



项目批准号	82170646
申请代码	H0311
归口管理部门	
依托单位代码	20024008A0824-1540



821706461005759

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: HNF4 α -hUMSCs外泌体传递效应miRNA/肝细胞水凝胶共培养缓释体系治疗急性肝衰竭的作用机制研究

直接费用: 55万元 执行年限: 2022.01-2025.12

负责人: 杭化莲

通讯地址: 上海市浦建路160号

邮政编码: 200127 电 话: 02168383774

电子邮件: drhanghl_nju@163.com

依托单位: 上海交通大学

联系人: 章俊梅 电 话: 021-34206890

填表日期: 2021年10月20日

国家自然科学基金委员会制

Version: 1.005.759



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	杭化莲	性 别	男	出生年月	1980年02月	民 族	汉族
	学 位	博士			职称	副主任医师		
	是否在站博士后	否			电子邮件	drhanghl_nju@163.com		
	电 话	02168383774			个人网页			
	工 作 单 位	上海交通大学						
	所 在 院 系 所	医学院-仁济医院						
依托单位信息	名 称	上海交通大学					代码	20024008A0824
	联 系 人	章俊梅			电子邮件	amyzhang@sjtu.edu.cn		
	电 话	021-34206890			网站地址	www.sjtu.edu.cn		
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	HNF4 α -hUMSCs外泌体传递效应miRNA/肝细胞水凝胶共培缓释体系治疗急性肝衰竭的作用机制研究						
	资 助 类 别	面上项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	H0311:肝保护和人工肝						
	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:

肝细胞移植是ALF有效治疗手段之一，但肝衰竭炎症免疫内环境严重影响移植肝细胞的活性与功能。课题申请人前期研究证实HNF4 α -hUMSCs与肝细胞共微囊移植可提高ALF疗效，然而微囊存在生物相容性差、基因修饰干细胞面临伦理及安全性等争议，这些均是临床转化应用的难题。最新研究显示MSCs-Exo是MSCs发挥免疫炎症调节作用的主要媒介，水凝胶具有更好的生物学性能，是缓释外泌体的理想材料。本课题旨在构建HNF4 α -hUMSCs-Exo/肝细胞水凝胶共培养缓释体系，研究其对ALF的治疗作用，阐明外泌体对体系内肝细胞活性、功能的保护性作用及对体系外免疫炎症内环境的调节作用与机制，筛选体系中发挥关键作用的效应miRNA并揭示其机制。本研究期望通过共培养缓释体系改善肝衰竭炎症免疫内环境，提高移植肝细胞的活性与功能，促进肝再生，改善肝功能，解决肝细胞移植载体及安全性等问题，为临床应用奠定坚实理论与实践基础。

Abstract:

Hepatocytes transplantation is among effective treatments to acute liver failure (ALF). Yet the inflammatory immune microenvironment in ALF severely restrains viability and functional status of transplanted hepatocytes. The applicant conducted preliminary study confirming enhanced therapeutic effect to ALF via co-transplanting HNF4 α -hUMSCs and hepatocytes in APA microcapsules. However, poor biocompatibility of APA material, as well as potential risks concerning ethic and safety issue of HNF4 α -hUMSCs maintains obstacle in transformation to clinical application. The latest research indicates that MSCs-Exo is the main media taking on immune and inflammation modulation. Meanwhile hydrogel has been proven to be ideal material of improved biological properties and capacity to controlled-release exosomes. The current project aims to construct HNF4 α -hUMSCs-Exo / hepatocytes co-transplantation controlled-releasing system based on hydrogel, to explore its therapeutic effect to ALF, clarifying protective and function-promoting effect that HNF4 α -hUMSCs-Exo has on hepatocytes in the system as well as immune modulation that has on immune microenvironment outside of the system, screening effective miRNA of pivotal role derived from the system and further revealing underlying mechanisms. The proposed research hopes to ameliorate the deteriorated inflammatory immune microenvironment of ALF via the co-transplantation controlled-releasing system, promoting viability and functional status of transplanted hepatocytes, accelerating liver regeneration, restoring liver function, solving issues related to hepatocytes transplantation carrier and safety, providing solid theoretical foundation and guidance for clinic practice.

关键词(用分号分开): 急性肝衰竭; 肝细胞; 脐带间充质干细胞; 外泌体; 水凝胶

Keywords(用分号分开): acute liver failure; hepatocytes; umbilical cord mesenchymal stem cells; exosomes; hydrogel



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（月）				
1	杭化莲	1980.02	男	副主任医师	博士	上海交通大学	02168383774	320113198002225210	项目负责人	6				
2	顾广祥	1985.02	男	主治医师	博士	上海交通大学	18321809545	320925198502042014	课题设计	4				
3	杨云龙	1989.04	男	助理研究员	博士	上海交通大学	18818200920	231002198904242719	质量控制	6				
4	刘晓琳	1984.07	男	医师	博士	上海交通大学	15921974667	370902198407020911	质量控制、数据分析	6				
5	陈默	1994.04	男	医师	博士	上海交通大学	18818265832	370402199404290614	数据分析	6				
6	李佳欣	1993.06	女	技师	学士	上海交通大学	18721583542	130281199306100063	数据分析	6				
7	邵振滔	1995.05	男	博士生	硕士	上海交通大学	13122260906	330324199505116696	实验实施	10				
8	瞿小也	1995.05	男	博士生	硕士	上海交通大学	18502155228	320602199505221513	实验实施、文章撰写	10				
9	张森权	1997.01	男	硕士生	学士	上海交通大学	13142888122	321284199701050217	实验实施、文章撰写	10				
总人数			高级		中级		初级		博士后		博士生		硕士生	
9			1		2		3		0		2		1	



国家自然科学基金预算制项目预算表

项目批准号：82170646

项目负责人：杭化莲

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	44.8000
5	3、劳务费	10.2000
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 ≥ 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。）

本项目经费预算55.00万元，主要用于实验材料费、测试分析费及国内、外学术交流费等。经费分配方案如下：

1. 直接费用: (55.00万元)

(1) 设备费: 无

(2) 业务费: (44.80万元)

1) 材料费: (20.80万元):

用于肝细胞/干细胞培养的培养液，生长因子，胎牛血清，中性蛋白酶，抗体，外泌体提取试剂盒等共计约3.00万元。

分子生物学试剂(CYP3A4、CEBPE、C3G、Spa-L1-3、RapGAP、PDZ-GEF、fasn、Cad、FGFR、AMPK α 1、AMPK α 2等抗体及Real-Time PCR引物,ALT、AST、GSH、SOD、CAT、GPx、GR等检测试剂盒，TNF- α 、IL-6、IL-10、SREBP-1c、FAS、HMGR、CTP-1等免疫组化染色抗体，ELISA试剂盒，Real-Time PCR试剂盒，GFP流式分选抗体，流式细胞术染色用的CD9、CD13、CD29、CD34、CD44、CD45、CD63、CD81、CD90、CD105、HLA-DR等抗体，外源性细胞因子过表达和中和抗体实验中所需的细胞因子及相应抗体，TA克隆，限制性内切酶，Allprep DNA/RNA/Protein分离试剂盒，Western blot 显色试剂盒等)共计约10.80万元。

实验动物用小鼠购买(C57小鼠)、饲养费及动物实验用药共约5.00万元。

细胞株购买、大量低值易耗品共计约2.00万元。

2) 测试化验加工费:(20.00万元)

MicroRNA、蛋白质芯片检测费和分析费用:本项目将对hUMSCs-HNF4 α -Exo进行蛋白质芯片分析，检测其中各种细胞因子及免疫炎症因子表达水平，另外还对其进行miRNA测序分析;PCR产物测序费:本项目将自行构建一些过表达及siRNA载体，这将涉及到产物测序;免疫组化、免疫荧光石蜡切片和病理分析费;电镜、激光共聚焦显微镜等检测费检验科白蛋白、尿素合成水平和转氨酶漏出量等生化检测费用;共计约20.00万元。

3) 燃料动力费:无

4) 差旅/会议/国际合作与交流费(1.00万元)

参加本课题研究的有关人员拟参加国内与本研究有关的注册费、学术会议的车费和住宿费，共计约1万元。

5) 出版/文献/信息传播/知识产权事务费:(3.00万元)

主要用于论文发表版面费(2.50万元)、专利申请费(0.50万元)等。

(3) 劳务费: (10.20万元) 主要用于直接参加项目研究的研究生劳务费(博士1200元/月 \times 2人 \times 30月，硕士800元/月 \times 1人 \times 30月)，以及临时聘请的咨询专家的费用，预计4年内每年聘请一位高级专业技术人员1天(1500元/天 \times 1人 \times 1天/年 \times 4年)。

2. 间接费用: 无



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制度，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：82170646），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科研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）：

年 月 日

依托单位科研管理部门：

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

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）

年 月 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：

负责人（签章）：
年 月 日

科学部审查意见：

负责人（签章）：
年 月 日

本
栏
目
由
自
然
科
学
基
金
委
填
写

国家自然科学基金资助项目批准通知

(预算制项目)

杭化莲 先生/女士:

根据《国家自然科学基金条例》、相关项目管理办法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)决定资助您申请的项目。项目批准号: 82170646, 项目名称: HNF4 α -hUMSCs外泌体传递效应miRNA/肝细胞水凝胶共培养释体系治疗急性肝衰竭的作用机制研究, 直接费用: 55.00万元, 项目起止年月: 2022年01月至 2025年12月, 有关项目的评审意见及修改意见附后。

请您尽快登录科学基金网络信息系统(<https://isisn.nsfc.gov.cn>), **认真阅读《国家自然科学基金资助项目计划书填报说明》并按要求填写《国家自然科学基金资助项目计划书》(以下简称计划书)**。对于有修改意见的项目, 请您按修改意见及时调整计划书相关内容; 如您对修改意见有异议, 须在电子版计划书报送截止日期前向相关科学处提出。

请您将电子版计划书通过科学基金网络信息系统(<https://isisn.nsfc.gov.cn>)提交, 由依托单位审核后提交至自然科学基金委。自然科学基金委审核未通过者, 将退回的电子版计划书修改后再行提交; 审核通过者, 打印纸质版计划书(一式两份, 双面打印)并在项目负责人承诺栏签字, 由依托单位科研、财务管理等部门审核、签章并在承诺栏加盖依托单位公章, 且将申请书纸质签字盖章页订在其中一份计划书之后, 一并报送至自然科学基金委项目材料接收工作组。纸质版计划书应当保证与审核通过的电子版计划书内容一致。**自然科学基金委将对申请书纸质签字盖章页进行审核, 对存在问题的, 允许依托单位进行一次修改或补齐。**

向自然科学基金委提交电子版计划书、报送纸质版计划书并补交申请书纸质签字盖章页截止时间节点如下:

1. **2021年10月22日16点:** 提交电子版计划书的截止时间(视为计划书正式提交时间);
2. **2021年10月29日16点:** 提交修改后电子版计划书的截止时间;
3. **2021年11月5日16点:** 报送纸质版计划书(其中一份包含申请书纸质签字盖章页)的截止时间。

4. 2021年11月25日16点：报送修改后的申请书纸质签字盖章页的截止时间。

请按照以上规定及时提交电子版计划书，并报送纸质版计划书和申请书纸质签字盖章页，未说明理由且逾期不报计划书或申请书纸质签字盖章页者，视为自动放弃接受资助；未按要求修改或逾期提交申请书纸质签字盖章页者，将视情况给予暂缓拨付经费等处理。

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

2021年10月12日

附件：项目评审意见及修改意见表

项目批准号	82170646	项目负责人	杭化莲	申请代码1	H0311
项目名称	HNF4α-hUMSCs外泌体传递效应miRNA/肝细胞水凝胶共培养缓释体系治疗急性肝衰竭的作用机制研究				
资助类别	面上项目		亚类说明		
附注说明					
依托单位	上海交通大学				
直接费用	55.00 万元		起止年月	2022年01月 至 2025年12月	
<p>通讯评审意见：</p> <p><1>具体评价意见：</p> <p>一、该申请项目是否面向国家需求并试图解决技术瓶颈背后的基础问题？请结合应用需求详细阐述判断理由。</p> <p>急性肝衰竭（ALF）是临床上常见的重症，具有病程发展快、治疗棘手以及病死率高等特点，是目前临床上面临的一个典型临床问题。肝移植目前仍然是治疗ALF最有效的治疗手段，但是供肝来源短缺以及手术创伤大等问题较为突出。近年来将肝细胞移植作为治疗ALF的新的研究方向。但是ALF本身肝脏的炎症免疫内环境严重影响移植肝细胞的细胞活性和功能。如能有效抑制肝细胞移植时肝脏的免疫炎症状态，将大大提高肝细胞移植的效率，这将为肝细胞移植有效应用于临床治疗ALF提供理论基础，具有重要的临床意义。因此，本研究具有较好的理论和临床意义。</p> <p>二、请评述申请项目所提出的科学问题与预期成果的科学价值。</p> <p>该项目是项目申请人前期研究的延伸。申请人提出在成功构建HNF4α-hUMSCs-Exo/肝细胞水凝胶共培养缓释体系后，从体外和体内的角度探讨该体系对肝细胞和ALF小鼠的治疗作用及分子机制。预期结果认为不仅可以成功构建上述体系，还可以明确共培养缓释体系中HNF4α-hUMSCs-Exo对肝衰竭炎症内环境其调节作用的miRNA及分子机制。整个项目科学问题明确，前期工作基础较好，预期结果合理，具有较好的科学价值。</p> <p>三、请评述申请人的研究基础及研究方案的创新性和可行性。</p> <p>研究基础：项目负责人和其团队有较好的研究基础。比如，原代肝细胞和脐带干细胞的大量提取和培养、基因干预、材料合成及外泌体的分离鉴定等。在相关领域已经有多篇研究成果发表。</p> <p>创新性：该课题是原有项目的延续和深化，首创性不强，但是这个研究有其独有的创新点。因此，总体来说，本研究具有一定的创新性。</p> <p>可行性：整个团队在相关领域做了多年研究，且有较高质量的研究成果发表，技术可行性和理论可行性较好。</p> <p>四、其他建议</p> <p>前期研究基础举例较多，可适当删减，适当放大图片和增强图片分辨率，很多图片是看不清楚的。</p> <p><2>具体评价意见：</p> <p>一、该申请项目是否面向国家需求并试图解决技术瓶颈背后的基础问题？请结合应用需求详细阐述判断理由。</p> <p>对于暴发性肝衰的治疗，目前肝移植是主要手段，而肝细胞移植是重要的替代治疗手段。申请人提出肝衰竭时的炎症免疫内环境是影响移植肝细胞存活和功能的主因，并且证实HNF4α-hUMSCs与肝细胞共微囊移植可提高ALF治疗效果，但是存在基因修饰干细胞的伦理安全，以及微囊本身的生物相容性问题。申请人针对这两个问题，针对性提出以HNF4α-hUMSCs的外泌体（内含功能性miRNA）替代干细胞移植，以水凝胶替代微囊，克服肝细胞移植背后的技术瓶颈。</p> <p>二、请评述申请项目所提出的科学问题与预期成果的科学价值。</p>					

申请人预期成果包括建立HNF4 α -hUMSCs-Exo/肝细胞水凝胶最适共培养缓释体系，并明确该体系中的外泌体对肝衰炎症免疫内环境的调节作用与机制，以及该体系保护移植肝细胞活性和功能的实际效应，对临床采用肝细胞移植治疗ALF意义重大。

三、请评述申请人的研究基础及研究方案的创新性和可行性。

申请人具备良好的研究基础，研究方案具有创新性和可行性。

四、其他建议

无。

<3>具体评价意见：

一、该申请项目是否面向国家需求并试图解决技术瓶颈背后的基础问题？请结合应用需求详细阐述判断理由。

ALF目前在临床多见，特别是我国是乙肝大国，该病情凶险，但具体发病机制不明，内科治疗效果有限，近年来肝细胞移植在ALF应用效果不错，但受各方面影响，该课题面向国家需求，解决临床疑难问题，试图阐明培养体系中肝细胞活性、功能与分化状态变化及其机制研究，明确共培养体系中对肝衰验证免疫内环境的调节作用与机制，具有一定的新颖性和独特性。

二、请评述申请项目所提出的科学问题与预期成果的科学价值。

目前外泌体的研究较热，可补充目前细胞移植的一些缺陷，若该实验证实HNF4 α -hUMSCs外泌体传递效应MiRNA/肝细胞水凝胶共培养缓释体系治疗急性肝衰竭从而有效治疗ALF，则可为临床治疗ALF提供治疗靶点，具有一定的临床意义。

三、请评述申请人的研究基础及研究方案的创新性和可行性。

该申请人前期研究基础充分，课题组成员已掌握核心技术，本次申请课题预实验较充分，实验方案可行。

四、其他建议

无

修改意见：

医学科学部

2021年10月12日