

浙江省医药卫生科技计划项目

合 同 书

计划类别：
 省部共建项目
 科技平台项目
 面上项目
 技术成果项目

课题名称：极早发炎症性肠病的临床特征及基因研究

申请者：方优红

申请单位：浙江大学医学院附属儿童医院

联系手机：15088745620

申请日期：2016-09-13

浙江省卫计委
二〇一二年制

一、项目情况

项目名称 极早发炎症性肠病的临床特征及基因研究

研究类别	已有课题名称	已有课题级别	已有课题年份
临床研究			
申报学科	临床医学——儿科学		

开始日期	2017-01		完成日期	2019-12	
项目经费预算（万元）					
总计	向省卫生计生委申请	市卫生局配套	县卫生局配套	单位配套	其他
3.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0
专项项目经费开支预算（万元）			项目配套经费开支预算（万元）		
设备费		0.0	设备费		0.0
材料费		0.0	材料费		0.5
试验化验加工费		0.0	试验化验加工费		2.5
燃料动力费		0.0	燃料动力费		0.0
差旅费		0.0	差旅费		0.0
人员劳务费		0.0	人员劳务费		0.0
外拨费用		0.0	外拨费用		0.0
合作、协作研究与交流费		0.0	合作、协作研究与交流费		0.0
出版/文献/信息传播知识产权事务费		0.0	出版/文献/信息传播知识产权事务费		0.0
会议费		0.0	会议费		0.0
管理费		0.0	管理费		0.0
专家咨询费		0.0	专家咨询费		0.0
其他开支		0.0	其他开支		0.0
合计		0.0	合计		3.0

预计成果			
定量指标			
论文数	其中SCI数	其中发明专利	著作数
1	0	0	0
新产品	技术标准	培养硕士数	培养博士数
0	0	0	0
定性指标			
预期目标1	初步总结出VEOIBD患者与儿童IBD患者的临床特征差异。		
预期目标2	根据二代测序结果结合临床表现明确本项目中VEOIBD患者是存在单基因IBD，为下一步治疗提供依据。		
预期目标3			
预期目标4			
预期目标5			

二、承担单位

第一申请单位				
单位名称	浙江大学医学院附属儿童医院			
通讯地址	杭州滨江区滨盛路3333号	邮编	310052	
联系电话	87061007	联系人		
合作单位				
序号	单位名称	联系人	联系电话	职责
1				
2				
3				
4				
5				

三、项目组成员

负责人					
姓名	方优红	身份证号	330281198202147126		
出身年月	1982-02-14	手机	15088745620		
职务	主治医师	专业	儿科学		
学历	硕士	学位	硕士		
工作单位	浙江大学医学院附属儿童医院				
其他成员					
序号	姓名	出生年月	职称	工作单位	项目分工
1	方优红	1982-02-14	主治医师	浙江大学医学院附属儿童医院	项目负责, 结果分析
2	陈洁	1964-01-30	主任医师	浙江大学医学院附属儿童医院	项目设计, 病人诊治
3	罗优优	1981-01-06	主治医师	浙江大学医学院附属儿童医院	病人诊治
4	李伟	1986-06-07	主管技师	浙江大学医学院附属儿童医院	标本DNA提取, PCR
5	申晓婷	1989-12-17	研究生	浙江大学医学院附属儿童医院	临床资料整理, 样本收集

四、计划进度

2017.1-2017.12 收集患者及父母的外周血标本, 提取DNA, 同时进行测序分析; 收集患者的临床资料, 对临床资料进行分析总结。
 2018.1-2018.12 继续收集患者临床资料及标本, 提取DNA, 并测序; 分析测序结果, 并总结结果。
 2019.1-2019.12 文章撰写及发表。

五、项目基本情况

研究内容:

(1) VEOIBD患者的临床特征分析

收集在本中心随访的IBD患者的临床资料，包括一般情况，临床表现，实验室结果（包括体液免疫及细胞免疫指标），内镜下特点，病理特点，外科手术情况及治疗反应。根据不同发病年龄分为VEOIBD组及儿童IBD组，比较VEOIBD患者与儿童IBD患者的临床特征差异。

(2) VEOIBD患者的基因分析

收集2014年1月以后诊断的VEOIBD的患者及其父母外周血标本，提取DNA，外送公司对患者DNA进行全外显子测序，利用生物信息学分析，寻找可能的单基因突变。结合临床特征及文献报道分析结果，对发现的新的基因突变类型日后可进行功能验证。

研究方法:

(1) 收集临床病例: 按发病年龄分为两组, 发病年龄在6-17岁(儿童IBD), 6岁以下(VEOIBD组), 分别收集临床资料, 包括一般资料, 临床表现, 并发症, 实验室检查结果、病变累及部位、内镜下表现及病理、手术干预情况、治疗效果, 对临床资料进行分析总结, 推测哪些因素可预测单基因突变疾病。

(2) 对于2014年1月以后诊断的VEOIBD患者及其父母各抽取外周抗凝血2ml, -70° 冰箱保存。

(3) 基因组DNA提取

使用Qiagen 公司的QIAamp DNA mini Kit根据厂家说明进行基因组DNA提取。

(4) 全外显子测序(患者自费外送公司, 部分患者经患者知情同意后留取标本由本研究小组送公司进行测序)

将基因组DNA 随机打断, 建库和捕获实验采用AgilentSureSelect试剂盒, 末端修复 和加A尾后在片段两端分别连接上接头, 以制备插入片段在 300bp 的DNA 文库。经过文库质检, 合格后便可以上机测序。

库检合格后, 根据文库的有效浓度和数据产出需求进行 Illumina HiSeq 2500 PE125 测序。PE125 (Paired125 bp) 指高通量双端测序, 每端各测125bp。在构建的小片段 文库中, 双端测序时指将每条插入片段的两端进行测序的方法, 由于插入片段的长度范围已

知，双端测序时可获的片段两端的序列信息和两段序列之间的长度信息，便于后续信息分析。

测序下机数据称为原始测序序列（Raw Data）后，进入信息分析流程。

- 1) 测序数据质量评估：对测序的错误率、数据量和比对率进行统计，评估建库测序是否合格，符合标准则进行后续信息分析，否则需要重新建库或者是数据加测；
- 2) 基因组变异信息挖掘：将高质量的测序序列采用BWA软件比对到人参考基因组上，并采用GATK软件检测样本中的变异信息（SNP和Indel）。
- 3) 对于检测到的SNP和Indel，采用ANNOVAR软件对起进行功能注释。
- 4) 对测序结果进行分析，对比目前已报到的50余个单基因突变及原发性免疫缺陷相关基因寻找可能的基因突变。对获得的基因突变结合临床资料进行分析，进而明确临床诊断，分析其发病的高危因素。对于未明确的基因突变，通过生物信息学分析，协助临床诊疗，提高疾病诊断水平。

创新点:

- (1) 首次对本地区不同年龄阶段发病的IBD儿童的临床表现、病变累及部位、内镜下表现，治疗反应及手术干预情况进行分析并总结。
- (2) 首次对本地区VEOIBD人群进行全外显子测序，分析该人群中单基因IBD情况。

六、 前期工作说明

目前已经对本中心随访的IBD患者的临床资料进行收集及初步整理；

并对2014年1月以后诊断的数名VEOIBD患者的血标本进行全基因组外显子测序检测，对获得的可疑基因突变的患者，对其父母的外周血DNA进行验证。

Empty rectangular box for content.

七、 本课题相关内容的已有研究成果情况

Empty rectangular box for content.

--

八、 附件信息

是否有查新检索报告：	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
是否使用实验动物：	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
是否涉及伦理问题：	<input checked="" type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否
是否涉及实验室生物安全：	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
是否涉及干细胞：	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
是否是临床前新技术研究：	<input type="checkbox"/> 是 <input checked="" type="checkbox"/> 否
是否涉及病毒研究	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否

九、 承诺书

<p>本单位（或个人）承诺：</p> <p>本申请书中所填写的内容和资料真实、有效，如存在弄虚作假和与事实相违背的内容，由本单位（个人）承担全部责任。</p> <p style="text-align: right;">申报单位（盖章）：</p> <p style="text-align: right;">项目负责人签字：</p> <p style="text-align: right;">年 月 日</p>
--

十、 单位审核意见

<p>申报单位意见：</p>

	单位（盖章）： 负责人签字： 年 月 日
上级主管部门意见：	
	单位（盖章）： 负责人签字： 年 月 日

十一、 省卫计委终审意见

省卫计委审核意见：
省卫计委（盖章）： 年 月 日