



项目批准号	81573948
申请代码	H2708
归口管理部门	
依托单位代码	20120308A0860-1623



国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：面上项目

亚类说明：

附注说明：常规面上项目

项目名称：黄芪汤调控肝祖细胞NUMB/NOTCH信号通路抗胆汁性肝纤维化的机制研究

直接费用：59万元 间接费用：11.8万元

项目资金：70.8万元 执行年限：2016.01-2019.12

负责人：慕永平

通讯地址：上海市浦东新区张衡路528号

邮政编码：201203 电 话：021-20256526

电子邮件：ypmu8888@126.com

依托单位：上海中医药大学

联系人：徐鸽 电 话：021-51322042

填表日期：2015年08月21日



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、项目负责人收到《关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明，参照国家自然科学基金相关项目管理办法及《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》（请查阅国家自然科学基金委员会官方网站首页“政策法规”-“管理办法”栏目），按《批准通知》的要求认真填写和提交《国家自然科学基金委员会资助项目计划书》（以下简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《计划书》经国家自然科学基金委员会相关项目管理部门审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》各部分填写要求如下：
 - （一）简表：由系统自动生成。
 - （二）摘要及关键词：各类获资助项目都必须填写中、英文摘要及关键词。
 - （三）项目组主要成员：计划书中列出姓名的项目组主要成员由系统自动生成，与申请书原成员保持一致，不可随意调整。如果批准通知中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目有调整项目组成员相关要求的，待项目开始执行后，按照项目成员变更程序另行办理。
 - （四）资金预算表：按批准资助的直接费用填报资金预算表和预算说明书，其中的劳务费、专家咨询费金额不应高于申请书中相应金额；间接费用及项目总经费由系统自动生成。国家重大科研仪器研制项目还应按照预算评审后批复的直接费用各科目金额填报资金预算表、预算说明书及相应的预算明细表。
 - （五）正文：
 1. 面上项目、青年科学基金项目、地区科学基金项目：如果《批准通知》中没有修改要求的，只需选择“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可；如果《批准通知》中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目明确要求调整研究期限和研究内容等的，须选择“根据研究方案修改意见更改”并填报相关修改内容。
 2. 重点项目、重点国际（地区）合作研究项目、重大项目、国家重大科研仪器研制项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，根据《批准通知》的要求填写研究（研制）内容，不得自行降低、更改研究目标（或仪器研制的技术性能与主要技术指标以及验收技术指标）或缩减研究（研制）内容。此外，还要突出以下几点：
 - （1）研究的难点和在实施过程中可能遇到的问题（或仪器研制风险），拟采用的研究（研制）方案和技术路线；
 - （2）项目主要参与者分工，合作研究单位之间的关系与分工，重大项目还需说明课题之间的关联；
 - （3）详细的年度研究（研制）计划。



3. 国家杰出青年科学基金、优秀青年科学基金和海外及港澳学者合作研究基金项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，按下列提纲撰写：
 - (1) 研究方向；
 - (2) 结合国内外研究现状，说明研究工作的学术思想和科学意义（限两个页面）；
 - (3) 研究内容、研究方案及预期目标（限两个页面）；
 - (4) 年度研究计划；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
4. 对于其他类型项目，参照面上项目的方式进行选择和填写。



简表

申请者信息	姓 名	慕永平	性 别	男	出生年月	1971年11月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	副研究员		
	电 话	021-20256526		电子邮件	ypmu8888@126.com			
	传 真	021-54148456		个人网页				
	工 作 单 位	上海中医药大学						
	所 在 院 系 所	附属曙光医院						
依托单位信息	名 称	上海中医药大学					代码	20120308A0860
	联 系 人	徐鸽		电子邮件	lbxg@hotmail.com			
	电 话	021-51322042		网站地址	http://www.shutcm.edu.cn			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	黄芪汤调控肝祖细胞NUMB/NOTCH信号通路抗胆汁性肝纤维化的机制研究						
	资 助 类 别	面上项目			亚 类 说 明			
	附 注 说 明	常规面上项目						
	申 请 代 码	H2708:中医内科			H2902:中西医结合临床基础			
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2016.01-2019.12						
	直 接 费 用	59万元			间 接 费 用	11.8万元		
	项 目 资 金	70.8万元						



项目摘要

中文摘要(500字以内):

肝内胆管异常增生是胆汁性肝纤维化发生的关键病理环节, Notch信号通路活化是其关键信号转导机制, 但目前尚缺乏有效的干预措施, 成为亟需解决的关键科学问题。本课题基于前期对Notch信号促进胆汁性肝纤维化发生, 以及黄芪汤对Notch信号及其负调控因子Numb影响的研究, 提出“Numb对胆汁性肝纤维化的发生可能具有重要的干预作用, 黄芪汤干预胆汁性肝纤维化的作用机制与抑制肝祖细胞Notch信号通路的活化有关, 而Numb可能是其关键作用靶点”假说。以肝祖细胞Numb基因水平与胆汁性肝纤维化的发生及其对黄芪汤抗纤维化作用的影响为主要研究内容, 拟采用胎肝祖细胞基因改造移植技术, 分离绿色荧光蛋白转基因SD大鼠胎肝祖细胞, 使Numb基因过表达或表达下降后植入胆总管结扎SD大鼠肝脏, 并予黄芪汤干预, 结合体外实验, 揭示Numb与肝纤维化的关系以及黄芪汤治疗胆汁性肝纤维化的效应机制, 为该方的临床应用提供科学依据。

关键词: 胆汁淤积性肝纤维化; 肝祖细胞; Notch信号通路; Numb; 黄芪汤

Abstract(limited to 4000 words):

Abnormal proliferation of bile duct is a key pathological process in cholestatic liver fibrosis and Notch signal activation is the major signal transduction mechanism in this process. So far there are no an effective therapeutics for cholestatic liver fibrosis which is an urgent scientific problem need to be resolved. Based on our previous research, Notch signaling promotes cholestatic liver fibrogenesis, as well as effects of Huangqi decoction on Notch signaling and its negative regulator Numb, we hypothesized that " Numb might play an important role in preventing cholestatic liver fibrogenesis. Huangqi decoction could prevent cholestatic liver fibrosis by inhibiting activation of Notch signaling in hepatic progenitor cells; While Numb, an inhibitor of Notch signaling, might be a key target of this decoction". Our study will focus on the association between Numb expression in hepatic progenitor cells and cholestatic liver fibrogenesis, as well as anti-fibrotic effects of Huangqi decoction on regulating Numb expression. The fetal hepatic progenitor cells (HPCs) are isolated from GFP-transgene Sprague Dawley (SD) rats, and the HPCs with Numb over expression or Numb-knockdown by genetic modification will be transplanted into livers of common bile duct ligation (BDL) rats respectively; and these rats are treated with Huangqi decoction at the same time. By combining results with in vitro experiments, the relationship between Numb expression and liver fibrosis, and effect of Huangqi Decoction against cholestatic liver fibrosis through regulating Numb expression will be revealed. The project will elucidate the molecular mechanism of Huangqi decoction against cholestatic liver fibrosis and provide scientific evidence for its clinical application.

Keywords: cholestatic liver fibrosis; Hepatic progenitor cell; Notch signaling pathway; Numb; Huangqi decoction



项目组主要成员

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	证件号码	项目分工	每年工作时间（月）			
1	慕永平	1971.11	男	副研究员	博士	上海中医药大学	021-20256526	642226197111172217	项目负责人	6			
2	周玉平	1981.05	男	主治医师	硕士	上海中医药大学	021-20256525	362428198105155710	体外实验	3			
3	徐莹	1989.09	女	硕士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	640102198909110329	胎肝祖细胞分离、培养、移植	9			
4	栾雨婷	1990.06	女	硕士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	321027199006102128	生化实验、组织病理、免疫组化	9			
5	方善花	1986.12	女	博士生	硕士	上海中医药大学	021-20256525	222405198612051822	模型制备	3			
6	姚伟丽	1983.02	女	博士生	硕士	上海中医药大学	021-20256525	410922198302010061	模型制备	3			
7	陈佳美	1987.01	女	博士生	学士	上海中医药大学	021-2-256525	330281198701023347	体外实验	3			
8	嵇强	1988.05	男	博士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	36253119880510001x	体外实验	3			
9	陈高峰	1974.02	男	主管技师	学士	上海中医药大学	021-20256531	310226197402101314	组织病理、免疫组化	2			
10	蔡文君	1991.10	女	硕士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	310229199110303422	蛋白印迹、PCR	3			
总人数		高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
10		1		3						3		3	



国家自然科学基金项目资金预算表（定额补助）

项目名称： 黄芪汤调控肝祖细胞NUMB/NOTCH信号通路抗胆汁性肝纤维化的机制研究

项目负责人：慕永平

金额单位：万元

序号	科目名称	金额	备注
	(1)	(2)	(3)
1	一、项目资金支出	70.8000	/
2	（一）直接费用	59.0000	
3	1、设备费	0.0000	
4	（1）设备购置费	0.0000	
5	（2）设备试制费	0.0000	
6	（3）设备改造与租赁费	0.0000	
7	2、材料费	44.6600	大鼠、孕鼠、抗体、PCR引物、药物购买
8	3、测试化验加工费	0.0000	
9	4、燃料动力费	0.0000	
10	5、差旅费	0.0000	
11	6、会议费	0.0000	
12	7、国际合作与交流费	2.0000	参加欧洲肝病会议进行学术交流1次
13	8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.5000	发表学术论文5篇，版面费预计2.5万
14	9、劳务费	9.8400	直接参加项目研究的研究生劳务费
15	10、专家咨询费	0.0000	
16	11、其他支出	0.0000	
17	（二）间接费用	11.8000	
18	其中：绩效支出	2.9500	
19	二、自筹资金	0.0000	



预算说明书

(请对各项支出的主要用途和测算理由及合作研究外拨资金等内容进行详细说明, 可根据需要另加附页。)

(一) 直接费用: 59 万**1、材料费: 44.66 万****(1) 动物: 17.04 万**

SD 大鼠: 0.64 万。共需 160 只, 40 元/只, $160 \text{ 只} \times 40 \text{ 元/只} = 0.64 \text{ 万}$;

GFP 孕 14.5 天 SD 大鼠: 本研究共需 128 只, 根据课题组目前的实验数据, 实验鼠和孕鼠的比例是 2 : 1, $128/2=64$ 只, 体外实验至少需要 16 只, 共计 80 只。每只 2000 元, $80 \times 0.2 \text{ 万} = 16 \text{ 万}$;

动物饲养费: 0.9 元/只/天, 共饲养 4 周, $0.9 \text{ 元/天} \times 28 \text{ 天} \times 160 = 0.40 \text{ 万}$ 。

(2) 抗体: 15.75 万

① DLK1 一抗: $50\mu\text{g} \times 20 \text{ 支}$, 用于 DLK1+胎肝祖细胞的纯化, 根据前期实验消耗, 每只抗体可纯化 4 只孕鼠的胎肝细胞, 本研究共 80 只孕鼠, $80/4=20 \text{ 支}$, 3000 元/支, $20 \times 0.25 \text{ 万} = 5.0 \text{ 万}$;

② 蛋白印迹用一抗: 本研究共涉及 39 个蛋白质的 Western blot 检测, 包括: DLK1、Alb、AFP、CK19、EpCAM、Vimentin、Nestin、HNF-1 β 、OV6、Sox9、 α -SMA、fibulin-2、TNF- α 、TGF- β 1、PDGF-B、MCP-1、Notch-1、Notch-2、Notch-3、Notch-4、NICD、Delta like-1、Delta like-3、Delta like-4、Jagged-1、Jagged-2、c-Myc、p21、p27、Hes-1、Hes-5、Hey-1、Hey-2、RBP-J κ 、Numb、IKK α 、pIKK α 、FOXA2、pFOXA2 (S107/111)。 $39 \times 0.25 \text{ 万} = 9.75 \text{ 万}$;

③ 二抗: 用于免疫印迹与免疫组化实验, 预计 10 支, 1000 元/支, $10 \times 0.1 \text{ 万} = 1.0 \text{ 万}$ 。

(3) 小 RNA 干扰试剂盒: 用于胎肝祖细胞 Numb 基因的小 RNA 干扰, 预计 3 支, 3000 元/支, $3 \times 0.3 \text{ 万} = 0.9 \text{ 万}$ 。

(4) PCR 引物: 用于 mRNA 检测, 检测项目同蛋白印迹, 每对引物 200 元, $39 \times 0.02 \text{ 万} = 0.78 \text{ 万}$ 。

(5) 蛋白质抽提试剂盒: 用于组织及细胞的蛋白抽提, 预计 2 个试剂盒, 1200 元/个, $2 \times 0.12 \text{ 万} = 0.24 \text{ 万}$ 。

(6) RNA 抽提试剂盒: 用于组织及细胞的 RNA 的抽提, 预计 6 个试剂盒, 2000 元/个, $6 \times 0.20 \text{ 万} = 1.2 \text{ 万}$ 。

(7) RT-PCR 反应试剂: 用于 RT-PCR 反应, 本研究有 2 个体内实验, 每个实验 10 个组, 每组按 5 个样本计算, 则 2 个实验共 100 个样本, 检测 39 个指标, 每个 RT-PCR 反应试剂盒检测 200 个样本, 则 $100 \times 39/200 = 19.5$ 个; 体外实验共 19 个组, 每组 3 个样本, 则 $19 \times 3 \times 39/200 = 11.1$ 个。合计 30 个包装, 1000 元/个, $30 \times 0.1 \text{ 万} = 3.0 \text{ 万}$ 。

(8) 免疫荧光试剂盒: 用于荧光免疫组化, 需 5 个包装, 2000 元/个, $5 \times 0.20 \text{ 万} = 1.0 \text{ 万}$ 。

(9) 磁珠分选柱: 用于分选 DLK1⁺胎肝祖细胞, 根据目前的实际消耗, 每 15 只孕鼠消耗 1 根磁柱, 本实验共分离 90 只孕鼠, $90/15=6$ 根, 5000 元/根, 共计 3.0 万。

(10) 胎牛血清: 用于细胞培养, 本研究预计 2 瓶, 5000 元/瓶, 计 1.0 万。

(11) 细胞培养液: 用于细胞培养, 本研究预计 5 瓶, 1500 元/瓶, 计 0.75 万。

2、国际合作与交流费: 参加 2017 年欧洲肝病年会 1 人次, 往返机票 0.9 万,



会议注册费 2500 元,按财政部临时出国人员标准,住宿、生活费等每天 160 欧元(住宿费 105、伙食费 35、公杂费 20),按 7 天计算,共计 $[2500+9000+(105+35+20)\text{欧元}\times 8.47\text{元/欧元}\times 6\text{天}]=2.063\text{万}$,按 2.0 万预算。

3、出版/文献/信息传播/知识产权事务费:

计划发表本课题资助的学术论文 5, 每篇版面费预计 5000, 计 2.5 万。

4、劳务费:用于研究生的生活补贴,本课题共有 5 名博士研究生参与,4 年合计 60 个月;有 3 名硕士研究生参与,4 年合计 84 个月。劳务费:博士生 800 元/月,共计 $60\text{月}\times 0.08\text{万/月}=4.8\text{万}$;硕士生 600 元/月,共计 $84\text{月}\times 0.06\text{万/月}=5.04\text{万}$ 。总计 9.84 万。

(二)间接费用: 11.8 万,系统自动生成。

项目负责人签字:

科研部门公章:

财务部门公章:



报告正文

研究内容和研究目标按照申请书执行。



国家自然科学基金资助项目签批审核表

	<p>我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：81573948），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、财务等各项规定，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，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。</p> <p>项目负责人（签章）： 年 月 日</p>	<p>我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、财务等各项规定，并督促实施。</p> <p>依托单位（公章） 年 月 日</p>					
本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p>						
	<p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p>						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年
	金额						
	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
本栏目主要用于重大项目等	<p>相关局室审核意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
	<p>委领导审批意见：</p> <p>委领导（签章）： 年 月 日</p>						