

密级：

上海申康医院发展中心 临床科技创新项目任务（合同）书

（2020 版）

项目类别 新兴前沿技术联合攻关项目

项目编号 SHDC12020109

项目名称 磁共振弹性成像技术对中国慢性乙型肝炎相关肝
纤维化患者的精准诊断方案优化及推广

起止年月 2020 年 12 月 1 日-2023 年 11 月 30 日

依托单位 上海市公共卫生临床中心 （盖章）

项目负责人 陈良

2020 年 12 月 1 日

填 写 说 明

一、本项目任务书一式 3 份，项目编号统一由申康中心提供。本项目任务书编写一律用 4 号宋体字打印，并使用 A4 纸单面打印。

二、请不要采用胶圈、文件夹等带有突出棱边的装订方式，请采用普通纸质材料作为封面。

三、本项目任务书填写时，要求各项内容实事求是，外来语同时用原文和中文表达。

四、要求同时通过网络递交电子文本一份，必须确保书面文本和电子文本的一致性。

一、简表

承担 单位 信息	单位名称	上海市公共卫生 临床中心	联系人	彭建涛
	联系电话	37990333*8318	传真号码	57248782
	科研处(医务处) 公用信箱	zhongxinkeyan@126.com		
项目 负责人 信息	姓名	陈良	性别	男
	联系电话	18930810000	移动电话	18930810000
	传真号码	57248785	电子信箱	chenliang@shphc. org.cn

二、项目研究目标和创新点，主要研究内容、研究方案、技术路线及所需要解决的技术难点

研究目标

- 1. 构建 MRE 联合外泌体 LncRNA 诊断慢性乙肝肝纤维化的优化模型，诊断效能较现有的无创指标提高 20%。
- 2. 探索 MRE 技术在中国慢乙肝人群中诊断肝纤维化的应用和推广前景。

创新点

本单位是中国首个引进 MRE 技术的单位之一，旨在对中国慢乙肝患者人群中开展肝纤维化评估及确定其 cut-off 值，为今后在较大规模上开展研究奠定基础。同时，本研究拟构建一项新的诊断慢性乙肝肝纤维化的无创诊断模型技术体系，并在较大范围内进行规范化、标准化的推广提供理论依据。

主要研究内容

1 以肝脏病理为金标准，分析 MRE 在诊断慢性乙肝肝纤维化的价值并建立预测模型。

er收集患者信息，血常规、肝肾功能、乙肝两对半、HBV-DNA、凝血功能、肝脏瞬时弹性超声。

&对患者进行肝组织穿刺活检，获得肝脏炎症和纤维化分期。

●进行 MRE 检查，获得肝脏弹性值。分析 MRE 水平在诊断慢性乙肝肝纤维化的价值及相应的 cut-off 值

○采取病人外周血 10ml，离心分离血清，-20℃保存，用于血清外泌体 lncRNAs 的测定。

■建立预测模型，评估其在诊断慢性乙肝肝纤维化中的价值。

2 分析 MRE 在慢性乙肝抗病毒治疗中肝纤维化的动态变化。

er在基线时进行 MRE、TE、APRI 等血清学模型检查。按指南进行抗病毒干预处理，每 12w 随访血常规、肝肾功能，乙肝两对半、HBV-DNA、凝血功能、血清外泌体 lncRNA。48w 随访复查 MRE、TE 等指标。

&评估 MRE 联合外泌体 LncRNA 预测模型在诊断抗病毒过程中肝纤维化中的价值及其动态变化。

研究方案

1 研究方法

拟招募符合入排标准的慢性乙肝患者共 430 例。对于符合入排标准的患者，进行 MRE、血清外泌体 LncRNA、TE、APRI 等血清学模型检查，按指南进行抗病毒干预处理，每 12w 随访血常规、肝肾功能，HBVM、HBV-DNA、凝血功能及其不良事件。48w 随访复查 MRE、TE 等指标。

2 样本量确定

根据目前报道，无创诊断慢性乙肝肝纤维化的 ROC 曲线下面积为 0.7，MRE 诊断慢性乙肝肝纤维化的 ROC 曲线下面积为 0.85. 按照双侧 0.05 为统计学差异(α),效能 90% (β)。利用 FISHER 精确计算公式得出需要招募人数 430 人。

3 入选标准

or 年龄在 18-65 岁之间；

& 男女不限；

● 已确诊的初治慢乙肝患者；

○ 有能力而且愿意提供知情同意书；

4 排除标准

or 筛查时，肝脏成像检查提示肝脏占位，或筛选时 AFP 大于 100ng/ml；

& 筛查时，抗-HAV IgM、HCV RNA 或抗-HCV、抗-HDV、抗-HEV、或抗-HIV 检测结果阳性；

● 孕妇或哺乳妇女；

○ 有证据表明 1 年内酒精过量摄入史，男性 >40 克/日，女性 >40 克/日；

■ 存在 MRE 禁忌症：带有心脏起搏器、神经刺激器者、人工金属心脏瓣膜等的患者；带有动脉瘤夹者；有眼内金属异物、内耳植入、金属假体、体内铁磁性异物者；重度高热患者；早期妊娠；

□ 存在下列肝穿刺禁忌症：有出血倾向者，国际标准化比值延长 (>1.5)，血小板减少 (<60000/u1)；考虑血管瘤或其他血管肿瘤患者；腹水

患者；存在右侧胸膜腔和（或）右侧膈下感染者；严重精神病史；

☐患者依从性较差；

☐研究者认为不适合研究；

5 退出标准

☐病人自行退出；

☐失访；

☒参加者原因的退出（依从性差）；

☐出现意外妊娠；

☒受试者在试验中出现药物过敏反应、重要器官功能异常、依从性差、出现严重不良反应；

所有脱落的病例应详细记录原因，并留取末次标本，按最差值法补齐数据进行统计分析，其 CRF 表应保留备查。

6 肝穿刺活检、MRE 方法

6.1 肝穿刺活检

穿刺部位局麻，B 超引导下，采用 16G 一次性穿刺针经皮肝穿刺获取肝组织。肝组织标本立即用 10% 甲醛固定、石蜡包埋、连续切片、苏木素-伊红染色后进行病理学分析。肝组织病理分析参照 Scheuer 评分系统，将肝组织炎症分为 G0-G4，纤维化分为 S0-S4。所有肝组织切片均由 2 位病理医师双盲阅片，当阅片结果不一致时，由第 3 位高年资病理医师主持阅片讨论并给出结论。

6.2 MRE 检查方法

扫描前所有志愿者禁食禁饮 4-6 小时。MRE 驱动装置是一款由电磁驱动方式产生剪切波的仪器。将电磁驱动器以腹带固定于被检查者上腹部。采用 2D 梯度回波序列，TR/TE: 50/20ms，振动频率 60Hz，振幅 50%；扫描肝脏和脾脏，获得相应的幅度图和波形图。第一次扫描后，受试者卸下驱动器，室外休息至少 5 分钟再行相同位置的第二次 MRE 扫描。采用 MATLAB R2016b 处理软件，由 2 名放射科医师独立勾画感兴趣区，选取弹性图内颜色较为均匀一致、波形清晰的肝/脾区域，尽量避开大血管。所得均值即为肝/脾弹性值。

7 干预措施

所有慢乙肝患者抗病毒治疗方案根据指南进行。

8 随访安排

每 12w 随访基本实验室指标及 Fibroscan；每 24w 随访 MRE；

	筛选期	随访期				
访视	V1	V2	V3	V4	V5	V6
研究周数 ¹	-35— 1d	0	12w	24w	36w	48w
完整病史	×					
确认入选资格	×					
签署 ICF	×					
随机分组	×					
尿液 HCG 检测 ²	×					
X 线胸片 ³	×					
12 导联心电图	×					
腹部 B 超	×					×
Fibroscan 检查		×	×	×	×	×
MRE 检查		×		×		×
血清外泌体 LncRNA 检测		×		×		×
肝穿刺检查		×				
体格检查	×	×	×	×	×	×
记录生命体征	×	×	×	×	×	×
血清学检测 ⁴	×	×	×	×	×	×
血液学 ⁵	×	×	×	×	×	×
血生化检测 ⁶	×	×	×	×	×	×
ANA	×			×		×

AFP	×			×		×
尿液检查 ⁷	×	×	×	×	×	×
备份血样 ⁸		×	×	×	×	×
记录 AE 和 SAE			×	×	×	×
NAs 给药记录		×	×	×	×	×

备注：

1 基线以后的随访窗口日期为±7 日。

2 仅针对育龄期妇女而言，将在第一次用药前 1 周内进行一次孕检。如果研究中出现停经和临床指征，可再次进行孕检。

3 仅针对已患有肺部基础疾病的患者。

4 HBsAg 定量、HBV DNA 高精度定量：当地实验室先行检测，其余标本可送血样至中心实验室完成（标本可于-20℃条件保存）。其中筛查期，第 24 周，第 48 周对患者进行高精度 HBV DNA 测定（罗氏 COBASR TaqManR HBV 检测）。

5 血液学检查：血红蛋白、血细胞压积

丙转氨酶（ALT）、总胆红素、碱性磷酸酶（ALP）、总蛋白、白蛋白、尿素氮、肌酐、尿酸、胆固醇、甘油三酯、血糖、钾、钠、氯

7 尿液检查：pH 值、尿蛋白、白细胞总数、中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、血小板计数、PT。

6 血生化检测：谷草转氨酶（AST）、谷、尿糖、尿红细胞、尿白细胞

8 备份血样：收集血清 采用红色盖子促凝管留取血样 10ml，充分静置至少 30 分钟后，800-1600 转离心 20 分钟（优选）；或充分静置 1h 待血液分层（次选），用吸管将上层血清转移至冻存管中（2 个冻存管均分），低温（2-8 度）放置，当天送检 2 管血清及原采血管，按照要求运送至中心实验室。

9 观察指标

9.1 主要结果

以肝穿刺为金标准，探索建立 MRE 联合血清外泌体 LncRNA 新型无创肝纤维化的诊断模型

9.2 次要结果

er 确定 MRE 在中国慢乙肝人群中诊断肝纤维化的价值；

& 确定 MRE 在诊断慢性肝病肝纤维化的 cut-off 值；

● 确定血清外泌体 LncRNA 在肝纤维化分级诊断中的价值；

10 数据管理与统计学方法

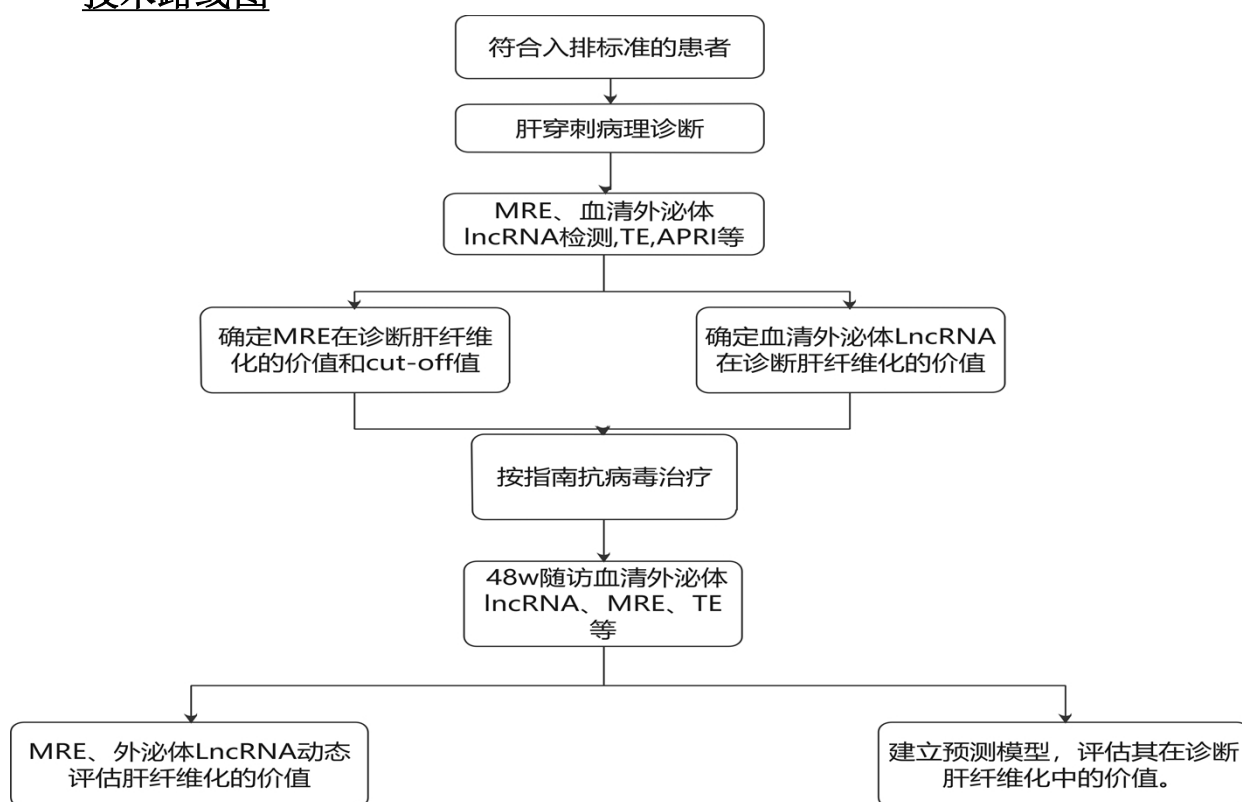
10.1 数据管理

本次研究将使用安全，密码保护的电子数据采集系统（医学科学云平台）。该系统系统将允许研究人员来管理他们的病人，处理数据清理，纠正病人数据。电子审查留痕模块将保存每条记录的初始录入及其修改记录，修改原因，修改时间和登录日期，修改者用户名。

10.2 统计分析计划

本研究的数据统计分析除另外说明，所有假设检验均在双侧 5% 的显著性水平下进行。使用描述性统计量汇总连续变量，变量符合正态分布时采用均数和标准差，偏态分布时则取中位数和四分位数间距。组间比较使用 Mann - Whitney U 检验和 Kruskal - Wallis 检验，变量间相关使用 Spearman's correlation test。以肝穿刺检查结果为金标准，采用受试者工作特征曲线用了评估 MRE 对肝纤维化分级诊断效能。主要疗效分析将以意向性治疗的原则为基础。

技术路线图



注： MRE：磁共振弹性成像技术，TE：瞬时弹性成像技术，APRI：天冬氨酸转氨酶与血小板比值指数。标准化处理：参照指南。

所需要解决的技术难点

1 患者的招募和随访

障碍：本研究涉及的肝脏穿刺术，由于是侵入性检查，较易退出。

解决途径：参加研究的 3 个中心均有设有肝炎门诊，有足够的患者人数保证。肝炎研究相关的检验设备，为本课题的理论、实践直至最终完成提供了保障。尤其是本院中心的负责人有长期临床试验的经验和知名度，患者随访的依从性相对较高。另外，设置专职健康宣教和电话随访人员、提供部分实验室免费检测项目，以减少失访率的发生。

2 肝穿刺活检术安全性

障碍：肝穿刺活检术术后可能出现穿刺后出血、局部疼痛、感染、气胸、血胸、的并发症。解决途径：采用 B 超引导技术，提高安全性。术前充分做好准备。术后止血药预防出血，术后 6 小时密切监测有无出血。检查医师应严格掌握有创操作的适应症和禁忌症，熟练、轻柔操作，术后密切随访。

三、项目的完成形式和考核指标

包括 1.主要技术指标、标准（标准草案、规范化方案和形成的技术标准水平）、2、培训推广；3、项目实施效果；4.专利、论文专著等；5.人才培养情况；6.其他考核指标。

1. 主要技术指标、标准

er构建 MRE 联合外泌体 LncRNAs 诊断慢性乙肝肝纤维化的诊断模型
拟将诊断效能较现有的无创指标提高 20%

&探索 MRE 技术在中国慢乙肝人群中诊断肝纤维化的应用前景

2. 培训推广

er举办国家级继续教育项目两项

&国家级/国际级学术会议上交流一次

3. 专利、论文专著等

发表 2 篇 SCI 文章、2 篇核心期刊文章、申请 1 项专利

4. 人才培养情况

培养硕士研究生 2 名，博士研究生 1 名；培养中级人才 2 名，高级人才 1 名。

四、项目的年度计划及年度目标

年度	项目的年度计划及年度目标（按季度划分工作节点，要求明确关键的、必须实现的节点目标）
2020 年度	2020.12 知情同意书、CRF 和 SOP 制定、提交伦理审核；召开启动和培训会议。完成 10 例患者的筛选和入组
2021 年度	2021.01-2021.03 新增 60 例患者筛选和入组 2021.04-2021.06 新增 60 例患者筛选和入组，完成入组患者随访 2021.07-2021.09 新增 40 例患者筛选和入组，完成入组患者随访，对入组患者样本进行外泌体 LncRNA 检测 2021.10-2021.12 新增 40 例患者筛选和入组，完成入组患者随访，召开中期讨论会
2022 年度	2022.01-2022.03 新增 60 例患者筛选和入组，完成入组患者的随访。初步分析已有的数据 2022.04-2022.06 新增 60 例患者筛选和入组，完成入组患者随访，对入组患者样本进行外泌体 LncRNA 检测 2022.07-2022.09 新增 60 例患者筛选和入组，完成已入组者随访 2022.10-2022.12 新增 40 例患者筛选和入组，完成已入组患者随访
2023 年度	完成已入组患者随访，撰写总结报告。提交 SCI 论文 1-2 篇，核心期刊 1-2 篇。验收。
本课题应于 2023 年 11 月 30 日前进行验收	

五、项目完成后的预期效益（包括社会效益、经济效益等）

1. MRE 属于新兴前沿技术，尚未在国内广泛开展使用。本研究旨在对中国慢乙肝患者人群中开展肝纤维化评估，确定其诊断中国慢性乙肝肝纤维化的诊断价值及适合中国人群的 cut-off 值，构建 MRE 联合外泌体 LncRNA 诊断慢性乙肝肝纤维化的新型无创模型，并应用于抗病毒治疗患者的肝纤维化动态评估，为该前沿技术在较大范围内进行规范化、标准化的推广应用价值提供依据、奠定基础。

2. 目前国内外缺乏评估肝纤维化的敏感无创指标，通过本研究构建以 MRE 为基础模型，以期获得较好的敏感指标，应用于临床评估肝纤维化并指导抗病毒治疗过程中，具有不可估量的经济效益与社会效益。

六、项目（课题）预算表

金额单位：千元

序号	科目名称	合计	专项经费	自筹经费
1	一、支出预算	1000	1000	0
2	（一）直接费用	834	834	0
3	1、设备费	0	0	0
4	（1）购置设备费	0	0	0
5	（2）试制设备费	0	0	0
6	（3）设备改造与租赁费	0	0	0
7	2、材料费	152	152	0
8	3、测试化验加工费	172	172	0
9	4、燃料动力费	0	0	0
10	5、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	42	42	0
11	6、数据采集费	0	0	0
12	7、差旅/会议/国际合作与交流费	18	18	0
13	8、劳务费	450	450	0
14	（1）研究生	450	450	0
15	（2）项目临时聘用的研究人员	0	0	0
16	（3）项目临时聘用的辅助人员	0	0	0
17	9、专家咨询费	0	0	0
18	10、其他费用	0	0	0
19	（二）间接费用	166	166	0
20	其中：绩效支出	100	100	0
21	二、收入预算	1000	1000	0
22	1、申请从专项经费获得的资助	1000	1000	0
23	2、自筹经费	0	0	0
24	（1）单位自有货币资金	0	0	0
25	（2）从其他渠道获得的资金	0	0	0
预算编制人 （签名）		项目（课题）责任人（签名）		
财务部门负责人 （签名）		科研管理部门负责人 （签名）		

附表1

设备费——购置/试制设备预算明细表

金额单位：千元

填表说明：1. 设备分类：A. 购置、B. 试制； 2. 试制设备不需填列本表（7）列、（8）列； 3. 单价≥10 万元的设备需填写明细； 4. 资金来源：A. 专项经费、B. 自筹经费； 5. 申请专项经费在 20 万元及以下时，毋须填写本表。											
序号	设备名称	设备分类	单价 (元/台件)	数量 (台件)	金额	设备类别	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 (与研究任务的关系)	资金 来源
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
1		无	0	0	0	无	无	无	无	无	无
单价10万元以上购置设备合计		无	0	0	0	无	无	无	无	无	无
单价10万元以上试制设备合计		无	0	0	0	无	无	无	无	无	无
单价10万元以下购置设备		无	0	0	0	无	无	无	无	无	无
单价10万元以下试制设备		无	0	0	0	无	无	无	无	无	无
累计		无	0	0	0	无	无	无	无	无	无

附表2

材料费预算明细表

金额单位：千元

填表说明：1. 所购置的各项材料费需填写明细；
2. 资金来源：A. 专项经费、B. 自筹经费；
3. 申请专项经费在 20 万元及以下时，毋须填写本表。

序号	材料名称	计量单位	购置数量	单价（元/单位数量）	材料费用	资金来源	计算依据
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5) = (3) × (4) /1000	(6)	(7)
1	Qiagen exoRNasy Serum/Plasm Kit	盒	20	1600	32	专项经费	抽提外体
2	riboSCRIPT mRNA/LncRNA qRT-PCR Starter Kit	盒	20	5000	100	专项经费	检测长链非编码 RNA
3	HL-7702 liver cell	支	10	1000	10	专项经费	实验所需
4	HSCs cell	支	10	1000	10	专项经费	实验所需
累计					152	专项经费	实验所需

附表3

测试化验加工费预算明细表

金额单位：千元

填表说明：1. 量大及价高测试化验，是指项目（课题）研究过程中需测试化验加工的数量过多或单位价格较高、总费用在5万元及以上的测试化验加工，需填写明细； 2. 资金来源：A. 专项经费、B. 自筹经费； 3. 申请专项经费在20万元及以下时，毋须填写本表。							
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	资金来源
/	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
1	乙肝标记物定量测定（HBsAg定量测定）	金域公司	例	120	860	103.2	专项经费
2	HBV DNA检测试剂盒	金域公司	例	80	860	68.8	专项经费
量大及价高测试化验加工费合计		无	无	无	无	无	无
其他测试化验加工费		无	无	无	无	无	无
累计		金域公司	例	200	860	172	专项经费

附表 4

劳务费预算明细表

金额单位：千元

填表说明：1. 证件类别为：身份证、护照、军官证；身份证号码为 15 位、或 18 位； 2. 出生日期：年-月-日，例如：1962-01-01。													
	姓名	证件类别	证件号码	性别	出生日期	现工作单位	现专业技术职务	目前参加其它项目(课题)数/时间	在本项目(课题)中的责任分工	投入本项目(课题)的计划全时工作时间(人月)	平均资助标准(元/人月)	申请专项经费资助额	签章
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12) = (10) × (11) / 1000	
项目(课题)责任人	陈良	身份证	310103196502021659	男	1965-02-02	上海市公共卫生临床中心	主任医师	3/1	研究设计，招募患者	10	0	0	
项目(课题)高级研究人员	黄玉仙	身份证	310104196411052827	女	1964-11-05	上海市公共卫生临床中心	主任医师	2/1	招募随访患者，临床、实验指导	10	0	0	
	傅青春	身份证	310105196303021253	男	1963-03-02	上海市公共卫生临床中心	主任医师	2/1	招募随访患者，临床、实验指导	10	0	0	
	许洁	身份证	420104197005261682	女	1970-05-26	上海交通大学医学院附属第九人民医院	主任医师	3/1	分中心负责人	10	0	0	
	佘为民	身份证	37090219820330092X	女	1982-03-30	复旦大学附属中山医院	主任医师	2/1	分中心负责人	10	0	0	
	张占卿	身份证	410305196404301515	男	1964-04-30	上海市公共卫生临床中心	主任医师	2/1	招募随访患者，临床、实验指导	10	0	0	
	单飞	身份证	321026197812020033	男	1978-12-02	上海市公共卫生临床中心	主任医师	1/1	招募随访患者，临床、实验指导	10	0	0	
	威勋	身份证	31011019791025621X	男	1979-10-25	上海市公共卫生临床中心	副主任医师	3/1	招募患者，填写 CRF	10	0	0	
	张毅	身份证	652828198009202020	女	1980-09-20	上海市公共卫生临床中心	副主任医师	1/1	招募患者，填写 CRF	10	0	0	

	李新艳	身份证	13062219800720322X	女	1980-07-20	上海市公共卫生临床中心	副主任医师	0	招募患者,填写 CRF	10	0	0	
项目(课题) 参与人员	李强	身份证	4128291987010124X	男	1987-01-01	上海市公共卫生临床中心	博士	1/1	收集样本,实验操作	10	0	0	
	黄晨璐	身份证	330723199402260041	女	1994-02-26	上海市公共卫生临床中心	博士	0	收集样本,实验操作	10	3500	35	
	谢旭东	身份证	320682199010304677	男	1990-10-30	上海市公共卫生临床中心	博士	0	收集样本,实验操作	10	3500	35	
	李微霞	身份证	410225198910172647	女	1989-10-17	上海市公共卫生临床中心	博士	0	收集样本,实验操作	10	0	0	
	施纯子	身份证	320602198912020087	女	1989-12-02	上海市公共卫生临床中心	博士	0	收集样本	10	3000	30	
	严琴琴	身份证	340881199302260328	女	1993-02-26	上海市公共卫生临床中心	博士	0	收集样本	10	3000	30	
	卓瑶瑶	身份证	320826199307284224	女	1993-07-28	上海市公共卫生临床中心	博士	0	收集样本	10	3000	30	
	许伟	身份证	342401199506295280	女	1995-06-29	上海市公共卫生临床中心	硕士	0	收集样本,实验操作	10	3000	30	
	费玲	身份证	429006199701189324	女	1997-01-18	上海市公共卫生临床中心	硕士	0	收集样本,填写 CRF	10	3000	30	
	曹雄越	身份证	360123199604060032	男	1996-04-06	上海市公共卫生临床中心	硕士	0	收集样本	10	3000	30	
	陆观珠	身份证	330621199409262666	女	1994-09-26	上海交通大学医学院附属第九人民医院	硕士	0	收集样本	10	2500	25	
	陈亚娇	身份证	430124199009229184	女	1990-09-22	上海交通大学医学院附属第九人民医院	硕士	0	收集样本	10	2500	25	
	黄雪妮	身份证	330282199701316626	女	1997-01-31	上海市公共卫生临床中心	硕士	0	收集样本	10	3000	30	
	陈川	身份证	532130199606141140	女	1996-06-14	上海市公共卫生临床中心	硕士	0	收集样本	10	3000	30	
	陈国超	身份证	441424199506110773	男	1995-06-11	上海市公共卫生临床中心	硕士	0	收集样本	10	3000	30	

[illegible]

附表 5

预算说明书

对各科目支出的主要用途、具体内容及明细支出情况进行详细分析说明，同一支出内容一般不得同时编列不同渠道的资金。

序号	科目名称	总	上海市公共卫 生临床中心	上海交通大学 医学院附属第 九人民医院	复旦大学附属 中山医院
1	一、支出预算	1000	816.79	121.58	61.63
2	（一）直接费用	834	681.2	101.4	51.4
3	1、设备费	0	0	0	0
4	2、材料费	152	99.2	26.4	26.4
5	3、测试化验加 工费	172	132	20	20
6	4、燃料动力费	0	0	0	0
7	5、出版/文献/ 信息传播/知识 产权事务费	42	42	0	0
8	6、数据采集费	0	0	0	0
9	7、差旅/会议/ 国际合作与交 流费	18	8	5	5
10	8、劳务费	450	400	50	0
11	（1）研究生	450	400	50	0
12	（2）项目临时 聘用的研究人 员	0	0	0	0
13	（3）项目临时 聘用的辅助人 员	0	0	0	0
14	9、专家咨询费	0	0	0	0
15	10、其他费用	0	0	0	0
16	（二）间接费用	166	135.59	20.18	10.23
17	二、收入预算	1000	816.79	121.58	61.63
18	1、申请从专项 经费获得的资 助	1000	816.79	121.58	61.63
19	2、自筹经费	0	0	0	0

（一）直接费用

1、设备费

无

2、材料费

总材料费详见表 2，共计 152 千元，其中上海市公共卫生临床中心 99.2 千元，上海交通大学医学院附属第九人民医院 26.4 千元，复旦大学附属中山医院 26.4 千元。

上海市公共卫生临床中心支出明细如下：

序号	材料名称	购置数量	单价（元/单位数量）	总费用（千元）
1	Qiagen exoRNasy Serum/Plasm Kit	12 盒	1600	19.2
2	riboSCRIPT mRNA/LncRNA qRT-PCR Starter Kit	12 盒	5000	60
3	HL-7702 liver cell	10 支	1000	10
4	HSCs cell	10 支	1000	10
累计				99.2

合作单位支出明细如下：

序号	材料名称	购置数量	单价（元/单位数量）	总费用
1	Qiagen exoRNasy Serum/Plasm Kit	4 盒	1600	6.4
2	riboSCRIPT mRNA/LncRNA qRT-PCR Starter Kit	4 盒	5000	20
累计				26.4

3、测试化验加工费

总测试化验加工费详见表 3，共计 172 千元，其中上海市公共卫生临床中心 132 千元，上海交通大学医学院附属第九人民医院 20 千元，复旦大学附属中山医院 20 千元。

上海市公共卫生临床中心支出明细如下：

序号	测试化验加工的内容	测试化验加工单位	单价(元/单位数量)	数量	总费用
1	HBV DNA 检测试剂盒	金域公司	80	660	52.8
2	乙肝标记物定量测定 (HBsAg 定量测定)	金域公司	120	660	79.2
累计		金域公司	200	660	132

合作单位支出明细如下：

序号	测试化验加工的内容	测试化验加工单位	单价(元/单位数量)	数量	总费用
1	HBV DNA 检测试剂盒	金域公司	80	100	8
2	乙肝标记物定量测定 (HBsAg 定量测定)	金域公司	120	100	12
累计		金域公司	200	100	20

4、燃料动力费

无

5、出版/文献/信息传播/知识产权事务费

SCI 文章发表费 15000*2 篇=30 千元

中文核心 A 类文章发表费 6000*2 篇=12 千元

共计 42 千元；其中上海市公共卫生临床中心 42 千元，上海交通大学医学院附属第九人民医院和复旦大学附属中山医院均为 0。

6、数据采集费

无

7、差旅/会议/国际合作与交流费

主要用于实验、专家咨询、国内学术交流时发生的差旅费和市内交通费。

高级职称人员参加国内学术交流会议等：（往返交通费（飞机经济舱）1600 元/人次+食宿费 400 元/人次）×4 人次=8000 元

中级职称和初级职称参加国内学术交流会议等：（往返交通费（火车）600 元/人次+食宿费 400 元/人次）×5 人次=5000 元

市内交通费 5000 元，用于市内的实验等产生的交通费用。

共计 18 千元；其中上海市公共卫生临床中心 8 千元，上海交通大学医学院附属第九人民医院 5 千元，复旦大学附属中山医院 5 千元。

8、劳务费

详见表 4，支出标准参照本市科学研究和技术服务从业人员平均工资水平。

共计 450 千元；其中上海市公共卫生临床中心 400 千元，上海交通大学医学院附属第九人民医院 50 千元。复旦大学附属中山医院为 0

9、专家咨询费

无

10、其他费用

无

（二）间接费用

其中绩效激励费 10% 项目管理费 6.6%

共计 166 千元；其中上海市公共卫生临床中心 135.59 千元，上海交通大学医学院附属第九人民医院 20.18 千元，复旦大学附属中山医院 10.23 千元。

七、诚信承诺及知识产权

我承诺：

1、在项目实施（包括项目申请、评估评审、检查、项目执行、资源汇交、验收等过程）中，遵守科学道德和诚信要求，严格执行临床科技创新项目有关管理规定和《项目任务（合同）书》中的约定，不发生科研不端行为。

2、本项目的研究成果，包括论文、专著、专利、软件、数据库等均明确标注“**市级医院临床科技创新项目**”，并标明**项目编号**。

（1）有关知识产权的归属和使用按国家有关规定执行；

（2）本项目研究过程中形成的实用技术及无形资产，由我所在单位代表国家行使使用权和经营权。项目研究成果及无形资产使用和经营产生的经济效益按《中华人民共和国促进科技成果转化法》的有关规定执行。

项目负责人（签字）：

年 月 日

八、合作形式、内容和合作单位意见

1、合作形式和内容

见项目合作协议书

2、合作单位意见（对合作内容、形式、经费、参加人员素质及保证工作条件等）签署具体意见：

同意项目合作内容和形式，保证参加人员的素质和工作时间，提供项目工作条件，保证项目顺利进行。

负责人签章

负责人签章

公章

公章

年 月 日

年 月 日

负责人签章

负责人签章

公章

公章

年 月 日

年 月 日

九、合 同

一、甲方：上海申康医院发展中心

同意将 磁共振弹性成像技术对中国慢性乙型肝炎相关肝纤维化患者的精准诊断方案优化及推广 列为上海申康医院发展中心临床科技创新项目。

项目资助金额： 100 万元。

项目编号： SHDC12020109

(盖章)

年 月 日

二、乙方：项目承担单位

我单位承诺：

1、在项目实施（包括项目申请、评估评审、检查、项目执行、资源汇交、验收等过程）中所提交材料的真实性和准确性。

2、将严格执行临床科技创新项目有关管理规定和《项目任务（合同）书》中的约定，为项目实施提供必要的条件和进行有效的管理与监督。

项目承担单位（盖章）

年 月 日

共同条款

签约各方应共同遵守以下条款：

一、上海申康医院发展中心为甲方，课题牵头单位为乙方。

二、任务执行过程中，乙方如需变更任务书内容时，应向甲方提出书面申请说明变更内容及其理由，经甲方审定批准后实施。在未接到正式批准前，乙方须按原任务书履行，否则所产生的后果由乙方负责。

三、本任务书为上海申康医院发展中心临床科技创新项目任务书，甲方对课题研究有监督权和处置权。乙方因主观或客观原因不能按本任务书所约定的内容执行研究计划时，甲方有权终止任务。

四、如遇特殊情况，可另作补充协议。



上海市公共卫生临床中心

院级科研课题 资助项目计划书

项目名称：戊型病毒性肝炎相关肝衰竭的临床预测模型构建
及免疫学机制研究

项目编号：KY-GW-2022-22

执行年限：2022.01.01--2024.12.31

第一负责人：陈冲

所在科室：感染科

第二负责人：闫静静

所在科室：科学研究部

填表日期：2022 年 01 月 23 日

上海市（复旦大学附属）公共卫生临床中心

二零二二年制

一、 基本信息

项目名称	戊型肝炎相关肝衰竭的临床预测模型构建及免疫学机制研究			
资助类别	☐ A类：临床科研类重点项目 ☒ B类：临床科研类普通项目 ☐ C类：护理类项目 ☐ D类：管理类			
第一 负责人 信息	姓名	陈冲	最高学位	硕士研究生
	出生日期	1991.09.27	联系电话	18918225698
	从事专业	内科学	电子信箱	chenchong@shphc.org.cn
	所在部门	感染科	主管领导	黄琴
第二 负责人 信息	姓名	闫静静	最高学位	硕士研究生
	职称	中级（主管技师）	从事专业	病原生物学
	所在部门	科学研究部	联系电话	18121150261
团队成员	姓名	职称	项目中工作	签字
	陈冲	住院医师	收集样本及实验	
	闫静静	中级（主管技师）	指导实验及技术支持	
	陈良	主任医师	指导实验及技术支持	
	李微霞	住院医师	收集临床数据	
	章树业	副教授	指导实验及技术支持	
项目顾问	姓名	职称	指导内容	所在单位
	黄玉仙	主任医师	技术指导	华山医院

二、 项目摘要

（按照研究背景，研究目的，研究方法，研究意义等几个方面对研究内容进行精炼概述，字数限定为500字。）

戊型病毒性肝炎（Hepatitis E）是由戊型肝炎病毒（Hepatitis E Virus, HEV）感染引起的急性自限性疾病，主要通过被污染的水和食物经消化道传播。全球血清学调查显示既往HEV感染的比率为10-20%。HEV相关性急性、慢加急性肝衰竭死亡率高,故临床及时诊断HEV-ALF、ACLF对预防疾病进展及降低死亡率具有重要意义，另一方面，在HEV相关性急性、慢加急性肝衰竭中，肝内免疫微环境、外周血免疫细胞、炎症因子等均发生变化，提示HEV感染后免疫变化在肝脏衰竭发生发展的机制中扮演着重要角色。本课题旨在扩大戊型病毒性肝炎感染人群队列，通过大样本临床数据分析，全面探索HEV相关急性、慢加急性肝衰竭的临床风险因素，通过分析结果，拟构建HEV-ALF、HEV-ACLF临床预测模型。此外，为进一步研究戊型肝炎肝衰竭的免疫机制，探索HEV相关急性肝衰竭、慢加急性肝衰竭临床诊疗新措施，拟纳入HEV感染的不同疾病状态人群进行研究，通过检测免疫活性因子（IL-1 β 、IFN）寻找HEV相关肝衰竭的免疫学特征，为HEV相关肝衰竭是否需抗病毒或抗炎治疗提供一定的数据。

三、 项目（课题）预算表

金额单位：万元

序号	支出科目	金额（元）	计算根据及理由
1	设备费	1.25	1.25
2	材料费	1.5	0.3*5
3	加工测试费	0.5	0.1*5
4	差旅费	0.5	0.5
5	会议费	0.5	0.5
6	出版事务费	0.25	0.25
7	专家咨询费	0.5	0.5
8	管理费及其他		
合计		5	5
课题责任人(签名)			
部门负责人(签名)			

四、 研究方案

（一）立项依据与研究内容

1. 项目的立项依据

（项目研究意义、国内外研究现状及发展动态分析，需结合科学研究发展趋势来论述科学意义；或结合国民经济和社会发展中迫切需要解决的关键科技问题来论述其应用前景，限定为 1500-3000 字）

戊型病毒性肝炎（Hepatitis E）是由戊型肝炎病毒（Hepatitis E Virus, HEV）感染引起的急性自限性疾病，主要通过被污染的水和食物经消化道传播。全球血清学调查显示既往 HEV 感染的比率为 10-20%^[1-3]，尽管一般认为戊型病毒性肝炎为自限性疾病，但一些特殊人群如老年、妊娠妇女及免疫缺陷者，慢性肝病基础的人群若感染戊型肝炎病毒会对其造成严重影响，其发生重症肝炎及死亡的风险非常高，每年约 2 千万人感染 HEV，其中约 3 百万人呈急性病毒性肝炎表现，且约有 4 万人死于戊型肝炎相关疾病，使得其成为新近认可严重威胁全球公共卫生的问题（Data from: WHO, 27 July 2020）。病毒引起的急性肝衰竭的全球性卫生及经济负担是巨大的，全球大样本及多中心数据研究显示，HEV 感染是最常见的原因之一，尤其在中低发展水平的国家及地区，由于卫生条件落后，HEV 感染后发生急性肝衰竭（Acute Liver Failure, ALF）的比例非常高，其可占急性肝衰竭患者病因的 30-40%^[4,5]。此外，在慢性肝脏疾病的基础上感染 HEV 可发展为慢加急性肝衰竭（Acute-on-Chronic Liver Failure, ACLF），既往有研究通过对大样本 ACLF 患者的病因、病程和结局进行分析，发现在 HEV 是引起 ACLF 最常见的嗜肝病毒^[6]，且在 2019 年亚太肝脏研究协会(APASL)大会中对 ACLF 诊疗共识中对 HEV 急性感染导致 ACLF 这一重要因素进行了阐述，表示 HEV 是最常见的引起 ACLF 的原因之一，且死亡率高。以上数据均表明 HEV 相关急性、慢加急性肝衰竭对人类身体健康构成严重威胁，且影响全球公共卫生发展。

临床治疗肝功能衰竭患者的一个重要目标是根据病因、病机和病理特点，选择有针对性的防治各种并发症，以减少病死率及改善预后。HEV 相关性急性、慢加急性肝衰竭死亡率高，故临床及时诊断 HEV-ALF、ACLF 对预防疾病进展及降低死亡率具有重要意义，既往对于 HBV、HCV 等引起的肝功能衰竭的诊断有较多研究，但 HEV 相关衰竭的诊断模型及预测手段罕见报。目前，CTP 评分、iMELD 评分是判断肝病严重程度和预后的主要评分系统^[7-9]，另外，欧肝会提出的 CLIF-SOFA 亦广泛应用于慢性和急性肝功能衰竭患者的预后的判断^[10]，除此以外，一些血清学指标已经被开发用于评估肝功能衰竭^[11]，但均尚未得到广泛应用。CTP、iMELD、CLIF-SOFA 多用于对慢性肝

病、肝硬化患者的临床评价，对于嗜肝病毒所致急性肝衰竭的临床判断应用较少，诊断效能尚不明确，尤其对于HEV相关肝衰竭的早期诊断及评价未见报道。既往多项研究表明较高水平的ALT、胆碱酯酶、尿素水平、乳酸脱氢酶、GGT等指标与HEV感染发生ALF、ACLF存在相关性^[12, 13]，且对HEV-ALF、HEV-ACLF死亡有一定预测作用，但由于纳入分析样本不足，分析项目不统一等因素，目前尚未有一致早期预测HEV相关急性、慢加急性肝衰竭的标准，故HEV肝衰竭风险因素需进一步大样本数据分析、且急需构建早期HEV相关肝衰竭的临床预测模型，以提高戊型肝炎相关性肝衰竭的临床救治能力。

另一方面，在HEV相关性急性、慢加急性肝衰竭中，肝内免疫微环境、外周血免疫细胞、炎症因子等均发生变化，提示HEV感染后免疫变化在肝脏衰竭发生发展的机制中扮演着重要角色^[14]。此外，在我们前期的研究中，观察到HEV感染相关性急性肝功能失代偿或肝衰竭的患者可表现为肝肾综合征、肝性脑病，其发生机制未进一步阐明，事实上，既往多项研究指出HEV感染导致肝外脏器损伤的机制均与免疫介导有关，如研究提出IFN- γ /趋化因子、IL-18信号轴可能是免疫介导的HEV相关肾功能障碍的机制，提示免疫细胞与肾上皮细胞之间存在相互作用^[15, 16]，另外，HEV感染后出现周围神经、神经根的免疫介导性疾病是戊型肝炎相关性神经损伤的重要原因之一^[17, 18]，且在HEV感染患者中发现抗神经节苷GM1和GM2抗体^[19]，以上均证实免疫介导损伤是HEV致病的重要原因。近期有研究表明，HEV感染的患者和兔血清中检测到炎症小体激活的标志IL-1 β 的分泌，且体外试验表明HEV病毒颗粒可强烈诱发原代巨噬细胞和巨噬细胞细胞系中NLRP3炎症小体的激活，而炎症小体和干扰素（IFN）反应共同组成了先天性免疫反应，在病毒和细菌感染的感染中发挥重要作用，进一步研究发现抑炎药物类固醇类药物联合抗病毒药物利巴韦林能够显著缓解HEV引起的IL-1 β 的产生和分泌，抑制了HEV病毒的复制，从而达到对HEV感染者的治疗^[20]。目前临床上，一般认为HEV感染是自限性疾病，针对急性感染者的诊疗仅限于护肝降酶、退黄疸及其他对症支持治疗，事实上，针对急性感染所致急性肝衰竭、慢加急性肝衰竭，抗病毒（利巴韦林）的应用总所纷纭，尚未有一致性的诊疗共识，故抗病毒及抗炎药物的应用确实缺乏理论及实践依据。

基于以上研究背景，本课题旨在扩大戊型肝炎病毒感染人群队列，通过大样本临床数据分析，全面探索HEV相关性急性、慢加急性肝衰竭的临床风险因素，通过分析结果，拟构建HEV-ALF、HEV-ACLF临床预测模型。此外，为进一步研究戊型肝炎肝衰竭的免疫机制，探索HEV相关性急性肝衰竭、慢加急性肝衰竭临床诊疗新措施，拟纳入HEV感染的不同疾病状态人群进行研究，通过检测免疫活性因子（IL-1 β 、IFN）寻找HEV相关性肝衰竭的免疫学特征，为HEV相关性肝

衰竭是否需抗病毒或抗炎治疗提供一定的数据。

References:

- 1 Kar P, Karna R. A Review of the Diagnosis and Management of Hepatitis E. *Curr Treat Options Infect Dis* 2020 2020-07-17; 1-11.
- 2 Aggarwal R, Goel A. Natural History, Clinical Manifestations, and Pathogenesis of Hepatitis E Virus Genotype 1 and 2 Infections. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019 2019-07-01; 9(7).
- 3 Aggarwal R. Hepatitis e: epidemiology and natural history. *J Clin Exp Hepatol* 2013 2013-06-01; 3(2): 125-133.
- 4 Patterson J, Hussey HS, Silal S, Goddard L, Setshedi M, Spearman W, Hussey GD, Kagina BM, Muloiwa R. Systematic review of the global epidemiology of viral-induced acute liver failure. *BMJ OPEN* 2020 2020-07-20; 10(7): e37473.
- 5 Pandit A, Mathew LG, Bavdekar A, Mehta S, Ramakrishnan G, Datta S, Liu YF. Hepatotropic viruses as etiological agents of acute liver failure and related-outcomes among children in India: a retrospective hospital-based study. *BMC Res Notes* 2015 2015-08-27; 8: 381.
- 6 Gawande A, Gupta GK, Gupta A, Wanjari SJ, Goel V, Rathore V, Bhardwaj H, Nijhawan S. Acute-on-Chronic Liver Failure: Etiology of Chronic and Acute Precipitating Factors and Their Effect on Mortality. *J Clin Exp Hepatol* 2019 2019-11-01; 9(6): 699-703.
- 7 Wang YM. [Understanding guidelines of the diagnosis and treatment in liver failure]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2007 2007-08-01; 15(8): 633-636.
- 8 Engelmann C, Thomsen KL, Zakeri N, Sheikh M, Agarwal B, Jalan R, Mookerjee RP. Validation of CLIF-C ACLF score to define a threshold for futility of intensive care support for patients with acute-on-chronic liver failure. *CRIT CARE* 2018 2018-10-10; 22(1): 254.
- 9 Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, Durand F, Gustot T, Saliba F, Domenicali M, Gerbes A, Wendon J, Alessandria C, Laleman W, Zeuzem S, Trebicka J, Bernardi M, Arroyo V. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. *GASTROENTEROLOGY* 2013 2013-06-01; 144(7): 1426-1437, 1431-1437.
- 10 Jalan R, Pavesi M, Saliba F, Amoros A, Fernandez J, Holland-Fischer P, Sawhney R, Mookerjee R, Caraceni P, Moreau R, Gines P, Durand F, Angeli P, Alessandria C, Laleman W, Trebicka J, Samuel D, Zeuzem S, Gustot T, Gerbes AL, Wendon J, Bernardi M, Arroyo V. The CLIF Consortium Acute Decompensation score (CLIF-C ADs) for prognosis of hospitalised cirrhotic patients without acute-on-chronic liver failure. *J HEPATOL* 2015 2015-04-01; 62(4): 831-840.
- 11 Wu J, Zhang X, Liu H, Guo N, Pan Q, Wang Y. RDW, NLR and RLR in predicting liver failure and prognosis in patients with hepatitis E virus infection. *CLIN BIOCHEM* 2019 2019-01-01; 63: 24-31.
- 12 Hoefer J, Ulmer H, Kilo J, Margreiter R, Grimm M, Mair P, Ruttman E. Antithrombin III is associated with acute liver failure in patients with end-stage heart failure undergoing mechanical circulatory support. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2017 2017-06-01; 153(6): 1374-1382.
- 13 Vieira BJ, Mullhaupt B, Brunner F, Filipowicz SM, Semela D, Montani M, Cathomas G, Neuweiler J, Gouttenoire J, Artru F, Louvet A, Mathurin P, Sempoux C, Lenggenhager D, Weber A, Moradpour D, Fraga M. Autochthonous hepatitis E as a cause of acute-on-chronic liver failure and death: histopathology can be misleading but transaminases may provide a clue. *SWISS MED WKLY* 2021 2021-04-26; 151: w20502.
- 14 Wu J, Ling B, Guo N, Zhai G, Li M, Guo Y. Immunological Manifestations of Hepatitis E-Associated Acute and Chronic Liver Failure and Its Regulatory Mechanisms. *Front Med (Lausanne)* 2021 2021-01-20; 8: 725993.

- 15 Wu J, Xiang Z, Zhu C, Yao Y, Bortolanza M, Cao H, Li L. Extrahepatic manifestations related to hepatitis E virus infection and their triggering mechanisms. *J Infect* 2021 2021-09-01; 83(3): 298-305.
- 16 El-Mokhtar MA, Seddik MI, Osman A, Adel S, Abdel AE, Mandour SA, Mohammed N, Zarzour MA, Abdel-Wahid L, Radwan E, Sayed IM. Hepatitis E Virus Mediates Renal Injury via the Interaction between the Immune Cells and Renal Epithelium. *Vaccines (Basel)* 2020 2020-08-14; 8(3).
- 17 van Doorn PA, Ruts L, Jacobs BC. Clinical features, pathogenesis, and treatment of Guillain-Barre syndrome. *LANCET NEUROL* 2008 2008-10-01; 7(10): 939-950.
- 18 Cronin S, McNicholas R, Kavanagh E, Reid V, O'Rourke K. Anti-glycolipid GM2-positive Guillain-Barre syndrome due to hepatitis E infection. *Ir J Med Sci* 2011 2011-03-01; 180(1): 255-257.
- 19 Maurissen I, Jeurissen A, Strauven T, Sprengers D, De Schepper B. First case of anti-ganglioside GM1-positive Guillain-Barre syndrome due to hepatitis E virus infection. *INFECTION* 2012 2012-06-01; 40(3): 323-326.
- 20 Li Y, Yu P, Kessler AL, Shu J, Liu X, Liang Z, Liu J, Li Y, Li P, Wang L, Wang Y, Ma Z, Liu A, Wang L, Bruno MJ, de Man RA, Peppelenbosch MP, Buschow SI, Wang L, Wang Y, Pan Q. Hepatitis E virus infection activates NLRP3 inflammasome antagonizing interferon response but therapeutically targetable. *HEPATOLOGY* 2021 2021-08-15.

2. 项目的研究内容、研究目标, 以及拟解决的关键科学问题

(此部分为重点阐述内容)

1) 研究内容 (简要阐述研究内容, 限定为 300 字)

1、本课题旨在扩大戊型肝炎病毒感染人群队列, 通过大样本临床数据分析, 全面探索 HEV 相关急性、慢加急性肝衰竭的临床风险因素, 通过分析结果, 拟构建 HEV-ALF 新的临床预测模型及验证现有 CTP、iMELD、CLIF-SOFA 等评分系统对 HEV-ACLF 早期诊断效能;

2、拟纳入 HEV 感染的不同疾病状态人群进行研究, 通过检测免疫活性因子(IL-1 β 、IFN- α 、INF- β 等) 寻找 HEV 相关肝衰竭的免疫学特征, 为 HEV 相关肝衰竭是否需抗病毒或抗炎治疗提供一定的数据支撑。

2) 研究目标 (设定若干研究目标, 每个研究目标进行简要阐述, 限定 200 字)

构建 HEV-ALF 新的临床预测模型及验证现有 CTP、iMELD、CLIF-SOFA 等评分系统对 HEV-ACLF 早期诊断效能

检测免疫活性因子 (IL-1 β 、IFN- α 、INF- β 等) 寻找 HEV 相关肝衰竭的免疫学特征,

3) 拟解决的关键科学问题

A、为 HEV 相关肝衰竭是否需抗病毒或抗炎治疗提供一定的数据支撑

B、构建 HEV 相关肝衰竭的临床预测模型。

(提出 1-2 个关键科学问题, 突出研究主题)

3. 拟采取的研究方案及可行性分析

（包括研究方法、技术路线、实验手段、关键技术等说明）

1) 研究方案（按照研究内容划分为若干部分，详细介绍研究方法）

1、收集戊型肝炎病毒感染人群队列，通过大样本临床数据分析，全面探索 HEV 相关急性、慢加急性肝衰竭的临床风险因素，通过分析结果，拟构建 HEV-ALF 新的临床预测模型及验证现有 CTP、iMELD、CLIF-SOFA 等评分系统对 HEV-ACLF 早期诊断效能；

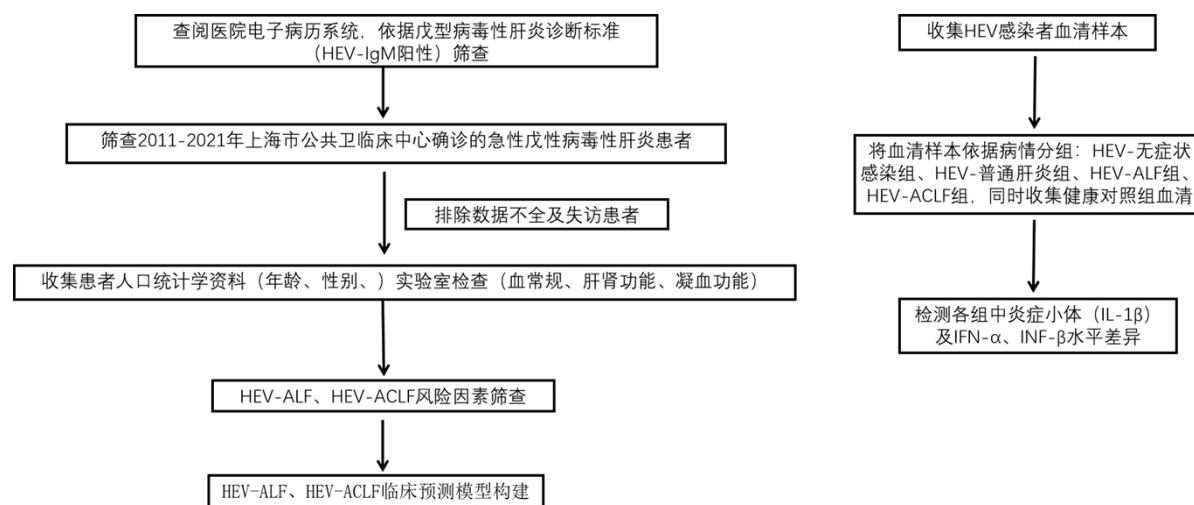
2、拟纳入 HEV 感染的不同疾病状态人群进行研究，通过检测免疫活性因子（IL-1 β 、IFN- α 、INF- β 等）寻找 HEV 相关肝衰竭的免疫学特征。

2) 关键技术（提出研究涉及关键技术 1-2 项，简要阐述意义，限 200 字内）

1、His 系统进行相关临床资料及数据的收集；

2、购买试剂盒检测相关免疫活性因子。

3) 技术路线



4. 本项目的特色与创新之处

（阐述研究的特色及创新之处，1-2 处，限定 500 字以内）

目前尚未有一致早期预测 HEV 相关急性、慢加急性肝衰竭的标准，故 HEV 肝衰竭风险因素需进一步大样本数据分析、且急需构建早期 HEV 相关肝衰竭的临床预测模型，以提高戊型病毒性肝炎相关肝衰竭的临床救治能力，本项目通过大样本临床数据分析，全面探索 HEV 相关急性、慢加急性肝衰竭的临床风险因素，通过分析结果，拟构建 HEV-ALF 新的临床预测模型及验证现有 CTP、iMELD、CLIF-SOFA 等评分系统对 HEV-ACLF 早期诊断效能。

此外，为进一步研究戊型肝炎肝衰竭的免疫机制，探索 HEV 相关急性肝衰竭、慢加急性肝衰竭临床诊疗新措施，拟纳入 HEV 感染的不同疾病状态人群进行研究，通过检测免疫活性因子（IL-1β、IFN）寻找 HEV 相关肝衰竭的免疫学特征，为 HEV 相关肝衰竭是否需抗病毒或抗炎治疗提供一定的数据。

5. 年度研究计划

年度	课题的年度计划及年度目标（按季度划分工作节点，要求明确关键的、必须实现的节点目标）
2022 年	完成 2011-2021 年期间患者临床资料收集与整理，完成数据分析，完成期间样本收集
2023 年	完成临床预测模型构建，完成炎症因子测定
2024 年	完成论文撰写与发表

6. 预期研究结果和考核指标

发表 SCI 论文 1-2 篇

（注：研究类课题 2 篇核心期刊或 1 篇 SCI 研究文章，重点类课题至少 1 篇 SCI 文章，1 篇核心期刊文章；护理类至少 2 篇核心期刊，其中至少 1 篇为研究文章）

（二）研究基础与工作条件

1. 工作基础

（与本项目相关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩）

本课题组成员长期从事病毒性肝炎的基础与临床研究，具有良好的科研素养。在国内外杂志上发表了多篇病毒性肝炎的基础研究和临床研究相关的论文，有关戊型病毒性肝炎的论文刊登于《Aliment Pharmacol Ther》，《World Journal of Gastroenterology》、《Scientific Reports》、《临床肝胆病杂志》等期刊。

2. 工作条件

（包括已具备的实验条件，尚缺少的实验条件及拟解决的途径，包括利用国家实验室、国家重点实验室和部门重点实验室等研究基地的计划与落实情况）

课题组具备完成本课题的硬件与软件基础，以确保实验及课题的顺利进行。此外，本课题组依托上海市（复旦大学附属）公共卫生临床中心开展课题研究，本单位是一家集传染病实验室诊断、科学研究、平台服务和人才培养为一体的综合性单位，其设备精良、技术先进、运转高效，可为科研（尤其传染性疾病的研究）提供一流的技术服务。课题组人员配备合理，拥有独立的实验室及实验团队，导师组成员均为本专业知名教授，可为课题提供理论及技术支撑。

3. 承担科研项目情况

（申请人和项目组主要参与者正在承担的科研项目情况，要注明项目的名称和编号、经费来源、起止年月、与本项目的关系及负责的内容等）

无。

（三）申请人和项目组主要参与者简介

1. 姓名（单位，职称）

陈冲，住院医师

2. 受教育/工作经历（从大学写起）

2009.09-2014.06 湖北医药学院药护学院（本科）

2014.09-2017.06 温州医科大学（硕士）

复旦大学附属上海市公共卫生临床中心（联合培养）

2017.07-2020.07 华中科技大学同济医学院附属荆州医院

2020.09-至今 复旦大学（博士在读）

复旦大学附属上海市公共卫生临床中心（住院医师）

3. 主要论著（近3年已发表的主要论著目录和学术奖励情况）

《Noninvasive models for predicting poor prognosis of chronic HBV infection patients precipitating acute HEV infection》

《women successfully treated for severe intrahepatic cholestasis of pregnancy do not have increased risks for adverse perinatal outcomes》

《Enhancement of human enterovirus 71 infection by chlorpromazine reveals an unknown entry pathway of Hand-Foot-and-Mouth Disease Virus》

4. 奖励

无。

5. 专利

无。

五、申请人承诺

本人保证申请书内容的真实性。如果获得资助，我将履行项目负责人职责，严格遵守中心有关规定，切实保证研究工作时间，认真开展工作，按时报送有关材料。若填报失实和违反规定，本人将承担全部责任。

申请人签字

年 月 日

六、伦理审查

本项目是否涉及伦理 是 ☒ 否 ☐

备注：如获资助，需在项目立项后补充伦理批件。

七、科室意见

提供申请人完成课题必要的科室支持，严格遵守中心有关规定，督促项目负责人按规定及时报送有关材料。

科室负责人签字
年 月 日

八、科研主管部门意见

科研主管部门负责人签章
公章

年 月 日

九、单位意见

公章

年 月 日

项目名称

IFN-α14 mRNA纳米药抑制乙型肝炎病毒复制及其安全性评估

开始时间	结束时间	确认人数/参与人数	专项经费/总经费（千元）
2021-08-01	2024-07-31	11/11	400 / 400

项目负责人 < 工作单位 >	手机号码	邮箱地址
陈良 < 上海市公共卫生临床中心 >	18930810000	chenliang@shphc.org.cn

承担单位
上海市公共卫生临床中心

所属指南
上海市2021年度“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项项目申报指南 / 生物、化学新药研发 / 候选新药临床前研究

项目承担单位信息



上海市公共卫生临床中心 独立法人
统一社会信用代码：12310000425009828T
单位类型：医院/其他医院

项目基本信息

项目名称	IFN-α14 mRNA纳米药抑制乙型肝炎病毒复制及其安全性评估		
项目编号	21S11905600		
项目开始日期	2021-08-01	项目结束日期	2024-07-31
联系人	陈良	电话	18930810000
传真	57248785		
科研部门电子邮箱	zhongxinkeyan@vip.126.com	财务部门电子邮箱	gwcw@shphc.org.cn
单位需要说明的问题	无		
中文摘要	慢性乙型肝炎容易导致肝癌，清除HBV迫在眉睫。已用于治疗慢性HBV感染的IFN-α2疗效较低且半衰期短，前期研究证实IFN-α14是抑制HBV复制最有效的亚型，近期发展表明，纳米mRNA药物具有无炎性和非整合性，在病毒病治疗领域展现强大活力，但IFN-α14 mRNA纳米药缺乏临床前研究。本项目基于前期研究基础，发展纳米体系递送IFN-α14 mRNA靶向肝脏，在细胞内高效瞬时表达IFN-α14进而诱导多种有效的抗病毒效应物，协同抑制HBV复制。本项目将完成IFN-α14 mRNA纳米药的基本作用、量效关系、构效关系、作用机制等药效学研究，系统评估包括急性毒性、慢性毒性、遗传毒性、发育和生殖毒性、致		

癌性等在内的安全性。最终，我们将申请该药物的临床试验号，为开展临床研究提供依据。本课题拟通过优化递送系统，诱导更强有力的免疫应答，改进目前的IFN治疗，探索更高效的HBV治愈策略，为临床应用奠定

项目任务内容

项目（课题）研究的总目标和创新点

❗

主要研究内容及所需要解决的技术难点。

- （一）总体目标：

1、主要目标：通过高效递送核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药抑制HBV感染细胞和小鼠模型中血清HBsAg水平，安全性良好，且清除率达到80%以上。

2、次要目标：通过高效递送核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药抑制HBV感染人肝嵌合小鼠模型中血清HBV DNA和肝内cccDNA复制水平，HBeAg转阴率达到80%以上，且安全性良好。
- （二）创新点：本单位具有成熟的递送复合核苷修饰mRNA纳米药技术。旨在筛选可以抑制中国慢乙肝患者血清HBsAg和肝内cccDNA水平的候选新药。进一步优化制备工艺，并进行药效学 and 安全性评价。为在较大范围内进行规范化、标准化的推广提供理论依据。同时为较大规模上开展临床试验奠定基础。
- （三）研究内容：

1、复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药的设计与筛选:

1.1纳米多肽的制备及其封装的IFN-α14 mRNA。

1.2选用三个公认的基于细胞培养的HBV感染系统，包括原代人肝细胞（PHH），分化的HepaRG（dHepaRG）和HepG2-NTCP细胞，研究所构建的复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药在各个细胞系内的细胞毒性和表达水平。

1.3在C57BL/6J小鼠内分析复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药半衰期。

2、在三种基于细胞培养的HBV感染系统内评估IFN-α14 mRNA纳米药抑制HBV复制的能力：

2.1 ELISA检测HBsAg，HBsAb和HBeAg水平

2.2免疫荧光法检测HBsAg和HBcAg的表达。

2.3 RT-qPCR检测HBV DNA、HBV RNA和cccDNA。

3、评估IFN-α14 mRNA纳米药在体内的有效剂量，以及包括急性毒性、慢性毒性、遗传毒性、发育和生殖毒性、致癌性在内的安全性

3.1在小鼠中给予不同浓度的IFN-α14 mRNA纳米药处理，探索有效剂量；

3.2在小鼠中检测IFN-α14 mRNA纳米药处理后主要器官组织功能指标，研究急性和慢性毒性；

3.3在大鼠中研究IFN-α14 mRNA纳米药的遗传毒性，发育和生殖毒性；

3.4在Tg.rasH2转基因小鼠中研究IFN-α14 mRNA纳米药的致癌性。

4、选用Fah / Rag2 / Il2ry三重敲除（FRG KO）人肝嵌合小鼠，验证IFN-α14 mRNA纳米药、IFN-α14-LNP、IFN-α14和PEG-IFN-α-2a抑制HBV复制的能力：

4.1通过ELISA检测血清HBsAg, HBsAb和HBeAg水平;

4.2通过RT-qPCR和Southern blot分别检测血清HBV DNA、HBV RNA和肝内HBV RNA、cccDNA水平;

4.3免疫组化检测小鼠肝脏内HBV复制相关蛋白的表达水平。

(四) 研究方法:

1、构建和筛选能够较好表达IFN- α 14并且无细胞毒性的复合核苷修饰的IFN- α 14 mRNA纳米药

1.1从TriLink Biotechnologies购买核苷修饰的mRNA, 修饰包括使用T7 RNA聚合酶将修饰的NTP掺入mRNA中, 降低所得mRNA的免疫原性; 以及对mRNA进行封盖提高RNA的稳定性和翻译效率。

1.2使用HBV细胞感染模型, 包括原代人肝细胞 (PHH), 分化的HepaRG (dHepaRG) 和HepG2-NTCP细胞。收集HBV稳转细胞系AD38上清, 并使用PEG8000进行浓缩, 使用qPCR方法定量HBV DNA, 并以每细胞对应1000病毒基因组的病毒进行感染, 以此构建HBV细胞感染模型。

1.3使用NCA开环聚合制备约50种生物相容性纳米多肽, 使用MTT法评估纳米多肽的细胞毒性后, 筛选安全纳米多肽用于mRNA的封装, 有关纳米多肽的合成、细胞毒性评估、核酸药物封装的具体细节, 参见我们前期报道 (Polym. Chem., 2011, 2, 2674-2682; Chem. Commun., 2015, 51, 9694-9697; Polymers, 2018, 10(4), 379; ACS Applied Bio Materials. 2020, 3(9), 6343-6350.), 即将mRNA与我们的纳米多肽按照优化N/P复合, 经过层层自组装实现mRNA药物的封装, 在我们构建的HBV细胞感染模型内完成毒性评估, 这里不赘述。由于HBV的主要是肝细胞, 我们将在纳米多肽上修饰靶向分子甘草酸以实现mRNA药物的肝组装靶向, 具体细节参见Shi等人的报道 (Biomaterials, 2012, 33 (2012) 7594-7604)。

1.4采用RT-qPCR在HBV感染细胞内验证IFN- α 14 mRNA, 采用Western Blot检测目标蛋白IFN- α 14。

1.5纳米药物可以在体内长循环, 这是我们IFN- α 14 mRNA纳米药有别于其他药物的优势, 为验证这以优势, 我们使用极少量异硫氰酸罗丹明标记纳米多肽, 使用透析袋纯化产物后 (MWCO=3500), 分子标记纳米多肽按照上述最优化N/P制备纳米颗粒, 尾静脉注射实验C57BL/6J小鼠后 (10只), 在不同的时间点, 眼眶取血, 使用高灵敏度荧光光谱仪测定血液中纳米多肽含量, 最后分析其半衰期。

2、研究HBV细胞感染模型中IFN- α 14 mRNA纳米药抑制HBV复制的能力, 并与IFN- α 14-LNP、IFN- α 14和PEG-IFN- α -2a进行比较。

2.1在 HBV感染的HepG2-NTCP细胞中, 用IFN- α 14 mRNA-LNP (剂量由前述筛选步骤确定)、IFN- α 14-LNP (纳米药包装蛋白为10ng/ml)、IFN- α 14 (10ng/ml) 和PEG-IFN- α -2a (10 ng/ml) 分别处理各组细胞9天。

在dHepaRG细胞中, 用IFN- α 14 mRNA-LNP (剂量由前述筛选步骤确定)、IFN- α 14-LNP (纳米药包装蛋白为2ng/ml)、IFN- α 14 (2 ng/ml) 和PEG-IFN- α -2a (2 ng/ml) 分别处理各组细胞9天。

PHH细胞中, 用IFN- α 14 mRNA-LNP (剂量由前述筛选步骤确定)、IFN- α 14-LNP (纳米药包装蛋白为0.2ng/ml)、IFN- α 14 (0.2 ng/ml) 和PEG-IFN- α -2a (0.2 ng/ml) 分别处理各组细胞9天。

空白对照组不进行处理。IFN- α 14和PEG-IFN- α -2a所用剂量和处理时间参照Chen等人的报道 (Hepatology, 2021, 73(2), 486-502)

2.2采用ELISA检测各组细胞HBsAg、HBsAb和HBeAg。免疫荧光法检测HBsAg和HBcAg的表达。提取上清和细胞内的HBV核衣壳DNA, 并通过qPCR的方法定量HBV DNA、HBV RNA和cccDNA。

3、研究IFN- α 14 mRNA纳米药的有效剂量, 以及包括急性毒性、慢性毒性、遗传毒性、发育和生殖毒性、致癌性在内的安全性

3.1 IFN- α 14 mRNA纳米药有效剂量，急性和慢性毒性：在每次实验前，将IFN- α 14 mRNA纳米药在冰上解冻，并用PBS（磷酸盐缓冲盐水）稀释。每周通过尾静脉给小鼠注射一次100 μ l稀释的不同浓度IFN- α 14 mRNA纳米药，持续4周。参照Rizvi等人的报道（Nat Commun.,2021,12(1),613），小鼠mRNA纳米药的注射剂量为10 μ g/20g。我们采用6，8，10，12，14 μ g/20g五个浓度分组给药。每组纳入6只小鼠，共36只。

A组：IFN- α 14 mRNA纳米药 6 μ g/20g

B组：IFN- α 14 mRNA纳米药 8 μ g/20g

C组：IFN- α 14 mRNA纳米药 10 μ g/20g

D组：IFN- α 14 mRNA纳米药 12 μ g/20g

E组：IFN- α 14 mRNA纳米药 14 μ g/20g

F空白对照组：纳米药空白对照

1) 采用Western Blot和qPCR检测肝组织内的目标蛋白IFN- α 14和IFN- α 14 mRNA，评估不同药物剂量表达IFN- α 14水平。

2) 收集每组小鼠血清和主要器官组织。通过血清分析肝功能(由天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)水平评估)，肾功能(由尿酸(UA),肌酐(CR),和血液尿素氮(BUN)水平评估)，和心脏功能(由肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)水平评估)。

3) 小鼠肝脏冷冻切片和免疫组织化学。将肝脏和其他器官（包括脾脏，肠和肺）用4%多聚甲醛固定并包埋，在石蜡中，然后切成薄片（3-4 μ m），并用苏木精和曙红染色。使用Olympus IX53系统评估玻片，检测主要组织学异常。

3.2遗传毒性，发育和生殖毒性：

1) 通过尾静脉给SD大鼠注射一次100 μ l稀释的不同浓度IFN- α 14 mRNA纳米药。雌鼠：交配前2周开始，每周注射一次，持续至哺乳结束（子代出生后第21天），处死。雄鼠：交配前4周开始，每周注射一次，持续整个交配期，在交配成功后处死。雌雄动物按1:1交配。每组纳入12只小鼠，6只雌鼠，6只雄鼠，共24只。

A有效剂量组：IFN- α 14 mRNA纳米药（有效剂量根据3.1实验结果确定）

B空白对照组：纳米药空白对照

1) 试验期间：观察体征和死亡情况，至少1次/天；体重和体重变化，至少2次/周；摄食量，至少1次/周(交配期除外)；交配期间至少每日进行阴道涂片检查，以检查是否对交配或交配前时间有影响。

2) 终末检查：剖检所有成年动物，保存肉眼观察出现异常的器官，必要时进行组织学检查。对雄鼠计数附睾中的精子数并进行精子活力检查。同时保留足够的对照组动物相应器官以便比较着床，畸形，出生时存活的后代，出生时死亡的后代，子代出生时体重，离乳前后的存活率和生长/体重，性成熟程度和生育力，应说明是否进行了窝仔动物剔除，体格发育，感觉功能和反射，行为。

3.3 IFN- α 14 mRNA纳米药的致癌性：

1) 购买Tg.rasH2转基因小鼠模型，通过尾静脉注射一次100 μ l稀释的不同浓度IFN- α 14 mRNA纳米药，每周一次。共4周。每组纳入6只小鼠，共18只。阳性对照组采用腹腔注射，第1，3，和5天注射药物。

A有效剂量组：IFN- α 14 mRNA纳米药（有效剂量根据3.1实验结果确定）

B空白对照组：纳米药空白对照

C阳性对照组：urethane尿烷1000mg/kg

2) 随访观察6个月，检测肿瘤发生率，肿瘤类型，良恶性，肿瘤死亡率，剂量相关趋势。

4、研究人肝嵌合小鼠模型中IFN- α 14 mRNA纳米药抑制血清HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBV DNA水平和肝内cccDNA水平的能力，并与IFN- α 14-LNP、IFN- α 14和PEG-IFN- α -2a进行比较。

4.1选用Fah / Rag2 /Il2ry三重敲除（FRG KO）小鼠用于进行人肝嵌合小鼠实验。通过尾静脉注射 1.0×10^7 IU / ml的HBV（基因型D，由HepAD38细胞系产生），并监测血清HBV DNA确保感染。

4.2分别为四个不同的治疗组和一个空白对照组。每组6只小鼠，共计30只小鼠，从感染后第45天起，每周通过尾静脉分别注射一次药物，持续4周。IFN- α 14和PEG-IFN- α -2a所用剂量参照Chen等人的报道（Hepatology, 2021,73(2),486-502）

1) PEG-IFN- α -2a组：PEG-IFN- α -2a 250ng/25g

2) IFN- α 14组：IFN- α 14 250ng/25g

3) IFN- α 14纳米药组：IFN- α 14纳米药（纳米药包装蛋白为10ng/kg）

4) IFN- α 14 mRNA纳米药组：IFN- α 14 mRNA纳米药（有效剂量根据3.1实验结果确定）

5) 空白对照组不进行处理。

4.3每次注射药物前经眶后窦出血收集小鼠血清，第28天后处死所有小鼠，颈椎脱臼牺牲后取脾脏和/或肝脏标本。

4.4采用ELISA检测小鼠血清HBsAg、HBsAb和HBeAg。采用定量分析法对谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素和肌酸激酶进行分析。使用qPCR方法对小鼠血清HBV DNA水平进行定量。

4.5将所有小鼠肝脏组织进行PBS匀浆处理，采用Hirt法从200 mg匀浆肝脏中提取DNA。并用qPCR和southern blot方法定量HBV ccc DNA水平；采用逆转录联合qPCR的方法定量HBV RNA水平。

4.6切除的小鼠肝组织样品立即浸泡在4%的福尔马林中，固定18 ~ 24h，石蜡包埋。采用抗hbc多克隆抗体(anti-HBc polyclonal antibody, Dako)对组织切片进行免疫组化染色，检测核心抗原表达情况。

5.统计学分析：使用Prism 7.0（GraphPad）分析数据。为了比较两个数据集，使用t检验对数据进行分析，并以平均值±标准差表示。通过线性回归确定两个数据集之间的相关性，并通过Pearson的r分析进行评估。P值小于0.05被认为具有统计学意义。数据显示为平均值±SD。

（五）所需要解决的技术关键

本项目以纳米多肽精准递送IFN- α 14 mRNA治疗肝癌，由于IFN- α 14已经在临床上使用，IFN- α 14 mRNA在细胞内可以翻译为IFN- α 14以激活细胞内免疫反应。按照近20年发展癌症与新冠病毒mRNA疫苗的临床效果来看，mRNA远好于传统疫苗已非常清晰并得到国际学者、工业界、医师等的公认，所以IFN- α 14 mRNA治疗乙肝的效果肯定优于IFN- α 14，所以本项目的目标可以达成。实现该目标，需要解决的技术关键如下：（1）纳米多肽的可控合成。（2）IFN- α 14 mRNA与纳米多肽的复合得到最优药剂型以达到最好治疗效果。通过NCA开环聚合制备纳米多肽对水异常敏感，需要制备高纯度NCA单体，聚合条件也需要丰富经验。IFN- α 14 mRNA与纳米多肽的可控组织实现最好剂需要生物化学、物理化学、材料学等方面的知识。但本项目高级研究人员陈明胜博士在纳米多肽合成领域有丰富的经验，他在美国工作期间，制备过约20种NCA单体，100多种纳米多肽。在纳米材料与核酸药物的组装上，它的经验也很丰富，公开在国际主流期刊发表相关论文10篇以上。总之，我们的研究团队可以克服本项目碰到的技术难关。

项目（课题）的成果形式和考核指标

④ 包括：1.项目形成的知识产权、标准（标准草案和形成的技术标准水平）、论文、专著、新技术、新产品、新装置等成果的数量指标、质量指标、技术指标以及指标的考核方式（如用户评价、第三方评价等）等；2.成果转化、应用及产业化指标，指成果在支撑和服务科技、经济、社会、环境、国防、科普等方面产生的直接和间接效益，新建示范基地、中试线、生产线及其规模情况；3.团队建设和人才培养、获得国家项目情况、科技报告等其他指标。

- 1、主要技术指标、形成的专利：申请2项专利，获得临床试验申请受理号；
- 2、论文专著及其数量、指标和水平：发表受本项目资助的SCI论文3篇；
- 3、人才培养情况：培养硕士研究生2名，博士研究生2名。

一、成果指标

1、知识产权：

- (1) 发明专利申请：2件
- (2) 发明专利授权：0件
- (3) PCT专利申请：0件
- (4) PCT专利授权：0件
- (5) 软件著作权：0件
- (6) 集成电路布图设计：0件
- (7) 植物新品种：0件
- (8) 其他：0

数量：0

2、标准（标准草案和形成技术标准水平）：

- (1) 国际标准：0件
- (2) 国家标准：0件
- (3) 行业标准：0件
- (4) 地方标准：0件
- (5) 团体标准：0件
- (6) 企业标准：0件
- (7) 其他标准：0

数量：0

3、发表科技论文：3篇

4、出版科技专著：0本

5、创新成果

- (1) 新理论：0项
- (2) 新原理：0项
- (3) 新产品：0项
- (4) 新技术：0项
- (5) 新装置：0项

- (6) 新方法: 0项
- (7) 新材料: 0项
- (8) 关键部件: 0项
- (9) 新药 (医疗器械) 证书: 0项
- (10) 临床批件: 0项
- (11) 临床指南/规范: 0项
- (12) 数据库: 0个
- (13) 新品种: 0个
- (14) 其他创新成果: 0

数量: 0

二、科技成果转化及产业化指标

6、科技成果转化

- (1) 以技术许可方式转化的成果数: 0项
- (6) 以技术许可方式转化的金额: 0元
- (2) 以技术转让方式转化的成果数: 0项
- (7) 以技术转让方式转化的金额: 0元
- (3) 以作价投资方式转化的成果数: 0项
- (8) 以作价投资方式转化的金额: 0元
- (4) 促成国际技术转移的成果数: 0项
- (9) 促成国际技术转移的金额: 0元
- (5) 以产学研合作方式转化的成果数: 0项
- (10) 以产学研合作方式转化的金额: 0元

7、成果应用及产业化

- (1) 新建中试线: 0条
- (2) 新建生产线: 0条
- (3) 新建示范基地: 0个
- (4) 新应用解决方案: 0项
- (5) 预计新增产值: 0元
- (6) 预计出口额: 0美元
- (7) 预计净利润: 0元
- (8) 预计税金总额: 0元
- (9) 其他成果应用及产业化: 0

数量: 0

三、其他指标

8、团队建设和人才培养

- (1) 培养博士生: 2人
- (2) 培养硕士生: 2人

- (3) 培养或引进高水平人才：0人
- (4) 聘用外国专家：0人
- (5) 引进留学归国人员数：0人
- (6) 其他团队建设和人才培养：0

数量：0

9、获国家项目情况

- (1) 获国家项目：0项
- (2) 获国家项目经费：0元

10、其他

其他：0

数量：0

项目（课题）的年度计划及年度目标

年度	项目（课题）的年度计划及年度目标
2021	2021.08-2021.09各类文件准备和伦理申请 知情同意书、CRF和SOP制定和印刷 召开启动和培训会议 2021.10-2021.12 构建细胞培养的HBV感染系统
2022	2022.01-2022.03构建复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药 2022.04-2022.06在各HBV感染细胞中检测复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药的细胞毒性和表达水平 2022.07-2022.09在各HBV感染细胞中检测不同浓度纳米药处理后的各HBV复制指标 2022.10-2022.12在小鼠中进行复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药有效性、急性毒性、慢性毒性检测
2023	2023.01-2023.03在动物模型中，进行复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药遗传毒性、发育和生殖毒性检测 2023.04-2023.06在动物模型中，进行复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药致癌性检测 2023.07-2023.09在HBV感染人肝嵌合小鼠模型中，进行复合核苷修饰的IFN-α14 mRNA纳米药及不同对照药物处理，检测HBV复制指标 2023.10-2023.12完成实验数据整理、统计和分析
2024	2024.01-2024.04提交SCI 论文3篇，获得临床试验申请受理号，申请专利2项 2024.05-2024.07撰写总结报告，验收

项目（课题）完成后的预期效益

① 包括社会效益、经济效益、环境保护、国防安全、科学普及等效益情况。

预期效果：纳米材料属于新兴前沿技术，尚未在国内广泛开展使用。基于信使RNA（mRNA）纳米药已经成为一种日益流行的提供用于治疗传染病或癌症的方法。尽管可以使用预防性疫苗和抗病毒治疗来阻止疾病的进展并降低肝癌的风险，但乙肝仍然是全球主要的公共卫生问题，约有2.57亿人患有慢性HBV感染。乙肝病毒每年造成超过85万人死亡，且其中50%患者死亡的元凶为肝细胞癌。目前，全球仅有10%的慢性感染者得到诊断，其中只有

1%的患者得到治疗。乙型肝炎表面抗原（HBsAg）清除被认为是治疗的重要目标，但只有少数接受聚乙二醇化干扰素α2a和核苷酸类似物治疗的患者才能实现，并且这些患者还被建议终身使用核苷酸类似物治疗。HBsAg清除并没有伴随病毒的消除，大多数患者的HBV共价闭合的环状DNA（cccDNA）无法得到清除，并持续带有整合到宿主DNA中的病毒序列。本研究旨在运用纳米技术包装IFN-α14 mRNA，在中国慢乙肝患者人群中开发针对HBV清除的有效治疗药物。并在细胞和动物模型中完成药效学研究与安全性评价。进一步完善制备工艺，完成IFN-α14 mRNA纳米药临床前研究。为该前沿技术在较大范围内进行规范化、标准化的推广应用价值提供依据、奠定基础。

国内合作形式和合作单位意见

序号	单位名称
暂无数据	

国际合作或港澳台合作情况

⚠ 本项目若涉及国际合作或港澳台合作，须按要求填写《国际合作（港澳台合作）基本信息表》，并根据指南要求，上传合作协议等相关复印件。

合作协议扫描件：无

国际合作内容和合作形式：无

项目（课题）承担单位法定代表人的承诺

⚠ （对自筹经费数及能否保证计划实施所需人力物力等具体意见和承诺）

1. 承诺将投入人力、物力以确保此项目（课题）的正常开展；
2. 承诺本项目（课题）研究项目（课题）内容将不侵犯他人知识产权；
3. 承诺对项目（课题）批复的资金额及支持方式无异议，如项目（课题）获批资助方式为后补助，我单位将按照要求先行垫支项目（课题）资金；
4. 承诺确保自筹资金足额及时到位；
5. 承诺严格遵守《上海市科研计划专项经费管理办法》的各项规定，按照项目（课题）的预算，合理开支各项费用。

（注：有自筹经费来源的,需提供出资证明及其他相关财务资料。）

1. 承诺将投入人力、物力以确保此项目（课题）的正常开展；
2. 承诺本项目（课题）研究项目（课题）内容将不侵犯他人知识产权；
3. 承诺对项目（课题）批复的资金额及支持方式无异议，如项目（课题）获批资助方式为后补助，我单位将按照要求先行垫支项目（课题）资金；

4. 承诺严格遵守《上海市科研计划专项经费管理办法》的各项规定，按照项目（课题）的预算，合理开支各项费用。

项目预算表

	合计 (千元)	专项资助 (千元)	自筹费用 (千元)	
收入预算	400	400	0	无
支出预算	400	400	0	
一、间接费用	40	40	0	其中绩效激励费5%，项目管理费5%，共计40千元
二、直接费用	360	360	0	-
（一）设备费	15	15	0	
（1）购置设备费	15	15	0	设备费-购置/试制设备预算明细表
（2）试制设备费	0	0	0	设备费-购置/试制设备预算明细表
（3）设备改造与租赁费	0	0	0	预算说明书附件2
（二）材料费	153	153	0	预算说明书附件1
（三）测试化验加工费	22	22	0	测试化验加工费预算明细表
（四）燃料动力费	0	0	0	无
（五）差旅/会议/国际合作与交流 费	8	8	0	用于参加相关国际/国内学术会议，含往返交通、住宿、签证、会议注册费0.8万元
（六）出版/文献/信息传播/知识 产权事务费	42	42	0	SCI文章发表费10000*3篇=30千元；专利申请6000*2项=12千元
（七）劳务费	120	120	-	-
（1）项目负责人	15	15	-	《劳务费预算明细表》
（2）项目高级研究人员	30	30	-	《劳务费预算明细表》
（3）项目参与人员	75	75	-	《劳务费预算明细表》
（4）引进人才	0	0	-	《劳务费预算明细表》
（5）临时参与人员	0	0	-	《劳务费预算明细表》

	合计 (千元)	专项资助 (千元)	自筹费用 (千元)	
(八) 专家咨询费	0	0	0	无
(九) 其他费用	0	0	0	无

设备费-购置/试制设备预算明细表

总计：15千元

序号	设备名称	金额（千元）
1	梅特勒ME204 电子天平	15

设备类型：单价10万元以下设备

资金来源：专项经费

设备分类：购置

数量(台件)：1

用途（与研究任务的关系）：用于纳米包装过程中化学试剂的配制

计算依据：梅特勒ME204 电子天平15000元/台*1台=15000元

序号	测试化验加工内容	金额（千元）
1	纳米多肽结构和分子量分析检测	22

价格范围：总费用5万元以内

资金来源：专项经费

计算依据：

（1）本项目预计合成纳米多肽50种，NCA单体约15种，每种多肽和单体需要进行多次核磁共振分析以确定其结构，预计需要测定100个样品，按照复旦大学内部测试费用80元/样品，预计需要8000元。

（2）本项目预计合成纳米多肽50种，每种多肽都需要准确测定其分子量，我们将使用尺寸排阻色谱法测定，按照复旦大学内部测试费用80元/样品，预计需要4000元。

（3）本项目预计合成纳米多肽50种，纳米多肽有高级结构，需要圆二色谱测定，按照复旦大学内部测试费用80元/样品，预计需要4000元。

（4）纳米多肽封装mRNA药物后需要Zeta电位表征，按照复旦大学内部测试费用20元/样品，预计有50个样品，共需约1000元。

（5）纳米药物及其组装体需要透射电子显微镜分析，按照复旦大学内部测试费用100元/样品，预计有50个样品，共需约5000元。

劳务费预算明细表

总计：120千元

序号	姓名	性别	承担角色	现工作单位	金额(千元)
1	陈良	男	项目负责人	上海市公共卫生临床中心	15
证件类别：居民身份证				证件号码：310103196502021659	
手机号码：18930810000				现专业技术职务：主任医师	
目前参加其他项目数：3				目前参加其他项目时间：1人月	
责任分工：研究设计，课题指导				投入本项目的计划全时工作时间：10人月	
平均资助标准：1500元/人月					
2	黄玉仙	女	项目高级研究人员	上海市公共卫生临床中心	7.5
证件类别：居民身份证				证件号码：310104196411052827	
手机号码：18121150751				现专业技术职务：主任医师	
目前参加其他项目数：2				目前参加其他项目时间：2人月	
责任分工：课题指导				投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
平均资助标准：1250元/人月					
3	傅青春	男	项目高级研究人员	上海市公共卫生临床中心	7.5
证件类别：居民身份证				证件号码：310105196303021253	
手机号码：18918721526				现专业技术职务：主任医师	
目前参加其他项目数：2				目前参加其他项目时间：2人月	
责任分工：课题指导				投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
平均资助标准：1250元/人月					
4	陈明胜	男	项目高级研究人员	上海市公共卫生临床中心	7.5
证件类别：居民身份证				证件号码：422101197912127033	
手机号码：13641684510				现专业技术职务：副研究员	
目前参加其他项目数：1				目前参加其他项目时间：18人月	
责任分工：纳米材料部分实验指导				投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
平均资助标准：1250元/人月					
5	李新艳	女	项目高级研究人员	上海市公共卫生临床中心	7.5

序号	姓名	性别	承担角色	现工作单位	金额(千元)
			证件类别：居民身份证	证件号码：13062219800720322X	
			手机号码：18916510051	现专业技术职务：副主任医师	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：数据分析，实验指导	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：1250元/人月		
6	陶帅	女	项目参与人员	上海市公共卫生临床中心	7.5
			证件类别：居民身份证	证件号码：632801199101020546	
			手机号码：13661843303	现专业技术职务：助理研究员	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：实验指导	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：1250元/人月		
7	田棣	女	项目参与人员	上海市公共卫生临床中心	7.5
			证件类别：居民身份证	证件号码：371324198007270029	
			手机号码：18916069381	现专业技术职务：助理研究员	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：实验指导	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：1250元/人月		
8	黄晨璐	女	项目参与人员	上海市公共卫生临床中心	18
			证件类别：居民身份证	证件号码：330723199402260041	
			手机号码：15157750690	现专业技术职务：博士研究生	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：实验操作，数据分析	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：3000元/人月		
9	谢旭东	男	项目参与人员	上海市公共卫生临床中心	18

序号	姓名	性别	承担角色	现工作单位	金额(千元)
			证件类别：居民身份证	证件号码：320682199010304677	
			手机号码：15151358908	现专业技术职务：博士研究生	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：实验操作，数据分析	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：3000元/人月		
10	曹雄越	男	项目参与人员	上海市公共卫生临床中心	12
			证件类别：居民身份证	证件号码：360123199604060032	
			手机号码：13097282032	现专业技术职务：硕士研究生	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：实验操作	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：2000元/人月		
11	费玲	女	项目参与人员	上海市公共卫生临床中心	12
			证件类别：居民身份证	证件号码：429006199701189324	
			手机号码：19971498657	现专业技术职务：硕士研究生	
			目前参加其他项目数：0	目前参加其他项目时间：0人月	
			责任分工：实验操作	投入本项目的计划全时工作时间：6人月	
			平均资助标准：2000元/人月		

总计：0千元

序号	材料名称	材料费用/千元
1	SD大鼠	0.7
资金来源：专项经费		
计量单位：只		
单价：30元/台件		
购置数量：24		
计算依据：按照实验设计约需24只，每只50元，共计24只*30元/只=700元		
2	化学发光试剂	1
资金来源：专项经费		
计量单位：支		
单价：1000元/台件		
购置数量：1		
计算依据：WB及IHC实验试剂所需要，根据试剂商报价1000元/支×1=1000元		
3	各类常规化学溶剂	1
资金来源：专项经费		
计量单位：箱		
单价：500元/台件		
购置数量：2		
计算依据：实验室常用的乙醇、异丙醇、甲醇、乙醚、四氢呋喃、三氟乙酸等平均每箱（20瓶，500ml每瓶）约800元，预计使用2箱，共计1000元。		
4	HBsAg ELISA 试剂盒	1
资金来源：专项经费		
计量单位：盒		
单价：1000元/台件		
购置数量：1		
计算依据：用于HBV复制相关检测，根据实验用量和试剂商报价1000元/盒×1=1000元		
5	组织DNA抽提试剂盒	0.8
资金来源：专项经费		
计量单位：盒		
单价：800元/台件		
购置数量：1		
计算依据：核算抽提及PCR实验所需，按照试剂商报价800元/盒×1盒=800元		
6	一抗抗体	0.8

序号	材料名称	材料费用/千元
	资金来源：专项经费 单价：800元/台件 计算依据：WB及IHC实验试剂需要用，根据试剂商报价800元/支×1支=800元	计量单位：支 购置数量：1
7	纳米多肽荧光标记试剂盒	3
	资金来源：专项经费 单价：3000元/台件 计算依据：本项目测定纳米多肽在体内代谢动力学时，需要对纳米多肽进行荧光标记，荧光标记试剂盒每个约3000元，预计需要1个，共计5000元。	计量单位：盒 购置数量：1
8	人肝嵌合小鼠	60
	资金来源：专项经费 单价：3000元/台件 计算依据：人肝嵌合小鼠按照实验用量20只，每只3000元，共计60000元	计量单位：只 购置数量：20
9	细胞培养皿PVDF膜枪头EP管等耗材	1
	资金来源：专项经费 单价：1000元/台件 计算依据：细胞培养等实验用耗材，根据试剂商报价	计量单位：箱 购置数量：1
10	qPCR试剂盒	1.1
	资金来源：专项经费 单价：550元/台件 计算依据：核算抽提及PCR实验需要，按照试剂商报价550元/盒×2=1100元	计量单位：盒 购置数量：2
11	蛋白分子标准品	1

序号	材料名称	材料费用/千元
资金来源：专项经费 计量单位：支 单价：500元/台件 购置数量：2 计算依据：WB及IHC实验试剂需要用，按照试剂商报价500元/支×2支=1000元		
12	多聚甲醛等试剂	1
资金来源：专项经费 计量单位：瓶 单价：500元/台件 购置数量：2 计算依据：WB及IHC实验试剂做需要，根据试剂商报价500元/瓶×2=1000元		
13	胎牛血清	1.5
资金来源：专项经费 计量单位：瓶 单价：1500元/台件 购置数量：1 计算依据：细胞培养所需，根据试剂商报价1500元/瓶×1瓶=1500元		
14	HBsAb ELISA 试剂盒	1
资金来源：专项经费 计量单位：盒 单价：1000元/台件 购置数量：1 计算依据：用于HBV复制水平检测，根据实验用量和试剂商报价1000元/盒×1盒=1000元		
15	氨基酸或基团保护氨基酸	1
资金来源：专项经费 计量单位：瓶 单价：500元/台件 购置数量：2 计算依据：本项目优化制备安全高效纳米多肽时，需要约20种氨基酸或基团保护氨基酸，一般包装为每瓶25g,均价为500元/瓶，共计约1000元。		
16	IFN-α14 mRNA	13

序号	材料名称	材料费用/千元
资金来源：专项经费 计量单位：支 单价：13000元/台件 购置数量：1 计算依据：本项目纳米多肽包裹的mRNA购自TriLink Biotechnologies, mRNA修饰后13000元/支。		
17	Tg.rasH2转基因小鼠	54
资金来源：专项经费 计量单位：只 单价：3000元/台件 购置数量：18 计算依据：Tg.rasH2转基因小鼠按照实验要求为18只，每只公司定价为3000元，共计54000元		
18	抗生素、谷氨酰胺等其他试剂	1.6
资金来源：专项经费 计量单位：支 单价：200元/台件 购置数量：8 计算依据：细胞培养用，按照试剂商报价200元/支×10支=1600元		
19	三光气Sigma-Aldrich	2
资金来源：专项经费 计量单位：瓶 单价：2000元/台件 购置数量：1 计算依据：本项目制备大量的NCA单体时需要三光气约1瓶（50g/瓶），Sigma-Aldrich均价2000元/瓶，预计需要约2000元。		
20	HBeAg ELISA试剂盒	1
资金来源：专项经费 计量单位：盒 单价：1000元/台件 购置数量：1 计算依据：用于HBV复制检测，根据实验用量和试剂商报价1000元/盒×1盒=1000元		
21	二抗抗体	0.8

序号	材料名称	材料费用/千元
资金来源：专项经费 计量单位：支 单价：800元/台件 购置数量：1 计算依据：WB及IHC实验试剂所需要，根据试剂商报价800元/支×1=800元		
22	DMEM培养基	1.8
资金来源：专项经费 计量单位：瓶 单价：360元/台件 购置数量：5 计算依据：细胞培养所需，按照试剂商报价360元/瓶×5瓶=1800元		
23	C57BL/6J小鼠	1.5
资金来源：专项经费 计量单位：只 单价：30元/台件 购置数量：50 计算依据：按照实验设计需要46只BALB/C小鼠，考虑到实验对象死亡的可能性，共准备59只，每只30元，共计50只*30元/只=1500元。		
24	William's E 培养基	1.4
资金来源：专项经费 计量单位：瓶 单价：700元/台件 购置数量：2 计算依据：细胞培养用，按照试剂商报价700元/瓶×2瓶=1400元		

总计：0千元

实验动物使用情况表

序号	实验分类	动物种类	卫生级别	用途
1	标准实验用动物	小鼠	SPF级	用于课题设计中慢性乙型肝炎建模及后续药物研究
项目实验地点省市：上海市				实验动物使用许可证号：2015-0008
本项目（课题）动物实验地点：金山区漕廊公路2901号				相关附件：无

国际合作（港澳台合作）基本信息表

序号	合作机构名称	合作国别（地区）	省级行政区域名称	项目合作起止时间
 暂无数据				

序号	涉及人类遗传资源活动类型	涉及活动相关内容	审批书号/备案号	项目名称
----	--------------	----------	----------	------



伦理审查

项目是否涉及伦理审查： 是

附件： [📎 伦理审查批件.pdf](#)

附件

-  1. 附件个数至多5个，每个附件大小限制5M，格式 .pdf,.jpg,.png。
2. 如无附件，请点击“保存”按钮完成表单保存。

附件上传：无