

年份	2019
推荐奖种	青年科技奖
项目名称	HGF+Bcl-2+BMMSC 治疗急性肝功能衰竭的实验研究
推荐单位	<p>推荐单位：哈尔滨医科大学</p> <p>推荐意见：</p> <p>经认真审阅推荐书及相关文件，我们得出结论，本项目具有创新、先进的特点，且有重大的临床意义。本项目首次构建特异性启动子报告基因慢病毒载体，通过活体感染 BALB/c 小鼠 BMMSC,依据不同的标志分子直接标记并分离 GFP+RFP+BMMSC、GFP+RFP-BMMSC、GFP-RFP+BMMSC、及 GFP-RFP-BMMSC 四种组分，深入阐述了四种细胞组分在治疗急性肝脏损伤过程中所发挥的作用。此外，本项目还从减少血清用量、调控影响细胞增殖和分化的 Notch 及 Wnt 信号通路等角度抑制在体外扩增的各种干细胞的分化，建立了一个完善的小鼠 HGF+Bcl-2+BMMSC 体外扩增培养体系。</p> <p>本项目最终得出以下结论：</p> <p>(1) HGF/Bcl-2 蛋白可能具有促进 BMMSC 分化成肝细胞的功能。</p> <p>(2) AAV-HGF/Bcl-2 能够感染肝细胞，并发挥一定的抗凋亡作用。</p> <p>(3) BMMSC 可促进 BALB/c 小鼠肝硬化模型恢复肝功能并减轻组织学损伤。</p> <p>(4) AAV-HGF/Bcl-2 以及 BMMSC 均能促进 BALB/c 小鼠肝硬化实验模型的恢复，且二者具有协同作用。</p> <p>(5) HGF +BMMSC, Bcl-2+BMMSC 对 BALB/c 小鼠肝功能恢复和减轻组织学损伤的效果优于二者单独治疗肝硬化。</p> <p>本研究提出了治疗急性肝损伤的另一种机制，必将为临床治疗急性肝损伤提供科学的理论依据和安全有效、经济可行的治疗方法。</p>
项目简介	<p>目前国内外对肝脏疾病的基础和临床研究格外关注，这始终是一个热点科学问题。我国是肝炎大国，相关肝脏疾病的发生已经严重地影响了我国人民的生活质量及国民经济的提升。病毒性肝炎等各种肝脏疾病发病率较高，此方面的基础研究亟待加强。本研究将为临床治疗急性肝损伤提供科学的理论依据和安全有效、经济可行的治疗方法，必将为急性肝功能衰竭患者带来希望，该治疗手段具有广阔的临床应用前景。</p> <p>主要研究内容：</p> <p>(1) BALB/c 小鼠 BMMSC 的体外分离、纯化、培养及鉴定。</p> <p>(2) 依次构建 BALB/c 小鼠 HGF 及 Bcl-2 的特异性启动子报告基因质粒载体，并证明其转染后具备实时标记相应标志分子阳性细胞的作用。</p> <p>(3) 利用 BALB/c 小鼠制作急性肝损伤模型，在治疗窗口期间经尾静脉注射 HGF+Bcl-2+BMMSC 悬液，通过 H-E 染色、ELISA 法、RT-PCR、Western blot 以及 IF 技术研究 HGF+Bcl-2+BMMSC 体内修复肝脏损伤的能力。</p> <p>发现点：</p> <p>(1) 本项目首次构建特异性启动子报告基因慢病毒载体，通过活体感染 BALB/c 小鼠 BMMSC,依据不同的标志分子直接标记并分离 GFP+RFP+BMMSC、GFP+RFP-BMMSC、GFP-RFP+BMMSC、及 GFP-RFP-BMMSC 四种组分，深入阐述了四种细胞组分在治疗急性肝脏损伤过程中所发挥的作用。</p> <p>(2) 本项目从减少血清用量、调控影响细胞增殖和分化的 Notch 及 Wnt 信号通路等角度抑制在体外扩增的各种干细胞的分化，建立了一个完善的小鼠 HGF+Bcl-2+BMMSC 体外扩增培养体系。</p> <p>发现点的科学价值：</p> <p>(1) HGF/Bcl-2 蛋白可能具有促进 BMMSC 分化成肝细胞的功能。</p> <p>(2) AAV-HGF/Bcl-2 能够感染肝细胞，并发挥一定的抗凋亡作用。</p> <p>(3) BMMSC 可促进 BALB/c 小鼠肝硬化模型恢复肝功能并减轻组织学损伤。</p> <p>(4) AAV-HGF/Bcl-2 以及 BMMSC 均能促进 BALB/c 小鼠肝硬化实验模型的恢复，且二者具有协同作用。</p>

	<p>(5) HGF +BMMSC, Bcl-2+BMMSC 对 BALB/c 小鼠肝功能恢复和减轻组织学损伤的效果优于二者单独治疗肝硬化。</p> <p>目前国内“HGF 在肝细胞移植治疗 BALB/c 小鼠急性肝功能衰竭中的表达”及“BALB/c 小鼠骨髓间充质干细胞向肝样细胞诱导分化及对急性肝衰竭的治疗作用”研究分别已有报道,但均未涵盖本项目上述内容。可见,在国内,具有本项目上述特征的 HGF+Bcl-2+BMMSC 移植对小鼠急性肝功能衰竭的治疗作用及调控机制的实验研究未见报道。本课题在研究 HGF+Bcl-2+BMMSC 分离、分化、体内定植的同时,也为今后开展干细胞移植治疗肝脏损伤提供了实验基础和理论依据,具有一定的前瞻性和创新性,值得在临床工作中进一步推广研究。此外,本课题为肝损伤的修复及治疗领域提供了强有力的基础理论依据及实验数据,为干细胞移植治疗肝脏疾病,特别是干细胞基因工程及临床转化奠定了理论基础,有望在临床工作中得到广泛应用及进一步研究。</p>
--	--

#### 知识产权证明目录

序号	类别	国别	授权号	授权时间	知识产权具体名称	发明人
1	中国实用新型专利	中国	CN10451054 8B	2016 -03- 30	一种经内镜胆道金属支架的短外鞘管推送系统	刘冰熔、杜冰、刘中宏、金世柱
2	中国实用新型专利	中国	CN10594296 4A	2016 -09- 21	基于超细内镜的胆道探查方法及其装置	刘时助、王宏光陈宁、金世柱、张训兵、王曼彤 郭庆梅、谢延侠 汪强、郭享、孙震、刘俊鹏、夏润辉
3	中国实用新型专利	中国	CN20525157 6U	2016 -05- 25	一种超声内镜检查辅助装置	阮梦婷、金世柱
4	中国实用新型专利	中国	CN20486424 2U	2015 -12- 16	一种经皮肝穿刺胆道引流装置	金世柱、刘冰熔宋艳燕、康乐

#### 代表性论文目录

序号	论文名称	刊名	年, 卷 (期) 及页 码	影响 因子	通讯作 者(含共 同)	SCI 他引 次数	他引 总次 数	通讯作 者单位 是否含 国外单 位
1	Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells facilitates epithelial repair and relieves the impairment of gastrointestinal function in a rat model of enteritis	Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology	2014. 12. 12 , 39(1) : 114~120.	1.872	金世柱	1		否
2	Bone marrow mononuclear cell transplant therapy in mice with CCl4-induced acute liver failure.	Turkish Journal of Gastroenterology	2012. 8. 4, 23(4) : 344~352.	0.484	孟祥伟	3		否
3	Ex vivo-expanded bone marrow stem cells home to the liver and ameliorate	Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International	2012. 2. 01, 11 (1): 66~73	1.259	韩明子	11		否

	functional recovery in a mouse model of acute hepatic injury	onal	.					
4	Hepatocyte growth factor promotes liver regeneration induced by transfusion of bone marrow mononuclear cells in a murine acute liver failure model.	Dig Dis SciJournl of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences.	2011. 11. 16 , 18 (3): 397~405.	2.940	孟祥伟	10		否
5	Granulocyte colony-stimulating factor enhances bone marrow mononuclear cell homing to the liver in a mouse model of acute hepatic injury.	Digestive Diseases and Sciences	2010. 2. 4, 55 (10): 2805~2813	2.06	孟祥伟	11		否
6	Stromal cell derived factor-1 enhances bone	World Journal of Gastroent	2009. 6. 7, 15	2.092	孟祥伟	17		否

	marrow mononuclear cell migration in mice with acute liver failure.	erology	(21): 2657~ 2664.					
7	分泌型与包涵体型 G-CSF 促进骨髓单个 核细胞向肝脏迁移 比较	胃肠病学 和肝病学 杂志	2008, 17 (8): 639~6 41.	1.02 9	韩明子	0		否
8	粒细胞集落刺激因 子促进自体骨髓单 个核细胞向急性肝 损伤小鼠肝脏迁移 的实验研究	胃肠病学 和肝病学 杂志	2008, 17 (3): 230-2 33.	1.02 9	韩明子	0		否

主要完成人和主要完成单位情况

主要完成人情况	<p>姓名：金世柱 排名：1 职称：副教授,副主任医师 行政职务：无 工作单位：哈尔滨医科大学附属第二医院</p> <p>对本项目的贡献： 本人通过阅读大量文献材料，提出了本项目的科学构想，确定了“HGF+Bcl-2+BMMSC 移植对小鼠急性肝功能衰竭的治疗作用及调控机制”的研究方向，并设计完善了实验方案，主要是通过将 Bcl-2 转染至 BMMSC 同时进行体外培养，并将其移植入模型小鼠，通过测其肝功及蛋白质的表达证明其对急性肝损伤的治疗效果，并用免疫荧光技术示踪 BMMSC 在受体的生长分化过程及 HNF-4α、CK18 和 ALB 3 等蛋白质的定位。本人全程参与了包括体外培养 BMMSC，将 Bcl-2 转染至 BMMSC，分别用生理盐水、BMSCs、Bcl-2 和 BMSCs+Bcl-2 处理模型小鼠，并通过免疫组化测其蛋白质表达。</p> <p>姓名：赵磊 排名：2 职称：主治医师,主治医师 行政职务：无 工作单位：哈尔滨医科大学附属第二医院</p> <p>对本项目的贡献： 本人参与了本研究所需实验材料的购买及配置，并与主要完成单位负责人协调实验场地及贵重设备使用的相关事宜，并协助第一主要完成人敲定了实验的具体细节，参与了部分实验如用 CCL4 诱导 BALB/c 小鼠肝损伤，采用</p>
---------	--

	<p>肝脏组织进行免疫荧光检测，观察移植 BMSCs 和 Bcl-2 后细胞的增殖及分化，并对 ALB、CK18、HNF-4<math>\alpha</math> 三种蛋白进行标记定位。本人还参与了实验过程中的多次讨论，参与修正实验思路及文章撰写相关事宜。</p> <p>姓名：宁丹丹 排名：3 职称：主治医师,主治医师 行政职务：无 工作单位：哈尔滨医科大学附属第二医院</p> <p>对本项目的贡献： 本人主要负责养护实验小鼠，及对实验样本的管理，并定期观察小鼠的饮食及健康状况，以保证实验的顺利进行，并在经过 4 周 CCL4 诱导肝硬化 BALB/c 小鼠模型后，分别在治疗后 7 天、14 天、21 天和 28 天从 BALB/c 小鼠腔静脉采血并处死 BALB/c 小鼠，协助第一完成人完成对其肝功各项指标的测定。</p> <p>姓名：刘冰熔 排名：4 职称：教授,主任医师 行政职务：消化病院院长 工作单位：郑州大学附属第一医院</p> <p>对本项目的贡献： 本人在研究过程中主要负责实验数据的收集、系统分析及整理归纳，并制作成图表以用于结果的申报及文章论著的撰写。</p> <p>姓名：韩明子 排名：5 职称：教授,主任医师 行政职务：科室副主任 工作单位：哈尔滨医科大学附属第二医院</p> <p>对本项目的贡献： 本人的主要任务是查找国内外相关文献，以解决实验过程中遇到的问题，并监督实验过程是否正确规范，实验方向是否可行，同时为论文论著的撰写提供意见。</p> <p>姓名：李呼伦 排名：6 职称：教授,教授 行政职务：神经生物学教研室主任 工作单位：哈尔滨医科大学</p> <p>对本项目的贡献： 本人在研究过程中主要负责实验过程中为研究人员提供技术指导及支持，并负责与外部技术人员联系，以保证实验质量。</p>
主要完成单位情况	<p>单位名称：哈尔滨医科大学附属第二医院</p> <p>排名：1</p> <p>对本项目的贡献： 在本项目研究过程中，哈尔滨医科大学附属第二医院为其提供了条件良好、设备齐全的实验室，以及包括流式细胞仪、荧光显微镜、台式体温高速离心机、倒置相差显微镜等在内的专业仪器，同时还配备了经验丰富、有超强科研能力的老师做技术指导。相关负责人积极为该项目研究人员提供支持，包括为其提供充裕的实验时间，材料购买资源等。</p>



