

浙江省自然科学基金申请书

项目信息

项目名称	CRH-R2 介导痛泻要方促 DSS 结肠炎小鼠黏膜修复机制的研究		
英文名称	Mucosa repair mechanism of Tongxie Yaofang mediated by CRH-R2 in DSS induced colitis mouse		
项目申请编号	Y17H290033	立项编号	LY17H290009
申报类别	一般项目	申报年度	2017
研究年限	3 年	研究时间	2017-1-1 至 2019-12-31
研究属性	基础研究	申报日期	2016-5-21
研究方向	H2902 医学科学部/中西医结合/中西医结合临床基础		
中文关键词	炎症性肠病; 肠上皮屏障; 黏膜修复; CRH-R2; 痛泻要方		
英文关键词	inflammatory bowel disease; Intestinal epithelial barrier; mucosal repair; CRH-R2; Tongxie Yaofang		

中文摘要(项目研究目标、项目研究内容)

黏膜愈合已被作为 IBD 治疗的目标,但现今的药物治疗手段难以彻底治疗 IBD 且均存在一定的不良反应和并发症。有研究显示促肾上腺皮质激素释放激素受体 2 (CRH-R2) 可激活肠黏膜抗炎应答,发挥抗炎效应。我们的前期研究发现痛泻药方可下调 CRH-R1,上调 CRH-R2 的表达,参与肠屏障重建。故本研究拟采用中药血清药理学、分子生物学等手段,在先前研究基础上进一步探讨 CRH-R2 调控黏膜愈合的分子机制及痛泻要方对其的影响,阐明 CRH-R2 在结肠炎后黏膜愈合中的作用。本项目首先以 DSS 诱导的结肠炎小鼠为研究对象,对比 CRH-R2 拮抗剂干预与否对黏膜修复的影响;随后采用外源性 Ucn2 及痛泻要方进行体内治疗,评价黏膜炎症水平,检测上皮细胞凋亡与增殖,测定炎症因子的表达水平;最后采用过表达慢病毒载体建立 CRH-R2 过表达 NCM460 肠上皮细胞株,并用外源性 Ucn2 及痛泻要方含药血清干预,同时采用 siRNA 干扰技术抑制 STAT3 表达,评估细胞间通透性及迁移能力,检测细胞凋亡和

细胞周期。从而在整体和细胞两个水平阐明 CRH-R2 调控肠上皮细胞迁移、增殖和凋亡的作用机制及痛泻要方对其的表达调控作用，揭示靶向干预 CRH-R2 在 IBD 治疗中的意义，为中医药治疗 IBD 提供新靶点和理论基础。

英文摘要

Mucosa healing has been defined as the target of IBD treatment. However, current medicines cannot cure IBD thoroughly and a series of side effects and complications still exists. Certain studies have shown that Corticotropin-Releasing Hormone receptor 2 (CRH-R2) can activate anti-inflammatory answers in intestinal mucosa and take part in anti-inflammatory effect. Our previous studies figure out that Tongxieyaofang decoction can down-regulate CRH-R1, up-regulate CRH-R2 expression and take part in intestinal barrier reestablishment. Thus, TCM serum pharmacology and molecular biology means are employed. Based on the previous foundation, further research is carried out to discuss the molecular mechanism of mucosa repair regulated by CRH-R2 and the regulatory effect of Tongxieyaofang decoction towards CRH-R2, which eventually illustrate the role of CRH-R2 towards mucosa healing after colitis. The research method is as follows: Firstly, try to observe whether CRH-R2 agonist can affect mucosa repair among DSS induced colitis mouse. Then, DSS induced colitis mouse is treated by exogenous Ucn2 and Tongxieyaofang decoction. Mucosa inflammation level is estimated through testing apoptosis and proliferation of epithelial cells and inflammatory cytokines expression. Lastly, the intestinal epithelial cells with CRH-R2 over-expression are built through over-expression lentiviral vector and are intervened by Exogenous Ucn2 and Tongxieyaofang decoction contained serum. siRNA intervention technique is also performed to inhibit the expression of STAT3, and eventually to estimate cell permeability and migration ability and also to test cell apoptosis and cell cycle. Finally, this study tries to illustrate the mechanism of CRH-R2 in regulating intestinal epithelial cell migration, proliferation and apoptosis and the regulatory effect of Tongxieyaofang decoction towards CRH-R2, which ultimately reveals the significance of targeted intervention of CRH-R2 in the treatment of IBD and provides new target and theoretical basis upon TCM treatment in IBD.

项目经费

	费用名称	金额	计算依据与说明
直接经费			
1	设备费	0.00 万元	无
2	材料费	4.50 万元	动物、细胞、质粒及各种抗体等
3	测试化验加工费	1.00 万元	Western blot、PCR、慢病毒转染等
4	燃料动力费	0.00 万元	无
5	差旅费	0.34 万元	参加学术会议的差旅费
6	会议费	0.00 万元	无
7	合作、协作研究与交流	0.00 万元	无
8	出版/文献/信息传播/知识产权事务费	1.00 万元	论文发表及文献查新检索等
9	人员劳务费	1.50 万元	直接参加项目研究的研究生的劳务费用
10	专家咨询费	0.00 万元	无
间接经费			
11	管理费	1.00 万元	项目依托单位用于公共管理补助支出
12	科研人员激励费	0.66 万元	由所在单位根据国家有关规定统筹安排
	合计	10.00 万元	

研究计划

2017 年度

研究内容	制备 DSS 诱导的结肠炎小鼠模型，DAI 评分及组织学评分评价黏膜炎症水平，TUNEL 法检测上皮细胞凋亡，免疫组化检测 Ki67 表达，Western blot、RT-qPCR 检测 IL-6、TNF- α 、CXCL-1 mRNA 及蛋白质表达水平。
研究目标	明确 CRH-R2 及痛泻要方对 DSS 诱导的结肠炎小鼠黏膜愈合的影响。

2018 年度

研究内容	采用过表达慢病毒载体建立 CRH-R2 过表达 NCM460 肠上皮细胞株，并用外源性 Ucn2 及痛泻要方含药血清干预，同时采用 siRNA 干扰技术抑制 STAT3 表达，transwell 小室法和跨膜电阻评估细胞间通透性，划痕实验评估迁移能力，流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期。
研究目标	阐明 CRH-R2 参与肠黏膜修复的分子机制及痛泻要方对其的影响。

2019 年度

研究内容	对上述研究加以进一步完善；数据整理分析；论文发表及成果申报。
研究目标	1. 形成项目研究报告，完成验收结题。 2. 在国内外著名杂志期刊上发表论文 ≥ 2 篇，其中 SCI 论文 1 篇。

预期成果

SCI (SSCI) 收录	1	EI 收录	0	其他发表论文	2	论文数小计	3		
发明专利	0	转入国家项目	0	获得省部级以上科技奖励	0	专著	0	其他成果数小计	0

预期研究成果

- (1) 阐明 CRH-R2 在结肠炎后黏膜修复中的作用，揭示 CRH-R2 调控肠上皮细胞迁移、增殖和凋亡的作用机制；
- (2) 明确痛泻要方对 CRH-R2 的表达调控作用以及靶向干预 CRH-R2 在 IBD 治

疗中的意义；

(3) 在上述研究结果基础上进一步分析研究痛泻要方的有效成分，开发新药，用于临床；

(4) 申报省部级科研成果；

(5) 争取在国内外著名杂志期刊上发表论文 ≥ 2 篇，其中 SCI 一篇；

(6) 培养研究生 2 名。

负责人信息

姓名	范一宏	性别	女
出生日期	1968-10-20	单位邮编	310006
最高学位	硕士	获学位年份	2002 年
手机号	13957104510	E-MAIL	yhfansjr@yahoo.com.cn
单位名称	浙江中医药大学附属第一医院	单位电话	0571-86620281
单位地址	杭州市邮电路 54 号浙江省中医院消化科		
证件种类	身份证 18 位	证件号码	330302196810300842
调入浙江时间	0001-1-1	技术职称	主任医师

负责人简历

范一宏，主任医师、副教授、硕士生导师。浙江中医药大学青年学科带头人培养对象，中华医学会消化病分会炎症性肠病学组组员，消化身心协作组组员，炎症性肠病专家组成员，中国 IBD 青年俱乐部成员，中华医学会浙江省分会委员，中华医学会浙江省分会炎症性肠病学组副组长。承担 IBD 专病门诊。承担国家自然科学基金 1 项，省自然科学基金 1 项，参与国家和省部级课题 30 余项，作为负责人获省部级科研奖项 2 项。发表论文 90 余篇，第一作者 20 余篇，SCI 收录 2 篇。

代表性论文：

1. Fan YH (范一宏)*, Lu B, Wang M, Ni GB, Chen MT, Xu Y. Expression and significance of nerve growth factor receptor p75 in rats' cathartic colonic wall. Chinese Journal of Digestive Diseases, 7(4): 225-229, 2006
2. Wang SY, Liu YP, Fan YH (范一宏)*, Zhang L, Cai L J, Lv B. Mechanism of aqueous fructus aurantii immaturus extracts in neuroplexus of cathartic colons[J]. World journal of gastroenterology: WJG, 2015, 21(31): 9358.
3. Zhang X, Jin HF, Fan YH (范一宏)*, Lu B, Meng LN, Ch

en JD. Effects and mechanisms of transcutaneous electroacupuncture on chemotherapy-induced nausea and vomiting[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014, 860631.

著书:

《内科手册》、《浙江省中医（中西医结合）单病种诊疗规范》、《消化病特色专科实用手册》、《溃疡性结肠炎和克罗恩病你问我答》

获奖成果:

1. “大鼠泻剂结肠肠壁神经生长因子和受体表达的研究（2003387，省教育厅）”获浙江省高校科研成果二等奖，排名第一。
3. “枳术通便汤治疗慢传输型便秘基础与临床研究”于2013年获浙江省中医药科学技术奖获奖项目三等奖，项目负责人。
2. “胃癌前病变中医药干预及临床实践研究”于2013年获浙江省中医药科学技术奖获奖项目二等奖，排名第3。

申请者曾主持的浙江省自然科学基金资助项目

项目批准号	项目名称	申报类别	结题通过情况
LY13H030011	基于5-HT4通路探讨慢传输型便秘大鼠肠壁神经网络重塑作用及枳实水煎剂对其影响	一般项目	延期0次，2016年度验收，3位验收专家意见：良好，良好，优秀，当年度验收期间所有验收项目中成果量化排名：处于后50-100%区间（成果包括：论著、专利、转入国家项目、省部级以上获奖）

申请者曾主持和正在主持的国家和省部级项目

项目类别	项目名称	起止年	立项年度	项目经费
国家自然科学基金面上项目	长链非编码RNA-GDNFOS1介导枳术通便汤促慢传输型便秘肠壁神经丛修复机制的研究	2015-2018	2014	74.00

近三年已获得其他省部级及以上项目资助的与省基金申请项目研究内容的区别

两个项目研究方向不同，《长链非编码RNA-GDNFOS1介导枳术通便汤促慢传输型便秘肠壁神经丛修复机制的研究》主要旨在阐明lncRNA-GDNFOS1调控

GDNF 表达水平的作用机制及枳术通便汤对 GDNFOS1 的表达调控作用，为慢传输型便秘（STC）提供新的治疗途径。

项目成员

会员	姓名	性别	职称	出生日期	单位名称	项目分工	每年 工作 时间				
√	徐毅	男	副教授	1969-05-11	浙江中医药大学/ 第一临床医学院	学术指导，质量控制	6 月				
√	蔡利军	男	副主任医师	1979-06-22	浙江中医药大学/ 第一临床医学院	技术指导，统计分析	8 月				
√	姜宁	女	主治医师	1978-06-22	浙江中医药大学/ 第一临床医学院	前期材料准备，细胞培养	8 月				
	王诗怡	女	硕士生	1990-07-05	浙江中医药大学	细胞培养，质粒转染，指标检测	8 月				
	龚姗姗	女	硕士生	1994-08-12	浙江中医药大学	动物培养，指标检测	8 月				
	陈茜	女	硕士生	1995-08-14	浙江中医药大学	动物培养，指标检测	8 月				
高级	3	中级	1	初级	0	博士后	0	博士生	0	硕士生	3

徐毅

现主持课题一项《温郁金提取物对大鼠胰腺纤维化的干预作用》2009 年中医管理局立项课题，2009CB010，2009.7—2011；经费自筹。参与课题多项。

课题获奖情况

1、温郁金抑制人胃癌裸鼠移植生长的研究，浙江省中医药科学技术创新奖三等奖，浙江省卫生厅，2007 年，排名第二。

2、温郁金对胃癌细胞 SGC-7901 多环节抑制作用的实验研究，浙江省中医药科学技术创新奖二等奖，浙江省卫生厅，2006 年，排名第四。

发表的相关研究的相关论文有：

1、温郁金对鼠血浆和胃组织生长抑素水平的影响。中国中西医结合消化杂

志

2004, 12 (4) : 222, 第一作者。

2、不同温郁金提取物抑制胃癌细胞 SGC-7901 增殖和诱导凋亡的实验研究, 浙江医学 2004, 26 (7) : 503, 第一作者。

参与编写多部教材和教学视听教材。

1) 《消化病特色专科实用手册》中国中医药出版社。编委, 2008 年

2) 《现代医学概论》浙江科学技术出版社。编委, 2005. 11

3) 《消化系统常用诊疗技术(一)——胃镜的操作和诊断》。撰稿, 人民卫生音像出版社 2001

4) 《上消化道内镜检查和治疗》(人民卫生音像出版社, 2010 年) 排名第一, 获中国教育技术协会中医药专业委员会优秀教育二等奖。

蔡利军

蔡利军, 男, 1979 年 6 月出生。副主任医师, 博士。1997 年考入湖北三峡学院医学院(现三峡大学医学院)攻读学士学位, 2002 年毕业后考入浙江中医学院(现浙江中医药大学)中西医结合消化专业攻读硕士学位, 2005 年毕业后于浙江中医药大学附属第一医院消化内科工作, 2009 年攻读浙江中医药大学中西医结合临床博士学位。主要研究方向为中医药防治胃癌及癌前病变的基础与临床研究。目前主持浙江省中医药管理局和教育厅项目各 1 项, 作为主要参加者参加国家自然科学基金 2 项(排名第二、第五), 省自然科学基金 1 项(排名第三)等科研项目 10 余项。

姜宁

代表性论文:

姜宁, 黄宣, 范一宏, 吕宾. 中西医结合治疗胃癌前病变疗效的系统评价[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(1): 149-154.

姜宁, 黄争, 范一宏, 倪桂宝, 吕宾, 孟立娜, 张烁, 包海标, 黄宣, 蔡利军. 中药辨证治疗对胃癌前病变患者 APC、p53、Ki67 蛋白表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(2): 356-360.

姜宁, 黄争, 范一宏, 吕宾, 孟立娜, 张烁, 包海标, 黄宣. 中药辨证治疗胃癌前病变的随机对照研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(5): 999-1002.

姜宁, 范一宏, 孟立娜, 吕宾. 国产 OMOM 胶囊内镜临床应用分析[J]. 中华消化内镜杂志, 2007, 24(5): 388-389.

获奖成果:

《上消化道内镜检查和治疗》获 2010 年中国教育技术协会中医药专业委员会、中国中医药高等教育学会教育技术研究会第六届学术年会上评为优秀二等奖。完成者: 徐毅、吕宾、姜宁、邵加。

正文、附件

附件标题	类型	生成时间
 正文	.DOC	2016-05-28 20:49
 参考文献	.DOC	2016-05-26 23:10
 申请书全文	.PDF	2016-06-08 16:46

审核意见

部门管理员审核	同意	魏晖	2016-5-24 10:28
单位管理员审核 (退回)	项目负责人要求退回修改	邵科钉	2016-5-24 16:26
部门管理员审核	同意	魏晖	2016-5-30 08:25
单位管理员审核 (退回)	1. 间接费用足额填写并说明, 详询医院科教科	邵科钉	2016-5-31 18:48
部门管理员审核	同意	魏晖	2016-6-1 08:18
单位管理员审核	同意	邵科钉	2016-6-2 16:04

[隐私声明](#) | [版权声明](#)

主办单位: 浙江省自然科学基金委员会

最佳使用效果: 1024*768 分辨率/建议使用 IE7.0 或以上

浙 ICP 备 05015677 号