



项目批准号	81874390
申请代码	H2902
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：一贯煎影响巨噬细胞极化调控肝祖细胞分化干预肝硬化的效应机制

直接费用：60万元 执行年限：2019.01-2022.12

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：周文超 电 话：021-51322043

填表日期：2018年08月17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”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：根据批准资助的直接费用，按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》填报资金预算表和预算说明书。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. 国家自然科学基金基础科学中心项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，应当根据评审委员会和现场考察专家组的意见和建议，进一步完善并细化研究计划，作为评估和验收的依据。按下列提纲撰写：
  - (1) 五年拟开展的研究工作（包括主要研究方向、关键科学问题与研究内容）；
  - (2) 研究方案（包括骨干成员之间的分工及合作方式、学科交叉融合研究计划等）；
  - (3) 年度研究计划；
  - (4) 五年预期目标和可能取得的重大突破等；
  - (5) 研究队伍的组成情况。
5. 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	副主任医师		
	是否在站博士后	否			电子邮件	ypmu8888@126.com		
	电 话	021-20256526			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	周文超			电子邮件	zhoudabai@yeah.net		
	电 话	021-51322043			网站地址	http://www.shutcm.edu.cn		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	一贯煎影响巨噬细胞极化调控肝祖细胞分化干预肝硬化的效应机制						
	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	H2902:中西医结合临床基础						
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2019.01-2022.12						
	直 接 费 用	60万元						



## 项目摘要

### 中文摘要:

调控内源性肝祖细胞向肝实质细胞分化有望成为肝硬化治疗的新途径,但明确其调控机制是目前面临的关键科学问题。基于一贯煎有效治疗肝硬化的基础与临床证据,及其调控巨噬细胞极化、Wnt信号通路活化及肝祖细胞分化取向等前期工作基础,提出“在肝硬化病理微环境,一贯煎可能下调巨噬细胞M1极化,减少非经典Wnt配体释放,抑制肝祖细胞非经典Wnt信号,从而抑制其向肌成纤维细胞分化;可能上调巨噬细胞M2极化,释放经典Wnt配体,激活肝祖细胞经典Wnt信号,促进其向肝实质细胞分化”假说。拟采用巨噬细胞耗竭、骨髓源巨噬细胞浸润阻断、巨噬细胞极化移植、骨髓间充质干细胞与极化巨噬细胞共培养后移植、巨噬细胞极化阻断、巨噬细胞Wnts分泌阻断、极化巨噬细胞与肝祖细胞基因改造共培养等方法,探析巨噬细胞影响肝祖细胞分化机制,揭示一贯煎调控巨噬细胞极化与肝祖细胞分化干预肝硬化的效应机制,为一贯煎治疗肝硬化的临床应用提供理论基础。

### Abstract:

Regulating the differentiation of endogenous hepatic progenitor cells into hepatic parenchymal cells is expected to become a new approach for reversing cirrhosis, so elucidating the regulatory mechanism underlying it is now become a key scientific issue of anti-cirrhotic study. Based on the rather good efficacy of Yiguanjian on cirrhosis in basic and clinical researches, and further mechanism study of our previous work that reveals Yiguanjian can regulate macrophage polarization, Wnt signaling activation and hepatic progenitor cell differentiation. We put forward the hypothesis that "in the pathological microenvironment of cirrhosis, Yiguanjian decoction might inhibit the differentiation of hepatic progenitor cells into myofibroblasts through inhibition of M1 polarization of macrophages, which further inhibit non-canonical Wnt signaling pathway activation in hepatic progenitor cells through reducing non-canonical Wnt ligands release; on the other hand, Yiguanjian decoction might promote the differentiation of hepatic progenitor cells into hepatic parenchymal cells through promoting M2 polarization of macrophages, which releasing canonical Wnt ligands to activate canonical Wnt pathway of hepatic progenitor cells." To verify our hypothesis, hepatic macrophage depletion, block bone marrow macrophage infiltration, polarized macrophage transplantation, bone marrow mesenchymal stem cells transplanted after co-culture with polarized macrophages, the secretion of Wnts from macrophages blockage, polarized macrophages co-culture with hepatic progenitor cells after gene modification, and blocking macrophage polarization are to be used to explore the mechanisms of macrophage on hepatic progenitor cell differentiation and to reveal the action mechanisms of Yiguanjian decoction on cirrhosis might be regulating the polarization of macrophages and the differentiation of hepatic progenitor cells. This study would provide a sound theoretical basis for the clinical application of Yiguanjian decoction in the treatment of cirrhosis.

**关键词(用分号分开):** 肝硬化; 巨噬细胞; 肝祖细胞; Wnt信号通路; 一贯煎

**Keywords(用分号分开):** cirrhosis; macrophage; hepatic progenitor cells; Wnt signaling pathway; Yiguanjian 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	副主任医师	博士	上海中医药大学	021-20256526	642226197111172217	项目负责人	6				
2	陈佳美	1987. 01	女	助理研究员	博士	上海中医药大学	021-20256526	330281198701023347	骨髓巨噬细胞分离培养	4				
3	徐莹	1989. 09	女	博士生	硕士	上海中医药大学	021-20256525	640102198909110329	骨髓间充质干细胞分离及体外实验	5				
4	肖准	1989. 08	男	博士生	硕士	上海中医药大学	021-20256525	412823198908180017	巨噬细胞与肝干细胞相互作用实验	5				
5	陈龙	1991. 05	男	博士生	硕士	上海中医药大学	021-20256525	330327199105270335	体外PCR及蛋白印迹实验	5				
6	陈高峰	1974. 02	男	主管技师	学士	上海中医药大学	021-20256526	310226197402101314	组织病理，免疫组化	3				
7	胥文	1993. 03	男	硕士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	320911199303221518	模型制备及巨噬细胞耗竭实验	10				
8	简迅	1991. 08	女	硕士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	420821199108133089	模型制备，骨髓源巨噬细胞浸润阻断实验	10				
9	张定棋	1991. 12	男	硕士生	学士	上海中医药大学	021-20256525	433126199112305013	模型制备，巨噬细胞移植实验	10				
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
9			1		2		0		0		3		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：81874390

项目负责人：慕永平

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	60.0000
2	1、设备费	0.0000
3	(1)设备购置费	0.00
4	(2)设备试制费	0.00
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.00
6	2、材料费	37.2000
7	3、测试化验加工费	0.0000
8	4、燃料动力费	0.00
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	3.00
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	3.00
11	7、劳务费	16.8000
12	8、专家咨询费	0.00
13	9、其他支出	0.00



## 预算说明书（定额补助）

（请按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》的有关要求，对各项支出的主要用途和测算理由，以及合作研究外拨资金、单价 $\geq 10$ 万元的设备费等内容进行必要说明。）

**项目直接费用合计：60 万**

### 1、设备费：0.00

- (1)设备购置费：0.00
- (2)设备试制费：0.00
- (3)设备升级改造与租赁费：0.00

### 2、材料费：37.2 万

- (1) 动物：13.3 万
  - a) 雌性 F344 大鼠：428 只，0.02 万/只，计 8.56 万，用于制备肝硬化动物模型；
  - b) 雌性 F344 大鼠：23 只，0.02 万/只，计 0.46 万，用于分离骨髓巨噬细胞和骨髓间充质干细胞；
  - c) 动物饲养费：1.0 元/只/天，428 只大鼠，共饲养 14w，按 100 天计算，1.0 元/只/天 $\times 428$  只 $\times 100$  天=4.28 万。
- (2) 抗体：3.5 万
  - a) 免疫共染及蛋白印迹一抗：计划检测 15 个指标，0.20 万/支，计 3.0 万；
  - b) 蛋白印迹实验第二抗体：0.1 万/支，预计需 5 支，计 0.5 万。
- (3) 人肝脏库普弗细胞：用于体外实验，1.0 万/支，预计需 3 支，计 3.0 万。
- (4) 人肝脏祖细胞：用于体外实验，1.0 万/支，预计需 2 支，计 2.0 万。
- (5) ICG-001：用于阻断  $\beta$ -catenin，0.25 万/支，预计需 1 支，计 0.25 万。
- (6) WIF-1：用于阻断 Wnt 信号通路，0.25 万/支，预计需 1 支，计 0.25 万。
- (7) 大鼠表皮生长因子：用于骨髓巨噬细胞分离与培养，0.3 万/支，预计需 3 支，计 0.9 万。
- (8) 大鼠成纤维细胞生长因子：用于骨髓巨噬细胞分离与培养，0.3 万/支，预计需 3 支，计 0.9 万。
- (9) 氯膦酸脂质体：用于体内耗竭肝脏巨噬细胞，0.75 万/瓶，由于用于大鼠，预计需 4 瓶，计 3.0 万。
- (10) CCR2 抑制剂 RS102895：用于体内抑制骨髓巨噬细胞浸润，0.4 万/瓶，由于用于大鼠，预计需 6 瓶，计 2.4 万。
- (11) PORCN 抑制剂 Wnt-C59：用于抑制巨噬细胞分泌 Wnts 蛋白，0.2 万/支，预





计需 2 支，计 0.4 万。

(12) Wnt3A 过表达质粒：0.8 万/支，预计需 1 支，计 0.8 万。

(13) Wnt3A 小干扰 RNA：Wnt3A 基因敲减，0.6 万/支，预计需 1 支，计 0.6 万。

(14) Wnt5A 过表达质粒：0.6 万/支，预计需 1 支，计 0.6 万。

(15) Wnt5A 小干扰 RNA：Wnt5A 基因敲减，0.6 万/支，预计需 1 支，计 0.6 万。

(16) Frizzled2 过表达质粒：0.8 万/支，预计需 1 支，计 0.8 万。

(17) Frizzled2 小干扰 RNA：Frizzled2 基因敲减，0.6 万/支，预计需 1 支，计 0.6 万。

(18) Frizzled5 过表达质粒：0.8 万/支，预计需 1 支，计 0.8 万。

(19) Frizzled5 小干扰 RNA：Frizzled5 基因敲减，0.6 万/支，预计需 1 支，计 0.6 万。

(20) IRF5 阻断剂 (GTX89902-PEP)：0.25 万/支，预计需 1 支，计 0.25 万。

(21) STAT1 阻断剂 (Fludarabine)：0.25 万/支，预计需 1 支，计 0.25 万。

(22) STAT3 阻断剂 (Stattic)：0.2 万/支，预计需 1 支，计 0.2 万。

(23) STAT5 阻断剂 (STAT5-IN-1)：0.25 万/支，预计需 1 支，计 0.25 万。

(24) STAT6 阻断剂 (leflunomide)：0.35 万/支，预计需 1 支，计 0.35 万。

(25) SOCS3 小干扰 RNA：0.6 万/支，预计需 1 支，计 0.6 万。

### **3、测试化验加工费：0.00**

### **4、燃料动力费：0.00**

### **5、差旅/会议/国际合作与交流费：3.0 万**

计划参加一次国际肝病学术会议，预计支出 2.0 万元。

计划参加 3 次国内学术会议，预计支出 1.0 万元。

### **6、出版/文献/信息传播/知识产权事物费：3.0 万**

计划发表本课题资助的学术论文 6 篇，其中 SCI 论文 3 篇，每篇版面费约 0.7 万，计 2.1 万；3 篇中文核心期刊论文，每篇版面费约 0.3 万，计 0.9 万。总计 3.0 万。

### **7、劳务费：16.8 万**

用于直接参加项目研究的研究生劳务费，硕士研究生 3 人，共计 120 月，0.08 万/月， $120 \text{ 月} \times 0.08 \text{ 万} = 9.6 \text{ 万}$ ；博士研究生 3 人，共计 60 月，0.12 万/月， $60 \text{ 月} \times 0.12 = 7.2 \text{ 万}$ 。合计 16.8 万。



**8、专家咨询费：0.00**

**9、其他支出：0.00**

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：81874390），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>						



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



815739481003472

# 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制

Version: 1.003.472



## 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 $\beta$ 、OV6、Sox9、 $\alpha$ -SMA、fibulin-2、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 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 $\kappa$ 、Numb、IKK $\alpha$ 、pIKK $\alpha$ 、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<sup>+</sup>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>						



项目批准号	81173223
归口管理部门	
申请代码	H2708
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：滋肾养肝方药调控胎肝干/祖细胞在硬化肝脏中的分化取向及其机制

资助经费：60.00 万元 执行年限：2012.01-2015.12

负责人：慕永平

通讯地址：上海市蔡伦路 1200 号

邮政编码：201203 电话：021-20256526

电子邮件：ypmu8888@26.com

依托单位：上海中医药大学

联系人：陈跃来 电话：021-51322043

填表日期：2011年9月5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.nsf.gov.cn/](http://www.nsf.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	慕永平	性 别	男	出生年月	1971 年 11 月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	副主任医师		
	电 话	021- 20256526		电子邮件		ypmu8888@26. 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	曙光医院						
依托单位信息	名 称	上海中医药大学					代 码	20003206
	联 系 人	陈跃来		电子邮件		chenyuel ai @63. com		
	电 话	021- 51322043		网站地址		www. shut cm com		
合作单位信息	单 位 名 称						代 码	
项目基本信息	项 目 名 称	滋肾养肝方药调控胎肝干/ 祖细胞在硬化肝脏中的分化取向及其机制						
	资 助 类 别	面上项目			亚 类 说 明			
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H2708: 中医内科						
	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):

干细胞有望取代原位肝移植,成为肝硬化治疗的新手段,其体内分化取向是影响其发展的关键问题。基于胎肝干细胞替代原位肝移植的潜在优势,结合滋肾养肝复方一贯煎诱导干细胞向肝细胞分化的证据,提出并论证"胎肝干细胞在进展期硬化肝脏中可能向肌成纤维细胞分化,呈现促纤维化作用;一贯煎可能诱导胎肝干细胞向功能性肝细胞分化,与胎肝干细胞联合可能发挥促进硬化肝组织结构重建的综合优势,其主要机制可能与调控巨噬细胞亚群的平衡有关"。研究以硬化肝脏重建为切入点,以胎肝干细胞和一贯煎为研究对象,建立2-乙酰氨基苄/四氯化碳F344雌性大鼠肝硬化模型,采用雄性Dk+胎肝干细胞移植、异硫氰酸荧光素标记的Y染色体探针、多重免疫荧光激光共聚焦及流式细胞等技术,探明Dk+胎肝干细胞在硬化肝脏中的分化取向、一贯煎对其影响及主要机制,评价胎肝干细胞联合一贯煎治疗肝硬化的潜在优势,为发展中医药联合干细胞移植治疗肝硬化奠定科学基础。

关键词(不超过5个,用分号分开): 干细胞; 巨噬细胞; 肝再生; 肝硬化; 一贯煎

Abstract(limited to 500 words):

Stem cells is expected to replace liver transplantation which has become a new therapeutic method for liver cirrhosis, but the differentiation of stem cell in vivo is the key of scientific problem for this technology that is used to patients with cirrhosis. Based on the potential advantages of fetal liver stem cells to replace the liver transplantation, and combined with the evidence of Yi guan jian with nourishing the kidney and the liver effect that which induced liver stem cells differentiate to hepatocytes in vivo, we propose the hypothesis that "In the advanced stage of liver cirrhosis, fetal liver stem cells may have the orientation of differentiating to myofibroblast, and promoting the fibrosis progress. However, combined with Yi guan jian which may have the function of induction of differentiation from fetal liver stem cells to functional hepatocytes, this interaction may play a compositional predominance for the reconstruction of cirrhotic liver, in which the mechanism of regulation of macrophage subsets balance may be mainly involved". Thus, this study will target the effects of fetal liver stem cells combined with Yi guan jian on the reconstruction of cirrhotic liver. First, the liver cirrhosis model induced by 2-acetylaminofluorene combined with carbon tetrachloride in F344 female rats will be established. Second, male Dk+ fetal liver stem cell will be transplanted. Third, fluorescein isothiocyanate-labeled Y chromosome probe, multiple immunofluorescence confocal and flow cytometry technology will be used to demonstrate the differentiation orientation of Dk+ fetal liver stem cell in the cirrhotic liver, and the effects and mechanisms of Yi guan jian in this pathologic process. At last, evaluation of the potential advantages of fetal liver stem cells combined with Yi guan jian treatment for cirrhosis can be got. which will offer the scientific evidence of Chinese medicine combined with stem cell transplantation for treatment of cirrhosis.

Keywords(limited to 5 keywords, separated by;): stem cell; macrophage; liver regeneration; liver cirrhosis; Yi guan jian



## 经费预算表

(金额单位: 万元)

## 预算编制说明:

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;
2. 编制经费预算时, 不考虑不可预见因素和前期投入;  
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。

科 目	预算经费	备 注 (计算依据与说明)
<b>一. 研究经费</b>	46. 0000	
1. 科研业务费	5. 8200	
(1) 测试/ 计算/ 分析费	1. 0200	血清肝功能检测, 0. 006 万/ 份× 170 份=1. 02 万
(2) 能源/ 动力费	1. 8000	占研究经费的 3%, 用于水、电、煤气等消耗
(3) 会议费/ 差旅费	1. 0000	参加国内学术会议 2 次, 每次差旅费、会务费 0. 5 万, 2 × 0. 5=1. 0 万
(4) 出版物/ 文献/ 信息传播事务费	2. 0000	论文发表版面费: 0. 4 万/ 篇× 5 篇=2. 0 万
(5) 其它	0. 0000	
2. 实验材料费	40. 1800	
(1) 原材料/ 试剂/ 药品购置费	40. 1800	动物及药物 5. 14 万; 抗体、PCR 引物及关联试剂 29. 04 万; 体外实验 6. 0 万
(2) 其它	0. 0000	
3. 仪器设备费	0. 0000	
4. 实验室改装费	0. 0000	
5. 协作费	0. 0000	
<b>二. 国际合作与交流费</b>	2. 0000	
1. 项目组成员出国合作交流	2. 0000	究内容参与本领域国际学术交流一次, 会务费、差旅费等 2. 0 万
2. 境外专家来华合作交流	0. 0000	
<b>三. 劳务费</b>	9. 0000	占研究经费的 15%, 直接参加项目研究的研究生劳务费
<b>四. 管理费</b>	3. 0000	占研究经费的 5%, 项目承担单位为项目组织和实施所需的费用
<b>合 计</b>	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
	<b>其他经费来源合计</b>	0. 0000



## 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：81173223），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						
本栏目主要用于重大项目等	<p>科学部审查意见：</p> <p>负责人（签章）： 年 月 日</p>						
	<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>						