

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

孙殿兴 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：

81672041，项目名称：复制型HBV载体表达免疫抑制因子制备HBV慢性感染树模型的研究，直接费用：85.00万元，项目起止年月：2017年01月至2020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。**注意：请严格按照《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》填写计划书的资金预算表，其中，劳务费、专家咨询费科目所列金额与申请书相比不得调增。**

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**2016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**2016年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2016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

国家自然科学基金委员会
医学科学部
2016年8月17日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81672041	项目负责人	孙殿兴	申请代码1	H1904
项目名称	复制型HBV载体表达免疫抑制因子制备HBV慢性感染树鼯模型的研究				
资助类别	面上项目	亚类说明			
附注说明	疾病动物模型建立				
依托单位	中国人民解放军白求恩国际和平医院				
直接费用	85.00 万元	起止年月	2017年01月 至 2020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>主要内容</p> <p>该项目制备3种理论上具有免疫抑制功能的HBV载体（分别表达EB病毒和巨细胞病毒IL-10、仙台病毒C蛋白N端肽），在细胞培养条件下观察其分子生物学和免疫学特性，以筛选出对树鼯具有免疫抑制活性者；利用重组HBV颗粒感染树鼯，观察其慢性HBV感染情况。最终建立慢性HBV感染的树鼯模型。</p> <p>科学问题或假说</p> <p>一直以来，树鼯能够被HBV自然感染但无法建立动物模型的原因是HBV感染树鼯后被体内先天免疫及适应性免疫应答快速清除。如果赋予HBV 额外的功能，抑制免疫清除，那么有望可以制备HBV 慢性感染的树鼯模型。</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</p> <p>该项目预期可以构建得到3种具有免疫抑制功能的复制型HBV载体；将3种表达免疫抑制产物的复制型HBV载体导入树鼯，预期出现HBV慢性感染的症状，获得类似人感染HBV慢性化的树鼯模型。</p> <p>科学价值和意义</p> <p>本研究借用其它病毒的生存策略，通过HBV 载体赋予HBV 额外的功能，制备一种强化了免疫抑制功能的重组HBV，不仅可以用于感染树鼯，未来也可以用于NTCP 转基因小动物（需维持HBV cccDNA 形成）的HBV 慢性感染。建立树鼯慢性感染HBV 模型，重组HBV 感染后，在动物体内形成病毒携带状态或慢性肝炎、肝硬化，甚至肝癌，这主要取决于免疫平衡程度。将有望解决多年未决的HBV 慢性感染的动物模型的问题。进一步将有助于抗HBV 药物及疫苗的研发。</p> <p>（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性</p> <p>该项目提出的科学问题十分明确，即通过补偿性手段（伴随HBV复制的同时表达免疫抑制产物）改变HBV感染树鼯后被免疫清除的结局，具有较强的创新性。</p> <p>（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线</p> <p>该项目研究内容独具特色，立论基础扎实而合理。整体研究方案和技术路线都具有很好的可操作性，基本能够对其猜想和假说进行完整性验证。不足之处在于，3种复制型兼免疫抑制功能的HBV载体，是否会在树鼯体内表现出预期的效果。理想与现实出现差距后是否还有完善或补救方案？通过补偿方式实现的HBV感染慢性化模型与天然状态下形成的HBV感染慢性化状况是具有一定差别的，这对以后利用此模型进行HBV致病机理深入研究是否会造成差异性的结论？</p> <p>（四） 申请人的研究能力和研究条件</p> <p>申请者具有较强的科研能力和学术造诣，近年来的学术成果较多，本项目的前期工作准备非常扎实。课题组成员搭配合理，整体科研水平较高，各项软硬件的研究条件也充分具备。</p> <p>（五） 其它意见或修改建议</p>					

<2>

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

参照EB病毒、CMV病毒、仙台病毒等可以产生病毒IL-10等抑制性免疫分子干扰人体抗病毒免疫、达到慢性感染的生存策略，本研究试图构建一种HBV复制型载体，并在该载体中插入上述病毒IL-10等抑制性分子序列，使其即能表达HBV所有蛋白又能表达病毒IL-10等免疫抑制性分子。再此基础上，将表达病毒IL-10等免疫抑制分子的复制型HBV载体转入肝癌细胞系，检测抗病毒相关免疫分子的表达，并进一步感染树鼯，动态检测血清病毒学指标的变化，试图建立HBV慢性感染的树鼯模型。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

本研究着眼于HBV病毒和EBV、CMV及仙台病毒等都具有抑制人体抗病毒免疫的特点，赋予HBV表达ebvIL-10、cmvIL-10的能力，额外增加HBV的免疫抑制能力。但是，HBV引起的人体免疫抑制其机制非常复杂，可能不仅仅是通过额外表达病毒IL-10等免疫抑制性分子就可以模拟。本研究可能无法达到预期目的。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

本研究科学假说明确，着眼于HBV病毒和EBV、CMV及仙台病毒等都具有抑制人体抗病毒免疫的特点，赋予HBV表达ebvIL-10、cmvIL-10的能力，额外增加HBV的免疫抑制能力，希望在树鼯中建立HBV慢性感染的模型。具有一定的创新性。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

动物实验的研究方案存在明显不足，如周龄、数量、观测时间点、具体感染的病毒量等重要环节均没有详细叙述，不具有可行性。

（四） 申请人的研究能力和研究条件

研究者在构建质粒方面具有非常丰富的经验和基础，并涉及过动物实验。具备本研究进行所需要的研究能力及硬件设备。

（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

该申请拟将具有免疫抑制功能的外源基因插入到HBV基因组内，利用重组病毒感染树鼯，观察期慢性感染状态，以期提供一个HBV慢性感染的动物模型，为研究HBV慢性感染机制，抗HBV药物或疫苗的研发提供技术平台。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

该项申请你在野生型HBV的基础，通过基因重组技术构建能表达外源免疫抑制因子重组HBV病毒，以对抗机体免疫反应的树鼯感染模型，为研究HBV慢性感染机制，抗HBV药物或疫苗的研发提供技术平台，有潜在的应用价值。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

目前已有不少项目以类似的方法研究类似的科学问题，缺乏创新性。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

该申请采取的都是成熟的方法和技术，技术路线可行，能达到研究目的。

（四） 申请人的研究能力和研究条件

申请者有很好的研究背景，并有不错的科研产出。

（五） 其它意见或修改建议

<4>

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

目前仍缺乏理想的HBV慢性感染动物模型。虽已确认树鼯对HBV易感，但短暂病毒血症后迅速被免疫系统清除。即使未来NTCP转基因动物能感染，也将遇到类似问题。HBV感染的结局取决于抗病毒免疫与病毒免疫抑制相互作用，包括HBV在内的许多病毒的生存策略是依靠其免疫抑制功能，本项目拟强化HBV的免疫抑制功能进而达到实现慢性感染。本项目在国家自然科学基金

短期资助下成功制备了复制型HBV载体，使得赋予HBV额外免疫抑制功能成为可能。本项目制备3种理论上具有免疫抑制功能的HBV载体（分别表达EB病毒和巨细胞病毒IL-10、仙台病毒C蛋白N端肽），在细胞培养条件下观察其分子生物学和免疫学特性，以筛选出对树鼩具有免疫抑制活性者；利用重组HBV颗粒感染树鼩，观察其慢性HBV感染情况。本研究将提供通用的导致慢性HBV感染的重组HBV，并提供一个慢性HBV感染的小动物模型，将有助于抗HBV药物及疫苗的研发。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

通过本项目的实施，可望构建成功至少一种表达免疫抑制因子并维持复制能力的HBV载体，利用该载体有可能成功构建慢性感染重组HBV的树鼩模型。关于树鼩支持HBV的感染已有相关报道，本项目鉴于HBV在树鼩体内的一过性感染，拟通过强化HBV免疫抑制功能而使得HBV在树鼩体内达到慢性感染，本项目具有较高科学价值。本项目借助于EBV、SV等病毒的生存策略，通过HBV载体赋予HBV额外功能，制备一种强化免疫抑制功能的重组HBV，在此基础上拟构建树鼩慢性感染HBV模型，该模型的成功建立将为HBV研究领域以及抗乙肝药物和疫苗研发提供实验工具。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

本项目拟借助其它病毒如EBV、SV的生存策略，赋予HBV额外的免疫抑制功能，使得机体对HBV形成免疫耐受状态。在已知树鼩能够感染HBV的前提下，制备具有高病毒载量的HBV慢性感染模型。项目的科学问题较为明确，具有较大创新性。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

研究内容较合适，方案合理，技术路线较为清晰。通过本项目的实施有可能获得慢性HBV 感染的树鼩模型。

（四） 申请人的研究能力和研究条件

申请人具有较强研究能力，初步具备完成本项目所需的研究条件。

（五） 其它意见或修改建议

<5>

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

该课题拟制备三种理论上具有免疫抑制功能的HBV 载体（分别表达EB病毒和巨细胞病毒IL-10，仙台病毒C蛋白N端肽），在细胞培养条件下观察其分子生物学和免疫学特性，以筛选出对树鼩具有免疫活性者；利用重组的HBV颗粒感染树鼩，观察其慢性HBV感染情况。最终利用导致慢性HBV感染的重组的HBV，建立起一个慢性HBV感染的小动物模型，有助于抗HBV药物及疫苗的研发。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

该项目选题较为合理，课题的目的、意义比较明确。缺乏适合的慢性感染动物模型是当前阻碍HBV相关的基础和前临床研究的主要瓶颈。制备慢性HBV感染的树鼩模型困难很大，但是也迫切需要建立方便有效的，与人类有较近亲缘关系的慢性感染HBV的动物模型。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

该项目有一定前期工作基础，提出的科学假说较明确，具有一定的创新性。HBV蛋白对宿主免疫功能具有抑制作用，有助于建立持续感染，但是在树鼩模型上，HBV只能形成急性或一过性感染，病毒很快会被免疫系统清除，无法建立慢性感染模型。申请者设想制备重组HBV，在野生型HBV基础上通过基因修饰额外表达免疫抑制因子，在树鼩肝脏内形成病毒携带状态或慢性肝炎，有较强的创新性。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

该项目研究内容充实，研究方法成熟，采用的技术路线可行。建议在重组HBV质粒筛选过程中使用浓缩病毒对树鼩原代肝细胞进行感染实验验证，如果能够建立起慢性感染细胞模型后，再来制备树鼩慢性感染动物模型。

（四） 申请人的研究能力和研究条件

申请者具有长期从事HBV慢性感染模型的研究工作，先后主持了7项国家自然科学基金和国家传染病防治重大专项项目，有着扎实的理论基础和丰富的科研经验。申报单位具备开展该项工作的基础和条件。同时申请者和德国弗莱堡大学肝病和胃肠病研究所Nassal M 教授有合作关系（建议提供一封Nassal M 教授的合作支持信）。该项目研究队伍结构合理，有前期工作

基础，研究条件成熟。

（五） 其它意见或修改建议

基金开展的是科学性研究；申请人的实验室改造计划不应该由自然科学基金来承担, 应该由申请人所在单位负责。

对研究方案的修改意见：

医学科学部

2016年8月17日

关于联合实施“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项“HBV 细胞和动物模型的建立和应用”课题的协议

课题责任单位：华中科技大学（以下简称甲方）

联合单位：中国人民解放军白求恩国际和平医院（以下简称乙方）

甲乙双方本着团结、合作的精神，经友好协商，就联合实施“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项课题“HBV 细胞和动物模型的建立和应用”（2012ZX10004503）（以下简称课题）达成下列协议：

一、甲方的任务和职责

1. 甲方作为课题责任单位，负责把握课题总体研究工作的进展，协调各相关单位合作，组织项目的中期考核，检查乙方的经费使用情况；
2. 甲方负责监督乙方子课题研究进展情况，协调乙方子课题进度并予以指导，根据需要召开课题协调会议；
3. 尊重乙方的成果，保守技术秘密；
4. 乙方研究总经费计划为 38.31 万元，其中 2012 年为 14.44 万元，2013 年为 11.66 万元，2014 年为 7.61 万元，2015 年为 4.60 万元，甲方有权根据专家委员会的评估确定最终拨款金额；
5. 国家下拨经费后，甲方将及时下拨相关经费。

二、乙方的任务和职责

1. 乙方负责完成子课题十二“可示踪 HBV 稳定复制细胞模型”的研究内容，并严

格按照任务合同书的要求在规定的时间节点完成所有研究目标、研究内容和考核指标；

2. 乙方须按时向甲方汇报研究进展情况、经费使用情况并及时向甲方提供相关研究数据；

3. 乙方须严格按照国家有关规定使用经费；

三、知识产权和保密

1. 遵守国家法律和规定，注意保密和知识产权保护，各方的专利和成果申请应按约定内容各自负责。

2. 相互尊重，在进行对外交流与合作时，涉及其它方研究内容，需征得其它方书面同意。

四、免责条款

1. 在课题实施过程中若有其他未尽事宜，由双方协商解决。

2. 本协议一式二十五份，其中上报给专项实施办公室十五份，双方各占五份，具有同等法律意义。

3. 协议自双方签字盖章之日起施行，有效期至课题验收结束。

课题责任单位: (盖章)



课题负责人: (签字)

2012年6月15日

联合单位: (盖章)



子课题负责人: (签字)

2012年6月14日