

浙江省基础公益研究计划

项目计划书

立项编号 LZ21H030002

项目名称: 脂肪细胞外泌体 miR-103 调控肝细胞自噬与焦亡在 NASH 中的作用及机制研究

计划类别: 省自然科学基金

项目类别: 重点项目

项目负责人: 金希 电话: 13867465085

电子邮箱: jxf1007@hotmail.com

通信地址: 浙江省/杭州市/上城区 . 杭州市庆春路 79 号

邮政编码: 310003

依托单位: 浙江大学

联系人: 陈曦 电话: 13735836286

申报日期: 2020-11-20

浙江省科学技术厅
浙江省自然科学基金委员会
二〇二〇年制

填写说明

- 一、收到《浙江省基础公益研究计划项目立项通知》后，请认真阅读省基础公益研究计划有关项目和经费管理办法，按要求认真填写《浙江省基础公益研究计划项目计划书》（简称《计划书》）。填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确，并认真阅读本填报说明。
- 二、项目负责人应当按照申请书的内容填写《计划书》，除根据确定的资助额度对项目经费预算进行适当调整外，不得对申请书的其他内容进行变更。依托单位应对《计划书》内容进行审核。
- 三、《计划书》经项目负责人和依托单位签字盖章，并经省自然科学基金委员会办公室审核批准后，将作为项目执行、检查、验收的依据。
- 四、资助项目的有关研究成果，包括论文、专著、专利、获奖等情况，均须按规定标注“浙江省基础公益研究计划项目”（属于省自然科学基金的可标注“浙江省自然科学基金项目”）和立项编号。
- 五、省基础公益研究计划的项目经费管理（包括省级财政拨款经费、联合资助经费、自筹经费）依照省财政关于科技项目的有关经费管理要求执行，非省级财政拨款单位联合资助经费参照执行。

基本信息

负责人信息	姓 名	金希	性别	男	出生日期	1980-4-9
	电 话	13867465085	E-mail		jxfl007@hotmail.com	
	证件类型	身份证 18 位	证件号码		332602198004090155	
项目基本信息	项目名称	脂肪细胞外泌体 miR-103 调控肝细胞自噬与焦亡在 NASH 中的作用及机制研究				
	英文名称	Research on the effect and mechanism of adipose derived exosome-miR-103 on NASH by regulating autophagy and pyroptosis				
	计划类别	省自然科学基金	项目类别	重点项目		
	项目研究阶段	基础研究				
	国家自然科学基金学科代码	H0314				
	国家自然科学基金学科代码名称	医学科学部/消化系统/肝脏代谢障碍及相关疾病				
	国家标准学科分类与代码	3202425				
	国家标准学科分类与代码名称	临床医学/内科学/消化病学				
	预计研究年限	2021 年 1 月 至 2023 年 12 月				
	项目总经费	30	其中省财政资助经费	30 万元		
	中文关键词	非酒精性脂肪性肝炎；外泌体；小 RNA；自噬；焦亡				
英文关键词	NASH;exosome;microRNA;autophagy;pyroptosis					
中文摘要	项目研究内容与目标： 非酒精性脂肪性肝炎(NASH)是临床常见且危害重大的慢性肝病，具体机制未明。作为新近发现的重要细胞死亡方式，自噬与焦亡在 NASH 发生发展中是否起到作用及具体调控机制不明。申请人团队前期发现 NLRP3 炎性小体（一种自噬与细胞焦亡过程中的关键因子）在 NASH 进展中起调控作用；同时结合 miRNA 表达谱、生信预测及荧光素酶检测发现 NASH 特异性增高的 miR-103 可靶向调控 PTEN 和 TXNIP(自噬和焦亡相关重要蛋白)；再通过文献复习发现 NASH 中脂肪外泌体 miR-103 水平明显增高。据此，申请人提出假说：在 NASH 进展中，脂肪细胞分泌外泌体 miR-103 水平增加，为肝细胞摄入后，通过靶向自噬与焦亡相关通路来调控疾病进展。本课题拟从分子、细胞、动物水平等多层次明确脂肪外泌体 miR-103 在 NASH 进展中的作用；确定该作用是否通过调控自噬与焦亡实现并揭示其可能的下游调控通路(PTEN-AMPK/mTOR 和 TXNIP-NLRP3)。本研究将从脂肪细胞外泌体 miRNA 远距离调控肝细胞自噬和焦亡这个新视点来探讨 NASH 发生发展机制，将为疾病防治提供新思路，同时也为“脂-肝对话”研究提供示范平台。					

项目组成员

编号	姓名	成员类别	证件号码	性别	单位名称	电话
1	金希	负责人	332602198004090155	男	浙江大学	13867465085
2	何俊玲	会员成员	330602197404180524	女	浙江大学/医学院/附属第一医院	13588174325
3	万星勇	会员成员	320902198712078010	男	浙江大学/医学院/附属第一医院	15088676695
4	胡凤玲	会员成员	330724198210151360	女	浙江大学/医学院/附属第一医院	13656680891
5	续文婷	会员成员	15212519891112026X	女	浙江大学/医学院/附属第一医院	18458212979
6	张洁	非会员成员	350322199103163060	女	浙江大学医学院附属第一医院	0571-87236861
7	任越	非会员成员	330411199410303687	女	浙江大学医学院附属第一医院	0571-87236861

项目经费

项目总经费 30 万元，其中省财政资助经费 30 万元（第一批财政拨款 15 万元，第二批财政拨款 15 万元），联合资助经费 0 万元，自筹经费 0 万元。

科研经费	名称	项目总经费预算 (万元)
直接费用	1、设备费	0.00
	2、材料费	13.00
	3、测试化验加工费	2.00
	4、燃料动力费	0.00
	5、差旅费、会议费、合作、协作研究与交流费	2.00
	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.00
	7、人员劳务费	3.00
	8、专家咨询费	0.00
间接费用	9、间接费用	9.00

需增添的仪器及设备：

无

研究计划

2021 年度

研究内容: (1), NASH 动物模型腹部脂肪及循环外泌体 miRNA 表达谱研究及下游靶基因预测
通过高脂饮食建立 NASH 大鼠动物模型, 常规提取并鉴定(电镜、外泌体孔径及表面蛋白测定)
脂肪及循环中的外泌体, 以 miRNA 表达谱芯片初筛外泌体中差异表达的 miRNA, 选取在脂
肪及循环外泌体中均显著增高的 miRNA, 行 qRT-PCR 验证。进一步针对验证的 miRNA, 进
行生物信息学分析, 预测一批与 NASH 发生发展相关的靶点, 为后续扩大研究提供基本数据
支持。

(2), 体内外实验观察脂肪来源外泌体 miR-103 表达情况及经其循环进入肝细胞的现象研究
在成功提取及鉴定外泌体的基础上, 以 qRT-PCR 分别测定腹部脂肪及循环外泌体所装载
miR-103 和肝细胞 miR-103 水平。在动物层面, 通过尾静脉注射 PKH26 标记的腹部脂肪及循
环外泌体, 免疫组织荧光检测正常大鼠肝脏、脂肪组织对外泌体的摄取情况; 另将具有
hsa_miR-103 的慢病毒或空白对照直接注射到 SD 大鼠腹部脂肪组织中, 四天后, 给同一只大
鼠尾静脉内注射 miR-103 带有 3'-UTR 的荧光素酶基因的慢病毒, 确定脂肪来源的 miRNA 与
肝脏之间存在通讯, 并使用活体成像技术观察体内发光现象。同时在细胞层面提取原代脂肪
细胞、3T3-L1 脂肪细胞和 L02 正常肝细胞联合 Transwell 共培养技术, 荧光标记 (PKH26、
Cy3)、和 FISH 探针法来验证肝细胞可内吞循环外泌体 miR-103。

研究目标: 在成功构建 NASH 动物模型的基础上, 明确 miR-103 在脂肪、循环外泌体及肝脏
中的表达情况, 探索并验证一批差异性表达 miRNA, 联合生物信息学分析预测与 NASH 相关
的下游基因, 构建若干条 miRNA-mRNA 调控通路, 为后续研究提供基础。

2022 年度

研究内容: 脂肪及循环外泌体 miRNA 表达谱初筛、qRT-PCR 验证及生物信息学分析, 肝细胞
摄入脂肪外泌体 miR-103 实验, miR-103 RNA pull-down 筛选其可能下游调控 mRNA, 联合生
物信息学预测及 qRT-PCR 验证, 进一步建立相关研究技术平台。

研究目标: (1)在动物和细胞层面, 阐明肝细胞可内吞循环外泌体 miR-103, 为“脂肪分泌
miR-103 经循环运送至肝脏发挥作用”这一假说提供理论依据。

(2), 在前期预实验基础上, 进一步验证 miR-103 对 PTEN 和 TXNIP 的调控, 同时以生物素化
miRNA-103 进行 RNA pull-down, 联合 mRNA 芯片初筛/qRT-PCR 验证探索 miR-103 可能下游
基因, 最后以生物信息学分析富集与 NASH 发生发展相关的通路, 为进一步拓展脂肪外泌体
miR-103 调控 NASH 提供初步数据。

2023 年度

研究内容: 针对 miR-103 表达情况行 RNA 干扰或基因过表达, 研究 NASH 表型变化(脂质沉
积及炎症程度), 并探索下游可能机制 (包括自噬和细胞焦亡), 总结数据, 撰写论文, 参加
国内外学术会议与交流。

研究目标: 分别在体内和体外层面靶向 miR-103, 系统研究其对 NAHS 疾病表型的影响, 进
一步聚焦下游自噬和细胞焦亡通路, 为其调控机制研究提供新思路。

预期研究成果:

- (1), 明确脂肪、循环外泌体及肝脏 miR-103 在 NASH 中的表达, 阐明脂肪外泌体 miR-103 是否可被肝细胞摄入。
- (2), 获得以 miR-103 为靶点的 NASH 治疗的初步结果, 阐明其通过下游 PTEN 和 TXNIP 对自噬和细胞焦亡的调控作用, 促进原基础研究成果向临床应用转化。
- (3), 通过脂肪和循环外泌体 miRNA 表达谱初筛、生物信息学预测、qRT-PCR 验证及 miR-103 mRNA pull-down 实验, 构建 miRNA-mRNA 功能研究的平台, 为后续 NASH 作用机制及调控网络研究奠定基础。
- (4), 将上述实验成果积极总结后通过发表论文、大会交流等形式, 保持并扩大申请人在该研究领域的领先地位, 预期发表 SCI 论文 1-2 篇、参加国内、国际学术交流 1-2 次, 培养研究生 1-2 名。

预期发表的主要期刊论文 2 篇:

S(S)CI 收录	2	EI 收录	0	其他发表论文	0
-----------	---	-------	---	--------	---

预期完成的其他成果 0 项:

授权的发明专利	0	专著	0
---------	---	----	---

签字和盖章页

我接受浙江省基础公益研究计划的资助, 将按照项目申请书、批准通知和计划书负责实施本项目, 严

拟解决的重点科学问题:

拟解决的重点科学问题	具有较高原创水平, 预期取得突破性成果			
	有望发表 在国际顶 级期刊数 量	支持支撑 核心技术 率先突破 数量	有望获国 家自然科 学奖数量	其他突破性成果
脂肪外泌体 miR-103 经循环为肝细胞吸收, 通过调控自噬和细胞焦亡影响 NASH 发生发 展	1	0	0	无

格遵守浙江省基础公益研究计划相关项目和经费管理规定, 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。

项目负责人(签字):

年 月 日

我单位同意承担上述浙江省基础公益研究计划项目, 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, 严格遵守浙江省基础公益研究计划相关项目和经费管理规定, 并督促实施。

依托单位(公章):

年 月 日

浙江省自然科学基金委员会办公室审批意见：

同意。

浙江省自然科学基金委员会办公室

年 月 日

浙江省基础公益研究计划
项目计划书

立项编号	LY21H030005		
项目名称:	DDX11-AS1/miRNAs/PTEN 轴调节肠上皮细胞自噬在克罗恩病发生发展中的机制研究		
计划类别:	省自然科学基金		
项目类别:	探索项目		
项目负责人:	陈栋	电话:	13588053319
电子邮箱:	cdking@zju.edu.cn		
通信地址:	浙江省/杭州市/上城区 . 庆春路 79 号		
邮政编码:	310003		
依托单位:	浙江大学		
联系人:	陈曦	电话:	13735836286
申报日期:	2020-11-19		

浙江省科学技术厅
浙江省自然科学基金委员会
二〇二〇年制

填写说明

- 一、收到《浙江省基础公益研究计划项目立项通知》后，请认真阅读省基础公益研究计划有关项目和经费管理办法，按要求认真填写《浙江省基础公益研究计划项目计划书》（简称《计划书》）。填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确，并认真阅读本填报说明。
- 二、项目负责人应当按照申请书的内容填写《计划书》，除根据确定的资助额度对项目经费预算进行适当调整外，不得对申请书的其他内容进行变更。依托单位应对《计划书》内容进行审核。
- 三、《计划书》经项目负责人和依托单位签字盖章，并经省自然科学基金委员会办公室审核批准后，将作为项目执行、检查、验收的依据。
- 四、资助项目的有关研究成果，包括论文、专著、专利、获奖等情况，均须按规定标注“浙江省基础公益研究计划项目”（属于省自然科学基金的可标注“浙江省自然科学基金项目”）和立项编号。
- 五、省基础公益研究计划的项目经费管理（包括省级财政拨款经费、联合资助经费、自筹经费）依照省财政关于科技项目的有关经费管理要求执行，非省级财政拨款单位联合资助经费参照执行。

基本信息

负责人信息	姓 名	陈栋	性别	男	出生日期	1981-12-22
	电 话	13588053319	E-mail		cdking@zju.edu.cn	
	证件类型	身份证 18 位	证件号码		330824198112220057	
项目基本信息	项目名称	DDX11-AS1/miRNAs/PTEN 轴调节肠上皮细胞自噬在克罗恩病发生发展中的机制研究				
	英文名称	Mechanism of DDX11-AS1/miRNAs/PTEN axis regulating autophagy of intestinal epithelial cells in the development of Crohn's Disease				
	计划类别	省自然科学基金	项目类别	探索项目		
	项目研究阶段	基础研究				
	国家自然科学基金学科代码	H0306				
	国家自然科学基金学科代码名称	医学科学部/消化系统/消化道内环境紊乱、黏膜屏障障碍及相关疾病				
	国家标准学科分类与代码	3202710				
	国家标准学科分类与代码名称	临床医学/外科学/普通外科学				
	预计研究年限	2021 年 1 月 至 2023 年 12 月				
	项目总经费	10	其中省财政资助经费	10 万元		
	中文关键词	克罗恩病; DDX11-AS1; miRNAs; PTEN; 自噬				
	英文关键词	Crohn's Disease; DDX11-AS1; miRNAs; PTEN; autophagy				

中文摘要

项目研究内容与目标:

克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 是一种自身免疫紊乱相关疾病, 发病率在我国逐年上升, 严重影响患者生活质量。CD 的确切病因尚不明确, 但已有研究提示肠上皮细胞及自噬改变在其中起重要作用。申请人前期通过收集 CD 患者和健康人的血浆进行 lncRNA 和 mRNA 的高通量测序, 并结合 qRT-PCR 验证后发现与自噬相关的 lncRNA DDX11-AS1 和 mRNA PTEN 在 CD 患者中呈高表达。同时在构建的 CD 模型小鼠结肠组织中也证实 DDX11-AS1 和 PTEN 蛋白呈高表达。结合生物信息学和竞争性内源 RNA (Competing endogenous RNA, CeRNA) 分析发现 miR-873-5p、miR-766-5p 和 miR-499b-5p 分别与 DDX11-AS1 和 PTEN 都有潜在的结合位点, 并通过 qRT-PCR 技术在 TNF- α 诱导的 Caco-2 细胞中证实了 DDX11-AS1 和 PTEN 的高表达和上述 miRNAs 的低表达。据此申请人提出“DDX11-AS1 通过 miRNAs/PTEN 轴调控肠上皮细胞自噬, 加剧肠道屏障受损, 从而影响 CD 发生发展”的假说。后续拟聚焦 DDX11-AS1, 利用自噬流测定、RNA 干扰等体内外实验研究 1) 其在 CD 小鼠模型及肠上皮细胞的表达差异; 2) 其是否可通过调节肠上皮细胞自噬, 加剧肠屏障功能受损; 3) 体内抑制 DDX11-AS1 表达对 CD 疾病表型影响如何, 以及该影响是否通过自噬起作用; 4) 进一步结合生物信息学和 CeRNA 分析结果所预测的调控网络, 通过 qRT-PCR 和双荧光素酶报告基因等技术验证其介导的 miRNAs/PTEN 通路存在; 5) 明确 DDX11-AS1 对自噬的调控是否通过上述通路。本研究的开展将为 CD 诊治提供新的理论解释。

项目组成员

编号	姓名	成员类别	证件号码	性别	单位名称	电话
1	陈栋	负责人	330824198112220057	男	浙江大学	13588053319
2	张敏	会员成员	140502198206030529	女	浙江大学/医学院/基础医学系	13777878251
3	梁宇光	会员成员	330624197905230399	男	浙江大学/医学院/附属第一医院	13516803431
4	宋巍	会员成员	330781198906040252	男	浙江大学/医学院/附属第一医院	18758193102
5	吴伟	非会员成员	332525199508097311	男	浙江大学/医学院	0571-87236882
6	任越	非会员成员	330411199410303687	女	浙江大学/医学院	0571-87236882
7						

项目经费

项目总经费 10 万元，其中省财政资助经费 10 万元（第一批财政拨款 10 万元，第二批财政拨款 0 万元），联合资助经费 0 万元，自筹经费 0 万元。

科研经费	名称	项目总经费预算 (万元)
直接费用	1、设备费	0.00
	2、材料费	4.30
	3、测试化验加工费	1.00
	4、燃料动力费	0.00
	5、差旅费、会议费、合作、协作研究与交流费	0.50
	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	0.20
	7、人员劳务费	1.00
	8、专家咨询费	0.00
间接费用	9、间接费用	3.00

需增添的仪器及设备:

无

研究计划

2021 年度

研究内容: CD 动物模型与 Caco-2 细胞模型构建及模型评价, 收集结肠组织检测 CD 表型变化, 测定 DDX11-AS1 表达以及观察自噬水平变化。

研究目标: 验证 CD 模型小鼠自噬变化以及 DDX11-AS1 及其下游靶基因表达情况。

2022 年度

研究内容: 体外细胞水平针对 DDX11-AS1 表达情况行 RNA 干扰和过表达, 行双荧光素酶报告基因、qRT-PCR、Western blot、免疫荧光等实验。

研究目标: 在细胞水平验证 DDX11-AS1 介导的 miRNAs/PTEN 通路调控肠上皮自噬的内在机制。

2023 年度

研究内容: 慢病毒干扰 DDX11-AS1 的表达, 检测自噬水平和 CD 表型变化。

研究目标: 动物水平验证干扰 DDX11-AS1 对调节自噬改善 CD 疾病表型的影响。

预期研究成果:

- (1) 明确结肠组织中 DDX11-AS1 在 CD 中的表达, 阐明 DDX11-AS1 可参与调控肠上皮自噬的作用;
- (2) 获得以 DDX11-AS1 为靶点的 CD 治疗的初步结果, 利用生物信息学和 CeRNA 分析所预测的调控网络, 结合 qRT-PCR 及双荧光素酶报告基因检测实验, 验证该自噬调控, 促进原基础研究成果向临床应用转化;
- (3) 将上述实验成果积极总结后通过发表论文、大会交流等形式, 提升申请人在该研究领域的地位;
- (4) 发表高质量 SCI 论文 1 篇、参加国内学术交流 1 次, 协助培养研究生 2 名。

预期发表的主要期刊论文 1 篇:

S(S)CI 收录	1	EI 收录	0	其他发表论文	0
-----------	---	-------	---	--------	---

预期完成的其他成果 0 项:

授权的发明专利	0	专著	0
---------	---	----	---

拟解决的重点科学问题:

- (1) 在 CD 发生发展过程中, DDX11-AS1 表达情况如何? 其是否通过影响肠上皮细胞自噬, 进一步破坏肠道屏障?
- (2) DDX11-AS1 对 CD 表型及自噬的影响是否通过其介导的 miRNAs/PTEN 通路? 可否作为 CD 治疗的潜在靶点?

签字和盖章页

我接受浙江省基础公益研究计划的资助,将按照项目申请书、批准通知和计划书负责实施本项目,严格遵守浙江省基础公益研究计划相关项目和经费管理规定,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。

项目负责人(签字):

2020 年 12 月 30 日

我单位同意承担上述浙江省基础公益研究计划项目,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,严格遵守浙江省基础公益研究计划相关项目和经费管理规定,并督促实施。

依托单位(公章):

年 月 日

浙江省自然科学基金委员会办公室审批意见:

同意。

浙江省自然科学基金委员会办公室

年 月 日

关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知

金希 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：

81770574，项目名称：CircRNA-007585-miRNA-326-UCP2调控通路在非酒精性脂肪性肝炎中的作用及机制研究，直接费用：51.00万元，项目起止年月：2018年01月至2021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**2017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**2017年9月18日16点**；
- 3、报送计划书纸质版截止时间为**2017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表

国家自然科学基金委员会
医学科学部
2017年8月17日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	81770574	项目负责人	金希	申请代码1	H0314
项目名称	CircRNA_007585-miRNA-326-UCP2调控通路在非酒精性脂肪性肝炎中的作用及机制研究				
资助类别	面上项目	亚类说明			
附注说明	常规面上项目				
依托单位	浙江大学				
直接费用	51.00 万元	起止年月	2018年01月 至 2021年12月		
通讯评审意见： <1> 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 申请人提出“CircRNA_007585通过高效竞争性吸附miR-326来增加UCP2表达以促进NASH发生发展”的科学假说。拟分析circRNA_007585、miR-326和UCP2在NASH中的表达及调控情况，并分别对它们进行过表达或拮抗，以探索对NASH程度的影响和可能下游机制。 二、具体意见 （一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 明确circRNA_007585、miR-326及UCP2在NASH中的表达及circRNA_007585-miR-326和miR-326-UCP2的调控关系，为获得以circRNA_007585、miR-326及UCP2为靶点的NASH治疗提供理论支撑，具有一定的科学价值和意义。 （二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 作者提出了明确的科学假说：“CircRNA_007585通过高效竞争性吸附miR-326来增加UCP2表达以促进NASH发生发展”，具有一定的创新性。但存在立项基础不扎实的情况。第一，虽然既往有关于UCP2在NASH中表达上调的报道，但它是NASH的原因或是伴随现象尚不确定，而它又是本研究的重要靶基因，但申请者无相关的预实验结果证明其表达改变会影响NASH的证据，预期结果存在不确定性。第二，申请人根据已有的研究报道miR-326在细胞凋亡中的调控作用及与肝癌的相关性，推测其在NASH发生发展中亦起到重要作用，理由有些许牵强。第三，单纯根据生物信息学预测CircRNA_007585调节通路在NASH中的作用，而无相关的预实验结果，立项基础不够扎实。 （三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线 研究内容、研究方案及所采用的技术路线合理，有逻辑性，实验设计尚可。 （四） 申请人的研究能力和研究条件 申请人在本领域具有较好的研究积累，但关于本课题的立项尚缺乏一些必要的关键支撑性预实验数据。 （五） 其它意见或修改建议 <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 项目研究假设circRNA-miR-326-UCP2调控通路在NASH发生发展中的分子机制。 二、具体意见 （一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义 预期结果验证circRNA-miR-326-UCP2调控通路，再利用海量的组学数据进行功能研究，为NASH及其他疾病研究提供新思路。 （二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性 验证circRNA-miR-326-UCP2通路是否可行，探索其调控NASH表型的下游机制，科学问题明确，比较有创新性。					

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

研究内容与技术路线能够验证所提出的假说，逻辑性较强，可行度高。

（四） 申请人的研究能力和研究条件

申请者多年从事NAFLD及非编码RNA的相关研究，所在实验室成员实验技术成熟，课题组也能为课题开展提供相应的技术平台。

（五） 其它意见或修改建议

无

<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

本项目在前期研究基础上提出“CircRNA_007585通过高效竞争性吸附miRNA-326增加UCP2表达以促进NASH发生发展”的学术假说，主要进行以下方面的研究：1. NASH动物模型和细胞模型上CircRNA_007585，miRNA-326，UCP2水平的测定以及相关分析；2. 体外验证CircRNA_007585对miRNA-326，miRNA-326对UCP2的调控作用；3. CircRNA_007585-miRNA-326-UCP2通路调控后对NASH的影响。

二、具体意见

（一） 申请项目的预期结果及其科学价值和意义

本项目以线粒体功能失调为出发点，从CircRNA_007585-miRNA-326-UCP2通路来阐述NASH的发病机制，具有较大的科学价值和意义。

（二） 科学问题或假说是否明确，是否具有创新性

在申请人前期基础上提出的科学假说具有创新性。

（三） 研究内容、研究方案及所采用的技术路线

CircRNA_007585-miRNA-326-UCP2通路的gap也比较多，建议首先通过研究明确UCP2蛋白在NASH中的作用。

（四） 申请人的研究能力和研究条件

项目申请人研究基础扎实，具有完成该项目的研究条件。

（五） 其它意见或修改建议

1. 研究内容中所采用的MCD饮食诱导NASH模型表现为消瘦，胰岛素敏感性增加等；与人类自然发生的肥胖，胰岛素抵抗等表型并不一致，在该模型上进行CircRNA_007585-miRNA-326-UCP2通路验证分析得到的结论不一定准确，建议同时在人或肥胖的NASH模型中进行验证；
2. 本项目涉及多种关键技术，RACE，RIP，FISH，Northern blot等，在研究方法和手段中较少进行说明，文中在关键技术部分提到了详细研究方案。

修改意见：

医学科学部

2017年8月17日