

国家自然科学基金资助项目批准通知

蒋剑 先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》和专家评审意见，国家自然科学基金委员会（以下简称自然科学基金委）决定批准资助您的申请项目。项目批准号：81974130，项目名称：Lipocalin-2在炎症反应启动晶状体上皮细胞间质转化过程中的调控机制研究，直接费用：55.00万元，项目起止年月：2020年01月至2023年12月，有关项目的评审意见及修改意见附后。

请尽早登录科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsf.gov.cn>），获取《国家自然科学基金资助项目计划书》（以下简称计划书）并按要求填写。对于有修改意见的项目，请按修改意见及时调整计划书相关内容；如对修改意见有异议，须在电子版计划书报送截止日期前向相关科学处提出。

电子版计划书通过科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsf.gov.cn>）上传，依托单位审核后提交至自然科学基金委进行审核。审核未通过者，返回修改后再行提交；审核通过者，打印纸质版计划书（一式两份，双面打印），依托单位审核并加盖单位公章后报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。电子版和纸质版计划书内容应当保证一致。向自然科学基金委提交和报送计划书截止时间节点如下：

- 1、提交电子版计划书截止时间为**2019年9月11日16点**（视为计划书正式提交时间）；
- 2、提交电子修改版计划书截止时间为**2019年9月18日16点**；
- 3、报送纸质版计划书截止时间为**2019年9月26日16点**。

请按照以上规定及时提交电子版计划书，并报送纸质版计划书，未说明理由且逾期不报计划书者，视为自动放弃接受资助。

附件：项目评审意见及修改意见表

国家自然科学基金委员会
2019年8月16日

计划类别： 自然科学基金

项目类别： 面上项目

执行处室： 省自然科学基金委员会办公室

项目编号： 2020JJ4882



009066752009

湖南创新型省份建设专项任务书

(2020年度)

项目名称： EGR1-HIF-1 α -LCN2信号通路调控炎症反应诱导晶状体上皮细胞EMT的机制研究

项目负责人： 蒋剑

联系电话： 073189753521

电子邮件： jiangjianxy@126.com

依托单位： 中南大学湘雅医院

单位地址： 湖南省长沙市湘雅路87号

执行期限： 2020年01月01日 至 2022年12月31日

湖南省科学技术厅制

二〇二〇年制

编写说明

- 一、本任务书经甲乙丙三方签字盖章后生效，作为计划项目执行和检查、评估、验收的依据。
- 二、项目编号规则：如2019JJ1001，第1-4位为立项年份；第5-6位为计划执行处室代码，ZK表示法规处，TP、JC表示科研条件与基础研究处，GK表示高新处，NK表示农村处，SK表示社发处，WK表示合作处，CK表示成果处，RS表示人事处，JJ表示基金办，DK表示动管办；第7位为计划层次，在自然科学基金合同中，1表示创新研究群体项目，2表示杰出青年基金项目，3表示优秀青年基金项目，4表示面上项目，5表示青年基金项目，6表示省市联合基金项目，7表示科教联合基金项目，8表示科卫联合基金项目，9表示科药联合基金项目；第8-10位为项目顺序号。
- 三、本任务书内容参照项目申请材料，表达要明确、严谨，字迹要清晰，外来词语同时用原文和中文表达。同时应注意以下事项：①本任务书中“研究进度及预期目标”应与申请书中的相应内容一致；②本任务书中的“考核指标”应同“预期目标”中的相关内容相吻合，不得无故减少预期指标；③本任务书中的“项目组主要成员”应同申请书中一致，如有成员变动，必须办理项目变更程序；④本任务书“经费预算”中的“省级财政专项经费”是从申请书中直接读取的不能更改，其中间接费用不能超过（直接费用-设备费）×30%。
- 四、本任务书表格内容较多的，请自行添加附页。
- 五、本任务书统一用A4纸张打印，复印件用A4复印纸，统一于左侧装订成册。

一、简表

申请者信息	姓名	蒋剑	性别	男	出生年月	1979年10月	民族	汉族
	学位	博士	职称	副主任医师				
	电话	073189753521	手机					
	传真		电子邮箱	jiangjianxy@126.com				
	工作单位	中南大学湘雅医院						
	所在院系所							
依托单位信息	名称	中南大学湘雅医院		统一社会信用代码 (组织机构代码)				
	联系人	郭华		电子邮箱				
	电话	0731-84327348		手机				
合作单位信息	单位名称				统一社会信用代码 (组织机构代码)			
项目基本信息	项目名称	EGR1-HIF-1 α -LCN2信号通路调控炎症反应诱导晶状体上皮细胞EMT的机制研究						
	资助类别	面上项目						
	附注说明							
	学科代码1	晶状体与白内障			学科代码2			
	执行年限	2020-01-01至2022-12-31			研发方向	后发性白内障		
	省级财政经费(万元)	5.00						

1, Hippocampin-2, Inflammation

三、研究进度及预期目标

(1) 年度研究计划

2020.01.01~2020.12.31

- ① 研究人晶状体上皮细胞 (LECs) 经LPS诱导后, LCN2、CXCL1、COX-2、pSMAD3的表达变化。
- ② 细胞经LCN2 shRNA、LPS培养后, LCN2、CXCL1、COX-2、pSMAD3表达变化。RNA-seq分析LCN2 shRNA转染和未转染的LECs在LPS干预后的基因表达差异。
- ③ 转染EGR1 shRNA后, LPS继续培养细胞, 观察其对细胞EGR1、HIF-1 α 和LCN2表达的影响。细胞转染HIF-1 α shRNA, LPS继续培养细胞, 观察HIF-1 α 和LCN2的表达变化。
- ④ ChIP实验检测细胞EGR1、HIF-1 α 和LCN2三者相互作用的关系。TUNEL法检测细胞凋亡。

2021.01.01~2021.12.31

- ① 细胞转染LCN2 shRNA, 再经LPS或TGF β -2干预培养, 检测其对细胞LCN2、pSMAD3、 α SMA、fibronectin、Snail表达的影响, 并观察细胞形态的变化。
- ② MTT检测细胞增殖活性、Transwell检测细胞侵袭能力、划痕实验检测细胞移行能力。TUNEL法检测细胞凋亡。
- ③ 饲养LCN2-/-小鼠, 繁殖后代, Genotyping鉴定小鼠基因型。
- ④ 取LCN2-/-小鼠晶状体囊膜铺片, 双重免疫荧光染色检测LCN2、WGA, 形态学上观察LCN2基因敲除效果。
- ⑤ RNA-seq分析对比LCN2-/-小鼠和正常小鼠术后24h和48h晶状体上皮细胞的基因表达差异, 数据分析。
- ⑥ 分别建立正常C57BL/6小鼠和LCN2-/-小鼠白内障模拟手术模型。术毕立即前房注射CXCR2抑制剂SCH527123; 两种手术动物模型均与前房未注射抑制剂的同类型小鼠进行比较。

2022.01.01~2022.12.31

- ① 免疫荧光检测各组小鼠术后晶状体囊袋内及晶状体上皮细胞 α SMA、pSMAD3、CD11b、F4/80的表达。
- ② Western blotting、qRT-PCR、免疫荧光检测各组小鼠术后LCN2、CXCR2、CXCL1、COX-2、pSMAD3、 α SMA、fibronectin、tenascin C的表达变化。
- ③ 各组小鼠眼球组织切片HE染色, 形态学观察晶状体上皮细胞增殖及PCO形成的变化。
- ④ 双重免疫荧光染色法检测各组小鼠术后晶状体纤维细胞标志物cMAF和Aquaporin 0的表达。Caspase3晶体上皮细胞染色观察是否存在凋亡情况。
- ⑤ 整理资料, 处理数据, 完成论文写作和总结汇报工作。

(2) 预期研究成果

- ① 明确LCN2在LECs的炎症反应中是否受EGR1-HIF-1 α 的调控, 以及三者之间的相互作用关系; 明确LCN2对人和小鼠LECs炎症反应及增殖、EMT的调控作用; 明确LCN2表达缺失对人和小鼠LECs的炎症及EMT相关因子的表达影响; 明确LCN2对小鼠白内障术后PCO形成的影响。
- ② 研究结果在国内外重要学术刊物上发表论文2-3篇, 其中SCI期刊1-2篇。
- ③ 培养博士研究生1名、硕士研究生2名。

(3) 拟参加的重要国内外会议和国际交流

课题组拟参加中国眼科学和视觉科学研究大会 (CCRV0) 及全国眼科学术大会各1次, 将本课题研究当中得出的最新结论及时在国内外会议上展示。

四、考核指标

产出成果	
指标内容	数量
发表论文 (出版专著) (篇)	2
申请及授权专利 (项)	0
获得国家级项目 (项)	0
获得奖励	0
人才培养 (人)	3
科技报告	
指标内容	数量
中期进展报告 (只有杰青在第二年须提供)	0
验收 (结题) 报告 (所有项目都须提供)	1
专题报告 (视情况自愿提交)	0

三、研究进度及预期目标

(1) 年度研究计划

2020.01.01~2020.12.31

- ① 研究人晶状体上皮细胞 (LECs) 经LPS诱导后, LCN2、CXCL1、COX-2、pSMAD3的表达变化。
- ② 细胞经LCN2 shRNA、LPS培养后, LCN2、CXCL1、COX-2、pSMAD3表达变化。RNA-seq分析LCN2 shRNA转染和未转染的LECs在LPS干预后的基因表达差异。
- ③ 转染EGR1 shRNA后, LPS继续培养细胞, 观察其对细胞EGR1、HIF-1 α 和LCN2表达的影响。细胞转染HIF-1 α shRNA, LPS继续培养细胞, 观察HIF-1 α 和LCN2的表达变化。
- ④ ChIP实验检测细胞EGR1、HIF-1 α 和LCN2三者相互作用的关系。TUNEL法检测细胞凋亡。

2021.01.01~2021.12.31

- ① 细胞转染LCN2 shRNA, 再经LPS或TGF β -2干预培养, 检测其对细胞LCN2、pSMAD3、 α SMA、fibronectin、Snail表达的影响, 并观察细胞形态的变化。
- ② MTT检测细胞增殖活性、Transwell检测细胞侵袭能力、划痕实验检测细胞移行能力。TUNEL法检测细胞凋亡。
- ③ 饲养LCN2-/-小鼠, 繁殖后代, Genotyping鉴定小鼠基因型。
- ④ 取LCN2-/-小鼠晶状体囊膜铺片, 双重免疫荧光染色检测LCN2、WGA, 形态学上观察LCN2基因敲除效果。
- ⑤ RNA-seq分析对比LCN2-/-小鼠和正常小鼠术后24h和48h晶状体上皮细胞的基因表达差异, 数据分析。
- ⑥ 分别建立正常C57BL/6小鼠和LCN2-/-小鼠白内障模拟手术模型。术毕立即前房注射CXCR2抑制剂SCH527123; 两种手术动物模型均与前房未注射抑制剂的同类型小鼠进行比较。

2022.01.01~2022.12.31

- ① 免疫荧光检测各组小鼠术后晶状体囊袋内及晶状体上皮细胞 α SMA、pSMAD3、CD11b、F4/80的表达。
- ② Western blotting、qRT-PCR、免疫荧光检测各组小鼠术后LCN2、CXCR2、CXCL1、COX-2、pSMAD3、 α SMA、fibronectin、tenascin C的表达变化。
- ③ 各组小鼠眼球组织切片HE染色, 形态学观察晶状体上皮细胞增殖及PCO形成的变化。
- ④ 双重免疫荧光染色法检测各组小鼠术后晶状体纤维细胞标志物cMAF和Aquaporin 0的表达。Caspase3晶体上皮细胞染色观察是否存在凋亡情况。
- ⑤ 整理资料, 处理数据, 完成论文写作和总结汇报工作。

(2) 预期研究结果

- ① 明确LCN2在LECs的炎症反应中是否受EGR1-HIF-1 α 的调控, 以及三者之间的相互作用关系; 明确LCN2对人和小鼠LECs炎症反应及增殖、EMT的调控作用; 明确LCN2表达缺失对人和小鼠LECs的炎症及EMT相关因子的表达影响; 明确LCN2对小鼠白内障术后PCO形成的影响。
- ② 研究结果在国内外重要学术刊物上发表论文2-3篇, 其中SCI期刊1-2篇。
- ③ 培养博士研究生1名、硕士研究生2名。

(3) 拟参加的重要国内外会议和国际交流

课题组拟参加中国眼科学和视觉科学研究大会 (CCRV0) 及全国眼科学术大会各1次, 将本课题研究当中得出的最新结论及时在国内外会议上展示。

四、考核指标

产出成果	
指标内容	数量
发表论文 (出版专著) (篇)	2
申请及授权专利 (项)	0
获得国家级项目 (项)	0
获得奖励	0
人才培养 (人)	3
科技报告	
指标内容	数量
中期进展报告 (只有杰青在第二年须提供)	0
验收 (结题) 报告 (所有项目都须提供)	1
专题报告 (视情况自愿提交)	0

六、经费预算（单位：万元）

预算科目名称			合计	省级财政专项经费	自筹经费
经费支出总额			5.00	5.00	0.00
直接费用	直接费用总额		3.85	3.85	0.00
	1、设备费	(1)购置设备费	0.00	0	0.00
		(2)试制设备费	0.00	0.00	0.00
		(3)设备改造与租赁费	0.00	0.00	0.00
	2、材料费		3.00	3.00	0.00
	3、测试化验加工费		0.20	0.20	0.00
	4、燃料动力费		0.00	0	0.00
	5、差旅费		0.15	0.15	0.00
	6、会议费		0.10	0.10	0.00
	7、国际合作与交流费		0.00	0	0.00
	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费		0.10	0.10	0.00
	9、劳务费		0.30	0.30	0.00
	10、专家咨询费		0.00	0.00	0.00
	11、其他支出		0.00	0.00	0.00
间接费用	间接费用总额		1.15	1.15	0.00
	其中：绩效支出		0.80	0.80	0.00
二、经费来源			5.00	5.00	0.00
1、专项经费			5.00	5.00	/
2、自筹经费			0.00	/	0.00
(1)其他财政拨款			0.00	/	0.00
(2)单位自有货币资金			0.00	/	0.00
(3)其他资金			0.00	/	0.00

七、各方权利义务

1、本任务书甲方为湖南省科技厅，乙方为项目承担单位，丙方为项目推荐单位。根据[湘财教指（2020）20号]号文件，甲方及丙方委托乙方组织实施湖南创新型省份建设专项（项目编号：2020JJ4882），总投入5.00万元，其中甲方5.00万元，丙方0万元，乙方自筹0万元。

2、各方均应共同遵守国家、省有关科技计划与经费管理的规定，严格遵守并认真履行本任务书的各项条款。如政府财政投入涉及有偿使用和股权投资，应单独签订并执行相关协议，作为本任务书的附件。任务执行期间，甲方有权直接组织或委托丙方检查、监督乙方对本任务书的履行情况。项目执行期满，乙方应及时向甲方申请验收，由甲方负责组织验收工作。

乙方和项目负责人填报本任务书，以及提供相关材料，应确保内容真实可靠。应严格履行任务书中明确的义务，为项目实施提供承诺的技术与条件保障，以及财务管理、成果管理、科技档案管理服务任务书中约定的其他义务。

丙方负责对推荐项目的实施场地、申报材料等进行真实性审核，并监督项目实施、经费预算执行情况，受委托或协助甲方组织中期评估、绩效评价、结题验收、巡视检查工作，并及时向甲方报告情况。

3、乙方应自觉接受甲方组织的中期评估、绩效评价和巡视检查，按照湖南省科技报告的相关规定撰写并提交项目中期评估（或年度进展）报告和验收（结题）报告。若乙方未能通过中期评估或结题验收，甲方有权撤销项目，追回已拨款项，由此造成的相关损失由乙方承担。

乙方使用项目经费应按照任务书经费预算约定的支出范围执行，保证专款专用，实行单独核算，严禁弄虚作假、截留和挪用项目经费等违反法律法规及财经纪律的行为。

4、乙方无正当理由未履行任务书明确的任务时，甲方有权停拨、追缴省拨经费，由此造成的相关损失由乙方承担。乙方违反经费使用规定或经甲方检查确认计划进度不符合任务书约定的，甲方有权减拨或停拨后续经费；情节严重的，甲方有权终止任务，乙方应返还甲方已拨付的全部经费。

5、项目负责人因不可抗力不能牵头组织项目实施时，乙方应负责提出书面申请，经甲方和丙方同意后，确定适宜人选保障项目实施，若无法正常完成项目任务，甲方有权视情形减拨或停拨后续经费，以及终止项目任务。乙方因不可抗力不能履行任务时，可以免除违约责任，但应及时通知甲、丙方，并在合理的期限内出具因不可抗力导致任务不能履行的证明。

6、任务书内容各方不得擅自变更和修改。涉及项目承担单位及负责人、项目组中具有高级职称的团队成员、研究内容、绩效指标、经费使用等重大事项变更，需按照有关规定经丙方同意后，报甲方批准。

7、计划项目的研究成果，包括但不限于论文、专著、软件、数据库等均应标注“湖南省自然科学基金项目资助”字样及项目编号，不做标注的，评估或验收时不予认可。

8、乙方应守法诚信开展相关科研活动，如发生严重不良科研诚信行为，甲方将按照省科技计划项目管理办法有关规定处理。甲方有权就乙方的科研诚信信息，按照有关规定向其他行政管理部门或社会公布。

9、任务书在履行过程中发生争议的，各方应通过友好协商的方式解决。如协商不成时，各方有权向长沙仲裁委员会申请仲裁，但在仲裁结果生效之前，乙方有义务按照甲方要求继续履行或终止履行本任务书。

10、项目如涉及多家（包含两家）单位参加，乙方应在签订本任务书前与有关单位就合作任务和知识产权分配等问题签订有关合同或协议（仅委托其他单位进行常规试验、提供社会化科技服务和少量辅助科研工作的情况除外），作为本任务书的附件。甲方在签订本任务书前对有关协议进行审核，若权属约定不明确，甲方有权不与乙方签订本任务书。

11、有关任务书的未尽事宜，按照国家、省有关科技计划与经费管理的规定执行。

12、本任务书由湖南省科技计划管理信息系统生成，经甲乙丙三方签订，一式四份，甲方执两份，乙方、丙方各执一份，均具有同等法律效力。

13、本任务书的解释权归甲方享有。

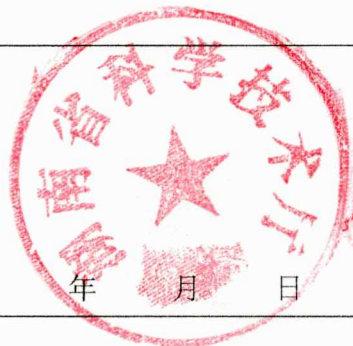
八、任务书签订单位

甲方：湖南省科学技术厅（盖章）：

法人代表或授权代表（签章）：

基金办负责人（盖章）：

经办人（盖章）：



乙方：项目依托单位（盖章）：

法人代表或授权代表（签章）：

联系电话：

项目负责人（签章）：唐利

联系电话：13874873644

2020年9月18日

财务负责人（签章）：

联系电话：

开户银行：中国银行长沙市湘雅支行

账号：601587349900



行