

受理编号: 201704250022

项目编号: SZXJ2017030

深圳市卫生计生系统科研项目 合 同 书

项目名称: 表达IL-10的重组双歧杆菌治疗感染后肠易激综合征的机制研究

项目类别: 学科建设能力提升项目

资助类别: 立项资助

项目起止时间: 2017-09-28 至 2020-09-28

管理单位(甲方): 深圳市卫生和计划生育委员会

承担单位(乙方): 深圳市人民医院

通讯地址: 深圳市东门北1017号

邮政编码: 518020 单位电话: 0755-25533018

项目负责人: 张定国 联系电话: 25533018

电子邮箱: zyyhlb@yeah.net 手机号码: 13480154812

深圳市卫生和计划生育委员会

2
42451

二〇一七年制



一、合同条款

甲方（主管部门）：深圳市卫生和计划生育委员会

住所地：深圳市福田区深南中路1025号新城大厦东座

法定代表人：罗乐宣

乙方（项目承担单位）：深圳市人民医院

住所地：深圳市东门北1017号

法定代表人：邱晨

为保证项目顺利实施并取得一定成效，甲、乙双方本着自愿、平等、公平、信用的原则，经一致协商，根据中华人民共和国有关法律、法规的规定签订如下合同条款：

第一条 根据 深卫计科教【2017】72号 文件，

甲方同意将乙方项目：表达IL-10的重组双歧杆菌治疗感染后肠易激综合症的机制研究 列为

“2017年度深圳市卫生计生系统 学科建设能力提升项目 (类别) 科研项目”，

项目负责人为：张定国 (身份证号：429004198012180319)，项目执行期限为自 2017年09
月28日至 2020年09月28日。

深圳市卫生计生系统科研项目管理实施项目制管理和项目负责人负责制，即以项目为中心，以项目组为基本活动单位开展项目组织、管理和研究活动，项目承担单位即乙方，是项目主体责任单位，项目第一负责人为项目负责人。

乙方在履行合同期间所取得的有关研究成果、专著、论文、研究报告、总结、评价书及成果报道，均须标注“深圳市卫生计生系统科研项目”和项目编号。

第二条 甲方同意为本项目资助科研经费人民币(大写) 零 (¥万元)
，乙方同意为本项目资助科研经费人民币(大写) 壹拾万整 (¥10万元)。

第三条 甲方权利和义务：

(一) 甲方有权定期或不定期地对项目经费的使用情况、项目实施情况进行审计和评估，并有权委托第三方机构对项目的有关情况进行审计和评估。

(二) 甲方有权按照有关规定向其他行政管理部门或社会公开乙方及其项目负责人的科研诚信信息。



第四条 乙方权利和义务：

- (一) 乙方必须落实与申报项目时提交的项目申请书承诺一致的配套措施和支持条件。
- (二) 乙方应对甲方核拨的项目经费实行专款专用，单独列账，按时向甲方报告项目年度完成情况、经费年度决算及相关的统计调查表。
- (三) 乙方应当对甲方及其委托的第三方机构开展的各项审计和评估工作予以配合。
- (四) 乙方及其项目负责人应当按照项目任务书确定的研究内容在项目执行期限内完成研究计划。
- (五) 乙方应在项目执行期限结束前一个月内向甲方提出结题验收申请，并办理经费结算手续。
- (六) 对于临床研究类科研项目类，乙方应遵守如下规定：
 1. 按照《医疗卫生机构开展临床研究项目管理办法》要求执行。乙方应成立临床研究管理委员会和伦理委员会，设立或者指定专门部门负责医疗机构临床研究的决策、审核、管理和监督。
 2. 加强对临床研究类科研项目的安全性评价，制定并落实不良事件记录、报告和处理相关的规章制度和规范标准，根据不良事件的性质和严重程度及时做出继续、暂停或者终止已经批准的临床研究的决定，并及时以书面形式上报甲方。
 3. 若乙方作为多中心临床研究发起机构，应分别与其他分中心签订临床研究协议，明确双方权利、义务及责任分担等，项目资金应当纳入项目负责人所在医疗卫生机构统一管理。

第五条 项目任务书作为本合同正式内容的一部分，与本合同具有同等法律效力。

属技术保密的项目，由甲、乙双方另行订立技术保密协议，作为本合同的组成部分，具有同等法律效力。

第六条 合同的变更、解除和终止：



(一) 变更:

1. 合同一方需对合同有关条款进行变更, 应经双方协商一致后签订补充协议, 补充协议与本合同具有同等法律效力。
2. 乙方需变更项目任务书的, 应及时向甲方提交书面申请, 经甲方同意后, 方可变更项目任务书。
3. 乙方不能在执行期限内完成项目的, 应在项目到期之前三个月提出延期申请, 经甲方审核同意后, 方可延期。

(二) 终止: 发生以下情形之一的, 本合同约定事项终止:

1. 项目已完成, 结题验收程序的。
 2. 乙方不能完成项目研究内容, 由乙方申请终止项目, 并经甲方同意的。
- 因乙方不能完成项目研究内容, 经甲方同意终止项目的, 乙方应退还甲方资助的剩余项目经费。

(三) 解除: 乙方有下列情形之一的, 甲方即可解除合同, 取消立项, 并要求乙方在收到甲方解除合同书面通知书之日起30日内全额退还甲方资助的项目经费:

1. 乙方擅自变更本合同约定事项和项目任务书内容的。
2. 乙方或其相关人员存在擅自停止实施项目的。
3. 乙方未在合同约定期限内完成项目内容的 (乙方申请延期或终止甲方未同意的以及乙方逾期不结题的, 均视为未完成项目)。
4. 乙方拒绝配合甲方及甲方委托的机构开展相关审计和评估工作或提供虚假资料的。
5. 乙方或其项目负责人违反有关法律、法规及规章规定的。

第七条 违约责任

乙方如不按或未按本合同约定事项履行的, 甲方有权解除合同, 取消立项, 要求乙方全额退还甲方资助的项目经费, 并视情节轻重作出停止受理乙方一至三年卫生计生系统科研课题申报的处理。



第八条 争议处理

甲、乙双方因本合同发生争议的，双方应友好协商解决。

第九条 本合同未尽事宜，按照有关规定执行。

第十条 本合同一式四份，甲方执二份，乙方执二份，具有同等法律效力。

附件：项目任务书

二、本合同签约双方

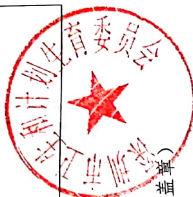
管理单位（甲方）：深圳市卫生和计划生育委员会

单位地址：深圳市福田区深南中路1025号新航大厦

法定代表人（或授权代表）：罗乐宣

科教部门负责人：周丽萍

联系电话：0755-88113850



(单位盖章)



2017年10月16日

(单位盖章)

承担单位（乙方）：深圳市人民医院

单位地址：深圳市东门北1017号

法定代表人（或授权代表）：邱晨

项目负责人：张定国

联系电话：25533018

邱晨

张定国

2017年10月16日



附件

项目任务书

一、项目实施内容（包括研究目标、研究方案和技术路线，须与项目申请书“可行性报告”

内容相一致，限800字内）

一、研究目标：

我们前期成功构建了具有稳定表达生物活性的hIL-10蛋白能力的转基因双歧杆菌BL-hIL-10菌株，本项目拟在前基础上，以急性绒毛膜感染小鼠获得感染后肠易激综合征（PI-IBS）小鼠模型，观察转基因双歧杆菌对PI-IBS的治疗作用，并进一步从NF- κ B信号通路方面探讨其治疗机理，旨在为PI-IBS的防治提供有效的思路。

二、研究方案及技术路线：

- 1、转基因双歧杆菌的建立：前期研究已成功构建，并证明其活性及安全性。
- 2、动物实验：首先建立急性绒毛膜感染后PI-IBS NIH小鼠模型。取10只正常小鼠作为正常对照组（NC组，n=10），其余造模成功的PI-IBS小鼠随机分为5组，分别是：模型对照组（MC组，n=10）、双歧杆菌组（BL组，n=10）、空质粒双歧杆菌组（BL0组，n=10）、IL-10组（n转基因双歧杆菌组（BL-IL-10，n=10）。分别观察小鼠在研究开始后1w、2w的进食、活动改变及大便情况，每周测量各组小鼠体重，采用结肠扩张法测量小鼠内脏感觉（以腹壁回缩反射AWR评分反映内脏感觉功能）。分别在研究开始后1w、2w用颈椎脱臼法处死各组小鼠各5只，实体显微镜观察小鼠空肠、末端回肠、远端结肠及近端结肠粘膜改变；病理切片HE染色观察小鼠空肠、末端回肠、远端结肠及近端结肠的组织结构变化。
- 3、NF- κ B信号转导通路测定：分别用改良的ELISA法和Western bolt法测定肠道NF- κ B（P65）DNA结合活性及蛋白表达水平；用qRT-PCR法测定肠道组织内IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IFN- γ 的mRNA基因表达水平。

① SC2



二、项目考核指标

(一) 产出指标				
成果形式		成果数量	成果形式	成果数量
知识产权	发明专利	0	国家级	0
	实用新型专利	0	省级	0
	国际实用专利	0	市级	0
	软件著作权	0	区级	0
人才培养	访问学者	0	SCI	0
	博士生	0	IE	0
	硕士生	1	CA	0
	进修生	0	中文核心期刊	1
新产品/新材料/新设备		0	专著	0
新技术/新方法/新项目		0	牵头	0
临床应用例数		0	参与	0
其他成果及形式说明			无	
(二) 效益指标				
经济效益指标		无		
社会效益指标		无		
生态效益指标		无		
其他效益指标及说明		无		



三、项目进度和阶段目标

(一) 项目起止时间: 2017年 09 月 28 日 -- 2020年 09 月 28 日		
(二) 项目进度、研究内容和考核指标 (阶段研究计划和目标应明确,可考核,包括项目启动、入组第一例患者、入组50%患者、入组完成、随访完成、数据清理和分析完成时间进度指标等定性定量描述。)		
起止时间	研究目标和内容	考核指标
2017-09-28至2018-03-31	(1) 筛选IL-10双歧杆菌表达载体 (2) IL-10转基因双歧杆菌建立和鉴定 使用资金: 0.5万元	成功建立转基因双歧杆菌
2018-04-01至2018-09-27	(1) 检测IL-10蛋白的表达水平 (2) 检测IL-10蛋白的最佳诱导表达的浓度 使用资金: 0.5万元	检测转基因双歧杆菌载体表达IL-10水平
2018-09-28至2019-03-31	(1) PI-IBS小鼠造模; (2) 通过内胚敏感性相关检测(主观和客观)评价模型是否成功 使用资金: 2万元	成功建立PI-IBS模型
2019-04-01至2019-09-27	(1) 分组动物实验; (2) 体内IL-10活性检测 使用资金: 2.5万元	实验动物体内IL-10检测
2019-09-28至2020-03-31	(1) 肠道粘膜组织HE染色,评价结肠及小肠粘膜炎症 (2) 分别用改良的ELISA法和Western blot法测定肠道NF-κB (P65) DNA结合活性及蛋白表达水平; (3) qRT-PCR法测定肠道组织内白介素-1β、IL-6、TNF-α、TG F-β、IPN-γ的mRNA基因表达水平 (4) ELISA测定外周血IL-1β、IL-6、TNF-α、TG F-β、IPN-γ的表 达。 使用资金: 3万元	相应指标检测
2020-04-01至2020-09-28	整理数据,发表论文 使用资金: 1.5万元	论文发表

四、项目经费预算

单位: 万元			
(一) 项目经费来源			
来源	2017	2018	2019 合计
立项部门资金	0	0	0
单位自筹资金	2	6	2 10



其它		0	0	0	0
合计		2	6	2	10
其他资金来源说明： 无					
(二) 项目经费支出					
支出经费科目	立项 资金	自筹 资金	合计	单位：万元	
合计（直接费用+间接费用）	0	10	10	/	
一、直接费用（01+02+...+10）	0	9.5	9.5	/	
01设备费	0	0	0	/	
(1) 购置设备费	0	0	0	无	
(2) 试制设备费	0	0	0	无	
(3) 设备改造与租赁费	0	0	0	无	
02材料费	0	6	6	购买老鼠、试剂费用	
03测试试验加工费	0	0	0	无	
04燃料动力费	0	0	0	无	
05差旅费、会议费和国际合作交流费	0	0.5	0.5	参加学术会议费用	
06档案/出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0	2	2	发表文章、出版、文印费用	
07劳务费	0	0	0	无	
08专家咨询费	0	0	0	无	
09人员费	0	1	1	课题组劳务支出	
10其他支出	0	0	0	无	
二、间接费用（01+02+03）	0	0.5	0.5	/	
01单位水电气等消耗	0	0	0	无	
02管理费用补助支出	0	0	0	无	
03绩效支出	0	0.5	0.5	顺利结题绩效支出	

注：1、直接费用中的“其他支出”不应超过直接费用的15%，并应详细说明用途、依据和开支标准；



2、间接费用不超过直接费用（扣除设备购置费）的20%；

3、临床研究项目的管理费用不超过上级拨付的科研经费的15%，其他类别卫生科研项目的项目管理费用不能超过上级拨付的科研经费的5%。

五、设备清单（单位：万元）

序号	设备名称 及型号	设备分类	单价	数量	小计	关键技术 性能指标	生产国别 (地区)	用途
1	0		0	0	0	0	0	
合计		/	/	0	0		/	/
单价10万元以上购置 合计		/	/	0	0		/	/
单价10万元以上试制 合计		/	/	0	0		/	/

注：1、设备分类代码：A. 购置；B. 试制；

2、单价10万元以上设备仪器必须单列；

3、项目承担单位属预算管理单位的，必须另行按要求编制政府采购计划。



六、项目成员信息

项目名称		表达IL-10的重链及双链杆状病毒治疗感染后肠易激综合征的机制研究							
项目承担单位		深圳市人民医院		联系人及联系电话		张定国 13480154812			
项目组成人员(含项目第一负责人)并需明确项目统计人员,此页需盖单位公章)									
姓名	性别	年龄	职务职称	学历	在项目中的任务	所在单位	签名		
张定国	男	37	副高	硕士研究生	整体设计和项目实施	深圳市人民医院	张定国		
王立生	男	49	科主任 正高	博士研究生	技术指导	深圳市人民医院	王立生		
姚君	女	38	医师 副高	博士研究生	基因克隆及载体构建	深圳市人民医院	姚君		
岑泳欣	女	27	医师	硕士研究生	动物模型造模	深圳市人民医院	岑泳欣		
詹建刚	男	26	医师	硕士研究生	免疫印迹、ELISA	深圳市人民医院	詹建刚		
赖淑媚	女	25	医师	硕士研究生	动物实验	深圳市人民医院	赖淑媚		
项目第一负责人情况		姓名	性别	出生年月	最高学历	职称	单位名称	手机	身份证号
		张定国	男	1980-12-18	硕士研究生	副高	深圳市人民医院	13480154812	429004198012180319
主要学习工作经历		2003.9-2006.6 中山大学 内科学硕士 2006.7-至今 深圳市人民医院消化内科工作 2013.9-至今 暨南大学 攻读博士							
近三年承担的科研课题情况		(只填以课题负责人身份承担的课题,包括课题名称、编号、立项部门、项目类别等) 无							



姓名	性别	出生年月	最高学历	职称	单位名称	手机	身份证号
王立生	男	1968-07-30	博士研究生	正高	深圳市人民医院	13714725662	440303196807303710
项目第二负责人情况 主要学习工作经历 1995.09-1998.07 南方医科大学南方医院 攻读博士 1998.08-2000.10 南方医科大学附属医院 从事消化内科 2000.11-至今 深圳市人民医院 从事消化内科							
(只填以课题负责人身份承担的课题,包括课题名称、编号、立项部门、项目类别等) 近三年承担的科研课题情况 深圳市科技创新重点项目, JCYJ20150403102020231, 项目名称“表达sponge-microRNA的双歧杆菌治疗结肠炎及防治结肠炎相关性的研究”, 2015.9-2017.8, 在研							
姚君	女	1979-11-08	博士研究生	副高	深圳市人民医院	15914095696	37030419791108002X
项目第二负责人情况 主要学习工作经历 2001年 - 2005年 山东淄博市博山区医院住院医师 2005.9 - 2008.6 遵义医学院生理学硕士 2008.9 - 2011.6 暨南大学第一临床医学院内科学博士 2011.7 - 至今 深圳市人民医院消化内科工作							
(只填以课题负责人身份承担的课题,包括课题名称、编号、立项部门、项目类别等) 近三年承担的科研课题情况 暨南大学专项培育基金项目, 21615489, 项目名称“表达IL-25蛋白的双歧杆菌对炎症性肠病Th1/Th2及Th17/Treg细胞分化失衡的双重调控作用及干预研究”, 2015/06-2017/05, 在研							



七、项目可行性报告

(一) 项目立项依据

1. 研究目的与意义:

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一组以腹痛和 (或) 腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性肠病, 临床非常常见, 发达国家成人发病率约10%-20%, 目前主要认为与内脏敏感性、肠道动力、肠道菌群失调、肠粘膜免疫功能等有关。研究发现, 肠道感染后约有3%~36%的患者可出现IBS症状, 这种在感染性胃肠炎发生后形成的 IBS, 称为感染后肠易激综合征 (post-infectious irritable bowel syndrome, PI-IBS), 目前PI-IBS患者肠道动力和内脏敏感性改变的机制尚不明确。但近年研究发现肠道黏膜低度炎症和免疫激活对介导PI-IBS的发病过程起着重要作用。外源性补充双歧杆菌能明显缓解IBS患者的临床症状, IL-10在细胞免疫中起负性调控作用。它能下调T细胞和巨噬细胞转录分泌IL-1 β 、IL-6、IL-8和TNF- α , 最终抑制T细胞介导的细胞免疫反应。目前证实IBS患者外周血IL-10减少, 肠粘膜存在IL-10/IL-12比例异常, IL-10产生减少的个体更易发生IBS, 提示外源性补充IL-10有望成为治疗IBS的新方法。由于双歧杆菌是定植在机体肠道内的生理性有益菌, 对IBS具有确切的治疗效果, 而IL-10作为强有力的抗炎性细胞因子, 它能为明显改善IBS患者的肠道炎症及临床症状, 因此, 我们设想将双歧杆菌作为IL-10基因的载体, 构建能高效表达IL-10的双歧杆菌基因工程菌, 以急性绒毛虫感染NIH小鼠获得感染后肠易激综合征 (PI-IBS) 小鼠模型, 观察转基因双歧杆菌对肠易激综合征的治疗作用, 并进一步从NF- κ B信号通路方面探讨其治疗机理, 旨在为PI-IBS的防治提供有效的思路。

2. 国内外研究现状:

(一) NF- κ B信号通路

核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 是普遍存在于细胞浆中以p50/p65异二聚体为形式的一种反应转录因子, 与NF- κ B的抑制性蛋白 (inhibitor κ B, I κ B) 结合而呈非活性状态。大量研究表明, 它可以被多种刺激剂激活。激活的NF- κ B与I κ B解离后转位入核与靶基因启动子/增强子上的 κ B位点结合, 从而调节许多靶基因的表达式, 通过调控多种基因的表达, NF- κ B信号通路与消化系统疾病密切相关, 如炎症性肠病、肝硬化等, IBS与UC有类似的肠道粘膜炎症, 研究显示, IBS可能通过激活NF- κ B信号转导通路, 从而引起一系列炎症反应。

(二) Th偏移与IBS

人类Th1细胞主要产生促炎症性细胞因子如IL-2、TNF- α 、IFN- γ 、IL-12等。Th2细胞主要产生抗炎性细胞因子如IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13等, 这二大类细胞因子的失衡在IBS的发病中起重要作用。肠道组织中Th1和Th2细胞作为主要的T辅助细胞, 二者相互调节, 相互制约, 在体内维持一定的平衡, 若平衡失调出现偏移, 缺乏有效的下调炎症反应就可能使患者在胃肠道感染后出现IBS症状。已知敲除IL-10基因的小鼠可自发结肠炎, 从而证实IL-10具有肠道免疫调节作用。O' Mahony等观察到IBS患者肠粘膜存在IL-10/IL-12比例异常。Gonsalkorale 等研究发现, IBS患者IL-10基因频率较对照组显著降低, 提示IL-10产生减少的个体更易发生IBS。研究显示, IL-10是一种有效的抗炎性细胞因子和TNF- α 生成的抑制剂, 它通过抑制LPS诱导人外周血单核细胞产生的NF- κ B, 从而抑制与Th1细胞反应相关的多种细胞因子基因的表达。

3. 前期研究基础:

申请人团队开展以基因工程益生菌为载体的生物治疗研究十多年, 先后获得5项广东省自然科学基金和6项深圳市相关部门的项目资助。本课题组前期成功构建了能高效表达IL-10蛋白的双歧杆菌, 并证实它对小鼠实验性结肠炎具有较好的治疗作用, 同时较深入地探讨了其作用机理。该工作获广东省自然科学基金资助 (编号: 8151802001000004), 研究结果已发表 (Treatment of mice with dextran sulfate sodium-induced colitis with human interleukin 10 secreted by transformed Bifidobacterium longum. Mol Pharm 2011, 8 (2): 488-497. 该杂志的影响因子为5.408。相关转基因双歧杆菌表达载体的成功构建, 为本课题的顺利实施奠定



了坚实的基础。课题组成员全部为硕士和博士，均熟练掌握该课题涉及的实验方法包括基因克隆、扩增、转染、免疫印迹、EMSA和流式细胞仪的使用等。

(二) 研究目标及内容

1. 研究目标:

我們前期成功構建了具有穩定表達生物活性的hTL-10蛋白能力的轉基因雙歧桿菌BL-hTL-10菌株，本項目擬在前期基礎上，以急性旋毛蟲感染小鼠得感染后腸易激綜合征（PI-TBS）小鼠模型，觀察轉基因雙歧桿菌對PI-TBS的治療作用，並進一步從NF- κ B信號通路方面探討其治療机理，旨在為PI-TBS的防治提供有效的思路。

2. 研究内容 (要解决的主要技术难点和问题):

★研究内容

1、转基因双歧杆菌的建立

2、动物实验: 首先建立急性旋毛虫感染后PI-TBS NIH小鼠模型 (Bercik P, et al. Gastroenterology. 2004, 127:

模型对照组 (MC组, $n=10$)、双歧杆菌组 (BL组, $n=10$)、空质粒双歧杆菌组 (BL0组, $n=10$)、IL-10组 (n转基 179-187)。取10只正常小鼠作为正常对照组 (NC组, $n=10$), 其余连续成活的PT-1B3小鼠随机分为5组, 分别是: 因双歧杆菌组 (BL-IL-10)、分别观察小鼠在研究开始1w、2w的进食、活动改变及大便情况, 每周测量全组小鼠体重, 采用结直肠张力法测量小鼠内脏感觉 (以腹壁回撤反射AWR评分反映内脏感觉功能)。分别在研究开始后1w、2w用颈静脉白处处死各组小鼠各5只, 实体显微镜观察小鼠空肠、末端回肠、远端结肠及近端结肠组织改变; 病理切片HE染色观察小鼠空肠、末端回肠、远端结肠及近端结肠的组织结构变化。

3、NF- κ B信号转导通路评定: 分别用改良的ELISA法和Western bolt法测定肠道NF- κ B (P65) DNA结合活性及蛋白表达水平; 用qRT-PCR法测定肠道组织内白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、干扰素- γ (Interferon, IFN- γ)的mRNA基因表达水平。

★拟解决的关键科学问题

1. 如何维持外源基因在双歧杆菌内长期稳定存在并高效表达, 前期研究已成功构建表达几-10的双歧杆菌。

2. 动物试验时, 需确定转基因IL-10双歧杆菌防治PI-IBS的最佳表达剂量及治疗有效时间。

3. 创新点:

(1) 理论创新: 将首次证实BL-IL-10通过调控NF- κ B信号转导通路对PI-IBS有防治作用, 为PI-IBS治疗提供了可能的新靶点。

(2) 提供新思路: 鉴于 IL-10 及双歧杆菌在之前的研究证实对 PT-IBS 有防治作用, 我们创新性地结合两者协同治疗 PT-IBS, 优化体内给药途径, 改善肠道菌群、缓解肠道炎症、调节自身免疫, 为多途径、多靶点治疗 PT-IBS 提供了新思路。

(3) 充分利用双歧杆菌的生物学特性, 选择双歧杆菌作为治疗基因的载体, 能克服病毒类载体的不足, 同时也发挥其治疗作用。

(三) 研究方案

1. 研究对象（样本量计算依据、入选排除标准）：

畢

2. 研究方法、过程及评价指标采集:

(1) 研究开始后1w、2w用颈椎脱臼法处死各组小鼠各5只。

小鼠空肠、末端回肠、远端结肠及近端结肠的组织结构变化。



in-1, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、干扰素- γ (Interferon, IFN- γ)的mRNA基因表达水平。

3. 技术路线图

无

4. 数据管理与统计方法:

无

5. 质量控制措施:

无

6. 伦理学考虑 (获得知情同意流程、研究风险控制等):

无

(四) 项目可行性分析 (含项目实施风险分析及规避预案)

(1) 工作基础: 申请人团队开展以基因工程益生菌为载体的生物治疗研究十多年, 先后获得5项广东省自然科学基金和6项深圳市相关部门的项目资助。本课题组前期成功构建了能高效表达IL-10蛋白的双歧杆菌, 并证实它对小鼠实验性结肠炎具有较好的治疗作用, 同时较深入地探讨了其作用机理。该工作获广东省自然科学基金资助 (编号: 8151802001000004), 研究结果已发表 Mol Pharm 2011, 8(2): 488-497。该杂志的影响因子为5.408。相关转基因双歧杆菌表达载体的成功构建, 为本课题的顺利实施奠定了坚实的基础。课题组成员全部为硕士和博士, 均熟练掌握该课题涉及实验方法包括基因克隆、扩增、转染、免疫印迹、BMSA和流式细胞仪的使用等。

(2) 项目实施所具备的工作条件

本申报单位, 具有细胞培养实验室、核酸与蛋白实验室、病理与免疫实验室、高通量测序实验室及实验动物中心等分析测试技术平台, 实验室面积4500平方米。装备大型分析测试设备如分析性和分选型流式细胞仪、多光子共聚焦显微镜、荧光倒置相差显微镜、细胞显微切割系统、高通量测序仪、智能病理分析系统、荧光显微镜、动物3D活体成像系统、二维电泳转印系统高压电泳仪等、PCR仪、超速和高速离心机、多功能荧光酶标仪、ELISPOT检测仪以及免疫磁珠分离等设备, 设备价值3000多万元。建立了符合国家标准SPF级动物饲养中心, 可进行动物试验。另外, 单位分析测试中心: 作为学校的"公共测试平台"已经通过国家计量认证。现有实验室面积2500平方米, 大型仪器23台套, 仪器价值3000万元。单位基因工程药物国家工程研究中心: 实验室总面积达5000平方米, 目前各和大型仪器设备价值近5000万元。上述实验条件和设备可支持课题顺利完成。

(五) 项目进度

2017.10-2018.9

(1) 筛选IL-10双歧杆菌表达载体 (2) IL-10转基因双歧杆菌建立和鉴定; (3) 检测IL-10蛋白的表达水平; (4) 检测IL-10蛋白的最佳诱导表达的时间

2018.10-2019.9

(1) PT-IBS小鼠造模; (2) 通过内脏敏感性相关检测 (主观和客观) 评价模型是否成功; (3) 分组动物实验; (4) 体内IL-10活性检测

2019.10-2020.9

(1) 肠道粘膜组织HE染色, 评价结肠及小肠粘膜炎症 (2) 分别用改良的ELISA法和Western blot法测定肠道NF- κ B (P65) DNA结合活性及蛋白表达水平; (3) qRT-PCR法测定肠道组织内白细胞介素-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IFN- γ 的mRNA基因表达水平; (4) ELISA测定外周血IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 、IFN- γ 的表达; (5) 整理数据, 发表论文

(六) 预期成果

发表高水平论文1-2篇





20170303123813634

深圳市科技计划项目合同书

项目编号: JCYJ20170307100538697 计划年度: 2017
项目类别: 基础研究(自由探索) 计划类别: 知识创新
下达文号: 131号 深科技创新【2017】 资金类别: 深圳市科技研发资金



深圳市科技计划项目合同书

已审核 刘建洲

项目名称: IL-25/IL-25R信号通路对结肠炎相关性癌调节机制的研究
承担单位: 深圳市人民医院
单位地址: 广东省深圳市罗湖区东门北路1017号
法定代表人: 邱晨 联系人手机: 18025388918
项目负责人: 姚君 联系人手机: 15914095696
项目联系人: 姚君 联系人手机: 15914095696



深圳市科技创新委员会制

二〇一五年六月

附

用:

Thl

制:

甲 方 (盖公章): 深圳市科技创新委员会

法定代表人 (签字): 陈献梅 日期: 2017年05月27日

(被委托人签字的应当提交法定代表人签名的授权委托书原件作为附件)

处室负责人 (签字): 黎慧来

项目负责人 (签字): 陈献梅、付秀芹

项目负责人联系电话: 88102254、88103567

方 (盖公章): 深圳市人民医院


法定代表人 (签字): 邱晨 日期: 2017年05月27日

(被委托人签字的应当提交法定代表人签名的授权委托书原件作为附件)

项目负责人 (签字): 姚君

项目负责人联系电话: 15914095696

附件五：项目计划进度和自筹经费承诺

阶段	起止时间	研究内容与预期目标
第一阶段（半年）	2017-05-27至 2017-11-30	①前期实验表达IL-25蛋白的双歧杆菌复苏、鉴定和表达，筛选出表达效率较高菌落；并找到最佳诱导表达时间。 ②选取合适的CAC患者和健康人入组，并抽取血液行PBMC细胞原代培养及传代。 ③完成表达IL-25蛋白的双歧杆菌对共同培养后，培养上清干预PBMC后，CCK实验检测对PBMC细胞毒性的影响。 ④预计资金使用3万元。
第二阶段（半年）	2017-12-01至 2018-05-31	①培养结肠炎相关性癌细胞系HT-29细胞，检测CXCL11和IL-12等与Th1细胞活性相关的细胞因子/趋化因子的表达。 ②Western blot检测IL-25诱导的ERK-C/EBP β 和AKT磷酸化水平； ③构建相关的shRNA。 ④预计资金使用7万元。
第三阶段（半年）	2018-06-01至 2018-11-30	①基因芯片技术对Act1敲低后HT-29细胞的表达谱分析。 ②建立AOM/DSS小鼠CAC模型，小鼠脾脏、肠系膜淋巴结和结肠固有层淋巴组织中IL-25的基因表达水平。 ③预计资金使用7万元。
第四阶段（半年）	2018-12-01至 2019-05-31	①体内验证IL-25是否通过抑制结肠炎相关性癌中Th1相关炎症介质的表达发挥免疫调节作用。 ②IL-25蛋白的双歧杆菌组对CAC小鼠的治疗作用及机制。 ③预计资金使用7万元。
第五阶段（半年）	2019-06-01至 2019-11-30	①完成所有的药物干预实验。 ②补充部分实验。 ③对数据进行统计、处理分析。 ④预计资金使用3万元。
第六阶段（半年）	2019-12-01至 2020-05-31	①分析数据、总结与结题报告。 ②撰写论文、投稿。 ③成果鉴定。 ④预计资金使用3万元。
项目承担单位自筹经费承诺： 我单位申报的项目计划总预算18.00万元，其中申请市财政资助10.00万元，我单位自筹资金8.00万元。根据深圳市科技研发资金和科技计划项目管理的有关规定，本单位的项目自筹资金将按计划到位。 特此承诺。		
<div style="text-align: center;">  单位（盖章）： 法定代表人（签字）： 日期：2017年05月27日 </div>		



20170302153338021

深圳市科技计划项目合同书

项目编号: JCYJ20170307100911479 计划年度: 2017
项目类别: 基础研究(自由探索) 计划类别: 知识创新
深科技创新【2017】
下达文号: 131号 资金类别: 深圳市科技研发资金

深圳市科技计划项目合同书

项目名称: 亚油酸异构酶转化乳球菌治疗糖尿病和抑制结肠癌生长的研究
承担单位: 深圳市人民医院 (盖章)
单位地址: 广东省深圳市罗湖区东门北路1017号
法定代表人: 邱晨 联系人手机: 18025388918
项目负责人: 王立生 联系人手机: 13714725662
项目联系人: 王立生 联系人手机: 13714725662

深圳市科技创新委员会制

二〇一五年六月

甲方（管理单位）：深圳市科技创新委员会

乙方（承担单位）：深圳市人民医院

根据《深圳市科技研发资金管理办法》、《深圳市科技计划项目管理办法》等有关文件规定，甲乙双方为完成深科技创新【2017】131号文件下达的深圳市科技计划亚油酸异构酶转化乳球菌治疗糖尿病和抑制结肠癌生长的研究（以下简称本项目），经协商，达成如下协议：

第一条 根据相关文件及本合同约定，甲方为本项目无偿资助给乙方深圳市科技研发资金人民币（大写）壹拾万元（¥10.00万元）（下简称“项目资助资金”）。项目资助资金仅限用于本项目的设备费0.00万元，材料费7.00万元，测试化验加工费1.00万元，燃料动力费0.00万元，差旅费0.00万元，会议费0.00万元，国际合作与交流费0.00万元，出版/文献/信息传播/知识产权事务费1.00万元，劳务费0.50万元，专家咨询费0.00万元，管理费用补助支出0.20万元，绩效支出0.10万元，其他相关费用0.20万元。

乙方以甲方资助经费购置的大型科学仪器设备或者完成的科技报告等，应当在甲方指定的共享平台对外开放，但是，涉及国家安全等不宜公开的除外。属于政府采购范围的，应在本合同书中附上详细的政府采购计划。甲方资助经费乙方不得用于支付给所在单位有事业费拨款的项目组成员的工资性费用。

第二条 乙方应当在市财政主管部门指定的银行开立资金监管专户，接受甲方、深圳市财政主管部门和银行的监管。

乙方资金监管银行：市级预算管理单位

乙方在监管银行帐号：市级预算管理单位

乙方应按合同规定的开支范围，对甲方资助的经费实行专款专用，单独设立明细科目，并按相关规定如实记帐。项目资助资金的最后20%部分须在本项目验收通过后方可使用。

第三条 乙方应按规定向甲方报告项目年度完成情况和项目资

助资金年度使用情况，并有义务配合甲方及甲方委托的机构开展相关检查和统计工作。

甲方有权对项目实施情况、项目资助资金使用情况进行跟踪管理。乙方应当给予配合。如乙方不予配合，甲方有权单方解除合同，依照本合同第十条规定执行。

第四条 乙方的单位名称、法定代表人、股权结构、地址、联系人、联系电话等信息发生变化时，应及时告知甲方，并办理有关信息更新手续。

第五条 本项目实施期限为自本合同签订之日起至2020-05-31。

第六条 乙方在项目产业化过程中将研究成果转让或者引入资本成立产业化公司时，政府在同等条件下优先享有一定比例的收益或投资权利，具体比例由甲方与乙方协商确定。

第七条 项目实施期内，项目内容一般不作调整。如出现严重影响项目进展的重大事件或因不可抗力等因素，乙方确需对项目负责人、验收内容、项目完成日期等进行变更的，应当在事件发生之日起30日内向甲方报告并提出书面申请。甲方有权根据实际情况作出以下任一决定：继续履行合同资助乙方或者解除合同按照本合同第十条规定执行。乙方对甲方的决定不得主张任何索赔并放弃一切抗辩权利。

乙方擅自停止项目实施、变更项目合同内容、无正当理由不按期如实填报科技计划项目执行情况表等科技统计报表的，甲方可中止项目实施、撤销项目，并追回已拨付的资金，并对乙方及其项目责任人予以通报批评；情节严重的，3年内不受理乙方及其项目责任人的项目申请。

第八条 乙方在本合同规定的项目完成时间之日起30天内（2020年06月30日前），应主动向甲方提出项目验收申请，按规定提交有关验收资料。如不能按期提交验收申请的，项目实施单位应当在项目完成时间到期前30天（2020年05月01日前）向甲方提出延迟验收申请。验收内容见附件。

乙方应当在提交验收资料时一并提交符合规定要求的科技报告。未按时按标准要求完成科技报告任务的，按不通过验收或者不予结题处理。

第九条 未通过验收的项目，乙方应当在收到未通过验收通知之日起半年内，对项目进行整改，经整改并完成项目合同目标后，再次提出验收申请；如再次未通过验收或者项目完成后不按期申请验收的，乙方三年内不得再申请项目，甲方不再推荐其申报国家、广东省科技计划项目。

第十条 如乙方或其项目负责人违反本合同有关规定的，甲方有权单方解除本合同。甲方单方解除本合同后，乙方应进行项目资金清算，并在收到甲方解除合同书面通知书之日起30日内全额退还甲方项目资助资金。

第十一条 乙方有下列行为之一的，自该行为被确认之日起五年内不得申请科技计划项目，甲方可向社会公示并通报单位和个人信用信息记录系统，并依法追究乙方法律责任：

（一）在申请、实施或者验收市科技计划项目中提供虚假材料，骗取市科技研发资金的；

（二）非法挪用、侵占、冒领、截留市科技研发资金的；

（三）阻挠或者故意规避政府有关部门依法对科技计划项目的监督、检查和验收，情节严重的。

有前款规定情形的单位法定代表人、董事、主要股东、实际控制人以及个人设立或者控股的其他单位，在申请科技计划项目时，适用前款规定处理。

第十二条 经双方协商订立的附加条款作为本合同的组成部分，具有同等法律效力。

属技术保密的项目，由甲乙双方另行订立技术保密协议，作为本合同的组成部分，具有同等法律效力。

第十三条 甲乙双方发生争议，应本着协商一致的原则解决；协商不成，任何一方均可向甲方所在地人民法院起诉。

第十四条 本合同未尽事宜，按照《深圳市科技研发资金管理办法》、《深圳市科技计划项目管理办法》等有关规定执行。

第十五条 本合同一式六份，甲、乙方各执二份，并抄送市财政主管部门二份，具有同等法律效力。

20170302153338021

甲 方（盖公章）： 深圳市科技创新委员会

法定代表人（签字）： _____ 日期：2017年05月28日

(被委托人签字的应当提交法定代表人签名的授权委托书原件作为附件)

处室负责人（签字）： 黎慧来

项目责任人（签字）： 陈献梅、付秀芹

项目责任人联系电话： 88102254、88103567

乙 方（盖公章）： 深圳市人民医院

法定代表人（签字）： 邱晨 日期：2017年05月28日

(被委托人签字的应当提交法定代表人签名的授权委托书原件作为附件)

项目责任人（签字）： 王立生

项目责任人联系电话： 13714725662

附件一：项目研发任务

（一）获得短双歧杆菌LAI基因转化乳球菌、LAI基因转化乳球菌体外转化亚油酸（LA）为CLA的效率和种类；

（二）体外LAI基因转化乳球菌LAI表达产物是否能调节人体肝脏、肠上皮细胞 $\delta 6$ 、 $\delta 5$ 等 ω -3脂肪酸去饱和酶的表达、阐明LAI抗炎、降糖和防治肿瘤的作用机制。

（三）明确LAI基因转化乳球菌能否通过对LAI的异构、LAI基因转化乳球菌是否具有抑制结肠癌生长和转移的作用。

2017033021533338021

附件二：项目预期目标（验收考核指标）

项目完成时所处阶段	应用基础研究
项目预期成果的表现形式	论文
项目执行期新增的就业人数	0以上
项目执行期培养的人才数（博士/硕士/工程师/技术工人）	0以上/1以上/0以上/0以上
项目执行期产生的累计净利润/累计产品销售收入（万元）	0.00以上/0.00以上
项目执行期产生的累计纳税额/项目预期带动的资金投入（万元）	0.00以上/0.00以上
项目执行期产生的专利申请数（发明专利/实用新型/外观设计）	0以上/0以上/0以上
项目执行期产生的专利授权数（发明专利/实用新型/外观设计）	0以上/0以上/0以上
项目执行期发表的论文（论文总数/SCI检索数量/EI检索数量）	1以上/1以上/0以上
项目执行期发表的专著数（国内/国外）	0以上/0以上
概述本项目执行期内可完成的主要学术指标、技术指标与经济指标及对行政决策的效果。	
<p>（一）学术指标：发表SCI论文1篇，培养研究生1名。</p> <p>（二）技术指标：通过对短双歧杆菌LAI进行优化，利用益生菌表达载体使其在乳球菌中高效表达，提高工程菌转化LA为CLA的效率。</p>	

附件三：项目经费预算(单位：万元)

财政资助总额	2017年资助额	2018年资助额	2019年资助额
10.00	10.00	0.00	0.00

序号	经费支出类别 (A)	市财政 资助额 (B)	项目承担单位 自筹经费 (C)	小计 (D)
01	合计 (02+15)	10.00	20.00	30.00
02	一、直接费用 (03+04+...+14)	9.50	20.00	29.50
03	设备费	0.00	0.00	0.00
	(1)购置设备费	0.00	0.00	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
04	材料费	7.00	15.00	22.00
05	测试化验加工费	1.00	3.00	4.00
06	燃料动力费	0.00	0.00	0.00
07	差旅费	0.00	0.00	0.00
08	会议费	0.00	0.00	0.00
09	国际合作与交流费	0.00	0.00	0.00
10	出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.00	1.00	2.00
11	劳务费	0.50	1.00	1.50
12	专家咨询费	0.00	0.00	0.00
13	人员费	/	0.00	0.00
14	其它支出	0.00	0.00	0.00
15	二、间接费用 (16+17+18)	0.50	0.00	0.50
16	单位水电气暖等消耗	0.20	0.00	0.20
17	管理费用补助支出	0.20	0.00	0.20
18	绩效支出	0.10	0.00	0.10
备注	绩效支出：资助标准最高每月不超过上年度全市在岗职工月平均工资的3倍，主要用于提高科研工作的绩效安排的相关支出。			

注：1.本表作为资金监管依据。

2.本表中： $D=B+C$ ； $B14 \leq B02 \times 15\%$ ， $D14 \leq D02 \times 15\%$ ； $B17 \leq B01 \times 5\%$ ， $B16+B17 \leq B01 \times 15\%$ ， $D16+D17 \leq D01 \times 15\%$ ； $B18 \leq B01 \times 50\%$ ；项目承担单位为企业的， $C01 \geq B01$ 。

附件四：项目组成员（项目负责人序号为1，其他成员序号由2开始递增）

序号	姓名	身份证号	联系电话	职称	工作职务	所学专业	学位
1	王立生	440303196807303710	13714725662	主任医师	主任医师	内科学（消化病系）	博士
2	张定国	429004198012180319	13480154812	副主任医师	医生	内科学	硕士
3	罗素	440304198810262310	13662235810	医师	医师	临床医学（八年制）	博士
4	魏铖	362426198506273838	15989549565	医师	医师	内科学	硕士
5	郭栗良子	440304199208030028	15712007803	硕士生	规培医师	内科学	学士

附件五：项目计划进度和自筹经费承诺

阶段	起止时间	研究内容与预期目标
第一阶段（半年）	2017-05-28至 2017-11-30	分析LAI转化乳球菌体外诱导表达LAI的规律，LAI表达产物体外转化LA为CLA的效率及类型；体外分析LAI基因转化乳球菌表达产物对人体细胞内 $\delta 6$ 、 $\delta 5$ 等 ω -3脂肪酸去饱和酶的调节作用，探讨其抗炎、减脂及防治肿瘤的分子机制。计划使用资金：10.00万元
第二阶段（半年）	2017-12-01至 2018-05-31	确定LAI转化乳球菌在体外能高效表达LAI，并将LA转化为CLA；初步探明CLA抗炎、降脂和抑制肿瘤生长的分子机制。计划使用资金：8.00万元
第三阶段（半年）	2018-06-01至 2018-11-30	LAI基因转化乳球菌活菌口服途径体内治疗DB糖尿病模型小鼠，了解LAI转化乳球菌降脂、减肥和降糖的效果，LAI基因转化乳球菌活菌抗炎、降脂、降糖，调节能量代谢的分子机制。证实LAI基因转化乳球菌活菌口服途径具有较好的降脂、减肥和降糖的功能作用。计划使用资金：13.00万元
第四阶段（半年）	2018-12-01至 2019-05-31	LAI基因转化乳球菌活菌口服途径对APC原发性结肠癌模型小鼠治疗研究，了解LAI基因转化乳球菌活菌治疗肠道恶性肿瘤的功能作用，探讨CLA在抗炎及防治肿瘤的分子机制。为进一步的开发研究提供实验依据。计划使用资金：11.00万元
第五阶段（半年）	2019-06-01至 2019-11-30	证实LAI基因转化乳球菌活菌口服途径具有抑制原发性结肠癌生长转移的功能作用，初步阐明CLA通过抗炎、调节抑癌基因表达途径抑制肿瘤生长的作用机制。计划使用资金：6.00万元
第六阶段（半年）	2019-12-01至 2020-05-31	总结资料，撰写研究论文，申报发明专利1项。计划使用资金：2.00万元

项目承担单位自筹经费承诺：

我单位申报的项目计划总预算30.00万元，其中申请市财政资助10.00万元，我单位自筹资金20.00万元。根据深圳市科技研发资金和科技计划项目管理的有关规定，本单位的项目自筹资金将按计划到位。

特此承诺。

单位（盖公章）：
法定代表人（签字）：
日期：2017年05月28日

附件六：项目拟购置、试制设备清单（单位：万元）

序号	仪器设备名称	设备分类	数量/单位	单价（万元）
购置设备费合计（万元）		0.00		
试制设备费合计（万元）		0.00		
设备费总计（万元）		0.00		
填表说明：	1.设备分类：购置、试制。			
	2.项目承担单位属预算管理单位的，必须另行按要求编制政府采购计划。			
	3.本表中购置设备费合计金额应不少于附件三中“市财政资助额”的购置设备费；			
	本表中试制设备费合计金额应不少于附件三中“市财政资助额”的试制设备费。			

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

姚君 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：

81800489，项目名称：重组表达IL-22的双歧杆菌促进IBD肠干细胞自我更新机制的研究，直接费用：20.00万元，项目起止年月：2019年01月至2021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.nsfc.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。

计划书电子版通过科学基金网络信息系统（<https://isisn.nsfc.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**2018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**2018年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2018年9月26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表

国家自然科学基金委员会
医学科学部
2018年8月16日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81800489	项目负责人	姚君	申请代码1	H0310
项目名称	重组表达IL-22的双歧杆菌促进IBD肠干细胞自我更新机制的研究				
资助类别	青年科学基金项目	亚类说明			
附注说明					
依托单位	暨南大学				
直接费用	20.00 万元	起止年月	2019年01月 至 2021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</p> <p>主要研究内容：1. 研究BL-IL-22调控STAT3信号通路对肠粘膜上皮增殖与分化的影响；2. 研究BL-IL22对LPS诱导的IEC自噬的影响；3. 研究BL-IL-22对LPS诱导的ISC自我更新的影响；4. 研究BL-IL-22在IBD模型中对于IEC自噬及ISC增殖分化的影响。</p> <p>科学假说：在IBD中BL-IL-22生物系统可持续分泌IL-22激活STAT3, 激活ISC增殖的调控途径；而BL其本身通过激活STAT3调控的自噬通路, 协同加强了ISC的自我更新, 重塑了肠黏膜屏障功能。</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</p> <p>预期结果：1. 初步阐述BL-IL-22作为一种新型的生物系统, 通过分泌的IL-22调控STAT3信号通路可以调控ISC的增殖与分化, 促进肠道黏膜的愈合, 加强肠道黏膜屏障作用；2. 验证BL-IL-22通过激活STAT3, 串扰调控IEC自噬紊乱, 利用BL为肠道益生菌, 且自身具有的益生元特性, 作为本生物系统的加强效应, 进一步促进ISC的自我更新, 改善菌群失调, 平衡肠道免疫；</p> <p>科学价值和意义：申请项目利用双歧杆菌作为生物工程菌, 将IL-22基因整合后使其持续分泌IL-22, 修复肠黏膜屏障, 具有一定的创新性。但是其研究设计繁杂, 既有自噬, 又有干细胞, 但是都仅局限于现象的研究, 研究设计不够深入及严谨, 未验证机制。因此, 其科学价值一般, 临床应用意义一般。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确, 是否具有创新性</p> <p>科学假说叙述不够明确。申请项目拟探索BL-IL-22对于肠黏膜的修复作用, 既涉及了干细胞研究, 又涉及自噬等目前的热点问题, 但均局限在现象, 机制研究不够。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>研究内容及方案不能验证其科学假说, 方法的逻辑性及可行性一般。申请项目研究设计不够严谨, 科学假说中提出BL-IL-22通过影响STAT3通路作用于ISC、IEC及自噬过程, 但是研究内容及研究方案中对STAT3的干预仅在IEC研究中提及, 后面研究内容仅观察了BL-IL-22对ISC及自噬作用的这一现象, 并未提及机制研究。研究内容繁杂, 重点不突出。</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>申请人研究能力较强, 研究条件较好。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p> <p>1. 建议将ISC或自噬其中某一个作为重点研究对象, 深入研究。</p> <p>2. 建议将各处理组叙述清楚, 增加IL-22+BL这一组以证明其“1+1>2”的说法。</p> <p>3. 增加STAT3干预组。</p> <p><2></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
该研究通过双歧杆菌构建IL22的重组体，从而治疗IBD，并探讨是否促进肠干细胞的自我更新从而达到治疗效果。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义
采用菌群做载体，治疗IBD，具有较强的科学意义。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性
该研究创新性较强，利用菌群作载体，探讨其治疗IBD的可能机制，具有临床应用的价值。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线
研究方案略单薄，对于干细胞自我更新的研究，建议继续深入。

（四） 申请人的研究能力和研究条件
申请人所在单位具有完成该研究的实验条件，申请人在该领域有一定的科研积累。

（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
通过构建表达抗炎因子IL-22的双歧杆菌（BL-IL-22）生物系统，探索BL-IL-22通过激活STAT3信号通路从而影响肠黏膜上皮IEC增殖与分化，同时促进IEC自噬，达到溃疡性结肠炎病情缓解的机制，为临床治疗提供理论依据。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义
明确BL-IL-22通过调控STAT3信号通路完成促进肠黏膜上皮自我更新的分子机制。明确BL-IL-22通过激活STAT3影响IEC分化机制。通过探索构建新生物传递系统BL-IL-22通过STAT3的调节影响肠黏膜上皮更新分化，明确溃疡性结肠炎的病情缓解机制，寻找新型治疗方式。课题具有一定的科学价值和意义。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性
本项目通过探讨BL-IL-22生物系统促进溃疡性结肠炎缓解的作用途径，为溃疡性结肠炎治疗寻找新的治疗方式，有一定的理论和实际临床应用价值，立意新颖。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线
利用BL-IL-22及UC小鼠模型，检测肠上皮细胞分化、增殖相关基因、蛋白表达水平及细胞增殖情况，并进行小鼠结肠病理学评估。研究方案合理，技术路线可行。

（四） 申请人的研究能力和研究条件
申请人研究能力可，具备完成该项目的研究条件。

（五） 其它意见或修改建议
无

修改意见：

医学科学部

2018年8月16日