



201604020155

广州市科技计划项目合同书

批文号:

合同编号: 201604020155

广州市科技计划项目 合同书 (前期资助类)

项目名称: 聚乙二醇干扰素减少慢性乙型肝炎患者核苷类似物经治停药后复发方案及免疫机制研究

承担单位:

计划类别: 产学研协同创新重大专项

专题名称: 民生科技研究专题

起止时间: 2016-04-01到2019-03-31

组织单位: 中山大学(中山医科大学)

填表日期: 2016-04-27 13:41

签订地点: 广州市越秀区



广州市科技创新委员会制

填写说明

一、本合同书的项目编号和下达批文号由市科技创新委员会（简称“市科创委”）统一确定。

二、经费预算中的“经费”是指项目执行过程中所发生的所有直接费用和间接费用。“市科创委经费”一般包括：人员费、设备费、能源材料费、试验外协费、会议差旅费、管理费和其他相关费用。

（一）人员费，指直接参加项目人员支出的工资性费用。项目组成员所在单位有事业费拨款的，由所在单位按照国家规定的标准从事业费中及时足额支付给项目组成员，并按规定在项目预算的相关科目中列示，不得在“市科创委经费”中重复列支。

（二）设备费，指项目执行过程中所必需的专用仪器、设备、样品、样机购置费及设备试制费

（三）能源材料费，指项目执行过程中所支付的原材料、燃料动力、低值易耗品的购置等费用

（四）试验外协费，指项目执行过程中所发生的租赁费用、带料外加工费用及委托外单位或合作单位进行的试验、加工、测试等费用。

（五）会议差旅费，指在项目执行过程中组织召开的与项目研究有关的专题技术、学术、咨询会议的费用和为项目执行而进行国内外调研考察、现场试验等工作所发生的交通、住宿等费用。

（六）管理费，指项目承担单位为组织管理项目而支出的各项费用（一般占项目经费总预算的比例为5%）。包括现有仪器设备和房屋使用费或折旧、直接管理人员费用和其他相关管理支出。

（七）其他相关费，指除上述费用之外与项目执行有关的其他费用（如验收工作等）。

三、本项目如涉及多家（包含两家）单位参加，乙方应在签定本合同书时与合作单位就任务分工、经费和知识产权分配等问题签订有关合同或协议（仅委托其他单位进行常规试验、提供社会化科技服务和少量辅助科研工作的情况除外），作为本合同书的附件。

四、项目承担单位需具有独立法人资格，高等院校、科研院所不具备独立法人资格的二级单位不得作为项目承担单位。

五、组织单位指项目申报时的推荐单位，主要是高等院校、科研院所、区(县级市)科技主管部门、上级政府主管部门、市属企业集团（总公司）等。

六、项目基本信息表中单位特性指项目承担单位的资质或获得的称号，如高新技术企业、软件企业、技术先进型服务企业、创新型企业、科技小巨人企业等。单位类型按以下类型填写：高等院校、科研院所、国有企业、民营企业、股份制企业、中外合资企业、港/澳/台商投资企业、外商投资企业等。

七、本合同书适用于广州市前期资助类科技计划项目，有特殊要求另行制定的除外。

广州市科技计划项目合同书

一、项目基本信息表

项目名称		聚乙二醇干扰素减少慢性乙型肝炎患者核苷类似物经治停药后复发方案及免疫机制研究					
责任处室		社会发展和基础研究处					
承担单位	名称	中山大学附属第一医院					
	通信地址	广州市中山二路58号					
	邮政编码	510080		传 真	87333122		
	单位特性	其他		单位类型	高等院校		
	法定代表人	肖海鹏		电子邮箱	zsyxkb@163.com		
	组织机构代码	45541602-9					
	开户银行	中国建设银行广州中山大学支行					
	帐 号	44001430046059888888					
开户名	中山大学						
参加单位	序号	名称		分工		单位类型	
	1						
项目负责人	姓名	钟碧慧	性别	女	出生年月	1963-02-02	
	国籍	中国	民族	汉族	学历	博士研究生	
	学位	博士		学位授予国家 (或地区)	中国		
	证件名称	身份证		证件号码	440104196302020024		
	职 务	感染科主任		职 称	教授、主任医师		

广州市科技计划项目合同书

	固定电话	020-28823388	手机号码	13503079262		
	电子邮箱	sophiazhong@hotmail.com				
项目组成员（含项目负责人）						
序号	姓名	年龄	职称	学历	所在单位	签名
1	钟碧慧	52	博士生导师	博士研究生	中山大学附属第一医院	
2	林菁华	35	主治医师	硕士研究生	中山大学附属第一医院	
3	姚佳燕	28	住院医师	硕士研究生	中山大学附属第一医院	
4	叶俊钊	26	在读硕士研究生	本科	中山大学附属第一医院	
5	吴艳琴	26	在读博士研究生	本科	中山大学附属第一医院	
6	李睿	24	在读硕士研究生	本科	中山大学附属第一医院	
7	胡璇	23	在读硕士研究生	本科	中山大学附属第一医院	

二、主要内容

1、项目目标

- ① 评价NAs经治的优选患者（即HBV DNA<100U/L、HBeAg阴性及HBsAg<1500IU/ml）加/换用PEG-IFN α 常规或延长疗程的疗效。
- ② IL-21表达水平与优选NAs经治病例加/换用PEG-IFN α 疗效的关系
- ③ 明确IL-21和IL-21受体基因多态性与PEG-IFN α 疗效的关系
- ④ 明确IL-21参与PEG-IFN α 恢复者HBV特异性CTL的功能，揭示IL-2在CHB免疫控制的效应途径及其分子通路。

2、项目内容（项目主要内容、拟解决的主要技术问题、难点，拟采用的技术路线、方法、工艺流程）

- ① 分析优选NAs经治患者（即HBV DNA<100IU/L、HBeAg阴性及HBsAg<1500IU/ml）经加/换用PEG-IFN α 常规(48周)或延长（72周）疗程与对照组（继续NAs治疗）的HBsAg变化。
- ② 评估IL-21预测PEG-IFN α 降低HBsAg的价值：
 - A、探讨IL-21及其受体基因多态对PEG-IFN α 降低HBsAg疗效的影响
 - B、分析IL-21的表达水平与PEG-IFN α 降低HBsAg的相关性
 - C、分析IL-21对IFN介导HBV特异性CTL功能的调控

3、项目特色和创新点

- ① 首次将提高PEG-IFN α 疗效的措施应用于NAs经治达标患者，最大限度发挥PEG-IFN α 清除HBsAg及重建免疫的疗效，为NAs经治的CHB患者寻求有效且安全的停药方案。
- ② 首次探讨IL-21预测PEG-IFN α 疗效的价值
- ③ 首次研究IL-21与IFN及HBV特异性CD8⁺T细胞的关系

4、项目实施过程中可能遇到的风险及规避措施

1、风险：

本项目中部分CHB患者接受PEG-IFN α 治疗，可能发生PEG-IFN α 相关不良反应，包括有流感样症状、外周血细胞和血小板计数下降、内分泌和代谢性疾病、消化道症状和神经精神异常等。少数患者可引起严重不良反应，如同质性肺炎、自身免疫性溶血或严重精神疾病等。

2、规避措施：

① 完善相关检测，包括：

A.治疗前：

签署知情同意书、症状体征、HBV-DNA、乙肝两对半定量、肝功能、B超或CT（入组前6个月内）、AFP、血常规、尿常规、血糖、电解质、肾功能、甲状腺功能、风湿病组合、自身免疫性肝病组合、体液免疫五项，老年患者应行心电图检查和心功能评估。

B.治疗期间检测指标：

i) HBV-DNA、乙肝两对半定量、肝功能：每12周一次

ii) B超、AFP：每24周一次

iii) 血常规：第1个月应每周检查一次血常规，以后每4周一次至24周后每12W一次

iv) 甲状腺功能：每12周检查一次

v) 定期评估精神状态

② 干扰素不良反应的处理：

参考2014年慢性病毒性肝炎患者干扰素 α 治疗不良反应临床处理专家委员会制定的《慢性病毒性肝炎患者干扰素 α 治疗不良反应临床处理专家共识》[33]。



项目批准号	81670518
申请代码	H0314
归口管理部门	
依托单位代码	51027508A1549-2815



816705 181003 107

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: 角蛋白8/18磷酸化修饰在非酒精性脂肪性肝病糖脂代谢异常的作用及机制研究

直接费用: 58万元 执行年限: 2017. 01-2020. 12

负责人: 钟碧慧

通讯地址: 广州市中山二路58号

邮政编码: 510080 电 话: 020-87332916

电子邮件: sophiazhong@hotmail.com

依托单位: 中山大学

联系人: 梁勇 电 话: 020-84110411

填表日期: 2016年09月05日

国家自然科学基金委员会制



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。国家重大科研仪器研制项目、重大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	钟碧慧	性 别	女	出生年月	1963年02月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	教授		
	电 话	020-87332916			电子邮件	sophiazhong@hotmail.com		
	传 真	020-87332916			个人网页			
	工 作 单 位	中山大学						
	所 在 院 系 所	附属第一医院						
依托单位信息	名 称	中山大学					代码	51027508A1549
	联 系 人	梁勇			电子邮件	liangy@mail.sysu.edu.cn		
	电 话	020-84110411			网站地址	http://research.sysu.edu.cn/		
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	角蛋白8/18磷酸化修饰在非酒精性脂肪性肝病糖脂代谢异常的作用及机制研究						
	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	H0314:肝脏代谢障碍及相关疾病				H0317:肝纤维化、肝硬化与门脉高压症		
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2017.01-2020.12						
	直 接 费 用	58万元						



项目摘要

中文摘要(500字以内):

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是全球首位慢性肝病, 肝脏胰岛素抵抗 (IR) 介导的全身代谢异常加剧是其预后不良的重要原因。角蛋白作为肝脏细胞骨架中间丝的最主要成分, 与糖代谢及胰岛素信号转导密切相关。我们前期研究表明角蛋白基因遗传变异引起的蛋白结构异常可能参与IR形成, 而病理刺激下角蛋白磷酸化修饰改变可导致蛋白结构异常并与多种肝病的进展相关, 因此NAFLD中角蛋白的磷酸化修饰改变可能是IR发生的新机制。本项目拟运用质谱技术及蛋白印迹法在细胞、动物组织和临床肝穿标本分析NAFLD中角蛋白磷酸化修饰的改变, 针对磷酸化水平显著改变的位点通过CRISPR-Cas9系统构建定点突变细胞模型和转基因动物, 利用免疫荧光染色、酶联免疫法检测糖代谢产物、蛋白印迹法和免疫共沉淀等方法检测磷酸化位点对角蛋白结构、肝细胞糖代谢及胰岛素信号通路转导的影响, 从而阐明角蛋白结构异常引起IR的机制, 为IR的治疗提供新靶点。

关键词: 角蛋白; 非酒精性脂肪性肝病; 胰岛素抵抗

Abstract (limited to 4000 words):

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common causes of chronic liver disease in the worldwide, and hepatic insulin resistance plays a major role in determining the severity of metabolism abnormalities in NAFLD. Keratin8/18 function as the largest member of cytoskeleton protein that have been reported to be closely associated with glycometabolism and insulin signal pathway. Our previous study have found that keratin mutations which disrupt the structure of protein lead or predispose to the development of insulin resistance. Phosphorylation modification of keratins have been demonstrated as a progression marker of chronic liver disease. So we hypothesis that phosphorylation modification of keratins has a important conserved role in the development of insulin resistance. In this study, we plan to analyze the change of phosphorylation modification of keratins in NAFLD models in vitro and vivo by means of mass spectrum and Western blot. We will identify those specific phosphorylation sites with phosphorylation levels change significantly, and further explore its influence in site-directed mutation cell model and transgenic animal. Immunofluorescence staining, euzymelinked immunosorbent assay, Western blot and co-immunoprecipitation will be performed to discern the relationship between keratin phosphorylation sites, keratin protein structure, glycometabolism and insulin signal pathway, by which we can further elucidate the mechanism of protein post-translational modification and constitution of keratin to cause insulin resistance. We aim to find out a new therapeutic target and provide theoretical basis for it.

Keywords: keratin; Non-alcoholic fatty liver disease; insulin resistance



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	钟碧慧	1963.02	女	教授	博士	中山大学	020-87332916	440104196302020024	项目负责人	6
2	张盛洪	1982.08	男	主治医师	博士	中山大学	020-87332916	440582198208274511	细胞实验	6
3	张宁	1981.06	男	主治医师	博士	中山大学	020-87332916	441381198106280615	动物实验	6
4	冯瑞	1984.10	女	医师	博士	中山大学	020-87332916	142401198410080021	细胞实验	6
5	叶俊钊	1989.12	男	硕士生	学士	中山大学	020-87332916	440784198912074832	动物实验	10
6	吴艳琴	1989.08	女	博士生	学士	中山大学	020-87332916	421081198908303989	动物实验	10
7	李睿	1991.08	女	硕士生	学士	中山大学	020-87332916	640202199108200527	细胞实验	10
8	胡璇	1993.09	女	硕士生	学士	中山大学	020-87332916	360733199309040026	体内实验	10
总人数		高级		中级		初级		博士后	博士生	硕士生
8		1		2		1			1	3



国家自然科学基金项目直接费用预算表（定额补助）

项目批准号：81670518

项目负责人：钟碧慧

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目直接费用	58.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.0000
4	(2)设备试制费	0.0000
5	(3)设备改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	40.3800
7	3、测试化验加工费	8.9000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	2.1200
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	3.4000
11	7、劳务费	3.2000
12	8、专家咨询费	0.00
13	9、其他支出	0.0000
14	二、自筹资金	0.00

受理编号: 1311220600505

项目编号: 2013B021800290

文件编号: 粤科规财字[2014]116号



2013B021800290

广东省省级科技计划项目 合同书

项目名称: 角蛋白基因变异与非酒精性脂肪性肝病的关系

计划类别: 社会发展领域科技计划项目审批

项目起止时间: 2014-01-01 至 2016-12-31

管理单位(甲方): 广东省科学技术厅

承担单位(乙方): 中山大学附属第一医院

乙方主管部门(丙方): 中山大学

通讯地址: 广东省广州市海珠区广州市中山二路58号

邮政编码: 510080

单位电话: 020-87333122

项目负责人: 钟碧慧

联系电话: 020-87755766-8182

项目联系人: 钟碧慧

联系电话: 13503079262

广东省科学技术厅
二〇一四年制

一、承担单位基本情况表

单位基本信息	单位名称	中山大学附属第一医院			组织机构代码	455416029	
	单位地址	广州市中山二路 58 号			邮政编码	510080	
	开户银行	工行广州中山大学支行			信用等级	AA	
	联系电话	020-87333122	电子邮箱	wzhuoq@mail.sysu.edu.cn			
	传 真	020-87333122	网站地址	http://www.gzsums.edu.cn			
	单位性质	高等院校	单位特性	已建有省级研究机构			
	单位人员情况						
	职工总数	4690	技术人员	3888			
高级职称	690	中级职称	961				
	姓名	职务	职称	电话	手机	电子邮箱	
单位负责人	王深明	院长	教授	020-87755766-8198	13302224168	shenmingwang@sohu.com	
科研管理人	王卓青			020-87333122	13922754159	wzhuoq@mail.sysu.edu.cn	
单位经济效益	年 产 值	27000 万 元		年 销 售 额	万 元		
	出口创汇	万美元					
	年 利 税	万 元		年研究开发经费	3350 万 元		
其它参加单位信息	单位 1 名称					公章	
	单位 地址						
	单位 性质		组织机 构代码				
	联 系 人		电 话				
	单位 2 名称					公章	
	单位 地址						
	单位 性质		组织机 构代码				
	联 系 人		电 话				
	其他单位						

本项目是否已有风投介入: ☐是 ☒否

二、知识产权状况表

单位拥有知识产权状况：（单位：项数）							
	专利申请 总数	专利授权 总数	发明		实用新型		软件版权
			申请	授权	申请	授权	
单 位	67	45	40	28	27	17	0
其中：近三年	25	12	10	6	15	6	0
课 题 组							
其它知识产 权 状况说明							
项目技术及知识产权状况：（单位：项数）							
项 目 阶 段		技术水平		课题活动类型			
技 术 来 源							
项目已有知 识 产 权 状 况	专利申请 总数	专利授权 总数	发明		实用新型		软件版权
			申请	授权	申请	授权	
其它需要说明的问题：							
本项目完成后获取知识产权预测：（单位：项数）							
成果形式		成果数量	成果形式	成果数量			
发明专利	申请		新产品				
	授权		新材料				
实用新型 专利	申请		新装备				
	授权		计算机软件				
外观设计 专利	外观设计		论文论著				
	专利		技术标准				
国外专利			其它 1				
新工艺（或新方法、新模式）			其它 2				

三、申请项目基本情况表

项目基本信息:								
项 目 名 称		角蛋白基因变异与非酒精性脂肪性肝病的关系						
项目起止时间		2014 年 1 月 - 2016 年 12 月						
项目组主要成员 (包括项目负责人):								
编号	姓 名	年龄	学历	职务	职称	分工	所在单位 (全称)	签字
1	钟碧慧	50	博士研究生	感染科主任、消化内科副主任	教授	项目负责人	中山大学附属第一医院	
2	张盛洪	31	博士研究生		主治医师	细胞实验	中山大学附属第一医院	
3	晁康	28	博士研究生			细胞实验	中山大学附属第一医院	
4	龚晓蓉	31	博士研究生			收集临床资料	中山大学附属第一医院	
5	姚佳燕	27	硕士研究生			标本收集	中山大学附属第一医院	
6	李敏睿	27	硕士研究生			DNA 提取及测序	中山大学附属第一医院	
7	吴艳琴	24	硕士研究生			临床随访	中山大学附属第一医院	
项目内容摘要:								
<p>非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是全球慢性肝病的首要病因, 目前我国的发病率高达 20~30%, 位居肝病之首。NAFLD 具有进展为肝硬化、肝癌的风险, 且常伴随代谢异常, 与糖尿病、心血管疾病等密切相关, 远期危害严重, 是重要的公共健康问题。目前研究发现 NAFLD 具有家族聚集性, 遗传因素可能是发病的重要因素之一, 涉及糖代谢、脂代谢、氧化应激、炎症反应等多个过程的基因突变影响 NAFLD 的发生发展。角蛋白 (Keratin, K) 有重要的干细胞保护功能, 我们前期研究已证实角蛋白基因变异是多种肝病的危险因素且与疾病严重程度相关。本项目拟用变性高效液相色谱法将 RNA 直接测序分析中国人群 NAFLD 患者角蛋白 (K8/K18) 全部编码基因的变异情况及其有疾病严重程度的关系、K8/K18 基因变异患者一级亲属的基因变异情况; 通过细胞转染证实新发现的变异位点对细胞及肝脏功能的影响, 从而首次探讨中国人群 NAFLD 角蛋白基因变异的特点及其对家族聚集性发病的影响, 旨在为 NAFLD 的发病机制及预后预测提供线索, 具有重要的现实意义。</p>								
关键字:								
(用; 隔开)		角蛋白; 基因变异; 非酒精性脂肪肝						
本项目完成后经济效益预测:								
年新增产值 (万元)			年新增利税 (万元)			年出口创汇 (万美元)		

受理编号: c1430620600303

项目编号: 2014A020212118

文件编号: 粤科规财字[2015]72号



2014A020212118

广东省省级科技计划项目 合同书

项目名称: 基于剪切波弹性成像技术的肝纤维化无创诊断新模型构建及优化

计划类别: 社会发展领域

项目起止时间: 2015-01-01 至 2017-12-30

管理单位(甲方): 广东省科学技术厅

承担单位(乙方): 中山大学附属第一医院

乙方主管部门(丙方): 中山大学

通讯地址: 广东省广州市越秀区中山二路58号

邮政编码: 510080

单位电话: 020-87334871

项目负责人: 钟碧慧

联系电话: 020-87755766-8182

项目联系人: 钟碧慧

联系电话: 13503079262

广东省科学技术厅
二〇一四年制

一、项目基本情况表

项目名称	基于剪切波弹性成像技术的肝纤维化无创诊断新模型构建及优化				
项目起止时间	2015 年 01 月 01 日 - 2017 年 12 月 30 日				
项目总经费预算	10.00 万元	申请经费资助	10.00 万元		
课题研究方向	无				
社会经济目标	诊断与治疗				
项目内容摘要:					
<p>肝硬化是慢性肝病恶化乃至致残致死的最直接原因,对肝硬化前期阶段即肝纤维化的诊断一直是慢性肝病防治亟待解决的重要课题。剪切波弹性成像是最新一代肝脏硬度检测技术,具有适用广、取样面积大、安全无痛及简便快速等优势,在肝纤维化的诊断有着良好前景。本研究拟建立剪切波弹性成像针对国人的诊断阈值,并将成像结果通过数学公式与血清学指标量化组合,构建适合我国的无创诊断模型,为肝纤维化的无创诊断提供切实可行的新方法。</p>					
关键字 (用;隔开):	肝纤维化 ; 剪切波弹性成像 ; 无创诊断 ; 诊断模型				
项目技术信息:					
项目研究阶段	前期研究	技术来源	引进技术本单位消化创新	技术领域	消化内科学
研究活动类型	研究与实验发展成果应用	学科	肝纤维化、肝硬化与门脉高压症		
预期成果形式:					
技术标准(国际标准、国家标准、行业标准、企业标准), 论文论著					
项目已受财政资金资助情况:					
无					
简要说明: (限100字)	无				
其它需要说明的问题(限100字):					
无					

本项目是否涉及实验动物: ☐ 是 ☒ 否

二、项目内容

(一) 立项的背景和意义(限200字):

各种慢性肝病引起的肝纤维化而导致的肝硬化及相关并发症是肝病致死的首要原因。我国两大肝脏疾病(乙型肝炎病毒感染和非酒精性脂肪肝病)患者中,肝纤维化的患病率高达40-80%。常规的检测手段受制于有创、不敏感和干扰因素多等缺陷,难以广泛应用,剪切波弹性成像具有无创、取样面积大、简便等优点,建立其适合我国的诊断界值,探索其与血清学指标联用的诊断模型,实现两者优势互补,有望解决目前肝纤维化的诊断难题。

(二) 研发内容和关键技术(限1000字):

(参考提纲: 1. 主要研究内容; 2. 拟解决的关键问题及技术路线; 3. 创新点)

- 1、本研究以肝组织学和失代偿肝硬化为标准,分析
 - ① SWE检测HBV及NAFLD所致肝纤维化敏感性、特异性,评价其应用价值;
 - ② 与国外HCV相关肝纤维化分期的SWE界值比较,探讨适用我国HBV及NAFLD肝纤维化的SWE界值;
 - ③ 分析影响SWE检测因素,提高其诊断肝纤维化准确性;
 - ④ 组合应用SWE与目前国际上常见的肝纤维化诊断模型(包括单一血清标志物、APRI、FIB4),通过数学公式量化各指标建立可靠的无创检测肝纤维化体系,比较各体系诊断我国肝纤维化能力,挑选出不同病因所致肝纤维化的最优模型。
 - ⑤ 分析影响无创模型的因素,评估校正影响因素后的诊断能力。

2、方案:

研究对象

- ① 入选我院消化科乙型病毒性肝炎(CHB)和非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)患者,签署知情同意书。
- ② 排除合并其他肝病或其他严重疾病;妊娠;依从性差;
- ③ 患者分正常组、NAFLD组、慢乙肝组、肝硬化失代偿组、CHB合并NAFLD组5组。

研究方法:

- ① 病史采集:询问病程、家族史、饮酒史。
- ② 测人体学指标:量身高、体重、腰围、臀围,计算体质指数,腰臀比。
- ③ SWE检测肝脏弹性:连续10次成功检测患者,且弹性值四分位间距低于中位数30%,中位数为结果。
- ④ 肝脏穿刺:SWE检测后立即进行,部位同SWE检测。所取组织常规HE染色及Masson染色,按Metavir标准分级、分期。
- ⑤ 血清学指标检测:
 - A、血常规、肝酶学、肝代谢、代谢组合;肝纤维化单一血清标志物;病毒学。
 - B、肝纤维化无创评分计算:APRI和FIB4
- ⑥ 模型构建:以肝纤维化分期作因变量,SWE弹性值、肝纤维化单一血清标志物、无创评分作自变量,用Logistic回归分析建立方程(数学模型),ROC曲线分析诊断效能和确定界值。模型进行拟合优度检验,分类树模型对比。

3、拟解决关键问题:

- ① 建立SWE诊断HBV和NAFLD所致肝纤维化界值;
- ② 建立SWE联合其他国际上常见的肝纤维化诊断模型构建无创检测肝纤维化体系。

4、创新:

- ① 首次提出适用国人SWE诊断HBV及NAFLD肝纤维化的标准;
- ② 首次将SWE联用血清学指标,建立基于SWE的可靠无创肝纤维化诊断体系;
- ③ 首次系统分析SWE测值影响因素。



项目批准号	81170392
归口管理部门	
申请代码	H0316
收件日期	

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：

项目名称：角蛋白基因变异与乙型肝炎病毒相关性肝病的关系

资助经费：60.00 万元 执行年限：2012.01-2015.12

负责人：钟碧慧

通讯地址：广州市中山二路 58 号

邮政编码：510080 电话：020-87755766-8172

电子邮件：sophiazhong@hotmail.com

依托单位：中山大学

联系人：刘梅 电话：02084111595、84115962

填表日期：2011年8月30日

国家自然科学基金委员会





国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、收到《国家自然科学基金委员会资助项目批准通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明和自然科学基金相关项目及财务管理办法（查阅[Http://www.nsfc.gov.cn/](http://www.nsfc.gov.cn/)），按《批准通知》的要求认真填写《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》经主管科学部审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》为个性化表格，简表部分自动生成，不同类别的项目按不同要求撰写。请按以下提纲撰写《计划书》：
 - 1、各类获资助项目都必须撰写中、英文摘要及主题词，填报经费预算表。
 - 2、对于基金面上项目，项目组成员和研究内容按申请书执行，一般不得修改。如果《批准通知》中明确要求调整研究内容，须在《计划书》报告正文中对修改的内容作详细说明。没有要求修改的内容时，只需在报告正文中填写“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可。
 - 3、重点、重大项目的项目组成员和研究内容根据批准项目的实际情况填报，不能自行降低、更改研究目标，或缩减关键的研究内容。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碰到的问题，拟采用的研究方案和技术路线；
 - （2）项目组主要成员分工，并请说明课题及合作单位之间的关系与分工；
 - 4、国家杰出青年科学基金和海外青年学者合作研究基金的计划书正文按下列提纲撰写：
 - 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) 分年度进度安排
 - 5) 研究队伍的组成情况



简表

申请者信息	姓 名	钟碧慧	性 别	女	出生年月	1963 年 2 月	民 族	汉族
	学 位	博士			职 称	教授		
	电 话	020-87755766-8172			电子邮件	sophiazhong@hotmail.com		
	传 真				个 人 网 页			
	工 作 单 位	中山大学						
	所 在 院 系 所	附属第一医院						
依托单位信息	名 称	中山大学					代 码	51027501
	联 系 人	刘梅			电子邮件	kjcd@mail.sysu.edu.cn		
	电 话	02084111595、 84115962			网站地址			
合作单位信息	单 位 名 称							代 码
项目基本信息	项 目 名 称	角蛋白基因变异与乙型肝炎病毒相关性肝病的关系						
	资 助 类 别	面上项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H0316: 炎性及感染性肝病						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2012.01-2015.12				研究属性	应用基础研究	
	资助经费	60.00 万元						



项目摘要

中文摘要(500 字以内):

乙型肝炎病毒(Hepatitis B Virus, HBV)感染严重危害健康,有明显的种族倾向及家族聚集性,遗传因素可能是重要原因之一。角蛋白(Keratin, K)有重要的肝细胞保护功能。我们前期的研究已经证明角蛋白基因变异是多种肝病发病的危险因素而且与疾病的严重程度相关,近期,我们的初步探讨也发现 HBV 相关性肝病存在角蛋白基因变异。本项目拟用变性高效液相色谱法结合 DNA 直接测序等分析国人 HBV 相关性肝病角蛋白(K8/K18)全部编码基因的变异情况及其与疾病严重程度的关系、K8/K18 基因变异患者一级亲属(父母及兄弟姐妹)的基因变异情况、通过细胞转染及建立转基因动物模型证实新发现的变异位点对细胞及肝脏功能的影响,从而首次探讨国人 HBV 相关性肝病角蛋白基因变异的特点及其对家庭聚集性发病的影响,旨在为 HBV 相关性肝病的发病机制提供线索,为开辟新的基因治疗途径奠定理论基础,具有重要的现实意义。

关键词(不超过 5 个,用分号分开):角蛋白;基因变异;乙型肝炎病毒

Abstract(limited to 500 words):

Hepatitis B virus infection which is a serious threat to human healthy worldwide, has obvious racial predisposition and familial aggregation, so genetic factor may be one of its important pathogenesis. Keratins provide important cytoprotective functions in liver. Our previous researches have shown that keratin variants are risk factors with several liver diseases and associated with disease severity. Recently, our preliminary study found that keratin variants also existed in liver diseases caused by HBV. This study is to explore the characteristic of keratin variants in Chinese patient with liver disease caused by HBV and the influence on familial aggregation through three steps as follow: 1) study variants of keratin 8 and keratin 18(K8/K18) and their association with disease severity by analysing the whole encoding gene with use of degeneration high performance liquid chromatography(DHPLC) and DNA sequencing in liver disease caused by HBV of Chinese population; 2) study variants of K8/K18 in the first-degree relatives(parents and siblings) of patients who have K8/K18 variants detected in step 1; 3) verify the effects of new variants on cell and liver function by cell transfection and genetically modified mice models. The aim is to provide clues for pathogenesis of liver diseases caused by HBV and establish theoretical base of developing new gene therapy, so it has an important practical significance.

Keywords(limited to 5 keywords,seperated by):keratin;gene variant;hepatitis B virus



经费预算表

(金额单位: 万元)

<p>预算编制说明:</p> <p>1. 在填报本表之前, 请根据项目资助类别认真阅读相关的资助经费管理办法; 经费预算的编制以申请书中的《经费申请表》为基础, 以《国家自然科学基金项目资助批准通知书》中的资助金额为依据;</p> <p>2. 编制经费预算时, 不考虑不可预见因素和前期投入;</p> <p>购置与试制仪器设备在 5 万元以上 (包括 5 万元) 时, 须在报告正文中逐项说明用途和必要性。</p>		
科 目	预算经费	备 注 (计算依据与说明)
一. 研究经费	48. 0000	
1. 科研业务费	10. 0000	
(1) 测试/计算/分析费	4. 8000	测序分析及数据分析
(2) 能源/动力费	1. 2000	水电费
(3) 会议费/差旅费	2. 0000	参加国内学术会议, 每年一次
(4) 出版物/文献/信息传播事务费	2. 0000	主要为资料查询、打印、版面费等
(5) 其它	0. 0000	
2. 实验材料费	38. 0000	
(1) 原材料/试剂/药品购置费	33. 0000	买细胞及所需试剂 (细胞培养、PCR、DHPLC 分析、DNA 提取、抗体等)
(2) 其它	5. 0000	动物、其他消耗材料
3. 仪器设备费	0. 0000	
4. 实验室改装费	0. 0000	
5. 协作费	0. 0000	
二. 国际合作与交流费	3. 0000	
1. 项目组成员出国合作交流	3. 0000	与国外合作交流、参加国际会议 (美国消化疾病周) 一次
2. 境外专家来华合作交流	0. 0000	
三. 劳务费	6. 0000	用于直接参加本项目研究生的劳务费
四. 管理费	3. 0000	本单位为组织和支持项目研究而支出的费用
合 计	60. 0000	
与本项目相关的其他经费来源	国家其他计划资助经费	0. 0000
	其他经费资助 (含部门匹配)	0. 0000
	其他经费来源合计	0. 0000