



|        |                    |
|--------|--------------------|
| 项目批准号  | 82174160           |
| 申请代码   | H3302              |
| 归口管理部门 |                    |
| 依托单位代码 | 23003808A0018-0030 |



821741601002755

# 国家自然科学基金 资助项目计划书 (预算制项目)

资助类别: 面上项目

亚类说明:

附注说明:

项目名称: 芪黄煎剂抑制大鼠胃切除细菌移位及其基于lncRNA  
MALAT1海绵miR-146a调控TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路诱导巨噬细胞M1型极化  
机制

直接费用: 55万元 执行年限: 2022.01-2025.12

负责人: 于庆生

通讯地址: 安徽省合肥市前江路1号

邮政编码: 230012 电话:

电子邮件: qsy6312@163.com

依托单位: 安徽中医药大学

联系人: 吴鹏 电话: 0

填表日期: 2021年10月19日

## 国家自然科学基金资助项目计划书填报说明

### （预算制项目）

- 一、项目负责人收到《国家自然科学基金资助项目批准通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明，参照国家自然科学基金相关项目管理办​​法和新修订的《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》（以下简称《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《国家自然科学基金资助项目计划书》（以下简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要科学严谨、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、检查和验收的依据。
- 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：各类获资助项目都应当填写中、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》所附“项目评审意见及修改意见表”中“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：根据批准的项目资助额度，按规定调整项目预算，并按照《国家自然科学基金项目计划书预算表编制说明》填报资金预算表和预算说明书。
  - （五）正文：
    1. 面上项目、地区科学基金项目：如果《批准通知》所附“项目评审意见及修改意见表”中“修改意见”栏目没有修改要求的，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》中上述栏目明确要求调整研究期限或研究内容等的，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、原创探索计划项目：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、验收技术指标等）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（如有）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. 创新研究群体项目：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. 基础科学中心项目：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，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

|         |           |                                                                         |     |      |                  |    |     |               |
|---------|-----------|-------------------------------------------------------------------------|-----|------|------------------|----|-----|---------------|
| 项目负责人信息 | 姓 名       | 于庆生                                                                     | 性 别 |      | 出生年月             |    | 民 族 | 汉族            |
|         | 学 位       | 硕士                                                                      |     |      | 职称               | 教授 |     |               |
|         | 是否在站博士后   | 否                                                                       |     | 电子邮件 | qsy6312@163.com  |    |     |               |
|         | 电 话       | 0551-62838509                                                           |     | 个人网页 |                  |    |     |               |
|         | 工 作 单 位   | 安徽中医药大学                                                                 |     |      |                  |    |     |               |
|         | 所 在 院 系 所 | 第一附属医院                                                                  |     |      |                  |    |     |               |
| 依托单位信息  | 名 称       | 安徽中医药大学                                                                 |     |      |                  |    | 代码  | 23003808A0018 |
|         | 联 系 人     | 吴鹏                                                                      |     | 电子邮件 | 460275786@qq.com |    |     |               |
|         | 电 话       | 0551-68129064                                                           |     | 网站地址 | www.ahtcm.edu.cn |    |     |               |
| 合作单位信息  | 单 位 名 称   |                                                                         |     |      |                  |    |     |               |
|         |           |                                                                         |     |      |                  |    |     |               |
| 项目基本信息  | 项 目 名 称   | 芪黄煎剂抑制大鼠胃切除细菌移位及其基于lncRNA MALAT1海绵miR-146a调控TLR4/NF-κB信号通路诱导巨噬细胞M1型极化机制 |     |      |                  |    |     |               |
|         | 资 助 类 别   | 面上项目                                                                    |     |      | 亚 类 说 明          |    |     |               |
|         | 附 注 说 明   |                                                                         |     |      |                  |    |     |               |
|         | 申 请 代 码   | H3302:中西医结合临床基础                                                         |     |      | H3109:中医外科学      |    |     |               |
|         | 基 地 类 别   |                                                                         |     |      |                  |    |     |               |
|         | 执 行 年 限   | 2022.01-2025.12                                                         |     |      |                  |    |     |               |
|         | 直 接 费 用   | 55万元                                                                    |     |      |                  |    |     |               |

## 项目摘要

## 中文摘要:

胃切除可引起细菌移位,进而诱导了肠巨噬细胞M1型极化,再度加重细菌移位这一病理进程。巨噬细胞M1型极化受到TLR4/NF- $\kappa$ B信号调控,后者又受到lncRNA MALAT1分子海绵miR-146a的调控。前期研究发现芪黄煎剂能够保护肠屏障、防治细菌移位发生。为此提出科学设想:通过芪黄煎剂干预MALAT1海绵miR-146a调控TLR4/NF- $\kappa$ B,实现抑制巨噬细胞M1型极化、防治细菌移位之目标。

动物实验通过:①高通量测序对移位细菌定位、定性、定量分析;②流式观察肠巨噬细胞M1型极化;③PCR、WB检测信号轴分子表达;评价芪黄煎剂对胃切除细菌移位的防治及其初步机制。细胞实验通过:LPS诱导巨噬细胞M1型极化,观察信号轴分子表达;及其沉默MALAT1/miR-146a、阻断TLR4/NF- $\kappa$ B后再观察下游分子表达;进一步明确芪黄煎剂抑制巨噬细胞M1型极化的作用及其分子机制。

## Abstract:

Gastrectomy can cause bacterial translocation and further induce the polarization of intestinal macrophagocyte M1, which in turn aggravate the pathological process of bacterial translocation. The polarization of intestinal macrophagocyte M1 is regulated through TLR4/ NF- $\kappa$ B signaling pathway, and the latter is controlled by lncRNA MALAT1 sponge miR-146a. Recent researches suggest that Qihuang decoction can protect intestinal mucosal barrier and prevent bacterial translocation. Therefore, we put forward a scientific idea that Qihuang decoction can intervene TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway through lncRNA MALAT1 sponge miR-146a regulation, thus restrain the polarization of macrophagocyte M1 and ultimately achieve the aim of inhibiting bacterial translocation.

The following animal experiments were conducted to evaluate the inhibiting bacterial translocation effect of Qihuang decoction and explore the preliminary mechanism: ① High-throughput sequencing for localization, qualitative analysis and quantitative analysis of displaced bacteria. ② The polarization of intestinal macrophagocyte M1 was observed by flow cytometry. ③ The expression of signal molecules was detected by PCR and WB. Besides, cell experiments were also preformed to further clarify the molecular mechanism of Qihuang decoction inhibiting macrophagocyte M1 polarization, including LPS inducing M1 polarization, observing the expression of signal molecules, and silencing MALAT1/miR-146a as well as blocking TLR4/ NF- $\kappa$ B followed by the observation of downstream molecules expression.

**关键词(用分号分开):** 芪黄煎剂; 胃切除; 细菌移位; 巨噬细胞M1型极化; 分子机制

**Keywords(用分号分开):** Qihuang Decoction; Gastrectomy; Bacterial translocation; Macrophagocyte M1 polarization; Molecular 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<br>(月) |     |  |     |  |
|-----|-----|------|----|-------|----|---------|----|------|---------|---------------|-----|--|-----|--|
| 1   | 于庆生 |      |    | 教授    | 硕士 | 安徽中医药大学 |    |      | 项目负责人   | 10            |     |  |     |  |
| 2   | 张琦  |      |    | 副主任医师 | 博士 | 安徽中医药大学 |    |      | 项目设计及指导 | 8             |     |  |     |  |
| 3   | 张珺  |      |    | 副教授   | 博士 | 安徽中医药大学 |    |      | 实验设计及实施 | 9             |     |  |     |  |
| 4   | 黄龙  |      |    | 主治医师  | 博士 | 安徽中医药大学 |    |      | 方案设计    | 9             |     |  |     |  |
| 5   | 王伟  |      |    | 主治医师  | 博士 | 安徽中医药大学 |    |      | 动物实验指导  | 8             |     |  |     |  |
| 6   | 彭辉  |      |    | 博士生   | 硕士 | 安徽中医药大学 |    |      | 实验实施    | 10            |     |  |     |  |
| 7   | 李立祥 |      |    | 博士生   | 硕士 | 安徽中医药大学 |    |      | 指标检测    | 10            |     |  |     |  |
| 8   | 郑州  |      |    | 医师    | 硕士 | 安徽中医药大学 |    |      | 动物造模    | 8             |     |  |     |  |
| 9   | 胡高斌 |      |    | 硕士生   | 学士 | 安徽中医药大学 |    |      | 指标检测    | 10            |     |  |     |  |
| 总人数 |     |      | 高级 |       | 中级 |         | 初级 |      | 博士后     |               | 博士生 |  | 硕士生 |  |
| 9   |     |      | 3  |       | 2  |         | 1  |      | 0       |               | 2   |  | 1   |  |

国家自然科学基金预算制项目预算表

项目批准号： 82174160

项目负责人：于庆生

金额单位：万元

| 序号 | 科目名称           | 金额      |
|----|----------------|---------|
| 1  | 一、基金资助项目直接费用合计 | 55.0000 |
| 2  | 1、设备费          | 0.0000  |
| 3  | 其中：设备购置费       | 0.0000  |
| 4  | 2、业务费          | 53.0000 |
| 5  | 3、劳务费          | 2.0000  |
| 6  | 二、其他来源资金       | 0.0000  |
| 7  | 三、合计           | 55.0000 |

注：请按照项目研究实际需要合理填写各科目预算金额。

## 预算说明书

(请按照《国家自然科学基金项目计划书预算表编制说明》等的有关要求,按照政策相符性、目标相关性和经济合理性原则,实事求是编制项目预算。填报时,直接费用应按设备费、业务费、劳务费三个类别填报,每个类别结合科研任务按支出用途进行说明。填报时,对单价 $\geq 50$ 万元的设备详细说明,对单价 $< 50$ 万元的设备费用分类说明,对合作研究单位资质及资金外拨情况、自筹资金进行必要说明。)

项目直接费用 55.00 万元

1设备费 0.00 万元

2业务费 53.00万元

2.1实验动物费 1.50 万元

2.1.1动物购买费:1.00 万元 每只 Wistar 大鼠 40.00 元,共购买 250 只(按超过研究 1/3 购买)。

2.1.2动物的饲养与管理:0.50 万元 用于动物饲养,实验前及实验过程中的管理。

2.2细胞实验费 2.80 万元

2.2.1RAW264.7巨噬细胞购买:1.80万元,每瓶0.30万元,共6瓶。

2.2.2细胞培养造模试剂如培养基、小牛血清等:1.00万元。

2.3实验药品费用 3.20 万元

2.3.1中药生药的购买、加工制备:0.60 万元。

2.3.2肠内营养制剂:0.60 万元。

2.3.3实验药品如麻醉剂等:0.80 万元。

2.3.4 TLR4和NF- $\kappa$ B抑制剂:1.20 万元。

2.4实验器具费用 1.00 万元

2.4.1动物手术器具(手术刀、剪刀、镊子、持针器、血管钳、缝线等):0.50 万元。

2.4.2实验操作器具(移液枪、吸头、匀浆管、吸头台、EP 管、试剂瓶、量筒、容量瓶、试管架、塑料小饭盒、大瓷缸、锡泊纸、卷纸、三角烧瓶等):0.50 万元。

2.5肠黏膜上皮结构的检测 0.50 万元 ①丙酮:0.10 万元。每盒 0.05 万元,共需 2 瓶;②戊二醛:0.10 万元。每盒 0.05 万元,共需 2 瓶;③其他普通试剂(磷酸,乙醇等)0.30 万元。

2.6肠黏膜通透性的检测 2.50 万元 ①血清D-乳酸:0.90万元, 每盒 0.30万元,共需 3 盒;②葡聚糖培养液:1.00万元, 每瓶 0.05万元,共需20 瓶;③其他普通试剂(甲醇,甲酸,乙腈,异丙醇,微孔滤膜等)0.60 万元。

2.7 肠道细菌迁移部位、菌属及其定量的检测 5.00 万元 ①高灵敏度DNA 检测试剂盒:1.00万元, 每盒 0.50 万元,共需2盒;②illumina MiSeq基因测序试剂盒:2.00万元, 每盒2.00万元,共需1盒;③细菌基因组DNA提取试剂盒:1.20万元, 每盒0.30万元,共需4盒;④显色基质蓝试剂盒:0.80万元, 每盒0.40万元,共需2盒。

2.8巨噬细胞M1型极化及其生物学行为的检测 10.50 万元 ① F4/80-PE/Cy7荧光抗体:1.20万元。每盒 0.30 万元,共需 4 盒;②CD86-FITC荧光抗体:1.20万元。每盒 0.30 万元,共需 4 盒;③ CD206-PE荧光抗体:1.20万元。每盒 0.30 万元,共需 4 盒;④兔抗大鼠TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6抗体(一抗):1.80万元。每盒 0.30 万元,各需 2 盒,共需 6 盒;⑤羊抗兔(二抗)1.60 万元。每盒 0.20 万元,共需 8 盒;⑥TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的ELISA试剂盒:1.80万元。每盒 0.30 万元,各需2盒,共需 6 盒;⑦其他普通试剂(多聚甲醛、PBS、血清等)1.70 万元。

2.9肠黏膜lncRNA MALAT1海绵miR-146a调控TLR4/NF- $\kappa$ B相关分子mRNA和蛋白表达的检测 13.00 万 ①兔抗大鼠TLR4、MyD88、IRAK1/TRAF-6、NF- $\kappa$ B (P65/P50) 抗体(一抗):2.40万元。每盒 0.20 万元,各需2盒,共需 12 盒;②山羊抗小鼠辣根过氧化物酶标记的IgG抗体(二抗):1.80万,每盒0.15 万元,共需 12 盒;③总 RNA 抽提试剂(Trizol 试剂)1.50 万元。每盒 0.25 万元,共需 6 盒。④逆转录 cDNA 试剂盒 3.00 万元。每盒 0.25万元,共需 12 盒。⑤ TLR4、MyD88、IRAK1/TRAF-6、NF- $\kappa$ B (P65/P50)、lncRNAMALAT1和miR-146a PCR 试剂盒 3.20 万元。每盒 0.20 万元,各需2盒,共需 16 盒。⑥引物的设计合成 0.80 万元,每个分子 0.10 万元,共8个。⑦ PCR 普通试剂(DEPC 水、乙醇、异丙醇、氯仿、琼脂糖、DNA Marker 等)0.30 万元。

**2.10测试化验加工费5.30 万元**

2.10.1肠黏膜上皮细胞超微结构和细胞间紧密连接观察(电镜)的检测费用:0.90 万元。

2.10.2高压液相色谱仪测定尿中乳果糖和甘露醇浓度的检测费用:0.60 万元。

2.10.316sRNA基因高通量测序的检测费用:1.00 万元。

2.10.4TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6的ELISA的检测费用:0.20万元。

2.10.5TLR4、MyD88、IRAK1/TRAF-6、NF- $\kappa$ B(P65/P50)、lncRNAMALAT1和miR-146a mRNA 表达的检测费用:1.30万元。

2.10.6F4/80-PE/Cy7、CD86-FITC、CD206-P、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6E、TLR4、MyD88、IRAK1/TRAF-6、NF- $\kappa$ B(P65/P50)蛋白表达的检测费用:1.30 万元。

**2.11差旅费/会议费/国际合作与交流费5.50 万元**

2.11.1 差旅费用于项目调研 2 次 0.60 万元,每次 0.30 万元 ①会务费:500元/人\*2 人\*2 次=0.20 万元。②住宿费:250 元/人/天\*2 人\*2 天\*2 次=0.20 万元。③车船费:250 元/人\*2 人\*2 趟\*2 次=0.20 万元。

2.11.2参加国内学术会议交流 3 次 0.90 万元,每次 0.30 万元 ①会务费:500 元/人\*2 人\*3 次=0.30万元。

②住宿费:250 元/人/天\*2 人\*2 天\*3 次=0.30 万元。③车船费:250 元/人\*2 人\*2 趟\*3 次=0.30 万元。

2.11.3组织国内国际学术会议 2 次 1.00 万元,每次 0.50 万元。

2.11.4 参加国际学术会议 1 次 1.50 万元 ①会务费:1500 元/人\*2 人=0.30万元;②住宿费:500 元/人\*2 人\*2 天=0.20 万元;③车船费:2000 元/人\*2 人\*2 趟=0.80万元;④保险费、签证费等:0.20 万元。

2.11.5 项目组成员短期出国学习、培训、交流 1 次 1.50 万元 ①会务费:1500 元/人\*2 人=0.30万元;②住宿费:800 元/人\*2 人\*3 天=0.40 万元;③车船费:1500 元/人\*2 人\*2 趟=0.60 万;④保险费、签证费等:0.20 万元。

**2.12出版/文献/信息传播/知识产权事务费 1.60 万元**

2.12.1出版物费:出版研究报告费 0.20 万元。

2.12.2文献:中英文文献检索费 0.40 万元。

2.12.3信息传播费:1.00 万元 ①论文发表版面费 0.60 万元;②研究成果网上或移动传播费 0.20 万元;③ 资料打字复印费;研究资料、论文、研究报告打字复印费:0.20万元。

2.13专家咨询费 0.60 万元 用于研究过程中专家咨询。①会议形式组织的咨询:2000 元/人天\*2 天;②现场访谈形式的咨询 2000元/人天\*1 天。

3劳务费 2.00 万元 用于直接参加研究的研究生加班、误餐补助。

报告正文

研究内容和研究目标按照申请书执行。

## 国家自然科学基金项目负责人、依托单位承诺书

### 国家自然科学基金项目负责人承诺书

本人郑重承诺：我接受国家自然科学基金的资助，严格遵守中共中央办公厅、国务院办公厅《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》《关于进一步弘扬科学家精神加强作风和学风建设的意见》等规定，及国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、项目资金管理等各项规章，在《计划书》填写及项目执行过程中：

（一）按照《批准通知》《国家自然科学基金资助项目计划书填报说明》的要求填写《计划书》，未自行降低、更改目标任务或约定要求，或缩减研究（研制）内容；

（二）树立“红线”意识，严格履行科研合同义务，按照《计划书》负责实施本项目（批准号：82174160），切实保证研究工作时间，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，不违规将科研任务转包、分包他人，不以项目实施周期外或不相关成果充抵交差；

（三）遵守科研诚信、科研伦理规范和学术道德，认真开展研究工作，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，反对无实质学术贡献者“挂名”，不在成果署名、知识产权归属等方面侵占他人合法权益，并如实报告本人及团队成员发生的违背科研诚信要求的任何行为；

（四）尊重科研规律，弘扬科学家精神，严谨求实，追求卓越，反对浮夸浮躁、投机取巧，不人为夸大学术或技术价值，不传播未经科学验证的现象和观点；

（五）将项目资金全部用于与本项目研究工作相关的支出，并结合科研活动需要，科学合理安排项目资金支出进度。

如违背上述承诺，本人愿接受国家自然科学基金委员会和相关部门做出的各项处理决定。

项目负责人（签字）：

2021年10月26日

依托单位科研管理部门：

吴德



负责人（签章）：  
年 月 日

依托单位财务管理部门：



负责人（签章）：  
年 月 日

格林印

### 国家自然科学基金项目依托单位承诺书

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、项目资金管理和科研诚信管理等各项规定，并督促实施。



依托单位（公章）

2021年10月25日



国家自然科学基金资助项目签批审核表

科学处审查意见：

同意按计划执行

负责人（签章）：  
2022年11月20日

韩立伟

科学部审查意见：

同意科学处意见

负责人（签章）：  
2022年11月20日

国章

本栏目由自然科学基金委填写

项目名称: 芪黄煎剂抑制大鼠胃切除细菌移位及其基于lncRNA MALAT1海绵miR-146a调控TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路诱导巨噬细胞M1型极化机制

资助类型: 面上项目

申请代码: H3302. 中西医结合临床基础

### 国家自然科学基金项目申请人和参与者科研诚信承诺书

本人**在此郑重承诺**: 严格遵守中共中央办公厅、国务院办公厅《关于进一步加强科研诚信建设的若干意见》规定, 所申报材料和相关内容真实有效, 不存在违背科研诚信要求的行为; 在国家自然科学基金项目申请、评审和执行全过程中, 恪守职业规范和科学道德, 遵守评审规则和工作纪律, 杜绝以下行为:

- (一) 抄袭、剽窃他人科研成果或者伪造、篡改研究数据、研究结论;
- (二) 购买、代写、代投论文, 虚构同行评议专家及评议意见;
- (三) 违反论文署名规范, 擅自标注或虚假标注获得科技计划等资助;
- (四) 购买、代写申请书; 弄虚作假, 骗取科技计划项目、科研经费以及奖励、荣誉等;
- (五) 在项目申请书中以高指标通过评审, 在项目计划书中故意篡改降低相应指标;
- (六) 以任何形式探听尚未公布的评审专家名单及其他评审过程中的保密信息;

(七) 本人或委托他人通过各种方式及各种途径联系有关专家进行请托、游说, 违规到评审会议驻地游说评审专家和工作人员、询问评审或尚未正式向社会公布的信息等干扰评审或可能影响评审公正性的活动;

(八) 向评审工作人员、评审专家等提供任何形式的礼品、礼金、有价证券、支付凭证、商业预付卡、电子红包, 或提供宴请、旅游、娱乐健身等任何可能影响评审公正性的活动;

(九) 其他违反财经纪律和相关管理规定的行为。

如违背上述承诺, 本人愿接受国家自然科学基金委员会和相关部门做出的各项处理决定, 包括但不限于撤销科学基金资助项目, 追回项目资助经费, 向社会通报违规情况, 取消一定期限国家自然科学基金项目申请资格, 记入科研诚信严重失信行为数据库以及接受相应的党纪政纪处理等。

申请人签字:

| 编号 | 参与者姓名 / 工作单位名称 (应与加盖公章一致) / 证件号码 |
|----|----------------------------------|
| 1  | 张琦 / 安徽中医药大学 / 3*****3           |
| 2  | 张琚 / 安徽中医药大学 / 3*****8           |
| 3  | 黄龙 / 安徽中医药大学 / 3*****X           |
| 4  | 王伟 / 安徽中医药大学 / 3*****2           |
| 5  | 彭辉 / 安徽中医药大学 / 3*****7           |
| 6  | 李立祥 / 安徽中医药大学 / 3*****8          |
| 7  | 郑州 / 安徽中医药大学 / 3*****4           |
| 8  | 胡高斌 / 安徽中医药大学 / 3*****X          |
| 9  |                                  |

合同编号：2008085QH389

项目类别：青年项目



# 安徽省自然科学基金项目 项目合同书

(2020年度)

项目名称：基于中医“脾统血”理论探讨肝硬化脾切除前后血瘀病机的生理学基础以及“健脾活血法”的干预作用

项目依托单位：安徽中医药大学 (盖章)

依托单位地址：安徽省合肥市新站区前江路1号

项目负责人：黄龙 联系电话：13856977063

联系人：吴鹏 联系电话：13866172691

项目起止日期：2020-07-01 至 2022-06-30

安徽省科学技术厅制

二零一九年

## 填写说明

- 1、本合同书由省自然科学基金委员会办公室（以下简称省基金办）指导填写。
- 2、填写《合同书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《合同书》经项目主管部门审核批准后，将作为项目拨款、研究计划执行、检查和验收的依据。
- 3、项目类别指面上项目或青年项目。
- 4、项目组成员和研究内容按申请书执行，一般不得修改。

006102749005

本合同书所称 基于中医“脾统血”理论探讨肝硬化脾切除前后血瘀病机的生理学基础以及“健脾活血法”的干预作用 项目，由[皖科基奖（2020）10号]文批准立项。为规范项目实施和管理，项目主管部门省基金办和项目负责人及项目依托单位签订本合同书，共同遵照执行。

本项目基本表述和规定以申报书和计划文件为准，本合同书条款另有规定的按本合同书执行。

## 一、项目基本信息

|            |                                               |                      |             |                       |            |
|------------|-----------------------------------------------|----------------------|-------------|-----------------------|------------|
| 项目名称       | 基于中医“脾统血”理论探讨肝硬化脾切除前后血瘀病机的生理学基础以及“健脾活血法”的干预作用 |                      |             |                       |            |
| 依托单位名称     | 安徽中医药大学                                       |                      |             |                       |            |
| 项目开始时间     | 2020-07-01                                    | 项目结束时间               | 2022-06-30  |                       |            |
| 依托单位联系人姓名  | 吴鹏                                            | 依托单位联系人手机            | 13866172691 |                       |            |
| 学科名称       | H2709. 中医外科                                   | 项目报审级次（省补助资金拨付所属财政局） | 省级          |                       |            |
| 项目资助金额（万元） | 10.00                                         |                      |             |                       |            |
| 项目负责人信息    | 姓名                                            | 黄龙                   | 性别          | 男                     |            |
|            | 出生年月                                          |                      | 民族          | 汉族                    |            |
|            | 最高学位                                          | 硕士                   | 职称          | 中级-主治医师               |            |
|            | 职务                                            | 无                    | 电话          |                       |            |
|            | 每年工作时间（月）                                     | 11.0                 | 传真          |                       |            |
|            | 所在地区                                          | 合肥市                  | 电子邮箱        | huanglongtest@163.com |            |
|            | 个人通讯地址                                        | 安徽省合肥市梅山路117号        |             |                       |            |
|            | 工作单位                                          | 安徽中医药大学              |             |                       |            |
|            | 主要研究领域                                        | 肝胆疾病诊断与治疗            | 现从事专业       | 中医外科                  |            |
|            |                                               | 授予院校                 | 国别          | 所学专业                  | 授予时间       |
|            | 硕士学位                                          | 安徽医科大学               | 中国          | 普外科                   | 2013-07-01 |
|            | 博士学位                                          | 安徽中医药大学              | 中国          | 中医学                   | 2020-07-01 |
|            |                                               |                      |             | 导师姓名                  | 黄强         |
|            |                                               |                      |             |                       | 于庆生        |

## 二、主要研究内容、预期目标及拟解决的关键问题

### 主要研究内容:

#### 1 血瘀证与血流动力学和血液流变学间的联系

通过建立肝硬化脾切除兔模型，彩超监测内脏血流动力学指标，血流变监测血液粘度，对比研究血瘀证发生前后相关指标变化。

#### 2 血瘀证与细胞因子及相关信号通路的联系

通过建立肝硬化脾切除兔模型，对比研究血瘀证发生前后各项指标变化：①放射免疫法测定血浆血栓素 A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)、前列腺素 I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>)、内皮素 (ET) 和一氧化氮 (NO) 的含量②Elisa 方法检测血清 TGF- $\beta$  1、IFN- $\gamma$ 、VEGF、HIF-1 $\alpha$  的表达，明确血瘀证状态相关信号通路的改变。

#### 3 血瘀证与纤溶活性及血小板活化的联系

Elisa 方法检测血浆组织型纤溶酶原激活剂 (t-PA)、组织型纤溶酶原激活剂抑制物 (PAI) 的表达，明确血瘀证形成与纤溶活性改变间的联系；通过流式细胞方法，流式细胞仪检测血小板膜蛋白 CD63、CD62p、TSP 表达，明确血瘀证状态下血小板活化情况。

#### 4 健脾活血法对脾切除术后血瘀证治疗前后各项指标变化

健脾活血法治疗肝硬化脾切除兔血瘀证模型，综合对比分析治疗前后 TGF- $\beta$  1、HIF-1 $\alpha$  /VEGF 信号通路蛋白、细胞因子 (TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>、ET 和 NO)、纤溶活性指标 (t-PA、PAI) 以及血小板活化指标 (膜蛋白 CD63、CD62p、TSP) 的变化，采用现代研究手段多层次探讨血瘀证形成的机理以及“健脾活血法”治疗血瘀证的可能机制及效用靶点。

### 预期目标:

#### 1 中医血瘀证形成的主要血液理化指标的变化

脾切除后会出现血小板反跳性升高和机体高凝状态，易致门静脉血栓形成和深静脉血栓形成，临床上患者多存在舌暗、有瘀点或瘀斑、舌下静脉曲张、口燥但欲漱水不欲咽、脉微大来迟或涩等血瘀证表现特征。机体在形态、结构、代谢、功能等诸多方面发生改变，现代研究认为，血液流变学、血液循环及血液理化性质的改变是血瘀证发生的主要生理基础。本研究目标旨在通过建立肝硬化兔模型，脾切除手术后形成血瘀证，多角度探讨包括血流动力学、血液流变学、凝血功能、血小板活化功能等的血液

理化性质的改变。

## 2 中医血瘀证与信号通路的关系

对于肝硬化患者，已有文献证实血瘀证候与  $\text{TGF-}\beta 1$  和  $\text{HIF-}\alpha$  /VEGF 信号通路密切相关。血瘀证的形成不仅与肝硬化状态体内细胞因子的改变有关，而且异常血管生成也参与了门静脉高压所致血瘀证舌下络脉的形成。因此，对信号通路的研究有助于明确中医证候形成的机理，为中医诊疗的推广奠定理论基础。本研究旨在通过：Elisa 方法检测血清  $\text{TGF-}\beta 1$ 、 $\text{IFN-}\gamma$ 、VEGF、 $\text{HIF-}1\alpha$  的表达，明确血瘀证状态相关信号通路的改变。

## 3 健脾活血中药对血瘀证的治疗作用

脾切除术后的病机为脾虚血瘀，通过健脾活血中药的干预，研究血液成分的细胞学和分子学改变，进而分析健脾活血中药的作用机理和作用靶点：①通过彩超监测门静脉系统血流动力学变化以及血液流变学变化；②通过放射免疫法，测定血浆  $\text{TXA}_2$ 、 $\text{PGI}_2$ 、ET 和 NO 的含量；③通过流式细胞方法，流式细胞仪检测血小板膜蛋白 CD63、CD62p、TSP 表达，明确不同状态下血小板活化情况；④通过 Elisa 方法，检测血浆 t-PA、PAI 以及血清  $\text{TGF-}\beta 1$ 、 $\text{IFN-}\gamma$ 、VEGF、 $\text{HIF-}1\alpha$  的表达，明确模型兔纤溶活性以及相关信号通路的改变。

## 拟解决的关键问题：

动物实验研究中，通过制作肝硬化动物模型，模拟肝硬化不同阶段内脏血流动力学以及舌下络脉的变化，同时监测生理学、影像学和相关细胞因子信号通路的变化，旨在明确以下问题：

1 阐明“脾统血”理论在血瘀证形成中的作用。通过该理论的探讨，有助于丰富现有脏象脾理论，为中医理论研究增添新的活力。

2 健脾活血法能够治疗脾切除术后血瘀证，治疗的机理和作用靶点？通过该问题的解决，为临床寻找治疗血瘀证药物提供理论依据。

3 动物模型中，血瘀证形成前后相关生理学指标的变化以及变化的理论依据，即生理学、细胞学和分子学依据？通过该问题的解决，能够让我们对于血瘀证的形成机理有更全面的了解，利于丰富临床诊治资料，为临床诊疗提供实验和理论依据。

### 三、预期研究成果和主要考核指标

(包括:发表高层次学术论文(论著)、争取国家级项目资助、取得自主知识产权及培育应用性成果等)

#### 1、科技报告

##### 1.1 基础理论成果

通过动物实验验证“脾统血”理论在血瘀证形成中的作用及具体分子生物学机制,丰富中医脾统血理论所包含的内容。传统中医“脾统血”理论传统上只涉及出血证,并未提及脾气虚患者凝血功能亢进,但其实只是表现形式具有差异,对于脾虚证患者,基本都同时存在着瘀血与出血的病理现象,其存在着“因虚致瘀”的病理过程,两者互为因果,瘀既为病理产物,亦为致病因素,即久病必瘀,日久甚至结成瘀积聚,发生恶变,危及生命。相关研究能够进一步验证了“气虚血瘀”的相关论述,加深了对“脾统血”功能应包括统摄、推动血液之意的理解。在现代研究的基础上,形成中医基础理论成果,丰富“脾统血”理论在血瘀证形成中的科学内涵,促进中医藏象理论的发展。

##### 1.2 应用基础成果

明确“健脾活血法”对脾切除术后血瘀证治疗作用的生理学及分子生物学基础,通过实验研究为临床采用“健脾活血法”防治外科术后血瘀证提供了理论依据,实现“未病先防,既病防变”的治未病理念提供科学的实验依据。

##### 1.3 技术方法成果

课题中采用的脾功能亢进动物模型以及脾切除术后动物模型的构建为临床开展肝硬化脾切除手术建模提供了实验数据,也为临床后期研究此类疾病提供了合理的建模方法。

#### 2、论文论著及专利成果

在顺利完成实验的基础上完善藏象理论,并出版专著1部(20万字),同时申请新型实用专利1-2项。

#### 3、争取国家科技项目

在顺利完成实验的基础上,深入探讨研究血瘀证的血液理化性质及信号通路的变化情况,争取申报国家自然科学基金项目1项。

#### 4、学术活动

参加国际及国内相关会议,与国内外同道交流最新理论,并提出研究观点。

#### 5、人才培养成果

在深入研究课题的基础上,引进博士1名,培养硕士2-3名及博士1-2名。

#### 6、社会效益

目前中医药对于脾切除术后患者的恢复及并发症预防尚属空白,本项目在大量临床研究和实验研究的基础上,提出健脾活血中药对于脾切除术后早期康复具有重要作用,能够明显减少术后血瘀证的发生,极大的加快了患者术后康复,减轻了患者的病痛,同时也填补了中医药围手术期血瘀证预防的空白。

## 四、年度计划内容与阶段目标

| 序号 | 时间                         | 年度实施内容和考核指标（包括拟组织的重要学术交流、国际合作与交流计划等）                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | 第1阶段<br>2020年07月至 2020年12月 | 1、各种实验器具、实验动物和材料的购置；<br>2、完成健脾活血中药的制备；<br>3、参加全国学术会议一次，了解学术动态；                                                                                                                                                                                                                         |
| 2  | 第2阶段<br>2021年01月至 2021年12月 | 1、完成肝硬化脾切除手术造模及术后中药干预；<br>2、完成标本（舌、肝脏、脾脏）采集和初步处理；<br>3、动物模型的生理学指标检测，放射免疫法对TXA <sub>2</sub> 、PGI <sub>2</sub> 、ET和NO的检测，ELISA方法对TGF- $\beta$ 1、IFN- $\gamma$ 、VEGF、HIF-1 $\alpha$ 、t-PA、PAI 的表达检测，流式细胞仪检测血小板CD63、CD62p、TSP表达；<br>4、参加全国学术会议和省内学术会议各一次，了解学术动态；举办国内学术会议一次，交流学术经验、研究方法和技术。 |
| 3  | 第3阶段<br>2022年01月至 2022年06月 | 1、收集、整理实验数据并进行统计学处理和结果分析；<br>2、查阅文献，完成研究报告撰写并发表学术论文3篇；<br>3、申请和组织成果鉴定；<br>4、完成并报送结题报告；<br>5、组织国内学术会议一次，邀请国外知名专家讲学，介绍这一领域进展。                                                                                                                                                            |

## 五、项目参与人员

| 项目负责人                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |       |      |      |                    |      |       |             |               |               |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|------|--------------------|------|-------|-------------|---------------|---------------|----|
| 姓名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 黄龙    |      | 性别   | 男                  |      | 出生年月  | 1988-04-18  |               |               |    |
| 学历                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 硕士研究生 |      | 职务   | 无                  |      | 职称    | 主治医师        |               |               |    |
| 从事专业                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 中医外科  |      |      |                    |      | 手机    | 13856977063 |               |               |    |
| 证件类型                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 身份证   |      | 证件号码 | 34010219880418251X |      |       |             |               |               |    |
| <p><b>项目负责人简介，重点填写研发经历、主要成果、技术水平和管理能力等</b></p> <p>本人2013年安徽医科大学毕业后进入安徽中医学院第一附属医院普外科从事临床、科研、教学工作。具体研究方向为脾脏外科研究，熟练掌握该领域疑难复杂手术，同时了解最新科研动态。</p> <p>主持安徽中医药大学青年科学研究项目1项（2014qn021）以及国家重点专科（中医外科）开放性课题（2016zkkf001），作为主要参与者完成国家自然科学基金2项（编号30973855，81573987），成功申报国家发明专利1项（ZL201720996603.0），获安徽省中医药学会科技进步一等奖1项（排名第8）。</p> <p>在承担课题研究的同时，合理组建研究团队，在脾切除术后中药围手术期的应用方面做了大量基础性工作，为临床应用奠定基础。本研究团队结构合理，既有着多年研究经验的专家参与，又有工作在第一线的中青年骨干，多学科的联合丰富了研究内容，也确保了本项目顺利实施和高水平、高标准完成。</p> |       |      |      |                    |      |       |             |               |               |    |
| 项目组主要参与人员                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |       |      |      |                    |      |       |             |               |               |    |
| 姓名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 出生年月  | 证件类型 | 证件号码 | 性别                 | 从事专业 | 职称    | 最高学位        | 所在单位          | 项目分工          | 签名 |
| 于庆生                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |      |      |                    | 中医外科 | 教授    | 硕士          | 安徽中医药大学第一附属医院 | 业务指导          |    |
| 张琦                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |       |      |      |                    | 中医外科 | 副主任医师 | 硕士          | 安徽中医药大学第一附属医院 | 临床研究支持        |    |
| 俞健                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |       |      |      |                    | 中医外科 | 医师    | 硕士          | 安徽中医药大学第一附属医院 | 实验文献研究        |    |
| 郭彬彬                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |      |      |                    | 中医外科 | 医师    | 硕士          | 安徽中医药大学第一附属医院 | 日常动物管理、实验操作指导 |    |
| 彭辉                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |       |      |      |                    | 中医外科 | 医师    | 硕士          | 安徽中医药大学       | 资料收集、数据处理     |    |
| 王来永                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |       |      |      |                    | 中医外科 | 医师    | 硕士          | 安徽中医药大学       | 动物饲养、资料收集     |    |

## 六、经费预算

| 资金概算（万元）                   |       |          |                            |       |
|----------------------------|-------|----------|----------------------------|-------|
| 资金来源概算                     | 概算金额  | 其中       |                            |       |
|                            |       | 2020年    | 2021年                      | 2022年 |
| 1、省财政拨款                    | 10.00 | 10.00    | 0                          | 0     |
| 2、市（县）财政拨款                 | 0.00  | 0.00     | 0.00                       | 0.00  |
| 3、单位自筹经费                   | 0.00  | 0.00     | 0.00                       | 0.00  |
| 其中：银行贷款                    | 0.00  | 0.00     | 0.00                       | 0.00  |
| 4、其它经费来源                   | 0.00  | 0.00     | 0.00                       | 0.00  |
| 来源合计                       | 10.00 | 10.00    | 0.00                       | 0.00  |
| 资金支出概算                     | 概算金额  | 其中：省财政拨款 | 备注                         |       |
| <b>一、直接费用</b>              | 9.00  | 9.00     |                            |       |
| 1、设备费                      | 0.00  | 0.00     |                            |       |
| （1）购置设备费                   | 0.00  | 0.00     |                            |       |
| （2）自制设备费                   | 0.00  | 0.00     |                            |       |
| （3）设备改造与租赁                 | 0.00  | 0.00     |                            |       |
| 2、材料费                      | 4.00  | 4.00     | 实验动物、药品、实验器具、试剂等           |       |
| 3、测试化验加工费                  | 1.00  | 1.00     | Elisa、流式细胞仪等进行相关指标检测       |       |
| 4、燃料动力费                    | 0.20  | 0.20     |                            |       |
| 5、差旅费/会议费/国际合作与交流费         | 1.00  | 1.00     | 参加国内外学术会议、项目调研等            |       |
| 6、信息费（出版/文献/信息传播/知识产权事物费等） | 1.00  | 1.00     | 用于出版、文献检索和信息传播             |       |
| 7、专家咨询费                    | 0.80  | 0.80     | 用于研究过程临时聘请的专家咨询            |       |
| 8、劳务费                      | 0.80  | 0.80     | 直接用于参加研究且没有经济来源的研究生加班、误餐补助 |       |
| 9、其他支出                     | 0.20  | 0.20     | 其他耗材支出                     |       |

|                                           |                                                                                                                |       |  |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|--|
| 二、间接费用                                    | 1.00                                                                                                           | 1.00  |  |
| 1、管理费                                     | 0.50                                                                                                           | 0.50  |  |
| 2、绩效支出                                    | 0.50                                                                                                           | 0.50  |  |
| 3、其他                                      | 0.00                                                                                                           | 0.00  |  |
| 支出合计                                      | 10.00                                                                                                          | 10.00 |  |
| 项目依托单位账户信息                                | 依托单位帐户名称：安徽中医药大学<br>开户行：中国建设银行合肥市贵池路支行<br>帐 号：34001454508050007351<br>非中央驻皖和省直单位资金拨付所属财政局（尽可能细化到区、县财政局）：<br>省级 |       |  |
| 特别说明：（购置主要仪器设备须列出清单，以附件形式上传，上传文件格式为PDF格式） |                                                                                                                | 上传    |  |

## 七、管理条款

省基金办和项目负责人及项目依托单位按照《安徽省自然科学基金管理办法》管理、监督和组织实施。

### （一）项目负责人（申请人）及项目组：

- 1、遵守安徽省自然科学基金的有关管理规定，按照计划文件及合同书确定的研究内容和工作进度抓紧项目的实施工作；
- 2、遇有问题及时向本单位的科研业务管理部门报告，争取尽快解决；
- 3、每年年底向省基金办提供一份项目研究进展报告；
- 4、阶段成果或最终成果发表的论文或参加学术会议等的文字材料应注明“安徽省自然科学基金资助项目，项目编号：×××××”，同时报送省基金办一份，作为结题验收的依据；
- 5、按计划完成工作，及时申请项目结题（验收或评价）。

### （二）项目依托单位：

- 1、给予项目负责人及项目组必要的条件及匹配资金等支持；
- 2、协助省基金办组织、督促与协调项目实施；
- 3、监督资助经费的使用；
- 4、对项目执行中重大事项（如目标、人员调整或无法正常执行的项目），向省基金办书面提出处理建议；

### （三）省基金办：

- 1、按照计划及项目进展情况及时拨付资助经费；
- 2、检查计划项目的实施情况，对重点项目组织阶段评估；
- 3、根据项目执行情况决定项目的调整、结转、暂缓执行或终止执行等；
- 4、组织项目结题（验收或评价）。

本合同书一式四份，由项目依托单位签署意见后，报送基金办，基金办批准后返给项目负责人和项目依托单位各一份备查。

八、合同签章

|                |  |   |     |
|----------------|--|---|-----|
| 省基金办           |  |   |     |
| 经办人（签字）：       |  |   |     |
| 负责人（签字）：       |  |   |     |
| (公章)           |  | 年 | 月 日 |
| 项目负责人          |  |   |     |
| (签字)：          |  |   |     |
| (公章)           |  | 年 | 月 日 |
| 项目依托单位（归口管理部门） |  |   |     |
| 负责人（签字）：       |  |   |     |
| (公章)           |  | 年 | 月 日 |