

合同编号：2017020220-201

# 辽宁省科学技术计划 项目任务合同书 ( 试 行 )

计划类别：社发攻关及产业化

项目名称：夏枯草抑制大鼠蛋白尿分子网络作用机制的研究

项目编号：2017225040

审定推荐单位（甲方）：中国医科大学

项目承担单位（乙方）：中国医科大学





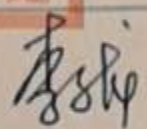
合同起止时间：2018 年 01 月 至 2020 年 12 月

辽宁省科学技术厅 印制



3YG08SJQ08-0

十二、合同各方签约（包括签署意见，签字，盖公章）

甲 方	单位名称	中国医科大学	 (单位公章)
	代表人 (签章)	闻德亮 	
	管理部门 联系人	张蕊	
	联系电话 及传真	024-31939077 024-31939077	
乙 方	单位名称	中国医科大学	 (单位公章)
	法人代表 (签章)	闻德亮 	
	项目负责人 (签章)	李子龙 	
	管理部门 联系人	陈杰	
	联系电话 及传真	024-31939022 024-31939023	

受理编号	201703295
------	-----------

# 辽宁省重点研发计划 项目（课题）申报书

计 划 类 别：社发攻关及产业化

技 术 领 域：生物与医药

所 属 高 新 区：

所 属 特 色 产 业 集 群：

所属国家火炬特色产业基地：

所属国家农业高新园区：

所属国家可持续发展实验区：

申 报 专 题：

项 目（课 题）名 称：夏枯草抑制大鼠蛋白尿分子网络作用机制的研究

项目（课题）负责人（签字）：李子龙

法 定 代 表 人（签字）：闻德亮

项目（课题）申报单位（盖章）：中国医科大学

通 讯 地 址：沈阳市沈北新区蒲河路 77 号

邮 政 编 码：110122 电子邮箱：lz11017@yahoo.com

联 系 电 话：024-83282507 传真：024-83282733

主 管 部 门：社会发展处

项 目 年 度：2017

项目（课题）起止年限：2018 至 2020

辽宁省科学技术厅  
二〇一五年九月

# 申 报 说 明

一、本申报书专门用于辽宁省科技创新重大专项项目（课题）申报、立项等管理过程。

二、申报书由项目（课题）信息表、申报说明、项目（课题）内容、经费预算、进度安排、有关附件、审核意见及声明等八部分组成：

1. **项目（课题）信息表：**用于表述申报项目、申报单位、负责人、经费来源、合作单位、人员构成等基本信息。

2. **项目（课题）内容：**用于描述项目主要内容，是申报书重要组成部分，请如实填写。如果内容较多，不能详尽填报，请简要概述，同时将完整的项目（课题）内容以附件的形式上传，装订在项目（课题）申报书相应位置。

3. **审核意见：**

——**申报单位意见：**由申报单位填写，要求简明扼要，加盖申报单位公章；

——**联合单位意见：**由联合单位盖章；

——**推荐单位意见：**由各推荐单位提出，并加盖公章。

三、申报单位登录辽宁省科技信息网（网址：[www.lninfo.gov.cn](http://www.lninfo.gov.cn)），进入“辽宁省科技计划项目管理”工作信息平台，在该信息系统中按要求填报项目申报书。

四、受理编号无须申报者填写。☐为选填标记，请根据实际情况单选或多选。

五、申报书陈述部分，一律用简体中文、仿宋 GB2312、小四号字体填写；应文字简洁，表述清晰，数据详实；外来语要同时用原文和中文表达，首次出现缩略词要注明全称，再次出现同一词时可使用缩写。

六、项目申报书所需附件均需以 word 格式文件上传。

七、申报项目提供的有关证明材料，应真实有效。自筹或匹配经费证明，须有申报单位及主管部门出据核准意见明确、带有公章的函件。

八、上报材料用 A4 纸打印，胶装。一式 2 份，报送相关处室。

# 1. 基本信息表

## 【1.1 基本信息简表】

申报概要	项目（课题）名称	夏枯草抑制大鼠蛋白尿分子网络作用机制的研究				受理编号	201703295	
	计划类别	社发攻关及产业化						
	专题类别							
	申报类型	独立申报			项目属性			
	项目总投入	10.000						
	研发总投入	10.000 万元	财政经费	0.000 万元		自筹经费	10.000 万元	
	申报日期	2017 年 09 月 27 日	预期起止时间	自 2018 年 01 月 01 日至 2020 年 12 月 30 日				
			项目执行周期（月）	36.5				
项目属性与预期成果	所属技术领域名称	生物与医药						
	所属行业	Q			参考行业	科学研究、技术服务与地址勘察业		
	所属学科	临床医学				代码	320	
	项目来源	<input type="checkbox"/> 自有技术 <input type="checkbox"/> 产学研合作开发技术 <input type="checkbox"/> 引进消化吸收技术 <input checked="" type="checkbox"/> 其他技术						
	前期工作技术基础	<input type="checkbox"/> 国家自然科学基金计划 <input type="checkbox"/> 863 计划 <input type="checkbox"/> 973 计划 <input type="checkbox"/> 国家其它科技计划 <input type="checkbox"/> 国家各部委计划 <input type="checkbox"/> 省基金计划 <input checked="" type="checkbox"/> 省级其它各类计划 <input type="checkbox"/> 市级计划 <input type="checkbox"/> 支撑计划 <input type="checkbox"/> 其他 <input type="checkbox"/> 无						
	预期成果主要形式	<input checked="" type="checkbox"/> 专利（发明，实用新型） <input type="checkbox"/> 新技术及新工艺 <input type="checkbox"/> 技术标准 <input type="checkbox"/> 新产品（新品种） <input type="checkbox"/> 计算机软件著作权 <input checked="" type="checkbox"/> 论文论著 <input type="checkbox"/> 研究报告 <input checked="" type="checkbox"/> 人才培养						
所属产业链	所属产业	卫生、社会保障和社会福利业						
	研发项目在产业链中所处位置	A						
项目依托平台背景	平台类型	T						
	平台名称							
产学研背景（两院十校）		T						
项目负责人	姓 名	李子龙	性别	男	出生日期	1964 年 10 月	民族	汉族
	学 历	研究生			最高学位	博士		
	行政职务	中国医科大学肾病研究所实	从事专业	肾内科学		专业职称	正高级	

		验病理室主任						
	办公电话	024-83282507	住宅电话	024-83282507	手机	13700033302		
	电子邮箱	lzl1017@126.com				传真	024-83282733	
	人才层次	辽宁省百千万人才工程人选（百人层次）						
	证件类型	身份证	证件号码	21010219641017181X				
项目 联系 人	姓名	于东	办公电话	024-3193907 7	传真电话	无		
	工作单位	中国医科大学附属第一医院						
	电子邮箱	yud@mail.cmu.edu.cn			QQ 号码	无		
	手机号码	13686862889						
申报 项目 单 位	单位全称	中国医科大学				组织机 构代码	46300387-3	
	申报单位法人代表信息	姓名	闻德亮	性别	男	出生 年月	1966 年 01 月	
		办公 电话	024-3193902 2	传真	024-31939023	手机 号码	18909811123	
	所在地	沈阳市沈 北新区	通讯 地址	蒲河路 77 号			邮政 编码	110122
	科技管理部门 负责人信息	姓名	陈杰	职务	处长	办公 电话	024-31939 079	
	开户银行	中国建设银行沈阳铁路支行			帐号	21001460008052501120		
	单位性质	事业型研究单位						
	单位主管 部门	辽宁省教育厅			隶属关系	地方		
	企业类 单位特征	<input type="checkbox"/> 省高新技术企业 <input checked="" type="checkbox"/> 高等学校、科研院所创办企业 <input type="checkbox"/> 科研院所整体转制企业 <input type="checkbox"/> 国家、省高新区企业 <input type="checkbox"/> 留学人员创办企业 <input type="checkbox"/> 创业中心或孵化器内企业 <input type="checkbox"/> 其他						
	单位成立时间	1940-01-01						
联合 单 位 信 息	单位名称				单位性质	联系人及联系方式		
	无				无	无		
	无				无	无		
经 费 来 源	省专项投入	中央财政投入	地方财政投入	企业投资	银行融资	其他	总经费（万元）	
	10.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	10.000	

## 【1.2 项目组人员配备简表】

### 1.2.1 项目组主要成员

填表说明：1. 职称分类：A、正高级 B、副高级 C、中级 D、初级 E、其他。

2. 人员分类代码：A、任务负责人 B、任务骨干 C、其他研究人员。

3. 是否有工资性收入：Y、是 N、否。

4. 任务固定研究人员需填写人员明细。

姓名	出生日期	性别	身份证号码	学历	从事专业	所在单位	专业技术职务	技术职称	人才层次	组内具体分工	投入本任务的全时工作时间(人月)	是否有工资性收入	人员分类
李子龙	1964 年 10 月	男	21010219641017181X	研究生	肾内科学	中国医科大学附属第一医院	教授	正高级	辽宁省百千万人才工程人选(百人层次)	课题指导, 电镜	8.00	否	任务负责人
王娟											1980 年 10 月	女	15010 21980 10112 020
李凯											1977 年 07 月	男	21140 21977 07100 811
栗霄立											1971 年 01 月	男	21010 21971 01121 83X

孙达	1984 年 07 月	男	21010 41984 07310 956
杜银科	1982 年 10 月	男	61032 41982 10082 33X
杨爽	1980 年 01 月	女	21140 21980 01281 440
朱新旺	1983 年 05 月	男	13108 11983 05031 014
朱思源	1992 年 07 月	男	21030 21992 07303 017



## 1.2.2 项目负责人资历

### 1.2.2.1 项目负责人学历及科研工作简历

工作时间 (开始)	工作时间 (结束)	所在单位	学历	工作简要描述
2003 年 11 月 01 日	2006 年 01 月 31 日	日本山梨大学医学部第一解剖教研室第一解剖教研室	研究生	博士后研究, 合作导师 Ohno S, 1. 应用活体冷冻技术探讨蛋白尿产生机制的基础研究
1998 年 09 月 01 日	2001 年 07 月 01 日	中国医科大学	研究生	攻读肾内科学博士学位, 从事肾小球疾病发病机制的基础研究
1989 年 09 月 01 日	1992 年 07 月 01 日	中国医科大学	研究生	攻读肾内科学硕士学位
1982 年 09 月 01 日	1987 年 07 月 01 日	中国医科大学	大学本科	临床医学专业

### 1.2.2.2 项目负责人承担项目情况(省级及其以上各类基金、科技计划)

项目编号	承担状况	项目名称	承担单位	立项年度	支持经费	是否 结题	成果简况
20061019	主持	应用“活体冷冻技术”探讨小鼠急性高血压肾损害机制的研究	中国医科大学附属第一医院	2006	4.000	是	SCI 收录论文 3 篇; 作为第一获奖人, 获辽宁省科技进步二等奖一项, 获国家实用新型专利 1 项
201102294	主持	足细胞相关蛋白蛋白再分布及其信号通路变化与急性高血压致蛋白尿的分子机制	中国医科大学附属第一医院	2012	5.000	是	SCI 收录论文 4 篇: 辽宁省特聘教授
L2013286	主持	整合素 $\alpha 3 \beta 1$ -FAK 通路在高血压祖细胞损伤中的研究	中国医科大学附属第一医院	2013	3.000	否	SCI 论文 3 篇; 参与编写专著 1 部; 获国家实用新型专利 2 项

项目 组 主 要 成 员 构 成 与 分 工	年龄 (单位: 人)	56 岁以上	46-55 岁	36-45 岁	35 岁以下
		0	2	3	4
	人才层次 (单位: 人)	两院院士	千人计划	其他国家级 人才计划	省级人才计划
		0	0	0	2
	职称 (单位: 人)	高级	副高	中级	其他
		2	1	4	2
	学历学位 (单位: 人)	博士	硕士	本科/学士	其他
		5	4	0	0

项目 负责 人 资 历	<p><b>【提示】</b>项目负责人的学历、科研工作简历、承担省级及其以上各类基金、科技计划的情况、获得省级及其以上各类人才计划支持情况，及其取得的成果等简况：</p> <p>学习经历：</p> <p>1982.09-1987.07 中国医科大学 医疗系 大学本科</p> <p>1989.09-1992.07 中国医科大学 内科学（肾病） 医学硕士</p> <p>1998.09-2001.07 中国医科大学 内科学（肾病） 医学博士</p> <p>2003.11-2006.01 日本山梨大学第一解剖教研室 博士后</p> <p>工作经历：</p> <p>1987.09-1992.09 中国医科大学附属第一医院 肾内科 住院医师，助教</p> <p>1992.10-2001.09 中国医科大学附属第一医院 肾内科 主治医师，讲师</p> <p>2001.10-2007.06 中国医科大学附属第一医院 肾内科 副主任医师，副教授</p> <p>2007.07-至今 中国医科大学附属第一医院 肾内科 主任医师，教授</p> <p>承担课题：</p> <p>1. 辽宁省教育厅课题：应用 " 活体内冷冻技术 " 探讨小鼠急性高血压肾损伤机制研究（20061019）</p> <p>2. 辽宁省自然科学基金：足细胞相关蛋白再分布及其信号通路变化与急性高血压致蛋白尿的分子机制（201102294）</p> <p>3. 辽宁省教育厅科研课题：整合素 <math>\alpha 3 \beta 1</math>-FAK 通路在高血压足细胞损伤中的研究</p> <p>获奖情况：</p> <p>2007 年 辽宁省科技进步奖 二等奖 第一获奖人</p> <p>2007 年 沈阳市科技进步奖 二等奖 第一获奖人</p> <p>2009 年 获得辽宁省百千万人才工程百人层次</p> <p>2009 年 国家实用新型专利 1 项</p> <p>2017 年 国家实用新型专利 2 项</p> <p>专著及论文：先后在国外学术期刊、国家级核心期刊发表论著 30 余篇，其中 SCI 收录 8 篇（第一及通讯作者），发表专著</p> <p>《In Vivo Cryotechnique in Biomedical Research and Application for Bioimaging of Living Animal Organs》(2016)</p>
-------------------------	--

项目 组主 要成 员资 历	<p>【提示】项目组主要成员的学历、科研工作简历、承担省级及其以上各类基金、科技计划的情况、获得省级及其以上各类人才计划支持情况，及其取得的成果等简况：</p> <p>李凯简历</p> <p>中国医科大学附属第一医院外科教授</p> <p>教育经历：</p> <p>2005/09-2008/06 中国医科大学外科学博士导师：王平</p> <p>2001/09-2003/06 中国医科大学七年制临床医学本硕连读导师：王平</p> <p>1996/09-2001/06 中国医科大学临床医学本科</p> <p>工作经历：</p> <p>2009/10-2012/09 日本山梨大学医学工学综合研究部博士后研究者</p> <p>2013/09- 至今中国医科大学附属第一医院外科教授（破格晋升）</p> <p>2005/09-2013/08 中国医科大学附属第一医院外科讲师</p> <p>2003/07-2005/08 中国医科大学附属第一医院外科助教</p> <p>主持或参加科研项目及人才计划项目情况：</p> <p>国家自然科学基金面上项目，31200616、逼尿肌细胞缝隙连接蛋白 43 表达及半通道开放与间质性膀胱炎发病机制及关系的研究、2013/01-2015/12、20 万元、主持</p>
---------------------------	--

## 预计培养人才

说明：科技创新领军人才、团队、创业、海外引进人才限制最多只能填写一个，当预计培养数量大于 0 时，需要填写该类人才的详细信息。

科技创新 领军人才	重点领域 创新团队	科技创业 领军人才	海外引进 人才	博士生	硕士生
0	0	0	0	3	1

### 一. 预计培养中青年科技创新领军人才

预计培养中青年科技创新领军人才需要已满足以下条件：

1. 坚持科学精神，恪守科学道德，无学术不端行为；
2. 研究方向符合科技前沿发展趋势或属于国家战略性新兴产业领域；
3. 年龄原则上不超过 45 周岁，一般应具有博士学位或副高级以上职称；
4. 已取得高水平创新性成果，业绩突出，且具有较大的创新发展潜力，坚持在科研一线从事研究工作；
5. 具有较强的领军才能和团队组织管理能力。
6. 近 5 年内曾主持或正在主持完成国家或省级科技计划项目；
7. 近 5 年内获得国家科学技术奖励二等奖（包括国家自然科学奖、技术发明奖和科学技术进步奖等）及以上奖励或近 5 年内获得省科学技术奖励三等奖（包括省自然科学奖、技术发明奖和科学技术进步奖等）及以上奖励；

姓 名	出生日 期	证件 号码	学历	学位	职务	职称	所属战 略新兴 产业领 域	现从事 专业或 研究方 向	人才 层次	所在单位
-----	----------	----------	----	----	----	----	------------------------	------------------------	----------	------

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

1. 预计培养人才情况简介（限制字数：300 字）

2. 近 5 年内曾主持或正在主持完成国家或省级科技计划项目

序号	主持人	主持项目名称	立项编号	经费 (万元)	起止 年月	项目 来源	计划 名称

3. 近 5 年内获得国家、省级科学技术奖励

序号	获奖项目名称	奖励名称	奖励类别	等级	获奖人 及排序	获奖 时间	授予 机构

## 二. 重点领域创新团队

预计培养重点领域创新团队应具备以下条件：

1. 所从事的研究符合国家、我省、行业重点发展方向和长远需求；
2. 承担重大科研项目、重点工程和重大建设项目的关键、核心技术攻关任务，有明确的研发目标；
3. 团队负责人同时应符合中青年科技创新领军人才的基本条件，年龄原则上不超过 50 周岁；
4. 团队创新业绩突出，具有持续创新能力和较好的发展前景；
5. 团队结构稳定、合理，核心成员一般不少于 5 人、不超过 15 人，可跨单位协作。

团队名称	团队负责人	负责人出生日期	负责人证件号码	负责人学历	负责人学位	负责人职称	负责人职务	所属战略新兴产业领域	现从事专业或研究方向	负责人所在单位

### 1. 预计培养团队情况简介（限制字数：300 字）

--

### 2. 团队核心成员情况

团队成员 共 人	年龄 (单位：人)	56 岁以上	46-55 岁	36-45 岁	35 岁以下
	人才层次 (单位：人)	两院院士	千人计划	其他国家级人才计划	省级人才计划
	职称 (单位：人)	高级	副高	中级	其他
	学历学位 (单位：人)	博士	硕士	本科/学士	其他

团队核心成员（5-15 人）										
序号	姓 名	性别	出生 日期	证件号码	学历	学位	职务	职称	现从事专业 或研究方向	所在单位

### 3. 团队近 5 年主要科研情况

序号	姓名	项目名 称	立项 编号	经费 (万 元)	起止 年月	项目来 源	计划名称	参与的其他 团队成员	人员类 别	担任角 色

### 4. 团队近 5 年获得国家、省级科学技术奖励

序号	姓名	获奖项 目名称	奖励名称	奖励类别	等级	授予 机构	获奖时间	获奖人及排序

### 三. 科技创新创业人才

预计培养科技创新创业人才应具备以下条件:

1. 申报人为企业主要创办人(拥有 20%以上企业股份),具有本科以上学历,具有较强的创新创业精神、市场开拓和经营管理能力;
2. 创办的企业在辽宁省内注册,依法经营,创办时间不超过 8 年,具有较好的经营业绩和成长性;
3. 企业拥有核心技术或自主知识产权,开发的产品技术先进或服务模式创新,具有较强的市场潜力和竞争力。
4. 科技型中小企业创新基金项目承担单位的主要创办人和科技特派员项目负责人可优先推荐。

姓名	性别	出生日期	证件号码	学历	学位	人才层次	创办企业名称	企业成立时间	拥有企业股份(单位:%)	企业特性

1. 预计培养人才情况简介(限制字数: 300 字)

### 四、海外引进人才

预计培养海外引进人才应具备以下条件:

引进的人才应在海外取得博士学位,不超过 55 岁,引进后每年在国内工作不少于 6 个月,并符合下列条件之一:

- (一)在国外著名高校、科研院所担任相当于教授职务的专家学者;
- (二)在国际知名企业和金融机构担任高级职务的专业技术人才和经营管理人才;
- (三)拥有自主知识产权或掌握核心技术,具有海外自主创业经验,熟悉相关产业领域和国际规则的创业人才;
- (四)国家急需紧缺的其他高层次创新创业人才。

姓名	出生日期	证件号码	学历	学位	职务	职称	所属战略新兴产业领域	研究方向	人才层次	所在单位

1. 预计培养人才情况简介(限制字数: 300 字)

### 【1.3 项目背景、主要内容与指标、创新点简表】

研发项目国际国内技术现状	<p><b>【提示】相关领域国内外发展现状与趋势；我省现有技术基础；立题必要性；项目申报单位实施该项目的优势：</b></p> <p>足细胞损伤是高血压肾损害的重要环节和肾小球损伤的早期表现，血液动力学的瞬间变化可引发足细胞内的信号转导通路的异常活跃，激活下游细胞因子最终导致足细胞的焦亡、自噬及凋亡等不同形式的足细胞程序化死亡，是产生蛋白尿重要机制的之一。其中 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通路几乎参与了所有细胞的防御反应、组织损伤与应激、细胞分化与凋亡，夏枯草有效成分能够多靶点的抑制上述信号转导通路。本课题组前期研究，应用“活体冷冻技术”结合冷冻置换方法进行了血液动力学变化时足细胞损伤的研究，发现急性高血压条件下 Nephrin 等 SD 蛋白表达变化。我们观察到 Nephrin, podocin, CD2-AP, podocalyxin (PCX) 和 nestin 在异常血流动力学条件下早期出现再分布和相关 mRNA 的减少。我们还首次观察到急性高血压条件下 <math>\beta</math>-catenin 向足细胞核内聚集，而后者可能是调节缝隙连接蛋白 43 (Cx43) 表达的重要转录因子，因为其在调节机械性刺激及生长因子信号通路中的重要作用，如能证实，可以为解释高血压诱导 Cx43 表达提供一条合理的信号传导通路。该项目研究目前国内外未见报道。</p>
项目研发内容及开发主要技术或产品	<p><b>【提示】主要研发内容；拟解决技术关键点及主要技术指标：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 建立急慢性高血压动物模型             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 建立小鼠急性高血压动物模型。</li> <li>(2) 采用血管紧张素 II 皮下注射法建立大鼠高血压模型。</li> <li>(3) 建立血管紧张素 II 诱导的高血压模型下足细胞系。</li> </ol> </li> <li>2. 研究 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 在血管紧张素 II 诱导的足细胞损害中的作用。             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 测定 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通路在血管紧张素 II 诱导的高血压模型下，血压、尿蛋白排泄量、肾功能及肾脏组织学变化，足细胞损害（电镜，足细胞相关蛋白等）</li> <li>(2) 研究急性高血压小鼠及血管紧张素 II 诱导的大鼠高血压模型下，wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道变化与足细胞损害的关系。</li> <li>(3) 研究血管紧张素 II 诱导的高血压模型下，CX43 表达变化与足细胞损害的关系。</li> <li>(4) 研究 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的抑制剂应用对血管紧张素 II 诱导的足细胞损害的作用。</li> <li>(5) 测定足细胞在血管紧张素 II 作用下，wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道及其相关因子的表达、细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平及细胞外液 ATP 水平</li> </ol> </li> <li>3. 体外研究 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 网络调控在血管紧张素 II 诱导的足细胞损害中的作用机制             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 体外培养野生型大鼠足细胞，血管紧张素 II 诱导足细胞损害。</li> <li>(2) 测定足细胞损害时，wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通路相关因子活性、细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平及细胞外液 ATP 水平。</li> <li>(3) 应用夏枯草抑制 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道及其下游因子，减轻血管紧张素 II 诱导足细胞损害中的作用机制。</li> </ol> </li> </ol> <p>3. 研究目标及拟解决的关键问题：</p> <p>确定 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的失调是血管紧张素 II 诱导足细胞损害的关键分子；证实 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的网络调控是影响细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平的分子基础；明确 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/ <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的网络调控是双通道联合阻断治疗高血压足细胞损伤的理论基础。</p>

项目主要创新点	<p><b>【提示】主要创新点，尤其是预期获得的知识产权简况：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 我们在前期研究的基础上结合文献报道，提出了 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的网络调控体系，单独采用中草药夏枯草或联合血管紧张素受体抑制剂全面论证 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道网络调控体系在 AngII 诱导的足细胞损害中的作用机制，国内外尚无实验报道。</li> <li>2. 首次联合 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道进行 AngII 诱导足细胞 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的表达入手，系统研究信号通道激活后胞内外 Ca<sup>2+</sup>及 ATP 变化情况。并证实其在疾病进展中可能起到的作用，相关设想未见报道。属于本课题组的原创性工作，符合省重点研发计划指导计划项目关于“源头创新”的指导思想。</li> <li>3. 本课题结合分子生物学、生理学和药理学实验技术，通过细胞实验、动物模型与体内药物干预，从多角度论证 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道抑制剂单独或联合应用对高血压足细胞损伤的保护作用，为疾病治疗及药物研发提供新的靶点。</li> <li>4. 本项研究成果及申请相关专利可获得完全自主知识产权。</li> </ol>
---------	--

#### 【1.4 项目实施可行性、预期目标与效果前景分析简表】

项目实施的可能性	<p><b>【提示】项目拟采取的研究方法（或技术路线、实施方案）的可行性简况：</b></p> <p>可行性分析</p> <p>（1）本项目申请者及所在课题组曾先后主持和参与了多项国家自然科学基金项目研究。目前重点关注 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道与足细胞损伤机制之间的关系。此次研究从以上基础出发，系统研究在血管紧张素 II 诱导的高血压足细胞损伤中的 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道双靶点治疗高血压引起的足细胞损伤的可能。立论依据充分，设计合理，方法先进且完全可行。</p> <p>（2）本项目的关键技术检测所涉及的高效液相色谱分析技术和共聚焦扫描显微镜技术，以及荧光素酶测定的应用等方面。项目组的成员已完成多项国家自然科学基金课题，在相关技术方面积累了丰富的经验，又与日本山梨大学分子情报教研室进行了交流与学习（双光子共聚焦显微镜活体检测技术为该实验室的研究特点之一），为项目的完成提供了重要的技术保证。</p> <p>（3）我课题组大多数成员均为年轻的讲师或在读研究生，具有积极活跃的科研思维与优秀的科研素养、以及团队精神，课题组成员梯队配置合理，具备本项目顺利完成的人员架构。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 采用动脉结扎及血管紧张素 II 制备急、慢性高血压鼠动物模型。体内实验，观察 AngII 诱导的高血压模型大鼠足细胞损害、wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的变化；考察基于夏枯草抑制状态下，夏枯草抑制大鼠蛋白尿分子网络作用机制的研究。</li> <li>2. AngII 作用于原代培养足细胞系后，检测 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道因子的变化及 Cx43 蛋白 mRNA 表达水平，考察 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道活性，确定 Cx43 半通道开放状态，明确核心小分子交换情况。“活体冷冻技术”结合冷冻置换方法：观察 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道的瞬间变化。</li> <li>3. 高效液相色谱分析技术：检测小分子水平。</li> <li>4. 免疫荧光技术：检测细胞中蛋白的定位表达情况。</li> <li>5. 激光共聚焦扫描显微镜：检测小分子通过半通道交换。</li> <li>6. Western blot：检测蛋白表达情况。</li> <li>7. RT-PCR：检测 mRNA 的表达情况。</li> <li>8. 流式细胞术：测定足细胞周期变化和足细胞相关蛋白的含量。</li> <li>9. MTT 法：检测细胞增殖。</li> </ol>
----------	---



项目 预期 目标 与 效果 前 景 分 析	<p><b>【提示】项目预期目标与效果（包括经济、社会、环境效益及产品、技术预期在国际、全国区域、全省的水平）前景分析简况：</b></p> <p>预期目标</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 明确 wnt/GSK-3<math>\beta</math> / <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道失调参与 AngII 诱导的足细胞损伤机制。</li> <li>2. 阐明 wnt/GSK-3<math>\beta</math> / <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道网络调控体系在 AngII 诱导足细胞损伤中的作用机制。</li> <li>3. 探索夏枯草基于 wnt/GSK-3<math>\beta</math> / <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道网络调控体系的有效防治足细胞损伤的治疗措施。</li> <li>4. 拟发表影响因子较高的 SCI 论文 4-6 篇, 国内核心期刊发表论文 2 篇。</li> <li>5. 培养博士、硕士研究生 1 名。</li> </ol> <p>预期效果</p> <p>本项研究目前国内外未见报道。证实夏枯草能够有效的抑制 wnt/GSK-3<math>\beta</math> / <math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通道引发的足细胞损伤, 减轻蛋白尿。由于夏枯草分布广泛易获取而且价格低廉, 提取其有效成分将产生巨大的经济效益和社会效益, 市场潜力巨大。</p>
项目 预期 成果 转 化 情 况	<p><b>【提示】项目预期成果转化情况（包括项目支持期内, 新承担科研任务、获得科研学术奖励、获得授权专利、重要国际学术会议报告、发表论文等情况）</b></p> <p>进一步获得国家或省级课题资助, 预计发表高水平论文 3-5 篇、申请省部级科技进步奖、可申请专利 2-3 项。课题结果可以参加国际顶级肾脏病会议, 例如美国肾脏病会议、欧洲肾脏病会议及世界肾脏病会议。</p>

### 【1.5 项目现有工作基础、合作单位支撑承诺简表】

目前项目进展	<p><b>【提示】目前项目进展：</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. “活体冷冻技术”已申请专利，已观察到急性高血压时，足细胞相关蛋白分布及表达发生变化的（多次在国内外学术会议进行交流）。</li> <li>2. 免疫荧光实验证实 AngII 明显增加了 Cx43 蛋白在胞膜上的表达，细胞划痕实验（SLDT）显示 AngII 作用下，细胞 Cx43 通道扩散荧光染料能力明显增强。此外 AngII 刺激可以上调 Cx43 蛋白表达，并且证实其可能通过 ERK 与 NF-<math>\kappa</math>B 信号通路起到调节作用。</li> <li>3. 在大鼠足细胞中，利用高浓度 Ang II 刺激，观察到细胞损伤增加，Cx43+/+细胞最为明显，应用 HPLC 技术检测 ATP 释放情况，结果 Cx43+/+细胞明显高于 Cx43-/-细胞（此 Cx43-/-细胞取自胚胎鼠），证实了半通道开放。</li> <li>4. 免疫电镜显示在急性高血压情况下血清白蛋白及 IgG 的分布状态。</li> </ol> <p>主要仪器设备</p> <p>实时定量 PCR（ROTOR GENE 澳大利亚）；“活体冷冻装置”（IV-11；Eiko Engineer Co. Ibaraki 日本）；共聚焦激光扫描显微镜 MTC-600（NICON 日本）；透射电子显微镜 H-600-4（HITACHI 日本）；流式细胞仪 FAC Sort（BD 美国）</p>
项目合作单位支撑条件	<p><b>【提示】项目合作单位在本领域或同行业的研发水平、能力、实力、国内位次；为该项目提供支撑条件简况：</b></p> <p>主要的实验将在卫生部细胞生物学重点实验室进行，实验室拥有开展本项目实验研究的各种设备条件。本项目中采用的动物模型和刺激因素皆为国际通用的经典模型和药物。本项目其他相关的工作，例如大鼠足细胞原代培养、PCR、Western-blot、免疫荧光染色等都是我们开展的常规项目，本课题组已熟练掌握项目所涉及的生化指标测定的方法和技术。主要的仪器设备，如超净台、电镜、膜片钳、激光共聚焦扫描显微镜、凝胶分析仪及液相色谱仪等已具备，试验相关材料及试剂均可购买。</p>

## 【1.6 项目简介】

项目简介	<p><b>项目简介：</b></p> <p>wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通路的激活导致 Ca<sup>2+</sup>内流引发线粒体崩解 ATP 外流，是足细胞损伤的启动因素。Connexin43(Cx43)是调控细胞内外 Ca<sup>2+</sup>、ATP 等重要结构。我们拟采用采用夏枯草通道抑制剂，于体外及体内进行干预，探索双靶点阻断 wnt/GSK-3<math>\beta</math>/<math>\beta</math>-catenin 及 NF-KB 信号通路，减轻足细胞损伤的可能，为临床治疗提供新的理论依据。</p>
------	--

## 1.8 项目预期实施进度安排与经费预算简表

项目预期进度安排【提示】注明预期实施进度安排的初步计划（即阶段性工作要点）：

动物实验：

【2018 年 1 月-2018 年 8 月】：

- (1) 构建急慢性高血压模型。
- (2) 检测动物收集血液及尿液标本，获得肾组织标本。检测足细胞相关蛋白表达及 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道因子的变化。
- (3) 获得肾组织标本，检测足细胞损害，足细胞相关蛋白表达及其他相关分子表达。
- (4) 原代培养大鼠足细胞，进行 AngII 刺激实验，检测相关指标（同下）。

细胞实验：

【2018 年 8 月—2019 年 6 月】：

- (1) 培养大鼠足细胞系，测定 AngII 诱导足细胞损害的时间/剂量反应曲线，完成 Cx43 及 TRPC6 的 mRNA 及蛋白水平检测
- (2) 细胞划痕实验（SLDT）检测 Cx43 半通道状态。
- (3) 激光共聚焦扫描显微镜对 Cx43 半通道生理特性检测。
- (4) 高效液相色谱分析技术(HPLC)对细胞外液相关小分子及离子的鉴定与浓度检测。
- (5) 应用免疫荧光标记和离子荧光标记，激光共聚焦扫描显微镜观察 AngII 作用前后 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道因子的变化和离子通道与 Cx43 半通道交换情况。

【2019 年 7 月—2019 年 12 月】：

- (1) 构建 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道因子过表达大鼠足细胞。
- (2) 应用 AngII 刺激上述细胞，完成相关指标检测（同上）。

【2020 年 1 月—2020 年 6 月】：

- (1) 应用 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道网络调控体系，采用多环节特异性阻断剂或类似物，单独或联合预处理大鼠足细胞。
- (2) 测定 AngII 刺激上述预处理足细胞后相关指标检测（同上）。

【2020 年 7 月—2020 年 12 月】：

实验补遗、资料总结、发表论文、结题。

预期研究结果

- (1) 明确 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道的失调参与 AngII 诱导的高血压足细胞损害。
- (2) 阐明 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道网络调控体系，在 AngII 诱导的高血压足细胞损害中的作用机制。
- (3) 探索基于 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道网络调控体系，明确夏枯草能够有效防治高血压足细胞损害的治疗措施。
- (4) 拟发表影响因子较高的 SCI 论文 1-2 篇，国内核心期刊发表论文 2-4 篇
- (5) 培养硕士研究生 2 名

# 科研投入预算支出

## 汇一 预算支出总表界面

### 预算支出总表

金额单位：元

序号	预算科目名称		预算金额
	(1)		(2)
1	预算支出合计		100000.000
2	直接费用	1、研发设备费	0.000
3		(1) 购置研发设备费	0.000
4		(2) 试制研发设备费	0.000
5		(3) 购置软件系统费	0.000
		(4) 软件系统开发费	0.000
6		2、合作研发费	10000.000
7		(1) 引进人才、团队费	0.000
8		(2) 购置技术、专利及成果费	0.000
9		(3) 产学研合作经费	10000.000
10		3、材料费	40000.000
11		4、测试化验加工费	20000.000
12		5、燃料动力费	0.000
13		6、差旅费	0.000
14		7、会议费	5000.000
15		8、国际合作与交流费	10000.000
16		9、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	10000.000
17		10、劳务费	5000.000
18		11、专家咨询费	0.000
19	间接费用		/

## 汇二 经费来源表界面

### 预算经费来源明细表

序号	经费来源渠道	预算金额(元)
	1	2
1	经费来源合计	100000.000
2	1、申请从省财政经费获得的资助	0.000
3	2、自筹经费来源	100000.000
4	(1) 其他财政拨款	0.000
5	(2) 单位自有货币资金	0.000
6	(3) 其他资金	100000.000

表一 研发设备费——购置（试制）研发设备/软件系统预算明细表界面

表 1-1 购置（试制）单价 10 万元以上的

研发设备/软件系统预算明细表

金额单位：元

序号	研发设备/软件系统名称	设备分类	单价 (元/台件)	数量 (台件)	金额	购置设备型号	购置设备生产 国别与地区	主要技术 性能指标	用途 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(10)
累 计						/			

表 1-2 购置（试制）单价 10 万元以下的  
研发设备/软件系统预算明细表

序号	研发设备/软件系统名称	设备分类	单价 (元/台件)	数量 (台件)	金额	购置设备型号	购置设备生产 国别与地区	主要技术 性能指标	用途 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(10)

累	计			/					
---	---	--	--	---	--	--	--	--	--

表 1-3 研发设备费汇总

明细项目	数量	预算金额（元）
合计	0	
(1) 购置研发设备	0	
(2) 试制研发设备	0	
(3) 购置软件系统	0	
(4) 软件系统开发	0	

表二 合作研发费预算明细表界面

表 2-1 引进人才、团队及购置技术经费预算明细表

金额单位：元

序号	合作类别	引进或购置明细	技术拥有单位	数量	单价	金额	用途 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
累 计							/



表 2-2 产学研合作费预算明细表

金额单位：元

序号	产学研合作单位	产学研合作方式	金额	用途（与研究任务相关性）
	(1)	(2)	(3)	(4)
累计				/

表 2-3 合作研发费汇总

明细	金额（元）
合作研发费合计	
（1）引进人才、团队费	
（2）购置技术、专利及成果费	
（3）产学研合作经费	

表三 材料费预算明细表界面

材料费预算明细表

金额单位：元

序号	材料名称	计量单位	单价 (元/单位)	购置数量	金额	用途 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
累计		/	/			/

表四 测试化验加工/燃料动力费预算明细表界面

表 4 测试化验加工费预算明细表

金额单位：元

序号	测试化验加工的内容	测试化验加工单位	计量单位	单价 (元/单位数量)	数量	金额	用途 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
累计		/	/	/	/		/

表 5 燃料动力费预算明细表

金额单位：元

序号	项目	计量单位	单价 (元/单位数量)	耗用数量	金额	用途 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
累 计						/

表五 差旅费/会议费预算明细表界面

表 6 差旅费预算明细表

金额单位：元

序号	出差类别	出差地点	数量			往返交通费	住宿费	出差补助	会议注册	金额	用途（与研究任务相关性）
			人数/次	天数/次	次数	（元/人天）	（元/人天）	（元/人天）	费等		
			(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)		
累 计			/	/	/	/	/	/	/		

表 7 会议费预算明细表

金额单位：元

序号	会议类别	会议次数	会议地点	会议天数	参加人次	会议标准 (元/人)	培 训 讲课费	金额	用途（与研究任务相关性）
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
累 计			/			/			/

表六 国际合作/出版文献预算明细表界面

表 8 国际合作与交流费预算明细表

金额单位：元

序号	合作 交流 类型	国家 和地 区	机 构 名 称	天 数	人 数							用途（与研究任务相关性）
						交通费(国际 旅费及城市 间交通费)	住宿 费	伙食 费	公杂 费	其他 费用	金额合计	
						6	7	8	9	10	11	12

累 计											/
-----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---

表 9 出版/文献/信息传播/知识产权事务费预算明细表

金额单位：元

序号	类别	明细	计量单位	数量	单价 (元/单位)	金额	用途（与研究任务相关性）
	(1)	(2)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)

累 计							/
-----	--	--	--	--	--	--	---



## 七 劳务费/专家咨询费预算明细表界面

表 10 劳务费预算明细表

金额单位：元

序号	劳务人员类型	工种	计量单位	人数	标准 (元/人月)	劳务月份	金额	承担的任务内容 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)

累	计							/
---	---	--	--	--	--	--	--	---

表 11 专家咨询费预算明细表

金额单位：元

序号	咨询形式	专家领域	职称	人数	咨询次数	标准 (元/人次)	金额	咨询内容 (与研究任务相关性)
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
累	计							/

### 申请经费用途及解决主要问题

购买实验动物、试剂、抗体等材料，必要的国际交流及劳务费。能够保证实验顺利进行，如期获得可靠的实验结果。

1. 确定 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道的失调是血管紧张素 II 诱导足细胞损害的关键分子。
2. 证实 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道的网络调控是影响细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平的分子基础。
3. 明确 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道的网络调控是双通道联合阻断治疗高血压足细胞损伤的理论基础。
4. 证实夏枯草能够有效的抑制 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 信号通道的活化。

### 产学研合作情况(限 500 字)

高血压是重要的世界公共卫生问题之一，目前我国高血压发病率呈现快速增长的趋势，发病年龄趋于年轻化。肾脏是高血压靶器官损害的重要器官之一，高血压已成为引起和加重慢性肾脏病（chronic kidney disease, CKD）的重要原因。近年的研究发现，足细胞损伤是高血压肾损害的重要环节和肾小球损伤的早期表现，是肾小球硬化、肾功能恶化的重要原因。早期、有效的防治足细胞损伤对延缓高血压肾损害进程具有重要意义。若能验证夏枯草有效成分能够多靶点的抑制 wnt/GSK-3 $\beta$  /  $\beta$ -catenin 及 NF-KB 等信号通道，进而阻断钙离子超载进程，抑制线粒体的崩解，减轻氧化应激及缺血对高血压肾损害时足细胞的损伤。

夏枯草这一特性具有光明的临床应用前景，可用于改善或延缓高血压肾损害，肿瘤等相关疾病进展。为肾脏疾病的治疗，提供一个新的药物和途径。

### 项目完成的科技报告情况（科技报告提交的时间及数量）

科技报告类型	提交数量	提交时间
进展报告	1	2018-09-30
最终报告	1	2020-06-30

### 项目预期产生的科技报告情况

按时提交所需的实验技术报告。

### 3. 申报单位和联合单位意见

申报单位意见(限 300 字)

法定代表人签字：

单位盖章：

年   月   日

年 月 日

### 联合单位意见

年 月 日

年 月 日

年 月 日

年 月 日

## 5. 相关管理部门意见

申报单位推荐意见	<p>【提示】申报单位在人力、财力、物力方面是否支持该项目：</p> <p>单位负责人：                                单位：                                年    月    日</p>
初审推荐意见	<p>【提示】由归口科技局（或省直科技管理部门），在网上提出初审推荐意见：</p> <p>单位负责人：                                单位                                年    月    日</p>
复审推荐意见	<p>【提示】科技厅计划归口管理部门，提出复审推荐意见：</p> <p>单位负责人：                                单位：                                年    月    日</p>
科技厅审批意见	<p>【提示】科技厅，提出审批意见：</p> <p>单位负责人：                                单位：                                年    月    日</p>

还需要提供的附件：项目预算说明书（必须提供，项目预算说明书见附件）、有自筹经费的需要提供自筹经费来源证明。

