

附件 4：

申报项目审查意见表

项 目 名 称：PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在缺氧性肺动脉高压中的作用及机制

项目申报单位（盖章）：恩施土家族苗族自治州中心医院

类别	审查内容	是	否
项目负责 人	1、资料是否完整齐全、真实	√	
	2、是否有未能按计划实施等不良信用记录		√
	3、项目主要内容是否存在重复申报省其它科技计划		√
	4、项目负责人是否有在研省级科技计划项目		√
申报 单位	5、项目负责人是否符合《湖北省自然科学基金管理办法》中规定的申请人条件	√	
	6、项目是否有依托单位配套资金	√	
其它审 查内容			
审查意见： 项目申报材料真实有效，同意推荐申报，若能获得科技厅的立项，单位将按照 1:1 配套科研经费，确保项目的顺利开展及按期结题。 审查人签字：[Signature] 申报单位主管处室负责人签字：[Signature] 2019 年 11 月 5 日 (盖章)			

附件 3-2:

受理编号: ZRMS2019001745

湖北省自然科学基金计划申报书 (一般面上项目)

项目名称:

PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在缺氧性肺动脉高压中的作用及机制

依托单位:

恩施土家族苗族自治州中心医院

项目负责人:

张明华

联系电话:

15997730477

申请日期:

2018 年 10 月 28

湖北省科学技术厅

二〇一八年制

填 写 说 明

1. 《湖北省自然科学基金计划申报书》(以下简称申报书)一律用A4纸打印,字体为宋体小四号。

2. 申报书封面:

- (1) 项目名称: 应与申报书内页填写一致;
- (2) 依托单位: 应填写申报项目依托单位全称,并与依托单位一级法人公章一致;
- (3) 项目负责人: 填写项目申请人姓名;
- (4) 联系电话: 填写项目申请人有效通讯号码;
- (5) 申报日期: 填报申报书的日期;
- (6) 申报类型: 面上类基金项目下设一般面上项目(简称: 一般面上)、青年项目(简称: 青年)。

3. 依托单位:

- (1) 名称: 与封面项目依托单位(一级法人单位)一致;
- (2) 所在地区: 依托单位所在市、州名称;
- (3) 单位性质: 按以下名称及代码填写:
AA 事业型研究单位, AB 大专院校, BA 转制为企业的科研院所,
BM 高新技术企业, BN 其他单位;
- (4) 通信地址: 写明依托单位所在省、市(区、县)、街道和门牌号码, 邮政编码;
- (5) 联系电话和传真: 请注明长途电话区号。

4. 依托单位审查意见: 由项目依托单位的科技主管部门(如: 企

业研发部、院校科研处等)填写,要对申报书中的各栏目中的有关内容予以确认,并对该项目的意义、是否属于该行业的重点技术发展方向等问题提出具体审查意见,请勿简单填写“同意”。加盖项目依托单位一级法人公章。

5. 申报类型——按上述 2.(6) 的要求选择填写。

指南分类——填写本项目研究内容对应《项目指南》中领域编号和研究方向编号;

指南分类:一、光电子信息领域;二、人口健康与医药领域;三、农业生物领域;四、新能源新材料领域;五、先进制造领域;六、资源与环境领域;七、数理科学领域。

6. 学科代码按 GB/T13745-92“学科分类与代码”表填写。A 表示一级学科、B 表示二级学科。

7. 湖北省重点实验室人员:仅填写由省科技厅批准建立的省重点实验室相关信息。其中非湖北省重点实验室固定人员填写“否”,其后“实验室名称”和“申请项目对应实验室内设研究方向”不填。

8. 主要参加人员:须参加研究人员本人签字确认。

一、主要信息表

	申报种类	面上类		申报类型	一般面上 ☒ 青年 ☐			
	指南分类	领域编号		二	学科方向 编号	1		
	学科代码	A	学科名称	临床医学	B	学科名称	呼吸病学	
			学科代码	320		学科代码	320/2415	
	项目名称	PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在缺氧性肺动脉高压中的作用及机制						
	主要研究内容 (不得超过 120 字)	目前在临床上仍无法根本逆转 HPH, 本项目拟在前期实验基础上, 探讨线粒体自噬在缺氧性肺血管重构的作用及机制, 重点研究 PINK1/Parkin 通路在低氧 PASMCs 氧化应激损伤中的功能。为进一步阐明 HPH 的发病机制提供科学依据, 为 HPH 的临床治疗提供新的有效作用靶点。						
	预期成果	发表论文	2	其中 SCI/EI	1			
		专利	0	其中发明专利	0			
		科技奖励	拟申请湖北省科技进步奖	其中省部级以上奖励	湖北省科技进步奖			
		人才培养	培养硕士研究生 1 名	其中省部级以上人才	0			
申请金额	5 万元		起止年月	2019 年 01 月至 2020 年 12 月				
项目申请人	姓 名	张明华	性别	男 ☒ 女 ☐	民族	土家族	身份证号码	422828197810013914
	电子信箱	1115295145@qq.com			手机	15997730477		
	学 位	☐ 博士 ☒ 硕士 ☐ 其他			职 称	☒ 副高 ☐ 其他		
	湖北省重点实验室人员	是 ☐ 否 ☒			实验室名称			
	申请项目对应实验室内设研究方向							
项目	单 位 名 称	恩施土家族苗族自治州中心医院			所在地区	恩施州		
	单 位 性 质	其他单位			代 码	BN		

二、经费预算

经费投入（万元）		新增投资经费支出预算（万元）			
科目	预算	科目	预算	占新增投资总额的比重（%）	支出理由及计算依据
一、新增投资		1. 人员费	1	10%	人力成本
1. 申请省财政科技专项资金	5	2. 设备费	1	10%	专业设备购买及维护
2. 单位自筹	5	3. 材料费	3	30%	购买试剂及耗材
3. 其他	0	4. 燃料及动力费	1	10%	水电消耗等
		5. 试验外协费	0.5	5%	技术指导
		6. 基本建设费	1	10%	基础设备资源等投入费用
二、已投入资金	1	7. 会议费、差旅费、国际合作交流费	0.5	5%	参加2018年肺动脉高压高峰论坛（已接受邀请）
		8. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2	20%	论文版面费及文献查阅
		9. 绩效支出	0	0	
		10. 管理费	0	0	
		11. 其它	0	0	
投入合计	11	支出合计	10	100%	

（备注：1. 绩效支出比例一般不超过财政拨款经费扣除设备购置费后的 40%；2.

管理费和其它费用总和不得超过财政拨款经费的 5%）

依 托 单	通 信 地 址 (邮 编)	湖北省恩施市舞阳大道 158 号 (445000)			
	科 研 处 负 责 人	张自雄	联系电话	0718-8290784	
	科 研 处 联 系 人	曹瑞	手机号码	15377228811	
	Email 地址	513881351@qq.com	传 真	0718-8290784	
位	开 户 银 行 名 称	建行恩施分行营业部	银 行 账 号	4200172860805000 4570	
	开 户 银 行 地 址	恩施市东风大道 571 号			
主 要 参 加 人 员	姓 名	身 份 证 号 码	职 称	现 工 作 单 位	签 名
	蔡彦力	422822198001104011	副主任医师 (博士)	恩施土家族苗族自治州 中心医院	蔡彦力
	张波	422801198107154528	副主任医师 (博士生)	湖北民族学院附属民 大 医 院	张波
	何媛	422801198204120626	主治医师 (硕士)	恩施土家族苗族自治 州 中 心 医 院	何媛
	李光才	422801198002120636	副主任医师 (博士)	恩施土家族苗族自治 州 中 心 医 院	李光才
	刘培俊	422828198510170015	主治医师 (硕士)	恩施土家族苗族自治 州 中 心 医 院	刘培俊
	陈依林	360312198911280032	主治医师 (硕士生)	恩施土家族苗族自治 州 中 心 医 院	陈依林
	姚俊	422801195712250415	主任医师	恩施土家族苗族自治 州 中 心 医 院	姚俊

三、推荐意见

推荐意见（不具备高级技术职称或博士学位的中级职称申请者，须由两名同行高级专业职务或职称的科技人员推荐申报。）

推荐人（签章）_____职务（或职称）_____专业_____单位（盖章）_____.

推荐人（签章）_____职务（或职称）_____专业_____单位（盖章）_____.

四、依托单位审查意见

依 托 单 位 审 查 意 见

同意推荐申报。若能立项，单位按
1:1 配套科研经费，确保项目的顺利开
展及按期结题。

我单位承诺已对申请人申请资格和填报内容真实性进行审查并承担相关法人责任。

(依托单位一级法人公章)

2025年10月5日

五、申报书编写提纲

1、研究目的、意义。重点阐述研究项目的创新性和科学价值（1000 字以内）

据《Lancet》最新研究报道，我国成人 COPD 的患病率已高达 8.6%，而“全球疾病负担研究项目”估计 2020 年 COPD 将位居全球死亡原因的第 3 位，其高发病率及高死亡率给社会造成了严重的经济负担[1]。肺动脉高压是慢性肺源性心脏病形成的主要原因，是 COPD 进一步发展形成慢性肺源性心脏病的关键病理环节，也是其生存率减少的独立危险因素[2]。持续缺氧导致的缺氧性肺动脉高压（Hypoxic pulmonary hypertension, HPH）是严重影响病人预后的重要因素，也是临床治疗的难点。肺血管重构是 HPH 持续发展的病理基础，同时也是肺动脉高压药物疗效不佳的主要原因之一。深入研究与理解缺氧时肺血管重构的细胞与分子机制，对于发现有效的治疗靶点具有重大的临床意义。

活性氧（Reactive oxygen species, ROS）是细胞氧代谢过程中产生的一系列活性氧簇自由基，主要包括：过氧化氢（ H_2O_2 ）、超氧阴离子（ O_2^- ）、羟自由基（ $\cdot OH$ ）等。在 HPH 的机制研究中发现，低氧促进细胞 ROS 产生增加可诱导肺动脉平滑肌细胞（PASMCs）增殖和凋亡耐受，从而导致肺动脉重构[3]；ROS 能激发炎症细胞释放大量的炎症因子，促进 PASMCs 增殖凋亡失衡，从而参与了 COPD 等疾病所致肺血管重构的过程[4]；相关研究表明氧化-抗氧化失衡在低氧肺血管重构中发挥着重要作用[5]，但其具体机制尚未完全阐明。那么，在 HPH 的形成机制中，是否存在 PASMCs 中 ROS 产生过多的同时，激活氧化-抗氧化失衡应激通路？相关研究目前国内外尚少见报道。

线粒体维持着细胞氧化还原和能量的内稳态，并且是细胞内 ROS 的主要来源，线粒体功能障碍会导致细胞内 ROS 水平增加或氧化应激，及时有效清除损伤的线粒体对改善 PASMCs 氧化应激损伤具有重要意义[6]。线粒体自噬（Mitophagy）是指细胞通过自噬的机制有选择性地清除损伤线粒体的过程，在改善细胞氧化应激和维持自身稳态中发挥关键作用。在哺乳动物体内，已发现多种信号分子通路参与线粒体自噬，其中，以 PINK1/Parkin 通路调控的线粒体自噬最为经典。那么，

在低氧PH形成机制中，PASMCs是否能够通过ROS诱导激活线粒体自噬从而参与肺血管重构？如果能，PINK1/Parkin通路是否参与其中？相关研究目前国内外尚未见报道，深入探讨PASMCs内ROS诱导线粒体自噬的分子机制，为HPH寻找新的治疗靶点将具有重要意义。

基于以上研究报道，并结合我们前期实验研究结果，提出以下科学假设（如图1所示）：低氧促进PASMCs ROS产生增加，并通过PINK1/Parkin通路参与低氧肺血管重构的形成。本研究拟在细胞、组织、动物等多个水平，探讨线粒体自噬在HPH中的作用及机制，重点研究PINK1/Parkin通路在低氧PASMC氧化应激损伤中的功能。为进一步阐明低氧肺动脉高压的发病机制提供科学依据，为HPH的临床治疗提供新的有效作用靶点。

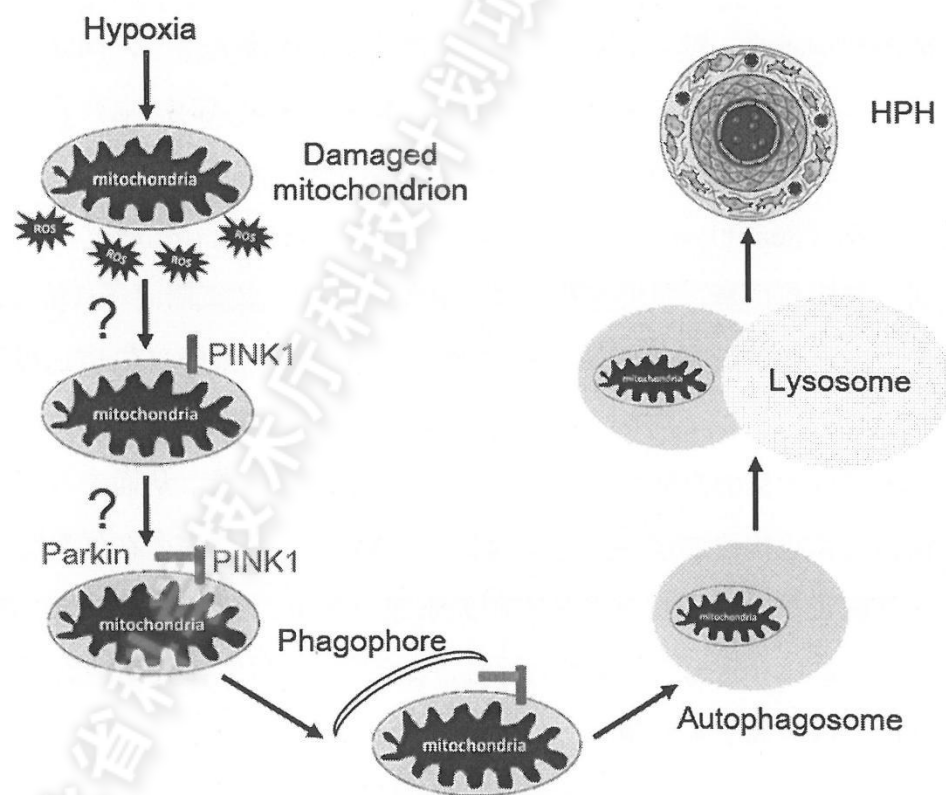


图 1. 立项依据及研究内容缩略图

参考文献

- [1] Wang C, Yang L, Xu Y, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study. *Lancet*, 2018, 391(10131):1706-1717
- [2] Orr R, Smith L J, Cuttica M J. Pulmonary hypertension in advanced chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2012, 18(2):138-143.
- [3] Hansen T, Galougahi K K, Celermajer D, et al. Oxidative and nitrosative signalling in pulmonary arterial hypertension - Implications for development of novel therapies[J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 165:50-62.
- [4] Montani D, Chaumais M C, Guignabert C, et al. Targeted therapies in pulmonary arterial hypertension[J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141(2):172-191.
- [5] Natia Qipshidze, Neetu Tyagi, Naira Metreveli, David Lominadze, Suresh C. Tyagi. Autophagy mechanism of right ventricular remodeling in murine model of pulmonary artery constriction.[J].*Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(3):688-96.
- [6] Christen F, Desrosiers V, Dupont-Cyr B A, et al. Thermal tolerance and thermal sensitivity of heart mitochondria: Mitochondrial integrity and ROS production[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 116:11.
- [7] Pickles S, Vigié P, Youle R J. Mitophagy and Quality Control Mechanisms in Mitochondrial Maintenance[J]. *Current Biology*, 2018, 28(4):R170-R185.
- [8] Xiao B, Goh J Y, Xiao L, et al. Reactive oxygen species trigger Parkin/PINK1 pathway-dependent mitophagy by inducing mitochondrial recruitment of Parkin[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(40):16697.

2、研究内容及实现方案。请写明研究思路和框架，主要研究方法（3000 字以内）。

1) 研究内容

(1) 体外培养大鼠的 PSMCs，分别在常氧、常氧+H₂O₂、低氧、低氧+ROS 抑制剂 (NAC, DPI) 的条件下分析 PSMCs 中 PINK1、Parkin 以及自噬相关蛋白 p62、LC3I、LC3II 的蛋白水平及 mRNA 水平的变化，分析低氧能否通过 ROS 激活 PINK1/Parkin 通路。透射电镜检测线粒体超微结构，损伤线粒体百分比及被自噬体包裹的线粒体百分比；罗丹明 123 结合流式细胞仪检测线粒体膜电位 (MTP)。

(2) 设计出针对大鼠 PINK1 和 Parkin 基因的小干扰 Si-PINK1 和 Si-Parkin。转染到 PSMCs 中，以小干扰 Si-PINK1 和 Si-Parkin 分别抑制 PINK1 和 Parkin 的表达，检测各组细胞中（分组同上）增殖蛋白 PCNA、Ki67，凋亡蛋白 BAX、Bcl2 蛋白表达水平以及检测各组细胞凋亡变化，分析 PINK1/Parkin 通路在低氧 PSMCs 增殖凋亡失衡中的作用。

(3) 利用 SD 大鼠构建 HPH 模型，分别给予慢病毒过表达 PINK1 和 Parkin 干

预,检测各组大鼠模型中肺小动脉中 PINK1、Parkin 以及自噬相关蛋白 p62、LC3I、LC3II) mRNA 和蛋白表达水平变化,同时观察血流动力学及肺血管重构的变化。进一步阐述 PINK1/Parkin 通路在低氧肺血管重构中的重要作用。

2) 实施方案

(1) 细胞水平实验

① 探索低氧对 PASMCs ROS 和 PINK1/Parkin 通路的影响

分别在常氧、低氧培养箱中(5%氧浓度,若无特别提及本研究中低氧默认为此浓度)培养大鼠 PASMCs。设立 6h、12h、24h、48h 等不同的时间点,分别采用 DCFH-DA 免疫荧光,流式细胞检测 ROS 变化;透射电镜检测线粒体超微结构并同时采用 real-time PCR 和 Western-blot 法检测各组细胞中相关蛋白(PINK1、Parkin 以及自噬相关蛋白 p62、LC3I、LC3II) mRNA 和蛋白表达水平。分析低氧对 ROS 和 PINK1/Parkin 通路的影响。

② 探讨低氧激发的 ROS 对 PINK1/Parkin 通路的调控

将大鼠 PASMCs 分为:常氧组、常氧+H₂O₂组、低氧组、低氧+ NAC/DPI 组。干预 48 小时后同上述①方法分别观察 ROS 与相关蛋白(PINK1、Parkin 以及自噬相关蛋白 p62、LC3I、LC3II) mRNA 和蛋白表达水平,观察低氧激发的 ROS 是否调控 PINK1/Parkin 通路。

③ 低氧 PINK1/Parkin 调控通路的分析

首先,运用蛋白体外结合实验(GST pull-down)技术和免疫共沉淀的方法检测细胞中 PINK1 和 Parkin 是否能够相互结合;其次,以小干扰 Si-PINK1 和 Si-Parkin 分别抑制 PINK1 和 Parkin, Western-blot 法观察在抑制情况下 PINK1 和 Parkin 以及下游功能蛋白 LC3I、LC3II 表达水平;最后,采用 real-time PCR 和 Western-blot 法检测:常氧组、常氧+H₂O₂组、常氧+H₂O₂+ Si-PINK1 组、常氧+H₂O₂+ Si-Parkin 组、低氧组、低氧+ NAC/DPI 组、低氧+ NAC/DPI+ Si-PINK1 组、低氧+ NAC/DPI+ Si-Parkin 组细胞中 PINK1、Parkin 和自噬相关蛋白 p62、LC3I、LC3II 以及增殖蛋白 PCNA、Ki67,凋亡蛋白 BAX、Bcl2 蛋白表达水平,用细胞免疫荧光、TUNEL、流式细胞学检测各组细胞凋亡变化。分析低氧激发的 ROS 是否通过 PINK1/Parkin 通路调控 PASMCs 增殖凋亡失衡。

(2) 动物实验

主要探讨低氧 PINK1/Parkin 通路对大鼠肺血管重构及血流动力学的影响及机制。

① 观察低氧 PH 大鼠肺动脉 ROS 对 PINK1、Parkin 表达的影响：

以 8 周龄 Sprague-Dawley 大鼠为实验动物,参照我实验室以往研究中常用的方法及国外文献,将大鼠暴露于常压低氧 (10%O₂) 环境中,制作低氧模型,每天低氧 8 小时,同时给予充足的饮食后随机分组:常氧组,常氧+BAH (ROS 抑制剂),低氧组,低氧+BAH (ROS 抑制剂) (n=10)。持续 4 周后,在生理多导仪监视下,通过右心漂浮导管测定大鼠体循环压、肺循环压、心输出量、心率及右心室比重[右心室/(左心室+室间隔)],计算体、肺循环血管阻力。采用荧光探针 DCFH-DA 检测 ROS 水平变化,用透射电镜检测线粒体超微结构,损伤线粒体百分比和被自噬体包裹的线粒体百分比。Real-time PCR、Western-blot 和免疫组化法检测调控相关蛋白 (PINK1、Parkin 以及自噬相关蛋白 p62、LC3I、LC3II) 的变化以及凋亡蛋白,采用 HE 染色、弹力纤维染色、 α -actin 染色、增殖细胞核抗原 (PCNA)、Ki67, TUNEL 染色等多种方法观察各组大鼠的肺血管重构情况,并分析低氧 PH 大鼠肺动脉 ROS 对 PINK1 和 Parkin 表达的影响以及对低氧 PH 的影响。

②动物模型干预：

按照上述①方法制作低氧模型,每天低氧 8 小时,同时给予充足的饮食后随机分组:常氧组,常氧+ PINK1 基因敲除组 (PINK1^{-/-}),常氧+Parkin 基因敲除组 (Parkin^{-/-}),低氧组,低氧+ PINK1 基因敲除组 (PINK1^{-/-}),低氧+ Parkin 基因敲除组 (Parkin^{-/-}) (n=10)。持续 4 周后,在生理多导仪监视下,通过右心漂浮导管测定大鼠体循环压、肺循环压、心输出量、心率及右心室比重[右心室/(左心室+室间隔)],计算体、肺循环血管阻力。采用荧光探针 DCFH-DA 检测 ROS 水平变化,real-time PCR、Western-blot 和免疫组化法检测相关蛋白 (PINK1、Parkin 以及自噬相关蛋白) 和凋亡蛋白 BAX、Bcl2 表达水平变化;透射电镜观察肺血管线粒体形态变化情况;采用 HE 染色、弹力纤维染色、 α -actin 染色、增殖细胞核抗原 (PCNA)、Ki67, TUNEL 染色等多种方法观察各组大鼠的肺血管重构情况,并分析 PINK1/Parkin 通路对低氧肺血管重构以及 PH 的影响。

3) 技术路线 (图 2、3)

第一部分 细胞培养实验线路和实验手段如图:

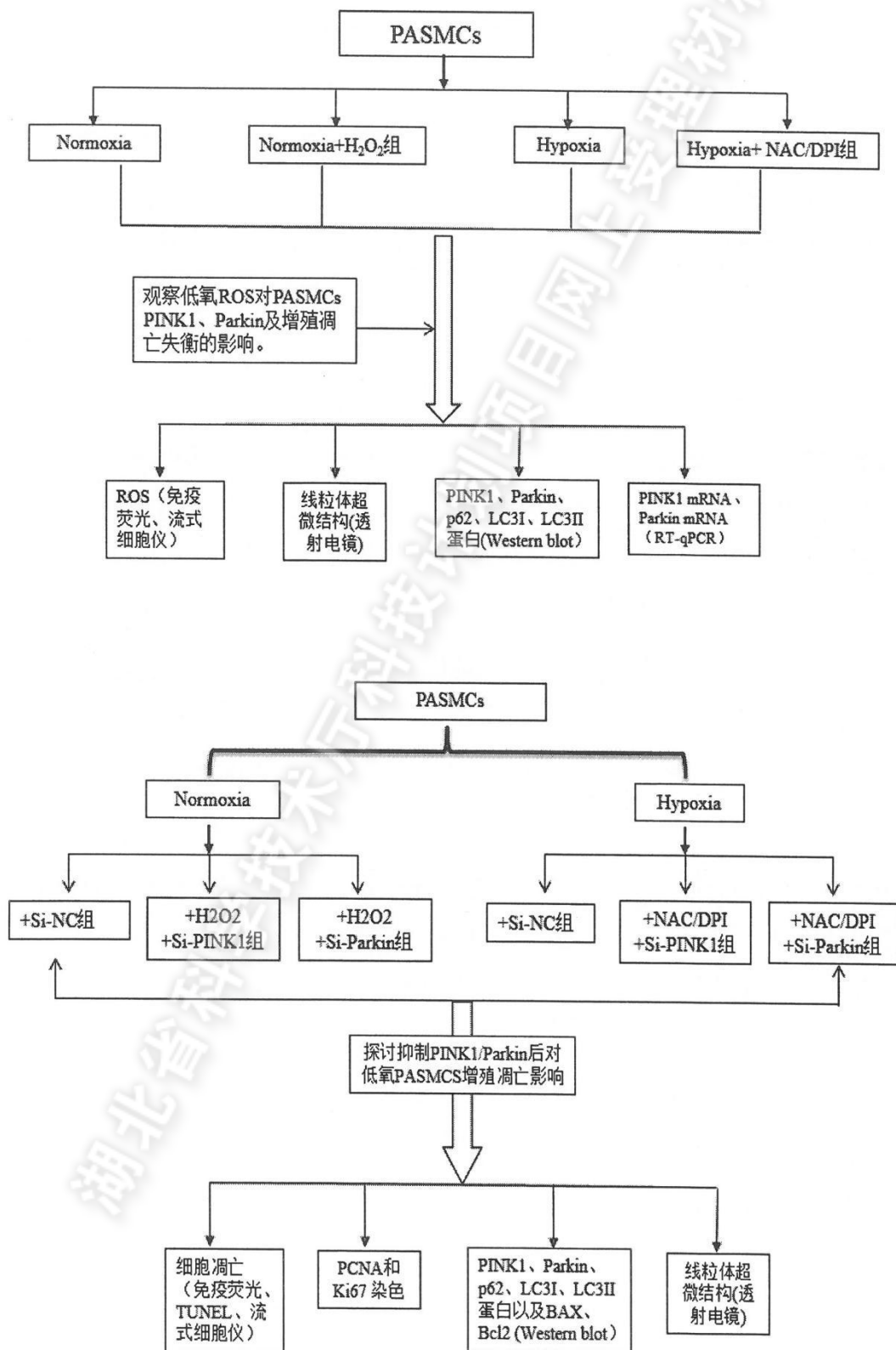


图 2 体外细胞验证 PINK1/Parkin 对低氧 PSMCS 增殖凋亡失衡的影响及机制
第二部分 动物实验线路和实验手段如下图：

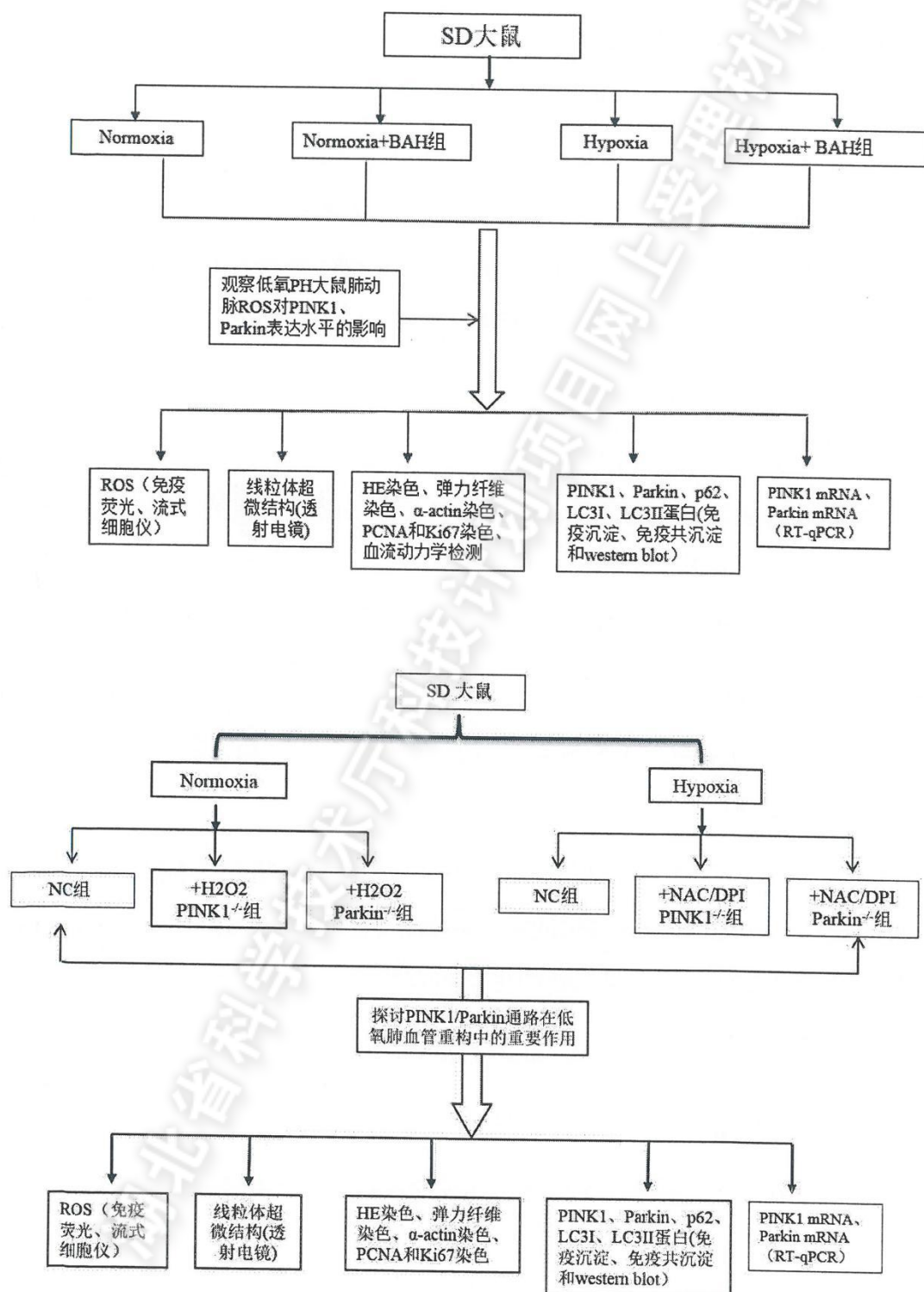


图 3 体内组织水平验证 PINK1/Parkin 对低氧肺血管重构及 PH 的影响及机制

3、第一、第二年研究工作进度，总体预期成果目标（1000字以内）。

1) 研究工作进度计划

① 2019 年 1 月至 2019 年 12 月

包括制作大鼠的慢性缺氧模型，检测不同时间的低氧后肺循环动力学变化、肺动脉平滑肌中 ROS 以及 PINK1、Parkin 蛋白水平变化。并进行资料的整理和统计学分析。细胞实验并针对 PINK1 和 Parkin 的 siRNA 的设计和筛选，质粒载体构建，质粒转染细胞后的检测，各组细胞中 PINK1、Parkin 的 mRNA 和蛋白水平变化，以及细胞增殖、凋亡和迁移的变化。并进行资料的整理和统计学分析。

② 2020 年 1 月至 2020 年 12 月

主要完成动物体内水平的实验研究。包括基因敲除小鼠的干预实验，各组动物肺循环动力学改变及标本收集，并检测各组动物标本中 PINK1、Parkin 的 mRNA 和蛋白水平变化，肺血管重构的变化等。最后进行统计分析，总结并撰写论文。

2) 预期研究成果

① 预期发表国家统计源权威或者核心期刊论文 1-2 篇，SCI 论文 1 篇，为本研究团队后续的研究及课题申报打下良好的基础。

② 结合肺动脉高压的发病机制及线粒体自噬的作用机理，本研究可能会证实 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬通路在低氧肺血管重塑中发挥重要作用，将会为临床 COPD 合并 HPH 的治疗提供新的思路和方法。

4、工作基础和条件。该项目的前期工作基础及现有的科研环境、仪器设备等（500 字以内），依托单位对该项目前期支持情况（单位内部科研项目、经费及相关政策支持等，500 字以内），依托重点实验室简介（500 字以内）。

1) 工作基础

① 实验物质基础

本学科为恩施州重点学科（内科学呼吸系统），自上世纪 90 年代以来，慢阻肺及 HPH 一直是我科基础及临床研究的重要方向之一，创建了很好的临床及科研研究平台，本院具备对外开放的病理生理学、细胞生物学、分子生物学及相关的实验室，具备本项目实施所需的全部仪器设备条件。因此，本项目所设计的各项工作经过积极努力，是完全可以按期完成的。恩施州中心医院科研实验室对本课题项目的前期准备工作及基础研究给予了部分实验试剂及耗材费用减免的扶持政策。课题依托的第二科研实验室是国家卫生部重点实验室，具备完善的硬件条件，该实验室承担过一系列如国家“973”专项和子课题、国家“865”重点及重大专项、国家自然科学基金重点项目、国家杰出青年科学基金项目等共计 40 余项，省部级科研项目及国家自然科学基金面上项目共计 80 余项。依托实验室具备成熟的科研平台，强大、完善的硬件条件，这能保证本课题的顺利完成。

② 与项目相关的前期研究基础

（1）本课题预实验：与常氧组相比，SD 低氧 PH 模型中肺小动脉中自噬体明显增多（图 4）；

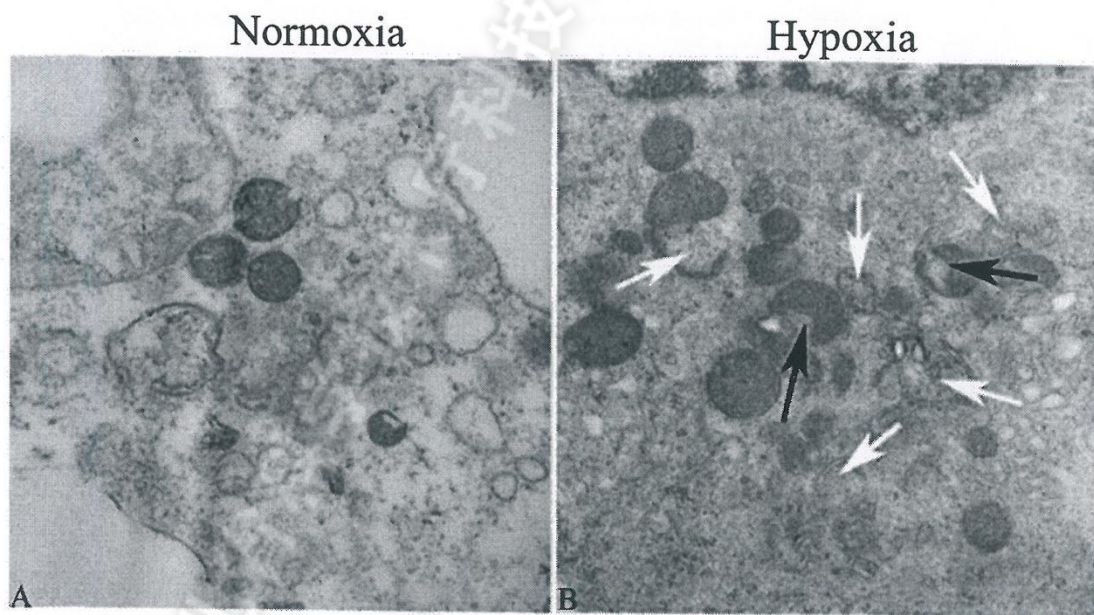


图 4.低氧对肺小动脉组织自噬体的影响

（2）本课题预实验：与常氧组相比，SD PH 模型中肺小动脉线粒体损伤增多（图 5A）；随缺氧时间增加，肺小动脉中 PINK1 和 Parkin 表达不断升高（图 5B 和图 5C）。

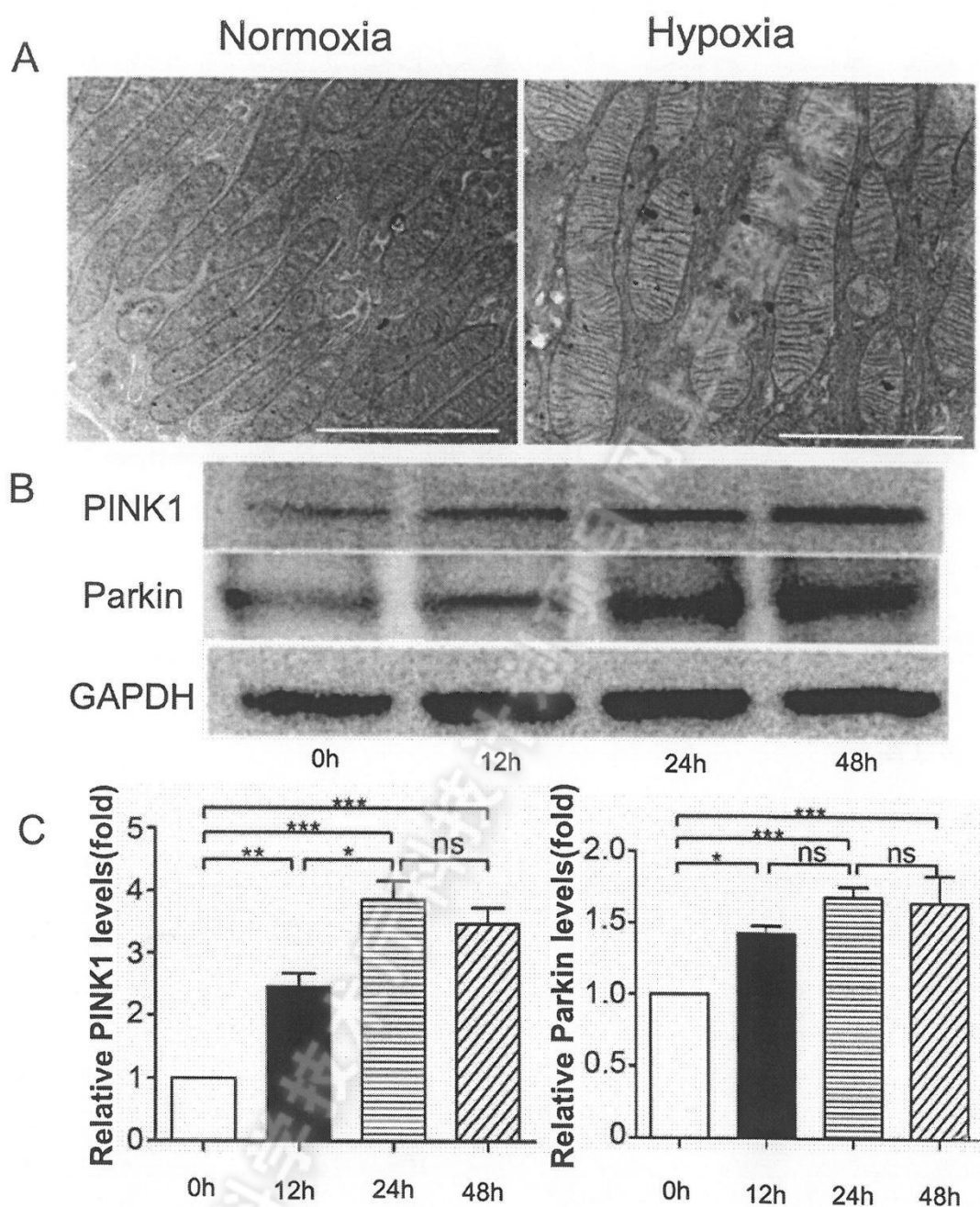


图 5.低氧对组织线粒体自噬的影响：A，透射电镜中线粒体形态在常氧组、低氧组 SD 大鼠 PSMCs 中表达的改变；B，WB 检测 PINK1 和 Parkin 随低氧时间增加表达增强；C，图 B 的量化统计图。（n=3； Normoxia vs Hypoxia，*， $P<0.05$ ；**， $P<0.01$ ；***， $P<0.001$ ）。

（3）本课题预实验：细胞免疫荧光检测，低氧状态下，PSMCs 中 PINK1 和 Parkin 表达变化：结果表明，低氧状态下，PINK1 和 Parkin 表达均上调，提示低氧激活 PINK1 和 Parkin 的表达（图 6）。

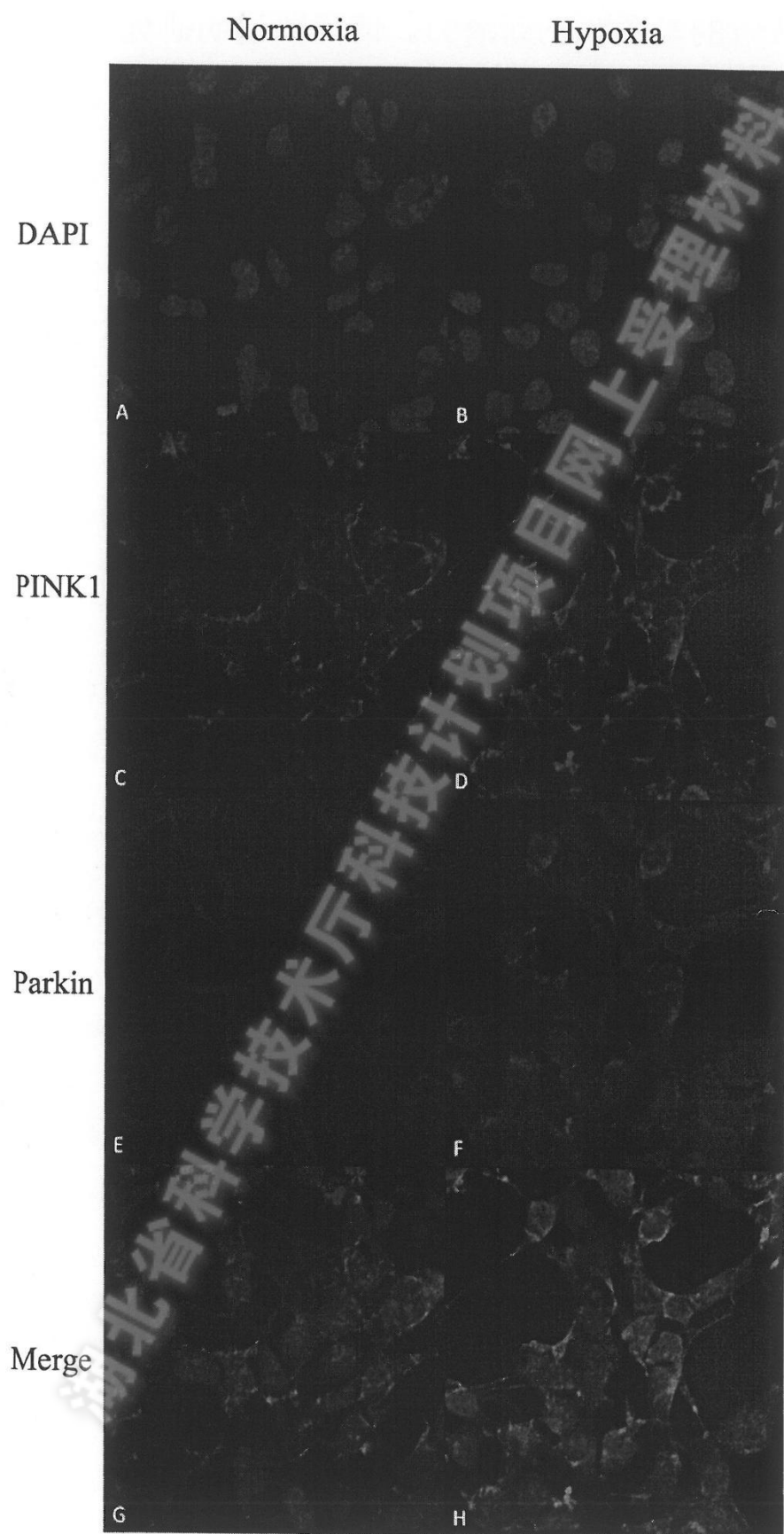


图 6.大鼠 PASMCs 常氧与低氧状态下 PINK1 和 Parkin 的表达变化

5、研究队伍的素质和创新能力。请简要说明研究队伍组成，简介主要骨干的代表性研究成果（必要时可列出标志性论文、获奖证书等相关材料，每位不超过三件，2000 字以内）。

1) 研究队伍的素质

本课题项目研发团队由 1 名主任医师、2 名博士、1 名博士生、3 名硕士、1 名硕士生组成，结构合理。项目相关参与人具有扎实的实验经历，具有深厚的基础及临床知识，能保证本研究项目顺利完成。申请者和项目组主要成员均具有良好的研究背景，已熟练掌握本项目实施所需的实验技术。如 real time-PCR、免疫共沉淀、免疫组化、Western-Blot、有创血流动力学检测、siRNA 的设计与转染等。

2) 本研究的创新性

① 创新性较突出：PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬在体循环血管平滑肌细胞的多种生物学过程中具有重要调控作用，但是有关线粒体自噬在引起肺动脉高压最常见的因素即低氧所导致的肺血管重构中的作用和分子机制，国内外均未见研究报道。

② 切入点较独特：本项目在深入分析线粒体自噬的最新研究进展后，从细胞 ROS 调控的角度来探讨低氧启动线粒体自噬的信号转导机制。

③ 立题依据充分：本研究以申请者最近取得的相关研究成果为基础，以国际上最新的研究结果为依据，可行性较高。

④ 具有较重要的意义：低氧性肺血管重构是 COPD 患者发展成为 HPH 和肺源性心脏病的重要病理学基础。该研究深入探讨了其可能的发病机制，有可能为肺动脉高压的治疗提供潜在的新的干预靶点。

3) 申请人与参与人简介

申请人张明华参与的基础科研项目及代表性科研成果：

恩施州中心医院呼吸与危重症医学科副主任医师、硕士、湖北民族大学临床医学学院硕士研究生导师。现为湖北省病理生理学会呼吸专业委员，恩施州呼吸内科学会委员。

[1] 张明华, 税明明, 姚俊, 李光才, 邹毅. 血清硒水平对老年慢性阻塞性肺疾病患者临床诊断价值及其与 PI3K/AKT/mTOR 通路蛋白水平的关系分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(18):1841-1844.

[2] 张明华, 税明明, 姚俊, 范万里. 肺泡灌洗术联合机械通气对老年重症哮喘患者临床症状及肺功能的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2017, 21(11):45-47.

[3] 张明华, 余红樱, 叶琳, 陈国忠. 慢性阻塞性肺疾病患者呼出气冷凝液中白三烯 B₄ 与肿瘤坏死因子 α 检测的临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(03):442-445.

[4] 张明华, 税明明, 姚俊, 刘碧翠. 3 项指标在急性肺栓塞患者临床诊断中的价值分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(22):3271-3272.

[5] 张明华, 税明明, 姚俊, 刘碧翠. 头孢呋肟联合痰热清治疗老年慢性支气管炎患者的效果及对血气指标、炎性因子的影响[J]. 疑难病杂志, 2015, 14(10):1027-1029+1032.

[6] 张明华, 税明明, 姚俊, 刘碧翠. 噻托溴铵对稳定期中重度慢性阻塞性肺疾病患者预后及血清降钙素原的影响[J]. 疑难病杂志, 2015, 14(08):807-810.

[7] 姚俊, 张明华. 下呼吸道感染的治疗与用药分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(20):119.

[8] Guangcai Li, Meng Jin, Yuan He, Jie Ren, **Minghua Zhang**, Yilin Chen, Huiguo Liu, Fork Head Box Class O1 (FOXO1) Activates Bim Expression to Mediate Cardiac Apoptosis in Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Cardiac Hypertrophy, Med Sci Monit 2017; 23:3603-3616.

[9] Lan, T. and X. Lan, Li, G, **Minghua Zhang**, et al. (2017). "Prognostic role of long noncoding RNA ZFAS1 in cancer patients: a systematic review and meta-analysis." Oncotarget 8 (59): 100490-100498.

蔡彦力博士主要研究成果:

[1] **Y.-L.Cai**, Z.-W.Wang. The expression and significance of IL-6, IFN- γ , SM22 α , and MMP-2 in rat model of aortic dissection. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(3): 560-568.

[2] Deng ZB*, **Cai YL***, Huang JQ. Short- and long-term outcomes for patients aged ≥ 70 years undergoing video-assisted thoracoscopic surgery for non-small cell lung cancer[J]. International Journal of Clinical & Experimental Medicine, 2017, 10(6):9432-9439. (*Equal contributors)

[3]蔡彦力,郑勇,黄进启等.胸中上段食管癌淋巴结三野清扫术与完全二野清扫术比较,中国胸心血管外科临床杂志,2016,23(5):506-508。

[4]蔡彦力,姚元波,黄进启等.食管癌三野淋巴结清扫根治术 65 例临床分析,华西医学,2016,31(9):1575-1577。

[5]蔡彦力,黄进启,郑勇等.双层涤纶条与人工软环三尖瓣环成形术效果比较,中华实验外科杂志,2012,29(10):2092。ISSN1001-9030 CN42-1213/R

[6]蔡彦力,黄进启,郑勇等.跨级支气管吻合呼吸道重建术在中央型肺癌手术中的应用,中国现代手术学杂志,2012,16(4):274-275。ISSN1009-2188 CN43-1335/R

[7]蔡彦力,黄进启,郑勇等.采用自制双层涤纶垫带行三尖瓣瓣环成形术,中国胸心血管外科临床杂志,2011,18(3):280。ISSN1007-4848 CN51-1492/R

[8]蔡彦力,黄进启,郑勇等.肺动脉成形重建术在支气管肺癌手术中的应用.临床肺科杂志,2011,16(4):631。ISSN1009-6663 CN34-1230/R

[9]蔡彦力,黄进启,郑勇等.胸壁肿瘤切除后胸壁大块缺损的修复重建,中国现代手术学杂志,2011,15(5):362-364。ISSN1009-2188 CN43-1335/R

[10]蔡彦力,黄杰,黄进启等. PTEN, 表皮生长因子受体和 Ki-67 在胸腺瘤中的表达及临床意义,中国胸心血管外科临床杂志,2008,15(2):108。

李光才博士简介及主要研究成果:

恩施州中心医院呼吸与危重症医学科副主任、副主任医师、博士、湖北民族大学临床医学院硕士研究生导师。现为湖北省呼吸学会委员,恩施州呼吸内科学会委员。

[1] Li, G. and M. Jin, et al. (2017). "Fork Head Box Class O1 (FOXO1) Activates Bim Expression to Mediate Cardiac Apoptosis in Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Cardiac Hypertrophy." Med Sci Monit 23: 3603-3616.

[2] Li, G. and Y. He, et al. (2016). "Angelicin inhibits human lung

carcinoma A549 cell growth and migration through regulating JNK and ERK pathways." Oncol Rep 36 (6): 3504-3512.

[3] Li, G. and Y. He, et al. (2017). "Small nucleolar RNA 47 promotes tumorigenesis by regulating EMT markers in hepatocellular carcinoma." Minerva Med 108 (5): 396-404.

[4] Lan, T. and X. Lan, Li, G, et al. (2017). "Prognostic role of long noncoding RNA ZFAS1 in cancer patients: a systematic review and meta-analysis." Oncotarget 8 (59): 100490-100498.

[5] 李光才,何媛. 博来霉素性肺纤维化大鼠 NADPH 氧化酶介导的细胞外基质重构机制研究 [J]. 临床和实验医学杂志.2015,14(15):1242-1245.

[6] 李光才,何媛.噻托溴铵联合沙美特罗/丙酸氟替卡松治疗稳定期 COPD 的临床疗效[J].临床肺科杂志.2015,20(1):80-83.

[7] 李光才,胡克.氨溴索对慢性阻塞性肺疾病急性发作患者呼吸功能及炎症应激的影响[J].海南医学院学报.2014,20(4):480-482.

[8] 李光才, 胡克.罗氟司特治疗糖皮质激素抵抗型支气管哮喘 42 例疗效评价[J].中国药业.2014,23 (17) :22-23.

张波博士生主要研究成果

[1]国家自然科学基金,81172579,EB 病毒介导细胞 DNA 应激沉默和端粒酶 TCAB1 转录激活的效应及信号调控, 63 万, 已完成, 参研本项目前期实验, 负责的内容: EB 病毒介导细胞 DNA 应激沉默。

[2]湖北省教育厅基金项目, B20111903, 长螺钉在下颌骨髁突骨折内固定中的临床应用, 2 万, 2011. 01. 01-2014. 12. 01, 负责, 已完成, 与本项目有关, 掌握了志愿者的募集, 标本的收集与检测等。

[3]张波. PBL 教学法在临床医学专业口腔科学教学中的应用 [J]. 湖北民族学院学报 (医学版), 2012, 29 (3): 79—80.

- [4]张波, 许昱. 鼻内镜下两种手术径路治疗上颌窦囊肿 80 例临床分析[J]. 临床口腔医学杂志, 2012, 28 (9): 536—537.
- [5]张波, 李丽. 舌癌颈淋巴清扫术不同术式的临床疗效[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32 (21): 482—483.
- [6]张波. 老年人口腔鳞状细胞癌组织中 p21 和 KAI1 蛋白的表达及意义[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33 (4): 774-775.
- [7]张波, 孙艳华. 小型钛板坚固内固定技术治疗老年下颌骨髁突骨折的临床研究[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33 (23): 5864-5865.
- [8]张波, 李丽, 张迪, 刘长虹, 段培佳, 钟惠兰. 西吡氯铵含片对口臭致臭菌和致臭底物作用的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36 (16): 1750-1753.
- [9]延欣虹, 张波*. 白芍总苷对糜烂型口腔扁平苔藓患者外周血中 IFN- γ 及 IL-10 表达的影响研究[J]. 口腔医学研究, 2016, 32 (5): 534-537.
- [1]Kun Wang, Yichen Ge, Chao Ni, Bomiao Cui, Jintao Du, **Bo Zhang**, Xiaoyu Hu, Jiao Chen, Liying Xiao, Chongkui Sun & Yan Li. Epstein-Barr virus-induced up-regulation of TCAB1 is involved in the DNA damage response in nasopharyngeal carcinoma. Scientific Reports, 2017, 7 (1) : 3218.

姚俊主任医师主要研究成果:

恩施州中心医院呼吸内科主任, 主任医师。现为湖北省呼吸学会委员, 湖北省变态反应学会委员, 恩施州医学会理事, 恩施州呼吸内科学会主任委员, 恩施州防痨协会常务理事, 恩施州应急管理专家, 恩施州司法鉴定专家, 恩施州医疗事故鉴定委员会专家。主持和参与多项新业务、新技术, 其中《纤维支气管镜下治疗肺、支气管感染》获恩施州中心医院新业务新技术二等奖, 《支气管镜替代胸腔镜胸膜活检》、《支气管镜直视下胸膜粘连术治疗复发性气胸》获新业务新技术三等奖, 《支气管肺泡灌洗 (BAL) 治疗重症肺炎》、《经支气管镜肺活检术临床应用》、等获新业务新技术优秀奖。有十余篇论文著作在核心期刊发表和国家级、省级学会上交流。

[1]姚俊. 中西医结合治疗代谢综合征的临床疗效[J]. 中国医药导报. 2013, 10(1): 85-87.

[2]姚俊. 老年心血管疾病的肺功能改变[J]. 中国临床康复. 2001, 5(12): 70.

[3]姚俊. 单侧胸膜腔积液对肺功能的影响[J]. 内科急危重症杂志. 2001, 7(1): 30-34.

[4]Guangcai Li, Yuan He, **Jun Yao**, Chuying Huang, XiuSheng Song et al., Angelicin inhibits human lung carcinoma A549 cell growth and migration through regulating JNK and ERK pathways. Oncology Reports. 2016, 36: 3504-3512.

[5] 姚俊, 张明华.下呼吸道感染的治疗与用药分析[J].世界最新医学信息文摘.2015,15(20):119.

[6] 黄海, 郑臻, 陈依林, 黄华, 姚俊.特发性肺纤维化合并肺气肿与未合并肺气肿患者的临床差异[J].国际呼吸杂志. 2014,34(4):254-256.

湖北省科学技术厅科技计划项目网上受理材料