



| | |
|--------|--------------------|
| 项目批准号 | 81572426 |
| 申请代码 | H1617 |
| 归口管理部门 | |
| 依托单位代码 | 43007208A0979-1857 |



815724261008419

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：瘤果黑种草子主要抗胃癌活性成分作用机制研究

直接费用：55万元 间接费用：10.6万元

项目资金：65.6万元 执行年限：2016.01-2019.12

负责人：董卫国

通讯地址：武汉市武昌区解放路238号

邮政编码：430060 电 话：13986167388

电子邮件：dwg@whu.edu.cn

依托单位：武汉大学

联系人：揭志忠 电 话：027-68772100

填表日期：2015年09月06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；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 | 董卫国 | 性 别 | 男 | 出生年月 | 1966年11月 | 民 族 | 汉族 |
| | 学 位 | 博士 | | | 职称 | 教授 | | |
| | 电 话 | 13986167388 | | 电子邮件 | dwg@whu. edu. cn | | | |
| | 传 真 | 02788042292 | | 个人网页 | | | | |
| | 工 作 单 位 | 武汉大学 | | | | | | |
| | 所 在 院 系 所 | 人民医院 | | | | | | |
| 依托单位信息 | 名 称 | 武汉大学 | | | | | 代码 | 43007208A0979 |
| | 联 系 人 | 揭志忠 | | 电子邮件 | wdjcb@whu. edu. cn | | | |
| | 电 话 | 027-68772100 | | 网站地址 | http://kfy. whu. edu. cn/index. html | | | |
| 合作单位信息 | 单 位 名 称 | | | | | | | 代 码 |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| 项目基本信息 | 项 目 名 称 | 瘤果黑种草子主要抗胃癌活性成分作用机制研究 | | | | | | |
| | 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 | H1617:消化系统肿瘤 | | | | | | |
| | 基 地 类 别 | | | | | | | |
| | 执 行 年 限 | 2016. 01-2019. 12 | | | | | | |
| | 直 接 费 用 | 55万元 | | | 间 接 费 用 | 10. 6万元 | | |
| | 项 目 资 金 | 65. 6万元 | | | | | | |



项目摘要

中文摘要(500字以内):

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,其常用化疗药物毒副作用大、耐药发生率高,因此寻找天然、低毒、高效药物治疗胃癌意义重大。项目组研究发现瘤果黑种草子提取物 α -常春藤皂苷能抑制胃癌细胞增殖诱导凋亡、下调GSH水平、增强百里醌抗胃癌作用。我们推测,GSH耗竭引起的ROS蓄积可激发Caspase级联反应诱导胃癌细胞凋亡、下调NF- κ B抑制胃癌细胞增殖与侵袭,同时NF- κ B(PTEN信号通路关键分子)的下调可增强百里醌抗胃癌作用。本项目拟构建胃癌耐药细胞株和裸鼠原位移植瘤模型,应用特异性GSH合成促进和抑制技术干扰GSH合成,检测GSH及相关蛋白表达变化,从而揭示 α -常春藤皂苷调控胃癌细胞增殖和凋亡具体机制,同时探讨其增强百里醌抗胃癌作用的相关机制(GSH/ROS诱导的NF- κ B下调对PTEN信号通路的影响),为临床应用 α -常春藤皂苷和百里醌治疗胃癌以及瘤果黑种草子的进一步开发利用提供理论依据。

关键词: 胃肿瘤; α -常春藤皂苷; 百里醌; 化疗; 机制

Abstract(limited to 4000 words):

Gastric cancer (GC), one of the most common malignant tumors in China, is supposed to present drug resistance to traditional chemotherapeutics which usually have overt side effects. Therefore, it is very important to explore high effective natural medicine against GC with low toxicity for clinical application. In the previous study, we found that α -hederin extracted from the seeds of *Nigella glandulifera* Freynet Sint. could inhibit proliferation and induce apoptosis, down-regulate glutathione (GSH), and strengthen the inhibition effect of thymoquinone (TQ) in GC cells. We speculate that GSH depletion could cause an accumulation of ROS, and stimulate the Caspase-cascade mediated apoptosis of GC cells. On the other hand, ROS could suppress the expression of NF- κ B resulting in the inhibition of proliferation and invasion. What's more, the down-regulation of NF- κ B, which is a key downstream molecular of PTEN signaling pathway, plays a pivotal role in the relationship of α -hederin and TQ. In the present research, the drug-resistant GC cell lines will be established and the models of human gastric carcinoma in nude mice would be made by orthotopic transplantation. The synthesis of GSH in the cancer cell lines and models would be promoted and interfered by specific promoter and inhibitor. Based on these, the expression of GSH and related proteins in GC cell lines would be detected in the present of α -hederin to verify the essential roles of α -hederin in the regulation of inhibiting proliferation and inducing apoptosis in tumor cells. Moreover, the effects of α -hederin on the proliferation and apoptosis of GC cells induced by TQ would also be investigated, which will provide profound foundations for further employment of *Nigella glandulifera* against gastric cancer in the future.

Keywords: Gastric cancer; α -Hederin; Thymoquinone; Chemotherapy; Mechanism



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 | 董卫国 | 1966. 11 | 男 | 教授 | 博士 | 武汉大学 | 13986167388 | 420106196611164450 | 项目负责人 | 5 | | | | |
| 2 | 王静 | 1987. 06 | 女 | 博士生 | 学士 | 武汉大学 | 13477092336 | 372328198706080343 | 负责细胞实验 | 10 | | | | |
| 3 | 张吉翔 | 1986. 07 | 男 | 博士生 | 硕士 | 武汉大学 | 13659857350 | 420281198607291611 | 负责分子生物学实验 | 10 | | | | |
| 4 | 朱文倩 | 1987. 04 | 女 | 博士生 | 硕士 | 武汉大学 | 13387628988 | 420106198704058445 | 负责裸鼠实验 | 6 | | | | |
| 5 | 刘娅 | 1988. 12 | 女 | 博士生 | 学士 | 武汉大学 | 15871363977 | 421002198812181424 | 负责裸鼠原位移植瘤构建 | 6 | | | | |
| 6 | 柳舟 | 1988. 10 | 女 | 硕士生 | 学士 | 武汉大学 | 13277980494 | 420581198810240824 | 负责胃癌耐药细胞株构建 | 10 | | | | |
| 7 | 伍丹丹 | 1990. 04 | 女 | 硕士生 | 学士 | 武汉大学 | 15072431649 | 421087199004192748 | 协助分子生物学实验 | 10 | | | | |
| 8 | 刘玉兰 | 1990. 02 | 女 | 硕士生 | 学士 | 武汉大学 | 15527151011 | 370883199002165562 | 协助细胞学实验 | 10 | | | | |
| 9 | 马静静 | 1990. 05 | 女 | 硕士生 | 学士 | 武汉大学 | 13477027368 | 410823199005120120 | 实验数据统计分析 | 10 | | | | |
| 总人数 | | | 高级 | | 中级 | | 初级 | | 博士后 | | 博士生 | | 硕士生 | |
| 9 | | | 1 | | | | | | | | 4 | | 4 | |



国家自然科学基金项目资金预算表（定额补助）

项目名称： 瘤果黑种草子主要抗胃癌活性成分作用机制研究

项目负责人：董卫国

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 | 65.6000 | / |
| 2 | （一）直接费用 | 55.0000 | |
| 3 | 1、设备费 | 2.0000 | |
| 4 | （1）设备购置费 | 2.0000 | 移液器、振荡器、电泳仪等小型仪器配置 |
| 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 | 38.4000 | 细胞系、动物、药物、抗体、试剂盒等 |
| 8 | 3、测试化验加工费 | 4.0000 | 流式细胞仪、共聚焦/正置/倒置显微镜 |
| 9 | 4、燃料动力费 | 0.0000 | |
| 10 | 5、差旅费 | 2.0000 | 参加学术交流8人次，每人2500元 |
| 11 | 6、会议费 | 0.0000 | |
| 12 | 7、国际合作与交流费 | 0.0000 | |
| 13 | 8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费 | 2.0000 | 论文版面费、成果鉴定、资料印刷等 |
| 14 | 9、劳务费 | 6.2000 | 直接参加研究生7名，每人每月250元 |
| 15 | 10、专家咨询费 | 0.4000 | 病理阅片、数据统计学分析咨询 |
| 16 | 11、其他支出 | 0.0000 | |
| 17 | （二）间接费用 | 10.6000 | |
| 18 | 其中：绩效支出 | 2.6500 | |
| 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。)

本项目直接费用预计支出 55.00 万元, 具体如下:

1、设备费: 2.00 万元

(1) 设备购置费: 实验室内移液器、振荡器、电泳仪等小型仪器配置, 合计 20000 元。

(2) 设备试剂费: 无

(3) 设备改造与租赁费: 无

2、材料费: 38.40 万元

(1) 原材料/试剂/药品购置费 32.70 万元

①购买 GES-1、BGC-823、SGC-7901、HGC-27 细胞株, 细胞培养相关试剂(胎牛血清、RPMI 1640 培养基、胰酶、DMSO 等), 细胞培养瓶、培养板、培养皿等, 合计 76000 元。

②购买 α -常春藤皂苷、百里醌, 合计 18000 元。

③购买丁胱亚磺酰亚胺、N-乙酰半胱氨酸、5-氟尿嘧啶, 合计 12000 元。

④购买正乙烷、乙酸乙酯、正丁醇、甲醇、丙醇等化学试剂, 合计 8000 元。

⑤武汉大学医学部动物实验中心购买裸鼠, 供裸鼠原位移植瘤实验, 合计 38000 元。

⑥抗体: PTEN、STAT3、p-STAT3、AKT、NF- κ B、Cyt C、AIF、Apaf-1、Cyclin A、Cyclin D、survivin、c-myc、CDK4、CDK6、p21、p15、caspase-3、caspase-7、caspase-9、Bcl-2、Bax、GAPDH 等, 购自 cell signaling technology、sigma、Abcam 等公司, 合计 95000 元。

⑦试剂盒: GSH 和 GSSG 检测试剂盒、caspase-3 检测试剂盒、caspase-6 检测试剂盒、caspase-7 检测试剂盒、caspase-9 检测试剂盒、ROS 检测试剂盒、ATP 检测试剂盒、 Ca^{2+} 检测试剂盒、Real-time PCR 试剂盒、TUNEL 凋亡检测试剂盒、Annexin-V-PI 凋亡检测试剂盒、细胞周期检测试剂盒、Cell-Counting Kit-8 试剂盒等, 合计 55000 元。

⑧Western-blot 相关试剂(荧光二抗、SDS-PAGE 胶、甘氨酸等)、PCR 相关试剂(琼脂糖、TAE 缓冲液等), 共计 25000 元。

(2) 其他 5.70 万元

①P3 实验室动物饲养费, 30000 元。

②购买离心管、吸头等耗材费, 25000 元。

③CO₂、液氮等, 2000 元。

3、测试化验加工费: 4.00 万元

①流式细胞仪检测费: 细胞周期的检测, 预计检测样本量为 300 次, 共计 15000 元; 检测细胞凋亡, 预计检测样本量为 300 次, 共计 15000 元。

②正置、倒置荧光显微镜使用费, 5000 元。

③共聚焦显微镜使用费, 3000 元。

④其它测试费, 2000 元。

4、燃料动力费: 无

5、差旅费: 2.00 万元

参加国内学术交流 8 人次, 每人次 2500 元(含会议注册、住宿、交通等), 共 20000 元。

6、会议费: 无

7、国际合作与交流费: 无



8、出版/文献/信息传播/知识产权事务费：2.00 万元

①发表 SCI 论文 2-3 篇，版面费约 16000 元。

②文献检索、学术讲座、成果鉴定，2000 元。

③资料、印刷等相关费用，2000 元。

9、劳务费：6.20 万元

直接参加项目研究的研究生 7 名（5 人 10 月/年，2 人 6 月/年），每人每月 250 元，共 62000 元。

10、专家咨询费 0.40 万元

①病理阅片、分析咨询费，1 人*500 元/天*4 天，2000 元。

②实验数据统计学分析咨询费，1 人*500 元/天*4 天，2000 元。

11、其他支出：无

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：81572426），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> | | | | | | |