



申请代码	H0107
接收部门	
收件日期	
接收编号	8226010314



8226010314

国家自然科学基金 申请书

(2022版)

资助类别：地区科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：钠离子通道 Na_x 在肺动脉高压病理过程中的作用与机制研究

申请人：何亚琴 电话：0951-6744062

依托单位：宁夏医科大学

通讯地址：宁夏银川市兴庆区胜利街1160

邮政编码：750004 单位电话：0951-6980063

电子邮箱：heyq3342@hotmail.com

填写日期：2022年02月28日

国家自然科学基金委员会



基本信息

申请人信息	姓名	何亚琴	性别	女	出生年月	1984年09月	民族	回族
	学位	硕士	职称	助理研究员				
	是否在站博士后	否		电子邮箱	heyq3342@hotmail.com			
	电话	0951-6744062		国别或地区	中国			
	申请人类别	依托单位全职						
	工作单位	宁夏医科大学/总医院						
	主要研究领域							
依托单位信息	名称	宁夏医科大学						
	联系人	李元杰		电子邮箱	zhenzhen1081@163.com			
	电话	0951-6980063		网站地址	http://www.nxmu.edu.cn/			
合作研究单位信息	单位名称							
	深圳大学							
项目基本信息	项目名称	钠离子通道Nax在肺动脉高压病理过程中的作用与机制研究						
	英文名称	The role and mechanism of Sodium channel Nax in mediating the pathological process of pulmonary arterial hypertension						
	资助类别	地区科学基金项目			亚类说明			
	附注说明							
	申请代码	H0107. 肺循环与肺血管疾病						
	研究期限	2023年01月01日 -- 2026年12月31日			研究方向：1. 肺动脉高压的病因与发病机制			
	申请直接费用	35.0000万元						
中文关键词	肺动脉高压；血管重塑；细胞间相互作用；肺动脉内皮细胞；钠离子通道							
英文关键词	pulmonary arterial hypertension (PAH) ; vascular remodeling; crosstalk; pulmonary arterial endothelial cell; sodium channel							



中文摘要	<p>肺动脉高压（PAH）是一种以血管内皮细胞稳态的失衡，血管中层平滑肌细胞异常增殖和迁移导致血管壁增厚和血管重塑为主要病理特征的恶性疾病，阐明这些病变的机制并开发针对性治疗是目前亟待解决的问题。近年研究发现钠离子通道Nax在多种疾病模型中具有介导细胞增殖、炎症病变、血管阻力增加和组织纤维化的作用。本项目组在前期研究中发现，Nax的基因（scn7a）在PAH模型大鼠肺动脉血管中表达增高，并在肺动脉内皮细胞有高水平表达，在高钠条件下Nax介导内皮细胞的增殖和迁移，提示Nax可能参与PAH病理过程的信号传递。本项目拟研究Nax在PAH发生，动脉血管不同细胞间相互作用，促炎性细胞渗透和血管重塑过程中的作用与机制，并确定Nax所介导的信号通路和调节的相关基因。研究结果可望为探索新的PAH治疗方法提供研究方向和治疗靶点。</p>
英文摘要	<p>Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a life threatening disease characterized by the lose of vascular endothelial homeostasis, the abnormal proliferation and migration of vascular smooth muscle cells, and the thickening and remodeling of vascular walls. In recent years, it has been found that Nax plays a role in mediating cell proliferation, inflammatory lesions, increased vascular resistance and tissue fibrosis in various disease models. In our previous study, we found that the expression of Nax gene (scn7a) was increased in pulmonary artery vessels of PAH model rats, and pulmonary artery endothelial cells expressed scn7a in a high level. Further studies demonstrated Nax mediated the proliferation and migration of endothelial cells under high sodium conditions, suggesting that Nax may be involved in signal transduction in PAH pathological process. The current project intends to study the role and mechanism of Nax in the pathogenesis of PAH, the crosstalk between different arterial cell types, the pro-inflammatory cell infiltration and vascular remodeling, and the signaling pathways mediated by Nax. These results are expected to provide new research directions and therapeutic targets for exploring novel PAH treatment methods.</p>



主要参与者（注：主要参与者不包括项目申请人）

编号	姓名	出生年月	性别	职 称	学 位	工作单位	项目分工	电话	证件号码
1	谢小亮	1981-10-01	男	副主任医师	博士	宁夏医科大学	数据分析	13995381802	6*****2
2	王俊	1990-01-13	男	讲师	博士	深圳大学	动物模型病理检测	0755-26536629	6*****9
3	丁璐	1991-04-06	男	助理实验师	硕士	宁夏医科大学	分子实验	0951-6746367	6*****4
4	刘莉	1988-02-08	女	助理研究员	硕士	宁夏医科大学	动物实验	14709599805	6*****3
5	崔节达	1992-04-17	男	医师	硕士	宁夏医科大学	病理实验	13723309673	3*****X
6	刘君伟	1992-04-07	男	医师	硕士	宁夏医科大学	细胞实验	0951-6743363	6*****X

总人数	高级	中级	初级	博士后	博士生	硕士生
10	1	3	3	0	0	3



国家自然科学基金项目资金预算表

项目申请号：8226010314

项目负责人：何亚琴

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	一、项目直接费用合计	35.0000
2	1、设备费	0.0000
3	其中：设备购置费	0.0000
4	2、业务费	29.0000
5	3、劳务费	6.0000
6	二、其他来源资金	0.0000
7	三、合计	35.0000

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申请书预算表编制说明》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。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。)

项目直接费用: 35 万元

一、设备费:

设备购置费: 0.00 元

二、业务费:

1. 材料费:

①细胞培养等所需费用: 培养基 30 瓶;胎牛血清 3 瓶;原代细胞: 肺动脉微血管内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞;原代细胞培养基 10 瓶; CCK-8 试剂盒等; 4 万元

②分析试剂与试剂盒: ELISA 试剂盒;活性氧化物 (ROS); 乳酸盐 (D-Lactate); 炎性细胞因子; 趋化因子; 信号通路分析试剂盒; PDK 试剂盒; Rho 试剂盒; Rock 试剂盒; 细胞核分离试剂盒; HIF 试剂盒; 5 万元

③免疫组化抗体: Nax 抗体; Tie2 抗体; α -MSA 抗体; ET1 抗体; ET3 抗体; PGDFRb 抗体; CD11b; CD3; CD19; CD8; 3 万元

④过表达载体构建: 1 万元

⑤小鼠购置及饲养: 100 只小鼠; 其中 50 只基因敲除小鼠; 5 万元

⑥其他: 各类细胞培养皿/瓶、枪头、各种型号离心管、冻存管、实验手套、实验室常用普通试剂等耗材试剂费用; 3 万元

2. 测试化验加工费:

①流式细胞仪检测费用; 1 万元 ;

②测序费用; 2 万元

3. 差旅/会议/国际合作与交流费:

拟参加国内会议 1 次, 1 人/次, 会议注册费用平均 2000 元/人/次, 往返交通住宿费: 2000 元/人/次; 拟参加国际会议 1 次, 1 人/次, 会议注册费用平均 4000 元/人/次, 往返交通住宿费: 12000 元/人/次; 2 万元

4. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费:

拟发表 SCI 论文 2 篇, 按照每篇版面费 1.0 万元, 2.00 万元; 国内核心期刊论文 2 篇, 按照每篇版面费 0.5 万元, 1.0 万元; 3 万元



三、**劳务费**：主要用于硕士、博士研究生劳务费

500 元/月/人 x 10 月 x4 年 x3 人=6.00 万元

四、**其他来源资金**：无

NSFC 2022



报告正文

参照以下提纲撰写，要求内容翔实、清晰，层次分明，标题突出。
请勿删除或改动下述提纲标题及括号中的文字。

(一) 立项依据与研究内容（建议 8000 字以下）：

1. 项目的立项依据（研究意义、国内外研究现状及发展动态分析，需结合科学研究发展趋势来论述科学意义；或结合国民经济和社会发展中迫切需要解决的关键科技问题来论述其应用前景。附主要参考文献目录）；

1.1 研究意义

肺高压（Pulmonary Hypertension, PH）是以肺血管阻力和肺动脉压力升高为特征的一类恶性疾病。肺动脉高压（Pulmonary Arterial Hypertension, PAH）是 PH 中临床风险和死亡率较高的一种，其临床特征包括动脉血管壁中层平滑肌细胞增殖和迁移导致的血管重塑，从而引起肺动脉压持续升高并引发右心室病变¹。PAH 病理过程包括多个因素作用，并伴有多种病理变化。主要致病因素包括环境因子（空气污染 低氧环境等）、遗传因素（比如 BMPR2 突变 ALK1 突变等）、体内循环因子（比如激素和炎症蛋白因子）、肺动脉血管内皮细胞病变，包括能量代谢方式转变和乳酸盐过量分泌，内皮素（Endothelin, ET）异常表达和内皮细胞向间充质细胞转化（Endothelial to mesenchymal transition, EndoMT）、免疫细胞的炎症反应，（比如免疫细胞的渗透和炎性因子的分泌）以及组织修复功能的丧失（比如血管重塑机能的丧失）²⁻⁷。

PAH 的典型病理变化包括血管内皮细胞稳态的丧失，细胞能量代谢由线粒体氧化磷酸化向糖酵解的转变⁸，血管中层平滑肌细胞的异常增殖和迁移导致的管壁增厚，促炎性免疫细胞和炎性因子的渗透导致的血管壁重塑。

由于复杂的病因和病理变化，目前临床上尚没有治愈 PAH 的方法，因此多年来肺高压临床死亡率没有显著下降²。因此，深入研究 PAH 的病理机制和 PAH 病理过程中的重要信号通路和提供新的治疗靶点是急需解决的问题。



本课题在前期研究中对低氧诱导的大鼠 PAH 模型的肺动脉血管进行全 RNA 测序，发现钠离子通道 *Nax* 的基因 *scn7a* 在 PAH 模型大鼠的表达较正常对照组显著升高，进一步研究发现 *Nax* 对肺动脉内皮细胞乳酸盐分泌，内皮细胞的迁移与增殖均有一定促进作用，提示 *Nax* 可能在 PAH 病理过程中具有介导多个信号通路的作用。

Nax 是电位门控钠离子通道 (Nav) 家族的一个成员，不同于其它成员，*Nax* 由于基因结构的改变，其主要功能由通过感应电位变化调节钠离子进出细胞的通量转变成了通过感应钠离子浓度和其他细胞外因子 (比如 ET) 的变化而调节细胞生理和病理功能的跨膜受体。近年研究发现，*Nax* 活性受钠浓度和 ET 调节，对细胞的葡萄糖利用，乳酸盐分泌，组织纤维化及炎症反应均有促进作用。

依据我们前期工作的发现，*Nax* 基因在 PAH 模型中增加表达，并在体外研究证明 *Nax* 具有增加动脉血管内皮细胞乳酸盐分泌，细胞增殖和细胞迁移的作用，本课题拟对 *Nax* 在 PAH 病理变化过程中的作用与作用机制进行深入研究，以期阐明 *Nax* 在肺高压形成过程中以及在血管内皮细胞能量代谢方式转变、内皮细胞稳态失衡、促炎性细胞活化和不同细胞间互作 (Crosstalk) 过程中的作用，研究可望加深对 PAH 病理机制的了解，并为探索更有效治疗方法提供新的方向和靶点。

1.2 国内外研究现状及发展动态

1.2.1 *Nax* 功能研究

电位门控钠离子通道 (voltage-gated sodium channel) 是一组跨膜蛋白，其功能是通过感应跨膜电位变化而调节钠离子进出细胞膜的通量⁹。人及哺乳动物的钠离子通道由一个 α 亚基和一个 β 亚基形成， α 亚基的主要功能是感应和控制电位， β 亚基主要功能包括门控机制和钠通量动力学调节¹⁰。在大多数钠离子通道成员中，通道在细胞膜内的结构包括第 III 第 IV 两个区域，其功能是通道开关的调控。在 *Nax* 的基因 (*scn7a*) 结构中编码这两个区域的序列缺失。由于这一基因结构的改变，*Nax* 的主要功能成为感应和传导细胞外钠离子浓度和其他因子变化的生物信号¹¹。这一结构变化导致的功能变化已被近年的研究所证实¹²。

新近研究发现，*Nax* 的功能主要是对钠离子浓度的感应和信号传递，Watande



等¹³研究发现, *Nax* 基因敲除的小鼠表现对盐水摄取异常。Hiyama 等把从 *Nax* 基因敲除和正常小鼠分离的神经元在高钠条件培养, 结果证明 *Nax* 基因敲除小鼠丧失了对钠离子的敏感性, 并且在这些神经细胞表达外源性 *Nax* 可以恢复这一敏感性。这些及其它研究表明, *Nax* 具有感应环境钠浓度并传递信号调节的细胞功能的作用。Berrt¹⁴等进一步研究 *Nax* 的信号通路, 发现 *Nax* 与 Na^+/K^+ -ATPase 的 α 亚基在神经元细胞中表达在同一位置, 当细胞外钠离子浓度增高时神经元有信号输入, 加入 Na^+/K^+ -ATPase 抑制剂可以抑制这一信号, 证明 *Nax* 信号通路依赖于 Na^+/K^+ -ATPase 的活性。进一步研究发现, 将神经元前体细胞在高钠条件下培养 48 小时同时增加了 *Nax* 和 Na^+/K^+ -ATPase 蛋白的表达¹⁵。这些研究表明, 当细胞外钠离子浓度变化时, *Nax* 被活化并继而激活细胞内 Na^+/K^+ -ATPase 信号通路。

1.2.2 *Nax* 活化增加细胞对葡萄糖的摄入和乳酸盐生成

PAH 病理中发生改变的主要动脉血管细胞 (内皮细胞, 平滑肌细胞和成纤维细胞) 的共同特征之一是细胞糖酵解代谢和乳酸盐生成增加¹⁶。在血管壁中, 钠存在于上皮细胞, 内皮细胞, 平滑肌细胞及细胞外基质中, 并在病理条件下影响细胞的增殖和迁移, 导致血管收缩和重塑¹⁷。近年研究发现, *Nax* 活化可以提高细胞对葡萄糖的利用和乳酸盐的分泌。Shimizu 等¹⁸研究证明, 在正常大鼠胶质细胞体外培养中, 高钠条件可以增加 *Nax* 的表达, 高表达的 *Nax* 直接与 Na/K -ATPase 偶联并增加细胞对葡萄糖的摄入, 同时增加乳酸盐的生成和分泌。而同样条件下培养的 *Nax* 基因敲除小鼠的细胞不表达这一性状。研究者进一步证明, 这一 *Nax* 介导的乳酸盐分泌可以传递信号给神经元并调节神经元的功能。

新近研究发现, 乳酸盐与其特异性受体 GPR81 的信号通路异常活化是导致肾血管高压的重要机制¹⁹。研究者利用乳酸盐和 GPR81 配体特异性激活 GPR81, 发现 GPR81 活化导致野生型小鼠肾高压病变, 而同样处理的 GPR81 基因敲除小鼠不发生病变。研究者推断, 细胞外基质中乳酸盐通过旁分泌机制调节肾血管压力。

1.2.3 *Nax* 在促炎性免疫细胞活化中的作用

Delivio 等²⁰在研究人皮肤细胞中发现, 高钠条件培养的人皮肤细胞增加 *Nax*



的表达,这一高表达可诱导促炎性免疫因子的表达,包括 IL-1 β 、IL-8、Cox2 和 TNF- α 。这一诱导依赖于上皮细胞钠通道的介导²¹⁻²³。Delivio 实验证明,分别敲除上皮钠离子通道(ENaC- α)和 Nax 的基因(scn1a 和 scn7a)都足以阻断这一通路,从而证明一条由高钠诱导,ENaC- α 和 Nax 介导的信号通路,这一通路的活化导致促炎性细胞的活化和炎性因子表达。在由诱导炎症反应生成组织纤维化的实验中,Noda 和 Hiyama 分别证明,在通过增加促炎性免疫反应诱导的肝、肾组织纤维化和肺高压血管重塑与纤维化的模型中均伴有 Nax 的高表达,说明组织稳态失衡会趋动 Nax 的表达和活性增加,从而活化免疫细胞和促炎性因子的表达²⁴。Zhao²⁵等研究者在研究皮肤炎症模型中发现,抑制 Nax 的表达可以延缓由咪喹莫特(imiquimod)诱导的皮肤炎症,并减少了浆细胞,嗜酸性细胞,嗜中性细胞,T 细胞和巨噬细胞的渗透和炎症介导因子 S100A9 等的表达。

1.2.4 内皮素(ET)对 Nax 的调节作用

ET 主要由内皮细胞分泌,在血管稳态维持上起关键作用。ET 包括三个亚型,分别为 ET1、ET2 和 ET3,他们通过两个特异性 G 蛋白偶联受体(ETA-R 和 ETB-R)传递生物信号,其中 ETA-R 为 ET1 的特异性受体,ETB-R 则可与所有 3 个 ET 结合,ET1 是对血管稳态调节作用最强的内皮因子。有充分研究表明²⁶,ET1 过量分泌可导致肺高压形成。

ET 对 Nax 的调节作用直到近年才被实验证实。Hiyama 等²⁷研究证明,在生理浓度条件下,Nax 的活性随 ET3 的浓度而增加,ET3 浓度在 1nM 条件下,Nax 可获得完全活性。Unezaki 等²⁸研究证明,在小鼠外周神经细胞中 Nax 介导一条 ET1 增加乳酸盐生成,后者影响神经活性的通路,从而证明 ET1 对 Nax 功能的调节作用。TU 等研究证明,Nax 增加乳酸盐分泌的功能与 ET1 受体偶联,在神经细胞中 ET1 可增加神经突的生长,而这一作用是由 Nax 所介导,因此证实 Nax 与 ET1 受体偶联作用在外周神经再生中具有关键作用。

1.2.5 Nax 在肺血管细胞表达的研究

Platoshyn 等²⁹人首先在人肺动脉平滑肌细胞证实了 Nax 的表达,Hagiwara 等³⁰利用电镜技术证明 Nax 在小鼠肺微血管内皮细胞表达,并进而证明 Nax 在小鼠活体的表达及功能。Reyfman³¹等通过单细胞 RNA 测序证明 Nax 在小鼠肺内皮

细胞及小鼠和人的肺血管成纤维细胞表达，Sabbtagh 等³²应用活体蛋白标记技术（Tie2-GFP）证明 Nax 在肺、肝及中枢神经等多种器官的内皮细胞表达。综合上述研究，Nax 在人和小鼠的肺血管内皮细胞、平滑肌细胞及成纤维细胞的表达已有充分的实验依据。在最近研究报导中，Hansen³³等研究 P2X7 受体（P2X7R）的拮抗物 PKT100 对肺高压导致的右心室病变的治疗作用，证明 PKT100 有效降低了肺高压模型动物右心室肥厚性病变和死亡率，这一治疗效果伴随 *scn7a* 基因表达的下调，显示 *scn7a* 表达可能与肺高压的发生或由肺高压导致的右心室肥厚性病变相关。

1.3 立项依据

综合上述研究，Nax 是人和小鼠肺内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞以及多种组织器官表达的钠浓度感应和信号传递的受体，在高浓度钠离子和 ET 作用下，Nax 可以导致乳酸盐分泌增加、促炎性免疫细胞活化和炎性因子分泌、以及血管平滑肌增生和血管重塑（图 1）。然而到目前为止 Nax 在 PAH 病理过程中的作用及机制尚有研究。

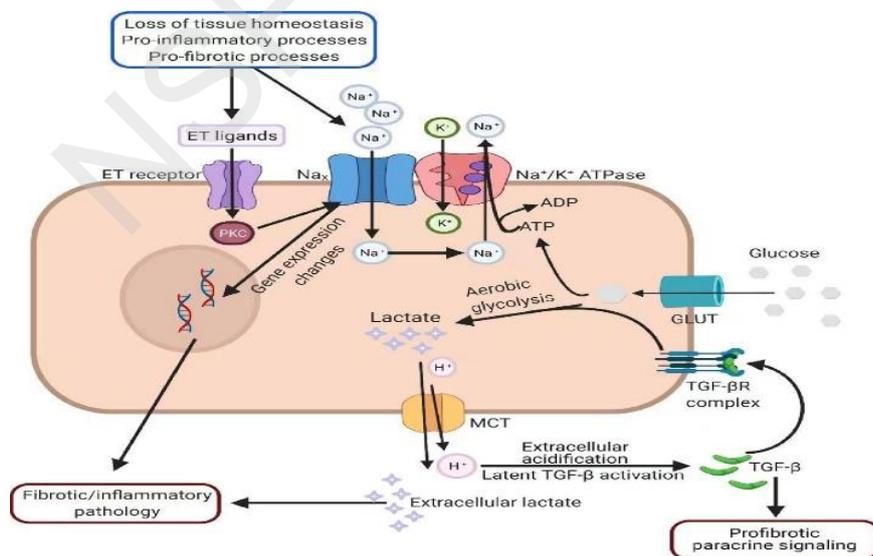


图 1. 内皮细胞稳态失衡可导致细胞外钠离子和 ET 浓度增加，二者分别或协同作用活化 Nax，从而激活不同的细胞内信号通路，影响促炎性基因的表达，糖酵解代谢和乳酸盐生成的增加，促纤维化因子的分泌和组织纤维化生成。（参考文献 20）



本项目组在前期研究 PAH 的实验中，对低氧诱导的大鼠 PAH 模型（研究基础图 1）的肺动脉血管进行的全 RNA 测序，发现 *Nax* 的基因（*scn7a*）在 PAH 组的表达较正常组显著增高（研究基础图 2）。进一步细胞定位实验证明 *Nax* 在 PAH 大鼠肺动脉内皮细胞有较高水平表达（研究基础图 3）。因此我们对大鼠肺动脉血管内皮细胞进行了进一步研究，发现在高钠条件培养的内皮细胞增加 *scn7a* 基因的表达（研究基础图 4）。同一条件研究发现，高钠增加了内皮细胞迁移和增殖（研究基础图 5）。在对 *Nax* 功能研究中，高钠培养条件诱导了内皮细胞乳酸盐的分泌（研究基础图 6），干扰 *scn7a* 基因的表达可以有效抑制这一诱导作用（研究基础图 7），说明高钠诱导的乳酸盐分泌是通过 *Nax* 的介导作用。同一条件培养内皮细胞研究发现高钠增加了 ET1 的表达（研究基础图 8）。

综合对 *Nax* 的研究进展和我们前期实验结果，我们推断 *Nax* 可能在 PAH 病理过程中具有促进作用，可能的途径是，当由低氧或其它病理因素导致肺动脉内皮细胞稳态失衡时，内皮细胞病变可导致 ET1 异常表达和细胞外基质钠浓度增高，二者共同或分别引起 *Nax* 活性增高，从而增加乳酸盐分泌、促炎性细胞活化和炎性因子分泌、以及肺动脉血管中层平滑肌增生和血管重塑。因此，我们设计本课题，拟对 *Nax* 在 PAH 病理过程中的作用做深入研究。重点研究 *Nax* 在 PAH 的形成和其病理过程中对内皮细胞增殖，迁移和 EndoMT 的影响，对肺动脉血管内皮细胞，平滑肌细胞和成纤维细胞间相互作用（Crosstalk）的影响，对肺动脉血管中层平滑肌增生对血管重塑的影响，以及 *Nax* 所介导的信号通路，以期阐明 *Nax* 在 PAH 病理中的作用与机制。研究结果可望为探索 PAH 治疗方法提供新的研究方向和治疗靶点。

参考文献：

1. Thenappan T, Ormiston ML, Ryan JJ, Archer SL. Pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and clinical management. *BMJ*. 2018 Mar 14; 36.
2. Sommer N, Ghofrani HA, Pak O, Bonnet S, Provencher S, Sitbon O, Rosenkranz S, Hoeper MM, Kiely DG. Current and future treatments of pulmonary arterial hypertension. *Br J Pharmacol*. 2021 Jan; 178(1):6-30.
3. Humbert M, Guignabert C, Bonnet S, Dorfmüller P, Klinger R, Nicolls MR, Rabinovitch M. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *The European Respiratory Journal*, 2019, 53, 1801887.



4. Huertas, A, Guignabert, C., Barbera, J. A, Bartsch, P, Bhattacharya, J, Bhattacharya, S, Wilkins, M. R, Pulmonary vascular endothelium: the orchestra conductor in respiratory diseases: Highlights from basic research to therapy. *The European Respiratory Journal*, 2018, 51, 1700745.
5. Boucherat, O, Chabot, S, Antigny, F, Perros, F, Provencher, S., Bonnet, S. Potassium channels in pulmonary arterial hypertension. *The European Respiratory Journal*, 2015. 46, 1167–1177.
6. Yuan, K, Orcholski, M. E., Panaroni, C., Shuffle, E. M., Huang, N. F., Jiang, X., de Jesus Perez, V. A. Activation of the Wnt/planar cell polarity pathway is required for pericyte recruitment during pulmonary angiogenesis. *The American Journal of Pathology*, 2015. 185, 69–84.
7. Ghataorhe, P, Rhodes, C. J, Harbaum, L, Attard, M, Wharton, J, Wilkins, M. R. Pulmonary arterial hypertension—Progress in understanding the disease and prioritizing strategies for drug development. *Journal of Internal Medicine*, 2017. 282, 129–141.
8. Norah Alruwaili, Sharath Kandhi, Dong Sun, Michael S Wolin Metabolism and Redox in pulmonary vascular physiology and pathophysiology. *Antioxid Redox Signal*, 2019 Oct 1; 31(10):752-769.
9. Hull JM, Isom LL, Voltage-gated sodium channel beta subunits: the power outside the pore in brain development and disease. *Neuropharmacology*, 2018, 132:43–5.
10. Namadurai S, Yereddi NR, Cusdin FS, Huang CL-H, Chirgadze DY, Jackson AP, A new look at sodium channel β subunits. *Open Biol*, 2015, 5:140192.
11. George AL Jr, Knittle TJ, Tamkun MM, Molecular cloning of an atypical voltage-gated sodium channel expressed in human heart and uterus: evidence for a distinct gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89:4893–4897.
12. Akopian AN, Souslova V, Sivilotti L, Wood JN, Structure and distribution of a broadly expressed atypical sodium channel. *FEBS Lett*, 1997, 400:183–187.
13. Watanabe E, Hiyama TY, Shimizu H, Kodama R, Hayashi N, Miyata S, Sodium-level-sensitive sodium channel α is expressed in glial lamina processes in the sensory circumventricular organs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, 290:R568–R576.
14. Berret E, Nehme B, Henry M, Toth K, Drolet G, Mougnot D, Regulation of central Na^+ detection requires the cooperative action of the α channel and α 1 isoform of Na^+/K^+ -atpase in the Na^+ -sensor neuronal population. *J Neurosci*, 2013,33:3067–3078
15. Berret E, Smith PY, Henry M, Soulet D, Hebert SS, Toth K, Extracellular Na^+ levels regulate formation and activity of the α 1- Na^+/K^+ -atpase complex in neuronal cells. *Front Cell Neurosci*, 2014,8:413
16. Maron BA; Pulmonary arterial hypertension: Cellular and molecular changes in the lung. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2020 Apr 30; 2020(1):e202003.
17. Liu G, Fu D, Tian H, Dai A. The mechanism of ions in pulmonary hypertension. *Pulm Circ*. 2021 Jan 27;11(1):2045894020987948



18. Shimizu H, Watanabe E, Hiyama TY, Nagakura A, Fujikawa A, Okado H
Glial nax channels control lactate signaling to neurons for brain $[Na^+]$ sensing.
Neuron,2007, 54:59–72
19. Jones NK, Stewart K, Czopek A, Menzies RI, Thomson A, Moran CM, Cairns C, Conway BR, Denby L, Livingstone DEW, Wiseman J, Hadoke PW, Webb DJ, Dhaun N, Dear JW, Mullins JJ, Endothelin-1 Mediates the Systemic and Renal Hemodynamic Effects of GPR81 Activation. Bailey MA. *Hypertension*. 2020 May; 75(5):1213-1222.
20. David Dolivo, Adrian Rodrigues, Lauren Sun, Yingxing Li, Chun Hou, Robert Galiano, Seok Jong Hong, Thomas Mustoe. The Nax (SCN7A) channel: an atypical regulator of tissue homeostasis and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences* ,2021,78:5469–5488
21. Xu W, Jia SX, Xie P, Zhong AM, Galiano RD, Mustoe TA , The expression of proinflammatory genes in epidermal keratinocytes is regulated by hydration status. *J Invest Dermatol* ;2014;134:1044–1055
22. Xu W, Hong SJ, Zeitchek M, Cooper G, Jia S, Xie P, Hydration status regulates sodium flux and inflammatory path-ways through epithelial sodium channel (enac) in the skin. *J Invest Dermatol*,2015,135:796–806
23. Xu W, Hong SJ, Zhong A, Xie P, Jia S, Xie Z, Sodium channel nax is a regulator in epithelial sodium homeostasis. *Sci Transl Med*, 2015, 7:1–13
24. Noda M, Hiyama T, Sodium sensing in the brain. *Pflugers Arch*. 2015 Mar; 467(3):465-74.
25. Zhao J, Xie P, Galiano RD, Qi S, Mao R, Mustoe TA, Hong SJ
Imiquimod-induced skin inflammation is relieved by knockdown of sodium channel Na(x). *Exp Dermatol*. 2019 May; 28(5):576-584
26. Matthias Barton , Masashi Yanagisawa Endothelin: 30 Years From Discovery to Therapy. *Hypertension* 2019 Dec; 74(6):1232-1265
27. Hiyama TY, Yoshida M, Matsumoto M, Suzuki R, Matsuda T, Watanabe E, Endothelin-3 expression in the subfornical organ enhances the sensitivity of nax, the brain sodium-level sensor, to suppress salt intake. *Cell Metab*, 2013, 17:507–519.
28. Unezaki S, Katano T, Hiyama TY, Tu NH, Yoshii S, Noda M , Involvement of nax sodium channel in peripheral nerve regeneration via lactate signaling. *Eur J Neurosci*, 2014 ,39:720–729.
29. Platoshyn O, Remillard CV, Fantozzi I, Sison T, Yuan JX, Identification of functional voltage-gated Na^+ channels in cultured human pulmonary artery smooth muscle cells. *Pflugers Arch*, 2005 ,451:380–387
30. Hagiwara T, Yoshida S, Contribution of concentration-sensitive sodium channels to the absorption of alveolar fluid in mice. *Respir Physiol Neurobiol*, 2016, 231:45–54.
31. Reyfman PA, Walter JM, Joshi N, Anekalla KR, McQuattie-Pimentel AC, Chiu S, Single-cell transcriptomic analysis of human lung provides insights into the pathobiology of pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2019, 199:1517–1536.



32. Sabbagh MF, Heng JS, Luo C, Castanon RG, Nery JR, Rattner A, Transcriptional and epigenomic landscapes of cns and non-cns vascular endothelial cells. *Elife* .2018 7:e36187.
33. Hansen T, Karimi Galougahi K, Besnier M, Genetzakis E, Tsang M, Finemore M, O'Brien-Brown J, Di Bartolo BA, Kassiou M, Bubb KJ, Figtree GA. The novel P2X7 receptor antagonist PKT100 improves cardiac function and survival in pulmonary hypertension by direct targeting of the right ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020 Jul 1; 319(1):H183-H191.
34. Kawarazaki W, Fujita T. Role of Rho in Salt-Sensitive Hypertension. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 15; 22(6):2958.
35. Tian L, Wu D, Dasgupta A, Chen KH, Epigenetic Metabolic Reprogramming of Right Ventricular Fibroblasts in Pulmonary Arterial Hypertension: A Pyruvate Dehydrogenase Kinase-Dependent Shift in Mitochondrial Metabolism Promotes Right Ventricular Fibrosis. *Circ Res*. 2020 Jun 5; 126(12):1723-1745.

2. 项目的研究内容、研究目标，以及拟解决的关键科学问题（此部分为重点阐述内容）；

2.1 研究目标

项目组前期研究发现 *Nax* 基因 *scn7a* 在大鼠肺高压模型中表达上调，在细胞水平证明 *Nax* 在肺动脉上皮细胞表达，并在病理条件下 *Nax* 增加内皮细胞乳酸盐分泌，细胞增殖与迁移，本项目拟对 *Nax* 的 PAH 病理过程的功能与机制作深入研究，具体研究目标包括：

(1) *Nax* 在 PAH 形成过程中对肺动脉内皮细胞稳态失衡，细胞增殖与迁移和肺动脉重塑的影响与机制。

(2) 阐明 *Nax* 在 PAH 病理的主要病变细胞（内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞和免疫细胞）间互作中的介导作用。

(3) 阐明 *Nax* 在 PAH 各种细胞病变过程中介导的信号通路和调节的下游基因。

2.2 研究内容

2.2.1. *Nax* 在 PAH 病理过程中的作用

(1) 在体水平

①利用 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠作低氧诱导的 PAH 模型，研究 *scn7a* 基因敲除对肺动脉血流动力学，肺动脉压，右心室收缩压和肥厚指数的影响。



②用 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠的 PAH 模型作肺动脉组织切片，研究 *scn7a* 基因敲除对动脉血管增厚和重塑，对血管平滑肌增生以及对免疫细胞渗透的影响。

③从 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠的 PAH 模型分离肺动脉内皮细胞，平滑肌细胞和成纤维细胞作体外培养，研究 *scn7a* 基因敲除在各细胞种类中对细胞增殖，迁移，程序化死亡的影响，以及对内皮细胞 (EndoMT) 的影响。

④取 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠的 PAH 模型肺动脉组织样本，研究 *scn7a* 基因敲除对 PAH 中免疫因子分泌的影响。

(2) 细胞水平

从 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠分离内皮细胞，并建立过表达外源 *scn7a* 基因的内皮细胞培养体系。将 *scn7a* 基因敲除细胞，野生型细胞和过表达细胞在高钠和 ET1/ET3 诱导条件下培养，研究各细胞增殖，迁移，程序化死亡和相关细胞因子分泌，从而确定 *Nax* 在各种病变过程的作用。

2.2.2 *Nax* 对 PAH 主要病变细胞间相互作用 (Crosstalk) 的调控作用

(1) 高钠/ET 诱导的细胞间调控

① 细胞间直接相互作用研究

分离 *scn7a* 基因敲除和野生型小鼠的肺动脉内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞作体外培养。

a. 分别将 *scn7a*^{-/-} 和 *scn7a*^{+/+} 的内皮细胞，平滑肌细胞和成纤维细胞在高钠或 ET1/ET3 诱导下培养 48 小时作为信号供体细胞；把未经过高钠或 ET1 诱导的细胞作为信号受体细胞。

b. 分别将 *scn7a*^{-/-} 和 *scn7a*^{+/+} 的信号供体细胞与各种不同的信号受体细胞在常规条件下共培养。

c. 研究在高钠和 ET1 诱导条件下，*scn7a* 基因敲除的内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞对其他细胞种类在细胞增殖，迁移，程序化死亡及相关细胞因子分泌的影响。

② 细胞因子介导的相互作用研究

在 Transwell 培养条件下重复上述实验，以研究上述作用是通过细胞接触或由细胞因子介导。



(2) PAH 病理条件下的细胞间调控

- ①建立 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠的 PAH 模型，以野生型健康小鼠为对照。
- ②从 *scn7a* 基因敲除和野生型的 PAH 小鼠分离肺动脉内皮细胞作为信号供体细胞，从野生型健康小鼠分离肺动脉平滑肌细胞和成纤维细胞作为信号受体细胞。
- ③分别将 *scn7a*^{-/-} 和 *scn7a*^{+/+} 的信号供体细胞（内皮细胞）与各信号受体细胞共培养，研究 *scn7a* 基因敲除在由病变的内皮细胞诱导正常细胞变化的过程中对细胞增殖，迁移，程序化死亡及相关细胞因子分泌的影响。

2.2.3. 研究 Nax 在 PAH 病变过程中介导的信号通路

(1) 细胞水平

根据 Nax 在多种动物和组织模型研究中可能参与的信号调控作用，本课题拟利用 *scn7a* 基因敲除，野生型过表达外源 *scn7a* 基因的内皮细胞，在高钠和 ET1 诱导条件下培养，研究 Nax 在以下信号通路活化中的作用：

- ①Nax 对 RhoRock 信号通路活化的影响。通过研究 *scn7a* 基因敲除或过表达情况下 Rho 和 Rock 的活化状态确定 Nax 的介导作用。
- ②Nax 对 PDK（丙酮酸脱羧酶激酶）信号通路活化的影响。通过研究 *scn7a* 基因敲除或过表达情况下各 PDK 亚型的表达水平（Western）和活性（磷酸化分析）的变化确定 Nax 的介导作用。
- ③Nax 对 HIF1 α /HIF2 α 信号通路活化的影响。通过研究 *scn7a* 基因敲除或过表达情况下 HIF1 α 和 HIF2 α 由细胞质向细胞核转移程度和 DNA 结合能力确定 HIF1 α 和 HIF2 α 的活化，从而研究 Nax 的 HIF1 α 和 HIF2 α 活化的影响。

(2) 在体水平

- ①利用 *scn7a* 基因敲除小鼠在野生型小鼠作低氧诱导的 PAH 模型，以野生型健康小鼠为对照组，分离各组肺动脉组织并在无蛋白变性条件下提取蛋白。
- ② 在各种蛋白样本中按步骤（1）的方法研究各信号通路的活化，确定 Nax 在各通路活化中的介导作用。

2.2.4. 研究 Nax 在 PAH 病理过程中调节的下游基因

(1) 细胞水平

将 *scn7a* 基因敲除，野生型和 *scn7a* 基因过表达的内皮细胞在高钠和



ET1/ET3 诱导条件下培养，分别对各种细胞作全 RNA 测序，分析由 *scn7a* 基因敲除和过表达导致的差异表达的下游基因。

(2) 在体水平

利用 *scn7a* 基因敲除小鼠在野生型小鼠作低氧诱导的 PAH 模型，以野生型健康小鼠为对照，分离各模型动物肺动脉的内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞作全 RNA 测序，分析由 *scn7a* 基因敲除导致的差异表达的下游基因。

2.3 拟解决的关键问题

(1) *Nax* 在 PAH 病理过程中的作用

前期研究发现 *scn7a* 在 PAH 模型大鼠中表达上调，并在细胞水平证明。高钠和 ET1 可诱导 *Nax* 表达细胞在乳酸盐分泌，细胞增殖和迁移方面的病理变化，但因为 *scn7a* 在 PAH 动物中高表达是我们首次发现，所以 *Nax* 在 PAH 发生中直接作用尚属空白。为了解决这个问题，我们拟直接研究 *scn7a*^J 基因敲除对 PAH 发生及各相关组织细胞病变的影响，从而阐明 *Nax* 的作用。

(2) *Nax* 在 PAH 病理变化的各细胞间互作中的介导作用

PAH 病理的一个显著特征是动脉壁细胞间的互相作用 (crosstalk)，然而到目前为止这一作用的方式和机制尚不清楚，近年研究发现 *Nax* 可以介导多个细胞间调节的信号通路，在活化免疫反应导致皮肤炎症，在活化平滑肌细胞导致组织纤维化，及在增加乳酸盐生成并通过 GPR81 导致肾血管高压等方面均有肯定的研究报导。因此我们推断 *Nax* 在 PAH 各细胞 crosstalk 中具有介导作用。因此我们将利用分别将 *scn7a*^{+/+} 和 *scn7a*^{-/-} 细胞与其他细胞交叉共培养的方法，以阐明在病理条件下 *Nax* 活化的细胞对其他细胞的调节作用。

(3) *Nax* 在 PAH 过程中调节的基因与通路

PAH 病理是复杂过程，最终导致肺动脉血管重塑 (remodeling) 到目前为止治疗 PAH 的药物尚未能针对血管重塑进行治疗。因此阐明肺血管重塑的分子机制是尚待解决的问题。我们拟剖析在体外水平和单一细胞种类条件下 *Nax* 在组织重塑中所调节的基因和信号通路，从而发现参与组织重塑的主要基因与信号通路。

3. 拟采取的研究方案及可行性分析 (包括研究方法、技术路线、实验手段、关



键技术等说明);

3.1. 拟采取的研究方案

按照研究内容及先后顺序，总体方案流程见图 2:

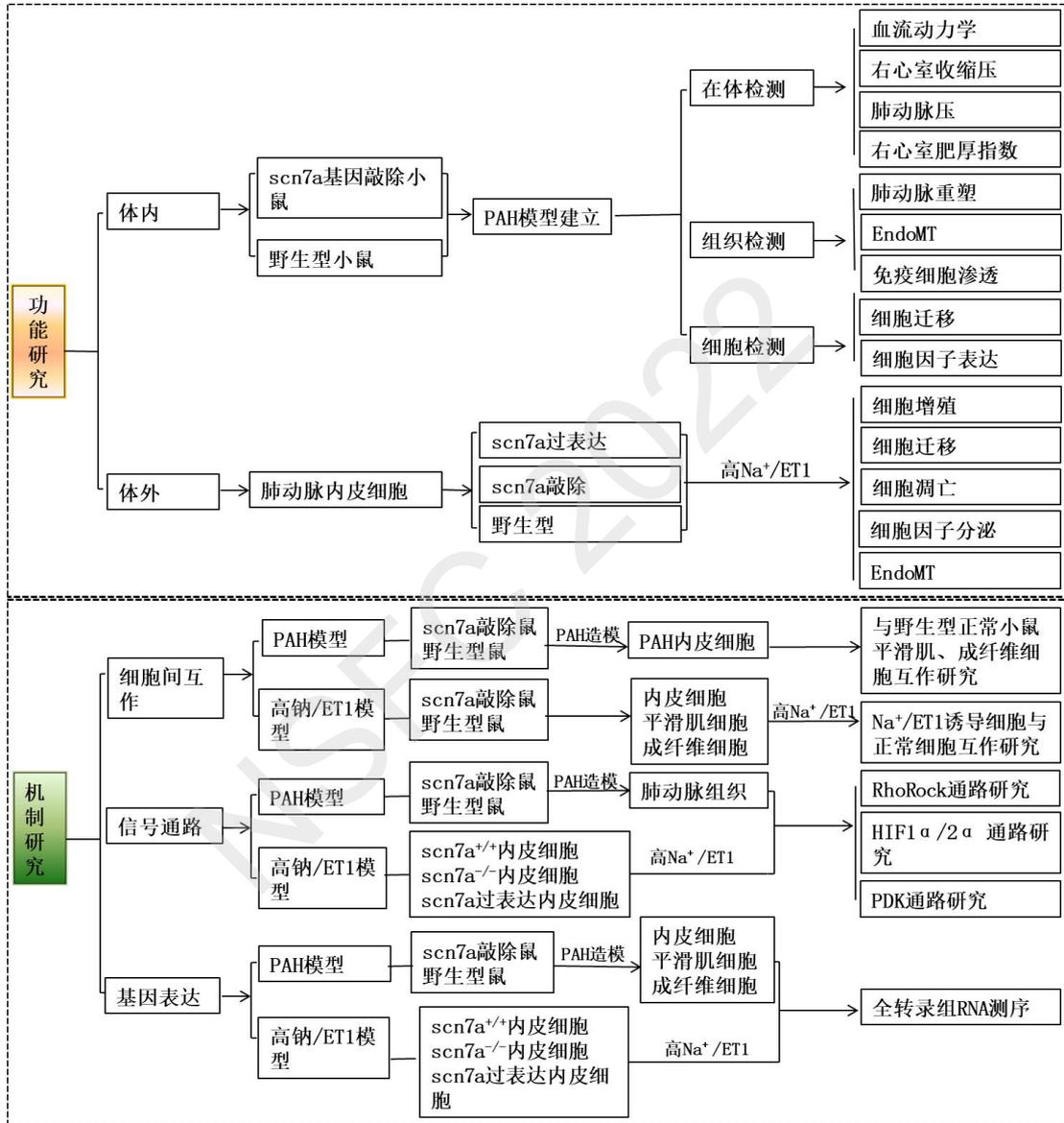


图 2 技术路线图

3.1.1. Nax 在 PAH 病理过程中的作用

(1) 在体研究

利用 scn7a 基因敲除小鼠和野生型小鼠建立低氧诱导的 PAH 模型。scn7a



基因敲除小鼠由南模生物疾病动物模型基地提供（已完成）。PAH 模型采用慢性低氧（10% O₂，4 周）的标准方构建。通过下列实验研究 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠之间的差别，从而确定 *Nax* 在 PAH 病理过程中的作用。

- ①在低氧诱导 PAH 形成的不同阶段，检测右心室收缩压（RVSP）、平均肺动脉压（mPAP）、肺动脉血流动力学指标和右心肥厚指数（RVHI）；
- ②解剖分离肺血管、液氮速冻并制备组织切片，通过免疫荧光实验研究肺动脉平滑肌增生，中层平滑肌增厚，免疫细胞（T 细胞，B 细胞，巨噬细胞，星状细胞，嗜酸性粒细胞，嗜中性粒细胞）渗透，内皮细胞 α -MSA 表达（EndoMT 标志）；
- ③解剖分离肺血管、液氮速冻，提取 RNA 和制备组织匀浆，通过 qPCR 和 Elisa 研究免疫因子（IL-1b, IL-6, TGF- β , TNF- α ）炎性趋化因子（CCL2, CCL5, ICAM-1, MCP-1, S100A9），及内皮细胞稳态失衡相关产物（ET1, ET3, 乳酸盐, ROS）在基因和蛋白水平的表达。

（2）PAH 条件下细胞水平研究

从不同 *scn7a* 基因型的 PAH 模型小鼠及对照（健康）小鼠取肺动脉血管分离内皮细胞，平滑肌细胞和成纤维细胞做体外培养：

- ①检测各细胞的增殖能力，迁移能力，细胞凋亡指标。
- ②检测各细胞免疫因子（IL-1, IL-8, TGF- β , TNF- α ），炎性趋化因子（CCL2, CCL5, ICAM-1, MCP-1, S100A9），及内皮细胞稳态失衡相关产物（ET1, ET3, 乳酸盐, ROS）的表达。

（3）体外 *Nax* 诱导条件下细胞水平研究

- ①从 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠肺动脉分离内皮细胞做体外培养。
- ②用慢病毒表达载体克隆 *scn7a* 基因并转染野生型小鼠肺动脉内皮细胞，建立 *scn7a* 基因过表达内皮细胞系。
- ③将 *scn7a*^{-/-}, *scn7a*^{+/+}, 和 *scn7a* 过表达内皮细胞分别在高钠和 ET1/ET3 诱导条件下培养，检测各细胞增殖能力，迁移能力，细胞凋亡指标，各细胞免疫因子（IL-1, IL-8, TGF- β , TNF- α ），炎性趋化因子（CCL2, CCL5, ICAM-1, MCP-1, S100A9），及内皮细胞稳态失衡相关产物（ET1, ET3, 乳酸盐, ROS）的表达，从而确定 *Nax* 在相应病理变化中的作用。



3.1.2 Nax 在 PAH 细胞相互作用中的介导作用

(1) PAH 病理条件下的细胞间调控

①利用 *scn7a* 基因敲除小鼠和野生型小鼠建立低氧诱导的 PAH 模型(步骤 3.1.1-(1))。

②麻醉各组小鼠并快速解剖分离肺动脉内皮细胞。同时从对照(野生型健康)小鼠肺血管分离肺动脉内皮、平滑肌、成纤维细胞。

③建立如下培养体系:

scn7a^{-/-} PAH 内皮细胞分别与野生型健康小鼠的肺血管肺动脉平滑肌、成纤维细胞共培养;

scn7a^{+/+} PAH 内皮细胞分别与野生型健康小鼠的肺血管肺动脉平滑肌、成纤维细胞共培养。

④研究各正常小鼠(野生型健康小鼠)来源的细胞在增殖能力,迁移能力,细胞凋亡指标,细胞免疫因子(IL-1, IL-8, TGF- β , TNF- α)分泌,炎症趋化因子(CCL2, CCL5, ICAM-1, MCP-1, S100A9)分泌,及内皮细胞稳态失衡相关产物(ET1, ET3, 乳酸盐, ROS)的表达,从而确定在 PAH 动脉细胞间相互作用中 *scn7a* 基因敲除的影响,确定 Nax 细胞间互作中的介导作用。

⑤将上述培养体系(步骤③)在 Transwell 条件下培养,重复步骤④。研究将确定上述细胞间互作是通过细胞接触或通过分泌细胞诱导因子实现。

(2) 高钠/ET 诱导的细胞间调控

①利用 *scn7a* 基因敲除和野生型小鼠分离肺动脉内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞并作体外培养,建立如下三个培养体系

scn7a^{-/-} 或 *scn7a*^{+/+} 的内皮细胞(信号供体细胞)与 *scn7a*^{+/+} 的平滑肌细胞或成纤维细胞(信号受体细胞)共培养;

scn7a^{-/-} 或 *scn7a*^{+/+} 的平滑肌细胞(信号供体细胞)与 *scn7a*^{+/+} 的内皮细胞或成纤维细胞(信号受体细胞)共培养;

scn7a^{-/-} 或 *scn7a*^{+/+} 的成纤维细胞(信号供体细胞)与 *scn7a*^{+/+} 的内皮细胞或平滑肌细胞(信号受体细胞)共培养;

②分别将各信号供体细胞在高钠和 ET1/ET3 条件下预培养 48 小时以活化 Nax 通路,然后将 Nax 活化的各信号供体细胞与上述相应的信号受体细胞(未经过高



钠和 ET1 诱导) 共培养 72 小时, 固定细胞, 通过免疫染色识别各细胞种类, 并研究各信号受体细胞在增殖能力, 迁移能力, 细胞凋亡指标, 细胞免疫因子 (IL-1, IL-8, TGF- β , TNF- α) 分泌, 炎性趋化因子 (CCL2, CCL5, ICAM-1, MCP-1, S100A9) 分泌, 及内皮细胞稳态失衡相关产物 (ET1, ET3, 乳酸盐, ROS) 的表达, 从而确定在动脉细胞间相互作用中 *scn7a* 基因敲除的影响, 确定 *Nax* 细胞间互作中的介导作用。

③将上述培养体系 (步骤①) 在 Transwell 培养, 重复步骤②。研究确定上述细胞间互作是通过细胞接触或通过分泌细胞诱导因子实现。

3.1.3 *Nax* 在 PAH 病变过程中介导的信号通路

3.1.3 信号通路

(1) 在体水平

①RhoRock 信号通路

RhoRock 通路在 PAH 中的作用已有充分的研究。Rock 通路的活化可导致肺动脉内皮细胞增殖和迁移、平滑肌增殖和血管重塑和导致 PAH 生成。不同钠离子通路对 Rock 活化的作用在肿瘤细胞中已有证明, 但在 PAH 尚不清楚, 最近研究表明, 高钠诱导 Rho 活化在盐敏感型的高血压病变中起重要作用, 显示在血管阻力增加和血压增高中钠离子通道活化具有活化 RhoRock 通路的作用³⁴。Rock 在非活化时处自动抑制状态, 当 Rho 活化时 Rho 与 GTPase 结合, 引起 Rock 活化, 通过 Rock 信号通路引起病理变化。因此 Rock 的活化可从 Rho-GTPase 结合与 Rock 磷酸化检测。

a. 体内研究

用 *scn7a* 基因敲除和野生型小鼠作 PAH 模型, 分离肺动脉血管速冻, 利用组织匀浆在无蛋白变性条件下制备蛋白溶解液, 用 GTPase pull-down 试剂盒 (ThermoFisher) 分离 GTPase 结合蛋白, 再用 Western blotting 检测 Phospho 蛋白, 确定在 *scn7a* 敲除与野生型 PAH 小鼠间 Rho 与 GTPase 结合的差异。用同样蛋白溶解液做 Rock 免疫沉淀和磷酸化 Western blotting, 确定在 *scn7a* 敲除与野生 PAH 小鼠间 Rock 磷酸化水平差异。

b. 体外研究

用 *scn7a* 基因敲除、基因过表达和野生型小鼠肺动脉内皮细胞作体外培养,



分别在高钠或 ET1/ET3 诱导条件下培养 48 小时,按上述实验方法检测 Rho 和 Rock 活化差异。

②PDK 信号通路

PAH 动脉血管细胞(内皮、平滑肌、成纤维细胞)的一个共同病理变化是糖酵解增加和氧化磷酸化降低,二者之间转化的重要中介酶是丙酮酸脱氢酶。大量研究者发现 Nax 在多种细胞的疾病模型中增加细胞糖酵解代谢。在 PAH 模型中, PDK 的活性增高伴随糖酵解增加和细胞增生,抑制 PDK 活性可减轻这些症状并缓解 PAH³⁵。因此 Nax 可能参与 PDK 活性的调节。

a. 体内研究

用 scn7a 基因敲除与野生型小鼠 PAH 肺动脉组织样本提取 RNA 并制备蛋白溶解液(方法同①-a),用 PCR 和 Western blotting 检测 PDK1、2、3、4 在 RNA 和蛋白水平表达。用 PDK 活性试剂盒检测各 PDK 亚型的活性,对比分析确定 Nax 敲除对 PDK 通路活化的影响。

b. 体外研究

用 scn7a 基因敲除、过表达和野生型肺动脉内皮细胞(步骤①-b)作体外培养,在高钠或 ET1/ET3 诱导条件下培养 48 小时,按②-a 方法检测 Nax 对 PDK 活性的影响。

③HIF1 α /HIF2 α 信号通路

近年研究证明 HIF 的 PAH 病理过程中起重要作用。HIF 是氧敏感性基因转录因子,在有氧条件下处于不活化状态,在低氧条件下被激活并转移到细胞核启动下游基因的表达。但在 PAH 病理状态下, HIF 可在常氧条件下保持活性,显示可能存在低氧之外的调节因素。Nax 已证明在常氧条件下,诱导细胞糖酵解代谢,所以 Nax 与 HIF 可能协同作用维持 PAH 细胞的糖酵解代谢。HIF 的活化可通过 HIF 在细胞核水平提高和 DNA 结合增加检测。

a. 用 scn7a 基因敲除,过表达和野生型小鼠内皮细胞作体外培养,用高钠或 ET1/ET3 诱导 48 小时。

b. 用细胞核分离试剂盒提取各细胞的细胞核,在无蛋白变性条件下,制备细胞核蛋白溶解液。

c. 用 Western blotting 检测细胞核与细胞质中 HIF1 α 和 HIF2 α 水平的变化,分



析 HIF 的核转移差异。

d. 用 HIF DNA 结合实验试剂盒检测核 HIF DNA 结合水平。

根据各各细胞 HIF1 α 和 HIF2 α 的核转移和 DNA 结合水平，研究 scn7a 敲除和过表达对 HIF 活性影响。

3.1.4 基因表达

①体外研究

a. 用 scn7a 基因敲除、过表达和野生型小鼠的内皮细胞作体外培养，用高钠或 ET1/ET3 诱导 48 小时。

b. 提取各细胞 RNA 作全 RNA 测序，分析 Nax 的下游基因表达。

②体内研究

用 scn7a 基因敲除和野生型小鼠作 PAH 模型，用健康野生型和健康 scn7a 基因敲除小鼠作对照，分离肺动脉内皮、平滑肌和成纤维细胞，提取细胞 RNA 作全 RNA 测序，分析 Nax 下游基因的表达。

3.2 可行性分析

(1) 理论可行性

近年来有大量研究证明 Nax 异常活化可直接导致细胞糖酵解代谢与乳酸盐生成增加^[17]和促炎性免疫细胞活化^[20-23]，并在肺纤维化，神经细胞再生，皮肤炎性病变和肾高压等病理过程中 Nax 均具有信号介导作用^[15,18,19,23]。我们前期研究首次发现 Nax 在 PAH 大鼠模型中表达显著高于对照动物（前期工作图 2），进一步研究证明在肺动脉血管内皮细胞培养中，细胞外钠离子浓度增加可导致内皮细胞乳酸盐分泌增加，并同时诱导内皮细胞增殖和迁移增加（前期工作图 4-6）。基于国内外研究进展和我们前期研究结果，我们推断 Nax 在 PAH 病理过程中，尤其在 PAH 发生和肺动脉血管内皮细胞，平滑肌细胞和成纤维细胞间相互作用（crosstalk）中具有介导作用，具有充足的理论和实验依据。

(2) 技术可行性

本项目拟应用的主要技术，包括 PAH 模型动物和基因敲除动物的研究，肺动脉血管细胞分离，鉴定，培养和基因表达细胞定位技术，信号通路鉴定技术以及 RNA 测序技术均为课题组成员成熟运用的技术，实验室具备完全的设备和



条件。本项目拟使用的 *scn7a* 基因敲除小鼠由科技部 863 计划疾病动物模型基地南模生物公司提供。

(3) 研究人员可行性

本项目团队的部分研究人员具有多年 PAH 研究，基因表达与功能研究，细胞信号通路研究和实用动物模型研究，并在相应领域发表多篇研究报告，有充分的能力和 experience 完成项目。

(4) 前期工作支持

本项目拟研究 *Nax* 在 PAH 病理过程中的作用机制，其中 *Nax* 在 PAH 动物模型中表达上调是我们首次发现，进一步的细胞定位研究，基因表达研究，细胞增殖与迁移研究和细胞功能研究等初步证明了 *Nax* 在肺动脉内皮细胞中介导与 PAH 相关的病理变化。这些研究为项目的实施奠定了基础。

4. 本项目的特色与创新之处：

(1) 原创性

Nax 虽然已经证明在多种组织表达并参与多种病变发生，但在 PAH 病理中 *Nax* 的表达与作用都未有报导。我们在发现 *Nax* 在 PAH 动物模型中表达上调以及在肺动脉内皮细胞中介导与 PAH 相关的病理变化的基础上设计本课题，深入研究 *Nax* 在 PAH 病理中的作用与机制，课题具有显著的原创性。

(2) 理论重要性

PAH 的一个显著的病理过程是动脉血管内皮细胞，平滑肌细胞和成纤维细胞的相互作用 (crosstalk)，而这三种不同细胞在 PAH 病变中表现的一个共同特征是细胞糖酵解代谢和乳酸盐生成增加^[16]，*Nax* 已证明可直接导致乳酸盐生成增加^[17]（前期工作图 3），而由乳酸盐诱导的 GPR81 的信号通路异常活化已证明是导致肾血管高压的重要机制^[18]。这些发现显示，*Nax* 可能在介导 PAH 病变的主要细胞间相互作用中具有独特的作用。阐明这一机制，可能会对 PAH 病理的认识提供新的理论依据。

(3) 临床应用潜力

动脉血管细胞病变和血管重塑是 PAH 最重要的病理变化，但目前临床可用的治疗方法均不能直接针对这一病变过程。本项目拟阐明 *Nax* 在这样病变过程



中的作用机制，研究结果可望为研究与开发更有效的治疗方法提供新的研究方向和治疗靶点。

5. 年度研究计划及预期研究结果（包括拟组织的重要学术交流活动、国际合作与交流计划等）。

（1）年度研究计划

2023/01-2023/12

①繁育扩群 *scn7a* 基因敲除小鼠，PAH 造模，在体水平、组织水平、细胞水平 PAH 病理学检测。

2024/01-2024/12

①分离培养 *scn7a* 基因敲除和野生型小鼠内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞；

②建立 *scn7a* 过表达内皮细胞系；研究上述细胞在高钠和 ET1 诱导条件下细胞增殖、迁移、凋亡和细胞因子分泌以及 *Nax* 对内皮细胞 EndoMT 影响。

2025/01-2025/12

①使用肺动脉内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞，研究在 PAH 模型条件下和高钠/ET1 条件下各细胞间相互作用；

②研究 *Nax* 在 RhoRock 通路、PDK 通路和 HIF 1 α /2 α 通路活活过程中的介导作用。

2026/01-2026/12

① 利用 *scn7a* 基因敲除和野生型 PAH 模型小鼠研究 *Nax* 调节的肺动脉基因；研究内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞在高钠和 ET1/ET3 条件下调节的下游基因；

②整理数据，撰写文章发表、结题。

（2）预期研究成果

①阐明 *Nax* 在 PAH 形成过程中对肺动脉内皮细胞稳态失衡，细胞增殖与迁移，以及肺动脉重塑过程中的作用与机制。

②阐明 *Nax* 在 PAH 病理的主要病变细胞（内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞和免疫细胞）间相互作用及作用方式。



- ② 确定 Nax 在 PAH 病理中介导的信号通路。
- ③ 在国际水平期刊发表学术论文 1-2 篇，在国内水平期刊发表论文 1-2 篇；

(二) 研究基础与工作条件

1. 研究基础（与本项目相关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩）；

(1) 低氧诱导的大鼠 PAH 模型的建立。利用低氧慢性诱导程序建立了大鼠 PAH 模型，并鉴定了模型的主要病理特征，代表性病理鉴定见图 1。

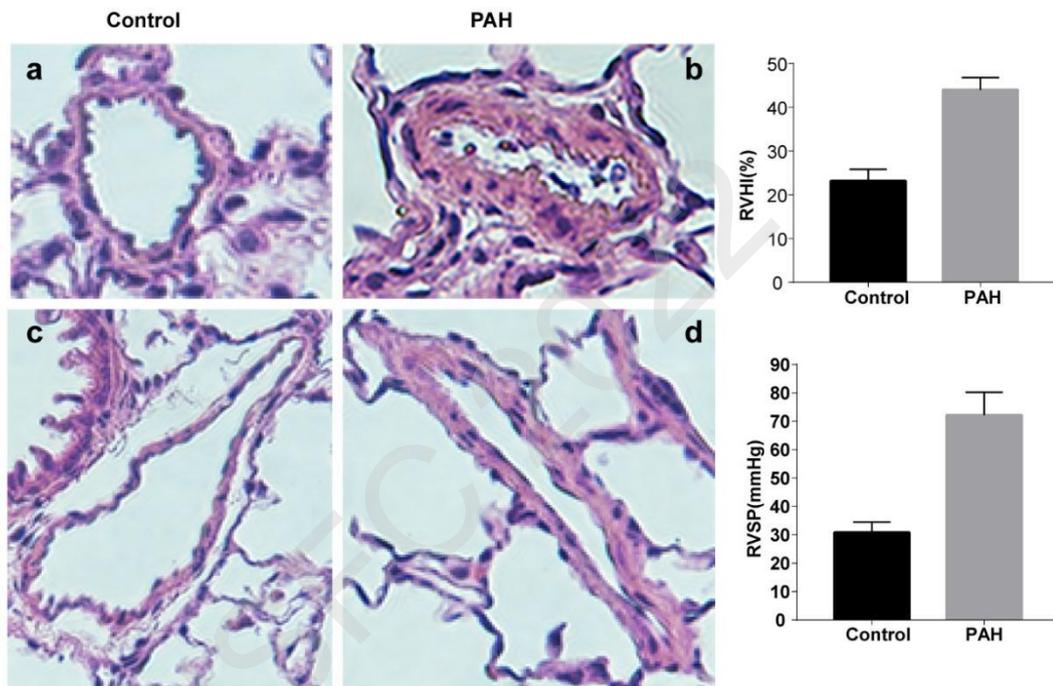


图 1. 低氧诱导的大鼠 PAH 模型的主要病理特征；左：肺动脉切片 HE 染色，与正常组（a、c）比较，PAH 组（b、d）动脉管壁明显增厚管道变窄；右：PAH 组右心室肥厚指数和右心室压力较正常组增高。

(2) *scn7a* 基因表达的研究。利用大鼠 PAH 模型，我们做了肺动脉样本的全 RNA 测序，结果表明 *scn7a* 基因在 PAH 模型表达上调。用同样组织样本做 qPCR 检测验证了这一发现（图 2）。

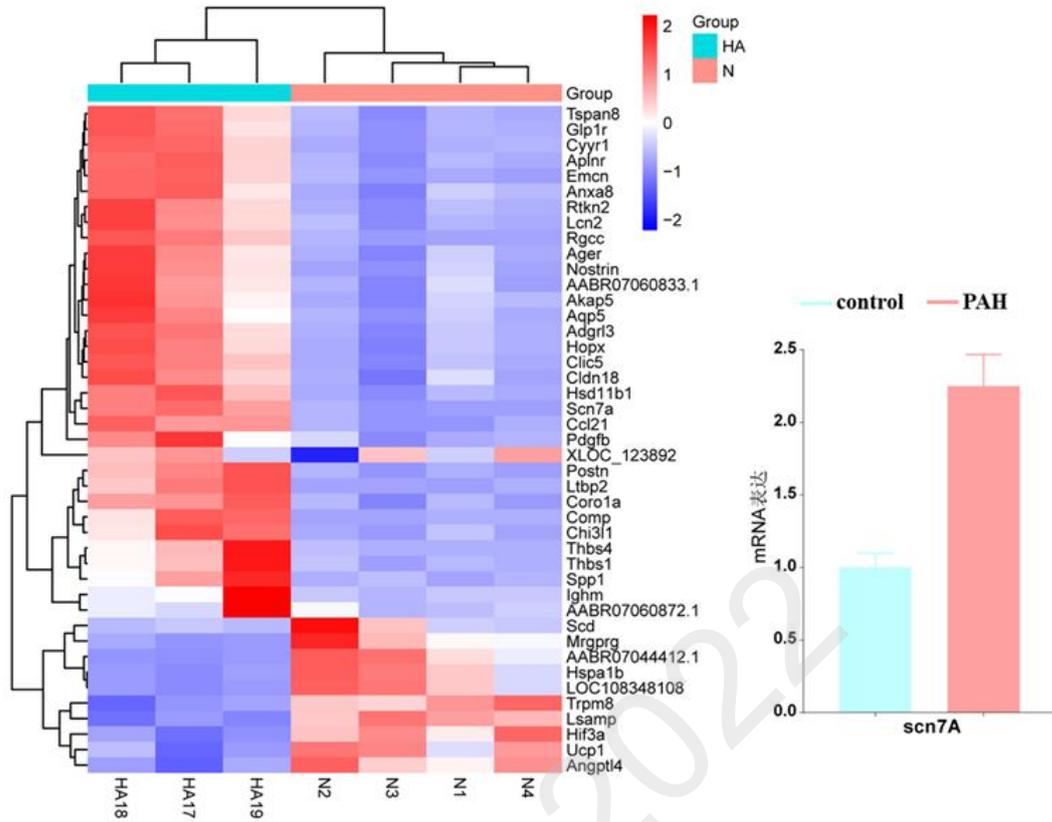


图 2 scn7a 在 PAH 大鼠肺动脉表达上调。PAH 大鼠与对照动物肺动脉样本全 RNA 测序（左）和 qPCR 验证（右）证明 scn7a 在 PAH 大鼠肺动脉表达上调

(3) scn7a 基因表达的细胞定位。利用 PAH 大鼠与对照动物肺动脉样本做组织切片，用细胞标识抗体和 Nax 抗体做免疫荧光染色以确定表达 scn7a 基因的细胞种类。图 3 显示 scn7a 基因在 Tie2 阳性细胞（内皮细胞）高水平表达。

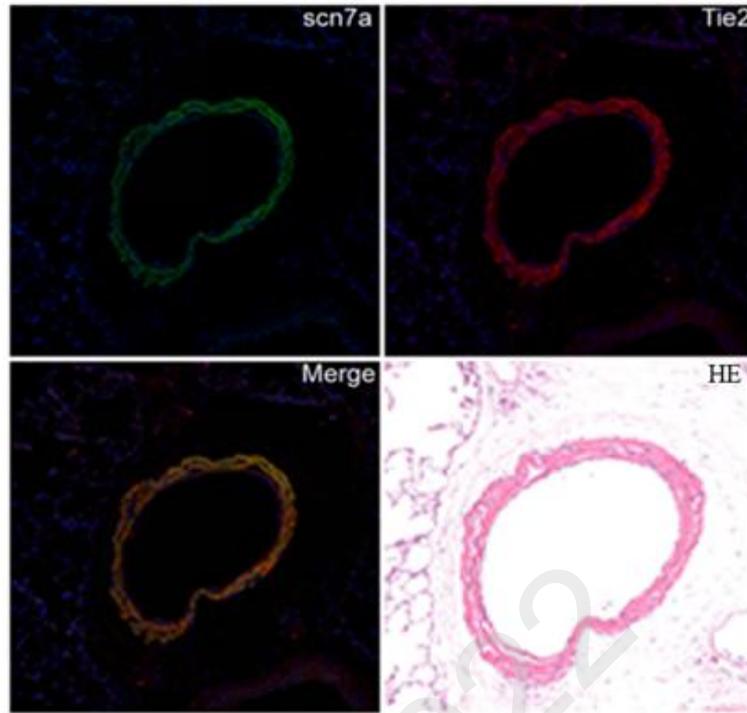


图 3 内皮细胞标识抗体 Tie2 和 scn7a 蛋白 (Nax) 抗体免疫荧光染色。
结果显示 scn7a 在内皮细胞表达

(4) 高钠诱导 scn7a 基因表达的研究。在确定了 scn7a 在内皮细胞表达的基础上，我们对大鼠肺动脉内皮细胞做了分离培养，并在不同钠离子浓度下检测 scn7a 基因的表达。结果显示高钠条件培养的细胞增加了 scn7a 基因的表达 (图 4)。

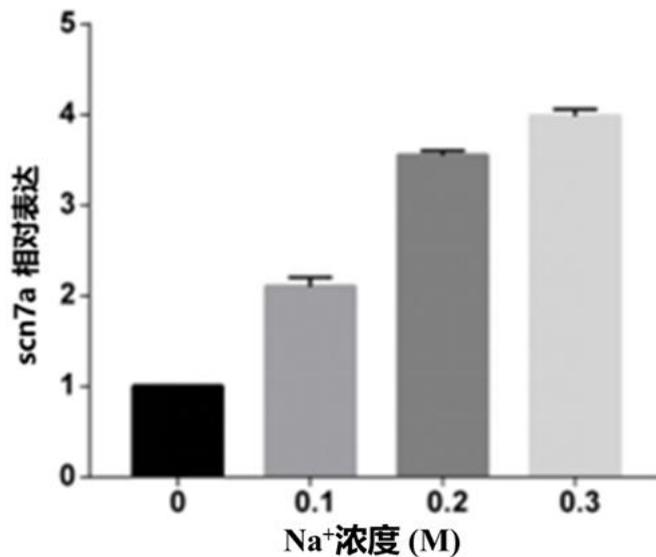




图 4 大鼠肺动脉内皮细胞在不同钠浓度条件下培养 48 小时后 qPCR 检测 *scn7a* 基因的表达, 表达水平为常规钠浓度下 *scn7a* 基因的表达的相对值。

(5) 高钠诱导肺动脉内皮细胞的增殖与迁移。在确定了高钠条件可诱导 *scn7a* 表达的基础上, 我们进一步做了高钠对大鼠肺动脉内皮细胞增殖和迁移的影响。将肺动脉内皮细胞在常规和 0.2M 钠浓度下培养 48 小时, 通过 MTT 实验检测细胞增殖, 细胞划痕实验检测细胞迁移, 结果证明高钠条件下细胞的增殖与迁移增加 (图 5)

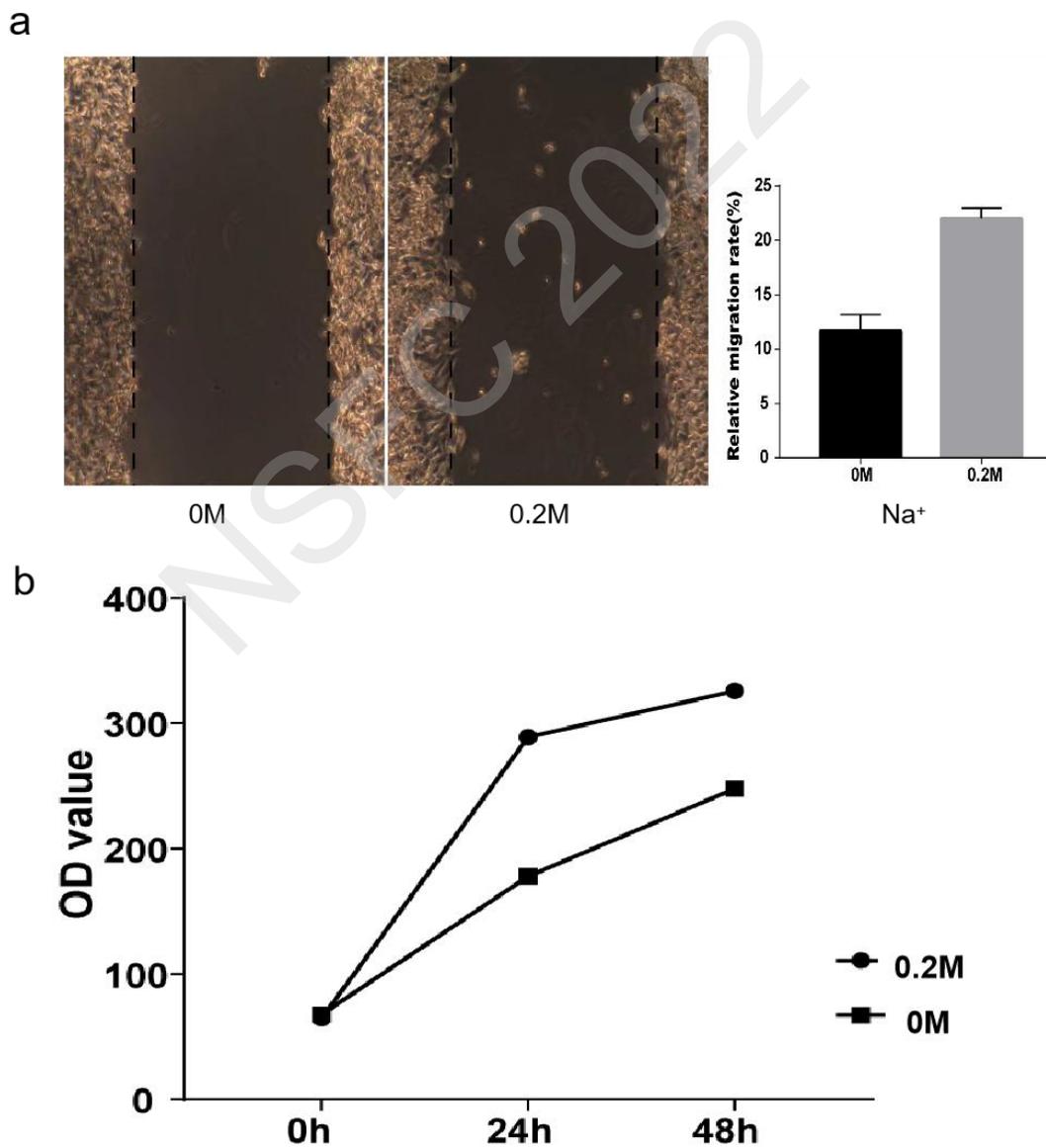


图 5 a 高钠条件下细胞迁移增加 (划痕实验); b 高钠条件下细胞增殖增加 (MTT 实验)。



(6) 高钠诱导肺动脉内皮细胞乳酸盐分泌。为了进一步研究 Nax 在内皮细胞的功能，我们研究了高钠条件对肺动脉内皮细胞乳酸盐生成的影响。将肺动脉内皮细胞在常规和 0.2M 钠浓度下培养 48 小时并收集上清，利用乳酸盐试剂盒检测乳酸盐含量，结果显示高钠条件下内皮细胞乳酸盐生成增加（图 6）。

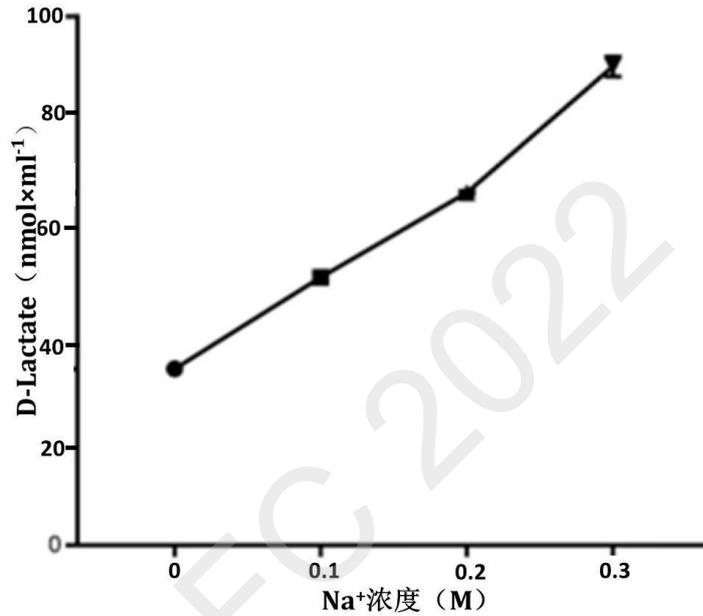


图 6 内皮细胞乳酸盐分泌实验

(7) Nax 介导内皮细胞乳酸盐分泌的研究。为了确定高钠诱导内皮细胞乳酸盐分泌是否通过 Nax 介导，我们做了 *scn7a* 基因表达干扰实验。用 siRNA 转染肺动脉内皮细胞后将细胞在正常或高钠条件下培养 48 小时，取上清做乳酸盐检测。结果显示干扰 *scn7a* 基因表达抑制了高钠诱导的乳酸盐分泌，说明 Nax 介导了高钠对内皮细胞乳酸盐分泌的诱导作用。

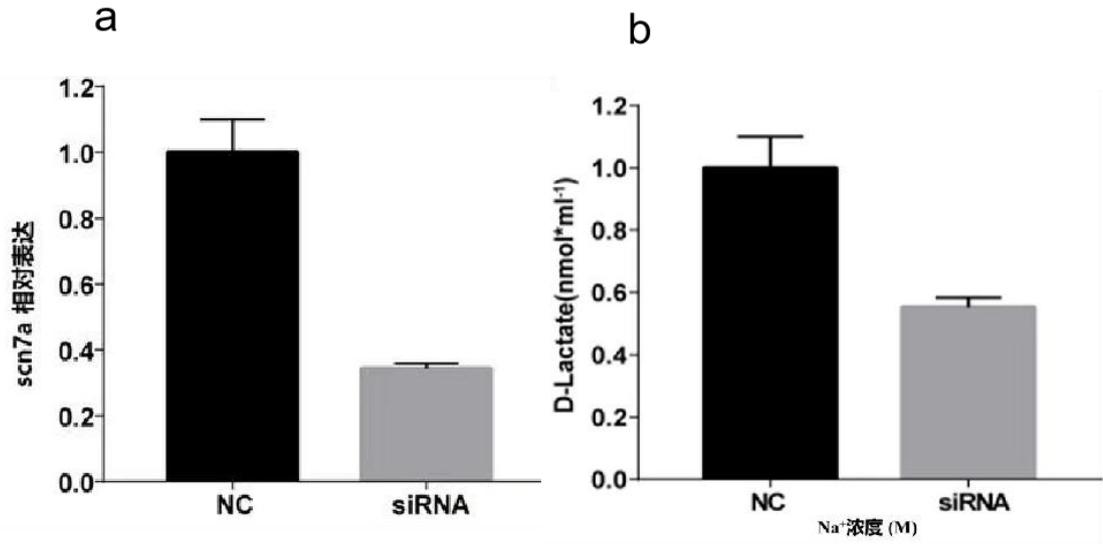


图 7 Nax 对高钠诱导内皮细胞乳酸盐分泌的介导作用。a. siRNA 抑制 scn7a 表达；b. 干扰 scn7a 表达抑制了高钠诱导的乳酸盐分泌。

(8) 高钠诱导肺动脉内皮细胞 ET1 表达研究。将肺动脉内皮细胞在常规和 0.2M 钠浓度下培养 48 小时，提取 RNA 做 qPCR 检测 ET1 表达。结果显示高钠条件增加内皮细胞 ET1 的表达。

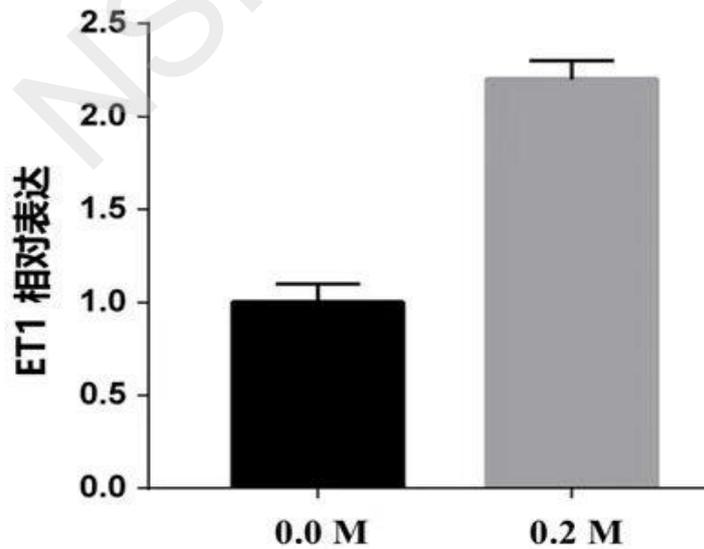


图 8. 肺动脉内皮细胞在高钠条件下增加 ET1 表达。高钠组 ET1 表达表示为正常组的相对值



2. 工作条件（包括已具备的实验条件，尚缺少的实验条件和拟解决的途径，包括利用国家实验室、国家重点实验室和部门重点实验室等研究基地的计划与落实情况）；

宁夏医科大学总医院是宁夏医科大学直属医院，拥有医学实验中心、外科学研究室、宁夏人类干细胞研究所、生物芯片北京国家工程研究中心宁夏分中心和临床药理研究室等 5 个科研公共平台。

项目依托单位宁夏医科大学总医院外科学研究室是一个集细胞培养、分子检测和动物实验在内的综合性实验平台，配备包括流式细胞仪、相差显微镜、CO-2 细胞培养箱、细胞融合仪和显微操作系统分子生物学平台，所拥有荧光定量 PCR 仪、荧光显微镜、超低温冰箱、超纯水系统、程序降温仪、凝胶成像系统、倒置显微镜及配套显微成像系统、低温高速离心机等主要仪器设备在内的 50 余台（套）仪器设备，并建有动物饲养室和手术室，为我们完成细胞培养和动物模型制备的相关研究搭建良好的实验平台。此外，本研究室建立了完善的标准化粪菌移植实验室，所拥有粪便分析前处理仪，厌氧工作站，两台生物安全柜，废液抽吸装置，台式高速冷冻离心机，深低温冰箱，低温保存箱，分析天平，水浴锅等仪器，具备完成本项目实验的技术条件和实验能力。

3. 正在承担的与本项目相关的科研项目情况（申请人和主要参与者正在承担的与本项目相关的科研项目情况，包括国家自然科学基金的项目和国家其他科技计划项目，要注明项目的资助机构、项目类别、批准号、项目名称、获资助金额、起止年月、与本项目的关系及负责的内容等）；

无

4. 完成国家自然科学基金项目情况（对申请人负责的前一个资助期满的科学基金项目（项目名称及批准号）完成情况、后续研究进展及与本申请项目的关系加以详细说明。另附该项目的研究工作总结摘要（限 500 字）和相关成果详细目录）。

无

（三）其他需要说明的情况



1. 申请人同年申请不同类型的国家自然科学基金项目情况（列明同年申请的其他项目的项目类型、项目名称信息，并说明与本项目之间的区别与联系）。

无

2. 具有高级专业技术职务（职称）的申请人或者主要参与者是否存在同年申请或者参与申请国家自然科学基金项目的单位不一致的情况；如存在上述情况，列明所涉及人员的姓名，申请或参与申请的其他项目的项目类型、项目名称、单位名称、上述人员在该项目中是申请人还是参与者，并说明单位不一致原因。

无

3. 具有高级专业技术职务（职称）的申请人或者主要参与者是否存在与正在承担的国家自然科学基金项目的单位不一致的情况；如存在上述情况，列明所涉及人员的姓名，正在承担项目的批准号、项目类型、项目名称、单位名称、起止年月，并说明单位不一致原因。

无

4. 其他。

无



何亚琴 简历

宁夏医科大学， 总医院， 助理研究员

教育经历：

- (1) 2010-09 至 2013-06, 宁夏医科大学, 临床检验诊断学, 硕士
- (2) 2003-09 至 2008-06, 宁夏医科大学, 临床医学专业, 学士

博士后工作经历：

无

科研与学术工作经历（博士后工作经历除外）：

- (1) 2018-08 至 今, 宁夏医科大学, 外科学研究室, 助理研究员
- (2) 2015-02 至 2018-07, 宁夏医科大学, 宁夏人类干细胞研究所, 研究实习生
- (3) 2008-09 至 2009-09, 宁夏医科大学, 新生儿科, 医师

曾使用其他证件信息：

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题：

(1) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 81760483, 缺氧微环境活化RANKL/RANK通路靶向NK细胞介导乳腺癌干细胞免疫逃逸机制研究, 2018-01-01 至 2021-12-31, 32万元, 在研, 参与

近五年主持或参加的其他科研项目/课题（国家自然科学基金项目除外）：

- (1) 宁夏科学技术厅, 重点研发项目, 2021BEG02043, 基于出生缺陷样本库的数据智能平台建立与应用, 2021-06 至 2024-06, 100万元, 在研, 参与
- (2) 宁夏科学技术厅, 重点研发项目, 2021BEG03086, 双歧杆菌活化肠道上皮内 γ δ T细胞技术的开发及其在结直肠癌治疗中应用, 2021-06 至 2024-06, 59万元, 在研, 主持
- (3) 宁夏科学技术厅, 重点研发项目, 2021BEG03085, 腺瘤性结肠息肉病基因突变与环状核糖核酸表达异常在胃癌风险预测和早期诊断中应用的研究, 2021-06 至 2024-06, 59万元, 在研, 参与
- (4) 宁夏科学技术厅, 宁夏自然科学基金, 2019AAC03225, G蛋白偶联受体81 (GPR81) 信号通路对间质干细胞能量代谢方式的调节作用, 2019-05 至 2021-12, 5万元, 结题, 主持
- (5) 宁夏科学技术厅, 宁夏自然科学基金, 2019AAC03229, miR-199调控CD44对神经母细胞瘤细胞凋亡的作用机制, 2019-05 至 2021-05, 5万元, 结题, 参与

代表性研究成果和学术奖励情况：

一、代表性论著：

- (1) 张曹; 何亚琴; 钱海权; 叶晶晶 ; miR-153-3p通过靶向FZD3调控胃癌SGC7901细胞的增殖、侵袭与迁移, *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(9): 885892 (期刊论文)
- (2) xiaoliang Xie; Dan Jiang; Xuebing Zhou; Xiaopig Ye; Ping Yang; **Yaqin He** ; Recombinant Bacteroides fragilis enterotoxin-1 (rBFT-1) promotes proliferation of colorectal cancer via CCL3-related molecular pathways, *open Life Sciences*, 2020, 2021(16): 408-418 (期刊论文)



(3) Yongyun Luo; **Yaqin He**; Xiaoping Ye; Jianjun Song; Qi Wang; Yukui Li; Xiaoliang Xie ; High Expression of Long Noncoding RNA HOTAIRM1 is Associated with the Proliferation and Migration in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, *Pathology Oncology Research*, 2019, 01(2019): pp1-11 (期刊论文)

(4) Xiaoliang Xie; **Yaqin He**; Hai Li; DongYu; Li Na; Ting Sun; DongZhang; Xinrong Shi; Yuhan Xia; Taojiang; Shikuo Rong; Shaoqi Yang; Xiaoqiang Ma; Guangxian Xu ; Effects of prebiotics on immunological indicators and intestinal microbiota structure in perioperative colorectal cancer patients, *NUTRITION*, 2019, 61C(2019): 132-142 (期刊论文)

(5) **Yaqin He**; Xiaoliang Xie; Xiaoyan Li; Shikuo Rong; Yukui Li; Zhenhui Lu ; Effect of FIGF overexpression on liver cells transforming to insulin-producing cells, *Journal of Biosciences*, 2019, 2019(44): 149 (期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

(1) 何亚琴[#](2/4); 第十届宁夏医学优秀学术论文二等奖, 宁夏医学优秀学术论文评审委员会, 其他, 省部级二等奖, 2019(谢小亮; 何亚琴; 李海; 徐广贤) (科研奖励)

(2) 何亚琴(1/1); 入选第四批“宁夏青年科技人才托举工程“, 宁夏回族自治区科学技术协会, 其他, 其他, 2019(何亚琴) (科研奖励)



谢小亮 简历

宁夏医科大学， 总医院， 副主任医师

教育经历：

- (1) 2016-09 至 2019-07, 宁夏医科大学, 临床医学, 博士
- (2) 2009-09 至 2013-09, 宁夏医科大学, 外科学, 硕士
- (3) 2000-09 至 2005-09, 宁夏医科大学, 临床医学, 学士

博士后工作经历：

无

科研与学术工作经历（博士后工作经历除外）：

- (1) 2017-12 至 宁夏医科大学总医院, 临床医学院, 副主任医师
- (2) 2011-12 至 2017-12, 宁夏医科大学总医院, 临床医学系, 主治医师
- (3) 2006-12 至 2011-12, 宁夏医科大学总医院, 临床医学系, 医师

曾使用其他证件信息：

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题：

无

近五年主持或参加的其他科研项目/课题（国家自然科学基金项目除外）：

- (1) 宁夏回族自治区科技厅, 自治区重点研发计划, 2020BEB04043, 脆弱拟杆菌肠毒素通过TRAF6调控结直肠癌增殖侵袭分子机制研究, 2020-07 至 2023-07, 10万元, 在研, 主持
- (2) 宁夏回族自治区科技厅, 宁夏自然科学基金, 2018AAC03264, 趋化因子CCL3-CCR5生物轴通过NFkB通路促进结直肠癌侵袭转移的分子机制研究, 2018-03 至 2021-03, 3万元, 结题, 主持

代表性研究成果和学术奖励情况：

一、代表性论著：

(1) Yongyun Luo; Yaqin He; Xiaoping Ye; Jianjun Song; Qi Wang; Yukui Li; **Xiaoliang Xie** ; High Expression of Long Noncoding RNA HOTAIRM1 is Associated with the Proliferation and Migration in Pancreatic, *Pathology & Oncology Research*, 2018, 2019(1) (期刊论文)

(2) **Xiaoliang xie**; Yaqin He; Hai Li; Dong Yu; Li Na; Ting Sun; Dong Zhang; Xinrong Shi; Yuhan Xia; Tao Jiang; Shikuo Rong; Shaoqi Yang; Xiaoqiang Ma; Guangxian Xu ; Effects of prebiotics on immunologic indicators and intestinal microbiota structure in perioperative colorectal cancer patients, *Nutrition*, 2018, 61: 132-142 (期刊论文)

(3) Dan Jiang; **Xiaoliang Xie**; Zhenhui Lu; Liyuan Liu; Yuliang Qu; Shan Wu; Yanning Li; Guangqi Li; Hongxia Wang; Guangxian Xu ; Establishment of a Colorectal Cancer-Related MicroRNA-mRNA Regulatory Network by Microarray and Bioinformatics, *Frontiers in Genetics*, 2020, 11(10) (期刊论文)

(4) Yaqin He; **Xiaoliang Xie**; Xiaoyan Li; Shikuo Rong; Yukui Li; Zhenhui Lu ; Effect of FIGF o



verexpression on liver cells transforming to insulin-producing cells, *Journal of Biosciences*, 2019, 44(6): 149 (期刊论文)

(5) Xiaoliang Xie; Dan jiang; xuebin Zhou; Xiaoping Ye; Ping Yang; Yaqin He ; Recombinant *Bacteroides fragilis* enterotoxin-1 (rBFT-1) promotes proliferation of colorectal cancer via CCL3-related molecular pathways, *Open Life Sciences*, 2021. 春季, 1-11(16) (期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

无

NSFC 2022



王俊 简历

深圳大学, 生命与海洋科学学院, 讲师

教育经历:

- (1) 2013-01 至 2017-05, 新加坡国立大学, 生物学, 博士
- (2) 2008-09 至 2012-07, 西北农林科技大学, 生物技术基地班, 学士

博士后工作经历:

无

科研与学术工作经历 (博士后工作经历除外):

- (1) 2019-01 至今, 深圳大学, 生命与海洋科学学院, 讲师
- (2) 2017-12 至 2018-12, 深圳因合生物科技有限公司, 研发部, 其他初级职称

曾使用其他证件信息:

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题:

无

近五年主持或参加的其他科研项目/课题 (国家自然科学基金项目除外):

- (1) 深圳大学, 青年教师科研启动资助, 000002110257, 血浆游离甲基化 DNA 免疫沉淀高通量测序用于癌症早期诊断, 2020-01 至 2021-12, 20万元, 结题, 主持

代表性研究成果和学术奖励情况:

一、代表性论著:

(1) Jun Wang; Yanqin Niu; Lingjie Luo; Zefeng Lu; Qinghua Chen; Shasha Zhang; Qianwen Guo; Li Li; Deming Gou ; Decoding ceRNA regulatory network in the pulmonary artery of hypoxia-induced pulmonary hypertension (HPH) rat model, *Cell & Bioscience*, 2022, 12(27) (期刊论文)

(2) Jun Wang; Peng Chen; Mingyang Su; Guocheng Zhong; Shasha Zhang; Deming Gou ; Integrative Modeling of Multiomics Data for Predicting Tumor Mutation Burden in Patients with Lung Cancer, *BioMed Research International*, 2022, 2698190 (期刊论文)

(3) Jun Wang; Xuan Zeng; Dongsheng Tian; Xiaobei Yang; Lanlan Wang; Zhongchao Yin ; The pepper Bs4C proteins are localized to the endoplasmic reticulum (ER) membrane and confer disease resistance to bacterial blight in transgenic rice, *MOLECULAR PLANT PATHOLOGY*, 2018, 19(8): 2025-2035 (期刊论文)

(4) Jun Wang; Dongsheng Tian; Keyu Gu; Xiaobei Yang; Lanlan Wang; Xuan Zeng; Zhongchao Yin ; Induction of Xa10-like Genes in Rice Cultivar Nipponbare Confers Disease Resistance to Rice Bacterial Blight, *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*, 2017, 30(6): 466-477 (期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

无



丁璐 简历

宁夏医科大学， 总医院， 助理实验师

教育经历：

- (1) 2014-09 至 2017-07, 四川大学, 生物医学工程, 硕士
- (2) 2009-09 至 2013-07, 成都信息工程大学, 生物医学工程, 学士

博士后工作经历：

无

科研与学术工作经历（博士后工作经历除外）：

- (1) 2017-09 至今, 宁夏医科大学总医院, 外科学研究室, 助理实验师

曾使用其他证件信息：

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题：

- (1) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 82160305, Hsa_circ_IRAK3-B对结核分枝杆菌诱导巨噬细胞炎症反应的分子机制研究, 2022-01-01 至 2025-12-31, 34万元, 在研, 参与
- (2) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 82060020, HB01促进TGF- β 1介导的自噬影响人胎盘MS Cs治疗肺纤维化的作用机制研究, 2021-01-01 至 2024-12-31, 34万元, 在研, 参与

近五年主持或参加的其他科研项目/课题（国家自然科学基金项目除外）：

- (1) 宁夏回族自治区科技厅, 自治区重点研发计划项目一般项目, 2021BEG03042, 早期胰液引流改善急性胰腺炎全身炎症反应及MODS的机制研究, 2021-11 至 2024-11, 80万元, 在研, 参与
- (2) 宁夏回族自治区科技厅, 自治区重点研发计划重点项目, 2021BEG02043, 基于出生缺陷样本库的数据智能平台建立与应用, 2021-11 至 2024-11, 100万元, 在研, 参与
- (3) 宁夏回族自治区科技厅, 自治区重点研发计划重点项目, 2021BEG02032, 人胎盘间充质干细胞亚群细胞的功能鉴定及其治疗肺纤维化的疗效评估, 2021-11 至 2024-11, 117万元, 在研, 参与
- (4) 宁夏回族自治区科技厅, 自治区重点研发计划项目一般项目, 2020BFH03002, 基于PI3K_AKT_mTOR 信号通路研究NVP-BEZ235对小儿肾母细胞瘤的治疗机制, 2020-01 至 2022-12, 99万元, 在研, 参与
- (5) 宁夏回族自治区科技厅, 宁夏自然科学基金, 2020AAC03418, D-阿拉伯糖经自噬抑制乳腺癌细胞增值影响化疗效果的作用机制研究, 2020-06 至 2022-07, 10万元, 在研, 参与

代表性研究成果和学术奖励情况：

一、代表性论著：

- (1) 丁璐; 应俊杰; 王正荣; 后望; 江舟; 刘延友; 汪宇辉; 成姝婷; 肖静 ; Tat 蛋白对节律基因表达的影响, *西部医学*, 2017, 29(9): 1194-1202 (期刊论文)
- (2) Junjie Ying; Zhou Jiang; Lu Ding; Wang Hou; Xiaoxue Li; Fang Qi; Shuhong Yang; Zhengrong Wang ; The effects of Tat protein on locomotor activity and circadian gene expressions in the mouse hypothalamus, *Biological Rhythm ReseaRch*, 2017, 49(2018-issue1): 39-49 (期刊论文)
- (3) Yong Du; Lu Ding; Li Na; Ting Sun; Xian Sun; Liqun Wang; Shulan He; Zhizhong Wang; Zhenhu



i Lu; Feng Li; Xiaofei Guo; Yanhong Zhang; Jin Tian; Bo Wang; Sifan Zhai; Chao Yang; Xiao Liu ; Prevalence of Chronic Diseases and Alterations of Gut Microbiome in People of Ningxia China During Urbanization: An Epidemiological Survey, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11(707402) (期刊论文)

(4) Wang Hou; Zhou Jiang; Junjie Ying; **Lu Ding**; Xiaoxue Li; Fang Qi; Shuhong Yang; Shuting Cheng; Yuhui Wang; Yanyou Liu; Jing Xiao; Huiling Guo; Zhilin Li; Zhengrong Wang ; Clock gene affects the noncanonical NF- κ B pathway via circadian variation of *Otd7b*, *circadian system; Clock; Otd7b; tRaF3; noncanonical NF- κ B pathway*, 2017, 48(2017-issue 6): 939-950 (期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

无

NSFC 2022



刘莉 简历

宁夏医科大学， 总医院， 助理研究员

教育经历：

- (1) 2012-09 至 2015-06, 宁夏医科大学, 生理学, 硕士
- (2) 2008-09 至 2012-06, 宁夏医科大学, 生物技术, 学士

博士后工作经历：

无

科研与学术工作经历（博士后工作经历除外）：

- (1) 2020-01 至今, 宁夏医科大学总医院, 肿瘤研究所, 助理研究员
- (2) 2015-07 至 2019-12, 宁夏医科大学总医院, 肿瘤研究所, 研究实习员

曾使用其他证件信息：

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题：

- (1) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 82060479, CAFs来源外泌体miR-1-3p下调GSIL1调控Wnt信号通路逆转EMT抑制乳腺癌淋巴转移的分子机制, 2021-01-01 至 2024-12-31, 34万元, 在研, 参与
- (2) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 82060433, 食管鳞癌中UBQLN2调控cGAS/STING的机制及其在免疫治疗中的作用研究, 2021-01-01 至 2024-12-31, 35万元, 在研, 参与
- (3) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 81760482, 靶向脂肪酸受体GPR120调控OPCML抑制乳腺癌细胞增殖和侵袭的机制, 2018-01-01 至 2021-12-31, 34万元, 在研, 参与
- (4) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 31760263, 筛选新型单克隆抗体抑制黑色素瘤的转移, 2018-01-01 至 2021-12-31, 37万元, 在研, 参与

近五年主持或参加的其他科研项目/课题（国家自然科学基金项目除外）：

- (1) 宁夏回族自治区科学技术厅, 宁夏自然科学基金, 2021AAC03401, TLR4/NF- κ B p65对皮肤鳞状细胞癌增殖、侵袭和转移的影响, 2021-05 至 2023-05, 8万元, 在研, 主持

代表性研究成果和学术奖励情况：

一、代表性论著：

- (1) Li Liu; Yin Wang; Zhi-Yong Cao; Meng-Meng Wang; Xue-Mei Liu; Ting Gao; Qi-Kuan Hu; Wen-Jun Yuan; Li Lin ; Up-regulated TLR4 in cardiomyocytes exacerbates heart failure after long-term myocardial infarction, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2015, 19(12): 2728-2740 (期刊论文)
- (2) Ke, Hengning; Yang, YvYing; Lin, Yuan; Liu, Li; Sun, Jianmin; Massoumi, Ramin ; High expression of CD34 and alpha 6-integrin contributes to the cancer-initiating cell behaviour in ultraviolet-induced mouse skin squamous cell carcinoma, *Journal of Cancer*, 2020, 11(23): 6760-6767 (期刊论文)
- (3) Gao, Ting; Zhang, Shao-Ping; Wang, Jian-Fei; Liu, Li; Wang, Yin; Cao, Zhi-Yong; Hu, Qi-Ku



an; Yuan, Wen-Jun; Lin, Li ; TLR3 contributes to persistent autophagy and heart failure in mice after myocardial infarction, *JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE*, 2018, 1(22): 395-408
(期刊论文)

(4) 杨钰莹; 刘莉; 折虹; 柯亨宁 ; 恶性黑色素瘤的黑色素含量与其进展和转移相关性探讨, *中国肿瘤临床*, 2018, 45(23): 1201-1205 (期刊论文)

(5) 刘莉; 杨钰莹 ; TLR4在人类皮肤鳞状细胞癌中的表达及其意义, *家庭医药*, 2019, 0366(02): 1671-4954 (期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

无

NSFC 2022



崔节达 简历

宁夏医科大学, 医师

教育经历:

- (1) 2015-09 至 2018-06, 宁夏医科大学, 内科学, 硕士
- (2) 2009-09 至 2014-07, 潍坊医学院, 临床医学, 学士

博士后工作经历:

无

科研与学术工作经历 (博士后工作经历除外):

- (1) 2019-09 至今, 宁夏医科大学, 临床医学院, 医师

曾使用其他证件信息:

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题:

(1) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 81760004, 剪接调控蛋白ESRP和NADPH氧化酶对人气道上皮间质转化的作用及机制研究, 2018-01-01 至 2021-12-31, 34万元, 在研, 参与

近五年主持或参加的其他科研项目/课题 (国家自然科学基金项目除外):

无

代表性研究成果和学术奖励情况:

一、代表性论著:

(1) Cui, Jieda; Ren, Peng; Li, Yan; Ma, Yunfan; Wang, Jingdi; Lin, Chutong; Jing, Liang; Tong, Xuexia; Ma, Shaohua; Chen, Juan; ESRP1 as a prognostic factor of non-small-cell lung cancer is related to the EMT transcription factor of Twist, *Thoracic Cancer*, 2021, 12(18): 2449-2457 (期刊论文)

(2) Chen, Juan; Cui, Jie-da; Guo, Xiao-tong; Cao, Xia; Li, Qing; Increased expression of miR-641 contributes to erlotinib resistance in non-small-cell lung cancer cells by targeting NF1, *Cancer Medicine*, 2018, 7(4): 1394-1403 (期刊论文)

(3) Xiaotong Guo; Yuchun Fan; Jieda Cui; Binwei Hao; Li Zhu; Xiao Sun; Jinxi He; Jiali Yang; Jianda Dong; Yanyang Wang; Xiaoming Liu; Juan Chen; NOX4 expression and distal arteriolar remodeling correlate with pulmonary hypertension in COPD, *BMC Pulmonary Medicine*, 2018, 18(1): 111 (期刊论文)

(4) Cai, Qian; Ma, Jia; Wang, Jing; Wang, Juying; Cui, Jieda; Wu, Shuang; Wang, Zhaojun; Wang, Na; Wang, Jiaqi; Yang, Dandan; Yang, Jiali; Xue, Jing; Li, Feng; Chen, Juan; Liu, Xiaoming; Adenoviral Transduction of Dickkopf-1 Alleviates Silica-Induced Silicosis Development in Lungs of Mice, *Human Gene Therapy*, 2022, 33(3-4): 155-174 (期刊论文)

(5) Hao, Binwei; Sun, Ruiting; Guo, Xiaotong; Zhang, Lili; Cui, Jieda; Zhou, Yumin; Hong, Wei; Zhang, Yanan; He, Jinxi; Liu, Xiaoming; Li, Bing; Ran, Pixin; Chen, Juan; NOX4-Derived ROS Promotes Collagen I Deposition in Bronchial Smooth Muscle Cells by Activating Noncanonical p38MAPK/A



kt-Mediated TGF-beta Signaling, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 2021: 0-6668971
(期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

(1) 崔节达; 郝斌威; 郭晓桐; 陈娟 ; NOX4和ESRP1在气道上皮间质转化的作用及机制研究, 2019年中华医学会呼吸病学年会, 武汉, 2019-9-4至2019-9-8 (会议报告)

(2) 崔节达; 郭晓桐; 郝斌威; 陈娟 ; Role and mechanism research of NOX4 and ESRP1 in airway epithelial-mesenchymal transition, 2018年中华医学会呼吸病学年会, 苏州, 2018-8-30至2018-9-2 (会议报告)

(3) 崔节达(1/2); NOX4和ESRP1在气道上皮间质转化的作用及机制研究, 宁夏回族自治区学位委员会, 其他, 其他, 2018(崔节达; 陈娟) (科研奖励)

NSFC 2022



刘君伟 简历

宁夏医科大学, 总医院, 医师

教育经历:

- (1) 2016-08 至 2019-06, 宁夏医科大学, 针灸推拿学, 硕士
- (2) 2010-09 至 2015-07, 江西中医药大学科技学院, 中医学, 学士

博士后工作经历:

无

科研与学术工作经历 (博士后工作经历除外):

- (1) 2020-09 至今, 宁夏医科大学总医院, 中医骨伤科, 医师
- (2) 2019-06 至 2020-08, 宁夏回族自治区中医医院暨中医研究院, 针灸科, 医师

曾使用其他证件信息:

无

近五年主持或参加的国家自然科学基金项目/课题:

- (1) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 82160939, 温针灸对“炎性小体活化和细胞焦亡”抑制作用的机制研究, 2022-01-01 至 2025-12-31, 32万元, 在研, 参与
- (2) 国家自然科学基金委员会, 地区科学基金项目, 81760891, 基于OPG/RANKL/RANK系统研究温针灸对兔KOA软骨下骨的作用机制, 2018-01-01 至 2021-12-31, 34万元, 在研, 参与

近五年主持或参加的其他科研项目/课题 (国家自然科学基金项目除外):

- (1) 宁夏回族自治区科技厅, 宁夏自然科学基金项目, 2020AAC03427, 温针灸干预慢性疲劳综合征的“脑-肠轴”调控机制研究, 2020-01 至 2022-06, 10万元, 在研, 主持
- (2) 宁夏医科大学, 校级科研项目, XM2019129, 温针灸调控mTOR通路激活自噬对兔KOA 软骨修复效应机制研究, 2020-01 至 2021-12, 0.8万元, 结题, 主持
- (3) 宁夏回族自治区科技厅, 重点研发计划项目, 2019BEG03070, “化湿—补气—养阴”阶梯疗法治疗慢性疲劳综合征临床研究, 2019-01 至 2021-12, 80万元, 结题, 参与
- (4) 宁夏回族自治区科技厅, 宁夏自然科学基金项目, 2018AAC03168, 温针灸血清对兔骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化影响的研究, 2018-01 至 2020-12, 3万元, 结题, 参与

代表性研究成果和学术奖励情况:

一、代表性论著:

- (1) 武永利; 陈人智; 王明磊; 刘娣; 刘君伟 ; 温针灸对膝骨性关节炎兔软骨及软骨下骨形态学的影响, *针刺研究*, 2021, 46(2): 123-128 (期刊论文)
- (2) Jun-wei Liu; Yong-li Wu; Wei Wei; Yan-ling Zhang; Di Liu; Xiao-xiu Ma; Chun Li; Yu-yuan Ma ; Effect of Warm Acupuncture Combined with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplantation on Cartilage Tissue in Rabbit Knee Osteoarthritis, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 2021: 1-12 (期刊论文)
- (3) 刘君伟; 张艳玲; 闻兵; 武永利 ; 温针灸联合骨髓间充质干细胞移植对兔膝关节关节炎的影响, *宁夏医*



科大学学报, 2018, 40(5): 517-522 (期刊论文)

(4) 刘娣; 武永利; 李春; 王明磊; 马晓秀; 刘君伟; 张艳玲; 杨磊 ; Warming moxibustion attenuates inflammation and cartilage degradation in experimental rabbit knee osteoarthritis, *中医杂志英文版 (JTCM)*, 2021, 41(6): 959-967 (期刊论文)

(5) 张艳玲; 杨磊; 刘君伟; 陈人智; 马遇原; 武永利 ; 温针灸与骨髓间充质干细胞移植对兔膝骨性关节炎模型血清中MMP-1、MMP-13和IL-10表达的影响, *宁夏医学杂志*, 2020, 42(10): 1057-1060 (期刊论文)

二、论著之外的代表性研究成果和学术奖励:

(1) 刘君伟; 武永利 ; 一种医用温针灸装置, 2021-10-28, 中国, 202122619364.6 (专利)

(2) 刘君伟(5/7); 基于JNK/SAPK信号通路介导对温针灸治疗KOA机理的实验研究, 宁夏回族自治区人民政府, *科技进步*, 其他, 2019(武永利; 刘娣; 李春; 席向红; 刘君伟; 张艳玲; 杨磊) (科研奖励)

(3) 张艳玲; 喻嵘; 武永利; 刘君伟 ; 一种具有促进骨修复作用的骨质疏松治疗仪, 2021-11-26, 中国, ZL202120796580.5 (专利)

(4) 刘君伟 ; 一种医用温针灸装置控制系统V1.0, 2021SR1923495, 原始取得, 全部权利, 2021-9-15 (软件著作权)

(5) 刘君伟; 武永利 ; 一种应用于实验鼠的针灸固定装置, 2021-10-28, 中国, 202122619365.0 (专利)

(6) 武永利; 刘君伟; 马遇原; 陈人智 ; 一种用于医疗温针灸的辅助设备, 2020-5-19, 中国, ZL201920308420.4 (专利)



附件信息

序号	附件名称	备注	附件类型
1	期刊论文1		代表性论著
2	期刊论文2		代表性论著
3	期刊论文3		代表性论著
4	期刊论文4		代表性论著
5	期刊论文5		代表性论著
6	伦理审议报告		伦理审查声明
7	专家推荐信1		同行专家推荐信
8	专家推荐信2		同行专家推荐信
9	宁夏青年科技人才拖举工程	入选第四批“宁夏青年科技人才托举工程”	其他
10	荣誉证书	第十届宁夏医学优秀学术论文二等奖	其他



项目名称： 钠离子通道Nax在肺动脉高压病理过程中的作用与机制研究
 资助类型： 地区科学基金项目
 申请代码： H0107. 肺循环与肺血管疾病

国家自然科学基金项目申请人和参与者承诺书

为了维护国家自然科学基金项目评审公平、公正，共同营造风清气正的科研生态，本人**在此郑重承诺**：严格遵守《中华人民共和国科学技术进步法》《国家自然科学基金条例》《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》以及科技部、自然科学基金委关于科研诚信建设有关规定和要求；申请材料信息真实准确，不含任何涉密信息或敏感信息，不含任何违反法律法规或违反科研伦理规范的内容；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、剽窃他人申请书、论文等科研成果或者伪造、篡改研究数据、研究结论；
- (二) 购买、代写申请书；购买、代写、代投论文，虚构同行评议专家及评议意见；购买实验数据；
- (三) 违反成果发表规范、署名规范、引用规范，擅自标注或虚假标注获得科技计划等资助；
- (四) 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；
- (五) 以任何形式探听或散布尚未公布的评审专家名单及其他评审过程中的保密信息；
- (六) 本人或委托他人通过各种方式和途径联系有关专家进行请托、游说，违规到评审会议驻地窥探、游说、询问等干扰评审或可能影响评审公正性的行为；
- (七) 向工作人员、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；
- (八) 违反财经纪律和相关管理规定的行为；
- (九) 其他弄虚作假行为。

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务处分等。

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	签字
1	谢小亮 / 宁夏医科大学 / 6*****2	
2	王俊 / 深圳大学 / 6*****9	
3	丁璐 / 宁夏医科大学 / 6*****4	
4	刘莉 / 宁夏医科大学 / 6*****3	
5	崔节达 / 宁夏医科大学 / 3*****X	
6	刘君伟 / 宁夏医科大学 / 6*****X	
7		
8		
9		



项目名称： 钠离子通道Nax在肺动脉高压病理过程中的作用与机制研究
资助类型： 地区科学基金项目
申请代码： H0107. 肺循环与肺血管疾病

国家自然科学基金项目申请单位承诺书

为了维护国家自然科学基金项目评审公平、公正，共同营造风清气正的科研生态，**本单位郑重承诺**：申请材料中不存在违背《中华人民共和国科学技术进步法》《国家自然科学基金条例》《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》以及科技部、自然科学基金委关于科研诚信建设有关规定和要求的情况；申请材料符合《中华人民共和国保守国家秘密法》和《科学技术保密规定》等有关法律法规和规章制度要求，不含任何涉密信息或敏感信息；申请材料不含任何违反法律法规或违反科研伦理规范的内容；申请人符合相应项目的申请资格；在项目申请和评审活动全过程中，遵守有关评审规则和工作纪律，杜绝以下行为：

（一）以任何形式探听或公布未公开的项目评审信息、评审专家信息及其他评审过程中的保密信息，干扰评审专家的评审工作；

（二）组织或协助申请人/参与者向工作人员、评审专家等给予任何形式的礼品、礼金、有价证券、支付凭证、商业预付卡、电子红包等；宴请工作人员、评审专家，或组织任何可能影响科学基金评审公正性的活动；

（三）支持、放任或对申请人/参与者抄袭、剽窃、重复申报、提供虚假信息（含身份和学术信息）等不当手段申报国家自然科学基金项目疏于管理；

（四）支持或协助申请人/参与者采取“打招呼”“围会”等方式影响科学基金项目评审；

（五）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，本单位愿接受自然科学基金委和相关部门做出的各项处理决定，包括但不限于停拨或核减经费、追回项目已拨经费、取消本单位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主要责任人接受相应党纪政务处分等。

依托单位公章：

日期： 年 月 日

合作研究单位公章：

日期： 年 月 日

合作研究单位公章：

日期： 年 月 日