胎牛血清、培养液、淋巴细胞分离液等重要实验原材料：4.00 万元

胎牛血清 10000 元；细胞培养基 6000 元；淋巴细胞分离液 4000 元；卵清蛋白 OVA 4000 元；分离组织细胞所需脱氧核糖核酸酶 I 及 Collagenase D，平均 3550 元/支，各需 1 支，共计 7000 元；细胞培养时添加的细胞因子刺激 IL-25 及 IL-33，平均 1500 元/支，共 2 种，每种需要 1 支，共计 3000 元；通路蛋白阻断剂，平均 2000 元/支，共 3 种，共计 6000 元。

B. 购买试剂药品试剂盒费用：4.90 万元

死活细胞染色试剂盒，2000 元/盒，需 1 盒，共 2000 元；流式微球分析试剂盒，7000 元/盒，需 1 盒，共 7000 元；流式细胞术用荧光标记抗体，包括抗人及抗小鼠 ILC2s 相关流式抗体，抗体平均 2500 元/支，每种抗体 1 支，共计 15 种抗体，共计 30000 元；TansScript-Uni cell to cDNA Synthesis SuperMix for qPCR 试剂盒 5000 元，需 2 盒，共计 10000 元。

C. 实验动物费：5.29 万元

BABL/c 小鼠购买及饲养费：购买 15 元/只，饲养费 4 元/只/周，本课题动物使用量总数约 50 只，共 $50 \text{ 只} \times (15 \text{ 元/只} + 4 \text{ 元/只/周} \times 5 \text{ 周}) = 1750 \text{ 元}$ 。基因敲除小鼠 4 对购买及运输费用共计 50000 元，饲养及繁殖费用 4 元/只/周， $40 \text{ 只} \times 4 \text{ 元/只/周} \times 7 \text{ 周} = 1120 \text{ 元}$ 。

D. 其他耗材：1.00 万元

流式上样管、离心管、移液管、无菌滤器、枪头、冻存管、细胞滤网、细胞培养板等共计 10000 元。

(3) 测试化验加工费：1.80 万元

流式细胞术：40 元/样本，共约 100 个样本，共计 4000 元；流式细胞分选：800 元/小时，共约 15 小时，共计 12000 元；病理切片、分析：40 元/张，共约 50 张，共计 2000 元。

(4) 燃料动力费：[无]

(5) 差旅费：1.11 万元。

每年 1 人次参加国内学术交流会议，会议地点将可能设在北京、重庆等地。由于本单位所

在地为长春，往返机票平均 2100 元。参会人员住宿费用为 300 元/天，每天餐补 80 元/天。平均参加会议四天， $[2180 + (380 \times 4)] \times 1 \text{ 人} \times 3 \text{ 年} = 11100 \text{ 元}$ ，3 年总费用为 11100 元。

(6) 会议费：[无]

(7) 国际合作交流费：[无]

(8) 出版/文献/信息传播/知识产权事务费：0.30 万元

出版/文献/信息传播/知识产权事务费：3000 元

(9) 劳务费：2.40 万元

博士及硕士研究生共有 2 名参加本项目，按 3 年支付，每人每月 500 元， $500 \text{ 元/月} \times 8 \text{ 月} \times 3 \text{ 年} \times 2 \text{ 人} = 2400 \text{ 元}$ 。

(10) 专家咨询费：0.20 万元

聘请 1 位相关领域的高级专业技术职称专家参加课题讨论，把握研究进展方向，咨询相关疑难问题，共计 2000 元。

(11) 其他支出---[无]

项目负责人签字：

程航



科学技术处公章：

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

<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：81800021），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。</p> <p style="text-align: right;">项目负责人（签章）：程航 2018年9月13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、财务等各项规定，并督促实施。</p> <div style="text-align: center;">  <p>依托单位（公章） 2018年9月20日</p> </div>														
<p>本栏目由基金委填写</p>	<p>科学处审查意见：</p> <p style="text-align: center; color: red; font-size: 2em;">请按计划书内容执行</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;"> 江虎军 负责人（签章）： 2018年10月25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>本栏目主要用于重大项目等</p>	<p>科学部审查意见：</p> <p style="text-align: center; color: blue; font-size: 2em;">同意科学处意见</p> <p style="text-align: right;"> 徐岩英 负责人（签章）： 2018年10月25日 </p>														
<p>本栏目主要用于重大项目等</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>本栏目主要用于重大项目等</p>	<p>委领导审批意见：</p> <p style="text-align: right;">委领导（签章）： 年 月 日</p>														

张北城

丁



编号: 20190201093JC

78

吉林省科技发展计划项目任务书

计划类别: 基础研究
项目类别: 自然科学基金 (学科布局项目)
支持重点: 医学

项目名称: 血清胃功能检测和循环肿瘤DNA甲基化标记物用于胃癌筛查策略的研究

资助经费: 10.0 执行年限: 3年

项目负责人: 姜晶 电话: 15104302236

通讯地址: 吉林大学第一医院临床研究部

电子邮箱: jiangjing19702000@jlu.edu.cn

依托单位 (加盖公章): 吉林大学

联系人: 姜晶 电话: 15104302236

参加单位 (加盖公章):

组织部门 (单位) (加盖公章): 吉林省科学技术厅



与交流计划等)

年度研究计划

第一年度: 2019年1月—12月

- 1) 完成2018年度0.1万名消化道癌早期筛查项目参加者的流行病学调查信息和临床信息的整理工作。
- 2) 利用ThermoFisher公司的酶标仪对2018年度冻存血清进行G17、PGI、PGII和Hp IgG检测。
- 3) 设计引物扩增候选基因启动子区CpG岛上的目的片段, PCR产物进行二轮乳化PCR, 乳化PCR产物进行破乳和荧光杂交, 利用流式细胞技术进行荧光计数, 明确甲基化情况。建立血浆ctDNA高甲基化位点的检测体系。
- 4) 完成2019年度0.1万名消化道癌早期筛查项目的调查和胃镜检查工作, 完成0.5万健康体检人群(东北地区自然人群队列)的基础调查工作。

第二年度: 2020年1月—12月

- 1) 完成2020年度0.1万名消化道癌早期筛查项目的调查和胃镜检查工作, 完成0.5万健康体检(东北地区自然人群队列)的基础调查工作。
- 2) 对2019年度冻存血清进行G17、PGI、PGII和Hp IgG检测, 对2019年度冻存血浆进行ctDNA高甲基化位点的检测。
- 3) 整理确认所收集的各种信息资料, 数据库化。同时也将实验数据整理录入, 汇总临床和实验数据, 清洗数据为统计学分析做准备。
- 4) 初步比较胃癌患者、萎缩性胃炎/肠上皮化生/异性增生患者、健康对照组间血清胃功能和甲基化的差别, 评估其作为胃癌风险评估和早期诊断标记物的可能性。
- 5) 对已得到的研究结果进行总结, 完成2篇会议投稿, 参加国际胃癌会议。并总结前期的研究结果进行1篇论文撰写和投稿。

第三年度: 2021年1月—12月

- 1) 利用所得到的最佳遗传特征组合联合流行病学和血清胃功能数据, 构建评估、诊断和预测模型, 并进行模型评估, 探索预测模型用于评估胃癌发生风险的可行性。
- 2) 利用东北地区自然人群队列进行模型验证。
- 3) 派遣1名研究人员前往美国佐治亚大学生物信息学研究所学习甲基化数据的深度分析挖掘方法。
- 4) 完成课题总结、成果交流和1篇论文撰写工作, 发表研究成果。

预期研究成果

- 1) 提供中国北方人群关键胃癌甲基化基础数据, 为今后的胃癌机制研究和干预研究奠定基础。
- 2) 建立依据胃癌危险因素和血清胃功能检测为基础的胃癌风险评估模型, 筛选高风险个体给予个性化干预和随访, 构建ctDNA甲基化panel为主的胃癌诊断模型, 进行胃癌的早期诊断和早期治疗。
- 3) 形成良好的科研梯队, 完成对1名博士研究生, 1名硕士研究生的培养。在国内外重要学术刊物和国际性学术会议上发表学术论文2篇, SCI文章1篇。提交科技报告1份。

项目参加人员

项目负责人								
序号	姓名	性别	出生年月	身份证号	所在单位	职称	现从事专业	在本项目中承担的主要工作
1	姜晶	女	1970-10-19		吉林大学	正高级	临床流行病学和肿瘤流行病学研究	研究设计、实施和指导
主要参加人								
2	佟伟华	男	1978-04-20		吉林大学	副高级	消化道肿瘤诊断和治疗	临床资料收集与质控
3	张扬雨	女	1991-11-18		吉林大学	初级	流行病学研究	研究组织、数据分析、文章撰写
参加人员								
4	赵天成	男	1985-12-23		吉林大学白求恩第三医院 (中日联谊医院)	中级	消化内科、内镜检查	内镜资料收集与质控
5	贾志芳	女	1981-12-10		吉林大学白求恩第一医院	中级	肿瘤流行病学	研究组织、数据分析、文章撰写
6	吴燕华	女	1986-05-01		吉林大学白求恩第一医院	中级	肿瘤流行病学	数据分析与文章撰写
7	曹东慧	女	1986-10-12		吉林大学白求恩第一医院	中级	分子生物学检测	ctDNA甲基化实验室检测
8	王瑜	男	1982-02-03		吉林大学白求恩第一医院	中级	内镜病理	病理资料收集与质控
9	赵丹	女	1994-12-01		吉林大学白求恩第一医院	无	流行病学	血清学胃功能检测
10	王玥琦	女	1995-06-28		吉林大学白求恩第一医院	无	流行病学	临床数据录入和实验室检测
11	杨娜	女	1995-12-16		吉林大学白求恩第一医院	无	流行病学	临床数据录入和实验室检测
12								
13								
14								

经费预算

单位：万元

(一) 经费来源预算		(二) 经费支出预算		
科目	预算数	科目	总支出	其中科技计划经费支出
来源预算合计	10.0	支出预算合计	10.0	10.0
一、省科技发展计划拨款	10.0	(一) 直接费用	8.34	8.34
(1) 有偿	0.0	1、设备费	0.0	0.0
(2) 无偿	10.0	(1) 购置设备费用	0.0	0.0
二、国家科技计划拨款	0.0	(2) 设备升级改造费用	0.0	0.0
三、上级其它部门拨款	0.0	(3) 设备租赁费	0.0	0.0
四、单位自筹	0.0	2、材料费	1.74	1.74
五、其它来源	0.0	3、测试化验加工费	2.0	2.0
		4、燃料动力费	0.0	0.0
		5、差旅/会议/国际合作与交流费	1.5	1.5
		6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.6	0.6
		7、劳务费	2.5	2.5
		8、专家咨询费	0.0	0.0
		9、其它支出	0.0	0.0
		(二) 间接费用	1.66	1.66
		1、房屋租赁费	0.0	0.0
		2、水、电、气、暖消耗支出	0.0	0.0
		3、绩效支出	1.08	1.08
		4、其它支出	0.58	0.58
(三) 省科技计划经费拨款计划				
承担单位		总额 (万元)	2019年 (万元)	2020年及以后年度 (万元)
吉林大学		10.0	10.0	0.0

备注：本预算表由项目组依据《吉林省省级科技创新专项资金管理办法》（吉财教〔2017〕493号）和中共吉林省委办公厅、吉林省人民政府办公厅印发的《关于进一步完善省财政科研项目资金管理等政策的若干实施意见》（吉办发〔2017〕3号），根据实际测算，如实填写。

任务书签订各方签章

任务下达单位:

项目管理处室代理人 (签字): *张博*



项目管理处室负责人 (签字):

分管厅长 (签章):

省科技厅审定意见:

厅长 (签章):



(公章)
年 月 日

项目承担单位:

项目负责人 (签字): *姜晶*

财务负责人 (盖章):

帐户名: 吉林大学

帐号: 160402501175

开户银行: 中国银行长春前进大街支行

艾成刚



(公章)
2018年3月20日

项目参加单位:

负责人 (签字):

(公章) 年 月 日

共同条款

任务各方需共同遵守吉林省科技发展计划项目及经费的相关管理办法。

1. 项目承担单位必须按要求编报年度计划执行情况、经费预、决算和有关统计报表，及时上报项目管理处室及计划处，逾期不报，省科技厅有权暂停拨款或做出处理。

2. 任务执行过程中，项目承担单位如需调整任务、人员，应根据有关规定，向省科技厅提出包含变更内容及其理由的正式申请报告，经各项目管理处室审核同意后，报计划处审定备案。未经正式批准以前，双方须按原任务书履行，否则后果由自行调整的一方负责。

3. 项目承担单位因某种原因（如：与可行性研究内容有出入、挪用经费、技术措施或某些条件不落实）致使计划无法执行，而要求中止任务，应视不同情况，部分或全部退还所拨经费；如项目承担单位没有提出中止任务的要求，省科技厅根据调查情况有权做出中止任务的处理。

4. 项目承担单位承担任务所得科技计划经费，需按相关计划经费管理办法管理和使用。

5. 项目承担单位完成项目研究内容，并达到项目验收考核指标后，应及时向省科技厅提出验收（鉴定）申请。省科技厅应按有关规定组织验收（鉴定）。项目承担单位在项目验收前应向省科技厅提交验收（鉴定）申请、经费决算单及相关材料。

6. 该项目所完成的技术成果归省科技厅和项目承担单位共有。项目承担单位享有该成果的使用权、专利申请权、著作权和有限转让权。项目承担单位在转让该成果时须征得省科技厅的同意。

7. 项目承担单位在该项目研究中发表的有关论文、出版的著作及成果转让文件材料等须注明“吉林省科技发展计划资助项目”。

8. 省科技厅根据相关规定，监督经费的使用情况。凡不符合规定的开支，省科技厅负责提出调整意见。必要时，有权直接提出调整或撤销意见。

9. 任务执行过程中，省科技厅无故中止任务时，所拨经费、物资不得追回，并承担善后处理所发生的费用。省科技厅提出变更任务书有关内容时，要与项目承担单位协商达成书面协议，并在备案后实行。

10. 本任务书所协议的其它条款。



编号:20200201326JC

吉林省科技发展计划项目任务书

计划类别: 吉林省自然科学基金
项目类别: 自然科学基金 (学科布局项目)
支持重点: 医学 (省联合基金白求恩医学专项)
管理处室: 基础研究处

项目名称: 吡啶-3-甲醇对幽门螺杆菌感染除菌后胃癌发病的抑制作用和机制 (省联合基金白求恩医学专项)
承担单位 (盖章): 吉林大学
项目负责人: 曹雪源
联系电话: 13756116892
电子邮箱: caoxy@aliyun.com
组织部门 (盖章): 吉林省科学技术厅

吉林省科学技术厅
二〇一九年制

依据《吉林省科技发展计划项目管理办法》，吉林省科学技术厅委托吉林大学承担吉林省科技发展计划中的吡啶-3-甲醇对幽门螺杆菌感染除菌后胃癌发病的抑制作用和机制（省联合基金白求恩医学专项）项目的科研任务。各方就本项目的实施与管理中的权利和义务签订如下任务书。

一、省科技厅为项目承担单位提供部分研究经费，并依据相关项目管理办法进行管理；项目承担单位和参加单位按本任务书约定的内容和目标开展工作。

二、任务分配

吉林大学在本项目实施过程中承担的任务为承担全部科研任务

三、经费分配

本项目由省科技计划经费拨款（含省自然科学基金联合基金）10.0万元，项目承担单位和参加单位按照任务分工，约定经费分配如下：

吉林大学经费为10.0万元。

四、知识产权归属约定

本项目取得的知识产权归吉林大学所（共）有。

一、基础信息表

项目名称	吡啶-3-甲醇对幽门螺杆菌感染除菌后胃癌发病的抑制作用和机制（省联合基金白求恩医学专项）				
项目所属学科	临床医学				
项目所属专业	肿瘤学				
申报单位	名称	吉林大学			
	通讯地址	吉林长春市朝阳区长春市前进大街2699号			
	联系人	王艺博	联系电话	13756116892	
	单位类别	<input type="checkbox"/> 企业 <input type="checkbox"/> 科研院所 <input checked="" type="checkbox"/> 高等院校 <input type="checkbox"/> 中介机构 <input type="checkbox"/> 其它 <input checked="" type="checkbox"/> 事业单位 <input type="checkbox"/> 非事业单位			
	隶属	<input checked="" type="checkbox"/> 中直 <input type="checkbox"/> 省直 <input type="checkbox"/> 市县			
项目负责人	姓名	曹雪源			
	身份证号				
	手机号				
	邮箱	caoxy@aliyun.com			
	工作单位	吉林大学			
	办公电话	0431-88785602	手机	13756116892	
	项目组日常联系人	曹雪源	项目组日常联系人电话	13756116892	

二、研究内容

<p>(一) 项目的研究内容、研究目标</p> <p>研究内容:建立Hp感染蒙古沙鼠和小鼠胃癌模型,于Hp感染和除菌后,经口投与200ppm I3C20周,与对照组比较I3C对Hp除菌后胃癌发病和肿瘤体积的抑制作用.检测胃癌组织WWP1,PTEN/PI3K/AKT和Wnt信号表达,结合细胞系特异拮抗实验,人胃癌病理参数等探讨I3C对该信号通路的激活及其相互调控作用.</p> <p>研究目标:通过Hp感染除菌后胃癌模型,阐明I3C对除菌后胃癌的抑制作用以及I3C是否通过WWP1, PTEN/PI3K/AKT, Wnt信号通路影响胃癌发病.进而结合人胃癌细胞株,胃癌临床病理和生物信息学,分析I3C抑制胃癌的可能途径,为实现天然活性物质预防Hp除菌后胃癌奠定基础。</p>
<p>(二) 项目拟解决的关键科学问题</p> <p>随着对Hp感染胃炎,消化道溃疡患者进行广泛的除菌治疗,今后Hp除菌后胃癌发病率将显著升高,本项目针对预防和抑制Hp除菌后胃癌发病这一关键科学问题,通过建立Hp感染除菌后胃癌模型,人胃癌细胞株,胃癌临床病理和生物信息学分析,阐明天然植物来源抗肿瘤活性物质吡啶-3-甲醇(I3C),是否对Hp除菌后的胃癌发病具有抑制作用,进而阐明I3C是否通过灭活WWP1表达下调介导,调控PTEN/PI3K/AKT, Wnt信号途径发挥作用,为胃癌联合靶向治疗提供新靶点,为胃癌高危人群化学预防,合成和修饰抗癌药物提供实验依据。</p>

吉林省科技发展计划项目任务书

三、考核指标

(一) 核心指标 (是指与研究内容相关, 能够科学反映研究水平、可定量考核的指标。立项后原则上不能更改, 请根据实际情况谨慎填写)

序号	指标类别	指标内容	具体指标及指标值		
1	新技术、新工艺、新材料、新产品、新装备	<input type="checkbox"/> 新技术、 <input type="checkbox"/> 新工艺、 <input type="checkbox"/> 新材料、 <input type="checkbox"/> 新产品、 <input type="checkbox"/> 新装备			
序号	指标类别	指标内容	具体指标内容	指标值	单位
2	新理论、新方法	(1) 研究报告	形成研究报告	0	份
3	新成果	(1) 论文	①发表SCI (EI) 收录论文	1	篇
			②发表核心期刊收录论文	1	篇
			③发表其它论文	0	篇

(二) 辅助指标 (对项目验收具有辅助参考作用, 是项目验收的参考依据, 项目组可根据实际情况自主选择、确定)

序号	指标类别	指标内容	具体指标内容	指标值	单位
1	新成果	(1) 专利	①申请发明专利	0	件
			②获得发明专利	0	件
			③申请实用新型专利	0	件
			④获得实用新型专利	0	件
		(2) 软件著作权	获得软件著作权	0	项
		(3) 专著	出版专著	0	部
2	人才培养	(1) 硕士研究生	①培养硕士研究生	1	名
		(2) 博士研究生	②培养博士研究生	1	名
3	其它				

(三) 其他指标

提交科技报告1份。

吉林省科技发展计划项目任务书

四、项目经费

单位：万元

(一) 经费来源预算		(二) 经费支出预算			
科目	预算数	科目	科目类别	总支出	其中省科技发展计划经费支出
来源预算合计	10.0	支出预算合计	/	10.0	10.0
一、省科技发展计划拨款 (含省自然科学基金联合基金)	10.0	(一) 直接费用	/	8.4	8.4
二、单位自筹	0.0	1、设备费悞	A	0.0	0.0
三、其它来源	0.0	(1) 购置设备费用		0.0	0.0
褊	褊	(2) 设备升级改造费用		0.0	0.0
褊	褊	(3) 设备租赁费悞		0.0	0.0
褊	褊	2、材料费悞	B	4.1	4.1
褊	褊	3. 测试化验加工费悞		1.2	1.2
褊	褊	4、燃料动力费悞		0.0	0.0
褊	褊	5、出版/文献/信息传播/知识产权事务费		0.0	0.0
褊	褊	6、劳务费悞	C	1.8	1.8
褊	褊	7、专家咨询费悞		0.5	0.5
褊	褊	8、会议/差旅/国际合作与交流费		0.8	0.8
褊	褊	9、其它支出		0.0	0.0
褊	褊	(二) 间接费用	/	1.6	1.6
(三) 省科技发展计划经费拨款计划 (含省自然科学基金联合基金)					
承担单位		总额 (万元)	2020年 (万元)	2021年及以后年度 (万元)	
吉林大学		10.0	10.0	0.0	

备注：1、本预算表由项目组依据《吉林省省级科技创新专项资金管理办法》（吉财教〔2017〕493号）和中共吉林省委办公厅、吉林省人民政府办公厅印发的《关于进一步完善省财政科研项目资金管理等政策的若干实施意见》（吉办发〔2017〕3号）、《关于抓好赋予科研机构 and 人员更大自主权有关文件贯彻落实工作的实施方案》（吉科政发〔2019〕169号），根据实际测算，如实填写。

2、本预算执行过程中，A类科目中的设备费预算总额调减、设备费内部预算结构调整、拟购置设备的明细发生变化，承担单位有调剂权；B、C两类科目之间的预算调剂由承担单位履行内部审批程序；B类科目、C类科目在本科目预算额度内的调剂，承担单位可审批或授权项目负责人自行调剂使用。

3、C类科目中的“会议/差旅/国际合作与交流费”预算不超过直接费用10%的，无需提供预算测算依据；超过10%的，须在申报时按照会议、差旅、国际合作交流分类提供必要的测算依据。

4、间接费用无需编制预算说明。

五、其它参加单位及项目团队组成

其它参加单位						
单位1	名称					
	联系人	谈	联系电话	谈		
单位2	名称					
	联系人	谈	联系电话	谈		
单位3	名称					
	联系人	谈	联系电话	谈		
项目团队组成						
负责人						
姓名	性别	出生年月	所在单位及部门	职称	现从事专业	
曹雪源	男	1968-04-14	吉林大学第一医院	正高级	胃结直肠外科	
其它参加人员						
姓名	性别					
			吉林大学白求恩第一医院临床研究部	无	统计学	数据统计分析
谈						
谈						
谈						
谈						
谈						
谈						
谈						

六、计划进度

年、月	计划完成的工作及目标	
	工作计划	阶段目标
2020年01月至 2020年12月	利用幽门螺杆菌ATCC43504菌株培养后对6周龄蒙古沙土鼠和C57BL/6小鼠灌胃，建立Hp感染和除菌动物模型	测定感染后2周Hp感染情况，确定Hp感染胃炎成立后进行除菌实验，并开始吡啶-3-甲醇干预实验
2021年01月至 2021年12月	利用病理切片和免疫组化染色，WB、PCR系统对吡啶-3-甲醇投喂后胃癌发病率变化	测定吡啶-3-甲醇对胃黏膜组织中WWP1，PTEN-PI3K-AKT信号通路的影响
2022年01月至 2022年12月	利用人胃癌细胞株进行过表达，干扰，拮抗实验；胃癌组织标本对动物实验所得结果进行验证和生物信息学预测	测定分析人胃癌细胞系和胃癌组织标本中PTEN-PI3K-AKT信号通路上下游关系，明确吡啶-3-甲醇作用靶点

七、项目负责人承诺及签章

本人承诺：

在项目执行、经费使用过程中，不弄虚作假，做到诚实守信、勤勉尽责。

签字：

年 月 日

八、承担单位承诺及签章

承担单位承诺：

我单位承诺认真贯彻落实国家及省科技创新相关政策，为项目执行提供必要的支撑条件，督促项目组按时完成项目任务，按相关资金管理办法使用经费。

财务负责人（盖章）：

账户名：吉林大学

账号：160402501175

开户银行：中国银行前进大街支行

(单位公章)

年 月 日

九、参加单位承诺及签章

参加单位承诺：

我单位同意参与本项目研究，并承诺履行参加单位义务。

单位 1 盖章

年 月 日

单位 2 盖章

年 月 日

单位 3 盖章

年 月 日

单位 4 盖章

年 月 日

单位 5 盖章

年 月 日

十、项目任务下达单位签章

业务处室项目管理人员（盖章）：

业务处室主要负责人（盖章）：

分管厅长（盖章）：

厅长（签章）：

(公章)

年 月 日

十一、应尽职责

项目负责人、项目承担单位及推荐单位应遵守吉林省科技发展计划项目及经费的相关管理办法，履行以下职责：

1.项目负责人及项目承担单位每年应按照任务书规定的进度安排，在“吉林省科技发展计划项目管理信息系统”上填报项目的进度、进展（完成、未完成、取得重大突破）和项目经费（计划拨款、单位自筹）到位与支出情况，对未完成计划进度或取得重大突破的项目填报简要文字说明。逾期不报，省科技厅有权暂停拨款或根据相关项目管理办法做出处理。

2.任务执行过程中，如需调整项目主持单位和项目参与单位间的分配经费、项目负责人、项目延期，应根据有关规定，向省科技厅提交申请，经审核同意后执行；项目预算调整、研究方案和技术路线调整、除项目负责人外的项目组人员调整，由项目承担单位、项目组按照《关于抓好赋予科研机构和人员更大自主权有关文件贯彻落实工作的实施方案》（吉科发改〔2019〕169号）相关规定自行调整。

3.任务执行过程中，出现影响项目执行的重大问题，项目负责人及项目承担单位需按有关管理办法要求，执行重大事项报告制度，及时在“吉林省科技发展计划项目管理信息系统”上填报《吉林省科技发展计划项目重大问题报告书》。

4.项目负责人、项目承担单位及项目推荐单位应配合省科技厅开展项目“双随机一公开”检查等工作。

5.项目承担单位承担任务所得的科技发展计划经费，需按照相关资金管理办法管理和使用。

6.需提交科技报告的项目，应在申请项目验收前形成科技报告并在科技报告系统上提交。

7.项目执行期满后，项目负责人及项目承担单位应及时向省科技厅提出验收申请，由省科技厅按照有关规定组织验收。

8.项目承担单位在该项目研究中发表的有关论文、出版的著作及成果转让文件材料等须注明“吉林省科技发展计划资助项目”。

9.项目及资金管理办法中规定的其它职责。

10-1

档 2020

编号: JLSWSRCZX2020-0010

吉林省直卫生专项项目任务书

项目来源: 吉林省财政厅

项目名称: 质谱联合血清学标志物在胃癌早筛中的应用研究

起止年限: 2020 年 1 月至 2022 年 12 月

承担单位: 吉林大学

项目负责人: 姜晶 电话: 15104302236

通讯地址: 长春市新民大街1号

邮编: 130021 电子邮箱: jiangjing19702000@jlu.edu.cn

协作单位: (加盖公章) _____



吉林省财政厅



基本信息

项目 负责 人 信 息	姓名	付颖利	性别	女	出生年月	1987 年 3 月
	学位	博士	职称	师资博 士后	每年工作时间	12 个月
	电话	18584341026	电子邮箱		fuyingli318@126.com	
	工作单位	吉林大学第一医院				
项目 基 本 信 息	项目名称	TET 介导的 <i>TLR2</i> 启动子区 5-hmC 与胃癌的关系及对基因 <i>TLR2</i> 表达调控的机制研究				
	英文名称	The relationship between <i>TLR2</i> promoter 5-hmC mediated by <i>TET</i> and gastric cancer and the regulation mechanism of <i>TLR2</i> expression				
	研究期限	2020 年 7 月—2022 年 7 月				
中文关键词		Toll 样受体 2, DNA 羟甲基化, 5-羟甲基胞嘧啶, 胃癌, 基因表达				
英文关键词		Toll-like receptor 2, DNA hydroxymethylation, 5-hydroxymethylcytosine, gastric cancer, gene expression				



中文摘要	<p>(限 400 字):</p> <p>胃癌是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一, 2018 年全球新发病例 103.4 万, 死亡病例 78.3 万, 已成为严重危害公民健康的公共卫生问题。DNA 羟甲基化修饰是一种由 <i>TET</i> 蛋白介导的与众多肿瘤的发生发展密切相关的表观遗传修饰, 且具有潜在的基因表达调控功能, 在胃癌研究中应该引起更多关注。<i>TLR2</i> 在胃癌中表达升高, 且与 <i>TET1</i>、<i>TET2</i> 表达水平显著相关, 可能受 <i>TET</i> 介导的羟甲基化调控。本研究拟通过流行病学方法, 分析 <i>TLR2</i> 启动子区的 5-hmC 表达含量在胃癌、癌旁及正常胃组织中的差异分布情况以及与胃癌患者预后的关系, 并分析 5-hmC 含量与 <i>TET1</i>、<i>TET2</i> 及 <i>TLR2</i> 表达水平的相关性。同时采用实验室研究技术, 敲除或过表达 <i>TET1/TET2</i> 基因, 验证 <i>TLR2</i> 启动子区 DNA 羟甲基化水平对于 <i>TLR2</i> 表达的调控作用, 为探索 <i>TET</i> 介导的 DNA 羟甲基化修饰影响胃癌发生发展的机制, 实现胃癌的精准医疗提供证据。</p>
英文摘要	<p>(限 4000characters)</p> <p>Gastric cancer is one of the most common malignant tumors in the world. In 2018, there were 1.034 million new cases and 783,000 deaths worldwide. It has become a public health problem that seriously endangered the health of citizens. DNA hydroxymethylation modification mediated by <i>TET</i> proteins is an epigenetic modification closely related to the occurrence and development of many tumors, and has potential gene expression regulation function. It should attract more attention in gastric cancer research. The expression of <i>TLR2</i> is increased in gastric cancer, and it is significantly correlated with the expression levels of <i>TET1</i> and <i>TET2</i>, implied it may be regulated by <i>TET</i> through DNA hydroxymethylation. This study intends to use epidemiological methods to analyze the differential distribution of 5-hmC expression in <i>TLR2</i> promoter region among tumor, paracancerous and normal tissues from gastric cancer patients, and the relationship with the prognosis of gastric cancer patients, and further to analyze the correlation between 5-hmC content and the expression levels of <i>TET1</i>, <i>TET2</i> and <i>TLR2</i>. At the same time, laboratory research techniques were used to knock out or overexpress the <i>TET1 / TET2</i> gene to verify the regulatory effect of DNA hydroxymethylation in <i>TLR2</i> promoter region on <i>TLR2</i> expression, in order to explore the effect of <i>TET</i>-mediated DNA hydroxymethylation modification on gastric cancer and provide evidence for the precise medicine of gastric cancer.</p>



项目组主要参与者（注：项目组主要参与者不包括项目申请人）

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	电子邮箱	每年工作时间(月)
1	曹雪源	1968—04—14	男	教授	博士	胃肠外科	0431-88785602	caoxy@aliyu.com	6
2	曹东慧	1986—10—12	女	讲师	博士	临床研究部	0431-81875407	qswxwyh@163.com	6
3	张扬雨	1991—11—18	女	实验员	硕士	临床研究部	0431-81875404	jluyyz@163.com	6
4	丽粒	1997—07—18	女	研究生	学士	临床研究部	0431-81875407	2765625173@qq.com	8

总人数	高级	中级	初级	博士后	博士	硕士
5	1	2	1	1	0	1



吉林大学第一医院课题经费预算

科目名称	总经费预算 (元)	备注
合计	5 万	
一. 直接费用	5 万	
(1) 仪器设备费	0	
(2) 材料费	3.4 万	
(3) 测试化验加工费	0	
(4) 差旅费	0	
(5) 会议费	0	
(6) 国际合作与交流费	0	
(7) 出版/文献/信息传播/知识产权 事务费	1 万	
(8) 劳务费	0.6 万	
(9) 专家咨询费	0	
(10) 其他支出	无	
对经费预算的其他说明:		



报告正文

一. 研究内容及研究目标（项目研究内容、目标、技术难点、创新点）

研究内容：

(1) TLR2 启动子区羟甲基化水平与胃癌的关系：在胃癌患者的胃癌组织、癌旁组织及正常胃组织中，分别检测基因 *TLR2* 启动子区的 5-hmC 表达含量，统计分析 *TLR2* 启动子区 5hmC 表达含量在胃癌组织、癌旁组织及正常组织中的分布差异情况，并分析 *TLR2* 启动子区的 5-hmC 表达含量在不同临床特征、病理分期胃癌组织中的分布差异及与胃癌患者预后的关系。

(2) TLR2 启动子区羟甲基化程度与基因表达水平的关系：在胃癌患者的胃癌组织，癌旁组织和正常组织中分别检测基因 *TET1*, *TET2* 和 *TLR2* 的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平。结合上述 *TLR2* 启动子区 5-hmC 表达水平的检测结果，联合分析 *TLR2* 启动子区 5-hmC 表达含量与 *TET1*, *TET2* 和 *TLR2* 基因表达水平之间的关系。

(3) TET 介导的 TLR2 启动子区羟甲基化修饰，参与胃癌发生过程中的 TLR2 表达调控机制：在胃癌细胞系中，敲除或过表达 *TET1/TET2* 基因，检测处理前后 *TLR2* 基因启动子区 5-hmC 表达含量和 *TLR2* 基因的表达水平，验证 *TET1/TET2* 对基因 *TLR2* 启动子区羟甲基化水平的影响，探索通过介导启动子区 DNA 羟甲基化修饰水平调控基因 *TLR2* 表达情况的机制。

研究目标：

(1) 明确基因 *TLR2* 启动子区 DNA 羟甲基化水平与胃癌的发生、发展及预后的关系。

(2) 探究 *TET* 介导的启动子区 DNA 羟甲基化对于 *TLR2* 基因表达的调控机制，为进一步探讨胃癌的发病机制及实现胃癌诊治的精准医疗提供依据。

拟解决的关键问题：

TLR2 基因启动子区 DNA 羟甲基化水平是否与胃癌发生、发展和预后相关



众多研究显示 *TLR2* 表达水平与胃癌的发生、发展及预后显著相关，但关于表观遗传中羟甲基化修饰对 *TLR2* 表达的调控及 *TLR2* 启动子区的羟甲基化水平与胃癌的关系尚不明确。本研究拟通过 qGluMS-PCR 法在胃癌人群中检测 *TLR2* 基因启动子区 5-hmC 含量，并检测基因 *TLR2*, *TET1* 和 *TET2* 的表达水平，分析基因 *TLR2* 启动子区 DNA 羟甲基化表达水平与胃癌的发生、发展及预后的关系。

胃癌中 *TET* 酶介导的基因启动子区 DNA 羟甲基化修饰是否会调控基因 *TLR2* 的表达

TET1/TET2 蛋白作为去甲基化酶在哺乳动物中广泛介导了 DNA 主动去甲基化过程，其介导的羟甲基化是否参与基因 *TLR2* 的表达调控继而影响胃癌的发生发展是本研究拟解决的第二个关键问题。本研究中，拟通过在 *TLR2* 启动子区 5-hmC 高含量和低含量的胃癌细胞系中分别敲除或者过表达 *TET1/TET2* 基因，从而改变启动子区的羟甲基化水平，监测处理前后 *TLR2* 表达水平的变化，通过分析 *TLR2* 启动子区 DNA 羟甲基化水平与 *TLR2* 表达水平的关系，探索胃癌中 *TLR2* 基因启动子区 DNA 羟甲基化修饰对于该基因表达的调控作用。

(3) 拟采取的研究方案及可行性分析。(包括有关方法、技术路线、实验手段、关键技术等说明)

研究方法

(1) 研究对象的选择

本研究中的胃癌患者均来自于吉林大学第一医院胃肠外科接受手术治疗的胃癌患者，纳入标准为：① 年龄在 18-79 岁之间；② 术后病理报告明确诊断为胃癌，且包含明确的病理分期、分化程度、淋巴转移、浸润深度、血管淋巴管及神经的浸润情况等病理信息；③ 在基本信息和生物样本采集之前签署知情同意书，并同意接受长期随访。

(2) 样本量计算

本研究中的人群样本主要用于研究 *TLR2* 羟甲基化修饰对基因表达的调控及与胃癌的关系，据前期研究结果，*TLR2* 高表达组与低表达组相比胃癌患者的死亡风险比 $HR=3.474$ ，采用 PASS11.0 软件对所需样本量进行计算，假设检验水准设为 $\alpha=0.05$ ， $\beta=0.1$ ，双侧检验，以 $HR=3$ 来计算样本量，经过计算本



研究至少需要 34 例胃癌患者（34 例胃癌组织，34 例癌旁组织，34 例正常组织）纳入研究。

（3）研究对象生物样本的收集和随访数据库的构建

依据吉林大学第一医院临床研究部样本收集标准流程，在胃癌根治术中留取胃癌患者的胃癌组织和切缘阴性的癌旁正常组织 2-3 块，在离体 30 分钟内置于液氮罐中速冻，之后置于 -80°C 低温冰箱中保存，并制作保留石蜡包埋的癌旁和肿瘤组织。

利用重庆中联的医院患者信息和随访管理系统（Oracle 平台，C 语言）构建胃癌队列数据库，录入入组胃癌患者诊断、治疗和随访检查的相关信息，完成数据的长期收集和管理工作。在患者术后 3 个月、6 个月及之后每六个月一次进行电话随访。随访内容包括：一般情况、生存情况、治疗情况、血肿瘤标记物检测、腹部和盆腔超声、腹部 CT 和脑、肺 CT 等检查情况。如果患者死亡，记录死亡时间和死亡原因。

（4）实验方法：

① *TLR2*启动子区CpG岛的预测及引物设计

利用EMBOSS在线数据库 (http://www.ebiac.uk/Tools/seqstats/emboss_cpplot/) 预测 *TLR2*基因启动子区的CpG岛。首先，在NCBI数据库中搜索基因的编码序列，然后截取基因转录起始位点（TSS）的上游5000bp至下游1000bp的DNA序列，在EMBOSS数据库设定预测条件为：长度 $>200\text{bp}$ ，观察/预期比率 >0.60 ，百分比(C+G) $>50\%$ ，结合CpG岛的位置及相关研究结果确定基因 *TLR2* 启动子区可供选择测定的位置，预测序列潜在的CpG岛，目前我们已经预测出的该基因启动子区有1个CpG岛，位置为4939-5862，长度为924bp。利用MethPrimer (<http://www.Urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi>) 在线软件设计引物。

② 组织中 *TLR2*启动子区5-hmC含量及基因 *TLR2*, *TET1*, *TET2*表达水平的测定

剪取冻存的胃癌组织和癌旁组织 0.5cm^3 大小，使用组织 DNA 提取试剂盒提取组织中的 DNA，后经 NanoDrop ND-1000 核酸定量仪测定吸光度 (A₂₆₀/ 280 nm) 值，取比值为 1.6-1.8 的样本。采用 qRT-PCR 法检测基因 *TLR2* 的 mRNA 表达水平，同时在石蜡包埋切片制作的组织芯片中进行免疫组化法染色，评估肿瘤组



织和癌旁组织中 *TLR2*, *TET1*, *TET2* 蛋白的表达水平, 结果判定采用半定量积分法, 结合染色强度和阳性细胞百分比。采用 qGluMS-PCR 法检测 *TLR2* 启动子区的 5-hmC 含量。

③ 细胞系中 *TLR2* 启动子区 5-hmC 含量及基因 *TLR2* 表达水平的检测

提取细胞系中的 DNA, 采用 qRT-PCR 法和 Western-blot (WB) 法分别检测 *TLR2*, *TET1*, *TET2* 的 mRNA 和蛋白表达水平, 比较胃癌细胞系 (MKN-1, MKN-45, MGC-803, HGC-27, SGC-7901, BGC-823, AGS) 和胃正常上皮细胞系 (GES-1) 之间 *TLR2*, *TET1*, *TET2* 的表达水平, 同样采用 qGluMS-PCR 法检测基因 *TLR2* 启动子区 CpG 岛的 5-hmC 含量。

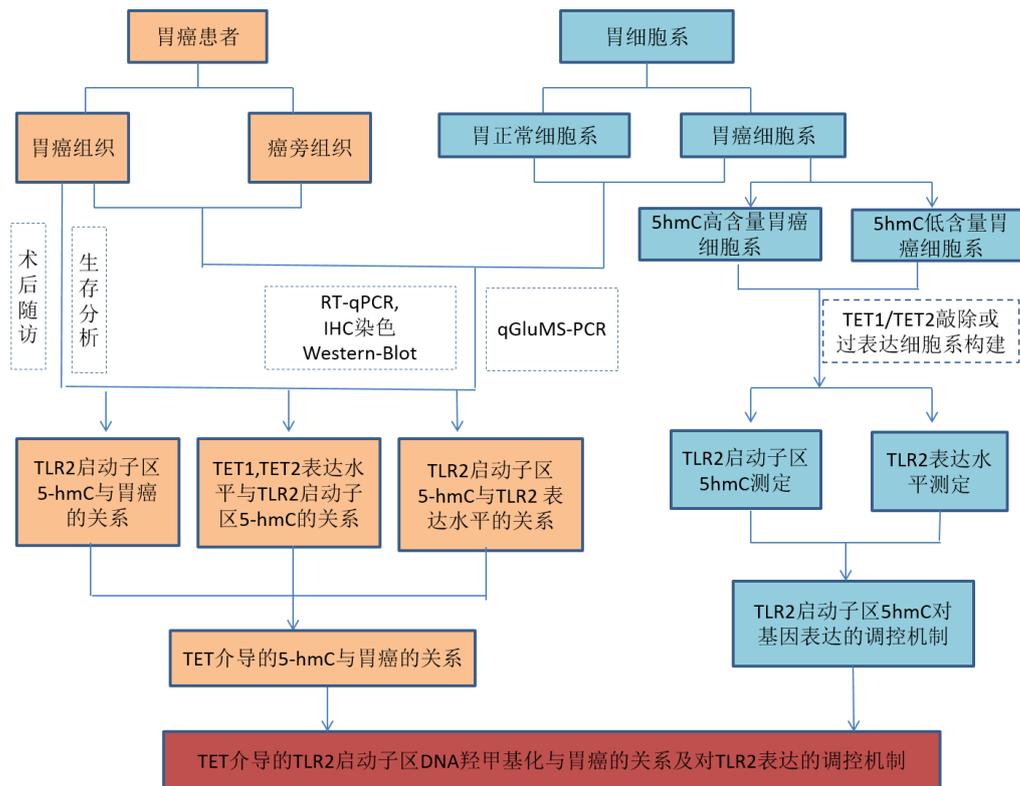
④ *TET1* 敲除或过表达细胞体系的构建

根据细胞系中 *TLR2* 启动子区 5-hmC 的含量, 选择 5-hmC 含量高的细胞系分别转染 *TET1/TET2* 的 inhibitor 或对照, 选择 5-hmC 含量低的细胞系分别转染 *TET1/TET2* 表达载体或空载对照。转染后采用 qRT-PCR 和 Western-blot 验证是否成功, 采用 qRT-PCR 和 Western-blot 检测转染前后 *TLR2* 基因表达水平, 采用 qGluMS-PCR 法检测转染后基因 *TLR2* 启动子区 CpG 岛的 5-hmC 含量。

(5) 统计分析

- ① 数据描述: 定量数据根据正态性检验的结果, 采用均数±标准差或中位数 (P25-P75) 指标; 定性数据采用频数 (构成比) 指标。
- ② 组间比较: 定量数据根据正态性检验结果, 采用 t 检验 (2 组)、方差分析 (≥ 3 组) 或秩和检验; 定性数据采用卡方检验或 Fisher 确切概率法。
- ③ 预后研究中, 以患者死亡或复发作为结局事件, 绘制 Kaplan-Meier 生存曲线, 采用 Log-rank 检验比较不同 *TLR2* 启动子区 5hmC 含量的患者复发和生存曲线的差异。以 Cox 比例危险度模型, 调整患者年龄、性别、肿瘤组织学分型、直径、TNM 分期及术后治疗等影响因素后, 计算危险度比 (HR) 及其 95% 可信区间, 评估 *TLR2* 启动子区 5-hmC 含量及基因表达水平与胃癌术后复发和总生存的关系。

技术路线



关键技术

- (1) 胃癌组织中 *TLR2*, *TET1*, *TET2* 蛋白染色及阳性界值的确定
- (2) *TLR2* 基因启动子区 5-hmC 含量测定

(4) 本项目的特色与创新之处。

- (1) 依托项目组的大型胃癌人群队列，本研究将首次探讨中国人群中基因 *TLR2* 启动子区 5-hmC 表达含量与胃癌发生发展及预后的关系，并且从 mRNA 和蛋白水平探讨 5-hmC 表达含量与基因 *TLR2* 表达水平的关系。
- (2) 在人群数据的基础上，本研究通过在胃癌细胞系中敲除或过表达 *TET1/TET2*，检测 *TET1/TET2* 表达水平变化对基因启动子区 DNA 羟甲基化及 *TLR2* 表达水平的影响，探究胃癌中 *TET1/TET2* 介导的基因启动子区羟甲基化对于基因 *TLR2* 表达的调控机制，将为胃癌中基因表达的调控机制研究、相关靶向药物开发及实现精准医疗提供新思路。

二、项目成果提供形式及考核指标

本项目完成下列考核指标之一：（此部分不允许改变）



- 1、获得国家自然科学基金青年基金项目资助
- 2、发表 sci 论文 1 篇 √
- 3、如未完成考核指标，将取消任何限项申报项目的立项资格
(请项目负责人在所选考核指标后打“√”)

三、项目计划进度及目标

年度研究计划

(1) 2020 年 7 月 1 日-12 月 31 日

- ①从胃癌队列中依据纳入标准和所需样本量抽取研究对象，并整理基本信息和临床资料；
- ②完成组织样本的免疫组化组织芯片制作和 DNA 提取；
- ③完成组织标本中 *TLR2*, *TET1*, *TET2* mRNA 表达水平和蛋白表达水平的检测。

(2) 2021 年 1 月 1 日-6 月 30 日

- ① 设计基因 *TLR2* 启动子区 qGluMS-PCR 引物；
- ② 提取细胞系中 DNA，测定细胞中 *TLR2*, *TET1*, *TET2* 的表达水平；
- ③ 测定组织标本和细胞系中基因 *TLR2* 启动子区 CpG 岛 5hmC 表达含量

(3) 2021 年 7 月 1 日-12 月 31 日

- ① 构建通过 *TET1/TET2* 敲除或者过表达胃癌细胞系
- ② 完成细胞系中 *TLR2* 表达水平的检测；
- ③ 分析、总结所有研究数据，得出研究结论

(4) 2022 年 1 月 1 日-6 月 31 日

- ①总结课题并且进行成果交流
- ②撰写论文及投稿
- ③撰写研究结题报告

预期研究成果

(1) 理论成果：明确 *TLR2* 启动子区羟甲基化表达含量与胃癌的发生发展及预后的关系，并探讨胃癌中 *TET1/TET2* 介导 *TLR2* 启动子区羟甲基化修饰对该基因表达情况的调控作用，为进一步探索胃癌的机制提供理论依据。

(2) 论文：发表研究成果 1 篇。



- (3) 人才培养：培养研究生 1-2 名。
- (4) 学术交流：参加全国会议及国际会议，交流学术成果。

四、项目负责人承诺

我接受**吉林大学第一医院青年基金项目**的资助，将根据申请书提出的研究方案及内容负责实施本项目，严格遵守《吉林大学第一医学院青年发展基金管理办法》的规定使用项目经费，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。

项目负责人（签字）：

二〇二〇年 月 日

五、吉林大学第一医院资助意见

同 意

学院负责人（签字）：

（公章）

二〇二〇年 月 日