**项目成果基本情况公示**

**一、项目名称：**

低温保存诱导的心肌线粒体损伤及其干预机制的研究

**二、推荐单位：**浙江大学

**三、推荐单位意见：**该项目团队在低温保存诱导的心肌线粒体损伤及其干预机制的研究中取得了系列创新性研究成果，阐明低温保存诱导的心肌损伤机制，以及线粒体ATP敏感性钾通道开放剂对心肌保护的机制。该研究成果具有重要的学术价值和社会公益效应，为最终服务于临床心脏移植技术，挽救更多的终末期心脏病患提供了有力的理论依据。同意申报浙江省自然科学奖三等奖。

**四、项目简介：**

主要研究内容：研究解偶联蛋白2（UCP2）表达异常、氧化应激和细胞凋亡是否参与了低温保存诱导的心肌损伤机制。阐明线粒体ATP敏感性钾通道开放是否可对抗低温保存诱导的心肌损伤，并探讨其作用机制是否与增加热休克蛋白90（HSP90）介导的缝隙连接蛋白43（CX43）线粒体转位，抑制细胞凋亡有关。通过对本课题的研究，将阐明低温保存诱导的心肌损伤机制，以及线粒体ATP敏感性钾通道开放剂对心肌保护的机制，从而为治疗更多的终末期心脏病患者服务。

科学发现点：（1）低温保存后大鼠心脏中UCP2蛋白表达水平增高，通过增加线粒体ROS水平增加，降低ATP生成，最终导致心肌功能损伤。而低温保存诱导的氧化应激增加，引起Fas、线粒体途径等多条细胞凋亡途径的激活是引起心功能损伤的另一主要机制。（2）线粒体ATP敏感性钾通道开放剂二氮嗪可对抗低温保存诱导的心肌损伤，表现为可减少ROS产生，促进能量代谢，减少心肌损伤酶的合成和释放，抑制心肌凋亡，改善心肌超微结构，从而促进复灌后心功能恢复。且线粒体ATP敏感性钾通道开放被认为是心肌保护药左西孟旦和缺血后处理的最终效应靶点。（3）线粒体ATP敏感性钾通道开放剂二氮嗪的心肌保护作用与增加低温保存心脏Hsp90 mRNA和蛋白表达，促进心脏线粒体Cx43蛋白转位有关，而与细胞表面缝隙连接的形成无关。此外，二氮嗪促进Cx43线粒体转位的机制与其S262位点的磷酸化有关。

科学价值:本项目研究结果提示激动线粒体ATP敏感性钾通道、促进CX43线粒体转位、抑制UCP2均能对抗低温保存诱导的心肌线粒体损伤。若能在以上环节给予合适的药物进行干预，就有可能为改良临床上的心脏保存液提供有力的理论依据。从而在临床实际应用中提高供心的有效保存时间，使远距供心获取及扩大供心范围成为可能。该研究成果将最终服务于临床心脏移植技术，挽救更多的终末期心脏病患。

同行引用及评价:本项目已累计发表相关论文14篇，其中在J Heart Lung Transpl等SCI杂志发表4篇。累计SCI总引20次，他引14次。通过对国内外相关研究进行查新发现，未见中外文献报道。本项目研究工作系统深入，研究方向明确，具有显著的创新性。研究成果在填补了国内外在该领域的研究空白，带动和促进了心肌保护基础研究和临床领域的发展。

**五、主要完成人员情况**：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **排名** | **姓名** | **行政职务** | **技术**  **职称** | **现从事**  **专业** | **工作单位** | **二级**  **单位** | **完成**  **单位** | **对本项目主要科学发现或技术创造性贡献** |
| 1 | 沈岳良 | 无 | 教授 | 病理生理学 | 浙江大学 | 医学院 | 浙江大学 | 为项目团队的主要负责人，全面负责课题设计，组织实施，技术指导和攻关，工作协调。本项目首次提出了激动线粒体ATP敏感性钾通道可减轻低温保存诱导的心肌线粒体损伤，促进移植后心脏功能的恢复，并探讨了其机制可能与调控缝隙连接蛋白43磷酸化以及解偶联蛋白2表达有关。为改良临床上的心脏保存液提供有力的理论依据。本人对以上创新点均有很大贡献。本项目共发表14篇论文，本人是其中7篇论文的通讯作者，是代表性论文1、3、4、5、6、8的通讯作者。 |
| 2 | 陈莹莹 | 无 | 副教授 | 病理生理学 | 浙江大学 | 医学院 | 浙江大学 | 为项目团队的负责人之一，参与了课题设计，技术指导，结果分析，论文撰写和修改工作。本项目首次提出了激动线粒体ATP敏感性钾通道可减轻低温保存诱导的心肌线粒体损伤，并探讨了其机制可能与增加热休克蛋白90的表达，抑制线粒体凋亡途径有关。为改良临床上的心脏保存液提供有力的理论依据。本人对以上创新点有很大贡献。本项目共发表14篇论文，本人是其中3篇论文的通讯作者，是代表性论文2、7、9的通讯作者。 |
| 3 | 郑鸣之 | 无 | 副教授 | 药理学 | 杭州医学院 | 基础医学与法医学院 | 杭州医学院 | 本项目骨干成员，参与完成了本项目的主要实验和数据分析。基于离体心脏冷保存模型和心肌细胞冷保存处理模型，采用Western Blot、TUNEL、荧光定量PCR等实验方法发现了缺血后处理对不同时程冷保存的影响，以及冷保存对大鼠供心Smac/DIABLO蛋白表达的影响。本项目共发表14篇论文，本人参与了其中12篇论文的研究工作，是代表性论文7、8、10的第一作者。此外参与完成了其他子项目实验，见代表性论文1、2、3、4、5、6和9。 |
| 4 | 蒋建平 | 副处长 | 教授 | 外科学 | 杭州医学院 | 临床医学院 | 杭州医学院 | 本项目骨干成员，参与完成了本项目的主要实验和数据分析。采用透射电子显微镜观察了心肌超微结构、利用Western Blot、TUNEL等实验方法观察冷保存后Smac/DIABLO、Fas/FasL、Cx43等蛋白的表达变化。本项目共发表14篇论文，本人参与了其中8篇论文的研究工作，是代表性论文7、8、10的第二作者。此外参与完成了其他子项目实验，见代表性论文4、6和9。 |
| 5 | 王琳琳 | 无 | 副教授 | 生理学 | 浙江大学 | 医学院 | 浙江大学 | 本项目的成员之一，参与完成了本项目的主要实验和数据分析。基于离体心脏冷保存模型，采用Western Blot、免疫组化、生化等实验方法发现了线粒体ATP敏感性钾通道参与了钙增敏剂对冷保存大鼠供心的保护作用，并从calpain蛋白活性、线粒体凋亡蛋白Bid裂解等方面分析了其作用机制。是代表性论文3的主研人员。 |

**六、第三方评价**：

浙江省医学会组织专家对浙江大学与杭州医学院共同承担的《低温保存诱导的心肌线粒体损伤及其干预机制的研究》科研项目进行了函审鉴定，鉴定专家审阅了有关资料，形成以下综合鉴定意见：（1）提供的鉴定资料齐全、规范，符合项目鉴定的有关要求。（2）该项目通过建立离体大鼠心脏和心肌细胞低温保存模型，阐明了解偶联蛋白2介导的能量代谢异常参与低温保存诱导的心肌损伤机制、氧化应激和细胞凋亡参与低温保存诱导的心肌损伤机制；左西孟旦对抗低温保存诱导的心功能损伤作用与线粒体ATP敏感性钾通道激活有关；线粒体ATP敏感性钾通道开放剂二氮嗪可对抗低温保存诱导的心肌损伤，其机制与增加HSP90介导的CX43线粒体转位，抑制细胞凋亡有关。本课题的研究结果将为临床上供心保存效果的研究提供新的药物作用靶点，并最终服务于临床心脏移植技术。（3）该项目立题新颖，具有显著的创新性。经科技查新结果显示，该项目关于以下三方面的研究成果，至今均未见有其他公开的中外文文献报道：阐明了通过激动线粒体ATP敏感性钾通道，增加热休克蛋白90的表达可减轻低温保存诱导的心肌线粒体损伤；证明过表达CX43可对抗低温保存诱导的心肌损伤，其机制与CX43的S262位点磷酸化相关；明确线粒体解偶联蛋白2表达异常增高参与了低温保存诱导的心肌损伤。（4）本项目的研究结果已达到预期目标，并在SCI收录期刊上发表英文论文4篇，在国内核心期刊上发表中文论文10篇。（4）本项目在3个国家自然科学基金面上项目（项目编号：81270178、81070201、30470635）的支持下，共获得126万元的经费资助，经费使用规范，符合使用要求。（5）该项目研究成果经鉴定一致认为已达国内领先水平。

浙江省医学会对上述专家组意见进行审核并对被鉴定成果《低温保存诱导的心肌线粒体损伤及其干预机制的研究》，批准该鉴定（鉴定号：2018(7)号）项目，鉴定结果于网上公示30天，经公示无异议，《低温保存诱导的心肌线粒体损伤及其干预机制的研究》登记为浙江省科学技术成果，登记号为（18015133）。

**七、主要代表性论文专著目录**：

|  |  |
| --- | --- |
| 论文专著名称/刊名 | |
| 1 | S262A mutation abolishes protective effects of connexin 43 against hypothermic preservation-induced injury in cardiomyocytes |
| 2 | Heat shock protein 90 mediates anti-apoptotic effect of diazoxide by preventing the cleavage of bid in hypothermic preservation rat hearts |
| 3 | Improved myocardial function with supplement of levosimendan to celsior solution |
| 4 | Mechanism of uncoupling protein 2‑mediated myocardial injury in hypothermic preserved rat hearts |
| 5 | Hsp90依赖的Akt线粒体转位参与IGF-1对低温保存心脏的保护作用 |
| 6 | 二氮嗪对大鼠供心心肌线粒体结构及通透性的影响 |
| 7 | 二氮嗪对冷保存诱导的大鼠供心Smac/DIABLO蛋白表达的抑制作用 |
| 8 | 低温保存诱导大鼠心肌细胞Smac/DIABLO蛋白表达的动态变化 |
| 9 | 二氮嗪对大鼠心脏长时程冷保存时Fas/FasL蛋白表达的影响 |
| 10 | 缺血后处理对不同时程冷保存大鼠心脏的作用研究 |

**八、主要完成单位情况**：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 单位名称 | 浙江大学 | 排 名 | 1 |
| 对本项目主要科学发现支撑作用情况 | | | |
| 浙江大学为本项目主要依托单位。申请者所在学科---病理学与病理生理学系为国家重点培育学科和浙江省重点学科，为国家985和211重点建设学科之一。研究室建有包括细胞培养室，Western blot转膜和电泳仪，Langerdorff灌流装置等在内的完整的心脏整体、离体实验和分子细胞生物学实验平台。在项目实施过程中，同时依托浙江大学和医学院研究平台和大型仪器共享平台，该平台拥有投射电镜、激光共聚焦显微镜，冷冻高速离心机等设备。浙江大学同时给予了人员和经费等方面的大力支持，为本项目的顺利实施提供了有力的实验基础设施和组织保障。 | | | |
| 单位名称 | 杭州医学院 | 排 名 | 2 |
| 对本项目主要科学发现支撑作用情况 | | | |
| 杭州医学院是该项目的第二完成单位，主要给予了人员方面的大力支持，为本项目的顺利实施提供了有力的组织保障。 | | | |