

项目类别	新教师启动基金 项目
项目编号	2021-JYB-XJSJJ-033

北京中医药大学

2021 年度基本科研业务费项目任务书

(新教师启动基金项目)

项目名称: 益气活血解毒方治疗抗生素耐药肺炎的实验及临床研究

类 别: 新教师启动基金项目

负 责 人: 刘肇恒

资助经费: 7 万元

执行期限: 2021. 1. 1~2021. 11. 20

所在单位: 生命科学学院

联系电话: _____

电子邮件: zliu@bucm.edu.cn

北京中医药大学科技处
二〇二〇年制



2021-JYB-XJSJJ-033

填表说明及申请程序

- 1、填写《任务书》时要科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《任务书》经所在单位签署意见并盖章后报送科技处；《任务书》将作为科技档案长期保存，并作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 2、不得随意修改项目名称。原则上与系统、申请书项目名称一致。评审专家明确要求修改项目名称的，科研系统附件中须上传二级学院出具的评审专家意见说明扫描件。
- 3、项目组主要参与人员：按照申请书执行，与申请书原成员保持一致，不可随意调整。
- 4、评审专家明确要求调整研究方案和研究内容的，报告正文及科研系统附件中须上传评审专家意见表签字扫描件。不得自行降低、更改研究目标，不得缩减研究内容。
- 5、本项目若涉及高致病性病原微生物实验活动，由于我校目前具有的实验室均不具备相关的实验室资质要求，因此实验均须在外单位有相关资质的实验室进行，实验均须寻找具有相关资质的外单位实验室开展实验，因此项目负责人应提供合作实验室的研究资质及生物安全保障承诺书。
- 6、申请材料需符合《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规。
- 7、恪守科研诚信和学术原则。遵守中共中央办公厅、国务院办公厅《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》规定和其他科研诚信要求的行为，严禁各种造假、抄袭、剽窃和其他违背科学共同体惯例等学术不端行为。
- 8、遵守医学研究伦理管理及其他相关规定。涉及人体的研究内容，应符合原国家卫生计生委《涉及人的生物医学科研伦理审查办法》（国家卫生和计划生育委员会令第11号）等相关规定。项目立项后，需通过单位伦理委员会审查方能实施。
- 9、涉及人类遗传资源的项目，需符合《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》（国令〔2019〕717号）等相关规定。
- 10、涉及实验动物的应严格遵守《实验动物管理条例》相关规定。

一、基本信息



2021-JYB-XJSJJ-033

申请者信息	姓名	刘肇恒	性别	男	出生年月	1991.2	民族	汉
	学位	博士	职称	助理研究员		主要研究领域	呼吸系统疾病	
	是否为省部级以上科研机构的固定人员				A. 是. 机构名称: 北京中医药大学 B. 不是.			
依托单位信息	名称	生命科学学院						
	联系人	毛博冀		电子邮件	maoboyanhj@163.com			
	电话			传真				
项目基本信息	项目所属领域	中医						
	申报学科	学科代码	学科代码	H2708				
	申请经费	7万元						
	特别说明	1、项目名称是否与系统、申请书一致 <input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否 2、本项目是否涉及高致病病原微生物研究 <input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否 3、本项目是否涉及人体的研究内容 <input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否 4、本项目是否涉及人类遗传资源研究 <input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否 5、本项目是否涉及实验动物研究 <input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否						
摘要	<p>(限 400 字)</p> <p>耐药细菌性肺炎是指由于感染耐药细菌而引起的细菌性肺炎。由于抗生素的广泛及不合理使用等原因,细菌对抗生素耐药的问题日益严重,临床上常由于细菌耐药,导致感染不能控制,患者病情逐渐加重,甚至死亡。急性呼吸道感染属于中医风温肺热的范畴,尤其是老年及长期患有慢性肺病的患者正气虚弱最易发病。风热毒邪侵袭人体,进而导致血瘀。由于风热病邪犯肺,肺之宣发肃降功能失常,气机不畅,肺朝百脉之职失司,影响血液的循行,又导致瘀血阻于肺络。患者素有气虚,毒邪伤正,导致肺气不足。本方根据其病因病机及现代药理学研究进行配伍,采用益气活血,扶正解毒的方法联合抗生素治疗耐药细菌性肺炎,为治疗此类疾病寻找新突破。</p>							
关键词 (用分号隔开,最多 5 个)	细菌耐药;肺炎;抗生素;中药;益气活血解毒							

注: 1、不得随意修改项目名称。原则上与系统、申请书项目名称一致。评审专家明确要求修改项目名称的,科研系统附件中须上传二级学院出具的评审专家意见说明扫描件。

2、申报学科、学科代码请按照国家自然科学基金学科分类填写;要求填写到二级或三级学科。



2021-JYB-XJSJJ-033

二、项目组主要参与人员

按照申请书执行。

三、报告正文（以下选项只能二选一）

研究内容和研究目标按照申请书执行

根据专家修改意见更改，要求：评审专家明确要求调整研究方案和研究内容的，此处填写相应修改内容。同时，此处及科研系统附件中须上传评审专家意见表签字扫描件。不得自行降低、更改研究目标，不得缩减研究内容。

四、2021年新教师启动基金项目经费预算

支出科目		中标金额 (万元)	大学资助 (万元)	医院匹配 (万元)
1. 一类经费	设备费（不超过总经费的20%，只能购买单价5万以下的实验专用仪器设备,不能购买日常办公设备）	0	0	
2. 二类经费（2=2.1+2.2+2.3）		4.1	4.1	
2.1	材料费	1.145	1.145	
2.2	测试化验加工费	1.355	1.355	
2.3	出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.6	1.6	
3. 三类经费（3=3.1+3.2+3.3）		2.9	2.9	
3.1	差旅/会议费	0.3	0.3	
3.2	劳务费（无工资性收入人员）	1.6	1.6	



3.3	专家咨询费	1	1	
合计（一类经费+二类经费+三类经费）		7	7	

注： 1、含医院匹配的新教师项目才填写此表中的医院部分
2、未设置国际合作与交流费科目

附：预算说明书：（根据研究需要做预算，并对各项支出的主要用途和测算理由进行详细说明。）

设备费（不超过总经费的 20%，只能购买单价 5 万以下的实验专用仪器设备,不能购买日常办公设备）：

无

材料费：

购买常规 EP 管、针头等耗材 1000 元

购买大鼠，用于实验，约 150 只，35 元/6 周龄/只，共 5250 元

西药购买 5200 元

测试化验加工费：

模型制备用泛耐药肺炎克雷伯菌及运输、储存；中药和制剂加工

HE 染色；转录组学检测；

肠道菌群检测；

差旅费/会议费（未设置国际合作与交流费）：

参加国内学术会议，1 年共参会 1 人次，每次会议约需 2 天，预算每人往返交通费+出租车费 1060 元，会务费约 1200 元/人，按 现行报销标准，住宿费 250 元/人天，公杂费 120 元/人天，共[(120+250)元*2 天+1200 元+1060 元]*1 人=3000 元。

出版/文献/信息传播/知识产权事务费：

发表 SCI 版面费 1.6 万元

劳务费（无工资性收入人员）：

用于支付参与本项目工作研究生的劳务费，共 4 名硕士，每人每年参与 8 个月，按照 大学研究生劳务标准 硕士 500 元/月， 共计 1.6 万元



专家咨询费：

专家咨询费 1 万元。

签字和盖章页



2021-JYB-XJSJJ-033

项目名称	益气活血解毒方治疗抗生素耐药肺炎的实验及临床研究		
资助类别	新教师启动基金项目	课题编号	2021-JYB-XJSJJ-033
<p>项目负责人承诺:</p> <p>我接受北京中医药大学中央高校基本科研业务费项目的资助，将按照申请书和任务书负责实施本课题，严格遵守《北京中医药大学中央高校基本科研业务费实施细则》（京中校发[2018]3号）的各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助课题发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。材料符合《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等相关法律法规。本课题如涉及病原微生物的实验活动，我将严格遵守国家及学校生物安全相关规定，在《病原微生物实验室生物安全管理条例（2018修订版）》、《人间传染的病原微生物名录》等规定的生物安全防护级别实验室中，按照标准操作规程开展实验活动，确保实验室生物安全。恪守科研诚信和学术原则。遵守中共中央办公厅、国务院办公厅《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》规定和其他科研诚信要求的行为，严禁各种造假、抄袭、剽窃和其他违背科学共同体惯例等学术不端行为。遵守医学研究伦理管理及其他相关规定。如涉及人体的研究内容，遵守原国家卫生计生委《涉及人的生物医学科研伦理审查办法》（国家卫生和计划生育委员会令第11号）等相关规定。如涉及人类遗传资源的项目，遵守《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》（国令〔2019〕717号）等相关规定。如涉及实验动物的，遵守《实验动物管理条例》相关规定。</p> <p style="text-align: right;">签字： 年 月 日</p>			
<p>依托单位承诺:</p> <p>我单位同意承担北京中医药大学中央高校基本科研业务费项目，将保证课题负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守《北京中医药大学中央高校基本科研业务费实施细则》（京中校发[2018]3号）的各项规定，并督促实施。该课题若涉及病原微生物的实验活动，我单位将严格监督申请人遵守国家及学校生物安全相关规定，在《病原微生物实验室生物安全管理条例（2018修订版）》、《人间传染的病原微生物名录》等规定的生物安全防护级别实验室中，按照标准操作规程开展实验活动，确保实验室生物安全。严格监督申请人遵守中共中央办公厅、国务院办公厅《关于进一</p>			



2021-JYB-XJSJJ-033

步加强科研诚信建设的若干意见》规定和其他科研诚信要求的行为，严禁各种造假、抄袭、剽窃和其他违背科学共同体惯例等学术不端行为。严格监督申请人遵守医学研究伦理管理及其他相关规定。如涉及人体的研究内容，严格监督申请人遵守原国家卫生计生委《涉及人的生物医学科研伦理审查办法》（国家卫生和计划生育委员会令第11号）等相关规定。如涉及人类遗传资源的项目，严格监督申请人遵守《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》（国令〔2019〕717号）等相关规定。如涉及实验动物的，严格监督申请人遵守《实验动物管理条例》相关规定。

依托单位（公章）

依托单位经办人：

依托单位负责人：

年 月 日

主管部门审查意见：

批准经费 万元

主管部门盖章：

主管部门经办人

主管部门负责人：

年 月 日



2021-JYB-XJSJJ-033

所属学科组	所属亚学科组
医药科学	中医学

资助编号
7202118

北京市自然科学基金资助项目 任务书（面上项目）

项目名称：肺痹汤2号调控线粒体自噬/凋亡失衡改善肺纤维化氧化应激损伤的机制研究

负责人：焦扬

依托单位：北京中医药大学

资助金额：20 万元

起止年月：2020.1 至 2022.12

填写日期：2020-02-05

北京市自然科学基金委员会办公室
2019 年

填表说明

- 一、填报任务书前，请登录北京市自然科学基金网站（<http://kw.beijing.gov.cn/jjb/>），查阅市自然科学基金的有关管理规定。认真填写任务书各项内容，要求科学严谨、实事求是、表达明确。外来语应用中文和英文同时表达，第一次出现的缩写词，须注出全称。
- 二、任务书为 A4 纸，任务书正文要求宋体 5 号字，双面打印，于左侧装订成册，一式两份（均为原件），报送北京市自然科学基金委员会办公室。
- 三、填表说明：
 - 1、简表和研究项目组成员登记表（含负责人）依据申请书生成，不允许修改。
 - 2、任务书正文：
 - 1) 一般情况下，任务书正文依据申请书生成，不允许修改。根据资助通知要求，如需修改资助项目任务书正文，须根据原申请书、学科评审组修改意见认真修改。
 - 2) 字数限制：研究目标和内容不超过 1500 字，研究方案不超过 1000 字，预期研究结果及可考核的指标不超过 800 字，年度目标和年度研究计划不超过 1000 字。
 - 3、项目经费使用计划：
 - 1) 项目经费管理按照《北京市自然科学基金项目资助经费管理办法》执行。
 - 2) 项目经费使用计划包括：
 - (1) 直接费用。在项目实施过程中发生的与之直接相关的费用，具体包括：设备费、材料费、测试化验加工费、燃料动力费、差旅费、会议费、国际合作与交流费、档案/出版/文献/信息传播/知识产权事务费、劳务费、咨询费、其他费用。
 - (2) 间接费用。依托单位在组织实施项目过程中发生的无法在直接费用中列支的相关费用，主要包括依托单位为项目研究提供的现有仪器设备及房屋，水、电、气、暖消耗，结题验收、项目经费审计等管理费用及绩效支出等。绩效支出是依托单位为提高科研工作绩效安排的相关支出。
 - 3) 金额用阿拉伯数字表示，以万元为单位，小数点后取两位。
 - 4) 支出内容与计算依据必须填写。

一、简表

负责人信息	姓名(中文)	焦扬	姓名(拼音)	Jiao Yang
	性别	女	民族	汉族
	出生日期	1963-10-09	电子邮箱	
	办公电话		手机	
	专业技术职务 (职称)	教授	最高学位	博士
	最高学位授予单位	北京中医药大学		
	研究领域	肺系病, 热病, 疑难病诊疗研究		
	其他			
依托单位	单位名称	北京中医药大学	单位类别	高等院校
	隶属关系	中央	邮政编码	100029
	通信地址	北京市朝阳区北三环东路 11 号北京中医药大学东一楼 529 房间		
	联系人	秦灵灵	联系电话	
	传真	010-64286491	电子邮箱	15201484725@126.com
合作单位	单位名称		联系人	联系电话
项目基本信息	项目名称(中文)	肺痹汤 2 号调控线粒体自噬/凋亡失衡改善肺纤维化氧化应激损伤的机制研究		
	项目名称(英文)	Study on the mechanism of regulating mitochondrial autophagy/apoptosis imbalance to reduce oxidative stress injury of pulmonary fibrosis by Number 2 Feibi Recipe		
	申报学科 1(名称)	中医呼吸科	申报学科 1(代码)	H270801
	申报学科 2(名称)	间质性肺疾病	申报学科 2(代码)	H0110
	依托实验室	国家重点	起止年月	2020.1 至 2022.12
	研究性质	应用基础研究	资助金额	20 万元
	所属学科组	医药科学		

	所属亚学科组	中医学
--	--------	-----

BUSF

二、任务书正文

（一）研究目标和内容

2 研究内容

2.1. 研究目标

从体内和体外两个方面，在基因和蛋白质水平探讨肺痹汤 2 号诱导线粒体凋亡向线粒体自噬转化，调控线粒体自噬/凋亡平衡的分子机制，为肺纤维化的临床治疗及分子机制研究提供依据。

2.2 主要研究内容

2.2.1. 体内实验研究

2.2.1.1 肺痹汤 2 号对实验小鼠肺指数、肺功能的影响

按照实验研究方法对比空白组、模型组、抑制剂组、肺痹汤 2 号治疗组实验小鼠肺指数、肺功能等指标的差异，分析肺痹汤 2 号对各指标的影响，揭示肺痹汤 2 号对小鼠肺指数及肺功能的保护作用。

2.2.1.2 肺痹汤 2 号对实验鼠肺组织形态及线粒体自噬/凋亡情况的影响

利用常规 HE 染色和 Masson 染色技术，行光镜组织形态学检测，用于观察肺组织病理变化。

利用透射电镜技术，每组随机选取三个样本，行电镜下线粒体形态、结构观察，通过自噬体的形成情况，分析线粒体的自噬情况。

2.2.1.3 肺痹汤 2 号对氧化应激相关指标的影响

利用 RT-PCR 技术分别检测：抗氧化应激指标：Nrf2, HO-1 的 mRNA 转录水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子基因表达的影响。

利用 Western blotting, 免疫组化技术检测：实验小鼠肺组织 Nrf2, HO-1 的蛋白表达水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。

2.2.1.4 肺痹汤 2 号对促纤维化因子 TGF β -1 的影响

利用 RT-PCR 技术检测：TGF β -1 的 mRNA 转录水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子基因表达的影响。

利用 Western blotting, 免疫组化技术检测：实验小鼠肺组织 TGF β -1 的蛋白表达水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。

2.2.1.5 肺痹汤 2 号对线粒体自噬相关因子的影响

利用 RT-PCR 技术分别检测：自噬激活因子 Pink1, LC3-II 的 mRNA 转录水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子基因表达的影响。

利用 Western blotting, 免疫组化技术检测：实验小鼠肺组织 Pink1, LC3-II 的蛋白表达水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。

2.2.1.6 肺痹汤 2 号对线粒体凋亡相关因子的影响

利用 RT-PCR 技术分别检测：抗凋亡因子 XIAP, HK2 的 mRNA 转录水平， 通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子基因表达的影响。

利用 Western blotting, 免疫组化技术检测：实验鼠肺组织中 XIAP, HK2 的蛋白表达水平，通过与模型组比较分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。

2.2.2 体外实验研究

通过中药血清药理学方法， 观察含肺痹汤 2 号的中药血清对 A549 上皮细胞, 在 H₂O₂ 刺激条件下，线粒体自噬、线粒体凋亡以及所表达的 TGF β -1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 水平的影响。

利用 Mitotracker-Red 与 LC3 荧光共定位检测线粒体自噬情况。

利用免疫荧光检测细胞色素 C 释放，分析线粒体凋亡情况。

利用 RT-PCR 技术分别检测：TGF β -1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 的基因转录水平，分析肺痹汤 2 号对上述因子基因表达的影响。

利用 Western blotting, 免疫组化技术检测：TGF β -1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 的蛋白表达水平，分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。

2.3. 拟解决的关键科学问题

通过检测、分析肺痹汤 2 号对线粒体自噬/凋亡平衡重要调控分子的影响，探索肺痹汤 2 号减轻肺纤维化氧化应激损伤的分子机制。

(二) 研究方案

1、研究方案

1.1. 研究方法及实验手段

1.1.1. 体内实验方法

1.1.1.1. 肺纤维化模型制备

C57BL/6 雄性小鼠 200 只，6—8 周龄，体重 18—20g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，所有小鼠将在北京中医药大学东方医院实验中心的 SPF 级隔离设施饲养，环境温度（18±2）℃，相对湿度 60—70%，12h/12h 明暗周期照射，自由饮水与进食。适应性喂养一周。

使用丙二醇和异氟烷体积比 2:3 混合配置麻药，于自制装置对小鼠行吸入麻醉，将麻醉小鼠上齿迅速挂于悬吊线上，身体呈直立状态，用弯钳拽出小鼠舌头，向气管内快速滴入博来霉素（按 5mg/kg）后，保持直立状态片刻，使小鼠将药物呛至肺内，取下小鼠，颠倒、旋转 3—5 次，使药物更加均匀地分布于肺内，然后放回鼠笼，待自然苏醒。博来霉素诱导是制造小鼠肺纤维化模型的经典方法，根据文献报道及前期研究经验验证，该模型制备方法成模率可高于 98%^[49]。

1.1.1.2. 肺痹汤 2 号制备

肺痹汤 2 号处方组成：黄芪、红景天、金银花、黄芩、丹参、甘草，比例为 3:3:3:2:2:1，按照人体中等剂量折算，每付生药 140g，参照《标准化煎药中心基本要求》相关标准，每付生药浓煎至 50ml，换算该方药物浓度为：2.8g/ml。中药饮片购自北京同仁堂，制剂由北京中医药大学东方医院制剂中心加工而成。

1.1.1.3. 动物分组

空白组：C57BL/6 小鼠，造模当日为第 0 天，从第 1 天开始，予以生理盐水 10ml/kg/d 灌胃，每日 1 次，连续 2 周。

模型组：博来霉素诱导肺纤维化，造模当日为第 0 天，从第 1 天开始，予以生理盐水 10ml/kg/d 灌胃，每日 1 次，连续 2 周。

抑制剂组：博来霉素诱导肺纤维化，造模当日为第 0 天，分别于第 7 天，第 10 天给予抑制剂 SB216763 腹腔注射（10mg/kg）。SB216763 是一种糖原合成激酶 3β（Glycogen synthase kinase-3β GSK3β）的特异性抑制剂，研究发现^[50-51]，它可以，活化线粒体自噬，使线粒体凋亡向自噬方向转化，改善由博来霉素诱导的小鼠肺纤维化。

中药组：博来霉素诱导肺纤维化，造模当日为第 0 天，从第 1 天开始，参考文献^[52]，小鼠每公斤体重

剂量相当于人体每公斤体重剂量的 9.01 倍，按人体体重 60 公斤换算，小鼠肺痹汤 2 号灌胃量为：
 $140\text{g}/60 \times 9.01 = 21.02\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ 灌胃，每日 1 次，连续 2 周。

1.1.1.4. 指标检测

1.1.1.4.1. 一般状态观察

分别于造模前 1 天，造模当天及用药后每隔 3 天分别观察记录小鼠一般的生活状况、精神状态、体毛及呼吸等情况，记录体重变化和死亡情况，以分析各组小鼠一般状况差异。

1.1.1.4.2. 实验小鼠肺功能测定

用药 2 周后，将受检小鼠麻醉，方法同前，行气管插管，连接肺功能仪。设置呼吸机参数：呼吸频率为 90 次/分，呼吸比设定为 20:10，行肺功能检测，记录数据，包括：小鼠用力肺活量（FVC）、第 0.3 秒用力呼气容积（FEV_{0.3}）、第 0.3 秒呼出容积占用力肺活量之比（FEV_{0.3}/FVC），动态肺顺应性（C_{dyn} 值）等指标。以分析小鼠肺功能变化情况。

1.1.1.4.3. 实验小鼠肺指数检测

肺功能检测完毕后处死，剪取双肺组织，置于 4℃ 0.9% 生理盐水，漂洗血渍，滤纸吸干表面水分，精密电子秤称双肺质量，计算肺指数（肺指数=双肺质量/体质量×100%），以分析小鼠的病理生理状态。

1.1.1.4.4. 肺痹汤 2 号对实验鼠肺组织形态及线粒体自噬/凋亡情况的影响

肺组织病理学观察：用药 2 周后，麻醉取血处死。右肺组织液氮保存，用于 RT-PCR 和 western blotting 检测。1/2 左肺 10% 福尔马林固定，石蜡包埋，脱蜡失水，分别进行常规 HE 染色和 Masson 染色，行光镜组织形态学检测，以观察肺组织病理学变化情况。

线粒体超微结构观察：1/2 左肺利用扫描电镜技术，取 2.5% 戊二醛、锇酸双固定的肺组织标本，丙酮梯度脱水，临界点干燥，喷镀，观察自噬体等线粒体自噬标志的形成，进而判断线粒体自噬情况。

1.1.1.4.5. 肺痹汤 2 号对线粒体自噬及凋亡相关因子的影响

RT-PCR 检测基因表达水平： Trizol 提取总 RNA 加 dNTP、MMLV 和 Oligo (dT) 15 等进行逆转录合成 cDNA 第一链，加入相关 PCR 引物扩充目的基因，后经琼脂糖凝胶电泳对 TGF β-1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 的目的条带进行分析。

Western Blotting 检测蛋白水平： 提取实验鼠肺组织，经 SDS 聚丙烯酰胺电泳，转膜，相关单抗及二抗孵育后，采用发光底物进行显影，对 TGF β-1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 的目的条带进行定性和定量分析。

免疫组化技术检测： 1/2 左肺组织 10% 福尔马林固定，石蜡包埋，切片，脱蜡失水，利用 TGF β-1, Nrf2,

HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 一抗和 HRP 标记的二抗进行免疫组化染色, 检测目的蛋白在肺组织中的表达情况。

1.1.2. 体外实验方法

1.1.2.1. A549 上皮细胞培养

人肺泡 II 型上皮细胞株 (A549) 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库, 用含 10% FCS 的 DMEM 培养基置于 37℃、5% CO₂ 中培养, 每 1—2 天换液一次, 并以 0.25% 的胰蛋白酶消化传代, 每 2—3 天传代 1 次, 使细胞呈单层贴壁生长, 实验时取对数生长期细胞制成单细胞悬液备用。

使用不同浓度的 H₂O₂ 对 A549 细胞进行不同时长的刺激, 使用 CCK-8 法筛选 A549 细胞存活率约为 50% 时的 H₂O₂ 浓度及刺激时间作为建模条件。建模后分为模型组、抑制剂组和中药组, 另设空白对照组。空白组和模型组予以 10% FCS 的 DMEM 培养液, 抑制剂组给予 SB216763 (10 μmol/L), 中药组按中药血清药理学方法给予 10% 浓度的肺痹汤 2 号含药血清, 干预 48 小时。前期研究经验及文献报道^[53]表明, 各组给予相应干预措施 48 小时为最佳干预时间。

取对数生长期细胞, 行线粒体-溶酶体荧光共定位检测, 取单层生长的细胞爬片, 行细胞色素 C 释放免疫荧光检测和免疫组化测定, 提取细胞总 RNA 用于 RT-PCR 测定, 提取细胞总蛋白用于 western blotting 测定。

1.1.2.2. 中药血清药理学方法

参考相关文献进行^{[52][54]}, 选用 SD 雄性大鼠, 按照大鼠每公斤体重用药剂量是人体每公斤体重用药剂量的 6.25 倍, 按人体体重为 60 公斤换算, 大鼠肺痹汤 2 号灌胃量为: 140g/60*6.25=14.58g/kg/d 灌胃, 并于第 7 天用药后 2 小时血药浓度达到峰值时, 1% 戊巴比妥 5ml/kg 麻醉, 腹主动脉采血, 静置 2 小时, 4℃, 4000rpm, 离心 15min, 分离血清, 过滤除菌, 分装, -20℃ 保存备用。

1.1.2.3. 荧光共定位检测线粒体自噬

取对数生长期细胞, 加入 Mito-Tracker Green 染色工作液与细胞共同孵育 15-45 分钟。孵育完成后用移液器吸出 Mito-Tracker Green 染色工作液, 在细胞培养皿中换上新鲜细胞培养液, 使用荧光显微镜进行观察, 弃掉培养液, 加入 Lyso-Tracker Red 染色工作液, 将细胞再放入 37℃ 温箱中使 Lyso-Tracker Red 染色工作液与细胞共同孵育 30-120 分钟。孵育完成后吸出 Lyso-Tracker Red 染色工作液, 在细胞培养皿中换上新鲜细胞培养液。用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜进行观察, 根据免疫荧光的颜色变化, 分析线粒体自噬情况。

1.1.2.4. 免疫荧光检测细胞色素 C 释放

取单层生长的细胞爬片，固定剂固定细胞，PBS 洗涤 3-5 分钟，0.1%Triton X-100 通透 10 分钟，封闭液封闭 30 分钟，加入一抗：rabbit anti-human cytochrome C(1:50)，4℃湿盒内过夜，加入二抗，室温避光孵育 2 小时，Hoechst 33342 染核，封片，激光共聚焦显微镜下观察细胞色素 C 的表达及分布情况，以分析线粒体凋亡情况。

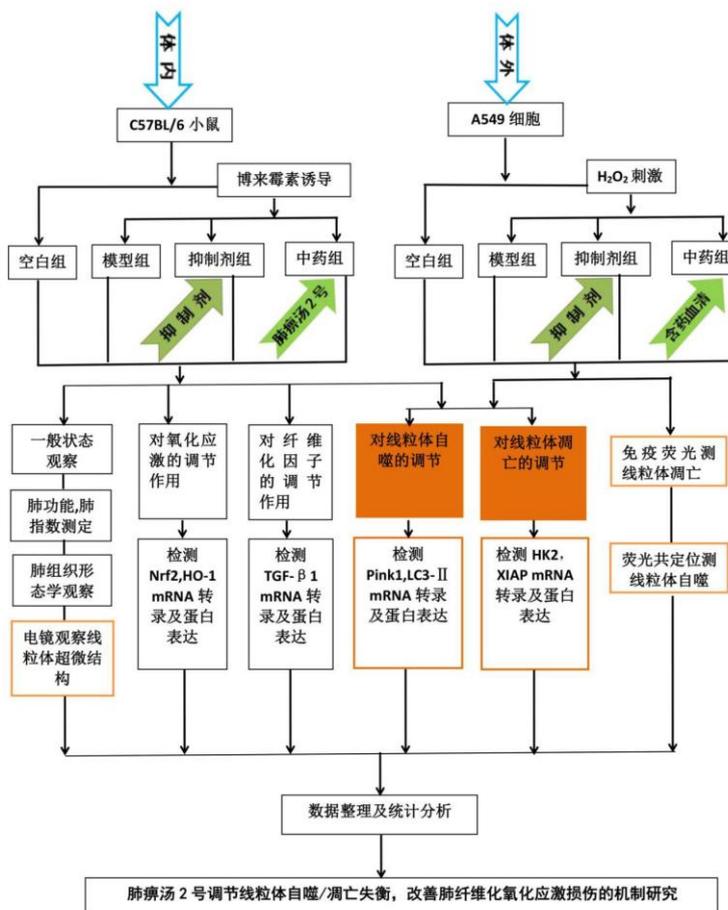
1.1.2.5. RT-PCR 检测基因表达水平

方法同前，对 A549 上皮细胞表达的 TGF β -1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 进行 mRNA 检测，分析目的条带的基因表达水平。

1.1.2.6. 免疫组化、western blotting 检测蛋白水平

方法同前，对 A549 上皮细胞表达的 TGF β -1, Nrf2, HO-1, Pink1, LC3-II, XIAP, HK2 蛋白水平检测，进行目的条带定性和定量分析。

2、技术路线图



3、可行性分析

3.1. 理论基础

申请人多年临床研究发现 IPF 的病机特点是本虚标实，肺气虚损为本，热毒为标，贯穿疾病的始终，应用肺痹汤 2 号益气解毒，具有良好临床疗效，为本研究奠定了坚实的中医理论基础。关于肺痹汤 2 号抑制线粒体自噬/凋亡失衡改善肺纤维化氧化应激损伤的机制研究，是以中西医学理论为指导，以临床实践为基础，采用分子生物学先进研究手段的原创性工作，具有重要的科学价值和开发前景。

3.2. 前期工作

3.2.1 实验研究

申请人主持的教育部高等学校博士学科点基金课题“PM2.5 肺损伤的病理机制及肺痹汤 2 号的干预研究”。在采用小鼠 SO₂ 静式吸入建立的肺损伤致纤维化小鼠模型中，探讨 SO₂ 静式吸入造成肺纤维化的病理机制，以及中药的影响^[17]。结果显示，模型组小鼠 IL-6、TGF β 1 显著上调，BRP39 显著上调，而 GSH-PX 表达明显减低，经过中药干预上述炎症因子水平显著下调，抗氧化酶水平显著上调，有统计学意义（见表一）。

表一 小鼠肺组织 PCR 检测结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	N	TGF-β 1	IL-6	GSH-PX	BRP-39
空白组	3	0.93±0.07	0.93±0.06	1.16±0.21	1.03±0.03
模型组	6	4.13±0.73###	3.49±0.75###	0.43±0.07###	3.57±0.44###
中药组	6	1.78±0.49**	2.30±0.55*	0.70±0.11**	1.91±0.83*
阳性药组	6	1.32±0.40**	1.67±0.46**	1.01±0.20**	1.51±0.49**

与空白组比较，#P<0.05，##P<0.01；与模型组比较，*P<0.05，**P<0.01。

在采用气道注射 PM2.5 悬浮液的方法建立的大鼠肺损伤致纤维化模型中，探讨了 PM2.5 气道注射造成肺纤维化的主要病理机制以及肺痹汤 2 号的干预作用^[55]。结果显示，肺痹汤 2 号可以：显著减少 PM2.5 肺损伤致纤维化大鼠血清中炎症因子 IL-6、IL-13、TNF-α 的表达水平；显著增加 PM2.5 致肺纤维化大鼠血清中抗氧化酶 GSH-Px 的含量。差异有统计学意义（见表二）

表二 大鼠血清 ELISA 检测结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	IL-6	IL-13	IL-17	GSH-Px	TNF-α
空白	100.66±15.29	20.89±3.41	27.61±2.35	174.25±30.38	189.10±15.06
模型	177.73±25.80*	36.84±5.88*	31.34±4.25*	100.32±15.89*	353.21±49.14*
中药	131.87±17.77 [△]	30.05±5.12 [△]	30.72±3.99	131.71±18.33 [△]	283.16±34.79 [△]

*与空白组比较 P<0.05，△与模型组比较 P<0.05

大鼠肺组织 MCP-1(a)，TNF-α(b)，IL-6(c)，IL-13(d)，IL-17(e) 免疫组化结果（见图 1）。

与模型组比较，肺痹汤 2 号组 MCP-1, TNF- α , IL-6, IL-13 表达水平明显降低，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

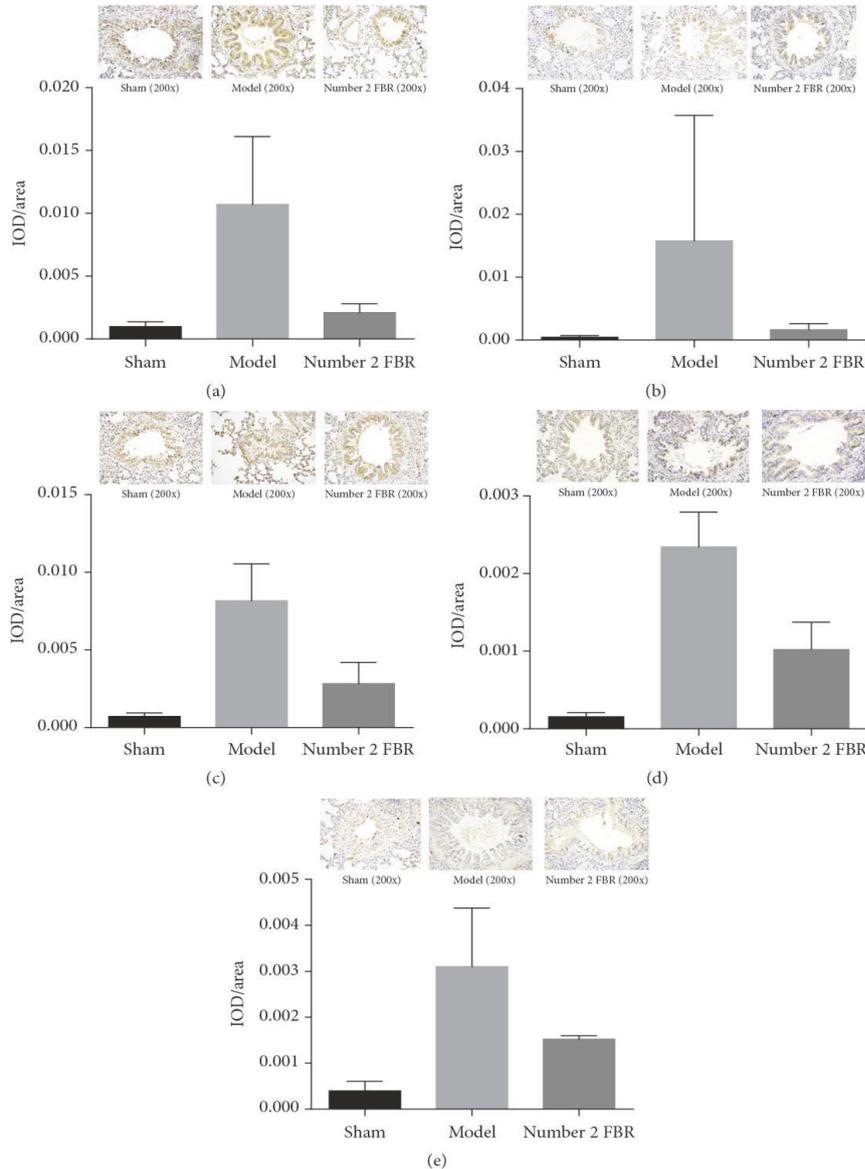


图 1 各组大鼠肺组织免疫组化

大鼠肺组织 HE 染色（见图 2）。空白组肺泡均匀分布、结构完整，肺间质未见明显炎症反应，模型组肺泡间隔增宽、肺泡腔增大，部分肺泡断裂、融合，腔内可见中性粒细胞、单核细胞浸润及淋巴细胞增生。伴随成纤维细胞增生。中药组与模型组比较，肺泡结构较完整，腔内分泌物有所减少，炎性细胞浸润、成纤维细胞增生明显减轻。

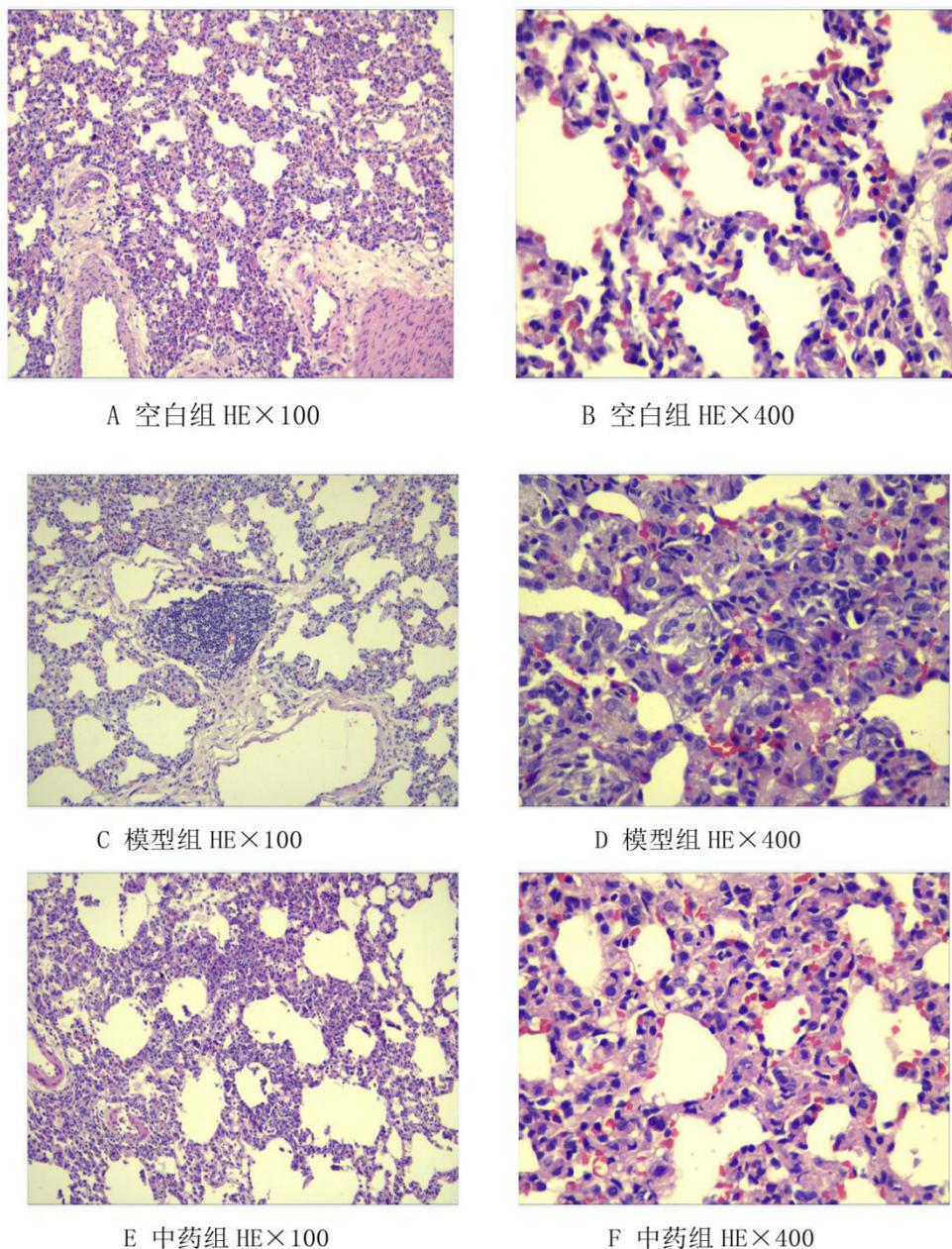


图 2 各组大鼠肺组织 HE 染色

上述研究证明,肺痹汤 2 号能显著降低 PM2.5 肺损伤致纤维化动物模型,肺组织和血清中炎症因子、促纤维化因子含量,显著增加肺组织和血清中抗氧化酶的含量,具有良好的抗炎、抗纤维化、抗氧化效果。上述 PM2.5 肺损伤致纤维化的实验研究结果是肺纤维化课题研究的重要证据。本研究在此基础上从改善线粒体自噬/凋亡平衡的角度,进一步探究肺痹汤 2 号发挥上述抗氧化应激/抗炎/抗纤维化作用的机理,是前期工作的延续,具有坚实的前期研究工作基础。

3.2.2 临床基础

申请人从事临床工作 30 年来,对肺间质疾病进行了系统深入研究,发现 IPF 患者的中医证候特

征是肺气亏虚，痰瘀互阻，热毒内蕴，肺络痹阻，因而表现为干咳，气短，劳力性呼吸困难，在临床上辨病与辨证论治相结合，发挥西医诊断和中医辨证的优势，针对 IPF 基本病机治以肺痹汤取得良好临床疗效，可明显改善患者的干咳和呼吸困难，提高生活质量，延长生存期。为此，我们对就诊的病例通过数年跟踪随访，定期检查，对治疗方案几经验证，最终形成了针对本病共性特征的协定处方肺痹汤和肺痹汤 2 号，制定了 IPF 诊疗规范，形成了系列方药。已获得专利一项，完成 IPF 相关课题 3 项，发表论文 10 篇。

3.2.3 技术平台

所在单位北京中医药大学具备一系列完成课题实验研究的技术平台，包括动物模型建立、组织形态学观测，以及在基因和蛋白质水平对靶分子作用机制的研究。与从事分子生物学、分子免疫学研究的耶鲁大学医学院呼吸与重症医学治疗与研究中心、中国医学科学院国家重点实验室、中国中医科学院中药所有良好合作关系，可为本课题提供重要的技术支持。

3.2.4 学术梯队

课题申请人长期从事呼吸系统疾病的临床和基础实验研究工作。在继承多位指导老师临床经验基础上，逐步形成了自己的诊疗 IPF 的思路。课题组成员理论基础扎实，掌握分子生物学、细胞免疫学等现代医学前沿知识。相关实验技术成熟，经验丰富。学术梯队结构合理，理论和技术力量均占优势。

(三) 预期研究结果及可考核的验收指标

1、研究结果指标：

(1) 在基因和蛋白质水平，对肺痹汤 2 号治疗 IPF 的分子机制、作用环节进行深入研究，争取最终获得具有组织特异性，有特殊生物活性的中药复方，为丰富中药药理研究，促进临床应用提供思路和依据。

(2) 证实肺痹汤号 2 号对线粒体自噬/凋亡失衡的改善作用，为深入研究线粒体自噬/凋亡失衡在肺泡上皮细胞氧化应激损伤中的作用，为 IPF 领域的生物学机制研究奠定基础。

(3) 在 SCI 收录和国家核心期刊发表论文 3-5 篇，申请专利 1 项。

2、人才培养指标：培养博士 2 名，硕士 1 名。

(四) 年度目标和年度研究计划

第 1 年度（2020 年）

1、年度目标

完成体外实验。进一步查阅文献，完善实验设计，完成体外实验预实验，确定培养条件后，进行正式实验，完成相关细胞因子的基因转录及蛋白表达水平的检测，对线粒体形态学的观测，收集实验数据。

2、年度研究计划

1-6 月，通过查阅文献，进一步完善实验设计，首先进行体外实验预实验，确定细胞培养条件。6-12 月开始正式实验，线粒体自噬荧光共定位观察和线粒体凋亡免疫荧光观察，利用 RT-PCR 技术检测相关因子基因转录水平，利用 Western blotting，免疫组化技术检测相关因子蛋白表达水平，分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。

3、年度考核指标

体外实验数据。

第 2 年度（2021 年）

1、年度目标

完成体内实验。完成体内实验预实验，确定实验条件，然后进行正式实验，完成实验小鼠肺指数、肺功能测定，肺组织形态及线粒体超微结构的观察及线粒体自噬/凋亡相关细胞因子表达情况检测。

2、年度研究计划

1-6 月：完成体内研究的预实验，确定实验条件，开始正式实验，并完成小鼠肺指数、肺功能测定，利用 RT-PCR 技术检测相关因子基因转录水平，利用 Western blotting，免疫组化技术检测相关因子蛋白表达水平，分析肺痹汤 2 号对上述因子蛋白表达的影响。6-12 月：完成小鼠冻存肺组织的切片、染色及病理形态、线粒体超微结构的观察。

3、年度考核指标

体内实验数据。

第 3 年度（2022 年）

1、年度目标

完成数据统计分析，撰写结题报告。联合体内、体外实验数据，进行整理和统计分析，撰写并发表论文，撰写结题报告书。

2、年度研究计划

1-6 月，联合体内、体外实验数据，进行整理和统计分析，对中药组与对照组进行比较评价，分析肺痹汤 2 号在体内和体外实验中，对相关指标的影响，探讨其作用机制，撰写论文并投稿。6-12 月：完成论文发表，撰写结题报告书，准备结题。

3、年度考核指标

研究论文，结题报告。

三、研究项目组成员登记表（含负责人）

序号	姓名	出生日期	专业技术职务 (职称)	最高 学位	专业	项目分工	年工作月 数	工作单位
1	焦扬	1963-10-09	教授	博士	中医内科学, 呼吸, 热病	项目统筹, 实验设计, 进度监督	9	北京中医药大学
2	吴志松	1984-12-20	副主任医师	博士	中医内科学	体内实验设计, 实验技术指导	6	北京中医药大学
3	曹芳	1982-04-21	副主任医师	硕士	中医内科学	体外实验流程设计, 技术指导	6	北京中医药大学
4	牛洁	1988-02-12	主治医师	硕士	中医内科学	实验数据统计分析	6	北京中医药大学
5	龙杞	1991-10-02	在读博士生	硕士	中医内科学	体内实验操作	10	北京中医药大学
6	童佳欢	1991-09-26	在读博士生	硕士	中医内科学	体外实验操作	10	北京中医药大学
7	杨浩婕	1996-02-29	在读博士生	硕士	中医内科学	体外实验操作	10	北京中医药大学
8	庞庆禄	1991-05-27	在读博士生	硕士	中医内科学	体内实验操作	10	北京中医药大学
9	顾潇枫	1992-10-28	在读博士生	硕士	中医内科学	体内实验操作	10	北京中医药大学

总人数	高级	中级	初级	博士后	博士生	硕士生	参加单位数
9	3	1	0	0	5	0	1

说明：高级、中级、初级、博士后、博士生、硕士生人员数、参加单位数由申请者负责填报（含申请者），总人数自动生成。

四、项目经费使用计划

单位：万元

资助总金额		20	
直接费用	支出科目	金额	支出内容及计算依据
	1、设备费	0	
	(1) 设备购置费	0	无
	(2) 其他设备费	0	无
	2、材料费	12.126	实验动物购买及饲养：9800，动物实验耗材：1000，细胞购买及培养：18000，体外实验耗材：13000，抗体：42000，试剂盒：33500，抑制剂：3000，中药制剂：960
	3、测试化验加工费	3.2	Western blotting：3500，免疫组化：3500，RT-PCR：5000，免疫荧光：3000，激光共聚焦：5000，透射电镜：12000
	4、燃料动力费	0	无
	5、差旅费	0.714	参加国内学术会议 2 人次，会议费 1200 元/人次，往返交通费：2000/人次，住宿费：250/人次，公杂费 120/人次，共计 7140 元
	6、会议费	0	无
	7、国际合作与交流费	0	无
	8、档案/出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.6	发表 SCI 论文 1 篇，版面费 10000 元/篇，发表核心期刊论文 2 篇，版面费 3000 元/篇，共计 16000 元
	9、劳务费	2.16	2 名博士研究生，每人每年发放 6 个月，600 元/月/人，3 年共计 21600 元
	10、咨询费	0	无
11、其他费用	0	无	
间接费用	12、绩效支出	0	无
	13、其他费用	0.2	管理费

五、共同条款

甲方（北京市自然科学基金委员会办公室）、乙方（资助项目依托单位）、丙方（资助项目合作单位）共同遵守以下条款：

1、甲方按照北京市自然科学基金的有关管理规定对资助项目予以管理。依照经费管理办法及任务书的规定向项目依托单位核拨项目经费；项目实施过程中对项目实施情况进行检查，必要时可进行实地调研；资助期满后，根据验收评审专家的意见，给出验收结论并书面通知依托单位和项目负责人。

2、乙、丙双方须遵守北京市自然科学基金的有关管理规定，保证项目负责人及其研究队伍的稳定和项目实施所需研究条件，协助甲方进行项目中期管理和验收工作。

3、乙、丙双方应按本任务书规定的内容保证整体目标按时完成。

4、乙、丙双方应按照资助项目经费管理办法的规定，监督项目经费的使用。

5、本任务书自各方签字盖章之日起生效。

如合作单位为多方时，合作单位各方均应执行任务书中有关丙方的条款。

六、项目负责人承诺书

我承诺按本任务书中相关内容，负责实施本项目。遵守北京市自然科学基金的有关管理规定，保证研究工作时间，认真开展研究工作，按规定报送项目进展报告、验收报告等相关材料；发生重大情况变动时，及时报告；公开发表的论著、论文等相关资料涉及本资助项目内容时，按规定进行标注。

项目负责人（签字）：

七、任务书各方签字

甲 方	单位名称	北京市自然科学基金委员会办公室			北京市自然科学基金 委员会办公室 年 月 日	
	单位负责人	(签字)				
	部门负责人	(签字)				
	项目主管	(签字)				
	地 址	北京市海淀区四季青路7号院2号楼3层311室				
	邮政编码	100195				
	电 话		传 真			
	电子信箱					
乙 方	单位名称	北京中医药大学			单位公章 年 月 日 财务章 (预留银行印鉴)	
	统一社会信用代码	12100000400008300P				
	地 址	北京市朝阳区北三环东路11号北京中医药大学东一 楼529房间				
	邮政编码	100029				
	联系人	秦灵灵	电 话			
	手 机		传 真			
	电子信箱	15201484725@126.com				
	帐户名称	北京中医药大学				
	开户银行	中国银行北京房山支行				
	帐 号	335069045265				
	单位负责人	(签字)				
	项目负责人	(签字)				
财务负责人	(签字)					
丙 方	合作单位 1		合作单位 2		合作单位 3	
	单位负责人		单位负责人		单位负责人	
	单位公章： 年 月 日		单位公章： 年 月 日		单位公章： 年 月 日	

BUNSF

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

焦扬 先生/女士：

根据《国家自然科学基金条例》的规定和专家评审意见，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：

81573970，项目名称：肺痹汤调控BRP-39/IL-17与TGF- β /

Smad3的交互作用以改善肺纤维化免疫炎性病理损伤，直接费用：59.00万元，项目起止年月：2016年01月至2019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，须在计划书电子版报送截止日期前提出。**注意：请严格按照《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》填写计划书的资金预算表，其中，劳务费、专家咨询费科目所列金额与申请书相比不得调增。**

计划书电子版通过科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsf.gov.cn>）上传，由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，打印为计划书纸质版（一式两份，双面打印），由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。计划书电子版和纸质版内容应当保证一致。

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、提交计划书电子版截止时间为**2015年9月11日16点**（视为计划书正式提交时间）；
- 2、提交计划书电子修改版截止时间为**2015年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2015年9月25日16点**。

请按照以上规定及时提交计划书电子版，并报送计划书纸质版，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

国家自然科学基金委员会
医学科学部
2015年8月17日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81573970	项目负责人	焦扬	申请代码1	H2708
项目名称	肺痹汤调控BRP-39/IL-17与TGF- β / Smad3的交互作用以改善肺纤维化免疫炎性病理损伤				
资助类别	面上项目	亚类说明			
附注说明	常规面上项目				
依托单位	北京中医药大学				
直接费用	59.00 万元	起止年月	2016年01月 至 2019年12月		
<p>通讯评审意见：</p> <p><1></p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说该项目提出科学假说：肺痹汤可能通过抑制免疫炎性及纤维化途径的交互作用，改善肺纤维化病理损伤。在前期工作基础上，采用转基因小鼠体内外实验，阐明肺痹汤对BRP39/IL-17与TGF β 1/Smad3 信号途径的影响，为肺纤维化治疗提供依据。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 该项目能够阐明肺痹汤调控BRP39/IL-17与TGF β 1/Smad3 信号途径交互作用在介导肺纤维化免疫病理损伤中的生物学作用，为临床应用提供理论依据，具有重要的科学价值。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 该项目提出科学假说明确，立项依据充分，创新性强。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 该项目研究内容恰当，研究方案合理可行，技术路线清晰，研究目标明确，能够验证所提出的科学问题。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件 项目申请人长期从事肺纤维化的研究，研究基础扎实，所在单位和实验室具备完成该项目所需的实验条件。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p> <p><2></p> <p>一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说 项目采用CC10-rtTA-Tts-TGF β 1三重转基因肺纤维化模型小鼠体内与体外实验相结合方式，研究肺痹汤对BRP39/IL-17与GF β 1/Smad3信号途径的影响及作用环节。提出肺痹汤通过BRP39/IL-17与GF β 1/Smad3的交互作用，抑制免疫炎性病理损伤，减轻肺纤维化程度的科学假说。</p> <p>二、具体意见</p> <p>（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 研究结果对进一步探索肺纤维化发病机制和寻找有效中药治疗有一定价值。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 立项依据分析有条理，逻辑性强，具有说服力，依据充分。科学假说明确。在探索中药治疗肺纤维化作用机制方面具有创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 实验技术先进，研究方案可行，研究方案及所采用的技术路线能验证所提出的科学问题。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件 申请人有一定的研究能力，具有相关的研究基础，研究团队技术力量雄厚，具备完成该项目的</p>					

研究条件。

(五) 其它意见或修改建议

<3>

一、简述申请项目的主要研究内容和申请者提出的科学问题或假说

本课题主要通过体内体外两种实验方式，从基因和蛋白质水平，基于肺纤维化肺气虚损为本，瘀血、痰浊、热毒为标病机理论，提出其组方肺痹汤可能通过BRP39/IL-17与TGF- β 1/smads信号传导通路交互作用抑制免疫炎性病理损伤延缓肺纤维化的科学假说。本次研究主要免疫学的角度，研究肺痹汤治疗该病的分子生物学机制。

二、具体意见

(一) 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

1. 本实验研究是针对肺痹汤在临床治疗慢性疑难病（肺纤维化）有较好的疗效，并进行从分子生物学机制探讨该方对免疫炎性损伤的机制研究，为临床治疗提供了宝贵的实验研究数据；2. 筛选具有特异性生物活性的中药复方治疗肺纤维化为临床提供思路；3. 肺纤维化发病机制学说中TGF- β 1/smads信号传导通路发挥重要作用，但作为免疫炎性损伤相关因子BRP39/IL-17其表达作用能否与TGF- β 1/smads信号传导通路相互作用有待实验结果证实。

(二) 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

项目紧扣假说，主要通过调节HYP、肺功能、肺指数、BRP39/IL-17与TGF- β 1/smads信号传导通路相关因子和蛋白表达，探讨肺痹汤通过调节免疫炎性损伤防治肺纤维化大鼠体内、体外模型机制，对揭示中药复方理论有一定创新性。但对复方中药组成交代不足以免疫炎性损伤相关因子BRP39/IL-17其表达作用能否与TGF- β 1/smads信号传导通路相互作用依据不足。

(三) 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

研究内容调理清晰，选用技术方法可行恰当，论证逻辑层次清晰，能够按照项目进程进行所提科学问题（实验理想结果待验证）。

(四) 申请人的研究能力和研究条件

申请人具有一定的研究能力，较好的研究基础，研究条件具备。

(五) 其它意见或修改建议

无

对研究方案的修改意见：

医学科学部

2015年8月17日