

年度	2019 年
项目编号	2019QN14

青年科研基金项目

合同书

项目名称： 基于“肾-天癸”理论探讨淫羊藿苷通过 GPER/IRE1/XBP1 通路对去卵巢 DKD 鼠肾脏保护的作用机制

申请人： 苏保林

所在科室： 肾病科

联系方式： 13570248136

填报日期： 2019-05-06

广州中医药大学第一附属医院

科研处制

一、主要研究内容和预期目标

(不超过 1000 字)

(一) 主要研究内容

(1) 在动物水平上, 探讨糖尿病肾病与循环雌激素水平的相互影响

本研究动物拟选用 8 周龄的 SPF 级 SD 大鼠, 模型属于复合造模, 由糖尿病肾病及绝经后模型复合而成。首先参考以往文献报道, 对于绝经后糖尿病肾病模型进行探讨。1 型糖尿病肾病的造模主要应用链脲佐菌素一次性腹腔注射 (55mg/kg), 从血糖及尿蛋白水平进行判断造模的成功与否。探讨 DKD 造模成功后, 与对照组比较其循环雌激素水平的变化。

在糖尿病肾病的模型基础上再进行绝经后模型造模, 主要双侧卵巢切除术 (一侧全切, 一侧切 80%); 术后从血生化观察雌激素与雄激素比值、阴道细胞等指标进行观察造模的成功与否。并探讨双侧卵巢切除术后是否加重了 DKD 的进展, 主要指标为尿蛋白及血肌酐、肌酐清除率、雌二醇、睾酮变化情况, 探讨激素水平与糖尿病肾病的相关性。

(2) 从动物水平上, 探讨淫羊藿苷对去卵巢后糖尿病肾病肾组织 GPER 及 IRE-1 /XBP-1 通路表达的影响

复合造模成功后, 淫羊藿苷 (低剂量 30mg/kg、中剂量 60mg/kg、高剂量 120mg/kg) 对 SD 大鼠进行干预 8 周后, 收取 SD 大鼠血清及尿液, 测尿 ACR, 抽血测其血肌酐、雌二醇、卵泡雌激素 (follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、睾酮 (testosterone, T)、催乳激素 (prolactin, PRL) 等取肾组织, 病理切片观察肾脏病理变化; 应用免疫组化探讨对 GPER 的分布及表达量的相对变化; 应用 Western blot 法测定 GPER、IRE-1 及 XBP-1 的相对表达量; 应用 Real-time PCR 检测 GPER、IRE-1 及 XBP-1 的 mRNA 的表达情况。并对不同浓度淫羊藿苷的疗效进行对比探讨。

(3) 从细胞水平上, 探讨淫羊藿苷对高糖诱导 SD 大鼠肾系膜细胞的 GPER 及 IRE-1 /XBP-1 通路的影响。

①淫羊藿苷对高糖诱导 SD 大鼠肾系膜细胞的 GPER 及 IRE-1 /XBP-1 通路的影响: 高糖诱导 SD 大鼠肾系膜细胞, 并应用不同浓度的淫羊藿苷进行干预; 应用 Western blot 法测定 GPER、IRE-1 及 XBP-1 的相对表达量; 应用 Real-time PCR 检测 GPER、IRE-1 及 XBP-1 的 mRNA 的表达情况。

②GPER 表达量与 IRE-1 /XBP-1 通路相关性探讨: 高糖诱导 SD 大鼠肾系膜细胞, 应用雌激素受体抑制剂 G-15 进行干预, 应用 Western blot 法测定 I

IRE-1 及 XBP-1 的相对表达量；应用 Real-time PCR 检测 IRE-1 及 XBP-1 的 mRNA 的表达情况。探讨雌激素受体与 IRE-1 /XBP-1 通路相关性研究。

（二）预期目标

- （1）探讨雌激素水平对糖尿病肾病的影响。
- （2）探讨淫羊藿苷是否通过影响 GPER 的表达来改善糖尿病肾病。
- （3）探讨淫羊藿苷是否能够通过内质网应激 IRE-1/XBP-1 通路来改善 DKD。
- （4）探讨 GPER 与内质网应激 IRE-1/XBP-1 通路之间的关系。



二、研究成果及形式

(说明：必须结合以下验收条件提出合理的、具体的研究成果类型及数量)

(1) 在项目实施期间以“广州中医药大学”为依托单位获得国家自然科学基金项目资助(立项当年获得的项目不计); 或

(2) 以第一作者发表研究领域内影响因子大于 2.0 的 SCI 论文 1 篇以上, 且以我院为第一完成单位。(注: 非排名第一的并列第一作者不计。)

(3) 发表中文核心或科技核心期刊 1 篇以上。

(4) 培养 1-2 名博士。

三、项目进度和阶段目标

1、项目起止时间：2019年5月1日——2021年4月30日	
2、项目实施进度及主要阶段目标	
2019年5月1日—2019年10月31日	阅读文献，制定实验计划，订购检测试剂，联系具体实验场地及措施。完成实验研究前期准备工作。
2019年11月1日—2020年10月31日	完成卵巢去势后糖尿病肾病SD大鼠模型及进行细胞实验，并进行药物观察；收集实验研究标本；完成实验研究工作。
2020年11月1日—2021年4月30日	整理数据、统计分析、撰写并发表相关论文。



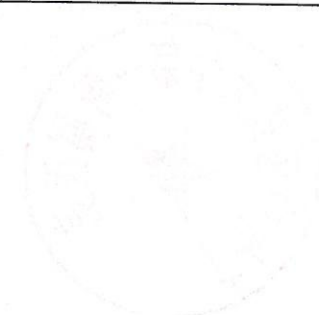
四、经费预算明细表

预算科目	说明	金额 (元)	预算依据
1、专用材料费	主要指实验材料等消耗性材料	45000	
2、小型设备费	研究所必须的小型设备		
3、印刷费	复印、打印等费用		
4、差旅费	国内出差发生的城市间交通费、住宿费、伙食补助费和市内交通费。		
5、委托业务费	因委托外单位办理业务而支付的委托业务费		
6、会议费	举办会议发生的，按规定开支的住宿费、伙食费、会议场地租金、交通费、文件印刷费等。		
7、劳务费	主要为院外人员的相关咨询费、课酬、评审费以及研究生劳务费，应根据医院规定支付。在职在岗人员不能支出劳务费，此部分比例应在总预算的10%以内。	5000	
8、知识产权相关费用	版面费、著作出版费、专利申请费用等		
9、其他	上述类别未能涵盖的费用。		
合计		50000	

五、人员信息 (含负责人)

序号	姓名	所在科室	工作分工	签名
1	苏保林	肾病科	负责人	
2	汤水福	肾病科	项目指导	
3	程德金	广州中医药大学	动物造模	
4	李强	肾病科	生化指标	
5	王亮亮	肾病科	Western-blot	
6	吴兴波	肾病科	肾脏病理	
7	林玮涛	肾病科	数据统计	
8				
9				
10				

已审核



六、课题负责人承诺

为顺利完成本项目的实施并达到预期目标，本人承诺如下：

- 1、严格遵守医院创新强院工程项目相关的管理办法与规定，按照本合同书约定，认真实施本项目；
- 2、在项目实施过程中，经费使用遵守医院相关的财务制度；
- 3、保证在整个项目实施过程中，本人及项目组成员严格遵守学术规范与学术道德，规范保存原始资料与数据；
- 4、保证按照本合同约定内容，完成并达到研究目标，取得预期研究成果。

课题负责

日期：2019年5月23日

七、医院意见

同意立项。



医院公章

法

祥

日期：2019年5月28日