

编 号 20SJKG9932

松江区科技攻关项目

(医疗卫生类)

申 报 书

项目名称 急性胰腺炎患者巨噬细胞极化类型与病情
严重程度、Card9 表达水平的相关性分析

项目单位 上海市松江区中心医院 (盖章)

起止年月 2021.1—2022.12

松江区科学技术委员会

松江区卫生健康委员会

说 明

本申报书由项目申报单位填报，按隶属关系逐级审批后，一式三份汇总报送区科委。

附表：

申报项目 类型	重点项目 ☐ 一般项目 ☒
负 责 人	史玉娟
负责人 电话	██████████
联系单位	上海市松江区中心医院
联系地址	上海市松江区中山中路 746 号
邮 编	201600
联 系 人	朱仲庚
联系人 电话	██████████
银行帐号 章（帐户/ 帐号/开户 银行）	账户：上海市松江区中心医院 账号：██████████ 开户银行：上海银行松江支行

上海市松江区中心医院
319820-0022-
上海银行松江支行

国内外现状、水平和发展趋势（或项目的重要意义）：

急性胰腺炎（acute pancreatitis, AP）是一种临床常见的急腹症。轻症急性胰腺炎（moderately acute pancreatitis, MAP）多为自限性疾病，预后较好；而重症急性胰腺炎（severe acute pancreatitis, SAP）多伴有胰腺的出血、坏死，可引起全身炎症反应综合征（systemic inflammatory response syndrome, SIRS），并造成多器官功能障碍综合征（multiple organ dysfunction syndrome, MODS）甚至多器官功能衰竭（multiple organ failure, MOF），其病情凶险，治疗棘手，预后不良，病死率高达20%~30%。研究表明，SAP早期巨噬细胞会释放大量促炎细胞因子，促进炎症级联反应放大，导致胰腺局部病变迅速发展为系统性炎症，是SAP迅速恶化的关键始动事件。然而，目前对SAP患者巨噬细胞活化变化及活化机制尚不清楚，迫切需要探索巨噬细胞活化变化及相关机制，以寻找新的有效方法来治疗SAP。

单核-巨噬细胞激活，NF- κ B 和 MAPK 活化、促炎细胞因子大量释放是重度急性胰腺炎（SAP）发展的重要环节，本课题组既往首次发现：早期 SAP 大鼠腹腔巨噬细胞趋向 M1 型分化，相关文献显示通过减少 SAP 小鼠模型巨噬细胞 M1 极化可减少促炎细胞因子表达，减轻炎症反应。推测急性胰腺炎患者单核巨噬细胞极化状态变化与病情相关，且 Card9 作为巨噬细胞 NF- κ B 和 MAPK 激活的上游信号分子，参与巨噬细胞极化状态的改变。本项目拟对急性胰腺炎患者进行 Ranson 评分并检测外周血 C 反应蛋白来评估病情，同时收集研究对象外周血，检测巨噬细胞及其细胞因子等表达变化以确定极化类型，检测及分析

各组研究对象外周血单核巨噬细胞 Card9 的改变，进一步探寻 SAP 患者巨噬细胞极化的相关机制。应用统计学分析并比较各组之间的差异，证实 SAP 患者存在巨噬细胞极化现象，主要极化类型为 M1，且极化机制与 Card9 相关。为 SAP 的临床治疗提供新的思路和理论依据。

该项目的社会效益和经济效益分析：

证实 SAP 患者巨噬细胞存在极化现象：巨噬细胞在 SAP 炎症反应中具有极其重要的地位，对 SAP 早期巨噬细胞极化研究目前仅见于动物实验，尚无临床研究。本项目拟通过检测人体外周血，了解 SAP 患者早期巨噬细胞极化类型变化，以及确定主要极化类型及极化变化规律。如急性胰腺炎的病情与单核巨噬细胞极化类型有关，则可能有望通过改变巨噬细胞极化类型控制 SAP 早期炎症反应，从而阻断 SAP 的进程，避免全身多器官功能衰竭，提高患者生存率。

探究 SAP 巨噬细胞 M1 极化的机制：目前 SAP 巨噬细胞极化机制尚不明确，本项目拟通过临床及基础研究相结合，来探究 Card9 在 SAP 巨噬细胞 M1 极化中的作用及其他与巨噬细胞极化相关的分子。此外，进一步扩大样本量证实 Card9 可成为 SAP 早期病情评估的有效指标，为今后的临床推广工作提供理论基础。

攻关内容技术关键及主要技术指标：

1. 对纳入研究的 MAP 及 SAP 患者进行 RANSON 评分、影像学检查及观察有无器官功能衰竭。
2. 用流式细胞术检测 SAP 患者外周血中单核巨噬细胞分型情况：M1（CD68+/CCR2+）、M2（CD163/CD206+）。
3. 用 realtime-PCR 方法检测患者外周血单核细胞中 Card9 基因在转录水平的表达变化。
4. 血清学检测：
 - 1) 生化指标：检测患者第一、三、五天外周血C反应蛋白。
 - 2) 细胞因子：ELISA法测定受试者外周血中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6（M1巨噬细胞释放）；IL-10和TGF- β （M2巨噬细胞释放）。
 - 3) 酶类：ELISA法检测反映中性粒细胞浸润和炎症程度的髓过氧化物酶（MPO）、M2型巨噬细胞释放的精氨酸酶1（Arg-1）。
5. 应用相关性分析评估巨噬细胞M1极化与Card9水平、炎症细胞因子水平及C反应蛋白之间的相关性。综上分析，明确患者巨噬细胞极化类型、Card9水平及SAP病情严重程度三者间的关系。

计划进度及考核验收指标:

2021 年

第一季度: 收集 AP 患者外周血, 分离单核细胞并收集 AP 患者资料, 检测患者 C 反应蛋白水平、ELISA 法测定受试者外周血中细胞因子的情况。第二季度: 用流式细胞术检测 AP 患者外周血中单核巨噬细胞分型情况; 第三季度: 用 realtime-PCR 方法检测患者外周血单核细胞中 Card9 基因在转录水平的表达变化; 第四季度: 用 realtime-PCR 分析外周血单核巨噬细胞 Card9 和细胞极化相关分子的转录表达差异。

2022 年

第一季度: 应用 Western-blot 方法检测患者外周血单核细胞中 Card9 蛋白表达变化。第二季度: 统计数据分析评估受试者病情与巨噬细胞 M1 极化之间的相关性, 并分析外周血单核巨噬细胞极化类型与 Card9 表达变化的相关性; 第三季度: 统计数据, 分析外周血单核巨噬细胞中 Card9 水平与急性胰腺炎病情严重程度的关系; 第四季度: 总结试验数据, 撰写论文, 成果鉴定。

考核验收指标:

- 1.证实 SAP 早期巨噬细胞可发生极化, 主要极化类型为 M1。
- 2.阐明 Card9 参与巨噬细胞极化状态改变。
- 3.在统计源期刊上发表论文 1~2 篇。

涉及基础实验的项目，需有实验室证明。动物实验，需提供动物实验室证明：

研究课题若涉及生命科学伦理问题，需有伦理委员会提出审核意见：

项目申请单位情况（已具备的实验条件；已做的工作基础；项目组织机制设计；保障和加快工作进展的设想等）：

申请人所在医院的科室为上海市重点学科，科室团队承担国家自然科学基金、上海市自然基金等 20 余项科研项目，有较好的实验基础。

申请人依托的中心实验室由分子生物学、细胞生物学、组织病理学、实验动物和疾病动物模型等平台组成。人员配备和设备条件可保证研究顺利完成。

本课题是在课题组长期研究 SAP 发病机制的基础上，结合查阅大量文献上所提出的。申请人具有从事临床及基础研究的经历，申请人所在课题组在前期 SAP 的系统性研究中（上海市卫生局项目 140826101252407、国家自然科学基金项目 81370569）发现：Card9 是 NF κ B 的上游分子，在巨噬细胞高表达。本课题组既往研究首次报道 SAP 存在 Card9 表达升高，其可活化 NF κ B 参与炎症反应。2014 年 *Cell Death Differ* 发表文章证实 Card9 可通过活化 NF κ B 调节肿瘤相关巨噬细胞极化。本课题组预实验发现干扰 Card9 基因能够抑制 SAP 腹腔巨噬细胞趋向 M1 极化，但缺乏临床患者方面的研究论证。

为确保本实验的成功，本研究由具有主持国家自然科学基金的副主任医师指导，其长期从事急性胰腺炎相关基础研究，积累了丰富的经验并建立了成熟的实验方法；并有研究生直接参与本实验的研究，参与流式、基因检测等工作。本课题所需实验仪器均可在本单位解决。

经费来源 (万元)	区科委或区卫健委资助		3		
	单位自筹资金				
	银行贷款				
	其它渠道资金				
	合 计		3		
经费总预算	费用项目	规格型号	数量	金额 (万元)	用途说明
	合 计				
	测试化验加工费			0.8	检测患者外周血检测C反应蛋白及炎症指标等相关生化指标
	材料费			0.2	试管、冻存管等保存血液
	细胞提取液及相关试剂			0.3	提取患者外周单核巨噬细胞
	ELISA kit			0.4	ELISA 法测定受试者外周血中M1和M2巨噬细胞释放的相关细胞因子表达情况
	PCR 检测试剂			0.5	用 realtime-PCR 分析外周血单核巨噬细胞 Card9 的转录表达差异
	免疫荧光试剂及检测			0.3	检测反映中性粒细胞浸润和炎症程度的髓过氧化物酶 (MPO)、M2 型巨噬细胞释放的精氨酸酶 1

抗体			0.4	检测巨噬细胞极化类型情况
出版费			0.1	发表文章版面费
合计			3	

注：凡申请购置的设备，仪器应列出具体名称，逐项填写，材料，元器件，设备加工（包括自制），资料，试验等费用，也应分类列明用途，此页如不够填写，可另加页附后。

项目申报单位	上海市松江区中心医院				
项目负责人	史玉娟	性别	女	年龄	33
专 业	消化内科	职务及职称		医师, 主治医师	
项目单位研究人员情况:				分 工	
姓 名	年 龄	职 称	专 业		
史玉娟	33	住院医师	消化内科	设计实施	
徐萍	55	主任医师	消化内科	设计指导	
王静	39	副主任医 师	消化内科	设计指导	
王琳	30	研究生	消化内科	细胞分离及分子生物 学检测	
协 作 单 位	参加 人数	分 工			

注：项目负责人资格审查由推荐单位进行最终审定，未满足以下条件，项目单位、主管单位不得推荐：申报一般项目负责人应具备独立科研能力，具备本科及以上学历，中级以上（含中级）技术职称的在职在岗人员，年龄不超过 57 周岁；申报重点项目负责人须具备硕士及以上学历或高级专业技术职称的在职在岗人员。项目负责人申报的资格证明材料由项目单位和主管单位进行审核和留存，无需提交区科委。

项目单位领导审查意见（签章）：

同意



2020年5月4日

主管单位审查意见（签章）：

同意



2020年5月30日

区科委审批意见（签章）：

同意立项



2020年11月13日

松江区科学技术攻关项目合同

合 同 编 号: 20SJKJGG32

项 目 名 称: 急性胰腺炎患者巨噬细胞极化类型与病情严重程度、Card9 表达水平的相关性分析

资 助 方 式: 无偿资助

委托单位 (甲方): 松江区科学技术委员会

松江区卫生健康委员会

承担单位 (乙方): 上海市松江区中心医院

起 止 日 期: 2021.1-2022.12



松江区科学技术委员会

松江区卫生健康委员会

甲、乙双方共同协商，为完成本项目，就下列条款取得一致意见并承担各自职权和义务。

一、甲、乙双方一致同意，本合同项目攻关内容和考核指标是根据“松江区科学技术攻关项目计划任务书”所规定的执行。

二、甲、乙双方，为支持本项目的顺利进行，甲方计划资助乙方 3 万元，乙方自筹 0 元。

甲方资金到位时间与拨款方式：

拨款时间	无偿拨款金额（万元）	备注
第一次下拨	1.5	
验收合格后	1.5	

三、甲乙双方确认，甲方资助金在合同生效后分两次下拨，待项目验收合格后再下拨余额，如项目验收不合格，资金余额不再下拨。

四、共同条款：

- 1、签约双方一致同意按照《中华人民共和国合同法》的规定执行。
- 2、甲方是项目管理部门，负责对项目的申请受理、监理和验收工作，有权检查、监督合同项目实施情况，并提出相关的执行、处理意见。乙方在执行合同期内，必须在期中与期末向甲方提交项目执行情况的书面汇报，并配合甲方对项目的监理与验收工作。在监理过程中，若甲方发现乙方无故未按合同要求执行，甲方有权采取终止合同与索赔等处罚。
- 3、甲方拨付资金用于与本项目直接相关的：
 - 1) 仪器设备购置费用；
 - 2) 技术研究攻关费用；
 - 3) 与项目直接相关的其他支出；乙方应对上述资金及乙方为本项目自筹的资金实行单独核算、专款专用。
- 4、乙方要努力完成项目计划任务书规定的计划进度、经济指标及技术指标。若因客观原因，乙方对项目进度、目标和经费要求进行调整或撤消，必须向甲方事先提出书面申请，经甲方同意后执行。
- 5、本合同经双方签章后生效。
- 6、如签约双方发生合同纠纷，按《中华人民共和国合同法》有关规定处理。

五、本合同一式三份，甲、乙双方各存一份。

六、合同签约各方：

委托单位（甲方）：

（公章）



松江区科学技术委员会

代表（签章）：



地址：松江区园中路1号

电话：37735543 邮编：201620

日期：2020年11月3日



松江区卫生健康委员会

代表（签章）：



地址：松江区西林北路1052号

电话：37731022 邮编：201620

日期：2020年11月12日

承担单位（乙方）：

（公章）



代表（签章）：



财务负责人（签章）：

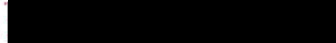
地址：松江区中山东路741号

电话：67721667 邮编：201699

开户名：

上海市松江区中心医院

开户银行：



银行帐号：上海银行松江支行

日期：2020年11月13日

松江区科学技术攻关项目合同

合 同 编 号: 22SJKJGG81

项 目 名 称: 间充质干细胞通过NF- κ B调节巨噬细胞焦
亡在重症急性胰腺炎中的作用

资 助 方 式: 无偿资助

委托单位(甲方): 松江区科学技术委员会

松江区卫生健康委员会

承担单位(乙方): 上海市松江区中心医院

起 止 日 期: 2023.01-2024.12

松江区科学技术委员会
松江区卫生健康委员会

甲、乙双方共同协商，为完成本项目，就下列条款取得一致意见并承担各自职权和义务。

一、甲、乙双方一致同意，本合同项目攻关内容和考核指标是根据“松江区科学技术攻关项目计划任务书”所规定的执行。

二、为支持本项目的顺利进行，甲方计划资助乙 0 万元，乙方自筹 0 万元。

甲方资金到位时间与拨款方式：

拨款时间	无偿拨款金额（万元）	备注
第一次下拨	0	
验收合格后	0	

三、甲乙双方确认，甲方资助金在合同生效后分两次下拨，待项目验收合格后再下拨余额，如项目验收不合格，资金余额不再下拨。

四、共同条款：

1、签约双方一致同意按照《中华人民共和国合同法》的规定执行。

2、甲方是项目管理部门，负责对项目的申请受理、监理和验收工作，有权检查、监督合同项目实施情况，并提出相关的执行、处理意见。乙方在执行合同期内，必须在期中与期末向甲方提交项目执行情况的书面汇报，并配合甲方对项目的监理与验收工作。在监理过程中，若甲方发现乙方无故未按合同要求执行，甲方有权采取终止合同与索赔等处罚。

3、甲方拨付资金用于与本项目直接相关的：

- 1) 仪器设备购置费用；
- 2) 技术研究攻关费用；
- 3) 与项目直接相关的其他支出；

乙方应对上述资金及乙方为本项目自筹的资金实行单独核算、专款专用。

4、乙方要努力完成项目计划任务书规定的计划进度、经济指标及技术指标。若因客观原因，乙方对项目进度、目标和经费要求进行调整或撤销，必须向甲方事先提出书面申请，经甲方同意后执行。

5、本合同经双方签章后生效。

6、如签约双方发生合同纠纷，按《中华人民共和国合同法》有关规定处理。

五、本合同一式三份，甲、乙双方各存一份。

六、合同签约各方:

委托单位 (甲方):
(公章)



松江区科学技术委员会

代表 (签章):



地址: 松江区园中路1号

电话: 37735550 邮编: 201601

日期: 2022年12月8日

(公章)



松江区卫生健康委员会

代表 (签章):



地址: 松江区西林北路1052号

电话: 37731022 邮编: 201620

日期: 2022年12月8日

承担单位 (乙方):
(公章)



代表 (签章):



财务负责人 (签章):



地址: 松江中山中路74号

电话: 67726667 邮编: 201600

开户名:

上海市松江区中心医院

开户银行:



银行帐号: 上海银行松江支行

日期: 2022年12月8日