

项目编号: 1920001001163

专题名称: 医学类科技攻关项目

188

技术领域:

其他

# 佛山市科技创新项目 自筹经费类科技计划项目 合同书

(2019年)

项目名称: 妊娠期糖尿病患者肠道菌群改变与GLP-1的相关性分析

申报单位: 佛山市南海区人民医院

通讯地址: 佛山市南海区佛平路40号

邮政编码: 528200

单位电话: 075781210511

传真: /

项目负责人: 梁蕴谊

联系电话: 075781210511

手机: 18902808088

项目联系人: 梁蕴谊

联系电话: 075781210511

手机: 18902808088

电子邮箱: 18902808088@189.CN

组织单位:

佛山市科学技术局

申报日期: 2019年05月22日

佛山市科学技术局

二〇一九年制

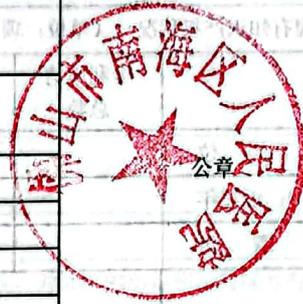


## 一、项目承担单位基本信息

单位 基本 信息	单位名称	佛山市南海区人民医院				
	统一社会信用代码	12440605708114783W				
	单位地址	佛山市南海区佛平路40号				
	开户银行	佛山市南海农商银行桂城支行				
	邮政编码	528200	信用等级	AAA		
	法人代表	张松平	身份证号码			
	联系电话	13727773366	电子邮箱	451163202@qq.com		
	传真		网站地址			
	单位性质	事业单位	单位特性	其他		
	职工总数		技术人员	1421		
	姓名	职务	职称	电话	手机	电子邮箱
单位负责人	张松平	院长	主任医师	0757-86331070	13727773366	451163202@qq.com
科研管理人	檀谊洪	科教科科长	副主任医师	0757-86331070	18607575805	451163202@qq.com
经济效益和科研投入						
年产值	100000	万元	年销售额	90000	万元	
出口创汇	0	万美元	年利税	190	万元	
年份	指标	销售收入 (万元)	研发投入 (R&D万元)	研发投入占 销售收入的比例(%)		
2018		100000	700			
2017		90000	600			
以上单位信息真实无误，接受监督。						
法定代表人签字			日期: 2019年 10月		公章	



其它参与单位信息	
单位 1 名称	佛山市南海区人民医院
单位地址	佛山市南海区佛平路40号
单位性质	事业单位
统一社会信用代码	12440605708114783W
联系人	张松平
电话	13727773366
单位 2 名称	
单位地址	
单位性质	
统一社会信用代码	
联系人	
电话	



1920001001163-01



二、知识产权（成果）状况表

单位拥有知识产权状况：（单位：项）							
	专利申请 总数	专利授权 总数	发明 申请	发明 授权	实用新型 申请	实用新型 授权	软件著作权
单 位							
其中：近三年							
课 题 组							
其它知识产 权状况说明							
项目技术及知识产权状况：（单位：项）							
项目阶段							
技术水平							
合作单位性质							
技术来源							
项目已有知识 产权状况	专利申请 总数	专利授权 总数	发明 申请	发明 授权	实用新型 申请	实用新型 授权	软件著作权
其它需要说明的问题：							

1920001001163-01

## 三、申请项目基本情况表

项目基本信息:	
项目名称	妊娠期糖尿病患者肠道菌群改变与GLP-1的相关性分析
项目起止日期	2020年1月1日-2021年12月31日
查新情况	国内未见相关报道
项目优势	研究肠道菌群的改变与GLP-1的相关性有助于进一步阐明GDM的发病机理,对GDM的防治和预后都具有重要意义、并可为临床评价GDM提供一种新的敏感指标。而通过益生菌提高GDM患者体内GLP-1的表达,进而更安全的控制血糖。
关键字	妊娠期糖尿病(GDM) 肠道菌群 胰高血糖素样肽-1(GLP-1)
项目内容摘要	
<p>一、研究基础:</p> <p>妊娠期糖尿病GDM的发病率呈现出逐年增高趋势,但发病机制复杂,尚未完全明确。深入研究肠道菌群的改变与GLP-1的相关性有助于进一步阐明GDM的发病机理,对GDM的防治和预后都具有重要意义、并可为临床评价GDM提供一种新的敏感指标。GLP-1只有血糖升高时才能发挥促进胰岛素分泌作用,在血糖正常或偏低时不会促进胰岛素分泌、不会导致低血糖的发生,此安全性特点,使其更适合用于GDM这种既要求更严格的血糖数值同时又强调血糖平稳安全的疾病治疗中。本试验可通过对GDM患者与正常孕妇肠道菌群的对比分析,了解菌群的差异,获得直接指向提高GLP-1表达的肠道细菌,进而通过益生菌提高GDM患者体内GLP-1的表达,进而更安全的控制血糖。</p> <p>二、研究目标:</p> <p>以二代测序法研究GDM患者肠道菌群和构成及分布丰度的差异,ELISA法研究GDM患者血中GLP-1的浓度差异作为关键技术,研究妊娠期糖尿病(GDM)患者肠道菌群的改变与GLP-1的相关性。</p> <p>三、研究内容:</p> <p>在确诊GDM与NDM孕妇中,各随机抽取30人,进入观察组(GDM组)与对照组(NDM组)。</p> <p>1、每次留取新鲜病人大便,待全部样品收集完成统一送公司做16s rDNA测序。</p> <p>2、常规产检项目:OGTT血糖(0h、1h、2h)、糖化血红蛋白,血清胰岛素/C肽(0h、1h、2h)、低密度脂蛋白(LDL)、尿酸(UA)、血红蛋白(Hb)。</p> <p>3、GLP-1(0h、1h、2h):每次静脉采集2毫升血,离心后去血清置于-80冰箱中保存,待全部样品收集完成后取出做ELISA检测。</p> <p>4、记录并统计:妊娠周数,身高,体重,BMI,血糖(0h、1h、2h),尿酸,血脂,糖化血红蛋白,血胰岛素/C肽(0h、1h、2h),GLP-1(0h、1h、2h)。</p> <p>四、拟解决关键问题:</p> <p>1、二代测序法研究不同人群肠道菌群和构成及分布丰度的差异</p> <p>2、ELISA法研究不同人群血中GLP-1的浓度差异</p> <p>五、预期结果:掌握GDM患者肠道菌群改变与GLP-1的相关性,获得直接指向提高GLP-1表达的肠道细菌,进而通过益生菌提高GDM患者体内GLP-1的表达,进而更安全的控制血糖。</p>	



## 项目组主要成员（包括项目负责人）：

编号	姓名	学历	身份证号码	职务	职称	分工	所在单位（全称）	签字
1	梁蕴谊	本科	44068219770608632X	无	副主任医师	项目负责人	佛山市南海区人民医院	梁蕴谊
2	李惠贤	硕士	44068219791230325X	无	副主任医师	数据收集、分析	佛山市南海区人民医院	李惠贤
3	谭静仪	本科	440682197812233629	无	主管护师	信息登记、标本采样收集	佛山市南海区人民医院	谭静仪
4	舒毅	硕士	433001197302010839	无	主任医师	项目指导、数据分析	佛山市南海区人民医院	舒毅
5	梁慰强	硕士	440902198603150076	无	主治医师	GDM入组、数据分析	佛山市南海区人民医院	梁慰强
6	谢佩	硕士	432524199201256725	无	住院医师	GDM入组、数据分析	佛山市南海区人民医院	谢佩
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								



## 四、主要内容和拟达到的主要社会、经济指标以及将提供的成果及形式

## 1、概述立项的目的意义，行业现状和发展趋势，项目创建的前景预测及对佛山相关产业或行业的推动作用

## 1、立项的目的意义：

GDM发病机制复杂，深入研究肠道菌群的变化与GLP-1的相关性有助于进一步阐明GDM的发病机理，对GDM的防治和预后都具有重要意义、并可为临床评价GDM提供一种新的敏感指标。

GLP-1只有血糖升高时才能发挥促进胰岛素分泌作用，在血糖正常或偏低时不会促进胰岛素分泌、不会导致低血糖的发生，此安全性特点，使其更适合用于GDM这种既要求更严格的血糖数值同时又强调血糖平稳安全的疾病治疗中。本试验可通过对GDM患者与正常孕妇肠道菌群的对比分析，了解菌群的差异，获得直接指向提高GLP-1表达的肠道细菌。进而通过益生菌提高GDM患者体内GLP-1的表达，进而更安全的控制血糖。

## 2、行业现状和发展趋势

## 2.1 妊娠期糖尿病国内外现状

GDM的发病率呈现出逐年增高趋势，最新统计GDM发病率为13.20%。但GDM发病机制复杂，尚未完全明确。糖尿病孕妇的临床经过复杂，病情较重或血糖控制不良者，对母儿影响极大，母儿近、远期并发症仍较高，必须引起重视。

## 2.2 GLP-1（胰高血糖素样肽-1）

目前GLP-1在GDM病理生理过程中发挥何作用尚无统一意见。推测胃肠激素可能参与了GDM的发病过程。有研究发现，相对于血糖水平，GDM患者在妊娠期间和分娩后的GLP-1分泌不足。Bonde等指出，孕妇餐后GLP-1水平降低，且GDM患者降低水平最为明显，但分娩后随着血糖稳态的重建，餐后GLP-1分泌逐渐趋于正常[7]。Kosinski等的研究证实，GDM患者中GLP-1水平的降低是可逆的[8]。GLP-1水平变化的原因可能是与胰岛素抵抗（Insulin Resistance, IR）血糖水平有关。但不能排除GLP-1水平变化可能参与了GDM的发生、发展。有研究发现，GDM孕妇GLP-1分泌存在延迟反应的倾向，不排除其存在GLP-1抵抗现象。而刘亚辉等在初发T2DM患者中也观察到GLP-1分泌存在延迟倾向[9]。提示GDM患者与初发T2DM患者GLP-1分泌规律有相似之处。GLP-1通过调节胰岛素分泌、食欲、能量代谢等多方面发挥重要作用，同时还参与IR，与胰岛素敏感性密切相关。深入研究GLP-1有助于进一步阐明GDM的发病机理，对GDM的防治和预后都具有重要意义，并可为临床评价GDM提供一种新的敏感指标。

## 2.3 肠道菌群

有研究发现，孕妇在妊娠期额外补充鼠李糖菌株(10CFU)和乳双歧杆菌菌株(10m CFU)，相比食用一般正常健康饮食的孕妇，糖耐受量得到改善，糖化血红蛋白水平下降。另有研究表明，从怀孕到分娩后12个月额外补充益生菌，降低了胰岛素浓度，改善了胰岛素的敏感性[16]。益生菌抗糖尿病的机制还没有被完全阐明，但可能与减少氧化应激，调节免疫反应，减少炎症反应，调节肠道菌群有关。此外，益生菌还可以降低餐后血脂水平，改善抗氧化剂的吸收，这些特性与氧化应激有关。

## 2.4 GDM与肠道菌群、GLP-1

有研究认为，GLP-1可作用于胃肠道引起的肠蠕动的改变，而蠕动的改变可引起肠道菌群的变化，且临床和动物研究均显示T2DM患者或小鼠胃肠旁路手术后，GLP-1水平变化与肠道菌群变化存在一定的相关性，因此，推测GLP-1可能可以通过对肠道菌群数量、结构等的调节起到调控血糖的作用。也有研究认为，GLP-1可能通过增加大鼠肠道菌群物种的多样性[17]，同时提高乳酸菌、双歧杆菌等益生菌比例，从而起到调控血糖的作用。各项研究均为更全面阐释GLP-1降糖作用机制，并为后续GLP-1基础上GDM治疗靶点和治疗药物的研究提供可靠的实验依据。

## 3、项目创建的前景预测

目前GDM递增速度之快难以用遗传因素解释，因此推测环境因素可能起更重要的作用。肠道菌群构成了环境因素的重要组成部分。而作为胃肠激素最重要代表的GLP-1也可能参与了GDM的发病过程。胃肠道菌群与胃肠道激素同根同源，密不可分，相互影响、制约，共同参与了GDM的发生发展转归。

## 4、对佛山相关行业推动作用

本项目阐明妊娠糖尿病人肠道菌群变化与血中GLP-1浓度相关性，进一步阐明GDM的发病机理，对GDM的防治和预后产生重要意义，为医疗行业临床评价GDM提供一种新的敏感指标。对节省医疗资源、优生优育都有深远意义。



## 2、概述本项目的主要任务、目标、服务内容和对象、组织形式

(服务内容包括提供技术研发、技术转让、测试服务、成果转化与推广、人才培训、提供仪器设备等科研条件服务,根据考核要求,需按年度分解)

## 主要任务和目标

以二代测序法研究GDM患者肠道菌群和构成及分布丰度的差异, ELSIA法研究GDM患者血中GLP-1的浓度差异作为关键技术, 研究妊娠期糖尿病(GDM)患者肠道菌群的改变与GLP-1的相关性。

## 研究内容:

## 1、二代测序法研究不同人群肠道菌群和构成及分布丰度的差异

(1) 通过高通量二代测序手段对正常妊娠人群与妊娠糖尿病患者粪便进行菌群结构组成测序分析, 首先得到所需的原始系列数据。

(2) 将原始系列数据进行筛选, 生成OUT(操作分类单元), 然后用相关软件对相似度达97%的OTU进行相似性曲线、菌群多样性及丰度分析。

(3) 根据细菌分类学方法, 分析各个样品之间的OTU组成, 运用统计软件及相关统计方法统计观察各个样本及不同组间肠道菌群的分类学差异及与疾病的相关性。

## 2. ELSIA法研究不同人群血中GLP-1的浓度差异

(1) 通过离心获得正常妊娠人群与妊娠糖尿病患者血清。

(2) 将血清加入酶标板中包被过夜。

(3) 次日弃去上清, 加入兔抗GLP-1一抗, 孵育1小时。

(4) 弃去上去, 加入羊抗兔二抗, 孵育1小时。

(5) 加入显色液显色后加入终止液, 酶标仪读数后分析。

## 研究对象:

根据《妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)》诊断标准, 产科门诊筛查GDM。从明确GDM诊断标准的患者中随机抽取30人, 即GDM组(观察组): 30人; 随机抽取正常无妊娠期糖尿病诊断的孕妇30人作为对照组, NDM组(对照组): 30人。

## 入组标准:

(1) 年龄: 18-45岁, 女性, 文化程度不限。

(2) 符合GDM诊断标准: 根据《妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)》诊断标准, 于妊娠24-28周, 75g无水葡萄糖行口服葡萄糖耐量试验(Oral Glucose Tolerance Test, OGTT)筛查, 服糖前及服糖后1小时、2小时, 3项血糖值其中任何一项血糖值达到或超过5.1、10.0、8.5 mmol/L(92、180、153 mg/dl)。

(3) 自愿参加本研究, 填写知情同意书者。

## 组织形式

## 1、GDM筛查:

1.1、妊娠24周, 产科门诊OGTT。

1.2、在确诊GDM与NDM孕妇中, 各随机抽取30人, 进入观察组(GDM组)与对照组(NDM组)。

1.3、GDM诊断标准(见入组标准)。

## 2、入组评估及记录(妊娠24周):

2.1、签署知情同意书。

2.2、基本信息: 个人身份, 联系方式等。

2.3、一般情况: 既往病史, 过敏史, 月经史, 生育史, 家族史, 药物使用史, 饮食情况, 行为习惯等。

2.4、体查及辅助检查记录: 体重、身高、体质指数(BMI)、血压、OGTT血糖(0h、1h、2h)、低密度脂蛋白(LDL)、尿酸(UA)、血红蛋白(Hb)、糖化血红蛋白(HbA1C)、血清胰岛素/C肽(0h、1h、2h)、尿常规;

2.5、有选择性记录: 尿微量白蛋白(ACR)、血肌酐(Cr)、产检甲功5项(TSH、FT3、FT4、TPOAb、TGAb)、胎儿B超、眼底。

## 3、标本留取:

3.1、留取粪便: 每次留取新鲜病人大便10~15g于EP管中, 置于-80℃冰箱中保存, 待全部样品收集完成统一送公司做16s rDNA测序。

## 3.2、取血:

3.2.1 常规产检项目: OGTT血糖(0h、1h、2h)、糖化血红蛋白, 血清胰岛素/C肽(0h、1h、2h)、低密度脂蛋白(LDL)、尿酸(UA)、血红蛋白(Hb)。



3.2.2 GLP-1 (0h、1h、2h)：每次静脉采集2毫升血，离心后去血清置于-80冰箱中保存，待全部样品收集完成后取出做ELISA检测。

4、记录并统计：  
妊娠周数，身高，体重，BMI，血糖 (0h、1h、2h)，尿酸，血脂，糖化血红蛋白，胰岛素/C肽 (0h、1h、2h)，GLP-1 (0h、1h、2h)。

1920001001163-01



## 3、概述本项目实施要达到的经济、社会效益情况（内容需与“五、项目验收考核指标”一致或补充说明）

本项目以社会效益为主，因为GDM是妊娠期最常见的并发症之一，GDM不仅与围产期母、儿并发症的发生密切相关，而且孕产妇和新生儿远期发生代谢性疾病的风险也明显升高。GDM的控制水平是我市妇幼保健事业的重要环节。对节省医疗资源、优生优育都有深远意义。故社会效益远大于经济效益。

本项目技术体现在：

- 1、从机制上分析阐明GDM的发病机理，对GDM的防治和预后都具有重要意义
- 2、GLP-1有效、安全性高，尤其在对血糖要求更为严格的GDM领域，值得临床深入研究。
- 3、通过菌群的对比分析，获得直接指向提高GLP-1表达的肠道细菌，提高GDM患者体内GLP-1的表达，进而更安全的控制血糖。
- 4、为临床评价GDM提供一种新的敏感指标。
- 5、经查证，尚无在GDM领域研究肠道菌群与GLP-1关系的研究。

本项目完成时达到：1、阐明妊娠糖尿病人肠道菌群变化与血中GLP-1浓度相关性，进一步阐明GDM的发病机理，对GDM的防治和预后产生重要意义，为临床评价GDM提供一种新的敏感指标。2、发表国家级期刊论文1篇，争取发表SCI论文0~1篇。

1920001001163-01



## 4、概述工作基础和支撑条件，包括承担单位基本情况、与本项目相关的前期成果、团队建设、设备购置和其他保障措施

## 工作基础和支撑条件：

佛山市南海区人民医院是一所大型三级甲等综合型医院，有健全及精细的分科并具有雄厚实力。其中内分泌科、妇产科在佛山地区均处于领先地位。

我院内分泌科独立分科14年，是佛山地区最早独立的内分泌科室；目前日常开放床位数为57张，年住院病人2000人次，年门诊10万人次，现科室不断发展已经成为佛山地区规模最大、出院病最多、治疗水平领先的内分泌科之一，在同行中具有较高的知名度。我科是妇产科GDM诊治的坚强后盾，GDM的年就诊人数达3000人次。

在糖尿病治疗方面，采用国际领先的胰岛素泵持续皮下胰岛素输注（CGM）结合动态血糖监测系统（CSII）、糖尿病信息管理（Carelink）组成3“C”强化胰岛素强化治疗模式，进行糖尿病个体化和规范化治疗。糖尿病治疗与国际最新治疗接轨：应用新型糖尿病治疗药物GLP-1 肠促胰素类似物药品（艾塞那肽注、利拉鲁肽等）有非常丰富经验。

在糖尿病健康宣教方面，我院内分泌科在佛山市率先开办糖尿病学校，并成立糖尿病健康俱乐部，每月定期举办糖尿病公益讲座，长期对糖尿病患者进行电话随访，并进行糖尿病患者遵医情况调查。我科于2018年成为广东省糖尿病专科护士培训基地。

科室承担市厅级以上各级科研立项18项，获南海区科技进步奖二次。《南海地区糖尿病患者遵医情况的调查》已由佛山市科技局组织专家鉴定，该研究成果达到国内先进水平。省科技厅项目《CHOICE管理模式对1型糖尿病青少年患者依从性的影响》成功结题。

## 与项目有关的成果和团队建设

项目负责人，梁蕴谊：佛山市南海区人民医院内分泌科副主任医师，从事内分泌与代谢性疾病专科工作15年。亚专业方向：妊娠相关内分泌疾病诊治，1型糖尿病诊治。有带领团队完成佛山市科技局、卫生局课题的经验。

## 代表性文章与GDM相关的前期研究：

1. Liang Y, Shu Y, Luo H. Correlation between CDKAL1 rs10946398C>A single nucleotide polymorphism and type 2 diabetes mellitus susceptibility: A meta-analysis [J]. Open Life Sciences, 2017, 12:506-514.
2. 梁蕴谊, 李惠贤, 舒毅等. 多学科模式在妊娠期糖尿病管理中的运用[J]. 健康之路. 2018, 9(17):382-383.
3. 梁蕴谊, 陈幼萍, 李惠贤, 等. 三种方法治疗多囊卵巢综合征的效果对比分析[J] 实用妇科内分泌杂志（电子版）, 2016, 3(13): 14-16
4. 梁蕴谊, 陈幼萍, 李惠贤, 等. 胰岛素泵联合动态血糖监测系统在治疗中老年2型糖尿病的临床应用观察[J] 实用糖尿病杂志, 2012, 8(2): 63-64.
5. 梁蕴谊. 甲状腺相关性眼病与甲状腺自身抗体的关系[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(2):113-114.
6. 梁蕴谊, 陈幼萍, 曾春平, 等. 妊娠期糖代谢异常的危险因素分析[J]. 中国医药导报. 2011, 8(18):150-151.
7. 梁蕴谊, 黄知敏, 卫国红, 等. 两种体位激发试验对醛固酮瘤的诊断价值[J]. 新医学. 2010, 41(12): 780-782.

## 已结题项目以及有关GDM的前期研究：

1. 胰岛素泵联合动态血糖监测系统在治疗中老年2型糖尿病的临床应用观察. 项目编号2011246, 项目负责人, 已结题.
2. 多学科协作模式在妊娠期糖尿病管理中的作用. 项目编号2015AB000472, 项目负责人, 已结题.



5、其他需要说明的问题（潜在的风险和防范措施，对环境的影响及预防治理方案等）

本项目实施难度不大，风险较小。

本项目组成员主要由临床医生、护士、研究人员组成，专业知识搭配互补，学科组成合理，可有效保证项目的顺利完成。

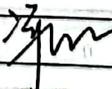
1920001001163-01



## 五、项目验收考核指标

1. 知识产权情况		0		件					
(1) 发明专利	申请	0	件	实审	0	件	授权	0	件
(2) 实用新型	申请	0	件	授权	0	件	(5) (软件) 著作(版权)	0	件
(3) 外观设计	申请	0	件	授权	0	件	(6) 动植物新品种	0	件
(4) 外国专利(国际专利)	申请	0	件	授权	0	件	(7) 集成电路布图设计	0	件
(8) 商标		0	件						
2. 标准(标准草案和形成技术标准水平)		0		件					
(1) 国际标准		0	件	(4) 地方标准		0	件		
(2) 国内标准		0	件	(5) 企业标准		0	件		
(3) 行业标准		0	件						
3. 成果情况		0		件					
(1) 新产品(含农业新品种)		0	项	(5) 计算机软件		0	套		
(2) 新装置(装备)		0	台	(6) 中试线		0	条		
(3) 新工艺(或新方法模式)		0	种	(7) 生产线		0	条		
(4) 新材料		0	种						
4. 发表科技论文		1	篇	其中中文统计源 1 篇, 中文核心 0 篇, SCI 0~1 篇。					
编写论著		0	篇						
5. 经济考核指标									
(1) 预计新增产值		0	万元	(3) 预计净利润		0	万元		
(2) 预计出口创汇		0	万美元	(4) 预计税金总额		0	万元		
6. 人才引进、培养情况									
人才引进		0	人	专利管理人员		0	人		
博士后		0	人	博士		0	人		
硕士		0	人	技术人员		0	人		
高级		0	人	中级		0	人		
人才培养		0	人	专利管理人员		0	人		
博士生		0	人	硕士生		0	人		
高级		0	人	中级		0	人		
7. 技术引进情况		0	项	主要技术名称		0			



8、获国家、省级项目情况				
获国家立项项目数	0	项	获国家项目经费	0 万元
获省级立项项目数	0	项	获省级项目经费	0 万元
获市级立项项目数	2	项	获市级项目经费	0 万元
9、提供科技或知识产权等服务情况, 累计 0 服务次数				
(1) 服务企业数	0	家数	(3) 培训/讲座/咨询等服务数	0 次数
(2) 为企业/单位服务数	0	次数	(4) 社会或其他服务数	0 人数
10、建设情况, 累计 0 个				
(1) 技术研发/检验/检测/认证/服务机构	0	个	(5) 组建/升级的孵化器	0 个
(2) 省级以上技术研发/检验/检测/认证/服务机构	0	个	(6) 组建/升级的工程中心	0 个
(3) 组建/升级的实验室、工程中心	0	个	(7) 基地/示范点	0 个
(4) 获得资质认证	0	个	(8) 场地面积	0 平方米
11、成果登记和应用情况, 累计 2 项				
(1) 成果登记	0	项	(3) 成果转化/许可	0 项
(2) 成果应用/实施	2	项		
其他成果及形式说明、上述成果的补充说明:				
<p>曾获2项市级立项:</p> <p>2011年市卫生局立项: 胰岛素泵联合动态血糖监测系统在治疗中老年2型糖尿病的临床应用观察. 项目编号2011246, 项目负责人, 已结题。</p> <p>2015年市科技局立项: 多学科协作模式在妊娠期糖尿病管理中的作用. 项目编号2015AB000472, 项目负责人, 已结题。</p>				
<p>项目负责人(签章):  2019年10月9日</p>				



## 六、经费情况表

经费筹集情况:								(单位: 万元)	
总投入经费: 2.4									
	自有资金	银行贷款	境外资金	政府部门			本专项资金	其他	合计
				省级以上	区配套	镇街配套			
已投入经费							0		
新增经费							0		
政府部门、境外资金及其他资金投入情况说明:									
新增经费预算 (单位: 万元)									
支出经费	总经费			其中本专项资金					
	经费额	用途说明	经费额	用途说明					
1、基建费	0		0						
2、设备费	0		0						
3、材料费	0.4	GLP-1试剂盒等	0						
4、测试化验加工费	1.8	测序费	0						
5、燃料动力费	0		0						
6、差旅费	0		0						
7、培训会议费	0		0						



8、国际合作与交流费	0		0
9、出版/文献/知识产权事务费	0.2	版面费	0
10、租赁费	0		0
11、人员费	0		0
12、专家咨询费	0		0
13、项目管理费	0		0
14、其它(具体说明)	0		0
合计	2.4		0

对预算需细化或补充的说明:

项目负责人(签章):  2019年10月9日

注释:

1. 材料费: 包括元件、材料、试剂、配套设备部件等费用。
2. 研发设备购置费: 包括试验分析仪器、测试设备、工艺装备购置等费用
3. 其中: 填写在支出科目中所占比例较大, 需做特别说明的经费开支。

1920000101163-01



七、项目计划进度

起止时间	主要工作内容
2020年1月 - 2020年2月	GLP-1试剂盒订购
2020年3月 - 2020年9月	病例收集、入组、标本采集
2020年4月 - 2020年9月	血液标本GLP-1测定
2020年5月 - 2020年9月	粪便标本送检肠道菌群检测
2020年9月 - 2020年12月	数据统计, 分析, 文章发表
2021年1月 - 2021年6月	成果汇报, 申请结题

19200010001163-01



## 八、主申报单位及参与单位分工及经费分配情况

主申报单位	佛山市南海区人民医院			(盖章)
工作分工	1、建立研究方案、团队 2、病例收集、分组、标本采集、送检 3、二代测序法检测肠道菌群和构成及分布丰度的差异 4、ELISA法检测不同人群血中GLP-1的浓度差异 5、数据统计、分析、发表文章			
新增经费预算分配情况	总经费(万元)	2.4	本专项经费(万元)	0
参与单位1				(盖章)
工作分工				
参与单位2				(盖章)
工作分工				
新增经费预算分配情况	总经费(万元)		本专项经费(万元)	0
其他单位名称(多个单位; 分隔)				(盖章)
工作分工				
新增经费预算分配情况	总经费(万元)		本专项经费(万元)	0



九、本申请项目所附附件清单

附件名称	是否必须
<b>一、申报和参与单位信息类</b>	
1. 单位注册登记证照（工商营业执照、事业单位法人证书等）	
2. 组织机构代码证	
3. 税务登记证（副本）	
<b>二、人员信息类</b>	
1. 单位法定代表人身份证	
2. 项目负责人证明材料	是
3. 项目组成员证明材料	是
<b>三、单位财务信息类</b>	
1. 本单位上年度审计报告、企业损益表、资产负债表	
2. 本单位上年度研究开发经费支出明细帐	
3. 增值税纳税申报表（或营业税纳税申报表）	
4. 企业所得税年度纳税申报表	
5. 单位信用等级报告	
<b>四、单位资质荣誉类</b>	
1. 高新技术企业证书	
2. 各类获奖证书	
3. 相关行业生产许可证明文件	
4. 管理、质量、环保、安全等认证证书	
<b>五、技术成果类</b>	
1. 专利成果证明（包括：专利证书、申请受理文件等）	
2. 科技成果鉴定证书	
3. 知识产权检索报告	
4. 检测报告	
5. 查新证明	是
6. 新药证书	



7. 生物新品种、农产品、农药登记证	
8. 列入国家计划文件或证书	
9. 用户意见	
六、其它类别	
1. 可行性报告	是
2. 申报材料真实性承诺函	是
3. 合作协议	
4. 其他	

1920001001163-01

（此处为项目描述或申报内容的详细填写区域，包含多行空白表格线）



审核意见

申报单位意见

法人代表（签章）：



项目负责人（身份证号码：44068219770608632X



) 签章

区科技主管部门意见

负责人：



预审通过，请按要求提交纸质申报材料。

市科技局

联系科室：

联系电话：



项目编号：2021R01002

立项年度：2021

## 深圳市光明区软科学研究项目合同书



项目名称：壁蛻膜干细胞外泌体治疗糖尿病肾病机制研究

申报类别： 教育科技研究活动  医疗卫生科技研究活动（二选一）

学科类别：干细胞治疗糖尿病并发症

管理单位（甲方）：深圳市光明区科技创新局

承担单位（乙方）：中国科学院大学深圳医院（光明）

乙方法定代表人姓名：徐志明 联系电话：27165666-8610

乙方项目负责人姓名：蔡祥胜 职务：助理研究员

身份证号：441323198001290012 手机号码：19129318062

乙方项目联系人姓名：蔡祥胜 职务：助理研究员

身份证号：441323198001290012 手机号码：19129318062

深圳市光明区科技创新局 制

## 填写说明

1. 深圳市光明区软科学研究项目立项公示下达一个月之内, 签订《深圳市光明区软科学研究项目合同书》(以下简称《合同书》)。

2. “项目编号”由“立项年度+R+01 或 02+三位立项序号”构成, 其中“R”代表“软科学”, “01”代表“卫生系统”, “02”代表“教育系统”, “三位立项序号”代表三位数立项公示中的序号。如2021 年立项公示中卫生系统第一个立项项目, 其立项编号为“2021R01001”。

3. 《合同书》中的各项内容, 除“研究计划”起止时间和“经费预算”分别按本合同项目执行期和甲方拟资助额度填写外, 其他内容须依据报送的《光明区软科学研究项目申请书》如实填写, 不得随意变更; 如有变化, 请附说明。

4. 涉及科研伦理与科技安全(如生物安全、信息安全等)的项目, 项目申报单位及申报人应当严格执行国家有关法律法规和伦理准则, 依法取得批准文件并作为附件提供。

5. 《合同书》各表填写不下时, 可自行加页, 并须用 A4 纸正反面打印, 左侧装订。

6. 《合同书》一式两份, 经项目承担单位签署意见并加盖公章后, 报送光明区科技创新局。经光明区科技创新局审核批准后, 作为项目研究计划执行、检查和验收的依据。

## 一、主要条款

根据《光明区经济发展专项资金管理办法》《光明区支持科技创新的若干措施》《光明区软科学研究项目管理实施细则》等文件规定，甲、乙双方为顺利完成壁蛻膜干细胞外泌体治疗糖尿病肾病机制研究项目（填项目名称，以下简称项目），本着诚实信用原则，经协商一致，订立本合同。

**第一条** 在项目执行期内，即2021年7月1日至2023年6月30日，甲方无偿扶持乙方光明区经济发展专项资金（大写）拾伍万元（小写：¥ 15万元）。本合同签订后甲方按上述专项资金金额一次性划拨给乙方。

**第二条** 本项目的具体要求见附列条款。

**第三条** 乙方应按合同要求开展项目，对甲方扶持的经费实行专款专用，单独设立明细科目，按照《光明区经济发展专项资金管理办法》《光明区软科学研究项目管理实施细则》规定的开支范围使用，并如实记帐，不得挪用。

**第四条** 本合同签订后，合同内容未经甲方同意不作调整。乙方不得擅自停止项目实施、变更项目合同内容。

**第五条** 本合同签订后，乙方应在1个月内开题，制定和落实实施方案，并严格按照项目合同中约定的项目执行期要求完成项目研究任务。项目执行期原则上不超过2年。乙方自本合同签订之日起1年内不得提出项目验收申请。若项目到期完成，在项目到期后3个月内乙方必须向甲方提请项目验收并通过验收；若项目不能按期完成，乙方应在项目到期前3个月内向甲方提出延期申请，但延期期限最长不超过1年（自项目到期之日起算）。

**第六条** 项目到期后3个月内乙方未向甲方申请验收或未能通

过验收的，甲方有权取消项目负责人2年内区级科研项目的申报资格，并建议有关部门取消项目前三负责人利用该项目所取得的职称晋升资格。

**第七条** 在项目执行过程中，乙方如发生注册地变更、法定代表人变更、项目组成员变更以及单位经济、法律纠纷等重大事项，乙方应在知道上述事项已经发生或将要发生15日内向甲方提交书面报告，并在合理期限内办理有关信息更新手续。甲方有权根据实际情况决定是否收回已划拨资金，解除本合同，乙方对此不得主张任何索赔并放弃一切抗辩，并由乙方承担双方所产生的损失和赔偿责任。

**第八条** 根据区经济发展专项资金管理需要，甲方有权对项目实施情况进行监督检查和跟踪管理，乙方应当给予配合，并根据甲方要求对项目实施进行评估，并提交评估报告，评估报告须包括项目进展情况、资金使用情况、相关证明材料及甲方要求提供的其他材料。

**第九条** 乙方同意，区相关部门有权对区经济发展专项资金的使用进行监管及对项目绩效进行评价，包括委托或聘请第三方机构对本项目资金使用进行审核监督及对本项目绩效进行独立审计和评价，乙方应当给予配合，并根据区相关部门要求提交资金使用申请（含资金去向、人员费用清单、购买原料或设备发票单据等）、年度财务审计报告、相关的统计调查报表及区相关部门要求提交的其他材料。

**第十条** 项目执行期内，乙方或乙方项目负责人出现下列情况之一的，均视为乙方违约，甲方有权解除合同，取消立项，收回已拨付经费，并通报批评，同时视情节严重性，取消乙方项目负责人2年内区级科研项目的申报资格，并建议有关部门取消项目前三负责人利用该项目所取得的职称晋升资格；构成犯罪的，移交司法机关依法处理。

（一）无正当理由，不按规定按时报送项目进展信息或申请合同

变更。

(二) 未遵守合同规定,擅自停止执行研究计划,或项目合同书签订后1年内未开展实质性研究。

(三) 未在合同执行期限内完成项目内容(含乙方申请延期或终止未获得甲方同意,以及乙方逾期不结题的)。

(四) 拒绝配合甲方或区相关部门委托的机构开展相关审计和评估工作或提供虚假资料或故意隐瞒。

(五) 执行期限到期后,乙方超过3个月未向甲方申请验收或未能通过验收(已办理延期申请者除外)。

(六) 在项目实施、规范经费使用、科研诚信和伦理、安全责任、知识产权侵权、研发成果剽窃等方面出现违反合同约定或有关法律、法规及规章规定。

**第十一条** 项目执行期内,出现下列情况之一的,合同书终止:

(一) 项目已完成验收结题程序和备案的。

(二) 因客观原因导致项目无法实施、未开展实质性研究活动,或者乙方认为确有需要的,可以向甲方申请撤销项目并提供相关佐证材料,经甲方审核同意的,合同书可终止。对客观原因终止的项目,甲方委托会计师事务所进行项目资金专项审计,必要时邀请技术专家予以协助,确定资金追缴额度,并且通知乙方。乙方应当按照甲方终止通知的要求及时上缴相关款项。

**第十二条** 项目实施过程中所取得的研究成果,包括论文、专著、专利、软件等,均需标注“光明区经济发展专项资金”和项目编号。除另有约定以外,本项目所取得科技成果的知识产权归属乙方所有,因履行本合同之合理需要,甲方有权使用。属技术保密的项目,由甲乙双方另行订立技术保密协议,作为本合同的组成部分。

**第十三条** 根据本项目具体情况,经双方协商订立的附列条款将

作为本合同的组成部分，与本合同具有同等法律效力。

**第十四条** 甲乙双方发生争议，应本着协商一致的原则解决；如协商解决不成的，甲乙双方同意提交至甲方所在地人民法院处理。合同需变更或补充时，经双方协商一致，可签订书面补充协议。补充协议与本合同不一致的，以补充协议为准。

**第十五条** 本合同未尽事宜，按照《光明区经济发展专项资金管理办法》《光明区支持科技创新的若干措施》和《光明区软科学项目管理实施细则》的有关规定执行。

**第十六条** 本合同一式二份，双方各执一份，具有同等法律效力。本合同自双方法定代表人或授权代表签字并盖章之日起生效。

## 二、附列条款

### 1. 项目的研究内容、研究目标及拟解决的关键科学问题

1 研究内容 (1) 分离产科废弃的胎盘的壁蜕膜组织块, 通过机械剪切和酶消化的方法, 使干细胞贴附后生长, 后弃去组织块, 培养传代后通过流式细胞仪鉴定表型。鉴定成功后通过大规模培养, 收集培养上清后, 超高速离心, 离心后收集, 部分送公司进行测序分析, 部分留作下步实验使用。

(2) 在糖尿病 db/db 鼠模型上, 采用壁蜕膜干细胞外泌体或携带特异 ncRNA 的慢病毒进行干预, 观察其对糖尿病肾病的保护作用, 观察细胞凋亡和上皮细胞间质化作用, 分析细胞纤维化情况。并观察 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在干预前后的变化情况, 比较外泌体、携带特异 ncRNA 的慢病毒之间的干预效果, 及不同干预剂多个干预时间点的治疗效果。

(3) 通过体外培养 Mouse podocyte 细胞, 利用高糖或终末糖基化蛋白 AGEs 刺激, 并用干细胞外泌体及携带特异 ncRNA 的慢病毒进行干预, 观察干预前后细胞的生存情况和纤维化变化情况, 比较外泌体及携带特异 ncRNA 的慢病毒的干预效果。

(4) 通过体外培养 Mouse podocyte 细胞, 利用终末糖基化蛋白 AGEs 刺激, 并用干细胞外泌体及携带特异 ncRNA 的慢病毒进行干预, 观察干预前后细胞 EMT 通路的该病情况, 比较外泌体及携带特异 ncRNA 的慢病毒的干预效果。

(5) 通过体外培养 Mouse podocyte 细胞, 利用终末糖基化蛋白 AGEs 刺激, 并用干细胞外泌体干预治疗及携带特异 ncRNA 的慢病毒进行干预, 观察干预前后的 Mouse podocyte 上的 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的信号分子 (GSK3 $\beta$ 、 $\beta$ -catenin、p- $\beta$ -catenin) 表达的变化。

2 研究目标 (1) 明确壁蜕膜间充质干细胞外泌体对小鼠糖尿病肾病的治疗作用; (2) 筛选到若干来源于外泌体的对糖尿病肾病有治疗作用的非编码 RNA; (3) 发表论文一篇。

3 拟解决的关键问题 (1) 通过测序和生信分析有效地筛选到若干来源于外泌体的非编码 RNA; (2) 通过动物实验证明外泌体或非编码 RNA 对糖尿病肾的治疗作用; (3) 通过细胞实验证明外泌体或非编码 RNA 对肾脏足细胞 EMT 的逆转作用。

2. 研究计划				
阶段	起止时间	研究内容	资金使用计划	预期目标
第一阶段	2021年7月至 2021年10月	分离培养壁蜕膜干细胞，收集培养上清后，超速离心获得外泌体后，送测序。	6	得到相应的ncRNA (LncRNA或miRNA)的分析库，筛选得到针对Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的ncRNA。
第二阶段	2021年11月至 2022年7月	构建糖尿病肾病动物模型，使用筛选到的ncRNA对应的慢病毒进行干预，收集样品进行检测。	7.75	从动物水平验证筛选得到的ncRNA分子治疗糖尿病肾病的有效性。
第三阶段	2022年8月至 2023年3月	采用高糖和高蛋白损伤足细胞，对细胞进行转染干预，完成TUNEL、免疫荧光、WB等相关实验。	3	从细胞水平验证筛选得到的ncRNA分子的有效性，并阐明相关通路。
第四阶段	2023年4月至 2023年6月	整理实验数据，撰写文章和投稿。	2	文章整理完毕，顺利投稿

## 3. 经费预算

## 3.1 经费来源

经费来源	金额 (万元)	使用计划 (单位: 万元)		
		2021 年 (第一年)	2022 年 (第二年)	2023 年 (第三年)
光明区科技创新局 资助	15	8	5	2
项目单位配套	3.75	2	1.25	0.5
自筹及其他	0	0	0	0
合计	18.75	10	6.25	2.5

## 3.2 计费预算分类细目 (表格行数可增减)

科目	预算经费 (万元)	备注 (计算依据与说明)
一、设备费	0	
1. 设备购置费	0	
2. 设备试制费	0	
3. 设备改造与租赁费	0	
二、材料费	5	
三、测算化验加工费	11.75	
四、燃料动力费	0	
五、差旅/会议/国际合作与交流费	0	
六、出版/文献/信息传播/知识产权 事务费	2	
七、劳务费	0	
八、专家咨询费	0	
九、其他支出	0	
合计	18.75	

4. 研究队伍结构和规模

4.1 主要成员 (表格行数可增减)

人员类别	姓名	性别	专业技术职称	工作单位	项目研究分工	身份证号码	本人签名
第一负责人	蔡祥胜	男	助理研究员	中国科学院大学深圳医院(光明)	项目总管	441323198001290012	蔡祥胜
第二负责人	刘秀	女	主管护师	中国科学院大学深圳医院(光明)	样品制备与样品检测	441481198408131143	刘秀
第三负责人	戴锦程	女	医师	中国科学院大学深圳医院(光明)	动物实验与取材	430923198809206661	戴锦程
其他成员	谭鸿熙	男	主管技师	中国科学院大学深圳医院(光明)	细胞实验	440823198812093334	谭鸿熙
	曾君	男	副主任技师	中国科学院大学深圳医院(光明)	样品检测	513030198412060411	曾君
	项磊	男	主治医师	中国科学院大学深圳医院(光明)	动物实验	342623198404086116	项磊
	杨晓霞	女	主管技师	中国科学院大学深圳医院(光明)	分子生物学实验	440982198808064085	杨晓霞
	王一娜	女	主管技师	中国科学院大学深圳医院(光明)	细胞培养	37132519900109562X	王一娜

4.2 项目组组成单位及分工

序号	单位名称	通讯地址	单位性质 (公立/社会办)	承担任务
1	中国科学院大学深圳医院(光明)	深圳市光明区松白路 4253 号	公立	全部承担

(以下无正文)

(本页为签字盖章页)

管理单位(甲方): 深圳市光明区科技创新局 (盖 章)

通讯地址: 深圳市光明区玉塘街道科润大厦 A 栋 15 楼光明区科技创新局创新促进科 1511 室

法定代表人或授权代表: 徐安华 (签 章)

科室联系电话: 88210473

签署日期: 2021 年 6 月 30 日

承担单位(乙方): 中国科学院大学深圳医院(光明) (盖 章)

通讯地址: 深圳市马田街道松白路 4253 号

法定代表人: 徐志明 (签章) 联系电话: 27165666-8610

项目负责人: 蔡祥生 (签字) 联系电话: 19129318062

联系人: 蔡祥生 (签字) 联系电话: 19129318062

签署日期: 2021 年 6 月 30 日



项目批准号	81701396
申请代码	H0402
归口管理部门	
依托单位代码	51051508A0681-1235



# 国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：青年科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：ITPR3诱导细胞外基质降解在雌激素治疗宫腔粘连中的作用及机制研究

直接费用：20万元                      执行年限：2018.01-2020.12

负责人：蔡慧华

通讯地址：广东省广州市工业大道中253号

邮政编码：510282                      电     话：02061643361

电子邮件：chh2004@126.com

依托单位：南方医科大学

联系人：赵镇                              电     话：020-61648165

填表日期：2017年08月23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”-“管理办法”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：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额。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	蔡慧华	性别	女	出生年月	1987年03月	民族	汉族	
	学位	学士			职称	主治医师			
	电话	02061643361		电子邮件	chh2004@126.com				
	传真			个人网页					
	工作单位	南方医科大学							
	所在院系所	珠江医院							
依托单位信息	名称	南方医科大学					代码	51051508A0681	
	联系人	赵镇		电子邮件	nfykdxchengguo@126.com				
	电话	020-61648165		网站地址	www.fimmu.com				
合作单位信息	单位名称							代码	
项目基本信息	项目名称	ITPR3诱导细胞外基质降解在雌激素治疗宫腔粘连中的作用及机制研究							
	资助类别	青年科学基金项目			亚类说明				
	附注说明								
	申请代码	H0402:女性生殖系统损伤与修复							
	基地类别								
	执行年限	2018.01-2020.12							
	直接费用	20万元							



## 项目摘要

### 中文摘要(500字以内):

宫腔粘连(IUA)作为一种纤维化病变是亟待解决的难题。雌激素可通过上调基质金属蛋白酶9(MMP9)致细胞外基质(ECM)降解,从而抑制IUA,但具体机制不明。前期结果显示:雌激素信号通路中的MMP9和ITPR3在IUA芯片数据均呈低表达;人子宫内膜间质细胞(HESCs)纤维化模型经雌激素干预后,ITPR3和MMP9均上调。文献报道肺成纤维细胞内ITPR3可以调控ECM。因此,ITPR3调控MMP9致ECM降解可能是雌激素治疗IUA的作用机制之一。本研究拟:雌激素干预IUA患者、细胞和动物模型,验证ITPR3参与雌激素抑制IUA进程;HESCs纤维化模型单独过表达或联合雌激素干扰ITPR3,体外验证其受雌激素调控且抑制纤维化;IUA大鼠过表达ITPR3,体内验证其抑制IUA;应用CHIP技术,寻找相关转录因子和信号通路。阐明雌激素治疗IUA的作用机制,为指导临床应用提供理论依据。

**关键词:** 宫腔粘连; 三磷酸肌醇受体3; 细胞外基质; 基质金属蛋白酶9; 雌激素

### Abstract(limited to 4000 words):

Intrauterine adhesions (IUA), a fibrosis disease, remains an urgently clinical challenge for seriously threatening to female reproductive health. Estrogen therapy could inhibit IUA formation via matrix metalloproteinase 9 (MMP9)-inducing extracellular matrix (ECM) degradation, but the mechanism remains elusive. Our primary results showed that: MMP9 and its related gene ITPR3 in the estrogen signaling pathway were down-regulated in IUA gene microarray; Following estrogen treatment, both ITPR3 and MMP9 were up-regulated in human endometrial stromal cells (HESCs) fibrosis. It was reported that ITPR3 produced by lung fibroblast could regulate ECM. Thus, overexpressed ITPR3 results in ECM degradation via regulating the expression of MMP9, which may be one of the mechanisms underlying the estrogen therapy for IUA. To confirm these hypothesis, a series of experiments are designed as: Patients with IUA, cell models and animal models were treated by estrogen respectively, to determine that whether ITPR3 play a role in the estrogen therapy for IUA; ITPR3 gene overexpression or ITPR3 gene interference combined with estrogen therapy in HESCs fibrosis, to determine that whether ITPR3 could be regulated by estrogen and inhibit fibrosis in vitro; ITPR3 gene overexpression in IUA rat model, to determine that whether ITPR3 play a role in the IUA inhibition; Using the method of chromatin immunoprecipitation (CHIP) assay, to explore ITPR3-related transcription factor and signaling pathway. The present study will provide a strong theoretical basis for the mechanisms of estrogen therapy for IUA and clinical guideline for estrogen therapy in IUA.

**Keywords:** intrauterine adhesions; ITPR3; extracellular matrix; MMP9; estrogen



## 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	蔡慧华	1987.03	女	主治医师	学士	南方医科大学	02061643361	441522198703127986	项目负责人	8			
2	王雪峰	1977.01	女	主任医师	博士	南方医科大学	02062782977	230203197701011242	数据统计及分析, 动物模型构建	6			
3	林韧	1986.06	女	医师	博士	南方医科大学	02062787883	350102198606233226	临床样本收集, 病理检测	6			
4	凌苑娜	1987.04	女	医师	博士	南方医科大学	02062783295	44142119870409116X	慢病毒载体构建	6			
5	黄卫妹	1991.05	女	硕士生	学士	南方医科大学	02061643361	452127199105174245	染色质免疫共沉淀实验	10			
6	孙静	1993.02	女	硕士生	学士	南方医科大学	02061643361	420881199302151420	PCR、WB、流式机明胶酶谱实验	10			
7	陈国斌	1982.01	男	博士生	硕士	南方医科大学	02061643361	440306198201060513	细胞感染, 基因干扰及过表达	8			
8	刘丽敏	1982.10	女	博士生	硕士	南方医科大学	02061643361	412727198210050042	动物干预, 基因过表达	8			
总人数		高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
8		1		1		2		0		2		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：81701396

项目负责人：蔡慧华

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目直接费用	20.0000
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)设备改造与租赁费	0.00
6	2、材料费	12.4900
7	3、测试化验加工费	1.7600
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	0.8200
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.65
11	7、劳务费	3.2800
12	8、专家咨询费	0.00
13	9、其他支出	0.00
14	二、自筹资金	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 $\geq 10$ 万元的设备费等内容进行详细说明，可根据需要另加附页。）

**项目资金：20.00万元**

**1、材料费：12.49万元**

(1) 用于细胞培养的试剂：

培养基、血清、胰酶、青链霉素 12000元

(2) 用于建立细胞培养体系的细胞因子：

TGF- $\beta$ 1 1500元/支（5 $\mu$ g） $\times$ 3支=4500元

(3) 用于干预细胞模型的雌激素：

17 $\beta$ -E<sub>2</sub> 1500元/支（1mg） $\times$ 3支=4500元

(4) 用于动物造模的试剂：

脂多糖 300元/支（10mg） $\times$ 4支=1200元

(5) 单克隆抗体及二抗：

用于WB、免疫组化及免疫荧光的抗体，主要有ITPR3、MMP-9、COL1A1、FN；用于CHIP实验的针对转录因子的抗体及阳性对照乙酰化组蛋白H3抗体和阴性对照IgG。

3000元/份（一抗） $\times$ 10份=30000元

1500元/份（二抗） $\times$ 3份=4500元

(6) 蛋白抽提试剂盒及常规实验试剂 3600元

(7) RNA抽提试剂盒及常规实验试剂 3600元

(8) PCR试剂盒（检测ITPR3、MMP-9、COL1A1、FN）

QT-PCR试剂盒 2000元/个 $\times$ 4个=8000元

RT-PCR试剂盒 2000元/个 $\times$ 4个=8000元

(9) CCK8试剂盒 600元/份 $\times$ 4份=2400元

(10) Annexin V-FITC/PI试剂盒 2000元/份 $\times$ 2份=4000元

(11) 慢病毒载体的构建 15000元

(12) 实验耗材：

细胞培养板、培养瓶、冻存管、离心管、注射器、加样枪头等 7600元

(13) 实验动物

实验动物购买 40元/只 × 100只=4000元

实验动物造模 60元/只 × 100只=6000元

实验动物饲养 2元/只.天 × 100只 × 30天=6000元

**2、测试化验加工费：1.76万元**

(1)引物、内参、探针合成 6000元

(2)病理切片、观察和免疫组化、免疫荧光分析 6000元

(3)流式检测细胞周期及凋亡 80元/份.次 × 10份 × 2次=1600元

(4)数据统计及分析 4000元

**3、差旅/会议/国际合作与交流费：**开展科学实验、科学考察、业务调研、学术交流等所发生的外埠差旅费、市内交通费用；组织开展学术研讨、咨询以及协调项目研究工作等活动而发生的会议费用；项目研究人员出国及赴港澳台、外国专家来华及港澳台专家来内地工作的费用。 **0.82万元**

**4、出版/文献/信息传播/知识产权事务费 1.65万元**

(1)文献检索 150元/篇 × 50篇=7500元（平均每篇全文约20余美元）

(2)论文版面费 3000元/篇 × 3篇=9000元

**5、劳务费：直接参加项目研究的研究生劳务费 3.28万元**

硕士生 600元/人.月 × 2人 × 14个月=16800元

博士生 800元/人.月 × 1人 × 20个月=16000元

项目负责人签字：**蔡慧华**



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

<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：81701396），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）：<b>蔡慧华</b> 2017年9月10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: right;">  <p>依托单位（公章） 2017年 月 日 2017-09-20</p> </div>
---	--

本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p> <p style="text-align: center; font-size: 24px; color: blue;">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;"> <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> <tr> <td>金额</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	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 style="text-align: right;">负责人（签章）：<b>吕群燕</b> 2017年1月20日</p>															

本栏目由基金委填写	<p>科学部审查意见：</p> <p style="text-align: center; font-size: 24px; color: blue;">同意科学处意见</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）：<b>孙瑞娟</b> 2017年1月20日</p>
-----------	--

本栏目主要用于重大项目等	<p>相关局室审核意见：</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p>
--------------	---

本栏目主要用于重大项目等	<p>委领导审批意见：</p> <p style="text-align: right;">委领导（签章）： 年 月 日</p>
--------------	--